

ISSN 1009-3079

CN 14-1260/R

世界华人消化杂志®

WORLD CHINESE

JOURNAL OF DIGESTOLOGY

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

2003 年 9 月 15 日 第 11 卷 第 9 期

(Volume 11 Number 9)



9/2003

ISSN 1009-3079



名誉总编辑

潘伯荣

总编辑

马连生

World Journal of Gastroenterology® 被 SCI®-E, Research Alert®, Current Contents®/Clinical Medicine, Journal Citation Reports®, Index Medicus, MEDLINE, Chemical Abstracts, EMBASE/Excerpta Medica 收录. 2002 年 JCR® 报告 WJG 影响因子 2.532. 世界华人消化杂志® 被 Chemical Abstracts, EMBASE/Excerpta Medica 收录. 2001 年中国科技期刊引证报告: 世界华人消化杂志® 影响因子 3.733, WJG 影响因子 2.920.

世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

● 目 次 ●

2003 年 9 月 15 日 第 11 卷

第 9 期 (总第 113 期)

| | |
|-------|---|
| 述 评 | 1269 胃肠道肿瘤的影像诊断和介入治疗 程英升, 尚克中 1273 胃食管反流病的内镜缝合治疗 杨云生, 令狐恩强 |
| 胃 癌 | 1275 α -连接素表达与胃癌生物学行为的关系 徐采朴, 周永宁, 陈渝 1279 老年人胃癌前黏膜癌变的胃镜随访 王孟薇, 杨少波, 张子其, 祝庆孚, 王刚石, 李晖, 姚晨, 吴本俨, 尤纬缔 1282 内皮抑素-血管内皮细胞抑制因子重组腺病毒对荷胃癌裸鼠的治疗 潘欣, 李喆, 张珉, 王泳, 潘卫, 戚中田 1286 PKC β 1 和 PKC β 2 在早期胃癌中的表达 冯瑞娥, 陈杰, 崔全才, 詹阳, 王振宇 1290 二烯丙基二硫对人胃癌 MGC803 细胞生长的影响 张良运, 凌晖, 苏琦, 宋颖, 梁晓秋 1294 胃黏膜癌变过程中 PTEN 基因编码产物的表达及意义 李异玲, 何向民, 郑华川, 吴东璘, 杨雪飞, 辛彦, 傅宝玉 1297 进展期胃癌病理和预后影响因素的关系 黄海力, 吴本俨, 尤纬缔, 申明识 1302 雌激素诱导基因 PS2/TFF1 在胃癌及癌前病变中的表达 李俊美, 罗和生, 姚宏昌 1306 GSTM1, GSTT1 基因多态与胃腺癌及幽门螺杆菌感染的关联 张友才, 邓长生, 周燕, 朱尤庆 1310 基质金属蛋白酶-7 表达与胃癌临床病理生物学行为的关系 孙晋民, 郑华川, 杨雪飞, 辛彦, 张荫昌 1314 毒物代谢酶基因多态与胃癌的关联 叶梅, 刘君炎, 邓长生 1318 胃癌中医证型相关基因的表达谱 刘莺, 李俊军, 朱文锋, 刘平 |
| 肝 癌 | 1322 MUC1 基因免疫抑制 H22 肝癌生长的实验研究 袁时芳, 王岭, 李开宗, 颜真, 韩苇, 张英起 1326 纺锤体组装关卡基因 hsMAD2 在人肝细胞肝癌中的表达及其意义 李擒龙, 王文亮, 张晓晖, 晏伟 1329 GnRH 类似物诱导肝癌细胞凋亡的体外研究 刘庆元, 窦科峰, 张金山, 孙岚, 黄鲁豫, 张远强 1333 bFGF 对人肝癌细胞系 Bel-7402 的生长调控 于卉影, 孙利平, 孙黎光, 丁晓慧 1337 经肝动脉注射 5-FU 白苕微球治疗兔 VX ₂ 移植性肝癌 李欣, 冯敦生, 郑传胜, 柳曦, 孔健 1341 KAI1 正反义基因对 MHCC97-H 肝癌细胞 KAI1 蛋白表达的影响 司遂海, 杨建民, 罗元辉, 房殿春, 周平 1345 中药复方胃肠安血清诱导肝癌 SMMC-7721 细胞分化 赵海磊, 刘成, 赵爱光 1349 肝癌患者乙型肝炎病毒 X 基因变异的研究 代志琰, 徐启桓, 李刚, 马会慧, 汤正好, 舒欣, 姚集鲁 1353 复方中药 99-克星超声介入治疗肝癌裸鼠移植瘤凋亡与增生 林晓东, 林礼务, 何以教, 高上达, 杨发端, 薛恩生 1357 羟基磷灰石纳米粒子诱导人肝癌细胞凋亡模型的构建 刘志苏, 唐胜利, 艾中立, 孙权, 钱群, 何跃明, 朱忠超 1362 β -catenin 和 Cyclin D1 在肝癌肝内转移中的作用 苏小康, 赵先明, 李锦清, 崔学教, 谢晓华, 杨海燕, 徐发彬, 石明 1365 DC 负载凋亡肝癌细胞后的免疫应答 郭建巍, 秦力维, 蔡美英, 吕同德 1369 TRAIL 诱导肝癌细胞系 SMMC-7721 的凋亡作用 李小安, 房殿春, 司佩任, 张汝刚, 杨柳芹, 秦建平 |
| 大 肠 癌 | 1372 大肠肿瘤组织线粒体形态结构定量研究 吴正蓉, 申洪 1375 IL-4 增强 IL-2 活化的 A-NK 细胞对人直肠癌 CC95 的抗肿瘤作用 王志华, 申宝忠, 史历 1378 人源性大肠癌抗原基因的 SEREX 筛选 刘宇虎, 张振书, 钟东, 武金宝, 但汉雷, 赖卓胜, 王亚东, 张亚历, 肖冰 1382 直肠癌组织 CD44v6, DNA 含量的联合检测及临床意义 丁志杰, 单吉贤, 都姝妍 1385 胃泌素拮抗剂增加 CD 自杀基因对结直肠癌细胞的杀伤作用 王小军, 马庆久, 赖大年, 黎成金, 李金茂, 武永忠, 王青 1389 aFGF 和 genistein 对大肠癌细胞株 CCL229 PKC 及 ERK 活性的影响 尚海, 张颐, 单吉贤 |
| 基础 研究 | 1392 牛磺酸对 CCl ₄ 诱导的大鼠肝纤维化的保护作用及其机制的研究 梁健, 杨光业, 张锡流, 庞玉生, 袁海峰, 梁劲松, 黄仁彬, 韦新, 韦明 1396 胰腺移植 ICAM-1 的表达及信号转导的因素 梁健, 王凤山, 刘永锋, 刘利民, 刘树荣, 崔宏, 邵春泉, 何三光 |

| | |
|------|--|
| 临床研究 | 1399 聚乙二醇 4 000 治疗老年人功能性便秘 85 例 张长青, 张国伟, 张葵玲, 付奕其 |
| 焦点论坛 | 1402 胃肠道肿瘤的影像诊断和介入治疗 程英升 1402 胃肠道肿瘤的 X 线诊断 尚克中, 程英升, 吴春根 1404 胃肠道肿瘤 CT 诊断 吴春根, 程英升, 尚克中 1406 胃肠道肿瘤 MRI 诊断 吴春根, 程英升, 尚克中 1408 胃肠道肿瘤超声诊断 胡兵, 周进祝 1410 胃肠道肿瘤核素诊断 陆汉魁 1413 胃肠道肿瘤血管和非血管双介入治疗 程英升, 尚克中 |
| 治疗指南 | 1416 肝细胞癌的诊断和治疗 陆嵘, 房静远 |
| 文献综述 | 1420 DNA 高甲基化与抑癌基因 刘仲敏, 刘芝华, 吴旻 1425 胃癌供血及其动脉介入化疗的研究进展 沈波, 朱金水 1429 腹膜粘连的分子机制及药物防治 曾健, 李晓辉 1433 肿瘤多药耐药和进展期大肠癌耐药细胞株建立研究进展 姚学清, 林锋 1436 肽转运载体的分子特征 韩飞, 施用晖, 乐国伟, 王立宽 1443 肝星状细胞与肝纤维化的研究进展 蒋业贵, 李兆申 1447 环氧化酶-2 与结直肠癌 姚红兵, 吴爱国, 朱卉娟 1451 幽门螺杆菌疫苗的研究进展 姜政, 黄爱龙, 陶小红, 王丕龙 1457 脂肪酸结合蛋白研究进展 冯爱娟, 陈东风 1460 肝移植后乙型肝炎病毒再感染相关因素的研究进展 王永刚, 王宇明 |
| 读者来信 | 1352 陈祖林 1368 汤伟 |
| 消息 | 1301 欢迎订阅 2004 年度世界华人消化杂志 1332 欢迎订阅 2004 年度 World Journal of Gastroenterology® 1424 世界华人消化杂志获得 2001 年度百种中国杰出学术期刊 1450 WJG 搭建我国消化基础 and 临床研究惟一国际交流的平台 1464 世界胃肠病学杂志英文版获得 2003-2004 年国家自然科学基金重点学术期刊专项基金资助 |
| 封面故事 | 巴松湖又名错宗湖, 在藏文里又是绿色湖水的意思, 位于西藏林芝地区工布江达县境内, 该湖湖面海拔 3464 m, 是川藏东部最大的淡水堰塞湖之一。湖水清澈见底, 四周雪山倒映其中, 湖周原始森林密布, 群山环绕, 景美如画。湖中央飘着一座秀丽的湖心小岛, 湖心岛上有一座错宗寺, 建于唐代末年。(马俐 马娜 摄影)。 |

世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

吴阶平 题写封面刊名

陈可冀 题写版权刊名

(月刊)

创刊 1993-01-15

改刊 1998-01-25

出版 2003-09-15

原刊名 新消化病学杂志

总顾问 陈可冀

黄象谦

黎介寿

刘耕陶

裘法祖

汤钊猷

王宝恩

危北海

吴孟超

吴成中

张金哲

张学庸

赵东海

周殿元

社长总编辑 马连生

中文编辑 潘伯荣

王瑾晖

英文编辑 王先林

排版 李少华

校对 李天华

编辑 世界华人消化杂志编辑委员会

030001, 山西省太原市双塔西街 77 号

E-mail: wjcd@wjgnet.com

出版 世界胃肠病学杂志社

100023, 北京市 2345 信箱

E-mail: wjcd@wjgnet.com

http://www.wjgnet.com

电话 (010)85381892

传真 (010)85381893

印刷 北京科信印刷厂

发行 国内 北京报刊发行局

国外 中国国际图书贸易总公司

(100044, 北京 399 信箱)

订购 全国各地邮电局

邮购 世界胃肠病学杂志社发行部

(100023, 北京市 2345 信箱)

电话: (010)85381892

传真: (010)85381893

2003 年版权归世界胃肠病学杂志社所有

本刊已被国内外

检索系统收录

美国《化学文摘(CA)》

荷兰《医学文摘库/医学文摘(EM)》

俄罗斯《文摘杂志(PJ)》

中国科技论文统计与分析

中国学术期刊文摘

中国中医药信息服务网

中国生物医学文献光盘数据库

《中文科技资料目录(医药卫生)》

中国生物医学期刊目次数据库

中国医学文摘外科学分册(英文版)

中国医学文摘内科学分册(英文版)

特别声明

本刊刊出的所有文章不代表世界胃肠病学杂志社和本刊编委会的观点, 除非特别声明。本刊如有印装质量问题, 请向本刊编辑部调换。

ISSN 1009-3079

CN 14-1260/R

邮发代号

82-262

国外代号

M 4481

国内定价

每期 24.00 元 全年 288.00 元

广告经营许可证

1401004000050

www.wjgnet.com

KAI1 正反义基因对 MHCC97-H 肝癌细胞 KAI1 蛋白表达的影响

司遂海, 杨建民, 罗元辉, 房殿春, 周平

司遂海, 杨建民, 罗元辉, 房殿春, 周平, 中国人民解放军第三军医大学西南医院全军消化内科中心 重庆市 400038
司遂海, 男, 1966-10-26 生, 河南新郑人, 汉族, 1989 年第三军医大学本科学历, 2000 年第三军医大学消化系病学硕士研究生.
国家自然科学基金资助项目, No. 30070348
项目负责人: 杨建民, 400038, 重庆市, 中国人民解放军第三军医大学西南医院全军消化内科中心. jianminyang@hotmail.com
电话: 023-68754678 传真: 023-68754124
收稿日期: 2002-07-31 接受日期: 2002-08-16

Effects of KAI1 gene on KAI1 protein expression in MHCC97-H hepatocellular carcinoma cells with high metastatic potential

Sui-Hai Si, Jian-Min Yang, Yuan-Hui Luo, Dian-Chun Fang, Ping Zhou

Sui-Hai Si, Jian-Min Yang, Yuan-Hui Luo, Dian-Chun Fang, Ping Zhou, Gastroenterology Research Center, Southwest Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400038, China
Supported by the National Natural Science Foundation of China, No. 30070348
Correspondence to: Jian-Min Yang, Gastroenterology Research Center, Southwest Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400038, China. jianminyang@hotmail.com
Received: 2002-07-31 Accepted: 2002-08-16

Abstract

AIM: To construct sense and antisense KAI1 expression plasmids and to explore their effects on KAI1 protein expression in MHCC97-H hepatocellular carcinoma cells with high metastatic potential.

METHODS: Sense and antisense KAI1 expression plasmids were constructed using subclone technique and transfected into MHCC97-H cells by DOTAP liposome system. KAI1 protein expression in transfected MHCC97-H cells was analyzed with immunocytochemical SP method.

RESULTS: Analysis of restriction endonuclease indicated the structure of two recombinants was consistent with the expected results of sense and antisense KAI1 expression plasmids. Compared with MHCC97-H cells, KAI1 protein staining in the MHCC97-H-S cells transfected with sense KAI1 expression plasmid was obviously enhanced (Integra Oculus Dehter, IOD 20.127 ± 5.099 vs 12.675 ± 1.921 , $P < 0.05$). However, KAI1 expression in the MHCC97-H-AS cells transfected with KAI1 antisense gene was obviously weakened (IOD 8.681 ± 2.472 vs 12.675 ± 1.921 , $P < 0.05$).

CONCLUSION: We successfully constructed sense and antisense KAI1 expression plasmids. Sense KAI1 gene can upregulate the expression of KAI1 protein in MHCC97-H

cells. On the other hand, antisense KAI1 gene can downregulate the expression of KAI1 protein in MHCC97-H cells.

Si SH, Yang JM, Luo YH, Fang DC, Zhou P. Effects of KAI1 gene on KAI1 protein expression in MHCC97-H hepatocellular carcinoma cells with high metastatic potential. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2003;11(9):1341-1344

摘要

目的: 构建 KAI1 基因正、反义真核表达质粒, 了解其对高转移潜能的 MHCC97-H 肝癌细胞 KAI1 蛋白表达的影响。

方法: 利用亚克隆技术构建 KAI1 基因正、反义真核表达质粒, 并用脂质体法将其分别转入高转移潜能的 MHCC97-H 肝癌细胞系, 通过免疫细胞化学 SP 法检测 KAI1 蛋白表达情况。

结果: 限制性内切酶分析证明两个重组子的结构均与 KAI1 正、反义基因表达质粒的预期结构一致。免疫细胞化学 SP 法检测显示, 转入正义 KAI1 基因后的肝癌细胞 KAI1 蛋白染色加深, (细胞积分光密度 integra oculus dehter, IOD 20.127 ± 5.099 vs 12.675 ± 1.921 , $P < 0.01$); 而转入反义 KAI1 基因的肝癌细胞则 KAI1 蛋白染色变浅, (IOD 8.681 ± 2.472 vs 12.675 ± 1.921 , $P < 0.01$)。

结论: 成功构建了 KAI1 基因正、反义真核表达质粒。KAI1 正义基因能上调肝癌细胞 KAI1 蛋白的表达, 相反, KAI1 反义基因则能下调肝癌细胞 KAI1 蛋白的表达。

司遂海, 杨建民, 罗元辉, 房殿春, 周平. KAI1 正反义基因对 MHCC97-H 肝癌细胞 KAI1 蛋白表达的影响. *世界华人消化杂志* 2003;11(9):1341-1344
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/11/1341.asp>

0 引言

肝癌是消化系统常见的恶性肿瘤之一^[1-7], 在诊断时多已发生肝内或远处转移, 部分患者虽可进行手术切除, 但术后复发率高^[8-16]. 因此, 转移与复发是影响肝癌预后的最主要因素^[17]. KAI1 基因是近年来发现的一种新的肿瘤转移抑制基因, 国外已在前列腺癌等肿瘤的研究中得到证实^[18], 但 KAI1 基因在肝癌转移中的作用尚不清楚. 我们利用亚克隆技术构建了正、反义 KAI1 基因真核表达质粒, 并将其分别转染入具有高转移潜能的肝癌细胞系 MHCC97-H, 以免疫细胞化学 SP 法观察其对肝癌细胞 KAI1 蛋白表达的影响。

1 材料和方法

1.1 材料 pCMV-KAI1 表达质粒由美国国立卫生研究院 (NIH) Barrett 教授和 Dong 博士惠赠, 其中 1.6 kb 的 KAI1 cDNA 经 XhoI 位点插入 pCMV-neo, 构成重组质粒 pCMV-KAI1; 真核表达质粒载体 pCI-neo 为 Promega 公司产品, 大肠杆菌株 DH5 α 由本室周平博士惠赠; 各种限制性内切酶、小牛肠碱性磷酸酶、T4 DNA 连接酶均为 New England Biolabs 公司产品; 凝胶提取试剂盒、快速质粒提取盒为 Promega 公司产品; 转染用脂质体 DOTAP 为 Roche 公司产品; 筛选用 G418 抗生素为 Pierce 公司产品. 培养细胞用高糖 DMEM 培养基和胎牛血清为 Hyclone 公司产品; 免疫细胞化学 SP 试剂盒及 DAB 染色试剂盒为北京中山生物技术有限公司产品. KAI1 兔抗人单克隆抗体为 Santa Cruz 公司产品; MHCC97-H 是一种高转移潜能的肝细胞癌细胞系^[19], 购自上海复旦大学医学院中山医院肝癌研究所. 转染前后均以高糖 DMEM 培养基(加 100 ml/L 胎牛血清、青霉素 100 kU/L、链霉素 100 kU/L)在 37 °C, 50 ml/L CO₂, 饱和湿度条件下培养.

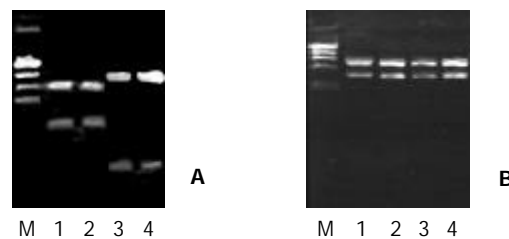
1.2 方法 KAI1 基因正、反义真核表达质粒的亚克隆重组及鉴定. 经分析物理图谱以 XbaI 将 pCMV-KAI1 表达质粒(全长 8.2 kb)及真核表达载体质粒 pCI-neo(全长 5.47 kb)酶切, 电泳证实酶切完全后, 用凝胶提取试剂盒提取来自 pCMV-KAI1 表达质粒、含 KAI1 cDNA 的 3 kb 目的片段和线性化的 pCI-neo. 为防止线性化载体的粘性末端发生自身环化或串联, 以小牛肠碱性磷酸酶(CIP)将线性化的真核表达载体质粒 pCI-neo 5' 端去磷酸化, 然后用 T4 DNA 连接酶将目的片段与线性化质粒载体连接. 连接产物转化 DH5 α 制备的感受态细菌, 铺板经氨苄青霉素筛选菌落, 扩增后以快速质粒提取盒提取质粒, 进而酶切鉴定. 基因转染及细胞的筛选. MHCC97-H 细胞在 6 孔培养板中, 用含 100 mL/L 胎牛血清的高糖 DMEM, 在 37 °C, 50 mL/L CO₂ 条件下培养至细胞 60-80 % 汇合. 采用 DOTAP 脂质体介导基因转染的方法(按产品说明书操作). 准备溶液 A: 于 100 μ L 无血清 DMEM 细胞培养液中加入 6 μ g 质粒. 准备溶液 B: 于 85 μ L 无血清高糖 DMEM 细胞培养液中加入 15 μ L 脂质体, 轻轻混匀 A、B 液, 室温放置 15 min, 补足 1 mL 无血清高糖 DMEM, 加在用无血清高糖 DMEM 培养液洗过两次的细胞单层上, 37 °C, 50 mL/L CO₂ 培养 8 h. 换用含 100 mL/L 胎牛血清的高糖 DMEM 培养基, 37 °C, 50 mL/L CO₂ 培养 48 h, 按 1:4 传代, 加含 1 000 mg/L G418 的培养基进行筛选, 直到筛选出阳性克隆. 混合所有阳性克隆, 再扩增培养, G418 以 250-300 mg/L 维持. 设立空载体 pCI-neo 转染作为对照. 免疫细胞化学分析. 采用免疫细胞化学 SP 法, 操作过程依说明书进行. 阴性对照以 PBS 代替一抗, 苏木素染色前以 TIGER-920 图像仪(V3.3)进行图像分析.

统计学处理 采用 SPSS(V10.0)统计程序包进行分

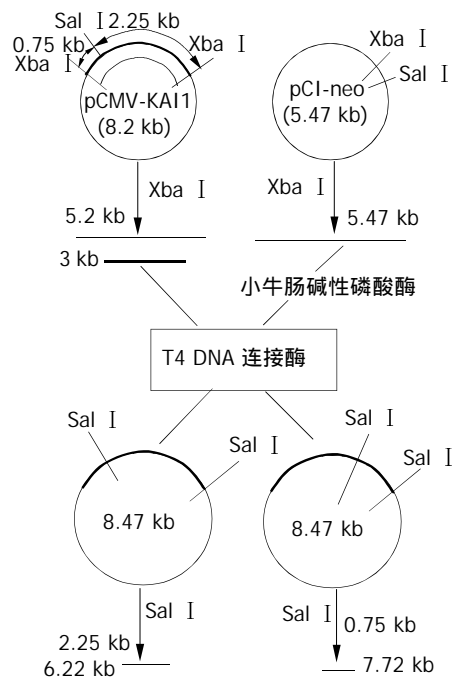
析, $P < 0.05$ 为差异显著, $P < 0.01$ 为差异非常显著, $P > 0.05$ 为差异不显著.

2 结果

2.1 KAI1 正反义真核表达重组质粒构建及鉴定 因 pCMV-KAI1 质粒与真核表达载体质粒 pCI-neo 均系采用 XbaI 酶切, 因此, 重组后目的片段就有正、反两个方向插入的可能. 为证实并区分重组的正、反义真核表达质粒, 选取目的片段中一个偏离中心位置的 SalI 酶切位点及 pCI-neo 本身的一个 SalI 位点, 用 SalI 酶切重组子, 分别得到预测的正义重组质粒的 2.25 kb, 6.22 kb 两个片段及反义重组质粒的 0.75 kb, 7.72 kb 两个片段(图 1A). 为进一步证实目的片段已插入载体, 再用 XbaI 酶切所获得的两个重组子, 均又重新获得 3 kb 及 5.4 kb 片段(图 1B), 证明已获得 KAI1 正、反义真核表达质粒两个重组子, 分别命名为 pCI-KAI1 及 pCI-anti-KAI1. KAI1 基因正反义真核表达质粒构建流程如图 2 所示.



M: λ DNA/Hind III Marker (23.13 kb, 9.42 kb, 6.56 kb, 4.36 kb, 2.32 kb, 2.02 kb) 1, 2: pCI-KAI1 3, 4: pCI-anti-KAI1.
图 1 正反义重组质粒的 SalI 和 XbaI 酶切图.



KAI1 基因正义真核表达质粒 KAI1 基因反义真核表达质粒

图 2 KAI1 基因正反义真核表达质粒的构建流程图.

2.2 免疫细胞化学分析 转染 pCI-KAI1 的肝癌细胞命名为 MHCC97-H-S, 转染 pCI-anti-KAI1 的肝癌细胞命

名为 MHCC97-H-AS. 免疫细胞化学 SP 法检测显示 MHCC97-H-S 细胞 KAI1 蛋白染色较 MHCC97-H 细胞深, IOD 为 20.127 ± 5.099 , MHCC97-H 细胞为 12.675 ± 1.921 (均为苏木素染色前测定), 二者有明显区别($P < 0.05$); 而 MHCC97-H-AS 细胞 KAI1 蛋白染色较 MHCC97-H 细胞浅, IOD 为 8.681 ± 2.472 , 与 MHCC97-H 细胞有明显区别($P < 0.05$). 苏木素染色后的图像见(图3 A-C). 转染空载体 pCI-neo 后细胞 KAI1 蛋白染色情况与 MHCC97-H 细胞则无明显差别.

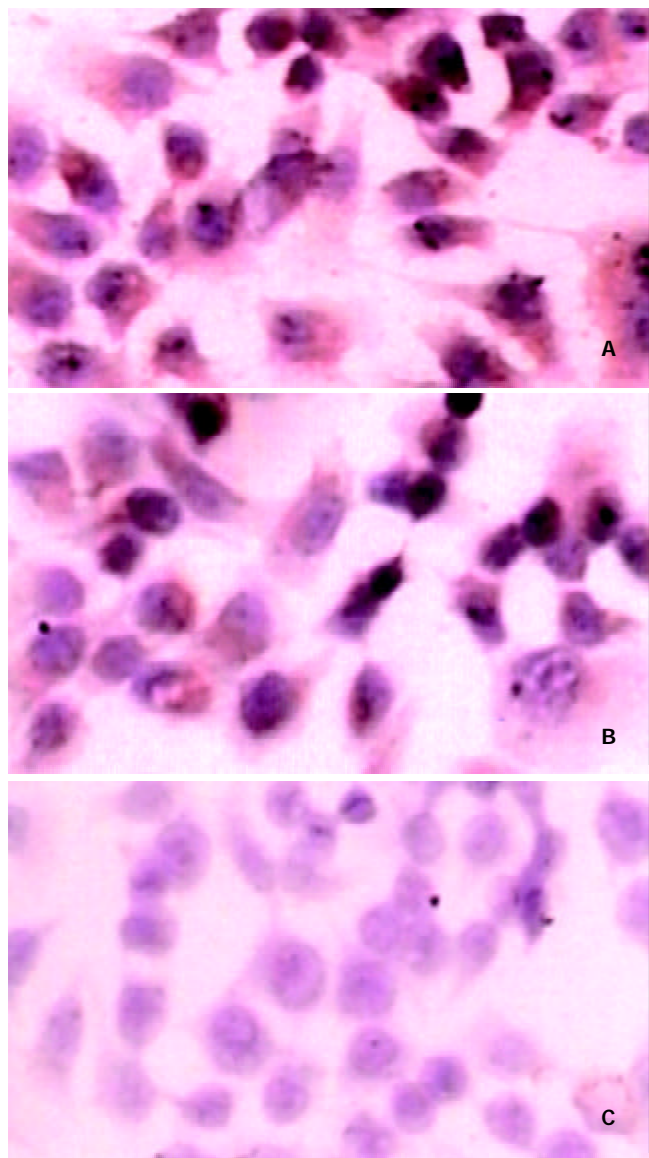


图3 免疫组化 SP 染色结果(SP × 400).
A MHCC97-H-S 细胞.
B MHCC97-H 细胞.
C MHCC97-H-AS 细胞.

3 讨论

流行病学的研究资料表明, 近年来我国肝细胞癌的发病率有明显增加趋势. 但有关肝细胞癌的发病机制, 目前仍不完全清楚. 分子生物学方面的研究显示癌基因异常表达与抑癌基因异常失活是癌细胞无限增生的重要原因^[20-24]. 肿瘤不仅在原发灶通过肿瘤血管从宿主获得

营养, 而且向宿主输出大量恶性细胞, 导致肿瘤不断生长和转移^[25-28]. 因此, 肿瘤的转移和复发机制及其防治研究已成为当今肿瘤研究的重点方向之一.

KAI1 基因是 Dong et al^[18] 于 1995 年首先在前列腺癌细胞中克隆出的一种肿瘤转移抑制基因. 该基因位于人类染色体 11p11.2, 编码产物为含 267 个氨基酸的细胞膜糖蛋白, M_r 29 600 道尔顿. 进一步的研究显示, KAI1 不仅在前列腺癌细胞表达下调, 而且在食管癌^[29]、胃癌^[30]、肝癌^[31]、胰腺癌^[32,33]、结直肠癌^[34]等多种消化系统转移性肿瘤中表达下调. 其分子结构中有 4 个疏水区 and 1 个含有 3 个潜在 N-糖基化位点的细胞外亲水区, 因而属跨膜 4 超家族(transmembrane 4 superfamily, TM4SF)成员. 因它们均系细胞膜糖蛋白, 作用于细胞-细胞或细胞-细胞间基质之间, 故推测其可能介导细胞间及细胞与间质之间的黏附, 因而其表达的下调可能参与肿瘤细胞的转移. 目前, 有关 KAI1 基因与肝细胞癌关系的研究文献报道很少. Sun et al 用 RT-PCR 法研究了 42 例肝癌标本, 发现 57.1 % 的肿瘤组织中 KAI1 表达呈阳性. 其表达率与肝癌大小、有无包膜及 AFP 是否阳性无关, 但有肝内转移者比无肝内转移者表达率明显下降^[31]. Guo et al 用 Northern blot 及原位杂交技术研究也有类似的发现^[34]. 这些研究结果提示 KAI1 基因可能在肝癌细胞侵袭及转移中起着重要作用.

虽然有关 KAI1 基因与人类肿瘤转移抑制关系的研究已有不少报道, 但大多是从临床病理学的角度进行, 目前 KAI1 基因在肝癌转移中作用及其机制仍不清楚. 在本实验中, 通过亚克隆重组技术, 并经酶切证实, 成功构建了 KAI1 基因的正、反义真核表达质粒, 并应用脂质体 DOTAP 转染技术将其分别转入具有高转移潜能的肝癌细胞系 MHCC97-H 中. 结果显示转入正义 KAI1 基因后肝癌细胞中 KAI1 蛋白表达上调, 相反, 转入 KAI1 反义基因后则 KAI1 蛋白表达下调. 说明 KAI1 正、反义基因转染可影响肝癌细胞 KAI1 蛋白的表达. 这种基因转染对高转移潜能 MHCC91-H 肝癌细胞系的生长、侵袭、转移的影响及其机制的研究, 我们正在进行之中.

4 参考文献

- 1 Lee JH, Ku JL, Park YJ, Lee KU, Kim WH, Park JG. Establishment and characterization of four human hepatocellular carcinoma cell lines containing hepatitis B virus DNA. *World J Gastroenterol* 1999;5:289-295
- 2 Zhang J, Liu YF, Yang SJ, Sun ZW, Qiao Q, Zhang SZ. Construction and expression of mouse/humanized scFv and their fusion to humanized mutant TNF α against hepatocellular carcinoma. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2000;8:616-620
- 3 Wang JP, Duan GR, Zhao YL, Du DW. Effect of p16 gene expression in growth of human hepatic carcinoma cell line 7721 with confocal microscopic analysis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2000;8:767-770
- 4 Shao XD, Wu KC, Guo XZ, Xu JH, Guo CC, Meng FP, Fan DM. Studies on expression of KAI1 gene in tissue of liver cirrhosis and hepatocellular carcinoma. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2001;9:1238-1241
- 5 Liang Y, Lu B, Cui ZF, Li XD, Guo YJ, Liu YJ. The expression

- of Fas/FasL in hepatocellular carcinomas. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2001;9:1364-1368
- 6 Cheng H, Liu YF, Zhang HZ, Shen WA, Zhang SZ. Construction and expression of anti-HCC immunotoxin of sFv-TNF- α and GFP fusion proteins. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2001;9:640-644
- 7 Jiang YG, Wang YM, Li QF. Expression significance of HLA-DR antigen and heat shock protein 70 in hepatocellular carcinoma. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2001;9:1139-1142
- 8 Tang ZY, Sun FX, Tian J, Ye SL, Liu YK, Liu KD, Xue Q, Chen J, Xia JL, Qin LX, Sun HC, Wang L, Zhou J, Li Y, Ma ZC, Zhou XD, Wu ZQ, Lin ZY, Yang BH. Metastatic human hepatocellular carcinoma models in nude mice and cell line with metastatic potential. *World J Gastroenterol* 2001;7:597-601
- 9 Ikeda M, Okada S, Ueno H, Okusaka T, Kuriyama H. Spontaneous regression of hepatocellular carcinoma with multiple lung metastases: a case report. *Jpn J Clin Oncol* 2001;31:454-458
- 10 Wang ZX, Hu GF, Wang HY, Wu MC. Expression of liver cancer associated gene HCCA3. *World J Gastroenterol* 2001;7:821-825
- 11 Tang ZY. Hepatocellular carcinoma-Cause, treatment and metastasis. *World J Gastroenterol* 2001;7:445-454
- 12 Cui J, Zhou XD, Liu YK, Tang ZY, Zile MH. Abnormal β -catenin gene expression with invasiveness of primary hepatocellular carcinoma in China. *World J Gastroenterol* 2001;7:542-546
- 13 Huang XF, Wang CM, Dai XW, Li ZJ, Pan BR, Yu LB, Qian B, Fang L. Expressions of chromogranin A and cathepsin D in human primary hepatocellular carcinoma. *World J Gastroenterol* 2000;6:693-698
- 14 Parks RW, Garden OJ. Liver resection for cancer. *World J Gastroenterol* 2001;7:766-771
- 15 Xu HY, Yang YL, Guan XL, Song G, Jiang AM, Shi LJ. Expression of regulating apoptosis gene and apoptosis index in primary liver cancer. *World J Gastroenterol* 2000;6:721-724
- 16 Lin NF, Tang J, Mohamed Ismael HS. Study on environmental etiology of high incidence areas of liver cancer in China. *World J Gastroenterol* 2000;6:572-576
- 17 陈孝平, 吴在德, 裘法祖. 加强基础研究, 提高原发性肝癌的外科治疗效果. *中华实验外科杂志* 2000;5:393-394
- 18 Dong JT, Lamb PW, Rinker-Schaeffer CW, Vukanovic J, Ichikawa T, Isaacs JT, Barrett JC. KAI1, a metastasis suppressor gene for prostate cancer on human chromosome 11p11.2. *Science* 1995;268:884-886
- 19 Li Y, Tang ZY, Ye SL, Liu YK, Chen J, Xue Q, Gao DM, Bao WH. Establishment of cell clones with different metastatic potential from the metastatic hepatocellular carcinoma cell line MHCC97. *World J Gastroenterol* 2001;7:630-636
- 20 Yang JM, Wang RQ, Bu BG, Zhou ZC, Fang DC, Luo YH. Effect of hepatitis C virus infection on expression of several cancer-associated gene products in hepatocellular carcinoma. *World J Gastroenterol* 1999;5:25-27
- 21 Qin LL, Su JJ, Li Y, Yang C, Ban KC, Yian RQ. Expression of IGF-II, p53, P21 and HBxAg in precancerous events of hepatocarcinogenesis induced by AFB1 and/or HBV in tree shrews. *World J Gastroenterol* 2000;6:138-139
- 22 Lin GY, Chen ZL, Lu CM, Li Y, Ping XJ, Huang R. Immunohistochemical study on p53, H-rasp21, c-erbB-2 protein and PCNA expression in HCC tissues of Han and minority ethnic patients. *World J Gastroenterol* 2000;6:234-238
- 23 Sun BH, Zhang J, Wang BJ, Zhao XP, Wang YK, Yu ZQ, Yang DL, Hao LJ. Analysis of in vivo patterns of caspase 3 gene expression in primary hepatocellular carcinoma and its relationship to P21^{WAF1} expression and hepatic apoptosis. *World J Gastroenterol* 2000;6:356-360
- 24 Roberts LR, LaRusso NF. Potential roles of tumor suppressor genes and microsatellite instability in hepatocellular carcinogenesis in southern African blacks. *World J Gastroenterol* 2000;6:37-41
- 25 Guo XZ, Friess H, Shao XD, Liu MP, Xia YT, Xu JH, Buchler MW. KAI1 gene is differently expressed in papillary and pancreatic cancer: influence on metastasis. *World J Gastroenterol* 2000;6:866-871
- 26 Jiang BJ, Sun RX, Lin H, Gao YF. Study on the risk factors of lymphatic metastasis and the indications of less invasive operations in early gastric cancer. *World J Gastroenterol* 2000;6:553-556
- 27 Furger KA, Menon RK, Tuckl AB, Bramwelll VH, Chambers AF. The functional and clinical roles of osteopontin in cancer and metastasis. *Curr Mol Med* 2001;1:621-632
- 28 Jaffe AB, Hall A. Rho GTPases in transformation and metastasis. *Adv Cancer Res* 2002;84:57-80
- 29 Uchida S, Shimada Y, Watanabe G, Li ZG, Hong T, Miyake M, Imamura M. Motility-related protein (MRP-1/CD9) and KAI1/CD82 expression inversely correlate with lymph node metastasis in oesophageal squamous cell carcinoma. *Br J Cancer* 1999;79:1168-1173
- 30 Hinoda Y, Adachi Y, Takaoka A, Mitsuuchi H, Satoh Y, Itoh F, Kondoh Y, Imai K. Decreased expression of the metastasis suppressor gene KAI1 in gastric cancer. *Cancer Lett* 1998;129:229-234
- 31 Sun HC, Tang ZY, Zhou G, Li XM. KAI1 gene expression in hepatocellular carcinoma and its relationship with intrahepatic metastases. *J Exp Clin Cancer Res* 1998;17:307-311
- 32 Friess H, Guo XZ, Tempia-Caliera AA, Fukuda A, Martignoni ME, Zimmermann A, Korc M, Buchler MW. Differential expression of metastasis-associated genes in papilla of Vater and pancreatic cancer correlates with disease stage. *J Clin Oncol* 2001;19:2422-2432
- 33 Lombardi DP, Geradts J, Foley JF, Chiao C, Lamb PW, Barrett JC. Loss of KAI1 expression in the progression of colorectal cancer. *Cancer Res* 1999;59:5724-5731
- 34 Guo XZ, Friess H, Di Mola FF, Heinicke JM, Abou-Shady M, Graber HU, Baer HU, Zimmermann A, Korc M, Buchler MW. KAI1, a new metastasis suppressor gene, is reduced in metastatic hepatocellular carcinoma. *Hepatology* 1998;28:1481-1488



Published by **Baishideng Publishing Group Inc**
7901 Stoneridge Drive, Suite 501, Pleasanton,
CA 94588, USA
Fax: +1-925-223-8242
Telephone: +1-925-223-8243
E-mail: bpgoffice@wjgnet.com
<http://www.wjgnet.com>



ISSN 1009-3079

