

(13.89±1.36)相比差异极显著($P<0.01$)。但是,与白花蛇舌草组相比,肿瘤总数及不同大小的肿瘤数差异均不显著。

【结论】 白花蛇舌草能抑制 DSS 诱导的小鼠结直肠肿瘤的发展,半枝莲与白花蛇舌草对小鼠结直肠肿瘤的发展没有协同抑制效果。白花蛇舌草对结直肠肿瘤的抑制作用的机理及有效化学成分还不清楚,我们正在进一步研究之中。研究结果对人结直肠肿瘤的防治具有重要理论和临床指导意义。

关键词: 白花蛇舌草;半枝莲;氧化偶氮甲烷;葡聚糖硫酸钠;结直肠肿瘤

A-S4-14

细胞外组蛋白诱导肿瘤细胞死亡的机制研究

温锦都¹,梁东生²;指导教师:李煜生

1. 南方医科大学 2010 级基础医学

2. 南方医科大学 2011 级临床口腔

【目的】 通过体外实验证实细胞外组蛋白(EHs)诱导肿瘤细胞死亡的现象,并探明 EHs 诱导肿瘤细胞死亡的死亡方式。

【方法】 (1)用 EHs 以不同时间和浓度梯度刺激前列腺癌骨转移细胞系(PC-3)、肺癌细胞系(A549)和肝癌细胞系(HepG2),利用 MTT 染色测量肿瘤细胞存活率,得到 EHs 诱导肿瘤细胞死亡的时间和剂量关系,并验证 EHs 对肿瘤细胞杀伤作用的普遍性。(2)选择杀伤作用具有代表性的某几种肿瘤细胞,进行探明 EHs 诱导肿瘤细胞死亡方式的实验。我们计划向实验体系中引入各种细胞死亡方式的抑制剂:如细胞凋亡抑制剂——Z-VAD-fmk,程序性坏死抑制剂——Necrostatin-1,细胞自噬抑制剂——Chloroquine。即添加针对某种细胞死亡方式的抑制剂对肿瘤细胞进行保护,在同等条件下检测其与未添加抑制剂的肿瘤细胞的存活率的差异。若添加抑制剂后肿瘤细胞存活率升高,表明 EHs 诱导肿瘤细胞死亡与该方式有关。再通过与 EHs 刺激肿瘤细胞后的总存活率进行比较,明确该种死亡方式所占比率。(3)确定细胞死亡方式后,对该方式进行深入探究。例如当验证为细胞以凋亡方式死亡时,则分别用 caspase 8(死亡受体通路)抑制剂 Z-IETD-FMK 和 caspase 9(线粒体介导通路)抑制剂证明 EHs 诱导肿瘤细胞凋亡的具体途径。

【结果】 (1)体外实验证实 EHs 诱导肿瘤细胞死亡,并呈现剂量和时间依赖性(已完成);(2)明确 EHs 诱导肿瘤细胞死亡的方式及其比率(部分完成);(3)明确主要死亡方式的具体途径。

【结论】 EHs 通过死亡受体和线粒体双途径诱导肿瘤细胞凋亡。

关键词: 细胞外组蛋白;肿瘤细胞;细胞凋亡

A-S4-15

EB 病毒编码的 LMP2A 通过激活 MTA1 介导鼻咽癌上皮间质转化作用的机理研究

林喆¹,严欣²,万昕¹;指导教师:陈云

1. 南京医科大学 2011 级免疫学

2. 南京医科大学 2012 级临床医学

【目的】 研究转移性肿瘤抗原 1 (MTA1)在鼻咽癌中的表达及其对鼻咽癌发生发展的影响;明确 Epstein-Barr 病毒编码的潜伏膜蛋白 2A (LMP2A)和 MTA1 的关系及其机制。

【方法】 利用免疫组化检测鼻咽癌和正常鼻黏膜组织中的 MTA1 蛋白和 EMT 相关蛋白的表达情况,并结合临床病理特征和 EMT 相关蛋白进行相关性分析。构建 MTA1 过表达和干扰表达的鼻咽癌细胞系,蛋白质印迹和 transwell 实验检测 MTA1 对鼻咽癌细胞侵袭和 EMT 发生的影响。通过蛋白质印迹和免疫荧光检测 Wnt 通路和 β -catenin 核转位研究 MTA1 发挥功能的机制。以免疫组化检测鼻咽癌组织中 LMP2A 和 MTA1 的相关性,慢病毒技术构建 LMP2A 表达而 MTA1 缺失的细胞系,蛋白质印迹和 transwell 实验检测其侵袭能力和 EMT 的变化。进而建立裸鼠尾静脉注射和左心室注射模型,体内实验研究 MTA1 对鼻咽癌转移的影响。使用 mTOR 下游调控通路 4EBP1 的抑制剂 INK-128 和 siRNA 干扰 c-myc 表达,研究 LMP2A 激活 MTA1 表达的通路机制。

【结果】 免疫组化分析发现 MTA1 高表达与鼻咽癌 TNM 分期的 N 和 M 分期呈正相关。在鼻咽癌组织中 MTA1 高表达于癌巢和癌浸润发生部位。MTA1 的高表达与 E-cadherin 表达呈负相关,和 Vimentin 的表达呈正相关。低表达 MTA1 的细胞系 CNE-1 过表达 MTA1 后,侵袭能力增强,EMT 表型增加。高表达 MTA1 的细胞系 CNE-2 干扰其表达后,侵袭能力减弱,EMT 表型减少。裸鼠左心室注射,CNE-1-MTA1 细胞转移能力增强,CNE-2-siMTA1 细胞转移能力下降。CNE-1 的 MTA1 过表达促进了 Wnt1 的表达,促使 β -catenin 的入核。LMP2A 和 MTA1 的过表达具有正相关性。LMP2A 促进了 CNE-1 和 CNE-2 细胞系表达 MTA1。在 LMP2A 表达的细胞系中,干扰 MTA1 的表达能抑制肿瘤侵袭和 EMT 的发生。动物模型亦显示 CNE-1-LMP2A 的 MTA1 表达干扰抑制了肿瘤转移的发生。过表达 LMP2A 的 CNE-1 细胞系中 mTOR 和 4EBP1-eIF4E axis 通路活化。与 Rapamycin 相比较,INK-128 药物能特异性抑制 4EBP1-eIF4E axis 的活化,降低 CNE-1-LMP2A 的侵袭能力、 β -catenin 的入核及 EMT 的发生。对 C-myc 的干扰表达,能部分降低 MTA1 的表达及 CNE-1-LMP2A 的侵袭能力。

【结论】 MTA1 通过 Wnt1 通路活化促进了鼻咽癌的转移和 EMT 发生;LMP2A 能激活 mTOR 和 GSK-3 β 通路,4EBP1-eIF4E axis 的活化参与了 MTA1 mRNA 的稳定性等转录后调控,也参与 C-myc 对 MTA1 的转录调控,从而增强鼻咽癌侵袭转移能力并促进 EMT 发生。

关键词: 鼻咽癌;潜伏膜蛋白 2A;转移性肿瘤抗原 1;上皮间质转化

A-S4-16

MiR-130 调控 TSC1 促进卵巢癌发生发展的作用和机制

王玉琼¹,董瑞芬²,王思奇¹,许立美³,芦山¹,李宜诺¹;指导教师:刘招舰

1. 山东大学 2010 级临床医学八年制
2. 山东大学 2010 级妇产科学
3. 山东大学 2013 级细胞生物学

【目的】 抑癌基因 TSC1 是 mTOR 信号通路的负调控因子,TSC1 的突变或失活会引起 mTOR 的异常活化和不受控制的细胞生长和细胞增殖。TSC1 在神经胶质瘤、胃癌、结肠癌及卵巢癌等多种恶性肿瘤中表达降低,但具体机制尚不明确。本研究旨在寻找靶向调控 TSC1 的 miRNA,明确其对 TSC1 及 mTOR 信号通路的影响,并进一步研究该 miRNA 在卵巢癌中发生发展过程中的作用。

【方法】 通过生物信息学分析,初步确定候选 miRNA,瞬时转染 miRNA mimics 和 inhibitors,通过蛋白质印迹和 Luciferase 等方法明确靶向调控 TSC1 的 miRNA;蛋白质印迹检测 miRNA 对 mTOR 信号通路关键分子表达的影响;建立 miRNA 过表达和低表达的卵巢癌细胞系,研究 miRNA 及 TSC1 对卵巢癌细胞增殖、转化、侵袭能力及化疗敏感性的影响;最后通过动物实验明确靶向调控 TSC1 的 miRNA 与卵巢癌发生发展的关系。

【结果】 瞬时转染 mir-27、mir-130、mir-204 的 mimics 并检测 TSC1 的表达,发现转染 mir-130 的细胞中 TSC1 表达明显降低,mTOR 下游关键蛋白 mTOR、p70S6K、4EBP-1 的磷酸化水平升高,瞬时转染 mir-130 inhibitor 后,TSC1 含量上调,mTOR、p70S6K、4EBP-1 磷酸化水平降低,进一步佐证 mir-130 靶向调控 TSC1,利用收集的卵巢癌及正常组织检测 mir-130 的表达,显示 mir-130 在卵巢癌中含量升高。同时我们也成功构建了稳定转染 mir-130