

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2011.03.07

· 基础研究 ·

## 反义端粒酶 RNA 对肝癌细胞黏附和侵袭的影响

文廷玉, 刘吉勇, 韩翠萍, 姜雅堃(山东大学附属省立医院 消化内科, 山东 济南 250021)

**[摘要]** 目的: 探讨人反义端粒酶 RNA (human telomerase RNA, hTR) 对肝癌细胞系 BEL-7402 黏附和侵袭的影响及其机制。方法: 利用前期实验成功转染端粒酶正、反义 RNA 基因的肝癌细胞, 分为正义转染组 (BEL-7402-hTR-EcoR I 细胞)、反义转染组 (BEL-7402-hTR-BamH I 细胞)、空白对照组 (BEL-7402 细胞)。黏附实验和侵袭实验检测反义 hTR 转染后 BEL-7402 细胞的黏附和侵袭能力, 免疫细胞化学检测整合素  $\beta 1$  (integrin  $\beta 1$ , INT $\beta 1$ )、上皮钙黏蛋白 (epithelial cadherin, E-cad) 的表达水平, 明胶酶谱法检测基质金属蛋白酶 (matrix metalloproteinase, MMP)-2、-9 的活性变化。结果: 与空白对照组和正义 hTR 转染组相比, 反义 hTR 转染组 BEL-7402-hTR-BamH I 细胞的黏附、侵袭能力明显减低 ( $0.204 \pm 0.029$  vs  $0.505 \pm 0.037$ 、 $0.465 \pm 0.029$ ,  $34.80 \pm 3.19$  vs  $71.47 \pm 5.15$ 、 $69.87 \pm 3.11$ , 均  $P < 0.05$ ), INT $\beta 1$  表达降低 ( $0.153 \pm 0.016$  vs  $0.385 \pm 0.008$ 、 $0.375 \pm 0.014$ ,  $P < 0.05$ ), E-cad 表达增强 ( $0.209 \pm 0.020$  vs  $0.124 \pm 0.018$ 、 $0.134 \pm 0.016$ ,  $P < 0.05$ ), MMP-2 和 MMP-9 的活性受到明显抑制 ( $2054.22 \pm 138.52$  vs  $3105.56 \pm 329.60$ 、 $2923.22 \pm 269.08$ 、 $846.33 \pm 104.66$  vs  $1538.89 \pm 122.85$ 、 $1453.33 \pm 126.35$ , 均  $P < 0.05$ )。结论: 人反义端粒酶 RNA 能明显减低肝癌 BEL-7402 细胞的黏附、侵袭能力, 其机制可能与上调 E-cad 的表达、下调 INT $\beta 1$  的表达, 并抑制 MMP-2 和 MMP-9 的活性有关。

**[关键词]** 反义端粒酶 RNA; 逆转录病毒载体; 肝细胞癌; 黏附; 侵袭

**[中图分类号]** R735.7; R730.54

**[文献标志码]** A

**[文章编号]** 1007-385X(2011)02-0275-05

## Effect of antisense telomerase RNA on adhesion and invasion of hepatocellular carcinoma cells

WEN Ting-yu, LIU Ji-yong, HAN Cui-ping, JIANG Ya-kun (Department of Gastroenterology, Provincial Hospital Affiliated to Shandong University, Jinan 250021, Shandong, China)

**[Abstract]** **Objective:** To study the effect of antisense human telomerase RNA (hTR) on adhesion and invasion of hepatocellular carcinoma (HCC) cell line BEL-7402 and its mechanism. **Methods:** Our previous research had successfully transfected sense or antisense hTR gene into BEL-7402 cells. This study they were divided into 3 groups: the sense hTR transfected group (BEL-7402-hTR-EcoRI), the antisense hTR transfected group (BEL-7402-hTR-BamHI) and the blank control group (BEL-7402). The adhesion and invasion of BEL-7402 cells after antisense hTR transfection were observed with adhesion and invasive assay, respectively. The expressions of integrin  $\beta 1$  (INT $\beta 1$ ) and epithelial cadherin (E-cad) were detected by immunocytochemistry, and galatin zymography was used to measure the activities of matrix metalloproteinase-2 (MMP-2) and MMP-9. **Results:** The adhesion and invasion abilities of antisense hTR transfected BEL-7402 cells were significantly weaker than those of the blank control and sense hTR transfected groups ( $0.204 \pm 0.029$  vs  $0.505 \pm 0.037$ ,  $0.465 \pm 0.029$ ;  $34.80 \pm 3.19$  vs  $71.47 \pm 5.15$ ,  $69.87 \pm 3.11$ ; all  $P < 0.05$ ). Meanwhile, the expression of INT $\beta 1$  was also significantly decreased ( $0.153 \pm 0.016$  vs  $0.385 \pm 0.008$ ,  $0.375 \pm 0.014$ ,  $P < 0.05$ ), and E-cad was significantly increased ( $0.209 \pm 0.020$  vs  $0.124 \pm 0.018$ ,  $0.134 \pm 0.016$ ;  $P < 0.05$ ) in the antisense hTR transfected group. The activities of MMP-2 and MMP-9 were significantly inhibited in the antisense hTR transfected group ( $2054.22 \pm 138.52$  vs  $3105.56 \pm 329.60$ ,  $2923.22 \pm 269.08$ ;  $846.33 \pm 104.66$  vs  $1538.89 \pm 122.85$ ,  $1453.33 \pm 126.35$ ; all  $P < 0.05$ ). **Conclusion:** Antisense hTR can inhibit the adhesion and invasion of hepatocellular carcinoma

**[基金项目]** 山东省医药卫生科研项目 (No. 2001CA1DBA3)。Project supported by the Medical Science Research Foundation of Shandong Province (No. 2001CA1DBA3)

**[作者简介]** 文廷玉 (1984 -), 女, 河南省南阳市人, 硕士生, 主要从事肿瘤基因治疗方面的研究。E-mail: wwwtingyu@163.com

**[通信作者]** 刘吉勇 (LIU Ji-yong, corresponding author), E-mail: liujiyong@medmail.com.cn

**[网络出版]** <http://www.cnki.net/kcms/detail/31.1725.R.20110531.1700.010.html>

BEL-7402 cells, which may be related to the increase of E-cad expression, decrease of INTβ1 expression, and decrease of MMP-2 and MMP-9 activities.

[ Key words ] antisense telomerase RNA; retroviral vector; hepatocellular carcinoma; adhesion; invasion

[ Chin J Cancer Biother, 2011, 18(3): 275-279 ]

肝细胞肝癌是世界范围内最常见的恶性肿瘤之一,其恶性程度及病死率较高,发病率也有逐年增高的趋势,且发病年龄趋于年轻化<sup>[1]</sup>。其主要生物学特性是侵袭性强、易复发转移,预后差。目前,手术、放疗、化疗等各种治疗方法由于各自的局限性效果都不甚理想。因此,探索出新的有效的抑制肝癌侵袭和转移的方法具有重要的临床意义。端粒酶是目前特异性较高、应用较广的肿瘤标志物之一<sup>[2]</sup>。正常肝组织中无端粒酶活性,80%~90%肝癌组织表达端粒酶活性,端粒酶活性在肝癌侵袭、转移、复发及预后中起重要作用,可作为判断肝癌预后的指标<sup>[3,4]</sup>。因此,以端粒酶为靶点成为目前抗癌治疗研究的热点。研究<sup>[5,6]</sup>发现,上皮钙黏蛋白(epithelial cadherin, E-cad)、整合素β1(integrin β1, INTβ1)基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinase, MMP)-2、-9与肿瘤的侵袭和转移密切相关。本研究应用逆转录病毒作为载体,将反义人端粒酶RNA(human telomerase RNA, hTR)基因导入人肝癌细胞系BEL-7402中,观察肝癌细胞黏附和侵袭能力的变化,及与肝癌细胞黏附和侵袭密切相关的蛋白E-cad、INTβ1、MMP-2和MMP-9的表达及活性变化,从而探讨反义hTR对肝癌细胞系BEL-7402黏附和侵袭的影响及其作用机制,为临床肝癌的治疗奠定实验基础。

## 1 材料与方 法

### 1.1 材料与试剂

人肝癌细胞系BEL-7402由山东省立医院中心实验室保存。转染正、反义端粒酶RNA基因肝癌细胞(BEL-7402-hTR-EcoR I)和(BEL-7402-hTR-BamH I)由刘吉勇教授构建<sup>[7]</sup>,由山东省立医院中心实验室保存。鼠抗人整合素β1单克隆抗体为Santa Cruz公司产品,鼠抗人上皮性钙黏附蛋白单克隆抗体、二步法免疫组化试剂盒、DAB显色试剂盒均购自北京中杉金桥生物技术有限公司,人工基质胶matrigel为美国BD公司产品,Transwell侵袭小室为美国Corning公司产品,基质金属蛋白酶明胶酶谱法电泳分析试剂盒购自上海杰美基因公司。

### 1.2 细胞分组及培养

前期实验<sup>[8]</sup>成功构建了携带正、反义人端粒酶RNA基因的真核表达质粒(PLXSN-hTR-EcoR I和

PLXSN-hTR-BamH I),通过电穿孔法将质粒导入PT67包装细胞,重组逆转录病毒感染人肝癌细胞系BEL-7402,获得稳定转染目的基因的人肝癌细胞克隆,分别命名为BEL-7402-hTR-EcoRI和BEL-7402-hTR-BamH I细胞<sup>[7,9]</sup>。实验分为3组:(1)反义转染组(BEL-7402-hTR-BamH I);(2)正义转染组(BEL-7402-hTR-EcoR I);(3)空白对照组(BEL-7402)。3组细胞均用含有10%FBS的RPMI 1640培养基,置于37℃含5%CO<sub>2</sub>的孵箱内培养,待细胞密度达80%~90%时传代,取对数生长期细胞进行实验。

### 1.3 免疫细胞化学染色检测INTβ1、E-cad的表达水平

分别取对数生长期的3组细胞,以1×10<sup>6</sup>/孔接种到预先放置灭菌盖玻片的6孔板中,每组设3复孔待细胞接近长满盖玻片,取出玻片,4%多聚甲醛固定,采用通用型二步法,严格按照试剂盒要求操作。以PBS代替INTβ1、E-cad一抗作阴性对照。细胞质/细胞膜呈明显的棕黄色为阳性染色。结果以Image-Pro Plus v 6.0(IPP 6.0)进行图像分析,每组选取5张爬片,每张爬片选取10个视野,测定平均光密度。

### 1.4 Matrigel黏附实验检测反义hTR对BEL-7402细胞黏附能力的抑制

96孔板覆以1:3稀释的matrigel,20μl/孔,37℃聚合1h;3%BSA的RPMI 1640于37℃封闭1h。分别取对数生长期的3组细胞,以2×10<sup>4</sup>/孔接种于matrigel包被的96孔板中,每组3个复孔,培养1h;弃培养液,PBS洗去未黏附细胞,对照组不洗;每孔加新鲜无血清培养液100μl、MTT 50μg(终质量浓度5mg/ml,10μl),继续孵育4h;弃培养液,每孔加150μl DMSO振荡10~20min,酶标仪490nm波长处测吸光度(D值),计算抑制率。抑制率(%)=(对照组D值-实验组D值)/对照组D值×100%

### 1.5 体外侵袭实验检测反义hTR对BEL-7402细胞侵袭能力的抑制

在Transwell小室聚碳酸酯微孔滤膜(孔径为8μm)上均匀包被1:3稀释的matrigel,40μl/膜,37℃聚合4h;下室加入600μl条件培养液;上室加各组细胞悬液100μl(1×10<sup>5</sup>个细胞),培养24h。

取出小室,用棉签擦去膜上未侵袭的细胞及 matrigel,4%多聚甲醛固定,H-E染色,切下滤膜,中性树脂胶封片。每张膜分别计数上、下、左、右、中5个视野的细胞数,取平均值。每组细胞设3个复孔。抑制率(inhibition rate, IR;%)=(对照组侵袭细胞数-实验组侵袭细胞数)/对照组侵袭细胞数×100%。抑制率达30%以上、 $P < 0.05$ 者为有抗侵袭性。

### 1.6 明胶酶谱法分析细胞 MMP-2 和 MMP-9 活性

各组细胞以  $2 \times 10^5$ /孔接种在6孔板上,用含10% FBS的 RPMI 1640 培养基培养至80%汇合,换用含0.2% FBS的 RPMI 1640 培养基继续培养24 h,收集上清液,4℃ 10 000 ×g离心5 min去除细胞碎片,BCA法测蛋白浓度,分装,立刻进行酶谱分析或冻存于-80℃备用。均按试剂盒说明进行操作。每组细胞设3个平行样本,并多次重复实验。结果采用凝胶图像分析系统进行灰度扫描及图像分析,负染条带亮度和宽度反映了 MMP-2 和 MMP-9 的活性,以积分光密度(integral optical density, IOD)代表酶活性,进行半定量分析。

### 1.7 统计学处理

实验数据以  $\bar{x} \pm s$  表示,采用 SPSS17.0 软件进行统计分析,多组均数比较采用单因素方差分析(ANOVA),均数间的两两比较采用 LSD 法。 $P < 0.05$  或  $P < 0.01$  表示差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 反义 hTR 对 BEL-7402 细胞 INTβ1、E-cad 表达的影响

免疫细胞化学图像分析结果显示,转染反义 hTR 的 BEL-7402-hTR-BamH I 组细胞、转染正义 hTR 的 BEL-7402-hTR-EcoR I 组细胞、未转染 hTR 的 BEL-7402 组细胞 INTβ1 的表达水平分别为:  $0.153 \pm 0.016$ 、 $0.375 \pm 0.014$ 、 $0.385 \pm 0.008$ ,反义转染组 INTβ1 的表达水平比正义转染组和空白对照组 INTβ1 表达水平明显降低( $P < 0.05$ ,图1);转染反义 hTR 的 BEL-7402-hTR-BamH I 组细胞、转染

正义 hTR 的 BEL-7402-hTR-EcoR I 组细胞、未转染 hTR 的 BEL-7402 组细胞 E-cad 的表达水平分别为:  $0.209 \pm 0.020$ 、 $0.134 \pm 0.016$ 、 $0.124 \pm 0.018$ ,反义转染组 E-cad 的表达水平明显增强( $P < 0.05$ ,图2),正义转染组与空白对照组相比 INTβ1 和 E-cad 的表达均无明显差异( $P > 0.05$ ),说明反义 hTR 能显著上调 E-cad 表达,并下调 INTβ1 的表达。

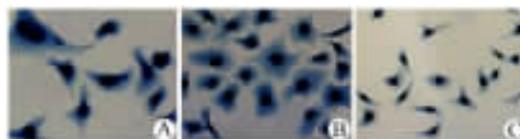


图1 反义 hTR 对 BEL-7402 细胞 INTβ1 表达的影响(IHC, ×200)

Fig. 1 Effect of antisense hTR on INTβ1 expression in BEL-7402 cells (IHC, ×200)

A: BEL-7402; B: BEL-7402-hTR-EcoR I; C: BEL-7402-hTR-BamH I

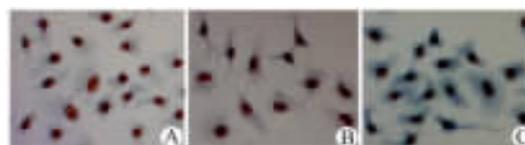


图2 反义 hTR 对 BEL-7402 细胞 E-cad 表达的影响(IHC, ×200)

Fig. 2 Effect of antisense hTR on E-cad expression in BEL-7402 cells (IHC, ×200)

A: BEL-7402; B: BEL-7402-hTR-EcoR I; C: BEL-7402-hTR-BamH I

### 2.2 反义 hTR 抑制 BEL-7402 细胞的黏附能力

MTT 检测各组细胞与 matrigel 的黏附能力,结果显示,转染反义 hTR 的 BEL-7402-hTR-BamH I 组细胞黏附能力受到明显抑制( $P < 0.05$ ),转染正义 hTR 的 BEL-7402-hTR-EcoR I 组细胞和未转染 hTR 的 BEL-7402 组细胞与 matrigel 的黏附能力无明显差异( $P > 0.05$ ,表1)。结果说明,反义 hTR 能明显抑制肝癌 BEL-7402 细胞的黏附能力。

表1 反义 hTR 抑制 BEL-7402 细胞的黏附和侵袭能力(%)

Tab. 1 Antisense hTR inhibited adhesion and invasion of BEL-7402 cells (%)

Group	Adhesion			Invasion	
	$D_{490}$	Adhesion rate	Inhibition rate	Invasion cell	Inhibition rate
BEL-7402	$0.505 \pm 0.037$	79.50	-	$71.47 \pm 5.15$	-
BEL-7402-hTR-EcoR I	$0.465 \pm 0.029$	75.73	7.83	$69.87 \pm 3.11$	2.24
BEL-7402-hTR-BamH I	$0.204 \pm 0.029^*$	48.75*	59.66**	$34.80 \pm 3.19^*$	51.31**

\*\*  $P < 0.01$ , \*  $P < 0.05$  vs BEL-7402 or BEL-7402-hTR-EcoR I

### 2.3 反义 hTR 抑制 BEL-7402 细胞的侵袭力

Transwell 小室外模拟细胞侵袭力,结果显示,转染反义 hTR 的 BEL-7402-hTR-BamHI 组细胞穿膜细胞数明显少于转染正义 hTR 的 BEL-7402-hTR-EcoR I 组细胞和未转染 hTR 的 BEL-7402 组细胞 ( $P < 0.05$ ),正义转染组和空白对照组穿膜细胞数无明显差异 ( $P > 0.05$ ,图 3、表 1),表明反义 hTR 能明显抑制肝癌 BEL-7402 细胞的侵袭力。

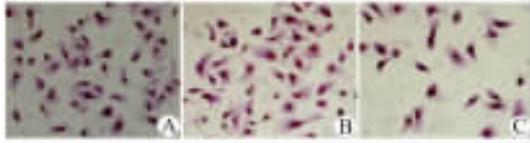


图 3 反义 hTR 抑制 BEL-7402 细胞的侵袭力( H-E, ×200 )

Fig. 3 Antisense hTR inhibited invasion of BEL-7402 cells( H-E, ×200 )

A: BEL-7402; B: BEL-7402-hTR-EcoR I ;  
C: BEL-7402-hTR-BamH I

### 2.4 反义 hTR 抑制 BEL-7402 细胞 MMP-2、MMP-9 的活性

电泳后负染条带亮度强弱和面积大小可以半定量地反映明胶酶( MMP-2 和 MMP-9)活性大小,结果显示,3 组细胞上清中均能检测到 MMP-2 和 MMP-9 活性表达,通过 IOD 值可见转染反义 hTR 的 BEL-7402-hTR-BamHI 组细胞上清中 MMP-9 和 MMP-2 活性显著低于转染正义 hTR BEL-7402-hTR-EcoRI 组细胞和未转染 hTR 的 BEL-7402 组细胞 ( $P < 0.05$ ),且各组细胞 MMP-2 活性表达均较 MMP-9 高,空白对照组和正义转染组酶谱分析结果无显著差异 ( $P > 0.05$ ,图 4、表 2),说明反义 hTR 能明显抑制肝癌 BEL-7402 细胞 MMP-2 和 MMP-9 的活性。

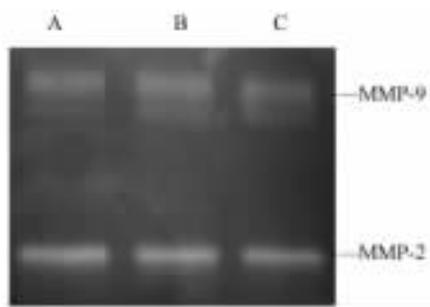


图 4 反义 hTR 抑制 BEL-7402 细胞 MMP-2、MMP-9 的活性

Fig. 4 Antisense hTR inhibited activities of MMP-2 and MMP-9 in BEL-7402 cells

A: BEL-7402; B: BEL-7402-hTR-EcoR I ;  
C: BEL-7402-hTR-BamH I

表 2 反义 hTR 抑制 BEL-7402 细胞 MMP-2、MMP-9 的活性

Tab. 2 Antisense hTR inhibited activities of MMP-2 and MMP-9 in BEL-7402 cells

Group	IOD	
	MMP-2	MMP-9
BEL-7402	3 105.56 ± 329.60	1 538.89 ± 122.85
BEL-7402-hTR-EcoR I	2 923.22 ± 269.08	1 453.33 ± 126.35
BEL-7402-hTR-BamH I	2 054.22 ± 138.52*	846.33 ± 104.66*

\*  $P < 0.05$  vs BEL-7402 or BEL-7402-hTR-EcoR I

### 3 讨论

人端粒酶是一种由 RNA 和蛋白质组成的特殊的逆转录酶,能以自身 RNA 为模板逆转录合成端粒重复序列加到染色体的末端,延长端粒,使细胞逃避凋亡,获得永久生长的特性。多数成体细胞无端粒酶活性<sup>[10]</sup>,90% 以上恶性肿瘤细胞有明显的端粒酶活性<sup>[11]</sup>。研究发现<sup>[3]</sup>,端粒酶活性的高低可能与恶性肿瘤细胞的侵袭、转移、预后有关,且恶性程度越高即越易转移的肿瘤其端粒酶的活性越高,端粒酶已成为抗癌治疗的理想靶点<sup>[12]</sup>。端粒酶抑制主要是靶向端粒酶 RNA 和端粒酶逆转录酶,方法有反义核酸技术、RNA 干扰和免疫治疗等<sup>[13]</sup>,其中反义 RNA 技术是人工合成的小片段 RNA,能与靶基因 mRNA 特异性互补结合,干扰 mRNA 的功能,从而抑制相应蛋白的表达及功能。hTR 是端粒得以延长的模板,利用反义技术封闭 hTR,消除其模板作用,达到抑制端粒酶活性进而治疗肿瘤的目的<sup>[14]</sup>。

本研究以逆转录病毒为载体,将反义 hTR 导入人肝癌 BEL-7402 细胞系,结果发现,反义 hTR 明显抑制了肝癌细胞的黏附、侵袭。端粒酶如何调节肿瘤的侵袭和转移,其机制尚不清楚。Sepideh 等<sup>[15]</sup>研究发现,端粒酶通过调节细胞的糖酵解途径,促进肿瘤的侵袭和转移;同时推测肿瘤细胞永生使其在侵袭和转移中处于生长优势。本研究前期实验<sup>[9]</sup>发现,反义 hTR 在体内、外均可诱导肝癌细胞凋亡,但需要经过多次细胞分裂,使端粒的长度缩短到一定程度才能引起细胞的凋亡。反义 hTR 即使没有很快诱导细胞凋亡,已明显抑制了肝癌细胞黏附、侵袭能力,推测其机制可能是反义 hTR 基因通过上调或下调一些与肿瘤侵袭和转移相关分子表达或活性。Liotta 等<sup>[16]</sup>提出了肿瘤侵袭转移的 3 步假说:细胞黏附、细胞外基质( extracellular matrix, ECM )的降解和细胞的迁移运动,INTβ1、E-cad、MMP-2 和 MMP-9 在这一过程中具

有重要作用。

E-cad 是钙依赖跨膜蛋白,主要介导细胞间同种黏附,在正常细胞中表达稳定而在多种上皮性肿瘤中表达降低。有文献报道<sup>[17]</sup>,E-cad 与细胞分化程度正相关,与转移能力负相关。研究<sup>[18]</sup>发现,肝癌组织中 E-cad 的表达明显低于正常肝组织;且分化越差即越易转移的肿瘤,其 E-cad 的表达越低。本研究发现,反义 hTR 使肝癌细胞 E-cad 的表达水平明显升高,细胞间的黏附性增强,从而抑制细胞脱落扩散,发生侵袭、转移。

整合素是由  $\alpha$  和  $\beta$  亚基组成的跨膜糖蛋白,主要介导细胞与 ECM 的黏附,尚可调节 MMPs 活性和信号转导<sup>[19]</sup>。国外学者<sup>[20]</sup>发现,肝癌组织中 INT $\beta$ 1 的表达明显高于正常肝组织。本研究发现,反义 hTR 下调 BEL-7402 细胞 INT $\beta$ 1 表达水平,使肝癌细胞与 ECM 的黏附力下降,侵袭和转移能力减弱。

MMPs 是一类以酶原形式分泌的锌依赖性内分泌酶,激活后可水解 ECM 中几乎所有成分。MMP-2 和 MMP-9 作为 MMPs 家族重要成员,是降解基底膜和 ECM 中 IV 型胶原的主要酶。研究<sup>[21]</sup>表明,MMPs 过表达与肿瘤侵袭和转移相关。本研究发现,反义 hTR 明显降低肝癌细胞 MMP-2 和 MMP-9 的活性,使细胞不易穿过基底膜发生转移。

综上,反义 hTR 能明显抑制肝癌细胞 BEL-7402 的黏附、侵袭能力,其机制可能与上调 E-cad 表达、下调 INT $\beta$ 1 表达,并降低 MMP-2 和 MMP-9 活性有关。但肿瘤的侵袭和转移是一个较为复杂的过程,涉及多种蛋白分子的作用,反义 hTR 也可能通过其他机制调节肝癌的侵袭、转移。随着对反义 hTR 作用机制的深入研究,反义 hTR 在肝癌的治疗方面将会有更好的应用前景。

## [ 参考文献 ]

- [ 1 ] El-Serag HB. Hepatocellular carcinoma: An epidemiologic view [ J ]. *J Clin Gastroenterol*, 2002, 35( 5 Suppl 2 ): S72-8.
- [ 2 ] Hiyama E, Hiyama K. Clinical utility of telomerase in cancer [ J ]. *Oncogene*, 2002, 21( 4 ): 643-649.
- [ 3 ] Oh BK, Kim H, Park YN, et al. High telomerase activity and long telomeres in advanced hepatocellular carcinomas with poor prognosis [ J ]. *Lab Invest*, 2008, 88( 2 ): 144-152.
- [ 4 ] Shan YS, Hsieh YH, Lin PW. Telomerase activity in tumor and remnant liver as predictor of recurrence and survival in hepatocellular carcinoma after resection [ J ]. *World J Surg*, 2007, 31( 5 ): 1121-1128.
- [ 5 ] Gao ZH, Tretiakova MS, Liu WH, et al. Association of E-cadherin, matrix metalloproteinases, and tissue inhibitors of metalloproteinases with the progression and metastasis of hepatocellular carcinoma [ J ]. *Mod Pathol*, 2006, 19( 4 ): 533-540.
- [ 6 ] Zhao G, Cui J, Qin Q, et al. Mechanical stiffness of liver tissues in relation to integrin  $\beta$ 1 expression may influence the development of hepatic cirrhosis and hepatocellular carcinoma [ J ]. *J Surg Oncol*, 2010, 102( 5 ): 482-489.
- [ 7 ] 马进财, 刘吉勇, 刘绍玲. 逆转录病毒载体介导的端粒酶抑制基因促进肝癌细胞凋亡 [ J ]. *世界华人消化杂志*, 2006, 14( 10 ): 989-992.
- [ 8 ] 王丛笑, 刘吉勇, 赵跃然, 等. 正反义人端粒酶 RNA 组分 ( hTR ) 逆转录病毒真核表达载体的构建 [ J ]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2005, 12( 1 ): 51-54.
- [ 9 ] Liu JY, Zhu Q, Li J, et al. The retrovirus-mediated antisense human telomerase RNA ( hTR ) gene limits the growth of hepatocellular carcinoma growth in cell culture and animals [ J ]. *Dig Dis Sci*, 2008, 53( 4 ): 1122-1130.
- [ 10 ] Collins K, Mitchell JR. Telomerase in the human organism [ J ]. *Oncogene*, 2002, 21( 4 ): 564-579.
- [ 11 ] Shay JW, Wright WE. Telomerase activity in human cancer [ J ]. *Curr Opin Oncol*, 1996, 8( 1 ): 66-71.
- [ 12 ] Souiden Y, Bouraoui A, Chaieb K, et al. Telomeres and telomerase as targeted therapies in cancer treatment [ J ]. *Bull Cancer*, 2010, 97( 9 ): 1087-1104.
- [ 13 ] Chen H, Li Y, Tollefsbol TO. Strategies targeting telomerase inhibition [ J ]. *Mol Biotechnol*, 2009, 41( 2 ): 194-199.
- [ 14 ] Theimer CA, Feigon J. Structure and function of telomerase RNA [ J ]. *Curr Opin Struct Biol*, 2006, 16( 3 ): 307-318.
- [ 15 ] Bagheri S, Nosrati M, Li S, et al. Genes and pathways downstream of telomerase in melanoma metastasis [ J ]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2006, 103( 30 ): 11306-11311.
- [ 16 ] Liotta LA. Tumor invasion and metastases-role of the extracellular matrix: Rhoads memorial award lecture [ J ]. *Cancer Res*, 1986, 46( 1 ): 1-7.
- [ 17 ] Zhai B, Yan HX, Liu SQ, et al. Reduced expression of E-cadherin/catenin complex in hepatocellular carcinomas [ J ]. *World J Gastroenterol*, 2008, 14( 37 ): 5665-5673.
- [ 18 ] Du GS, Wang JM, Lu JX, et al. Expression of P-aPKC-iota, E-cadherin, and beta-catenin related to invasion and metastasis in hepatocellular carcinoma [ J ]. *Ann Surg Oncol*, 2009, 16( 6 ): 1578-1586.
- [ 19 ] Makrilia N, Kollias A, Manolopoulos L, et al. Cell adhesion molecules: Role and clinical significance in cancer [ J ]. *Cancer Invest*, 2009, 27( 10 ): 1023-1037.
- [ 20 ] 赵刚, 崔静, 钦琦, 等. 肝硬化及肝癌组织中整合素  $\beta$ 1 表达的差异 [ J ]. *中华肝脏病杂志*, 2010, 18( 5 ): 353-356.
- [ 21 ] Gialeti C, Theocharis AD, Karamanos NK. Roles of matrix metalloproteinases in cancer progression and their pharmacological targeting [ J ]. *FEBS J*, 2011, 278( 1 ): 16-27.

[ 收稿日期 ] 2011-02-20

[ 修回日期 ] 2011-04-30

[ 本文编辑 ] 韩 丹