

网络出版时间:2016-4-19 11:04:48 网络出版地址:http://www.cnki.net/kcms/detail/34.1065.R.20160419.1104.004.html

PICK1 对人肝癌细胞 HepG2 增殖的影响

谢娟^{1,2,3},周群^{1,2,3},刘雪姣^{1,2,3},黄成^{1,2,3},孟晓明^{1,2,3},李俊^{1,2,3}

摘要 目的 检测蛋白激酶 C α 相互作用蛋白 1(PICK1) 在肝癌、癌旁组织中的表达,初步探讨 PICK1 对人肝癌细胞 HepG2 增殖的作用及其可能机制。方法 应用 qRT-PCR、Western blot、HE 和免疫组织化学染色法分析比较人肝癌和癌旁组织中 PICK1 蛋白的表达;培养 HepG2 细胞,体外给予不同浓度的 FSC-231(PICK1 的 PDZ 结构域小分子抑制剂),通过 MTT 法检测 HepG2 细胞的活力;采用流式细胞术检测 HepG2 细胞周期变化;进一步采用 Western blot 法检测 G1/S-特异性周期蛋白-D1(CyclinD1)、原癌基因 C-myc 和 Notch 信号通路蛋白表达。结果 肝脏病理组织学检测提示肝癌组织病变明显。免疫组化结果显示,肝癌组织中相比癌旁组织中的 PICK1 抗原阳性细胞显著增多($P < 0.05$),且多分布在肝实质细胞质区域;qRT-PCR 和 Western blot 结果显示肝癌组织中 PICK1 mRNA 及蛋白水平与癌旁组相比显著升高($P < 0.05$);体外实验证明,与阴性对照组相比,FSC-231 能够抑制 HepG2 细胞的增殖,并且明显抑制 CyclinD1、C-myc 和 Notch1 同源蛋白 1(Notch1)、Hes-1 蛋白表达($P < 0.05$)。结论 提示 PICK1 可能参与肝癌的发生发展,PICK1 的 PDZ 结构域抑制剂可以抑制肝癌细胞的增殖,此作用可能与 Notch 信号通路相关。

关键词 PICK1;FSC-231;HepG2 细胞;肝癌;肝细胞增殖;CyclinD1;Notch-1;Hes-1

中图分类号 R 322.47;R 329.25;R 575;R 965

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2016)05-0615-05

原发性肝癌(hepatocellular carcinoma, HCC),是死亡率居于世界第二的常见恶性肿瘤,近年来中国的肝癌发生率逐年上升^[1]。肝癌的发生、发展受多种因素影响,其具体机制尚未清楚。蛋白激酶 C α 相互作用蛋白 1(protein interacting with C α kinase 1, PICK1)广泛分布于机体的组织细胞内,由卷曲螺旋

区、酸性氨基酸区、PDZ 结构域和 BAR 结构域组成,其 PDZ 与 BAR 结构域能够募集包括肿瘤相关蛋白在内的多种功能蛋白质并调节其趋向定位,广泛参与多种恶性肿瘤的发生发展^[2-4]。然而目前尚无相关 PICK1 在肝癌中的表达情况及病理机制的文献报道。该研究拟应用 PICK1 的 PDZ 结构域小分子抑制剂 FSC-231 观察 PICK1 对人肝癌细胞 HepG2 细胞的增殖以及 G1/S-特异性周期蛋白-D1(G1/S-specific cyclin-D1, CyclinD1)、原癌基因 C-myc 和 Notch1 同源蛋白 1(Notch homolog 1, Notch1)、Hes-1 蛋白表达变化的影响,初步探讨 PICK1 在肝癌中的作用以及其可能的作用机制。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 肝癌组织 肝癌组织和癌旁组织由安徽医科大学第一附属医院普外科提供。

1.1.2 细胞株 人肝癌细胞 HepG2 由安徽医科大学第一附属医院药剂科提供。

1.1.3 主要材料与试剂 FSC-231 购于德国 Merck 集团有限公司,分子量 313.14,货号 CAT52953;PICK1 抗体购于美国 Abcam 公司;CyclinD1、C-myc、Notch-1、Hes-1 抗体购于美国 Cell Signaling 公司; β -actin 抗体购于武汉博士德生物工程有限公司;一抗稀释液购于上海碧云天生物技术有限公司;二抗均购于北京中杉金桥生物技术有限公司;RIPA 裂解液购于上海信则生物科技有限公司;PVDF 膜购于北京索莱宝科技有限公司;显影液购于北京信力益达商贸有限公司;噻唑蓝 MTT 和碘化丙锭(PI)购于美国 Sigma 公司;培养基购于美国 Hyclone 公司;胎牛血清购于杭州四季青生物工程材料有限公司;TR-Izol Reagent RNA 提取试剂购于美国 Invitrogen Life Technologies 公司;SYBR Green 逆转录试剂盒均购于宝生物工程(大连)有限公司;引物均由上海生工生物工程有限公司合成。

1.1.4 仪器与设备 Napco-6100 型细胞培养箱(美国杜邦公司);多功能显微镜、倒置相差生物显微镜(日本 OLYMPUS 公司);酶标仪 MK3(荷兰雷勃

2016-02-22 接收

基金项目:国家自然科学基金(编号:81473268、81273526);安徽省科技攻关计划(编号:1301042212);安徽省自然科学基金项目(编号:1308085MH145)

作者单位:¹安徽医科大学药学院,²安徽医科大学肝病研究所,³安徽省创新药物产业共性研究院,合肥 230032

作者简介:谢娟,女,硕士研究生;

李俊,男,博士,教授,博士生导师,责任作者,E-mail:lijun@ahmu.edu.cn

公司); Eppendorf Centrifuge 5415R 冷冻离心机、Mastercycle egradient Eppendorf PCR 扩增仪(德国 Eppendorf 公司); Bio-RAD Power Pac Basic 电泳仪; 电子天平 FA2004A(上海精天电子仪器厂); 流式细胞仪(美国 Beckman 有限公司)。

1.2 方法

1.2.1 HE 染色和免疫组织化学染色 将肝组织经 4% 中性甲醛溶液固定, 石蜡包埋、切片, 用苏木精-伊红染色制成玻片。采用 SP 法染色常规脱蜡后用过氧化酶阻断溶液, 室温孵育 15 min; PBS 冲洗后加 0.1% 的胰蛋白酶消化 20 min, 置于非免疫性动物血清中室温孵育 10 min; 一抗 4 ℃ 孵育过夜, 用 PBS 清洗后加生物素标记的二抗, 室温下孵育 30 min; 用链霉菌抗生素蛋白-过氧化物酶溶液孵育, 30 min 后用 DBA 显色、苏木精复染、封片观察。最后将玻片置于倒置显微镜下观察实验结果。

1.2.2 HepG2 细胞的培养和传代 用含 10% 胎牛血清的 DMEM 培养液, 在 37 ℃ 5% CO₂ 及饱和湿度条件下培养, 细胞为贴壁生长, 每 2~3 d 用胰蛋白酶消化传代, 取对数生长期细胞进行实验。

1.2.3 细胞增殖实验 取对数生长期的 HepG2 细胞, 以 5 000/孔的细胞密度接种于 96 孔板中, 每孔加入 200 μl 细胞悬液铺板。细胞贴壁后, 用含不同浓度 FSC-231(0.5、25、50、100、200 μmol/L) 的培养基继续培养细胞。分别培养 24、48、72 h 后弃去原培养液, 每孔加入 180 μl 无血清培养基和 20 μl(5 mg/ml) MTT 贮存液继续培养, 4 h 后加入 150 μl DMSO, 振荡 10 min, 待结晶充分溶解后, 置摇床低速振荡 10 min, 使结晶充分溶解, 在 492 nm 处用酶标仪检测每孔的光密度(optical density, OD) 值。按公式计算 FSC-231 对 HepG2 的生长抑制率, 生长抑制率(%) = (1 - OD 给药组/OD 对照组) × 100%。

1.2.4 流式细胞仪检测细胞周期 将 HepG2 细胞以 4 × 10⁵ 接种于细胞培养瓶中, 待细胞贴壁后, 用含不同浓度 FSC-231(0.5、25、50 μmol/L) 培养基继续培养 24 h 后收集细胞用胰蛋白酶消化重悬, 1 200 r/min 低速离心 5 min 后用 PBS 洗 2 次, 收集细胞沉淀于 75% 冰乙醇中固定, 12 h 后 3 000 r/min 离心 5 min, 去上清液, PBS 洗 1 次, 加入 PI 染液, 室温下染色 30 min 后样品 4 ℃ 避光保存, 最后应用流式细胞仪进行检测, 用软件计算细胞周期各时相 DNA 的百分含量。

1.2.5 肝脏组织总 RNA 提取和 RT-PCR 取肝癌及癌旁组织各 30 mg 于 1 ml TRIzol 中, 充分剪碎研

磨, 提取总 RNA。根据逆转录酶说明书将总 RNA 逆转录成 cDNA, 按照荧光定量染料 SYBR Green 试剂盒说明书制备反应混合体系, 设置反应条件, 采用 β-actin 作为本实验的内参, 上机检测。本实验所需引物序列如下: PICK1 (F: 5'-CCTGCCTCTATATCG TCCAGGTA-3'; R: 5'-ATCGCCAGCTGCTGCCACTGT-3'), β-actin (F: 5'-CCCACACTGTGCCCATCTACG-3'; R: 5'-GCCATCTCTTGCTCGAAGTCC-3')。

1.2.6 Western blot 检测肝脏组织中 PICK1 蛋白表达变化和 HepG2 细胞中 CyclinD1、C-myc、Notch1 蛋白的表达 取肝癌及癌旁组织各 50 mg 于 1 ml 裂解液(含 10 μl PMSF)中, 置于冰上裂解 30 min 后 4 ℃, 12 000 r/min 离心 30 min, 取上清液加入蛋白上样缓冲液, 100 ℃ 加热 10 min 使蛋白变性后进行 SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳; 取对数期生长的 HepG2 细胞消化后接种于培养瓶中, 每孔细胞数约为 2 × 10⁵ 个, 待细胞贴壁后, 用含不同浓度(0.5、25、50 μmol/L) PICK1 抑制剂 FSC-231 的培养基继续培养, 24 h 后收集细胞, 提取细胞。每组加 1 ml 裂解液(含 10 μl PMSF), 同上步骤处理提取的细胞蛋白, 进行 SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳, 电泳结束后用 BioRAD 湿转仪器将蛋白转到膜上, 电流 200 mA, 用 5% 脱脂奶粉封闭膜 4 h 后用 TBST 清洗, 与 1:500 一抗 4 ℃ 孵育过夜, 一抗浓度为: CyclinD1 (1:500)、C-myc (1:500)、PICK1 (1:500), 洗膜, 每次 10 min, 共洗 4 次, 再与 1:1 000 的与一抗种属相匹配的二抗室温孵育 1 h, 再用 TBST 清洗膜 3 次, 每次 10 min, 用 ECL 发光试剂盒显影, 扫描成像结果用 Image J 软件分析, 以 β-actin 为内参。

1.3 统计学处理 采用 SPSS 17.0 统计软件进行分析, 数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示; One-Way ANOVA 法检验各組间差异。所有实验重复 3 次。

2 结果

2.1 人肝脏组织病理学检测 肝癌癌旁组织中肝小叶结构完整, 肝细胞排列整齐, 未见病理性改变; 肝癌组织肝小叶结构被严重破坏, 肝细胞胞核增大且不规则并伴有大量脂肪空泡; 免疫组织化学染色结果显示, 肝癌组织中 PICK1 蛋白主要表达在肝癌细胞质内, 呈强阳性, 而癌旁组织中 PICK1 蛋白表达量相对较低。见图 1。

2.2 人肝癌组织中 PICK1 的 mRNA 和蛋白表达水平 RT-PCR 及 Western blot 结果显示, 与肝癌癌旁组织相比, 肝癌组织中的 PICK1 mRNA 相对表达

量显著增高 8 倍,蛋白相对表达量显著增高 3 倍,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见图 2。

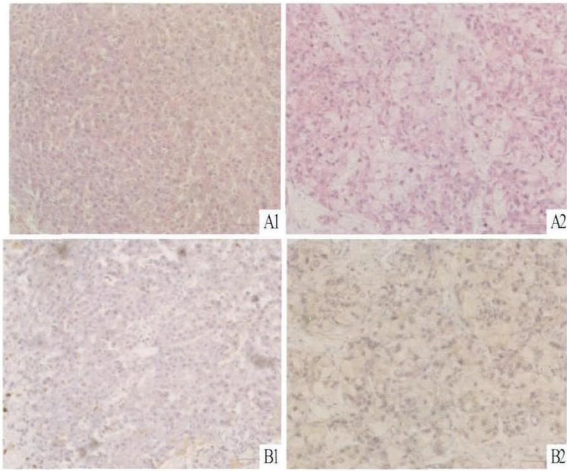


图 1 PICK1 在不同肝脏组织中的表达 SP × 200

A: 癌旁组织; B: 肝癌组织; 1: HE 染色; 2: 免疫组织化学染色

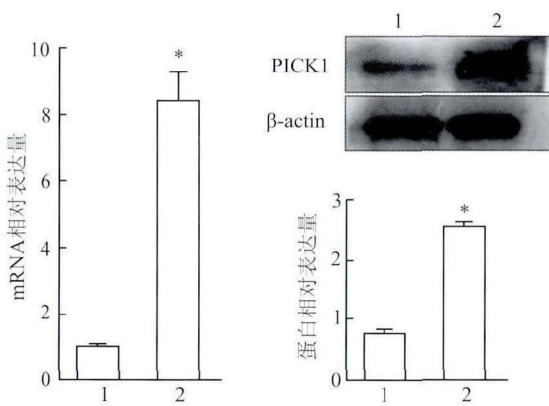


图 2 PICK1 在不同肝脏组织中的 mRNA 和蛋白表达情况

1: 癌旁组织; 2: 肝癌组织; 与癌旁组织比较: * $P < 0.05$

2.3 PICK1 的 PDZ 结构域抑制剂 FSC-231 对 HepG2 细胞增殖的影响 用含不同浓度 FSC-231 的培养基培养 HepG2 细胞。在 0 ~ 200 $\mu\text{mol/L}$ 浓度范围内, 分别在 24、48、72 h 测定 HepG2 细胞生长 OD 值, 计算 FSC-231 对人肝癌细胞 HepG2 增殖

的抑制率。MTT 法结果显示与 0 $\mu\text{mol/L}$ FSC-231 组相比, FSC-231 可呈浓度和时间依赖性地降低 HepG2 细胞生长 OD 值, 升高细胞增殖抑制率, 其中, 50 $\mu\text{mol/L}$ FSC-231 组对细胞的抑制作用较为显著, 200 $\mu\text{mol/L}$ FSC-231 组抑制 HepG2 细胞增殖的作用最明显。与 0 $\mu\text{mol/L}$ FSC-231 组相比, 25 ~ 200 $\mu\text{mol/L}$ FSC-231 组差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 1。

2.4 PICK1 的 PDZ 结构域抑制剂 FSC-231 对 HepG2 细胞周期的影响 用含不同浓度 FSC-231 的培养基刺激 HepG2 细胞 24 h 后, 流式细胞术结果表明, 与 0 $\mu\text{mol/L}$ FSC-231 组相比, 在 5 ~ 50 $\mu\text{mol/L}$ 浓度范围内, 50 $\mu\text{mol/L}$ FSC-231 组的 G₀/G₁ 期细胞数比例明显升高, G₂ 期细胞数比例明显降低, S 期细胞比例受影响较小, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。提示 FSC-231 可以影响 HepG2 细胞在细胞周期 G₀、G₂ 期的分布。见图 3。

2.5 PICK1 的 PDZ 结构域抑制剂 FSC-231 对 HepG2 细胞中 CyclinD1、C-myc 和 Notch1、Hes-1 蛋白表达的影响 应用 PICK1 抑制剂 FSC-231 (5、25、50 $\mu\text{mol/L}$) 刺激 HepG2 细胞后, 与 0 $\mu\text{mol/L}$ FSC-231 组相比, 50 $\mu\text{mol/L}$ FSC-231 组的 CyclinD1、C-myc 以及 Notch 通路蛋白 Notch1、Hes-1 的蛋白表达水平呈 FSC-231 浓度依赖性降低, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。见图 4。

3 讨论

肝癌的发生发展是由多种因素所致的复杂过程, 至今其发病机理尚未清楚, 研究^[5-7]报道 PICK1 能够广泛参与乳腺癌、肺癌、肾癌的发生发展, 其发挥的促癌作用与 PKC α 、EphB2、ErbB2/Her-2 和 TIS21 等肿瘤相关蛋白密切相关。PDZ 结构域在基因组广泛存在, 是多种癌症相关蛋白共同富含的功能结构域, 如 AF6、TIS21、PKC α ^[8-9]。目前已有研

表 1 FSC-231 对人肝癌细胞 HepG2 增殖的抑制率

FSC-231 ($\mu\text{mol/L}$)	24 h		48 h		72 h	
	OD 值	IR (%)	OD 值	IR (%)	OD 值	IR (%)
0	0.75 ± 0.01	-	1.05 ± 0.05	-	1.01 ± 0.02	-
5	0.73 ± 0.01	2.5	0.99 ± 0.02*	6	0.93 ± 0.01*	8.8
25	0.72 ± 0.01*	4.4	0.94 ± 0.04*	10.6	0.88 ± 0.02*	12.8
50	0.68 ± 0.01*	9.1	0.91 ± 0.03*	13.6	0.80 ± 0.02*	21.6
100	0.53 ± 0.03*	29.7	0.62 ± 0.02*	41.3	0.66 ± 0.03*	35.2
200	0.16 ± 0.03*	79.3	0.30 ± 0.04*	71.6	0.13 ± 0.02*	87.7

与 0 $\mu\text{mol/L}$ FSC-231 比较; * $P < 0.05$

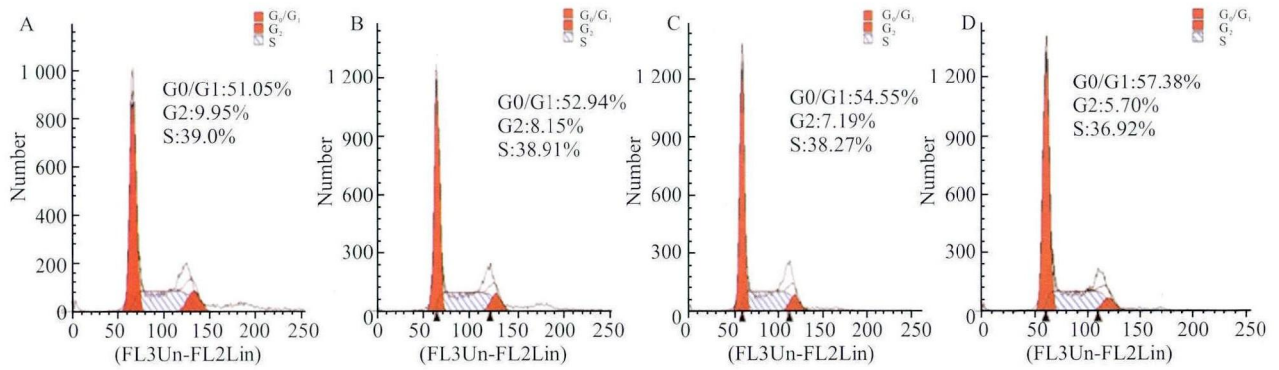


图3 FSC-231对HepG2细胞周期的影响

A: 0 μmol/L FSC-231; B: 5 μmol/L FSC-231; C: 25 μmol/L FSC-231; D: 50 μmol/L FSC-231

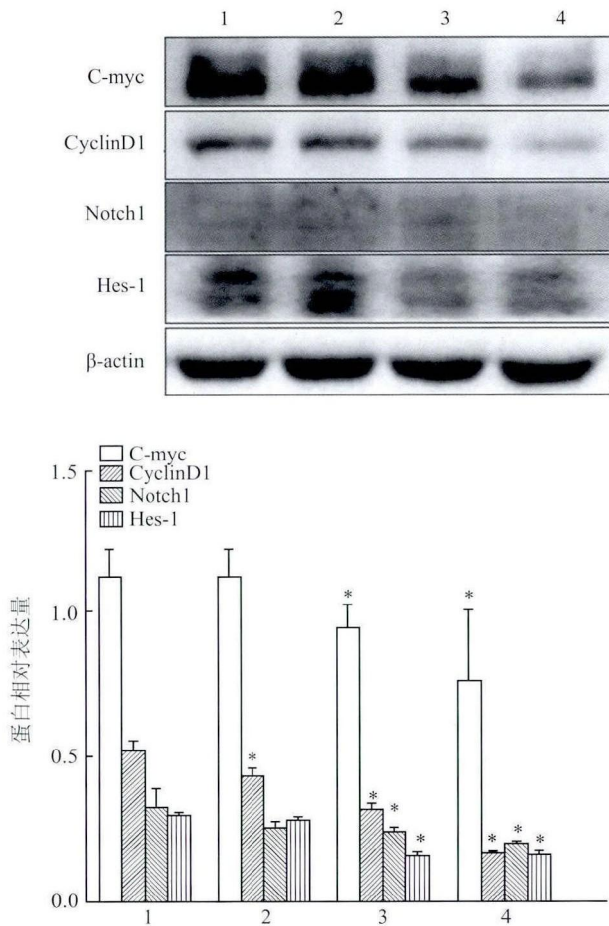


图4 FSC-231对CyclinD1、C-myc和Notch通路蛋白表达的影响

1: 0 μmol/L FSC-231; 2: 5 μmol/L FSC-231; 3: 25 μmol/L FSC-231; 4: 50 μmol/L FSC-231; 与 0 μmol/L FSC-231 比较; * P < 0.05

究^[7]证明 PICK1 可以通过 PDZ 结构域与 TIS21 的 C 端结合调节 NIH 3T3 细胞周期变化, 与转化生长因子-β1 受体 (transforming growth factor-β1 receptor, TGF-β1) 的 C 末端结合参与乳腺癌的发生发展^[10]。TIS21、Eph、TGF-β1 受体均可通过各种途径参与肝癌的发生发展^[9,11-12], 然而至今尚无明确的关于

PICK1 在肝癌中作用的研究。本实验采用 HE 染色验证肝癌组织模型成功, 采用 qRT-PCR、Western blot 和免疫组织化学染色法定性并定量分析了肝癌患者癌旁组织、肝癌组织中 PICK1 的表达情况。本实验结果显示, 与肝癌癌旁组织相比, 肝癌组织中 PICK1 mRNA 和蛋白水平均呈异常高表达, PICK1 阳性表达细胞数量及程度显著升高, 且主要分布于肝实质细胞的胞浆区域, 提示 PICK1 可能参与肝癌细胞的增殖而影响肝癌的发生、发展。FSC-231 是 PICK1 的 PDZ 结构域小分子抑制剂, 能够通过影响 PICK1 与其他功能蛋白的结合而发挥不同药理作用^[13]。已被反复应用于 PICK1 疾病机理的研究。体外实验结果进一步证明, PICK1 PDZ 结构域小分子抑制剂 FSC-231 能够抑制人肝癌细胞 HepG2 细胞的增殖, 阻滞 HepG2 细胞周期由 G1 向 S 期的转变并且明显抑制细胞周期因子 CyclinD1、C-myc 的蛋白表达水平。

Notch 基因是一类高度保守的细胞表面受体, 在人体 Notch 信号通路由 Notch1-4 受体和 Jagged1、Hes-1 等多种 Notch 配体组成, 它们影响细胞的分化、凋亡、增殖等过程。有文献^[14-15]表明, C 端富含 PDZ 结构域的 Notch 信号通路蛋白 Jagged1、DLL1 等能够通过 PDZ 结构域与 Ras-MAPK、Wingless/Wnt 等信号通路相互调控促进肝癌发生发展, 提示 Notch 通路蛋白可能通过 PDZ 结构域参与 PICK1 对肝癌细胞增殖的调控。本研究显示 PDZ 结构域小分子抑制剂 FSC-231 能够抑制人肝癌细胞 HepG2 细胞中 Notch1、Hes1 的蛋白表达水平, 其中, 50 μmol/L 浓度组的抑制作用尤为显著。

综上所述, PICK1 存在于肝癌病程, 其可能参与肝癌细胞增殖的调控, 与肝癌发生、发展密切相关, PICK1 对肝癌细胞增殖的调控可能与 Notch 信号通

路相关,然而,PICK1 在肝癌病程中的具体分子机制尚待进一步研究。

参考文献

- [1] Maluccio M, Covey A. Recent progress in understanding, diagnosing, and treating hepatocellular carcinoma [J]. CA Cancer J Clin, 2012, 62(6): 394-9.
- [2] Zhang B, Cao W, Zhang F, et al. Protein interacting with C alpha kinase 1 (PICK1) is involved in promoting tumor growth and correlates with poor prognosis of human breast cancer [J]. Cancer Sci, 2010, 101(6): 1536-42.
- [3] Hanley J G, Henley J M. PICK1 is a calcium-sensor for NMDA-induced AMPA receptor trafficking [J]. EMBO J, 2005, 24(18): 3266-78.
- [4] 张 斌, 曹文枫, 刘岩雪, 等. PICK1 蛋白在多种肿瘤中的表达及在乳腺癌的临床意义 [J]. 中国肿瘤临床, 2009, 36(7): 397-403.
- [5] Nievergall E, Lackmann M, Janes P W. Eph-dependent cell-cell adhesion and segregation in development and cancer [J]. Cell Mol Life Sci, 2012, 69(11): 1813-42.
- [6] Jaulin-Bastard F, Saito H, Le Bivic A, et al. The ERBB2/HER2 receptor differentially interacts with ERBIN and PICK1 PSD-95/DLG/ZO-1 domain proteins [J]. J Biol Chem, 2001, 276(18): 15256-63.
- [7] Lin W J, Chang Y F, Wang W L, et al. Mitogen-stimulated TIS21 protein interacts with a protein-kinase-Calpha-binding protein rPICK1 [J]. Biochem J, 2001, 354(Pt 3): 635-43.
- [8] Shan J, Shi D L, Wang J, et al. Identification of a specific inhibitor of the dishevelled PDZ domain [J]. Biochemistry, 2005, 44(47): 15495-503.
- [9] Park T J, Kim J Y, Oh S P, et al. TIS21 negatively regulates hepatocarcinogenesis by disruption of cyclin B1-Forkhead box M1 regulation loop [J]. Hepatology, 2008, 47(5): 1533-43.
- [10] Zhao B, Wang Q, Du J, et al. PICK1 promotes caveolin-dependent degradation of TGF-beta type 1 receptor [J]. Cell Res, 2012, 22(10): 1467-78.
- [11] Berasain C, Avila M A. The EGFR signalling system in the liver: from hepatoprotection to hepatocarcinogenesis [J]. J Gastroenterol, 2014, 49(1): 9-23.
- [12] Yoshida K, Murata M, Yamaguchi T, et al. TGF-beta/Smad signaling during hepatic fibro-carcinogenesis (review) [J]. Int J Oncol, 2014, 45(4): 1363-71.
- [13] Thorsen T S, Madsen K L, Dyhring T, et al. A fluorescence polarization based screening assay for identification of small molecule inhibitors of the PICK1 PDZ domain [J]. Comb Chem High Throughput Screen, 2011, 14(7): 590-600.
- [14] Moeini A, Cornella H, Villanueva A. Emerging signaling pathways in hepatocellular carcinoma [J]. Liver Cancer, 2012, 1(2): 83-93.
- [15] Carmena A, Speicher S, Baylies M. The PDZ protein Canoe/AF-6 links Ras-MAPK, Notch and Wingless/Wnt signaling pathways by directly interacting with Ras, Notch and Dishevelled [J]. PLoS One, 2006, 1: e66.

Function of PICK1 on proliferation of human HepG2 cells

Xie Juan^{1,2,3}, Zhou Qun^{1,2,3}, Liu Xuejiao^{1,2,3}, et al

(¹School of Pharmacy, Anhui Medical University, ²Institute of Liver Diseases of Anhui Medical University, ³Anhui Institute of Innovative Drugs, Hefei 230032)

Abstract Objective To investigate the probably value of PICK1 in HCC patients after hepatectomy and to determine the effects of PICK1 on the proliferation of human hepatocellular carcinoma cell lines HepG2. **Methods** The differential expression of PICK1 in paired tumor and non-tumorous tissue was evaluated by RT-PCR, Western blot and immunohistochemistry. Exposure HepG2 cells with different concentrations of FSC-231 (a small molecule inhibitor of the PICK1 PDZ Domain). MTT assay was used to evaluate the inhibitory rate of proliferation of HepG2. After 24 h treatment of FSC-231 in HepG2 cells, the modulation of FSC-231 on cell cycle distribution of HepG2 cells was detected by flow cytometer, the CyclinD1, C-myc, Notch1, Hes-1 expression of HepG2 cells were examined by RT-PCR and Western blot. **Results** Compared with paired non-tumorous tissues, PICK1 were highly expressed in HCC tissue, significantly increased mRNA and protein level of PICK1 was observed in HCC tissue ($P < 0.05$); FSC-231 was able to effectively inhibit cell proliferation in a concentration and time dependent pattern and significantly decreased the protein levels of CyclinD1, C-myc and Notch1, Hes-1 ($P < 0.05$). **Conclusion** PICK1 may be a potential therapeutic target gene for human hepatocellular carcinoma, probably correlating with Notch signal pathway.

Key words PICK1; FSC-231; HepG2 cell; HCC; cell proliferation; CyclinD1; Notch1; Hes-1