

Suv39h1/H3K9me3 表观遗传修饰介导异常力学刺激诱导的软骨细胞退变

镇祥燕 余诗宇 陈康武 (通讯作者)

苏州大学附属第一医院骨科 江苏 苏州 215006

【摘要】目的：探讨异常力学刺激诱导软骨细胞退变过程中组蛋白 H3K9me3 及其甲基转移酶 Suv39h1 的作用机制。方法：分离培养小鼠原代软骨细胞，采用体外循环牵张加载系统建立异常力学刺激模型，以 5% 幅度为对照、12% 幅度为过度力学刺激。通过免疫荧光染色和实时定量 PCR 检测 II 型胶原和 X 型胶原表达变化；采用 Western blot 和实时定量 PCR 检测 H3K9me3 及相关调控酶的表达。进一步通过 siRNA 干扰 Suv39h1，观察其对 H3K9me3 水平及软骨细胞退变的影响。结果：过度力学刺激显著降低 II 型胶原表达并上调 X 型胶原表达，提示软骨细胞发生退变，同时 H3K9me3 水平明显升高。多种 H3K9me3 相关酶中，Suv39h1 表达显著上调。干扰 Suv39h1 后，H3K9me3 水平降低，II 型胶原表达部分恢复，X 型胶原表达减少，软骨细胞退变得到缓解。结论：异常力学刺激可通过 Suv39h1 介导的 H3K9me3 上调促进软骨细胞退变，Suv39h1/H3K9me3 轴可能成为力学异常相关软骨退变的潜在干预靶点。

【关键词】：力学刺激；软骨细胞退变；表观遗传；H3K9me3；Suv39h1

DOI:10.12417/2705-098X.26.07.090

引言

力学信号作为细胞微环境中的关键调控因素，在调节细胞命运、维持组织稳态以及参与疾病发生发展过程中发挥着重要作用^[1-3]。对于软骨细胞而言，其本身长期处于机械负荷环境中，适度的生理性力学刺激有助于维持软骨稳态，而过度或异常力学刺激则被认为是骨关节炎等软骨退变性疾病的重要致病因素^[4,5]。表观遗传学是指在不改变 DNA 序列的情况下，通过 DNA 甲基化、组蛋白修饰和非编码 RNA 调控等机制，稳定调节基因表达状态，从而影响细胞命运和组织功能^[6,7]。组蛋白赖氨酸残基的甲基化是表观遗传修饰的重要形式，根据甲基化位点及程度不同，可激活或抑制基因转录。其中，组蛋白 H3 第 9 位赖氨酸三甲基化（H3K9me3）是典型的转录抑制性标记，常参与基因沉默、染色质稳态维持及细胞衰老过程^[8,9]。本研究通过建立体外循环力学拉伸模型，系统检测软骨细胞中 II 型胶原、X 型胶原及 H3K9me3 等表型和表观遗传学变化，并结合对组蛋白甲基转移酶 Suv39h1 的干扰实验，旨在阐明过度力学刺激通过 Suv39h1 介导的 H3K9me3 上调诱导软骨细胞退变的具体机制，为骨关节炎的防治提供新的理论依据和潜在靶点。

1 材料和方法

1.1 小鼠软骨细胞的提取

SPF 级雄性 C57BL/6J 小鼠均由苏州大学实验动物中心提

供（许可证号：SCXK(苏)2022-0008），用于小鼠内侧半月板不稳（DMM）模型、小鼠软骨细胞的分离、培养、鉴定及力学刺激等实验。动物饲养及手术过程等均获得苏州大学伦理委员会批准（批准号为 SUDA20250919A01）。实验过程遵循了国际兽医学编辑协会《关于动物伦理与福利的作者指南共识》和本地及国家法规。

取 4-6 周龄 C57BL/6J 小鼠，处死后使用 75% 乙醇灭菌。无菌条件下取双侧下肢，精细解剖获得完整膝关节标本，含股骨远端与胫骨近端。刮取透明软骨，置于预冷 PBS 中。将软骨剪碎至 1 mm³ 碎块，PBS 冲洗 3 次去除血细胞。加入 0.25% 胰蛋白酶-EDTA，37°C 震荡消化 30 分钟，弃上清。加入 0.2% II 型胶原酶，37°C 摇床消化 4-6h，至组织完全溶解。加入含 10% FBS 的培养基终止反应，70 μm 细胞筛过滤，1500rpm 离心 5 分钟。沉淀用完全培养基重悬，接种于培养皿中，37°C、5% CO₂ 培养。24h 后首次换液，细胞融合度达 80%—90% 时用 0.25% 胰蛋白酶传代。

1.2 体外循环力学实验及检测

采用 Celload-300 细胞培养力学加载系统对软骨细胞施加机械刺激。将软骨细胞以 105 个细胞/平方厘米的初始密度接种于聚二甲基硅氧烷（PDMS，道康宁公司）拉伸模具上。拉伸模具提前高温高压灭菌，使用前使用 I 型鼠尾胶原进行包被。

作者简介：镇祥燕，女（2001-），汉族，四川省彭州人，本科在读，苏州大学附属第一医院，研究方向：骨退行性疾病。

余诗宇，女（2002-），汉族，重庆人，本科在读，苏州大学附属第一医院，研究方向：骨退行性疾病。

通讯作者：陈康武，男（1984-），安徽省安庆人，博士，苏州大学附属第一医院，副主任医师，研究方向：骨退行性疾病。

基金项目：国家级大学生创新训练计划（202410285104Z）。

基金：本研究受到国家级大学生创新训练计划（202410285104Z）的资助。

根据本实验室前期的研究经验^[10]结合文献综述的报道^[11], 对照组软骨细胞每天接受 0.5Hz 频率、5% 拉伸幅度的机械刺激, 过度应力组每天接受 0.5Hz 频率、12% 拉伸幅度的机械刺激, 两组每天均持续拉伸 8h, 连续 7 天后收样。

1.3 实时定量 PCR

通过实时定量 PCR (RT-qPCR) 检测 Col2a1、Col10a1 和 H3K9me3 的甲基转移酶 (Suv39h1、Setdb1、Jmjd2a、Jmjd2b、Jmjd2c、Jmjd2d) 的 mRNA 转录情况。具体来说, 将处理后的细胞使用 TRIzol 试剂 (美国 Invitrogen 公司, 卡尔斯巴德) 提取出软骨细胞的总 RNA, 并通过 NanoDrop 2000 分光光度计 (美国 Thermo Fisher Scientific 公司, 沃尔瑟姆) 测定 RNA 浓度。参考 PrimeScript™ RT 试剂盒说明, 按两步法反转录合成 cDNA。使用 TB Green® Premix Ex Taq™ II Kit 以标准协议扩增 cDNA, 热循环条件为: 95°C 预变性 30s 后, 同条件变性 5s, 之后在 60°C 下退火和延伸 30s (共 40 个循环), 最后在 95°C 下延伸 15s, 在 60°C 下延伸 1 min 后继续在 95°C 下延伸 15s。以 Gapdh 作为内参分析 mRNA 相对转录表达情况, 使用 2-ΔΔCt 方法计算倍数变化。实验重复 3 次。引物序列见表 1。

表 1 引物序列
Table 1 Primer sequences

基因	上游序列(5'-3')	下游序列(3'-5')
Gapdh	TGTGTCCGTCGTGGATCTG	CCTGCTTCACCACCTTCTT
	A	GA
Col2a1	GGACTGGCATCTGAACATG	CCACCATCTCCTTTCACCA
	GA	GC
Col10a1	GGATGATGAAGTGGCTGGA	TGGGAGCCTGTCCAATCT
	TG	CTT
Suv39h1	GGAGAACAAGAAGGACA	CAATCTGTCCTTCCAC
	GCAA	TG
Setdb1	GCATCTTGGCTCTTCCAGT	CAGGATGCAGATGTTTGC
	AT	TCC
Jmjd2a	CCAGCAACATCATCACCAC	GGTTGGCTTCTGTGATGGT
	AG	TG
Jmjd2b	GAGAGAGATCCTGGCTGG	CCATCCTTTGACCATCCAT
	CTA	CA
Jmjd2c	AGCATCAACCTGCCTCATC	ACTGGAGCTTCCAGCTCT
	AA	TGT
Jmjd2d	GCTTCTGAAGGAGAAGA	GGACTGGCTCCATAATGTG
	TGC	GA

1.4 免疫蛋白印迹

通过免疫蛋白印迹 (Western blot) 实验检测 H3K9me3 和

H3 蛋白的表达情况: 在各组细胞应力刺激完成后指定的时间点, 使用含有 1% 蛋白酶抑制剂的裂解缓冲液 (碧云天) 提取软骨细胞的总蛋白。加入适量的裂解液后, 冰浴 30 min, 离心后收集蛋白。再使用二喹啉甲酸蛋白定量试剂盒 (碧云天) 测定总蛋白浓度。将总蛋白样品 (30μg) 装于 10% 十二烷基钠/硫酸钠聚丙烯酰胺凝胶上进行电泳, 将分离的蛋白转移到聚偏二氟乙烯膜 (0.45μm, Millipore, 美国), 用 5% 脱脂奶粉悬浮液在室温下封闭 2 小时, 以阻断非特异性蛋白结合, 并在 4°C 下与针对以下蛋白的一抗孵育过夜: H3K9me3 (1:1000)、H3 组蛋白 (1:2000) 和 GAPDH 多克隆抗体 (1:20000)。将膜与 HRP 标记山羊抗小鼠 IgG(H+L) 或 HRP 标记山羊抗兔 IgG(H+L) (1:1000) 在室温下孵育 1 小时。这些膜在化学发光溶液中孵育, 以增强蛋白质的可视化。采用美国 Bio-Rad 自放射成像技术检测蛋白质, 使用 Image J 软件根据印迹带的强度对蛋白质进行定量。

1.5 免疫荧光染色

通过免疫荧光染色检测 II 型胶原、X 型胶原的表达变化情况: 将力学刺激后的细胞弃去培养基, PBS 洗 3 次。接着使用 4% 的多聚甲醛固定 15 分钟。吸去多聚甲醛, 再 PBS 洗 3 次, 使用免疫染色封闭液室温封闭 30 分钟。吸去封闭液, 加入足够量的稀释好的一抗 II 型胶原 (Collagen II, 1:200)、X 型胶原 (Collagen X, 1:200) 后放入湿盒, 4°C 孵育过夜。第二天回收一抗, PBST 浸洗 3 次, 每次 5 分钟。加入 1:1000 稀释好的 Alexa Fluor® 488 偶联二抗, 室温避光孵育 1 小时; 回收二抗, PBST 洗 3 次, 然后用细胞骨架 (F-actin, 1:300) 滴染避光孵育半小时; 最后 PBST 洗三次, 滴加含有 DAPI 的荧光封片剂, 封片后荧光显微镜下观察拍照。

1.6 siRNA 构建及转染

所用 siSuv39h1 由安震生物有限公司合成, 构建序列见表 2, 共分为四组, siSuv39h1#1/2/3 和对照组 si-NC, 每组以相同条件转染: 转染使用 Lipo Master 3000 (诺唯赞公司) 进行, 转染前 24 小时内需要先接种细胞至 6 孔板 (3 x 10⁵/孔), 并在正式转染前 2 h 更换为无抗生素培养基。配制转染工作液时, 每孔需加入 125μL opti-MEM 培养基、5μL siRNA (上海安震生物科技有限公司合成提供) (20μM)、3.75μL Lipo Master 3000, 轻柔混匀后室温静置 15 分钟。将转染工作液逐滴加入细胞培养孔, 37°C、5% CO₂ 培养箱孵育 12 h 后更换完全培养基。转染 72 h 后提取 RNA, 检测目标基因 mRNA 表达水平, RT-qPCR 检测敲降效果。

表 2 siSuv39h1 序列
Table 2 siSuv39h1 Sequence

名称	上游序列(5'-3')	下游序列(5'-3')
----	-------------	-------------

siSuv39h1#1	CCACAAGGACUUAGAA AGATT	UCUUUCUAAGUCCUUGU GGTT
siSuv39h1#2	CCAAUUACCUGGUGCA GAATT	UUCUGCACCAGGUAUUU GGTT
siSuv39h1#3	GGUUAAGUGGCGUGGG UAUTT	AUACCCACGCCACUAAA CCTT
siRNA NC	UUCUCGGAACGUGUCA CGUTT	ACGUGACACGUUCGGAG AATT

注：续表2。

1.7 统计学分析

所有实验数据均以均数±标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示。统计分析采用 GraphPad Prism 8 软件 (GraphPad Software, San Diego, USA)。两组间比较使用独立样本 t 检验, 多组间比较采用单因素方差分析 (one-way ANOVA)。P<0.05 认为差异具有统计学意义。本研究的统计学方法已由苏州大学生物统计学专家审核。

2 结果

2.1 体外的异常力学刺激诱导小鼠软骨细胞退变

为筛选验证适用于体外模拟软骨退变的异常力学刺激条件, 采用循环力学拉伸仪刺激小鼠软骨细胞^[12], 并根据本实验室前期的研究经验^[10]结合文献综述的报道^[11], 采用 12%CTS (12%应变幅度, 0.5 Hz, 8 h/d, 连续 7 d) 作为异常力学刺激, 5%CTS (5%应变幅度, 0.5 Hz, 8 h/d, 连续 7 d) 作为对照。免疫荧光染色 (图 1A-B) 显示, 在对照组中, 软骨细胞内 Collagen II 呈强阳性表达 ($56.85 \pm 3.73\%$), 广泛分布于细胞胞质中, 而 Collagen X 表达水平极低 ($0.66 \pm 0.25\%$)。经过 12%CTS 处理后, Collagen II 阳性荧光信号显著减弱 ($10.95 \pm 1.35\%$), 几乎完全消失 ($p < 0.001$), Collagen X 表达水平明显上调 ($41.63 \pm 3.88\%$, $p < 0.001$), 提示软骨细胞表型由合成型向肥大型转化, 出现典型软骨退变改变。RT-qPCR 结果 (图

1C-D) 显示与免疫荧光染色结果相一致, 进一步证实过度力学刺激可诱导软骨细胞表型异常, 表现为基质合成能力下降及肥大化标志基因表达上调。

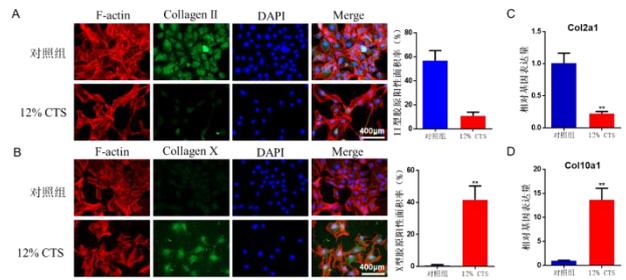


图1 小鼠软骨细胞过度力学刺激后的表型检测

图注：图 A 左侧为过度力学刺激与否的小鼠软骨细胞 Collagen II 的免疫荧光染色结果, 右侧为 Collagen II 荧光面积的半定量分析结果; B 左侧为过度力学刺激与否的小鼠软骨细胞 Collagen X 的免疫荧光染色结果, 右侧为 Collagen X 荧光面积的半定量分析结果; C 为 RT-qPCR 检测过度力学刺激与否的小鼠软骨细胞 Col2a1 相对表达的 mRNA 结果; D 为 RT-qPCR 检测过度力学刺激与否的小鼠软骨细胞 Col10a1 相对表达的 mRNA 结果。

2.2 过度力学刺激显著上调软骨细胞中 Suv39h1 及 H3K9me3 水平

通过 Western blot 对组蛋白甲基化位点 H3K9me3 进行检测 (图 2A), 结果显示 H3K9me3 在过度力学刺激下显著上调 ($p < 0.05$)。通过 RT-qPCR 对 H3K9me3 的常见甲基化酶编码基因 Suv39h1、Setdb1 和去甲基化酶编码基因 Jmjd2a/b/c/d 进行检测 (图 2B), 结果显示甲基转移酶 Suv39h1 和去甲基化酶 Jmjd2a 在过度应力下明显上调, 根据 H3K9me3 在过度应力下明显上调的 Western blot 结果推测, Suv39h1 可能是调控 H3K9me3 的关键酶。

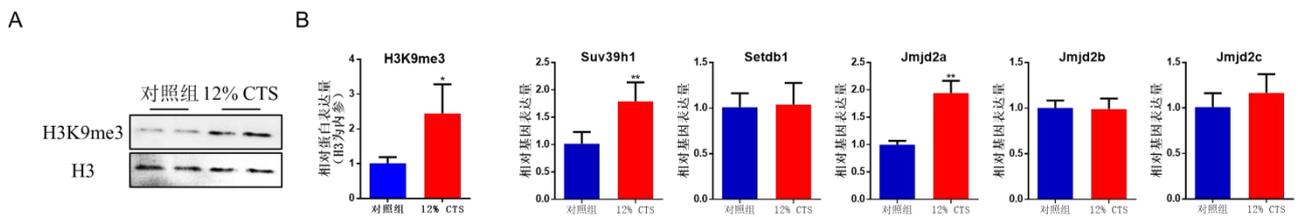


图2 小鼠软骨细胞过度力学刺激后的组蛋白甲基化相关检测

图注：图 A 左为过度力学刺激与否的小鼠软骨细胞 H3K9me3 的 Western blot 结果, 内参为 H3, 右为 H3K9me3 的相对定量结果; B 为过度力学刺激与否的小鼠软骨细胞中基因 Suv39h1、Setdb1 和 Jmjd2a/b/c/d 的 RT-qPCR 结果。

2.3 干扰 Suv39h1 可降低 H3K9me3 水平并改善软骨细胞退变

构建 siRNAs 对小鼠软骨细胞中的 Suv39h1 进行敲降 (siSuv39h1#1/2/3), 通过 RT-qPCR 对敲降效率进行检测 (图 4A), 结果显示 siSuv39h1#2/3 敲降效率均达到 90% 以上, 其

中 siSuv39h1#3 敲降效果更好 ($8.59 \pm 0.38\%$), 因此后续使用其进行下一步实验。

通过 siSuv39h1 结合体外力学刺激模型, Western blot 结果 (图 3B) 显示, 敲降 Suv39h1 的表达后, 可以抑制过度应力

造成的 H3K9me3 表达上调, 这表明 Suv39h1 可能是异常力学刺激造成 H3K9me3 表达的主要甲基化酶。通过免疫荧光染色 (图 3C-D) 显示, 转染 siSuv39h1 后的小鼠软骨细胞在过度力学刺激下仍维持了 Collagen II 的表达水平而减少了 Collagen X 的表达, 表明干扰 Suv39h1 的表达成功缓解了软骨细胞退变。

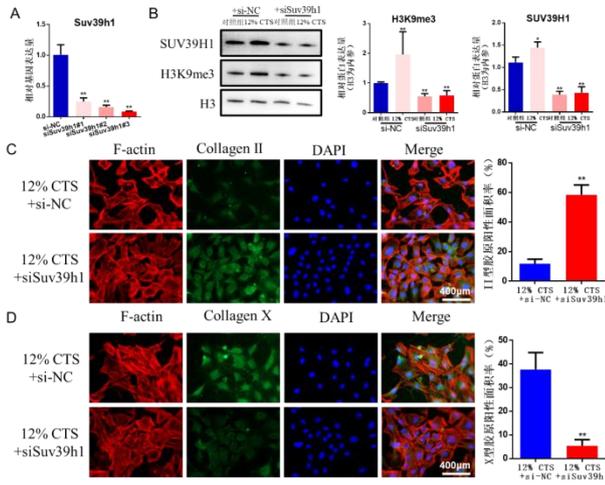


图 3 干扰 Suv39h1 通过抑制 H3K9me3 缓解软骨细胞退变

图注: 图 A 为转染 siSuv39h1 后的 RT-qPCR 结果; B 左侧为转染 si-NC 和 siSuv39h1 经过度力学刺激的 SUV39H1 和 H3K9me3 蛋白表达变化情况, 右侧为定量结果; C 左侧为过度力学刺激下转染 siSuv39h1 与否的小鼠软骨细胞 Collagen II 的免疫荧光染色结果, 右侧为 Collagen II 荧光面积的半定量分析结果; B 左侧为过度力学刺激下转染 siSuv39h1 与否的小鼠软骨细胞 Collagen X 的免疫荧光染色结果, 右侧为 Collagen X 荧光面积的半定量分析结果。

参考文献:

[1] H.De Belly, E.K.Paluch, K.J.Chalut, Interplay between mechanics and signalling in regulating cell fate, *Nat Rev Mol Cell Biol* 23(7)(2022)465-480.

[2] J.H.Driskill, D.Pan, Control of stem cell renewal and fate by YAP and TAZ, *Nat Rev Mol Cell Biol* 24(12)(2023)895-911.

[3] 闵子洋, 穆妮热·艾力, 郑耘昊, 曾幸芷, 边楠雁, 邓双珊, 谢静, 细胞外基质力学微环境与细胞间相互作用的机制与特征, *中国组织工程研究* 26(25)(2022)4034-4045.

[4] H.Zhang, Y.Shao, Z.Yao, L.Liu, H.Zhang, J.Yin, H.Xie, K.Li, P.Lai, H.Zeng, G.Xiao, C.Zeng, D.Cai, X.Bai, Mechanical overloading promotes chondrocyte senescence and osteoarthritis development through downregulating FBXW7, *Ann Rheum Dis* 81(5)(2022)676-686.

[5] Y.Shao, H.Zhang, H.Guan, C.Wu, W.Qi, L.Yang, J.Yin, H.Zhang, L.Liu, Y.Lu, Y.Zhao, S.Zhang, C.Zeng, G.Wang, X.Bai, D.Cai, PDZK1 protects against mechanical overload-induced chondrocyte senescence and osteoarthritis by targeting mitochondrial function, *Bone Res* 12(1)(2024)41.

[6] A.A.Baccarelli, J.Ordoval, Epigenetics of Early Cardiometabolic Disease: Mechanisms and Precision Medicine, *Circ Res* 132(12)(2023)1648-1662.

[7] Z.D.Smith, S.Hetzel, A.Meissner, DNA methylation in mammalian development and disease, *Nat Rev Genet* 26(1)(2025)7-30.

[8] L.Zhou, Z.Chen, Y.Zou, X.Zhang, Z.Wang, H.Zhu, J.Lin, Z.Huang, L.Zheng, J.Chen, M.Xie, M.Zhang, R.Zhang, M.Zhu, Z.Wang, H.Zhou, S.Gao, Y.Yin, Y.Wu, T.Kang, ASB7 is a negative regulator of H3K9me3 homeostasis, *Science* 389(6757)(2025)309-316.

3 讨论

过度力学刺激作为骨关节炎发生发展的重要致病因素, 已被大量基础与临床研究证实^[4,5,13]。软骨组织作为无血管、无神经分布的组织, 长期处于力学负荷环境中, 适度生理性应力对维持软骨稳态至关重要, 而异常应力则通过影响软骨细胞表型、基质代谢和细胞命运, 促进骨关节炎病理进程^[14,15]。因此, 阐明力学信号调控软骨细胞命运的机制对于骨关节炎防治具有重要意义。

表观遗传修饰, 特别是组蛋白赖氨酸甲基化, 在细胞命运调控与疾病发生中发挥重要作用^[16,17]。H3K9me3 作为典型转录抑制性修饰, 主要定位于异染色质区域, 调控基因沉默和染色质稳态, 特别是与细胞衰老相关^[18,19]。目前已报道的 H3K9 甲基化转移酶主要包括 Suv39h1、Suv39h2、G9a 和 SETDB1, 其中 Suv39h1 是最经典且功能明确的 H3K9me3 催化酶^[20,21]。Suv39h1 异常激活可导致衰老相关基因表达上调、细胞周期停滞及衰老表型形成, 在 MSC、成纤维细胞、内皮细胞等多种细胞中均有报道^[22,23]。Li 等^[24]在特发性脊柱侧弯患者的关节突软骨中发现, Suv39h1 和 H3K9me3 水平升高可通过 miR-15a/Bcl2 通路促进软骨细胞异常增殖。这一结果说明 Suv39h1 不仅在退变中具有作用, 也可能通过表观遗传调控介导软骨细胞异常生物学行为, 从而参与骨骼疾病的发生与发展。

综上, 本研究揭示了异常应力可诱导小鼠软骨细胞退变, 其中 H3K9me3 表达明显上调, Suv39h1 可能是其关键修饰酶, 而干扰 Suv39h1 可以通过抑制 H3K9me3 缓解软骨细胞退变。总之, Suv39h1/H3K9me3 及其相关分子可能成为治疗关节炎的一个潜在靶点。

- [9] J.Zhang, G.Donahue, M.B.Gilbert, T.Lapidot, D.Nicetto, K.S.Zaret, Distinct H3K9me3 heterochromatin maintenance dynamics govern different gene programmes and repeats in pluripotent cells, *Nat Cell Biol* 26(12)(2024)2115-2128.
- [10] H.Li, Y.Tang, Z.Liu, K.Chen, K.Zhang, S.Hu, C.Pan, H.Yang, B.Li, H.Chen, Lumbar instability remodels cartilage endplate to induce intervertebral disc degeneration by recruiting osteoclasts via Hippo-CCL3 signaling, *Bone Res* 12(1)(2024)34.
- [11] J.Bleuel, F.Zaucke, G.P.Bruggemann, A.Niehoff, Effects of cyclic tensile strain on chondrocyte metabolism: a systematic review, *PLoS One* 10(3)(2015)e0119816.
- [12] R.Thaler, F.Khani, I.Sturmlechner, S.S.Deighani, J.M.Denbeigh, X.Zhou, O.Pichurin, A.Dudakovic, S.S.Jerez, J.Zhong, J.H.Lee, R.Natarajan, I.Kalajzic, Y.H.Jiang, D.R.Deyle, E.P.Paschalis, B.M.Misof, T.Ordog, A.J.van Wijnen, Vitamin C epigenetically controls osteogenesis and bone mineralization, *Nat Commun* 13(1)(2022)5883.
- [13] 郭欢萱, 康志杰, 白小龙, 田晓燕, 金凤, 有限元分析技术在膝关节生物力学应用中的特点与优势, *中国组织工程研究* 29(15)(2025)3253-3261.
- [14] G.Weil, K.Lu, M.Umar, Z.Zhu, W.W.Lu, J.R.Speakman, Y.Chen, L.Tong, D.Chen, Risk of metabolic abnormalities in osteoarthritis: a new perspective to understand its pathological mechanisms, *Bone Res* 11(1)(2023)63.
- [15] 王珂, 张泽毅, 张力文, 张美珍, 不同年龄膝骨关节炎患者坐起生物力学特征的系统综述和 Meta 分析, *中国组织工程研究* 28(18)(2024)2939-2946.
- [16] S.Park, J.H.Cho, J.H.Kim, J.A.Kim, Histone lysine methylation modifiers controlled by protein stability, *Exp Mol Med* 56(10)(2024)2127-2144.
- [17] S.Gold, A.Shilatifard, Epigenetic therapies targeting histone lysine methylation: complex mechanisms and clinical challenges, *J Clin Invest* 134(20)(2024).
- [18] M.Milanovic, D.N.Y.Fan, D.Belenki, J.H.M.Dabritz, Z.Zhao, Y.Yu, J.R.Dorr, L.Dimitrova, D.Lenze, I.A.Monteiro Barbosa, M.A.Mendoza-Parra, T.Kanashova, M.Metzner, K.Pardon, M.Reimann, A.Trumpp, B.Dorken, J.Zuber, H.Gronemeyer, M.Hummel, G.Dittmar, S.Lee, C.A.Schmitt, Senescence-associated reprogramming promotes cancer stemness, *Nature* 553(7686)(2018)96-100.
- [19] K.Schleich, J.Kase, J.R.Dorr, S.Trescher, A.Bhattacharya, Y.Yu, E.M.Wailes, D.N.Y.Fan, P.Lohneis, M.Milanovic, A.Lau, D.Lenze, M.Hummel, B.Chapuy, U.Leser, M.Reimann, S.Lee, C.A.Schmitt, H3K9me3-mediated epigenetic regulation of senescence in mice predicts outcome of lymphoma patients, *Nat Commun* 11(1)(2020)3651.
- [20] D.Gou, R.Liu, X.Shan, H.Deng, C.Chen, J.Xiang, Y.Liu, Q.Gao, Z.Li, A.Huang, K.Wang, N.Tang, Gluconeogenic enzyme PCK1 supports S-adenosylmethionine biosynthesis and promotes H3K9me3 modification to suppress hepatocellular carcinoma progression, *J Clin Invest* 133(13)(2023).
- [21] Y.Liu, J.A.Hrit, A.A.Chomiak, S.Stransky, J.R.Hoffman, R.L.Tiedemann, A.K.Wiseman, L.S.Kariapper, B.M.Dickson, E.J.Worden, C.J.Fry, S.Sidoli, S.B.Rothbart, DNA hypomethylation promotes UHRF1- and SUV39H1/H2-dependent crosstalk between H3K18ub and H3K9me3 to reinforce heterochromatin states, *Mol Cell* 85(2)(2025)394-412 e12.
- [22] W.Zhang, J.Li, K.Suzuki, J.Qu, P.Wang, J.Zhou, X.Liu, R.Ren, X.Xu, A.Ocampo, T.Yuan, J.Yang, Y.Li, L.Shi, D.Guan, H.Pan, S.Duan, Z.Ding, M.Li, F.Yi, R.Bai, Y.Wang, C.Chen, F.Yang, X.Li, Z.Wang, E.Aizawa, A.Goebel, R.D.Soligalla, P.Reddy, C.R.Esteban, F.Tang, G.H.Liu, J.C.Belmonte, Aging stem cells. A Werner syndrome stem cell model unveils heterochromatin alterations as a driver of human aging, *Science* 348(6239)(2015)1160-3.
- [23] A.Shamma, Y.Takegami, T.Miki, S.Kitajima, M.Noda, T.Obara, T.Okamoto, C.Takahashi, Rb Regulates DNA damage response and cellular senescence through E2F-dependent suppression of N-ras isoprenylation, *Cancer Cell* 15(4)(2009)255-69.
- [24] J.Li, G.Yang, S.Liu, L.Wang, Z.Liang, H.Zhang, Suv39h1 promotes facet joint chondrocyte proliferation by targeting miR-15a/Bcl2 in idiopathic scoliosis patients, *Clin Epigenetics* 11(1)(2019)107.