

A-S4-27

TNF- α /HIF-1 α /VASP 途径在肺癌 A549 细胞增殖和粘附中的作用研究

吕佳蔚¹, 李 群¹, 喻译锋², 罗振宇², 孙孔亮²; 指导教师: 魏 蕾

1. 武汉大学 2010 级临床医学

2. 武汉大学 2012 级临床医学

【目的】 肺癌是目前世界癌症导致死亡排名第一的肿瘤, 其中肿瘤细胞的增殖和转移与肺癌的死亡率密切相关。最近的调查显示肿瘤坏死因子- α (TNF- α)与肿瘤的侵袭和转移相关, 但是具体的机制仍不清楚。本实验旨在以肺癌 A549 细胞作为模型, 研究 TNF- α /HIF-1 α /VASP 途径在肺癌 A549 细胞的增殖和粘附中的作用。

【方法】 常规培养 A549 细胞, 用 MTT 法和 adhesion assay 分别检测不同浓度的 TNF- α 对 A549 细胞增殖和粘附的影响。在随后的实验中采用高浓度的 TNF- α 刺激(120 ng/mL)作为刺激因素, 分别用 sh-RNA 和 pEGFP-C1-VASP 敲除或过表达 VASP、用 siRNA 和 pEGFP-C1 敲除或过表达 HIF-1 α , MTT 法和 adhesion assay 分别检测细胞增殖和粘附水平, PCR 检测 HIF-1 α 和 VASP 在 mRNA 表达水平, 蛋白质印迹法检测 HIF-1 α 和 VASP 蛋白的表达。同时采用 Luciferase assay 的方法检测 HIF-1 α 与 VASP 启动子区域结合的状态。

【结果】 (1)高剂量 TNF- α 可以促进 HIF-1 α 表达, 从而下调 VASP 表达水平, 抑制肺癌 A549 细胞增殖和粘附。(2)与空载质粒 pEGFP-C1 组相比, 瞬时转染 VASP 过表达质粒 pEGFP-C1-VASP 后, A549 细胞的增殖能力显著增加($P < 0.05$), 粘附能力显著增加($P < 0.05$)。相反, 与 Scrambled-shRNA 组比较, 通过转染 VASP shRNA 特异性敲降 VASP 后, A549 细胞的增殖能力显著降低($P < 0.05$), 粘附能力显著降低($P < 0.05$)。(3)选择高浓度 TNF- α (120 ng/mL)处理 A549 细胞 24 小时后, 与空载质粒 pEGFP-C1 组相比, 瞬时转染 HIF-1 α 过表达质粒 pEGFP-C1-HIF 后, HIF-1 α 的表达在 mRNA 和蛋白水平都显著增加($P < 0.05$), 与此同时 VASP 的表达在 mRNA 和蛋白的水平显著降低($P < 0.05$)。相反, 与 Scrambled-siRNA 组比较, 通过转染 HIF siRNA 特异性敲降 HIF-1 α 后, HIF-1 α 的表达在 mRNA 和蛋白水平都显著降低($P < 0.05$), 与此同时 VASP 的表达在 mRNA 和蛋白的水平显著增高($P < 0.05$)。(4)在给于肿瘤坏死因子- α 诱导的细胞中, 通过转染 HIF siRNA 特异性敲降 HIF-1 α 表达后, TNF- α 带来的 HIF-1 α 的升高被部分抵消了($P < 0.05$)。(5)Luciferase assay 的检测结果显示 HIF-1 α 可以与 VASP 启动子区域结合从而在转录水平上抑制 VASP 的表达。

【结论】 高浓度 TNF- α 通过增加 HIF-1 α 的表达, 调控并抑制 VASP 蛋白的表达, 从而降低肺癌 A549 细胞增殖和粘附, 从而发挥抗肿瘤的作用。

关键词: 肺癌; TNF- α ; HIF-1 α ; VASP; 肿瘤细胞增殖和粘附

A-S4-28

自分泌促炎因子在肿瘤化疗耐药中的作用

白震寰, 陈琼昀; 指导教师: 高丰光

厦门大学 2011 级临床医学

【目的】 顺铂和依托泊苷联合化疗(EP)是临床常用的针对肺癌的化疗方案。但长期应用 EP 后, 其药效减弱, 产生多药耐药, 影响疗效。并有文献报道, 某些促炎因子在多药耐药中发挥着作用。本课题旨在探究 EP 诱导的化疗耐药机制, 找出潜在的多药耐药作用靶点。

【方法】 (1)基础实验: 选用 NCI-H446 和 A549 肺癌细胞系, DDP 处理后进行细胞克隆形成实验, 发现在 CM 培养条件下, 两种细胞耐药性形成。以此为基础进行设计。用 TNF- α 、EP、CM、TNF- α 抑制剂分别或共同处理