

文章编号 1006-8147(2022)04-0360-06

论 著

肺腺癌细胞中 PRDM5 抑癌作用的分子机制初探

马梦楚,任媛媛,刘欣

(天津医科大学基础医学院生物化学与分子生物学系,天津 300070)

摘要 目的:解析肺腺癌中 PR 结构域锌指蛋白 5(PRDM5)发挥抑癌功能的分子机制,寻找与 PRDM5 相互作用的蛋白因子。方法:免疫共沉淀实验(Co-IP)检测肺腺癌细胞系 A549 和 H1299 中 PRDM5 与核小体重塑和去乙酰化酶复合物(NuRD 复合物)各组分之间内源性结合。构建含有 GST 标签的原核表达载体 pGEX-4T-1-HDAC1、pGEX-4T-1-MTA1、pGEX-4T-1-MTA2 以及带有 His 标签的原核表达载体 pET-28a(+)-PRDM5。将上述重组质粒转化入大肠埃希菌(*E.coli*)BL21 中诱导融合蛋白成功表达并纯化相应的蛋白。GST-pull down 体外实验检测 PRDM5 与 NuRD 复合物直接结合的组分。结果:在肺腺癌细胞系 A549 和 H1299 中证实 PRDM5 与 NuRD 复合物多个主要组分 CHD3、CHD4、MTA1/2、HDAC1/2、RbAp46/48、MBD2/3 间存在内源性结合。体外 GST-pull down 实验证实 PRDM5 与 NuRD 复合物中的组蛋白去乙酰化酶 1(HDAC1)、转移相关蛋白 1(MTA1)和转移相关蛋白 2(MTA2)组分存在直接结合。结论:肺腺癌细胞中 PRDM5 与 NuRD 复合物存在相互作用。

关键词 PRDM5;NuRD 复合物;免疫共沉淀;肺腺癌

中图分类号 Q786

文献标志码 A

Preliminary study on the molecular mechanism of PRDM5 suppression in lung adenocarcinoma

MA Meng-chu, REN Yuan-yuan, LIU Xin

(Department of Biochemistry and Molecular Biology, School of Basic Medical Sciences, Tianjin Medical University, Tianjin 300070, China)

Abstract **Objective:** To elucidate the molecular mechanism of PR/SET Domain zinc finger protein 5(PRDM5) suppression in lung adenocarcinoma, and to find the protein factors interacting with PRDM5. **Methods:** Co-IP assay was used to detect endogenous binding between PRDM5 and Nucleosome Remodeling and histone Deacetylation complex(NuRD complex) components in lung adenocarcinoma cell lines A549 and H1299. GST-tagged prokaryotic expression vectors pGEX-4T-1-HDAC1, pGEX-4T-1-MTA1, pGEX-4T-1-MTA2 and His-tagged pET-28a(+)-PRDM5 were constructed. Recombinant plasmids were transformed into *E.coli* BL21 to induce the expression of the fusion proteins and purify the corresponding protein, respectively. The components of NuRD complex which directly bind with PRDM5 were determined by GST-pull down. **Results:** Most components of NuRD complex can bind with PRDM5 endogenously in lung adenocarcinoma cells A549 and H1299, such as CHD3, CHD4, MTA1/2, HDAC1/2, RbAp46/48 and MBD2/3. Direct binding of PRDM5 with histone deacetylase 1(HDAC1), metastasis associated protein 1(MTA1) and metastasis associated protein 2(MTA2) components in NuRD complex were confirmed by GST-pull down *in vitro*. **Conclusion:** PRDM5 interacts with NuRD complex in lung adenocarcinoma cells.

Key words PRDM5;NuRD complex;Co-IP;lung adenocarcinoma

PR 结构域锌指蛋白(PRDM)5 是 PRDM 家族成员之一^[1]。该蛋白由 N 端保守的 PR 结构域和 C 端的 16 个锌指蛋白结构域组成,其中 PR 结构域与 SET 结构域高度同源,该结构域通常具有特异性 DNA 序列识别和结合活性^[2]。目前认为 PRDM5 蛋白是一个广泛表达的转录因子,不仅参与正常生长发育过程^[3],而且在胃癌^[4-5]、结肠腺癌^[6]和神经胶质细胞瘤^[7]的发生、发展中发挥作用。本课题组前期数据

表明,在肺腺癌中 PRDM5 低表达通常与低生存率和不良预后相关。并且一系列实验结果显示,PRDM5 在肺腺癌中发挥抑癌因子的功能^[8]。因此本课题组计划探究 PRDM5 发挥功能的具体分子机制。

NuRD 复合物全称为核小体重塑与去乙酰化酶复合物,也称为 Mi-2 复合物,其主要通过参与组蛋白修饰和染色质重塑来调控许多下游基因的转录过程^[9]。NuRD 复合物由多种蛋白组成,主要组分包括:组蛋白去乙酰化酶(HDAC)1/2、ATP 依赖性染色质重塑酶 CHD3/4、组蛋白伴侣 RbAp46/48、CpG 结合蛋白 MBD2/3、GATAD2a(p66α)和 GATAD2b

基金项目 国家自然科学基金面上项目(81572867);天津市教委科研计划项目(自然科学)(2019KJ171)

作者简介 马梦楚(1998-),女,硕士在读,研究方向:抑癌因子 PRDM5 在肿瘤发生发展中的作用;通信作者:刘欣, E-mail: xinliu_0828@tmu.edu.cn。

(p66 β)以及转移相关蛋白 MTA1/2/3^[10]。前期本组的质谱数据显示,过表达 PRDM5 的 A549 细胞中 NuRD 复合物的组分与 PRDM5 结合的评分相对较高,提示 PRDM5 发挥抑癌功能可能与 NuRD 复合物相关^[11]。为了寻找和验证肺腺癌细胞中与 PRDM5 相互作用的蛋白因子,本研究采用 Co-IP 和 GST-pull down 实验分别检测了 NuRD 复合物中的蛋白组分与 PRDM5 是否结合,为深入探讨 PRDM5 在肺腺癌中发挥作用的分子机制提供了坚实基础。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 质粒与菌株细胞及培养条件 肺腺癌细胞株 A549 与 H1299 细胞株来自本系马振毅老师实验室馈赠;细胞培养所需 RPMI 1640 培养基、特级胎牛血清和胰酶均购买自 BI 公司。融合蛋白表达载体 pGEX-4T-1、pET-28a(+)均来自本实验室, *E. coli* Trans-T1 以及 BL21 均购于北京全式金生物技术有限公司;细菌所需培养基有 LB 液体培养基, LB 固体培养基, 2 \times YT 液体培养基(Tryptone 16 g, Yeast 10 g, NaCl 5 g 超纯水定容至 1 L), 上述培养基均高压灭菌后 4 $^{\circ}$ C 保存。

1.1.2 主要化学试剂和仪器 ProteinA+G Beads 购于 Merck Millipore 公司; PrimeSTAR[®] Max DNA Polymerase 购于 Takara 公司; Pierce[®] Glutathione Agarose、限制性核酸内切酶 *EcoR* I 与 *Xho* I 等均购于 Thermo Fisher Scientific 公司; T4 DNA 连接酶购于全式金公司; 去内毒素质粒小提试剂盒购买自康为世纪; IPTG 购于北京鼎国有限公司; HIS-Select[®] 镍亲和凝胶购于 Sigma; PRDM5、MTA1、MTA2 和 MBD2/3 抗体均购于 Santa Cruz 公司; CHD3、CHD4 和 RbAp46/48 抗体均购于 Abcam 公司; HDAC1 与 HDAC2 抗体均购于 Sigma 公司; 辣根过氧化物酶标记的抗鼠源 IgG 二抗以及抗兔源 IgG 二抗购买自 KPL 公司, 超敏 ECL 化学发光试剂购买自碧云天公司。实验仪器主要包括 SDS-PAGE 垂直电泳相关设备, 琼脂糖核酸电泳仪和湿转膜仪等。

1.1.3 纯化 His 标签蛋白所用试剂 洗脱缓冲液(不含咪唑): Na₂PO₄ (50 mmol/L, pH=8.0), NaCl (0.3 mmol/L); 洗脱缓冲液(含咪唑): Na₂PO₄ (50 mmol/L, pH=8.0), NaCl (0.3 mmol/L), 咪唑 (250 mmol/L)。

1.2 方法

1.2.1 Co-IP 实验 PRDM5 抗体与 protein A+G Beads, 4 $^{\circ}$ C 孵育 8 h, 将结合有抗体的 Beads 加入细胞蛋白裂解液共孵育过夜以钓取目的蛋白, 将目的蛋白与 Beads 分离, 通过 Western 印迹实验验证免

疫共沉淀结果。

1.2.2 目的基因获取 以人源细胞基因组 cDNA 和 pLVX-IRES-PRDM5 质粒分别作为扩增 *HDAC1*、*MTA1*、*MTA2* 和 *PRDM5* 的模板。根据 NCBI 上查询到的每个基因 CDS 区序列信息, 设计含有 *EcoR* I 与 *Xho* I 限制性内切酶位点的引物序列(表 1)。用 DNA 聚合酶 PrimeSTAR PCR 扩增各目的基因, PCR 条件为 98 $^{\circ}$ C 预变性 5 min, 98 $^{\circ}$ C 变性 5 s, 58 $^{\circ}$ C 退火 15 s, 72 $^{\circ}$ C 延伸 3 min 共 40 个循环, 72 $^{\circ}$ C 延伸 10 min。PCR 产物经 1% 琼脂糖凝胶电泳鉴定为单一清晰条带, 将条带切下后按照 DNA 胶回收纯化试剂盒说明书进行目的片段回收。

表 1 融合蛋白引物序列

Tab 1 The primer sequence of fusion protein

引物名称	引物序列(5'→3')	产物(bp)
PRDM5-F	5'-CGGAATTCATGCTGGGCATGTAC-3'	1 893
PRDM5-R	5'-CCGCTCGAGTTAGCTGTCAGCTAC-3'	
HDAC1-F	5'-CGGAATTCGCGCAGACGCAGGGCAC-3'	1 449
HDAC1-R	5'-GCCTCGAGTCAGGCCAACTTGACCTCCTCCT-3'	
MTA1-F	5'-CGGAATTCGCGGCCAACATGTACAGGCT-3'	2 148
MTA1-R	5'-GCCTCGAGCTAGTCTCGATGACGATGGGCTC-3'	
MTA2-F	5'-CGGAATTCGCGGCCAACATGTACCGGG-3'	2 007
MTA2-R	5'-GCCTCGAGTCAGTCTCCAGGACAATAGGCTCA-3'	

注: F 为上游引物, R 为下游引物

1.2.3 线性化载体以及目的片段的双酶切 采用 *EcoR* I 与 *Xho* I 双酶切载体 pGEX-4T-1、pET-28a(+)和目的片段, 琼脂糖凝胶电泳验证并回收。

1.2.4 重组质粒连接 将线性化载体与双酶切后得到的目的基因片段按照 T4 DNA 连接酶说明书进行连接。连接产物转化感受态细胞 Trans-T1, 在含有相应抗生素的 LB 平板上筛选克隆, 过夜培养 12 h 左右, 挑取细菌克隆进行菌体扩增。

1.2.5 重组质粒鉴定 取扩增后的菌液进行 PCR, 并以 1% 琼脂糖凝胶电泳验证阳性克隆, 提取质粒经 *EcoR* I 与 *Xho* I 双酶切进一步验证。将初步确认的阳性克隆进行测序, 测序结果比对序列无误即构建成功。

1.2.6 GST 融合蛋白的表达与纯化 将成功转入重组质粒 pGEX-4T-1、pGEX-4T-1-HDAC1、pGEX-4T-1-MTA1 以及 pGEX-4T-1-MTA2 的 *E. coli* BL21 接种于 2 \times YT 培养基中, 37 $^{\circ}$ C 培养, 当 OD 值达到 0.6~0.8 加入一定浓度 IPTG 诱导蛋白表达。提取细菌蛋白裂解液加入一定量 GST-Beads, 4 $^{\circ}$ C 孵育过夜。冰 PBST 洗涤 GST-Beads 5 次, 加入 2.5 \times 上样缓冲液混匀后 99 $^{\circ}$ C 加热 10 min。离心后取上清进行聚丙烯酰胺凝胶电泳和考马斯亮蓝染色。

1.2.7 His 融合蛋白纯化 将转入 pET-28a(+)-

PRDM5 重组质粒的 *E. coli* BL21 接种至 2×YT 培养基中扩增菌体,提取细菌蛋白裂解液。加入用洗脱缓冲液(不含咪唑)洗涤后的 His-Beads 进行蛋白富集,弃去蛋白裂解液后用洗脱缓冲液(不含咪唑)洗涤富集有 His-PRDM5 蛋白的 Beads 3 次,最后加入洗脱缓冲液(含咪唑)洗脱 His-Beads 上富集的 His-PRDM5 蛋白。

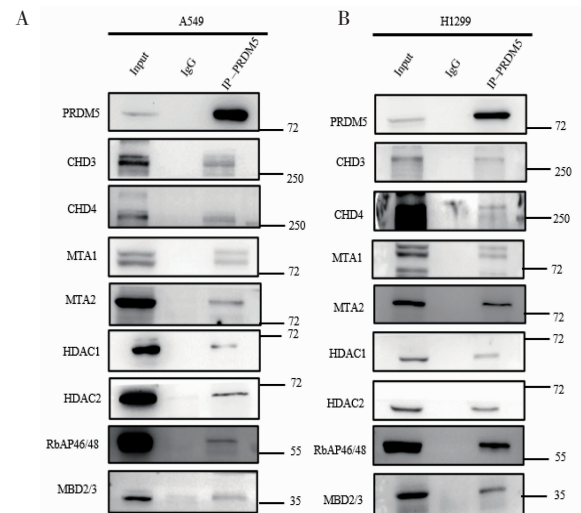
1.2.8 GST-pull down 检测与 PRDM5 直接结合的蛋白 将 GST、GST-HDAC1、GST-MTA1 和 GST-MTA2 成功诱导表达,富集有 GST、GST-HDAC1、GST-MTA1 和 GST-MTA2 蛋白的 Beads 分别与纯化的 His-PRDM5 蛋白 4℃ 共同孵育 12 h。PBST 洗涤 Beads 重复 5 次,加入 2.5× 上样缓冲液混匀置于 99℃,加热 10 min,离心取上清为待测样品,Western 印迹检测蛋白直接结合情况。

2 结果

2.1 PRDM5 与 NuRD 复合物存在内源性结合 Co-IP 实验证实,在肺腺癌细胞系 A549 与 H1299 细胞中,PRDM5 蛋白与 NuRD 复合物中主要组分 CHD3、CHD4、MTA1、MTA2、HDAC1、HDAC2、RbAp46/48 和 MBD2/3 之间存在内源性结合(图 1)。

2.2 预测与 PRDM5 直接结合的蛋白 依据 STRING 网站预测结果(图 2)PRDM5 与 NuRD 复合物中 HDAC1 存在直接结合。同时已有文献报道 NuRD 复合物与其他蛋白结合时多与 MTA 家族蛋白关联,因此从 NuRD 复合物众多组分中优先选择 HDAC1、MTA1 和 MTA2 作为可能与 PRDM5 直接结合的蛋白进行验证。

2.3 目的基因获取 PCR 扩增获得 PRDM5、HDAC1、MTA1 与 MTA2 基因。PRDM5、HDAC1、MTA1 和 MTA2 目的基因片段大小分别为 1 893、1 449、2 148、2 007 bp。扩增产物经 1% 琼脂糖凝胶电泳,结果显示(图 3),4 个目的基因均为清晰单一条带且分子量大小正确,然后回收目的条带凝胶。



注:Input 为阳性对照;IgG 为阴性对照;IP-PRDM5 为实验组;

A: A549 细胞 Co-IP 结果;B: H1299 细胞 Co-IP 结果

图 1 Co-IP 实验证实 PRDM5 与 NuRD 复合物内源性结合

Fig 1 The endogenous binding of PRDM5 with NuRD complex verified by Co-IP experiment

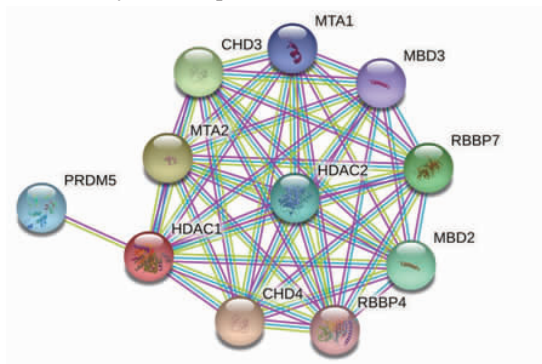
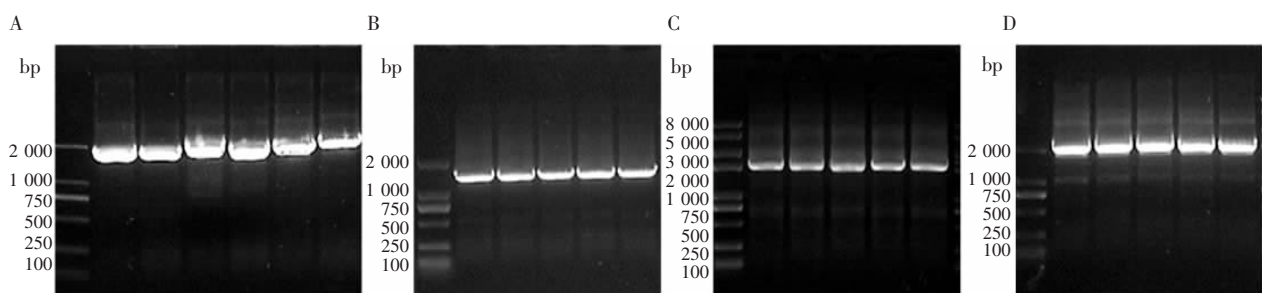


图 2 PRDM5 直接结合蛋白的预测分析

Fig 2 Prediction of PRDM5 direct-binding proteins

2.4 重组质粒构建成功

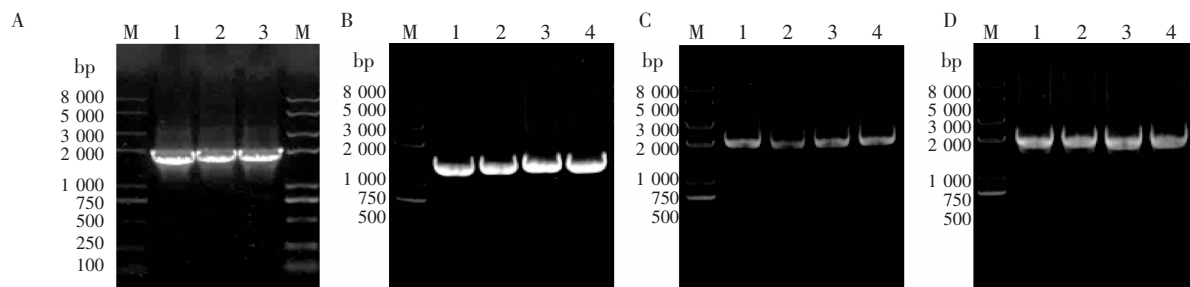
2.4.1 菌液 PCR 证实阳性克隆 取菌液进行 PCR,扩增产物经琼脂糖凝胶电泳验证。结果显示,pET-28a(+)-PRDM5、pGEX-4T-1-HDAC1、pGEX-4T-1-MTA1 以及 pGEX-4T-1-MTA2 4 个重组质粒挑取的菌落均可扩增出目的基因条带,均为阳性克隆(图 4)。



注:M:DNA Marker;A:PRDM5 基因扩增结果(1 893 bp);B:HDAC1 基因扩增结果(1 449 bp);C:MTA1 基因扩增结果(2 148 bp);D:MTA2 基因扩增结果(2 007 bp)

图 3 目的基因 PRDM5、HDAC1、MTA1、MTA2 的获取

Fig 3 Acquisition of target genes PRDM5, HDAC1, MTA1, MTA2



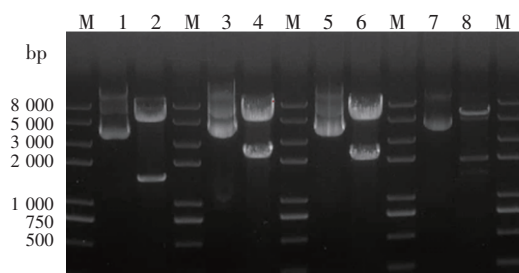
注:M:DNA Marker;A:pET-28a (+)-PRDM5 3个克隆;B:pGEX-4T-1-HDAC1 4个克隆;C:pGEX-4T-1-MTA1 4个克隆;D:pGEX-4T-1-MTA2 4个克隆

图4 重组质粒菌液 PCR 鉴定阳性克隆

Fig 4 Identification of recombinant plasmid by PCR

2.4.2 重组质粒双酶切及测序鉴定 重组质粒经双酶切后采用琼脂糖凝胶电泳进行验证(图5)。所有重组质粒、目的基因以及载体大小均正确。测序结果(图6)与目的基因序列一致,无缺失、插入或移码突变,表明重组质粒均已构建成功。

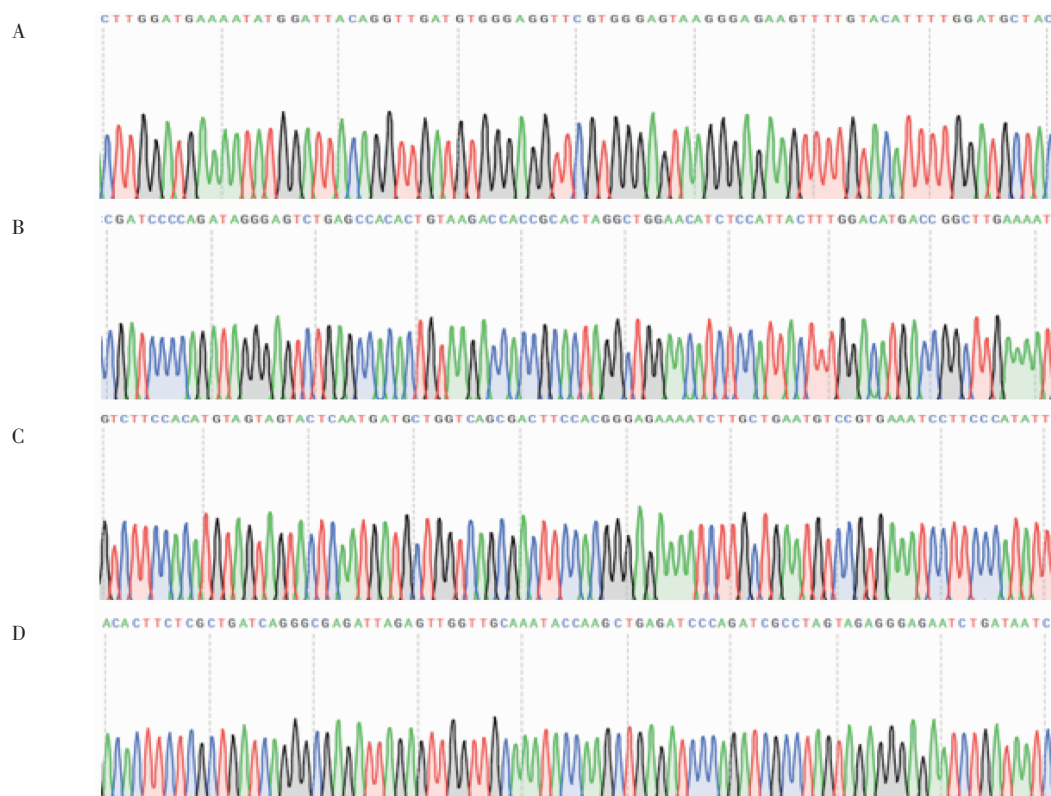
2.5 体外实验证实 PRDM5 分别与 HDAC1、MTA1、MTA2 直接结合 将上述各个成功诱导的 GST 融合蛋白表达量调齐后(图7),通过 GST-pull down 与 Western 印迹实验联合检测蛋白间的结合情况。结果显示,His-PRDM5 蛋白与 GST 标签不结合,而 NuRD 复合物组分中的 HDAC1、MTA1 和 MTA2 蛋白分别与 PRDM5 存在直接结合(图8)。



注:M:DNA Marker;泳道1为 pGEX-4T-1-HDAC1 重组质粒;泳道2为 *EcoR* I 与 *Xho* I 双酶切鉴定重组质粒 pGEX-4T-1-HDAC1 结果;泳道3、5、7分别为 pGEX-4T-1-MTA1、pGEX-4T-1-MTA2 以及 pET-28a(+)-PRDM5 重组质粒,泳道4、6、8分别为重组质粒 *EcoR* I 与 *Xho* I 双酶切鉴定结果

图5 重组质粒双酶切验证

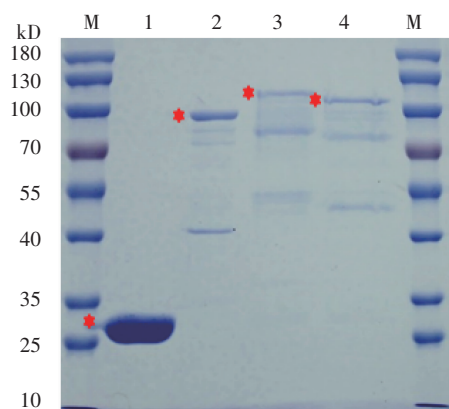
Fig 5 Verification of recombinant plasmid by double-enzyme digestion



注:A:pET-28a(+)-PRDM5;B:pGEX-4T-1-HDAC1;C:pGEX-4T-1-MTA1;D:pGEX-4T-1-MTA2

图6 重组质粒测序结果

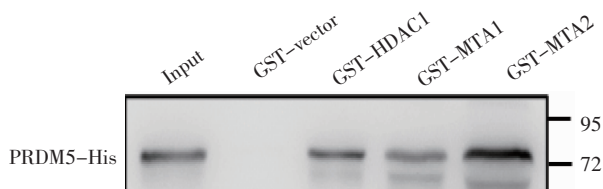
Fig 6 Sequencing of recombinant plasmids



注:M:蛋白 Marker;泳道 1~4 分别为诱导表达纯化后的 GST、GST-HDAC1、GST-MTA1 和 GST-MTA2 蛋白,图中红色标记所在位置即为相应蛋白条带

图 7 GST 融合蛋白表达

Fig 7 Expression of GST fusion protein



注:Input: 阳性对照;GST-vector: 阴性对照;GST-HDAC1、GST-MTA1 和 GST-MTA2 为实验组;PRDM5 与 HDAC1、MTA1 以及 MTA2 直接结合

图 8 GST-pull down 检测与 PRDM5 直接结合的 NuRD 复合物组分

Fig 8 NuRD complex components directly bound to PRDM5 detected by GST-pull down

3 讨论

PRDM5 属于 PRDM 蛋白家族成员^[12],该家族成员通过其内在 HMTase 活性或通过与其他染色质修饰酶的相互作用,参与基因表达的表现遗传调控,在细胞分化和恶性转化中发挥重要作用^[1]。人类 PRDM 家族均有进化上保守的 N 端 PR 结构域,此外 C 端有数量不等的 C2-H2 锌指重复序列,这些序列大多参与 DNA-蛋白质和蛋白质-蛋白质的相互作用^[12]。PRDM5 首次被发现是根据其与 PRDM2 在结构上具有相似性,因而从 EST 数据库被识别^[13]。已有文献报道在斑马鱼中,PRDM5 通过 Wnt 信号通路在胚胎收敛性伸展运动中起重要作用^[14]。在小鼠胚胎干细胞中,PRDM5 直接作用于参与早期胚胎发育的基因组区域,并可能在细胞分化过程中影响发育调节因子的表达^[15]。病理状态下 PRDM5 的突变可直接导致人类脆性角膜综合征^[16-18]。

更为重要的是,PRDM5 在多种肿瘤的发生、发

展中发挥重要功能。近期研究发现 PRDM5 的下调与多种肿瘤的不良预后相关,抑制 PRDM5 的表达可促进肿瘤细胞的增殖和迁移能力,提示 PRDM5 可能作为抑癌因子在肿瘤癌变中发挥作用。虽然已有文献报道在胃癌^[4-5]、结直肠癌^[6]、神经胶质细胞瘤^[7]、肺腺癌^[19]等肿瘤中 PRDM5 由于启动子 CpG 岛发生甲基化而被沉默,但是 PRDM5 在肺腺癌中发挥抑癌作用的机制尚不清楚。前期本组在 A549 细胞中过表达 PRDM5 后进行质谱实验。通过分析发现 PRDM5 与 NuRD 复合物的大多数组分能够结合。为了探究二者之间的直接结合情况,本研究在肺腺癌细胞系 A549 和 H1299 中通过 Co-IP 实验证实了二者的内源性结合。依据体外原核表达系统,笔者构建了 pET-28a(+)-PRDM5、pGEX-4T-1-HDAC1、pGEX-4T-1-MTA1 以及 pGEX-4T-1-MTA2 重组质粒并成功诱导融合蛋白表达。通过 GST-pull down 实验证实 PRDM5 与 NuRD 复合物中 HDAC1、MTA1、MTA2 3 个组分存在外源性结合,为进一步明确 PRDM5 与 NuRD 复合物相互作用的潜在机制打下坚实基础。

NuRD 复合物在染色质水平上调控基因表达,其参与了对肿瘤发生和进展必不可少的转录事件的调控^[20]。研究表明,NuRD 复合物与不同致癌或抑癌转录因子结合,增强下游靶基因的转录抑制,在不同的肿瘤中发挥不同作用^[21-22]。例如,在乳腺癌细胞中 TWIST 这一转录因子可以通过 MTA2 募集 NuRD 复合物到目标基因 CDH1 的启动子上,以介导转录抑制并促进上皮-间充质转化进程^[21]。同样在乳腺癌中组蛋白脱甲基酶 LSD1 可以通过 MTA 亚基与 NuRD 复合物结合后,抑制转化生长因子 β 、丝裂原活化蛋白激酶等途径的基因转录,继而干扰细胞增殖、侵袭和上皮细胞-间充质转化进程^[23-24]。由此可见,NuRD 复合物与其他蛋白分子相互作用可能是通过 MTA 家族蛋白。结合本文的实验结果,推测 PRDM5 可能通过与 NuRD 复合物中的 HDAC1、MTA1 和 MTA2 结合,从而影响受 NuRD 复合物调控的某些途径和(或)下游靶基因的转录活性,进而影响肺腺癌的发生和发展进程。此外,PRDM5 与上述不同蛋白结合的具体结构域也有待进一步明确。

综上,研究 PRDM5 与不同蛋白(或结构域)之间的相互作用,有利于深入探讨 PRDM5 在不同环境下发挥抑癌作用的分子机制。

参考文献:

- [1] WU H, WANG L, ZHANG D, et al. PRDM5 promotes the apoptosis

- of epithelial cells induced by IFN- γ during Crohn's disease [J]. *Pathol Res Pract*, 2017, 213(6):666-673.
- [2] CASAMASSIMI A, RIENZO M, DI ZAZZO E, et al. Multifaceted role of prdm proteins in human cancer [J]. *Int J Mol Sci*, 2020; 21(7):2648.
- [3] ZHANG Y, LIU X, XUE H, et al. Upregulation of prdm5 is associated with astrocyte proliferation and neuronal apoptosis caused by lipopolysaccharide [J]. *J Mol Neurosci*, 2016, 59(1):146-157.
- [4] TENG J J, ZHAO W J, ZHANG X L, et al. Downregulation of promoter methylation gene PRDM5 contributes to the development of tumor proliferation and predicts poor prognosis in gastric cancer [J]. *J Cancer*, 2021, 12(22):6921-6930.
- [5] TAHARA S, TAHARA T, HORIGUCHI N, et al. DNA methylation accumulation in gastric mucosa adjacent to cancer after *Helicobacter pylori* eradication [J]. *Int J Cancer*, 2019, 144(1):80-88.
- [6] WATANABE Y, TOYOTA M, KONDO Y, et al. PRDM5 identified as a target of epigenetic silencing in colorectal and gastric cancer [J]. *Clin Cancer Res*, 2007, 13(16):4786-4794.
- [7] WANG X, CHANG H, GAO G, et al. Silencing of PRDM5 increases cell proliferation and inhibits cell apoptosis in glioma [J]. *Int J Neurosci*, 2021, 131(2):144-153.
- [8] 王野. 候选抑癌基因 PRDM5 在肺腺癌进展中的机制研究 [D]. 天津医科大学, 2019.
- [9] LAI A Y, WADE P A. Cancer biology and NuRD: a multifaceted chromatin remodelling complex [J]. *Nat Rev Cancer*, 2011, 11(8):588-596.
- [10] TORCHY M P, HAMICHE A, KLAHOLZ B P. Structure and function insights into the NuRD chromatin remodeling complex [J]. *Cell Mol Life Sci*, 2015, 72(13):2491-2507.
- [11] 房丽娇. 抑癌基因 PRDM5 抑制肺腺癌增殖的分子机制研究 [D]. 天津医科大学, 2020.
- [12] MEHMOOD S, DAD R, AHMAD A, et al. Structural and functional annotation of PR/SET Domain (PRDM) protein family: In-silico study elaborating role of PRDM12 mutation in congenital insensitivity to pain [J]. *Comput Biol Chem*, 2020, 89:107382.
- [13] DENG Q, HUANG S. PRDM5 is silenced in human cancers and has growth suppressive activities [J]. *Oncogene*, 2004, 23(28):4903-4910.
- [14] MEANI N, PEZZIMENTI F, DEFLORIAN G, et al. The tumor suppressor PRDM5 regulates Wnt signaling at early stages of zebrafish development [J]. *PLoS One*, 2009, 4(1):e4273.
- [15] GALLI G G, CARRARA M, FRANCAVILLA C, et al. Genomic and proteomic analyses of PRDM5 reveal interactions with insulator binding proteins in embryonic stem cells [J]. *Mol Cell Biol*, 2013, 33(22):4504-4516.
- [16] ZHANG W, MARGINES J B, JACOBS D S, et al. Corneal perforation after corneal cross-linking in keratoconus associated with potentially pathogenic ZNF469 mutations [J]. *Cornea*, 2019, 38(8):1033-1039.
- [17] SELINA A, JOHN D, LOGANATHAN L, et al. Case report of a PRDM5 linked brittle cornea syndrome type 2 in association with a novel SLC6A5 mutation [J]. *Indian J Ophthalmol*, 2020, 68(11):2545-2547.
- [18] DHOOGE T, VAN DAMME T, SYX D, et al. More than meets the eye: expanding and reviewing the clinical and mutational spectrum of brittle cornea syndrome [J]. *Hum Mutat*, 2021, 42(6):711-730.
- [19] TAN S X, HU R C, XIA Q, et al. The methylation profiles of PRDM promoters in non-small cell lung cancer [J]. *Oncotargets Ther*, 2018, 11:2991-3002.
- [20] BRACKEN A P, BRIEN G L, VERRIJZER C P. Dangerous liaisons: interplay between SWI/SNF, NuRD, and Polycomb in chromatin regulation and cancer [J]. *Genes Dev*, 2019, 33(15/16):936-959.
- [21] FU J, QIN L, HE T, et al. The TWIST/Mi2/NuRD protein complex and its essential role in cancer metastasis [J]. *Cell Res*, 2011, 21(2):275-289.
- [22] MOREY L, BRENNER C, FAZI F, et al. MBD3, a component of the NuRD complex, facilitates chromatin alteration and deposition of epigenetic marks [J]. *Mol Cell Biol*, 2008, 28(19):5912-5923.
- [23] WANG Y, ZHANG H, CHEN Y, et al. LSD1 is a subunit of the NuRD complex and targets the metastasis programs in breast cancer [J]. *Cell*, 2009, 138(4):660-672.
- [24] ZHENG Y, ZENG Y, QIU R, et al. The homeotic protein SIX3 suppresses carcinogenesis and metastasis through recruiting the LSD1/NuRD (MTA3) complex [J]. *Theranostics*, 2018, 8(4):972-989.

(2021-11-15 收稿)