

陶佳,何琳莉,王莉,等. 过表达 TFB1M 抑制肝癌细胞迁移和侵袭 [J]. 中国比较医学杂志, 2024, 34(9): 76-82.

Tao J, He LL, Wang L, et al. Overexpression of TFB1M inhibits hepatocellular carcinoma cell migration and invasion [J]. Chin J Comp Med, 2024, 34(9): 76-82.

doi: 10.3969/j.issn.1671-7856.2024.09.009

过表达 TFB1M 抑制肝癌细胞迁移和侵袭

陶佳^{1,2}, 何琳莉^{1,2}, 王莉^{1,2}, 戈鹏圣³, 蹇顺海^{1,2*}

(1. 川北医学院基础医学与法医学研究所, 四川南充 637100; 2. 川北医学院附属医院病理科, 四川南充 637100;
3. 川北医学院附属医院肝胆外科, 四川南充 637100)

【摘要】目的 分析线粒体转录因子 B1 (transcription factor B1, mitochondrial, TFB1M) 在肝癌细胞中的生物学作用, 初步探讨其调控 HCC 恶性转移的分子机制。**方法** 基于 TCGA-LIHC (liver hepatocellular carcinoma) 和 GEO 肝癌相关数据库分析 TFB1M 在肝癌中的表达水平及其与肝癌患者临床特征的关系; 基于 TFB1M 表达水平中位值, 将 TCGA-LIHC 样本分为 TFB1M 低表达组 ($n=170$) 和 TFB1M 高表达组 ($n=170$), 以高表达组为对照组, 利用 GSEA 进行基因集富集分析; 构建过表达 TFB1M 质粒, 转染肝癌 HepG2 和 Huh7 细胞。采用划痕愈合、Transwell 小室等检测过表达 TFB1M 对肝癌细胞迁移和侵袭的影响。**结果** 与正常肝组织相比, TFB1M 在肝癌组织中表达水平明显降低; 且 TFB1M 表达水平与肝癌患者性别有关。GSEA 富集分析结果显示, TFB1M 低表达组主要与肝癌增殖增强基因集、肝细胞癌干性增强基因集和细胞外基质组装基因集有关。细胞生物学实验结果显示, 与空载组相比, 过表达 TFB1M 后, 肝癌细胞迁移和侵袭能力均下降。**结论** TFB1M 在肝细胞癌中呈显著低表达, 过表达 TFB1M 能够显著抑制肝癌细胞迁移和侵袭。

【关键词】 肝细胞癌; 线粒体转录因子 B1; 细胞迁移; 细胞侵袭

【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856 (2024) 09-0076-07

Overexpression of TFB1M inhibits hepatocellular carcinoma cell migration and invasion

TAO Jia^{1,2}, HE Linli^{1,2}, WANG Li^{1,2}, GE Pengsheng³, JIAN Shunhai^{1,2*}

(1. Institute of Basic Medicine and Forensic Medicine, North Sichuan Medical College, Nanchong 637100, China.
2. Department of Pathology, Affiliated Hospital of North Sichuan Medical College, Nanchong 637100.
3. Department of Hepatobiliary Surgery, Affiliated Hospital of North Sichuan Medical College, Nanchong 637100)

【Abstract】Objective To explore the biological effect of transcription factor B1, mitochondrial (TFB1M) on hepatocellular carcinoma (HCC) cells, and to explore the molecular mechanism of its regulation on malignant metastasis of HCC. **Methods** The expression level of TFB1M in liver cancer and its relationship with clinical characteristics of patients with HCC was analyzed based on TCGA-LIHC and GEO databases. Based on the median expression level of TFB1M, the TCGA-LIHC samples were divided into low expression group of TFB1M ($n=170$) and high expression group of TFB1M ($n=170$), and GSEA was used for gene set enrichment analysis. The overexpressed TFB1M plasmid was constructed to transfect HepG2 and Huh7 cells. Cell migration and invasion were assessed by scratch healing and Transwell chamber assays. **Results** The expression of TFB1M was significantly decreased in HCC, and the expression of TFB1M was related with gender in HCC. The results of GSEA analysis indicated that the low expression of TFB1M might be related to liver cancer subclass proliferation up gene set, stem cell hepatocellular carcinoma gene set, and extracellular matrix assembly gene set in HCC. Overexpression of TFB1M remarkably attenuated the migration and invasion activity of HCC cells. **Conclusions** The expression of TFB1M was significantly decreased in HCC, and overexpression of TFB1M could attenuated the migration and invasion activity of HCC cells.

【基金项目】 四川省科技计划项目 (2018JY0501); 南充市 2020 年市校科技战略合作专项 (20SXQT0023)。

【作者简介】 陶佳 (1981—), 女, 硕士, 研究方向: 消化道恶性肿瘤临床病理研究。E-mail: taojia@nsmc.edu.cn

【通信作者】 蹇顺海 (1972—), 男, 硕士, 副教授, 研究方向: 肿瘤病理学。E-mail: 2051084695@qq.com

【Keywords】 hepatocellular carcinoma; TFB1M; cell migration; cell invasion
Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

肝癌的发病率和死亡率位居消化系统恶性肿瘤第三位和第二位^[1]。肝细胞癌是肝癌的主要亚型,约占肝癌的 85%~90%^[1]。近年来随着乙型肝炎疫苗接种以及健康宣教的普及,我国肝细胞癌发病率开始出现下降趋势,但是肝细胞癌患者 5 年生存率仍然较低^[2]。病毒感染、肝疾病以及生活方式与环境暴露是肝细胞癌发病的高危因素,但目前肝细胞癌发病机制仍不完全清楚。线粒体是 ATP 产生和活性氧产生的主要场所,其功能异常与恶性肿瘤的发生发展紧密相关^[3]。此外,线粒体介导内源性凋亡异常、线粒体介导钙离子储存异常等,与肿瘤细胞凋亡抵抗直接相关^[4-5]。线粒体转录因 B1 (transcription factor B1, mitochondrial, TFB1M) 是一个重要的线粒体 DNA (mitochondrial DNA, mtDNA) 转录因子,其家族成员还包括 TFAM 和 TFB2M^[6]。TFB1M 基因定位于染色体 6p14,蛋白质由 347 个氨基酸组成。有研究报道,新霉素致损 12 h,耳蜗听觉上皮细胞线粒体以及细胞核内 TFB1M 表达上调,提示 TFB1M 表达水平改变与听觉有关^[7]。目前,TFB1M 在恶性肿瘤的研究报道较少。Mu 等^[8]报道 TFB1M 在肝细胞癌中表达水平上调。基于此,深入研究 TFB1M 在肝细胞癌中的功能作用具有重要临床意义。本研究采用转染真核重组质粒过表达 TFB1M 水平,划痕愈合实验和 Transwell 小室实验检测肝癌细胞迁移和侵袭活性,结合生物信息学探讨 TFB1M 在肝癌细胞迁移过程中的功能作用,从而为肝细胞癌的发病机制提供理论基础,也为肝细胞癌治疗提供潜在作用靶点。

1 材料和方法

1.1 细胞

人类肝癌 HepG2 和 Huh7 细胞为本实验保存。用含 10% 胎牛血清和 1% 青链霉素的 DEME 培养基,于 5% CO₂ 培养箱 37 ℃ 常规培养。

1.2 主要试剂与仪器

DMEM 培养基 (Gibco, 12800017); 胎牛血清 (vivacell, C2830-0500); Lipofectamine 8000 转染试剂 (碧云天, C0533); RNAiso Plus (TaKaRa, 9108); PrimeScript™ RT Master Mix (TaKaRa, RR036A); TB Green Premix EX Taq™ II (TaKaRa, RR091A); TFB1M 抗体 (Abclonal, A15231); alpha-Tubulin 抗体

(Proteintech, 11224-1-AP); HRP 偶联的二抗 (Proteintech, SA00001-2); Transwell 小室 (Corning, CLS3422)。倒置显微镜 (Olympus); 细胞培养箱 (上海智城分析仪器制造有限公司); 定量 PCR 仪 (Bio-Rad); 高速冷冻离心机 (eppendorf); 超低温冰箱 (eppendorf); 超净工作台 (上海智城分析仪器制造有限公司)。

1.3 实验方法

1.3.1 公共数据获取及功能富集分析

从 GDC 官网下载癌症基因组数据 (the cancer genome atlas, TCGA) 中肝细胞癌 (liver hepatocellular carcinoma, LIHC) 转录组数据。通过 limma 包筛选差异表达基因。TCGA-LIHC 数据集纳入本研究肝癌样本 340 例,正常样本 50 例。GEO 官网搜索 GSE14520 和 GSE22058 肝癌数据集,下载转录组数据。下载基因集富集分析 (gene set enrichment analysis, GSEA) 软件并安装。以 TFB1M 中位表达水平为分界线,将肝癌患者分为 TFB1M 低表达组和 TFB1M 高表达组。将上述两组的表达矩阵上传至软件,运行 GSEA。

1.3.2 细胞培养和细胞转染

用含 10% 胎牛血清的 DMEM 高糖培养基于细胞培养箱常规培养肝癌 HepG2 和 Huh7 细胞。待细胞处于对数生长期时,进行转染,步骤按照脂质体说明书进行。本研究实验分 2 组:空载组 (转染空载质粒) 和 TFB1M 过表达组 (转染 TFB1M 真核重组质粒)。TFB1M 真核重组质粒和空载质粒由通用生物构建并提供。

1.3.3 qRT-PCR

提取 RNA, cDNA 合成步骤参照试剂盒说明书进行。采用 TB Green Premix 完成 PCR 扩增实验。扩增条件如下: 95 ℃ 预变性 10 min; 95 ℃ 变性 10 s, 60 ℃ 复性和延伸 30 s, 共计 40 个循环; 最后 72 ℃ 延伸 10 min。采用 2^{-△△Ct} 方法计算目的基因的相对表达水平。引物由生工合成,见表 1。

表 1 qRT-PCR 引物序列
Table 1 qRT-PCR primer sequence

基因	引物序列 (5'-3')
Gene	Primer sequence (5'-3')
TFB1M	上游 (Forward): TTGCAGCCAATACAGGAAGC
	下游 (Reverse): TGGGCTGTATCAAGGGAGTG
β-actin	上游 (Forward): TGGCACCACACCTTCTACAA
	下游 (Reverse): CCAAGGCGGTACAGGGATAG

1.3.4 免疫印迹(Western blot)

按照 RIPA 裂解液提取细胞总蛋白。采用 SDS-PAGE 进行垂直电泳,转膜,封闭。一抗 4 ℃ 孵育过夜(TFB1M(1 : 800);tubulin(1 : 5000)),TBST 清洗 3 次;二抗(1 : 10 000)常温孵育 1 h,TBST 清洗 3 次。ECL 发光液孵育,曝光,拍照保存。

1.3.5 划痕愈合实验

取适量细胞接种于 6 孔板,待细胞处于对数生长期时,进行细胞转染。转染 6 h 后,用 100 μL 无菌枪头划痕,换无血清培养基培养,并将此时记为 0 h。分别在 0 h 和 72 h 采用倒置显微镜拍照。

1.3.6 Transwell 小室检测细胞迁移和侵袭

细胞迁移实验:取适量细胞接种于 6 孔板,待细胞处于对数生长期时,进行细胞转染。转染 24 h 后,常规收集细胞,用 100 μL 无血清培养液重悬 10 000 个细胞,接种于 Transwell 上室。下室加入 600 μL 含 10%胎牛血清的细胞培养基。36 h 后,用棉棒擦除 Transwell 膜上表面的细胞,4%多聚甲醛固定 10 min,0.1%结晶紫染色 20 min,自来水冲洗,拍照。细胞侵袭实验:提前向 Transwell 上室铺 50 μL 基质胶,细胞培养箱孵育 4 h 后,弃液体。加入 100 μL 无血清培养基,细胞培养箱孵育 30 min 后,弃液体。后续步骤与细胞迁移步骤相同。

1.4 统计学方法

所有数据使用 Graphpad Prism 6.0 软件进行统计分析,以平均数±标准差($\bar{x}\pm s$)表示。两组间比较采用非配对 *t* 检验, $P<0.05$ 为差具有统计学意义。

2 结果

2.1 TFB1M 在肝细胞癌中呈低表达

利用 TCGA-LIHC 数据库,分析 TFB1M 在 340 例肝癌组织中的表达水平。结果发现,与癌旁组织相比,TFB1M 在肝癌组织中表达水平显著降低($P<0.01$,图 1)。此外,与男性肝癌患者相比,TFB1M 在女性肝癌患者癌组织中表达水平显著降低($P<0.05$),而 TBF1M 表达水平与年龄、TNM 分期、Grade 分级等因素无关(表 2)。接下来,本研究利用 GSE14520 和 GSE22058 数据集再次验证 TFB1M 在肝细胞癌中的表达水平。与 TCGA 数据结果一致,TFB1M 在肝癌组织中表达水平均显著降低(均 $P<0.05$,图 1)。上述研究结果表明,TFB1M 在肝细胞癌中表达水平下调,且 TFB1M 表达水平与肝癌患者性别有关。

2.2 转染重组质粒对肝癌细胞 TFB1M 表达水平的影响

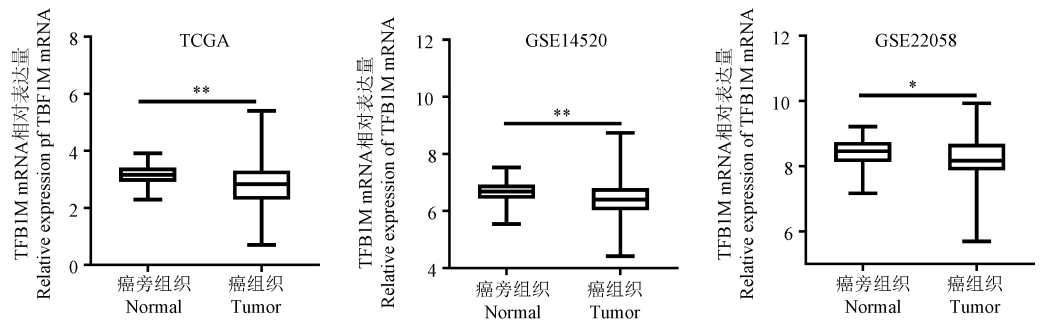
人类蛋白谱图(human protein atlas,HPA)数据库结果显示,TFB1M 在 24 种肝癌细胞系中表达水平不同,其中 TFB1M 在 HepG2 细胞系中表达水平较高,而在 Huh-7 细胞系中表达水平较低(图 2A)。基于此,本实验中挑取 HepG2 和 Huh-7 完成后续实验。如图 2B 所示,重组质粒经 SacI-XhoI 酶切后,获得的条带约 1124/5264 与预期 1124/5264 大小一致。酶切结果表明获得了含 TFB1M 基因全长的重组质粒。此外,对重组质粒进行双向测序表明质粒构建成功,碱基序列正确(图 2C)。

在肝癌 HepG2 和 Huh7 细胞中,与相应的空载组相比,转染 TFB1M 重组质粒 48 h 后,过表达 TFB1M 组 TFB1M mRNA 表达水平升高,分别升高(107.4±2.078)倍、(63.51±4.746)倍,差异均具有统计学意义(均 $P<0.01$,图 2D)。此外,免疫印迹也证实了在 HepG2 和 Huh7 细胞中,转染重组质粒能够显著升高 TFB1M 蛋白水平(图 2E)。上述结果表明,过表达 TFB1M 重组质粒构建成功,且转染 TFB1M 真核重组质粒能够显著升高肝癌细胞中 TFB1M 表达水平。

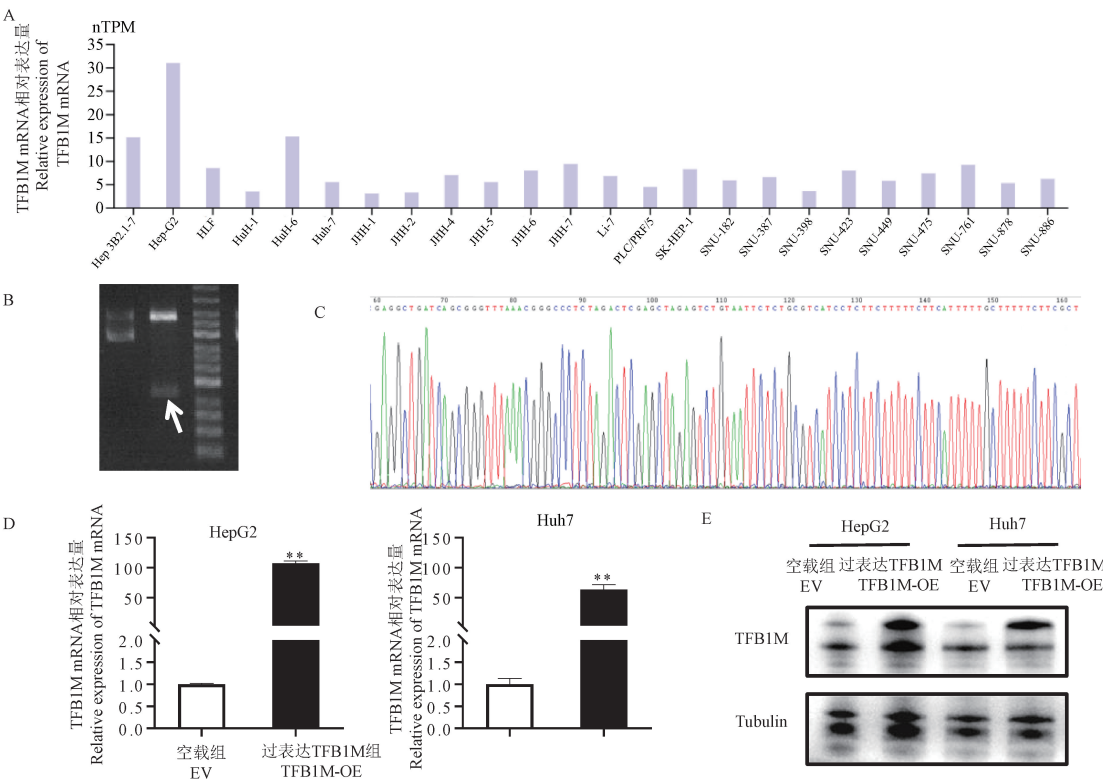
表 2 TFB1M 表达与肝癌患者临床特征的关系

Table 2 Relationship between the expression of TFB1M and clinical factors in HCC

临床因素 Clinical factor	例 Case	TFB1M mRNA 表达量($\bar{x}\pm s$) mRNA expression of TFB1M($\bar{x}\pm s$)	<i>P</i>
性别 Gender			
男 Male	232	2.875±0.048	0.026
女 Female	108	2.684±0.072	
年龄(岁) Age(years)			
<60	157	2.861±0.059	0.837
≥60	163	2.775±0.054	
TNM 分期 TNM stage			
1+2	239	2.863±0.047	0.163
3+4	81	2.729±0.087	
T 分期 T stage			
T1+T2	252	2.844±0.046	0.206
T3+T4	88	2.729±0.078	
N 分期 N stage			
N0	238	2.812±0.048	0.938
N1+N2	102	2.819±0.074	
远端转移 Distant metastasis			
M0	243	2.808±0.046	0.8
M1	97	2.830±0.080	
Grade 分级 Grade classification			
1+2	214	2.864±0.052	0.224
3+4	121	2.762±0.063	



注:与癌旁组织组相比, * $P<0.05$, ** $P<0.01$ 。
图 1 公共数据分析 TFB1M 在肝细胞癌中的表达水平
Note. Compared with normal group, * $P<0.05$, ** $P<0.01$.



注:A:HPA 数据库显示 TFB1M 在 24 种不同肝癌细胞系中表达水平;B:重组质粒经双酶切显示质粒构建正确,白色箭头指示双酶切后形成的 TFB1M 基因全长条带;C:重组质粒测序峰图;D:qPCR 检测 TFB1M mRNA 表达水平;E:Western blot 检测 TFB1M 蛋白水平。与空载组相比, ** $P<0.01$ 。

图 2 肝癌细胞中过表达 TFB1M 重组质粒验证

Note. A, HPA data showed the expression of TFB1M in 24 HCC cell lines. B, Enzyme digestion of the recombinant plasmid showed that the plasmid was constructed correctly and the white arrows indicated the full-length TFB1M band. C, Sequencing peak map of the recombinant plasmid. D, mRNA expression of TFB1M was detected by qPCR. E, Protein level of TFB1M was detected by Western blot. Compared with EV group, ** $P<0.01$.

Figure 2 Validation of TFB1M over-expression plasmid in HCC cells

2.3 基于生物信息学预测 TFB1M 功能作用

通过 R 包筛选 TFB1M 高表达组(170 例)和 TFB1M 低表达组(170 例)差异基因,对差异表达基因进行功能富集。结果显示,TFB1M 低表达组主要与肝癌增殖增强基因集、肝细胞癌干性增强基因

集、和细胞外基质组装基因集有关(图 3)。

2.5 TFB1M 对肝癌细胞迁移的影响

基于生物信息学预测结果,本研究通过划痕愈合实验检测过表达 TFB1M 对肝癌细胞迁移的影响。结果显示,与空载组相比,过表达 TFB1M 后,HepG2

细胞的迁移能力降低约 38.89%;Huh7 细胞的迁移能力降低约 32.22%(图 4)。为进一步验证过表达 TFB1M 抑制肝癌细胞迁移,本研究采用 Transwell 小室实验检测过表达 TFB1M 对肝癌细胞迁移的影响。结果显示,在 HepG2 细胞中,空载组穿过 Transwell 小室膜的细胞数为(80.0±2.0),过表达 TFB1M 组穿过 Transwell 小室膜的细胞数为(25.0±1.0)。在 Huh7 细胞中,空载组穿过 Transwell 小室膜的细胞数为(52.5±3.5),过表达 TFB1M 组穿过 Transwell 小室膜的细胞数为(12.0±2.0)。过表达 TFB1M 后肝癌细胞迁移能力显著降低,其差异均具有统计学意义(均 $P<0.01$)。上述结果表明,过表达 TFB1M 能够显著抑制肝癌细胞迁移。

2.6 TFB1M 对肝癌细胞侵袭的影响

基于生物信息学预测结果,我们展开过表达 TFB1M 对肝癌细胞侵袭的影响。结果显示,在 HepG2 细胞中,空载组细胞浸润基质胶并穿过 Transwell 小室膜的细胞数为(114.0±4.0),过表达 TFB1M 组细胞浸润基质胶并穿过 Transwell 小室膜的细胞数为(45.0±1.0),其差异具有统计学意义($P<0.01$,图 5A)。在 Huh7 细胞中,空载组细胞浸润基质胶并穿过 Transwell 小室膜的细胞数为(127.0±2.0),过表达 TFB1M 组细胞浸润基质胶并穿过 Transwell 小室膜的细胞数为(46.5±2.5),其差异具有统计学意义($P<0.01$,图 5B)。上述结果表明,过表达 TFB1M 后肝癌细胞侵袭活性减弱。

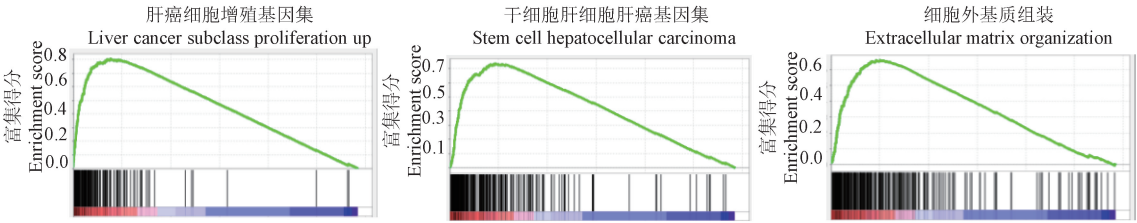
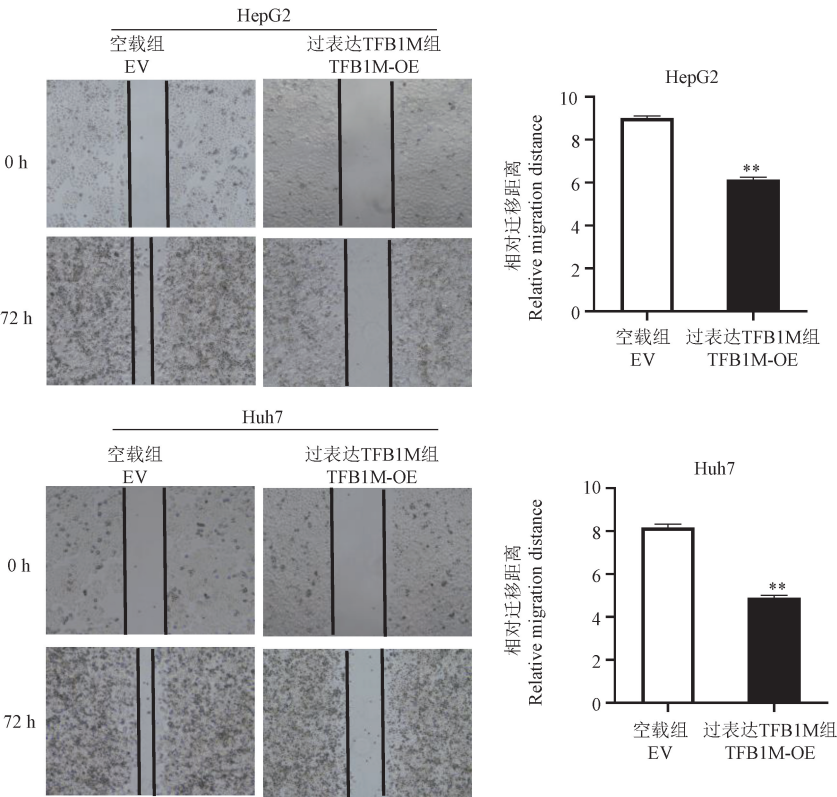


图 3 GSEA 预测 TFB1M 功能作用

Figure 3 GSEA predicts the function of TFB1M

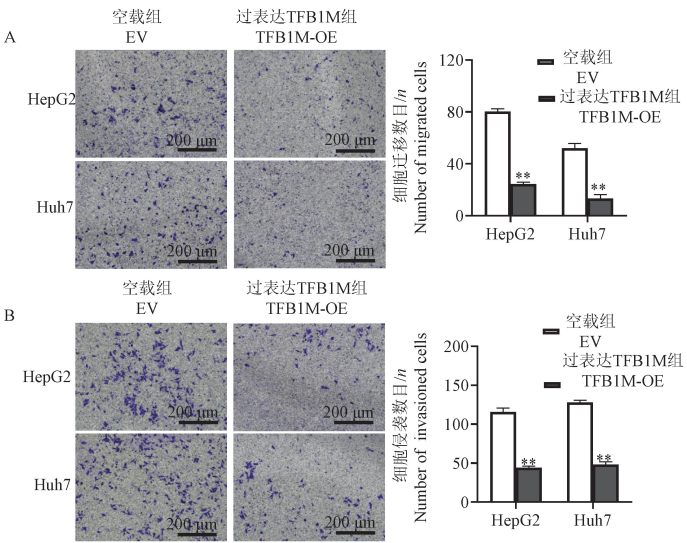


注:与空载组相比, ** $P<0.01$ 。

图 4 过表达 TFB1M 对肝癌细胞迁移的影响

Note. Compared with EV group, ** $P<0.01$.

Figure 4 Effect of TFB1M over-expression on the cell migration in HCC cells



注:A:过表达 TFB1M 对肝癌细胞迁移的影响;B:过表达 TFB1M 对肝癌细胞侵袭的影响。与空载组相比, ***P*<0.01。

图5 过表达 TFB1M 对肝癌细胞迁移和侵袭的影响

Note. A, Effect of TFB1M over-expression on the cell migration in HCC cells. B, Effect of TFB1M over-expression on the cell invasion in HCC cells. Compared with EV group, ** *P*<0.01.

Figure 5 Effect of TFB1M over-expression on cell migration and cell invasion in HCC cells

3 讨论

TFB1M 及其家族成员在多种恶性肿瘤中呈异常表达,包括肝细胞癌、结直肠癌、乳腺癌、胶质瘤等。有部分文献报道,TFB1M 在恶性肿瘤中呈高表达。Mu 等^[8]报道 TFB1M 在肝细胞癌中呈显著高表达,且 TFB1M 高表达与肝癌患者生存不良呈正相关。Zografos 等^[9]在研究男性乳腺癌血清蛋白标志物的研究中发现,TFB1M 呈异常表达。有研究报道 MTERF3 在乳腺癌细胞系中表达上调;且 MTERF3 表达水平与 TFB1M 呈正相关,提示 TFB1M 在乳腺癌细胞系中表达上调^[10]。Franco 等^[3]报道,在低级别胶质瘤组织中 TEFM mRNA 表达水平显著升高,且 TEFM 表达水平与 TFB1M 呈正相关,提示 TFB1M 在低级别胶质瘤中表达上调。但是也有研究报道,TFB1M 在恶性肿瘤中呈显著低表达。例如,杨世荣等^[11]报道,TFB1M 在结直肠癌组织中表达水平降低,且 TFB1M 表达水平与结肠癌分期有关。高表达 TFB1M 结直肠癌患者预后较好^[11]。与上述结果一致,本研究通过分析公共数据发现 TFB1M 在肝细胞癌中呈低表达。

TFB1M 在肿瘤细胞生长、迁移、侵袭和凋亡过程中发挥关键作用。Mu 等^[8]报道,TFB1M 通过促进细胞周期进程、上皮-间质转化和抑制细胞凋亡,促进肝癌细胞生长和转移。在结直肠癌细胞中,过

表达 TFB1M 后细胞增殖能力减弱^[11]。然而,本研究发现过表达 TFB1M 后肝癌细胞迁移和侵袭活性降低。基于此,我们推测 TFB1M 在不同类型细胞中功能作用可能不同。作为线粒体转录因子家族成员之一,TFB1M 通过调控 mtDNA 转录,在线粒体生物发生和线粒体功能方面发挥关键作用。Franco 等^[3]报道,褪黑素能够降低 TFB1M mRNA 表达水平,并干扰 mtDNA 转录。目前关于 TFB1M 在恶性肿瘤中的研究报道较少,但其家族成员 TFAM 在恶性肿瘤中的功能作用报道较多。TFAM 在肝癌组织中表达水平降低,且 TFAM 低表达肝癌患者总生存期和无病生存期均显著缩短^[12]。刘永昌等^[13]在肝细胞癌中发现,癌组织中 TFAM 蛋白表达阳性率降低,TFAM 阴性表达肝癌患者预后较差。而 Zhu 等^[14]报道,TFAM 在肝细胞癌中表达水平无显著改变。基于此,我们推测不同研究团队报道 TFAM 在肝癌中表达水平变化的不一致性可能与样本纳入与排出标准不同有关。TFAM 表达水改变常导致线粒体生物发生和线粒体功能异常与恶性肿瘤发生进展紧密相关。Zhao 等^[15]在肝癌细胞中报道,TFAM 表达水平增加后,线粒体质量和耗氧量均增加。Huang 等^[16]报道过表达 TFAM 能够挽救由 ZZW-115 诱导的线粒体形态和功能改变、ROS 产生和细胞死亡。过表达天冬氨酸 β 羟化酶能够降低 H2AX 与 TFAM 相互作用,从而降低 TFAM 与线粒

体 DNA 的 D-loop 区域结合^[17]。Huang 等^[18]在 TFAM 缺失通过 mDia2 丙二酸化诱导核肌动蛋白组装促进肝癌转移的研究中发现,TFAM 缺乏可快速、稳定地诱导小鼠肝癌自发性肺转移。

综上所述,TFB1M 在肝细胞癌中呈低表达。过表达 TFB1M 后,肝癌细胞迁移和侵袭活性减弱。生物信息学预测 TFB1M 低表达组细胞外基质组装基因集评分较高。基于此,推测 TFB1M 可能通过影响细胞外基质,调控肝癌细胞迁移侵袭。但是,TFB1M 是如何调控细胞外基质,细胞外基质重塑异常等生物学事件在 TFB1M 介导的肝癌细胞迁移侵袭过程中发挥怎样的作用,有待进一步深入研究。

参考文献:

[1] SUNG H, FERLAY J, SIEGEL R L, et al. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries [J]. CA Cancer J Clin, 2021, 71(3): 209–249.

[2] 邱正良, 孙岩松, 赵太云, 等. 肝癌发生的分子机制研究进展 [J]. 中国比较医学杂志, 2006, 16(12): 776–778, 782. QIU Z L, SUN Y S, ZHAO T Y, et al. Progresses in research of molecular mechanisms for hepatocarcinogenesis [J]. Chin J Comp Med, 2006, 16(12): 776–778, 782.

[3] FRANCO D G, MORETTI I F, MARIE S K N. Mitochondria transcription factor A: a putative target for the effect of melatonin on U87MG malignant glioma cell line [J]. Molecules, 2018, 23(5): 1129.

[4] WINTER J M, YADAV T, RUTTER J. Stressed to death: Mitochondrial stress responses connect respiration and apoptosis in cancer [J]. Mol Cell, 2022, 82(18): 3321–3332.

[5] 杨一言, 高继萍, 续国强, 等. 非编码 RNA 调控口腔鳞状细胞癌葡萄糖代谢重编程的研究进展 [J]. 中国比较医学杂志, 2022, 8(3): 91–97. YANG Y Y, GAO J P, XU G Q, et al. Research progress on the regulation of non-coding RNA in glucose metabolism re-editing in oral squamous cell carcinoma [J]. Chin J Comp Med, 2022, 8(3): 91–97.

[6] SCARPULLA R C. Transcriptional paradigms in mammalian mitochondrial biogenesis and function [J]. Physiol Rev, 2008, 88(2): 611–638.

[7] 杨大志, 王正敏, 李华伟, 等. 新霉素致损小鼠听觉上皮后线粒体转录因子 B1 与毛细胞凋亡的关系 [J]. 第三军医大学学报, 2015, 37(2): 101–105. YANG D Z, WANG Z M, LI H W, et al. Relationship between mitochondrial transcription factor B1 and hair cell apoptosis after neomycin-induced auditory epithelium damage in mice [J]. J Third Mil Med Univ, 2015, 37(2): 101–105.

[8] MU J, TIAN Y, LIU F, et al. Mitochondrial transcription factor

B1 promotes the progression of hepatocellular carcinoma via enhancing aerobic glycolysis [J]. J Cell Commun Signal, 2022, 16(2): 223–238.

[9] ZOGRAFOS E, ANAGNOSTOPOULOS A K, PAPADOPOULOU A, et al. Serum proteomic signatures of male breast cancer [J]. Cancer Genomics Proteomics, 2019, 16(2): 129–137.

[10] WANG W S, ZI J J, SUN M T, et al. Expression of *MTERF3* gene in breast carcinoma and the relationship with clinicopathological characteristics [J]. Transl Cancer Res, 2020, 9(1): 173–186.

[11] 杨世荣, 陈艳琴, 白翔宇, 等. TFB1M 在结直肠癌中的表达及意义 [J]. 中国癌症防治杂志, 2019, 11(6): 492–497. YANG S R, CHEN Y Q, BAI X Y, et al. Expression and significance of TFB1M in colorectal cancer [J]. Chin J Oncol Prev Treat, 2019, 11(6): 492–497.

[12] 吴丹, 何元方, 周幸春, 等. 敲低 TFAM 通过上调 ROS/ADAM17 促进可溶型 MICA 生成抑制 NK 细胞杀伤人肝癌细胞的作用 [J]. 细胞与分子免疫学杂志, 2021, 37(3): 257–264. WU D, HE Y F, ZHOU X C, et al. Knocking down TFAM can promote the production of soluble *MICA* by up-regulating ROS/ADAM17, and inhibit NK cells from killing human hepatocellular carcinoma cells [J]. Chin J Cell Mol Immunol, 2021, 37(3): 257–264.

[13] 刘永昌, 郝志强, 赵玉成, 等. 肝细胞肝癌组织中 TFAM、PDLIM1 表达及与患者临床病理特征和预后的关系 [J]. 山东医药, 2023, 9(10): 6–10. LIU Y C, HAO Z Q, ZHAO Y C, et al. Expression of TFAM and PDLIM1 in hepatocellular carcinoma and their relationships with clinicopathological characteristics and prognosis [J]. Shandong Med J, 2023, 9(10): 6–10.

[14] ZHU Y, XU J, HU W, et al. TFAM depletion overcomes hepatocellular carcinoma resistance to doxorubicin and sorafenib through AMPK activation and mitochondrial dysfunction [J]. Gene, 2020, 753: 144807.

[15] ZHAO Q, ZHANG C, ZHANG X, et al. ZNF281 inhibits mitochondrial biogenesis to facilitate metastasis of hepatocellular carcinoma [J]. Cell Death Discov, 2023, 9(1): 396.

[16] HUANG C, SANTOFIMIA-CASTAÑO P, LIU X, et al. NUPRI inhibitor ZZW-115 induces ferroptosis in a mitochondria-dependent manner [J]. Cell Death Discov, 2021, 7(1): 269.

[17] TANG C, HOU Y, WANG H, et al. Aspartate β -hydroxylase disrupts mitochondrial DNA stability and function in hepatocellular carcinoma [J]. Oncogenesis, 2017, 6(7): e362.

[18] HUANG Q, WU D, ZHAO J, et al. TFAM loss induces nuclear actin assembly upon mDia2 malonylation to promote liver cancer metastasis [J]. EMBO J, 2022, 41(11): e110324.