

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2020.03.012

· 临床研究 ·

CARD10 通过活化 NF- κ B 信号进而促进肝癌细胞凋亡抵抗

郑凯威, 周烨, 李振洋, 张力元, 侯晋(海军军医大学 免疫学研究所暨医学免疫学国家重点实验室, 上海 200433)

[摘要] **目的:** 研究半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶招募域家族分子 10(caspase recruitment domain family member 10, CARD10)在肝癌组织中的表达, 及其对肝癌进展尤其是凋亡抵抗的作用和机制。**方法:** 采集 2008 年至 2010 年海军军医大学东方肝胆外科医院收治的 129 例肝癌患者手术切除的肝癌及其癌旁组织标本, 采用实时定量 PCR 法检测癌旁和肝癌组织中 CARD10 的表达, 以 Spearman 等级相关统计学分析 CARD10 表达与肝癌分期的相关性。在 CARD10 质粒转染过表达以及 RNA 干扰敲减表达后, 采用流式细胞术 Annexin-V/PI 标记法检测肝癌细胞株的凋亡, 采用 Western blotting 检测肝癌细胞株中 NF- κ B 信号的活化。**结果:** CARD10 在肝癌组织中的表达较癌旁组织显著增高 ($P < 0.01$), 且肝癌组织中 CARD10 的表达增高与肝癌分期进展呈正相关 ($P < 0.01$)。CARD10 过表达可以抑制肝癌细胞株 SMMC-7721 和 BEL-7402 的凋亡, 而敲减 CARD10 能够促进肝癌细胞株凋亡。CARD10 过表达能够增强肝癌细胞株中促生存的 NF- κ B 信号的活化, 而 CARD10 敲减能够抑制 NF- κ B 信号活化。**结论:** CARD10 在肝癌组织中表达显著增高并与肝癌进展呈正相关, CARD10 能够通过活化 NF- κ B 信号进而促进肝癌细胞凋亡抵抗。

[关键词] 肝癌; CARD10; 凋亡; NF- κ B

[中图分类号] R730.5; R735.7 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385X(2020)03-0289-06

CARD10 promotes apoptosis inhibition of hepatocellular carcinoma cells by activating NF- κ B pathway

JIA Kaiwei, ZHOU Ye, Li Zhenyang, ZHANG Liyuan, HOU Jin (National Key Laboratory of Medical Immunology & Institute of Immunology, Naval Military Medical University, Shanghai 200433)

[Abstract] **Objective:** To investigate the expression of CARD10 in hepatocellular carcinoma (HCC) tissues, and the roles of CARD10 in HCC progression especially apoptosis inhibition. **Methods:** The expression of CARD10 was examined in paired non-tumor liver tissues and HCC tissues using qRT-PCR, and their correlation with HCC TNM stage was analyzed using Spearman's rank correlation assay in SPSS 17.0. In HCC cells with CARD10 overexpression or knockdown, cytometry using Annexin-V/PI labeling was used to measure apoptosis, and Western blotting was used to determine the activation of NF- κ B pathway. **Results:** CARD10 expression was significantly increased in HCC tissues as compared to that in paired non-tumor liver tissues ($P < 0.01$), and the increased CARD10 in HCC was positively correlated with TNM staging ($P < 0.01$). The apoptosis of HCC cell lines SMMC-7721 and BEL-7402 was inhibited by CARD10 overexpression while promoted by CARD10 knockdown, and the pro-survival NF- κ B pathway was also enhanced by CARD 10 over-expression while suppressed by CARD10 knockdown. **Conclusion:** CARD10 expression is increased in HCC tissues and positively correlated with HCC progression. CARD10 inhibits HCC apoptosis by promoting the activation of NF- κ B pathway.

[Key words] hepatocellular carcinoma (HCC); caspase recruitment domain family member 10 (CARD10); apoptosis; NF- κ B

[Chin J Cancer Biother, 2020, 27(3): 289-294. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2020.03.012]

凋亡抵抗是肿瘤细胞的重要特征, 在肿瘤进展过程中发挥关键作用, 也是肿瘤细胞化疗耐药的重要因素, 肿瘤细胞凋亡抵抗的形成机制是其中关键的科学问题^[1]。半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶招募域分子家族(caspase recruitment domain family, CARD)共包含十余个成员, 其蛋白结构上均包含 CARD 结构域, 在肿瘤进展过程中发挥重要的调控作用^[2]。如 CARD10 能够增强肾细胞癌中生长因子效应信号通

路的活化以增强肿瘤增殖^[3]; 促进胃癌细胞表达促肿

[基金项目] 国家自然科学基金重大研究计划(No. 91842104)。Project supported by Major Research Plan of the National Natural Science Foundation of China (No. 91842104)

[作者简介] 郑凯威(1994-), 男, 硕士生, 主要从事肝癌肿瘤生物学研究, E-mail: 15721570382@163.com

[通信作者] 侯晋(HOU Jin, Corresponding author), 教授, 博士生导师, 主要从事肝脏炎症转化的基础研究, E-mail: houjin@immunol.org

瘤进展的细胞因子和生长因子^[4];通过调控膀胱癌核酸代谢以促进肿瘤增殖^[5];促进肺癌细胞的肿瘤干细胞特性形成以及肿瘤侵袭转移等^[6]。如上研究报道均提示CARD10在肿瘤进展过程中发挥重要的促进作用。但是,CARD10在肝癌进展和肝癌凋亡抵抗中的作用目前仍有待研究。本课题探讨了CARD10在肝癌组织中的表达及其与肿瘤进展的相关性,以及在促进肝癌细胞凋亡抵抗形成中的作用和机制。

1 材料与方法

1.1 主要试剂和仪器

RMPI 1640培养基和胎牛血清购自Gibco公司, RNA提取试剂TRIzol购自Invitrogen公司, RNA反转录试剂盒和实时荧光定量PCR试剂盒购自Takara公司, Annexin-V/PI凋亡标记试剂盒购自Calbiochem公司, 质粒和RNA转染试剂购自Polyplus公司, CARD10抗体购自Abcam公司, p-IKK α / β 、p-IkB α 、p-p65、 β -actin以及HRP酶标二抗购自CST公司, HRP底物显影液购自Millipore公司。实时荧光定量PCR仪Light Cycler 2.0购自Roche公司, 流式细胞仪LSRII购自BD公司, 垂直电泳和转膜设备购自Bio-Rad公司。

1.2 人肝癌及配对癌旁组织标本的收集

采集2008年至2010年海军军医大学东方肝胆外科医院收治的129例肝癌患者手术切除的肝癌及其配对的癌旁组织标本, 癌旁组织距离癌灶边缘5厘米, 组织切除后即至于液氮中保存。肝癌组织经术后病理检查均为肝细胞癌, 患者临床资料如前述^[7-8]。组织标本的采集均经患者知情同意, 并经由海军军医大学医学研究伦理委员会审核通过。

1.3 细胞培养和转染

肝癌细胞株SMMC-7721和BEL-7402购自中国科学院上海生科院典藏细胞库, 细胞培养采用含10%胎牛血清的RMPI 1640培养基, 在37℃和5% CO₂条件下培养。低氧凋亡诱导模型采用含1% O₂的低氧孵箱培养细胞24 h。细胞质粒转染采用jetPrime脂质体转染试剂, 细胞小干扰RNA转染采用Interferin脂质体转染试剂, 细胞转染按脂质体说明书标准操作流程实施^[9]。人CARD10基因的小干扰RNA序列为: 5'-GGCUCAAGGAUGAGAACUATT-3'; 5'-UAGUUCUCAUCCUUGAGCCTT-3'。对照小干扰RNA序列为: 5'-UUCUCCGAACGUGUCACGUTT-3'; 5'-ACGUGACACGUUCGGAGAATT-3'。

1.4 qPCR检测肝癌细胞中CARD10 mRNA的表达

组织RNA的抽提采用TRIzol试剂, 并按说明书标准操作流程实施。总RNA的反转录采用Takara公司PrimeScript反转录试剂盒, 以Oligo-dT为反转录

引物, 反转录按试剂盒说明书操作。实时荧光定量PCR采用Takara公司SYBR Premix Ex Taq II试剂盒和Roche公司Light Cycler 2.0实时荧光定量PCR仪, 具体操作如前述^[10]。CARD10检测引物为: 5'-GGA CTGTCGTTTTATGGGGAC-3'; 5'-CCTTTGCTC TCTTGGTTCCATC-3'。 β -actin检测引物为: 5'-GGCGGCACCACCATGTACCCT-3'; 5'-AGGGGC CGGACTCGTCATACT-3'。

1.5 流式细胞术检测肝癌细胞的凋亡

肝癌细胞株SMMC-7721和BEL-7402的凋亡采用Annexin-V/PI双标法检测, 标记采用Calbiochem公司Annexin-V-FITC/PI凋亡检测试剂盒, 按说明书标准操作。流式细胞术采用BD公司LSRII流式细胞仪, Annexin-V阳性的肝癌细胞为凋亡细胞。

1.6 Western blotting检测肝癌细胞中CARD10及凋亡相关蛋白的表达

肝癌细胞株SMMC-7721和BEL-7402的总蛋白采用CST公司Cell Lysis Buffer裂解细胞提取, 使用Pierce公司BCA蛋白浓度测定试剂盒测定蛋白浓度。每样本加50 μ g所提取蛋白至SDS-PAGE胶中进行垂直电泳, 转膜、封闭、一抗二抗孵育及曝光显影操作如前述^[11]。

1.7 统计学处理

采用SPSS v17.0软件进行统计学分析, 正态分布的计量数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 两组实验数据采用非配对样本 t 检验, 相关性分析采用Spearman's等级变量检验, 以 $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ 表示差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 CARD10在肝癌组织中呈显著高表达

检测了129例肝癌患者的肝癌组织和配对癌旁组织中CARD10 mRNA的表达, 以明确CARD10在肝癌组织中的表达改变。如图1所示, CARD10在肝癌组织中的表达较配对癌旁组织显著增高($P < 0.01$), 说明CARD10在肝癌组织中发生了表达增高, 表达增高的CARD10可能参与了肝癌肿瘤生物学特性的形成和肿瘤进展过程。

2.2 肝癌组织中CARD10的表达增高与患者分期进展呈正相关

为进一步探索肝癌组织中CARD10的表达增高是否与患者肝癌临床进展存在相关性, 我们进一步分析了肝癌组织中CARD10的表达与患者肝癌TNM分期之间的相关性。如图2所示, 通过Spearman's等级变量相关性分析, 肝癌组织中CARD10的表达与患者肝癌TNM分期进展呈显著正相关($P < 0.01$), 提示肝癌组织中表达增高的CARD10参与了肝癌的肿瘤进展。

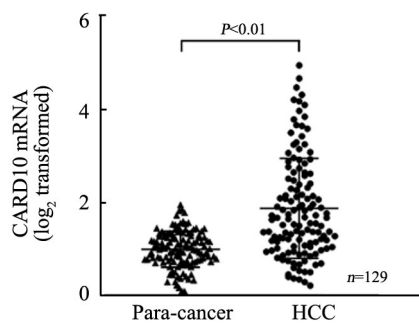


图1 129例肝癌患者肝癌组织和癌旁组织中
CARD10 mRNA 的表达

Fig.1 Expression of CARD10 mRNA in liver cancer tissues
and para-cancer tissues of 129 patients with liver cancer

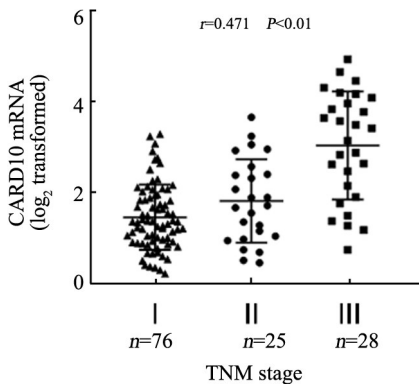


图2 肝癌组织中 CARD10 表达与患者肝癌
TNM 分期呈显著正相关

Fig.2 Significant positive correlation between CARD10
expression in liver cancer and TNM stage in
patients with liver cancer

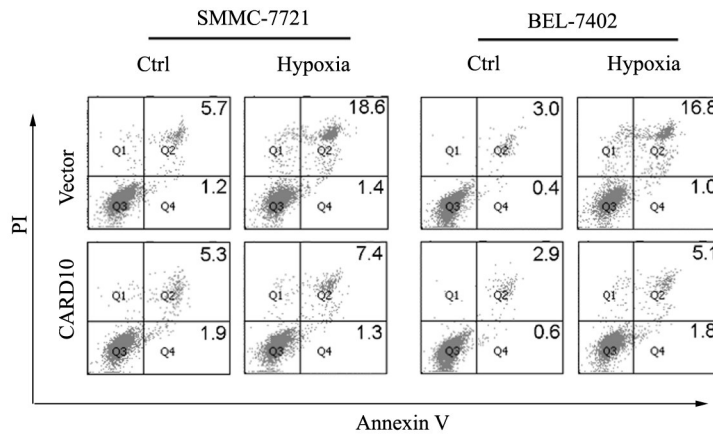


图4 肝癌细胞株中 CARD10 的过表达抑制了低氧诱导的细胞凋亡

Fig.4 The over-expression of CARD10 in hepatocellular carcinoma cell lines inhibited hypoxia-induced apoptosis

2.4 肝癌细胞株中 CARD10 的敲减抑制了凋亡抵抗
进一步检测在肝癌细胞株中敲减 CARD10 的表达是否能够抑制肝癌细胞的凋亡抵抗,结果如图5所示,在肝癌细胞株 SMMC-7721 和 BEL-7402 中,通过转染 CARD10 的小干扰 RNA,在肝癌细胞株中实现

2.3 肝癌细胞株中 CARD10 的高表达促进了凋亡抵抗

凋亡抵抗是肝癌重要的肿瘤生物学特性,在肿瘤进展和化疗耐药中发挥关键作用。检测了 CARD10 在肝癌细胞株 SMMC-7721 和 BEL-7402 中,对肝癌细胞凋亡抵抗的调控作用,结果如图3所示,在肝癌细胞株 SMMC-7721 和 BEL-7402 中,转染 CARD10 的表达质粒后,肝癌细胞株中实现了 CARD10 的过表达。

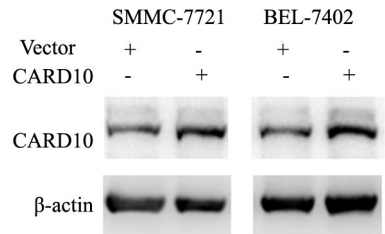
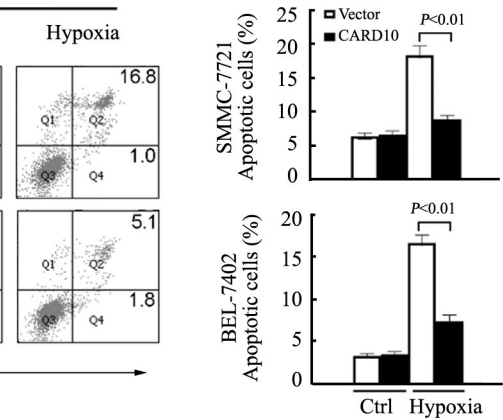


图3 通过转染 CARD10 质粒在肝癌细胞株中实现
CARD10 的过表达

Fig.3 CARD10 was overexpressed in hepatocellular carcinoma cell lines by transfection with CARD10 plasmid

采用低氧诱导肝癌细胞株凋亡的细胞凋亡模型,如图4所示,发现在 CARD10 过表达的 SMMC-7721 和 BEL-7402 肝癌细胞中,低氧诱导的肝癌细胞凋亡较空载体转染的细胞显著降低($P < 0.01$),表明肝癌细胞中 CARD10 的过表达能够显著促进肝癌细胞的凋亡抵抗。



了 CARD10 表达的敲减。
通过采用低氧诱导肝癌细胞株凋亡的细胞凋亡模型,如图6所示,发现在 CARD10 敲减的 SMMC-7721 和 BEL-7402 肝癌细胞中,低氧诱导的肝癌细胞凋亡较对照小 RNA 转染的细胞显著增高($P < 0.01$),

表明肝癌细胞中 CARD10 的敲减能够显著抑制肝癌细胞的凋亡抵抗。

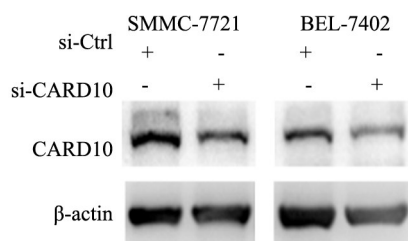


图5 通过转染 CARD10 小干扰 RNA 在肝癌细胞株中实现 CARD10 表达的敲减

Fig.5 CARD10 expression was down-regulated in hepatocellular carcinoma cell lines by transfection with CARD10 small interfering RNA

2.5 肝癌细胞株中 CARD10 增强了促生存信号 NF-κB 通路的活化

CARD 家族分子在促进 NF-κB 信号通路的活化中发挥重要作用, 且后者活化能够发挥促进肝癌细胞生存和增强凋亡抵抗的作用。为研究 CARD10 促进肝癌细胞株凋亡抵抗的分子机制, 检测了 CARD10 是否能够通过促进 NF-κB 信号通路的活化进而增强肝癌细胞的凋亡抵抗。结果如图 7 所示, 在 CARD10 过表达的 SMMC-7721 和 BEL-7402 肝癌细胞中, NF-κB 通路中的关键信号分子 IKKα/β、IκBα 和 p65 的磷酸化显著增强, 表明 CARD10 过表达能够增强肝癌细胞中促生存信号 NF-κB 通路的活化, 进而促进肝癌细胞凋亡抵抗。

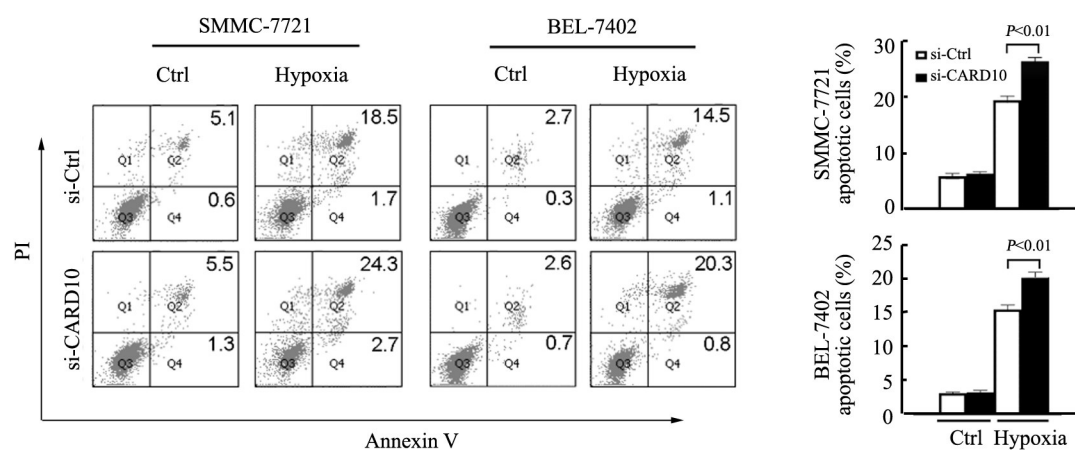


图6 肝癌细胞株中 CARD10 的敲减促进了低氧诱导的细胞凋亡

Fig.6 CARD10 knockdown in hepatocellular carcinoma cell lines promoted hypoxia-induced apoptosis

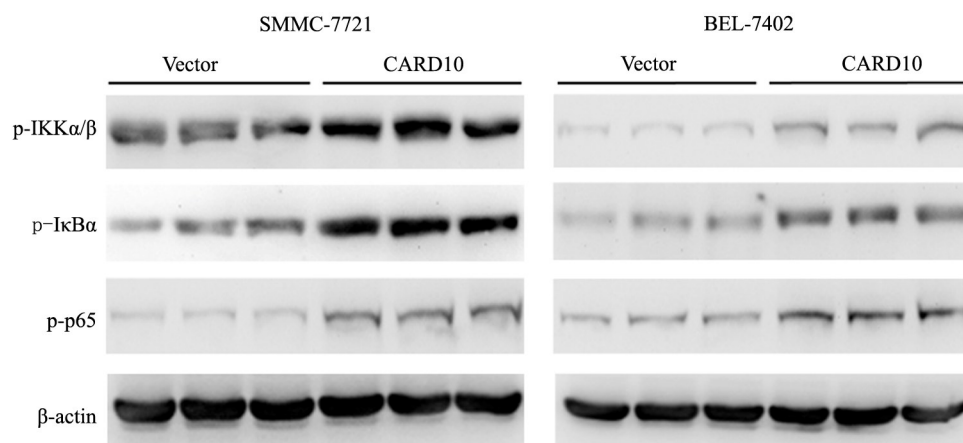
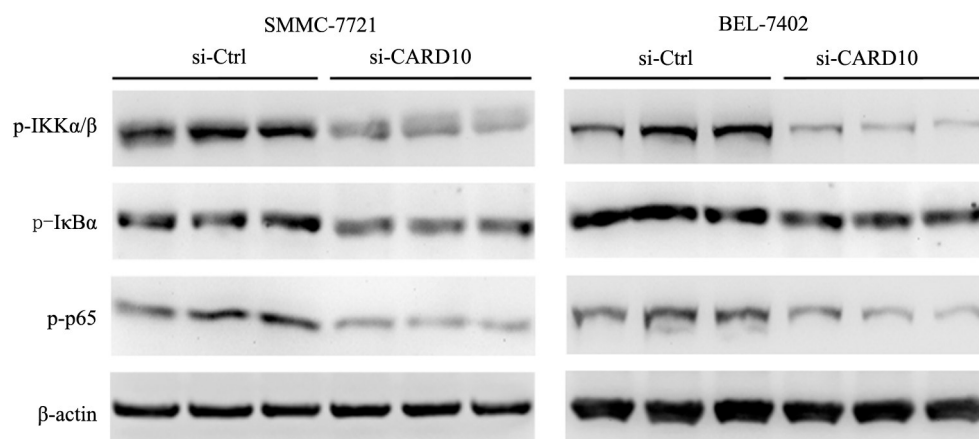


图7 CARD10 过表达促进肝癌细胞株中 IKKα/β、IκBα 和 p65 的磷酸化

Fig.7 The over-expression of CARD10 promoted the phosphorylation of IKKα/β, IκBα and p65 in hepatocellular carcinoma cell lines

随后验证 CARD10 敲减是否能够通过抑制 NF-κB 信号进而降低肝癌细胞凋亡抵抗。结果如图 8 所示, 在 CARD10 敲减的 SMMC-7721 和 BEL-7402 细胞

中, IKKα/β、IκBα 和 p65 磷酸化活性降低, 证明 CARD10 能够通过提高促生存信号 NF-κB 通路活性进而促进肝癌细胞凋亡抵抗。

图8 CARD10的敲减抑制肝癌细胞株中IKK α / β 、I κ B α 和p65的磷酸化Fig.8 CARD10 knockdown inhibited the phosphorylation of IKK α / β , I κ B α and p65 in hepatocellular carcinoma cell lines

3 讨论

在肿瘤发生发展的过程中, 过快增殖的肿瘤细胞面临局部缺血缺氧的肿瘤微环境, 一方面会导致局部肿瘤细胞的凋亡坏死, 另一方面也促进了肿瘤细胞凋亡抵抗的形成^[12]。在肿瘤细胞凋亡抵抗的形成机制中, 具有凋亡抵抗功能的蛋白发生了表达增高, 促生存信号通路发生了活化增强, 其中各调控分子的功能和各信号通路活化的机制是肿瘤凋亡抵抗研究中的关键科学问题^[13]。本研究发现CARD10在肝癌组织中呈显著高表达, 并抑制了缺氧导致的肝癌细胞凋亡, 促进了肝癌细胞的凋亡抵抗, 为肝癌细胞凋亡抵抗的肿瘤生物学特性提出了新的分子机制。

肿瘤细胞凋亡抵抗是肿瘤的重要生物学特性, 除在肿瘤进展过程中发挥促进作用外, 在化疗等肿瘤治疗的耐药形成过程中也发挥关键的促进作用^[14]。肿瘤细胞中参与凋亡抵抗的调控分子和信号通路, 通常在肿瘤化疗耐药形成过程中能够发挥相似的作用^[15]。本工作发现的在肝癌细胞中高表达并能够促进肝癌凋亡抵抗的CARD10分子, 极有可能在肝癌细胞化疗抵抗的形成过程中, 亦发挥相应的促进作用。CARD10在肝癌化疗抵抗中的作用, 以及CARD10是否能够作为肝癌化疗抵抗的潜在干预靶标, 是肝癌化疗抵抗研究方向中有待解决的重要问题。

肝癌细胞肿瘤生物学特性形成的分子机制是肝癌研究中的关键科学问题, 介导肝癌细胞中相应基因表达失调的分子机制目前受广泛关注, 如肝癌细胞中基因表达的表现遗传调控机制紊乱、转录因子的突变或异常活化/失活、基因组DNA的突变或缺失以及功能蛋白异常的翻译后修饰和降解等, 均在肝癌细胞中基因表达调控和肿瘤生物学特性形成中发

挥重要作用^[16]。就本工作所发现的CARD10在肝癌中表达增高而言, 肝癌细胞中介导CARD10表达增高的分子机制目前仍然未知, CARD10表达调控的潜在机制仍有待进一步研究。

CARD家族分子目前已发现在肝脏疾病发生发展过程中发挥重要的调控作用^[17-18]。研究发现在脂肪肝和脂肪性肝炎进展过程中, CARD6表达发生了显著的降低, 并且促进了ASK1 (apoptosis signal-regulating kinase 1) 及下游JNK和p38信号通路的活化, 进而促进脂肪肝疾病发展^[19]。此外, CARD6还能发挥抑制肝脏缺血再灌注损伤的功能^[20]。结合本工作所发现的CARD10促进肝癌凋亡抵抗的作用, CARD家族分子可能在肝脏各个生理和病理过程中均发挥重要的调控功能。因此, 系统研究CARD家族分子在肝脏疾病发生发展中的功能和相应的分子机制, 是具有广阔前景的研究方向。

综上, 本工作发现CARD10在肝癌组织中表达显著增高, 并与患者肝癌进展分期呈显著正相关。机制研究发现, CARD10能够通过增强肝癌细胞中促生存NF- κ B信号通路的活化, 进而促进肝癌细胞的凋亡抵抗, 从而为肝癌肿瘤生物学特性的形成提出了新的机制。

[参考文献]

- [1] SETHI G, SHANMUHAM M K, WARRIER S, et al. Pro-apoptotic and anti-cancer properties of diosgenin: a comprehensive and critical review[J]. *Nutrients*, 2018, 10(5). pii: E645. DOI: 10.3390/nu10050645.
- [2] MCAULEY J R, FREEMAN T J, EKAMBARAM P, et al. CARMA3 is a critical mediator of G protein-coupled receptor and receptor tyrosine kinase-driven solid tumor pathogenesis[J]. *Front Immunol*, 2018, 9: 1887. DOI: 10.3389/fimmu.2018.01887.
- [3] PENG L, HE K, CAO Z, et al. CARD10 promotes the progression of renal cell carcinoma by regulating the NF- κ B signaling pathway[J]. *Mol Med Rep*, 2020, 21(1):329-337. DOI: 10.3892/mmr.2019.

- 10840.
- [4] CRONE S G, JACOBSEN A, FEDERSPIEL B, et al. MicroRNA-146a inhibits G protein-coupled receptor-mediated activation of NF- κ B by targeting CARD10 and COP8 in gastric cancer[J]. *Mol Cancer*, 2012, 11:71. DOI: 10.1186/1476-4598-11-71.
- [5] LIU X, ZHANG X, BI J, et al. Caspase recruitment domain family member 10 regulates carbamoyl phosphate synthase 1 and promotes cancer growth in bladder cancer cells[J]. *J Cell Mol Med*, 2019, 23(12): 8128-8138. DOI: 10.1111/jcmm.14683.
- [6] CHANG Y W, CHIU C F, LEE K Y, et al. CARMA3 represses metastasis suppressor NME2 to promote lung cancer stemness and metastasis[J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2015, 192(1): 64-75. DOI: 10.1164/rccm.201411-1957OC.
- [7] HOU J, LIN L, ZHOU W, et al. Identification of miRNomes in human liver and hepatocellular carcinoma reveals miR-199a/b-3p as therapeutic target for hepatocellular carcinoma[J]. *Cancer Cell*, 2011, 19(2): 232-243. DOI: 10.1016/j.ccr.2011.01.001.
- [8] HOU J, ZHOU Y, ZHENG Y, et al. Hepatic RIG-I predicts survival and interferon- α therapeutic response in hepatocellular carcinoma[J]. *Cancer Cell*, 2014, 25(1): 49-63. DOI: 10.1016/j.ccr.2013.11.011.
- [9] ZHENG Q, HOU J, ZHOU Y, et al. The RNA helicase DDX46 inhibits innate immunity by entrapping m6A-demethylated antiviral transcripts in the nucleus[J]. *Nat Immunol*, 2017, 18(10): 1094-1103. DOI: 10.1038/ni.3830.
- [10] YANG Y, ZHOU Y, HOU J, et al. Hepatic IFIT3 predicts interferon- α therapeutic response in patients of hepatocellular carcinoma[J]. *Hepatology*, 2017, 66(1): 152-166. DOI: 10.1002/hep.29156.
- [11] HAN Y, LIU Q, HOU J, et al. Tumor-induced generation of splenic erythroblast-like Ter-Cells promotes tumor progression[J]. *Cell*, 2018, 173(3): 634-648.e12. DOI: 10.1016/j.cell.2018.02.061.
- [12] ASHKENAZI A, FAIRBROTHER W J, LEVERSON J D, et al. From basic apoptosis discoveries to advanced selective BCL-2 family inhibitors[J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2017, 16(4): 273-284. DOI: 10.1038/nrd.2016.253.
- [13] WANG X, SIMPSON E R, BROWN K A. p53: protection against tumor growth beyond effects on cell cycle and apoptosis[J]. *Cancer Res*, 2015, 75(23): 5001-5007. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-15-0563.
- [14] PFEFFER C M, SINGH A T K. Apoptosis: A Target for Anticancer Therapy[J]. *Int J Mol Sci*, 2018, 19(2). pii: E448. DOI: 10.3390/ijms19020448.
- [15] KARTAL-YANDIM M, ADAN-GOKBULUT A, BARAN Y. Molecular mechanisms of drug resistance and its reversal in cancer[J]. *Crit Rev Biotechnol*, 2016, 36(4): 716-726. DOI: 10.3109/07388551.2015.1015957.
- [16] PAWLOWSKA E, SZCZEPANSKA J, SZATKOWSKA M, et al. An interplay between senescence, apoptosis and autophagy in glioblastoma multiforme-role in pathogenesis and therapeutic perspective[J]. *Int J Mol Sci*, 2018, 19(3). pii: E889. DOI: 10.3390/ijms19030889.
- [17] HOU H, LI W X, CUI X, et al. CARMA3/NF- κ B signaling contributes to tumorigenesis of hepatocellular carcinoma and is inhibited by sodium aescinate[J]. *World J Gastroenterol*, 2019, 25(36): 5483-5493. DOI: 10.3748/wjg.v25.i36.5483.
- [18] CUI J, CHEN Y, WANG H Y, et al. Mechanisms and pathways of innate immune activation and regulation in health and cancer[J]. *Hum Vaccin Immunother*, 2014, 10(11): 3270-3285. DOI: 10.4161/21645515.2014.979640.
- [19] SUN P, ZENG Q, CHENG D, et al. Caspase recruitment domain protein 6 protects against hepatic steatosis and insulin resistance by suppressing apoptosis signal-regulating kinase 1[J]. *Hepatology*, 2018, 68(6): 2212-2229. DOI: 10.1002/hep.30075.
- [20] QIN J J, MAO W, WANG X, et al. Caspase recruitment domain 6 protects against hepatic ischemia/reperfusion injury by suppressing ASK1[J]. *J Hepatol*, 2018, 69(5): 1110-1122. DOI: 10.1016/j.jhep.2018.06.014.

[收稿日期] 2020-02-15

[修回日期] 2020-02-28

[本文编辑] 韩丹