

RNA 干扰 TMEM33 的表达对宫颈癌细胞生长的影响

董晶 商双 高蜀君 谢锋[△]

(复旦大学附属妇产科医院宫颈及阴道早期疾病诊治中心 上海 200011)

【摘要】 目的 通过生物信息学方法探究跨膜蛋白 33(transmembrane protein 33, TMEM33)在宫颈癌组织中的表达及其与预后的关系,观察 TMEM33 经 RNA 干扰后对宫颈癌细胞生长的影响。**方法** 应用基因表达谱数据动态分析(Gene Expression Profiling Interactive Analysis, GEPIA)数据库筛选出与宫颈癌相关的 TMEM33 基因,设计两条特异 siRNA 序列进行 RNA 干扰实验。实验分为 3 组:siTMEM33#1 干扰组、siTMEM33#2 干扰组、阴性对照组(非特异性 siRNA)。采用 Western blot 法检测 siRNA 干扰后宫颈癌 SiHa/HeLa 细胞中 TMEM33 蛋白的表达, CCK-8 法检测 SiHa/HeLa 细胞增殖,流式细胞术检测细胞凋亡和细胞周期的变化,Western blot 法检测细胞凋亡关键基因 *BCL-2*、*Bax* 及细胞周期蛋白 CyclinD1、P21 的表达变化。**结果** 与阴性对照组相比,特异性 siRNA 显著下调宫颈癌 SiHa/HeLa 细胞中 TMEM33 蛋白的表达($P<0.05$);宫颈癌细胞增殖明显受抑,细胞凋亡显著增加,细胞周期 S 时相明显减少($P<0.05$);细胞凋亡关键基因 *BCL-2* 表达下降而 *Bax* 表达上升,细胞周期蛋白 CyclinD1 水平降低而 P21 水平升高(均为 $P<0.05$)。**结论** TMEM33 经 RNA 干扰后,能明显抑制宫颈癌的细胞生长。TMEM33 可能通过影响宫颈癌细胞周期、调节细胞凋亡及细胞周期相关蛋白的表达来促进宫颈癌细胞的生长。

【关键词】 宫颈癌; 跨膜蛋白 33(TM33); 增殖; 凋亡; 细胞周期

【中图分类号】 R737.33 **【文献标志码】** A **doi:**10.3969/j.issn.1672-8467.2023.02.001

Effect of RNA interference with TMEM33 expression on cervical cancer cells

DONG Jing, SHANG Shuang, GAO Shu-jun, XIE Feng[△]

(Center for Diagnosis and Treatment of Early Cervical and Vaginal Diseases, Obstetrics and Gynecology Hospital, Fudan University, Shanghai 200011, China)

【Abstract】 Objective To explore the expression of transmembrane protein 33 (TMEM33) and its relationship with the prognosis in cervical cancer through bioinformatics methods, and to observe the effect of TMEM33 on the growth of cervical cancer cells after RNA interference. **Methods** The GEPIA (Gene Expression Profiling Interactive Analysis) database was used to select the TMEM33 genes associated with cervical cancer, and two specific siRNA sequences were designed for RNA interference experiments. The experiment was divided into 3 groups: siTMEM33 # 1 interference group, siTMEM33 # 2 interference group, and negative control (non-specific siRNA) group. TMEM33 protein expression in SiHa/HeLa cells after siRNA interference was determined by Western blot. SiHa/HeLa cells proliferation was detected by CCK-8. Apoptosis and cell cycle was detected by flow cytometry. Expression of the key genes for apoptosis *BCL-2* and *Bax*, and the cell cycle related proteins CyclinD1 and P21 were determined by Western blot. **Results** Compared with siRNA negative controls, specific siRNA significantly downregulated TMEM33 protein expression, cervical cancer cell proliferation was significantly

国家自然科学基金(82072872)

[△]Corresponding author E-mail: fengxie10@fudan.edu.cn

网络首发时间:2022-08-09 16:42:01 网络首发地址:https://kns.cnki.net/kcms/detail/31.1885.R.20220808.1332.004.html

suppressed, while apoptosis was remarkably increased, cell cycle S was significantly decreased ($P < 0.05$); key apoptosis gene *BCL-2* expression was decreased while *Bax* expression was upregulated. CyclinD1 level was decreased while P21 level was increased ($P < 0.05$). **Conclusion** After RNA interference, TMEM33 can significantly inhibit the growth of cervical cancer cells. TME33 may promote the growth of cervical cancer cells by influencing the cervical cancer cell cycle, regulating the expression of apoptosis and cell cycle-related proteins.

【Key words】 cervical cancer; transmembrane protein 33 (TMEM33); proliferation; apoptosis; cell cycle

* This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (82072872).

宫颈癌是女性第四位恶性肿瘤^[1]。2018年,全球宫颈癌的新发病例数约为57万例,死亡病例数达31.1万例^[2]。我国是宫颈癌高发地域之一,宫颈癌发病率和死亡率存在明显的区域差异,近十几年其发病率和死亡率逐年上升^[3-6]。目前手术和放疗是治疗宫颈癌的主要方式,但疗效有限,易复发。而新型免疫治疗,如抗体靶向治疗、过继细胞治疗等,疗效也不理想^[7-10],其原因均与宫颈癌细胞的不可控生长息息相关。因此,仍需寻求能够有效抑制宫颈癌细胞增殖的治疗靶点^[11]。跨膜蛋白33(transmembrane protein 33, TMEM33)是瞬态受体电位(transient receptor potential, TRP)离子通道家族(也称为TRPP2)的成员之一,由6个跨膜片段组成。研究表明其参与内质网未折叠蛋白反应的正向调节,内质网管状网络组织的调节和内质网应激的反应^[12-13]。近来研究报道TMEM33可能参与乳腺癌的进展,但TMEM33在多种肿瘤中的表达及其功能尚不清楚。

本研究使用基因表达谱数据动态分析(Gene Expression Profiling Interactive Analysis, GEPIA)数据库,发现TMEM33与宫颈癌的总生存率及无病生存率都密切相关,并应用RNA干扰技术下调TMEM33,探究其对宫颈癌细胞周期和生长的影响。

材料和方法

主要试剂 胎牛血清、DMEM高糖培养液、Opti-MEM培养液均购自美国ThermoFisher公司; X-TREMEGENE™转染试剂购自德国Merck公司; BCA蛋白定量试剂盒与ECL化学发光液购自美国ThermoFisher公司;兔抗人TMEM33多克隆抗体购自美国OriGene公司;RIPA裂解液、CyclinD1、P21、

Bcl-2与Bax多克隆抗体购自美国CST公司;小鼠抗人GAPDH单克隆抗体购自北京康为世纪生物科技有限公司;靶向TMEM33 siRNAs由上海吉玛生物科技有限公司合成;CCK-8试剂盒、Annexin V-FITC/碘化丙啶(propidium iodide, PI)、细胞凋亡检测试剂盒均购自上海碧云天生物技术有限公司;PVDF膜购自美国Bia-Rad公司;其余试剂均为分析纯,购于国药集团化学试剂有限公司。

生物信息学分析 GEPIA数据库(<http://gepia.cancer-pku.cn/>)用于分析宫颈癌总生存率及无病生存率相关基因表达水平。通过GEPIA数据库分析得到TMEM33在卵巢癌以及宫颈癌组织中的表达水平。进一步分析TMEM33的表达水平与宫颈癌患者的总生存率及无病生存率之间的关系。

细胞培养 宫颈癌细胞系SiHa与HeLa购自上海中科院细胞库。SiHa与HeLa细胞用含10%胎牛血清的DMEM高糖培养液,置于37℃、5% CO₂的培养箱中恒温培养,取对数生长期的细胞转染以进行后续实验。

TMEM33干扰序列的设计 根据NCBI提供的TMEM33序列(NM_018126.3)设计RNA干扰序列,经过基于局部序列排比检索基本工具(Basic Local Alignment Search Tool, BLAST)排除与其他基因同源的靶序列,共得到2条有效干扰序列。针对TMEM33(NM_018126.3)基因的特异siRNA序列:siTMEM33#1正义链(5'-3')UGAAUUUCAGAAUAUUUUGdTdT,反义链(5'-3')CAAAAUAUUCUGAAAUUCAdTdT;siTMEM33#2正义链(5'-3')UCAUUUAUUAUGUGUUCACdTdT,反义链(5'-3')GUUGAACACAUAUAUAUGAdTdT。

实验分组 实验分为3组:siTMEM33#1干扰组、siTMEM33#2干扰组、阴性对照组(非特异性siRNA)。

siRNAs 转染 SiHa/HeLa 细胞 取对数生长期的宫颈癌细胞接种于 10 cm 培养皿中,细胞浓度为 1×10^6 个/孔。每孔加入约 1.5 mL 无抗生素的 Opti-MEM 培养基,当细胞融合度达到 40%~60% 时,参照 X-TREMEGENE™说明书的方法将各组 siRNAs 分别转染至 SiHa/HeLa 细胞中,使 siRNAs 终浓度达到 100 nmol/L,同时以非特异性 siRNA 作为阴性对照组,每组设置 3 个复孔。

Western blot 检测蛋白表达 收集各组转染后的细胞蛋白,用 RIPA 裂解液在冰上裂解细胞并提取细胞总蛋白,BCA 法测定蛋白质浓度并将细胞蛋白浓度尽量调整一致。取 50 μ g 各组样品总蛋白,用 10% 的 SDS-PAGE 进行凝胶电泳,电泳后将分布在胶上的蛋白通过转膜转移至 PVDF 膜上,用浓度 5% BSA 的封闭液室温下封闭 2 h,分别加入各种多克隆抗体(体积稀释比例为 1:1 000,5% BSA)以及 GAPDH 单克隆抗体(1:5 000,5% BSA),于 4 $^{\circ}$ C 孵育过夜;次日,洗膜 3 次,每次 5 min 后,加入辣根过氧化物酶标记的二抗(1:5 000),室温反应 1 h。TBST 洗膜 3 次,用 ECL 试剂进行显影。使用 GE Healthcare Life Sciences 公司的 ImageQuant™ LAS 4000 mini 成像仪检测发光信号。

CCK-8 法检测转染 siRNA 后 SiHa/HeLa 细胞的增殖能力 将 2×10^3 个转染 24 h 后的各组宫颈癌细胞分别接种于 96 孔板中,每组设置 6 个复孔。将 96 孔板置于细胞培养箱继续培养中,分别在 0、24、48 和 72 h 时向每孔加入 10 μ L CCK-8,继续孵育 1 h,酶联免疫仪(美国 Bio-Rad 公司,Model 680)在 450 nm 波长处检测各孔的吸光度值。以时间为横轴,以吸光度值为纵坐标绘制细胞生长曲线。

流式细胞术检测细胞凋亡和细胞周期的改变 使用凋亡检测试剂盒,根据说明书,用不含 EDTA 的胰蛋白酶(0.25%)消化收集转染后的各组宫颈癌细胞,用预冷的 PBS 洗涤细胞 2 次后,加入 500 μ L 结合缓冲液悬浮细胞,随后加入 5 μ L Annexin V-FITC 混匀染色,最后加入 5 μ L PI,混匀后室温避光孵育 15 min,用流式细胞仪(美国 BD 公司, FACSCanto System)检测各组细胞的凋亡情况。

PI 染色后收集细胞并用预冷的 PBS 洗涤细胞 2 次后,用 70% 的乙醇在 -20 $^{\circ}$ C 下固定过夜。PBS 洗涤细胞 2 次,加入 PI,使其终浓度达到 50 μ g/mL,同时加入无 DNA 酶污染的 RNA 酶至终浓度为

50 μ g/mL。染色 20 min 后 PBS 洗涤,用流式细胞仪检测各组细胞的细胞周期分布。

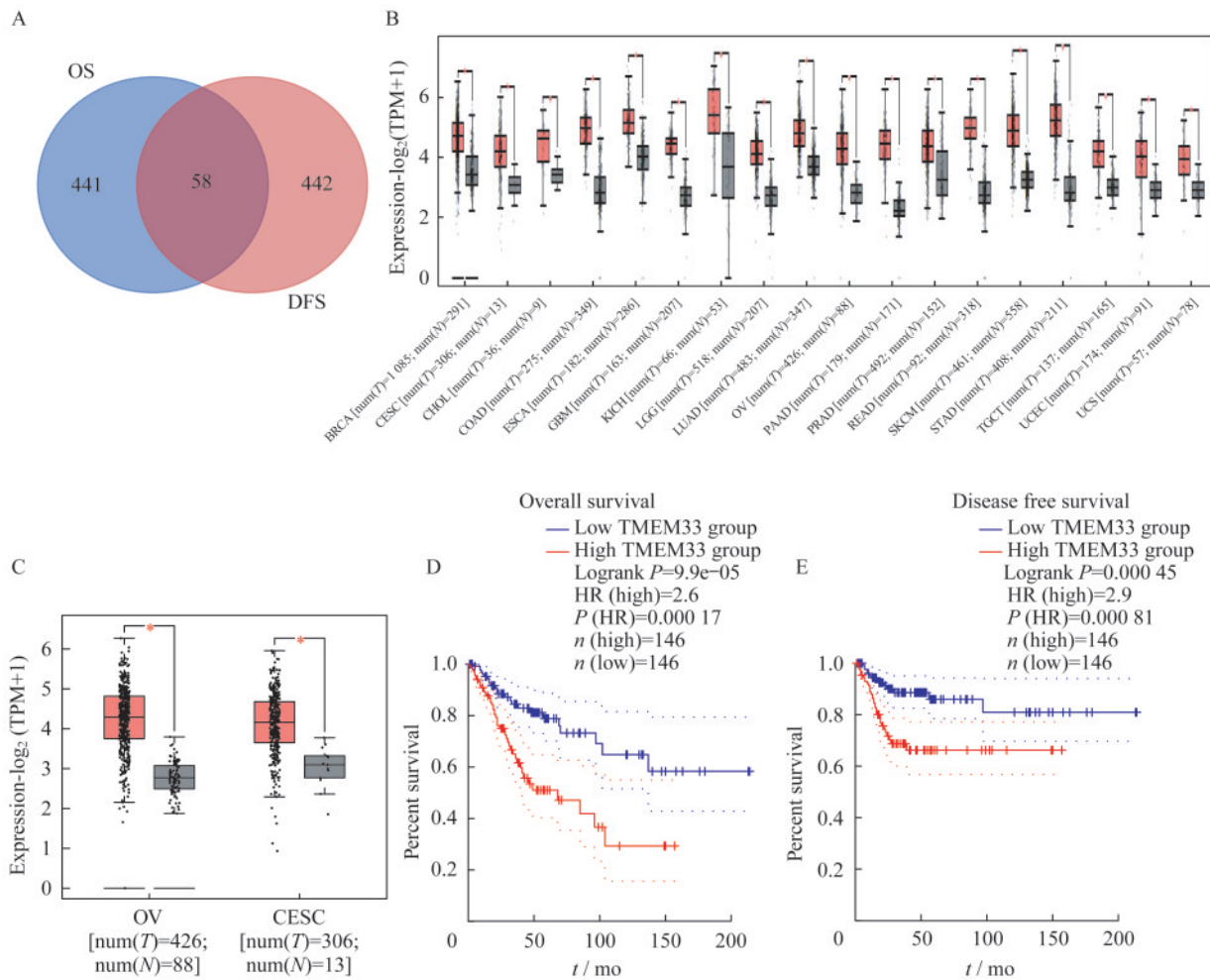
统计学分析 使用 GraphPad Prism 6.0 软件进行统计学分析,所得数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,2 个独立样本比较采用配对 *t* 检验,多组之间差异采用单因素 ANOVA 分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

TMEM33 在宫颈癌组织中的表达水平及其对宫颈癌患者预后的影响 我们使用 GEPIA 数据库(<http://gepia.cancer-pku.cn/>)找出前 500 个与宫颈癌总生存率和无病生存率相关的基因。其中共有 58 个基因与宫颈癌总生存率和无病生存率都相关(图 1A)。在这些基因中,我们发现 TMEM33 在多达 18 种肿瘤(包括宫颈癌和卵巢癌)组织中都呈高表达(图 1B、1C),提示 TMEM33 可能作为一个原癌基因促进肿瘤进展。进一步分析 TMEM33 对宫颈癌患者预后的影响,结果显示高表达 TMEM33 的宫颈癌患者具有更差的总生存率(图 1D)和无病生存率(图 1E)。上述结果进一步佐证了 TMEM33 作为一个原癌基因促进肿瘤进展的可能性。

下调 TMEM33 可显著抑制宫颈癌细胞增殖并促进凋亡 鉴于 TMEM33 在宫颈癌组织中高表达,我们使用 siRNAs 靶向下调内源性 TMEM33 的表达,并观察宫颈癌细胞的生物学特性改变。应用 Western blot 检测发现,与阴性对照组相比,转染 siTMEM33#1、siTMEM33#2 均可有效下调 SiHa/HeLa 细胞中的 TMEM33 蛋白表达($P < 0.05$,图 2A)。CCK-8 法检测宫颈癌细胞增殖情况,结果显示 siTMEM33#1、siTMEM33#2 转染组细胞的增殖能力均明显低于阴性对照组($t = 8.403$, $P < 0.05$,图 2B)。流式细胞术检测发现,转染组细胞的凋亡水平均显著高于阴性对照组($t = 5.355$, $P < 0.05$,图 2C)。

TMEM33 表达下调可影响细胞周期以及凋亡相关蛋白的表达 流式细胞术检测发现,下调 TMEM33 可显著减少宫颈癌细胞 S 时相的分布($P < 0.05$,图 3A)。Western blot 检测发现:与阴性对照组相比,siTMEM33#1、siTMEM33#2 转染组细胞中抗凋亡基因 *BCL-2* 表达显著下降,而促凋亡基因 *Bax* 表达明显上升;TMEM33 下调后,细胞周期蛋白 CyclinD1 表达降低,而 P21 则升高($t = 21.72$, $P < 0.05$,图 3B)。



A: Venn diagram to screen common genes between genes associated with OS and genes associated with DFS. B: GEPIA was used to show the cancers with high expression of TMEM33 in TCGA dataset. C: Expression of TMEM33 in cervical cancer samples and ovarian cancer samples compared with normal samples. D-E: Survival plots for TMEM33 mRNA expression association with OS and DFS in GEPIA-CESC.

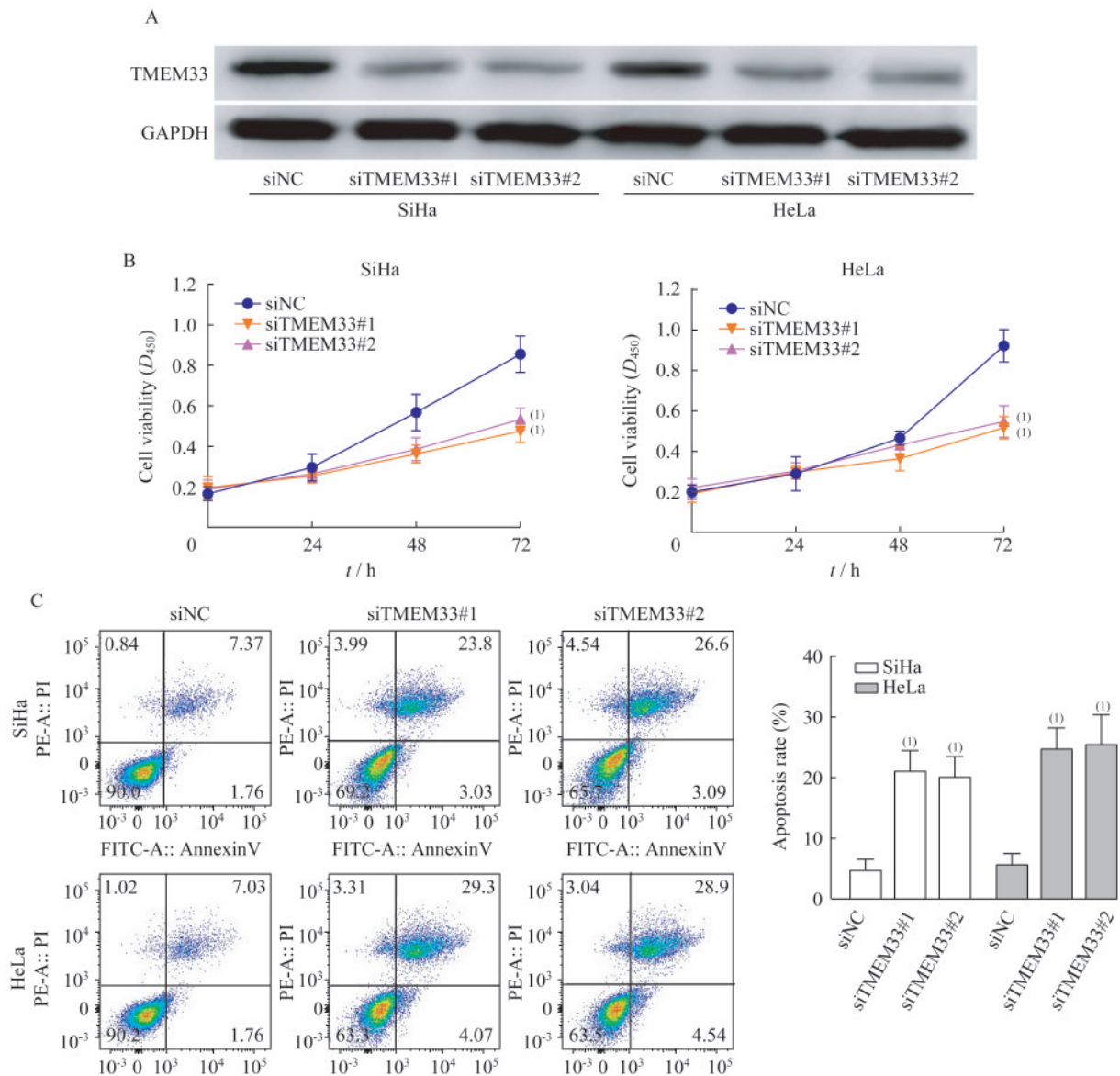
图1 TMEM33高表达与宫颈癌患者预后

Fig 1 High TMEM33 expression associated with the prognosis of patients with cervical cancer

讨 论

TMEM是一种含有跨膜结构域的膜蛋白成分,作为细胞膜的结构组分,广泛存在于所有生物膜结构中,参与细胞内结构包括线粒体、内质网、溶酶体和高尔基体的组成。许多TMEM家族成员作为通道蛋白,可通过不断地改变构象来控制物质的跨膜转运^[13]。TMEM33是内质网跨膜蛋白家族中的一员,含有3个跨膜结构域,在整个进化过程中保持保守。TMEM33在血管生成调节、急性损伤、炎症反应、抗病毒免疫反应等生物学过程中都发挥重要作用。TMEM33是血管生成所需的内质网钙离子信号机制的组成部分,能介导内皮细胞钙离子流动,

对内皮尖端细胞丝状伪足形成和内皮细胞迁移都至关重要,TMEM33能激活ERK和诱导Notch信号传导以调节血管形成;全部或特异性敲除内皮细胞中TMEM33的表达,会破坏血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)的许多下游效应,包括ERK的磷酸化Notch信号通路和血管生成^[14]。TMEM33可通过与多囊蛋白-2(polycystin-2, PC-2)相互作用,以PC-2依赖的方式降低细胞内钙含量,导致组织蛋白酶易位,抑制内质网应激下的自噬通量以及对凋亡的敏感性,影响肾小管上皮细胞内钙的稳态,从而导致急性肾损伤^[15]。在吸入性肺损伤发病机制的初步研究中,发现TMEM33 mRNA是微小RNA(microRNA-146a, miR-146a)的作用靶点,参与Toll样受体/核因子-



A: Western blot results for TMEM33 expression validated in SiHa/HeLa cells after transfection for 48 h. B: CCK-8 assay was performed to detect the proliferation of SiHa/HeLa after siRNAs transfection. C: Flow cytometry was performed to assess cell apoptosis ratio of SiHa/HeLa after siRNAs transfection. ⁽¹⁾ vs. siNC, $P < 0.01$.

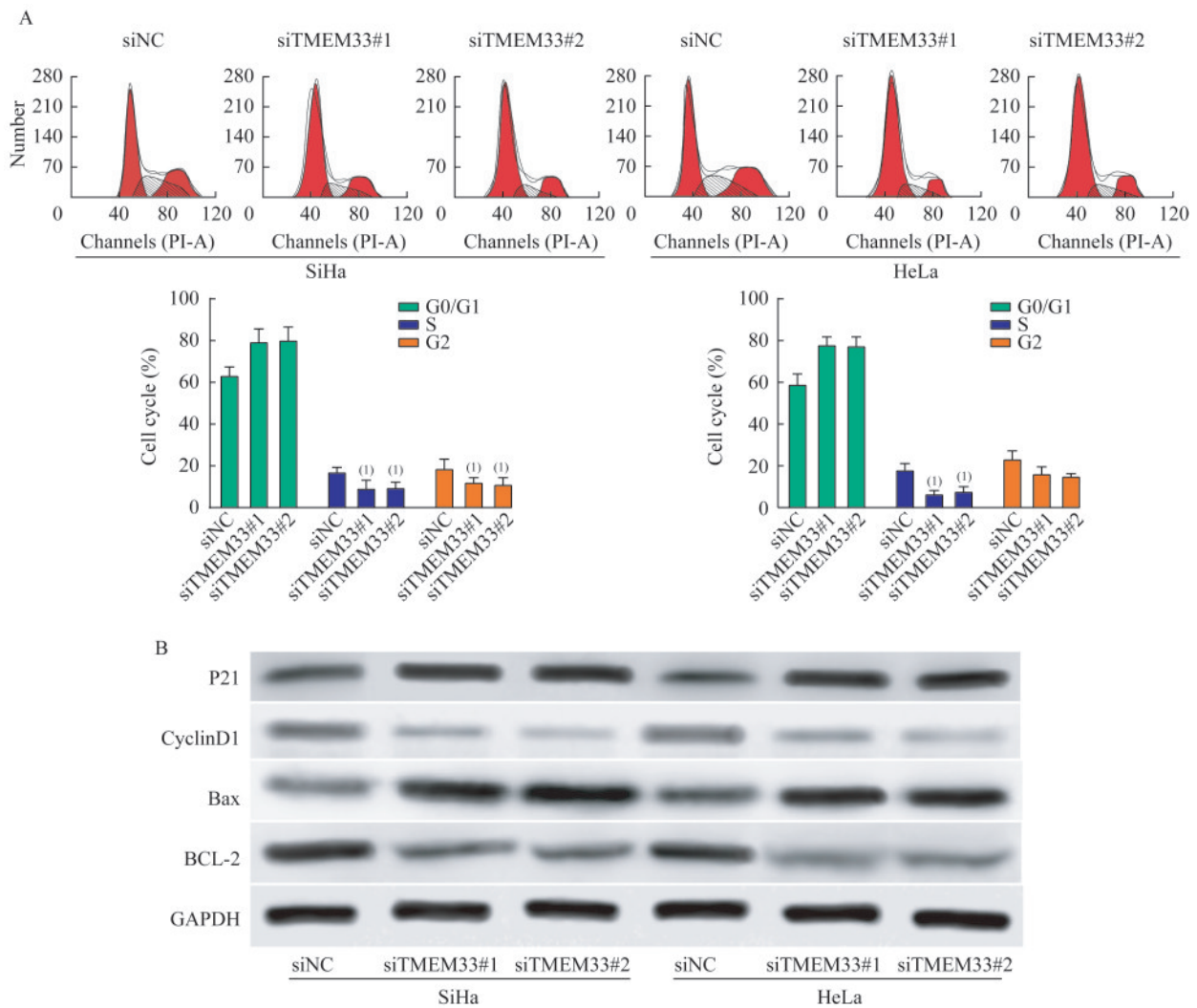
图2 下调 TMEM33 能抑制宫颈癌细胞增殖并促进其凋亡

Fig 2 Downregulation of TMEM33 inhibited proliferation and promoted apoptosis in cervical cancer cells

κ B (Toll-like receptors/Nuclear factor kappa-B, TLRs/NF- κ B)信号通路的调控^[16]。在动物研究中,病毒成分可刺激 TMEM33 上调,显著抑制干扰素 IFN ϕ 1 启动子活性和 mRNA 水平,阻断 IFN 反应,从而显著削弱宿主细胞的抗病毒能力^[17]。

TMEM33 与肿瘤的发生、转移和耐药密切相关。TMEM33 是一种新发现的内质网应激诱导分子,可调节未折叠蛋白反应信号传导,而内质网应激导致未折叠蛋白反应信号级联激活,可诱导凋亡

细胞死亡、自噬、致癌、转移和/或对癌症治疗的耐药性,提示 TMEM33 可能是癌细胞内质网应激反应事件的决定因素^[18]。研究表明 TMEM33 是未折叠蛋白信号通路中 PERK-eIF2 α -ATF4 和 IRE1-XBP1 轴的新型调节器, TMEM33 可与磷酸化 ERK 结合,导致乳腺癌细胞中 p-eIF2 α 和 p-IRE1 α 及其各下游效应物 ATF4-CHOP 和 XBP1-S 的蛋白表达水平增加,促进乳腺癌细胞的转录增殖;同时, TMEM33 过表达还导致凋亡相关基因(caspase-7)



A: Cell cycle was assessed by flow cytometric analysis in SiHa/HeLa after siRNAs transfection. B: Western blot was used to analyze the indicated proteins in SiHa/HeLa after siRNAs transfection. ⁽¹⁾ vs. siNC, $P < 0.01$.

图3 下调 TMEM33 影响细胞周期以及凋亡相关蛋白的表达

Fig 3 Downregulation of TMEM33 affects the cell cycle and the expression of apoptosis-related proteins

和自噬体标志物(LC3II)的表达增加^[18],自噬与肿瘤细胞对各种治疗的耐药性有关。比较 TMEM33 在激素耐药乳腺癌细胞(LCC9、MCF7RR)和敏感乳腺癌细胞(LCC1 和 MCF7)中的表达水平,发现前者的 TMEM33 mRNA 表达水平更高。与非复发性乳腺肿瘤相比,早期复发性乳腺癌标本中的 TMEM33 呈高表达^[18]。文献报道 TMEM33 作为丙酮酸激酶 M2 异构体(pyruvate kinase M2,PKM2)的下游效应子,受重要的跨膜转录因子(nuclear factor erythroid 2-like 1,NRF1)转录调控,可调节产脂转录因子 SREBP(sterol regulatory element binding protein)表达,从而影响脂质代谢^[19]。在小鼠实验中,PKM2 全基因敲除后, TMEM33 上调,通过募集

RNF5(RING-finger protein 5,一种 E3 泛素连接酶)促进 SREBP 裂解激活蛋白(SREBP-cleavage activating protein,SCAP)的降解,继而小鼠的血浆总胆固醇水平升高,移植瘤的生长加速。提示 TMEM33 是脂质代谢的真正调节因子,其对维持脂质稳态和促进肿瘤生长有重要作用^[19]。然而, TMEM33 在宫颈癌领域的研究,目前国内外文献均未见报道。因此,我们率先尝试在宫颈癌细胞中开展 TMEM33 相关的实验:体外实验结果表明下调 TMEM33 可显著抑制宫颈癌细胞增殖,同时促进细胞凋亡。肿瘤细胞不可控性生长的原因在很大程度上是由于基因组完整性受损,导致机体的损伤修复机制失调。细胞周期在 DNA 损伤修复中扮演重

要的角色,细胞周期的S时相是DNA进行复制的时期。本研究发现,下调TMEM33会影响宫颈癌的细胞周期,结果显示TMEM33干扰后可显著减少宫颈癌细胞S时相的分布,同时细胞凋亡关键基因BCL-2表达下降、Bax表达上调,细胞周期蛋白CyclinD1降低、P21升高($P<0.05$)。这些结果表明:TMEM33可能通过调节细胞周期,影响细胞凋亡相关基因与细胞周期蛋白的表达,从而促进宫颈癌细胞的生长。细胞周期的变化,凋亡相关基因以及细胞周期相关蛋白水平的改变,提示TMEM33对于维持宫颈癌细胞的生长不可或缺。

本研究结果表明TMEM33可能是宫颈癌预后的潜在分子标记物。后续还有待于宫颈癌组织标本和动物实验的验证,以期进一步证实其原癌基因的特点和潜在的分子机制。

作者贡献声明 董晶 数据采集,论文构思、撰写和修订。商双 数据采集。高蜀君 论文构思。谢锋 数据统计和分析,模型运算,论文修订。

利益冲突声明 所有作者均声明不存在利益冲突。

参 考 文 献

- [1] SMALL WJ, BACON MA, BAJAJ A, *et al.* Cervical cancer: a global health crisis[J]. *Cancer*, 2017, 123(13): 2404-2412.
- [2] ARBYN M, WEIDERPASS E, BRUNI L, *et al.* Estimates of incidence and mortality of cervical cancer in 2018: a worldwide analysis[J]. *Lancet Glob Health*, 2020, 8(2): 191-203.
- [3] YAN W, QIU S, DING Y, *et al.* Prognostic value of lymphovascular space invasion in patients with early stage cervical cancer in Jilin, China: a retrospective study[J]. *Medicine (Baltimore)*, 2019, 98(40): 17301.
- [4] WEI M, ZHOU W, BI Y, *et al.* Rising mortality rate of cervical cancer in younger women in urban China[J]. *J Gen Intern Med*, 2019, 34(2): 281-284.
- [5] 张仲华, 刘晨瑛, 任会叶, 等. 2003—2018年间中国女性宫颈癌发病与死亡趋势研究[J]. *中华疾病控制杂志*, 2022, 26(1): 14-20.
- [6] 魏长慧, 朱继存, 牛媛娜, 等. 2004—2016年中国女性生殖系统恶性肿瘤死亡趋势分析[J]. *中华疾病控制杂志*, 2019, 23(5): 506-511.
- [7] DYER BA, ZAMARIN D, ESKANDAR RN, *et al.* Role of immunotherapy in the management of locally advanced and recurrent/metastatic cervical cancer[J]. *J Natl Compr Canc Netw*, 2019, 17(1): 91-97.
- [8] 徐启英, 郭桂兰. MiR-29a及其靶向基因在宫颈癌中的表达和临床意义[J]. *转化医学杂志*, 2019, 8(5): 287-291.
- [9] ZHANG X, WANG Y, ZHAO A, *et al.* Long non-coding RNA LINC00511 accelerates proliferation and invasion in cervical cancer through targeting miR-324-5p/DRAM1 axis[J]. *Onco Targets Ther*, 2020, 10(13): 10245-10256.
- [10] SONG H, LIU Y, LIANG H, *et al.* SPINT1-AS1 drives cervical cancer progression via repressing miR-214 biogenesis[J]. *Front Cell Dev Biol*, 2021, 7(9): 691140.
- [11] CHRYSOSTOMOU AC, STYLIANOU DC, CONSTANTINIDOU A, *et al.* Cervical cancer screening programs in Europe: the transition towards HPV vaccination and population-based HPV testing[J]. *Viruses*, 2018, 10(12): 729.
- [12] URADE T, YAMAMOTO Y, ZHANG X, *et al.* Identification and characterization of TMEM33 as a reticulon-binding protein[J]. *Kobe J Med Sci*, 2014, 60(3): 57-65.
- [13] WRZESINSKI T, SZELAG M, CIESLIKOWSKI WA, *et al.* Expression of pre-selected TMEMs with predicted ER localization as potential classifiers of ccRCC tumors[J]. *BMC Cancer*, 2015, 7(15): 518.
- [14] SAVAGE AM, KURUSAMY S, CHEN Y, *et al.* TMEM33 is essential for VEGF-mediated endothelial calcium oscillations and angiogenesis[J]. *Nat Commun*, 2019, 10(1): 732.
- [15] ARHATTE M, GUNARATNE GS, EI BC, *et al.* TMEM33 regulates intracellular calcium homeostasis in renal tubular epithelial cells[J]. *Nat Commun*, 2019, 10(1): 2024.
- [16] 冯胜娟, 吕晓武, 刘真, 等. TMEM33 mRNA 3'-UTR报告基因载体的构建及功能验证[J]. *感染、炎症、修复*, 2014, 15(4): 204-208.
- [17] LU LF, ZHANG C, LI ZC, *et al.* A novel role of Zebrafish TMEM33 in negative regulation of interferon production by two distinct mechanisms[J]. *PLoS Pathog*, 2021, 17(2): 1009317.
- [18] SAKABE I, HU R, JIN L, *et al.* TMEM33: a new stress-inducible endoplasmic reticulum transmembrane protein and modulator of the unfolded protein response signaling[J]. *Breast Cancer Res Treat*, 2015, 153(2): 285-297.
- [19] LIU F, MA M, GAO A, *et al.* PKM2-TMEM33 axis regulates lipid homeostasis in cancer cells by controlling SCAP stability[J]. *EMBO J*, 2021, 40(22): 108065.

(收稿日期:2022-02-16; 编辑:张秀峰)