

## A-S4-22

## 肝刺激因子表达下调通过 ERK 促进肝癌细胞转移的研究

宋晓雯<sup>1</sup>, 王子健<sup>1</sup>, 李一鹏<sup>2</sup>; 指导教师: 董凌月, 安 威

1. 首都医科大学 2012 级临床医学七年制

2. 首都医科大学 2009 级基础医学五年制

**【目的】** 肝刺激因子(hepatic stimulator substance, HSS)能促进肝细胞增殖、抑制肝细胞凋亡,是细胞内重要的存活因子。本课题组前期研究发现多种促癌因素可下调肝癌细胞中 HSS 的表达,其表达水平的降低可以促进肝癌细胞发生转移侵袭,但相关机制尚不明了。研究表明细胞的上皮-间质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)参与肝癌转移,因此本研究旨在阐明 HSS 表达降低与 EMT 的关系并探究其中的分子机制。

**【方法】** 利用实验室已经构建好的稳定低表达 HSS 的 HepG2 细胞(shRNA)和稳定高表达 HSS 的 HepG2 细胞(HSS)作为研究对象,首先应用蛋白质印迹方法检测不同细胞的上皮细胞分子标志物(如 E-cadherin 和 ZO-1)和间质细胞分子标志物(例如 vimentin、fibronectin)表达的变化,确定 HSS 表达改变与 EMT 的关系;选择在 EMT 中发挥重要作用的激酶磷酸化抗体,利用蛋白质印迹的方法,筛选参与 HSS 表达下调诱导 EMT 发生的激酶,并应用特定激酶抑制剂,通过 Transwell 转移和侵袭实验,检测细胞迁移侵袭能力的改变,进一步确定候选激酶的作用;最后运用脾注射肝转移实验分析 HSS 表达下降与裸鼠生存率的关系。

**【结果】** 蛋白质印迹结果显示 shRNA 细胞的间质细胞分子标志物表达明显增高,上皮细胞分子标志物表达明显降低,说明 HSS 表达降低后肝癌细胞发生 EMT。AKT 和细胞外信号调节激酶(extracellular signal regulated kinase, ERK)在 EMT 的发生过程中具有重要作用,蛋白质印迹结果显示 shRNA 细胞中 AKT 磷酸化水平没有明显改变,但 ERK 的磷酸化水平明显增高;使用不同浓度的 ERK 抑制剂 PD98059 后进行 trans-well 迁移和侵袭实验,结果显示 shRNA 细胞无论迁出小孔还是穿过铺有基质胶的小孔的数目都明显减少,而且随着抑制剂浓度的增加,发生迁移侵袭的细胞数目随之减少,具有剂量依赖性,说明 ERK 在 HSS 表达降低诱导的 EMT 过程中具有关键的作用。脾注射 shRNA 细胞 4 周后,裸鼠体重明显下降,腹部变黑并明显增大,不足 9 周全部死亡,而注射 HSS 细胞后,裸鼠体重下降不明显,10 周后才开始出现死亡,说明 HSS 表达降低后促进细胞的迁移侵袭使裸鼠生存时间明显缩短。

**【结论】** 肝刺激因子表达降低激活 ERK,诱导肝癌细胞发生上皮-间质转化从而促进肝癌的转移。

**关键词:** 肝刺激因子;上皮-间质转化;ERK;迁移

## A-S4-23

## 泰山银杏外种皮多糖对食管癌细胞增殖和凋亡的影响

宋 悦, 玄 燕, 亓 雪, 唐同心, 程自强, 何 放; 指导教师: 蒋汉明

泰山医学院 2009 级临床医学

**【目的】** 探讨泰山银杏外种皮多糖(Ginkgo biloba exocarp polysaccharides, GBEP)对体外培养的食管癌细胞增殖和凋亡的影响及其作用机制。

**【方法】** 通过沸水浸提,有机溶剂沉淀,并通过 seavage 法除去蛋白,获得 GBEP。利用 MTT 法检测不同浓度的 GBEP 对食管癌细胞 EC-9706 增殖的影响;流式细胞术检测细胞周期的分布;Annexin-V/PI 双染分析凋亡率;蛋白质印迹法检测与细胞周期及细胞凋亡相关的蛋白表达变化。

**【结果】** GBEP 显著抑制 EC-9706 细胞的增殖,并呈时间、剂量依赖性。其半数抑制浓度(IC<sub>50</sub>)为 138.9 μg/mL。细胞周期分析结果表明,GBEP 处理后 G1 期细胞比例由 52.25%增加至 69.76%,蛋白质印迹结果显示细胞周期蛋白 D1 的表达呈浓度依赖性下降。说明 GBEP 诱导 EC-9706 细胞 G1 期阻滞。流式细胞术分析结果表明,