

论著·基础研究 doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2019.12.005

HBV PS1 反式激活蛋白 2 基因对 HepG2 细胞增殖和凋亡的影响*

鞠蔚华¹,李 钦¹,韩 铭²,刘顺爱²,吴 君¹,成 军^{2△},梁跃东¹

(1. 贵州医科大学附属医院感染科,贵阳 550004;

2. 首都医科大学附属北京地坛医院传染病研究所,北京 100015)

[摘要] **目的** 沉默乙型肝炎病毒(HBV)PS1 反式激活蛋白 2 基因(PS1TP2)对肝癌细胞 HepG2 增殖和凋亡的影响。**方法** 荧光定量 PCR(RT-PCR)用于检测 PS1TP2 基因在不同肝细胞系中基础表达水平。将 PS1TP2 小干扰 RNA(siRNA PS1TP2)及对应的阴性对照小干扰 RNA(siNC)作为干扰组和对照组分别瞬时转染至 HepG2 细胞中,培养 48 h 后,应用 CCK-8 试剂盒检测两组细胞的增殖活性水平;AnnexinV/7-AAD 流式细胞术检测两组细胞凋亡程度;RT-PCR 检测两组细胞中 PS1TP2、B 细胞淋巴瘤-2(Bcl-2)和 Bcl-2 相关 X 蛋白(Bax)基因 mRNA 表达水平;Western blot 检测两组细胞中 Bcl-2、Bax、人腺苷酸活化蛋白激酶(AMPK)、雷帕霉素靶蛋白(m-TOR)蛋白水平并计算 Bcl-2 与 Bax 的比例。**结果** PS1TP2 基因在肝癌细胞 HepG2 中的表达水平明显高于正常肝细胞 L02。干扰组 HepG2 细胞的增殖速率明显慢于对照组。与对照组相比,干扰组的 HepG2 细胞中 Annexin V+ 细胞数明显升高($P < 0.05$),HepG2 细胞中 Bcl-2 mRNA 表达量明显下降($P < 0.05$),Bax mRNA 表达量明显上升($P < 0.05$);同样在干扰组的 HepG2 细胞中 Bcl-2、m-TOR 蛋白水平明显下降($P < 0.05$),而 Bax、AMPK 蛋白水平则明显升高($P < 0.05$)。**结论** 干扰掉 PS1TP2 基因可经过线粒体途径促进 HepG2 细胞凋亡,可能是通过活化 AMPK-m-TOR 途径而抑制其增殖。

[关键词] PS1TP2 基因;HepG2 细胞;细胞增殖;细胞凋亡**[中图分类号]** R735.7**[文献标识码]** A**[文章编号]** 1671-8348(2019)12-2001-05**Effect of HBV PS1 trans-activator protein-2 gene on proliferation and apoptosis of HepG2 cells***JU Weihua¹, Li QIN², HAN Ming², LIU Shun'ai², WU Jun¹, CHENG Jun^{2△}, LIANG Yuedong¹

(1. Department of Infection, Affiliated Hospital of Guizhou Medical University,

Guiyang, Guizhou 550004, China; 2. Institute of Infectious Diseases, Beijing Ditan Hospital

Affiliated to Capital Medical University, Beijing 100015, China)

[Abstract] **Objective** To study the effect of HBV PS1 trans-activator protein 2 (PS1TP2) gene silencing on the proliferation and apoptosis of HepG2 cells and its possible mechanism. **Methods** Fluorescence quantitative PCR (RT-PCR) was used to detect the basal expression of PS1TP2 gene in different liver cell lines. PS1TP2 small interfering RNA (siRNA PS1TP2) and its corresponding negative control small interfering RNA (siNC) as the interference group and the control group, were transiently transfected into HepG2 cells, respectively and cultured for 48 h. CCK-8 kit was used to detect the proliferation activity of the two groups. The apoptosis of the two groups was detected by AnnexinV/7-AAD flow cytometry. The expression of PS1TP2, Bcl-2 and Bax mRNA were detected by RT-PCR. The expression of Bcl-2, Bax, AMP-activated protein kinase(AMPK) and mammalian target of rapamycin (m-TOR) protein were detected by Western Blot and the ratio of Bcl-2 to Bax was calculated. **Results** The expression of PS1TP2 gene in HepG2 cells was significantly higher than that in normal liver cells L02. Compared with the control group, the proliferation of HepG2 cells in the interfering group significantly decreased ($P < 0.05$), the number of Annexin V+ cells in HepG2 cells of the interference group significantly increased ($P < 0.05$), the expression of Bcl-2 mRNA in HepG2 cells of the interference group significantly decreased ($P < 0.05$), and the expression of Bax mRNA significantly increased ($P < 0.05$). The expression of Bcl-2 and m-TOR proteins in HepG2 cells of the interference group also decreased significantly ($P < 0.05$), while the expressions of Bax and AMPK protein increased significantly ($P < 0.05$). **Conclusion** PS1TP2 gene interfering can promote the apoptosis of HepG2 cells via mit-

* 基金项目:北京市医管局“登峰”人才培养计划团队项目(DFL20151701);北京市医管局重点医学专业发展计划(ZYLX201402)。作者

简介:鞠蔚华(1990—),住院医师,本科,主要从事病毒性肝炎肝纤维化防治方面的研究。△ 通信作者,E-mail:lyd302@163.com。

ochondrial pathway and may inhibit the proliferation via activating AMPK-m-TOR pathway.

[Key words] PS1TP2 gene; HepG2 cells; cell proliferation; cell apoptosis

原发性肝细胞癌(HCC)是全球常见的恶性肿瘤之一,尤其以亚洲和非洲国家高发,也是病死率最高的癌症之一^[1-2]。我国是全球 HCC 患者最多的地区, HCC 位居常见恶性肿瘤第 3 位, HCC 也在全球癌症死亡的原因中排名第 2 位^[3]。肿瘤对放化疗抵抗及手术切除后复发与转移是引起 HCC 快速发展和早期侵袭的主要原因^[4], 临床调查研究表明, 原发性肝癌根治性切除术后病死率可下降至 5% 以下, 但患者术后 5 年内手术部位转移及复发率高达 60%~70%^[5]。因此, 寻求 HCC 发生、发展的其他的分子生物学机制, 明确诱发 HCC 的生物指标并提供有效的诊疗靶点是当前的迫切任务^[6]。研究发现, 乙型肝炎病毒(HBV)前 S1 蛋白(HBV pre-S1)具有广泛的反式激活功能, 通过反式激活, 它调节肝细胞中相关基因的表达并影响肝细胞分化、增殖、凋亡等生物学功能, 在参与 HBV 致病机制和诱发肝癌中具有重要作用, 但 HBV 感染导致 HCC 发展的分子机制尚未完全清楚^[7]。2004 年, 本课题组运用抑制性消减杂交技术筛选和克隆出 HBV P-S1 蛋白反式激活靶基因 2 (PS1TP2)。最近的研究表明, PS1TP2 在肿瘤组织如人结肠癌中高表达, 但在结肠组织细胞中表达量低甚至不表达, 并与肿瘤分化、分级和分期, 细胞增殖、迁移和凋亡, 放化疗等相关^[8]。目前鲜见 PS1TP2 在肝癌中相关作用机制研究的报道。因此, 本研究探究 PS1TP2 对肝癌细胞 HepG2 增殖与凋亡的影响, 以确定 PS1TP2 是否通过细胞增殖、凋亡影响 HBV 相关肝病的发病机制和进展。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 细胞和 siRNA L02 细胞、HepG2 细胞取自北京地坛医院传染病研究所实验室; PS1TP2 siRNA 与目的序列无同源性的通用阴性对照 siNC 由上海吉玛制药技术有限公司合成。siRNA 序列见表 1。以上化学合成 PS1TP2 基因的小片段干扰 RNA (siPS1TP2) 转染 HepG2 细胞, 筛选沉默效果最佳干扰序列, 用于后续实验。

1.1.2 试剂 细胞 DMEM 培养基和胎牛血清 (美国 Life Technology 公司); 总 RNA 提取试剂盒 (美国 Omega 公司); jet PRIMETM 转染试剂 (法国

Polyplus Transfection 公司); 荧光定量 PCR (RT-PCR) 试剂 Power SYBR GREEN PCR Master Mix (美国 Applied Biosystem 公司); 细胞凋亡检测试剂 AnnexinV-FITC 和 7-AAD (美国 Biolegend 公司); 兔抗人腺苷酸活化蛋白激酶 (AMPK)、雷帕霉素靶蛋白 (m-TOR)、B 细胞淋巴瘤-2 (Bcl-2) 及 Bcl-2 相关 X 蛋白 (Bax)、兔抗人甘油醛-3-磷酸脱氢酶 (GAPDH) 多克隆抗体、山羊抗兔免疫球蛋白 G (IgG)-辣根过氧化物酶 (HRP) 和山羊抗鼠 IgG-HRP (美国 Santa cruz 公司)。

1.2 方法

1.2.1 RT-PCR 检测 PS1TP2 基因在 L02、HepG2 中的表达 将 L02 细胞和 HepG2 细胞培养于含有 10% 胎牛血清的 DMEM 培养液中, 放于 5% CO₂、37 °C 孵箱中培养; 细胞汇合度为培养瓶底的 80%~90% 时, 即可收集细胞, 根据 Total RNA Kit 试剂盒步骤提取总 RNA, 将提取的 RNA 反转录为 cDNA, 然后依据 Power SYBR® Green PCR Master Mix 说明书检测 PS1TP2 基因在两种细胞中的表达量。

1.2.2 PS1TP2 siRNA 转染与分组处理 在 HepG2 细胞铺展开在培养瓶底部汇合度为 80%~90% 时即可分板处理, 待 6 孔板细胞达到 60%~70% 汇合度, 可分别转染小干扰 RNA (siRNA) 作为干扰组、siNC 作为对照组进行后续实验。

1.2.3 CCK-8 活性检测试剂盒测定细胞增殖水平 接种对数生长期 HepG2 细胞于 3 个 96 孔板 (2×10³/孔), 各设置 6 个重复孔。同时转染后分别于不同时间点 (24、48、72 h) 加入 CCK-8 试剂, 每孔加 10 μL, 继续培养 1 h。上机测定每个孔的 450 nm 波长的光密度 (OD) 值, 重复 3 次。

1.2.4 Annexin V 检测细胞凋亡程度 转染培养 HepG2 细胞 48 h 后, 收集细胞, 按照 Annexin V /7-AAD 检测试剂说明书加入 Annexin V 与 7-AAD 染料处理细胞, 使用流式细胞仪上机检测细胞凋亡。

1.2.5 RT-PCR 检测目的基因表达水平 转染后培养 HepG2 细胞 48 h, 按照上述实验方法提取 HepG2 细胞中总 RNA, 并把提取的 RNA 反转录为 cDNA, 然后依据上述试剂盒的说明书进行相对应基因的表达量检测, 目的基因引物序列见表 2。

表 1 PS1TP2 基因 siRNA 序列

基因	上游引物 (5'-3')	下游引物 (5'-3')
siRNA-PS1TP2-748	GCAACUGCCAAGGCCUAUTT	AUAGGCCUUUGGCAGUUGCTT
siRNA-PS1TP2-1549	GCUACUGUAAACUCUCCUATT	UAGGAGAGUUUACAGUAGCTT
siRNA-PS1TP2-2101	GCUACCAACCCAUUGGUAATT	UUACCAUUGGUUGGUAGCTT

表 2 目的基因引物序列

基因	上游序列(5'-3')	下游序列(5'-3')
GAPDH	CTTTGGTATCGTGGAAGGACTC	GTAGAGGCAGGGATGATGTTCT
Bax	GCGATGAACTGGACAACAACAT	TAGCAAAGTAGAAAAGGGCAACC
Bcl-2	ACGAGTGGGATACTGGAGATG	TAGCGACGAGAGAAGTCATCC

1.2.6 Western blot 检测 AMPK、m-TOR、Bcl-2 及 Bax 的表达水平 小干扰 RNA、siNC 转染后 48 h 蛋白裂解液裂解法提取细胞总蛋白,测定蛋白浓度后进行 Western blot,蛋白质样品进行电泳并保持湿度转移至聚偏二氟乙烯(PVDF)膜,于 1×TBST 配制的 5%脱脂牛奶封闭 2 h;参照内参蛋白标记物切 PVDF 膜,4℃孵育一抗兔抗人 AMPK(1:1 000)、m-TOR(1:1 000)、Bax(1:1 000)、Bcl-2(1:500)和 GAPDH(1:1 000)过夜;次日清晨,1×TBST 洗膜 3 次后,加入 HRP 标记山羊抗兔二抗(1:5 000),室温孵育 2 h,1×TBST 洗膜 3 次,配制好显色液,于 ECL 下进行曝光显影并保存图像。使用 IMAGEPROPLUS 软件进行灰度分析。

1.3 统计学处理 采用 SPSS18.0 统计软件对数据进行分析,计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用 *t* 检验,两组以上均数比较用方差分析,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 PS1TP2 在不同肝细胞系中的基础表达量 RT-PCR 结果显示,PS1TP2 基因在 L02 细胞中 mRNA 表达水平明显低于 HepG2 细胞($P = 0.004$),见图 1。

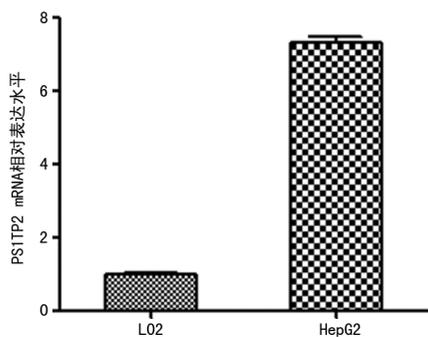


图 1 PS1TP2 在两种肝细胞系中的表达水平比较

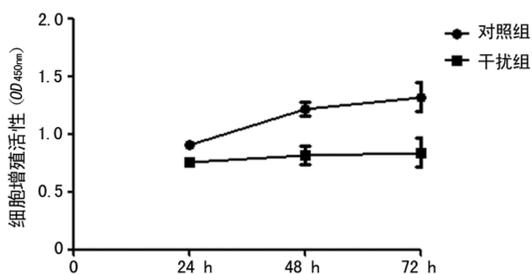


图 2 两组 HepG2 细胞的增殖曲线比较

2.2 两组 HepG2 细胞的增殖活性的比较 CCK-8 实验结果显示,转染 siRNA-PS1TP2 的干扰组 HepG2 细胞的增殖速率明显慢于转染 siNC 的对照组($P = 0.02$),见图 2。

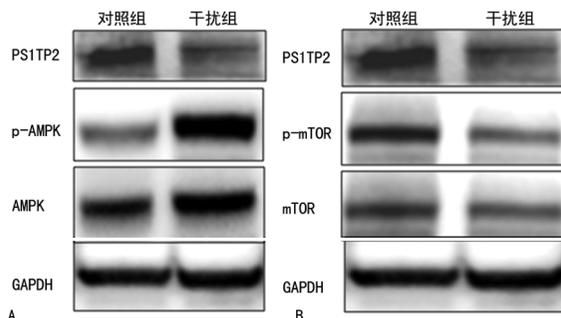
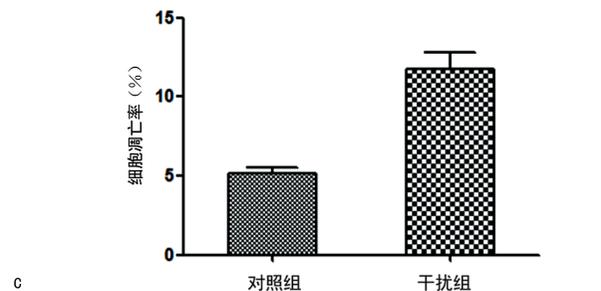
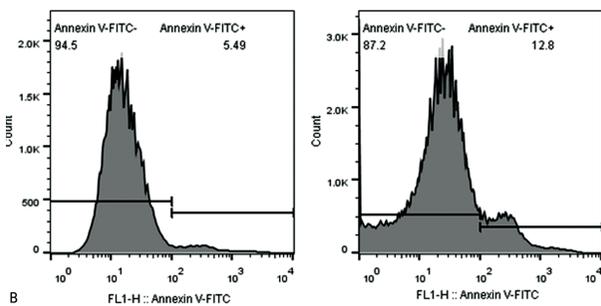
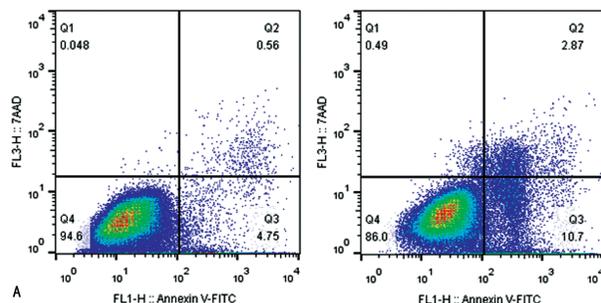


图 3 不同处理组 HepG2 细胞 AMPK(A)和 mTOR(B)的蛋白表达水平



A: 两组 HepG2 细胞中 AnnexinV+ 细胞数的变化; B: 两组 HepG2 细胞中 AnnexinV+ 细胞数的统计直方图; C: 两组细胞中 AnnexinV+ 细胞数的比例柱状图

图 4 两组 HepG2 细胞中 AnnexinV+ 细胞数比较

2.3 两组 HepG2 细胞中 AMPK、mTOR 蛋白的水平比较 Western blot 结果显示,转染 siRNA-PS1TP2 干扰组 HepG2 细胞 AMPK 的蛋白水平明显高于转染 siNC 的对照组($P=0.005$),而转染 siRNA-PS1TP2 干扰组 HepG2 细胞 mTOR 水平则较转染 siNC 的对照组明显下降($P=0.03$),见图 3。

2.4 两组 HepG2 细胞中 AnnexinV+细胞数比较 转染 48 h 后,流式细胞术检测结果表明,转染 siRNA-PS1TP2 的干扰组 AnnexinV+细胞数明显高于转染 siNC 的对照组,总凋亡率明显增加($P=0.02$),见图 4。

2.5 RT-PCR 检测 Bcl-2 和 Bax 基因表达水平 RT-PCR 检测结果显示,转染 siRNA-PS1TP2 干扰组 HepG2 细胞 Bcl-2 的 mRNA 水平明显低于转染 siNC 的对照组($P=0.005$),而转染 siRNA-PS1TP2 干扰组 HepG2 细胞 Bax 的 mRNA 水平则较转染 siNC 的对照组明显升高($P=0.04$),见图 5。

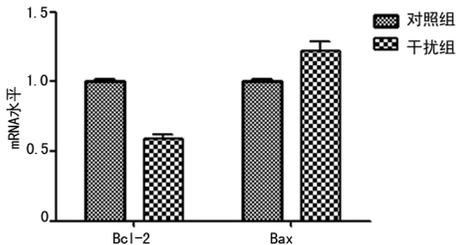
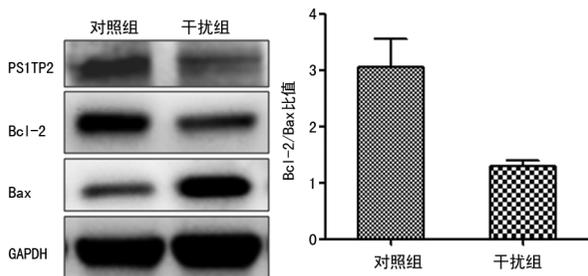


图 5 两组 HepG2 细胞 Bcl-2 和 Bax mRNA 的表达水平

2.6 PS1TP2 干扰表达对 Bcl-2、Bax 蛋白表达及 Bcl-2/Bax 比值的影响 Western blot 检测结果表明,转染 siRNA-PS1TP2 干扰组 HepG2 细胞 Bcl-2 蛋白水平明显低于转染 siNC 的对照组($P=0.003$),转染 siRNA-PS1TP2 干扰组 HepG2 细胞 Bax 蛋白水平则较转染 siNC 的对照组明显升高($P=0.02$),干扰组 Bcl-2/Bax 比值较对照组明显降低($P<0.05$),见图 6。



A: Western blot 检测; B: 两组 Bcl-2/Bax 比值柱状图

图 6 Bcl-2 和 Bax 蛋白水平及 PS1TP2 对 Bcl-2/Bax 比值的影响

3 讨论

PS1TP2 是 2004 年本课题组应用基因芯片技术和抑制性消减杂交技术筛选 Pre-S1 蛋白反式激活靶基因

和差异表达基因谱时发现的长度为 573 bp 的新型靶基因,并命名为 PS1TP2(GenBank 号:AY 426673)。在中国,HBV 感染是 HCC 最主要的病因^[9]。HBV 病毒外膜蛋白包括 S 蛋白、pre-S1 和 pre-S2 3 种成分,是嗜肝脱氧核糖核酸病毒科中哺乳动物病毒属一员。其中,pre-S1 与 DNA 损伤,肝细胞氧化应激、变异及肝癌的发展密切相关^[10]。本课题组前期筛选结果表明,PS1TP2 可能参与细胞凋亡、细胞增殖与分化、肿瘤发生等多种生物学过程,说明 PS1TP2 可能在 HBV 相关肝病发展演变中发挥促进作用,对其机制的研究,以及对于进一步了解 HBV 相关肝病的发病机制具有重要的意义。

研究表明,被称作为“能量感受器”的 AMPK 在糖调节如肝糖原的分解与合成、肌糖原合成和脂类代谢如脂肪酸氧化、蛋白质与胆固醇形成、脂肪形成中发挥关键调控作用;在肿瘤细胞及其周围细胞中 AMPK 活性降低并伴随以上生理过程发生重要改变^[11-12]。研究发现,AMPK 在细胞的能量代谢及诱导细胞凋亡和周期停滞中发挥重要作用,影响细胞能量代谢,以适应和支持细胞增殖和生存^[13-14],因而 AMPK 成为了肿瘤预测和防治的新生物治疗靶点之一^[15]。而 m-TOR 是 STK 进化上保守的一种,汇聚多条信号通路传递的信息,为许多通路聚集的交点,并对细胞生长、存活、增殖甚至自噬等过程产生对应的调控,所以被称作为细胞活动的“中央调控器”^[16];m-TOR 存在 m-TORC1 和 m-TORC2 两种形式,m-TORC1 通过促进或抑制蛋白质合成而影响细胞生长及个体发育的过程;m-TORC2 能感知体内因子和能量变化,并参与糖代谢过程,从而干预肿瘤发生、发展的过程^[17-18]。已有研究证实,AMPK 的活化会伴随着 m-TOR 信号致癌作用靶点失活,影响肝能量代谢而影响肝癌细胞增殖^[19]。在本实验中,与对照组相比,PS1TP2 干扰组中 AMPK 水平明显升高,而 m-TOR 的蛋白水平明显降低,表明 PS1TP2 可能是经由 AMPK-m-TOR 途径活化从而抑制 HepG2 细胞的增殖。

本研究中 AnnexinV/7-AAD 结果显示,PS1TP2 的表达下调加速 HepG2 细胞的凋亡。在细胞凋亡的调节中 Bcl-2 家族发挥着重要作用,Bcl-2/Bax 比值被称作是启动细胞凋亡的分子总开关,与肿瘤细胞的存活密切相关。Bax 是通过破坏线粒体的渗透性转换参与线粒体凋亡途径的代表性凋亡相关蛋白之一,可促进细胞色素 C 释放,诱导促进细胞凋亡的发展。沉默 PS1TP2 后,应用 RT-PCR 和 Western blot 法监测干扰组和对照组凋亡相应蛋白 Bcl-2 和 Bax 的表达程度,结果表明:通过沉默 PS1TP2 靶基因后,可下调调

亡相关蛋白 Bcl-2/Bax 比值,改变线粒体凋亡途径的下游凋亡级联效应并加速 HepG 细胞凋亡。

综上所述,干扰 PS1TP2 通过诱导 AMPK 的活化,伴随着 m-TOR 信号致癌作用靶点失活和下调 Bcl-2/Bax 比值,从而干扰 HepG2 细胞的增殖和凋亡过程,参与 HBV 的致病机制。但 PS1TP2 通过哪些调控水平来实现线粒体凋亡的作用,以及其确切的细胞内信号传导机制目前仍不清楚。PS1TP2 能否通过其他凋亡途径影响肿瘤细胞的凋亡,如死亡受体途径和内质网应激途径,并且这些途径是否与线粒体凋亡途径相互作用还需待进一步深入研究。随着 PS1TP2 作用机制的进一步研究,PS1TP2 或有望能在肝癌预测和治疗中发挥重要作用。

参考文献

- [1] MALUCCIO M, COVEY A. Recent progress in understanding, diagnosing, and treating hepatocellular carcinoma[J]. *CA Cancer J Clin*, 2012, 62(6): 394-399.
- [2] VAN M S, DE MAN R A, COENRAAD M J, et al. Surveillance for hepatocellular carcinoma is associated with increased survival: results from a large cohort in the Netherlands[J]. *J Hepatol*, 2015, 63(5): 1156-1163.
- [3] BHATTI A B H, DAR F S, WAHEED A, et al. Hepatocellular carcinoma in pakistan: national trends and global perspective[J]. *Gastroenterol Res Pract*, 2016; 5942306.
- [4] CHEN Y, LI L, QIAN X, et al. High expression of TRIM11 correlates with poor prognosis in patients with hepatocellular carcinoma[J]. *Clin Res Hepatol Gastroenterol*, 2017, 41(2): 190-196.
- [5] BRAY F, JEMAL A, GREY N, et al. Global cancer transitions according to the Human Development Index (2008—2030): a population-based study[J]. *Lancet Oncol*, 2012, 13(8): 790-801.
- [6] WANG M, YU F, LI P. Circular RNAs: characteristics, function and clinical significance in hepatocellular carcinoma[J]. *Cancers (Basel)*, 2018, 10(8): 258.
- [7] 王丹琼, 郭江, 成军, 等. 乙型肝炎病毒前 S1 蛋白反式调节基因 2 的克隆、表达及功能[J]. *中华肝脏病杂志*, 2008, 16(2): 88-92.
- [8] 崔恒祥. 黏附家族 G 蛋白偶联受体 GPR126 在血管新生及结肠癌发生发展中的功能和机制研究[D]. 上海: 华东师范大学, 2011.
- [9] YAN X, QIU Y. Impact of current staging systems on treatment strategy for HBV-related hepatocellular carcinoma. [J]. *Cancer Lett*, 2016, 379(2): 220-224.
- [10] 姚敏, 冯清贵, 王琼玲. 乙肝病毒前 S1 抗原在乙型肝炎临床诊断中的作用[J]. *海南医学*, 2003, 14(3): 34-35.
- [11] HARDIE G D. AMP-activated protein kinase: a key regulator of energy balance with many roles in human disease [J]. *J Int Med*, 2014, 276(6): 543-559.
- [12] RAJAMOCHAN F, REYES A R, FRISBIE R K, et al. Probing the enzyme kinetics, allosteric modulation and activation of $\alpha 1$ - and $\alpha 2$ -subunit-containing AMP-activated protein kinase (AMPK) heterotrimeric complexes by pharmacological and physiological activators [J]. *Biochem J*, 2016, 473 Pt 5: 581-592.
- [13] SENGAS, KAWAGUCHI K, KOBAYASHI N, et al. A novel fatty acid-binding protein 5-estrogen-related receptor α signaling pathway promotes cell growth and energy metabolism in prostate cancer cells [J]. *Oncotarget*, 2018, 9(60): 31753-31770.
- [14] WANG W, XIAO Z D, LI X, et al. AMPK modulates Hippo pathway activity to regulate energy homeostasis [J]. *Nat Cell Biol*, 2015, 17(4): 490-499.
- [15] LEE Y K, LEE W S, HWANG J T, et al. Curcumin exerts antidiifferentiation effect through AMPK α -PPAR- γ in 3T3-L1 adipocytes and antiproliferatory effect through AMPK α -COX-2 in cancer cells [J]. *J Agric Food Chem*, 2009, 57(1): 305-310.
- [16] DUNLOP E A, TEE A R. mTOR and autophagy: a dynamic relationship governed by nutrients and energy [J]. *Semin Cell Dev Biol*, 2014(36): 121-129.
- [17] ZHAO J, GARCIA G A, GOLDBERG A L. Control of proteasomal proteolysis by mTOR [J]. *Nature*, 2016, 529(7586): E1-2.
- [18] HAGIWARA A, CORNU M, CYBULSKI N, et al. Hepatic mTORC2 activates glycolysis and lipogenesis through akt, glucokinase, and SREBP1c [J]. *Cell Metabolism*, 2012, 15(5): 730-738.
- [19] LI Z, LI D C, CHOI E Y, et al. Silencing of solute carrier family 13 member 5 disrupts energy homeostasis and inhibits proliferation of human hepatocarcinoma cells [J]. *J Biol Chem*, 2017, 292(33): 13890-13901.

(收稿日期: 2018-11-22 修回日期: 2019-02-27)