

人肝癌细胞株的特性及其实验应用

农宜熙, 黄俊玲, 黄赞松, 周喜汉

农宜熙, 黄俊玲, 黄赞松, 周喜汉, 右江民族医学院消化疾病研究所 附属医院消化内科 广西壮族自治区百色市 533000

农宜熙, 在读硕士, 主要从事肝癌基础与临床研究.

基金项目: 广西自然科学基金资助项目, Nos. 桂财教2014GXNSFAA118143, 桂科自0542119; 广西高校优秀人才基金资助项目, No. 桂教人20077029; 广西卫生厅课题基金重点基金资助项目, No. 桂卫重200887; 广西高校桂西地区高发防治研究重点实验室开放课题, No. kft2016009.

作者贡献分布: 本文由黄赞松提出选题和研究构思、指导论文写作、提供研究经费、审阅修改论文及审校; 农宜熙负责撰写文章初稿与修改补充资料; 黄俊玲参与文献查找和整理资料; 周喜汉指导论文写作、审校部分内容.

通讯作者: 黄赞松, 教授, 主任医师, 533000, 广西壮族自治区百色市右江区城乡路98号, 右江民族医学院消化疾病研究所, 附属医院消化内科. 1019846481@qq.com
电话: 0776-2846532

收稿日期: 2016-10-10
修回日期: 2016-11-07
接受日期: 2016-11-14
在线出版日期: 2017-01-18

Characteristics and experimental applications of human hepatocellular carcinoma cell lines

Yi-Xi Nong, Jun-Ling Huang, Zan-Song Huang, Xi-Han Zhou

Yi-Xi Nong, Jun-Ling Huang, Zan-Song Huang, Xi-Han Zhou, Institute of Digestive Diseases, Youjiang Medical University for Nationalities; Department of Gastroenterology, the Affiliated Hospital of Youjiang Medical University for Nationalities, Baise 533000, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China

Supported by: Natural Science Foundation of Guangxi Zhuang Autonomous Region, Nos. 2014GXNSFAA118143 and 0542119; the Higher Talents Funded Projects of Guangxi, No. 20077029; the Key Project of Foundation of

Health Department of Guangxi, No. 200887; Open Project of Guangxi College and University Key Laboratory of Guixi-Area High-Incidence Diseases for the Research of the Prevention and Treatment, No. kft2016009.

Correspondence to: Zan-Song Huang, Professor, Chief Physician, Institute of Digestive Diseases, Youjiang Medical University for Nationalities; Department of Gastroenterology, the Affiliated Hospital of Youjiang Medical University for Nationalities, 98 Chengxiang Road, Youjiang District, Baise 533000, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China. 1019846481@qq.com

Received: 2016-10-10
Revised: 2016-11-07
Accepted: 2016-11-14
Published online: 2017-01-18

Abstract

At present, primary hepatocellular carcinoma (HCC), a malignant tumor with a high incidence rate in China, is associated with a high mortality rate as well as a treatment dilemma. The research on HCC is always a hot topic. However, due to ethical considerations, research on HCC cannot directly be done in humans. The establishment of human HCC cell line model has overcome this obstacle. Derived from the tissue of human HCC, HCC cell lines have a complete set of human genes and relatively stable passages. This paper introduces the origins and characteristics of cell lines commonly used in experiments, such as SMMC7721, Bel-7402, MHCC97, HepG2, Hep3B, Huh-7, and PLC/PRF/5, as well as their roles and applications in HCC research.

© The Author(s) 2017. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Human hepatocellular carcinoma cell line; Primary hepatocellular carcinoma; Characteristic; Experiment application

■背景资料
原发性肝癌是我国高发的恶性肿瘤, 死亡率高, 治疗困难, 对其研究一直是热点. 然而, 考虑到人道主义精神, 肝癌相关研究无法直接在人体上进行. 人肝癌细胞株的建立解决了这一难题, 因其来源于人肝癌患者组织, 具有一套完整的人体遗传基因, 故具有与原肝癌细胞相似的特性, 且传代过程中未发生生物学改变, 特性稳定, 无限传代的特性, 传代较稳定, 是目前研究肝癌较为理想的实验对象. 所以, 在开展基础实验研究前对人肝癌细胞株进行深入的了解具有实用意义.

■同行评议者
范学工, 教授, 中南大学湘雅医院感染病科; 刘起胜, 副教授, 湖南中医药大学高等专科学校基础医学部微生物教研室; 朱小三, 主治医师, 厦门大学附属成功医院消化内科

■ 研发前沿

人肝癌细胞株是肿瘤基础研究的对象, 然而如何选择理想的细胞株时常困扰着广大实验者, 故掌握常见的实验相关人肝癌细胞株的生物学特性、特点、优势变得极其重要。

Nong YX, Huang JL, Huang ZS, Zhou XH. Characteristics and experimental applications of human hepatocellular carcinoma cell lines. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2017; 25(2): 159-165 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v25/i2/159.htm> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v25.i2.159>

摘要

当前, 原发性肝癌是我国高发的恶性肿瘤, 死亡率高, 治疗困难, 对其研究一直是热点。然而, 考虑到人道主义精神, 肝癌相关研究无法直接在人体上进行。人肝癌细胞株模型的建立打破了这一瓶颈, 其来源于人肝癌患者组织, 具有一套完整的人体遗传基因, 传代较稳定, 是合适的实验对象。本文介绍了目前实验中常用的人肝癌细胞株SMMC7721、Bel-7402、MHCC97、HepG2、Hep3B、Huh-7、PLC/PRF/5的来源、特性, 与肝癌细胞株的优势、作用、实验应用, 希望能有助于该领域的研究。

© The Author(s) 2017. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

关键词: 人肝癌细胞株; 原发性肝癌; 特性; 实验应用

核心提要: 本文较系统地介绍了实验室中常用的人肝癌细胞株的生物学特性、特点、优势及实验应用, 为肝癌的基础实验研究及临床研究提供参考, 对涉及肝脏疾病的生命科学研究有很好的参考和指导作用, 特别是对于初进实验室的硕士生有很好的帮助。

农宜熙, 黄俊玲, 黄赞松, 周喜汉. 人肝癌细胞株的特性及其实验应用. *世界华人消化杂志* 2017; 25(2): 159-165 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v25/i2/159.htm> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v25.i2.159>

0 引言

肝癌细胞株是通过克隆培养法或通过筛选培养法从肝癌病理组织中分离出单细胞后, 由单个细胞不断分裂增殖形成的细胞群, 具有与原代组织极为相似的特性和人体完整的遗传基因, 并能稳定传代。人肝癌细胞株因其分离来源的亲本患者不同故名称各异, 所以根据它的来源不同而命名的细胞株称为人肝癌细胞系。自上世纪50年代末世界上第1例大鼠肝癌细胞系建立^[1], 迄今国内外已成功培育上百株肝癌细胞系^[2]。我国第1例人体肝癌细胞系于1960

年代建立^[3-7], 随后不断建成一系列具有不同特性的细胞系。这些肝癌细胞系已在肝癌疾病相关的病因、发生机制、诊断、治疗、药物筛查、动物实验等方面的医学研究中被广泛应用。因肝癌细胞株具有与原肝癌细胞相似的特性, 即传代过程中未发生生物学改变、特性稳定、无限传代的特点, 为肝癌的研究提供较为理想的体外模型, 成为肝癌疾病研究中除动物实验外的又一宠儿。然而, 关于各细胞系特点归纳总结的文章很少。我们通过复习国内外文献资料, 对国内较为常用的几株人肝癌细胞系的特性、优势及其在实验中的应用进行整理, 为肿瘤学者实验研究提供参考。

1 人肝癌细胞系的来源及特性

王勇姿等^[3]在其文献中总结出了三种肝癌细胞系: 化学诱导肝癌细胞系、土拨鼠肝癌细胞系和人肝癌细胞系。但就三者相较, 人肝癌细胞系也可作为化学诱变剂诱发肝癌的实验对象, 它的研究结果比用动物肝癌细胞系作为材料的研究结果与人体内肝癌环境更接近, 更能反映人体内肝癌的信息。故对目前常见人肝癌细胞系SMMC-7721、Bel-7402、MHCC97、HepG2、Hep3B、Huh-7 and PLC/PRF/5进行整理介绍。

1.1 SMMC-7721人肝癌细胞株 SMMC-7721细胞系是由我国第二军医大学董荣春等^[4]于1977年建立, 材料取自一名50岁男性原发性肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)患者的手术切除标本进行体外培养而得。其生物学特性如下: 细胞系生长较迅速稳定, 在原代细胞开始传代阶段增殖缓慢, 以后趋于稳定而迅速生长; 细胞形态为上皮样; 贴壁生长; 细胞的亚微结构形态符合癌细胞的一般特征; 甲胎蛋白(α -fetoprotein, AFP)免疫荧光染色呈阳性; LDH同工酶谱的变化与肝癌细胞的一般特征一致; 免疫缺陷小鼠体内可成瘤率高, 动物异种后瘤结节经病理切片检查, 其组织形态和原手术切除标本类似。

1.2 Bel-7402人肝癌细胞株 Bel-7402是由我国陈瑞铭于1974年建立^[5,6], 来源于一位53岁男性肝癌患者的手术切除标本, 属于HCC。生物学特性如下: 细胞增长迅速而恒定, 6-7 d可传代1次; 细胞形态以多边形上皮样占绝大多数; 贴壁生长; 细胞染色体中有一大而长的近端着丝

点染色体, 出现频率高, 是本株细胞的标记染色体; AFP免疫荧光反应阳性; LDH、G6PD、TAT等酶代谢及细胞的超微结构基本上保持临床人体肝癌的特性; 异种接种后成瘤率高, 3-4 d可成瘤, 瘤块组织学病理与临床HCC相近。

1.3 MHCC97人肝癌细胞株 该细胞系由上海医科大学中山医院建立, 将一名我国39岁男性HCC患者的肝右叶转移病灶的手术切除标本接种于裸鼠肝内建造出人肝癌裸鼠转移模型(LCI-D20)而得。已证实, 经过再次分离得到的MHCC97H、MHCC97L及HCCLM3 3种细胞株, 依据它们的转移特点, 虽来源同一父系, 但具有异质性, 即具有不同的转移潜能。MHCC97人肝癌细胞系是田健等^[7]在1998年从裸鼠人肝癌转移模型(LCI-D20)体外传代培养获得, 该细胞系符合一般人恶性肿瘤的病理学和遗传学特征, 细胞呈上皮样, 贴壁生长, 血清HBsAg、AFP高表达, 成瘤率高且优先转移的靶器官是肺, 肺转移率100%, 故证实该细胞系为高转移特性的人肝癌细胞系。2001年, Li等^[8,9]从MHCC97细胞系中发现并分离出不同转移潜能的2个细胞系MHCC97-H和MHCC97-L, 前者肺转移率100%, 后者40%; 从生长速度上, 前者细胞倍增时间较后者短; 穿透人工基底膜能力前者较后者大; 前者均较后者活力强、代谢旺。传代至20代后, 两种形态学特征及生长速度方面均较稳定。之后又从MHCC97-H裸鼠接种后成功得到更高转移潜能的HCCLM3细胞系, 形态与前两者相似; 贴壁生长; 免疫细胞化学AFB阳性, HBsAg阴性; 异种移植致瘤率100%, 转移率为100%腹壁转移、70%隔膜转移、100%肝内转移、100%肺转移。

1.4 HepG2人肝母细胞瘤 1979年, Aden等^[10]和Morris等^[11]从阿根廷一名15岁高加索男孩的原发性肝胚细胞瘤中分离出并建立, 该细胞系呈上皮样; 贴壁抱团生长; 生长较快, 传代周期为1-2 d; 低转移; 裸鼠中成瘤率较差; AFP阳性; HBsAg阴性, 然而目前尚未证明该细胞中有乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)基因组; 但通过实验已证实, 该细胞系分化程度较高^[12,13], 细胞里代谢酶的生物转化特性较完整, 不需加入外源性活化系统^[14-18]。在药物作用相关研究中代谢酶保持稳定, 不会因传代次数增多而有所改变^[19-21], 所含有的生物转化代谢酶与人

正常肝实质细胞同源, 因此, 常被用于体外肝细胞代谢或遗传毒性试验方面的理想细胞系。其中, HepG2.2.15是目前应用较为广泛的细胞株, 它是HepG2的衍生物, 即用2个头尾相连的HBV DNA全基因的重组质粒转染受体细胞HepG2而得, 可在体外无性繁殖, 能够长期稳定的分泌HBsAg、HBeAg和完整的Dane颗粒, 产生大量的复制中间体, 是体外筛选抗HBV药物的良好模型, 并用于抗HBV新药开发的体外研究工具。

1.5 Hep3B人肝癌细胞株 Hep3B由Morris等^[11]分离自8岁美国黑人男童的肝癌组织。细胞形态跟HepG2类似, 呈上皮细胞, 电镜下观察胞浆里面很多粗大的黑颗粒, 同样喜抱团贴壁生长; 其在裸鼠中能致瘤, 但基本不转移。HBV阳性, 这与HepG2不同, 这株细胞整合了完整的HBV基因组^[22]。可用于HBV感染后发展致癌相关研究。

1.6 Huh-7人肝癌细胞株 该细胞系由Nakabayshi等^[23]于1982年从一名患有肝癌的57岁日本男性肝癌组织标本上培养而得。该细胞AFP阳性^[24], 高度分化, 细胞呈上皮样, 贴壁生长。特点是HBV阴性, 而具有丙型肝炎病毒(hepatitis C virus, HCV)易感性^[25], 故可用于HCV与肝癌的关系的研究。除了用于研究致癌性, 还用于基因表达的调节机制、新陈代谢及VLDL的分泌等。此细胞系的特别之处如下: 可用于生产重组蛋白如促红细胞生成素; 在蛋白质生物学方面用于研究在肝细胞内复制的登革病毒; 广泛用于异种移植动物模型。

1.7 PLC/PRF/5人肝癌亚历山大细胞 PLC/PRF/5人肝癌亚历山大细胞由Alexander等^[26]于1976年建系, 细胞来自一位患有原发性HCC的莫桑比克男性患者的标本; 为上皮样贴壁生长; AFP阳性^[24], 不产生白蛋白; 分泌ad亚型的HBsAg而不产生HBcAg或HBeAg和Dane颗粒, 却可维持HAV的繁殖; 该细胞可能含有全部HBV基因组, 同工酶谱及核型与人类同源; 裸鼠异种移植可致瘤。此细胞系因其产生HBsAg的物理化学和免疫化学特性跟HBV携带者血清中HBsAg相似, 因此, 可被用来研究HBV体外病毒及其与原发性肝癌的关联, 抗HBV疫苗所需的HBsAg颗粒的制备及抗病毒药物的制备等方面^[27]。

□相关报道
肝癌耐药性及肝癌干细胞等研究成为近年来的研究热点。国内李萍等开展了姜黄素逆转人肝癌耐药细胞株Bel-7402/5-Fu多药耐药性的实验研究, 作者研究团队的王炜等做了苦参素逆转人肝癌细胞株HepG2/ADM多药耐药的作用研究。

创新盘点

本文较系统地介绍了常用人肝癌细胞株的生物学特性、特点、优势及其实验应用, 为肝癌基础研究人员应用人肝癌细胞株的选择提供参考, 对临床研究也有一定指导意义。

2 人肝癌细胞系的优势及作用

目前所建细胞系的细胞形态、生长特性、生物功能等大体相似, 虽基因组、基因表达谱、分泌的各细胞因子、免疫逃避的机制、分化程度的高低及耐药机制等存在一定差异, 但仍有其优势, 首先, 在选择实验对象的比较上, 人肝癌细胞系相较于人原代肝细胞, 克服了人原代肝细胞来源困难、实验难控制、存活时间短的局限, 肝癌细胞系为已获得的稳定传代的细胞, 具有来源方便、操作简单、条件可控和可重复等优点, 是用于肝癌疾病相关研究的理想对象。同样, 相较于在动物实验平台进行肝癌相关的实验, 因动物培养时间及建立目的模型耗时相对较长, 生存条件不易控制, 而肝癌细胞系却有培养时间短, 一般传代周期为2-3 d, 生长环境易控制的特点, 故在肝癌细胞系研究平台上具有用时短, 条件易控的优点。

其次, 肝癌细胞系均选择来源于确诊肝癌患者的病理组织, 具有与肝癌患者体内相似的遗传基因组, 其发生发展机制、功能蛋白表达、病毒复制能力、侵袭转移功能及抗药性等, 具有与人类亲源体极其相近的特点。故在肝癌细胞株的研究平台上, 通过科学的实验技术, 如单纯细胞培养、基因/病毒转染技术、建立异种移植动物模型、干细胞分离培养和耐药株培养等技术, 人肝癌细胞系适合应用于肝癌各领域的研究。

3 人肝癌细胞系的应用

据人肝癌细胞系的特点, 人肝癌细胞系在生物学特征上有其共性也有其差异性, 研究者通过科学的实验方法运用其特性及优势在肝癌疾病领域上的探索, 主要应用在以下几个方向。

3.1 用于肝癌疾病相关因子的研究 肝癌细胞合成及分泌一些物质, 如蛋白质、酶、免疫因子、基因、糖类、细胞表位(特异性标志物)等。据报道, 用于该类研究的细胞株未予特殊的人工处理, 直接应用于基础研究, 因此类细胞株在体外培养时, 能维持同体内肝癌细胞合成及分泌各种正常或异常蛋白和特有的酶^[28], 且在传代过程中具有稳定性, 并未改变其生物学特性, 故它具有在分泌的产物上与原人体肝癌组织相似的特点, 因此可用于筛选出有潜在价值的肝癌标志物, 提高疾病的诊断和预防水平, 在临床运用上有其重要意义。遗传分子层

面上的研究发现, 肝癌的发生、发展与多基因相互作用有关, 作用机制尚不清楚。利用人肝癌细胞株研究发现, 肝癌细胞系Hep3B存在*fhit*基因的染色体异常, 随后许荣华等^[29]通过体外转染人肝癌细胞Hep3B, 以探究*fhit*基因在人肝癌细胞增殖或凋亡中的作用。同样, 非编码小分子RNA的出现, 是肿瘤发生机制在基因层面上的扩展, El-Garem等^[30]发现微小RNA(microRNA, miRNA)-221可作为HCV后肝癌早期诊断的特异性标志物。庞新亚等^[31,32]在人肝癌细胞株HepG2、Huh-7及MHCC97上, 探讨miRNA-221和miRNA-222在这3株细胞中的表达情况。

3.2 用于肝癌与病毒性肝炎的研究 根据流行病学研究, 我国肝癌的发生与HBV感染密切相关。近年来, HCV发展成肝癌的发病率亦逐渐升高。庄辉^[33]通过运用人肝癌细胞株研究HBV与原发性肝癌发生发展的关系。运用肝癌细胞系可连续培养且稳定繁殖的特点体外制备大量肝炎疫苗, 目前国际上公认的可以稳定复制和分泌HBV病毒颗粒的细胞系为HepG2.2.15细胞系和Hep AD38细胞系, 通过大量长期体外培养并增殖该肝癌细胞进而大量提取抗病毒保护性抗体和疫苗。不仅如此, 人肝癌细胞系又可应用于分离、培养和感染甲型肝炎病毒、HCV等, 宋志强等^[34]利用SMMC-7721细胞系建立了能够体外长期复制HCV并接近人体内自然感染HCV病毒状态的感染细胞模型, 并发现此模型可用于初步筛选HCV抗体和疫苗, 及用于抗病毒药物的评价。在之后的研究中, 宋志强等^[35]还发现HepG2细胞在体外培养也可对HCV易感, 同样支持HCV的体外复制。周小军^[36]利用Huh-7细胞采用HDAd介导HCV全基因组感染的新技术, 建立了可稳定连续传代, 并能有效支持HCV复制及高效滴度感染性HCV产生的细胞模型, 此模型也可用来评价α干扰素等抗病毒药物的疗效。

3.3 用于异种异体肝癌细胞移植 肝癌细胞株除了可以在细胞层面上进一步研究, 还可将肝癌细胞株移植到动物体内建立动物模型。肝癌动物模型中使用最广泛的动物是裸鼠, 人裸鼠移植模型是最接近人类肝癌的体内实验模型, 可直接用于研究肝癌的生物学特性及其发病机制。目前在此领域上应用最多的是HepG2、

Hep3B、SMMC-7721和HuH7. 所建成的动物模型因具有丰富血供的特点和生长行为与人类肝癌相似的特性, 通过移植后的动物模型可研究肝癌侵袭和转移情况、血供特点、影像学诊断、病理组织形态以及介入治疗疗效等. 谢亮海^[37]用HepG2建立HepG2-GFP裸鼠皮下移植瘤模型, 研究miR-122对裸鼠肝癌移植瘤生长的作用. 鲁光平等^[38-40]探讨沙度力胺对SMMC7702裸鼠移植瘤的生长情况. 李雁^[41]通过MHCC97细胞系探讨该细胞系中具有不同转移潜能细胞亚群的转移机制. 胡高裕等^[42]用HepG2建立人肝癌细胞裸鼠移植瘤模型, 应用于苦参碱的抑瘤作用观察. 通过人肝癌细胞株还可探索各肝癌细胞系在动物模型中的成瘤率、侵袭情况及复发发现象等.

3.4 用于肝癌耐药性的研究 肿瘤多药耐药是肿瘤化疗的主要障碍. 智星等^[43]建立人HCC耐阿霉素亚株SMMC-7721/ADM, 发现SMMC-7721/ADM不仅提高了对ADM的耐药性, 同时对长春新碱及顺铂的抗药性也有所提高, 此耐药株具有稳定的耐药细胞的基本特征. 翟宝进等^[44]建成人肝癌细胞多药耐药模型HepG2/ADM, 结果发现HepG2/Adm对阿霉素的耐药指数是亲本细胞的26倍, 且该细胞对多种抗肿瘤药物耐药. 近来有应用肝癌细胞株研究逆转肿瘤耐药作用, 如曹仕琼等^[45]和李萍^[46]的研究结果表明姜黄素可降低原本已经发生多药耐药的Bel-7402/5-FU细胞系的耐药作用. 王炜等^[47]利用中药苦参素, 在体外作用人肝癌耐药细胞株HepG2/阿霉素后, 结果显示苦参素有逆转阿霉素对肝癌细胞株的多药耐药作用.

3.5 用于肝癌干细胞的研究 最近几年, 肿瘤干细胞学说^[48]提出后备受关注, 认为肿瘤干细胞是肿瘤复发和转移的根源. 已有研究利用流式细胞技术在肝癌细胞系中分离筛选出肿瘤干细胞, 并对其特性进行研究. 利用不同人肝癌细胞系筛查肝癌干细胞表面标志物, 以期找出敏感性或特异性高的表面标志物. 冯冬峰^[49]发现, CD133和CD24可以作为分离肝癌干细胞的表面标志物. 闫伟伟^[50]研究后发现肝癌干细胞Hep-12细胞具有特异性表面标志物CD34、CD117、AFP及P53, 其表达的CD34、CD117、AFP及P53抗原比普通肝癌细胞HepG2、Hep-11细胞表达高. 莫文秀^[51]通过利用MHCC97H和Bel7402-V3为细胞模型, 发

现单抗15B7是可识别肝癌干细胞的单抗. SP细胞又称为侧群细胞, 被认为可能是筛选肿瘤干细胞或前体细胞的重要标志. 该细胞由Goode^[52]发现, 认为其与干细胞非常一致, 都有很强的自我更新能力和增殖分化能力, 已经成为近年来肝癌干细胞研究的热点. 如Chiba等^[53]在肝癌细胞系Huh7和PLC/PRE/5中分选出SP细胞, Shi等^[54]在人肝癌细胞系HCCLM3、MHCC97-H、MHCC97-L和Hep3B中也分离到了SP细胞, 并发现SP细胞的比例高低与细胞系本身的转移能力成正相关.

4 结论

目前国内外已建立出多种具有类似人体肝癌演变特性的肝癌细胞系, 并已被广泛应用于肝癌疾病相关研究, 但仍未能建成达到与临床人体肝癌演变完全一致的模型, 故在开展实验前深入的了解肝癌细胞系的特点及其局限性, 对正确选择合适的实验对象尤为重要. 虽同前述, 人肝癌细胞系有其优点, 但随着研究的深入, 我们发现在应用肝癌细胞系进行实验研究的过程中仍存在其局限性^[3]: (1)不同来源的细胞株是否能够代表同一类肝癌患者的整个病情变化, 目前未有此类报道; (2)肝癌细胞株体外培养条件与人体微环境仍有差别, 不能完全等同于人体微环境; (3)受培养环境的影响, 随着传代次数的增多, 细胞株有突变可能, 改变原有特性, 失去其本质意义; (4)已有多篇文献报道, 应用人肝癌细胞株在体外及动物体内进行实验后, 出现与临床实验结果不相一致的情况. 虽如此, 大多数肿瘤研究学者仍认同它是肝癌早期实验研究的基础, 它的建立促进了肝癌细胞分子生物学和药物筛选研究的发展, 同时弥补医学伦理学不能直接在人体进行实验研究的不足. 针对其存在的不足, 建立更稳定、更接近人体肝癌演变过程的人肝癌细胞系显得尤为重要, 如HepG2.2.15和HepG2.2.16^[55]等应运而生. 随着人肝癌细胞株领域的不断扩展和深入, 研究者正迈向并努力达到模拟临床人体肝癌发生、发展及治疗过程的目的, 最终实现将实验成果运用到临床诊治上的愿望, 造福人类.

5 参考文献

- 1 汤钊猷主编. 现代肿瘤学. 上海: 上海医科大学出版社, 1986: 177-188
- 2 Tang ZY, Sun FX, Tian J, Ye SL, Liu YK, Liu KD,

应用要点

人肝癌细胞株的生物学特性、特点大部分相似, 但仍存在不同之处, 故在实验应用上选择不同, 本文通过介绍常用的几株肝癌细胞株, 为研究者在研究肝癌时选择理想的实验对象提供参考.

■名词解释

肝癌细胞株: 是通过克隆培养法或通过筛选培养法从肝癌病理组织中分离出单细胞后, 由单个细胞不断分裂增殖形成的细胞群, 具有与原代组织极为相似的特性, 且具有人体完整的遗传基因, 并能稳定传代。

- Xue Q, Chen J, Xia JL, Qin LX, Sun SL, 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 [PMID: 11819839 DOI: 10.3748/wjg.v7.i5.597]
- 3 王勇姿, 俞超芹, 凌昌全, 卫立辛. 肝癌细胞系的研究概况. *上海医学* 2000; 2: 109-111
- 4 董荣春, 周荣华, 吕发度, 陶文照. SMMC-7721人体肝癌细胞株的建立及其生物学特性的初步观察. *第二军医大学学报* 1980; 1: 5-9
- 5 陈瑞铭, 朱德厚, 叶秀珍, 沈鼎武. 人体肝癌体外细胞株(BEL-7402)的建立及其特征. *科学通报* 1975; 9: 434-436
- 6 陈瑞铭, 朱德厚, 叶秀珍, 沈鼎武. 人体肝癌体外细胞系BEL-7402的建立及其特征. *实验生物学报* 1978; 1: 37-50, 159-161
- 7 田健, 汤钊猷, 叶胜龙, 刘银坤, 林芷英. 具有高转移潜能的人肝癌细胞系的建立及其生物学特性. *中华肿瘤杂志* 1998; 6: 5-7
- 8 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 [PMID: 11819844 DOI: 10.3748/wjg.v7.i5.630]
- 9 Li Y, Tang Y, Ye L, Liu B, Liu K, Chen J, Xue Q. Establishment of a hepatocellular carcinoma cell line with unique metastatic characteristics through in vivo selection and screening for metastasis-related genes through cDNA microarray. *J Cancer Res Clin Oncol* 2003; 129: 43-51 [PMID: 12618900 DOI: 10.1007/s00432-002-0396-4]
- 10 Aden DP, Fogel A, Plotkin S, Damjanov I, Knowles BB. Controlled synthesis of HBsAg in a differentiated human liver carcinoma-derived cell line. *Nature* 1979; 282: 615-616 [PMID: 233137 DOI: 10.1038/282615a0]
- 11 Morris KM, Aden DP, Knowles BB, Colten HR. Complement biosynthesis by the human hepatoma-derived cell line HepG2. *J Clin Invest* 1982; 70: 906-913 [PMID: 6288774 DOI: 10.1172/JCI110687]
- 12 Dearfield KL, Jacobson-Kram D, Brown NA, Williams JR. Evaluation of a human hepatoma cell line as a target cell in genetic toxicology. *Mutat Res* 1983; 108: 437-449 [PMID: 6682173 DOI: 10.1016/0027-5107(83)90138-0]
- 13 Roscher E, Wiebel FJ. Genotoxicity of 1,3- and 1,6-dinitropyrene: induction of micronuclei in a panel of mammalian test cell lines. *Mutat Res* 1992; 278: 11-17 [PMID: 1370114 DOI: 10.1016/0165-1218(92)90280-D]
- 14 Barbini L, Lopez P, Ruffa J, Martino V, Ferraro G, Campos R, Cavallaro L. Induction of apoptosis on human hepatocarcinoma cell lines by an alkyl resorcinol isolated from *Lithraea molleoides*. *World J Gastroenterol* 2006; 12: 5959-5963 [PMID: 17009393 DOI: 10.3748/WJG.v12.i37.5959]
- 15 Belloir C, Singh V, Daurat C, Siess MH, Le Bon AM. Protective effects of garlic sulfur compounds against DNA damage induced by direct- and indirect-acting genotoxic agents in HepG2 cells. *Food Chem Toxicol* 2006; 44: 827-834 [PMID: 16595265 DOI: 10.1016/j.fct.2005.11.005]
- 16 Robichová S, Slamenová D, Chalupa I, Sebová L. DNA lesions and cytogenetic changes induced by N-nitrosomorpholine in HepG2, V79 and VH10 cells: the protective effects of Vitamins A, C and E. *Mutat Res* 2004; 560: 91-99 [PMID: 15157648 DOI: 10.1016/j.mrgentox.2004.01.011]
- 17 Onuki J, Chen Y, Teixeira PC, Schumacher RI, Medeiros MH, Van Houten B, Di Mascio P. Mitochondrial and nuclear DNA damage induced by 5-aminolevulinic acid. *Arch Biochem Biophys* 2004; 432: 178-187 [PMID: 15542056 DOI: 10.1016/j.ab.2004.09.030]
- 18 Knasmüller S, Mersch-Sundermann V, Kevekordes S, Darroudi F, Huber WW, Hoelzl C, Bichler J, Majer BJ. Use of human-derived liver cell lines for the detection of environmental and dietary genotoxins; current state of knowledge. *Toxicology* 2004; 198: 315-328 [PMID: 15138058 DOI: 10.1016/j.tox.2004.02.008]
- 19 Roe AL, Snawder JE, Benson RW, Roberts DW, Casciano DA. HepG2 cells: an in vitro model for P450-dependent metabolism of acetaminophen. *Biochem Biophys Res Commun* 1993; 190: 15-19 [PMID: 8380689 DOI: 10.1006/bbrc.1993.1003]
- 20 宋旭霞, 闫志勇, 王斌, 牟文凤, 钱冬萌, 丁守怡, 姚宗良. 体外培养的肝癌细胞株与正常肝细胞株蛋白质的差异表达. *世界华人消化杂志* 2005; 13: 2689-2692
- 21 Wu XJ, Lu WQ, Mersch-Sundermann V. Benzo(a)pyrene induced micronucleus formation was modulated by persistent organic pollutants (POPs) in metabolically competent human HepG2 cells. *Toxicol Lett* 2003; 144: 143-150 [PMID: 12927358 DOI: 10.1016/S0378-4274(03)00198-X]
- 22 Knowles BB, Howe CC, Aden DP. Human hepatocellular carcinoma cell lines secrete the major plasma proteins and hepatitis B surface antigen. *Science* 1980; 209: 497-499 [PMID: 6248960 DOI: 10.1126/science.6248960]
- 23 Nakabayashi H, Taketa K, Miyano K, Yamane T, Sato J. Growth of human hepatoma cells lines with differentiated functions in chemically defined medium. *Cancer Res* 1982; 42: 3858-3863 [PMID: 6286115]
- 24 Nakabayashi H, Taketa K, Yamane T, Oda M, Sato J. Hormonal control of alpha-fetoprotein secretion in human hepatoma cell lines proliferating in chemically defined medium. *Cancer Res* 1985; 45: 6379-6383 [PMID: 2415243]
- 25 Sainz B, Barretto N, Uprichard SL. Hepatitis C virus infection in phenotypically distinct Huh7 cell lines. *PLoS One* 2009; 4: e6561 [PMID: 19668344 DOI: 10.1371/journal.pone.0006561]
- 26 Alexander JJ, Bey EM, Geddes EW, Lecatsas G. Establishment of a continuously growing cell line from primary carcinoma of the liver. *S Afr Med J* 1976; 50: 2124-2128 [PMID: 63998]
- 27 杨月, 庄辉. PLC/PRF/5人肝癌细胞系的研究概况. *国外医学(微生物学分册)* 1984; 6: 248-251
- 28 曹韵贞, 汤钊猷. 人体肝癌细胞株研究进展. *肿瘤* 1985; 3: 121-123, 114
- 29 许荣华, 郑武平, 孟津, 夏立平, 易继林. 外源性导入抑癌基因FHT1对肝癌细胞Hep3B生长的影响. *世界华人消化杂志* 2007; 15: 2000-2003
- 30 El-Garem H, Ammer A, Shehab H, Shaker O, Anwer M, El-Akel W, Omar H. Circulating

- microRNA, miR-122 and miR-221 signature in Egyptian patients with chronic hepatitis C related hepatocellular carcinoma. *World J Hepatol* 2014; 6: 818-824 [PMID: 25429320 DOI: 10.4254/wjh.v6.i11.818]
- 31 庞新亚, 高峰, 权胜伟. miRNA-221和miRNA-222在肝细胞肝癌中的表达及临床意义. *现代肿瘤医学* 2014; 12: 2912-2915
 - 32 高峰, 庞新亚, 权胜伟. 不同肝癌细胞株中miRNA-221和miRNA-222的差异表达及意义. *胃肠病学和肝病杂志* 2015; 7: 826-828
 - 33 庄辉. 人肝癌细胞系的研究. *国外医学. 流行病学传染病学分册* 1981; 2: 49-53
 - 34 宋志强, 郝飞. 人肝癌细胞系7721丙型肝炎病毒体外感染模型的建立. *中华传染病杂志* 1999; 4: 7-10
 - 35 宋志强, 郝飞, 马巧玉, 王宇明. 丙型肝炎病毒体外感染人肝癌细胞株HepG-2的研究. *中华实验和临床病毒学杂志* 2003; 1: 77-80
 - 36 周小军. 新型HCV感染细胞模型及小鼠模型研究. 北京: 中国人民解放军军事医学科学院, 2012
 - 37 谢亮海. miR-122抑制肝细胞癌的生长及其分子机制研究. 杭州: 浙江大学, 2014
 - 38 鲁光平, 潘骥群, 常仁安, 刘春, 巫荣华, 于志坚, 黄华. 沙利度胺对SMMC7721裸鼠移植瘤生长及瘤组织Ki67和PCNA表达的影响. *江苏医药* 2013; 21: 2523-2525, 2508
 - 39 潘骥群, 鲁光平, 邵柏, 于志坚, 周雪峰, 杨吟池. 沙利度胺抗SMMC7721裸鼠移植瘤生长实验研究. *中华肿瘤防治杂志* 2012; 17: 1308-1311, 1316
 - 40 鲁光平, 常仁安, 刘春, 于志坚, 巫荣华, 黄华. 沙利度胺联合三氧化二砷腹腔注射对肝癌细胞SMMC7721移植瘤生长的影响及机制. *山东医药* 2013; 27: 29-32
 - 41 李雁. 转移性人肝癌细胞模型的优化及转移机理探讨. 上海: 复旦大学, 2002
 - 42 胡高裕, 黄桂柳, 黄赞松, 周喜汉, 胡静, 黄炳臣. 人肝癌细胞裸鼠移植瘤模型建立及苦参碱的抑瘤作用. *世界华人消化杂志* 2014; 22: 5052-5062
 - 43 智星, 严律南, 林萍, 林琦远. 人肝细胞癌耐阿霉素细胞亚株SMMC-7721/ADM的诱导及其特征研究. *中国普外基础与临床杂志* 2004; 3: 219-223
 - 44 翟宝进, 伍烽, 邵泽勇, 胡凯, 王智彪. 阿霉素诱导人肝癌细胞多药耐药株的建立及其生物学特性评价. *癌症* 2004; 4: 391-395
 - 45 曹仕琼, 李萍, 尹太勇, 杨盛力. 姜黄素对人肝癌耐药细胞株Bel7402/5-FU多药耐药性的逆转作用. *世界华人消化杂志* 2012; 20: 135-139
 - 46 李萍. 姜黄素逆转人肝癌耐药细胞株BEL7402/5-FU多药耐药性的实验研究. 武汉: 华中科技大学, 2012
 - 47 王伟, 黄赞松, 周喜汉, 覃月秋. 苦参素逆转人肝癌细胞株HepG2/ADM多药耐药的作用. *世界华人消化杂志* 2014; 22: 1409-1416
 - 48 Weissman IL. Stem cells: units of development, units of regeneration, and units in evolution. *Cell* 2000; 100: 157-168 [PMID: 10647940 DOI: 10.1016/S0092-8674(00)81692-X]
 - 49 冯冬峰. CD133+CD24+肝癌干细胞的分离、鉴定及生物学特征的研究. 长春: 吉林大学, 2014
 - 50 闫伟伟. 肝癌干细胞表面标志物的初步筛查及其临床应用研究. 北京: 中国人民解放军军医进修学院, 2010
 - 51 莫文秀. 抗肝癌肿瘤干细胞抗体靶向治疗的研究. 北京: 北京协和医学院, 2014
 - 52 Goodell MA, Brose K, Paradis G, Conner AS, Mulligan RC. Isolation and functional properties of murine hematopoietic stem cells that are replicating in vivo. *J Exp Med* 1996; 183: 1797-1806 [PMID: 8666936 DOI: 10.1084/jem.183.4.1797]
 - 53 Chiba T, Kita K, Zheng YW, Yokosuka O, Saisho H, Iwama A, Nakauchi H, Taniguchi H. Side population purified from hepatocellular carcinoma cells harbors cancer stem cell-like properties. *Hepatology* 2006; 44: 240-251 [PMID: 16799977 DOI: 10.1002/hep.21227]
 - 54 Shi GM, Xu Y, Fan J, Zhou J, Yang XR, Qiu SJ, Liao Y, Wu WZ, Ji Y, Ke AW, Ding ZB, He YZ, Wu B, Yang GH, Qin WZ, Zhang W, Zhu J, Min ZH, Wu ZQ. Identification of side population cells in human hepatocellular carcinoma cell lines with stepwise metastatic potentials. *J Cancer Res Clin Oncol* 2008; 134: 1155-1163 [PMID: 18470535 DOI: 10.1007/s00432-008-0407-1]
 - 55 Sun D, Nassal M. Stable HepG2- and Huh7-based human hepatoma cell lines for efficient regulated expression of infectious hepatitis B virus. *J Hepatol* 2006; 45: 636-645 [PMID: 16935386 DOI: 10.1016/j.jhep.2006.05.019]

□ 同行评价
本文对目前实验室常用的肝癌细胞株SMMC7721、Bel-7402、MHCC 97、HepG2、Hep3B、Huh-7、PLC/PRF/5的来源、特性进行了归纳, 对实验过程中人肝癌细胞株的优势、作用、应用做出了总结, 对肝癌基础研究有较大的帮助, 对涉及肝脏疾病的生命科学研究有很好的参考和指导作用, 特别是对于初进实验室的硕士生有很好的帮助。

编辑: 马亚娟 电编: 胡珊





Published by **Baishideng Publishing Group Inc**
8226 Regency Drive, 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

