

检测其干扰效果;利用细胞黏附实验和凝集素阻断实验,检测干扰前后、阻断前后 Hca-F 细胞黏附能力的变化;利用 FAK 信号通路特异性抑制剂,探讨 $\alpha 2,6$ -唾液酸介导肝癌细胞黏附行为的分子机制。

【结果】 $\alpha 2,6$ -唾液酸在小鼠肝癌高、低转移细胞株中表达具有显著差异,而 $\alpha 2,3$ -唾液酸的表达无显著差异;当通过 RNA 干扰技术特异性使 Hca-F 细胞中 ST6Gal-I 表达下调时,其细胞表面 $\alpha 2,6$ -唾液酸表达减少,削弱 Hca-F 细胞对淋巴结的黏附能力降低。此外,ST6Gal-I 表达下调可抑制 p-FAK 及下游 p-paxillin 蛋白分子的表达。

【结论】 细胞表面 $\alpha 2,6$ -唾液酸可通过 FAK 信号转导通路正性介导肝癌细胞的黏附行为,为肝癌的治疗提供新的靶点。

关键词: 唾液酸;唾液酸转移酶;肝癌;FAK;淋巴结黏附

A-S4-4

DMSO 处理的 Hepa1-6 细胞诱导小鼠建立肝癌特异性免疫及其机制研究

蒋政宇;指导教师:朱海英
第二军医大学 2011 级麻醉学

【实验背景】 肿瘤疫苗在近几年的飞速发展为临床的肿瘤生物治疗提供了新的思路。我们在前期研究中,偶然发现了 DMSO 处理 Hepa1-6 细胞不但能抑制细胞的增殖,而且将经过 DMSO 处理小鼠肝癌细胞 Hepa1-6 (D-hep 细胞)接种于 C57BL/6J 小鼠皮下后,肿瘤出现先生长后消退的现象,而且在消退小鼠皮下再次接种 Hepa1-6 时,无肿瘤形成。这一现象提示,经过 DMSO 处理后的 Hepa1-6 细胞可以诱导小鼠建立肿瘤特异性免疫,用 DMSO 处理肿瘤细胞可能可以成为制备肿瘤活疫苗的新方法。国内外尚有关于该方法的相关报道。

【实验目的】 证实经 DMSO 处理后的 Hepa1-6 细胞可以诱导小鼠建立肿瘤特异性免疫,并对其相关机制作初步探讨。

【实验方法及结果】 (1)在 C57 小鼠和 NOD/SCID 小鼠皮下分别接种 Hepa1-6 和 D-hep 细胞,证实了 D-hep 细胞在 C57 小鼠皮下先成瘤再消退,而在 NOD/SCID 小鼠皮下肿瘤则持续生长的特性,证明 D-Hep 细胞成瘤特性的改变是由于小鼠免疫系统的参与导致的。(2)在肿瘤消退过程中,以及消退后再次接种 Hepa1-6 后的数个时间点,脾脏细胞中 CD4 和 CD8 阳性的 central memory T 细胞和 effective memory T 细胞比例有明显的上升,同时 NKT 细胞在早期也有明显上升,血清 IFN- γ 检测也显示上升曲线与流式检测结果一致。我们还观察到接种 Hepa1-6 后,相比于野生型 C57 小鼠,接种了 D-hep 细胞的小鼠(D-hep 小鼠)Treg 细胞比例上升缓慢。(3)将接种了 D-hep 小鼠和野生型 C57 小鼠脾脏细胞取出,利用 CFSE 标记脾脏细胞,与 Hepa1-6 细胞和 Hepa1-6 细胞裂解液共培养,发现 CFSE 荧光强度有多峰表现;同时,利用 CCK-8 法检测共培养后的肿瘤细胞活力,发现 D-hep 小鼠组的肿瘤细胞增殖活力明显下降。(4)对 D-hep 细胞和 Hepa1-6 细胞的表达谱芯片进行分析发现,变化数量最多,最为明显的是趋化因子和趋化因子受体一类基因,特别是其中 CCL17 的上升表达,提示了 D-hep 细胞可能通过募集和激活 NKT 细胞和 naïve CTL 细胞增强了抗原提呈和免疫识别能力。

【实验结论】 本研究证明了经过 DMSO 处理的 Hepa1-6 细胞具有诱导小鼠建立针对 Hepa1-6 细胞的肿瘤特异性免疫的能力,并阐明了在抗肿瘤免疫过程中,主要由 NKT 细胞和 CD8 阳性 effective memory T 细胞双重介导。本研究在国际上首次发现了基于 DMSO 的一种新的制备肿瘤疫苗的方法,为临床的肿瘤生物治疗提供了新的思路,具有潜在的临床治疗应用价值。