

CRIF1 参与高糖诱导的 rRNA 基因转录

贾会会 阎海霞 程谟斌 张 业

摘 要 **目的** 探索 CRIF1 在高糖诱导下对 rRNA 基因转录中的作用。**方法** 在 HEK293T 细胞中,转染 CRIF1 表达载体或空载对照,培养 48h 后收取细胞提取总 RNA,通过 RT-qPCR 检测 pre-rRNA 的 mRNA 水平;用含 0、1、4.5g/L 糖浓度的培养基培养 HEK293T 细胞 12h 后,收集全细胞提取物,进行 Western blot 法检测 CRIF1 蛋白的表达水平;在 HEK293T 细胞中转染 shCRIF1 干扰质粒或空载对照,36h 后换用含 0、1、4.5g/L 糖浓度的培养基继续培养细胞 12h 后,收取细胞提取总 RNA,通过 RT-qPCR 检测 pre-rRNA 的水平。**结果** CRIF1 可促进 pre-rRNA 的表达;随着糖浓度的升高,CRIF1 的表达量逐渐增加;敲低 CRIF1 可抑制糖浓度依赖的 pre-rRNA 的表达。**结论** CRIF1 可提高高糖诱导下 pre-rRNA 的表达水平,从而参与高糖诱导的 rRNA 基因的转录调控。

关键词 CRIF1 pre-rRNA 葡萄糖 诱导

中图分类号 R3

文献标识码 A

DOI 10.11969/j.issn.1673-548X.2017.11.007

CRIF1 Promotes rRNA Gene Transcription Induced by High Glucose. Jia Huihui, Yan Haixia, Cheng Mobin, et al. Institute of Basic Medical Sciences Chinese Academy of Medical Sciences & School of Basic Medicine Peking Union Medical College, Beijing 100005, China

Abstract Objective To study the role of CRIF1 in high glucose induced rRNA gene transcription. **Methods** HEK293T cells were transfected with CRIF1 ectopic expression vector or control vector for 48 hours were collected. Total RNA was extracted to detect the mRNA level of pre-rRNA. HEK293T cells were cultured in DMEM medium containing 0, 1, 4.5g/L glucose for 12hours. The whole cell lysate were collected and CRIF1 was detected by Western blot assay. HEK293T cells were transfected with shCRIF1 vector or control vector for 36 hours and cultured in DMEM medium containing 0, 1, 4.5g/L glucose for another 12 hours were collected. Total RNA was extracted to detect the mRNA level of pre-rRNA. **Results** CRIF1 promoted the expression of pre-rRNA. CRIF1 expression gradually elevated with the increasing concentration of glucose. Knocking down of CRIF1 repressed the high expression of pre-rRNA depended on glucose. **Conclusion** CRIF1 promotes the pre-rRNA expression induced by glucose and plays an important role in glucose-induced rRNA gene transcriptional regulation.

Key words CRIF1; Pre-rRNA; Glucose; Induction

核糖体又称核蛋白体,是由核糖体 RNA(rRNA)和蛋白质组成的复合物,其功能是按照 mRNA 的信息将氨基酸高效精确地合成多肽链。在真核生物的细胞中,rRNA 基因(rDNA)位于细胞核的核仁内,属于丰富基因族的 DNA 序列,即染色体上一些相似或完全一样的纵列串联基因单位的重复,它的每个基因各自为一个转录单位。rRNA 主要是通过 RNA 聚合酶 I 转录 rDNA 来合成 rRNA 的前体(pre-rRNA),pre-rRNA 经剪接后首先分出属于核糖体小亚基的 18S rRNA,余下的部分再剪接成 5.8S 和 28S 的 rRNA,5S rRNA 由聚合酶 III 合成。rRNA 成熟后就在

核仁上装配,与核糖体蛋白质一起形成核糖体。核糖体在细胞生长和增殖过程中发挥着重要的作用^[1]。在生长旺盛的细胞中 rRNA 基因的转录活性非常高,pre-rRNA 的合成明显增多,而在生长停滞的细胞中,rRNA 基因的转录是降低的^[2]。若改变 pre-rRNA 的表达量,会影响细胞的生长增殖状况,甚至改变细胞的命运^[3]。例如,减少 pre-rRNA 的表达,抑制核糖体生成,可促进淋巴瘤细胞凋亡^[4]。L-Myc 可以促进 pre-rRNA 的合成及转录进而促进核糖体的合成,若在小细胞肺癌中敲掉 Mycl 基因,则可明显抑制小细胞肺癌的生长;使用 RNA 聚合酶 I 抑制剂,在小细胞肺癌中也看到明显的肿瘤抑制现象^[5]。以上证据表明若抑制肿瘤细胞中 pre-rRNA 的表达,可使肿瘤细胞逐渐凋亡。由此可见,减少肿瘤细胞中 pre-rRNA 的生物合成,抑制核糖体的生物合成有望成为治疗癌症的一种方案。

基金项目:国家自然科学基金资助项目(31371305)

作者单位:100005 中国医学科学院基础医学研究所/北京协和医学院基础学院医学分子生物学国家重点实验室

通讯作者:张业,电子信箱:yezhang@ibms.pumc.edu.cn;程谟斌,电子信箱:mobincheng@ibms.pumc.edu.cn

CRIF1 (CR6-interacting factor 1) 最初是作为 Gadd45 (growth arrest and DNA damage inducible) 家族蛋白的结合蛋白发现的,参与细胞周期的负调控作用^[6,7]。CRIF1 也参与信号通路的调控,CRIF1 通过调控 PKA/CREB 信号通路来促进骨髓间充质干细胞 (BM-MSCs) 的成脂分化^[8]。此外,研究表明 CRIF1 正常组织和癌症组织中的表达是不同的,也有报道说明 CRIF1 很可能是一个潜在的抑癌因子^[6,9]。本实验室早期曾以 SNF5 为饵蛋白,在人 cDNA 文库中通过酵母双杂交获得了一系列 SNF5 的结合蛋白,并选取其中感兴趣的蛋白作为目标进行深入研究,笔者已经证明了 PIH1 与组蛋白 H4 相互作用,通过 SNF5 募集 Brg1-SWI/SNF 复合物到人类 rRNA 基因上,促进 rRNA 基因的转录,介导高糖诱导的 pre-rRNA 的生物合成,与 SNF5 结合的另一个蛋白——CRIF1,通过募集 SNF5 来调控 P53 的活性,进而抑制细胞的生长与增殖及肿瘤的生成^[10,11]。CRIF1 也被报道与能量代谢相关,可能对肿瘤起抑制作用^[9,12,13]。

为进一步解释 CRIF1 参与细胞周期调控和肿瘤抑制的机制,本实验室以 CRIF1 为研究对象,在转录水平上检测 CRIF1 对核糖体 rRNA 基因转录调控的影响。目前关于 CRIF1 参与 pre-rRNA 的表达的机制及 CRIF1 的表达与糖浓度之间的联系还没有报道。若解决这一问题,可以为日后肿瘤的治疗、细胞的生长与增殖,细胞凋亡等方面的研究提供科学参考。本研究是首次发现 CRIF1 与高糖诱导的核糖体 rRNA 基因转录调控之间的关系,为进一步解释高糖诱导 rDNA 的转录提供了线索和依据。

材料与方法

1. 材料:转染试剂 Vgofect (威格拉斯生物技术公司);质粒 Flag-pcDNA6-CRIF1 (本课题组);空载体 pcDNA6 (本课题组);质粒 PKO.1-shCRIF1、pKO.1-psFAX2、pMD2.G (本课题组);HEK293T 细胞株 (本课题组);DMEM 培养基为美国 Gibco 公司产品;胎牛血清为法国 Biowest 公司产品;M-MLV 反转录酶及 Trizol 试剂均为美国 Invitrogen 公司产品;GoTaq[®] qPCR Master Mix 为美国 Promega 公司产品。抗体 GAPDH (sc-166574)、CRIF1 (sc-374122)、CRIF1 (sc-134882) 购自美国 Santa Cruz Biotechnology 公司;二抗辣根过氧化物酶标记的抗小鼠 IgG 和兔 IgG 购自日本 MBL 生物技术公司。

2. 实验方法:(1) 细胞培养和转染:HEK293T 细胞用 DMEM 培养基 (含 10% 胎牛血清、100mU/L 青

霉素和 100mU/L 链霉素),培养于 5% CO₂,37℃ 的细胞孵箱。待细胞长至 70%~80% 时开始进行转染,转染方法按照威格拉斯转染试剂说明书进行操作。(2) 体外包装慢病毒:培养 HEK293T 细胞至对数生长期,收集细胞,接种 5×10^6 的细胞至 100mm 细胞培养皿中,置于细胞培养箱中过夜,待细胞融合率约 80%,按照 Vgofect 转染试剂说明书操作要求包装慢病毒,收集病毒上清。用于感染实验的可暂存于 4℃ (可保存 14 天),其他存 -80℃ 冰箱备用。(3) 慢病毒感染实验:将包装好的目的慢病毒以及对照慢病毒感染 HEK293T 细胞,慢病毒原液与 DMEM 培养基以 1:1 比例混合,加入细胞培养皿中,培养 36h 后,换成不同浓度梯度的培养基,继续培养 12h,收细胞,提取 RNA 和蛋白。(4) 免疫印记分析:取 40μl 全细胞裂解液,加 10μl 的 5×SDS 上样缓冲液,混匀后 100℃ 变性 5min。取 25μl 在 SDS-PAGE 凝胶电泳分离蛋白(剩下的备份),将胶上的蛋白质电转印至硝酸纤维素膜,将含目的蛋白 CRIF1 与 GAPDH 的条带剪下,用 5% 脱脂牛奶室温封闭 1h,一抗 4℃ 孵育过夜,再用 HRP 标记的二抗室温杂交 1h,ECL 法显影检测蛋白表达。(5) 细胞总 RNA 的提取及 RT-qPCR:4℃ 800r/min 离心 5min 收集细胞,用 5~10 倍体积的预冷 PBS 缓冲液洗涤细胞沉淀两次。加入 1ml Trizol,立即吹打均匀、加氯仿 (200μl) 去蛋白、异丙醇沉淀、冰浴下提取总 RNA,测 A₂₆₀ 和 A₂₈₀ 波长下的光吸收度,计算 RNA 的纯度和浓度。再将 RNA 反转录成 cDNA,其余 RNA 样品保存在 -70℃ 中。然后以反转录产物为模板及下列引物 pre-rRNA:上游引物:5'-GAACGGTGGTGTGTCGTTTC-3'和下游引物:5'-GCGTCTCGTCTCGTCTCACT-3';上游引物:CRIF1:5'-GGTGGTCCCCGGTTCGTTATGG-3'和下游引物:5'-CTCGCGCCTCCTTCTTCCGTTTCT-3'作为目的基因引物;β-actin:上游引物:5'-ATCGTCACACGCAAATGCTTCTA-3'和下游引物:5'-AGCCATGCCAATCTCATCTTGTT-3';GAPDH:上游引物:5'-GAAGGTGAAGGTCGGAGTC-3'和下游引物:5'-GAAGATGGTGATGGGATTT-3'作为内参引物;在 Bio-Rad CFX96 real-time RT-PCR system 上进行 real-time PCR 扩增。域值 (threshold) 选定在扩增曲线的线性范围内 (the linear range, Qt)。以每个样品组的目的基因/管家基因的比值代表相应基因表达水平的变化。

3. 统计学方法:本实验所有数据均以均数 ± 标准

差($\bar{x} \pm s$)表示,用 STDEV.S 函数公式计算标准偏差,实验所有比较各组间数据进行统计学 t 检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1. CRIF1 促进 pre-rRNA 的表达:在 HEK293T 细胞中转染 CRIF1 表达载体或空载体对照,培养 48h 后收取细胞提取总 RNA,通过 real-time PCR 检测 pre-rRNA 的水平(GAPDH 作为内参基因)。结果显示,pre-rRNA 的 mRNA 表达水平明显升高(图 1)。

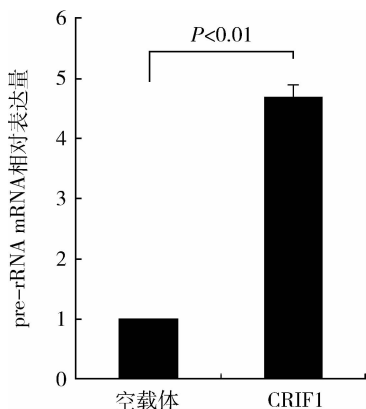


图 1 CRIF1 对可 pre-rRNA 基因 mRNA 表达的影响

2. 高糖促进 CRIF1 的表达:利用含 0、1、4.5 g/L 葡萄糖浓度的培养基培养 HEK293T 细胞 12h 后,收集全细胞提取物,进行免疫印记检测,结果显示随着葡萄糖浓度的升高,CRIF1 的表达量增加(图 2)。

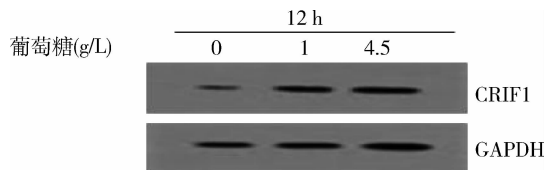


图 2 葡萄糖浓度对 CRIF1 蛋白表达的影响

3. 敲低 CRIF1,高糖诱导下 pre-rRNA 的表达:在用 4.5 g/L 葡萄糖浓度的 DMEM 培养基培养的 HEK293T 细胞中转染 shCRIF1 干扰质粒或空载体对照,36h 后换成 0、1、4.5 g/L 葡萄糖浓度的 DMEM 培养基,继续培养 12h 后收取细胞提取总 RNA,通过 real-time PCR 检测 pre-rRNA 的表达水平和 CRIF1 的敲低效果(图 3,β-actin 作为内参基因)。结果显示发现敲低 CRIF1,可抑制糖浓度依赖的 pre-rRNA 的表达(图 4)。

讨 论

在真核生物的细胞中,用于转录生成 pre-rRNA

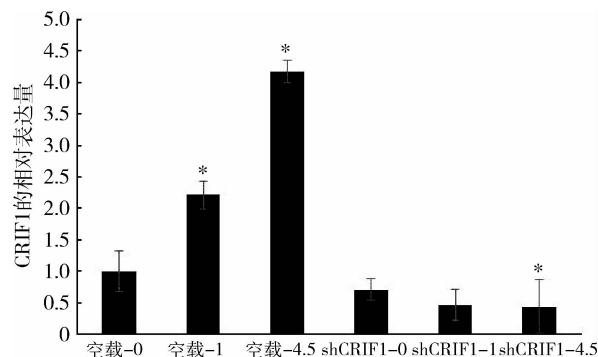


图 3 敲低 CRIF1 的效果检测

与空载-0 组比较, * $P < 0.05$

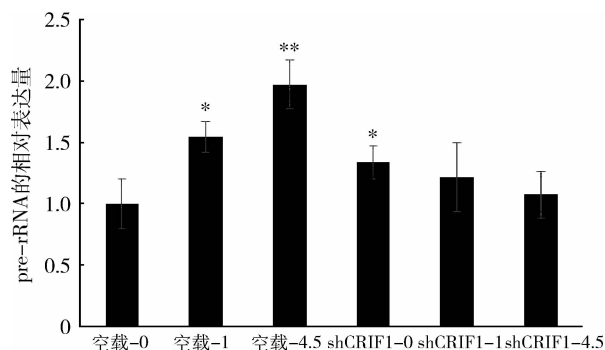


图 4 敲低 CRIF1 对糖浓度依赖的 pre-rRNA 表达的影响

与空载-0 组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

的基因——rDNA 位于细胞核的核仁内。rRNA 对控制翻译的精确性、tRNA 的选择、蛋白因子的结构、肽键的形成等发挥主要作用。核糖体在细胞生长与增殖过程中发挥着至关重要的作用^[3, 14]。有报道称,由 rDNA 转录生成的 pre-rRNA,约 50% 用于合成数百万计的核糖体,以供细胞生长和增殖,另一些用于聚集 rRNA,从而达到一个平衡^[3]。若通过信号通路或 RNA 聚合酶 I 来影响 rDNA 的转录,改变 pre-rRNA 的表达量,则会影响细胞的生长增殖状况,甚至改变细胞的命运。在癌细胞中 AKT 协同 c-MYC 可促进 rRNA 的生成,从而合成核糖体,若抑制 AKT 依赖的 rRNA 基因转录,减少 pre-rRNA 的表达,抑制核糖体生成,可促进淋巴瘤细胞凋亡^[4]。合成 pre-rRNA 关键因子 DEF(digestive organ expansion factor)的在人神经母细胞瘤中高表达,它的缺失会诱导人神经母细胞瘤的凋亡^[15]。这些研究说明,肿瘤细胞中 pre-rRNA 的表达及核糖体的生成,对肿瘤细胞的生长起到至关重要的作用。

CRIF1 最先是通过酵母双杂交试验发现的,与

Gadd45 家族的 3 个成员相互作用,通过 CDC2 和 CDK2 激酶抑制和调控细胞周期的 G₁/S 期和 G₂/M 限制点,参与细胞周期的负调控作用^[6,7]。Gadd45 家族蛋白是高度保守的,3 个家族蛋白有 68% ~ 70% 的同源性,它们在维持基因组的稳定性和调控细胞周期中发挥重要的作用^[16]。目前已有研究证明 CRIF1 在细胞中是广泛存在的,既存在于细胞核中又存在于细胞质中^[17]。CRIF1 是 STAT3 (signal transducer and activator of transcription 3) 的转录共激活因子,参与 STAT3 信号通路的调控,CRIF1 的敲除能够降低 STAT3 转录活性及 DNA 结合能力,也同样影响 STAT3 靶基因的转录活性^[18]。CRIF1 能与孤核受体 Nur77 及雄激素受 AR 的结合来抑制它们的反式激活^[19~21]。以上证据提示了 CRIF1 在细胞周期调控、转录调控等方面有一定的作用。此外,研究表明 CRIF1 在正常的甲状腺和肾上腺组织中 CRIF1 mRNA 的水平是最高的,在肾上腺腺瘤以及甲状腺乳头状瘤中 CRIF1 蛋白的表达量要比癌旁正常组织中低,这些证据说明 CRIF1 可能是个抑癌因子^[6,9]。但是,CRIF1 参与细胞周期调控及肿瘤抑制的分子机制现在还并不清楚。实验室前期结果已经证明了 PIH1 参与高糖诱导的核糖体 DNA 的转录调控。因核糖体在细胞增殖过程中发挥着重要的作用,笔者检测了 CRIF1 在核糖体 rRNA 基因转录水平上的影响。实验结果表明,随着糖浓度的升高,CRIF1 的表达量也增加,并且 CRIF1 可促进 pre-rRNA 的表达。为了进一步验证 rDNA 的转录是否对 CRIF1 存在依赖性,笔者在 HEK293T 细胞中敲低 CRIF1,发现能抑制糖浓度依赖的 pre-rRNA 表达。

综上所述,CRIF1 可提高高糖诱导下 pre-rRNA 的表达水平,从而参与高糖诱导的 rRNA 基因的转录调控。本研究是首次发现 CRIF1 与核糖体 DNA 转录调控之间的关系,为进一步探索高糖诱导 rDNA 的转录的分子机制提供了线索和依据,同时也对进一步探究它的作用机制或者解释一些生理现象有着重要的意义,为日后进行关于细胞的生长和增殖、细胞凋亡、肿瘤治疗方面的研究提供科学依据。

参考文献

- Moss T, Langlois F, Gagnon Kugler, *et al.* A housekeeper with power of attorney: the rRNA genes in ribosome biogenesis[J]. *Cell Mol Life Sci*, 2007, 64(1): 29-49
- Grummt I, Pikaard CS. Epigenetic silencing of RNA polymerase I transcription[J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2003, 4(8): 641-649
- Russell J, Zomerijk JC. RNA-polymerase-I-directed rDNA tran-

- scription, life and works[J]. *Trends Biochem Sci*, 2005, 30(2): 87-96
- Chan JC, Hannan KM, Riddell K, *et al.* AKT promotes rRNA synthesis and cooperates with c-MYC to stimulate ribosome biogenesis in cancer[J]. *Sci Signal*, 2011, 4(188): ra56
- Kim DW, Wu N, Kim YC, *et al.* Genetic requirement for Mycl and efficacy of RNA Pol I inhibition in mouse models of small cell lung cancer[J]. *Genes Dev*, 2016, 30(11): 1289-1299
- Chung HK, Yi YW, Jung NC, *et al.* CR6-interacting factor 1 interacts with Gadd45 family proteins and modulates the cell cycle[J]. *J Biol Chem*, 2003, 278(30): 28079-28088
- Ran Q, Hao P, Xiao Y, *et al.* CRIF1 interacting with CDK2 regulates bone marrow microenvironment-induced G0/G1 arrest of leukemia cells[J]. *PLoS One*, 2014, 9(2): e85328
- Zhang X, Xiang L, Ran Q, *et al.* Crif1 promotes adipogenic differentiation of bone marrow mesenchymal stem cells after irradiation by modulating the PKA/CREB signaling pathway[J]. *Stem Cells*, 2015, 33(6): 1915-1926
- Kwon MC, Koo BK, Kim YY, *et al.* Essential role of CR6-interacting factor 1 (Crif1) in E74-like factor 3 (ELF3)-mediated intestinal development[J]. *J Biol Chem*, 2009, 284(48): 33634-33641
- Zhai N, Zhao ZL, Cheng MB, *et al.* Human PIH1 associates with histone H4 to mediate the glucose-dependent enhancement of pre-rRNA synthesis[J]. *J Mol Cell Biol*, 2012, 4(4): 231-241
- Yan HX, Zhang YJ, Zhang Y, *et al.* CRIF1 enhances p53 activity via the chromatin remodeler SNF5 in the HCT116 colon cancer cell lines[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2017, 1860(4): 516-522
- Vahedi S, Chueh FY, Chandran B, *et al.* Lymphocyte-specific protein tyrosine kinase (Lck) interacts with CR6-interacting factor 1 (CRIF1) in mitochondria to repress oxidative phosphorylation[J]. *BMC Cancer*, 2015, 15: 551
- Vahedi S, Chueh FY, Dutta S, *et al.* Nuclear lymphocyte-specific protein tyrosine kinase and its interaction with CR6-interacting factor 1 promote the survival of human leukemic T cells[J]. *Oncol Rep*, 2015, 34(1): 43-50
- McStay B, Grummt I. The epigenetics of rRNA genes: from molecular to chromosome biology[J]. *Annu Rev Cell Dev Biol*, 2008, 24: 131-157
- Tao T, Sondalle SB, Shi H, *et al.* The pre-rRNA processing factor DEF is rate limiting for the pathogenesis of MYCN-driven neuroblastoma[J]. *Oncogene*, 2017, 2016: 527
- Fornace AJ Jr, Nebert DW, Hollander MC, *et al.* Mammalian genes coordinately regulated by growth arrest signals and DNA-damaging agents[J]. *Mol Cell Biol*, 1989, 9(10): 4196-4203
- Koc EC, Cimen H, Kumcuoglu B, *et al.* Identification and characterization of CHCHD1, AURKAIP1, and CRIF1 as new members of the mammalian mitochondrial ribosome[J]. *Front Physiol*, 2013, 4: 183
- Kwon MC, Koo BK, Moon JS, *et al.* Crif1 is a novel transcriptional coactivator of STAT3[J]. *EMBO J*, 2008, 27(4): 642-653

(下转第 27 页)

优势。而 AFP-L3% 在乙肝肝硬化人群中诊断肝癌的特异性达到 97.5%, 明显高于 AFP 及 AFP-L3, 具有明显的优势, 但 AFP-L3% 的敏感度较低, 限制了其应用。可以将 AFP 筛查阳性的患者进一步检查 AFP-L3 通过 AFP-L3% 来提高肝癌诊断的准确性。联合应用 AFP、AFP-L3、AFP-L3%, 将有可能进一步提高肝癌诊断的敏感度和特异性。

血清 IL-6 由造血细胞和上皮细胞产生的一种多效应细胞因子, 被认为是肝细胞 CRP 合成的主要介质^[15]。在肿瘤的微环境中, 其与 gp80/gp130 复合体结合, 导致 JAK 活化和 STAT3 磷酸化, 调节细胞增殖和阻止凋亡发生^[16]。动物实验表明 IL-6 是一种重要的促癌因子, 亦有报道人 IL-6 基因的单核苷酸多态性和肝癌的发生密切相关^[17]。因此, 近年来 IL-6 被广泛尝试用于早期肝癌的诊断, 但相关研究报道相对较少。本研究发现 IL-6 表达水平随着疾病病程进展而逐渐增高, 其在诊断肝癌方面有着很高的敏感度, 但其特异性差, 不能有效区分炎症及肿瘤等, 所以不能有效用于肝癌的诊断。

综上所述, 血清肿瘤标志物 AFP、AFP-L3 及 AFP-L3% 均能有效用于肝癌的筛查, 其中 AFP-L3% 更具有优势, 但单一应用效果均不理想, 需要联合检测相互补充, 相互印证, 从而提高原发性肝癌的检出率。IL-6 虽在肿瘤中表达水平增高, 但其易受炎症等多种因素影响, 不能用于肝癌的诊断。

参考文献

- Marrero JA, Feng Z, Wang Y, *et al.* Alpha - fetoprotein, des - gamma carboxyprothrombin, and lectin - bound alpha - fetoprotein in early hepatocellular carcinoma[J]. *Gastroenterology*, 2009, 137 (1): 110 - 118
- Sangro B, Carpanese L, Cianni R, *et al.* Survival after yttrium - 90 resin microsphere radioembolization of hepatocellular carcinoma across Barcelona clinic liver cancer stages: a European evaluation[J]. *Hepatology*, 2011, 54 (3): 868 - 878
- Malaguarrera G, Giordano M, Paladina I, *et al.* Serum markers of hepatocellular carcinoma[J]. *Dig Dis Sci*, 2010, 55: 2744 - 2755
- Sander LE, Trautwein C, Liedtke C. Is interleukin - 6 a genderspecific

- ic risk factor for liver cancer ? [J]. *Hepatology*, 2007, 46 (4): 1304 - 1305
- 中华医学会肝病学分会、感染病学分会. 慢性乙型肝炎防治指南[J]. *中华肝脏病杂志*, 2005, 13 (12): 881 - 891
- 中华人民共和国卫生部. 原发性肝癌诊疗规范 (2011 年版) [J]. *临床肿瘤学杂志*, 2011, 16 (10): 929 - 946
- Llovet JM, Bru C, Bruix J. Prognosis of hepatocellular carcinoma: the BCLC staging classification. [J]. *Semin Liver Dis*, 1999; 19 (3): 329 - 338
- Siegel R, Naishadham D, Jemal A. Cancer statistics, 2013 [J]. *CA Cancer J Clin*, 2013, 63 (1): 11 - 30
- Pahwa A, Beckett K, Channul S, *et al.* Efficacy of the American Association for the Study of Liver Disease and Barcelona Criteria for the diagnosis of hepatocellular carcinoma[J]. *Abdom Imaging*, 2014, 39 (4): 753 - 760
- Xu Y, Lu X, Mao Y, *et al.* Clinical diagnosis and treatment of alpha - fetoprotein - negative small hepatic lesions[J]. *Chin J Cancer Res*, 2013, 25 (4): 382 - 388
- Tang XQ. Application of chemiluminescent enzyme immunoassay for tumor markers in primary liver cancer[J]. *Lab Med Clin*, 2013, 10 (19): 2580 - 2581
- Tatarinov IuS. Detection of embryo - specific alpha - globulin in the blood serum of a patient with primary liver cancer[J]. *Vopr Med Khim*, 1964, 10: 90 - 91
- Liu C, Xiao GQ, Yan LN, *et al.* Value of α - fetoprotein in association with clinicopathological features of hepatocellular carcinoma[J]. *World J Gastroenterol*, 2013, 19 (11): 1811 - 1819
- Food and Drug Administration, HHS. Medical devices; immunology and microbiology devices; classification of AFP - L3% immunological test systems. Final rule[J]. *Fed Regist*, 2005, 70 (191): 57748 - 57750
- Czarkowska - Paczek B, Bartłomiejczyk I, Gabrys T, *et al.* Lack of relationship between interleukin - 6 and CRP levels in healthy male athletes[J]. *Immunol Lett*, 2005, 99 (1): 136 - 140
- Bromberg J, Wang TC. Inflammation and cancer: IL - 6 and STAT3 complete the link[J]. *Cancer Cell*, 2009, 15 (2): 79 - 80
- Liu Y, Gao SJ, Du BX, *et al.* Association of IL - 6 polymorphisms with hepatocellular carcinoma risk: evidences from a meta - analysis[J]. *Tumour Biol*, 2014, 35 (4): 3551 - 3561

(收稿日期: 2017 - 03 - 17)

(修回日期: 2017 - 03 - 29)

(上接第 23 页)

- Park KC, Song KH, Chung HK, *et al.* CR6 - interacting factor 1 interacts with orphan nuclear receptor Nur77 and inhibits its transactivation[J]. *Mol Endocrinol*, 2005, 19 (1): 12 - 24
- Tan JA, Bai S, Grossman G, *et al.* Mechanism of androgen receptor corepression by CKbetaBP2/CRIF1, a multifunctional transcription factor coregulator expressed in prostate cancer[J]. *Mol Cell Endocrinol*, 2014, 382 (1): 302 - 313
- Suh JH, Shong M, Choi HS, *et al.* CR6 - interacting factor 1 represents the transactivation of androgen receptor by direct interaction[J]. *Mol Endocrinol*, 2008, 22 (1): 33 - 46

(收稿日期: 2017 - 03 - 28)

(修回日期: 2017 - 03 - 29)