

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