

KAI1 基因对 MHCC97-H 细胞裸鼠成瘤及转移的影响

彭志红, 杨建民, 唐波, 司遂海, 房殿春, 罗元辉

彭志红, 杨建民, 司遂海, 房殿春, 罗元辉, 中国人民解放军第三军医大学西南医院全军消化专科中心 重庆市 400038
唐波, 中国人民解放军第三军医大学西南医院普外科 重庆市 400038
彭志红, 女, 1975-08-11 生, 四川郫县人, 汉族, 1999 年中国医科大学学士, 2001 年第三军医大学消化病学硕士生。
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专科中心。jianminyang@hotmail.com
电话: 023-68754678
收稿日期: 2003-12-29 接受日期: 2004-01-08

Effects of metastasis-suppressor gene KAI1 on tumorigenicity and metastasis of hepatocellular carcinoma MHCC97-H cells with high metastatic potential in nude mice

Zhi-Hong Peng, Jian-Min Yang, Bo Tang, Sui-Hai Si, Dian-Chun Fang, Yuan-Hui Luo

Zhi-Hong Peng, Jian-Min Yang, Sui-Hai Si, Dian-Chun Fang, Yuan-Hui Luo, Gastroenterology Research Center, Southwest Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400038, China
Bo Tang, Department of General Surgery, 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: 2003-12-29 Accepted: 2004-01-08

Abstract

AIM: To explore the effects of metastasis-suppressor gene KAI1 on tumorigenicity and metastasis of hepatocellular carcinoma cells MHCC97-H with high metastatic potential in nude mice.

METHODS: The MHCC97-H hepatocellular carcinoma cells with high metastatic potential transfected with sense or antisense KAI1 expression plasmid in our previous experiments were inoculated subcutaneously into nude mice. The growth of subcutaneous tumor was observed, then the subcutaneous tumor tissues were harvested and implanted orthotopically into nude mice liver. The tumor metastasis in lung was carefully examined under microscope. MHCC97-H and the cells transfected with vector pCI-neo, but without KAI1 gene were used as control.

RESULTS: The different cells inoculated subcutaneously all had tumorigenicity. There were no significant differences in the speed of tumor growth among different groups, but the antisense group showed stronger invasion ability than others. The spontaneous metastasis to lung occurred in latency period of six weeks via orthotopic implantation of tumor tissue. Immunostaining showed strongly positive for

AFP in lung metastatic lesions, which indicated those were lung metastatic lesions from hepatocellular carcinoma. The number of lung metastatic lesions increased dramatically in antisense group ($P=0.00158$), decreased significantly in sense group ($P=0.00465$) and no significant difference in vector pCI-neo group ($P=0.15166$), as compared with their paternal MHCC97-H group.

CONCLUSION: The metastasis-suppressor gene KAI1 has no significant effects on tumorigenicity and growth of MHCC97-H hepatocellular carcinoma cells, but enhanced KAI1 expression can decrease the invasion ability and inhibit the metastasis, which offers an important clue to investigate the anti-metastasis treatment for hepatocellular carcinoma.

Peng ZH, Yang JM, Tang B, Si SH, Fang DC, Luo YH. Effects of metastasis-suppressor gene KAI1 on tumorigenicity and metastasis of hepatocellular carcinoma MHCC97-H cells with high metastatic potential in nude mice. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2004;12(4):778-781

摘要

目的: 研究肿瘤转移抑制基因 KAI1 对 MHCC97-H 细胞裸鼠成瘤及转移的影响。

方法: 将已转染 KAI1 正、反义核苷酸的高转移潜能肝癌细胞 MHCC97-H 接种裸鼠皮下, 观察皮下肿瘤生长情况, 再将皮下肿瘤组织进行裸鼠原位肝接种, 观察接种后肿瘤肺转移情况。其中, 转染空载体及未转染的 MHCC97-H 亲本细胞作为实验对照组。

结果: 正义组、反义组、空载体组及亲本细胞组裸鼠皮下均成瘤, 肿瘤出现的时间、肿瘤块生长的速度无明显差异, 生长方式上反义组表现出明显的侵袭性。原位肝接种 6 wk 后裸鼠肺部均出现癌巢, AFP 染色可见癌巢中肿瘤细胞质有黄色颗粒沉着, 证实为肝癌转移至肺形成的转移灶。与 MHCC97-H 亲本细胞组比较, 反义组转移灶数目明显增加 ($P=0.00158$), 正义组转移灶数目明显减少 ($P=0.00465$), 差异均有显著性, 而载体组转移灶数目无明显变化 ($P=0.15166$)。

结论: 肿瘤转移抑制基因 KAI1 对 MHCC97-H 细胞裸鼠成瘤性及肿瘤生长无明显影响, 但上调 KAI1 蛋白的表达水平能在一定程度上降低肿瘤的侵袭性、抑制转移的发生。这为肝癌的抗转移治疗研究提供了重要线索。

彭志红, 杨建民, 唐波, 司遂海, 房殿春, 罗元辉. KAI1 基因对 MHCC97-H 细胞裸鼠成瘤及转移的影响. *世界华人消化杂志* 2004;12(4):778-781
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/12/778.asp>

0 引言

原发性肝癌是消化系统最常见的恶性肿瘤之一^[1-9]。肝癌发病隐匿, 发展迅速^[10-12], 大多数患者在确诊时已有转移^[13-16], 不宜或无法切除^[17-19], 死亡率位列我国恶性肿瘤病死率的第二位^[20], 而术后大部分患者死于复发。转移和复发是影响肝癌预后的主要因素。因此, 阐明肝癌转移、复发的发生机制, 寻求有效的抗转移治疗措施, 对改善肝癌患者预后具有重要意义。KAI1 基因是在前列腺癌细胞中发现的一种肿瘤转移抑制基因, 属跨膜 4 超家族(transmembrane 4 superfamily, TM4SF)成员。已有研究表明其在多种恶性肿瘤如卵巢癌^[21]、宫颈癌^[22]、子宫内膜癌^[23]等中表达减少, 但对肝癌的影响国内外研究较少, 而且多均从组织病理学角度进行, 在裸鼠体内进行实验, 模拟肝癌体内发生、发展、转移的研究未见报道。我们即从该角度入手, 建立裸鼠肝癌成瘤及转移模型, 探讨 KAI1 基因对肝癌侵袭、转移的影响, 为肝癌的抗转移治疗提供线索。

1 材料和方法

1.1 材料 MHCC97-H 肝癌细胞系为上海复旦大学医学院附属中山医院肝癌研究所建立的高转移潜能细胞, 属贴壁生长型^[24]。我们前已利用亚克隆技术构建了人类 KAI1 全长正、反义结构基因哺乳动物真核表达质粒, 通过 DOTAP 脂质体介导的转染系统分别将其转入该肝癌细胞中, 并进行了基因整合和表达的鉴定, 说明基因转染成功, 可获得预期 KAI1 蛋白表达^[25]。转染有 KAI1 正义基因的肝癌细胞重新命名为 MHCC97-H-S, 转染 KAI1 反义基因的肝癌细胞命名为 MHCC97-H-AS, 转染有 pCI-neo 空载体的肝癌细胞命名为 MHCC97-H-pCI。细胞培养条件: 高糖 DMEM(Hyclone 公司)加 100 mL/L 优等胎牛血清(Hyclone 公司)和两种抗生素(青霉素 100 mg/L, 链霉素 100 mg/L), 37 °C、50 mL/L CO₂、饱和湿度培养。实验用 BALB/c 裸鼠购自华中科技大学同济医学院动物学部(生产合格证号: 医动字第 19-52 号)。共 80 只, 先后分为两批, 每批 40 只, 均为 ♂, 4-6 周龄, 质量 17-20 g。每批随机分为 4 组, 每组 10 只, 分别为正义组、反义组、MHCC97-H 亲本细胞组、空载体组。饲养在重庆医科大学动物中心, 恒温(25-27 °C)、恒湿(45-50%)、新鲜空气高度除尘除菌、无特殊病原体(SPF)环境下饲养。动物置于有机玻璃饲养盒内, 安放于层流式超净架内, 每只饲养盒内饲养 5 只动物, 灭菌处理的水和饲料供动物自由摄入。实验过程为无菌操作。

1.2 方法 将处于对数生长期癌细胞培养液丢弃, 用无菌中性 PBS 洗涤细胞 1 次, 胰酶消化, 从培养瓶洗脱下, 吹打成单细胞悬液。离心后重悬, 密度约为 5×10^{10} /L, 在 1 h 内将 0.2 mL 单细胞悬液接种于裸鼠右侧背部皮下。接种后密切观察接种部位肿瘤的生长情况。在皮下肿瘤长至直径 1 cm 左右时用脱颈法处死裸鼠, 取肿瘤组织, 仔细去除表面的纤维包膜、血管, 用 PBS 缓冲液漂

洗后放入盛 DMEM 培养液的培养皿中, 切成约 1 mm³ 小块瘤组织待用。每组处死 1 只, 其余继续饲养观察。用 30 g/L 硫酸戊巴比妥钠腹腔注射法麻醉裸鼠, 剂量 40-50 mg/kg。动物取仰卧位, 皮肤用 5 g/L 碘伏消毒 2 次, 铺无菌孔巾。取左肋缘下切口, 长约 1-2 cm, 分层切开腹壁, 进入腹腔, 暴露肝脏左叶。轻轻将肝左叶拖出腹腔置于湿纱布上, 在其表面做 0.3 cm 斜切口, 压迫止血, 将瘤组织块植入肝内, 每组每只约 3 块瘤组织, 压迫切口, 待切口表面血凝将肝脏轻轻地送回腹腔, 6-0 的无损伤缝线逐层缝合腹膜、腹壁肌肉及皮肤, 无菌饲养(Cancer Res 1993;53:1204)。每周观察动物 1 次, 用精密卡尺测量肿瘤最大直径和垂直短径。参照文献(中华医学杂志 2000;80:831), 测量肿瘤长短径, 肿瘤体积为长径 \times 短径² \times 0.5, 绘制各组肿瘤生长的体积曲线。接种 8 wk 后处死裸鼠, 肿瘤组织行 HE 染色。原位肝接种肿瘤接种 6 wk 后处死裸鼠, 观察肝脏肿瘤组织侵犯周围脏器、组织情况, 测量肿瘤大小, 取肝脏肿瘤组织甲醛固定, 石蜡包埋, HE 染色。切除所有肺组织, 40 g/L 甲醛溶液固定, 石蜡包埋。双肺蜡块取 5 个冠状切面, 每个切面连续切 5 张, 每张厚 4-5 μ m, 每个切面之间相距 0.8 mm (以最大冠状切面为中心), 切片做 HE 染色, 在镜下进行肺转移结节计数(同一个结节出现于不同切面上按一个结节计), 比较各组肺转移结节数目的差异。取肺组织石蜡切片用 SP 法行 AFP 免疫组化染色, 对转移灶行定性观察。兔抗人 AFP 多克隆抗体及 SP 免疫组化试剂盒均为北京中山公司产品。具体步骤按照试剂盒说明进行。

统计学处理 所有实验数据均经 t 检验。

2 结果

2.1 皮下接种后肿瘤 裸鼠共 40 只, 在实验过程中无意外死亡, 均存活。在皮下注射肿瘤细胞悬液后各组均在 2 wk 左右出现肿瘤组织块, 随后肿瘤组织块增长迅速, 并逐渐可见肿瘤表面红色粗大的肿瘤血管。接种 8 wk 后处死裸鼠, 分离切除皮下肿瘤块, 并测量其大小。在分离过程中可见肿瘤组织呈鱼肉状, 质脆, 易出血, 中间可见坏死, 肿瘤与深部组织呈浸润性生长(表 1, 图 1)。

表 1 正、反义 KAI1 基因转染的肝癌细胞皮下和原位肝接种的侵犯部位

肿瘤 分组	皮下种植肿瘤(n=10)		肝种植肿瘤(n=10)		
	股骨	脊柱	腹膜	膈肌	肠系膜
反义组	4	5	6	4	2
正义组	0	1	1	0	0
97 组	2	3	3	2	1
载体组	3	2	4	1	1

2.2 原位肝接种后肿瘤 裸鼠共 40 只, 在实验过程中也

无意外死亡,均存活.接种6 wk后裸鼠衰竭,处死裸鼠,打开腹腔,可见肝脏部位白色肿瘤组织块,表面凹凸不平结节状,有丰富的肿瘤血管.肿瘤侵犯大部分肝脏,只存留少量肝组织,有的可见肿瘤组织与腹膜、腹壁、肠系膜等组织粘连,有一只可见膈肌上白色癌灶.分离肿瘤组织时见肿瘤组织呈鱼肉状,质脆,易出血,中间可见坏死.各组肿瘤组织侵犯周围脏器、组织(表1,图2).巨检见双肺呈暗红色,未见明显转移结节.镜检见转移灶分布于周边肺,以间质内微转移瘤和血管内瘤栓为主,灶内癌细胞体积明显增大,核大浆少,多见病理性核分裂像.如上方方法记数转移情况,可见反义组转移灶数目为 27.7 ± 3.8 个/只,正义组转移灶数目为 16.1 ± 2.2 个/只,载体组转移灶数目为 21.6 ± 3.6 个/只, MHCC97-H 亲本细胞组为 19.3 ± 2.3 个/只.其中,与 MHCC97-H 亲本细胞组比较,反义组转移灶数目明显增加,正义组转移灶

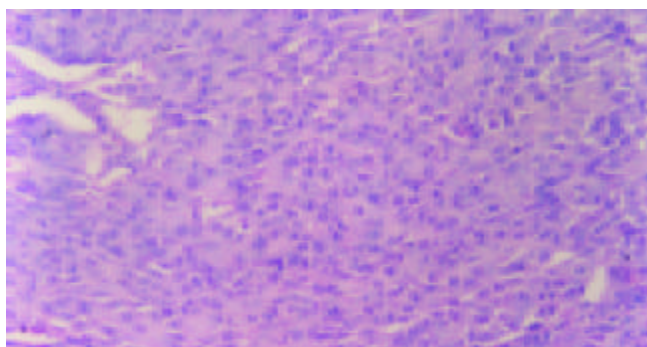


图2 肝肿瘤 HE $\times 200$.

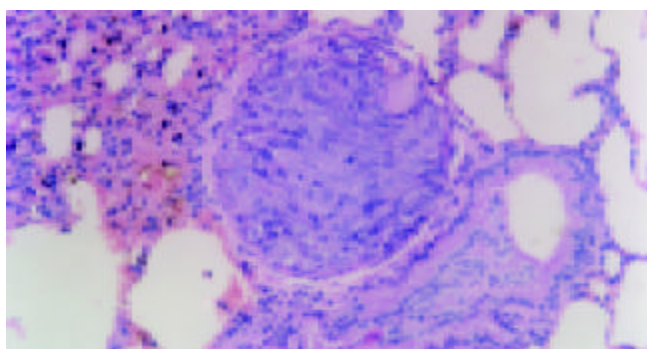


图4 肺血管内瘤栓 $\times 200$.

块确是肝癌转移至肺形成的转移灶.

3 讨论

肿瘤细胞的侵袭转移是一个复杂的生物学过程,涉及癌细胞从原发灶脱落,侵袭和穿透基底膜,降解细胞外基质,向远处转移等.因此,深入研究肝癌转移的发生机制,寻求有效的抗转移治疗措施,对改善肝癌患者预后具有重要意义. KAI1 基因是前列腺癌的转移抑制基因.该基因定位于人类染色体 11p11.2,全长约 80 kb,包括 8 kb 的 5' 区域, 10 个外显子, 9 个内含子和 8 kb 的 3' 区,编码产物为含 267 个氨基酸的细胞膜糖蛋白, M_r 29 610. 其分子结构中含有 4 个跨膜功能区和一个大

数目明显减少,差异均有显著性($P < 0.01$),而载体组转移灶数目无明显变化($P > 0.1$).肺转移灶及肺血管瘤栓(图3,4).肺转移灶的 AFP 表达部位主要在上述核大浆少,细胞聚集的细胞团块内,呈细胞质着色,可见癌巢中肿瘤细胞质有黄色颗粒沉着(图5).证明这些细胞团

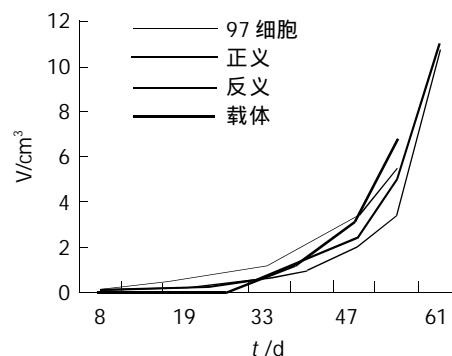


图1 皮下肿瘤生长曲线.

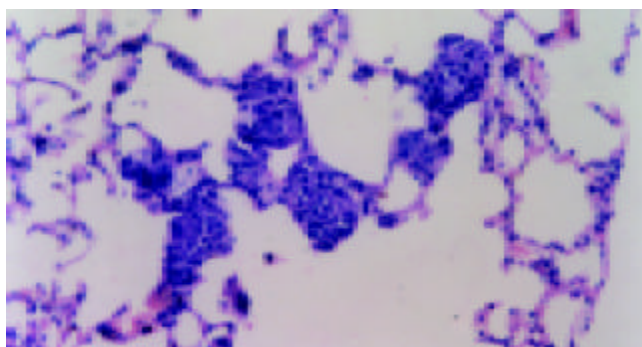


图3 肺转移瘤 HE $\times 200$.

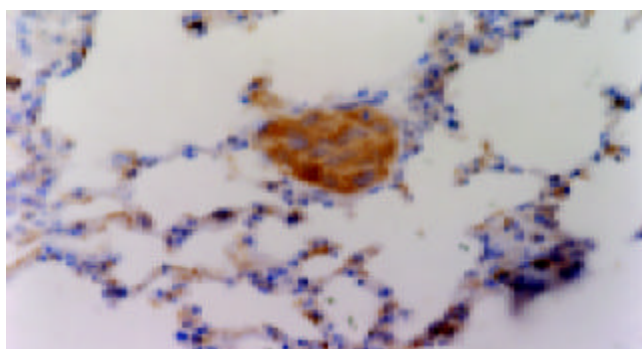


图5 肺转移瘤 AFP 染色 $\times 200$.

的胞外糖基化功能区,因而结构上属跨膜 4 超家族 (transmembrane 4 superfamily, TM4SF) 成员,其生物学功能至今仍有诸多不清楚的地方.他们在细胞膜上的定位和广泛的糖基化提示他们在细胞与细胞及细胞与胞外基质的相互作用中发挥功能,而这些作用在肿瘤的侵袭和转移中具有十分重要的意义.特别是这些分子的 N 糖基化与其抑制转移作用是一致的,因为 N 端连接寡聚糖的过程与转移表型有关.研究发现 MRP1 基因产物与细胞的穿透性和运动性有关,并可降低某些肿瘤细胞的转移潜能,而且在肿瘤细胞中 MRP-1 与 KAI1 变化具有一致性.另外大部分 TM4SF 成员同 B 细胞 MHC II

类糖蛋白或 T 细胞的 CD4 和 CD8 分子介导细胞和周围环境的信号转导, 进而影响细胞的运动和分化。

本实验可看出, 从生长速度看, 皮下肿瘤和肝原位种植肿瘤各组基本一致, 说明 KAI1 基因对 MHCC97-H 肝癌细胞的生长无明显影响, 这与前期的体外实验结果是一致的, 即转染正、反义 KAI1 基因及空载体细胞与原细胞株比较, 绘制的生长曲线无差异, 也与 Takaoka et al 在结肠癌、Dong et al 在前列腺癌细胞中的研究结果一致。从生长方式看, 反义组明显呈浸润性, 皮下肿瘤表现为与深部组织融合生长, 有的甚至侵犯脊柱, 原位肝种植肿瘤表现为分别侵犯腹膜、皮下组织、肠系膜甚至膈肌(在膈肌上形成白色转移灶), 载体组、MHCC97-H 亲本细胞组则浸润性较差, 而正义组则几乎未见周围脏器、组织浸润, 说明 KAI1 基因影响肿瘤的侵袭性, 反义基因使 KAI1 基因的功能减弱, 在动物体内具体表现为反义组肿瘤组织侵袭性增强, 而正义基因则明显增强了其功能, 表现为肿瘤组织向周围组织的侵袭能力减弱, 这与我们以前体外 Boyden Chamber 侵袭实验的结果一致。从 KAI1 基因对肺转移的影响看, 反义组转移灶数目为 27.7 ± 3.8 个/只, 正义组转移灶数目为 16.1 ± 2.2 个/只, 载体组转移灶数目为 21.6 ± 3.6 个/只, MHCC97-H 亲本组为 19.3 ± 2.3 个/只。与 MHCC97-H 亲本细胞组比较, 反义组转移灶数目明显增加($P=0.00158$), 正义组转移灶数目明显减少($P=0.00465$), 差异均有显著性, 而载体组转移灶数目无明显变化($P=0.15166$)。说明 KAI1 反义基因明显促进了肺转移的发生, 即 KAI1 基因失去了其肿瘤转移抑制作用而使转移更易发生, 而正义基因上调了 KAI1 蛋白的表达水平从而在一定程度上抑制了转移的发生。提示上调 KAI1 基因在肝癌细胞内的表达可能是抑制肝癌转移的一条有效途径, 这为肝细胞癌的抗转移治疗提供了实验基础。

肿瘤转移的发生过程极其复杂, 他涉及肿瘤细胞与细胞之间, 肿瘤细胞与细胞外基质之间以及细胞外基质与细胞外基质之间的相互作用。在今后的工作中, 为进一步研究 KAI1 影响转移的可能机制, 我们拟从细胞外基质成分入手, 探讨 KAI1 对细胞外基质各成分表达的影响。

4 参考文献

- 1 傅建民, 余小舫, 邵永孚. 端粒酶与原发性肝癌. 世界华人消化杂志 2000;8:461-463
- 2 翟守恒, 刘俊彬, 刘云梅, 张玲莉, 杜志平. HBsAg, HCV-Ag 和 AFP 在肝硬化和肝细胞癌组织中的表达. 世界华人消化杂志 2000;8:524-527
- 3 Yang JM, Chen WS, Liu ZP, Luo YH, Liu WW. Effects of insulin-like growth factors-IR and -IIR antisense gene transfection on the biological behaviors of SMMC-7721 human hepatoma cells. *J Gastroenterol Hepatol* 2003;18:296-301
- 4 邵晓冬, 吴开春, 郭晓钟, 徐建华, 郭长存, 孟繁平, 樊代明. KAI1 基因在肝硬化和肝细胞癌组织中的表达及其意义. 世界华人消化杂志 2001;9:1238-1241
- 5 梁云, 陆斌, 崔克福, 李晓冬, 郭亚军, 刘彦君. 肝细胞癌中 Fas/

- 6 FasL 表达的意义. 世界华人消化杂志 2001;9:1364-1368
- 7 程虹, 刘彦仿, 张惠中, 沈万安, 张素珍. 分泌型抗肝癌单抗双功能抗体融合 GFP 真核表达载体的构建及表达. 世界华人消化杂志 2001;9:640-644
- 8 Yin ZY, Wang XM, Yu RX, Zhang BM, Yu KK, Li N, Li JS. Total vascular exclusion technique for resection of hepatocellular carcinoma. *World J Gastroenterol* 2003;9:2194-2197
- 9 Bangoura G, Yang LY, Huang GW, Wang W. Expression of HIF-2alpha/EPAS1 in hepatocellular carcinoma. *World J Gastroenterol* 2004;10:525-530
- 10 Hsieh CB, Chang HM, Chen TW, Chen CJ, Chan DC, Yu JC, Liu YC, Chang TM, Shen KL. Comparison of transcatheter arterial chemoembolization, laparoscopic radiofrequency ablation, and conservative treatment for decompensated cirrhotic patients with hepatocellular carcinoma. *World J Gastroenterol* 2004;10:505-508
- 11 Wan YL, Zheng SS, Zhao ZC, Li MW, Jia CK, Zhang H. Expression of co-stimulator 4-1BB molecule in hepatocellular carcinoma and adjacent non-tumor liver tissue, and its possible role in tumor immunity. *World J Gastroenterol* 2004;10:195-199
- 12 Xiao EH, Li JQ, Huang JF. Effects of p53 on apoptosis and proliferation of hepatocellular carcinoma cells treated with transcatheter arterial chemoembolization. *World J Gastroenterol* 2004;10:190-194
- 13 Shi YJ, Gong JP, Liu CA, Li XH, Mei Y, Mi C, Huo YY. Construction of a targeting adenoviral vector carrying AFP promoter for expressing EGFP gene in AFP-producing hepatocarcinoma cell. *World J Gastroenterol* 2004;10:186-189
- 14 Chen WX, Min PQ, Song B, Xiao BL, Liu Y, Ge YH. Single-level dynamic spiral CT of hepatocellular carcinoma: correlation between imaging features and density of tumor microvessels. *World J Gastroenterol* 2004;10:67-72
- 15 Sheen IS, Jeng KS, Shih SC, Wang PC, Chang WH, Wang HY, Shyung LR, Lin SC, Kao CR, Tsai YC, Wu TY. Does surgical resection of hepatocellular carcinoma accelerate cancer dissemination? *World J Gastroenterol* 2004;10:31-36
- 16 Xu KC, Niu LZ, He WB, Guo ZQ, Hu YZ, Zuo JS. Percutaneous cryoablation in combination with ethanol injection for unresectable hepatocellular carcinoma. *World J Gastroenterol* 2003;9:2686-2689
- 17 Lai YC, Shih CY, Jeng CM, Yang SS, Hu JT, Sung YC, Liu HT, Hou SM, Wu CH, Chen TK. Hepatic arterial infusion chemotherapy for hepatocellular carcinoma with portal vein tumor thrombosis. *World J Gastroenterol* 2003;9:2666-2670
- 18 Luo MY, Shan H, Jiang ZB, Li LF, Huang HQ. Study on hepatocellular carcinoma-associated hepatic arteriovenous shunt using multidetector CT. *World J Gastroenterol* 2003;9:2455-2459
- 19 Chen XP, He SQ, Wang HP, Zhao YZ, Zhang WG. Expression of TNF-related apoptosis-inducing Ligand receptors and antitumor tumor effects of TNF-related apoptosis-inducing Ligand in human hepatocellular carcinoma. *World J Gastroenterol* 2003;9:2433-2440
- 20 Cai RL, Meng W, Lu HY, Lin WY, Jiang F, Shen FM. Segregation analysis of hepatocellular carcinoma in a moderately high-incidence area of East China. *World J Gastroenterol* 2003;9:2428-2432
- 21 Qin LX, Tang ZY. The prognostic molecular markers in hepatocellular carcinoma. *World J Gastroenterol* 2002;8:385-392
- 22 Houle CD, Ding XY, Foley JF, Afshari CA, Barrett JC, Davis BJ. Loss of expression and altered localization of KAI1 and CD9 protein are associated with epithelial ovarian cancer progression. *Gynecol Oncol* 2002;86:69-78
- 23 Liu FS, Chen JT, Dong JT, Hsieh YT, Lin AJ, Ho ES, Hung MJ, Lu CH. KAI1 metastasis suppressor gene is frequently down-regulated in cervical carcinoma. *Am J Pathol* 2001;159:1629-1634
- 24 Liu FS, Dong JT, Chen JT, Hsieh YT, Ho ES, Hung MJ, Lu CH, Chiou LC. KAI1 metastasis suppressor protein is down-regulated during the progression of human endometrial cancer. *Clin Cancer Res* 2003;9:1393-1398
- 25 Li Y, Tang ZY, Ye SL, Liu YK, Chen J, Xue Q, Chen J, 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
- 26 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;11:1341-1344