

H446 和 A549 细胞,通过光镜、流式细胞术、台盼蓝细胞计数来明确细胞存活情况。用 TNF- α 处理后通过蛋白质印迹和 real-time PCR 法检测 ABCG2、MRP2、Bcl-2、Bcl-xl、Mcl-1 的表达,再用 TNF- α siRNA 进行干扰,用 real-time PCR 检测。先用蛋白质印迹法检测两种细胞中磷酸化 ATM 和磷酸化 I κ B-a 的表达情况,再用 TNF- α 处理,通过蛋白质印迹和共聚焦显微检测,确定磷酸化 ATM、磷酸化 p65 和磷酸化 I κ B-a 的表达。用 TNF- α 、ATM 抑制剂、NF- κ B 抑制剂分别和(或)共同处理细胞,通过蛋白质印迹和 confocal 来确定磷酸化 ATM、磷酸化 p65、磷酸化 I κ B-a、ABCG2、MRP2、Bcl-2、Bcl-xl、Mcl-1 的表达。通过 siRNA 干扰 ATM、p65,再用蛋白质印迹和 real-time PCR 来确定这些蛋白的表达。(2)临床实验:通过回顾性分析,取小细胞肺癌和非小细胞肺癌患者的癌组织和癌旁组织,通过免疫组化检测 TNF- α 的表达情况。再结合患者的预后,进行数据分析,探究患者 TNF- α 表达和预后之间的关系。

【结果】 DDP 处理的细胞克隆实验发现,在 CM 培养条件下,NCI-H446 和 A549 两种细胞耐药性比 DDP 组明显,说明两种细胞耐药性形成。

【结论】 CM 中含有的某一细胞因子(TNF- α)能够诱导 NCI-H446 和 A549 两种肺癌细胞耐药性形成,为治疗肺癌多药耐药提供新的可能的治疗靶点。

关键词: TNF- α ; 肿瘤耐药; NCI-H446; A549

A-S4-29

PcG 调控肝癌耐药性的规律及机制研究

李康丽,赵 越,潘长宝;指导教师:高淑彬,金光辉

厦门大学 2011 级临床医学

【目的】 肝癌是目前我国发病率和致死率位居第二位的恶性肿瘤,每年约有 30 万例新发肝癌,占全球 50% 以上。尽管通过手术和化学药物治疗,其五年生存率仍然很低,肝癌细胞对于化疗药物的耐药性的产生是肝癌高致死率的主要原因。Polycomb group(PcG)蛋白通过染色质的组蛋白甲基化修饰调控靶基因的转录,是重要的促癌基因。我们及其他研究组发现,在肝细胞肝癌中 PcG 家族蛋白异常高表达,与肝癌术后存活率等恶性指标密切相关,是肝细胞肝癌预后的重要分子标志物。然而,PcG 蛋白在肝癌细胞耐药性的产生中如何发挥作用尚不清楚。本研究主要探讨 PcG 家族蛋白调控肝癌细胞化疗耐受性产生的生物学功能及其靶基因网络,并阐明其表观遗传学机制。

【方法】 用表柔比星、丝裂霉素 C 等化疗药物短期处理 HepG2 等肝癌细胞系,real-time qRT-PCR、蛋白质印迹检测 EZH2、SUZ12、CBX8 及 BMI1 等 PcG 家族蛋白表达规律;通过建立 EZH2 过表达或 shRNA 干扰稳定细胞系,克隆形成和流式细胞技术等检测细胞增殖、细胞凋亡等指标,探讨 EZH2 异常表达肝癌细胞对化疗药物的敏感性;从实验室前期 ChIP-on-ChIP 组学数据的整合性分析入手,筛选 ATM 等靶基因,探讨 PcG 调控 ATM 转录及表达的规律及机制,深入揭示 ATM 通路在 PcG 调控的肝癌细胞化疗药物耐受性产生中的关键作用。

【结果】 通过前期实验我们发现:短期化疗药物处理导致 PcG 蛋白表达量下降,而不影响其转录水平表达,提示化疗药物通过蛋白稳定性影响 PcG 蛋白表达;PcG 通过 H3K27me3 组蛋白甲基化机制抑制 DNA 损伤修复基因 ATM 表达,参与化疗药物引起的肝癌细胞 DNA 损伤修复过程,从而引起化疗药物耐受性产生;EZH2 蛋白的 SET 酶活性为靶点的小分子化合物 GSK126 显著促进肝癌细胞化疗药物敏感性。

【结论】 PcG 蛋白通过表观遗传学机制调控的 ATM 通路是肝癌细胞化疗耐受性产生的关键通路之一,以 PcG-ATM 为靶点的小分子化合物是有希望的化疗增敏剂。

关键词: PcG 蛋白; HCC; 耐药性