

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2010.04.001

· 专家论坛 ·

## 肝细胞癌的诱导分化治疗

谢渭芬, 许文萍(第二军医大学长征医院消化内科, 上海 200003)



谢渭芬, 医学博士。1980年考入第二军医大学海医系, 1985年毕业后分配到长征医院消化内科工作, 1995年至1998年底分别在德国马普协会生物化学研究所和美国华盛顿大学进修学习。现任第二军医大学附属长征医院消化内科主任、教授、主任医师、博士生导师, 兼任中华医学会消化病学分会委员兼秘书, 上海医学会消化病学分会副主任委员。从事消化系统疾病的临床、教学和科研工作25年, 重点开展慢性肝病及其并发症, 以及肝癌治疗的基础和临床研究。先后发表SCI收录论著40余篇, 主编《肝脏病手册》和《2006消化系统肿瘤新进展》, 副主编《现代消化病药物治疗学》。以第一完成人获上海市科技进步一等奖等成果奖4项。2008年获国家杰出青年科学基金资助, 并先后入选教育部“长江学者奖励计划”特聘教授(2009年)、新世纪百千万人才工程国家级人选(2009年)、上海市科技领军人才(2008年)和上海市优秀学科带头人(2009年)等。E-mail: weifenxie@medmail.com.cn

[摘要] 肝细胞癌是最常见的恶性肿瘤之一, 虽然其诊断和治疗有不少进展, 但其预后仍较差, 病死率较高。诱导分化治疗这一概念的提出为肝细胞癌的治疗指明了新的方向。诱导分化治疗在血液系统肿瘤治疗方面获得了成功, 其经典范例是全反式维甲酸临床治疗急性早幼粒白血病; 但是其在恶性实体肿瘤领域的进展远不如血液系统肿瘤。目前特异性的肝细胞癌诱导分化剂较少, 相关的临床应用更是有限。靶向性地针对肿瘤干细胞分化相关的信号转导通路或转录因子进行干预可能起到诱导肝细胞癌分化的效果, 例如通过上调与肝细胞分化密切相关的转录因子肝细胞核因子4 $\alpha$  (hepatocyte nuclear factor 4 $\alpha$ , HNF4 $\alpha$ )来诱导肝癌细胞, 特别是诱导肝癌干细胞向成熟阶段分化, 已初见成效。肿瘤发生发展过程中存在诸多表观遗传学异常改变, 如甲基化、乙酰化水平异常或microRNA表达异常, 有些改变与肿瘤分化密切相关, 干预这些异常改变的药物如组蛋白去乙酰化酶抑制剂对肿瘤起到一定的诱导分化作用。因此, 肿瘤干细胞学说的出现及表现遗传学的发展给肝细胞癌诱导分化治疗研究提供了具体的途径。

[关键词] 肝细胞癌; 诱导分化治疗; 肿瘤干细胞; 表观遗传学; microRNA

[中图分类号] R730.54; R735.7 [文献标志码] A [文章编号] 1007-385X(2010)04-0363-05

## Differentiation therapy for hepatocellular carcinoma

XIE Wei-fen, XU Wen-ping (Department of Gastroenterology, Changzheng Hospital, Second Military Medical University, Shanghai 200003, China)

[Abstract] Hepatocellular carcinoma (HCC) is one of the most common cancers worldwide. Despite great advances made in diagnosis and treatment of HCC, its prognosis is poor and the mortality rate remains high. Differentiation therapy introduces an attractive concept that may shed new light on HCC treatment. Differentiation therapy has been successfully used in clinical treatment of hematological tumors; and classic example is all-trans retinoic acid in the treatment of acute promyelocytic leukemia, but the clinical use of differentiation therapy in the treatment of malignant solid tumor has been limited. Up to now there have been few HCC-specific differentiation-inducing agents, and their clinical application is limited. Agents that targeting signal transduction pathway molecules or transcriptional factors associated with the differentiation of cancer stem cells may induce the differentiation of HCC. Overexpression of hepatocyte nuclear factor 4 $\alpha$ , which is a transcriptional factor closely related to the differentiation of hepatocytes, can effectively induce the differentiation of hepatoma cells, especially liver cancer stem cells. There are lots of aberrant epigenetic changes in the development and progression of tumors, such as altered methylation and acetylation as well as dysregulated expression of microRNA, and some

[基金项目] 国家杰出青年科学基金资助项目(No. 30825020)。Project supported by the National Science Foundation for Distinguished Young Scholars of China (No. 30825020)

are correlated to the differentiation of tumors. Agents targeting these epigenetic alterations such as inhibitor of histone deacetylase can induce the differentiation of tumors *in vitro* and *in vivo*. In all, the cancer stem cell theory and the development of epigenetic may cast new lights on differentiation therapy of HCC.

[ Key words ] hepatocellular carcinoma; differentiation therapy; cancer stem cell; epigenetics; microRNA

[ Chin J Cancer Biother, 2010, 17(4): 363-367 ]

肿瘤的诱导分化治疗(differentiation therapy)是指利用分化诱导剂促进恶性肿瘤细胞向成熟细胞方向分化,重建正常表型,恢复正常功能,并最终促进肿瘤细胞凋亡和抑制增殖,从而达到治愈肿瘤的目的。其理论基础是大多数恶性肿瘤处于低分化或去分化状态,具有被诱导分化的潜能。诱导分化治疗最成功的范例就是全反式维甲酸(all-trans retinoic acid, ATRA)治疗急性早幼粒白血病(acute promyelocytic leukemia, APL)<sup>[1]</sup>,其在临床上取得的良好疗效极大地推动了诱导分化治疗相关研究的发展。肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)在我国发病率较高,预后较差,尽管新的治疗措施不断出现,但其治疗效果仍不容乐观,亟需寻找更加安全、有效、高靶向性的治疗方法,而诱导分化为HCC的治疗提供了新的方向。

诱导分化治疗作为一种前景广阔的疗法吸引了大批研究者的目光,2年一届的国际诱导分化治疗大会迄今已举办了12届,但是大部分研究都集中在血液系统肿瘤上。尽管如此,近年来诱导分化治疗实体肿瘤也取得了一些进展,神经生长因子、全反式维甲酸、二甲基亚砷、维生素D3活性形式、过氧化物酶体增殖受体 $\gamma$ 、转化生长因子 $\beta$ 、维司力农(vesnarinone)等在体内和(或)体外均被证实有诱导实体肿瘤分化的效果,而且其中一些已在临床上被用来治疗实体肿瘤,但总体疗效有限<sup>[2]</sup>。就HCC而言,目前尚无特异性的分化诱导剂。在基础研究中常用的分化诱导剂多是对其他恶性肿瘤可能有效果的物质,如维甲酸类<sup>[3,4]</sup>、过氧化物酶体增殖受体 $\gamma$ <sup>[5]</sup>等。国内对肝癌诱导分化治疗的相关研究还涉及苦参碱、鳖素、桂皮酸、人参总皂甙<sup>[6]</sup>等中药制剂。总体而言,HCC诱导分化治疗尚未取得满意疗效,其根本原因可能是尚未弄清肝癌细胞发生分化的分子生物学机制,没有明确的作用靶点,无法有针对性地教育肝癌细胞“改邪归正”。目前肿瘤诱导分化治疗研究领域出现了一些新的热点,可能为肝癌的诱导分化治疗带来新的启示。

### 1 基于肿瘤干细胞理论的诱导分化治疗

肿瘤干细胞(cancer stem cell, CSC)理论的出

现为诱导分化治疗提供了新的依据。该理论推测肿瘤中存在少量干细胞样细胞亚群,它们具有无限增殖的潜能,可促进肿瘤的发生、发展<sup>[7]</sup>。CSC最先在白血病中被分离到,后来相继在乳腺癌、脑肿瘤、肺癌、结肠癌等多种实体肿瘤中被发现<sup>[8-10]</sup>。近年来,越来越多的证据表明肝癌中也可能存在肝癌干细胞<sup>[11-14]</sup>。CSC学说为肿瘤治疗提供了新的方向。传统的肿瘤治疗方法大多针对增殖较快、分化较好的肿瘤细胞,而CSC由于处于G<sub>0</sub>期阻滞<sup>[15]</sup>、高表达抗凋亡蛋白<sup>[16]</sup>等原因对传统的化疗药物不敏感。因为活性氧成分低下<sup>[17]</sup>的原因,其对放疗也不敏感,成为肿瘤复发的隐匿根源。因此,若想从源头上治疗肿瘤,则需要靶向CSC。目前针对CSC的治疗主要有两种,一种是首先确定该种细胞的特定标记,然后用特异性的药物靶向杀灭CSC;另一方法是利用特定的诱导剂诱导CSC分化,使其丧失自我更新的能力<sup>[18]</sup>。由于CSC与成体干细胞在生物学特性、信号转导通路等方面存在共性<sup>[19]</sup>,进行杀伤性治疗时很难保证完全靶向CSC而不损伤同时存在的成体干细胞,因此针对CSC的诱导分化治疗可能更安全。有学者发现细胞因子抑瘤素M(oncostatin M, OSM)可促进上皮细胞黏附因子(epithelial cell adhesion molecule, EpCAM)阳性的肝癌干细胞分化,降低肝癌干细胞相关指标表达,与传统化疗药物5-氟尿嘧啶合用,可同时对EpCAM阴性的细胞有杀伤作用,从而在体内外实验中取得更好的抑制肿瘤生长的效果<sup>[20]</sup>。因此,寻找与肝癌干细胞分化过程密切相关的基因或蛋白,并利用基因工程技术靶向性地调节其表达以诱导肝癌干细胞分化是肝癌治疗中很有前景的一项新手段。

肝细胞核因子(hepatocyte nuclear factors, HNFs)家族包括HNF1、HNF3、HNF4、HNF6以及CCAAT/增强子结合蛋白(C/EBP),是一组在肝脏优势表达的转录因子。其中HNF4 $\alpha$ 对肝细胞分化和功能维持最为关键<sup>[21]</sup>。HNFs在正常肝细胞中高表达,在HCC发生过程中表达逐渐下降。笔者课题组利用表达HNF4 $\alpha$ 的重组复制缺陷型腺病毒(AdHNF4 $\alpha$ )体外感染肝肿瘤细胞株HepG2和Hep3B,发现其肝细胞相关功能基因表达明显增强,

CSC 标志蛋白 CD133 和 CD90 阳性细胞比例显著下降, CSC 增殖、自我更新等相关基因表达亦下调, 肿瘤细胞增殖减少, 凋亡增加。在体内实验中, AdHNF4 $\alpha$  感染肝肿瘤细胞株 HepG2 和 Hep3B 可使其在小鼠体内的成瘤性完全丧失, 并显著抑制肿瘤生长<sup>[22]</sup>。上述结果初步证实上调 HNF4 $\alpha$  表达可诱导肝肿瘤细胞包括 CSC 向成熟肝细胞分化, 抑制肝肿瘤细胞在体内外的增殖, 表明这一手段很可能成为肝癌治疗的有效手段。有趣的是, 利用 AdHNF4 $\alpha$  治疗多种肝纤维化模型也取得很好的治疗效果, 并明显保护肝细胞功能<sup>[23]</sup>。由于肝癌患者大多伴有肝硬化, 利用肝细胞核因子分化治疗肝癌可同时减轻肝硬化程度, 在临床上将具有更大的应用价值。

国内针对肝癌干细胞的诱导分化治疗处于起步阶段, 国外相关研究也较少。利用 HNF4 $\alpha$  诱导肝癌分化的研究为恶性肿瘤分化治疗提供了新的策略。这一策略对其他肿瘤治疗可能也有借鉴意义, 即可利用相应的对细胞分化起重要作用的转录因子来治疗其他肿瘤<sup>[24]</sup>。但基于肿瘤干细胞的诱导分化治疗仍存在一些悬而未决的问题。肿瘤干细胞来源迄今仍未明确; 由于非肿瘤干细胞有可能转化成肿瘤干细胞, 因此单纯针对肿瘤干细胞的治疗可能并不能完全治愈肿瘤, 最好同时对肿瘤干细胞及分化较高的非肿瘤干细胞进行诱导分化<sup>[25]</sup>; HNF4 $\alpha$  可同时诱导肝癌细胞及肝癌干细胞向肝细胞分化, 但为临床提供更安全有效的诱导肝细胞核因子表达的基因工程药物, 仍需大量的工作; 传统的化疗、放疗是以最大限度地杀死肿瘤细胞为目的, 治疗后一般根据肿瘤大小来评价疗效, 而肿瘤干细胞只占肿瘤细胞的很小一部分, 靶向治疗后肿瘤体积缩小可能不甚明显, 故传统的评价疗效的指标可能不适用, 需要寻找新的有效的指标来评价其效果。

## 2 基于表观遗传学理论的诱导分化治疗

过去人们普遍认为遗传学水平的基因突变是肿瘤发生过程中的关键事件。近年来随着肿瘤研究的深入, 人们越来越认识到基因水平以外的表观遗传学改变也与肿瘤发生发展密切相关。近几年的国际诱导分化治疗会议都提到了表观遗传学与肿瘤诱导分化治疗的关系。肿瘤相关的 microRNA、DNA 甲基化等是其中的热点<sup>[26]</sup>。表观遗传学的异常改变可以使肿瘤抑制基因或与分化相关的转录因子失活, 因此通过干预异常的表观遗传学过程使失活的重要抑癌基因或转录因子重新获得功能, 也可达到诱导分化肿瘤的效果。在肝癌的发生发展过程中中

存在诸多表观遗传学异常改变<sup>[27]</sup>, 包括基因组普遍低甲基化<sup>[28]</sup>、抑癌基因启动子 CpG 岛高甲基化<sup>[29]</sup>等。抑癌基因或转录因子启动子区域的高甲基化可造成这些基因或蛋白的转录沉默, 从而促进肝癌的发生发展。目前研究较多的在肝癌中存在甲基化异常的抑癌基因有 p16<sup>[30]</sup>、胎盘型谷胱甘肽转移酶 (glutathione transferase P1, GSTP1)、Ras 相关区域家族 1A (Ras association domain family 1A, RASSF1A) 等, 而且不同肝炎病毒感染导致的肝癌可有不同的抑癌基因异常表达谱<sup>[29,31]</sup>, 提示表观遗传学异常与肝癌的病因相关, 该特点可作为个体化治疗肝癌的依据。以上的异常改变可以作为肝癌诱导分化治疗的靶点。已有学者报道组蛋白去乙酰化酶 (histone deacetylase, HDAC) 抑制剂曲古抑菌素 A 可以诱导肝癌细胞株 HepG2 和 Huh7 分化<sup>[32]</sup>。在实体恶性肿瘤的治疗中, 多种 HDAC 抑制剂如丁酸盐、辛二酰苯胺异羟肟酸 (SAHA) 等已进入临床试验, 并取得较好的效果<sup>[33]</sup>。因此, 针对表观遗传学相关酶类的药物已成为与维甲酸类药物并列的目前较为明确的对肿瘤细胞分化有诱导作用的药物<sup>[18]</sup>。但目前特异性针对肝癌表观遗传学变化的诱导分化剂仍较少, 这方面仍有待深入研究。

近年来, 基因组的转录后调控成为分子生物学研究领域的新热点, 特别是 microRNA (miRNA) 技术已成为基因调控领域的新突破。miRNA 的作用涉及细胞的分化、发育、增殖、凋亡等各个方面<sup>[34]</sup>, 并可通过影响癌基因或抑癌基因的相关通路在肿瘤的发生、发展过程中起到重要作用<sup>[35]</sup>。晚近 miRNA 在肝癌的诊断、分型、治疗、预后判断等方面已有不少进展<sup>[36-40]</sup>。但目前利用 miRNA 诱导分化治疗肝癌尚无报道。在其他实体肿瘤, 如横纹肌肉瘤中, 已有学者通过重新表达与分化相关的 miRNA 促进肿瘤细胞向成熟肌细胞分化以抑制肿瘤生长<sup>[41]</sup>。肝癌中也可能存在分化相关 miRNA 的下调, 因此上调这些 miRNA 的表达可能成为肝癌诱导分化治疗的新途径。

在肿瘤干细胞相关信号转导通路蛋白或表面标志的表达过程中也存在表观遗传学调控<sup>[42]</sup>。CD133 是肝癌干细胞的重要表面标志<sup>[43]</sup>。有研究表明转化生长因子 (transforming growth factor)  $\beta$  可以通过抑制 DNA 甲基转移酶 (DNA methyltransferases, DNMT) 1 和 3 $\beta$  使 CD133 启动子区域去甲基化, 从而调控其表达。有学者研究了与肝癌干细胞相关的 miRNA 后发现, EpCAM 阳性的肝癌干细胞中 miR-181 家族成员表达明显上调, 抑制 miR-181 的

表达可减少 EpCAM 阳性细胞的比例; miR-181 还可以直接作用于与肝细胞分化相关的转录因子, 如 CDX2、GATA6 等, 有可能成为肝癌诱导分化治疗的靶点<sup>[44]</sup>。因此, 靶向肝癌中表观遗传学异常改变也将成为肝癌诱导分化治疗的重要手段。

### 3 结 语

总之, 诱导分化剂在理论上具有特异性高、毒性低等众多优于传统抗肿瘤药物的特点, 肝癌的诱导分化治疗亦具有广阔的前景。但是目前, 肝癌特异性的诱导分化剂甚少, 诱导分化治疗肝癌的研究也不多。要提高肝癌诱导分化治疗相关研究的水平, 首先必须深入研究阻抑肝癌细胞及肝癌干细胞分化的机制, 可将重点放在异常表达的分化相关的转录因子、表观遗传学相关酶类及 miRNA 上; 明确机制后须采取安全、有效的手段, 如利用基因工程技术手段特异性调控以上与肿瘤细胞诱导分化密切相关的蛋白、分子和基因的表达, 这有可能从根本上去除肿瘤发生、发展的来源, 逆转恶性肿瘤进程; 诱导分化治疗与肝癌其他治疗方法如手术、化疗、介入等的联合使用可能起到同时清除肿瘤干细胞与一般肝癌细胞的效果, 可能进一步提高疗效。总之, 肝癌的诱导分化治疗从基础机制研究转化到临床应用仍有大量工作需要, 相信随着研究的深入, 诱导分化治疗将会在肝癌的临床治疗上发挥更大的作用。

### [ 参 考 文 献 ]

- [ 1 ] Huang ME, Ye YC, Chen SR, Chai JR, Lu JX, Zhou L, et al. Use of all-trans retinoic acid in the treatment of acute promyelocytic leukemia [ J ]. *Blood*, 1988, 72( 2 ): 567-572.
- [ 2 ] Kawamata H, Tachibana M, Fujimori T, Imai Y. Differentiation-inducing therapy for solid tumors [ J ]. *Curr Pharm Des*, 2006, 12( 3 ): 379-385.
- [ 3 ] Muto Y, Moriwaki H, Saito A. Prevention of second primary tumors by an acyclic retinoid in patients with hepatocellular carcinoma [ J ]. *N Engl J Med*, 1999, 340( 13 ): 1046-1047.
- [ 4 ] Nakanishi M, Tomaru Y, Miura H, Hayashizaki Y, Suzuki M. Identification of transcriptional regulatory cascades in retinoic acid-induced growth arrest of HepG2 cells [ J ]. *Nucleic Acids Res*, 2008, 36( 10 ): 3443-3454.
- [ 5 ] Toyoda M, Kakizaki S, Horiguchi N, Sato K, Takayama H, Takagi H, et al. Role of serum soluble Fas/soluble Fas ligand and TNF-alpha on response to interferon-alpha therapy in chronic hepatitis C [ J ]. *Gut*, 2002, 50( 4 ): 563-567.
- [ 6 ] 陈龙飞, 陈 涛. 中药诱导肝癌细胞分化研究概况 [ J ]. *中华实用中西医杂志*, 2003, 3( 16 ): 2123-2125.
- [ 7 ] Reya T, Morrison SJ, Clarke MF, Weissman IL. Stem cells, cancer, and cancer stem cells [ J ]. *Nature*, 2001, 414( 6859 ): 105-111.
- [ 8 ] Jordan CT. Cancer stem cell biology: From leukemia to solid tumors [ J ]. *Curr Opin Cell Biol*, 2004, 16( 6 ): 708-712.
- [ 9 ] Sullivan JP, Minna JD, Shay JW. Evidence for self-renewing lung cancer stem cells and their implications in tumor initiation, progression, and targeted therapy [ J ]. *Cancer Metastasis Rev*, 2010, 29( 1 ): 61-72.
- [ 10 ] Yeung TM, Gandhi SC, Wilding JL, Muschel R, Bodmer WF. Cancer stem cells from colorectal cancer-derived cell lines [ J ]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2010, 107( 8 ): 3722-3727.
- [ 11 ] Chiba T, Kita K, Zheng YW, Yokosuka O, Saisho H, Iwama A, et al. Side population purified from hepatocellular carcinoma cells harbors cancer stem cell-like properties [ J ]. *Hepatology*, 2006, 44( 1 ): 240-251.
- [ 12 ] Marquardt JU, Thorgeirsson SS. Stem cells in hepatocarcinogenesis: Evidence from genomic data [ J ]. *Semin Liver Dis*, 2010, 30( 1 ): 26-34.
- [ 13 ] Ma S, Chan KW, Hu L, Lee TK, Wo JY, Ng IO, et al. Identification and characterization of tumorigenic liver cancer stem/progenitor cells [ J ]. *Gastroenterology*, 2007, 132( 7 ): 2542-2556.
- [ 14 ] Teufel A, Galle PR. Collecting evidence for a stem cell hypothesis in HCC [ J ]. *Gut*, 2010, 59( 7 ): 870-871.
- [ 15 ] Venezia TA, Merchant AA, Ramos CA, Whitehouse NL, Young AS, Shaw CA, et al. Molecular signatures of proliferation and quiescence in hematopoietic stem cells [ J ]. *PLoS Biol*, 2004, 2( 10 ): e301.
- [ 16 ] Wang S, Yang D, Lippman ME. Targeting Bcl-2 and Bcl-XL with nonpeptidic small-molecule antagonists [ J ]. *Semin Oncol*, 2003, 30( 5 Suppl 16 ): 133-142.
- [ 17 ] Diehn M, Cho RW, Lobo NA, Kalisky T, Dorie MJ, Kulp AN, et al. Association of reactive oxygen species levels and radioresistance in cancer stem cells [ J ]. *Nature*, 2009, 458( 7239 ): 780-783.
- [ 18 ] Massard C, Deutsch E, Soria JC. Tumor stem cell-targeted treatment: Elimination or differentiation [ J ]. *Ann Oncol*, 2006, 17( 11 ): 1620-1624.
- [ 19 ] Shackleton M. Normal stem cells and cancer stem cells: Similar and different [ J ]. *Semin Cancer Biol*, 2010, 20( 2 ): 85-92.
- [ 20 ] Yamashita T, Honda M, Nio K, Nakamoto Y, Yamashita T, Takamura H, et al. Oncostatin renders epithelial cell adhesion molecule-positive liver cancer stem cells sensitive to 5-Fluorouracil by inducing hepatocytic differentiation [ J ]. *Cancer Res*, 2010, 70( 11 ): 4687-4697.
- [ 21 ] Watt AJ, Garrison WD, Duncan SA. HNF4: A central regulator of hepatocyte differentiation and function [ J ]. *Hepatology*, 2003, 37( 6 ): 1249-1253.
- [ 22 ] Yin C, Lin Y, Zhang X, Chen YX, Zeng X, Yue HY, et al. Differentiation therapy of hepatocellular carcinoma in mice with recombinant adenovirus carrying hepatocyte nuclear factor-4alpha gene [ J ]. *Hepatology*, 2008, 48( 5 ): 1528-1539.
- [ 23 ] Yue HY, Yin C, Hou JL, Zeng X, Chen YX, Zhong W, et al. Hepatocyte nuclear factor-4alpha attenuates hepatic fibrosis in rats [ J ]. *Gut*, 2010, 59( 2 ): 236-246.
- [ 24 ] Yin C, Xie WF. Differentiation therapy with transcription factors

- might present as an ideal strategy for the treatment of cancer [ J ]. *Hepatology*, 2009, 50( 6 ): 2046-2047.
- [ 25 ] Gupta PB, Onder TT, Jiang G, Tao K, Kuperwasser C, Weinberg RA, et al. Identification of selective inhibitors of cancer stem cells by high-throughput screening [ J ]. *Cell*, 2009, 138( 4 ): 645-659.
- [ 26 ] Delva L, Zelent A, Naoe T, Fenaux P, Waxman S, Degos L, et al. Meeting report: The 11th international conference on differentiation therapy and innovative therapeutics in oncology [ J ]. *Cancer Res*, 2007, 67( 22 ): 10635-10637.
- [ 27 ] Tischoff I, Tannapfe A. DNA methylation in hepatocellular carcinoma [ J ]. *World J Gastroenterol*, 2008, 14( 11 ): 1741-1748.
- [ 28 ] Kim MJ, White-Cross JA, Shen L, Issa JP, Rashid A. Hypomethylation of long interspersed nuclear element-1 in hepatocellular carcinomas [ J ]. *Mod Pathol*, 2009, 22( 3 ): 442-449.
- [ 29 ] Nishida N, Nagasaka T, Nishimura T, Ikai I, Boland CR, Goel A. Aberrant methylation of multiple tumor suppressor genes in aging liver, chronic hepatitis, and hepatocellular carcinoma [ J ]. *Hepatology*, 2008, 47( 3 ): 908-918.
- [ 30 ] Csepregi A, Ebert MP, Röcken C, Schneider-Stock R, Hoffmann J, Schulz HU, et al. Promoter methylation of CDKN2A and lack of p16 expression characterize patients with hepatocellular carcinoma [ J ]. *BMC Cancer*, 2010, 10: 317.
- [ 31 ] Feng Q, Stern JE, Hawes SE, Lu H, Jiang M, Kiviat NB. DNA methylation changes in normal liver tissues and hepatocellular carcinoma with different viral infection [ J ]. *Exp Mol Pathol*, 2010, 88( 2 ): 287-292.
- [ 32 ] Yamashita Y, Shimada M, Harimoto N, Rikimaru T, Shirabe K, Tanaka S, et al. Histone deacetylase inhibitor trichostatin A induces cell-cycle arrest/apoptosis and hepatocyte differentiation in human hepatoma cells [ J ]. *Int J Cancer*, 2003, 103( 5 ): 572-576.
- [ 33 ] Gilbert J, Baker SD, Bowling MK, Grochow L, Figg WD, Zabelina Y, et al. A phase I dose escalation and bioavailability study of oral sodium phenylbutyrate in patients with refractory solid tumor malignancies [ J ]. *Clin Cancer Res*, 2001, 7( 8 ): 2292-2300.
- [ 34 ] Varnholt H. The role of microRNAs in primary liver cancer [ J ]. *Ann Hepatol*, 2008, 7( 2 ): 104-113.
- [ 35 ] Ventura A, Jacks T. MicroRNAs and cancer: Short RNAs go a long way [ J ]. *Cell*, 2009, 136( 4 ): 586-591.
- [ 36 ] Budhu A, Jia HL, Forgues M, Liu CG, Goldstein D, Lam A, et al. Identification of metastasis-related microRNAs in hepatocellular carcinoma [ J ]. *Hepatology*, 2008, 47( 3 ): 897-907.
- [ 37 ] Ladeiro Y, Couchy G, Balabaud C, Bioulac-Sage P, Pelletier L, Rebouissou S, et al. MicroRNA profiling in hepatocellular tumors is associated with clinical features and oncogene/tumor suppressor gene mutations [ J ]. *Hepatology*, 2008, 47( 6 ): 1955-1963.
- [ 38 ] Lu J, Getz G, Miska EA, Alvarez-Saavedra E, Lamb J, Peck D, et al. MicroRNA expression profiles classify human cancers [ J ]. *Nature*, 2005, 435( 7043 ): 834-838.
- [ 39 ] Kota J, Chivukula RR, O' Donnell KA, Wentzel EA, Montgomery CL, Hwang HW, et al. Therapeutic microRNA delivery suppresses tumorigenesis in a murine liver cancer model [ J ]. *Cell*, 2009, 137( 6 ): 1005-1017.
- [ 40 ] Ji J, Shi J, Budhu A, Yu Z, Forgues M, Roessler S, et al. MicroRNA expression, survival, and response to interferon in liver cancer [ J ]. *N Engl J Med*, 2009, 361( 15 ): 1437-1447.
- [ 41 ] Tauli R, Bersani F, Foglizzo V, Linari A, Vigna E, Ladanyi M, et al. The muscle-specific microRNA miR-206 blocks human rhabdomyosarcoma growth in xenotransplanted mice by promoting myogenic differentiation [ J ]. *J Clin Invest*, 2009, 119( 8 ): 2366-2378.
- [ 42 ] Marquardt JU, Factor VM, Thorgerirsson SS. Epigenetic regulation of cancer stem cells in liver cancer: Current concepts and clinical implications [ J ]. *J Hepatol*, 2010 ( in press ).
- [ 43 ] Mishra L, Banker T, Murray J, Byers S, Thenappan A, He AR, et al. Liver stem cells and hepatocellular carcinoma [ J ]. *Hepatology*, 2009, 49( 1 ): 318-329.
- [ 44 ] Ji JF, Yamashita T, Budhu A, Forgues M, Jia HL, Li CL, et al. Identification of microRNA-181 by genome-wide screening as a critical player in EpCAM-positive hepatic cancer stem cells [ J ]. *Hepatology*, 2009, 50( 2 ): 472-480.

[ 收稿日期 ] 2010 - 06 - 28

[ 修回日期 ] 2010 - 07 - 06

[ 本文编辑 ] 王莹

## 本期广告目次

沈阳三生制药有限责任公司 .....	封二
德国美天旆生物技术有限公司 .....	封三
碧迪医疗器械有限公司 .....	封四
上海先声药业有限公司 .....	前插页 I
上海医元生物基因发展有限公司 .....	前插页 II