

B-S4-26

JAM-A 表达与肺腺癌侵袭转移的关系及机制

赵晨¹, 祝子雯¹, 陈红霞², 陆富年²; 指导教师: 陈洪雷

1. 武汉大学 2010 级临床医学八年制

2. 武汉大学 2013 级临床医学五年制

【立论依据】 JAM-A 是上皮细胞紧密连接结构的重要成分, 在紧密连接装配、白细胞迁移、血小板活化和血管生成等细胞过程中发挥重要作用, 参与调节炎症反应, 并与细胞极性和渗透性的调节有关。目前发现 JAM-A 参与肿瘤的进展过程, 其过量表达可能与患者的不良预后有关。但 JAM-A 在肿瘤进展中的功能尚存争议, JAM-A 在肺腺癌中侵袭和转移中作用及机制尚未阐明。

【设计思路】 本实验在组织、细胞和动物三个层面探究肺癌中 JAM-A 蛋白在肺腺癌侵袭、转移和预后中的作用, 证实 JAM-A 过表达促进肺腺癌进展。

【实验内容】 (1) 组织实验: 量子点免疫荧光检测 200 例肺腺癌组织 JAM-A 表达, 观察 JAM-A 表达情况与临床病理因素及预后的关系。(2) 细胞实验: 培养人肺腺癌细胞 A549 和人正常肺上皮细胞 BEAS-2B, ①用 siRNA 分别转染细胞系使 JAM-A 基因沉默; ②质粒转染细胞系建立 JAM-A 基因高表达的模型; ③对两个系列的肺腺癌细胞和正常肺上皮细胞均用共聚焦显微镜、蛋白质印迹法和直接测定 TER 观察细胞紧密连接结构变化, Transwell 小室方法检测细胞侵袭和迁移能力, MTT 法检测细胞增殖能力。(3) 动物实验: 建立 JAM-A(-) 裸鼠和正常同种裸鼠构建肺腺癌荷瘤模型, 检测肿瘤细胞 JAM-A 的表达情况并比较两组肿瘤的生物学特征。

【材料】 肺腺癌组织, 肺腺癌细胞系, JAM-A(-) 裸鼠, JAM-A 抗体, 质粒转染试剂盒, 量子点试剂盒等。

【可行性】 前期工作已明确 JAM-A 在肺腺癌中表达与一些临床病理参数相关。指导教师课题组一直从事肿瘤侵袭转移机制研究并取得一定成绩, 本组成员有较扎实的基础理论知识以及较熟练的实验操作技能。

【创新性】 (1) 探讨肺腺癌组织中 JAM-A 表达与临床病理参数及预后的关系。(2) 证实 JAM-A 过表达与肺腺癌的侵袭转移有关, 并探究其机制。

关键词: 肺腺癌; JAM-A; 紧密连接; 侵袭; 转移

B-S4-27

IL-15 调节树突状细胞功能进而抗肿瘤机制研究

王越, 于静雯, 高丰光; 指导教师: 高丰光

厦门大学 2011 级临床医学

摘要: IL-15 是一种新近发现的细胞因子, 具有与 IL-2 类似的作用, 如激活 T 细胞、B 细胞和 NK 细胞, 并可介导这些细胞的增殖活化。IL-15 还具备 IL-2 所没有的优势, 如能促进 CD8⁺ 记忆性 T 细胞的增殖活化, 且不激活调节性 T 细胞(Tregs), 解除 Tregs 对 T 细胞的抑制作用。以上都显示了 IL-15 在免疫调节中的重要作用。已有文献报道, 将表达 IL-15 及其受体的鼠乳腺癌细胞注入小鼠体内, 这些肿瘤细胞可以激发其对自身抗原的提呈能力, 促进 CTL 增殖活化及 IFN- γ 的分泌, 从而起到抗肿瘤作用。因此我们猜测 IL-15 可能会对专职性抗原提呈细胞, 如树突状细胞(DC)也产生类似作用。此外相关文献报道, 尼古丁可以增强 DC 的功能并通过激活 MAPK 和 PI3K-AKT 途径上调 DC 表面分子的表达。这些表面分子与我们前期实验中 IL-15 刺激后 DC 表面上调的分子大致相同, 但是 IL-15 发挥其作用是否也是通过激活相似的信号通路还有待进一步研究。我们以 C57 小鼠髓系 DC (BMDC) 为研究对象, 首先以流式细胞术检测 IL-15 受体是否在 DC 表面表达, 然后以微量 IL-15 作用于 DC 后通过流式细胞术、蛋白质印迹法等检测 DC 表面分子表达量的变化。进而以 BrdU 增殖实验、ELISA 及体内抗肿瘤

实验检测 IL-15 是否可以增强 DC 介导的 T 细胞增殖活化以及 CTL 杀伤效应。最后通过应用信号通路阻断剂阻断相应的激酶结合 BrdU 增殖实验、蛋白质印迹等方法探究 IL-15 上调 DC 表面分子表达的作用机制。前期结果: DC 表面确实存在 IL-15 受体,且 IL-15 可使 DC 表面 MHC I / II、CD80、CD40 等共刺激分子表达量上调。预期实验结果:在 IL-15 的作用下,DC 介导的 T 细胞增殖活化及 CTL 的杀伤效应增强;使用相应信号通路阻断剂可以使 DC 表面分子表达量下降且 DC 介导的 T 细胞的增殖活化程度下降。综上所述,IL-15 可以通过上调 DC 表面 MHC I / II、CD80、CD40 等共刺激分子促进 T 细胞增殖活化以及 CTL 的杀伤效应。这种作用在适应性免疫应答以及抗肿瘤治疗中可能发挥重要作用,显示了 IL-15 的临床使用潜力。

关键词:IL-15;DC;抗肿瘤;表面分子;CTL

B-S4-28

SHP2/Hook1 通过上皮间质转化调控肺肿瘤转移的机制研究

刘宇;指导教师:程洪强

浙江大学 2011 级口腔医学

【立论依据】 肿瘤转移是肿瘤患者死亡的最主要原因,而上皮间质转化在肿瘤转移的起始过程中发挥重要作用。原癌基因 *ptpn11* 表达的蛋白酪氨酸磷酸酶 SHP2 在多种肿瘤中存在突变或高表达现象,提示 SHP2 参与肿瘤的发生与进展。本项目的前期研究发现 SHP2 促进上皮间质转化过程,且需要其酶活性的参与;新发现的 SHP2 相互作用蛋白 Hook1 在上皮间质转化中具有相反的抑制作用,而 Hook1 与 SHP2 的催化结构域结合。

【设计思路】 本项目对 Hook1 是 SHP2 的内源酶抑制剂这一假设进行研究,并探究 SHP2 与 Hook1 形成的蛋白复合物通过调节上皮间质转化过程影响肺肿瘤转移的可能性。

【实验内容】 (1)原核表达与纯化带有 His 标签的 SHP2 和 Hook1 蛋白,通过测定 SHP2 蛋白磷酸酶的活性探讨 Hook1 能否抑制 SHP2 的酶活性;(2)定量 PCR、蛋白质印迹方法比较侵袭能力不同的肺上皮细胞中 SHP2 和 Hook1 在 mRNA 与蛋白水平上的差异;(3)miRNA 干扰或过表达方法改变两种蛋白的表达水平,观察其对肿瘤细胞的迁移及侵袭能力的影响;(4)构建破坏 SHP2 与 Hook1 相互作用的截短或点突变质粒,探究 Hook1 对上皮间质转化以及细胞侵袭的影响是否需要 SHP2 的参与;(5)体内实验验证改变 SHP2 或 Hook1 的表达是否影响肿瘤细胞在小鼠体内的成瘤能力。

【材料】 原核表达质粒 PET21a, His 亲和纯化树脂,非小细胞性肺癌细胞株 A549, SHP2 siRNA, pCDNA3.1-SHP2 及突变体表达载体, Hook1 siRNA, pCDNA3.1-Hook1 及突变体表达载体,抗 SHP2、Hook1 抗体,4 组(每组 9 只,共 36 只)NOD/SCID 小鼠。

【可行性】 前期研究发现 SHP2 的蛋白酪氨酸磷酸酶活性能够促进肺上皮细胞的上皮间质转化过程;SHP2 的催化结构域相互作用蛋白 Hook1 则抑制上皮间质转化过程。在此基础上我们推测 SHP2 和 Hook1 通过上皮间质转化从而对肿瘤的转移产生影响,并且 Hook1 的作用需要 SHP2 的参与。故本研究具有较强的可行性。

【创新性】 新发现的与 SHP2 催化结构域相互作用的 Hook1 有可能成为首个 SHP2 的内源抑制蛋白。明确 SHP2/Hook1 复合物在上皮间质转化以及肿瘤转移中的作用,有助于认识 SHP2 与肿瘤转移的关系,所揭示的分子机制有望为肿瘤转移的早期诊断及临床治疗提供新的潜在靶点。

关键词:SHP2;Hook1;上皮间质转化;肿瘤转移