

B-S4-20

胃癌细胞中 VD_3 对 NF- κ B 通路的影响机制及与萜类化合物协同作用探究

梅竞天, 郑火亮, 胡光奕, 秦诗; 指导教师: 沈文红

上海交通大学医学院 2012 级临床医学五年制

【立论依据】 NF- κ B 信号转导途径在调节细胞增殖、分化、凋亡中起到重要作用; I κ B- α 是调节 NF- κ B 信号转导途径的核心蛋白; VD_3 可以通过影响 I κ B- α 、转录因子等方式抑制 NF- κ B 信号转导途径的激活; 萜类化合物是目前医药研究中很有前景的化疗药物, NF- κ B 的抑制可以增强其抗肿瘤效应。

【设计思路】 选取低分化、中分化胃癌细胞与正常胃组织细胞, 给予其不同 VD_3 作用环境(时间、浓度), 从 mRNA、蛋白水平上测定 NF- κ B 途径的表达活性。通过阻断 VD_3 和 IKK β 的相互作用, 研究 VD_3 调控 I κ B- α 含量的主导因素。协同施用二萜类化合物-紫杉醇与 VD_3 , 探究两者的协同作用与最佳浓度。

【实验内容】 (1) 将人胃癌中、低分化的细胞株系与正常胃组织细胞(空白对照), 并分别用 10^{-9} 、 10^{-8} 、 10^{-7} mol/L 培养 0、4、16、24 h 后用 RT-PCR 检测 I κ B- α 的 mRNA 含量变化, 用 western blot 检测 I κ B- α 蛋白的含量变化, 以 ChIP 检测 NF- κ B 转录因子与 DNA 结合活性。(2) 降低 IKK β 与 VD_3 的结合活性, 阻断 VD_3 对 I κ B- α 降解的抑制, 定量检测 I κ B- α 的蛋白质和 mRNA 含量。(3) 以不同浓度比例、作用时间方式的紫杉醇与 VD_3 刺激胃癌细胞, 检测其存活率与细胞周期分布。

【可行性】 预实验中已证实 VD_3 可以使胃癌细胞中 I κ B- α 含量上升, 且刺激时间为 4h 的组中最为显著。

【创新性】 (1) VD_3 的部分作用机制仍不明确。我们猜想 VD_3 可能通过抑制 NF- κ B 通路上某些具体的信号分子而发挥作用, 并期望在胃癌细胞中得以验证。(2) VD_3 可以通过促进 I κ B- α 的生成以及抑制 I κ B- α 的降解来提高其在细胞中的含量, 从而抑制细胞周期。但是哪种因素占主导作用却鲜有研究。我们设计 IKK β 抑制实验来探究影响 I κ B- α 含量的主导因素, 从而为更有效地调节 NF- κ B 信号通路提供实验依据。(3) 选用萜类化合物中的紫杉醇, 利用 NF- κ B 通路为其与 VD_3 作用机制的交叉点, 进行探究。如果确认 VD_3 对紫杉醇杀伤癌细胞产生增敏作用, 将对胃癌的临床化疗提供一种有效的治疗方案。

关键词: 1, 25(OH) $_2D_3$; NF- κ B; I κ B- α ; 胃癌; 紫杉醇

B-S4-21

CD70 在肝细胞癌转移侵袭中作用的研究

王晶¹, 王清¹, 李一鹏²; 指导教师: 董凌月, 安威

1. 首都医科大学 2012 级基础医学五年制

2. 首都医科大学 2009 级基础医学五年制

【立论依据及设计思路】 CD70 属于肿瘤坏死因子超家族成员, 为 II 型跨膜蛋白, 与淋巴细胞上 CD27 结合后发挥作用。其在包括肾癌在内的多种肿瘤中表达异常, 与免疫逃离有关。但 CD70 在肝细胞癌中的表达及其作用目前尚不清楚, 本课题组在前期实验中意外地获得了具有很强迁移侵袭能力的肝癌细胞, 而在这种细胞中 CD70 表达显著下降, 随后我们又分析了 40 例巴塞罗那(BCLC)不同分级肝癌患者肿瘤组织和癌旁组织中 CD70 的表达, 发现肿瘤出现转移后, CD70 的表达明显下调, 说明肝癌发生转移时 CD70 的表达确实出现改变。因此本实验旨在研究 CD70 表达变化与肝癌细胞转移侵袭间的关系, 为肝癌病程提供新的潜在的转移标志物。

【实验内容】 (1) 选择 HepG2、Huh7、Hep3B 和 BEL-7402 不同肝癌细胞系, 利用流式细胞分选技术, 分选 CD70 阳性和 CD70 阴性的细胞进行培养。(2) 运用相差显微镜、扫描电镜及透射电镜观察 CD70 表达情况不同的

细胞形态;应用 MTT 的方法检测不同细胞的细胞活力;利用 transwell 实验检测不同的细胞迁移和侵袭能力;最后根据实验结果,查询与迁移有关的蛋白质并利用蛋白质印迹的方法进行检测。(3)分别采用裸鼠尾静脉注射观察肺部转移瘤和脾脏注射观察肝转移瘤的方法,评价 CD70 表达变化与肿瘤转移及注射后裸鼠生存率的关系;通过皮下注射检测不同细胞的成瘤性并保留照片和组织,进行免疫组化以及蛋白检测。(4)选择新鲜人肝癌组织,用流式细胞技术对这些组织进行 CD70 表达的检测并分选,再将分选好的新鲜人肝癌细胞异体移植到裸鼠体内以检测其细胞特性是否与体外培养的细胞一致。

【材料】 HepG2、Huh7、Hep3B、及 BEL-7402 细胞系,流式分选仪,CD70 的流式抗体 BD Pharmingen 555834, BD Pharmingen 555835,裸鼠,新鲜人肝癌组织

【可行性】 前期工作已证实 CD70 在肝癌细胞转移后表达下调,提示 CD70 可能参与肝癌的转移;能熟练操作课题中所需的方法;所属实验室为“肝脏保护与再生调节北京市重点实验室”,与北京佑安医院具有合作关系,能获得新鲜人肝癌组织。

【创新性】 首次发现 CD70 在肝癌转移过程中表达下调,同时本课题首次提出 CD70 表达下调可能促进肝癌转移。

关键词: CD70;肝细胞癌;转移

B-S4-22

C. novyi-NT 抗肝癌细胞作用的实验研究

陈 晔,张 硕;指导教师:李明远

四川大学 2010 级基础医学基地班

【立论依据】 2001 年 Dang 等通过研究 *Clostridium novyi*(*C. novyi*)对结直肠肿瘤、黑色素瘤的作用发现,它能够引起广泛的肿瘤细胞坏死;为了减少其致病性,*C. novyi* 中编码外毒素的基因被去除,成为 *C. novyi*-NT(Non-toxicogenic *C. novyi*)菌株。研究人员将 *C. novyi*-NT 芽胞通过尾静脉给予荷瘤裸鼠,有趣的是,*C. novyi*-NT 除了在肿瘤中生长外,却并不累及其它正常组织;实验结果表明 *C. novyi*-NT 在肿瘤低氧区域弥散分布,并引起该区域肿瘤细胞明显坏死,整体上缩小肿瘤体积,且具有约 30% 的治愈率。*C. novyi*-NT 对肿瘤的杀伤作用被证实与引起机体免疫反应有关,但具体机制仍不清楚。随后 *C. novyi*-NT 芽胞被用来联合抗肿瘤药物、放射疗法,均表现出令人振奋抗肿瘤协同作用。目前 *C. novyi*-NT 的抗肿瘤研究已进入 I 期临床试验,以评估其安全性。

【设计思路】 基于已有的研究基础,我们提出 *C. novyi*-NT 对肝癌具有治疗作用,且是通过诱导机体产生免疫炎症反应起到杀伤作用;另外,通过联合索拉非尼、紫杉醇等化疗药物,能够起到协同作用。

【实验内容】 (1)建立鼠肝癌 H22 荷瘤小鼠模型;观察肿瘤生长情况,统计小鼠存活天数;(2)*C. novyi*-NT 芽胞的制备:诱导 *C. novyi* 菌株芽胞形成,通过物理方法去除毒力基因,得到 *C. novyi*-NT 芽胞;(3)*C. novyi*-NT 抗肝癌作用的研究:将 *C. novyi*-NT 芽胞通过尾静脉注入荷瘤小鼠,观察肿瘤生长变化、测量肿瘤体积,统计小鼠治愈率、死亡率,检测血管生成指标及免疫指标;联合 *C. novyi*-NT 与肿瘤化疗药物索拉非尼、紫杉醇处理荷瘤小鼠,观察抗肿瘤效果并检测血管生成、免疫指标。

【材料】 *C. novyi*;H22 鼠肝癌细胞株;BALB/c 小鼠;索拉非尼;紫杉醇。

【可行性】 本项目立论依据充分,有大量的相关研究工作作为基础;实验设施及实验环境均满足本项目要求,并受到微生物学教研室主任李明远教授指导;项目研究团队均为基础医学基地班学生,通过平时各类科研训练,已有一定的实验基础。

【创新性】 此项目为肿瘤学、微生物学、免疫学等多学科交叉,并与转化医学紧密结合。此项目将首次揭示 *C. novyi*-NT 对肝癌的治疗作用及具体机制,并通过 *C. novyi*-NT 联合肿瘤化疗药物对肝癌的协同治疗作用,为耐药性肿瘤的治疗提供新的治疗策略。

关键词: 厌氧菌;*C. novyi*-NT;肝癌;化疗