

GBEP 诱导的 EC-9706 细胞凋亡随剂量和作用时间增加而增加。同时 GBEP 抑制抗凋亡蛋白 Bcl-2 的表达,增加促凋亡蛋白 Bax 的表达,促进 caspase3 的激活和 PARP 的剪切。

【结论】 泰山银杏外种皮多糖抑制食管癌细胞的增殖,诱导细胞 G1 期阻滞,并激活内源性细胞凋亡。

关键词: 银杏外种皮多糖;食管癌;细胞凋亡

A-S4-24

灭活仙台病毒 Tianjin 株诱导人乳腺癌细胞 MDA-MB-231 凋亡作用及其机制的研究

韩寒¹,申天宇²,李飞³,王顺达²,李莹¹;指导教师:石立莹

1. 天津医科大学 2011 级临床七年制
2. 天津医科大学 2010 级临床五年制
3. 天津医科大学 2010 级临床七年制

【目的】 研究紫外线灭活复制缺陷的仙台病毒 Tianjin 株致人乳腺癌细胞 MDA-MB-231 凋亡作用及其机制。

【方法】 首先制备并鉴定紫外线灭活仙台病毒 Tianjin 株,然后用不同剂量灭活病毒感染 MDA-MB-231 细胞,24 h 后,MTT 法检测灭活病毒对 MDA-MB-231 细胞增殖的影响;Hoechst 染色及 Annexin V-FITC/PI 标记流式细胞仪检测 MDA-MB-231 细胞凋亡情况;JC-10 染色流式细胞仪检测 MDA-MB-231 细胞线粒体膜电位变化;分光光度法测定 MDA-MB-231 细胞内 caspase-9、-8 和 -3 活性;蛋白质印迹法检测 MDA-MB-231 细胞中 Bcl-2、Bax、Cyt c、caspase-9、Fas、FasL、caspase-8 和 caspase-3 蛋白表达水平。

【结果】 MTT 检测显示灭活 Tianjin 株能够抑制 MDA-MB-231 细胞增殖,且呈剂量依赖性;Hoechst 染色发现灭活病毒感染的 MDA-MB-231 细胞有明显形态学改变,细胞核呈致密浓染或碎块状致密浓染;Annexin V-FITC/PI 标记流式细胞仪检测显示灭活病毒组细胞凋亡率呈剂量依赖性升高,JC-10 染色流式细胞仪分析显示灭活病毒组细胞线粒体膜电位呈剂量依赖性降低,且与对照组比较均有统计学差异($P < 0.01$);caspase 活性检测显示灭活病毒组 caspase-9、-8 和 -3 活性均呈剂量依赖性升高,与对照组比较有统计学差异($P < 0.01$);蛋白质印迹结果显示高剂量灭活病毒组(MOI 80)Bcl-2 表达下调,Bax、Cyt C、Fas、FasL、活化 caspase-9、-8 和 -3 表达上调。

【结论】 灭活仙台病毒 Tianjin 株能够诱导人乳腺癌 MDA-MB-231 细胞发生剂量依赖性凋亡,其机制与线粒体内源性途径和死亡受体外源性途径密切相关。

关键词: 仙台病毒 Tianjin 株;人乳腺癌 MDA-MB-231 细胞;凋亡;线粒体途径;死亡受体途径

A-S4-25

趋化因子 CXCL14 在结肠癌组织中的表达及其细胞效应分析

张杰诚¹,姚一琳²,阮辉飞¹,林敏敏³;指导教师:林刻智

1. 温州医科大学 2011 年级临床医学
2. 温州医科大学 2012 年级口腔医学
3. 温州医科大学 2013 年级临床医学

【目的】 分析 CXCL14 趋化因子配体 14(chemokine CXC ligand 14,CXCL14)在结肠癌组织中的表达及其临床意义,并探讨其过表达对结肠癌细胞增殖、细胞周期的影响。

【方法】 采用实时荧光定量 PCR、免疫组化检测 40 例结肠癌及癌旁正常组织中(距肿瘤边缘 2 cm 处)CX-

CL14 的 mRNA 和蛋白表达。Kaplan-Meier 生存曲线和 Cox 回归模型评估 CXCL14 在结肠癌组织中表达的临床意义。为分析 CXCL14 对结肠癌细胞的直接影响,本研究进一步构建过表达 CXCL14 的慢病毒,转染 HT29 结肠癌细胞,通过蛋白质印迹法检测转染后 HT29 结肠癌细胞中 CXCL14 的蛋白表达,利用 CCK-8 试剂盒、流式细胞技术检测过表达 CXCL14 对结肠癌细胞增殖能力的影响及细胞周期分布的改变。

【结果】 CXCL14 mRNA 和蛋白水平在结肠癌组织中的表达水平较正常组织明显降低($P < 0.05$)。临床相关性分析表明,CXCL14 表达下调与淋巴结转移及肿瘤的临床病理分期有关($P < 0.05$),与年龄、性别、浸润程度、肿瘤标志物等未见显著相关性($P > 0.05$);其中有淋巴结转移的结肠癌肿瘤组织 CXCL14 的相对表达量明显低于无淋巴结转移肿瘤组织($P < 0.05$),病理分期属 III、IV 期的结肠癌肿瘤组织 CXCL14 的相对表达量也明显低于病理分期属 I、II 期标本($P < 0.05$)。Kaplan-Meier 生存分析显示, CXCL14 蛋白低表达的患者 5 年生存率显著性降低($P < 0.01$)。成功构建过表达 CXCL14 的慢病毒,CXCL14 慢病毒转染的 HT29 结肠癌细胞能明显上调 CXCL14 表达;CCK-8 细胞增殖试验显示,CXCL14 慢病毒转染 HT29 结肠癌细胞上调 CXCL14 表达后,细胞活力明显受到抑制($P < 0.01$);细胞周期分析显示,CXCL14 过表达结肠癌细胞在 G₀/G₁ 期的细胞百分数显著高于对照组($P < 0.05$),而 S 期的细胞百分数显著低于对照组($P < 0.05$)。

【结论】 CXCL14 可作为一个潜在的抑癌基因参与结肠癌的发生、发展过程,并为结肠癌的防治及预后评价提供一种新的候选靶点及临床辅助指标。

关键词: CXCL14; 结肠癌; 慢病毒; 细胞增殖; 细胞周期; 生存分析

A-S4-26

甘草黄酮类化合物的抗血管生成作用研究

陈卓彬,何玉琨,谢 祎;指导教师:杨 静

武汉大学 2009 级临床医学八年制

【目的】 血管生成(angiogenesis)是肿瘤生长与转移过程中的重要环节。本文采用斑马鱼胚胎血管生成模型研究甘草中黄酮类化合物的抗血管生成作用及其分子机制。

【方法】 首先在斑马鱼胚胎血管生成模型中研究 4 种甘草黄酮类化合物(异甘草素、光甘草定、甘草查尔酮 A 和甘草素)的抗血管生成作用。随后,选用上述作用较强的化合物处理人肺腺癌细胞系 A549 制备条件培养液,采用 ELISA 法检测条件培养液中重要的促血管生成因子 20-羟二十烷四烯酸(20-hydroxyeicosatetraenoic acid, 20-HETE)和血管内皮生成因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)含量的变化,同时采用 Transwell 小室模型检测血管内皮细胞(HUVEC)迁移。最后,在小鼠肝癌 H22 和乳腺癌 4T 移植瘤模型中进一步验证其作用。

【结果】 在以上 4 种甘草黄酮类化合物中,异甘草素和光甘草定的抗斑马鱼胚胎血管生成作用相当,但明显强于甘草素和甘草查尔酮 A。异甘草素可浓度(5、10 和 20 $\mu\text{mol/L}$)依赖性抑制内皮细胞迁移,抑制率最高可达 74.8%。异甘草素还可浓度(5~20 $\mu\text{mol/L}$)依赖性抑制 A549 细胞 20-HETE 和 VEGF 分泌,抑制率分别可达 72.4% 和 72.3%。异甘草素 25.0 和 50.0 mg/kg 可显著抑制小鼠肝癌 H22 和乳腺癌 4T 移植瘤的生长和血管生成。

【结论】 4 种甘草黄酮类化合物均对斑马鱼胚胎血管生成具有显著抑制作用,但异甘草素和光甘草定的作用明显强于甘草素和甘草查尔酮 A。异甘草素可显著抑制人脐静脉内皮细胞迁移,其机理可能与抑制 20-HETE 和 VEGF 分泌有关。下一步有待采用人肝癌和乳腺癌裸鼠移植瘤模型进行研究。

关键词: 甘草; 黄酮类化合物; 血管生成; 肿瘤; 血管内皮生长因子; 20-HETE