

B-S4-4

鳖甲煎丸含药血清对肝癌细胞 Bel-7402 增殖的影响及其可能机制

周海倩, 龚 衍, 陈荟瀛, 刘玉珠, 邱 鹏, 董红波; 指导教师: 常欣峰

赣南医学院 2012 级临床医学

【立题依据及设计思路】 原发性肝癌是一种常见恶性肿瘤, 探索行之有效的治疗方法, 是一个亟待解决的问题。鳖甲煎丸是医圣张仲景所创, 研究表明具有较好的抑制肝癌生长, 防止肝癌转移的作用, 但其机制不明。本实验拟观察鳖甲煎丸含药血清对肝癌 Bel-7402 细胞生长的影响, 从细胞凋亡和肿瘤血管新生角度探讨其抗癌机制, 为临床应用此方治疗肝癌提供理论与实验依据。

【实验内容】 (1) 大鼠含药血清的制备; (2) MTT 法检测不同剂量鳖甲煎丸含药血清对 Bel-7402 细胞增殖的影响; (3) 流式细胞术检测含药血清对 Bel-7402 细胞凋亡情况; (4) 蛋白质印迹法检测 Bcl-2、Bax、ERK1、p-ERK、JNK、p-JNK 等相关凋亡蛋白含量的变化, 探讨其影响 MAPK 信号通路传导, 促进肿瘤细胞凋亡的作用机制; (5) 蛋白质印迹法检测肿瘤细胞 VEGF、Delta-4、NICD 等蛋白表达变化, 探讨鳖甲煎丸影响 VEGF-D114-Notch 信号通路传导, 抑制肿瘤血管生成的作用机制。

【材料】 SD 大鼠、胎牛血清、中药、5-FU、相关抗体等。

【可行性】 (1) 鳖甲煎丸以活血、补益、散结为主, 既有攻伐之效, 亦含补益之功。课题组前期在体实验证明鳖甲煎丸具有较好的抑瘤功效。血清药理学对于中药复方制剂的复杂化学成分能更好的反映药物在体内环境中产生药理效应的真实过程, 在理论上具可行性。(2) 课题组成员已掌握相关实验技术。(3) 科研中心仪器设备能满足实验所需。

【创新性】 中药在抑制肝癌细胞增殖、控制瘤体生长等方面具有独特的优势。目前对中药抗肿瘤的研究仍以单味药或药物单体成分及临床经验方为主, 而中医经典复方对肿瘤相关信号通路影响的研究则相当少见。本课题在前期鳖甲煎丸抑制 S180 实体瘤研究的基础上, 通过体外实验观察其对肝癌细胞 Bel-7402 的影响, 并运用血清药理学、形态学、流式细胞术、MTT、蛋白质印迹等方法, 试图从促进肿瘤细胞凋亡及阻碍瘤体内血管生成两方面, 探讨鳖甲煎丸治疗肝癌的可能机制。本研究在思路, 将传统中医药理论与现代医学分子生物学理论相结合, 探讨中药复方治疗肝癌机制。为中医经典复方治疗肿瘤提供理论基础。

关键词: 鳖甲煎丸; 含药血清; 肝癌; 机制

B-S4-5

MiR-145 介导的 OCT4/SOX2 相互调控作用研究及其对前列腺癌细胞生存的影响

黄 宁, 李 栋; 指导教师: 于晓光

1. 哈尔滨医科大学 2012 基础医学七年制
2. 哈尔滨医科大学 2009 基础医学七年制

【立论依据】 OCT4 与 SOX2 是两个在癌症进展中重要的转录因子, 在前列腺癌中呈现高表达状态, 报道显示 OCT4 可以通过调控 STAT3 调节细胞生存, 我们之前的研究显示 SOX2 能够在前列腺癌细胞中上调 AKT 通路活性, 但 OCT4/SOX2 二者是如何相互作用调节彼此表达的机制并不完全清楚。报道称二者均能被 miR-145 调控, 二者是否能够竞争性的结合 miR-145, 通过 ceRNA 途径相互调控彼此的表达? 继而调节前列腺细胞生存? 我

们将在裸鼠模型及临床标本中验证,上述机制如能证实将给 PCa 治疗提供新的思路和靶点。

【设计思路】 以 Dicer 缺陷细胞作为阴性对照,在前列腺癌细胞中下调/过表达 OCT4/SOX2 3'UTR,观察二者表达变化,同时检测细胞增殖及侵袭情况及相关信号通路变化。

【实验内容】 通过 qRT-PCR、蛋白质印迹和免疫组织化学(IHC)方法,检测临床标本及常见前列腺癌细胞系 OCT4 与 SOX2 的表达;通过报告基因和 RNA 免疫共沉淀验证 miR-145 调控 OCT4/SOX2 表达;使用 siRNA 干扰 OCT4/SOX2 表达, RNA 及蛋白水平观察其表达的相互影响;过表达 OCT4/SOX2 3'UTR, RNA 及蛋白水平观察其表达的相互影响。采用上述技术控制表达后,检测细胞增殖及侵袭情况同时检测信号通路变化。裸鼠皮下注射及尾静脉注射 OCT4/SOX2 3'UTR 过表达及空细胞,分别观察肿瘤细胞的增殖和转移能力。

【创新性 & 可行性】 OCT4 与 SOX2 是两个在干细胞及癌症进展中重要的转录因子;OCT4/SOX2 二者是如何相互作用维持彼此表达的机制并不清楚,我们发现二者均能被 miR-145 调控,而 miR-145 是不是作为一个中介因子使得二者能够相互调控彼此的表达? SOX2、OCT4 作为 IPSC Cocktail 的重要组分,在促进 IPSC 的过程中,是不是亦存在这样的相互作用? 如果该相互调节被证实,不但对于肿瘤学是一个重要的进展,更或能改变干细胞的研究思路。目前临床上用于治疗癌症的常规化学治疗药物均存在不同的缺点,若 OCT4 和 SOX2 能够通过 miR-145 相互调控进而影响肿瘤细胞生物学行为,即有以此为靶点设计药物的可能,为治疗提供一个新思路。

关键词: OCT4; SOX2; miR-145; 前列腺癌

B-S4-6

探究 DATS 通过调节 ERK/NF- κ B 凋亡通路和诱导自噬而抑制宫颈癌的作用机制

黄鸿鑫¹, 童丽萍², 陈晓杭¹, 段晨薇³; 指导教师: 张凤民

1. 哈尔滨医科大学 2010 级基础医学七年制
2. 哈尔滨医科大学 2009 级基础医学七年制
3. 哈尔滨医科大学 2012 级基础医学七年制

【立题依据】 宫颈癌在发展中国家女性癌症中的死亡率居第二位,主要化疗药物顺铂存在耐药问题,使化疗遇到瓶颈,故需寻找新的有效化疗方案改善现状。研究发现大蒜素(allicin)及其代谢产物二烯丙基三硫化物(DATS)均对肿瘤生长有抑制作用,但 DATS 在宫颈癌中的作用未见报道。研究表明 DATS 在诱导乳腺癌细胞凋亡中抑制了 ERK 表达,而 ERK 下调可减少 NF- κ B 活化,且 ERK 和 NF- κ B 在宫颈癌发生发展中起重要作用,故推测 DATS 可能通过 ERK/NF- κ B 通路诱导宫颈癌细胞凋亡。Allicin 在肝癌中可诱导自噬抗癌,但 DATS 能否通过自噬抗癌尚无报道。综上,课题探究 DATS 是否通过调节 ERK 及 NF- κ B 凋亡通路和自噬通路抗宫颈癌。

【设计思路】 通过体外实验明确 DATS 对宫颈癌细胞的抑制作用并探究其是否调节 ERK 及 NF- κ B 凋亡通路和自噬通路抗宫颈癌;体内实验验证 DATS 调节 ERK 及 NF- κ B 凋亡通路和自噬通路抗宫颈癌。

【实验内容】 明确 DATS 对宫颈癌细胞的抑制作用,筛出敏感细胞系和最佳作用浓度及时间点;上下调 ERK、NF- κ B 的表达,探究 DATS 是否通过调节 ERK 及 NF- κ B 通路促进宫颈癌细胞凋亡;检测自噬小体形成率及自噬相关蛋白 BAD,Beclin1 的表达,并通过上下调其表达水平,探究 DATS 是否诱导宫颈癌细胞自噬;构建裸鼠移植瘤模型,验证 DATS 通过 ERK 及 NF- κ B 凋亡通路和自噬通路抗宫颈癌。

【材料】 HeLa, SiHa, CaSki 细胞系, DATS, ERK, NF- κ B, Bcl2 及 GFP-LC3 表达质粒, ROS, NF- κ B 及 BAD 抑制剂, 3-MA, 裸鼠。

【可行性】 理论可行:文献报道 Allicin 可抗癌,其代谢产物 DATS 也能抑制肿瘤生长。目前 DATS 在宫颈癌中的作用虽无报道,但发现 DATS 在乳腺癌细胞中抑制 ERK 表达,而 ERK 表达与 NF- κ B 活化正相关,且 ERK/NF- κ B 在宫颈癌中起重要作用。文献报道 Allicin 可诱导肝癌细胞自噬,但其代谢产物 DATS 是否通过自噬抗癌