生理学报 *Acta Physiologica Sinica*, August 25, 2019, 71(4): 637–644
DOI: 10.13294/j.aps.2019.0051 http://www.actaps.com.cn

综 述

组蛋白3甲基转移酶MLL4的研究进展

郭慧慧[1]，卢圣锋[1]，蔡 云[1]，刘淑宝[2]，朱冰梅[2,*]

[1]南京中医药大学针药结合教育部重点实验室，南京 210023；[2]四川大学华西医院再生医学研究中心，成都 610041

摘 要：混合连锁白血病因子4 (mixed lineage leukemia 4, MLL4)是组蛋白H3第4位赖氨酸(H3K4)一种特异的甲基化转移酶，也是COMPASS/Set1-like蛋白复合物中重要成员之一。MLL4蛋白本身及其介导的H3K4甲基化修饰，均能引起染色质结构和功能的改变，调控基因转录与表达。随着近年对MLL4蛋白研究的深入，*MLL4*基因、MLL4蛋白、蛋白复合物在各组织器官的发育、肿瘤疾病等生理与病理生理过程中的作用逐渐被揭示。本文对*MLL4*基因、MLL4蛋白特征、生物学功能及其对疾病的影响等方面的研究进展进行综述，以期进一步理解组蛋白甲基化转移酶对基因表达调控的影响及其非酶学依赖的功能，为相关疾病预防和诊治提供新的思路。

关键词：MLL4；组蛋白3赖氨酸4；组蛋白甲基化；组蛋白甲基化转移酶
中图分类号：R34

Research progress of histone 3 methyltransferase MLL4

GUO Hui-Hui[1], LU Sheng-Feng[1], CAI Yun[1], LIU Shu-Bao[2], ZHU Bing-Mei[2,*]

[1]*Key Laboratory of Acupuncture and Medicine Research of Ministry of Education, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210023, China;* [2]*Regenerative Medicine Research Center, West China Hospital, Sichuan University, Chengdu 610041, China*

Abstract: Mixed linked leukemia 4 (MLL4) is a specific methyltransferase of histone 3 position lysine 4 (H3K4). It is also one of the important members of COMPASS/Set1-like protein complex. Both MLL4 protein itself and its mediated H3K4 methylation modification can cause changes in chromatin structure and function, thus regulating gene transcription and expression. With the studies of MLL4 protein in recent years, the roles of *MLL4* gene, MLL4 protein and protein complex in the development of tissues and organs, tumor diseases and other physiological and pathophysiological processes have been gradually revealed. In this paper, the research progress of *MLL4* gene, MLL4 protein characteristics, biological function and its effect on disease were reviewed, in order to further understand the effect of histone methyltransferase on gene expression regulation, as well as its non-enzyme dependent function. This paper may provide new ideas for the prevention, diagnosis and treatment of related diseases.

Key words: MLL4; H3K4; histone methylation; histone methyltransferase

在哺乳动物中，催化组蛋白 H3 赖氨酸 4 (H3K4) 位点的甲基化转移酶 COMPASS/Set1-like 蛋白复合物有 SETA、SETB 以及 MLL1~4 六个蛋白[1]。其中，组蛋白甲基化酶混合连锁白血病因子 4 (mixed lineage leukemia 4，MLL4，又称 KMT2D) 主要介导 H3K4 单甲基化 (H3K4me1) 在增强子区域富集，并发挥一定的基因调控功能[2–4]。越来越多的研究显示，MLL4 对于细胞分化、机体组织器官发育、代谢、先天性疾病综合征、肿瘤疾病都有重要的影响，本文就其最新研究进展进行综述。

1 MLL4的生物学特征

1.1 *MLL4*基因及其编码蛋白质结构与功能

人类 *MLL4* 基因 (又称 *ALR*、*KMS*、*MLL2*、*KMT2D*),

Received 2018-12-25 Accepted 2019-03-06
*Corresponding author. E-mail: zhubm64@hotmail.com

位于第 12 号染色体长臂的 1 区 3 带 (12q13.12) 上，含有 56 个外显子，编码 5 537 个氨基酸残基组成的蛋白，分子量约 600 kDa [5–11]，是小鼠 *Kmt2d* (*Mll4*) 基因的同源基因。*MLL4* 基因编码的 MLL4 蛋白因具有同源蛋白酿酒酵母 Set1 蛋白和果蝇 Trithorax related/COMPASS 蛋白共有的 SET [Su(var)3-9, Enhancer of Zeste, Trithorax] 结构域和催化组蛋白甲基化的功能而被发现、命名 (见图 1)，并被归类于组蛋白甲基化转移酶 SET1/MLL (mixed lineage leukemia) 家族 (又称 KMT2s 家族 /COMPASS 家族)[12–18]。

目前认为，MLL4 主要由 C 端具有催化活性的 SET 结构域、毗邻的 2 个 FY-rich N/C 端结构域 (FYRN 和 FYRC)、1 个 HMG-I 蛋白结构域 (high mobility group)、9 个 Leu-X-X-Leu-Leu (LxxLL) 结构域 [18] 和 7 个含有锌指结构的 PHD (plant homeotic domain) 结构域构成 (图 1) [11, 18, 19]。其中，SET 结构域由 150 个氨基酸残基构成，编码 SET-N、SET-I、SET-C 和 post-SET 4 个模体，是 MLL4 具有催化活性的主要区域，也是目前发现的大多数组蛋白甲基转移酶的共有的保守催化结构域。同其他 MLL 家族蛋白一样，该蛋白功能的发挥依赖于核心蛋白复合体 WDR5、RbBP5、ASH2L、DPY30 (酵母 Set1 同源复合蛋白 Swd3、Swd1、Bre2、Sdc1) 以及转录因子协同作用，催化 H3K4 单甲基化 (H3K4me1)、二甲基化 (H3K4me2) 和三甲基化 (H3K4me3) 以及激活 MLL4 相关功能 [19–23]。

MLL4 蛋白除了具有催化活性的 SET 保守结构域以外，其他结构域如 PHD 等在基因转录与表达过程中也起着至关重要的作用 [19, 24]。PHD 结构域也是 MLL4 蛋白中的一段保守域。研究发现，$PHD_{4\text{-}6}$ 能够结合未甲基化或非对称二甲基化的组蛋白 H4 第 3 个位点精氨酸 (H4R3me0, H4R3me2a)，并激活 MLL4 甲基化酶的活性和 MLL4 介导的细胞分化过程 [24]。近来有报道，在歌舞伎综合征中，*MLL4* 基因突变会导致 PHD_5 折叠结构的改变，进而降低 MLL4 在组蛋白的结合以及功能活性 [24]。

FYRN 和 FYRC 模体序列位于 MLL4 蛋白 C 端，靠近 SET 结构域，富含苯丙氨酸和酪氨酸，分别由 50 和 100 个氨基酸残基组成 [25]。该结构域存在于多种染色质结合相关的蛋白中，如生长抑制蛋白 TBRG1 (transforming growth factor beta regulator 1)、转化生长因子 β1 (transforming growth factor β1, TGF-β1) 以及 MLL 家族的其他成员蛋白结构中 [25, 26]。目前虽然发现 FYRN 和 FYRC 结构域参与 MLL4 调控基因及细胞分化的过程，但它们的具体功能仍未完全明确。但在 MLL1 蛋白中，FYRN/FYRC 结构域能够使被水解切断的 MLL 蛋白形成异二聚体，从而加强 MLL 蛋白的稳定性 [25]。

除上述结构外，在 MLL4 蛋白 N 端的两个 PHD 结构域和 C 端的 SET 结构域之间，还有 1 个 HMG-I 蛋白结构域和多个能相互作用的核受体 LXXLLs 基序，这些结构多见于转录因子和共效应因子的结构蛋白中 [18]，表明 MLL4 蛋白在基因转录和表达的调控过程中发挥重要作用。

1.2 MLL4及其蛋白复合物的功能

H3K4 甲基化转移酶 MLL4 和 MLL3 蛋白属于果蝇同源甲基化酶 Trr (Trithorax-related) 的分支。MLL4 和 MLL3 既有功能上的共通性，也有各自功能特异性。例如：MLL3/MLL4 主要催化增强子区域 H3K4me1/2 的表达 (图 2)，激活增强子对细胞特异性基因的调控，调控细胞分化 [4]。这两种蛋白的突变均会导致各种肿瘤疾病的发生，但两者突变的位点以及突变后结合的功能蛋白各有所异，如组蛋白甲基化酶 MLL3 (即 KMT2C) 通过调控雌激素受体 ERα 增强子区域的 H3K4me1 和 H3K27ac 的表达，激活 ERα 的活性和乳腺癌细胞的增殖；与此相一致的是，在 ERα 阳性乳腺癌的患者中，发现 *MLL3* 基因突变 [27]。而 MLL4 蛋白通过 PI3K 信号通路调控雌激素受体依赖的转录来影响乳腺癌的发生、发展 [28]。

近年来研究显示，MLL4 蛋白与 PTIP、PA1、RbBP5、WDR5、ASH2L、DPY30、NCOA6、UTX 和 MLL3 蛋白构成一个蛋白质复合物 [11](图 2)。其中，PTIP 与 PA1 作为 MLL3 和 MLL4 蛋白亚基，在不依赖 MLL3 和 MLL4 蛋白酶活性的情况下，可以独立调控免疫球蛋白 Igh 类别转换的转录过程，影响 B 细胞的免疫应答 [29]。此外，在 TGF-β/Smads 信号转导通路中，PTIP、PA1 与蛋白 SMAD2-4 结合并相互作用，能下调 *SERPINE1* 和 *PMEPA1* 基因的表达，调控细胞的分化 [30]。蛋白 RbBP5、WDR5、ASH2L 和 DPY30 共同组成的复合蛋白又称为 WRAD 蛋白，具有催化 H3 甲基化的作用 [31]。此外，WRAD 参与细胞周期的调控，影响 S 期和 M 期的转变 [31]。其中，RbBP5 蛋白具有联系 ASH2L、WDR5 和 SET 蛋白之间相互作用的功能 [20]。在 MLL 蛋白家族中，WDR5 具有维持蛋白稳定性，促进 MLL

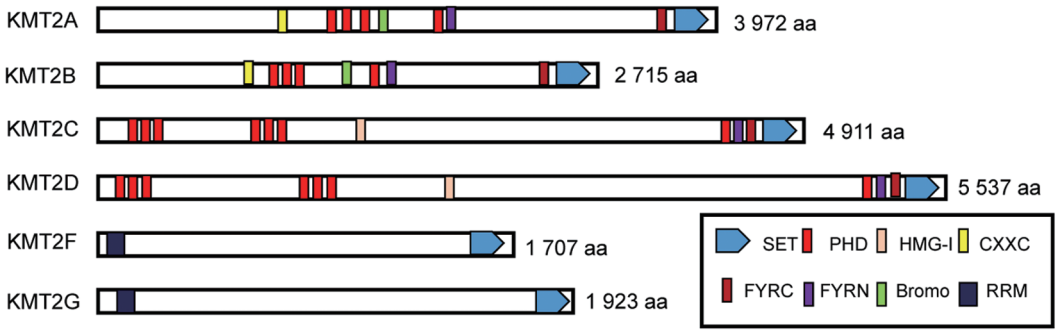

图 1. 人KMT2家族蛋白结构

Fig. 1. Structure of human KMT2 family proteins. The enzymatic SET domains are shown in blue. The picture was modified from reference [11] with permission. PHD: plant homeotic domain; HMG-I: high mobility group I; FYRC/FYRN: FY-rich C/N-terminal; Bromo: bromodomain; RRM: RNA recognition motif; CXXC: nonmethylated-CpG DNA binding domain.

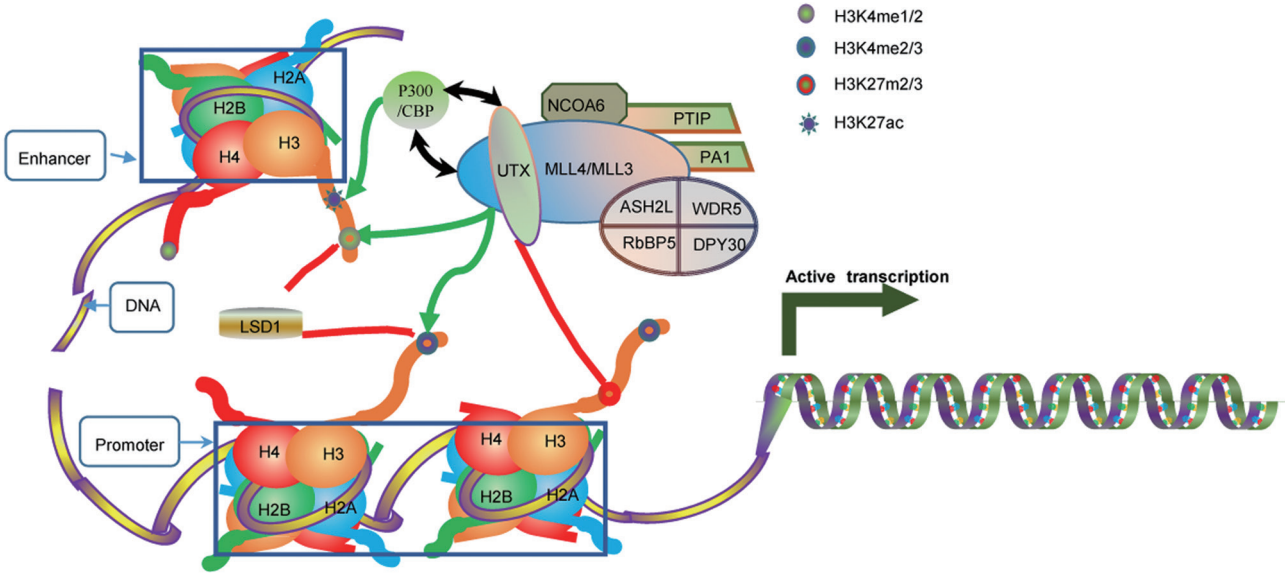

图 2. MLL4蛋白以及复合物对染色质的修饰功能

Fig. 2. Modification of the chromatin by the MLL4 protein and the complex. The MLL4/MLL3/COMPASS epigenetic axis governs promoter and enhancer function in normal cells. PA1, PTIP associated 1; PTIP, PAX transactivation-domain interacting protein; MLL4: mixed lineage leukemia 4; MLL3: mixed lineage leukemia 3; LSD1: lysine-specific demethylase 1; CBP: CREB-binding protein; UTX: lysine demethylase 6A (also known as KDM6A); WDR5: WD repeat-containing protein 5; NCOA6: nuclear receptor coactivator 6; ASH2L: absent, small, homeotics 2-like; RbBP5: Retinoblastoma-binding protein 5; Dpy-30: Dumpy-30.

家族蛋白对 H3K4 甲基化的修饰作用 [32]。同时，WDR5 对染色质重塑、维持胚胎干细胞活性，调控干细胞自我更新以及对长链非编码 RNA 介导基因的转录等方面都发挥重要作用 [33, 34]。MLL4 蛋白复合物中的 UTX 蛋白可以去除启动子区域 H3K27 二甲基化和三甲基化修饰 (图 2)，进而调控基因转录、表达，决定细胞的分化 [35]。实际上，H3K4 甲基化转移酶活性反过来亦具有稳定 MLL4 蛋白酶的作用 [36]。

2 MLL4正常生理功能

2.1 MLL4参与细胞分化和组织发育

Lee 等研究发现，全身敲除小鼠 *kmt2d* 基因后，胚胎在第 9 天左右发生死亡 [4]。其中，*MLL4* 基因敲除的幼鼠棕色脂肪含量和肌组织量明显减少 [4]。MLL4 通过催化 H3K4 甲基化 (主要为 H3K4me1/2)，招募 H3K27 乙酰化 (H3K27ac) 转移酶 CBP/p300，能激活增强子功能 (图 2)，调控棕色脂肪相关基因的转录，最终影响棕色脂肪细胞的分化 [37]。此外，

MLL4 的缺失及其 H3K4 甲基化修饰的减少会影响正常 B 细胞分化过程，如增加稳定状态的过渡型 B 细胞数量，促进生发中心的形成和 CD40 激活的 B 细胞增殖等 [38]。Dorighi 等 [39] 研究显示，MLL4 和 MLL3 蛋白的作用不依赖 H3K4 单甲基化修饰，这两种蛋白自身具有促进 RNA 合成和转录的功能。综上可知，MLL4 对细胞分化和组织发育影响重大。

2.2 MLL4参与代谢过程

Kim 等 [40] 通过比较 DN2-TG 转基因小鼠与 DN2/m 小鼠的表型改变和肝脏 X 受体 (liver X receptors, LXRs) 的功能变化，发现 ASC-2 (activating signal cointegrator 2) 蛋白复合物 (又称 ASCOM 蛋白复合物) 在肝脏脂质代谢过程中具有重要的作用。MLL4 与 MLL3 蛋白是 ASC-2 蛋白复合物中的组成部分 [41]。随后，Kim 等 [42] 发现在高脂饮食小鼠模型中，营养过剩导致小鼠肝脏 ABL1 激酶、过氧化物酶体增殖物激活受体 γ2 (peroxisome proliferator activated receptor γ2, PPARγ2) 表达水平上调，促进 PPARγ2 与 MLL4 蛋白复合物的结合，从而激活肝性脂肪变性基因的表达。Koutsioumpa 等 [43] 研究显示，MLL4 表达降低导致下游的糖酵解增加和脂质谱改变，进而影响胰腺癌细胞的形成和增殖。此外，*MLL4* 基因突变引起的歌舞伎综合征患者表现出青春期延长、甲状腺功能减退、肥胖、生长激素缺乏等一系列内分泌功能失调症状 [44]。由此可见，MLL4 在代谢过程中扮演重要角色。Cao 等研究显示，MLL4 蛋白及其介导的 H3K4 的甲基化修饰，与 H3K4 去甲基化酶 LSD1、其他转录后修饰、转录因子等在机体内有协同作用 [45](图 2)。当 MLL4 蛋白以及蛋白复合物发生变化，机体内稳态失衡会引发一系列疾病的发生。

3 *MLL4*基因及其编码蛋白质在疾病中的作用

3.1 *MLL4*基因及其编码蛋白质缺陷导致先天性疾病

歌舞伎综合征是一种以特殊容貌、全身发育迟滞、智力障碍、心血管疾病和骨骼肌发育异常等多种先天性异常为特征的疾病 [44]。患该疾病的儿童 *MLL4* 和 *KDM6A* 基因发生突变，且患儿先天性心脏发育异常与 *MLL4* 基因突变密切相关 [46]。敲除斑马鱼的人源同源基因 *MLL4* 和 *KDM6A* 后，机体表现为颅面部、脑部和心脏的发育异常 [44, 47, 48]。在神经发育疾病中，*MLL1* 和 *MLL4* 基因的缺失以及 H3K4 甲基化修饰水平降低会导致儿童发育阶段的智力低下、孤独症、获得性障碍等一系列脑神经发育异常疾病 [49]。在心脏发育方面，敲除小鼠心脏前体细胞、心肌细胞中的 *MLL4* 后，小鼠胚胎期心脏发育出现异常；与此同时，增强子和启动子区域 H3K4 单甲基化和二甲基化水平明显减少，与心脏发育相关的离子转运基因、缺氧 / 复氧和细胞周期相关基因的表达也显著下调 [50]。虽然目前仍不能将 *MLL4* 基因变异、MLL4 蛋白以及 H3K4me1 作为临床心脏发育异常等疾病的诊断标记物，但以上研究结果表明 MLL4 能够调控心脏发育过程相关基因的表达，在早期发育以及先天性疾病发生、发展中发挥重要作用。

3.2 *MLL4*基因及其编码蛋白质与肿瘤相关

近年来癌症的发病机制研究显示，*MLL4* 基因及其编码蛋白质在肿瘤发生、发展中扮演重要角色 [51]。在人弥漫性大 B 细胞淋巴瘤和滤泡性淋巴瘤患者中发现 *MLL4* 基因突变率达到 30%~90%，在肺鳞状细胞癌患者中 *MLL4* 突变率为 20% [10]。此外，研究显示，在结直肠癌、B 细胞淋巴瘤、膀胱上皮癌、妇科中的癌肉瘤、非小细胞肺癌等肿瘤疾病中都存在不同程度的 *MLL4* 突变 [10]。而 MLL4 蛋白对癌症的影响，与其介导的 H3K4 甲基化修饰以及增强子和启动子功能的激活有密切联系。MLL4 与 H3K4 甲基化修饰能招募蛋白复合物在增强子区域结合且相互作用，最终影响染色质构象和基因的表达 [51, 52]。如 MLL4-GPS2 融合蛋白相互作用能使染色质产生易位，从而导致儿童未分化梭形细胞肉瘤的发生 [53]。MLL4 与转录因子 P63 在增强子区域结合，能够调控上皮基底膜的粘附、增殖相关的靶基因，进而影响上皮的分层 [54]。Augert 等 [55] 在小细胞肺癌患者和小细胞肺癌细胞系中均检测到 *MLL4* 基因突变和 H3K4 甲基化表达水平的下调。Rahnamoun 等 [56] 还发现，突变体 p53 通过招募 MLL4 介导 H3K4me1 在增强子区域的修饰，促使癌基因激活。总之，*MLL4* 基因以及编码的蛋白质与肿瘤疾病联系密切，围绕其进行进一步研究，将有利于加深对肿瘤疾病发病机理的认识，为寻找新的治疗手段提供新的思路。

4 总结与展望

甲基化转移酶 MLL4 通过对 H3K4 不同程度的甲基化修饰，以及与其他组蛋白修饰 (去甲基化、乙酰化、磷酸化、泛素化等) 的协同作用 [57]，改

变染色质的结构，调控基因的转录与表达，参与早期胚胎组织器官的形成以及抑制癌基因表达等过程[3, 48, 58–60]，与肿瘤（胰腺癌[18, 61]、恶性胶质瘤[23]、乳腺癌[62]、结直肠癌[56]、急性骨髓性白血病等[18, 38, 63]和先天性心脏病[64]等疾病的发生尤为密切。

同时，MLL4的功能活性并非完全通过H3K4的修饰作用，其本身也调控染色质结构与功能的改变[39, 65]。那么在不同的细胞环境，不同的细胞周期，MLL4是如何启动对H3K4甲基化的修饰作用的，MLL4蛋白功能的发挥与H3K4甲基化功能有何异同，具体MLL4是如何实现基因的转录调控，引起基因的改变，介导上下游的信号转导通路的，目前还未完全清楚。相信随着研究的不断深入，MLL4的作用及其机制将进一步明确，可以更好地为临床应用和药物开发提供潜在靶点和新思路。

* * *

致谢：本综述受国家自然科学基金(No. 81574063, 81870224)和江苏省高校自然科学研究重大项目(No. 15KJA360004, 16KJA360003)资助。

参考文献

1 Hyun K, Jeon J, Park K, Kim J. Writing, erasing and reading histone lysine methylations. Exp Mol Med 2017; 49(4): e324.

2 Herz HM, Mohan M, Garruss AS, Liang K, Takahashi YH, Mickey K, Voets O, Verrijzer CP, Shilatifard A. Enhancer-associated H3K4 monomethylation by Trithorax-related, the *Drosophila* homolog of mammalian Mll3/Mll4. Genes Dev 2012; 26(23): 2604–2620.

3 Hu D, Gao X, Morgan MA, Herz HM, Smith ER, Shilatifard A. The MLL3/MLL4 branches of the COMPASS family function as major histone H3K4 monomethylases at enhancers. Mol Cell Biol 2013; 33(23): 4745–4754.

4 Lee JE, Wang C, Xu S, Cho YW, Wang L, Feng X, Baldridge A, Sartorelli V, Zhuang L, Peng W, Ge K. H3K4 mono- and di-methyltransferase MLL4 is required for enhancer activation during cell differentiation. Elife 2013; 2: e01503.

5 Prasad R, Zhadanov AB, Sedkov Y, Bullrich F, Druck T, Rallapalli R, Yano T, Alder H, Croce CM, Huebner K, Mazo A, Canaani E. Structure and expression pattern of human ALR, a novel gene with strong homology to ALL-1 involved in acute leukemia and to *Drosophila trithorax*. Oncogene 1997; 15(5): 549–560.

6 Issaeva I, Zonis Y, Rozovskaia T, Orlovsky K, Croce CM, Nakamura T, Mazo A, Eisenbach L, Canaani E. Knockdown of ALR (MLL2) reveal ALR target genes and leads to alteration in cell adhesion and growth. Mol Cell Biol 2007; 27(5): 1889–1903.

7 Li Y, Bögershausen N, Alanay Y, SimsekKiper PO, Plume N, Keupp K, Pohl E, Pawlik B, Rachwalski M, Milz E, Thoenes M, Albrecht B, Prott EC, Lehmkühler M, Demuth S, Utine GE, Boduroglu K, Frankenbusch K, Borck G, Gillessen-Kaesbach G, Yigit G, Wieczorek D, Wollnik B. A mutation screen in patients with Kabuki syndrome. Hum Genet 2011; 130(6): 715–724.

8 Bögershausen N, Bruford E, Wollnik B. Skirting the pitfalls: a clear-cut nomenclature for H3K4 methyltransferases. Clin Genet 2013; 83(3): 212–214.

9 Schwab, KR, Patel SR, Dressler GR. Role of PTIP in class switch recombination and long-range chromatin interactions at the immunoglobulin heavy chain locus. Mol Cell Biol 2011; 31(7): 1503–1511.

10 Ford DJ, Dingwall AK. The cancer COMPASS: navigating the functions of MLL complexes in cancer. Cancer Genet 2015; 208(5): 178–191.

11 Froimchuk E, Jang Y, Ge K. Histone H3 lysine 4 methyltransferase KMT2D. Gene 2017; 627: 337–342.

12 Nislow C, Ray E, Pillus L. SET1, a yeast member of the trithorax family, functions in transcriptional silencing and diverse cellular processes. Mol Biol Cell 1997; 8(12): 2421–2436.

13 Binda O. On your histone mark, SET, methylate! Epigenetics 2013; 8(5): 457–463.

14 Dillon SC, Zhang X, Trievel RC, Cheng X. The SET-domain protein superfamily protein lysine methyltransferases. Genome Biol 2005; 6(8): 227.

15 Ruthenburg AJ, Allis CD, Wysocka J. Methylation of lysine 4 on histone H3: intricacy of writing and reading a single epigenetic mark. Mol Cell 2007; 25(1): 15–30.

16 Cho YW, Hong T, Hong S, Guo H, Yu H, Kim D, Guszczynski T, Dressler GR, Copeland TD, Kalkum M, Ge K. PTIP associates with MLL3- and MLL4-containing histone H3 lysine 4 methyltransferase complex. J Biol Chem 2007; 282(28): 20395–20406.

17 Lee JS, Shukla A, Schneider J, Swanson SK, Washburn MP, Florens L, Bhaumik SR, Shilatifard A. Histone crosstalk between H2B monoubiquitination and H3 methylation mediated by COMPASS. Cell 2007; 131(6): 1084–1096.

18 Rao RC, Dou Y. Hijacked in cancer: the KMT2 (MLL) family of methyltransferases. Nat Rev Cancer 2015; 15(6): 334–346.

19 Dhar SS, Lee SH, Kan PY, Voigt P, Ma L, Shi X, Reinberg D, Lee MG. Trans-tail regulation of MLL4-catalyzed H3K4 methylation by H4R3 symmetric dimethylation is mediated

by a tandem PHD of MLL4. Genes Dev 2012; 26(24): 2749–2762.

20 Li Y, Han J, Zhang Y, Cao F, Liu Z, Li S, Wu J, Hu C, Wang Y, Shuai J, Chen J, Cao L, Li D, Shi P, Tian C, Zhang J, Dou Y, Li G, Chen Y, Lei M. Structural basis for activity regulation of MLL family methyltransferases. Nature 2016; 530(7591): 447–452.

21 Dehé PM, Dichtl B, Schaft D, Roguev A, Pamblanco M, Lebrun R, Rodríguez-Gil A, Mkandawire M, Landsberg K, Shevchenko A, Shevchenko A, Rosaleny LE, Tordera V, Chávez S, Stewart AF, Géli V. Protein interactions within the Set1 complex and their roles in the regulation of histone 3 lysine 4 methylation. J Biol Chem 2006; 281(46): 35404–35412.

22 Mersman DP, Du HN, Fingerman IM, South PF, Briggs SD. Charge-based interaction conserved within histone H3 lysine 4 (H3K4) methyltransferase complexes is needed for protein stability, histone methylation, and gene expression. J Biol Chem 2012; 287(4): 2652–2665.

23 Dhar SS, Zhao D, Lin T, Gu B, Pal K, Wu SJ, Alam H, Lv J, Yun K, Gopalakrishnan V, Flores ER, Northcott PA, Rajaram V, Li W, Shilatifard A, Sillitoe RV, Chen K, Lee MG. MLL4 is required to maintain broad H3K4me3 peaks and super-enhancers at tumor suppressor genes. Mol Cell 2018; 70(5): 825–841.e6.

24 Ali M, Hom RA, Blakeslee W, Ikenouye L, Kutateladze TG. Diverse functions of PHD fingers of the MLL/KMT2 subfamily. Biochim Biophys Acta 2014; 1843(2): 366–371.

25 García-Alai MM, Allen MD, Joerger AC, Bycroft M. The structure of the FYR domain of transforming growth factor beta regulator 1. Protein Sci 2010; 19(7): 1432–1438.

26 Hsieh JJ, Ernst P, Erdjument-Bromage H, Tempst P, Korsmeyer SJ. Proteolytic cleavage of MLL generates a complex of N- and C-terminal fragments that confers protein stability and subnuclear localization. Mol Cell Biol 2003; 23(1): 186–194.

27 Gala K, Li Q, Sinha A, Razavi P, Dorso M, Sanchez-Vega F, Chung YR, Hendrickson R, Hsieh JJ, Berger M, Schultz N, Pastore A, Abdel-Wahab O, Chandarlapaty. KMT2C mediates the estrogen dependence of breast cancer through regulation of ERα enhancer function. Oncogene 2018; 37(34): 4692–4710.

28 Toska E, Osmanbeyoglu HU, Castel P, Chan C, Hendrickson RC, Elkabets M, Dickler MN, Scaltriti M, Leslie CS, Armstrong SA, Baselga J. PI3K pathway regulates ER-dependent transcription in breast cancer through the epigenetic regulator KMT2D. Science 2017; 355(6331): 1324–1330.

29 Starnes LM, Su D, Pikkupeura LM, Weinert BT, Santos MA, Mund A, Soria R, Cho YW, Pozdnyakova I, KubecHøjfeldt M, Vala A, Yang W, López-Méndez B, Lee JE, Peng W, Yuan J, Ge K, Montoya G, Nussenzweig A, Choudhary C, Daniel JA. A PTIP-PA1 subcomplex promotes transcription for IgH class switching independently from the associated MLL3/MLL4 methyltransferase complex. Genes Dev 2016; 30(2): 149–163.

30 Baas R, van Teeffelen HAAM, Tjalsma SJD, Timmers HTM. The mixed lineage leukemia 4 (MLL4) methyltransferase complex is involved in transforming growth factor beta (TGF-β)-activated gene transcription. Transcription 2018; 9(2): 67–74.

31 Ali A, Tyagi S. Diverse roles of WDR5-RbBP5-ASH2L-DPY30 (WRAD) complex in the functions of the SET1 histone methyltransferase family. J Biosci 2017; 42(1): 155–159.

32 Song JJ, Kingston RE. WDR5 interacts with mixed lineage leukemia (MLL) protein via the histone H3-binding pocket. J Biol Chem 2008; 283(50): 35258–35264.

33 Yang YW, Flynn RA, Chen Y, Qu K, Wan B, Wang KC, Lei M, Chang HY. Essential role of lnc RNA binding for WDR5 maintenance of active chromatin and embryonic stem cell pluripotency. Elife 2014; 3: e02046.

34 Lu K, Tao H, Si X, Chen Q. The histone H3 lysine 4 presenter WDR5 as an oncogenic protein and novel epigenetic target in cancer. Front Oncol 2018; 8: 502.

35 Arcipowski KM, Martinez CA, Ntziachristos P. Histone demethylases in physiology and cancer: a tale of two enzymes, JMJD3 and UTX. Curr Opin Genet Dev 2016; 36: 59–67.

36 Jang Y, Wang C, Zhuang L, Liu C, Ge K. H3K4 methyltransferase activity is required for MLL4 protein stability. J Mol Biol 2017; 429(13): 2046–2054.

37 Lai B, Lee JE, Jang Y, Wang L, Peng W, Ge K. MLL3/MLL4 are required for CBP/p300 binding on enhancers and super-enhancer formation in brown adipogenesis. Nucleic Acids Res 2017; 45(11): 6388–6403.

38 Yang W, Ernst P. SET/MLL family proteins in hematopoiesis and leukemia. Int J Hematol 2017; 105(1): 7–16.

39 Dorighi KM, Swigut T, Henriques T, Bhanu NV, Scruggs BS, Nady N, Still CD, Garcia BA, Adelman K, Wysocka J. Mll3 and Mll4 facilitate enhancer RNA synthesis and transcription from promoters independently of H3K4 monomethylation. Mol Cell 2017; 66(4): 568–576.

40 Kim SW, Park K, Kwak E, Choi E, Lee S, Ham J, Kang H, Kim JM, Hwang SY, Kong YY, Lee K, Lee JW. Activating signal cointegrator 2 required for liver lipid metabolism mediated by liver X receptors in mice. Mol Cell Biol 2003; 23(10): 3583–3592.

41 Goo YH, Sohn YC, Kim DH, Kim SW, Kang MJ, Jung DJ,

Kwak E, Barlev NA, Berger SL, Chow VT, Roeder RG, Azorsa DO, Meltzer PS, Suh PG, Song EJ, Lee KJ, Lee YC, Lee JW. Activating signal cointegrator 2 belongs to a novel steady-state complex that contains a subset of trithorax group proteins. Mol Cell Biol 2003; 23(1): 140–149.

42 Kim DH, Kim J, Kwon JS, Sandhu J, Tontonoz P, Lee SK, Lee S, Lee JW. Critical roles of the histone methyltransferase MLL4/KMT2D in murine hepatic steatosis directed by ABL1 and PPARγ2. Cell Rep 2016; 17(6): 1671–1682.

43 Koutsioumpa M, Hatziapostolou M, Polytarchou C, Tolosa EJ, Almada LL, Mahurkar-Joshi S, Williams J, Tirado-Rodriguez AB, Huerta-Yepez S, Karavias D, Kourea H, Poultsides GA, Struhl K, Dawson DW, Donahue TR, Fernández-Zapico ME, Iliopoulos D. Lysine methyltransferase 2D regulates pancreatic carcinogenesis through metabolic reprogramming. Gut 2019; 68(7): 1271–1286.

44 Moon JE, Lee SJ, Ko CW. A *de novo* KMT2D mutation in a girl with Kabuki syndrome associated with endocrine symptoms: a case report. BMC Med Genet 2018; 19(1): 102.

45 Cao K, Collings CK, Morgan MA, Marshall SA, Rendleman EJ, Ozark PA, Smith ER, Shilatifard A. An Mll4/COMPASS-Lsd1 epigenetic axis governs enhancer function and pluripotency transition in embryonic stem cells. Sci Adv 2018; 4(1): eaap8747.

46 Hannibal MC, Buckingham KJ, Ng SB, Ming JE, Beck AE, McMillin MJ, Gildersleeve HI, Bigham AW, Tabor HK, Mefford HC, Cook J, Yoshiura K, Matsumoto T, Matsumoto N, Miyake N, Tonoki H, Naritomi K, Kaname T, Nagai T, Ohashi H, Kurosawa K, Hou JW, Ohta T, Liang D, Sudo A, Morris CA, Banka S, Black GC, Clayton-Smith J, Nickerson DA, Zackai EH, Shaikh TH, Donnai D, Niikawa N, Shendure J, Bamshad MJ. Spectrum of MLL2 (ALR) mutations in 110 cases of Kabuki syndrome. Am J Med Genet A 2011; 155A(7): 1511–1516.

47 Shen E, Shulha H, Weng Z, Akbarian S. Regulation of histone H3K4 methylation in brain development and disease. Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci 2014; 369(1652): pii: 20130514.

48 Van Laarhoven PM, Neitzel LR, Quintana AM, Geiger EA, Zackai EH, Clouthier DE, Artinger KB, Ming JE, Shaikh TH. Kabuki syndrome genes KMT2D and KDM6A: functional analyses demonstrate critical roles in craniofacial, heart and brain development. Hum Mol Genet 2015; 24(15): 4443–4453.

49 Vallianatos CN, Iwase S. Disrupted intricacy of histone H3K4 methylation in neurodevelopmental disorders. Epigenomics 2015; 7(3): 503–519.

50 Ang SY, Uebersohn A, Spencer CI, Huang Y, Lee JE, Ge K, Bruneau BG. KMT2D regulates specific programs in heart development via histone H3 lysine 4 di-methylation. Development 2016; 43(5): 810–821.

51 Sze CC, Shilatifard A. MLL3/MLL4/COMPASS family on epigenetic regulation of enhancer function and cancer. Cold Spring Harb Perspect Med 2016; 6(11): 264–270.

52 Vedadi M, Blazer L, Eram MS, Barsyte-Lovejoy D, Arrowsmith CH, Hajian T. Targeting human SET1/MLL family of proteins. Protein Sci 2017; 26(4): 662–676.

53 O'Meara E, Stack D, Phelan S, McDonagh N, Kelly L, Sciot R, Debiec-Rychter M, Morris T, Cochrane D, Sorensen P, O'Sullivan MJ. Identification of an MLL4-GPS2 fusion as an oncogenic driver of undifferentiated spindle cell sarcoma in a child. Genes Chromosomes Cancer 2014; 53(12): 991–998.

54 Lin-Shiao E, Lan Y, Coradin M, Anderson A, Donahue G, Simpson CL, Sen P, Saffie R, Busino L, Garcia BA, Berger SL, Capell BC. KMT2D regulates p63 target enhancers to coordinate epithelial homeostasis. Genes Dev 2018; 32(2): 181–193.

55 Augert A, Zhang Q, Bates B, Cui M, Wang X, Wildey G, Dowlati A, MacPherson D. Small cell lung cancer exhibits frequent inactivating mutations in the histone methyltransferase KMT2D/MLL2: CALGB 151111 (alliance). J Thorac Oncol 2017; 12(4): 704–713.

56 Rahnamoun H, Hong J, Sun Z, Lee J, Lu H, Lauberth SM. Mutant p53 regulates enhancer-associated H3K4 monomethylation through interactions with the methyltransferase MLL4. J Biol Chem 2018; 293(34): 13234–13246.

57 Zhang T, Cooper S, Brockdorff N. The interplay of histone modifications - writers that read. EMBO Rep 2015; 16(11): 1467–1481.

58 Shen H, Xu W, Lan F. Histone lysine demethylases in mammalian embryonic development. Exp Mol Med 2017; 49(4): e325.

59 Mihaylova Y, Abnave P1, Kao D, Hughes S, Lai A, Jaber-Hijazi F, Kosaka N, Aboobaker AA. Conservation of epigenetic regulation by the MLL3/4 tumour suppressor in planarian pluripotent stem cells. Nat Commun 2018; 9(1): 3633.

60 Vlaming H, van Welsem T, de Graaf EL, Ontoso D, Altelaar AF, San-Segundo PA, Heck AJ, van Leeuwen F. Flexibility in crosstalk between H2B ubiquitination and H3 methylation *in vivo*. EMBO Rep 2014; 15(10): 1077–1084.

61 Koutsioumpa M, Hatziapostolou M, Polytarchou C, Tolosa EJ, Almada LL, Mahurkar-Joshi S, Williams J, Tirado-Rodriguez AB, Huerta-Yepez S, Karavias D, Kourea H, Poultsides GA, Struhl K, Dawson DW, Donahue TR, Fernández-Zapico ME, Iliopoulos D. Lysine methyltransferase 2D regulates pancreatic carcinogenesis through metabolic reprogramming. Gut 2019; 68(7): 1271–1286.

62 Ansari KI, Hussain I, Kasiri S, Mandal SS. HOXC10 is overexpressed in breast cancer and transcriptionally regulated by estrogen via involvement of histone methylases MLL3 and MLL4. J Mol Endocrinol 2012; 48(1): 61–75.

63 Yang W, Ernst P. Distinct functions of histone H3, lysine 4 methyltransferases in normal and malignant hematopoiesis. Curr Opin Hematol 2017; 24(4): 322–328.

64 Digilio MC, Gnazzo M, Lepri F, Dentici ML, Pisaneschi E, Baban A, Passarelli C, Capolino R, Angioni A, Novelli A, Marino B, Dallapiccola B. Congenital heart defects in molecularly proven Kabuki syndrome patients. Am J Med Genet A 2017; 173(11): 2912–2922.

65 Wang C, Lee JE, Lai B, Macfarlan TS, Xu S, Zhuang L, Liu C, Peng W, Ge K. Enhancer priming by H3K4 methyltransferase MLL4 controls cell fate transition. Proc Natl Acad Sci U S A 2016; 113(42): 11871–11876.