

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, SHP2siRNA, pCDNA3.1-SHP2 及突变体表达载体, Hook1siRNA, 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