

【创新性】 新思路、新分子,从骨骼肌转移癌低发生率出发,寻找内源性的癌症治疗分子或者靶点。

关键词: 骨骼肌;癌症;转移癌;MyoD

B-S4-32

人肝癌乳酸脱氢酶的细胞膜定位和酶学特性研究

谭嘉男,周睿,黄锡泰,周腾龙;指导教师:胡旭初

中山医学院 2010 级临床医学八年制

【立论依据及设计思路】 已有研究表明在人肝癌组织中,间质细胞的线粒体会在癌细胞的驱动下会发生线粒体自噬,只进行糖酵解,且糖酵解相关酶的表达水平显著升高,尤其是间质细胞特异高表达 LDHA(乳酸脱氢酶 A),将糖酵解产物丙酮酸转化成乳酸,排出间质细胞。而排出的乳酸被邻近的肝癌细胞摄取,肝癌细胞特异表达 LDHB,将乳酸转变成丙酮酸。肝癌细胞具有完整的氧化磷酸化过程,能利用间质细胞提供的乳酸,经三羧酸循环、糖异生和脂肪合成,为肿瘤细胞的增殖提供物质和能量。间质细胞的糖酵解和肿瘤细胞的氧化磷酸化之间代谢偶联,是维持肿瘤细胞快速增殖的重要机制。前期实验发现肝癌细胞表达膜型 LDHB,而膜型 LDHB 的功能尚不清楚。本课题拟研究 LDHA 和 LDHB 在人肝癌间质细胞和肝癌细胞中的表达和定位和酶学特征,阐述 LDH 在肝癌组织能量代谢偶联过程中的生化机制,同时评价 LDH 作为人肝癌能量代谢干预靶点的可能性。

【实验内容】 第一部分:人体肝癌组织标本中肝癌细胞和间质细胞线粒体功能和反向 Warburg 效应的检测,利用免疫组化的方法检测线粒体标志物和线粒体自噬标志物及 LDHA 和 LDHB 的表达分布;第二部分:建立肝癌细胞 SMMC-7721 和正常人成纤维细胞的共培养体系;第三部分:检测 LDH 在肝癌细胞及肝癌相关成纤维细胞中的膜定位及表达水平;第四部分:对细胞膜上的 LDH 进行酶活性检测,明确其酶活性和代谢特征;第五部分:在细胞水平上研究 LDH 抗体,抗寄生虫药,单羧酸转运体抑制剂对能量代谢偶联的抑制作用;第六部分:裸鼠模型的抗体和阿苯达唑的抗肿瘤实验。

【材料】 人肝癌 SMMC-7721 细胞株及成纤维细胞株,特异性 LDH 抗体,抗寄生虫药物(吡喹酮,阿苯达唑),免疫组化相关材料,qPCR 相关材料,免疫印迹相关材料,MTT 比色法相关材料。

【可行性】 本实验室已完成了人 LDHA 和 LDHB 的克隆表达和酶学特性研究,已实验证实人肝癌细胞 SMMC-7721 只表达 LDHB,且定位于细胞膜上。

【创新性】 提出肝癌组织中,间质细胞和实质细胞分别表达膜型 LDHA 和 LDHB,不仅负责丙酮酸和乳酸之间的相互转化,而且可能是产物的转运体;抗寄生虫 LDH 的抗体和药物可以抑制人 LDH 的酶活性,抑制肿瘤的生长和转移。

关键词: 肝癌;乳酸脱氢酶;抗寄生虫药