

巨噬细胞游走抑制因子在乙型肝炎病毒相关性肝细胞癌中的调控作用

纪世博¹ 庄立伟¹ 张雨¹ 李贵¹ 程丹颖¹ 刘顺爱² 成军³ 邢卉春¹

【摘要】目的 探讨巨噬细胞游走抑制因子(MIF)在乙型肝炎病毒(HBV)相关性肝细胞癌(HCC)中的调控作用机制。**方法** 通过转染lentivirus-MIF shRNA,抑制人肝癌细胞系HepG2.2.15中MIF的表达,分为转染组和空转组。应用四甲基偶氮唑蓝(MTT)法检测细胞的生长增殖变化,采用流式细胞仪观察细胞的凋亡变化,应用Western blot蛋白印记法检测MIF、核因子 κ B(NF- κ B)和B细胞淋巴瘤/白血病-2(Bcl-2)蛋白水平变化。转染组与空转组的细胞增殖和凋亡相关实验指标采用配对资料t检验分析。**结果** MIF在HepG2.2.15细胞中呈高表达,抑制MIF表达后,与空转组相比,转染组HepG2.2.15细胞的活性下降(53.0 ± 2.0)% ($t = 6.421, P = 0.023$),凋亡增加(22.5 ± 3.0)% ($t = 5.837, P = 0.027$),同时NF- κ B、Bcl-2蛋白表达分别下降(48.8 ± 2.0)% ($t = 6.936, P = 0.021$)和(50.3 ± 3.0)% ($t = 6.729, P = 0.022$),差异均有统计学意义。**结论** MIF可能通过调控NF- κ B及其下游Bcl-2通路的基因表达,从而影响HepG2.2.15细胞的增殖与凋亡。抑制MIF可能会成为HBV感染相关性HCC治疗的新靶点。

【关键词】 巨噬细胞游走抑制因子; 肝炎病毒, 乙型; 肝细胞癌; 核因子 κ B; B细胞淋巴瘤/白血病-2

Regulatory role of macrophage migration inhibitory factor in hepatitis B virus-related hepatocellular carcinoma Ji Shibo¹, Zhuang Liwei¹, Zhang Yu¹, Li Ben¹, Cheng Danying¹, Liu Shun'ai², Cheng Jun³, Xing Huichun¹.

¹Central of Liver Diseases Division 3, ²Institute of Infectious Diseases, Beijing Ditan Hospital, Capital Medical University, Beijing 100015, China; ³Beijing Ditan Hospital, Capital Medical University, Beijing 100015, China

Corresponding author: Xing Huichun, Email: huichunxing@126.com

【Abstract】Objective To investigate the regulatory mechanism of macrophage migration inhibitory factor (MIF) in hepatitis B virus (HBV) related hepatocellular carcinoma (HCC). **Methods** MIF expression was inhibited in human HCC cell line HepG2.2.15 by transfection of lentivirus-MIF shRNA. HepG2.2.15 cells were divided into transfection group and control group. The growth and proliferation changes of HepG2.2.15 cells were detected by 3-(4, 5-Dimethylthiazol-2-yl)-2, 5-diphenyltetrazolium bromide (MTT), changes of apoptosis in the cells were observed by flow cytometry, the protein level changes of MIF, nuclear factor κ B (NF- κ B) and B-cell lymphoma-2 (Bcl-2) were determined by Western blot. The experimental indicators of cell proliferation and apoptosis between transfection group and control group were analyzed by paired-wise data *t*-test. **Results** MIF was highly expressed in HepG2.2.15 cell.

DOI: 10.3877/cma.j.issn.1674-1358.2021.06.004

作者单位: 100015 北京, 首都医科大学附属北京地坛医院肝病三科¹、传染病研究所²; 100015 北京, 首都医科大学附属北京地坛医院³

基金项目: “十三五”艾滋病和病毒性肝炎等重大传染病防治(No. 2018ZX10302206-003-006); 首都卫生发展科研专项(No. 首发2020-1-2171); 北京市医院管理中心扬帆计划(No. xmlx201837); 北京市医院管理中心消化内科学科协同发展中心项目(No. XXT26)

通信作者: 邢卉春, Email: huichunxing@126.com

Compared with the control group, the proliferation of HepG2.2.15 cell in transfection group was decreased by $(53.0 \pm 2.0) \%$ ($t = 6.421$, $P = 0.023$), the apoptosis was increased by $(22.5 \pm 3.0) \%$ ($t = 5.837$, $P = 0.027$), while the protein expression of NF- κ B and Bcl-2 were decreased by $(48.8 \pm 2.0) \%$ ($t = 6.936$, $P = 0.021$) and $(50.3 \pm 3.0) \%$ ($t = 6.729$, $P = 0.022$), respectively, all with significant differences. **Conclusions** MIF could affect the proliferation and apoptosis of HepG2.2.15 cells by regulating the gene expression of NF- κ B and its downstream Bcl-2 pathway. Inhibition of MIF may become a novel target for treatment of HBV infection-associated HCC.

【Key words】 Migration inhibitory factor; Hepatitis B virus; Hepatocellular carcinoma; Nuclear factor kappa B; B-cell lymphoma-2

肝细胞肝癌 (hepatocellular carcinoma, HCC) 是全球范围内威胁人类健康的最常见恶性肿瘤之一, 其病死率居第3位, 每年约78万人死于HCC^[1-4]。我国每年死于HCC的人数占全球HCC死亡人数的半数之多^[5-6]。乙型肝炎病毒 (hepatitis B virus, HBV) 感染是导致HCC发生、发展的主要致病因素, 80%以上HCC患者存在HBV感染, 由慢性肝炎逐渐进展为肝硬化, 甚至HCC^[7-10]。故可见HBV感染与HCC发生、发展密切相关, 而HBV感染在其中发挥的作用虽已有较多报道, 但其发病机制错综复杂, 目前仍存在尚未明确的分子机制。

巨噬细胞游走抑制因子 (macrophage migration inhibitory factor, MIF) 是一种由T淋巴细胞活化后分泌, 通过促进巨噬细胞聚集, 从而促进炎症反应发生、发展的细胞因子^[11-12]。MIF能够与多种趋化因子受体结合, 进而激活下游多种信号转导通路产生相应的功能^[13-15]。近年来, 多项肿瘤相关研究提示, MIF在多种肿瘤细胞中呈高表达, 表明其密切参与多种肿瘤的发生、发展和转移等过程^[16-20]。其中, 有研究发现MIF在HCC患者血清及组织中亦呈高表达^[21-24], 提示MIF可能在HCC发生和发展中发挥一定作用。

本研究通过转染MIF的shRNA重组慢病毒, 抑制MIF在人肝癌细胞系HepG2.2.15中的表达, 应用四甲基偶氮唑蓝 (MTT) 法检测转染细胞的生长增殖变化, 流式细胞仪观察细胞凋亡的变化, 应用Western blot分析检测MIF、核因子 κ B (nuclear factor kappa B, NF- κ B) 和B细胞淋巴瘤/白血病-2 (B-cell lymphoma-2, Bcl-2) 蛋白的表达, 探索MIF在HBV相关性HCC的发生、发展过程中起到的作用及可能机制, 现报道如下。

材料与方法

一、实验材料

人肝癌细胞系HepG2、HepG2.2.15和人正常肝细胞系L02共3种细胞系均由首都医科大学附属北京地坛医院传染病研究所提供。将上述3种细胞系于DMEM高糖培养基 (含有10%胎牛血清) 中培养, 放置于细胞培养箱 (温度37℃、CO₂浓度和饱和湿度5%) 中。人肝癌细胞系HepG2.2.15培养于DMEM高糖培养基, 其中G418浓度为360 mg/L, 其整合了HBV ayw亚型完全基因组, 可稳定分泌HBsAg、HBeAg和完整Dane颗粒。

二、实验主要试剂

MIF的shRNA重组慢病毒 (MIF-RNAi-lentivirus) 与阴性对照慢病毒购自上海吉凯基因公司, MIF基因干扰序列为: 5'-UUGGUGUUUACGAUGAACAUCGGCA-3'。兔抗人 β actin抗体、兔抗人的MIF多克隆抗体、兔抗人NF- κ B及Bcl-2单克隆抗体, 均购自美国CST公司。碱性磷酸酶标记的山羊抗兔IgG抗体购自北京中杉金桥生物技术有限公司。

三、细胞转染

选择 $(5 \sim 8) \times 10^4$ 个HepG2.2.15细胞, 去血清后继续培养6~8 h, 以使其同步化, 之后把慢病毒以 $1 \mu\text{l} : 10^4$ 个细胞的比例加入培养皿中, 8 h以后换为含血清的培养基, 继续培养细胞3 d后应用荧光显微镜观察病毒的转染效率。

四、采用MTT法检测HepG2.2.15的细胞活力

测定转染成功后3 d的HepG2.2.15细胞的细胞活力, 严格依照南京凯基公司MTT细胞活力检测试剂盒中说明完成操作。将处于对数期增长的HepG2.2.15细胞种于96孔培养板, 每个孔 10^3 个细

胞,待细胞贴壁,融合度为30%~70%时,于不同时间点检测细胞活力,在每个孔中加入浓度为5 mg/ml MTT 20 μ l,置于温度为37 $^{\circ}$ C、CO₂浓度和饱和度为5%细胞培养箱培养,继续孵育4 h,弃掉培养液后于每孔中加入二甲基亚砷(dimethyl sulfoxide, DMSO) 150 μ l,于室温振荡10 min,选取波长为490 nm,于酶联免疫检测仪上计算光吸收值并记录实验测量结果,绘制细胞生长曲线(时间为横坐标、吸光度值为纵坐标)并分析结果。

五、应用流式细胞仪检测HepG2.2.15细胞的凋亡

HepG2.2.15细胞进行消化(使用不含EDTA的胰蛋白酶),之后离心5 min,用预冷的Staining buffer冲洗2次,以 1×10^6 细胞/ml浓度的Annexin V Binding buffer来重悬细胞,然后加10 μ l 7-AAD,后再加5 μ l FITC Annexin V,混匀后于室温、避光、充分作用15 min,每管再加Annexin V Binding Buffer 400 μ l,在1 h内采用流式细胞仪选取488 nm波长进行检测与分析。

六、应用Western blot分析检测MIF、NF- κ B和Bcl-2蛋白表达

提取HepG2.2.15细胞、空转组HepG2.2.15细胞以及转染组细胞的蛋白,加入5倍样品缓冲液,在99 $^{\circ}$ C沸水浴中进行变性5 min,将提取好的蛋白通过10% SDS-PAGE分离,电泳90 min后电转到硝酸纤维素膜上,用5%脱脂奶粉室温封闭60 min,加入兔抗人MIF单克隆抗体、兔抗人NF- κ B单克隆抗体(1:1 000)、兔抗人Bcl-2单克隆抗体(1:1 000),于4 $^{\circ}$ C冰箱中过夜,之后使用1 \times TBST洗膜3次后于室温下与碱性磷酸酶标记的山羊抗兔的IgG抗体进行孵育、杂交,60 min后加入显色液进行显色发光,扫描并分析条带灰度值,以 β -actin作为参照。

八、统计学处理

应用SPSS 19.0软件进行统计学分析,转染组与空转组细胞增殖和凋亡所涉及的相关指标均为计量资料且符合正态分布,以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组间比较采用配对资料 t 检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

一、MIF在细胞系中的表达

Western blot分析显示, MIF在人肝癌细胞系

HepG2、HepG2.2.15、人正常肝细胞系L02中均有表达,且在HepG2.2.15细胞中的表达水平高于在HepG2细胞与L02细胞中的表达(图1)。

二、细胞的活性与凋亡

用慢病毒转染抑制MIF基因后, HepG2.2.15细胞的生长增殖受到抑制,同时细胞凋亡增加,转染HepG2.2.15细胞在72 h达到最大抑制效率, HepG2.2.15转染组细胞增殖活力较空转组细胞下降(53.0 ± 2.0)%,差异有统计学意义($t = 6.421$ 、 $P = 0.023$),见图2。采用流式细胞仪检测HepG2.2.15转染组的细胞凋亡比例较空转组增加(22.5 ± 3.0)%,差异有统计学意义($t = 5.837$ 、 $P = 0.027$),见图3。

三、Western blot检测MIF、NF- κ B、Bcl-2蛋白水平

Western blot检测显示,通过慢病毒转染HepG2.2.15细胞抑制了MIF蛋白的表达,其抑制效率为(73.6 ± 2.0)% ($t = 7.623$ 、 $P = 0.018$);与空转组相比, MIF蛋白被抑制后转染组NF- κ B、Bcl-2蛋白表达亦出现下降,分别下降(48.8 ± 2.0)% ($t = 6.936$ 、 $P = 0.021$)和(50.3 ± 3.0)% ($t = 6.729$ 、 $P = 0.022$),差异均有统计学意义,见图4。

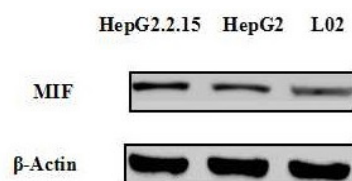


图1 HepG2.2.15细胞、HepG2细胞及L02细胞中MIF和 β -actin蛋白的表达

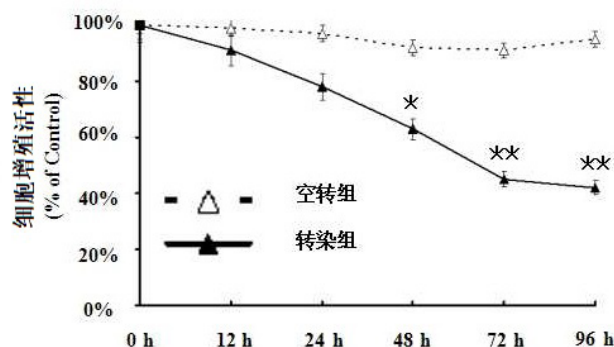


图2 MTT检测MIF抑制后HepG2.2.15细胞的活力变化

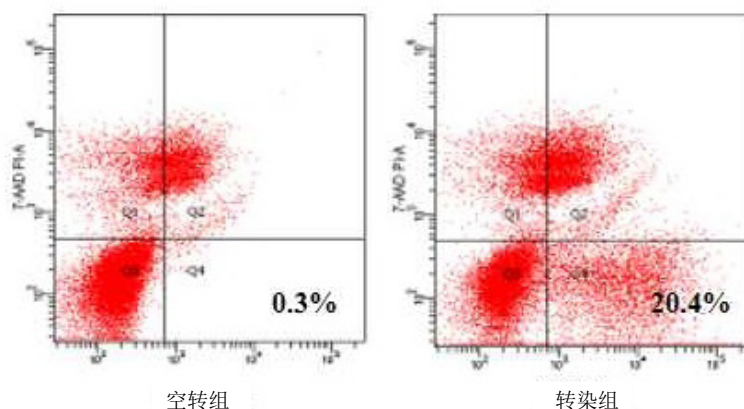


图3 流式细胞术检测MIF抑制后HepG2.2.15细胞的凋亡

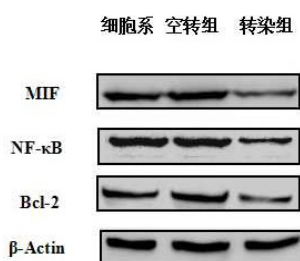


图4 HepG2.2.15细胞中MIF、NF-κB、Bcl-2和β-actin蛋白表达

讨 论

目前全球范围内, HCC是严重影响人类健康位居第6位的常见恶性肿瘤, 病死率在全球恶性肿瘤中占第3位^[1-3, 25-26]。而我国人群HCC发病率在恶性肿瘤中居第4位, 病死率居第3位, 每年死于HCC的患者约38.3万人^[3, 5-6]。HCC发生、发展过程中, HBV感染是其重要影响因素之一^[7-8, 10, 27-29], 但HBV感染在HCC发生和发展过程中的作用机制十分复杂, 目前尚未明确。

MIF为1966年Bloom和Bennett在研究迟发型超敏反应时发现的一种由活化T淋巴细胞分泌, 通过促进巨噬细胞在炎症反应区域聚集, 刺激、激活炎症因子, 进而促进炎症反应发生、进展的细胞因子^[11-12, 30], 其广泛表达于多种免疫细胞, 如T、B淋巴细胞、单核细胞、肥大细胞和树突状细胞等, 通过多种信号转导通路在多种炎症疾病中发挥关键作用^[13-15]。有研究发现^[16-20, 31], MIF不仅参与多种炎症反应的多个环节, 且在多种恶性肿瘤中广泛高表达, 如前列腺癌、结肠癌和肺癌等, 并在这些肿瘤的发生、发展以及转移中起着重要作用。

多项研究表明^[21-24, 32], MIF在HCC患者中亦呈

高表达, 但目前尚未在不同病因所致肝癌类型中进行研究, 尤其是MIF自身对HBV感染相关HCC的影响鲜见报道, 其具体作用机制亦尚未明确。本研究发现, MIF在人肝癌细胞系HepG2和HepG2.2.15中均有表达, 而其在HepG2.2.15细胞中的表达水平高于HepG2细胞, 二者虽均为肝癌细胞系, 但HepG2.2.15细胞整合了HBV ayw亚型完全基因组, 可稳定分泌HBsAg、HBeAg和完整的Dane颗粒, 故考虑HepG2.2.15细胞中MIF表达更高可能与HBV有关, 推测MIF可能与HBV感染相关HCC相关。

NF-κB作为一类非常重要的转录因子, 参与调节细胞增殖与凋亡等过程^[33-34]。一方面, NF-κB可调控细胞周期蛋白D1的表达, 促进细胞增殖; 另一方面, 磷酸化NF-κB可调控下游靶基因的表达, 从而抑制细胞凋亡。因此, NF-κB在多种肿瘤的发生、发展等过程中发挥十分重要的作用^[35-37]。Bcl-2是B细胞淋巴瘤/白血病蛋白家族的成员, 在细胞凋亡调控过程中发挥重要作用^[38-39]。磷酸化NF-κB可通过上调下游靶基因Bcl-2表达, 从而发挥抗凋亡作用^[40-41]。本研究表明抑制MIF表达水平后, HepG2.2.15细胞的增殖活性降低, 细胞凋亡增加, 提示MIF参与并调控HepG2.2.15细胞的增殖和凋亡。同时, 伴随NF-κB基因表达水平降低, 其下游通路中Bcl-2表达亦显著下降, 推测MIF可能通过调控NF-κB及其下游Bcl-2通路的基因表达, 从而影响HepG2.2.15细胞的增殖与凋亡。而这一系列过程的发生与HBV感染直接相关还是炎症反应间接导致, 更多的分子机制尚待进一步探讨。

综上, 本研究提示MIF在HepG2.2.15细胞增殖和凋亡中发挥重要作用, 或许可作为HBV相关

HCC的早期预警分子标记物;抑制MIF表达可能会成为HBV感染相关性HCC治疗的潜在靶点。

参 考 文 献

- [1] Forner A, Reig M, Bruix J. Hepatocellular carcinoma[J]. *Lancet*, 2018,391(10127):1301-1314.
- [2] Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, et al. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. *CA Cancer J Clin*, 2018,68(6):394-424.
- [3] Hou J, Hong Z, Feng F, et al. A novel chemotherapeutic sensitivity-testing system based on collagen gel droplet embedded 3D-culture methods for hepatocellular carcinoma[J]. *BMC Cancer*, 2017,17(1):729-736.
- [4] 沈宗毅, 李卯晨, 白素杭, 等. 肝癌免疫治疗的研究进展[J]. *生物工程学报*, 2019,35(12):2326-2338.
- [5] Chen W, Zheng R, Baade PD, et al. Cancer statistics in China, 2015[J]. *CA Cancer J Clin*, 2016,66(2):1-18.
- [6] Zheng R, Zeng H, Zhang S, Chen W. Estimates of cancer incidence and mortality in China, 2013[J]. *Chin J Cancer*, 2017,36(8):384-389.
- [7] 致癌相关环状RNA在慢性乙型肝炎病毒感染者的表达及临床意义[J/CD]. *中华实验和临床感染病杂志(电子版)*, 2021,15(2):78-85.
- [8] Tseng TC, Huang LR. Immunopathogenesis of hepatitis B virus[J]. *J Infect Dis*, 2017,216(8):765-770.
- [9] 毛莉莎, 宋庆峰, 马天骏, 崔英. HBV感染所致免疫失衡与肝细胞癌的研究进展[J]. *中国癌症防治杂志*, 2020,12(2):232-236.
- [10] Saitta C, Tripodi G, Barbera A, et al. Hepatitis B virus (HBV) DNA integration in patients with occult HBV infection and hepatocellular carcinoma[J]. *Liver Int*, 2015,35(10):2311-2317.
- [11] Wang K, Liang Q, Wei L, et al. MicroRNA-608 acts as a prognostic marker and inhibits the cell proliferation in hepatocellular carcinoma by macrophage migration inhibitory factor[J]. *Tumour Biol*, 2016,37(3):3823-3830.
- [12] Newell-Rogers MK, Rogers SK, Tobin RP, et al. Antagonism of macrophage migration inhibitory factor (MIF) after traumatic brain injury ameliorates astrocytosis and peripheral lymphocyte activation and expansion[J]. *Int J Mol Sci*, 2020,21(20):7448-7460.
- [13] Kontos C, El Bounkari O, Krammer C, et al. Designed CXCR4 mimic acts as a soluble chemokine receptor that blocks atherogenic inflammation by agonist-specific targeting[J]. *Nat Commun*, 2020,11(1):5981-5998.
- [14] Zhong L, Qiao PP, Wang BL, Liu C. Relationship between MIF-173G/C polymorphism and cerebral stroke[J]. *J Biol Regul Homeost Agents*, 2020,34(5):1757-1761.
- [15] Arizza V, Bonura A, La Paglia L, Urso A, Pinsino A, Vizzini A. Transcriptional and in silico analyses of MIF cytokine and TLR signalling interplay in the LPS inflammatory response of *Ciona robusta*[J]. *Sci Rep*, 2020,10(1):11339-11354.
- [16] Castro BA, Flanagan P, Jahangiri A, et al. Macrophage migration inhibitory factor downregulation: a novel mechanism of resistance to anti-angiogenic therapy[J]. *Oncogene*, 2017,36(26):3749-3759.
- [17] Patterson AM, Kaabinejadian S, McMurtrey CP, et al. Human leukocyte antigen-presented macrophage migration inhibitory factor is a surface biomarker and potential therapeutic target for ovarian cancer[J]. *Mol Cancer Ther*, 2016,15(2):313-322.
- [18] Balogh KN, Templeton DJ, Cross JV. Macrophage migration inhibitory factor protects cancer cells from immunogenic cell death and impairs anti-tumor immune responses[J]. *PLoS One*, 2018, 13(6):e0197702.
- [19] An HJ, Koh HM, Lee JS, et al. Prognostic role of macrophage migration inhibitory factor in patients with clear cell renal cell carcinoma[J]. *Medicine (Baltimore)*, 2020,99(50):e23277.
- [20] Koh HM, Kim DC. Prognostic significance of macrophage migration inhibitory factor expression in cancer patients: A systematic review and meta-analysis[J]. *Medicine (Baltimore)*, 2020,99(32):e21575.
- [21] Ismail MM, Morsi HK, Abdulateef NA, et al. Evaluation of prothrombin induced by vitamin K absence, macrophage migration inhibitory factor and Golgi protein-73 versus alpha fetoprotein for hepatocellular carcinoma diagnosis and surveillance[J]. *Scand J Clin Lab Invest*, 2017,77(3):175-183.
- [22] 董辉, 王晶, 杨艳娟, 等. 过表达miR-451a通过靶向巨噬细胞迁移抑制因子(MIF)抑制HepG2细胞的增殖[J]. *细胞与分子免疫学杂志*, 2018,34(12):1091-1098.
- [23] 安晓刚, 马玉, 马娟, 等. 原发性肝癌血清甲胎蛋白和巨噬细胞移动抑制因子水平及其临床意义[J]. *宁夏医科大学学报*, 2017,39(12):1442-1444.
- [24] Kamel MM, Saad MF, Mahmoud AA, et al. Evaluation of serum PIVKA-II and MIF as diagnostic markers for HCV/HBV induced hepatocellular carcinoma[J]. *Microb Pathog*, 2014,77:31-5.
- [25] 张锋. 肝癌免疫耐受机制研究进展[J]. *复旦学报(医学版)*, 2020,47(2):280-287.
- [26] 徐晓义, 黄小俊, 夏树伟, 等. 原发性肝癌患者四跨膜蛋白8, 埃兹蛋白及微小RNA-634与预后的相关性[J/CD]. *中国肝脏病杂志(电子版)*, 2020,12(3):47-52.
- [27] Levrero M, Zucman-Rossi J. Mechanisms of HBV-induced hepatocellular carcinoma[J]. *J Hepatol*, 2016,64(Suppl 1):S84-S101.
- [28] Torre LA, Bray F, Siegel RL, et al. Global cancer statistics, 2012[J]. *CA Cancer J Clin*, 2015,65(2):87-108.
- [29] 辛梦, 李岩. HBV相关性肝细胞癌治疗致HBV再激活的研究进展[J]. *山东医药*, 2018,58(24):101-104.
- [30] 李瑶, 高颖生, 吕晓丹, 等. 巨噬细胞游走抑制因子在肿瘤中的作用研究进展[J]. *现代生物医学进展*, 2017,17(20):3992-3995.
- [31] 陈其冰, 李芬. 巨噬细胞迁移抑制因子对肿瘤微环境影响的研究进展[J]. *疑难病杂志*, 2019,18(6):644-648.
- [32] 周鸣, 余蕾, 李琴山, 等. MIF基因沉默对肝癌细胞系增殖凋亡及ERK/RSK2信号通路的影响[J]. *中国现代医学杂志*, 2017,27(19):22-27.
- [33] Zhang YF, Bu FT, Yin NN, et al. NLRP12 negatively regulates EtOH-induced liver macrophage activation via NF- κ B pathway and mediates hepatocyte apoptosis in alcoholic liver injury[J]. *Int Immunopharmacol*, 2020,88:106968.
- [34] Lian J, Zou Y, Huang L, et al. Hepatitis B virus upregulates cellular inhibitor of apoptosis protein 2 expression via the PI3K/AKT/NF- κ B signaling pathway in liver cancer[J]. *Oncol Lett*, 2020,19(3):2043-

- 2052.
- [35] 李艳萌, 贾思雨, 徐安健, 等. 雌激素通过NF- κ B信号通路影响肝癌细胞的肿瘤学行为研究[J]. 临床和实验医学杂志, 2019, 18(2): 117-122.
- [36] 杨小理, 余云艳, 欧阳旭红, 等. 长寿保障同源基因2诱导Hepa1-6肝癌细胞G0/G1期阻滞的作用及其机制[J]. 中华实验外科杂志, 2018, 35(7): 1250-1252.
- [37] 欧志涛, 詹远京, 郭家伟, 罗铎. CIAPIN1对HepG2细胞增殖和细胞周期的影响[J]. 实用肝脏病杂志, 2018, 21(1): 38-41.
- [38] Hwang-Bo H, Lee WS, Nagappan A, et al. Morin enhances auranofin anticancer activity by up-regulation of DR4 and DR5 and modulation of Bcl-2 through reactive oxygen species generation in Hep3B human hepatocellular carcinoma cells[J]. *Phytother Res*, 2019, 33(5): 1384-1393.
- [39] Venkatachalam P, Nadumane VK. Modulation of Bax and Bcl-2 genes by secondary metabolites produced by *Penicillium rubens* JGI PR9 causes the apoptosis of cancer cell lines[J]. *Mycology*, 2019, 12(2): 69-81.
- [40] AboYoussef AM, Khalaf MM, Malak MN, Hamzawy MA. Repurposing of sildenafil as antitumour; induction of cyclic guanosine monophosphate/protein kinase G pathway, caspase-dependent apoptosis and pivotal reduction of Nuclear factor kappa light chain enhancer of activated B cells in lung cancer[J]. *J Pharm Pharmacol*, 2021, 73(8): 1080-1091.
- [41] Koohsari M, Ahangar N, Mohammadi E, et al. Effects of tramadol administration on male reproductive toxicity in Wistar rats The role of oxidative stress, mitochondrial dysfunction, apoptosis-related gene expression, and nuclear factor kappa B signalling[J]. *Bratisl Lek Listy*, 2020, 121(6): 400-410.
- (收稿日期: 2021-03-22)
(本文编辑: 孙荣华)

纪世博, 庄立伟, 张雨, 等. 巨噬细胞游走抑制因子在乙型肝炎病毒相关性肝细胞癌中的调控作用[J/CD]. 中华实验和临床感染病杂志(电子版), 2021, 15(6): 379-384.