

文章编号 1006-8147(2021)05-0461-06

论 著

YTHDF1 对 HBV 蛋白表达和 HBsAg 和 HBeAg 抗原分泌的作用

谢永丽, 汤华

(天津医科大学基础医学院病原生物学系, 天津 300070)

摘要 目的:探讨 YTH N6-甲基腺苷 RNA 结合蛋白 1(YTHDF1)对乙型肝炎病毒(HBV)蛋白表达和抗原分泌的影响。方法:分别以 pCD3/Flag-KBE 和 pSilencer2.1-U6 neo 为载体,构建过表达和敲降 YTHDF1 质粒。在 Huh7 细胞中过表达 HBV 蛋白质粒的同时表达 pshR-YTHDF1 和对照质粒,通过 Western 印迹检测 YTHDF1 对 HBV 蛋白表达的影响。在 HepG2.2.15 细胞中过表达和敲降 YTHDF1,在 Huh7 细胞中同时过表达 pHBV1.3 质粒,通过 ELISA 检测 YTHDF1 对 HBsAg、HBeAg 抗原分泌的影响。结果:与正常肝细胞相比,YTHDF1 在肝癌细胞 Huh7($t=17.4$)、HepG2.2.15 细胞中($t=39.6$)高表达。成功构建过表达和敲降 YTHDF1 质粒并验证其有效。敲降 YTHDF1 抑制 HBV 基因组编码的 HBe 蛋白($t=9.5$)、HBs 蛋白($t=5.2$)、preS1 蛋白($t=25.7$)、preS2 蛋白($t=9.0$)、HBx 蛋白($t=19.7$)、HBV DNA Pol 蛋白($t=23.0$)表达,差异均有统计学意义(均 $P<0.05$)。过表达 YTHDF1 促进 HBsAg (Huh7 细胞 $t_{48h}=5.5, t_{72h}=5.0$; HepG2.2.15 细胞 $t_{48h}=5.3, t_{72h}=27.4$)、HBeAg 抗原(Huh7 细胞 $t_{48h}=5.7, t_{72h}=6.3$; HepG2.2.15 细胞 $t_{48h}=29.0, t_{72h}=6.6$)的分泌,而敲降 YTHDF1 抑制 HBsAg(Huh7 细胞 $t_{48h}=16.0, t_{72h}=7.9$; HepG2.2.15 细胞 $t_{48h}=22.3, t_{72h}=7.0$)、HBeAg 抗原(Huh7 细胞 $t_{48h}=9.0, t_{72h}=14.3$; HepG2.2.15 细胞 $t_{48h}=8.1, t_{72h}=6.6$)的分泌(均 $P<0.05$)。结论:YTHDF1 可能具有增加 HBV 蛋白表达及促进 HBsAg 和 HBeAg 抗原分泌的作用。

关键词 肝癌;乙型肝炎病毒;YTH N6-甲基腺苷 RNA 结合蛋白 1;乙型肝炎病毒表面抗原;乙型肝炎病毒 e 抗原

中图分类号 R373.2⁺1

文献标志码 A

Role of YTHDF1 on HBV protein expression and secretion of HBsAg and HBeAg antigens

XIE Yong-li, TANG Hua

(Department of Pathogenic Biology, School of Basic Medical Sciences, Tianjin Medical University, Tianjin 300070, China)

Abstract Objective: To investigate the effect of YTH N6-methyladenosine RNA-binding protein 1 (YTHDF1) on hepatitis B virus (HBV) protein expression and antigen secretion. **Methods:** Overexpression and knockdown YTHDF1 plasmids were constructed using pCD3/Flag-KBE and pSilencer2.1-U6 neo as vectors, respectively. HBV protein plasmid was overexpressed in Huh7 cells along with pshR-YTHDF1 and control plasmid, and the effect of YTHDF1 on HBV protein expression was examined by Western blotting assay. YTHDF1 was overexpressed and knocked down in HepG2.2.15 cells, simultaneous pHBV1.3 plasmid was overexpressed in Huh7 cells, and the effect of YTHDF1 on HBsAg and HBeAg antigen secretion were detected by ELISA. **Results:** YTHDF1 was highly expressed in hepatocellular carcinoma cells Huh7($t=17.4$), HepG2.2.15 cells($t=39.6$) compared to normal hepatocytes. Overexpression and knockdown YTHDF1 plasmids were successfully constructed and verified to be effective. Knockdown of YTHDF1 inhibited the expression of HBe protein($t=9.5$), HBs protein($t=5.2$), preS1 protein($t=25.7$), preS2 protein($t=9.0$), HBx protein($t=19.7$), and HBV DNA Pol protein($t=23.0$) encoded by HBV genome, and the differences were statistically significant (all $P<0.05$). Over expression of YTHDF1 promoted the secretion of HBsAg (Huh7 cells $t_{48h}=5.5, t_{72h}=5.0$; HepG2.2.15 cells $t_{48h}=5.3, t_{72h}=27.4$), HBeAg antigen(Huh7 cells $t_{48h}=5.7, t_{72h}=6.3$; HepG2.2.15 cells $t_{48h}=29.0, t_{72h}=6.6$) and knockdown of YTHDF1 inhibited the secretion of HBsAg(Huh7 cells $t_{48h}=16.0, t_{72h}=7.9$, HepG2.2.15 cells $t_{48h}=22.3, t_{72h}=7.0$), HBeAg antigen(Huh7 cells $t_{48h}=9.0, t_{72h}=14.3$, HepG2.2.15 cells $t_{48h}=8.1, t_{72h}=6.6$), all $P<0.05$. **Conclusion:** YTHDF1 may have a role in increasing HBV protein expression and promoting the secretion of HBsAg and HBeAg antigens.

Key words HCC; HBV; YTHDF1; HBsAg; HBeAg

肝细胞癌(HCC)是人类主要恶性肿瘤之一,死亡率排名全球第4位。而乙型肝炎病毒(HBV)感染是引发 HCC 的主要危险因素,占全球 HCC 病例的

一半以上。因此,迫切需要更好地了解 HBV 导致 HCC 的分子机制以及找到新型治疗靶点。N6-甲基腺苷(m⁶A)是真核生物 mRNA 中发生的最丰富的修饰。研究表明,m⁶A 在病毒和疾病发生、发展过程中起重要作用。虽然 YTHDF1(YTH N6-methyladenosine RNA-binding protein 1)已经被报道与卵巢癌抗癌

基金项目 国家自然科学基金重点项目(81830094)

作者简介 谢永丽(1994-),女,硕士在读,研究方向:病原生物学;通信作者:汤华,E-mail:htang2002@yahoo.com。

免疫疗法^[1]和海马依赖性学习及记忆^[2]等有关,但其在 HBV 相关肝癌中的作用研究尚少。

本研究通过分子克隆机制构建了过表达和敲降 YTHDF1 质粒,探讨 YTHDF1 对 HBV 编码蛋白表达的影响和对 HBsAg、HBeAg 抗原分泌的影响。

1 材料与方法

1.1 实验材料 人正常肝细胞 L02、肝癌细胞系 Huh7、HepG2.2.15 细胞,均购买自 ATCC 细胞库,并为本实验室液氮保存。胎牛血清(FBS)、DMEM、MEM- α 培养基、Opti-MEM 培养基均购自美国 GIBCO BRL。Lipofectamine²⁰⁰⁰ 购自 Invitrogen。所有抗体、cDNA 均购自中国天津赛尔生物。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养 L02 细胞、Huh7 细胞用含有 10% 胎牛血清、100 $\mu\text{g/mL}$ 链霉素以及 100 IU/mL 青霉素的 DMEM 培养基培养。HepG2.2.15 细胞用含有 15% 胎牛血清、100 $\mu\text{g/mL}$ 链霉素、100 IU/mL 青霉素、2 mmol/L 谷氨酰胺以及 200 $\mu\text{g/mL}$ G 418 的 MEM-

α 培养基培养。上述细胞均培养在含 5%CO₂、37℃ 的细胞培养箱中。

1.2.2 过表达 YTHDF1 质粒的构建 用 YTHDF1 cDNA 作为模板进行 PCR,PCR 循环体系如下:预变性 95℃ 4 min;变性 94℃ 1 min,退火 55℃ 30 s,延伸 72℃ 2 min,进行“变性-退火-延伸”循环 33 次;延伸 72℃ 10 min。回收大小约为 1.67 kb 的 PCR 产物。对 pCD3/Flag-KBE 质粒和 PCR 产物进行酶切,酶切位点为 *Bam*H I 和 *Xho* I,回收大小约为 5.6 kb 和 1.67 kb 酶切产物。然后连接,铺板,小提鉴定,酶切位点为 *Bam*H I 和 *Xho* I,将条带正确的质粒送测序。

1.2.3 敲降 YTHDF1 质粒的构建 首先针对 YTHDF1 mRNA 设计合成编码 shRNA 的 DNA 单链,引物序列如表 1,然后将其在 95℃ 条件下退火 5 min,室温条件下静置 2 h,和用 *Bam*H I 和 *Hind* III 酶切好的 pSilencer2.1-U6 neo 质粒进行连接,铺板,小提鉴定(酶切位点为 *Eco*R I 和 *Xho* I)。

表 1 引物序列

Tab 1 Primer sequences

引物名称	引物序列
YTHDF1-295-BamHI	5'-GCGGGATCCATGTCGGCCACCAGCGTGGAC-3'
YTHDF1-1971-XhoI	5'-GAGGCCTCGAGTTGTTTGTTCGACTCTGCCG-3'
ShR-YTHDF1-Top	5'-GATCCCAGCGATAGCAACTCTCCTGGCTCGAGCCAGGAGAGTTGCTATCGCTGTTTTGA-3'
ShR-YTHDF1-Bot	5'-AGCTTCAAAAACAGCGATAGCAACTCTCCTGGCTCGAGCCAGGAGAGTTGCTATCGCTGG-3'

1.2.4 转染(脂质体法) 在 Huh7 细胞中,将 HBV 蛋白质质粒与 pSilencer2.1-U6 neo、pshR-YTHDF1 质粒共同转染,每组两个质粒分别各转 0.5 μg ,将质粒和 Lipofectamine²⁰⁰⁰ 按照 1 μg :1 μL 比例分别加入到无血清 Opti-MEM 培养基中,室温静置 5 min,然后将 Lipofectamine²⁰⁰⁰ 管加入到质粒管中,室温静置 20 min,最后加入到细胞板中。转染 6 h 换液,48 h 收取蛋白样品进行后续实验。

1.2.5 ELISA 实验的转染(脂质体法) 在 HepG2.2.15 细胞中转染过表达、敲降 YTHDF1 及其对照质粒。在 Huh7 细胞中转染过表达、敲降 YTHDF1 及其对照质粒的同时,共同过表达 pHBV1.3 质粒,在 L02 细胞中转染过表达 YTHDF1 及其对照质粒的同时,共同过表达 pHBV1.3 质粒,每孔质粒共 1 μg 。转染方法同 1.2.4。48、72 h 分别收取 600 μL 上清进行后续实验。

1.2.6 Western 印迹实验 用含有蛋白酶抑制剂的 RIPA 裂解液收取蛋白样品,加入 5 \times loading buffer,100℃加热 5 min,然后冰置 5 min。用 10%SDS-PAGE 胶分离蛋白(蛋白上样量为 30 μL),将蛋白转移到

PVDF 膜上。室温条件下用 5%脱脂牛奶封闭 2 h,裁剪 PVDF 膜,分别用相应的抗体孵育过夜。用 TBST 漂洗孵育一抗的 PVDF 膜,加入相应的二抗孵育 2 h,再用 TBST 漂洗孵育二抗的 PVDF 膜,用 Western LightningTM 化学发光试剂作用 2 min,然后进入暗室中用感光胶片曝光,等胶片完全晾干,分析结果并拍照。

1.2.7 ELISA 检测分泌 HBsAg 和 HBeAg 的抗原 根据 ELISA 试剂盒说明书操作。

1.3 统计学处理 实验均重复 3 次,使用 Image J 软件、Graph Pad Prism6.0 软件处理实验数据,数据均表示 $\bar{x}\pm s$,组间比较采用双侧 Student *t* 检验, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 Western 印迹检测 YTHDF1 的表达 如图 1 所示,与正常肝细胞 L02 相比,HBV 阴性肝癌细胞 Huh7 细胞和 HBV 阳性肝癌细胞 HepG2.2.15 细胞中 YTHDF1 的表达分别增加 4 倍和 7 倍,YTHDF1 在 HBV 阳性肝癌细胞 HepG2.2.15 细胞中的表达是 HBV 阴性肝癌细胞 Huh7 细胞的 1.5 倍($t=17.4$ 、39.6、8.4,均 $P<0.05$)。

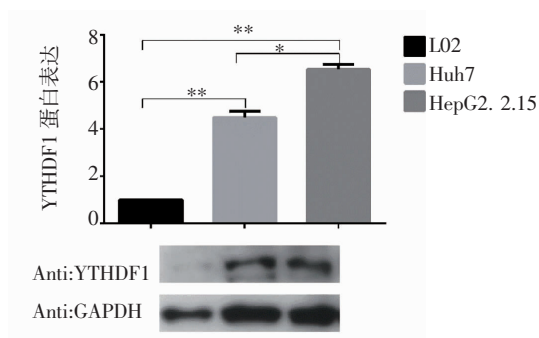


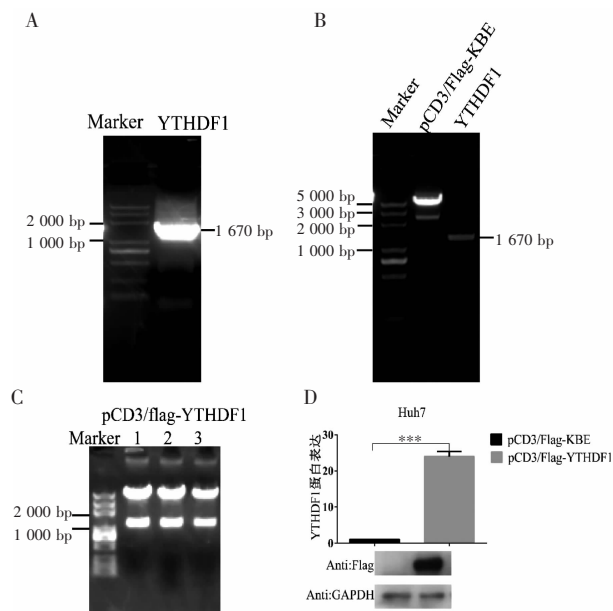
图1 Western 印迹检测 YTHDF1 在不同细胞中的表达

Fig 1 The expression of YTHDF1 in different cells detected by western blotting assay

2.2 YTHDF1 过表达质粒的构建 用 YTHDF1 cDNA 作为模板, YTHDF1-295-BamHI、YTHDF1-1971-XhoI 作为上下游进行 PCR, 产生大小约为 1.67 kb 的条带(图 2A)。对 pCD3/Flag-KBE 质粒和 PCR 产物进行酶切, 产生大小为 5.6 kb 和 1.67 kb 的条带(图 2B)。最后进行酶切鉴定, 挑选同时有 5.6 kb 和 1.67 kb 两条条带的 2 号质粒送测序(图 2C)。将测序结果序列和 NCBI 序列比对。测序结果正确后, 质粒转染 Huh7 细胞后第 3 天, 制备细胞裂解物, 用 Flag 抗体进行检测, 确定了 YTHDF1 在细胞中表达(图 2D)。

2.3 YTHDF1 敲降质粒的构建 将 pSilencer2.1-U6 neo 质粒进行酶切, 产生大小为 5.6 kb 的条带(图 3A), 小提酶切鉴定挑选同时有大小为 5.6 kb 和 0.37 kb 两条条带的质粒 10 号送测序(图 3B)。测序结果与设计的引物比对, 测序结果正确后, 质粒转染 Huh7 细胞后第 3 天, 制备细胞裂解物, 用 YTHDF1 抗体进行 Western 印迹实验验证 pshR-YTHDF1 质粒有效(图 3C)。

2.4 敲降 YTHDF1 后 HBV 编码蛋白的表达水平 首先验证了 HBV 编码蛋白质粒的有效性(图 4A), 其



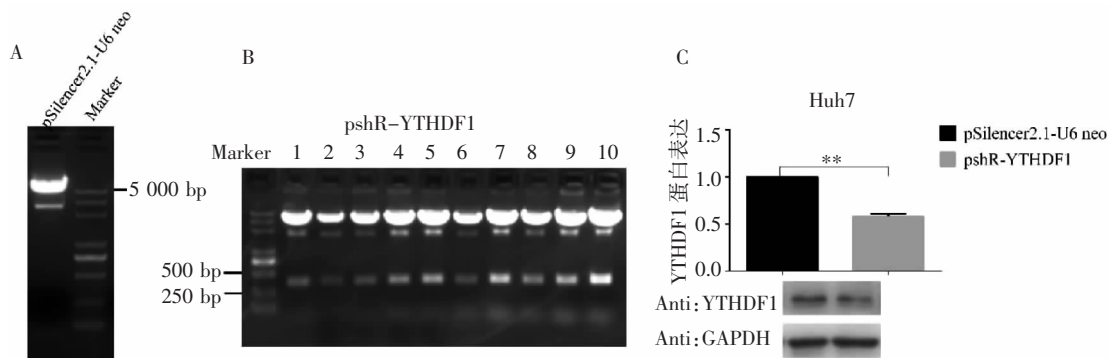
注:A:PCR 获得目的片段 YTHDF1;B: 酶切载体和外片;C: pCD3/Flag-YTHDF1 质粒的鉴定;D:pCD3/Flag-YTHDF1 的有效性;*** $P < 0.01$

图2 pCD3/Flag-YTHDF1 质粒的构建与鉴定

Fig 2 Construction and validation of plasmid pCD3/Flag-YTHDF1

次 Western 印迹检测敲降 YTHDF1 后, HBV 编码蛋白表达水平的变化(图 4B)。结果显示, 敲降 YTHDF1 后, HBV 基因组编码 HBc 蛋白($t=9.5$)、HBs 蛋白($t=5.2$)、preS1 蛋白($t=25.7$)、preS2 蛋白($t=9.0$)、HBx 蛋白($t=19.7$)、HBV DNA Pol 蛋白($t=23.0$)均降低(均 $P < 0.05$)。

2.5 ELISA 检测过表达和敲降 YTHDF1 对 HBsAg 和 HBeAg 抗原分泌的影响 与对照组相比, 转染 pHBV1.3 质粒组分泌的 HBeAg 抗原在 48 h($t=118.4$)和 72 h($t=28.7$)分别增加 8 倍和 6 倍(图 5A), 差异均有统计学意义(均 $P < 0.01$)。在 Huh7 细胞中, 过表达 YTHDF1 时, HBsAg($t_{48h}=5.5$, $t_{72h}=5.0$)和

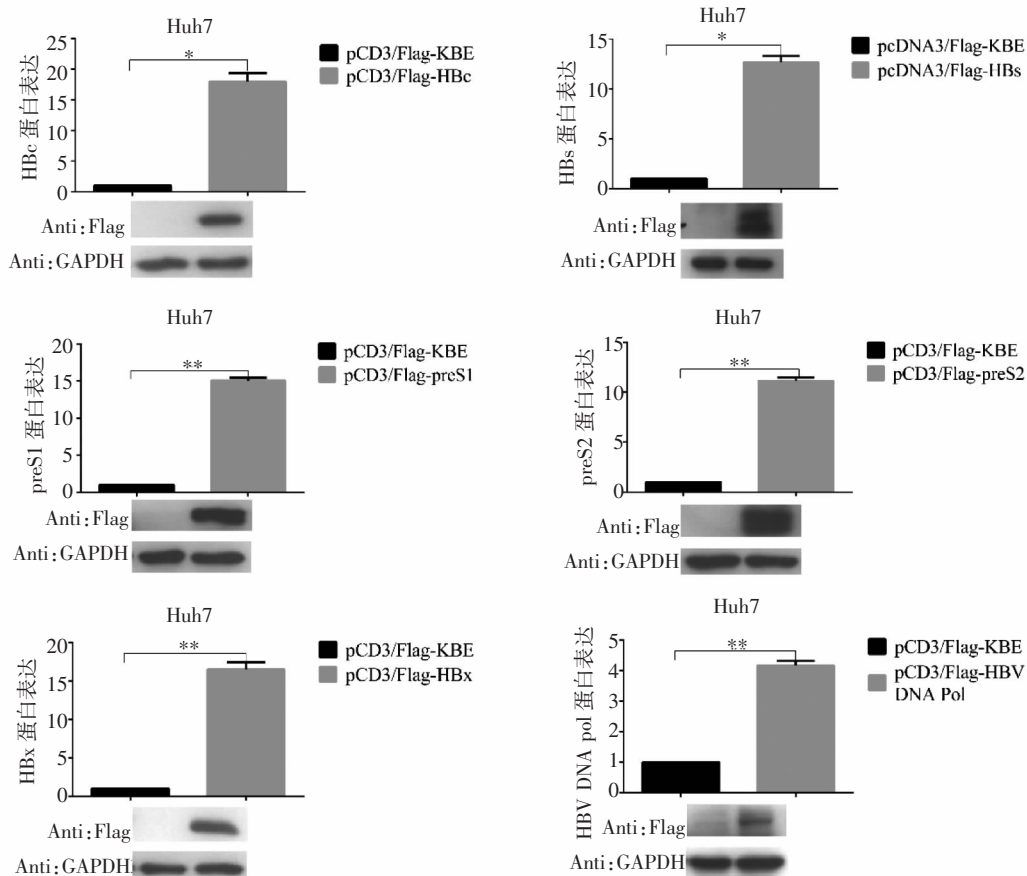


注:A:酶切载体;B:pshR-YTHDF1 质粒的鉴定;C:pshR-YTHDF1 质粒有效性;*** $P < 0.01$

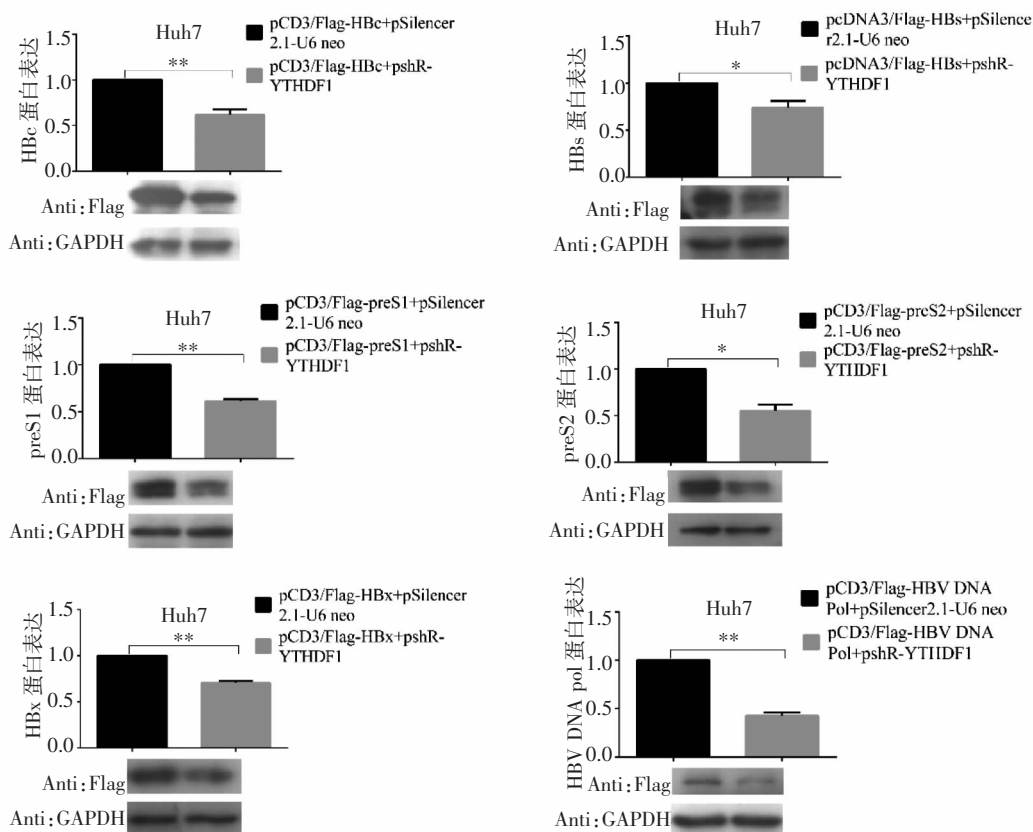
图3 pshR-YTHDF1 质粒的构建与鉴定

Fig 3 Construction and identification of plasmid pshR-YTHDF1

A



B



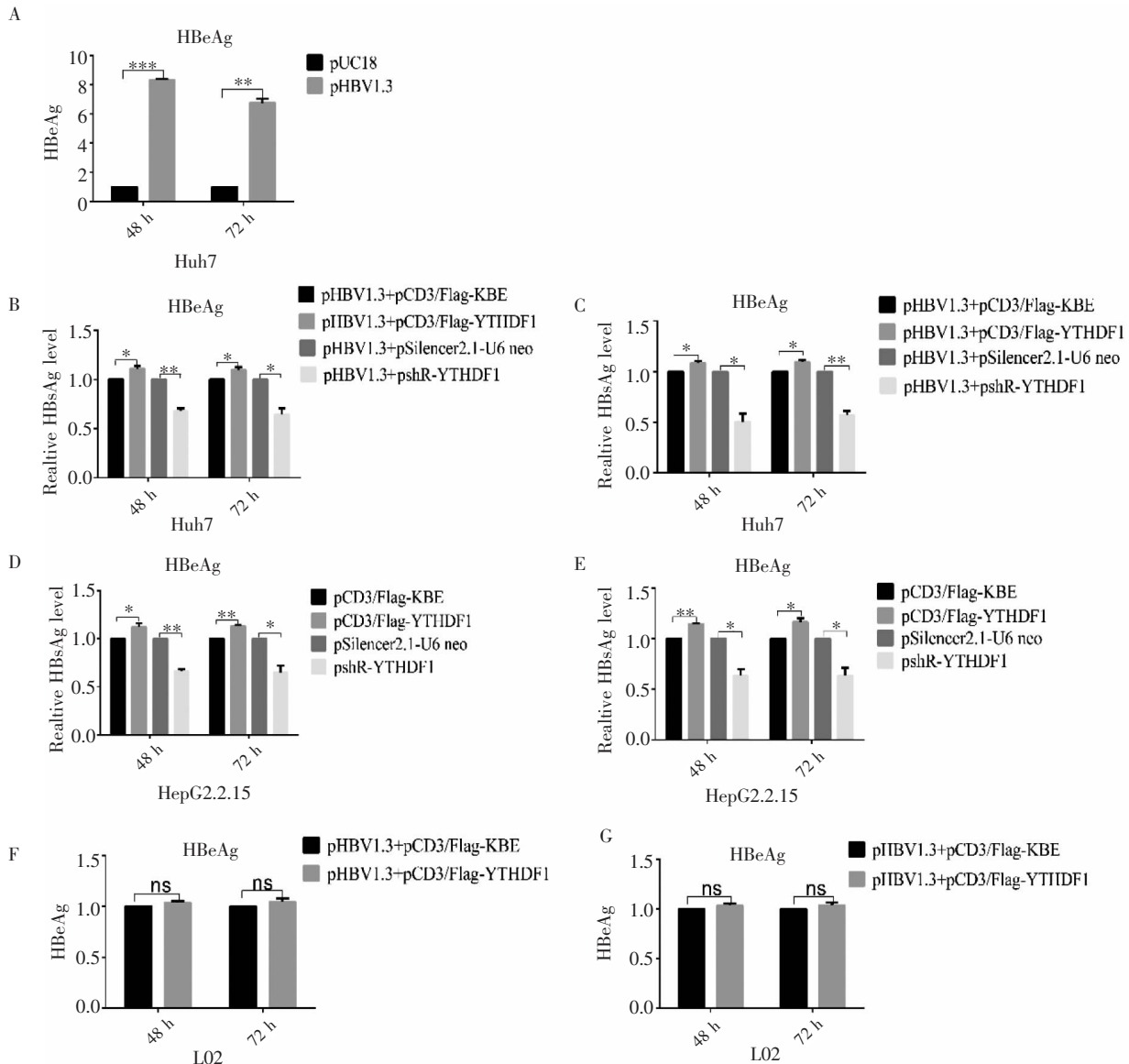
注:A:验证质粒有效性;B:敲降 YTHDF1 后 HBV 编码蛋白表达水平; * $P<0.05$, ** $P<0.01$, *** $P<0.001$

图 4 Western 印迹检测 Huh7 细胞中 pshR-YTHDF1 对 HBV 编码蛋白的影响

Fig 4 The effect of pshR-YTHDF1 on HBV-encoded proteins in Huh7 cell detected by western blotting assay

HBeAg 抗原($t_{48h}=5.7, t_{72h}=6.3$)表达水平增加,敲降 YTHDF1 时,HBsAg($t_{48h}=16.0, t_{72h}=7.9$)和HBeAg 抗原($t_{48h}=9.0, t_{72h}=14.3$)表达水平降低(图 5B、C)。在HepG2.2.15 细胞中,过表达 YTHDF1 时,HBsAg($t_{48h}=5.3, t_{72h}=27.4$)和 HBeAg 抗原($t_{48h}=29.0, t_{72h}=6.6$)表达水平增加,敲降 YTHDF1 时,HBsAg

($t_{48h}=22.3, t_{72h}=7.0$)和 HBeAg 抗原($t_{48h}=8.1, t_{72h}=6.6$)表达水平降低(图 5D、E),差异均有统计学意义(均 $P<0.05$)。而在正常肝细胞L02 中过表达 YTHDF1 时,HBsAg($t_{48h}=4.0, t_{72h}=2.0$)、HBeAg($t_{48h}=3.5, t_{72h}=1.8$)抗原表达水平没有增加,差异没有统计学意义(图 5F、G)。



注:A:验证 pHBV1.3 系统;B、C:Huh7 细胞中 HBsAg 和 HBeAg 抗原的分泌;D、E:HepG2.2.15 细胞中 HBsAg 和 HBeAg 抗原的分泌;F、G:L02 细胞中 HBsAg 和 HBeAg 抗原的分泌;* $P<0.05$,** $P<0.01$,*** $P<0.001$

图5 ELISA 检测 HBsAg 和 HBeAg 抗原的分泌

Fig 5 ELISA for the detection of HBsAg and HBeAg antigen secretion

3 讨论

HCC 已成为全世界普遍存在的公共卫生问题。HBV 是引起 HCC 的主要危险因素。HBV 的当前治疗方法包括干扰素和核苷酸类似物拉米夫定^[3-4]、阿德福韦、恩替卡韦^[5]、替比夫定、替诺福韦^[6]以及最近获得 FDA 批准的替诺福韦阿拉芬酰胺。核苷酸类似

物进行抗 HBV 治疗,可以有效抑制病毒的复制,但不能根除肝细胞核内的共价闭环环状 DNA (cccDNA)。然而,在不根除 cccDNA 的情况下,即使通过抗病毒治疗实现了功能性治愈,HBV 仍然继续存在诱发肝癌发展的风险,特别是对于已经发展为肝硬化的患者^[7]。治疗性疫苗旨在通过引发新的抗病毒

反应来增强免疫力,这些疫苗可能无法诱导功能性治愈,因为它们的效力不足以诱导 HBV 特异性 T 细胞。由于目前缺乏有效的干预措施,所以对 HCC 发生的分子机制的了解至关重要。

m⁶A 可以调节细胞 RNA 生物学的许多方面^[8-9],这主要取决于 m⁶A 读码器^[10]。多项研究指出,肝细胞损伤可能是由 HBV 复制和病毒产物的积累引起的^[11]。而且 HCC 的发生与 m⁶A RNA 甲基化调节蛋白的异常表达有关^[12-17]。此外,YTHDF1 在调控 HCC 细胞的细胞周期和代谢方面也发挥着重要作用。因为已有文献指出,YTHDF2 和 YTHDF3 可以调节 HBV 的生命周期^[18],耗尽 YTHDF2 或 YTHDF3 会显著增加 HBs 蛋白和 HBe 蛋白的表达。所以在这里笔者集中研究 YTHDF1 对 HBV 的影响,其中包括 HBV 编码的蛋白水平和细胞分泌的抗原表达水平。

本研究中,笔者确定 YTHDF1 在肝癌细胞中高表达。然后构建了过表达和敲降 YTHDF1 质粒。HBV 编码的蛋白中 HBe 蛋白和 HBs 蛋白分别构成病毒衣壳和包膜,HBV DNA Pol 蛋白在体内和体外都促进肝癌细胞的迁移、侵袭能力,HBx 不构成病毒体的一部分,起转录反式激活的作用。HBV 病毒蛋白可以影响病毒和宿主基因的表达。所以笔者首先研究 YTHDF1 对 HBV 病毒蛋白的影响。敲降 YTHDF1 后,HBV 基因组编码的蛋白表达降低。HBsAg 表明机体被病毒感染,HBeAg 表明病毒的传染性、病毒的复制和肝脏损害程度。当 HBsAg 和 HBeAg 同时表达时表明感染严重。所以本实验证明 YTHDF1 促进了 HBsAg 和 HBeAg 抗原的分泌。而在低表达的 L02 细胞中,过表达 YTHDF1 对 HBsAg 和 HBeAg 抗原的分泌没有影响。

综上所述,YTHDF1 在肝癌细胞中可以促进 HBV 编码蛋白的表达和 HBsAg、HBeAg 抗原分泌,所以 YTHDF1 可能在 HBV 感染中起重要作用。由于其对 HBV DNA Pol 蛋白表达的影响最大,所以后续的研究可能是 YTHDF1 影响 HBV DNA Pol 蛋白表达的具体分子机制。本研究为阐明 m⁶A 修饰调节 HBV 编码蛋白的表达提供新理论依据,也具有潜在的临床应用意义。

参考文献:

- [1] LIU T, WEI Q, JIN J, et al. The m⁶A reader YTHDF1 promotes ovarian cancer progression via augmenting EIF3C translation [J]. *Nucleic Acids Res*, 2020, 48(7):3816
- [2] SHI H, ZHANG X, WENG Y L, et al. m(6)A facilitates hippocampus-dependent learning and memory through YTHDF1[J]. *Nature*, 2018, 563(7730):249
- [3] LIAW Y F, SUNG J J, CHOW W C, et al. Lamivudine for patients with chronic hepatitis B and advanced liver disease[J]. *N Engl J Med*, 2004, 351(15):1521
- [4] KUBO S, TANAKA H, TAKEMURA S, et al. Effects of lamivudine on outcome after liver resection for hepatocellular carcinoma in patients with active replication of hepatitis B virus[J]. *Hepatol Res*, 2007, 37(2):94
- [5] HOSAKA T, SUZUKI F, KOBAYASHI M, et al. Long-term entecavir treatment reduces hepatocellular carcinoma incidence in patients with hepatitis B virus infection[J]. *Hepatology*, 2013, 58(1):98
- [6] KIM W R, LOOMBA R, BERG T, et al. Impact of long-term tenofovir disoproxil fumarate on incidence of hepatocellular carcinoma in patients with chronic hepatitis B[J]. *Cancer*, 2015, 121(20):3631
- [7] DARGAN A, WONG S Y, COBEN R, et al. Persistent risk for hepatocellular carcinoma after more than a decade of successful hepatitis B virus suppression[J]. *Minerva Gastroenterol Dietol*, 2017, 63(1):74
- [8] YUE Y, LIU J, HE C. RNA N6-methyladenosine methylation in post-transcriptional gene expression regulation [J]. *Genes Dev*, 2015, 29(13):1343
- [9] ZHOU J, WAN J, GAO X, et al. Dynamic m(6)A mRNA methylation directs translational control of heat shock response[J]. *Nature*, 2015, 526(7574):591
- [10] WANG X, LU Z, GOMEZ A, et al. N6-methyladenosine-dependent regulation of messenger RNA stability[J]. *Nature*, 2014, 505(7481):117
- [11] ZHANG Y Y, HU K Q. Rethinking the pathogenesis of hepatitis B virus (HBV) infection[J]. *J Med Virol*, 2015, 87(12):1989
- [12] MA J Z, YANG F, ZHOU C C, et al. METTL14 suppresses the metastatic potential of hepatocellular carcinoma by modulating N(6)-methyladenosine-dependent primary microRNA processing[J]. *Hepatology*, 2017, 65(2):529
- [13] ZHONG L, LIAO D, ZHANG M, et al. YTHDF2 suppresses cell proliferation and growth via destabilizing the EGFR mRNA in hepatocellular carcinoma[J]. *Cancer Lett*, 2019, 442:252
- [14] CHENG X, LI M, RAO X, et al. KIAA1429 regulates the migration and invasion of hepatocellular carcinoma by altering m⁶A modification of ID2 mRNA[J]. *Oncotargets Ther*, 2019, 12:3421
- [15] CHEN M, WEI L, LAW C T, et al. RNA N6-methyladenosine methyltransferase-like 3 promotes liver cancer progression through YTHDF2-dependent posttranscriptional silencing of SOCS2 [J]. *Hepatology*, 2018, 67(6):2254
- [16] ZHOU Y, YIN Z, HOU B, et al. Expression profiles and prognostic significance of RNA N6-methyladenosine-related genes in patients with hepatocellular carcinoma: evidence from independent datasets[J]. *Cancer Manag Res*, 2019, 11:3921
- [17] TANABE A, KONNO J, TANIKAWA K, et al. Transcriptional machinery of TNF- α -inducible YTH domain containing 2 (YTHDC2) gene[J]. *Gene*, 2014, 535(1):24
- [18] IMAM H, KHAN M, GOKHALE N S, et al. N6-methyladenosine modification of hepatitis B virus RNA differentially regulates the viral life cycle[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2018, 115(35):8829-8834.

(2021-01-26 收稿)