

## 肝癌转移抑制基因在8p21.1-23.1染色体上的功能定位

宋丽杰, 叶胜龙, 王凯峰, 刘虎, 梁春敏, 孙瑞霞, 赵燕, 汤钊猷

宋丽杰, 叶胜龙, 王凯峰, 刘虎, 梁春敏, 孙瑞霞, 赵燕, 汤钊猷, 复旦大学肝癌研究所/中山医院癌变与侵袭原理教育部重点实验室 上海市 200032  
宋丽杰, 博士, 主要从事肿瘤复发转移的防治, 以肿瘤的生物治疗与基因治疗为研究重点。  
国家重点基础研究(973)资助项目, No. G1998051210, No. 2004CB518708  
国家自然科学基金资助项目, No. 30271459  
复旦大学创新基金资助项目, No. CQF152810  
作者贡献分布: 宋丽杰与叶胜龙对此文所作贡献均等; 此课题由宋丽杰、叶胜龙、王凯峰、刘虎及汤钊猷设计; 研究过程由宋丽杰、叶胜龙、王凯峰、刘虎、孙瑞霞及赵燕操作完成; 研究所用新试剂及分析工具由孙瑞霞、赵燕提供; 数据分析由宋丽杰、叶胜龙及王凯峰完成; 本论文写作由宋丽杰与叶胜龙完成。  
通讯作者: 叶胜龙, 200032, 上海市, 复旦大学肝癌研究所/中山医院; 癌变与侵袭原理教育部重点实验室. slye@shmu.edu.cn  
电话: 021-64431055 传真: 021-64431055  
收稿日期: 2007-11-22 修回日期: 2008-02-29

### Functional localization of metastasis suppressor genes for hepatocellular carcinoma on human chromosome 8p21.1-23.1

Li-Jie Song, Sheng-Long Ye, Kai-Feng Wang, Hu Liu, Chun-Min Liang, Rui-Xia Sun, Yan Zhao, Zhao-You Tang

Li-Jie Song, Sheng-Long Ye, Kai-Feng Wang, Hu Liu, Chun-Min Liang, Rui-Xia Sun, Yan Zhao, Zhao-You Tang, Liver Cancer Institute/Zhongshan Hospital, Fudan University; Education Ministry Key Laboratory of Carcinogenesis and Cancer Invasion, Shanghai 200032, China  
Supported by: the State Key Basic Research Program (973 Program) of China, No. G1998051210, No. 2004CB518708; National Natural Science Foundation of China, No. 30271459; and the Innovation Foundation of Fudan University, No. CQF152810  
Correspondence to: Dr. Sheng-Long Ye, Liver Cancer Institute/Zhongshan Hospital, Fudan University; Education Ministry Key Laboratory of Carcinogenesis and Cancer Invasion, Shanghai 200032, China. slye@shmu.edu.cn  
Received: 2007-11-22 Revised: 2008-02-29

### Abstract

**AIM:** To further refine the region harboring the metastasis suppressor genes in the human chromosome 8p21.1-23.1, and to pave the way for finding and cloning novel metastasis suppressor genes.

**METHODS:** The STS primer sequences were found according to the National Center for Biotechnology Information Database (NCBI).

C5F genomic DNA and A9/neo8 genomic DNA were used as negative and positive controls for chromosome 8 amplification, respectively. Genomic DNA was isolated and quantified from cultured hybrid clones. A9/C5F-1 and A9/C5F-2 microcell hybrid clones were used as metastasis-unsuppressed groups, while A9/C5F-4, A9/C5F-8 and A9/C5F-10 clones were used as metastasis-suppressed groups. STS-PCR products were separated by electrophoresis.

**RESULTS:** STS markers were preserved in metastasis-suppressed microcell hybrid clones (A9/C5F-4, A9/C5F-8 and A9/C5F-10), such as D8S552 (12786562-12786681), D8S1733(22576582-22576836), D8S1734 (22851217-22851336), D8S254(16652480-16652550) and D8S1973 (28681110-28681363) on human chromosome 8p21.1-23.1. In contrast, STS markers were lost in metastasis-unsuppressed clones (A9/C5F-1 and A9/C5F-2) in this region.

**CONCLUSION:** The metastasis suppressor genes may be located within the interval between D8S542 and D8S1973 on human chromosome 8p21.1-23.1.

**Key Words:** Hepatocellular carcinoma; Metastasis; Metastasis suppressor gene; Sequence-tagged site

Song LJ, Ye SL, Wang KF, Liu H, Liang CM, Sun RX, Zhao Y, Tang ZY. Functional localization of metastasis suppressor genes for hepatocellular carcinoma on human chromosome 8p21.1-23.1. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2008; 16(10): 1047-1052

### 摘要

**目的:** 分析人类染色体8p21.1-23.1上肝癌转移抑制基因相关染色体缺失状况, 为进一步寻找克隆可能的肝癌转移抑制基因奠定基础。

**方法:** 从NCBI的UniSTS数据库查询STS的引物序列, 以微细胞杂交克隆DNA为模板(A9/C5F-1和A9/C5F-2为转移不抑制组, A9/C5F-4、A9/C5F-8和A9/C5F-10为转移抑制组)进行STS-PCR扩增。

**背景资料**  
肝癌复发转移的防治研究已成为21世纪肝癌研究的重要方向之一。但对于肝癌复发转移的分子机制仍不清楚, 未发现与肝癌转移直接有关的转移抑制基因

**同行评议者**  
龚建平, 教授, 重庆医科大学附属第二医院肝胆外科

研发前沿  
肝癌术后复发转移的防治研究已成为肝癌研究的一大热点。寻找与肝癌复发转移相关基因和新的干预治疗靶点具有重要意义。

结果: 人类染色体8p上D8S552(12786562-12786681), D8S1733 (22576582-22576836), D8S1734(22851217-22851336), D8S254 (16652480-16652550)及D8S1973 (28681110-28681363)等STS位点所在区域在转移抑制组杂交克隆(A9/C5F-4, A9/C5F-8, A9/C5F-10)存在STS位点的不同程度的获得和转移不抑制组杂交克隆组(A9/C5F-1, A9/C5F-2)STS位点的缺失。

结论: D8S552-D8S1973所在的人类染色体8p21.1-23.1区域可能存在肝癌转移抑制基因。

关键词: 肝细胞癌; 转移; 转移抑制基因; 序列标签位点

宋丽杰, 叶胜龙, 王凯峰, 刘虎, 梁春敏, 孙瑞霞, 赵燕, 汤钊猷. 肝癌转移抑制基因在8p21.1-23.1染色体上的功能定位. 世界华人消化杂志 2008; 16(10): 1047-1052

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/16/1047.asp>

## 0 引言

肝癌复发转移的防治研究已成为21世纪肝癌研究的重要方向之一<sup>[1]</sup>. 但对于肝癌复发转移的分子机制仍不清楚, 未发现与肝癌转移直接有关的转移抑制基因. 我们在前期研究基础上推测人类8号染色体短臂(8p)上存在一个或多个肝癌转移抑制基因<sup>[2-3]</sup>, 以人类染色体上序列标签位点(sequence tag site, STS)为路标, 用基因组物理图谱的方法粗略分析8p上肝癌转移抑制基因相关染色体缺失状况, 推测人类染色体8p21.1-23.1区域可能存在肝癌转移抑制基因. 本研究在此基础上, 进一步选择8p21.1-23.1区段上的STS位点, 进行更为细致的第二轮筛选, 为进一步寻找可能的肝癌转移抑制基因奠定基础.

## 1 材料和方法

1.1 材料 人8号染色体供体细胞-A9(neo8), 含有正常人8号染色体的小鼠成纤维细胞, 8号染色体上被随机标记neo抗性基因, 购自日本JCRB细胞库, 目录号: JCRB2208. 高转移大鼠肝癌C5F细胞系: 日本名古屋城市大学病理系K.Ogawa博士馈赠, 本研究所传代使用. 通过微细胞介导的染色体转移(microcell mediated chromosome transfer, MMCT)方法将标记有耐药基因neo的人类正常8号染色体导入到大鼠肝癌高转移细胞系C5F中, 用G418和HAT进行双重药物筛选, 单细胞分离克隆获得具有双重抗性的微细胞杂交克隆. 通过自发转

移动物实验将其分为转移抑制杂交克隆和转移不抑制杂交克隆. 本实验从中选取5种杂交克隆: 转移抑制杂交克隆(A9/C5F-4、A9/C5F-8、A9/C5F-10), 转移不抑制杂交克隆(A9/C5F-1、A9/C5F-2). HotStarTaq DNA聚合酶(目录号203203), 德国QIAGEN公司出品; 10 mmol/L dNTP Mix(目录号R0192),  $5 \times 10^6$  U/L Taq DNA聚合酶及其 $10 \times$ 缓冲液、25 mmol/L  $MgCl_2$ (目录号EP0402)均由MBI公司出品;  $100 \times$ HAT(10 mmol/L次黄嘌呤,  $40 \mu\text{mol/L}$ 氨基蝶呤,  $1.6 \text{ mmol/L}$ 胸腺嘧啶脱氧核苷)和Geneticin(G418硫酸盐)由美国Gibco BRL公司出品;  $25 \text{ cm}^2$ 、 $75 \text{ cm}^2$ 细胞培养瓶, 15 mL离心管及96孔、24孔、6孔细胞培养板均由Corning Costar公司制造; 1.8 mL细胞冻存管, Nunc公司制造; 0.2 mL无RNA酶的薄壁PCR管, Axygen公司制造;  $0.22 \mu\text{mol/L}$ 滤器, 美国Millipore公司制造; PCR仪(PCT100-96型), 美国MJ公司制造等.

### 1.2 方法

1.2.1 冻存细胞克隆的复苏培养: 将保存细胞的冻存管 $37^\circ\text{C}$ 水浴令其尽快融化, 用吸管吸出细胞悬液, 注入离心管并加10倍以上培养液, 混合后低速离心, 除去上清液, 重复洗涤一次; 用培养液适当稀释后, 接种培养瓶, 用含 $100 \text{ mL/L}$  FBS的DMEM在 $50 \text{ mL/L}$   $\text{CO}_2$ 培养箱内培养. 24 h后换选择培养基培养, 每3 d更换新鲜培养液; 培养至细胞95%融合时以 $2.5 \text{ g/L}$ 胰酶消化后1:3传代; 收集对数生长期细胞准备提取基因组DNA进行检测.

1.2.2 基因组DNA提取:  $200 \mu\text{L}$ 样品中加入 $400 \mu\text{L}$  Solution CL, 混匀后加入 $3 \mu\text{L}$  Proteinase K, 置于 $55^\circ\text{C}$  5-10 min, 中途上下混匀几次; 加入 $600 \mu\text{L}$ 氯仿, 混匀;  $10\ 000 \text{ r/min}$ 离心2 min, 取 $500 \mu\text{L}$ 上层清液, 置于无菌 $1.5 \text{ mL}$ 离心管中; 加入 $500 \mu\text{L}$  Solution P, 混匀, 室温放置2 min; 室温高速离心,  $10\ 000 \text{ r/min}$ , 2 min. 吸掉溶液, 立即加入 $100 \mu\text{L}$   $1.2 \text{ mol/L}$  NaCl, 轻轻振荡直至DNA样品完全溶解, 加入 $3 \mu\text{L}$  Rnase A, 混匀, 置于 $55^\circ\text{C}$  5-10 min; 加入 $300 \mu\text{L}$ 冷乙醇,  $-20^\circ\text{C}$ 放置10 min,  $10\ 000 \text{ r/min}$ , 高速离心3-4 min, 吸走或倒掉乙醇, 用 $700 \text{ mL/L}$ 乙醇洗一次; 倒置于干净的滤纸上, 室温干燥10 min, DNA用 $100 \mu\text{L}$ 水或TE溶解. 用紫外分光光度计测量DNA纯度.  $A_{260}/A_{280} = 1.8$ 的DNA样本为合格样本.

1.2.3 STS-PCR: 大鼠肝癌高转移系C5F为阴性对照, 染色体供体细胞A9(neo8)为阳性对照, 微细

胞杂交克隆DNA为模板(A9/C5F-1和A9/C5F-2为转移不抑制组, A9/C5F-4、A9/C5F-8和A9/C5F-10为转移抑制组)进行STS-PCR. 从NCBI的UniSTS数据库查询STS的引物序列(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome/sts>), 由上海生物工程技术服务有限公司、上海博亚生物技术有限公司合成. 所选取的STS在染色体上的位置、引物序列及扩增产物长度见表1.

50  $\mu$ L 荧光定量PCR反应体系含有10 $\times$ PCR反应缓冲液5  $\mu$ L, dNTP Mix(10 mmol/L)1  $\mu$ L, 上下游引物(10  $\mu$ mol/L)各1  $\mu$ L, HotStarTaq DNA聚合酶(5 $\times$ 10<sup>6</sup> U/L)0.3  $\mu$ L, 模板DNA 1  $\mu$ L, 加ddH<sub>2</sub>O至50  $\mu$ L. 每个反应设置3个复孔. PCR热循环参数: 95 $^{\circ}$ C 15 min预变性; 94 $^{\circ}$ C 45 s, 55-68 $^{\circ}$ C 45 s, 72 $^{\circ}$ C 1 min, 30个循环; 72 $^{\circ}$ C 10 min.

## 2 结果

**2.1 微细胞杂交克隆培养** 刚复苏出的微细胞杂交克隆用高糖DMEM培养基培养, 2 d后换含有HAT(1 $\times$ )和G418(0.8 g/L)的双重选择培养基培养, 以后持续使用双重选择培养基.

**2.2 8p21.1-23.1区段上的STS位点筛选** 选择8p21.1-23.1区段上的STS位点, 进行更为细致的筛选. D8S1733(22576582-22576836), D8S1734(22851217-22851336), D8S1973(28681110-28681363)等位点所在区域, 存在不同程度转移抑制微细胞杂交克隆片段的获得和转移不抑制微细胞杂交克隆片段的缺失(表2), 提示这些位点所在片段有可能存在肝癌转移抑制基因.

## 3 讨论

肝癌术后复发转移的防治研究已成为肝癌研究的一大热点. 但迄今肝癌复发转移的分子生物学机制仍不清楚. 寻找与肝癌复发转移相关基因和新的干预治疗靶点具有重要意义<sup>[4]</sup>. 我们在以往研究的基础上推测在人类染色体上存在肝癌转移抑制基因, 若能证实确实存在并克隆肝癌转移抑制基因, 对于肝癌转移分子机制的阐明和肝癌的诊断、治疗与预后评估都具有重要意义.

微细胞介导的染色体转移(MMCT)是一种建立在体细胞杂交基础之上的实验方法<sup>[5]</sup>, 结合STS-PCR对染色体片段缺失情况进行定位分析, 适用于转移抑制基因的功能定位研究. 多数肿瘤转移抑制基因都是通过MMCT发现的<sup>[6]</sup>. 通

过这种方法将前列腺癌相关转移抑制基因定位于人类染色体7q21-22/7q31.2-32、8p21-p12、10cen-10q23、11q11.2-13、12qcen-q13/12q24-ter、13、16q24.2、17p12-11.2/17cen-q12、20p11.23-12<sup>[7-9]</sup>, 并克隆了前列腺癌转移抑制基因KAI-1、MKK4. 将KAI-1导入高转移人前列腺癌细胞中, 能抑制转移潜能而不影响裸鼠体内的成瘤性<sup>[10]</sup>. KAI-1对多种肿瘤转移有抑制作用具有非特异性<sup>[11-14]</sup>. MKK4/SEK1表达与Gleason分级呈负相关, 有可能成为预测前列腺癌转移潜能的生物学指标<sup>[15]</sup>, 对黑色素瘤和卵巢癌同样具有抑制作用<sup>[16]</sup>. 乳腺癌转移抑制基因功能定位于人类染色体6、11q13.1-13.2、11pter-q14, 并发现了转移抑制基因BRMS1<sup>[17]</sup>. 已证实BRMS1亦能抑制黑色素瘤、卵巢癌转移潜能<sup>[18-19]</sup>. 黑色素瘤转移抑制基因功能定位于染色体1、6q16.3-q23<sup>[20-21]</sup>. 目前国际上有关转移抑制基因的研究主要集中在前列腺癌、乳腺癌和黑色素瘤, 有关肝癌的转移抑制基因仍未见报道.

我们前期工作为肝癌转移抑制基因的研究提供了重要线索. 我所在肝癌组织原位移植建立的裸鼠肝癌高转移模型之上建立了人肝癌高转移细胞系MHCC97, 并通过CGH方法对MHCC97中染色体LOH情况进行分析, 发现该细胞系8p存在LOH<sup>[22]</sup>. 应用CGH方法分析了10例HCC手术标本原发灶与转移灶的基因组畸变, 发现8例转移灶中存在8p缺失, 而原发灶中只有3例, 提示8p在肝癌转移中起重要作用<sup>[23]</sup>. 随后又通过全基因组扫描证实8p存在较为明显的等位基因失衡, 并进一步发现8p23.3、8p11.2区域上LOH更为明显<sup>[24]</sup>. 以上结果提示8号染色体上可能存在肝癌转移抑制基因. 我所前期运用MMCT方法将人类8号染色体导入高转移大鼠肝癌细胞系C5F<sup>[2]</sup>, 用G418和HAT进行双重筛选, 分离得到15个单细胞克隆. 通过自发肺转移实验对其中的10个微细胞杂交克隆(A9/C5F1-10)在裸鼠中的转移表型进行分析, 发现6个杂交克隆(A9/C5F-3, 4, 5, 8, 9, 10)出现转移表型的显著抑制, 其中两个杂交克隆(A9/C5F4, 8)转移表型发生完全抑制. 根据转移表型差异将这些杂交克隆分为转移抑制组(A9/C5F-3, 4, 5, 8, 9, 10)和转移不抑制组(A9/C5F-1, 2, 6, 7)<sup>[3]</sup>. 取A9/C5F-1, 2杂交克隆为转移不抑制组, A9/C5F-4, 8, 10为转移抑制组通过基因组物理图谱定位的方法检测导入8号染色体上的片断丢失情况.

**相关报道**  
钦伦秀 *et al*的研究提示人类8号染色体短臂(8p)上存在一个或多个肝癌转移抑制基因.

**应用要点**  
本研究为下一步肝癌转移抑制基因的克隆定位奠定基础, 对于肝癌转移分子机制的阐明和肝癌的诊断、治疗与预后评估都具有重要意义。

表 1 人类染色体8p21.1-23.1上的STS

STS	在染色体上位置(bp)	寡核苷酸序列	产物长度(bp)
D8S2099	9988829 - 9989037	F: GGGATGATGAAACGTGGG R: TTCAGCTCTTTGACTATGTTATCCC	209
D8S453	10681928 - 10682191	F: GGTAGGCAACAAGTATTCTGGTTG R: TGGTGATAAAGCAAGACTCTGTCT	264
D8S265	11317148 - 11317364	F: ACCTCTTCCAGATAAGCCC R: CCAATGGTTTCGGTACTGT	208 - 231
D8S552	12752557 - 12752676	F: CCTGTACCATACCCCTGTATC R: AAGGTTTGAATCTCTCAGTGG	132
D8S1754	13000035 - 13000211	F: CAGGGAAGTCTCGTTTTG R: TCAGGGACACGATTACAGC	169 - 183
D8S17271	13600230 - 13600446	F: CCAGAAAACCTTACCACCCG R: GATGAGCCTTGAAACACGCT	217
SHGC - 110274	14903937 - 14904209	F: GATTGATCTCCTTACTCTTTATTGG R: CGATAAGCAAAAATCCACAGACC	273
D8S484	16075640 - 16076081	F: ACCGCAACTCGAACAAAAACAAAAC R: ATGTGAAAAGCCTAGTATTCAGAC	442
D8S2081	17097196 - 17097342	F: ACCCAGTTACAGCACTGTAATATCA R: CTCTACCCCGAAATGATGGA	147
D8S1611	17732205 - 17732310	F: ATTCTGAACATATCCATGCGC R: GCATATCTGCTGTACTGAAAGCA	105 - 106
D8S2001	19262474 - 19262611	F: GACATTGAATCCAGTATTTGTGC R: GGACAAATGCCACTGCAAC	138
D8S1660	19736326 - 19736527	F: TCCTAGATACCGTCCAAACCC R: GTGGATAAGGACAGGAAAAGAGG	200 - 201
D8S282	21425116 - 21425356	F: TCCTATTCCACAGCCACAACCTC R: CTTATATTGGGCATAAAGTTCATAGG	237
D8S439	22271321 - 22271581	F: GGCTCCCTGTTCTTTATCAGTTG R: ACTTTTCTCTGGCTATTATGGACTC	261 - 351
D8S1734	22851217 - 22851336	F: GCTATCCACTTGTCCCAGA R: AGCCAGAAATAAACCCCTC	98 - 120
D8S2028	23445977 - 23446155	F: CAAAAGTTTTGTTTCTATTGAGGG R: TTTTCTGTTCCCTCCG	178
D8S441	23860052 - 23860227	F: TGTCTTCTCCAGTGAGCTCCAGT R: GAGATGATAGATAGCGGTGTGTGT	176
D8S1839	27404471 - 27404651	F: AGAATGGGATCAGAAC R: TCCAGGGTTGCTACAGT	161 - 193
D8S2133	28938060 - 28938204	F: CATTCTTTGTAGGTATTTGTGGG R: AGTTTCATGAGAATGCTGAAGTAGG	145
D8S1996	29760749 - 29761003	F: ACTGGAAAAATGAAGTGTAAAAACC R: CTCCAGTTCCTGTGGCTTTT	254 - 255
D8S1769	31203002 - 31203253	F: ATGGGGTTATGGACTACA R: CGTAACAGGCAACATAAGTAGAGTG	240 - 256
D8S254	16652480 - 16652550	F: TGCCGGACATACATTAGTGA R: TTGTAACACCACAAGCAGG	65 - 75
D8S1591	18465968 - 18466176	F: CAAGATTTCTTTTATTCACCTGC R: TTTCTTTAGATGGAGTCCATTGC	208 - 209
D8S1733	22576582 - 22576836	F: CACAGTCTCAAACCTCTGGG R: ACGAAAAACCATGAACAAGA	217 - 259
D8S1589	26335774 - 26335953	F: TGAGACACTGTCGATTTATTTAGC R: TCCTGTTTTCTGTACCGG	179 - 180
D8S1973	28445735 - 28445988	F: AGTGTTTATTAACAAATGGGCTCA R: TCAACTCTGGCTCTCTCAAGG	253 - 254

表 2 人类染色体8p21.1-23.1区段上STS位点的筛选

STS	A9	C5F	转移不抑制克隆		转移抑制克隆		
			A9/C5F-1	A9/C5F-2	A9/C5F-4	A9/C5F-8	A9/C5F-10
DD8S2099	+	-	+	+	+	+	+
D8S453	+	-	+	+	+	+	+
D8S265	+	-	+	+	+	+	+
D8S552	+	-	-	-	-	-	+
D8S1754	+	-	+	+	+	+	+
D8S17271	+	-	+	+	+	+	+
SHGC-110274	+	-	+	+	+	+	+
D8S484	+	-	+	+	+	+	+
D8S254	+	-	-	-	-	-	+
D8S2081	+	-	+	+	+	+	+
D8S1611	+	-	+	+	+	+	+
D8S1591	+	-	+	-	+	-	+
D8S2001	+	-	+	+	+	+	+
D8S1660	+	-	+	+	+	+	-
D8S282	+	-	+	+	+	+	+
D8S439	+	-	+	+	+	+	+
D8S1733	+	-	-	-	-	+	+
D8S1734	+	-	-	-	+	-	-
D8S2028	+	-	+	+	+	+	+
D8S441	+	-	+	+	+	+	+
D8S1589	+	-	-	+	+	+	+
D8S1973	+	-	-	-	-	-	+
D8S1839	+	-	+	+	+	+	+
D8S2133	+	-	+	+	+	+	+
D8S1996	+	-	+	+	+	+	+
D8S1769	+	-	+	+	+	+	+

STS即序列标签位点, 指染色体定位明确, 并可用PCR扩增的单拷贝序列, 人类物理图谱的绘制就是以STS为标记位点, 具有唯一性。我们根据NCBI的UniSTS数据库资料选择20个STS, 均匀覆盖整个8p染色体, 平均间隔2 cm, 进行STS-PCR测定。由第一次筛选结果来看, 在8p染色体上从D8S542位点起至D8S1973位点区段, 在转移不抑制组, 杂交克隆存在STS位点不同程度的缺失和转移抑制组STS位点的获得<sup>[25]</sup>。D8S542-D8S1973位于染色体8p21.1-23.1位置, 初步推测在人类染色体8p21.1-23.1区段存在可能的肝癌转移抑制基因。为了缩小我们的范围, 在8p21.1-23.1区段内又选择了22个STS位点进行分析, 发现D8S1733(22576582-22576836), D8S1734(22851217-22851336), D8S254(16652480-16652550)及D8S1973(28445735-28445988)等所在位置更应引起我们的关注。在人类8号染色体导入高转移细胞系C5F时, 由于染色体的不稳定性会发生某些区段

的随机丢失, 每个杂交克隆所携带的目的染色体的区段不同。从我们现筛选的结果看, 存在转移抑制组获得8号染色体片段的不一致性, 考虑是染色体在随机丢失的结果, 亦提示在肝癌的转移抑制中可能8p上的不同片段在起共同的作用, 而非一个。在我们上述提到的转移抑制组获得的染色体片段中都有可能包含有我们所要寻找的肝癌转移抑制基因。研究显示8p21.1-23.1的缺失在肿瘤的分化中起重要作用。8p21.1-21.2与前列腺癌的进展和转移有关<sup>[26]</sup>。8p22区段与膀胱癌的恶性度和转移潜能密切相关, 无8p22 LOH的膀胱癌会出现远处转移<sup>[27]</sup>。8p21.1-23.1区域在肝癌的侵袭转移中扮演重要的角色, 可能存在一个或多个肿瘤转移抑制基因。此研究为我们下一步肝癌转移抑制基因的克隆定位奠定基础。

4 参考文献

- 1 汤钊猷. 肝癌转移复发的基础与临床. 第1版. 上海: 上海科技教育出版社, 2003: 1-16
- 2 Liu H, Ye SL, Yang J, Tang ZY, Liu YK, Qin LX, Qiu SJ, Sun RX. The microcell mediated transfer of human chromosome 8 into highly metastatic rat liver cancer cell line C5F. *World J Gastroenterol* 2003; 9: 449-453
- 3 Liu H, Ye SL, Yang J, Tang ZY, Liu YK, Qin LX, Qiu SJ, Sun RX. The investigation of the technology of microcell mediated chromosome transfer for functional localization of metastasis suppressor genes for liver cancer on human chromosomes. *Zhonghua Yi Xue Yi Chuan Xue Za Zhi* 2006; 23: 540-543
- 4 Tang ZY, Ye SL, Liu YK, Qin LX, Sun HC, Ye QH, Wang L, Zhou J, Qiu SJ, Li Y, Ji XN, Liu H, Xia JL, Wu ZQ, Fan J, Ma ZC, Zhou XD, Lin ZY, Liu KD. A decade's studies on metastasis of hepatocellular carcinoma. *J Cancer Res Clin Oncol* 2004; 130: 187-196
- 5 Meaburn KJ, Parris CN, Bridger JM. The manipulation of chromosomes by mankind: the uses of microcell-mediated chromosome transfer. *Chromosoma* 2005; 114: 263-274
- 6 Yoshida BA, Sokoloff MM, Welch DR, Rinker-Schaeffer CW. Metastasis-suppressor genes: a review and perspective on an emerging field. *J Natl Cancer Inst* 2000; 92: 1717-1730
- 7 Ichikawa T, Hosoki S, Suzuki H, Akakura K, Igarashi T, Furuya Y, Oshimura M, Rinker-Schaeffer CW, Nihei N, Barrett JC, Isaacs JT, Ito H. Mapping of metastasis suppressor genes for prostate cancer by microcell-mediated chromosome transfer. *Asian J Androl* 2000; 2: 167-171
- 8 Hosoki S, Ota S, Ichikawa Y, Suzuki H, Ueda T, Naya Y, Akakura K, Igarashi T, Oshimura M, Nihei N, Barrett JC, Ichikawa T, Ito H. Suppression of metastasis of rat prostate cancer by introduction of human chromosome 13. *Asian J Androl* 2002; 4: 131-136
- 9 Kauffman EC, Robinson VL, Stadler WM, Sokoloff MH, Rinker-Schaeffer CW. Metastasis suppression: the evolving role of metastasis suppressor genes for

同行评价  
本文有一定新意, 设计合理, 研究手段先进, 为进一步寻找可能的肝癌转移抑制基因提供了实验依据。

- regulating cancer cell growth at the secondary site. *J Urol* 2003; 169: 1122-1133
- 10 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
  - 11 Xu JH, Guo XZ, Ren LN, Shao LC, Liu MP. KAI1 is a potential target for anti-metastasis in pancreatic cancer cells. *World J Gastroenterol* 2008; 14: 1126-1132
  - 12 Rowe A, Jackson P. Expression of KITENIN, a KAI1/CD82 binding protein and metastasis enhancer, in bladder cancer cell lines: relationship to KAI1/CD82 levels and invasive behaviour. *Oncol Rep* 2006; 16: 1267-1272
  - 13 Yang X, Wei LL, Tang C, Slack R, Mueller S, Lippman ME. Overexpression of KAI1 suppresses in vitro invasiveness and in vivo metastasis in breast cancer cells. *Cancer Res* 2001; 61: 5284-5288
  - 14 Miyazaki T, Kato H, Shitara Y, Yoshikawa M, Tajima K, Masuda N, Shouji H, Tsukada K, Nakajima T, Kuwano H. Mutation and expression of the metastasis suppressor gene KAI1 in esophageal squamous cell carcinoma. *Cancer* 2000; 89: 955-962
  - 15 Kim HL, Vander Griend DJ, Yang X, Benson DA, Dubauskas Z, Yoshida BA, Chekmareva MA, Ichikawa Y, Sokoloff MH, Zhan P, Karrison T, Lin A, Stadler WM, Ichikawa T, Rubin MA, Rinker-Schaeffer CW. Mitogen-activated protein kinase kinase 4 metastasis suppressor gene expression is inversely related to histological pattern in advancing human prostatic cancers. *Cancer Res* 2001; 61: 2833-2837
  - 16 Yamada SD, Hickson JA, Hrobowski Y, Vander Griend DJ, Benson D, Montag A, Karrison T, Huo D, Rutgers J, Adams S, Rinker-Schaeffer CW. Mitogen-activated protein kinase kinase 4 (MKK4) acts as a metastasis suppressor gene in human ovarian carcinoma. *Cancer Res* 2002; 62: 6717-6723
  - 17 Seraj MJ, Samant RS, Verderame MF, Welch DR. Functional evidence for a novel human breast carcinoma metastasis suppressor, BRMS1, encoded at chromosome 11q13. *Cancer Res* 2000; 60: 2764-2769
  - 18 Samant RS, Seraj MJ, Saunders MM, Sakamaki TS, Shevde LA, Harms JF, Leonard TO, Goldberg SF, Budgeon L, Meehan WJ, Winter CR, Christensen ND, Verderame MF, Donahue HJ, Welch DR. Analysis of mechanisms underlying BRMS1 suppression of metastasis. *Clin Exp Metastasis* 2000; 18: 683-693
  - 19 Zhang S, Lin QD, DI W. Suppression of human ovarian carcinoma metastasis by the metastasis-suppressor gene, BRMS1. *Int J Gynecol Cancer* 2006; 16: 522-531
  - 20 Miele ME, Robertson G, Lee JH, Coleman A, McGary CT, Fisher PB, Lugo TG, Welch DR. Metastasis suppressed, but tumorigenicity and local invasiveness unaffected, in the human melanoma cell line MelJuSo after introduction of human chromosomes 1 or 6. *Mol Carcinog* 1996; 15: 284-299
  - 21 Miele ME, Jewett MD, Goldberg SF, Hyatt DL, Morelli C, Gualandi F, Rimessi P, Hicks DJ, Weissman BE, Barbanti-Brodano G, Welch DR. A human melanoma metastasis-suppressor locus maps to 6q16.3-q23. *Int J Cancer* 2000; 86: 524-528
  - 22 Tian J, Tang ZY, Ye SL, Liu YK, Lin ZY, Chen J, Xue Q. New human hepatocellular carcinoma (HCC) cell line with highly metastatic potential (MHCC97) and its expressions of the factors associated with metastasis. *Br J Cancer* 1999; 81: 814-821
  - 23 Qin LX, Tang ZY, Sham JS, Ma ZC, Ye SL, Zhou XD, Wu ZQ, Trent JM, Guan XY. The association of chromosome 8p deletion and tumor metastasis in human hepatocellular carcinoma. *Cancer Res* 1999; 59: 5662-5665
  - 24 Zhang LH, Qin LX, Ma ZC, Ye SL, Liu YK, Ye QH, Wu X, Huang W, Tang ZY. Allelic imbalance regions on chromosomes 8p, 17p and 19p related to metastasis of hepatocellular carcinoma: comparison between matched primary and metastatic lesions in 22 patients by genome-wide microsatellite analysis. *J Cancer Res Clin Oncol* 2003; 129: 279-286
  - 25 Song LJ, Ye SL, Wang KF, Liang CM, Liu H, Sun RX, Zhao Y, Tang ZY. Functional localization of metastasis suppressor genes for HCC on human chromosome 8. *Zhonghua Ganzangbing Za Zhi* 2008; 16: 12-16
  - 26 Oba K, Matsuyama H, Yoshihiro S, Kishi F, Takahashi M, Tsukamoto M, Kinjo M, Sagiya K, Naito K. Two putative tumor suppressor genes on chromosome arm 8p may play different roles in prostate cancer. *Cancer Genet Cytogenet* 2001; 124: 20-26
  - 27 Ohgaki K, Iida A, Ogawa O, Kubota Y, Akimoto M, Emi M. Localization of tumor suppressor gene associated with distant metastasis of urinary bladder cancer to a 1-Mb interval on 8p22. *Genes Chromosomes Cancer* 1999; 25: 1-5

编辑 程剑侠 电编 郭海丽

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2008年版权归世界华人消化杂志

• 消息 •

## 世界华人消化杂志 2006 年检索指标及排名

本刊讯 2006年度《世界华人消化杂志》的总被引频次为1855, 位居全部1723种中国科技论文统计源期刊的第104位, 内科医学类28种期刊的第7位。2006年《世界华人消化杂志》的影响因子为0.373, 位居全部1723种中国科技论文统计源期刊的第780位, 内科医学类28种期刊的第21位。《世界华人消化杂志》的即年指标0.134, 他引率0.71, 地区分布数27, 基金论文比0.42, 国际论文比0.02, 学科影响指标0.50。(常务副总编辑: 张海宁 2008-04-08)