

B-S4-14

针对肝癌化疗耐药的多靶标 siRNA 的构建和功能鉴定

李佳佳¹, 潘永丽², 张森磊³; 指导教师: 郑永霞, 张成文

1. 嘉兴学院南湖学院 2012 级临床医学

2. 嘉兴学院 2012 级临床医学

3. 嘉兴学院南湖学院 2011 级临床医学

【立论依据】 肿瘤耐药机制复杂多样, 是多基因, 多步骤综合作用的结果, 仅使用单一阻断的方法, 尚不能取得令人满意的逆转效果。因此, 针对肝癌多种耐药机理, 设计和构建能降低肝癌细胞化疗耐药性的新型纳米药物是改善肝癌药物治疗效果的关键科学问题。近年来韩国科学家 Dong-Ki Lee 构建了一种可同时靶向 4 个癌基因 (Survivin、 β -catenin、STAT3、MET) 的, 由 4 个 RNA 双螺旋组成的四聚体 RNAi (quadruple interfering RNAs, qiRNA), 其转染效率和干扰效率优于传统的 siRNA。因此, 本项目拟采用该策略, 针对肝癌细胞膜上固有的高表达 ABC 蛋白和肝脏独特的代谢解毒机制以及肝癌干细胞的耐药机制, 选取了 4 个多药耐药相关的关键基因: 编码细胞膜上 ABC 转运蛋白的 MDR1 基因、参与肝细胞解毒功能的谷胱甘肽转移酶基因-GST pi、抑制细胞凋亡的 Survivin 基因和参与肝癌干细胞“干性”维持的 Snail 基因, 将其构建成四合一的四聚体 qiRNA; 采用肝癌细胞耐长春新碱 (VCR) 耐药株 (SMMC7721/VCR) 作为多药耐药细胞, 通过观察转染四聚体 qiRNA 后各个靶基因的表达情况以及细胞增殖、细胞凋亡和瘤体抑制率的变化, 以评价四聚体 qiRNA 对改善肝癌细胞耐药性的效果。

【设计思路】 本项目围绕着降低肝癌化疗耐药性的科学问题, 设计和构建针对肝癌不同耐药基因和信号通路的多靶点 RNAi 药物, 并在细胞水平上检测其靶基因的干扰效率及肝癌耐药株细胞耐药性的改变, 试图获得有效降低肝癌化疗耐药性的新型多聚 siRNA, 为开发新型的多靶点抗肿瘤药物奠定基础。

【实验内容】 (1) 肝癌多药耐药相关基因 siRNA 序列的筛选。(2) 多聚 siRNA 的构建与表征。(3) jetPEI 介导多聚 siRNA 的抗肿瘤活性评价。

【材料】 肝癌药物敏感细胞株 SMMC7721 及肝癌耐长春新碱细胞株 SMMC7721-VCR, qiRNA 或 NC 序列的合成由广州瑞博生物有限公司完成。其他常规试剂实验室都有储存。

【可行性】 该实验设计思路新颖、制定的项目方案切实可行, 项目组所在学校对学生实践创新及实验实训一贯积极支持和鼓励, 匹配经费到位, 配套扶持政策完善。因此, 项目开展所需的人员、场地、实验设备、材料和经费等条件均可以保证。

【创新性】 (1) 本课题首次构建一种新型的多靶点的单一多聚 siRNA 制剂。(2) 课题组首次获得有效降低肿瘤多药耐药性的多靶点 siRNA 分子。

关键词: 肝癌 化疗耐药; qiRNA

B-S4-15

采用临床超声造影技术结合实时病理检测方法初步筛选肿瘤血管拟态相关诊断参数

陈宇潇, 倪成铭, 王少和, 孙瑞凤, 张金梦; 指导教师: 冯 磊

江南大学无锡医学院 2012 级临床医学

【立论依据】 临床研究证实多种肿瘤组织中都存在血管生成拟态 (VM), VM 在临床上与肿瘤恶性程度、肿瘤血行转移、患者生存期及不良预后密切相关。但是目前在临床上还没有一个针对 VM 的诊断指标, 所以有必要找到一个 VM 相关的预测性诊断指标, 据此判断患者肿瘤的恶性程度及血供模式特点, 为药物选择或手术治疗提供

诊断依据。

【设计思路】 我们拟通过超声造影或彩色多普勒等医学影像手段判断 VM 血液灌注特点,并经过统计学相关数据分析筛选其相关参数或参数组合,将其作为 VM 的临床诊断指标,弥补 VM 临床诊断的空白。

【实验内容】 本项目借助荷瘤小鼠动物模型,将超声造影与实时病理学切片分析技术结合,从超声造影参数中筛选与 VM 相关的参数,为确定临床 VM 的诊断指标提供实验依据。

【材料】 H22 瘤源鼠、CD31 和 PAS 免疫组化试剂盒、超声造影剂 SonoVue。

【可行性】 本项目组由无锡医学院负责解剖学、生物化学、生理学的老师提供动物实验的技术支持,同时与无锡市人民医院超声医学科合作,可以获得超声造影以及部分生化指标检测的技术支持。

【创新性】 本项目旨在寻找一种 VM 相关的临床影像诊断指标,弥补临床上超声造影诊断肿瘤 VM 的空白,为肿瘤性质的诊断和选择治疗方案提供新的实验依据。

关键词: 血管生成拟态;超声造影;病理学切片分析;临床影像诊断指标

B-S4-16

天然药物抗肿瘤的全新概念--氧化剂与抗氧化剂的协同作用

刘玮璐¹, 罗宇晨¹, 徐若霆², 张 玥¹, 张誉腾¹; 指导教师: 赵 明

1. 南方医科大学 2010 级临床医学八年制

2. 南方医科大学 2011 级临床医学八年制

【立论依据】 肿瘤与机体免疫系统之间存在着相互作用,肿瘤细胞以多种方式逃逸机体免疫或抑制相关免疫细胞功能。免疫系统抗肿瘤的作用主要是细胞免疫,其中又以 T 细胞为主,CD4⁺ T 细胞分泌的细胞因子以及 CD8⁺ T 细胞释放的穿透素等,都具有杀灭肿瘤细胞的作用。但是,不论是 CD4 或 CD8 细胞的活化,均需要以树突状细胞(dendritic cells, DC)为代表的抗原提呈细胞的激活。DC 细胞的激活,需要有氧化剂的共刺激,适当的氧化应激反应的自由基,帮助 T 效应细胞的激活,但是过量的自由基反而诱导 T 细胞的凋亡,即所谓 T 细胞的氧化筛选过程。因而足量有效的抗氧化剂,保护 T 细胞的存活,提供存活信号(survival signal),使被 DC 细胞激活了的特异性杀灭肿瘤的 T 细胞,得以激活并存活增殖。

【设计思路】 按照工艺流程对芥菜籽的有效成分进行提取,并通过实验进行功能鉴定;在提纯物功能鉴定的基础上,对提纯物进行进一步的配伍;通过二甲基胍(dimethyl hydrazine, DMH)诱导构建 wilstar 大鼠结直肠癌模型,验证氧化剂和抗氧化剂协同抗肿瘤的概念,探究不同配伍对结直肠癌的预防作用机制。

【实验内容】 (1)芥菜籽有效成分提取;(2)芥菜籽有效成分功能鉴定;(3)对提纯物进行进一步的配伍;(4)DMH 诱导构建 Wilstar 大鼠结直肠癌模型;(5)探究不同配伍对结直肠癌的预防作用机制。

【材料】 Wilstar 大鼠、白芥籽、二甲基胍、0.9%NaCl 溶液、乙醚、酒精、流式细胞检测试剂盒。

【可行性】 (1)理论层面,肿瘤细胞普遍存在特异性标志物,通过分析白芥子不同组分对免疫应答调控的不同环节作用,发现氧化剂和抗氧化剂对识别和提呈肿瘤细胞特异性抗原,以及激活免疫效应细胞(T 细胞等)以期最后杀灭肿瘤细胞,具有重要协同作用。(2)技术层面,已经建立了完整的药物纯化和筛选的技术和装备,其中包括动物模型的建立,现代化免疫指标观察例如多道流式细胞仪方法观察免疫细胞的分类、激活, Luminex 大规模检测免疫细胞因子确证免疫系统 Th1 和 Th2 漂移,以及病理、免疫组化等手段确定药物效果。(3)人员配置,课题指导教师已经发表前期工作 SCI 论文 2 篇、中文相关论文 5 篇,在抗氧化、抗肿瘤方面的研究有 20 余年的工作经验,希望能够顺利完成预定工作目标。

【创新性】 本研究的特点是应用现代免疫学研究方法,结合生物化学的基本研究手段,从机制上发现天然药物预防肿瘤的细胞和分子生物学原理。结合肿瘤研究经典模型验证其效果,对实现中医药现代化转变具有重要的理论和临床应用价值。

关键词: 天然药物;芥菜籽;氧化剂;抗氧化剂;免疫细胞激活