

A-S4-19

GOLPH3 在非小细胞肺癌的发生发展以及预后相关性的研究

陈雨¹, 徐馨宇², 梁瑾³, 刘星圻⁴; 指导教师: 巩丽云

1. 深圳大学 2012 级临床医学
2. 深圳大学 2011 级临床医学
3. 深圳大学 2013 级临床医学
4. 深圳大学 2013 级临床药学

【目的】 肺癌是最常见的恶性肿瘤, 约占癌症病例的 13%, 死亡人数约占 18%。临床上, 肺癌的组织类型分为非小细胞肺癌(NSCLC)和小细胞肺癌(SCLC), 其中 NSCLC 占肺癌总数的 80%。肺癌细胞增殖速度快, 侵袭性强, 转移率高, 对放疗化疗不敏感, 多数 NSCLC 患者确诊时已出现原位侵袭和远端转移。因此寻找 NSCLC 早期诊断和判断预后的生物学靶标是目前肺癌研究的重要内容。高尔基体磷蛋白 3(Golgi phosphoprotein 3, GOLPH3)是分子量 34 kDa 的高度保守蛋白, 定位于人类染色体 5p13 上, 参与高尔基体的蛋白糖基化和加工成熟及转运过程。2009 年首次指出 GOLPH3 是首个定位于反面高尔基网(trans-Golgi network, TGN)的癌基因, 随后, 2010 年 Clin. Can. Res. 确认 GOLPH3 是一个具有强大转化能力的癌基因, 在调控细胞增殖、分化过程中发挥重要作用。虽然许多试验已证实 GOLPH3 与多种癌症相关, 但其在 NSCLC 发生发展过程中的重要作用尚未见报道。

【方法】 应用实时定量 PCR(RT-PCR)和蛋白质印迹法检测在人正常肺细胞、肺癌细胞系和四对相匹配的肺癌组织及癌旁组织中 GOLPH3 在 mRNA 和蛋白质水平的表达。进一步用免疫组织化学法检测临床 132 例 NSCLC 患者临床组织石蜡切片中 GOLPH3 的表达水平, 并应用 SPSS17.0 软件统计分析 GOLPH3 的表达水平与临床预后及诊断的相关性。

【结果】 GOLPH3 在 NSCLC7 株细胞系中高表达; GOLPH3 在 NSCLC 临床手术切除的癌组织中高表达; 免疫组织化学结果显示在 132 例 NSCLC 患者石蜡切片中有 61 例 GOLPH3 呈高表达(46.3%), 统计分析表明 GOLPH3 的高表达与 NSCLC 的病理分级密切相关($P < 0.001$), 且 GOLPH3 的高表达与患者的预后具有统计学意义($P < 0.05$), 多变量分析表明, GOLPH3 很可能是独立的 NSCLC 患者的早期诊断和预后的诊断标记物。

【结论】 GOLPH3 在 NSCLC 的细胞系、组织和石蜡包埋的切片中高表达, GOLPH3 的高表达与 NSCLC 的临床病理分级、TNM 分期和病人预后密切相关。我们的工作表明 GOLPH3 很有可能成为 NSCLC 新的早期诊断和预后的生物学标志物。

关键词: GOLPH3; 非小细胞肺癌; 预后; 生物标记

A-S4-20

人食道癌中 Caveolin-1 基因启动子甲基化水平的研究

曹子一¹, 张媛², 黄伟玲³, 简千贺⁴; 指导教师: 金哲

1. 深圳大学 2011 级临床医学
2. 深圳大学 2012 级临床医学
3. 深圳大学 2013 级临床医学
4. 深圳大学 2013 级药学

【目的】 Caveolin-1(CAV1)是一种细胞膜上的支架蛋白, 参与肿瘤细胞的增殖, 侵袭及转移等多种生物学行为, 具有抑制肿瘤形成的功能。虽然在多种癌症中均报道了 CAV1 基因启动子的异常甲基化, 但在食道癌中至今

尚无相关报道。本项目的目标是通过检测人食道组织中 CAV1 基因启动子甲基化水平,探讨其与人类食道癌发生、进展的相关性及其临床病理学意义。

【方法】 使用 TaqMan 法实时定量甲基化特异性 PCR 检测 260 例人类食道组织样本中的 CAV1 启动子甲基化水平。同时利用 TaqMan 法实时定量甲基化特异性 PCR 及 RT-PCR 分别检测 OE33 食道癌细胞在经过 5-aza-2'dC 脱甲基处理前后的 CAV1 的甲基化及 mRNA 表达水平。

【结果】 ROC 曲线分析显示 CAV1 基因甲基化水平可以把食道腺癌及鳞癌与正常食道组织清晰区分(食道腺癌 vs 正常食道 AUROC=0.839, $P<0.0001$;食道鳞癌 vs 正常食道 AUROC=0.920, $P<0.0001$)。Barrett 食管、伴有异型的 Barrett 食管、食道腺癌、食道鳞癌中 CAV1 基因甲基化水平及频度均显著高于正常食道组织($P<0.01$)。同时,在 41 例匹配食道正常组织和癌组织样本中,癌组织中 CAV1 基因的甲基化水平(均值 0.273)显著高于正常组织(均值 0.146, $P<0.01$)。在 OE33 食道腺癌细胞株中,用 5-Aza-dC 脱甲基化处理,CAV1 基因的甲基化水平与其 mRNA 表达呈负相关。

【结论】 CAV1 基因启动子甲基化在人类食道癌中普遍存在,并且在 Barrett 食管相关的食道腺癌的肿瘤化进程早期出现。因此,CAV1 甲基化是一个新的检测食道癌的生物标记物,具有用于食道癌的早期诊断、分级、风险预测以及治疗新靶点的潜在价值。

关键词: 食道癌;Caveolin-1;甲基化

A-S4-21

去乙酰化修饰调控瘦素诱导乳腺癌细胞增殖的分子机制

王春胜,李康慧;指导教师:周伟强

沈阳医学院 2010 级临床医学

【目的】 研究去乙酰化修饰在瘦素(Leptin)诱导的乳腺癌细胞增殖过程中的调控作用。

【方法】 应用 MTT 法测定 Leptin 对乳腺癌 MDA-MB-231 细胞生长的诱导作用,并测定乳腺癌细胞活力、侵袭力及细胞周期的变化情况;实时定量 PCR、蛋白质印迹法测定 Leptin 诱导后 MDA-MB-231 细胞周期关键因子及相关酶的表达情况;染色质沉淀法(ChIP)检测 Leptin 作用 MDA-MB-231 细胞后核心组蛋白 H3、H4 乙酰化水平变化情况。

【结果】 Leptin 诱导乳腺癌 MDA-MB-231 细胞增殖呈现时间和剂量依赖性,1.25 nm (20 mg/mL)、24 h 为 Leptin 最佳作用浓度和孵育时间;经 Leptin 处理后,乳腺癌 MDA-MB-231 细胞凋亡明显减少、活力增强,同时由 G_1 进入 S 期的细胞显著增多;荧光显微镜观察发现 Leptin 诱导后 BrdU 荧光染色增强,且主要集中在 MDA-MB-231 细胞核内;Transwell 小室侵袭实验也显示细胞侵袭力增强;实时定量 PCR 及蛋白质印迹法检测发现 Leptin 处理后的 MDA-MB-231 细胞中与 G_1 /S 期限制点调控相关的细胞周期调控因子 CDK2、cyclin E1 以及与抑制细胞凋亡有关的 Bcl-2 均显著增加,细胞中 HDAC 酶活性增强,且与细胞周期 G_1 /S 期调控密切相关的 HDAC1 mRNA 及蛋白表达水平也明显增强;ChIP 实验发现 Leptin 处理后的乳腺癌 MDA-MB-231 细胞中 GAPDH 启动子区域核心组蛋白乙酰化水平显著降低,而经 HDAC 抑制剂 SAHA 阻断后 MDA-MB-231 细胞 p21WAF 1/CIP 表达水平显著提高。

【结论】 Leptin 通过 HDAC1 的去乙酰化修饰抑制 p21WAF 1/CIP 的表达,激活细胞周期关键因子 CDK 2、cyclin E1 的表达,从而加速乳腺癌细胞周期 G_1 /S 期的进程。

关键词: Leptin;HDAC1;乳腺癌;细胞增殖