

测 EGCG 的抗病毒机制与药物自身抗氧化特性及与宿主细胞调控作用存在一定相关性。本研究通过体外流感病毒感染模型,进一步揭示 EGCG 抗流感病毒的分子机制。

【方法】 (1)通过 MTS 法评价 EGCG、天然抗氧化剂、氧化应激激活剂的细胞毒性。(2)蛋白质印迹法检测流感病毒感染时 ERK 等通路的激活与转录因子 NF- κ B、重要促炎因子上调的关系;以 ERK 特异性抑制剂为对照,以细胞 p-ERK1/2 磷酸化水平、病毒滴度等为指标,研究药物对流感病毒感染后细胞 ERK 通路的影响。(3)选择天然抗氧化剂与活性氧激活剂,通过 MTS 法、实时定量 PCR 等方法评价其对 EGCG 的抗流感病毒作用,并通过流式细胞术和共聚焦显微镜检测细胞内活性氧水平。(4)用激光共聚焦显微镜、FCM 检测药物对流感病毒感染后的 EGFP-LC3 质粒转染细胞表达的影响,病毒感染与药物处理前后自噬小体的水平,蛋白质印迹法检测自噬蛋白 LC3 等的表达,自噬标记物-NBR1 和 p62 水平。

【结果】 (1)EGCG 可显著降低宿主细胞内氧化应激的水平(54%),与病毒对照组相比较有统计学差异($P < 0.05$)。(2)给予不同浓度 EGCG 处理后的病毒感染细胞,蛋白质印迹法检测发现 ERK2 表达受到了明显抑制。(3)天然抗氧化剂能加强 EGCG 对甲型流感病毒的抑制作用,并降低宿主细胞内氧化应激水平的程度,这一作用与抗氧化剂的类型相关。(4)氧化应激激活剂对 EGCG 的抗病毒作用、降低氧化应激水平程度起拮抗作用。(5)甲型流感病毒感染 A549 细胞导致自噬蛋白 LC3-II 上调,而 EGCG 可显著降低细胞自噬水平。

【结论】 EGCG 可通过抗氧化作用调控氧化应激,降低细胞自噬水平,从而抑制流感病毒导致的细胞凋亡,发挥抗病毒作用。

关键词: EGCG; 流感病毒; 氧化应激; 细胞自噬

S-4 肿瘤预防和治疗

A-S4-1

siRNA 介导核干因子基因沉默抑制肝癌细胞增殖并促进细胞凋亡

袁富文; 指导教师: 童坦君

北京大学医学部 2010 级基础医学

【目的】 核干因子(nucleostemin, NS)是最近发现的一个 GTP 结合蛋白,在神经干细胞、胚胎干细胞以及某些肿瘤细胞中均有表达。NS 在多种肿瘤细胞增殖和凋亡调控中具有重要作用,然而其在肝癌中的作用尚未清楚。本研究通过检测其在不同肝癌细胞系和组织中的表达,并利用 siRNA 干扰技术,以探究 NS 在肝癌细胞增殖和凋亡中的作用。

【方法】 以肝癌组织和多种肝癌细胞系为研究对象,首先通过定量 PCR 及蛋白质印迹法分析细胞及肝癌组织中 NS 的表达。接着通过 siRNA 瞬时转染的方法降低 NS 的表达,并通过定量 PCR 和蛋白质印迹法检测干涉效果,利用 MTT 试验和细胞增长实时监控技术检测细胞增殖情况,流式细胞术探究紫外线(ultraviolet, UV)或血清饥饿诱导下细胞凋亡情况。

【结果】 蛋白质印迹及定量 PCR 结果显示 NS 在多种肝癌细胞系及肝癌组织中都有较高的表达,且在 MH-CC97H 和 Bel7402 细胞中,MTT 试验和细胞增长实时监控显示降低 NS 的表达能够抑制细胞增殖,流式细胞术和蛋白质印迹结果显示 NS 基因沉默能够促进 UV 和血清饥饿诱导的细胞凋亡。即 NS 可能具有促进细胞增殖和抑制细胞凋亡的作用。

【结论】 NS 在肝癌组织和细胞中都有较高的表达,在 MHCC79H 和 Bel7402 细胞中,降低 NS 表达可抑制细胞增殖,促进 UV 及血清饥饿诱导的细胞凋亡。

关键词: 细胞增殖; 细胞凋亡; Nucleostemin(NS); 肝癌