

文章编号:1000-5404(2014)08-0755-04

论著

肝细胞脂肪变性模型中 Sec61 α 的表达及可能作用机制

王 军¹, 黄殿静², 赖姝婕¹, 熊 吉¹, 魏艳玲¹, 李 青¹, 李 砚¹, 陈潇迪¹, 王 斌¹, 陈东风¹ (400042 重庆, 第三军医大学大坪医院野战外科研究所消化内科¹; 210024 南京, 武警江苏总队第二支队卫生队²)

[摘要] **目的** 探讨肝细胞脂肪变性模型中 Sec61 α 的表达及可能机制。**方法** 用软脂酸与油酸混合物诱导 L02 肝细胞发生脂肪变性, 建立非酒精性脂肪性肝病肝细胞体外模型, 按 0、2、4、8、12 h 及 16 h 收获细胞; 随后应用 Sec61 抑制剂 Eeyarestatin I 处理肝细胞, 分为正常对照组、脂肪变性组、DMSO 组及抑制剂组, 通过油红 O 染色、qRT-PCR 及 Western blot 检测 Sec61 α 、GRP78、GRP94 及 Bcl-2 的表达变化。**结果** 软脂酸与油酸混合物成功诱导肝细胞发生脂肪变性。与对照细胞相比, 脂肪变肝细胞 Sec61 α mRNA 相对表达量在脂肪变早期下降 (2、4 h, $P > 0.05$), 晚期升高 (8、12 h, $P < 0.05$); GRP78 在 8 h 开始升高, 16 h 达峰 ($P < 0.01$)。Sec61 α 与 GRP78 的蛋白水平与 mRNA 水平表达在时间梯度上变化一致。Eeyarestatin I 处理显著减轻肝细胞脂肪变程度; 与脂肪变性组相比, 抑制剂组肝细胞 Sec61 α 、GRP78 明显降低 ($P < 0.01$), GRP94、Bcl-2 则显著升高 ($P < 0.01$)。**结论** Sec61 α 可能通过调节肝细胞内质网应激, 参与肝细胞脂肪变的形成。

[关键词] 脂肪变性; 内质网应激; Sec61 α ; GRP78; GRP94; Bcl-2

[中图分类号] R341; R394.3; R575.502

[文献标志码] A

Sec61 α expression and its possible role in hepatic steatosis model

Wang Jun¹, Huang Dianjing², Lai Shujie¹, Xiong Ji¹, Wei Yanling¹, Li Qing¹, Li Yan¹, Chen Xiaodi¹, Wang Bin¹, Chen Dongfeng¹ (¹Department of Gastroenterology, Institute of Surgery Research, Daping Hospital, Third Military Medical University, Chongqing, 400042; ²Medical Team of the Second Detachment of Armed Police Jiangsu Corps, Nanjing, Jiangsu Province, 210036, China)

[Abstract] **Objective** To detect the expression change of Sec61 α in hepatic steatosis and its possible mechanism. **Methods** L02 liver cells were treated with palmitic acid and oleic acid mixture to establish an *in vitro* cellular model of nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD) (steatosis group). Those cells without treatment were assigned into a control group. The steatotic hepatocytes were further incubated with or without a Sec61 inhibitor Eeyarestatin I (inhibitor group or DMSO group, respectively). The cells were collected at 0, 2, 4, 8, 12, and 16 h after induction for oil red O staining, qRT-PCR, or Western blotting to detect the expression of Sec61 α , GRP78, GRP94, and Bcl-2. **Results** Liver cell steatosis was induced by the palmitic acid and oleic acid mixture. As compared to the control group, the hepatocytes in the steatosis group showed a decrease of Sec61 α expression in early stages (2 and 4 h, $P > 0.05$), but an increased in late stages (8 and 12 h, $P < 0.05$). Moreover, GRP78 was up-regulated in 8 h after induction and reached the highest level at 16 h after induction ($P < 0.01$). Furthermore, Eeyarestatin I significantly attenuated hepatocytic steatosis as well as the expression of Sec61 α and GRP78 proteins ($P < 0.01$), but upregulated GRP94 and Bcl-2 expression ($P < 0.01$). **Conclusion** Sec61 α may be involved in hepatic steatosis by regulating liver cell endoplasmic reticulum stress.

[Key words] steatosis; endoplasmic reticulum stress; Sec61 α ; GRP78; GRP94; Bcl-2

Supported by the National Natural Science Foundation of China (81170382). Corresponding author: Chen Dongfeng, Tel: 86-23-68757741, E-mail: chendf1981@126.com

[基金项目] 国家自然科学基金(81170382)

[通信作者] 陈东风, 电话: (023)68757741, E-mail: Chendf1981@126.com

[优先出版] <http://www.cnki.net/kcms/detail/51.1095.R.20140225.1541.016.html> (2014-02-25)

非酒精性脂肪性肝病 (nonalcoholic fatty liver disease, NAFLD) 是一种与胰岛素抵抗 (insulin insensitivity, IR) 和遗传易感性密切相关的代谢应激性肝脏损害。疾病谱从单纯性脂肪肝、非酒精性脂肪性肝炎 (nonalcoholic steatohepatitis, NASH) 到肝硬化及肝细

胞癌^[1-2]。西方国家 NAFLD 患病率为 20%~60%^[3], 中国台湾为 48.4%^[4], 中国香港为 27.3%^[5], 已成为全世界重大的公共安全卫生问题。虽然“二次打击”学说已成为解释 NAFLD 发病机制的经典理论, 但发病机制尚未阐明。内质网应激 (endoplasmic reticulum stress, ERS) 与 NAFLD 的发生、发展密切相关, ERS 中的未折叠蛋白反应 (unfolded protein response, UPR) 在 NASH、糖尿病等代谢疾病引起的肝损害进展中起着关键作用^[6-8]。然而 NAFLD 如何启动, 内质网脂质负荷的增多如何引起内质网中未正确折叠蛋白的增多, 肝细胞内脂质负荷过载与 ERS 的发生之间更直接的联系是什么, 这些问题并未得到明确回答。Sec61 蛋白是内质网上重要的通道蛋白, 它包括 α 、 β 、 γ 亚基, 其主要功能是形成疏水通道, 使核糖体合成的新生多肽通过并穿过内质网的内腔。作为一种通道蛋白, Sec61 在 NAFLD 中作用尚不明确。因此, 本研究建立软脂酸与油酸混合物体外诱导肝细胞脂肪变性模型, 检测 Sec61 α 及其相关的 ERS 标志蛋白葡萄糖调节蛋白 78 (glucose regulated protein78, GRP78)、葡萄糖调节蛋白 94 (glucose regulated protein, GRP94), 以及 Bcl-2 的表达, 探讨 Sec61 α 在肝细胞脂肪变中的可能作用机制。

1 材料与方法

1.1 主要试剂和材料

DMEM 高糖培养基 (Hyclone 公司)、胎牛血清 (杭州四季青)、软脂酸钠、油酸钠 (美国 sigma 公司)、油红 O (美国 sigma 公司)、不含脂肪酸牛血清白蛋白 (BSA, 德国 Roche 公司)、荧光定量 PCR 试剂盒 (TaKaRa 公司)。Eeyarestatin I 试剂 (英国 Tocris 公司), Sec61 α 多克隆抗体购自美国 Abcam 公司, L02 肝细胞株来自西南医院病理科馈赠。

1.2 肝细胞脂肪变性模型的构建, 油红 O 染色评价其脂肪变程度

按文献 [9] 提示配制软脂酸与油酸混合诱导液 (1 000 $\mu\text{mol/L}$ 软脂酸 PA、1 000 $\mu\text{mol/L}$ 油酸 OA、PA:OA = 1:2 且含 1% BSA), 将 L02 肝细胞培养于培养瓶中, 按 1:5 000 传代铺于 6 孔板中, 当细胞汇合度达到 80%, 无血清培养基适应性培养过夜, 加入软脂酸与油酸混合诱导液诱导细胞发生脂肪变性, 并在 0、2、4、8、12、16 h 进行收获。5 g 油红 O 粉末溶于 100 mL 异丙醇中, 配成浓度为 5% (体积质量分数) 储存液, 按照油红 O 储存液与 ddH₂O 2:3 的比例稀释成工作液。将已收获的 NAFLD 细胞模型进行细胞爬片, PBS 清洗后, 4% 多聚甲醛固定 15 min, PBS 清洗, 油红 O 工作液避光孵育 20 min, PBS 清洗后加入淡苏木精染核 10 s, PBS 清洗, 甘油明胶封片后, 显微镜下观察。每组细胞任选 5 个视野进行采图, 并应用 Image J 2x 软件进行图像分析, 以平均脂变面积评价肝细胞脂变程度。

1.3 实时荧光定量 PCR 检测 Sec61 α 的表达及变化

细胞总 RNA 及 cDNA 合成分别采用 RNAiso Plus 试剂盒与

PrimeScriptTM RT reagent Kit 试剂盒 (TaKaRa 公司), 按照试剂盒说明书操作步骤完成。荧光定量 PCR 采用 SYBR[®] Premix Ex TaqTM II, 按说明完成。引物序列: GAPDH 上游: GAAGGT-GAAGTCCGAGTCA, 下游: TTGAGGTCAATGAAGGGGTC, 117 bp; Sec61 α 上游: TGTCACTCTCCCAAATGCTCTCA, 下游: ACAGGTA-ATAGCAAAGGCCAC, 131bp。GRP78 上游: CGTCCTATGTCCG-CCTTCACT, 下游: AATGTCTTTGTTGCCACC, 232 bp。反应条件: 95 $^{\circ}\text{C}$ 10 min 1 个循环, 95 $^{\circ}\text{C}$ 15 s, 60 $^{\circ}\text{C}$ 1 min, 72 $^{\circ}\text{C}$ 30 s, 40 个循环。反应在 CFX96TM Real-time System 下进行。

1.4 Western blot 检测 Sec61 α 、GRP78、GRP94、Bcl-2 的表达

细胞裂解采用 RIPA 裂解液, 考马斯亮蓝检测细胞蛋白浓度, 经 5 \times SDS Loading Buffer 及 ME 混匀后煮沸 10 min 变性后, 冻存于 -80 $^{\circ}\text{C}$ 备用。SDS-PAGE 蛋白电泳后, 电转至 PVDF 膜上, 封闭 (博士德 5% 牛奶) 2 h 后, 加入抗体, 一抗的抗体浓度分别为: 兔抗 Sec61 α 多克隆抗体 (1:1 000, Abcam), β -actin (1:10 000, cell signaling technology), GRP78 (1:1 000, Santa Cruz) GRP94 (1:1 000, 博奥生物), Bcl-2 (1:5 000, Santa Cruz), 4 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱孵育 (摇床过夜), 加入辣根过氧化物酶标记的羊抗兔 IgG (1:10 000, 联科生物), 摇床孵育 3 h, 化学发光剂孵育 2~3 min, 在 Bio-Rad 蛋白化学发光仪中显影。图像分析采用 Image Lab 软件, 将每个样本的积分光密度值与 β -actin 的积分光密度值相比, 得出积分光密度的比值代表其蛋白含量。

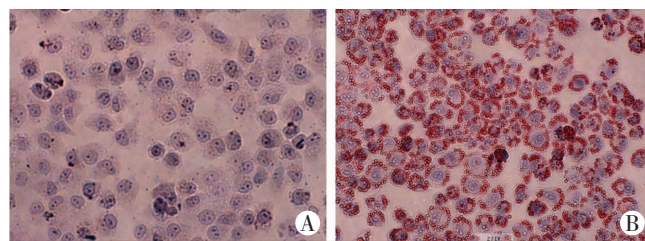
1.5 统计学处理

采用 SPSS 19.0 统计软件进行处理, 计量资料行正态性检验, 以 $\bar{x} \pm s$ 表示; 多组比较采用单因素方差分析。

2 结果

2.1 软脂酸与油酸混合物诱导 L02 肝细胞脂肪变性程度检测

油红 O 染色后显微镜下观察, 脂滴为红色, 而随着造模时间延长, 细胞质内脂滴明显增多, 逐渐融合成片状, 并呈现逐渐增加趋势。2 h 的脂变面积为 (3.36 \pm 0.32), 4 h 为 (22.53 \pm 2.16), 8 h 为 (85.27 \pm 13.82), 12 h 为 (253.94 \pm 21.68), 16 h 为 (427.56 \pm 29.73), 均较 0 h 明显升高 ($P < 0.01$)。见图 1。



A: 0 h 组; B: 12 h 组

图1 油红 O 染色观察不同时间点肝细胞脂肪变程度 ($\times 400$)

2.2 L02 肝细胞脂肪变性过程中, Sec61 α 与 GRP78 mRNA 的表达

在 mRNA 水平, 以 0 h 的表达为 1, Sec61 α mRNA 相对表达量在细胞脂肪变模型早期 (2、4 h) 出现下降, 而在后期增加 (8、12、16 h) ($P < 0.05$); GRP78 的表达也呈逐渐上升趋势, 8 h 上升 ($P < 0.05$), 在 12、16 h 较 0 h 明显升高 ($P < 0.01$)。见表 1。

表1 肝细胞脂肪变性过程中Sec61α与GRP78 mRNA的表达
(n=6, $\bar{x} \pm s$)

诱导时间	Sec61α	GRP78
0 h	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00
2 h	0.68 ± 0.11	1.65 ± 0.07
4 h	0.89 ± 0.25	1.78 ± 0.16
8 h	3.49 ± 0.38 ^a	2.37 ± 0.68 ^a
12 h	3.55 ± 0.84 ^a	6.89 ± 1.07 ^b
16 h	3.71 ± 1.42 ^a	8.33 ± 1.64 ^b

a: P < 0.05, b: P < 0.01, 与0 h比较

2.3 L02 肝细胞脂肪变性过程中, Sec61α 和 GRP78 蛋白的表达

在蛋白水平上, Sec61α 在细胞脂肪变模型早期(2、4 h)出现下降, 而在后期增加(8、12 h) (P < 0.01), 16 h略有下降, 但仍较0 h(P < 0.05)明显升高; GRP78 蛋白表达呈逐渐上升的变化规律。见图2, 表2。

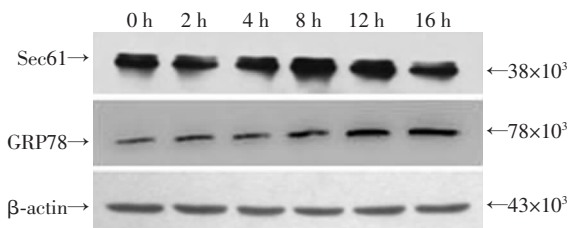


图2 Western blot 检测肝细胞脂肪变性过程中 Sec61α 与 GRP78 蛋白的表达

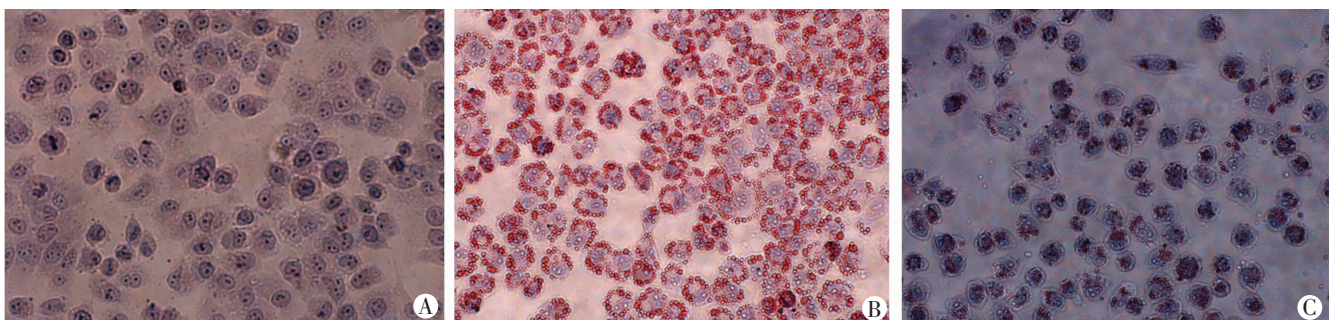
表2 肝细胞脂肪变性过程中 Sec61α 与 GRP78 的蛋白表达 (n=6, $\bar{x} \pm s$)

诱导时间	Sec61α	GRP78
0 h	8.36 ± 0.52	3.11 ± 0.25
2 h	6.78 ± 0.81	3.62 ± 0.33
4 h	7.54 ± 1.67	3.92 ± 1.36
8 h	18.49 ± 1.79 ^b	6.21 ± 1.72 ^b
12 h	15.29 ± 2.26 ^b	7.27 ± 3.11 ^b
16 h	15.13 ± 2.33 ^a	9.03 ± 3.84 ^b

a: P < 0.05, b: P < 0.01, 与0 h比较

2.4 Sec61 抑制剂 Eeyarestatin 1 干预后, 肝细胞脂肪变性程度的变化

油红O染色后显微镜下观察, DMSO组与脂肪变性组的脂变面积差异不明显, 无统计学意义(P > 0.05), 而抑制剂组与脂肪变性组的脂变面积差异明显(P < 0.01)。正常对照组、脂肪变性组、DMSO组、抑制剂组的脂变面积分别为(3.12 ± 0.28)、(268.31 ± 18.72)、(247.62 ± 35.13)、(96.28 ± 19.62), 抑制剂组与脂肪变性组比较有统计学差异(P < 0.01), 见图3。

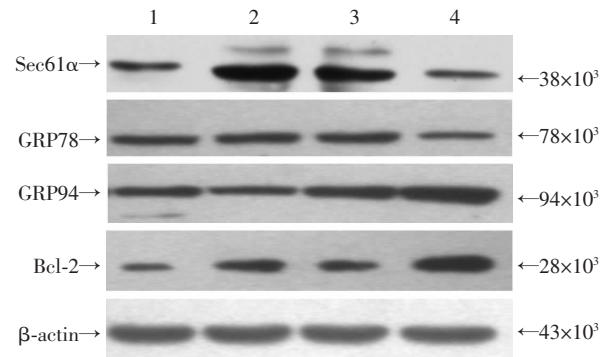


A: 正常对照组; B: DMSO组; C: 抑制剂组

图3 油红O染色观察各组使用 Sec61 抑制剂干预后肝细胞脂肪变性的变化 (×400)

2.5 Sec61 抑制剂 Eeyarestatin 1 干预后, Sec61α、GRP78、GRP94、及 Bcl-2 蛋白的表达变化

在蛋白水平, 脂肪变性组与 DMSO 组比较, 无统计学差异(P > 0.05), 而抑制剂组中 Sec61α 与 GRP78 蛋白水平与脂肪变性组相比, 明显降低(P < 0.01); GRP94 与 Bcl-2 则明显升高(P < 0.01)。见图4, 表3。



1: 正常对照组; 2: 脂肪变性组; 3: DMSO 组; 4: 抑制剂组

图4 Western blot 检测 Sec61 抑制剂 Eeyarestatin 1 干预后 Sec61α、GRP78、GRP94、及 Bcl-2 蛋白经的表达变化

表3 Sec61α、GRP78、GRP94 及 Bcl-2 蛋白经 Sec61 抑制剂 Eeyarestatin 1 干预后的表达变化 (n=6, $\bar{x} \pm s$)

组别	Sec61α	GRP78	GRP94	Bcl-2
正常对照组	8.16 ± 0.73	18.85 ± 1.64	15.57 ± 2.03	13.68 ± 2.76
脂肪变性组	20.37 ± 1.83	24.74 ± 2.52	14.95 ± 5.85	29.64 ± 2.84
DMSO 组	18.54 ± 3.18	23.56 ± 4.37	13.19 ± 3.69	25.36 ± 5.73
抑制剂组	9.22 ± 4.39 ^a	7.92 ± 4.45 ^a	53.74 ± 3.97 ^a	45.82 ± 3.69 ^a

a: P < 0.01, 与脂肪变性组比较

3 讨论

内质网(ER)是真核细胞中蛋白合成的重要细胞器。在缺氧、氧化应激、异常糖基化反应以及 Ca²⁺ 稳态失衡等情况下, 未折叠蛋白质增多, 超出内质网的处理能力时, 可导致内质网应激(ERS)。ERS 分为3种类型: ①未折叠蛋白反应(UPR); ②细胞核因子 κB (NF-κB) 引发的内质网超负荷反应(endoplasmic reticulum-overload response, EOR); ③固醇调节级联反应。在肝细胞脂肪变过程中, ERS 的调控十分重要, 而且 ERS 中的 UPR 途径与脂质合成的调控密切相关。其

中内质网孔道蛋白 Sec61 是否在肝细胞脂肪变性模型中发生变化,并与肝细胞脂肪变有关,目前尚少见报道。

内质网中 Sec61 孔道位于内质网膜上的异源性三聚体复合物,具有双向性转运蛋白质的功能^[10]。在真核细胞中,该 3 聚体复合物由 Sec61 α 、Sec61 β 及 Sec61 γ 3 个亚基组成。在结构上,Sec61 α 亚基具有 10 次跨膜的结构域,光交联试验证实 α 亚基形成整个通道的核心,并由此构成了内质网膜上的蛋白质转运通道。文献[11]报道,Sec61 α 亚基的突变可影响 Sec61 孔道的蛋白质双向转运功能,导致了 ERS 的持续存在。本研究观察到:在软脂酸与油酸混合物诱导的 L02 肝细胞脂肪变性过程中,GRP78 蛋白在早期表达与 0 h 比较虽有升高,但无统计学差异,提示此时无明显 ERS 发生,造模 8 h 以后,GRP78 表达显著上升,表明肝细胞已触发 ERS。而 Sec61 α 在肝细胞脂肪变早期表达下降可能是肝细胞应激状态下的适应性变化,但在肝细胞脂肪变模型后期,Sec61 α 表达增加,一方面可能因为肝细胞内未折叠或错误折叠蛋白堆积较多,需要其对未折叠蛋白进行转运及降解;另一方面,当肝细胞内未折叠蛋白堆积较多时,则进一步诱发 ERS,促发固醇调节级联反应引起 SREBP-1c 表达增强,促进其脂肪合成,形成肝细胞脂肪变,同时也可能通过 ERS,诱发肝细胞凋亡^[12]。在应用 Sec61 α 抑制剂干预肝细胞脂肪变性后,我们观察到肝细胞抑制剂组脂肪变性程度较未用抑制剂的脂肪变性组明显降低 ($P < 0.01$),抑制剂组 Sec61 α 与 GRP78 表达较脂肪变性组明显减轻 ($P < 0.01$),提示 Sec61 α 与 ERS 关系十分密切,有学者提出 GRP78 通过结合 Sec61 复合物定位于内质网腔中 Sec61 α 第 7 环的酪氨酸 344 位点,限制内质网腔中的 Ca^{2+} 流向胞质,参与 ERS^[13]。我们的结果也支持 Sec61 可能通过 GRP78 参与了肝细胞脂肪变性发生的观点。

GRP94 是热休克蛋白 HSP90 家族成员,与内质网腔中 GRP78、蛋白质二硫键异构酶及钙网织蛋白不同,在正常细胞环境中,GRP94 可与 Ca^{2+} 结合具有蛋白伴侣特性;在新合成多肽过程中,参与多肽的正确转位、折叠及装配;并且协助寡聚体进行组装与分解,从而进一步抑制未折叠或错误蛋白的分泌。本研究观察到 Sec61 抑制剂干预肝细胞脂肪变性模型后,GRP94 蛋白表达较脂肪变性组明显上升 ($P < 0.01$),我们认为可能的原因是 Sec61 α 蛋白功能被抑制后,内质网腔中 Ca^{2+} 大量流向胞质中,从而导致肝细胞胞质中 Ca^{2+} 蓄积,引起 GRP94 蛋白的高表达,从而参与了脂肪变肝细胞胞质中钙失衡所致的一系列细胞生物学效应,确切关系需进一步研究。

Bcl-2 通过调控细胞内 Ca^{2+} 跨膜流动,参与维持

细胞的钙稳态^[14]。我们研究发现在 Sec61 抑制剂干预肝细胞脂肪变性模型中,Bcl-2 在抑制剂组比未用抑制剂脂肪变性组表达明显升高 ($P < 0.01$)。结果提示 Bcl-2 在肝细胞脂肪变性过程中,可能通过调节肝细胞内 Ca^{2+} 浓度变化,参与肝细胞 ERS,从而影响肝细胞脂肪变的发生。综上,我们认为在肝细胞脂肪变性过程中,Sec61 α 可能通过调节内质网 GRP78 蛋白介导 ERS 系列反应,参与肝细胞脂肪变的发生、发展。

参考文献:

- [1] Oresic M, Hyotylainen T, Kotronen A, et al. Prediction of non-alcoholic fatty-liver disease and liver fat content by serum molecular lipids [J]. *Diabetologia*, 2013, 56(10): 2266 - 2274.
- [2] Gaggini M, Morelli M, Buzzigoli E, et al. Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) and its connection with insulin resistance, dyslipidemia, atherosclerosis and coronary heart disease [J]. *Nutrients*, 2013, 5(5): 1544 - 1560.
- [3] Caballeria L, Auladell M A, Toran P, et al. Risk factors associated with non-alcoholic fatty liver disease in subjects from primary care units. A case-control study [J]. *BMC Gastroenterol*, 2008, 8: 44.
- [4] Wang J, Chiu W H, Chen R C, et al. The clinical investigation of disparity of nonalcoholic fatty liver disease in a Chinese occupational population in Taipei, Taiwan: Experience at a teaching hospital [J]. *Asia Pac J Public Health*, 2013, [Epub ahead of print].
- [5] Wong V W, Chu W C, Wong G L, et al. Prevalence of non-alcoholic fatty liver disease and advanced fibrosis in Hong Kong Chinese: a population study using proton-magnetic resonance spectroscopy and transient elastography [J]. *Gut*, 2012, 61(3): 409 - 415.
- [6] Rinella M E, Siddiqui M S, Gardikotes K, et al. Dysregulation of the unfolded protein response in db/db mice with diet-induced steatohepatitis [J]. *Hepatology*, 2011, 54(5): 1600 - 1609.
- [7] Cnop M, Foufelle F, Velloso L A. Endoplasmic reticulum stress, obesity and diabetes [J]. *Trends Mol Med*, 2012, 18(1): 59 - 68.
- [8] Lee J S, Mendez R, Heng H H, et al. Pharmacological ER stress promotes hepatic lipogenesis and lipid droplet formation [J]. *Am J Transl Res*, 2012, 4(1): 102 - 113.
- [9] Akazawa Y, Cazanave S, Mott J L, et al. Palmitoleate attenuates palmitate-induced Bim and PUMA up-regulation and hepatocyte lipoapoptosis [J]. *J Hepatol*, 2010, 52(4): 586 - 593.
- [10] Zimmermann R, Eyrich S, Ahmad M, et al. Protein translocation across the ER membrane [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2011, 1808(3): 912 - 924.
- [11] Lloyd D J, Wheeler M C, Gekakis N. A point of mutation in Sec61 α 1 leads to diabetes and hepatosteatosis in mice [J]. *Diabetes*, 2010, 59(2): 460 - 470.
- [12] 牟歌, 王晓敏, 熊吉, 等. PACS-2 在非酒精性脂肪性肝病动态变化及意义 [J]. *第三军医大学学报*, 2013, 35(7): 609 - 613.
- [13] Schauble N, Lang S, Jung M, et al. BiP-mediated closing of the Sec61 channel limits Ca^{2+} leakage from the ER [J]. *EMBO J*, 2012, 31(15): 3282 - 3296.
- [14] Bonneau B, Prudent J, Popgeorgiev N, et al. Non-apoptotic roles of Bcl-2 family: the calcium connection [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2013, 1833(7): 1755 - 1765.

(收稿:2014-01-13;修回:2014-02-03)

(编辑 王 红)