

中华医学会医学细胞生物学分会  
第七次全国学术大会

论文汇编

2019年9月 成都



# 目 录

## 大会发言

OR-001	剪接因子 RBM10 调控 RNA 剪接的分子机制及其在肺癌中的功能 ..... 王勇波,张思蕊,包煜芳等	1
OR-002	Deacetylation of NAT10 by Sirt1 promotes the transition from rRNA biogenesis to autophagy upon energy stress ..... 刘小锋,蔡石鹰,张春风等	1
OR-003	Zinc finger protein 32 promotes breast cancer stem cell-like properties through directly promoting GPER transcription ..... 李艳艳,巩迪,张乐等	2
OR-004	IRF7 在 AML 中的作用研究..... 王昊,刘晓礼,张东玥等	2
OR-005	2 型糖尿病 db/db 小鼠嘌呤代谢改变促进髓系前体细胞增殖的机制 ..... 冯英梅,颜岑,马小娟等	3
OR-006	自噬调节肺泡 II 型上皮细胞板层小体的形成 ..... 李小曼,国敏,郝佳琳等	3
OR-007	Vascular Smooth Muscle Cells Actively Recruit Macrophages in A Phenotype Dependent Manner, Provoking Themselves Apoptosis Via circRasGEF1B-ZFP36-Mediated Bcl-2 mRNA Decay, Contributing to Abdominal Aortic Aneurysm Formation in Sm22 $\alpha^{-/-}$ Mice..... 吕品,尹亚娟,孔鹏等	4
OR-008	骨髓单核细胞 SENP3 调控干扰素调节因子-8 (IRF-8) SUMO 化修饰抑制破骨分 化的机制研究..... 张永兴,杨凯,杨洁等	4
OR-009	肝刺激因子抑制肝星状细胞活化机制的研究..... 王晶,董凌月,安威	5
OR-010	耐紫杉醇的上皮性卵巢癌细胞的干性及其调节..... 王繁晨,许国雄	6
OR-011	基于 iTRAQ 技术分析生物活性肽联合奥沙利铂作用 MKN-45 胃癌细胞蛋白质组学 研究..... 徐亚楠,李贤,苏秀兰	6
OR-012	核 PAK4-LIFR 信号轴在 ER $\alpha$ 阳性乳腺癌骨转移中的作用机制 ..... 李彦姝,张红艳,金峰等	7
OR-013	Xpc 调控小鼠骨髓来源间充质细胞成骨分化的机制研究 ..... 石家仲,余瑾,黄亚琴等	7
OR-014	医学院校开设研究生分子细胞生物学技术实验课的探索与改革 ..... 李洋,张红艳,李丰	8
OR-015	肝癌特异性 Wnt 共受体 GPC3 调控肝癌进展的分子机制及干预 ..... 高威,何苗壮,李娜等	8
OR-016	多西环素诱导的靶向 CD147 分子嵌合抗原受体 T 细胞抗肝细胞癌治疗研究 ..... 张仁宇,尉丁,刘泽昆等	9
OR-017	The Otubain YOD1 Suppresses Aggregation and Activation of the Signaling Adaptor MAVS through Lys63-Linked Deubiquitination ..... 王玺	9
OR-018	Caspr1 在脑微血管内皮细胞淀粉样前体蛋白加工中的作用和机制研究 ..... 唐诗语,刘东鑫,王康吉等	10
OR-019	CYR61 活化增强子促进结肠癌进展的机制研究 ..... 谢玲珠,宋旭红,林浩等	10

## 书面交流

PU-001	国内冠状动脉搭桥同期行干细胞移植术治疗缺血性心脏病疗效的 Meta 分析 (摘要)	马敬,张涛,马珂	13
PU-002	剪接因子 PRPF31 基因 c.544_618del75bp 突变通过降低 mRNA 表达参与非综合征性视网膜色素变性	姚启慧,贺颖	13
PU-003	The immune promotive effect of bioactive peptides may be mediated by regulating the expression of SOCS1/ miR-155	陈彩霞,苏秀兰	14
PU-004	染色质重构蛋白 BRG1 通过促进成纤维-肌成纤维细胞转化来调控心肌纤维化	刘莉,徐涌	14
PU-005	染色质重组蛋白 BRG1 对内皮炎症以及糖尿病性血管病的调控机制研究	陈旭阳,徐涌	15
PU-006	MKL1 通过表观遗传激活 TWIST1 转录来促进内皮间质转化和肝纤维化	董文慧,徐涌	15
PU-007	Acetylshikonin induces apoptosis of human leukemia cell line K562 by involving the modulation of ROS accumulation and blocking NF- $\kappa$ B signaling	郝岗平,蒋汉明,于立娟等	16
PU-008	血小板生长因子受体- $\beta$ 信号通路对于缺血后血脑屏障功能恢复的作用机制研究	申杰,徐桂华,朱润秀等	16
PU-009	环状 RNA 在阿尔兹海默症中的差异表达及功能研究	补娟,牛晓珊,王珊珊等	17
PU-010	AZD8055 抑制胆管癌细胞 HuCCT1 的迁移及 EMT 进程的机制研究	王雪,林贞花,任香善	17
PU-011	微音频教学资源在医学细胞生物与遗传学中的探索	刘佳	18
PU-012	医学细胞生物与遗传学整合课程教材的建设	王宗霞	18
PU-013	基于 ACO 肺部炎症特征研究建立 ACO 小鼠模型	李姝仪,马培,张梓倩等	18
PU-014	纳布啡和布托菲诺对肝癌细胞的生物学行为的影响	任益锋,刘静,郑孝振	19
PU-015	医学院校开设研究生流式细胞术实验课的探索与实践	李婉明,刘芙蓉,程雅洁等	19
PU-016	肝刺激因子通过线粒体途径保护肝缺血-再灌注损伤的机制研究	黄婧,谢萍,安威	20
PU-017	细胞生物学教学公众号建设与实践	李玉红,石家仲,星懿展等	20
PU-018	SFRP4 抑制毛囊再生	郭海英,李玉红	21
PU-019	内质网应激信号 XBP1s 介导蛋白酶体抑制诱导的成骨分化	张丹,樊荣,王妍梦等	21
PU-020	Correlative analyses of Shh signaling with resveratrol-induced differentiation and apoptosis of human medulloblastoma cells	吴茉莉,李宏,文殊等	22
PU-021	血脑屏障 GLUT1 在可卡因引起的脑能量代谢障碍中的作用	韦佳祎,刘辉,王丽等	22
PU-022	ALR 通过调节线粒体稳态对 LEPC 生存及增殖的影响	董圆,安威	23
PU-023	唑来膦酸(ZA)通过 RhoA/YAP 信号通路抑制 TSC2 突变引发的肺淋巴管平滑肌瘤 (LAM)的肿瘤发生	程琪,赵丹丹,赵银娟等	23
PU-024	探讨 13q12.12 肺癌风险染色质区的生物学意义	邵立培,左祥林,杨音等	24

PU-025	生物信息学系统分析表明 PDLIM2 是一种新的食管鳞状细胞癌预后指标 ..... 熊蓉,岳秋菊,孙泉等	24
PU-026	Elimination of pro-leukemic effects by phenotypic conversion targeting heterogeneous leukemia-associated macrophages ..... Xiao Yang,Wenli Feng,Rong Wang 等	25
PU-027	IRF7 在 AML 微环境中的作用研究..... 王昊,刘晓礼,张东玥等	25
PU-028	共刺激分子 B7-H3 在人膀胱癌细胞中的作用及机制研究 .... 李玉超,蔡治平,杨劲等	26
PU-029	特定环状 RNA 表达与衰老的关系研究..... 裴卓,马小良,吴潘等	26
PU-030	肝刺激因子通过促进 PINK1-Parkin 信号通路促进线粒体自噬保护线粒体功能的作 用及机制研究..... 陈思利,肖卫纯 ,张静等	27
PU-031	常见毛囊细胞角蛋白在毛囊周期中的表达研究..... 裴卓,马小良,吴潘等	27
PU-032	马铃薯提取物对吸烟所致慢性阻塞性肺疾病大鼠模型的抗炎机制研究 ..... 徐桂华,申杰,杨利敏等	28
PU-033	基于 Cell-SELEX 技术的核酸适配体在低分化胃癌组织靶向成像中的研究 ..... 李婉明,王翊,周琳琳等	28
PU-034	转移性乳腺癌特异性核酸适配体的筛选及其在循环肿瘤细胞靶向捕获中的应用研究 ..... 李婉明,周琳琳,方瑾	29
PU-035	Deneddylation 修饰酶 NEDP1 的作用机制及研究进展 ..... 陈玉娇,杜梦鸽,谢萍	29
PU-036	Bmp6 和 Wnt10b 在毛囊周期中的平衡调节..... 吴潘,马小良,李玉红	30
PU-037	USF2 抑制 Smurf1 和 Smurf2 的转录活性以促进乳腺癌发生 ..... 杜梦鸽,陈玉娇,谢萍	30
PU-038	IL-6 通过上调 CD29 及其唾液酸化修饰影响多发性骨髓瘤细胞生物学行为的分子机 制研究..... 王妍梦,吕楠,雷蕾等	31
PU-039	环状 RNA circ-SMAD5 通过 wnt 信号通路调控表皮细胞周期的研究 ..... 马小良,裴卓,吴攀等	32
PU-040	富血小板血浆联合空心螺钉内固定术治疗股骨颈骨折疗效的 meta 分析 ..... 陈翔,卫小春	32
PU-041	CD29 参与调控 NK 细胞功能的作用机制研究 ..... 吕楠,王妍梦,雷蕾等	33
PU-042	$\alpha 6$ -integrin 在 TGF- $\beta$ 诱导膀胱癌干细胞侵袭转移中的作用 ..... 王志,张艺	33
PU-043	外泌体蛋白组学差异与胶质母细胞瘤白藜芦醇敏感性关系的研究 ..... 聂俊华,李宏,吴茉莉等	34
PU-044	肝再生增强因子通过促进线粒体自噬保护肝脏缺血再灌注损伤 ..... 孔维宁,李文,安威	34
PU-045	肠罗斯氏菌在结肠炎中抑制抑瘤素 M 分泌的研究..... 谭蓓,罗薇薇,沈照华等	35
PU-046	大狼把草化学成分研究..... 张勇博,赵俊霞	35
PU-047	miR-1 对软骨细胞增殖分化的影响..... 史光华,李鹏翠,卫小春	36
PU-048	ITIH5 基因在肺癌发展中的生物学效应..... 汪徐春,左祥林,邵立培等	36
PU-049	生物活性肽抑制结直肠癌细胞增殖的机制研究..... 苏丽娅,佟鑫,杨晓宇等	37
PU-050	ACBP 增加了与 CAF 共培养的 ESCC 细胞对 cyclopamine 的敏感性 ..... 杨凌,梁亚冰,王晔珏等	37
PU-051	食管鳞状细胞癌组织体外 3D 培养 ..... 梁亚冰,张满,杜华等	38
PU-052	NOXA 启动子: 具有增强子功能的启动子 ..... 秦中勇,石晓,褚鹰等	39

PU-053	骨髓间充质干细胞来源的外泌体通过 miR-142-3p 促进肠癌细胞的干性 .....	李宏丹,李丰	39
PU-054	MORC2 通过抑制 NDRG1 促进结直肠癌的恶性进展.....	刘姣,邵阳光,何雨昕等	40
PU-055	生物活性肽通过 miR-520 抑制肝癌细胞增殖和侵袭的分子机制 .....	王晔珏,苏丽娅,杨晓宇等	40
PU-056	p16 缺失介导肝星状细胞活化加重肝纤维化进程.....	吕方乔,王宇童	41
PU-057	基于抗癌活性肽的注射型水凝胶在软组织工程和抗癌治疗中的潜在应用 .....	李贤,崔宏伟,苏秀兰	41
PU-058	癌相关成纤维细胞 来源 外泌体在促进骨肉瘤 侵袭转移中的作用 .....	陈成龙,孙晓娟,吕智	42
PU-059	miR-134 通过调控 MMP1 和 MMP3 表达抑制骨肉瘤侵袭和转移的作用及其相关机制研究.....	陈成龙,孙晓娟,吕智	42
PU-060	肝刺激因子通过 CD36 抑制脂肪酸转运减轻小鼠非酒精性脂肪性肝病的研究 .....	张静,肖卫纯,安威	43
PU-061	组蛋白去乙酰化酶 4 通过抑制软骨细胞肥大延缓骨关节炎进展的研究 .....	顾晓东,李鹏翠,车先达等	43
PU-062	SIRT1 通过调节 CHK2 乙酰化 - 磷酸化调控细胞周期进程 .....	张文宇,冯艳玲,宋晓宇等	44
PU-063	氯硝柳胺对 RANKL 诱导的破骨细胞早期融合及分化的影响 .....	焦玉睿,陈成龙,胡希鉴等	44
PU-064	NF1 突变导致 Met 抑制剂耐药的机制及其特异性靶向治疗的探究.....	段超,林凡	45
PU-065	Shisa3 通过调控 FGFR/Akt/mTOR 通路影响肺腺癌细胞对于 EGFR 抑制剂的药物敏感性.....	马媛媛	45
PU-066	宿主肝细胞的衰老促进肝再殖.....	杨桃,陈佳佳,宋少华等	46
PU-067	天冬氨酰氨肽酶通过靶向 CD44 抑制乳腺癌细胞的增殖, 侵袭和干性 .....	耿楠希,张文宇,李洋等	46
PU-068	PAK5-DNPEP-USP4 信号通路调控乳腺癌的生长和转移 .....	耿楠希,李洋,王飞等	47
PU-069	PI3K 抑制剂联合 MTH1 抑制剂对肿瘤增殖协同抑制作用及机制研究 .....	陈真,周婷婷,林凡	47
PU-070	FOSL1 参与结肠癌增强子激活过程的研究.....	李启东,程天乐,宋旭红等	48
PU-071	降低可溶性钙结合蛋白逆转卵巢癌紫杉醇耐药.....	张劲国,许国雄	48
PU-072	抗癌生物活性肽通过 Hedgehog 信号通路 抑制肺癌细胞增殖和诱导凋亡的作用及机制.....	苏依拉其木格,苏秀兰	49
PU-073	Roles of RBP-J $\kappa$ in the endothelial-mesenchymal transition and neointimal hyperplasia in AVFs.....	林鑫,曾惜,李冰玉等	49
PU-074	生物活性肽调控 LncRNA 抑制胃癌增殖、迁移的机制研究.....	李翠霞,苏秀兰	50
PU-075	PAK4-CEBPB-CLDN4 信号轴促进乳腺癌细胞的侵袭和迁移.....	王飞,李丰	50
PU-076	生物活性肽介导 miR-1915-3p 抑制胃癌干性细胞生长的机制研究 .....	崔宏伟,苏秀兰	51
PU-077	MORC2 通过 Sumoylation 调节 C/EBP $\alpha$ 介导的细胞分化 .....	刘佳,张清,阮班来等	52

PU-078 SuperPATH 入路与传统后侧入路行全髋关节置换术疗效差异的 Meta 分析 ..... 车先达,李鹏翠	52
PU-079 MTHFR C677T 基因多态性与同型半胱氨酸水平的协同效应增加了缺血性脑卒中的 发病风险..... 刘富泳,刘阳	53
PU-080 伊洛前列素通过抑制 ILC2s 的增殖及功能活化减轻早期炎症反应 ..... 张照婧,杨柳,蒋莉莉等	53
PU-081 DNA 甲基化和 miRNAs 对缺血性脑卒中外周血 ALOX5AP 基因表达的表观遗传调控 ..... 张照婧,刘富泳,别小帅等	54
PU-082 APC 在人肝癌细胞系脂肪代谢过程中对线粒体的影响..... 刘静,林国南	54
PU-083 CYBA 基因在先兆子痫胎盘组织中的表达及作用机制研究..... 李慧	55
PU-084 糖尿病微血管病变患者红细胞能量代谢改变及其机制的研究 ..... 孙明玥,苏燕	55
PU-085 miR-200 靶向作用于 cMyc 抑制骨肉瘤细胞增殖并促进其凋亡 ..... 张龙,孙晓娟,吕智	56
PU-086 应用光学-断层扫描成像策略揭示移植干细胞的体内命运 ..... 鲁凤凤,苏鑫,王超等	56
PU-087 解析内质网应激蛋白转录因子 XBP1S 调控自然杀伤 NK 细胞发育成熟后的免疫功 能及相关分子机制..... 王宇峰,张一博,易萍等	57
PU-088 硫化氢对博来霉素诱导的肺纤维化的保护作用..... 徐祎彤,刘宇健,朱晓燕	57
PU-089 透视引导与机器人辅助椎弓根置钉疗效的荟萃分析 ..... 高阳阳,车先达,韩鹏飞等	58
PU-090 氯硝柳胺通抑制黑色素瘤干细胞干性维持从而发挥抑瘤作用的研究 ..... 辛浩然,李杰,张浩等	58
PU-091 CDK4/6 抑制剂诱导肝细胞衰老在慢性肝损伤肝癌发生中的作用和机制 ..... 陈文健, 陈苗苗,何维志,宋艳祥等	59
PU-092 HDAC4 通过与 PCNA 的相互作用调控软骨细胞增值其作用机制 ..... 魏东	59
PU-093 猪前交叉韧带重建联合髌骨脱位多间室骨关节炎模型的步态时相分析 ..... 赵瑞鹏,李鹏翠,卫小春	59
PU-094 生物活性肽和化疗药物作用胃癌细胞后差异 lncRNAs 的筛选 ..... 韩汶延,肖瑞,张传领等	60
PU-095 关节软骨的生物力学..... 黄凌岸	61
PU-096 红景天苷对机械牵拉引起的内皮损伤的保护作用..... 张慧,江来	61
PU-097 帕金森病标志物磷酸化 $\alpha$ -突触核蛋白在血浆外泌体中的定量分析研究 ..... 徐妍,谢振华,郑恒星等	62
PU-098 PD-1 在肝细胞癌患者外周血 T 淋巴细胞的表达及其预后意义 ..... 潘华政,曹永献,刘世海等	62
PU-099 “HSF1-miR-449b- XPC” 通路促进膀胱尿路上皮癌发生、发展的作用及机制研究 ..... 黄亚琴,石家仲,王志等	62
PU-100 苦瓜多肽对小鼠的免疫调节和抗氧化作用..... 杨晓宇,苏秀兰	63
PU-101 基于 TCGA 数据库膀胱癌转移相关基因的生物信息学分析 ..... Liusha,石家仲,黄亚琴等	63
PU-102 CK5 与 CK20 在膀胱癌中的表达及临床意义 ..... 张静琦,陈志文,杨劲	64
PU-103 基于甲基化驱动基因的预后模型预测膀胱癌患者的总体存活率 ..... 王力伟,石家仲,陈志文等	64

PU-104	人骨髓间充质干细胞衰老过程中 DNA 损伤应答特性研究	余瑾,黄亚琴,石家仲等	65
PU-105	XPC 低表达促进顺铂诱导的膀胱癌细胞保护性自噬	丁华,王欢欢,陈志文等	65
PU-106	膀胱癌 XPC 低表达影响中心体畸变的机制研究	王欢欢,黄亚琴,石家仲等	66
PU-107	建立具有再生毛发能力的小鼠永生化毛囊干细胞株	星懿展,马小良,李玉红	66
PU-108	NK 细胞应用于乳腺癌治疗的研究进展	郭伟春,梁俊青	67
PU-109	HMGB1 在癌症中的表达及临床意义	张志慧,苏秀兰	67
PU-110	PAK1 小分子抑制剂 AK963 抑制人胃癌细胞增殖迁移及机制研究	周颖,张健,李丰	67
PU-111	Circle RNA as a potential prognosis biomarker for breast cancer	王立斌,李晓菡,马芳等	68
PU-112	高糖降低体外培养红细胞能量代谢的机制研究	李旭妍,苏燕	69
PU-113	神经中胚层来源间质干细胞分化体系的建立与功能评价	王慧艳,李岱睿,翟志臣等	69
PU-114	自噬抵抗细胞上皮-间叶样表型转化进程维持视网膜色素上皮稳态	冯浩,赵昕,宋晓宇等	70
PU-115	不同年龄来源的眼眶周脂肪间充质细胞生物学特性的比较研究	张明琦,曹流,何伟	70
PU-116	自噬相关基因 Atg7 调控三阴性乳腺癌恶性进展	李明洋,刘经纬,曹流	71
PU-117	血红素氧合酶 1 在温热诱导的 HPV 感染 细胞中的作用及机制研究	杨阳,高兴华,宋晓宇等	71
PU-118	细胞自噬相关蛋白 Atg7 抑制 PKM2 磷酸化参与 Warburg 效应调节影响细胞上皮间质转化	冯艳玲,刘经纬,郭文东等	71
PU-119	Chronic psychological stress promotes lung metastatic colonization of circulating breast cancer cells by decorating a pre-metastatic microenvironment through activating $\beta$ -adrenergic signaling	刘丹,陈泓宇,施明	72
PU-120	SATB1 promotes human esophageal cancer partially by direct regulating mTOR genes	胡文,孙梟,熊蓉等	72
PU-121	PD-L1 基因在巴斯德毕赤酵母中的高效分泌表达及免疫原性分析	王清	73
PU-122	CK5/6、P63、P40、CK7、TTF-1、NapsinA、CD56、Syn 及 CgA 在肺鳞癌、肺腺癌及小细胞肺癌活检标本中的表达及意义	刘秀兰,杨宏新,武建强等	73
PU-123	冠心病病人血清 IL-18 与新蝶呤浓度变化及临床意义	王哲	74
PU-124	脂肪细胞分泌含 miR-27a 外泌体通过抑制 PPAR $\gamma$ 诱导骨骼肌胰岛素抵抗的作用机制研究	于洋,徐樱溪,关奕等	74
PU-125	黄连素抑制 JNK/NF $\kappa$ B 信号通路保护心肌细胞缺氧复氧损伤机制研究	郑丽霞,张洲,武晋英等	75
PU-126	蛋白酶体抑制剂诱导 SH-SY5Y 细胞构建帕金森病模型的蛋白质组学研究	张洲,白宁,郭启强等	75
PU-127	黄连素通过 AMPK/mTOR 途径减轻糖尿病诱导有丝分裂后多种细胞损伤的机制研究	马国婧,姜波,吴璇等	76
PU-128	基于量子点免疫层析的 Galectin-3 定量检测技术在心力衰竭中的临床应用	王环	76



PU-129	DKK-1 调控脑内小胶质细胞功能促进肺癌脑转移研究 ..... 甘冬雪,秦小雪,陈誉华等	77
PU-130	单核细胞源 resistin 加速增龄小鼠脑微血管重构及其与阿尔茨海默病的关系 ..... 韦佳祎,刘东鑫,李颖等	77
PU-131	The role of RUNX1 in tumor growth and metastasis of human head and neck squamous cell carcinoma..... 冯晓冬,王清,伦立民	78
PU-132	CEBPB 通过调控 ZEB1 抑制上皮-间质转变降低肝细胞癌细胞的迁移、侵袭与远处 转移能力..... 于兵,杨丽华,乔时等	78
PU-133	翻转课堂教学模式在医学细胞生物学实验教学中的应用 .....	79
PU-134	miR-3120-5p 通过打靶 Axin2 促进肠癌细胞干性及侵袭能力的实验研究 ..... 李宏丹,李丰	79
PU-135	Phosphorylation of SMC1A promotes hepatocellular carcinoma cell proliferation and migration..... 张莹,羿菲,曹流	80
PU-136	基于 TCGA 数据库寻找影响肺腺癌预后的肿瘤微环境因子 ..... 毕可伟,魏序格,李波	80
PU-137	通过抑制机械张力诱导的 YAP 激活维持肝细胞的生理功能 ..... 孙平新,张冠宇,苏小惠等	81
PU-138	在体内和体外实验中评估羊膜和脐带间充质干细胞对肿瘤发生发展的影响 ..... 孟明耀,李琳,王文举等	81
PU-139	脐带间充质干细胞对食蟹猴多发性硬化模型的治疗作用 .....	82
PU-140	AD 脑内炎症环境促进神经干细胞增殖..... 尚德淑,商宇,刘晓颖等	82
PU-141	GRP78 的 siRNA 改良的间充质干细胞分泌的外泌体抑制肝癌细胞对索拉菲尼的 耐药..... 李宏丹,杨成,史一杰等	83
PU-142	胃癌细胞中 HSF1 结合 MORC2 通过 PRC2 下调 ArgBP2 ..... 佟宇鑫,李妍,顾卉等	83
PU-143	基于液滴阵列芯片的核酸适配体实时定量 RT-PCR 方法的建立及其在外泌体定量 检测中的应用..... 刘先博,方瑾	83
PU-144	以大肠杆菌 IbeA 蛋白侵袭结构域为靶点的抗菌先导抑制剂的计算机筛选与鉴定 ..... 徐晓倩,蔡莹,陈誉华	84
PU-145	Generation of insulin-secreting cells from mouse gallbladder stem cells by small molecules in vitro..... 陈费,王敏君	84
PU-146	皮肤罕见肿瘤 Paget's 病的多组学研究 .....	85
PU-147	年轻血液促进衰老肝细胞逆转并提高老年肝脏再生和代谢功能 ..... 刘清桂,陈费,王敏君	85
PU-148	血清腺苷脱氨酶 (ADA) 活性与冠心病的关系: 一项基于 9929 例参与者的回顾性 病例-对照研究..... 玄超,田婷婷,凌· 演演等	86
PU-149	HIV-1 的治疗策略研究 .....	86
PU-150	基于网络药理学探索青藤碱抗乳腺癌作用的靶点及相关通路研究 ..... 李晓梅,司亚晨,谌卫等	87
PU-151	Calmodulin 与核仁解旋酶互作调控核糖体 RNA 的生成..... 杨佳琳,赵伟东	87
PU-152	肌动蛋白亚型参与巨噬细胞吞噬细菌的机制..... 赵文心,马岚,杨雪婷等	88
PU-153	呼肠孤病毒直接活化 NK 细胞的相关机制研究 .....	88

PU-154	硫化氢对肺上皮细胞纤维化及衰老的保护作用.....	张书礼,刘宇健	89
PU-155	小分子化合物 LC-0882 通过靶向 PAK4 激酶信号通路抑制胃癌细胞增殖与侵袭 .....	张红艳,张健,王健等	89
PU-156	类风湿性关节炎患者外周血单个核细胞对人羊膜间充质干细胞基本特征及炎症因子分泌的影响.....	王婕,余丽梅,于泓等	90
PU-157	Inhibition of SIRT1 suppresses the Self-Renewal and Tumorigenicity of Cancer Stem Cells by inducing cell senescence in Hepatocellular Carcinoma .....	陈佳佳,王敏君	90
PU-158	糖尿病对兔骨髓内皮祖细胞及循环内皮祖细胞功能的影响存在差异 .....	谭强	91
PU-159	人羊膜间充质干细胞衰老改变及 miRNA 和 mRNA 差异表达分析 .....	余丽梅,齐斌,王玉莹等	91
PU-160	Vimentin acetylation is involved in SIRT5-mediated hepatocellular carcinoma migration .....	郭丹	92

# 大会发言



## OR-001

## 剪接因子 RBM10 调控 RNA 剪接的分子机制 及其在肺癌中的功能

王勇波<sup>1</sup>,张思蕊<sup>1,2</sup>,包煜芳<sup>1</sup>,沈先锋<sup>1</sup>,许楠<sup>1</sup>,左伋<sup>1</sup>,孙艺华<sup>3</sup>,王泽峰<sup>2</sup>

1.复旦大学基础医学院

2.中国科学院-马普学会计算生物学伙伴研究所

3.复旦大学附属肿瘤医院

RNA 剪接调控在多种生理条件下发挥着重要功能,剪接异常是导致人类疾病的主要原因之一。剪接异常广泛存在于多种肿瘤中,被证实肿瘤发生发展过程中起驱动作用,是肿瘤诊断、治疗及预后评价的有效新靶标。我们的研究阐明了剪接因子 RBM10 介导剪接调控的分子机制,进一步揭示了 RBM10 负向调控自身及其同源类似物 RBM5 表达的新分子机制,并发现肺腺癌组织中介导 RBM10 自我调控的外显子剪接位点突变伴随 RBM10 表达量显著降低。此外,我们对肺腺癌中出现的 RBM10 突变进行了系统功能分析,结果表明 RBM10 突变至少部分通过引起靶标基因的剪接异常在肺腺癌中发挥作用。在此基础上,我们揭示了 RBM10 在肺腺癌中的抑癌功能、作用机制与临床意义。这些研究结果将促进 RBM10 及其靶标基因的剪接在肺腺癌诊断、治疗中的应用,所建立的实验体系与方法能广泛应用于“剪接调控与肿瘤”方向的研究。

## OR-002

## Deacetylation of NAT10 by Sirt1 promotes the transition from rRNA biogenesis to autophagy upon energy stress

刘小锋<sup>1</sup>,蔡石鹰<sup>2</sup>,张春风<sup>2</sup>,刘振振<sup>1</sup>,罗建沅<sup>2</sup>,邢宝才<sup>1</sup>,杜晓娟<sup>2</sup>

1.北京大学肿瘤医院

2.北京大学医学部

Anabolism and catabolism are tightly regulated according to the cellular energy supply. Upon energy stress, ribosomal RNA (rRNA) biogenesis is inhibited, and autophagy is induced. However, the mechanism linking rRNA biogenesis and autophagy is unclear. Here, we demonstrate that the nucleolar protein NAT10 plays a role in the transition between rRNA biogenesis and autophagy. Under normal conditions, NAT10 is acetylated to activate rRNA biogenesis and inhibit autophagy induction. Mechanistic studies demonstrate that NAT10 binds to and acetylates the autophagy regulator Che-1 at K228 to suppress the Che-1-mediated transcriptional activation of downstream genes *Redd1* and *Deptor* under adequate energy supply conditions. Upon energy stress, NAT10 is deacetylated by Sirt1, leading to suppression of NAT10-activated rRNA biogenesis. In addition, deacetylation of NAT10 abolishes the NAT10-mediated transcriptional repression of Che-1, leading to the release of autophagy inhibition. Collectively, we demonstrate that the acetylation status of NAT10 is important for the anabolism-catabolism transition in response to energy stress, providing a novel mechanism by which nucleolar proteins control rRNA synthesis and autophagy in response to the cellular energy supply.

**OR-003****Zinc finger protein 32 promotes breast cancer stem cell-like properties through directly promoting GPER transcription**

李艳艳, 巩迪, 张乐, 李宏江, 张洁, 林苹  
四川大学华西医院

Breast cancer is one of the leading causes of death in women. Due to the existence of a small fraction of stem cell-like subpopulations, some breast cancer subtypes exhibit very high malignancy and resistance to multiple therapies. The underlying mechanisms of how these subtypes acquire stem cell-like properties and progress more aggressively remain largely unknown. Zinc finger protein 32 (ZNF32) has been reported to be associated with breast cancer progression. However, its exact mechanisms in regulating stem cell-like properties and drug resistance. In the present study, we examined the relationship between ZNF32 and GPER and addressed their roles in stemness regulation in breast cancer. Our results showed that ZNF32 could induce expansion of stem cell-like subpopulations and increase drug resistance by upregulating GPER expression, in which ERK activation was also implicated. We also illustrated that ZNF32 induced GPER expression via a ZNF32 binding sequence located within the GPER promoter region. A correlation between ZNF32/GPER expression and increased tumor incidence and burden was observed in xenograft mouse models. We conclude that ZNF32 can engage GPER/ERK signalling and confer breast cancer stem cell-like properties, which may indicate poor prognosis of breast cancer patients. ZNF32 and GPER targeted therapies might provide new solutions for breast cancer treatment.

**OR-004****IRF7 在 AML 中的作用研究**

王昊, 刘晓礼, 张东玥, 王丽娜, 郑国光  
天津市和平区南京路 288 号天津血液病医院血液学研究所

**目的** 干扰素调节因子 7 (interferon regulator factors, IRF7) 在免疫调节中起重要作用, 其异常表达与白血病相关。本研究在生物信息分析的基础上, 通过在过表达 MLL-AF9 诱导的小鼠白血病模型中敲除 IRF7 探究其在 AML 中的作用机制。

**方法** 通过生物信息学分析 IRF7 与白血病的相关性。富集 IRF7 敲除小鼠与 WT 小鼠的 c-kit<sup>+</sup>造血干祖细胞, 体外用 MSCV-PGK-MLL-AF9-GFP 的病毒感染后移植到致死剂量照射的小鼠体内, 进而构建 IRF7 敲除的 AML 模型。通过检测 AML 小鼠的外周血白血病细胞比例, 小鼠生存期以及小鼠组织器官的浸润程度来探究 IRF7 对白血病进程的影响; 通过检测白血病细胞的增殖、凋亡、分化以及自我更新能力来检测 IRF7 对白血病细胞的影响。

**结果** 通过对 bloodspot 数据库进行检索分析发现, 以正常人骨髓为对照, IRF7 在 AML、CLL 中高表达, 在 CML 中低表达, 而在 MDS 中表达水平无显著差异。分析不同的 AML 亚型发现, 正常核型的 AML, 超二倍体的 AML 以及 AML inv(16) 中 IRF7 均高表达。按照 IRF7 表达水平将 AML 患者分为高表达与低表达两组进一步分析 IRF7 表达水平与 AML 患者生存期的相关性发现, IRF7 高表达组患者的生存期显著低于 IRF7 低表达组 ( $p=0.00826$ )。IRF7 敲除模型构建过程中, MSCV-PGK-MLL-AF9-GFP 逆转录病毒感染 WT 和 IRF7<sup>-/-</sup>细胞后 GFP<sup>+</sup>细胞阳性率小于 1%; 受体小鼠 100%发病, 其中 WT 组移植 20 天后, 外周血 GFP<sup>+</sup>比例约 1.5%, 骨髓 GFP<sup>+</sup>比例约 10%; IRF7<sup>-/-</sup>组移植 28 天后, 外周血 GFP<sup>+</sup>比例约 5%, 骨髓 GFP<sup>+</sup>比例约 15%; 分选两种 GFP<sup>+</sup>AML 细胞, 分别移植至未经照射的受体小鼠中, 进一步纯化白血病细胞。

**结论** IRF7 表达水平与白血病相关; 成功构建 IRF7 敲除 AML 模型。本研究旨在揭示 IRF7 在 AML

中的作用机制，不仅有利于阐明 AML 发生发展机制，而且可为寻找 AML 治疗靶点提供线索和依据。

## OR-005

### 2 型糖尿病 db/db 小鼠嘌呤代谢改变促进髓系前体细胞增殖的机制

冯英梅<sup>1</sup>, 颜岑<sup>1</sup>, 马小娟<sup>1</sup>, 曾攀<sup>2</sup>, 朱芙丽<sup>1</sup>, 张海滨<sup>1</sup>, 崔庆华<sup>2</sup>

1. 首都医科大学附属北京潞河医院

2. 北京大学教育部心血管重点实验室

**研究背景和目的** 2 型糖尿病患者具有代谢紊乱和髓系细胞增多症的临床特点。然而，代谢紊乱产物是否、如何导致髓系细胞数量增多，并不清楚。

**方法** 8 周和 24 周龄的野生和肥胖 db/db 小鼠用于该研究。流式细胞仪定量骨髓内造血干/前体细胞 (HSPCs)、髓系前体细胞 (GMP) 频率和细胞周期。提取骨髓腔蛋白质谱分析，并验证找到的差异代谢产物。体外培养的 lineage<sup>-low</sup> 干细胞中，加入差异代谢产物，分析对代谢、GMP 的增殖的作用。

**结果** 与野生和 8 周龄 db/db 小鼠相比，24 周龄的 db/db 小鼠出现糖耐量异常，单核细胞和中性粒细胞占白细胞百分比分别是 8 周龄 db/db 小鼠的 1.9、2.2 倍。流式细胞仪分析发现，野生小鼠和 db 小鼠骨髓 HSPCs 频率没有差异，而 24 周龄 db/db 小鼠 GMP 频率高于野生和 8 周龄 db/db 小鼠 (%GMP: 0.653±0.110% vs. 0.831±0.219%, p=0.003)。腹腔注射 BrdU 后流式细胞仪分析 BrdU+GMP 占 GMP 百分比: 8 周龄 db/db 小鼠 30.8% 处于增殖期，而 24 周龄 db/db 小鼠 38.3% 处于增殖期 (p=0.023)。对骨髓液进行质谱检测，分析发现参与嘌呤代谢的蛋白增加，即 24 周龄 db/db 小鼠骨髓中 adenylosuccinate synthetase (ADSS), AMP phosphotransferase (AK3) and Inosine-5'-monophosphate dehydrogenase 2 (IMPDH2) 分别是 8 周龄 db/db 小鼠的 2.0, 2.8, 1.4 倍 (p<.05)。ADSS 和 IMPDH2 分别介导 inosine-5'-monophosphate (IMP) 向 AMP、guanosine monophosphate 的转化。在体外培养的 Lineage<sup>-low</sup> 干细胞群中，加入 IMP，4-8 个小时出现 IMP 促进 ADSS 活性，但不改变 IMPDH2 活性；24 小时 ATP 生成增加，72 小时 ATP 生成降低而 guanosine monophosphate 生成增加；3 天后 GMP 的频率和细胞周期明显增加。

**结论** 2 型糖尿病小鼠骨髓微环境改变，以嘌呤代谢产物增加为特点。关键嘌呤代谢产物 IMP 倾向 ADSS 活性，促进 ATP 生成和 GMP 增殖，导致髓系细胞增多症，加速糖尿病进程。

## OR-006

### 自噬调节肺泡 II 型上皮细胞板层小体的形成

李小曼, 国敏, 郝佳琳, 曹流

中国医科大学

新生儿呼吸窘迫综合征多见于早产儿,是由于肺泡表面活性物质缺乏、肺成熟度差所致,表现为生后进行性呼吸困难及呼吸衰弱,死亡率高。自噬是存在于所有真核细胞中在进化上高度保守的物质分解过程,主要参与细胞内异常蛋白、糖原、脂滴和受损细胞器的清除与转化。迄今为止,研究者们相继在酵母和哺乳动物中发现了 30 多种与自噬过程相关的基因,即自噬相关基因(Autophagy-associated gene, Atgs)。Atg7 是 Atgs 家族中的一员,是保证正常自噬发生过程的必需基因。Atg7 缺陷小鼠(Atg7<sup>-/-</sup>)出生后呈现不进食、骨骼弱小、呼吸急促、嘴唇发绀、存活时间远远短于其同窝野生型新生小鼠的表型。应用 HE 染色的方法,我们发现 Atg7<sup>-/-</sup>胎鼠(P1)肺泡间隔增厚并且肺泡腔面积减少。Western Blot 实验结果表明 Atg7<sup>-/-</sup>胎鼠(P1)中 SPB 及 SPC 的水平较野生鼠降低。

电镜结果显示 *Atg7*<sup>-/-</sup>胎鼠板层小体数目减少, 并且出现板层小体前体糖原累积的现象。进一步, 通过电镜及免疫电镜的方法, 我们发现板层小体与自噬小体存在融合, 并且自噬的分子标记物 LC3 及 *Atg7* 均表达于板层小体上。进一步, 我们建立了肺泡 II 型细胞的条件性敲除小鼠, 我们也发现了其肺泡间隔增厚、板层小体数目减少、糖原累积及表面活性物质减少的现象。综上所述, 自噬因子 *Atg7* 对板层小体的形成及肺的早期发育有重要作用, 提高自噬水平有望成为治疗新生儿呼吸窘迫的新途径。

## OR-007

### Vascular Smooth Muscle Cells Actively Recruit Macrophages in A Phenotype Dependent Manner, Provoking Themselves Apoptosis Via circRasGEF1B-ZFP36-Mediated Bcl-2 mRNA Decay, Contributing to Abdominal Aortic Aneurysm Formation in *Sm22α*<sup>-/-</sup> Mice

吕品,尹亚娟,孔鹏,席豪,王宁,杨宏超,韩梅  
河北医科大学

Vascular smooth muscle cell (VSMC) apoptosis is a major defining feature of aortic aneurysm and mainly caused by inflammatory cell infiltration. The disruption of *SM22α* develops enhanced inflammatory response and ROS production. However, little is known of the role of *SM22α*-associated VSMC phenotype change in abdominal aortic aneurysm (AAA) formation. We showed that *SM22α*<sup>-/-</sup> VSMCs that have transited to inflammatory phenotypic state, actively induced recruitment and activation of macrophages via increasing VCAM-1 expression and secretion, contributing to VSMC apoptosis. Both VCAM-1 neutralizing antibody and specific siRNA removed *Sm22α*<sup>-/-</sup> VSMCs-induced macrophage infiltration, similar to results observed following rescue of *SM22α* expression. Subsequently, the activated macrophage specifically expressed and secreted circRasGEF1B, and the latter was delivered into VSMCs and promoted ZFP36-mediated degradation of Bcl-2 mRNA and apoptosis of VSMCs. Knockdown of ZFP36 by siRNA abolished circRasGEF1B-induced apoptosis of VSMCs. Mechanically, circRasGEF1B, as a scaffold, guided ZFP36 preferential binding and decay of Bcl-2 mRNA rather than ZFP mRNA, accompanied with increase in ZFP36 expression. Final, circRasGEF1B-ZFP36 axis inducing VSMC apoptosis was validated by human renal artery tissues cultured *in vivo*.

## OR-008

### 骨髓单核细胞 SENP3 调控干扰素调节因子-8 (IRF-8) SUMO 化修饰抑制破骨分化的机制研究

张永兴<sup>1,2</sup>,杨凯<sup>3</sup>,杨洁<sup>1</sup>,劳一敏<sup>1</sup>,邓国英<sup>2</sup>,孙序序<sup>1</sup>,王秋根<sup>2</sup>,易静<sup>1</sup>

1.上海交通大学医学院

2.上海交通大学附属第一人民医院创伤中心

3.上海交通大学医学院附属瑞金医院, 上海市伤骨科研究所

人体骨代谢平衡有赖于破骨细胞驱动的骨吸收和成骨细胞介导的骨形成之间的精确协调。许多骨代谢疾病, 如骨质疏松, 多是由于增强的破骨细胞生成及活性所致, 因而破骨细胞的分化调控机制是目前骨骼肌肉系统分子细胞生物学领域的研究热点, 而其重要转录因子的翻译后修饰越来越受到学者的关注。磷酸化是骨代谢领域研究最多的翻译后调控方式, 而我们的研究发现, 蛋白质翻译



后 SUMO 修饰也是调节破骨细胞生成及其活性的关键因素。

SUMO (small ubiquitin-related modifier) 是一类重要的类泛素蛋白, 它能够通过对底物蛋白进行翻译后修饰, 影响底物蛋白的稳定性、定位和活性, 进而参与许多人体生理活动和重大疾病如肿瘤、糖尿病、神经退行性疾病、脑损伤等的发生和发展。SUMO 化修饰是一个可逆的过程, SUMO 特异的蛋白酶 SENP 家族能调控蛋白质的去 SUMO 化修饰。我们既往研究证明 SUMO 蛋白酶 SENP3 是应答细胞氧化应激的重要分子, 通过调控一系列分子、特别是转录因子的 SUMO2/3 修饰, 使细胞内基因表达格局发生“重编程”, 从而介导细胞对氧化应激的应答。

我们研究发现, 在破骨分化期间, 细胞内 SUMO2/3 修饰水平升高, 而 SUMO 特异性蛋白酶 SENP3 的表达则在破骨细胞前体中下调。由于破骨细胞来源于骨髓内单核细胞 (Bone marrow-derived monocytes, BMDMs), 因而我们通过构建 BMDMs 中特异性敲除 SENP3 的 SENP3<sup>flox/flox</sup>, Lyz2-Cre 小鼠发现, SENP3 敲除可以导致破骨细胞的过度活化, 从而表现出更严重的骨丢失。深入探讨机制发现, SENP3 通过去除干扰素调节因子 8 (interferon regulatory factor, IRF8) 分子的 SUMO3 修饰, 即 de-SUMO 化增强 IRF8 的活性, 从而抑制破骨细胞形成的关键因子——活化 T 细胞核因子 c1 (NFATc1) 表达, 抑制破骨细胞生成。IRF8 突变 SUMO 结合位点 K310 可以抑制破骨细胞的过度分化。通过该研究, 我们首次发现 SENP3 及 SUMO 化修饰在破骨分化中的重要调控作用, 这一发现将对治疗骨丢失为主的骨代谢疾病提供了新的治疗策略和思路。

## OR-009

### 肝刺激因子抑制肝星状细胞活化机制的研究

王晶, 董凌月, 安威  
首都医科大学基础医学院

**背景与目的** 肝刺激因子 (hepatic stimulator substance, HSS) 又称肝再生增强因子 (augmenter of liver regeneration, ALR) 或 GFER (growth factor, augmentor of liver regeneration (ERV1 homolog, *S.cerevisiae*), GFER), 定位于线粒体膜间隙, 具有巯基氧化酶活性。HSS 可以通过多种途径参与肝再生进程, 是肝细胞内重要的存活因子之一。本课题组前期实验表明, HSS 低表达通过增加线粒体钙离子浓度, 促进肝星状细胞迁移, 从而使小鼠肝纤维化更为严重。目前 HSS 如何影响线粒体钙离子浓度尚不清楚。文献报道线粒体钙离子通道 (mitochondrial calcium uniporter, MCU) 上的调节蛋白 MICU1 (mitochondrial calcium uptake 1) 与线粒体膜间隙输入与组装蛋白 (mitochondrial intermembrane space import and assembly protein 40, Mia40) 存在二硫键传递, Mia40 对 MICU1 的二硫键传递会减少线粒体钙离子内流, Mia40 与 HSS 之间的氧化还原反应在酵母中已经研究的很透彻, 当 Mia40 作为氧化还原酶将进入到线粒体膜间隙的底物氧化后, 自身变为还原型, HSS 作为 Mia40 的巯基氧化酶将 Mia40 从还原态氧化, 重新变成有活性的氧化型, 而自身变为还原型。那么在肝星状细胞中 HSS 是否通过改变 Mia40 氧化还原状态而调节 MICU1 和 MICU2 之间的二硫键链接, 从而影响线粒体钙离子含量, 最终影响肝星形细胞的活化的呢?

**方法** 首先用 western blot 及免疫荧光的方法检测人原代肝星状细胞及人纤维化组织切片中是否存在 HSS 的表达; 然后用 western blot 方法检测 PDGF-BB、TGF $\beta$ 1 刺激活化后的肝星状细胞中 HSS 表达变化; 利用免疫沉淀的方法检测 HSS 与 Mia40 是否存在相互作用, 用巯基修饰的方法检测 HSS 变化对 Mia40、MICU1 氧化还原状态的影响。

**结果** 免疫荧光结果显示人肝纤维化组织切片中 HSS 与  $\alpha$ -SMA 在活化的肝星状细胞中具有共定位, 再次说明肝星状细胞中存在 HSS。PDGF-BB 或 TGF $\beta$ 1 刺激后活化的人原代肝星状细胞中 HSS 的表达减少, 但线粒体钙离子通道组成成分不因 HSS 表达变化而改变。免疫沉淀结果显示在 LX2 细胞, 人原代肝星状细胞及野生型 C57 小鼠肝脏中 HSS 与 Mia40 存在相互作用, 而且 HSS 表达降低之后的 LX2 细胞中 Mia40 氧化型减少, 还原型增多。

**结论** HSS 可以通过与 Mia40 相互作用, 影响其氧化还原状态调节线粒体钙离子浓度, 从而影响肝星状细胞活化。

## OR-010

### 耐紫杉醇的上皮性卵巢癌细胞的干性及其调节

王繁晨,许国雄  
复旦大学附属金山医院

上皮性卵巢肿瘤是常见的妇科肿瘤。其标准一线治疗为肿瘤减灭术后辅以铂类联合紫杉醇化疗,但多数患者都会面临复发的风险。复发的上皮性卵巢肿瘤常对多种化疗药物表现出耐药,是卵巢癌治疗失败的重要原因之一。研究标明,肿瘤组织具有异质性,其中存在的肿瘤干细胞样肿瘤细胞是导致复发和耐药形成的原因。因此,本研究的目的是探究上皮性卵巢癌紫杉醇耐药与肿瘤干细胞样肿瘤细胞的关系。通过已构建的耐紫杉醇的上皮性卵巢癌细胞系,应用蛋白免疫印迹法检测耐紫杉醇上皮性卵巢癌细胞中干细胞相关的标记物的表达水平,我们发现在耐紫杉醇的上皮性卵巢癌细胞中,干性相关标记物 CD44,CD133 等表达上升;通过无血清成球实验比较敏感细胞与耐药细胞的成球能力差异,我们发现耐药细胞表现出更强的成球能力;成球细胞中的一些干性相关标记物表达水平也进一步上升。免疫印迹法检测发现,成球后的耐药细胞中信号转导和转录激活因子的表达水平下降,提示该转录因子可能与干性相关。过表达信号转导和转录激活因子导致细胞的干性和集落形成能力发生降低,而敲减信号转导和转录激活因子则导致细胞的干性和集落形成能力增强,耐药细胞的耐药性有所升高。综上所述,本研究证实了耐紫杉醇的上皮性卵巢肿瘤细胞中存在肿瘤干细胞样肿瘤细胞,而此肿瘤细胞的干性有所上升;抑制信号转导和转录激活因子可逆转肿瘤干细胞样肿瘤细胞的耐药性。

## OR-011

### 基于 iTRAQ 技术分析生物活性肽联合奥沙利铂作用 MKN-45 胃癌细胞蛋白质组学研究

徐亚楠,李贤,苏秀兰  
内蒙古医科大学附属医院临床医学研究中心

传统单一化疗治疗胃癌疗效不佳,建立新型联合治疗方案是治疗胃癌的重要发展方向。前期研究发现,抗癌生物活性肽联合奥沙利铂可显著抑制胃癌 MKN-45 细胞增长,诱导细胞周期 G2/M 期阻滞,促进 MKN-45 细胞凋亡。目的:探讨生物活性肽联合奥沙利铂作用 MKN-45 胃癌细胞后其蛋白表达谱的变化。方法:采用基于 iTRAQ 定量蛋白质组学方法,对生物活性肽联合奥沙利铂作用 MKN-45 胃癌细胞蛋白质组学进行研究。结果:实验共检测到 6210 个蛋白,表达差异倍数大于 1.2 倍且 P-value 小于 0.05 的蛋白视为差异表达蛋白,通过组间比对,共发现 256 个差异表达蛋白,其中生物活性肽组与对照组相比共有 17 个差异蛋白,上调蛋白为 10 个,下调蛋白为 7 个,奥沙利铂组与对照组相比共有 111 个差异蛋白,上调蛋白为 27 个,下调蛋白为 84 个,生物活性肽联合奥沙利铂组与对照组相比共有 128 个差异表达蛋白,上调蛋白为 53 个,下调蛋白为 75 个。所筛选出的 6 个差异表达蛋白(TPX2, NUSAP1, TOP2A, YES, MKI-67, GPC4)通过平行反应监测(PRM),验证了组学方法的可靠性,GO 及 KEGG 分析发现生物活性肽与奥沙利铂联合作用影响核糖体、AMPK 信号通路等,推测生物活性肽联合奥沙利铂通过 AMPK 信号通路抑制胃癌 MKN-45 细胞可能是其发挥作用的重要途径之一。结论:生物活性肽与奥沙利铂联合作用于胃癌 MKN-45 细胞的实验数据为胃癌靶向联合治疗提供新策略和新思路。

## OR-012

核 PAK4-LIFR 信号轴在 ER $\alpha$  阳性乳腺癌骨转移中的作用机制

李彦姝,张红艳,金峰,李丰  
中国医科大学

乳腺癌是全世界女性因癌症死亡的第二大肿瘤,约 75%的乳腺癌是雌激素受体  $\alpha$  阳性 (ER $\alpha$ +),而晚期乳腺癌患者发生骨转移是导致病人的死亡率增加原因之一。目前,ER $\alpha$ +乳腺癌与骨转移发生的机制尚不清楚。我们发现细胞核 p21 激活激酶 4 (nPAK4) 能够以 17 $\beta$ -雌二醇 (E2) 依赖的方式抑制雌激素受体  $\alpha$  (ER $\alpha$ ) 参与调控靶基因的表达。nPAK4 可能是通过抑制 ER $\alpha$  靶基因-白血病抑制因子受体 (LIFR) 表达,促进 ER $\alpha$  阳性乳腺癌发生骨转移。在骨转移乳腺癌 (BMBC) 组织样品中我们发现 nPAK4 与 ER $\alpha$  的表达呈负相关,并且 nPAK4 的表达与 BMBC 病人预后不良相关。体内外实验证实,PAK4 与 ER $\alpha$  能够在 E2 刺激下由细胞质穿梭到细胞核,共定位于 ER $\alpha$  调控靶基因的启动子反应原件 (ERE) 上,并且抑制 ERE 的转录活性。nPAK4 能够增强 ER $\alpha$ +乳腺癌细胞的侵袭能力,促进 ER $\alpha$ +乳腺癌的转移。另外,我们证实 PAK4-ER $\alpha$ -HDAC1 复合体能够招募到 LIFR 的启动子上,LIFR 是 ER $\alpha$  调控的抑制骨转移相关的基因。利用 RNA-Seq 技术,我们筛选了 9 个 ER $\alpha$  介导的 PAK4 负性调节的基因,包括 *CLSTN2*, *IL1R1*, *FOXM1*, *TNFRSF11B*, *CCNG2*, *TNS3*, *ABCG1*, *SMAD3* 和 *SERPINA3*。我们推测 PAK4 核内积累可能是促进 ER $\alpha$ +乳腺癌发生侵袭表型的重要分子机制,nPAK4 有望成为新的 ER $\alpha$ +乳腺癌骨转移的预测生物标记物。

## OR-013

## Xpc 调控小鼠骨髓来源间充质细胞成骨分化的机制研究

石家仲,余瑾,黄亚琴,杨劲  
第三军医大学

间充质干细胞 (mMSC) 易于分离培养和扩增,具有多向分化潜能,因而具有重要的理论研究和临床应用价值。维持基因组稳定性和分化潜能是干细胞要解决的两个基本问题。DNA 损伤应答系统对维持基因组稳定性具有重要意义,已有的研究显示 DNA 损伤应答蛋白 XPC 作为转录激活因子直接参与胚胎干细胞干性基因 *Nanog* 的表达调控,提示维持基因组稳定性和分化潜能的两方面的机制具有内在的联系。在本研究中,我们发现 DNA 损伤应答基因 *Xpc* 参与调控 mMSC 成骨分化。

我们分别从野生型和 *Xpc* 敲除小鼠骨髓中分离扩增 mMSC (mMSC<sup>Xpc+/+</sup>和 mMSC<sup>Xpc-/-</sup>)。体外成骨诱导分化显示 mMSC<sup>Xpc-/-</sup>成骨分化能力显著低于 mMSC<sup>Xpc+/+</sup>。移植 mMSC 修复小鼠骨缺损实验显示 mMSC<sup>Xpc-/-</sup>修复骨缺损能力也显著低于 mMSC<sup>Xpc+/+</sup>。为进一步探究 *Xpc* 调控 mMSC 成骨分化的机制,我们使用基因芯片 (Affymetrix MTA1.0) 比较两种 mMSC (*Xpc+/+*、*Xpc-/-*) 在两种状态 (未分化、诱导成骨分化) 下的基因表达谱,并着重分析了转录因子的表达。有 55 个转录因子在 mMSC<sup>Xpc+/+</sup>诱导成骨分化前后有显著表达改变 (Fold Change $\geq$ 2),提示这些转录因子的表达改变参与 mMSC 诱导成骨分化,因而被纳入进一步分析。其中有 20 个转录因子在诱导分化后显著下调,提示其维持干性的功能并被称为干性维持转录因子 (Stemness Maintaining TFs, SMTFs); 剩余 35 个基因在诱导分化后显著上调,提示其促进分化的功能并被称为分化促进转录因子 (Differentiation Promoting TFs, DPTFs)。对 SMTFs 分析显示,未分化状态下有 11 个 SMTFs 在 mMSC<sup>Xpc-/-</sup>中显著上调或下调 (Fold Change $\geq$ 2),提示 *Xpc* 可能参与间充质干细胞干性维持。更为重要的是,对 35 个 DPTFs 分析显示,33 个转录因子在 mMSC<sup>Xpc-/-</sup>诱导成骨分化后上调水平显著低于 mMSC<sup>Xpc+/+</sup>成骨诱导分化后的上调水平,并且其中 20 个 DPTFs 在 mMSC<sup>Xpc-/-</sup>

成骨诱导分化后没有显著上调,提示敲除 *Xpc* 广泛抑制了 DPTFs 在 mMSC 诱导成骨分化过程中的表达水平。

综上所述,本研究显示 *Xpc* 参与 mMSC 成骨分化调控,可能通过调控转录因子表达水平影响 mMSC 的成骨分化,不仅对进一步研究其调控 mMSC 成骨分化的机制具有较好的提示意义,也对干细胞维持基因组稳定性和分化潜能这两套机制具有内在联系这一假说提供了新的证据。

## OR-014

### 医学院校开设研究生分子细胞生物学技术实验课的探索与改革

李洋,张红艳,李丰  
中国医科大学

分子细胞生物学是在分子水平研究细胞生命活动的基本规律,是生命科学前沿学科。在研究生教学中开设分子细胞生物学技术实验课,对研究生科研思维及动手能力的提高具有重要意义。为此中国医科大学分子细胞生物学教研室在研究生选修课教学中设置了分子细胞生物学技术实验课。通过系统理论讲授与实验操作相结合的方式,不仅启迪了研究生(特别是临床型研究生)的科研思路,同时通过研究生亲自参与分子克隆、细胞培养、荧光素酶双报告基因检测等实验操作及数据分析,提高了研究生的动手操作和科研分析能力。为研究生未来的科学研究奠定了基础。

## OR-015

### 肝癌特异性 Wnt 共受体 GPC3 调控肝癌进展的分子机制及干预

高威<sup>1</sup>,何苗壮<sup>1,2</sup>,李娜<sup>1</sup>,魏丽雯<sup>3</sup>,刘晓宇<sup>1</sup>  
1.南京医科大学  
2.美国国立卫生研究院肿瘤研究所  
3.华中科技大学生命科学技术学院

肝癌病人中普遍存在 Wnt 信号通路的异常激活,因此阻断 Wnt 信号通路是抑制肝癌生长的有效手段。但是 Wnt 信号在正常生理过程中也发挥了重要作用,直接靶向 Wnt 或其受体 FZD 来抑制 Wnt 信号激活势必会对正常细胞产生影响,造成不可预期的 off-tumor 副反应。因此,靶向肿瘤特异性 Wnt 共受体,是降低 off-tumor 副反应、阻断 Wnt 信号激活、抑制肿瘤生成的可行性策略。

GPC3 是特异性高表达于肝癌细胞表面的硫酸乙酰肝素糖蛋白,已知其作为共受体激活 Wnt 信号,促进肝癌的增殖。但是 GPC3 与 Wnt 相互作用的精细分子机制,以及 GPC3 如何起始 Wnt 信号的活化过程尚不清楚,限制了靶向 GPC3 的肝癌治疗策略的开发。针对上述科学问题,我们建立了 GPC3 蛋白质结构模型,根据模型表面的疏水性区域特征,阐明了 GPC3 核心蛋白与 Wnt3a 互作的结构基础;通过体外和体内实验证实了 GPC3/Wnt3a 复合物对肝癌发生的重要作用;设计人源化单域抗体阻断 GPC3/Wnt3a 复合物的互作位点,抑制 Wnt 信号对肝癌细胞的促增殖作用;同时针对 GPC3 的硫酸乙酰肝素糖链,及其核心蛋白的不同表位设计和开发了多种全人源抗体,构建了 GPC3 抗体偶联物和 CAR-T 细胞用于肝癌的靶向性治疗。

我们的研究工作阐明了 GPC3 作为共受体调控 Wnt 信号激活的分子机制,获得了靶向 GPC3 的特异性 Wnt 阻断型抗体,建立了多种靶向 GPC3 的肝癌干预策略,为肝癌的靶向性治疗提供了理论依据,具有直接的转化应用价值。

**OR-016****多西环素诱导的靶向 CD147 分子嵌合抗原受体  
T 细胞抗肝癌治疗研究**

张仁宇,尉丁,刘泽昆,雍遇乐,魏巍,张志云,吕建军,张钊,陈志南,边惠洁  
第四军医大学

**背景** 近年来,嵌合抗原受体 T 细胞疗法 (CAR-T) 在血液系统肿瘤的治疗中已取得重要进展。然而,由于缺乏肿瘤特异性抗原靶点且难以浸润肿瘤组织, CAR-T 细胞在实体瘤中的治疗效果有限。另一方面, CAR-T 细胞与正常细胞的非特异性结合往往会导致严重的毒副作用并降低疗效。为了解决这些问题,我们构建了一种新型 CAR-T 细胞。这种 CAR-T 细胞以肿瘤相关性抗原 CD147 为靶点,同时利用 Tet-On 四环素转录调控系统,实现通过多西环素调控 CAR-T 细胞的功能状态,以增强 CAR-T 细胞治疗的安全性和有效性。

**方法** 流式分析检测不同条件下 Tet-CD147CAR T 细胞上 CD147CAR 的表达水平。通过细胞增殖实验、细胞毒性实验等检测 Tet-CD147CAR T 细胞的增殖能力、细胞杀伤能力和细胞因子分泌水平。利用人肝癌细胞裸鼠皮下成瘤模型检测 Tet-CD147CAR T 细胞在体内对肝癌的抗肿瘤效果。

**结果** 我们构建了多西环素诱导的、表达靶向 CD147 分子 CAR 片段的 Tet-CD147CAR 慢病毒载体,通过感染活化的 T 细胞,成功制备了 Tet-CD147CAR T 细胞。CD147CAR 只在添加多西环素后 (Dox+) 表达,并使 Tet-CD147CAR T 细胞在 IL-2 和靶抗原刺激下有效地扩增。相比于 (Dox-) Tet-CD147CAR T 细胞和 PBMC 细胞, (Dox+) Tet-CD147CAR T 细胞在与 CD147+肿瘤细胞共培养后,细胞杀伤能力和细胞因子分泌水平显著升高。而利用人肝癌荷瘤小鼠模型开展的体内研究,在多西环素存在条件下, Tet-CD147CAR T 细胞可以显著抑制裸鼠体内肿瘤的生长。

**结论** 靶向 CD147 的 CAR-T 细胞在体外对肝癌细胞具有良好的杀伤效果。采用瘤内注射的方式治疗肝癌荷瘤小鼠可以显著抑制肿瘤的生长。并且多西环素可以在体外或体内调控 CD147CAR 的表达和功能,这将有利于降低 CAR-T 细胞治疗的毒副作用。本研究为将四环素诱导调控表达系统用于 CART 细胞治疗实体瘤提供了可行性证据。

**OR-017****The Otubain YOD1 Suppresses Aggregation and Activation  
of the Signaling Adaptor MAVS through Lys63-Linked  
Deubiquitination**

王玺  
首都医科大学

MAVS is a critical adaptor required for activating an innate antiviral immune response against viral infection. The activation of MAVS requires modification of the Lys63-linked ubiquitination and formation of prion-like aggregates. However, the molecular mechanisms regulating MAVS activity remain largely obscured. In this study, we identified a deubiquitinase YOD1, also known as a member of the ovarian tumor family, as a negative regulator of MAVS activation in both human and murine cells. YOD1 was recruited to mitochondria to interact with MAVS through its UBX and Znf domains after viral infection. Subsequently, YOD1 cleaved the K63-linked ubiquitination and abrogated the formation of prion-like aggregates of MAVS, which led to attenuation of IRF3, P65 activation, and IFN- $\beta$  production. Knockdown of YOD1 potentiated IRF3 and P65 activation, IFN- $\beta$  production, and antiviral innate immune response to RNA virus. Our findings thus provided, to our knowledge, novel insights into the regulatory cascade of the cellular antiviral response through YOD1-mediated K63-linked deubiquitination and aggregation of MAVS.

## OR-018

## Caspr1 在脑微血管内皮细胞淀粉样前体蛋白加工中的作用和机制研究

唐诗语,刘东鑫,王康吉,张哲雨,方文刚,韦佳祎,赵伟东,陈誉华  
中国医科大学发育细胞生物学教研室, 教育部医学细胞生物学重点实验室

我们曾研究发现,表达于脑微血管内皮细胞(brain microvascular endothelial cell, BMEC)的 Caspr1(Contactin-associated protein 1)是脑膜炎大肠杆菌侵袭并穿过血脑屏障的受体,而 BMEC 表达 Caspr1 的生理学意义尚不清楚。我们在以往的研究中证实 BMEC 中存在淀粉样前体蛋白 (amyloid protein precursor,APP)的淀粉样蛋白加工和非淀粉样蛋白加工两种形式。在本研究中,我们发现 BMEC 中 Caspr1 的敲减显著增强了 APP 的非淀粉样蛋白加工途径,即显著上调 sAPP $\alpha$ (soluble amyloid protein precursor  $\alpha$ )的形成,该结果与脑血管内皮细胞中 Caspr1 条件性敲除小鼠血浆中 sAPP $\alpha$  的水平上升相一致,提示 Caspr1 在 APP 的非淀粉样蛋白加工产生 sAPP $\alpha$  中起重要作用。我们进一步研究发现,在导致 APP 切割形成 sAPP $\alpha$  的 ADAM 家族蛋白酶中, Caspr1 能特异性下调 ADAM9 的表达。通过 ADAM9 启动子荧光素酶报告分析并结合染色质免疫沉淀,证实转录因子 NF- $\kappa$ B 调控了 Caspr1 介导的 ADAM9 的表达。研究结果还表明, BMEC 中 Caspr1 的敲减显著抑制了 NF- $\kappa$ B 信号通路的活化、阻止 p65 入核。Caspr1 表达互补分析实验进一步证实了上述结果。以上研究结果提示:在脑微血管内皮细胞中, Caspr1 通过 NF- $\kappa$ B 依赖性信号通路调控 ADAM9 的表达,进而调控 APP 沿非淀粉样蛋白加工途径形成对神经元起支持和营养作用的 sAPP $\alpha$  的形成。本研究为阐明神经血管单元组成细胞的互作机制和意义积累了新的科学资料。(本研究受国家自然科学基金#31571057 资助)。

## OR-019

## CYR61 活化增强子促进结肠癌进展的机制研究

谢玲珠<sup>1</sup>,宋旭红<sup>1</sup>,林浩<sup>2</sup>,陈滋凯<sup>1</sup>,李启东<sup>1</sup>,郭堂飞<sup>1</sup>,苏婷<sup>1</sup>,常晓兰<sup>1</sup>,梁斌<sup>1</sup>,黄东阳<sup>1</sup>

1.汕头大学医学院

2.汕头市中心医院

富含半胱氨酸因子 61 (CYR61) 在结肠癌中高表达,并且和结肠癌病人的不良预后相关;但是目前关于增强子对 CYR61 的表达调控尚未见报道。本研究中,结肠癌病人 CYR61 mRNA 和蛋白的表达明显高于癌旁组织,结肠细胞株中, CYR61 mRNA 和蛋白的表达情况和病人组织样品的表达情况一致。结肠癌病人基因组组蛋白修饰的 ChIP-seq 数据分析结果显示,在结肠癌病人样本中, CYR61 基因下游,有 3 个潜在的增强子。通过检测 eRNA 表达情况、ChIP-qPCR、双荧光素酶实验和染色质构象捕获实验 (3C 实验),发现在正常结肠粘膜细胞株 NCM460 中,没有 CYR61 的活性增强子,而在结肠癌细胞 HCT116 和 RKO 中都有 CYR61 的活性增强子,与结肠癌病人组织的 ChIP-seq 数据分析结果一致。通过查找共同存在于启动子和增强子片段的转录因子结合基序,我们发现转录因子 FOXA1 在 CYR61 的启动子区和增强子区都有潜在的结合位点;对 FOXA1 进行敲降和过表达实验显示, FOXA1 介导了 CYR61 启动子和增强子之间环袢结合,具有促进启动子和增强子区染色质活化的作用,而且 FOXA1 主要是通过影响增强子活性来影响 CYR61 的启动子活性的。FOXA1 在增强子区的富集状态影响了组蛋白乙酰化修饰 (H3K27ac),为了明确 FOXA1 是否通过影响组蛋白乙酰化酶 CBP 的结合,进而影响增强子活性,我们对 CBP 进行敲降实验。CBP 的敲降显示, CBP 也介导了 CYR61 启动子和增强子之间环袢形成,同时具有促进启动子和增强子区染色质活化的作用。细胞迁移功能实验中, FOXA1 通过介导增强子对 CYR61 表达的调控,从而改变肿瘤细胞的迁移能力。本研究探讨了 FOXA1 和 CBP 介导增强子对

**CYR61** 基因的调控机制，阐明了增强子对 **CYR61** 的调控在结肠癌中的致病机制。

富含半胱氨酸因子 61 (**CYR61**) 在结肠癌中高表达，并且和结肠癌病人的不良预后相关；但是目前关于增强子对 **CYR61** 的表达调控尚未见报道。本研究中，结肠癌病人 **CYR61** mRNA 和蛋白的表达明显高于癌旁组织，结肠细胞株中，**CYR61** mRNA 和蛋白的表达情况和病人组织样品的表达情况一致。结肠癌病人基因组组蛋白修饰的 ChIP-seq 数据分析结果显示，在结肠癌病人样本中，**CYR61** 基因下游，有 3 个潜在的增强子。通过检测 eRNA 表达情况、ChIP-qPCR、双荧光素酶实验和染色质构象捕获实验 (3C 实验)，发现在正常结肠粘膜细胞株 NCM460 中，没有 **CYR61** 的活性增强子，而在结肠癌细胞 HCT116 和 RKO 中都有 **CYR61** 的活性增强子，与结肠癌病人组织的 ChIP-seq 数据分析结果一致。通过查找共同存在于启动子和增强子片段的转录因子结合基序，我们发现转录因子 FOXA1 在 **CYR61** 的启动子区和增强子区都有潜在的结合位点；对 FOXA1 进行敲降和过表达实验显示，FOXA1 介导了 **CYR61** 启动子和增强子之间环祥结合，具有促进启动子和增强子区染色质活化的作用，而且 FOXA1 主要是通过影响增强子活性来影响 **CYR61** 的启动子活性的。FOXA1 在增强子区的富集状态影响了组蛋白乙酰化修饰 (H3K27ac)，为了明确 FOXA1 是否通过影响组蛋白乙酰化酶 CBP 的结合，进而影响增强子活性，我们对 CBP 进行敲降实验。CBP 的敲降显示，CBP 也介导了 **CYR61** 启动子和增强子之间环祥形成，同时具有促进启动子和增强子区染色质活化的作用。细胞迁移功能实验中，FOXA1 通过介导增强子对 **CYR61** 表达的调控，从而改变肿瘤细胞的迁移能力。本研究探讨了 FOXA1 和 CBP 介导增强子对 **CYR61** 基因的调控机制，阐明了增强子对 **CYR61** 的调控在结肠癌中的致病机制。





# 书面交流



## PU-001

### 国内冠状动脉搭桥同期行干细胞移植术治疗缺血性心脏病疗效的 Meta 分析（摘要）

马敬<sup>1</sup>,张涛<sup>1</sup>,马珂<sup>2</sup>

1.同济大学附属东方医院

2.同济大学附属第一妇婴保健院 检验科

**目的** 评价我国冠脉搭桥同期干细胞移植治疗缺血性心脏病的临床疗效。

**方法** 制定原始文献的纳入标准及检索策略，计算机检索中国期刊全文数据库、中国生物医学文献数据库、维普中文科技期刊全文数据库、万方医学数据库以及 PubMed、Elsevier 数据库，搜索有关我国冠脉搭桥同期干细胞移植治疗缺血性心脏病的资料，提取试验组干预措施为冠脉搭桥同期干细胞移植，对照组为单纯冠脉搭桥的对照研究文献，评价纳入研究的文献质量，并提取有效数据后采用 RevMan 5.3 软件进行 Meta 分析。

**结果** 纳入研究文献 11 篇，研究对象 527 例，总结资料，分别从心脏的机械做功、解剖数据和病理改变范围三方面的变化表现，对冠脉搭桥同期干细胞移植和单纯干细胞移植两种疗法的效果进行比较，合并分析结果显示：左室射血分数 LVEF 值  $WMD=4.91(3.17\sim6.65)$ ， $P<0.00001$ ；左室舒张末期内径 LVEDD 值  $WMD=-4.15(-5.18\sim-3.11)$ ， $P<0.00001$ ；心肌缺血面积  $WMD=-4.09(-5.68\sim-2.51)$ ， $P<0.00001$ ），结果显示三项指标的差异均有显著的统计学意义。

**结论** 缺血性心脏病的治疗，冠脉搭桥同期干细胞移植方法的疗效明显优于单纯干细胞移植方法，是由于，经冠脉搭桥血流重建后，缺血心肌血供得以改善，心功能因此得以改善，在此同期植入具有心肌活性的干细胞，替代顿抑及坏死的心肌细胞，增加病变部位的心肌细胞数量，使得梗死面积缩小，心功能得以进一步改善。

## PU-002

### 剪接因子 PRPF31 基因 c.544\_618del75bp 突变通过降低 mRNA 表达参与非综合征性视网膜色素变性

姚启慧,贺颖

郑州大学

已有研究报道在中国人常染色体显性视网膜色素变性 (ADRP) 家系中发现剪接因子 *PRPF31* 基因第 7 外显子上有一个新发的 c.544\_618del75bp 突变。本研究补充完善了该 ADRP 家系，测序验证 c.544\_618del75bp 突变，并进行 c.544\_618del75bp 致病突变的功能机制研究。首先，我们补充完善了 ADRP 家系，并对所有家庭成员和 100 名健康对照的 DNA 和 cDNA 进行了 *PRPF31* 基因 c.544\_618del75bp 突变位点的测序筛查验证。结果显示，除 III-9 外，所有患者均存在此突变，所有正常人均缺失此突变。生物信息学分析结果显示，c.544\_618del75bp 突变导致编码 *PRPF31* 的蛋白缺失 25 个氨基酸。此外，我们通过 RT-PCR 检测 *PRPF31* 基因和 ADRP 的其他致病基因 *RP9*、*ROM1*、*SNRNP200*、*TOPORS* 的 mRNA 表达，结果显示 RP 患者 *PRPF31* 基因和 *RP9* 基因的 mRNA 表达水平显著低于对照组 ( $P<0.05$ )。最后，我们构建携带野生型和突变型 *PRPF31* 基因过表达载体的质粒转染 Hek 293T 细胞，结果表明突变型转染组的 mRNA 表达水平显著低于野生型转染组 ( $P<0.05$ )。我们的研究结果表明，*PRPF31* 基因 c.544\_618del75bp 突变是 ADRP 的致病突变，此突变导致 *PRPF31* 基因表达的单倍剂量不足，影响光感受细胞器的功能；并且可能通过影响 U4/U6-U5 三聚体的形成，进而影响 *RP9* 基因的表达，最终导致 RP 的发生。

## PU-003

### The immune promotive effect of bioactive peptides may be mediated by regulating the expression of SOCS1/ miR-155

陈彩霞,苏秀兰  
内蒙古医科大学附属医院

The present study was designed to evaluate the effect of bioactive hepatic peptide (BHP) on the immune function of mice and to examine the mechanism mediated by the related factors cytokine suppressor of cytokine signaling 1 (SOCS1) and microRNA (miR)-155. The mice were divided into eight groups. The proliferative ability of splenic lymphocytes was determined in vitro using a Cell Counting kit-8 assay. Wright's staining was used to assess the phagocytic function of macrophages. Histological changes in the spleen were evaluated by hematoxylin-eosin staining. The relevant factors SOCS1/miR-155 were assessed by immunohistochemistry and reverse transcription fluorescence-quantitative polymerase chain reaction analysis. The levels of the cytokines TGF- $\beta$ 1, IL-10 and IL-17A were determined by enzyme-linked immunosorbent assay. Compared with the control mice, the normal peptide group mice exhibited increased spleen and thymus indices, percentages of lymphocyte subsets, macrophage phagocytosis percentages, phagocytic indices, splenic lymphocyte proliferation and expression of miR-155; however, the expression of SOCS1 was decreased in the normal peptide groups to varying extents. Similar results were obtained in the immunosuppressive group and its peptide-treated group. In addition to IL-17A, the secretion of TGF- $\beta$ 1 and IL-10 is also different in the experimental group.

## PU-004

### 染色质重构蛋白 BRG1 通过促进成纤维-肌成纤维细胞转化来调控心肌纤维化

刘莉,徐涌  
南京医科大学

**背景** 过度的心脏纤维化会导致心功能缺失并最终引起慢性心衰。驻留的成纤维细胞通过成纤维-肌成纤维细胞转化(FMyT)而在心肌纤维化过程中扮演重要的角色。当前阶段我们研究了 brahma-related gene 1 (BRG1)在心肌纤维化过程中的作用。

**方法和结果** 我们通过将 BRG1-Flox (Smarac4f/f)品系小鼠与成纤维细胞特异的 Cre(Col1a2-Cre)品系小鼠进行杂交获得成纤维细胞条件敲除 BRG1 的小鼠。并通过横向主动脉收缩 (transverse aortic constriction (TAC)) 来诱导心脏纤维化。与同笼的野生型小鼠相比,成纤维细胞敲除 BRG1 的小鼠进行 TAC 手术后心肌纤维化明显减轻,具体表现为促纤维化基因表达下调,天狼猩红松染色纤维化区域减少,反应纤维化程度的心脏羟脯氨酸含量降低。与这些指标相对应的是 TAC 手术后敲除鼠相对于野生鼠存活率升高,心功能得到改善。在培养的元代新生大鼠元代成纤维细胞中 (neonatal rat cardiac fibroblast cells (NRCFs)), TGF- $\beta$  处理促进 BRG1 结合到促纤维化基因的启动子上,通过小干扰 RNA 敲减 BRG1 减少了 TGF- $\beta$  诱导的促纤维化基因的表达。从机制上来说, BRG1 通过与多种因子包括 SRF, SMAD3, 以及 MKL1 相互作用来刺激促纤维化基因的转录。染色质免疫共沉淀 (Chromatin immunoprecipitation (ChIP)) 实验揭示 BRG1 敲除抑制了活性组蛋白 (如乙酰化的 H3K9, 三甲基化的 H3K4) 在促纤维化基因启动子上的积聚,并同时促进了抑制性组蛋白 (如二甲基化的 H3K9 以及三甲基化的 H3K27) 的积聚。

**结论** 我们的数据揭示 BRG1 通过表观遗传方式调控促纤维化基因的转录促进 FMyT 而在心肌纤维化过程中扮演者重要角色。靶向 BRG1 可以产生针对心力衰竭的新型治疗策略。

**PU-005****染色质重组蛋白 BRG1 对内皮炎症以及糖尿病性血管病的调控机制研究**

陈旭阳,徐涌  
南京医科大学

**摘要** 血管炎症,包括糖尿病性血管病,是许多心血管疾病的主要病因。但是相关机制并没有被研究清楚。以往研究发现用 LPS 诱导体外培养的血管内皮细胞促进大量促炎因子的产生,以此来研究不同表观遗传因子的相互作用。本次研究发现, LPS 诱导刺激后,染色质重组蛋白 BRG1 定位于 NF- $\kappa$ B 启动子上,与此用时,三甲基化的 H3K9 被清除并在 NF- $\kappa$ B 的靶启动子上富集。进一步的研究显示 LPS 的刺激促使 NF- $\kappa$ B 靶启动子对 H3K9 去甲基化酶 JMJD2A 和 H3K4 甲基化转移酶 SET1A 的招募。JMJD2A 介导的 H3K9 去甲基化是 SET1A 与 NF- $\kappa$ B 靶启动子的先决条件。JMJD2A 和 SET1A 通过维持 NF- $\kappa$ B 的结合,对 LPS 诱导的促炎细胞因子的反式激活至关重要。更重要的是, BRG1 能协调 JMJD2A 和 SET1A 的持续招募以及相互作用。最后,内皮条件敲除 BRG1 能改善小鼠的糖尿病性血管病。本次研究提示一个新的表观遗传机制,对 LPS 引起的血管炎症用药提供强有力科学依据。

**PU-006****MKL1 通过表观遗传激活 TWIST1 转录来促进内皮间质转化和肝纤维化**

董文慧,徐涌  
南京医科大学

**背景和目的** 过度的纤维化反应会破坏正常器官的解剖和功能。内皮细胞可通过内皮间质转化 (EndMT) 促进肌成纤维细胞活化和器官纤维化。潜在的表观遗传机制仍然不清楚。在这里,我们研究发现巨核细胞白血病 1 (MKL1),一种转录调节因子,可以调节 EndMT。

**方法** 我们通过将 *Mkl1<sup>fl/fl</sup>* 小鼠与 *Cdh5-Cre* 小鼠杂交来实现在内皮中敲除 MKL1。通过胆管结扎 (BDL) 在小鼠中诱导肝纤维化。通过博来霉素滴注在小鼠中诱导肺纤维化。

**结果** MKL1 抑制或缺失抑制了 TGF- $\beta$  诱导的 EndMT。内皮特异性 MKL1 的缺失减轻了小鼠的肝纤维化和肺纤维化。从机制上讲, MKL1 被募集到 TWIST1 的启动子区域,其是 EndMT 的主要调节因子,并以 STAT3 依赖性方式激活 TWIST1 转录。进一步的分析显示 MKL1 通过招募组蛋白甲基转移酶 SET1 来刺激 TWIST1 转录,以影响 TWIST1 启动子周围的染色质结构。内皮细胞中 SET1 的缺失可在体外拮抗 EndMT 以及在体内抑制纤维化。最后,小分子化合物 harmine 对 TWIST1 的抑制作用可在培养的细胞中抑制 EndMT 以及在小鼠中抑制纤维化。

**结论** 我们的数据揭示了 EndMT 和器官纤维化的一种新的表观遗传机制,并强调了靶向 STAT3-MKL1-SET1-TWIST1 轴可能会干预异常纤维化的发生。

## PU-007

## Acetylshikonin induces apoptosis of human leukemia cell line K562 by involving the modulation of ROS accumulation and blocking NF- $\kappa$ B signaling

郝岗平,蒋汉明,于立娟,柏素云,郭桂丽,孙凌云,杨中法  
山东第一医科大学

**Abstract** Acetylshikonin, a natural naphthoquinone derivative compound, holds anti-bacterial, anti-inflammatory, and anti-tumor activities. The purpose of the present study was to investigate whether acetylshikonin could induce K562 cells apoptotic and regulate the NF- $\kappa$ B signaling pathway. The results showed that K562 cell viability was *significantly* inhibited by the acetylshikonin. Acetylshikonin arrested the k562 cell cycle primarily at S phase. The results also showed that acetylshikonin induced cell apoptosis in a dose-dependent manner. K562 cells treated with acetylshikonin resulted in profound induction of apoptosis accompanied by rapid generation of reactive oxygen species (ROS). The levels of the pro-apoptotic proteins Bax, cleaved PARP and cleaved caspase-3 increased with increasing concentration of acetylshikonin, while the anti-apoptosis protein Bcl-2 was downregulated. Cyt c and AIF, which are characteristic proteins of the mitochondria-regulated intrinsic apoptosis pathway, also increased in the cytosol with increasing concentrations of the acetylshikonin. In addition, acetylshikonin could lead to a block of NF- $\kappa$ B signaling pathway. These results showed that acetylshikonin significantly induces cell apoptosis by involving the modulation of ROS accumulation and blocking of NF- $\kappa$ B.

## PU-008

## 血小板生长因子受体- $\beta$ 信号通路对于缺血后血脑屏障功能恢复的作用机制研究

申杰<sup>1</sup>,徐桂华<sup>1</sup>,朱润秀<sup>1</sup>,袁军<sup>1</sup>,申杰<sup>1</sup>,徐桂华<sup>1</sup>,朱润秀,袁军<sup>1</sup>  
1.内蒙古自治区人民医院  
2.内蒙古自治区人民医院

**目的** 分析血小板源性生长因子受体 PDGFR- $\beta$  信号在脑缺血后血脑屏障 (BBB) 修复及功能恢复中的作用。

**方法** 利用 Cre-loxp 重组酶系统制作生后条件特异性系统性 PDGFR- $\beta$  基因敲除小鼠 (Esr-KO)。利用光化学法制作大脑中动脉栓塞 (MCAO) 脑缺血小鼠模型。分析 MCAO 后脑水肿形成、行为功能、紧密连接蛋白 (TJs) 的表达以及 TJs 超微结构的改变。建立内皮细胞/周细胞体外缺氧 BBB 模型, 基因敲减周细胞中 PDGFR- $\beta$  的表达, 检测 TGF- $\beta$  激动剂或受体拮抗剂作用后 <sup>14</sup>C-蔗糖的渗透性; 检测 PDGF-BB 或 anti-TGF- $\beta$ 1 作用后周细胞 p-Smad2/3 的表达。脑室内注射 TGF- $\beta$ 1 后, 分析 MCAO 后脑水肿形成、行为功能和紧密连接蛋白 (TJs) 表达的改变。

**结果** 脑缺血后, Esr-KO 组的脑水肿明显增大 (图 1A)、神经功能恢复明显滞后 (图 1B、C)、TJs 蛋白表达减少 (图 2)、内皮细胞跨膜转运增加、TJs 超微结构异常 (图 3)、TGF- $\beta$  蛋白表达减少 (图 4)。外源性 TGF- $\beta$ 1 可部分缓解由 PDGFR- $\beta$  siRNA 诱导的共培养模型对于 <sup>14</sup>C-蔗糖增加的渗透性 (图 5A、D); SB431542 (TGF- $\beta$ R1 拮抗剂抑制) 可加重这一作用 (图 5A、D)。外源性 PDGF-BB 可明显增加周细胞中 TGF- $\beta$  信号通路下游分子 p-Smad2/3 的蛋白表达; 而外源性 TGF- $\beta$ 1 抗体可部分抑制 PDGF-BB 对于 Smad2/3 的磷酸化作用 (图 5E)。于缺血第 6 天, 研究发现 TGF- $\beta$ 1 可部分减轻 Esr-KO 组脑水肿形成 (图 5F)、促进神经功能恢复 (图 5G) 增加缺血边缘区紧密连接蛋白 (Claudin5、Occludin) 表达 (图 5H)。

**结论** PDGFR- $\beta$  信号系统可能通过 TGF- $\beta$  的介导参与脑缺血后 BBB 修复及功能恢复过程, 可为今后血管源性脑水肿的临床防治提供潜在的治疗靶点。

## PU-009

### 环状 RNA 在阿尔兹海默症中的差异表达及功能研究

补娟,牛晓珊,王珊珊,张晓玲,王慧琴  
新疆维吾尔自治区人民医院

非编码 RNA (ncRNA) 在 AD 的发病过程中发挥重要作用, circRNA 是一种特殊的 ncRNA, 具有 microRNA (miRNA) 海绵的功能, 并通过环状 RNA 与 miRNA 的相互作用调控多种信号通路。环状 RNA 作为内源性竞争 RNA, 研究其在阿尔兹海默病 (AD) 中的作用具有重要意义。在本研究中, 采用 circRNA 芯片对 3 例 AD 患者和 4 名健康对照的外周血白细胞中的 circRNA 进行筛查, 筛选差异表达的 circRNA; 采用 microRNA 支持向量回归 (mirSVR) 和基因本体论 (GO) 分析, 结合《京都基因百科全书》进行测量基因组 (KEGG) 通路分析, 研究差异性表达的 circRNA 的潜在靶基因及相关生物学功能。研究发现, 在 AD 患者中差异性表达的 circRNA 有 754 个, 其中上调 311 个, 下调 443 个 ( $p < 0.05$ , fold change  $\geq 2$ )。挑选 hsa\_circ\_0062028、hsa\_circ\_0045808、hsa\_circ\_0070162、hsa\_circ\_0001929、hsa\_circ\_0092223、hsa\_circ\_0092270 进行 qRT-PCR 验证, 发现与健康对照组相比, AD 患者病例组外周血白细胞 hsa\_circ\_0062028、hsa\_circ\_0045808、hsa\_circ\_0070162、hsa\_circ\_0001929 表达明显下调, hsa\_circ\_0092223、hsa\_circ\_0092270 表达明显上调, 与芯片检测结果一致。进一步对 hsa\_circ\_0045808、hsa\_circ\_0070162、hsa\_circ\_0092270 应用生物信息学分析预测构建 ccircRNA-miRNA-mRNA 网络图。研究表明多种 circRNA 在 AD 患者血液白细胞中呈异常表达, 部分差异表达的 circRNA 可能通过竞争性结合微小 RNA 调控 AD 的发生、发展。

## PU-010

### AZD8055 抑制胆管癌细胞 HuCCT1 的迁移及 EMT 进程的机制研究

王雪<sup>1,3</sup>, 林贞花<sup>1,2,3</sup>, 任香善<sup>1,2,3</sup>  
1. 延边大学肿瘤研究中心  
2. 医学院病理学教研室  
3. 吉林省科技厅重点实验室

**目的** 哺乳动物雷帕霉素靶蛋白 (mTOR) 双重抑制剂 AZD8055 在抑制人胆管癌细胞 HuCCT1 的迁移及 EMT 进程中的作用及分子机制。

**方法** 采用 MTT 法与平板克隆形成实验检测 AZD8055 对胆管癌细胞增殖的影响; 划痕愈合实验和 Transwel 小室迁移实验检测 AZD8055 对 HuCCT1 细胞横向和纵向迁移能力的影响; 蛋白印迹实验检测 EMT 标志相关蛋白、Akt/mTOR 信号通路蛋白及 DEK 蛋白的表达; 利用 STITCH、GeneMANIA 数据库, 分析 AZD8055、DEK、Akt 信号通路相互作用关系; 在 DEK 基因沉默后, 检测胆管癌细胞增殖活力、迁移能力及 Akt/mTOR 信号通路相关蛋白表达水平的变化。

**结果** T 实验和平板克隆形成实验结果显示, 不同浓度的 AZD8055 明显抑制胆管癌细胞 HuCCT1 的增殖能力 ( $P < 0.01$ ); 划痕愈合实验和 Transwel 小室迁移实验结果显示, 用药组细胞的横向与纵向迁移能力显著降低 ( $P < 0.01$ ); 蛋白印迹实验结果显示, 与对照组相比, AZD8055 处理组中 Akt 信号通路相关蛋白 Akt、S6、4EBP1 蛋白的磷酸化表达水平明显降低, EMT 标志物蛋白 E-Cadherin 的表达上调, Vimentin、Snail 的表达下调, DEK 蛋白的表达明显下降; 数据库分析结果

显示, AZD8055、DEK、Akt 信号通路三者存在相互作用关系; 沉默 DEK 基因可明显抑制胆管癌细胞增殖及迁移能力 ( $P<0.01$ ), 且下调 Akt、S6、4EBP1 蛋白的磷酸化水平。

**结论** ZD8055 抑制 HuCCT1 细胞的迁移及 EMT 进程, 其机制与下调 DEK, 抑制 Akt/mTOR 信号通路有关。

## PU-011

### 微音频教学资源在医学细胞生物与遗传学中的探索

刘佳  
包头医学院

**摘要** 学细胞生物与遗传学混合式教学课程的建设中, 对微音频教学资源的制作和使用进行了实践, 在网络教学平台中展示, 并对教学效果和学生反馈等进行问卷调查及统计分析。通过这些尝试为高等医学院校基础医学混合式教学模式的资源建设提供借鉴和经验。

## PU-012

### 医学细胞生物与遗传学整合课程教材的建设

王宗霞  
包头医学院

**摘要** 培养现代化高素质合格医学人才的需要, 将医学细胞生物学和医学遗传学两门课程深度融合成为一门课程, 即医学细胞生物与遗传学。目前, 基于医学本科的医学细胞生物与遗传学整合式课程的“纸质教材 + 新媒体资源”新形态教材的建设仍是空白, 因此, 编写规范合理的、适用性较强的医学细胞生物与遗传学教材, 对于提高整合课程的教学效果十分必要。

## PU-013

### 基于 ACO 肺部炎症特征研究建立 ACO 小鼠模型

李姝仪, 马培, 张梓倩, 袁继巧, 范燕楠, 杨慧, 白金叶, 林明宝, 侯琦  
中国医学科学院&北京协和医学院药物研究所

**目的** 近年来, 哮喘和慢性阻塞性肺疾病 (COPD) 并发症已倍受临床关注。GINA 和 GOLD 提出哮喘-慢性阻塞性肺疾病重叠 (asthma-COPD overlap, ACO) 概念、临床特征及初步治疗准则。然而, 该病的病程和机制仍未阐明, 其中 ACO 疾病动物模型的缺失, 严重影响其基础研究及治疗药物发现。因此, 本研究基于 ACO 患者肺部表现为中性粒细胞和嗜酸性粒细胞混合炎症的特征, 研究构建了一种反映 ACO 加重期的小鼠模型, 以期为 ACO 发病机制研究及其治疗药物开发提供方法。

**方法** Balb/C 小鼠 (18~20g) 随机分为 4 组, 包括空白对照组、哮喘组、COPD 组和 ACO 组。哮喘和 ACO 组于实验第 1、7、14 天腹腔注射 OVA+氢氧化铝凝胶致敏, 第 26、27、28 天, 连续三天气管滴注 OVA 溶液进行攻击; COPD 和 ACO 组小鼠给以烟熏合并脂多糖(LPS)气管滴注; 空白对照组腹腔注射及气管滴注生理盐水。末次攻击 24 小时后, 麻醉处死动物并取材。小鼠的体重、脾脏和胸腺进行称重, 计算脾脏、胸腺指数; HE 染色检测小鼠肺组织病理学变化; 血细胞分类计数仪检测肺泡灌洗液(BALF)中白细胞分类计数的变化; Elisa 法检测 BALF 中炎症因子水平的变化。



**结果** ACO 小鼠较空白对照组,哮喘和 COPD 组小鼠肺支气管和血管周围炎性浸润显著增多, BALF 中白细胞总数、淋巴细胞、单核细胞、中性粒细胞、嗜酸性粒细胞均显著增多,与哮喘和 COPD 组小鼠相比,ACO 组小鼠 BALF 中的 IL-4、IL-6、TNF- $\alpha$  生成水平显著升高。

**结论** 注射 OVA+氢氧化铝凝胶,烟熏合并气管滴注 OVA 和 LPS 可以引起小鼠肺部组织炎症损伤加重,表现出 ACO 加重期的肺部混合炎症特征,模型有效模拟 ACO 临床肺部炎症特征,可用于 ACO 发病机制及其药物治疗作用的研究。

## PU-014

### 纳布啡和布托菲诺对肝癌细胞的生物学行为的影响

任益锋,刘静,郑孝振  
河南大学第一附属医院

**目的** 讨论纳布啡和布托菲诺对肝癌细胞生物学行为影响。

**方法** 人肝癌 QGY-7703 细胞培养至对数生长期,分别接种于培养板或 25cm<sup>2</sup> 培养瓶中。采用随机数字表法,将两种细胞分别随机分为 2 组 (n=8): 纳布啡组 (N 组) 1000 $\mu$ mol/L; 布托菲诺组 (B 组): 1000 $\mu$ mol/L;均加入等容量的 RPM-1640 培养基。分别于孵育 24、48 和 72h 时,采用 cck-8 法测定各组细胞增殖抑制率。于孵育 48h 后,用流式细胞术检测各组细胞凋亡率及其周期情况;采用利用 Transwell 小室检测各组细胞的侵袭和迁移能力。

**结果** 与 B 组比, N 组细胞的增殖抑制率升高,且依照药物作用的浓度和时间的增加而升高,具有浓度和时间的依赖性,差异有统计学意义 ( $P<0.05$ )。与 B 组相比, N 组细胞迁移和侵袭能力降低,且依照药物作用的浓度的增加而降低,具有浓度依赖性,差异有统计学意义 ( $P<0.05$ )。与 B 组比较, N 组细胞的 G1 期细胞百分比均升高, S 期和 M 期细胞百分比均降低,且依照药物作用浓度的增加而变化,具有浓度依赖性,差异有统计学意义 ( $P<0.05$ )。

**结论** 纳布啡和布托菲诺均可以抑制人肝癌 QGY-7703 细胞的增殖,并可降低肝癌 QGY-7703 细胞的侵袭和迁移的能力,可能与其促进细胞的凋亡并使细胞周期发生阻滞有关。

## PU-015

### 医学院校开设研究生流式细胞术实验课的探索与实践

李婉明,刘芙蓉,程雅洁,张莹,于淼,方瑾  
中国医科大学

流式细胞术是一门具有广泛科研以及临床应用价值的技术。在研究生教学中开设针对性的流式细胞术实验课,对研究生加深该技术的理解和掌握并有效用于课题研究具有重要意义。为此本教研室在研究生细胞生物学实验课教学中开设了针对性的流式细胞术教学内容:第一,课程内容的的设计。我们设计了两个实验教学单元,流式细胞术检测 5-FU 对大肠癌细胞系 HCT116 的细胞周期抑制作用和流式细胞术检测 CD44 在大肠癌细胞系 HCT116 中的表达情况;这两个实验内容不仅在课程时间上适合学生实验,更重要的是将流式细胞术真正的融入具体的研究内容中。第二,课程人员的组成。为使学生更为精确和全面地掌握该技术,我们采取了与我校科学实验中心联合授课的方式,即由细胞生物学教研室的教师负责理论知识的讲解和实验样品的制备,由科学实验中心的教师负责上机检测和数据的分析;通过这样的授课方式,能够提高授课质量,达到更好的授课效果。第三,课程的实施。首先理论知识讲解,再是流式样本制备,然后上机操作及数据分析,最后进行小组讨论。第四,成绩评定。课程考核由理论考试(闭卷方式)和实验操作两部分组成。研究生通过亲自参与细胞的收集,荧光的标记,样本的上机操作以及数据的分析等,不仅提高了研究生的动手操作能力,还培养了研究生的科研分析能力,为研究生在未来的科研和医疗工作中利用该技术奠定了基础。

## PU-016

### 肝刺激因子通过线粒体途径保护肝缺血-再灌注损伤的机制研究

黄婧,谢萍,安威  
首都医科大学

**前言** 肝脏缺血-再灌注损伤 (IRI) 是肝脏手术常见的并发症。肝再生刺激因子 (Augmenter of liver regeneration, ALR, 基因名 *Gfer*) 可以保护肝脏减轻 IRI, 但机制尚未清楚。已知, 线粒体动态平衡在 IRI 中发挥重要作用。作为线粒体分裂的核心蛋白, 动力素相关蛋白 I (Dynamin-related protein, Drp1) 参与介导线粒体途径细胞凋亡, 其活性受到多种翻译后修饰调节。Drp1 发生磷酸化 (S616) 或类泛素化 (Small ubiquitin-like modifier, SUMO1) 修饰时, Drp1 更多地从胞浆招募到线粒体外膜, 发挥线粒体“切割”作用, 破坏线粒体膜稳定性, 导致细胞色素 c 外漏和细胞凋亡。我们曾证实 (Zhang & An, Hepatology, 2017), ALR 可以抑制 Drp1<sup>S616</sup> 磷酸化从而保护线粒体。

**目的** 本研究旨在揭示 IRI 过程中, Drp1 是否经历 SUMO 化修饰? SUMO 修饰的 Drp1 其线粒体转位以及对线粒体切割作用如何变化? 这些过程是否受 ALR 调控?

**材料与方法** 实验使用 *Gfer* 稳转和敲减的细胞系, 并制备 *Gfer* 基因敲除杂合子小鼠 (*Gfer*<sup>+/-</sup>), 观察 *Gfer* 改变对 Drp1 修饰及对线粒体形态功能影响。

**结果表明** 1) **Drp1 可发生 SUMO 化修饰**。缺氧-复氧 (H-R) 处理后, 敲减 *Gfer* 细胞中 SUMO1, E1 活化酶 (UBA2) 和 E2 结合酶 (Ubc9) 的表达量与对照组相比均显著升高, 而回补 *Gfer* 后这些指标则明显降低。SUMO 修饰均不影响 Drp1 的表达量。2) **SUMO 修饰影响 Drp1 线粒体转位**。在 H-R 处理后, 敲减 *Gfer* 可促进 Drp1 的 SUMO 修饰, 同时会导致细胞 Drp1 线粒体转位增多, 线粒体呈碎片化, 膜电位降低。此时使用 SUMO 抑制剂 (2D-08) 抑制 Drp1 的 SUMO 化修饰, 则线粒体膜电位有所恢复, 形态变为杆棒状。相反, 回补 *Gfer* 则可逆转上述过程。3) **Drp1 的磷酸化修饰与 SUMO 修饰相互拮抗**。通过构建 Drp1<sup>S616A</sup> 突变体, 抑制磷酸化; 构建 Drp1 的 SUMO 突变体 (K594R, K597R, K606R, K608R, 即 4 KR), 抑制 SUMO 化。结果显示, 抑制 Drp1 磷酸化后, 其 SUMO 化明显增强; 而抑制 SUMO 化后, 其磷酸化水平提高。提示, Drp1 磷酸化与 SUMO 化修饰, 相互拮抗, 共同影响线粒体转位, 继而破坏线粒体的稳态。动物实验结果表明: IRI 后, *Gfer*<sup>+/-</sup> 小鼠肝组织中 SUMO1、Ubc9 以及 E3 连接酶 Mul1 的表达量相对野生型小鼠明显增多, 与 H-R 离体实验结果相似。综上所述, ALR 不仅仅抑制 Drp1 磷酸化, 同时还抑制其 SUMO 化修饰。两种修饰相互补充, 进一步防止 Drp1 线粒体转位以及对线粒体切割, 从而保护肝细胞免于 IRI 的损害。本实验为 ALR 保护缺血-再灌注后引发急性肝损伤的机制提供参考依据。

## PU-017

### 细胞生物学教学公众号建设与实践

李玉红,石家仲,星懿展,高强度,郭海英,黄亚琴,王志,王韵,杨劲  
陆军军医大学

随着云计算、人工智能等的发展以及智能手机的普及, 信息化、智能化教学成为教学方法改革的新的热点。智能手机早已不只是一种简单通讯工具, 而是更多地被用作个人数字信息终端。教学中发现, 所有学生均在使用智能手机。如何利用高普及率的智能手机, 构建智慧课堂, 促进细胞生物学教学水平和质量成为了一个很有前景和应用价值的研究问题。本文充分利用微信公众号平台, 辅助细胞生物学课程教学, 通过优化推送内容、推送频率、推送时机等, 建立全方位覆盖课前、课中、课后的互动方案; 并应用于细胞生物学教学实践, 在实践中不断改进完善。通过问卷调查进行总结, 得出结论: 学生对“图片+文字”的内容接受度最强, “按需推送”的推送频率接受度最强, “课后推送”的推送时机接受度最强。使用教学公众号后, 85% 的学生感觉教学效果得到了提升, 其中

39.3%的学生感觉教学效果明显提升，整体效果较好。后续课程中，应该大力推广基于微信公众号的辅助教学方法。

## PU-018

### SFRP4 抑制毛囊再生

郭海英,李玉红  
陆军军医大学

SFRP (secreted frizzled-related protein) 是一类分泌型糖蛋白家族，以富含半胱氨酸的结构域为特征，该结构域和细胞表面卷曲受体的 Wnt 结合位点高度同源。SFRP4 是 SFRP 家族成员，表达于不同的组织及器官，参与调控细胞的凋亡、增殖和分化等。

近年，课题组报道了 sfrp4 通过抑制 Wnt 信号途径，从而黑素细胞分化。在本实验中，通过免疫染色，我们发现 SFRP4 在人和小鼠的毛囊中都有表达，特别是在外根鞘和内根鞘中。为了揭示 sfrp4 在毛囊生长和毛发周期中的作用，我们通过脱毛诱导小鼠背部皮肤的毛囊周期同步，并将 sfrp4 皮内注射到皮肤中。苏木精和伊红染色显示 SFRP4 抑制了毛囊的再生，但毛囊结构仍然保持完整。与 PBS 对照处理组相比，SFRP4 处理的毛囊具有相同的角蛋白表达模式。我们的研究发现，SFRP4 抑制但不阻止毛囊的再生，为治疗毛囊再生障碍提供了潜在的治疗应用。

## PU-019

### 内质网应激信号 XBP1s 介导蛋白酶体抑制诱导的成骨分化

张丹<sup>1</sup>,樊荣<sup>1</sup>,王妍梦<sup>1</sup>,吕楠<sup>1</sup>,雷蕾<sup>1</sup>,雷莉<sup>1</sup>,陈萍<sup>1</sup>,胡劲松<sup>1</sup>  
1.西安交通大学医学部  
2.西安交通大学医学部第二附属医院血液科

**目的** 多发性骨髓瘤 (Multiple myeloma, MM) 是一种来源于终末分化的 B 淋巴细胞的恶性血液系肿瘤。以溶骨性病变、成骨缺失为主要特点的骨髓瘤骨病 (Myeloma bone disease, MBD) 是 MM 重要的并发症与死亡原因。以硼替佐米 (Bortezomib, BTZ)、卡非佐米 (Carfilzomib, CFZ) 为代表的蛋白酶体抑制剂 (Proteasome inhibitor, PI) 目前系治疗 MM 的新型靶向药物。在临床治疗实践中，该类物质不仅具有优越的抗肿瘤效应，同时表现出一定程度的骨保护作用，但相关分子机制尚不清楚。

**方法** 本课题以小鼠骨髓间充质干细胞 (Mesenchymal stem cell, MSCs)、小鼠颅骨来源成骨前体细胞 (MC3T3-E1) 等为模型，重点调查蛋白酶体抑制剂诱导成骨分化的细胞与分子机制。

(1) 利用茜素红染色、碱性磷酸酶显色证实不同浓度蛋白酶体抑制剂 BTZ、CFZ 对于成骨分化的影响；(2) 基于 Real-time PCR、Western Blotting 检测 BTZ 处理 24 h 后，上述细胞成骨相关指标的表达、内质网应激信号通路的变化；(3) 使用特异性内质网应激信号通路抑制剂 MKC3946 (IRE1a 抑制剂)、GSK2606414 (PERK 抑制剂) 阻断相关信号通路来探究其对于成骨分化的影响；(4) 通过在细胞中过表达 XBP1s，观察其对于成骨分化的影响；(5) 基于 5 周龄 C57BL/KaLwRij 小鼠，利用 microCT 观察 BTZ 以及 BTZ 联合 MKC3946 对于小鼠股骨骨组织学相关参数的影响。

**结果** (1) 低浓度 BTZ, CFZ 能够促进成骨分化；(2) 蛋白酶体抑制剂诱导成骨分化的与内质网应激信号通路 IRE1a-XBP1s 以及 PERK-ATF4 信号通路的活化有关；(3) 内质网信号通路 XBP1s 对于 ATF4 存在正反馈调节作用；(4) 过表达 XBP1s 能够诱导 MSCs 发生成骨分化；

(5) microCT 在体内证明，BTZ 能够促进骨小梁以及骨的形成，但阻断 XBP1s 后可以逆转 BTZ 的促进骨形成作用。

**结论** 蛋白酶体抑制剂可通过内质网应激来介导成骨细胞分化, 从而促进新骨的形成, 内质网应激信号通路 XBP1s 的活化在此过程中扮演着重要角色。

## PU-020

### Correlative analyses of Shh signaling with resveratrol-induced differentiation and apoptosis of human medulloblastoma cells

吴茉莉,李宏,文殊,罗波,孔庆友,陈晓燕,刘佳  
大连医科大学

Medulloblastoma (MB) arises from neuronal progenitors with defects in cerebellum development-related signalings. Sonic hedgehog (Shh) signaling plays important roles in normal cerebellum development. Thus, altered Shh signaling seems linked with resveratrol-exhibited anti-medulloblastoma effects. However, the influence of resveratrol on Shh signaling of MB cells has not been described. In this study, Shh, Gli1, N-Myc and cyclinD1 were expressed in normally cultured UW228-2 and -3 cells (two human medulloblastoma cell lines), which were respectively down-regulated in both cell lines after resveratrol (100 $\mu$ M) treatment along with differentiation and apoptosis of MB cells. Treatments with Shh selective inhibitors revealed that GANT61 (a Gli antagonist), not cyclopamine (an inhibitor of SMO), could effectively suppress the proliferation of UW228-2, 3 cells in a time and dose-related fashion. Furthermore, downregulation of Gli1 expression by siRNA interference inhibited MB cell growth. These results demonstrated that 1) activation of Shh signaling was involved in medulloblastoma cell proliferation, 2) Shh pathway activation occurred in downstream of Smo in UW228-2 and -3 cell lines and 3) the inhibitory effect of resveratrol on Shh signaling was related with resveratrol-exhibited anti-medulloblastoma effect.

## PU-021

### 血脑屏障 GLUT1 在可卡因引起的脑能量代谢障碍中的作用

韦佳伟,刘辉,王丽,王康吉,悦晋丽,秦小雪,方文刚,刘东鑫,赵伟东,陈誉华  
中国医科大学发育细胞生物学教研室, 教育部医学细胞生物学重点实验室

可卡因滥用是一个严重的健康和社会问题。可卡因滥用者的功能性神经成像显示, 可卡因使用者额叶出现区域性脑血流不足和葡萄糖代谢水平低下。外周血中的葡萄糖通过脑血管内皮细胞的葡萄糖转运蛋白进入脑实质, 进而被星形胶质细胞以及神经元摄取、利用。有实验表明, 长期使用可卡因可以导致脑血管的损伤, 而脑血管的损伤能够影响脑内的能量代谢, 进而影响脑内神经元的功能, 但其中的作用机制尚不清楚。在本研究中, 我们发现长期的可卡因处理导致大鼠脑皮质葡萄糖含量降低、神经元/星形胶质细胞蛋白标志物及紧密连接 (TJ) 主要蛋白 ZO-1 的表达的下降; 在体外实验中, 可卡因导致人脑微血管内皮细胞 ZO-1 在细胞膜分布不连续及表达的下降。这些结果提示长期的可卡因处理能够导致血脑屏障 (BBB) 损伤及脑葡萄糖代谢障碍。此外, 我们的实验发现, 长期的可卡因注射导致的大鼠脑 BBB 破坏及葡萄糖能量代谢障碍过程中, 可卡因能够下调大鼠脑血管葡萄糖转运蛋白 1 (GLUT1) 的表达。体外实验也发现, 可卡因能够导致人脑微血管内皮细胞 GLUT1 表达的降低。以上结果提示, GLUT1 参与了可卡因导致的 BBB 损伤的过程。进一步的研究发现, GLUT1 表达的上调能够恢复可卡因导致的 BBB 损伤以及葡萄糖摄取障碍。我们在探究可卡因导致 GLUT1 表达下调机制中发现, 可卡因上调 SIRT1 表达, 并且 SIRT1 的干扰能够逆转可卡因导致的 GLUT1 表达下调、BBB 损伤以及葡萄糖摄取障碍。综上所述, 可卡因通过 SIRT1 下调 GLUT1 的表达, 进而导致 BBB 损伤以及葡萄糖摄取障碍。本研究为可卡因导致的 BBB 损伤

及脑能量代谢障碍的作用机制提供了新的思路。（本研究受国家自然科学基金#31701024 和辽宁省博士科研启动基金指导计划项目#20170520420 资助）

## PU-022

### ALR 通过调节线粒体稳态对 LEPC 生存及增殖的影响

董圆,安威  
首都医科大学

急性肝损伤后肝内干细胞（Liver stem cells, LSCs）迅速增殖活化，在一定程度上取代受损肝细胞。有报道显示，肝再生增强因子（Augmenter of liver regeneration, ALR）可通过调节小鼠胚胎干细胞（ESC）线粒体动态平衡，维持 ESC 干细胞特征。但 ALR 是否对肝成体干细胞具有调节作用以及这种调节对于肝保护影响何在，尚未知晓。本课题旨在研究调节 ALR 表达对于小鼠成体肝干细胞（Liver epithelial progenitor cell, LEPCs）线粒体动态平衡与功能的影响以及促进 LEPCs 增殖分化进程中的作用。结果发现，敲减 ALR，LEPCs 增殖能力明显减弱，同时其干细胞标志物表达下降；而过表达 ALR，LEPCs 在保持其干性特征的同时，增殖能力亦更强。采用 CCl<sub>4</sub> 染毒复制小鼠急性肝损伤模型，将 ALR 敲减（ALR-siRNA）和过表达（ALR-Tx）的 LEPCs（均来自雄性小鼠）分别经脾脏注射植入雌性动物肝脏。结果发现，在雌性小鼠肝脏中可检测 Y 染色体特异基因（Sry）表达，说明 LEPCs 在脾脏成功定植并迁移到肝脏增殖分化。与移植 ALR-siRNA-LEPCs 动物相比，荷载 ALR-Tx -LEPCs 移植小鼠 ALT 和 AST 显著下降（P=0.0002）。HE 染色显示，接受 ALR-Tx-LEPC 移植小鼠肝脏损伤区域明显缩小，F4/80 染色证明，炎性细胞浸润减轻。为进一步探讨 ALR-Tx 的保肝机制，我们对 LEPCs 线粒体分裂相关酶 Drp1（dynamamin-related protein-1）转位/活化进行研究。ALR-Tx 后，LEPC 细胞中 Drp1 表达增加，线粒体呈短棒状。线粒体呼吸链功能有待进一步检测。据此推论，过表达 ALR 的 LEPCs 对损伤肝脏有更好的修复作用，其机制可能与维护线粒体动态平衡，保持细胞能量代谢有关。本研究为肝干细胞移植治疗肝脏疾病提供了新的思路。

## PU-023

### 唑来膦酸(ZA)通过 RhoA/YAP 信号通路抑制 TSC2 突变引发的肺淋巴管平滑肌瘤(LAM)的肿瘤发生

程琪<sup>1</sup>,赵丹丹<sup>1</sup>,赵银娟<sup>3</sup>,邵卫<sup>2</sup>,邵晓艳<sup>1</sup>,袁献温<sup>1,4</sup>,叶娟<sup>1,5</sup>,高建浦<sup>2</sup>,金美玲<sup>6</sup>,李朝军<sup>1</sup>,薛斌<sup>2,1</sup>  
1.南京大学 2.南京医科大学附属逸夫医院 3.南京林业大学 4.南京大学医学院附属鼓楼医院  
5.南京中医药大学附属中西医结合医院 6.复旦大学附属中山医院  
7.中国药科大学天然药物国家重点实验室

肺淋巴管平滑肌瘤（lymphangiomyomatosis, LAM）是一种多发病于女性的结节性硬化症的典型代表，大多由 TSC2（tuberous sclerosis complex2）基因突变所致，主要发病原因是平滑肌样细胞在肺部过度增殖，挤压到肺部气管、血管从而导致其肺部囊性结构的改变。目前，雷帕霉素（rapamycin, RAPA）以及其类似物是临床上这类疾病治疗的常用药物，但停药后多见病情反复，因此针对 LAM 的新药开发显得尤为迫切。我们的研究发现二磷酸盐——唑来膦酸（zoledronic acid, ZA）在体外细胞培养和 LAM 小鼠动物模型中均能有效抑制 TSC2 突变细胞的增殖并可诱发其凋亡。此外，联合雷帕霉素治疗有效控制了小鼠肺淋巴管平滑肌瘤病情的进展，并且能够在停药后避免肺部肿瘤的复发。通过细胞水平机制探究我们发现，唑来膦酸在 TSC2 突变细胞中可通过降低蛋白质异戊二烯化修饰尤其是香叶基化香叶基化修饰作用抑制 GTPase RhoA 蛋白的膜定位，降低其蛋白活性，从而影响到 YAP 蛋白的表达和定位，一方面抑制 TSC2 突变细胞增殖；另一方

面，唑来膦酸能够诱导细胞自噬，导致 YAP 蛋白的出核降解，最终导致 TSC2 突变细胞凋亡。因此，我们的研究结果为临床治疗克服病人服用雷帕霉素停药后病情反复发作的问题提供了新的解决方案。

## PU-024

### 探讨 13q12.12 肺癌风险染色质区的生物学意义

邵立培<sup>1,2</sup>, 左祥林<sup>1,2</sup>, 杨音<sup>1,2</sup>, 张雨<sup>1,2</sup>, 杨楠<sup>1,2</sup>, 沈彬<sup>3</sup>, 李瑞蕾<sup>4</sup>, 靳光付<sup>5,6</sup>, 王建英<sup>3</sup>, 汪徐春<sup>1,2</sup>, 俞大伟<sup>1,2</sup>, 陈媛<sup>1,2</sup>, 孙鸾<sup>1,2</sup>, 李真<sup>4</sup>, 付乔粉<sup>4</sup>, 胡志斌<sup>5,6</sup>, 韩晓<sup>1</sup>, 宋鑫<sup>4</sup>, 沈洪兵<sup>5,6</sup>, 孙玉洁<sup>1,2</sup>

1. 南京医科大学江苏省人类功能基因组学重点实验室
2. 南京医科大学细胞生物学系
3. 南京医科大学生殖医学国家重点实验室
4. 昆明医科大学第三附属医院（云南省肿瘤医院）肿瘤生物治疗中心科
5. 南京医科大学卫生学院流行病学与生物统计学系
6. 南京医科大学肿瘤中心江苏省肿瘤生物标志物防治重点实验室肿瘤个性化医学协同创新中心

肺癌和大多数恶性肿瘤均属于复杂性疾病范畴，发病机制复杂，具有高度异质性。遗传因素在肺癌的发生和发展中发挥重要作用，阐述肺癌的遗传机制，是有效鉴定肺癌高危人群，指导个体化预防和治疗的必要前提，目前对于肺癌遗传机制的认识极其有限。Tag-SNP rs753955 (A>G)位于 13q12.12 基因非编码区，与中国人群肺癌风险高度相关。本研究以 SNP rs753955 (A>G)为遗传标记，较为系统地探讨了 13q12.12 风险染色质区的生物学意义及潜在机制。我们在 SNP rs753955 强连锁不平衡区域鉴定了一个肺组织细胞特异性的 p53 响应性增强子元件。该增强子元件包含三个高度连锁的胚系遗传变异 rs17336602 (G>C)，rs4770489 (A>G) 和 rs34354770 (A>C) 以及 6 个 p53 蛋白结合序列。该增强子可通过形成染色质环结构远程调控其上游约 180k 处的靶基因 TNFRSF19 的表达，进而有效抑制致癌物诱导的 DNA 损伤和细胞恶性转化，而其内部的三个胚系遗传变异可通过降低该增强子的 p53 响应性抑制其增强子调控活性及生物学功能，当细胞暴露于致癌物时增强子遗传变异的抑制效应更加显著。对 117 例中国人群肺癌组织标本以及 GTEx 数据的 eQTL 分析，证实突变增强子等位基因在体内对 TNFRSF19 靶基因的抑制效应；TNFRSF19 的差异表达及其与肿瘤 TNM 分期和患者生存的显著相关性，进一步支持 TNFRSF19 在肺组织中发挥抑癌功能。本研究为阐述胚系遗传变异在肺癌发生发展中的作用提供了新的证据和视角，并具有潜在的临床应用潜力。

## PU-025

### 生物信息学系统分析表明 PDLIM2 是一种新的食管鳞状细胞癌预后指标

熊蓉<sup>2</sup>, 岳秋菊<sup>1</sup>, 孙枭<sup>1</sup>, 张若兰<sup>1</sup>, 宋桂芹<sup>2</sup>, 刘康<sup>1</sup>

1. 南充市中心医院
2. 川北医学院

目前，食管鳞状细胞癌(Esophageal Carcinoma, ESCC)的高危人群筛选和预后尚无合适的生物标志物。本研究通过应用基因表达谱(Gene Expression Omnibus, GEO)和肿瘤基因组图谱(Cancer Genome Atlas, TCGA)分析 ESCC 的相关数据，旨在筛选出显著异常的基因，以探讨其在 ESCC 中的预后价值及其异常表达引起的遗传和表观遗传改变。使用 GDS3838 中的微阵列数据，鉴定了 222 个在 ESCC 中至少有 4 倍变化的基因，与癌旁正常组织相比。在这些基因中，只有 PDLIM2 与淋巴结侵袭和总生存率(OS)同时相关。调整性别和病理分期后，PDLIM2 高表达组 OS 值显著延长，并且其表达和 OS 有较好的独立相关性(HR: 0.64, 95%CI: 0.43-0.95, p=0.03)。其第

7/8/9/10 号外显子表达的 AUC 值最高(0.724)并且比 PDLIM2 总的表达具有更好的预后价值(HR: 0.43, 95%CI: 0.22-0.83,  $p=0.01$ )。PDLIM2 基因拷贝缺失在食管鳞状细胞癌中较为常见, 与基因表达降低相关。PDLIM2 基因启动子区的两个甲基化位点 (cg23696886 和 cg20449614) 的甲基化状态与基因表达呈中度负相关。总之, 我们推测 PDLIM2 的表达可能是 ESCC 患者的一个新的预后指标, 其外显子 7/8/9/10 的表达具有较好的预后价值。并且, PDLIM2 下调与基因水平、拷贝缺失和启动子高甲基化有关。

## PU-026

### Elimination of pro-leukemic effects by phenotypic conversion targeting heterogeneous leukemia-associated macrophages

Xiao Yang, Wenli Feng, Rong Wang, Feifei Yang, Lina Wang, Shayan Chen, Guoguang Zheng  
State Key Laboratory of Experimental Hematology

Macrophages exhibit phenotypic heterogeneity under both physiological and pathological conditions. Applications targeting M2-like tumor-associated macrophages (TAMs) improve outcome in solid tumors. Considerable differences are detected between leukemia-associated macrophages (LAMs) and TAMs. However, application to induce M1 characteristics in LAMs has not been established. Here we studied clinical relevance of macrophage phenotypes in human acute myeloid leukemia (AML), phenotypic evolution of bone marrow (BM) and spleen (SP) LAMs in mouse AML and T cell acute lymphoblastic leukemia (T-ALL) models, mechanism leading to different LAM phenotypes and tried to eliminate pro-leukemic effects by inducing M1 characteristics. The results show that more M2-like LAMs but not total LAMs are correlated with worse prognosis in AML patients. Heterogeneity of LAM activation in tissue-specific leukemic microenvironments is observed in both AML and ALL models, i.e. SP LAMs evolve with more M2 characteristics while BM LAMs with more M1 characteristics. Furthermore, IRF7 contributes to M1 characteristics through the activation of SAPK/JNK pathway. Moreover, targeting IRF7-SAPK/JNK pathway to induce M1 characteristics in LAMs contribute to prolonged survival in leukemia mice. Our study provides the potential target for macrophage based immuno-therapy strategy against leukemia.

## PU-027

### IRF7 在 AML 微环境中的作用研究

王昊, 刘晓礼, 张东玥, 王丽娜, 郑国光  
天津市和平区南京路 288 号天津血液病医院血液学研究所

**目的** 干扰素调节因子 7 (interferon regulator factors, IRF7) 在机体的免疫调节过程中起重要作用, 其异常表达对机体各免疫细胞有重要影响。本研究采用 IRF7 敲除鼠, 探究 AML 微环境中各免疫细胞数量变化及相关机制。

**方法** 将实验室已构建成功的过表达 MLL-AF9 的 AML 白血病细胞移植至 WT 以及 IRF7 敲除的小鼠中, 每组移植 5 只, 每只小鼠移植约  $1 \times 10^6$  个白血病细胞, 移植后约 10 天设为发病早期, 此时外周血白血病细胞比例在 1% 以内, 脾脏白血病细胞比例约 4%-6%, 骨髓白血病细胞比例约 6%-8%; 14 天设为发病中期, 此时外周血白血病细胞比例约为 1%-3%, 脾脏白血病细胞比例约为 6%-20%, 骨髓白血病细胞比例约为 8%-28%。本实验室前期研究表明, 白血病中期时, 实验表型差异相对显著, 故本实验于 AML 中期进行, 检测小鼠体内巨噬细胞, 粒细胞, T 细胞, B 细胞, DC

细胞, NK 细胞百分比, 进而阐述 IRF7 敲除后对于机体各免疫细胞的数量变化。

**结果** 在生理状态下, WT 以及 IRF7 敲除小鼠脾脏及骨髓中, NK 细胞, 粒细胞, DC 细胞, T 细胞、巨噬细胞数量均无明显差异, B 细胞数量在脾脏中无明显差异, 而在 IRF7 敲除组小鼠骨髓中, B 细胞数量较 WT 组明显增加。

在白血病微环境下, 脾脏以及骨髓中粒细胞, B 细胞以及 T 细胞数量均无明显变化, NK 细胞以及 DC 细胞数量明显下降, 巨噬细胞数量明显增加。

**结论与讨论** 在生理状态下, IRF7 敲除对于脾脏以及骨髓中各免疫细胞数量影响较小; 在白血病状态下, 其对于机体的部分免疫细胞存在一定程度的影响。本研究旨在揭示在 AML 微环境下, IRF7 敲除后对各免疫细胞数量变化的影响, 可为后续寻找 AML 治疗靶点提供线索以及依据。

## PU-028

### 共刺激分子 B7-H3 在人膀胱癌细胞中的作用及机制研究

李玉超, 蔡治平, 杨劲, 高强国  
陆军军医大学

膀胱癌是十大易发肿瘤之一, 近年来国内外发病率和死亡率呈递增趋势, 侵袭转移是导致晚期膀胱癌患者病死率升高的主要原因, 但手术、放化疗等治疗手段却无大的进展。肿瘤免疫治疗是一种新的治疗手段, 临床上已运用 B7 家族中 PD-L1、CTLA-4 等分子单抗治疗恶性肿瘤, 且取得了很好的效果, 但这类药物在膀胱癌中的疗效欠佳。B7-H3 是新发现的 B7 家族分子, 在膀胱癌中的作用机制未明。本文拟探讨共刺激分子 B7-H3 在人膀胱癌中的表达、功能及作用机制, 为临床膀胱癌患者的精准治疗提供新的思路。课题采用免疫组化和 QRT-PCR 检测人膀胱癌组织中 B7-H3 的表达水平; QRT-PCR、Western blot 和免疫荧光检测并筛选高表达和低表达 B7-H3 的人膀胱癌细胞系, 通过干扰表达和过表达 B7-H3 检测对膀胱癌细胞功能的影响; 最后探究 B7-H3 对人膀胱癌细胞可能的作用机制。结果表明 (1) B7-H3 在人膀胱癌组织中的表达量明显高于邻近的正常组织; (2) B7-H3 对膀胱癌细胞的增殖、凋亡能力无影响, 而与侵袭、迁移能力呈正相关; (3) B7-H3 是通过 PI3K/Akt/ STAT3 信号通路促进肿瘤细胞的侵袭、迁移能力。结论: 共刺激分子 B7-H3 与膀胱癌的分期密切相关; B7-H3 是通过 PI3K/Akt/STAT3 信号通路促进 MMP2/9 的表达来影响膀胱癌细胞的侵袭和迁移。

## PU-029

### 特定环状 RNA 表达与衰老的关系研究

裴卓, 马小艮, 吴潘, 李玉红  
陆军军医大学

**目的与意义** 环状 RNA 作为一种共价闭环结构的新型长链非编码型 RNA, 是目前研究的热点, 它可作为竞争性内源性 RNA 与 miRNA 发生海绵吸附作用, 在转录后水平上对基因表达进行调控, 调节转录与剪切、结合相关蛋白等重要生物学作用。本文通过研究不同年龄阶段小鼠不同组织器官中某些环状 RNA 的表达量在年老与年幼中的差异, 揭示环状 RNA 与衰老的联系。

**方法** 对不同年龄阶段小鼠不同组织器官的总 RNA 进行提取, 分别逆转录, 并进一步扩增环状 RNA: circUSP34、circTCF4、circTCF20、circZFP64、circPWWP2A、circLIN54, 利用琼脂糖凝胶电泳比较其在年轻小鼠与年老小鼠的组织器官中的差异性表达情况, 明确上述环状 RNA 与衰老之间的联系。

**结果** 环状 RNA 在不同年龄小鼠的组织器官中存在广泛性的差异性表达, 不同组织不同环状 RNA 有着不同的表达量的改变, 其与衰老存在联系。在卵巢中除 circTCF4, 其余五种环状 RNA 表达量



均与年龄呈负相关；在肾脏中，除 circTCF4 与 circPWWP2A，其余均与年龄呈负相关；在乳腺中，只有 circUSP3 与衰老呈负相关；而在肠道中与衰老相关的只有上述后三种环状 RNA，并且均呈正相关。其他样本与组织在不同的发育阶段有不同的相关性，具体在论文结果中体现。

**结论** 某些环状 RNA 的表达量在不同的组织中与年龄差异有着显著相关性，提示环状 RNA 可能广泛地参与了不同的衰老通路，起到不同的生物学作用，其在衰老的产生中扮演者重要角色。

## PU-030

### 肝刺激因子通过促进 PINK1-Parkin 信号通路促进线粒体自噬保护线粒体功能的作用及机制研究

陈思利,肖卫纯,张静,安威  
Capital Medical University

线粒体自噬清除细胞内功能障碍或多余的线粒体，对维持线粒体功能和细胞稳态都起着重要作用。磷酸酶和张力蛋白同系物（phosphatase and tensin homologue, PTEN）诱导的潜在激酶 1（PTEN-induced putative kinase 1, PINK1）和 E3 泛素连接酶 Parkin 参与的 PINK1/Parkin 信号通路是调控线粒体自噬的一条重要通路。肝刺激因子（hepatic stimulator substance, HSS）是一种能够特异性地刺激肝细胞增殖的活性蛋白，其基因名称为生长因子 ERV1 样基因（growth factor ERV1-like gene, *Gfer*）。HSS 对线粒体有保护作用，但这种保护作用是否与线粒体自噬有关目前尚无报道。本研究对 HSS 与线粒体自噬之间的关系及其可能机制进行探究。通过线粒体自噬诱导剂羰基氰化物间氯苯腙（carbonyl cyanide m-chlorophenyl hydrazone, CCCP）处理稳定转染 HSS 表达载体的 BEL-7402 人肝癌细胞（HSS-Tx）及其对照空载体细胞（HSS-Ctrl），敲减 *Gfer* 基因的杂合子 C57BL/6 小鼠（*Gfer*<sup>+/-</sup>小鼠）和正常表达 *Gfer* 基因的野生型 C57BL/6 小鼠（*Gfer*<sup>+/+</sup>小鼠）来源的肝原代细胞，建立线粒体自噬模型，检测细胞及线粒体功能；明确细胞的自噬水平及线粒体自噬水平；并且对线粒体自噬信号通路关键蛋白 PINK1 及 Parkin 的表达及从胞浆至线粒体的转位进行检测。结果显示，在 CCCP 处理后，HSS-Tx 细胞比 HSS-Ctrl 细胞具有更高存活率和 ATP 含量，并且 HSS 高表达细胞（HSS-Tx 细胞、*Gfer*<sup>+/+</sup>小鼠肝原代细胞）组内自噬水平和线粒体自噬水平比 HSS 低表达细胞（HSS-Ctrl 细胞、*Gfer*<sup>+/-</sup>小鼠肝原代细胞）增加，差异具有显著性；并且 PINK1、Parkin 蛋白从胞浆至线粒体的转位更显著。这些结果表明，在 CCCP 刺激时，HSS 通过促进线粒体自噬，保护细胞、维持线粒体功能；对于线粒体自噬的促进作用可能是通过促进 PINK1-Parkin 信号通路实现的。接下来我们将进一步探讨 HSS 调节 PINK1 -Parkin 信号通路的具体机制，主要包括 HSS 调节 PINK1 磷酸化的机制、具体的磷酸化位点 以及参与的磷酸化酶激酶调节。

## PU-031

### 常见毛囊细胞角蛋白在毛囊周期中的表达研究

裴卓,马小良,吴潘,李玉红  
陆军军医大学

**目的与意义** 毛囊是具有周期性生长特性的一个特殊器官，在出生后，毛囊不断经历生长期、退化期和静止期的循环。本文选取了在毛囊的周期进展中扮演着重要角色的角蛋白作为研究对象，通过研究常见毛囊细胞角蛋白在毛囊周期中的表达特征，为后续的毛囊相关研究提供参考，为毛囊相关疾病的解决打好基础。

**方法** 分别取毛囊发育期、生长期启动、生长期、退化期和静止期的小鼠皮肤, 对其进行固定后做石蜡切片, 后通过免疫荧光的方法, 利用荧光显微镜检测不同生长时期毛囊样品细胞角蛋白 Krt5、Krt6、Krt10、Krt14、Krt15 和 Krt19 的表达情况。

**结果** Krt5 在静止期和生长期启动表达于所有毛囊上皮细胞, 在其他时期表达不一致; Krt6 表达于所有时期的外根鞘细胞和内根鞘细胞; Krt10 表达于生长期和退化期的毛母质和内根鞘细胞, 在其他时期表达不一致; Krt14 在生长期和退化期表达于所有毛囊上皮细胞, 在其他时期表达不一致; Krt15 和 Krt19 表达于毛囊发育期、生长期启动和静止期的毛囊隆突区细胞, 在生长期和退化期表达不一致。

**结论** 毛囊器官细胞几种常见角蛋白在不同时期存在差异性表达的情况, 角蛋白作为毛囊结构或毛囊干细胞标记物仅适用于特定的毛囊周期。研究者在使用毛囊角蛋白作为标记物时, 应首先明确其在毛囊周期中的表达情况, 提高实验研究的准确性与可靠性。

## PU-032

### 马铃薯提取物对吸烟所致慢性阻塞性肺疾病大鼠模型的抗炎机制研究

徐桂华<sup>1</sup>, 申杰<sup>1</sup>, 杨利敏<sup>2</sup>, 孙德俊<sup>1</sup>  
1. 内蒙古自治区人民医院 2. 内蒙古医科大学

**目的** 探讨马铃薯提取物 (PE) 对吸烟所致慢性阻塞性肺病 (COPD) 的抗炎机制及治疗作用。

**方法** 利用冷冻离心法制备 PE, 测定其氨基酸组成。通过分析小鼠形态学、行为学、血液常规指标和生化指标的变化, 分析 PE 毒性。通过吸烟暴露建立 COPD 大鼠模型, 并用 PE、多索茶碱和醋酸泼尼松龙治疗。治疗 45 天后, 记录大鼠的形态和行为学改变。利用胸部 X 光和苏木精-伊红染色对肺组织进行组织病理学评价。利用酶联免疫吸附法 (ELISA) 和免疫组织化学法分别检测血清和肺组织中白细胞介素 10 (IL-10)、肿瘤坏死因子- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) 和粒细胞集落刺激因子 (G-CSF) 的表达水平。

**结果** PE 中富含多种氨基酸, 对于小鼠均无毒性反应。成功建立了吸烟诱导的 COPD 大鼠模型, 90% 大鼠肺纹理明显增厚, 紊乱。服用多索茶碱和醋酸泼尼松龙后, 炎症症状得到改善。然而, 大鼠不同程度地出现了如消瘦、虚弱、牙齿松动等药物副反应。PE 组中, 肺组织病理学明显改善。同时发现, PE 能明显增加 COPD 大鼠血清和组织中 IL-10 的表达, 降低 TNF- $\alpha$  和 G-CSF 的表达, 而多索茶碱和醋酸泼尼松龙的作用与 PE 相似。

**结论** 本研究提示马铃薯提取物对吸烟所致的慢性阻塞性肺病有明显的抗炎症作用, 可能成为此种慢病有效的新型治疗药物。

## PU-033

### 基于 Cell-SELEX 技术的核酸适配体在低分化胃癌组织靶向成像中的研究

李婉明, 王萌, 周琳琳, 程雅洁, 方瑾  
中国医科大学

胃癌 (gastric cancer, GC) 在全世界范围内都是高发和高死亡率的疾病。GC 患者的肿瘤分化程度与患者的化疗和靶向治疗效果有关, 低分化的 GC 患者的预后往往不好。因此, 准确评估肿瘤的分化状态对于低分化 GC 的治疗是非常有必要的。为了开发用于分析低分化 GC 的分子探针, 我们通过使用低分化 GC 细胞系 BGC-823 作为靶细胞, 中分化 GC 细胞系 SGC-7901 作为对照细

胞,以期通过消减 Cell-SELEX 技术筛选获得靶向低分化 GC 细胞的核酸适配体。经过 15 轮的筛选,核酸适配体 PDGC21 表现出很高的亲和力和特异性,对 PDGC21 进行结构改造后发现截短后的核酸适配体 PDGC21-T 的亲和力更高,  $K_d$  值可达  $35.2 \pm 1.1 \text{ nM}$ 。核酸适配体 PDGC21-T 不仅特异性结合靶细胞,还结合其他低分化的 GC 细胞,表现出很好的低分化 GC 的结合特异性。当与荧光纳米材料量子点(QD)偶联时,PDGC21-T-QD 探针不仅可以特异性的区分混合培养细胞中的低分化 GC 细胞,还能特异性的靶向临床组织标本中的低分化 GC 细胞/组织。此外,在含有 15 例患者的癌/癌旁配对组织芯片中,与癌旁的正常组织相比,GC 组织的荧光阳性率更高;尤其在低分化组织中,荧光信号明显高于高/中分化组织中的荧光信号,表明核酸适配体 PDGC-T 对低分化 GC 组织的高特异性和高亲和力。因此,核酸适配体 PDGC-T 具有很大的潜力,可用于检测低分化 GC 细胞/组织的分子成像探针,对于低分化 GC 的诊断和治疗具有重要的意义。

## PU-034

### 转移性乳腺癌特异性核酸适配体的筛选及其在循环肿瘤细胞靶向捕获中的应用研究

李婉明,周琳琳,方瑾  
中国医科大学

在肿瘤转移的过程中,脱离原发肿瘤、侵袭并进入循环系统的肿瘤细胞被称为循环肿瘤细胞(circulating tumor cells, CTCs)。研究表明,CTC 具有预测转移的潜力,目前对于 CTC 的检测主要是基于其表面标志物的捕获。但目前基于 CTC 上皮特性的富集方法难以富集到失去上皮特性如发生上皮间质转化(EMT)的细胞群体,有可能遗失最具有诊断意义的信息。因此,发现新的特异性更高的肿瘤转移相关标志物以提高 CTC 的检测有效性,对于转移性肿瘤的早期诊断和早期治疗具有重要的科学意义和临床价值。基于 CTC 是具有转移潜能的细胞群体以及核酸适配体对靶标具有高亲和力和高特异性的特征,我们以高转移性乳腺癌细胞 MDA-MB-231 为靶细胞,低转移性 MCF-7 为对照细胞,以期通过消减 Cell-SELEX 技术获得靶向转移性乳腺癌的核酸适配体并用于 CTC 的靶向捕获。亲和力和选择性测定显示核酸适配体 M3 具有最高的亲和力,  $K_d$  值可达  $45.6 \pm 1.2 \text{ nM}$ ,与其他肿瘤类型的转移性肿瘤细胞也具有良好特异性。基于这些发现,我们开发了一种基于 M3 的 CTC 富集捕获系统,该系统能够不仅特异性捕获非靶细胞 MCF-7 中的靶细胞 MDA-MB-231,而且能够特异性的捕获乳腺癌患者外周血中的 CTC。与目前广泛使用的抗-EpCAM 探针相比,M3 探针能够捕获到上皮特征表达弱或缺失的 CTC。以上,我们开发了一种基于未知靶标的核酸适配体的 CTC 捕获系统,这为 CTC 的靶向捕获和 Cell-SELEX 技术的应用提供了新的见解。

## PU-035

### Deneddylation 修饰酶 NEDP1 的作用机制及研究进展

陈玉娇,杜梦鸽,谢萍  
首都医科大学

神经前体表达发育下调蛋白 8(neural precursor cell-expressed developmentally downregulated 8, Nedd8)是一种泛素蛋白,其参与蛋白质修饰的作用机制与泛素高度相似,即通过与底物的赖氨酸残基共价结合,从而对底物进行 Neddylation 修饰。Neddylation 修饰可调控多种重要的生命活动,如细胞周期和免疫应答等。Nedd8 蛋白酶 1(Nedd8 protease 1, NEDP1)是隶属于小类泛素修饰物特异性蛋白酶家族(small ubiquitin-like modifier specific protease family, Ulp/Senp family)家

族的半胱氨酸蛋白酶，可以特异性去除底物与 Nedd8 的共价结合，例如，NEDP1 能够去除 p53、鼠双微体蛋白(murine double minutes 2 protein, Mdm2)、smad 泛素化调节因子 1(smud ubiquitylation regulatory factor 1, Smurf1)等多个蛋白质的 Neddylaton 修饰，进而调节 Neddylaton 修饰蛋白的生物学功能。临床研究表明 NEDP1 与肿瘤的发生发展密切相关，包括肺癌、结肠癌、胶质母细胞瘤等，另外，NEDP1 还参与成骨发育异常、神经退行性疾病、血管炎症等病变过程。本文对 NEDP1 蛋白的结构，调控 Neddylaton 通路的作用模式和 NEDP1 作用底物的进展进行总结，以期对肿瘤等相关疾病的诊断和治疗提供参考。

## PU-036

### Bmp6 和 Wnt10b 在毛囊周期中的平衡调节

吴潘,马小良,李玉红  
陆军军医大学基础医学院

**背景** 毛囊是具有周期性生长特性的一个特殊器官，在出生后，毛囊不断经历生长期、退化期和静止期的循环。毛囊的周期生长受激活因子和抑制因子的平衡调节。Wnt 信号在毛囊周期中扮演重要角色，并且我们发现 Wnt10b 对毛囊有促进效果。同样，BMP 信号通路在毛囊再生过程中也起着重要作用，但控制这一过程的确切的 BMP 蛋白尚未被揭示。在调节毛囊干细胞的稳态和循环活化过程中，细胞内 Wnt 和 BMP 信号的竞争平衡发挥着重要作用。本文选取了这一研究点，通过研究 Bmp6 在毛囊周期中的作用，来揭示这两种信号通路之间的平衡关系。

**方法** 采用原位杂交和免疫荧光法检测 BMP6 的表达。利用先前建立的腺病毒注射模型研究了 BMP6 过表达的体内效应。采用肉眼观察、H&E 染色和 BrdU 示踪法对毛囊再生进行评价。采用原位杂交和免疫荧光法测定了 adbmp6 处理和 adwnt10b 处理皮肤中 BMP6 和 Wnt10b 信号的表达模式。

**结果** BMP6 在毛囊周期各阶段表达不同。腺病毒介导的 BMP6 过表达抑制了毛囊周期的转化。在体内模型中，BMP6 信号被 Wnt10b 抑制，Wnt10b 信号被 BMP6 抑制。Wnt10b 和 BMP6 对毛囊干细胞(HFSCs)的活化也具有竞争性调控作用。

**结论** 综合以往 Wnt10b 的报道数据，我们的研究表明，BMP6 和 Wnt10b 分别是主要的抑制剂和激活剂，此外，我们还发现 Wnt10b 抑制 BMP 信号通路，BMP6 抑制 Wnt 信号通路，它们的平衡调节着毛囊周期的转化。据我们所知，我们的数据提供了以前未报道的关于毛囊循环调节的见解，并为脱发的诊断和治疗提供了新的线索。

## PU-037

### USF2 抑制 Smurf1 和 Smurf2 的转录活性以促进乳腺癌发生

杜梦鸽,陈玉娇,谢萍  
首都医科大学

Smad 蛋白泛素化调节因子 (Smurfs) 是 HECT 型泛素连接酶，通过泛素 - 蛋白酶体途径调节 TGF- $\beta$  (转化生长因子- $\beta$ ) 受体和各种 Smad 蛋白，其中 Smurf1 (Smad 蛋白泛素化调节因子 1) 和 Smurf2 (Smad 蛋白泛素化调节因子 2) 是 TGF- $\beta$  通路的负调节因子。已有研究证明 Smurf1 和 Smurf2 在肿瘤发生、器官发育和神经变性等病理生理过程中发挥关键作用，另外在翻译后水平也已经充分研究了 Smurfs 对蛋白质稳定性和泛素连接酶 E3 活性的影响。然而，到目前为止，关于 Smurfs 在转录水平上的调节机制知之甚少。此外，与 Smurfs 启动子区域结合的关键转录因子仍然未知。本次，我们发现 USF2 (上游刺激因子 2) 对于 Smurf1 和 Smurf2 的转录活性是必需的。USF2 具有 bHLH 基序，通常识别 E-box 元件，作为转录因子，有报道证实 USF2 具有许多靶基

因,可靶向细胞增殖,葡萄糖和脂质代谢等相关基因表达。在本次研究中我们发现 USF2 可以在体外和体内结合 Smurfs 启动子,导致 Smurfs mRNA 水平降低,过表达 USF2 将抑制 Smurfs 的转录活性,并且使 Smurfs mRNA 水平显著降低,由此显著增强 TGF- $\beta$  通路活性。此外,我们的数据显示 USF2 在乳腺癌中高表达并且与癌症进展相关,尤其是在 Luminal A 亚型乳腺癌患者中 USF2 与 Smurfs 表达呈负相关。这些发现揭示了 Smurfs 转录活性的调节机制,使我们对 USF2 的促癌作用有了新的认识。

## PU-038

### IL-6 通过上调 CD29 及其唾液酸化修饰影响多发性骨髓瘤细胞生物学行为的分子机制研究

王妍梦,吕楠,雷蕾,雷莉,王爱英,胡劲松  
西安交通大学

**目的** 多发性骨髓瘤 (Multiple Myeloma, MM) 是一种浆细胞异常增殖的血液系统恶性肿瘤。作为一种普遍存在的翻译后修饰,糖基化可以影响蛋白质的折叠、运输、定位,并参与细胞间的信号传导、物质运输、炎症发生、细胞黏附等诸多重要的生理过程。IL-6,作为支持 MM 细胞生长及促进其增殖最为关键的细胞因子,在 MM 恶性进程中发挥着重要作用。然而,IL-6 加速 MM 病理进程背后潜在的分子机制现在仍不清楚。因此,本研究以 CD29 为研究对象,探究 IL-6 如何通过调控 CD29 的表达及其唾液酸化修饰影响 MM 细胞的增殖以及粘附等功能。

**方法** (1) 在多株多发性骨髓瘤细胞系中,应用流式细胞术检测细胞膜表面 CD29 的表达;(2) 利用 Real-time PCR 和 Western blotting 检测 MM 细胞中 CD29 在 mRNA 和蛋白水平的表达,Western blotting 同时还用于检测 IL-6 联合小分子抑制剂 Cryptotanshinone 处理后 STAT3 信号通路的活化,筛选受 IL-6/STAT3 信号通路调控的关键性唾液酰基转移酶;(3) 应用糖苷酶和唾液酸酶消化 MM 细胞提取蛋白,验证 MM 细胞中 CD29 上所存在的糖基化修饰形式;(4) 凝集素结合实验检测 MM 细胞表面唾液酸化的类型及其表达水平;(5) 唾液酸酶消化处理后,应用 EdU 掺入实验和细胞粘附实验调查高表达唾液酸对 MM 细胞增殖和粘附功能的影响;(6) 基于 siRNA 介导的基因敲低干预 CD29 及相关唾液酰基转移酶,检测其对 MM 细胞粘附功能影响;(7) 基于 GEO 数据库中 GSE2658 表达谱 (n=559) 调查分析上述相关基因高表达和 MM 患者预后的关系。

**结果** (1) MM 细胞表面普遍表达高水平的 CD29 且存在 N 连接的糖基化修饰;(2) IL-6 能够通过活化 STAT3 信号通路显著升高 CD29 在 mRNA 和蛋白水平的表达;(3) IL-6 诱导 MM 细胞表面  $\alpha$ -2,3 和  $\alpha$ -2,6 型唾液酸水平上调依赖于 STAT3 信号通路的活化;(4) 在 MM 中,细胞表面唾液酸水平的上调与异常的唾液酰基转移酶 ST3GAL6 的表达有关,ST3GAL6 基因表达被敲低后,细胞表面的  $\alpha$ -2,3 型唾液酸水平被显著降低;(5) 细胞表面高度唾液酸化可以显著增强 MM 细胞与细胞外基质、骨髓基质细胞 HS-5 和血管内皮细胞 HUVEC 的粘附,但并不影响 MM 细胞增殖。

(6) 电转敲低 MM 细胞中 CD29 及 ST3GAL6 基因,MM 细胞与细胞外基质和血管内皮细胞 HUVEC 的粘附被显著降低。(7) 基于 GEO 数据库的生物信息学分析结果表明,高表达 IL-6、CD29 和 ST3GAL6 和患者不良预后相关。

**结论** IL-6 可以通过 STAT3 信号通路显著上调 MM 细胞中 CD29 的表达及其唾液酸化修饰水平,从而增强 MM 细胞粘附能力,加速 MM 细胞恶性进程。

**PU-039****环状 RNA circ-SMAD5 通过 wnt 信号通路调控  
表皮细胞周期的研究**马小艮<sup>1,2</sup>, 裴卓<sup>1</sup>, 吴攀<sup>1</sup>, 苗嘉峰<sup>1</sup>, 星懿展<sup>1</sup>, 李玉红<sup>1</sup>

1. 第三军医大学

2. 第三军医大学第二附属医院整形外科

皮肤创面的真正愈合必须完成再上皮化, 表皮细胞在创面再上皮化过程中发挥重要作用。环状 RNA 能够调控多种生命活动, 与多种疾病相关, 然而 circRNA 参与皮肤创面愈合的研究非常少, 且 circRNA 能否对表皮细胞进行调控从而参与创面愈合尚无报导。因此本研究旨在挖掘参与创面愈合的环状 RNA 分子, 以及初步探索 circRNA 调控创面愈合的可能分子机制。本研究发现了一个新的环状 RNA 分子—CircSmad5, 该分子由 Smad5 的第 2、3、4 外显子顺序连接环化而成。CircSmad5 在表皮细胞中的表达显著高于其线性 mRNA ( $p < 0.05$ )。干扰 CircSmad5 导致表皮细胞 (JB6) 周期改变, 其 S 期细胞百分数升高, cyclinD1 蛋白表达显著增多 ( $p < 0.05$ )。与对照组相比, 干扰组中 wnt 信号关键分子  $\beta$ -catenin, p-GSK-3 $\beta$ , LEF-1 蛋白水平显著升高, 而 p- $\beta$ -catenin 蛋白水平显著降低 ( $p < 0.05$ )。双荧光素酶结果证实干扰 CircSmad5 促使 wnt 信号被激活。加入 Wnt 信号抑制剂 (PNU-74654) 后发现干扰组中的  $\beta$ -catenin, p-GSK-3 $\beta$ , cyclinD1 蛋白表达水平显著升高, p- $\beta$ -catenin 蛋白表达水平显著降低, Wnt 信号活性显著下降 ( $p < 0.05$ )。因此 Wnt 信号抑制剂 (PNU-74654) 可以逆转由干扰 circ-Smad5 导致的 wnt 信号被激活的现象, circ-Smad5 调控表皮细胞周期依赖于 wnt 信号。综上所述, 本研究证明 circ-Smad5 可通过 wnt 信号途径调控表皮细胞的细胞周期。本研究为创面愈合的诊断和治疗提供了新的分子, 为深入阐明创面愈合的机制提供理论依据及新的方向。

**PU-040****富血小板血浆联合空心螺钉内固定术治疗股骨颈  
骨折疗效的 meta 分析**

陈翔, 卫小春

山西医科大学第二医院

**背景** 空心螺钉内固定术治疗股骨颈骨折是目前手术治疗的方式之一, 但患者术后容易发生骨折不愈合及股骨头坏死。PRP 能够激活生长因子释放, 促进肌肉、软组织和骨骼疾病的愈合, 目前已经应用于多个学科。部分骨科医师对 PRP 辅助空心螺钉内固定治疗股骨颈骨折的疗效尚存在争议和怀疑。

**目的** 通过 meta 分析系统对富血小板血浆联合空心钉内固定术和单纯空心钉内固定术治疗股骨颈骨折的疗效差异进行评估。

**方法** 利用 Cochrane 图书馆、PubMed、万方医学网、中国知网、中国期刊全文数据库搜索并收集采用富血小板血浆联合空心螺钉内固定术和空心螺钉内固定术治疗股骨颈骨折的临床对照试验的中英文文献。分别由两名评价者对纳入的研究进行独立的质量评价、数据提取并进行互相核对, 运用 RevMan 5.3 软件对收集的相关数据进行 meta 分析。

**结果与结论** 经过筛选共选择了 7 篇临床随机对照试验来进行 meta 分析。提取数据分析结果显示, 两种治疗方式在髋关节的 1 个月 Harris 评分 [ $MD = 4.95, 95\%CI (4.12, 5.77), P < 0.00001$ ]、3 个月 Harris 评分 [ $MD = 19.78, 95\%CI (18.45, 23.20), P < 0.00001$ ]、6 个月 Harris 评分 [ $MD = 17.16, 95\%CI (10.39, 23.92), P < 0.00001$ ]、9 个月 Harris 评分 [ $MD = 12.66, 95\%CI (10.60, 14.71), P < 0.00001$ ]、12 个月 Harris 评分 [ $MD = 10.17, 95\%CI$

(5.98, 14.36),  $P < 0.00001$ ]、骨折愈合时间 [MD = -1.86, 95%CI (-2.97, -0.75),  $P = 0.0001$ ]、愈合率 [OR = 6.51, 95%CI (3.36, 12.62),  $P < 0.00001$ ]、坏死率 [OR = 0.25, 95%CI (0.15, 0.44),  $P < 0.00001$ ] 这些方面的差异均存在统计学意义。富血小板血浆联合空心螺钉内固定术疗效显著优于单纯空心螺钉内固定术治疗股骨颈骨折。联合治疗可以加速患者的愈合, 提高愈合率, 降低坏死率, 促进术后髋关节功能的恢复。

## PU-041

### CD29 参与调控 NK 细胞功能的作用机制研究

吕楠, 王妍梦, 雷蕾, 蕾莉, 张丹, 王爱英, 胡劲松  
西安交大医学部细胞生物学与遗传学系

**目的** NK 细胞(Natural killer 细胞)作为固有免疫的细胞成员, 是机体抗肿瘤、抗感染的第一道防线的重要组成部分。NK 细胞与靶细胞的黏附是引起后续杀伤机制的重要前提。整联蛋白超家族作为重要的黏附分子, 是细胞外基质配体和细胞表面配体之间相结合的一种“传感器”。CD29 作为一种重要的整合素家族成员, 其在 NK 细胞中的免疫调节功能尚不清楚。本研究将以体外培养条件下的 NK 细胞系为模型, 通过调查 NK 细胞赖以生存的 IL-2 信号通路对于 CD29 表达的影响, 来探究 CD29 与 NK 细胞行为与功能之间的关系。

**方法** (1) 体外培养 NK 细胞系 KHYG-1 和 NK92, 采用 Western Blotting 检测比较 IL-2 刺激前后不同时间点 CD29 分子的蛋白表达量, Real-time PCR 技术定量检测 CD29 在 mRNA 水平的变化。(2) 利用 Western Blotting 检测不同时间点 JAK-STAT3 和 ERK 信号通路与 CD29 表达之间的关系。基于 STAT3 和 ERK 信号分子特异性抑制剂反向验证上述信号通路关键分子对于 CD29 表达的调控关系。(3) 基于功能封闭性抗体封闭 CD29、用 siRNA 敲低 CD29, 调查 CD29 表达对于 NK 细胞黏附以及杀伤毒力的影响。

**结果** (1) NK 细胞表达高水平 CD29 分子。经 IL-2 的刺激后, CD29 的表达会在 mRNA 和蛋白水平被升高。(2) IL-2 诱导的 CD29 上调表达依赖于 JAK-STAT3 和 ERK 信号通路的活化。(3) 高表达的 CD29 与 NK 细胞的毒力正相关。(4) CD29 促进 NK 细胞的毒力可能依赖于其黏附功能。

**结论** IL-2 可以通过 JAK-STAT3 和 ERK 信号显著上调 NK 细胞的 CD29 表达, 从而增强 NK 细胞的黏附能力, 进而促进其对靶细胞的杀伤。

## PU-042

### $\alpha 6$ -integrin 在 TGF- $\beta$ 诱导膀胱癌干细胞侵袭转移中的作用

王志, 张艺  
陆军军医大学

膀胱癌是我国男性泌尿生殖系统发病率最高的恶性肿瘤, 临床上以移行细胞癌最为常见, 复发率高, 侵袭转移力强, 治疗困难大, 并呈逐年上升趋势。肿瘤干细胞在多种肿瘤中的相继发现为我们研究膀胱肿瘤发生、发展以及治疗提供了崭新的研究视角。研究显示肿瘤干细胞具有间质细胞特性, 间质信号不仅能在一定程度上恶转肿瘤细胞, 同时赋予细胞更强的侵袭转移能力, 因而成为临床治疗的主要障碍。整合素  $\alpha 6$ -integrin 作为层粘连蛋白的特异性受体, 参与正常上皮细胞的粘附, 并作为表面标志物应用于干细胞的分离与鉴定。然而  $\alpha 6$ -integrin 与肿瘤干细胞的报道较少, 我们采用 Western Blot 方法检测不同膀胱癌细胞系中  $\alpha 6$  的表达, 发现其表达与肿瘤细胞的恶性程度正相关; 从肿瘤细胞系中分离出的  $\alpha 6$  阳性细胞的克隆形成、成球和裸鼠成瘤能力增强。进一步用 TGF- $\beta$  处理膀胱癌细胞, Transwell 检测发现处理组侵袭转移能力增强, 并且  $\alpha 6$  较未处理组表

达高, 表明  $\alpha 6$  可能是促进膀胱癌侵袭转移的因素。为了探讨其发挥效应途径, 我们检测了  $\beta$ -catenin 的表达, 发现其表达趋势与  $\alpha 6$  一致。由以上结果提示我们  $\alpha 6$  是膀胱癌干细胞维持的重要因素之一, 通过激活 Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路发挥促迁移效应, 探索  $\alpha 6$  作用的重要调节靶点, 可为临床诊断和治疗提供新的靶点。

## PU-043

### 外泌体蛋白组学差异与胶质母细胞瘤白藜芦醇敏感性关系的研究

聂俊华<sup>1</sup>, 李宏<sup>2</sup>, 吴茉莉<sup>2</sup>, 林晓敏<sup>1</sup>, 熊乐<sup>1</sup>, 刘佳<sup>1,2</sup>

1. 华南理工大学

2. 大连医科大学细胞生物学教研室

多形性胶质母细胞瘤 (glioblastoma multiform, GBM) 是最常见的, 预后极差的原发性脑肿瘤。白藜芦醇具有抗癌作用但不同的胶质母细胞瘤细胞系对它的药物敏感性存在明显差异, 其原因尚不明确。肿瘤来源的外泌体被认为是影响肿瘤细胞化疗药物敏感性的因素之一, 因此我们选用了白藜芦醇敏感的胶质母细胞瘤 U251 和白藜芦醇耐受的 LN428 细胞, 分别在药物处理前 (N/Exo) 和药物处理后 (Res/Exo) 提取它们释放的外泌体, 通过无标记液相色谱 - 质谱联用 (liquid chromatography-mass spectrometry, LC-MS) 分析其中的蛋白质成分; 而后, 借助基因本体富集分析 (GO) 和京都基因百科全书和基因组 (KEGG) 生物信息学分析对所测蛋白进行生物学功能评估。同时, 通过胶质瘤细胞与外泌体共培养探讨不同来源的外泌体对胶质瘤细胞药物敏感性的影响。结果显示, U251/N/Exo 而非 U251/Res/Exo 可以提高白藜芦醇耐药 LN428 细胞的药物敏感性; LN428/N/Exo 或 LN428/Res/Exo 均不能改变 U251 细胞对白藜芦醇的药物敏感性。外泌体蛋白质谱分析结果显示, U251/N/Exo 含有较高水平的染色质沉默和上皮发育蛋白, 而 U251/Res/Exo 含有更多的氧转运和 G 蛋白偶联受体。LN428/N/Exo 和 LN428/Res/Exo 均富含含有与核小体组装过程、基于微管参与的过程和染色质沉默相关的蛋白质。上述结果表明, U251/N/Exo 通过递送药物致敏信号因子, 使耐药的 LN428 细胞对白藜芦醇敏感。相反的, LN428/N/Exo 或 LN428/Res/Exo 均不能改变 U251 细胞对白藜芦醇的药物敏感性。

## PU-044

### 肝再生增强因子通过促进线粒体自噬保护肝脏缺血再灌注损伤

孔维宁, 李文, 安威

首都医科大学

**目的** 肝脏缺血再灌注损伤 (hepatic ischemia-reperfusion injury, HIRI) 常见于许多临床病理和肝脏手术过程, 是肝移植后肝功能障碍和衰竭的主要因素。前期研究表明, 肝再生增强因子 (Augmenter of liver regeneration, ALR) 可以减轻 HIRI, 与提高线粒体功能、抑制线粒体分裂有关, 具体机制尚不明确。自噬是通过降解长寿蛋白和衰老细胞器调节细胞稳态的过程。线粒体自噬是清除受损线粒体的选择性自噬, 在 HIRI 时激活, 起到调节线粒体稳态的作用。本研究主要探讨 ALR 对 HIRI 的保护作用与线粒体自噬的关系, 并对其机制进行初步研究。

**方法** 以稳定表达 ALR (23kDa) 的 HepG2 细胞系和转染空载体对照细胞 (简称对照) 为实验对象, 在体外用缺氧复氧损伤 (Hypoxia/Reoxygenation) 模拟体内 IRI, 检测自噬和线粒体自噬以及 ALR 对细胞的保护作用; 进一步检测 AMPK 的活化和线粒体融合蛋白的表达。

**结果** H/R (6h/6h) 处理后细胞自噬水平提高, ALR-HepG2 细胞自噬水平高于对照 ( $P < 0.05$ )。用 Ad-GFP-LC3 转染细胞, H/R 处理后细胞自噬体数目增加, ALR-HepG2 细胞自噬体数目增加更为显著 ( $P < 0.05$ ); Confocal 结果显示, H/R 处理后出现线粒体溶酶体共定位的斑点, 而 ALR 促



进了二者的共定位,表明 ALR 促进线粒体自噬;ALR-HepG2 细胞 H/R 后存活增加,凋亡减少,ATP 含量增加,ROS 减少 ( $P<0.05$ ),表明 ALR 可以减轻 H/R 损伤和线粒体功能障碍。ALR-HepG2 细胞 H/R 后 p-AMPK 水平增加,伴有线粒体融合蛋白 *Mfn2*, *OPA1* 表达增加。

**结论** ALR 通过促进线粒体自噬,保护肝细胞缺血再灌注损伤,其机制可能与促进 AMPK 活化和线粒体融合蛋白表达有关。本研究为肝移植后缺血再灌注损伤提供了防治的新途径。

## PU-045

### 肠罗斯氏菌在结肠炎中抑制抑瘤素 M 分泌的研究

谭蓓,罗薇薇,沈照华,肖梦伟,吴帅,孟祥瑞,吴兴,王晓艳  
中南大学湘雅三医院

**目的** 我们课题组前期发现肠罗斯氏菌 (*Roseburia intestinalis*, *R.intestinalis*) 丰度在炎症性肠病 (Inflammatory bowel disease, IBD) 患者中降低,已有研究报道抑瘤素 M (Oncostatin M, OSM) 和肠道菌群能够预测 IBD 患者对抗 TNF 生物制剂治疗的反应情况。然而,肠菌和 OSM 是否存在关联尚未见报道。因此,我们旨在探讨 *R.intestinalis* 在结肠炎中对 OSM 表达的影响,将为肠菌在抗 TNF 生物制剂治疗 IBD 患者中提供新思路。

**方法** 在动物水平,采用 3% 的葡聚糖硫酸钠 (Dextran sulphate sodium, DSS) 诱导野生型 (Wide-type, WT) 鼠结肠炎模型,予以  $1 \times 10^9$  CFU/d 的 *R.intestinalis* 干预,检测小鼠的疾病活动指数 (Disease activity index, DAI)、结肠长度以及组织病理评分,并应用 Western blot、RT-qPCR、ELISA 和免疫组织化学方法检测 OSM、TNF- $\alpha$ 、TLR5 以及紧密连接蛋白 (ZO-1、Occludin 和 Claudin-1) 的表达。在细胞水平,以 20 ng/ml 的粒-巨噬细胞集落刺激因子诱导 7 天的骨髓源巨噬细胞 (Bone marrow derived macrophages, BMDMs) 经形态学观察以及流式细胞术鉴定为巨噬细胞后,予以 1  $\mu$ g/ml 的脂多糖 (Lipopolysaccharide, LPS) 刺激,进行验证 *R.intestinalis* 对 TLR5 敲除鼠及其同窝阴性对照鼠的 BMDMs 分泌 OSM 的影响。我们进一步验证不同浓度 OSM 对人结肠上皮细胞系 Caco-2 紧密连接蛋白的影响。

**结果** 1. *R.intestinalis* 能够显著改善 3% DSS 诱导结肠炎小鼠的一般情况,降低 DAI 评分,减少结肠缩短程度以及改善结肠炎小鼠的结肠组织病理评分 ( $p<0.05$ ); 2. 在结肠炎小鼠中,*R.intestinalis* 能够显著降低 OSM 的表达,同时减少 TNF- $\alpha$  的分泌以及上调 TLR5 的表达 ( $p<0.05$ )。在 LPS 诱导的 BMDMs 炎症模型中,*R.intestinalis* 能够抑制 WT 鼠 BMDMs 分泌 OSM,然而,敲除 TLR5 并不能逆转 *R.intestinalis* 抑制 OSM 的作用 ( $p<0.05$ ); 3. 在结肠炎小鼠中,*R.intestinalis* 能够上调紧密连接蛋白的表达,我们进一步发现在小鼠结肠组织中,OSM 与紧密连接蛋白之间呈负相关 ( $p<0.05$ )。为了深入研究 OSM 与结肠上皮细胞的紧密连接蛋白的关系,我们发现在 Caco-2 细胞中,OSM 以浓度依赖的方式下调紧密连接蛋白的表达 ( $p<0.05$ )。

**结论** *R.intestinalis* 在结肠炎中可能通过抑制巨噬细胞的 OSM 分泌,改善肠上皮屏障功能从而发挥抑炎作用。

## PU-046

### 大狼把草化学成分研究

张勇博,赵俊霞  
河北医科大学

大狼把草 (*Bidens frondosa* L) 又名接力草,外国脱力草,全草入药,有强壮身体、清热解毒的功效。在抗肿瘤、抗氧化和抗肥胖等方面具有良好的生物活性。目前国内外对大狼把草活性成分方面的研究很少。为系统研究大狼把草的有效单体成分,充分开发大狼把草的药理活性。本研究以

大狼把草全草为材料,经晒干、粉碎、乙醇浸泡提取,石油醚萃取去酯、硅胶柱色谱粗分和高效液相色谱技术细分,采用核磁共振波谱仪、高分辨质谱仪和红外光谱仪等鉴定单品化合物的结构。共分离鉴定了 35 种化合物,其中黄酮类 14 种、脂肪酸类 5 种、苯丙素类 2 种、聚炔类化合物 3 种以及其它种类化合物 11 种。6 种化合物首次从鬼针草属中发现,18 种化合物首次从该植物中分离得到,3 种新化合物分别是,化合物 1: 2,5-二氢-5-氧代-甲酯-2-咪喃辛酸,化合物 2: 4-O-(3'-O-乙酰基-6"-O-对-香豆酰基-β-D-吡喃葡萄糖)-对-香豆酸,化合物 3: (反)-7-O-(4",6"-二乙酰基-β-D-吡喃葡萄糖)-5,6,7,3'-四羟基-4'-甲氧基查尔酮。

## PU-047

### miR-1 对软骨细胞增殖分化的影响

史光华,李鹏翠,卫小春  
山西医科大学第二医院

#### miR-1 对软骨细胞增殖分化的影响

**研究背景** 骺板软骨内源性成骨过程决定肢体的长度,一旦受损会影响肢体的正常发育。据统计 16 岁以下儿童长骨损伤累及骺板的约占 15%-30%,其中 1%-2%的骺板损伤会引起骺板早闭,导致肢体生长障碍及畸形,难以治疗。有研究发现 miR-1 在骺板软骨中特异性高表达,那么 miR-1 是否能调控软骨细胞的增殖和分化,目前还不清楚。故本实验通过用外源性的 miR-1 及其抑制剂进行转染,使 miR-1 过表达和相应沉默来观察其对软骨细胞增殖和分化的影响。

**方法** (1)取 16 日龄的鸡胚,取其胸骨并分离增殖区软骨细胞,进行原代培养并按 120nM 进行 miR-1/antimiR-1 及其对照剂的细胞转染。(2)通过 Elisa 技术检测,(3)利用 CCK-8 法检测转染后,流式细胞技术。(4)通过 Real time-PCR 技术检测进行检测分析。

**结果** 分离培养鸡胚胸骨增殖区软骨细胞,以  $1 \times 10^5/\text{ml}$  的密度接种在 6 孔板中在  $37^\circ\text{C}$  恒温箱中培养,待细胞达 70% 的融合后进行 miR-1/antimiR-1 及其对照剂的转染。(1)软骨细胞增殖:①软骨细胞表型维持:Real time-PCR 检测:miR-1 过表达 II 型胶原和 Sox9 等指标在基因水平上表达量增加;而 MMP-13 在基因水平上表达下降 ( $P < 0.05$ )。抑制 miR-1 后,结果相反 ( $P < 0.05$ )。Elisa 证明:miR-1 过表达蛋白多糖、II 型胶原及 TIMP-1 在蛋白水平表达增高;MMP-13 在蛋白水平表达降低 ( $P < 0.05$ )。而抑制 miR-1 后,出现相反结果 ( $P < 0.05$ )。②软骨细胞增殖:CCK-8 技术显示:miR-1 过表达能促进软骨细胞的增殖 ( $P < 0.05$ ),而抑制 miR-1 后,增殖能力下降 ( $P < 0.05$ )。流式细胞技术验证:miR-1 过表达使处于 S 期、G2 期的细胞明显增加,而抑制 miR-1 后,处于 S 期、G2 期的细胞显著下降 ( $P < 0.05$ )。

(2)软骨细胞分化:Real time-PCR 检测:miR-1 过表达:II 型胶原、Sox9 和 Ihh 的基因表达显著上调;而 X 型胶原的表达显著下降 ( $P < 0.05$ )。而抑制 miR-1 后,出现相反结果。Elisa 检测:miR-1 过表达,II 型胶原在蛋白水平表达显著上调 ( $P < 0.05$ );而抑制 miR-1 后,结果相反。

**结论** miR-1 能促进软骨细胞增殖,抑制其分化;同时在维持软骨细胞表型方面有一定作用。

## PU-048

### ITIH5 基因在肺癌发展中的生物学效应

汪徐春<sup>1,2</sup>,左祥林<sup>1,2</sup>,邵立培<sup>1,2</sup>,张雨<sup>1,2</sup>,秦中勇<sup>1,2</sup>,杨楠<sup>1,2</sup>,孙玉洁<sup>1,2</sup>

1.南京医科大学江苏省人类功能基因组学重点实验室

2.南京医科大学细胞生物学系

肺癌是全球发病率最高和死亡率最高的恶性肿瘤。它是由环境因素和遗传因素共同作用的疾病,在许多研究中已经揭示了遗传因素在肺癌发展中不可或缺。肺癌风险 tag-SNP rs1663689 位于染色质区域 10p14 与中国汉族人群肺癌发病风险高度相关,但其生物学功能不明。已知 GWAS 发现的 tag-SNP 本身并不一定具有生物学效应,但是可以作为遗传标志,指示其上下游一定范围

内可能存在与疾病发生发展具有重要功能联系的基因。ITIH5 基因位于 tag-SNP 上游 1.3Mbp, 迄今对该基因的功能所致甚少。TCGA 数据库分析显示 ITIH5 基因在肺癌组织中表达显著性下调, 且其表达水平与肺癌恶性进展呈负相关, 提示其与肺癌的发生发展具有功能联系。本研究中以 ITIH5 基因为目标, 在细胞水平和病例样本中初步探讨了其与肺癌的功能联系。

我们首先在 186 例中国人群非小细胞肺癌和癌旁组织中分析了 ITIH5 基因表达水平及其临床关联性, 证实肺癌组织中 ITIH5 基因的表达水平显著低于相应的癌旁组织, 而且 ITIH5 基因的表达水平与肿瘤的临床分期和淋巴结转移呈负相关。Kaplan-Meier 分析, 显示 ITIH5 的表达水平与患者生存期呈正相关。进一步利用肺癌细胞系开展的功能实验显示, 在肺癌细胞中高表达 ITIH5 基因能够显著抑制肺癌细胞的增殖能力, 锚定非依赖性生长能力以及侵袭和转移的能力。

这些研究结果提示, ITIH5 基因产物具有抑制肺癌恶性表型的功能, ITIH5 基因异常低表达可促进肺癌的恶性进展, 是一个潜在的抑癌基因, 值得进一步深入探讨。

## PU-049

### 生物活性肽抑制结直肠癌细胞增殖的机制研究

苏丽娅, 佟鑫, 杨晓宇, 苏秀兰  
内蒙古医科大学附属医院

**目的** 结直肠癌是胃肠道常见的恶性肿瘤, 手术联合放疗和化疗可改善患者的五年存活率, 却影响患者整体的生存质量。本课题组长期开展动物脏器来源生物活性肽研究, 既往研究发现经过对山羊诱导产生的生物活性肽具有抑制肿瘤细胞增殖、诱导细胞凋亡, 以及对化疗药物减毒增敏作用, 提高荷瘤小鼠的生存质量。本研究旨在阐明生物活性肽调控结直肠癌细胞的功能和分子机制。

**方法** Incu Cyte S3 长时间动态细胞成像仪观察不同浓度的生物活性肽抑制 HCT116 细胞增殖的作用; 采用流式细胞仪检测生物活性肽对结直肠癌细胞周期和细胞凋亡的影响; 通过划痕迁移实验和 Matrigel 侵袭实验观察生物活性肽对结直肠癌细胞迁移侵袭的影响; 应用 RNA-Seq 分析生物活性肽处理 HCT116 细胞后的差异表达基因; 应用 Western Blot 检测生物活性肽处理结直肠癌细胞后 HMGA2 和 WNT 通路相关蛋白的变化的表达变化。

**结果** 10、15、20  $\mu\text{g/ml}$  的生物活性肽均能够抑制 HCT116 细胞增殖, 并呈时间剂量依赖性; 流式细胞仪检测生物活性肽对 HCT-116、LOVO 细胞具有细胞周期阻滞作用, 发生在 G2/M 期 ( $p < 0.05$ ), 并可明显诱导 HCT-116、LOVO 细胞发生凋亡 ( $p < 0.05$ ); 划痕实验结果表明 ACBP 能够明显抑制结直肠癌细胞的迁移, 与对照组比较具有统计学差异 ( $p < 0.05$ ); Matrigel 侵袭实验结果表明 ACBP 能够抑制结直肠癌细胞的穿膜侵袭作用, 与对照组比较具有统计学差异 ( $p < 0.05$ ); RNA-Seq 结合生物信息学分析, 最终获得 29 个差异基因, 其中包括 HMGA2 和 WNT 通路的多个基因; Western Blot 检测结果表明结直肠癌细胞中的 HMGA2 和 WNT 通路的多个相关蛋白表达水平对生物活性肽呈浓度依赖性。

**结论** 生物活性肽通过调控 HMGA2 调节 WNT 通路抑制结肠癌细胞增殖。

## PU-050

### ACBP 增加了与 CAF 共培养的 ESCC 细胞对 cyclopamine 的敏感性

杨凌, 梁亚冰, 王晔珏, 张满, 苏依拉其木格, 苏秀兰  
内蒙古医科大学附属医院

食管癌是胃肠道的常见恶性肿瘤, 目前在所有癌症中死亡率排名第六。中国是食管癌发病率

较高的国家之一，食管鳞状细胞癌（ESCC）是主要的亚型。由于晚期诊断和转移，食管癌的预后仍然很差。2012年的报道显示，5年生存率约为20.9%。深入开展食管癌发展和进展中分子病理学的研究，将推进开发新的治疗靶点。以往对食管癌的研究主要集中在癌细胞上。然而，越来越多的证据表明，肿瘤微环境（TME）对癌变，血管生成，侵袭和免疫逃逸至关重要。TME中有几种成分，包括活性成纤维细胞，免疫细胞，内皮细胞，神经元，脂肪细胞和细胞外基质。这些活性成纤维细胞也称为癌相关成纤维细胞（CAF），表达 $\alpha$ 平滑肌肌动蛋白（SMA），并且参与包括食管癌在内的癌症的发生，血管生成，增殖和转移。我们从ESCC临床样品中分离并培养ESCC CAF，在分离的成纤维细胞中检测到E-钙粘蛋白（上皮细胞标记物），波形蛋白（基质细胞标记物）和SMA（CAF标记物）的表达。体外培养实验显示，5种成纤维细胞均强烈表达波形蛋白和SMA，并且仅具有弱的E-钙粘蛋白表达。CAFs可促进ESCC细胞KYSE140的增殖，在CAFss培养的KYSE140细胞中，PTCH1和GLI1的mRNA水平升高。环巴胺（cyclopamine）通过下调PTCH1和GLI1 mRNA水平抑制KYSE140细胞的增殖。与CAF共培养，KYSE140细胞具有更多的增殖活性。在KYSE140细胞中检测到hedgehog通路激活，发现即使用cyclopamine处理，共培养的KYSE140中PTCH1和GLI1 mRNA的表达没有变化，表明CAF可能通过非经典途径调节hedgehog通路。抗癌生物活性肽（ACBP）抑制KYSE140细胞的增殖，然而，ACBP不调节hedgehog途径。当用CAF条件培养基培养KYSE140细胞时，ACBP联合cyclopamine具有最低的KYSE140细胞汇合度，表明当与条件培养基孵育时，ACBP可能增加KYSE140细胞对cyclopamine的敏感性。深入开展的KYSE140细胞中的hedgehog通路活性检测表明，虽然ACBP没有调节KYSE140细胞的hedgehog通路，但共培养的KYSE140细胞中，ACBP与cyclopamine结合可降低PTCH1和GLI1 mRNA水平，提示了cyclopamine联合ACBP对CAFs共培养的ESCC细胞具有较好的抑制作用。

## PU-051

### 食管鳞状细胞癌组织体外3D培养

梁亚冰<sup>1</sup>,张满<sup>1</sup>,杜华<sup>2</sup>,杨凌<sup>1</sup>

1.内蒙古医科大学附属医院

2.内蒙古医科大学

食管癌是常见的消化道恶性肿瘤，目前全球肿瘤死亡率中位于第6位。我国是食管癌的高发国家之一。目前食管癌的治疗包括手术、术前放化疗和术后放化疗。食管癌预后差，2012年时5年存活约为20.9%。目前，铂类药物联合紫杉醇广泛用于食道癌的化疗。对于一线治疗后疾病进展仍需治疗的患者，目前尚无标准的治疗方案，近年来部分研究认为以伊立替康为基础联合奥沙利铂或是5-氟尿嘧啶(5-FU)的化疗方案可作为晚期食道鳞状细胞癌患者的新选择。但对于大多数患者，往往难以根据自身特点选择相应化疗药物，只能依据化疗评效来评估每一个方案的有效性。因此，若能建立一个临床用药前的个体化的体外化疗药物筛选平台，将能有效地解决这个问题，为临床的药物选择提供参考，从而提高化疗的有效性，减轻患者的痛苦和负担。因此本实验将新鲜的食管鳞状细胞癌组织剪成细小的碎块，和matrigel混合在96孔板中进行培养。在培养2、4、6、8、10、12、14、16、18天时取出固定、石蜡包埋、切片、H&E染色和Ki-67、P63、P40和细胞角蛋白5/6免疫组织化学。H&E染色显示，培养的肿瘤组织与原组织基本相同。随着培养时间的延长，组织块变得小，且肿瘤组织有萎缩和退化的现象。随体外培养时间的增加，P40和P63蛋白的表达在肿瘤细胞中的表达变少。Ki-67蛋白在肿瘤组织中表达的强度和比率都随着培养时间的延长而减弱。综上所述，食管鳞状细胞癌的一部分特性会随着体外培养时间的延长而发生变化，所以体外培养天数越短越好。

## PU-052

### NOXA 启动子：具有增强子功能的启动子

秦中勇<sup>1,2</sup>, 石晓<sup>1,2</sup>, 褚鹰<sup>1,2</sup>, 曹平平<sup>1,2</sup>, 汪徐春<sup>1,2</sup>, 杨楠<sup>1,2</sup>, 程禾<sup>1,2</sup>, 孙玉洁<sup>1,2</sup>

1. 南京医科大学江苏省人类基因组学重点实验室

2. 南京医科大学细胞生物学系

真核生物基因的表达受到近端启动子和远端增强子的共同调控，启动子和增强子分别具有特征性组蛋白修饰标记 H3K4m3 和 H3K4me1。近年研究显示人类基因组中约有 2%-3% 的启动子也可具有增强子活性。这类启动子有两个主要特征：能够与其他启动子相互作用；具有启动子和增强子的双重组蛋白修饰特征。然而，特定启动子转换成增强子诱导因素以及生物学意义尚待探讨。

NOXA 与 BCL2 分别是 BCL2 基因家族中的促凋亡和抗凋亡成员，本实验室前期研究发现启动子 NOXA 与 BCL2 基因启动子在物理空间上存在相互作用，NOXA 启动子区不仅具有启动子的组蛋白修饰 H3K4me3，而且具有高丰度的增强子标志性的 H3K4me1 组蛋白修饰，提示 NOXA 启动子在一定的条件下可发挥增强子的功能，增强 BCL2 基因的表达活性。本课题旨在探讨 NOXA 启动子是否具有启动子和增强子双重功能，在什么条件下 NOXA 启动子发挥增强子功能并调节 BCL2 基因活性。

首先，我们利用报告基因系统证实，在正常乳腺上皮细胞 MCF-10A 及乳腺癌细胞 MCF-7 中 NOXA 启动子具有增强子活性且增强子活性在两株细胞中并无明显差别，而 BCL2 启动子不具备增强子活性。随后我们利用喜树碱诱导的细胞凋亡模型观察不同强度凋亡信号诱导下 NOXA 增强子活性的差别，运用流式细胞术检测不同浓度喜树碱诱导细胞凋亡的效应。结果显示，低浓度喜树碱（1 $\mu$ M）处理细胞条件下 NOXA 增强子活性最强；而用高浓度喜树碱（10 $\mu$ M）处理相同时间，NOXA 启动子活性最强，增强子活性大幅减弱。ChIP-qPCR 技术进一步显示，NOXA 启动子区的启动子和增强子特征性的组蛋白修饰特征表现出相应改变，表现为 H3K4me1/H3K4me3 的比例随喜树碱浓度的升高逐渐下降。这些结果提示，在细胞接收较弱凋亡诱导刺激时，NOXA 启动子主要发挥增强子功能，而当细胞受到较强凋亡信号刺激时，NOXA 启动子主要发挥其启动子功能。有趣的是，在我们的细胞模型中，当细胞受到不同浓度喜树碱处理时，BCL2 基因的转录水平会有不同程度下调，q-PCR 分析显示，NOXA 增强子活性强的时候 BCL2 的转录水平下降幅度小，NOXA 增强子活性减弱时 BCL2 的转录水平下降幅度增加。结合前期 NOXA 与 BCL2 两启动子在空间构像上相互作用的实验结果，我们的实验提示，NOXA 启动子具有双重功能，在较弱凋亡信号刺激下，NOXA 启动子可作为增强子，阻止与其功能拮抗 BCL2 基因转录下调，发挥抗凋亡的功能；而当凋亡刺激加强时，NOXA 启动子主要发挥其启动子功能，调控基因自身的表达，促进细胞凋亡。我们的工作为认识基因调控元件功能的复杂性以及细胞凋亡反应中基因的表达调控模式提供了新的启示和切入点。

## PU-053

### 骨髓间充质干细胞来源的外泌体通过 miR-142-3p 促进肠癌细胞的干性

李宏丹<sup>2,1</sup>, 李丰<sup>2</sup>

1. 锦州医科大学

2. 中国医科大学细胞生物学系，国家卫健委细胞生物学重点实验室，教育部医学细胞生物学重点实验室

骨髓来源的间充质干细胞（BM-MSCs）能够迁移至肿瘤组织并参与肿瘤微环境的形成。它可以通过释放细胞因子或外泌体来影响肿瘤发展进程。然而，骨髓间充质干细胞如何影响结肠癌细胞的干性尚不清楚。我们从骨髓间充质干细胞培养基中分离外泌体，并用这些外泌体处理结肠癌细胞（HCT-116、HT-29 和 SW-480）。用肠癌干细胞表面标记物 CD133 和 LGR5 结合功能实验（如

化疗药物耐受、克隆形成、细胞粘附、侵袭和肿瘤形成实验)比较肠癌细胞的干性。我们用 microRNA 芯片来研究结肠癌细胞、骨髓间充质干细胞和共培养细胞外泌体中 microRNA 表达的差异,并对靶基因进行功能分析和机制分析。在这项研究中,我们发现 BM-MSC 分泌的外泌体含有很多 microRNA,其中 miR-142-3p 能够增加结肠癌细胞中癌干细胞的含量,促进肠癌细胞的干性。从骨髓间充质干细胞分泌的外泌体中减低 miR-142-3p 能够明显减少结肠干细胞的含量。并且,miR-142-3p 通过打靶 numb,下调 numb 的表达促进 notch 信号通路的活化。总之,我们的研究发现 BM-MSC 来源的外泌体通过 miR-142-3p 促进肠癌细胞的干性。

## PU-054

### MORC2 通过抑制 NDRG1 促进结直肠癌的恶性进展

刘姣,邵阳光,何雨昕,宁可,崔曦,刘芙蓉,王振宁,李丰  
中国医科大学

MORC2 (microorchidia family CW-type zinc finger 2) 是新的染色质重塑蛋白,在多种生物学过程中发挥重要作用,如 DNA 损伤修复、基因转录调控、脂肪生成和胃癌发生。NDRG1 是转移抑制子,是结直肠癌的预后生物标志物。但是 MORC2 和 NDRG1 转录调控的关系以及 MORC2 在结直肠癌中的作用仍不清楚。我们的结果表明在结直肠癌细胞中, MORC2 下调 NDRG1 的 mRNA、蛋白水平和启动子活性。MORC2 能够结合到 NDRG1 启动子的-446 到-213bp 区域。在机制上,组蛋白去乙酰化酶 sirtuin1 (SIRT1) 参与 NDRG1 的转录调控。MORC2 与 SIRT1 相互作用并且与 SIRT1 以累积的方式共同抑制 NDRG1 启动子活性。MORC2 过表达导致 NDRG1 启动子处组蛋白 H3 的乙酰化水平以及 H4 的乙酰化水平下降。更重要的是,我们的结果表明, NDRG1 在 MORC2 介导的结直肠癌细胞的体外迁移和侵袭以及体内肺转移中发挥重要作用。此外,在结直肠癌样本中 MORC2 的表达与 NDRG1 的表达负相关。MORC2 的高表达与结肠癌患者的淋巴结转移、TNM 分期和不良预后显著相关。我们的发现为进一步研究 MORC2 对 NDRG1 的转录调控机制奠定了基础,提示 MORC2 是结直肠癌治疗的潜在靶点。

## PU-055

### 生物活性肽通过 miR-520 抑制肝癌细胞增殖和侵袭的分子机制

王晔珏,苏丽娅,杨晓宇,苏秀兰  
内蒙古医科大学附属医院临床医学研究中心

**目的** 生物活性肽是本课题组通过对羊免疫诱导后从脏器中分离提取得到的一种低分子活性物质,拥有自主知识产权。前期研究结果表明生物活性肽能明显抑制肝癌细胞的增殖和侵袭。本研究旨在探讨生物活性肽抑制肝癌细胞的增殖和侵袭的分子机制。

**方法** 应用 MicroRNA 表达谱芯片检测肝癌和癌旁正常组织的差异表达小 RNA,发现 mir520 差异表达明显,应用瞬时转染法转染 NC, miR-520 mimics 及 miR-520Inhibitor 至 MHCC97H 和 SMMC7721 细胞,转染后用生物活性肽处理各组细胞。利用活细胞工作站观察细胞增殖情况,绘制生长曲线;应用细胞划痕实验和 Transwell 法检测各组细胞迁移和侵袭的影响;应用流式细胞仪检测细胞周期情况。

**结果** 生物活性肽对各组细胞增殖均有抑制作用,但是转染 miR-520 mimics 和 miR-520Inhibitor 组较 NC 组抑制作用更为显著,差异具有统计学意义 ( $p<0.05$ ); 经过生物活性肽作用后的各转染组细胞迁移和侵袭能力,较 NC 组明显下降,差异具有具有统计学意义 ( $p<0.05$ ); 各组细胞周期均阻滞在 G2/M 期, miR-520 mimics 和 miR-520Inhibitor 组呈现显著变化。

**结论** 生物活性肽能够明显抑制肝癌细胞的增殖和迁移,并能阻滞细胞周期,初步研究结果表明生

物活性肽通过调控 miR-520 发挥抑制肝癌细胞增殖和侵袭的作用, 继续深入研究 miR-520 作用靶基因, 阐明其作用的分子机制将对深入的应用研究提供科学数据。

## PU-056

### p16 缺失介导肝星状细胞活化加重肝纤维化进程

吕方乔,王宇童  
首都医科大学

肝纤维化是肝脏受到损伤进行修复时的一个病理生理过程, 以细胞外基质过度沉积为特点。多种慢性肝病如非酒精性脂肪性肝炎、病毒性肝炎等均会导致肝纤维化。肝纤维化可能会持续发展至肝硬化甚至肝癌。肝星状细胞 (hepatic stellate cells, HSC) 在肝纤维化中发挥重要作用, 在受到刺激时能够活化并分泌细胞外基质沉积在肝脏中, 促进肝纤维化。细胞周期抑制因子 16 (p16) 是一种抑癌基因, 能够与细胞周期蛋白依赖性激酶 4/6(CDK4/6)结合, 抑制 Rb 的磷酸化, 阻滞细胞周期进程。本研究通过体内体外实验发现, 在肝星状细胞活化以及肝纤维化小鼠模型中, p16 表达均下调; 通过四氯化碳注射 p16 敲除小鼠建立肝纤维化模型, 结果表明, 与对照组小鼠相比, p16 敲除小鼠肝纤维化表型加重; 在人肝星状细胞系 LX-2 中敲减 p16 能够促进 LX-2 细胞增殖, 上调 HSC 活化标志物 Col-I、 $\alpha$ -SMA。以上结果说明, p16 下调能够通过促进肝星状细胞活化加重肝纤维化。

## PU-057

### 基于抗癌活性肽的注射型水凝胶在软组织工程和抗癌治疗中的潜在应用

李贤,催宏伟,苏秀兰  
内蒙古医科大学附属医院

多肽水凝胶支架有效地控制肿瘤微环境中肿瘤细胞生长的研究日益引起研究者的关注。

**目的** 对于已经获得发明专利授权的多肽水凝胶开展研究, 并探讨其生物学性和抗肿瘤作用。

**材料方法** 选用四种不同来源的生物活性多肽, 其分别是来源于动物脏器、苦瓜、鱼胶原蛋白和牛骨胶原蛋白。四种多肽分别与透明质酸通过 1,4-丁二醇二缩水甘油醚进行化学交联, 得到了四种结构不同的多肽水凝胶。对四种多肽水凝胶进行了生物学性能检测, 包括三维空间结构、膨胀率、表面形貌、酶解率、细胞毒性、细胞相容性、以及体内的生物相容性、组织相容性以及可降解分析, 并选用移植瘤裸鼠验证多肽水凝胶对肿瘤细胞的抑制作用。

**结果** ①通过红外光谱分析显示多肽水凝胶是一种新型高分子聚合物, 在多肽和透明质酸之间形成新的酰胺键(-CONH), 1,4-丁二醇二缩水甘油醚的开环反应与透明质酸的羟基相连形成新的聚合物。②四种多肽水凝胶的孔径大小不均一的多孔结构, 体外酶解显示 I 型胶原酶降解速率可控。③通过 CCK-8 实验证实了这四种多肽水凝胶能够促进 L929 细胞增殖的能力。④将四种多肽水凝胶注射到小鼠皮下组织, 通过 H&E、免疫组化染色和组织学透射电镜观察, 结果显示采用生物活性多肽和苦瓜多肽构建的水凝胶在体内具有抗炎和抗生物降解特性。⑤将生物活性多肽水凝胶注射到 MKN45 接种的裸鼠的肿瘤旁边, 经过 15 天后肿瘤减小; 肿瘤组织染色结果显示该生物活性多肽制备的水凝胶逐渐包裹肿瘤细胞并慢慢吞噬细胞, 细胞核不完整, 提示获得的水凝胶可抑制肿瘤细胞的生长。

**结论** 我们的研究提供了一种新的多肽水凝胶, 具有潜在的抑制肿瘤细胞增殖及皮肤组织填充的应用价值。

## PU-058

### 癌相关成纤维细胞来源外泌体在促进骨肉瘤侵袭转移中的作用

陈成龙<sup>1</sup>,孙晓娟<sup>1</sup>,吕智<sup>1</sup>  
1.山西医科大学第二医院  
2.北京大学人民医院

**目的** 探究癌相关成纤维细胞来源泌体对骨肉瘤侵袭及转移的作用。

**方法** 利用骨肉瘤细胞株 Saos-2 分离培养癌相关成纤维细胞,提取癌相关成纤维细胞来源外泌体。电镜鉴定外泌体形态,Western blot 检测外泌体特异性标记蛋白 CD63 表达情况。采用细胞划痕及侵袭实验观察外泌体对 Saos-2 细胞迁移和侵袭能力的影响。利用裸鼠建立骨肉瘤移位移植瘤模型,6 周后取肿瘤组织称重对比两组肿瘤重量差异,取肺组织进行切片 HE 染色观察两组裸鼠肺转移情况。

**结果** 电镜观察外泌体呈 70~100nm 圆形或椭圆形膜性囊泡状结构,Western blot 结果显示其 CD63 呈高表达 ( $T=9.49, P<0.01$ )。划痕实验显示 Exo 组细胞迁移率显著高于 Control 组 ( $t=6.2088, p<0.01$ )。侵袭实验结果显示,Exo 组穿过小室膜的细胞数明显多于 Control 组 ( $t=3.8558, p<0.05$ )。两组裸鼠均成瘤,Exo 组裸鼠肿瘤体积为显著高于 Control 组体积 ( $t=2.7061, p<0.05$ )。且 Exo 组肿瘤重量显著高于 Control 组 ( $t=2.9293, p<0.01$ )。肺组织切片 HE 染色结果显示,两组裸鼠均发生肺转移,Exo 组裸鼠肺组织转移灶数量为显著多于 Control 组的转移灶数量 ( $W=36, p<0.01$ )。

**结论** 癌相关成纤维细胞来源的外泌体可增加骨肉瘤细胞株 Saos-2 的迁移及侵袭能力,同时促进骨肉瘤的生长和肺转移的形成。

## PU-059

### miR-134 通过调控 MMP1 和 MMP3 表达抑制骨肉瘤侵袭和转移的作用及其相关机制研究

陈成龙,孙晓娟,吕智  
山西医科大学第二医院

**目的** 探究 miR-134 在骨肉瘤侵袭和转移中的作用及其相关作用机制。

**方法** (1) qRT-PCR 检测比较人骨肉瘤细胞系 Saos-2、MG-63 及软骨细胞系 CHON-001 中 miR-134 和 MMP1 及 MMP3 的表达差异。免疫组化检测人骨肉瘤、正常骨组织中 MMP1 和 MMP3 的表达差异。(2) 慢病毒转染人骨肉瘤 Saos-2 细胞,细胞划痕实验检测 miR-134 对骨肉瘤细胞迁移能力的影响,Transwell 实验检测 miR-134 对骨肉瘤细胞侵袭能力的影响。(3) 构建人骨肉瘤裸鼠移植瘤模型,检测 miR-134 在体内对骨肉瘤生长的影响;肺组织 HE 染色观察其对裸鼠体内骨肉瘤肺转移的影响,利用 qRT-PCR、免疫组化、ELISA 及 Western blot 检测并探究 miR-134 对其体内 MMP1 和 MMP3 表达的作用。(4) 双荧光素标记实验验证 miR-134 对 MMP1 和 MMP3 的直接靶向作用。

**结果** (1) miR-134 在骨肉瘤细胞系 Saos-2 ( $p<0.001$ )、MG-63 ( $p<0.01$ ) 细胞中表达降低,而 MMP1 在 MG-63 ( $p<0.05$ ) 和 Saos-2 ( $p<0.01$ ) 中表达增加, MMP3 在 MG-63 ( $p<0.01$ ) 和 Saos-2 ( $p<0.001$ ) 中呈高表达。免疫组化结果显示, MMP1 和 MMP3 在人骨肉瘤样本中表达增高 ( $p<0.001$ )。(2) miR-134 组细胞较 Control 组细胞迁移能力弱 ( $p<0.001$ );同时 Transwell 实验表明 miR-134 组较 Control 组细胞侵袭能力减弱 ( $p<0.001$ )。(3) miR-134 可在体内抑制 MMP1 和 MMP3 的 mRNA 表达 ( $p<0.001$ );同时, ELISA ( $p<0.05, p<0.001$ )、免疫组化 ( $p<0.001$ )、Western blot ( $p<0.001$ ) 及 FMT ( $p<0.05$ ) 结果均表明 miR-134 可抑制



MMP1 和 MMP3 蛋白的表达。相较于 Saos-2 细胞, MMP1 和 MMP3 在骨肉瘤动物模型肿瘤组织中呈高表达 ( $p < 0.001$ ), 而 miR-134 在骨肉瘤动物模型肿瘤组织中的表达较 Saos-2 细胞中低 ( $p < 0.001$ )。 (4) 裸鼠肺组织 HE 染色结果显示, miR-134 组肿瘤肺转移较 Control 组明显降低 ( $p < 0.001$ )。

**结论** (1) miR-134 与 MMP1 和 MMP3 在骨肉瘤细胞系 Saos-2、MG-63 及人骨肉瘤组织中表达呈负相关。(2) miR-134 可在体外抑制骨肉瘤细胞的迁移及侵袭能力。(3) miR-134 可在体内抑制骨肉瘤的生长、侵袭和转移; 并降低其 MMP1 和 MMP3 的表达水平。(4) miR-134 在体内外抑制骨肉瘤的侵袭转移, 并降低 MMP1 和 MMP3 表达的作用, 与 MMP1 和 MMP3 是 miR-134 的直接靶点密切相关。

## PU-060

### 肝刺激因子通过 CD36 抑制脂肪酸转运减轻小鼠 非酒精性脂肪性肝病的研究

张静, 肖卫纯, 安威  
首都医科大学

**背景和目的** 非酒精性脂肪性肝病 (NAFLD) 是指无过量饮酒史, 以肝脏出现大量脂肪蓄积和肝细胞脂变为特征的一类肝脏代谢综合征。此前报道, 肝刺激因子 (HSS), 又称肝再生增强因子 (ALR) 可减轻脂肪酸对肝细胞的损伤, 但机制尚未明了。本课题探讨 HSS 通过抑制脂肪酸转运蛋白 (CD36) 表达与活性, 阻止脂肪酸向肝细胞内转运, 从而减轻 NAFLD 的可能性。

**方法** 以 PA 诱导细胞稳定表达 HSS 的 HepG2 细胞株 (HSS-Tx) 和转染空载体的 HepG2 细胞株 (HSS-v) 脂变, 采用 RNA-Seq 技术检测细胞 mRNA 和 lncRNA 的差异表达; 取 HSS 基因杂合敲除小鼠 (HSS<sup>+/-</sup>) 与野生型小鼠 (HSS<sup>+/+</sup>), 用 MCD 或 CDE 以及高脂饮食三种方法饲喂, 构建 NAFLD 模型; 检测血清 ALT, AST 以及肝脏/血清中甘油三酯 (TG)、游离脂肪酸 (FFA) 和胆固醇 (CHO) 水平; 以 HE 染色和油红 O 染色观察肝损伤以及脂质堆积; WB 检测肝脏 CD36 和 p-AKT 表达; Q-PCR 检测 CD36, 脂代谢相关酶以及炎症因子 mRNA 表达。

**结果** 与对照细胞相比, HSS-Tx 细胞膜 CD36-mRNA 水平显著降低。同样, NAFLD 模型小鼠肝脏 CD36 和 p-AKT 表达显著增加。与野生小鼠相比, HSS<sup>+/-</sup>小鼠中, CD36 与 p-AKT 的增加更为明显, 血清 ALT, AST, TG, CHO 等水平也相应升高; 组织学检查证实, 肝组织空泡样变, 脂质堆积以及炎症浸润程度加重。进一步研究显示, 与 HSS-v 细胞相比, HSS-Tx 细胞 CD36 的膜转位明显减少; 同时, p-AKT 表达也相应降低, CD36 相关转录因子 (如 PPAR $\alpha$ 、PGC-1) 的水平升高。相反, 敲减 HSS 表达, 则 CD36 膜转位增加, PPAR $\alpha$  与 PGC-1 的表达升高, 脂代谢相关酶和炎症因子的 mRNA 水平升高。综上, HSS 可能通过抑制 CD36 的表达及膜转位, 抑制脂肪酸转运及炎症进展, 从而保护肝细胞, 减缓 NAFLD 的进程。

## PU-061

### 组蛋白去乙酰化酶 4 通过抑制软骨细胞肥大延缓 骨关节炎进展的研究

顾晓东, 李鹏翠, 车先达, 卫小春  
山西医科大学第二医院

**目的** 通过构建大鼠骨关节炎 (Osteoarthritis, OA) 模型, 探讨组蛋白去乙酰化酶 4 (Histone deacetylase 4, HDAC4) 是否可以通过抑制软骨细胞肥大, 延缓大鼠 OA 关节软骨退变。

**方法** 构建 Ad-HDAC4 及 Ad-GFP 对照腺病毒载体。将大鼠肋软骨细胞分为两组，分别为 Ad-GFP 感染组,Ad-HDAC4 感染组。感染 48 小时后，各组加入 IL-1 $\beta$  (10ng / ml)，加入 24 小时后，通过 real-time qPCR 检测软骨肥大指标 (Runx-2, MMP-13, Collagen X) 及软骨合成代谢指标 (Collagen II, Aggrecan) 的表达情况。通过大鼠右膝关节前交叉韧带切断 (anterior cruciate ligament transection, ACLT) 构建 OA 模型，45 只大鼠分为三组，分别为：1) ACLT + 1x10<sup>9</sup> PFU Ad-GFP, 2) ACLT+1x10<sup>9</sup>PFU Ad-HDAC4, 3) Sham+1x10<sup>9</sup>PFU Ad-GFP。手术后 48 小时注射相应病毒，每三周一次，术后 8 周处死动物。取下膝关节，行 X 线，FMT，组织学，OARSI 评分，免疫组织化学，ELISA 及 real-time qPCR 检查，评价关节软骨损伤情况。

**结果** RT-qPCR 结果表明，在大鼠软骨细胞中过表达 HDAC4 可以降低 IL-1 $\beta$  诱导的 Runx-2, MMP-13, Collagen X 的表达，同时增加 Collagen II 和 Aggrecan 的表达。在大鼠 OA 模型当中，相对于 Ad-GFP 组，Ad-HDAC4 组 Runx-2, MMP-13, Collagen X 的表达较低，差异有统计学意义；同时，在 Ad-HDAC4 组，软骨合成代谢指标 Collagen II 和 Aggrecan 的含量高于 Ad-GFP 组，差异亦有统计学意义。

**结论** 在大鼠 OA 模型中，HDAC4 通过抑制 Runx-2, MMP-13, Collagen X 的表达，同时促进 Collagen II 和 Aggrecan 的表达，起到延缓 OA 关节软骨破坏的作用。

## PU-062

### SIRT1 通过调节 CHK2 乙酰化 - 磷酸化调控细胞周期进程

张文宇<sup>1,2,3</sup>, 冯艳玲<sup>1,2,3</sup>, 宋晓宇<sup>1,2,3</sup>, 曹流<sup>1,2,3</sup>

1. 中国医科大学

2. 卫计委医学细胞生物学重点实验室

3. 转化医学研究院

应激反应性蛋白 SIRT1 和细胞周期检验点激酶 CHK2 都通过调节细胞稳态和维持基因组完整性而在衰老和癌症中发挥关键作用。然而，连接这两种途径间的潜在分子机制仍然存在着诸多未知。我们的研究发现 SIRT1-CHK2 通路在细胞周期调控中发挥重要功能。研究表明，SIRT1 与 CHK2 之间存在相互作用，此外，SIRT1 能够通过去乙酰化修饰 CHK2，从而抑制 CHK2 的磷酸化，二聚体化，以及活化。SIRT1 缺失导致 CHK2 过度活化介导的细胞周期停滞和随后的细胞死亡。整体动物水平研究发现，CHK2 基因的联合缺失挽救了 SIRT1 基因敲除小鼠严重的产后致死现象。这与 SIRT1 在预防 CHK2 过度活化中的作用一致。总之，我们的结果表明 CHK2 在 SIRT1 调控细胞周期进程的通路中具有重要作用。与此同时，我们的研究为调节细胞稳态和维持基因组完整性以预防衰老和癌症提供了新的见解。

## PU-063

### 氯硝柳胺对 RANKL 诱导的破骨细胞早期融合及分化的影响

焦玉睿, 陈成龙, 胡希鉴, 曹洁, 朱亦堃

山西医科大学第二医院

**目的** 骨质疏松症被世界卫生组织 (WHO) 评为第二大危害人类健康的疾病，针对骨质疏松症的治疗仍是目前的研究重点。氯硝柳胺是 WHO 推荐的灭螺药，疗效肯定且副作用小。近年研究发现它可作用于 Wnt、NF- $\kappa$ B、Notch 及 STAT-3 等多种细胞通路，干扰细胞代谢，影响细胞生长甚至诱导细胞死亡。上述通路也参与了破骨细胞的分化过程，因此我们推断氯硝柳胺可能会抑制破骨细胞生成，期望对骨质疏松症的临床治疗提供新的方向，达到“老药新用”的目的。

**方法** 提取小鼠骨髓单核/巨噬细胞，在 RANKL 和 M-CSF 诱导下培养破骨细胞，氯硝柳胺于不同

时间点干预后, TRAP 染色观察细胞形态, RT-PCR 及 Western-blot 检测破骨细胞分化过程中关键转录调节因子 PU.1 及早期融合因子 DC-STAMP 及 ATPaseV<sub>0</sub>d<sub>2</sub> 的表达。

**结果** 与对照组相比, 干预组 TRAP 染色阳性的破骨细胞数量减少, 体积缩小, 与药物浓度呈剂量依赖性关系, 且早期阶段(0-2 天)数量减少最为明显( $p<0.05$ )。此外, 在破骨细胞生成的早期阶段, 干预组 PU.1 基因表达水平及 DC-STAMP 蛋白表达水平均明显降低, 差异有统计学意义( $p<0.05$ ), 而 ATPaseV<sub>0</sub>d<sub>2</sub> 的表达水平无明显差异( $p>0.05$ )。

**结论** 氯硝柳胺可能通过抑制 RANKL 及 M-CSF 诱导破骨细胞分化早期阶段转录因子 PU.1 的 mRNA 表达及调控单核/巨噬细胞的融合关键因子 DC-STAMP 蛋白表达抑制了破骨细胞分化, 从而减少成熟破骨细胞的生成, 可能具有降低骨吸收的作用, 给未来骨质疏松症的治疗提供新的选择。

## PU-064

### NF1 突变导致 Met 抑制剂耐药的机制及其特异性靶向治疗的探究

段超, 林凡  
南京医科大学

**目的** 探讨 NF1 突变导致肿瘤细胞对 Met 抑制剂耐药机制以及筛选特异性针对 NF1 突变肿瘤的靶向治疗策略。

**方法** 采用 CRISPR-Cas9 技术在非小细胞肺癌细胞系 PC9 和 H1299 上敲除 NF1 (Neurofibromatosis Type 1 Protein, NF1), 构建 NF1-WT 和 NF1-KO 同源细胞株; 对 NF1-WT 和 NF1-KO 同源细胞进行小分子靶向药物文库筛选, 计算每种药物对 NF1-WT 和 NF1-KO 细胞的生长抑制率 ( $Fc=NF-WT/NF1-KO$ )。寻找 NF1 缺失导致耐药的药物靶点( $\text{Log}_2(Fc)<-0.3$ ,  $P<0.05$ )和 NF1 缺失敏感的药物靶点( $\text{Log}_2(Fc) >0.3$ ,  $P<0.05$ ); 检测 NF1-WT 和 NF1-KO 同源细胞对 NF1 缺失耐药药物 Crizotinib (c-Met 抑制剂)的 IC<sub>50</sub> 值; 比较 NF1-WT 和 NF1-KO 同源细胞对 NF1 缺失敏感药物 Go 6983(PKC 抑制剂)的 IC<sub>50</sub> 及 PKC- $\alpha$ 、p-Akt (Thr308)的蛋白表达水平; 比较 NF1-WT 和 NF1-KO 同源细胞分别给予安慰剂、Crizotinib、Go 6983 (Pan PKC 抑制剂)、及联合用药后的细胞活力。

**结果** 筛选结果显示, NF1 缺失导致耐药的药物靶点中, PC9-NF1-KO 细胞对 Crizotinib 的 IC<sub>50</sub> 值显著高于 PC9-NF1-WT 细胞( $P<0.05$ ); 而 NF1 缺失敏感药物靶点中, Go 6983 对 PC9-NF1-KO 细胞 IC<sub>50</sub> 值显著低于 PC9-NF1-WT 细胞 ( $P<0.05$ ); Western blot 结果表明, PKC- $\alpha$  和 p-Akt (Thr308)蛋白的表达在 NF1-KO 的细胞中上调; 在分别给予 Vehical、Crizotinib、Go 6983、及联合用药处理后, Go 6983 组中, NF1-KO 细胞的较 NF1-WT 细胞 更为敏感; 细胞增殖和克隆形成结果显示, 与 Crizotinib 单药相比, Crizotinib 和 Go 6983 联合用药可以克服 NF1-KO 细胞对 Crizotinib 的耐药。

**结论** NF1 缺失通过激活 PKC- $\alpha$  和 PI3K/Akt 介导 Met 抑制剂的耐药; Go 6983 通过阻断上调的 PKC- $\alpha$  信号通路恢复 NF1 缺失的细胞对 Met 抑制剂的敏感性; 本研究证明 PKC 抑制剂联合 PI3K 抑制剂可能是克服 NF1 缺失导致 Met 抑制剂耐药新的治疗策略。

## PU-065

### Shisa3 通过调控 FGFR/Akt/mTOR 通路影响肺腺癌细胞对于 EGFR 抑制剂的药物敏感性

马媛媛  
北京大学肿瘤医院

小分子靶向药物 (EGFR-TKI) 是肺癌治疗史上的里程碑事件, 但其无可避免的原发性和继发

性耐药等问题的出现使靶向治疗面临新的挑战,从而增加了临床治疗肺癌的难度。目前常见的耐药有4类:1、出现耐药突变,如T790M突变;2、旁路激活,如c-MET扩增;3、表型改变,如腺癌向小细胞癌转化,EMT;4、下游信号通路激活,如BIM的多态性导致EGFR-TKI的原发耐药。但仍然有40%以上的患者耐药机制不明确,因此,进一步阐明EGFR-TKI耐药性的潜在机制,以提高临床治疗疗效,并制定新的治疗策略具有重要意义。

接受EGFR-TKI治疗的肺腺癌患者肿瘤组织的测序结果显示,Shisa3在EGFR-TKI敏感的患者肿瘤组织中高表达,并与患者好的预后正相关。基于一代和三代EGFR-TKI敏感的肺腺癌细胞PC9,建立了其耐药的细胞株PC9/ER。在耐药细胞中,过表达Shisa3增强了EGFR-TKI的敏感性及肿瘤干细胞特征。动物实验显示增加Shisa3的表达可以逆转肿瘤细胞对于EGFR-TKI的敏感性。而在敏感细胞中,降低Shisa3的表达可以抑制肺癌细胞对靶向药物的敏感性,肿瘤干细胞特性以及加速了小鼠肿瘤细胞生长。分子调控机制研究显示,Shisa3通过与FGFR1/3相结合而抑制Akt/mTOR信号,进而调控对于EGFR-TKI药物敏感性。此项研究有望为逆转TKI耐药提供新的思路,为肺癌治疗提供新的治疗靶点,具有重要的临床意义。

## PU-066

### 宿主肝细胞的衰老促进肝再殖

杨桃,陈佳佳,宋少华,刘清桂,孙宇,王敏君,胡以平,陈费  
海军军医大学

肝细胞移植可以再殖Fah<sup>-/-</sup>小鼠大部分的受损肝脏,而了解其中的具体机制将有助于肝细胞移植治疗在未来的临床应用。我们的研究发现,Fah<sup>-/-</sup>小鼠肝脏中的内源性肝细胞在酪氨酸血症症状期间发生了衰老。这些衰老的肝细胞上调细胞外基质酶的表达,导致细胞外基质成分的降解以及细胞粘附和连接能力的减弱。肝实质由此表现出疏松的组织结构,为移植的外源性肝细胞的植入和扩张提供了空间,因而使移植的肝细胞获得了一定程度的增殖优势。本研究揭示了Fah<sup>-/-</sup>小鼠肝脏完全再生的潜在机制,即肝细胞发生衰老以及由此产生的疏松肝实质为肝脏再殖提供了良好的生长条件,为临床治疗性肝再殖提供了新的解决方案。

## PU-067

### 天冬氨酰氨肽酶通过靶向CD44抑制乳腺癌细胞的增殖,侵袭和干性

耿楠希<sup>1,2,3</sup>,张文宇<sup>1,2,4</sup>,李洋<sup>1,2,3</sup>,李丰<sup>1,2,3</sup>  
1.中国医科大学  
2.教育部细胞生物学重点实验室  
3.细胞生物学教研室  
4.转化医学研究院

天冬氨酰氨肽酶(DNPEP)尽管涉及多种癌症过程,但在乳腺癌中的功能仍然知之甚少。我们研究发现DNPEP在乳腺癌组织中显著下调。DNPEP的过度表达减弱了乳腺癌细胞的增殖、迁移和侵袭能力,而DNPEP缺失则具有相反的效果。临床数据显示,乳腺癌组织中DNPEP水平下降与CD44水平升高具有相关性。进一步研究证实,DNPEP结合并促进CD44泛素-蛋白酶体非依赖性降解,该降解过程依赖于DNPEP的水解酶活性。值得注意的是,过表达的DNPEP抑制了乳腺癌细胞的干性。这些结果揭示了DNPEP在调控乳腺癌进展中的转化潜力。

## PU-068

### PAK5-DNPEP-USP4 信号通路调控乳腺癌的生长和转移

耿楠希<sup>1,2,3</sup>, 李洋<sup>1,2,3</sup>, 王飞<sup>1,2,3</sup>, 邢瑶<sup>1,2,3</sup>, 李丰<sup>1,2,3</sup>

1. 中国医科大学 2. 教育部细胞生物学重点实验室

3. 细胞生物学教研室

p21 活化激酶 5 (PAK5) 尽管与临床上多种癌症的进展相关, 但在乳腺癌中的生物学功能仍然存在诸多未知。我们研究揭示了 PAK5-天冬氨酰氨肽酶 (DNPEP) -泛素特异性蛋白酶 4 (USP4) 信号通路参与乳腺癌进程调控。我们发现 PAK5 与 DNPEP 相互作用并磷酸化 DNPEP 的丝氨酸 119 位点。进一步实验证实过表达 DNPEP 能够抑制乳腺癌细胞的增殖和侵袭。在体实验证明过表达 DNPEP 抑制乳腺癌细胞的生长和转移。此外, 我们证实了 USP4 为 PAK5-DNPEP 途径的下游靶标, DNPEP 介导 USP4 的下调。重要的是, 我们发现 DNPEP 在乳腺癌组织中呈低表达, 并且与 PAK5 和 USP4 的表达呈负相关。PAK5 通过泛素-蛋白酶体途径降解 DNPEP 蛋白。与此前结果一致, 针对临床乳腺癌标本的分析结果显示 PAK5 和 USP4 水平显著增加, 并且 PAK5 和 USP4 高表达与乳腺癌患者存活率较差之间存在关联。这些发现表明 PAK5 控制的信号通路在乳腺癌进程中发挥关键作用。

## PU-069

### PI3K 抑制剂联合 MTH1 抑制剂对肿瘤增殖协同抑制作用及机制研究

陈真, 周婷婷, 林凡

南京医科大学

**目的** 脑胶质母细胞瘤、肺癌等肿瘤中磷脂酰肌 3-激酶 (PI3K) 频繁地被异常激活, 令肿瘤细胞增殖、生长加速, 然而 PI3K 抑制剂单药迄今尚未显示出令人满意的临床效果。本项目通过靶向药物文库的筛选等方法来寻找与 PI3K pan 抑制剂 BKM120 产生协同效应的小分子化合物, 为 PI3K 抑制剂原发性耐药的肿瘤治疗提供新思路。

**方法** 在脑胶质瘤耐药细胞系 U251 上使用 BKM120 1 $\mu$ M 和或 Selleck 小分子靶向药物文库 10 $\mu$ M 处理 72h 进行筛选, 用 Alamar Blue、克隆形成、3D 培养、彗星实验、流式细胞术观察对照组、单药组和联合组对不同类型肿瘤细胞活性、增殖和 DNA 损伤修复的影响, CompuSyn 计算协同效应指数 (Confidence interval, CI), Western Blot 分析 PI3K/AKT/mTOR 通路、DNA 损伤相关蛋白表达情况。

**结果** Alamar Blue、克隆形成、3D 培养显示 BKM120 和 TH588 不同浓度组合下, 联合组细胞生长率、集落形成数、成球大小较单药组及对照组均明显减少 ( $P < 0.01$ )。彗星实验显示细胞拖尾长度占细胞长度的比例对照组 (3.50 $\pm$ 0.15)%, BKM120 组 (3.94 $\pm$ 0.77)%, TH588 组 (5.47 $\pm$ 1.19)%, 联合组 (9.52 $\pm$ 1.10)%, 流式细胞术检测  $\gamma$ -H2AX 阳性细胞率对照组 (31.2 $\pm$ 1.56)%, BKM120 组 (41 $\pm$ 0.72)%, TH588 组 (42.13 $\pm$ 1.79)%, 联合组 (56.2 $\pm$ 0.61)%, 联合组均较单药组及对照组增高 ( $P < 0.01$ )。CompuSyn 分析证实, pan-PI3K 抑制剂 BKM120、GDC0941 联合 MTH1 抑制剂 TH588、TH287 对脑胶质瘤细胞 U251、LN229, 肺癌细胞 H460、PC9 抑制细胞增殖均有协同作用, 协同指数小于 1。Western Blot 分析显示, 经 BKM120 处理后, U251、LN229 细胞可见 MTH1 蛋白的表达水平上调, 人正常肺上皮细胞 2B 细胞中未出现上调。

**结论** BKM120 通过抑制细胞增殖、损伤细胞 DNA 来诱导 MTH1 上调, 而联合 BKM120 与 MTH1 抑制剂 TH588 后加剧了 DNA 损伤, 从而协同抑制肿瘤细胞的生长。上述结果为临床使用 PI3K 与 MTH1 抑制剂治疗脑胶质瘤等恶性肿瘤提供了依据。

## PU-070

## FOSL1 参与结肠癌增强子激活过程的研究

李启东,程天乐,宋旭红,梁斌,黄东阳  
汕头大学医学院

结肠癌是世界范围内高发的恶性肿瘤之一,阐明发病的分子机制对理解结肠癌发生的原因具有重要意义。越来越多证据表明增强子参与细胞分化以及疾病和癌症的发展过程中。但目前其作用机制仍不清楚,因此我们通过结肠癌为背景,研究到底是何种因素通过影响增强子活跃程度进而调控结肠癌细胞内基因的转录。

在我们的研究中,首先使用机器学习算法 ChromHMM 对 ENCODE 中 14 种 HCT116 的 ChIP-seq 数据进行分析,该算法将全基因组的染色质状态划分为 22 种,并且能精确地注释出结肠癌增强子区,其中包括多个已被证实的结肠癌增强子区域。为探究增强子对结肠癌基因细胞中基因表达的调控作用,我们利用 PIQ 算法对结肠癌的先导转录因子进行预测,在联合 ChromHMM 结果后最终筛选出 19 个偏好结合于增强子区域的先导转录因子,它们的功能与结肠癌的关键基因集显著相关。进一步地,通过增强子区的 motif 分析以及 ChromHMM-PIQ 联合分析均提示 AP-1 转录因子在结肠癌的基因转录调控中可能充当着重要的角色。TCGA 病例的转录组差异分析发现,在 FOSL1 是 AP-1 家族中唯一的表达量有显著差异的基因,该结果在结肠癌细胞模型中同样得到验证。另外, FOSL1 的结合位点与增强子的活性修饰相关程度高于 C/EBP $\beta$ 。因此,我们在结肠癌细胞株 HCT116 中使用 CRISPR-Cas9 技术敲除 FOSL1 基因,结果发现敲除的细胞内 H3K4me1 和 H3K27ac 的总体水平都下降,并且在这两种修饰在 FOSL1 结合的增强子位点附近下降程度更显著;敲除后细胞的迁移和侵袭能力也显著下降。

综上所述,我们研究表明,结肠癌基因的正常表达与增强子活跃程度密切相关,AP-1 偏好结合于增强子。同时,我们首次证明了 FOSL1 与增强子的活跃程度相关,并影响结肠癌的迁移和侵袭能力。

## PU-071

## 降低可溶性钙结合蛋白逆转卵巢癌紫杉醇耐药

张劲国,许国雄  
复旦大学附属金山医院

卵巢癌发病率位于女性生殖系统的第三位,但在妇科肿瘤中致死率最高。目前卵巢癌一线治疗方案为肿瘤减灭术辅以铂类联合紫杉醇化疗,但易复发和耐药。我们的研究目的是寻找可靠的耐药标志物以及逆转耐药的有效靶点,并探究其耐药发生的调控机制。应用基因表达谱芯片和蛋白组学对比 OVCAR-3 (紫杉醇敏感) 和 OV3R-PTX (紫杉醇耐药) 细胞系,我们发现可溶性钙结合蛋白在 OV3R-PTX 中高表达。通过沉默可溶性钙结合蛋白,我们发现 OV3R-PTX 细胞的增殖能力减弱,细胞周期发生 G1 期阻滞,周期蛋白 CyclinD1 和 CyclinE1 表达下降,细胞迁移和侵袭能力下降,细胞凋亡率增加;细胞活力检测显示耐药细胞对紫杉醇的敏感性增加;干细胞成球实验表明卵巢癌干细胞样细胞的成球能力受到抑制,并且干性标志物 CD44,CD133 ALDH1a1 等表达下降。生物信息学分析发现 has-miR-142-5p 靶向调控可溶性钙结合蛋白,双荧光素酶报告实验证明 miR-142-5p 直接结合可溶性钙结合蛋白的 3-UTR。进一步实验发现 miR-142-5p 在耐药细胞中呈低表达,证实耐药细胞的增殖、迁移侵袭和耐药表型部分是通过下调可溶性钙结合蛋白介导。应用 Jaspas 数据库我们预测在 Pre-miR-142 启动子上存在潜在的转录因子 ZEB1 的结合位点,蛋白水平发现 ZEB1 在耐药细胞表达升高,敲减 ZEB1 后 Pri-miR-142 的表达升高,可溶性钙结合蛋白的表达下降;下调 miR-142-5p 部分回复可溶性钙结合蛋白的表达。本研究首次揭示了 ZEB1/miR-142-5p/可溶性钙结合蛋白信号轴在卵巢癌紫杉醇耐药发生的作用,为逆转卵巢癌耐药提供有效靶点和基础实验证据。

## PU-072

### 抗癌生物活性肽通过 Hedgehog 信号通路 抑制肺癌细胞增殖和诱导凋亡的作用及机制

苏依拉其木格,苏秀兰  
内蒙古医科大学附属医院

**目的** 探讨抗癌生物活性肽 (Anticancer biological activity peptide, ACBP) 对人肺癌 NCI-H226、NCI-H460、NCI-H1299、A549 和 A549/DDP 细胞 hedgehog 信号通路的影响, 进一步明确 ACBP 的抗肿瘤机制。

**方法** 体外分别培养五株人肺癌细胞, 采用 MTT 比色法检测 ACBP 对肺癌细胞生长增殖的抑制作用; 细胞苏木精-伊红 (HE) 染色、Annexin-V/PI 染色、细胞迁移-划痕实验、流式细胞术 (FCM) 等技术检测细胞形态、细胞膜结构、细胞凋亡、细胞迁移能力和细胞周期的改变; 应用 Western-Blot 方法检测 Gli2 和 Gli3 的蛋白表达, 荧光定量 PCR 方法检测 Gli2、Gli3 和 miR-132/212 基因的表达变化。

**结果** ①MTT 检测显示, ACBP 对肺癌细胞生长增殖具有较强的抑制作用, 并呈浓度-效应依赖性。②细胞 HE 染色显示: ACBP 和 ACBP/5-Fu 组处理细胞 24h 后, 细胞形态出现明显的凋亡特征。③细胞迁移-划痕实验可见, 与对照组比较, 各组药物作用 20h 后, 均呈现抑制肺癌细胞迁移能力的作用。④FCM 检测发现, 经 ACBP 和 ACBP/5-Fu 处理细胞 24h 后, Annexin-V/PI 双染结果显示细胞发生的凋亡率较对照组增多 ( $P < 0.01$ )。FCM 分析各组细胞周期变化显示, 作用 24h 后, 各组均显示阻滞细胞周期于  $G_0/G_1$  期的变化。⑤Western-Blot 检测发现, 与对照组比较, ACBP 和 ACBP/5-Fu 处理细胞 24h 后, 肺癌细胞 Gli2 蛋白表达降低 ( $P < 0.01$ ), Gli3 蛋白表达增加 ( $P < 0.01$ )。5-Fu 组处理细胞 24h 后, 与对照组比较, Gli2 和 Gli3 蛋白表达没有变化。⑥荧光定量 PCR 检测发现, ACBP 和 ACBP/5-Fu 组 Gli2 基因表达降低 ( $P < 0.01$ ), Gli3 基因表达增加 ( $P < 0.01$ ), miR-132 和 miR-212 基因表达均降低 ( $P < 0.01$ )。5-Fu 组处理细胞 24h 后, 与对照组比较, Gli2、Gli3 和 miR-132/212 基因表达变化小。

**结论** (1) ACBP 对分化不同的人肺癌 NCI-H226、NCI-H460、NCI-H1299、A549 和 A549/DDP 细胞有显著的生长增殖抑制作用, 其机制可能通过抑制人肺癌细胞 hedgehog 信号通路而诱导其凋亡, 阻滞细胞周期; ACBP 通过有效抑制肺癌细胞 miR-132/212 家族的表达, 间接作用于肺癌细胞 hedgehog 信号通路, 抑制肺癌细胞转移; ACBP 与 5-Fu 联合用药可增加 5-Fu 对分化不同的人肺癌 NCI-H226、NCI-H460、NCI-H1299、A549 和 A549/DDP 细胞的增殖抑制作用, 研究为经典的化疗药物 5-Fu 联合生物制剂的应用提供科学数据。

## PU-073

### Roles of RBP-Jk in the endothelial-mesenchymal transition and neointimal hyperplasia in AVFs

林鑫<sup>1</sup>, 曾惜<sup>1</sup>, 李冰玉<sup>2</sup>, 王志<sup>1</sup>, 赵祉颖<sup>1</sup>, 刘杨东<sup>2</sup>, 王韵<sup>1</sup>  
1. 陆军军医大学基础医学院  
2. 重庆医科大学第一附属医院血管外科

Patients with chronic kidney disease (CKD) usually establish hemodialysis access through arteriovenous fistula (AVF) surgery, but AVF often fails due to neointimal hyperplasia and subsequent thrombosis. Endothelial cells (EC) injury and dysfunction play a key role in the process of neointimal hyperplasia. Our studies found that CKD aggravates neointimal hyperplasia through promoting the endothelial-mesenchymal transition (EndMT). We also found that CKD activates the Notch signals, a conservative signaling pathway which is involved in multiple

aspects of vascular development. RBP-Jk is an important transcription factor in Notch signaling pathway. We analyzed the promoter region of human FSP-1 and found that there has RBP-Jk binding sites located at the promoter of FSP-1. These data suggested that activated Notch signaling may promote EndMT by inducing the expression of FSP-1 in ECs. We conclude that Notch activation is a critical step to enhance EndMT and result in the failure of AVFs, which suggest us that inhibiting Notch signaling will yield strategies to patency of AVFs in CKD. (This work was supported by the Student's Platform for Innovation and Entrepreneurship Training Program [Grant No. 201990031038], the National Natural Science Foundation Project of China [Grant No. 201990031038]).

## PU-074

### 生物活性肽调控 LncRNA 抑制胃癌增殖、迁移的机制研究

李翠霞,苏秀兰

内蒙古医科大学附属医院临床医学研究中心

**目的** 胃癌是最常见的消化道肿瘤之一,具有高发病率和死亡率。目前,胃癌的治疗仍未能取得满意的效果,为寻找更有效的靶向药物需要更深入的研究。本课题组长期研究从山羊肝中提取的一种新型抗肿瘤剂(ACBP),既往研究表明 ACBP 明显抑制肿瘤细胞增殖,诱导细胞凋亡等功能。本研究主要开展 ACBP 通过调控 LncRNA 抑制胃癌细胞功能及机制研究。

**方法** 应用转录组学测序分析 ACBP 处理胃癌细胞 MKN-45 后的明显差异 LncRNAs,应用 RT-qPCR 方法检测 ACBP 处理胃癌细胞后 MIR22HG 的表达变化;CCK8 及 Edu 检测不同浓度的 ACBP 与敲降及过表达 MIR22HG 抑制胃癌细胞的增殖作用;通过 Matrigel 侵袭及 transwell 迁移实验方法观察 ACBP 及敲降及过表达 MIR22HG 对胃癌细胞迁移侵袭的影响;通过流式细胞检测仪检测 ACBP 及 MIR22HG 敲降及过表达对胃癌细胞凋亡及周期的影响;荧光素酶报告基因实验验证 MIR22HG 与 miR-9-3p 是否结合;建立斑马鱼胃癌肿瘤模型,ACBP 处理后观察肿瘤增殖及迁移情况。

**结果** 通过转录组学结合生物信息学分析获得一条明显差异表达的 LncRNA MIR22HG;ACBP 处理胃癌细胞 24h、36h、48h 后通过 RT-qPCR 检测结果表明在 36h 时更具有差异性。与对照组相比,15、20、25ug/ml 的生物活性肽能够明显抑制胃癌 MKN45、MGC803 细胞的增殖,呈剂量依赖性( $p<0.05$ );transwell 迁移实验结果表明 20ug/ml ACBP 明显抑制胃癌 MKN45、MGC803 细胞的迁移( $p<0.05$ )。Matrigel 侵袭实验结果说明 20ug/ml ACBP 明显抑制胃癌 MKN45、MGC803 细胞的侵袭能力( $p<0.05$ ),流式细胞检测仪检测 20ug/ml ACBP 可以明显对胃癌 MKN45、MGC803 细胞具有周期阻滞作用,并诱导胃癌 MKN45、MGC803 细胞的凋亡( $p<0.05$ );荧光素酶报告基因实验表明 MIR22HG 可以竞争性结合 miR-9-3p;以 0.1ug/ml ACBP 接种建立斑马鱼胃癌模型,发现 ACBP 明显抑制胃癌的增殖及迁移。

**结论** ACBP 通过调控 MIR22HG 竞争性结合 miR-9-3p 抑制 CAPZA1 表达进而抑制胃癌细胞增殖、迁移。

## PU-075

### PAK4-CEBPB-CLDN4 信号轴促进乳腺癌细胞的侵袭和迁移

王飞,李丰

中国医科大学

**目的** 紧密连接蛋白 CLDN4 在乳腺癌组织和细胞中异常高表达,并参与肿瘤的侵袭和转移过程。蛋白激酶 PAK4 是肿瘤信号转导网络的关键调节因子,参与细胞生长、代谢、运动等生理过程。



PAK4 促进乳腺癌转移的分子机制,尚不明确。研究 PAK4 与 CLDN4 之间的相互作用,有利于阐明乳腺癌转移的新机制,并为乳腺癌的治疗提供新的靶点。

**方法** 免疫组织化学染色法检测 135 例乳腺癌肿瘤组织中 PAK4 和 CLDN4 的蛋白表达。Pearson 相关系数法分析 TCGA 数据库和 135 例乳腺癌组织中 PAK4 和 CLDN4 的表达相关性。shRNA 基因沉默、Western Blot 和 Real-time PCR 法检测乳腺癌细胞中 PAK4 对 CLDN4 的表达调控。Transwell 实验检测乳腺癌细胞的侵袭和迁移能力。荧光素酶报告基因实验和染色质免疫共沉淀实验检测 CEBPB 与 CLDN4 启动子的结合。染色质免疫共沉淀实验检测 PAK4 对 CEBPB 与 CLDN4 启动子结合能力的影响。蛋白免疫共沉淀实验检测乳腺癌细胞中 PAK4 与 CEBPB 的结合。Western Blot 检测 PAK4 对 CEBPB 磷酸化水平的调控。

**结果** 乳腺癌组织中 PAK4 表达与 CLDN4 表达显著正相关。在乳腺癌细胞中沉默 PAK4 后,CLDN4 表达显著下调,肿瘤细胞的侵袭和迁移能力显著下降。而过表达 CLDN4 能够抑制由 PAK4 敲低引起的细胞侵袭和迁移能力的下调。转录因子 CEBPB 直接结合在 CLDN4 启动子第-1093 到-991 区域并直接调控 CLDN4 转录。PAK4 能够促进 CEBPB 对 CLDN4 的转录调控。乳腺癌细胞中 PAK4 与 CLDN4 存在内源性结合,且 PAK4 能够增强 CEBPB 第 235 位苏氨酸的磷酸化。

**结论** PAK4 通过增强 CEBPB 磷酸化介导 CLDN4 表达上调,促进乳腺癌细胞的侵袭和迁移。PAK4-CEBPB-CLDN4 信号轴可做为乳腺癌的诊断标志物和治疗靶点。

## PU-076

### 生物活性肽介导 miR-1915-3p 抑制胃癌干性细胞生长的机制研究

崔宏伟,苏秀兰

内蒙古医科大学附属医院

**目的** 探讨生物活性肽通过 miRNAs 抑制胃癌干性细胞生长的作用机制,为生物活性肽的抗肿瘤研究提供实验依据。

**方法** miRNAs 芯片表达谱筛选生物活性肽作用后胃癌细胞差异表达显著的 miR-1915-3p 为研究对象,q RT-PCR 及 miRNAs 组织芯片验证 miR-1915-3p 在胃癌细胞及组织中的表达与定位,并开展胃癌组织中 miRNA-1915-3p 的表达与病理特征的相关性分析;采用流式细胞术分选细胞表面标记物 CD44 标记阳性的 MKN45 细胞为研究对象,利用活细胞工作站、细胞周期及凋亡检测试剂盒分别分析生物活性肽对胃癌干性细胞生物学行为的影响;双荧光素酶报告基因实验验证生物信息学方法预测的 miR-1915-3p 与靶基因 Bcl-2 结合情况;生物活性肽对 miR-1915-3p 过表达/敲减、共转染质粒 miR-1915-3p/pCMV3-OFPSpark-Bcl-2 后靶基因 Bcl-2 及 Bcl-2 蛋白家族表达的影响。

**结果** miR-1915-3p 在胃癌组织及不同分化的胃癌细胞中的表达降低,且与 TNM 分期、远处淋巴结转移及预后相关;生物活性抑制胃癌干性细胞增殖、促进凋亡;阻滞细胞周期于 S、G2/M 期。生物活性肽干预后抑制转染 miR-1915-3p mimics 与 miR-1915-3p inhibitor 组细胞增殖,促进细胞凋亡,阻滞细胞周期于 G2/M 期;生物活性肽降低转染 miR-1915-3p 胃癌干性细胞中 Bcl-2、Bcl-xl 及 Mcl-1 的表达,促进 Bax 及 Bak 表达;

**结论** 生物活性肽抑制胃癌干性细胞的增殖、促进凋亡,阻滞细胞周期于 S、G2/M 期的作用,可能与上调 miR-1915-3p 的表达,从而下调抗凋亡蛋白 Bcl-2、Bcl-xl、Mcl-1 的表达,上调促凋亡蛋白 Bax、Bak 的表达相关。

## PU-077

### MORC2 通过 Sumoylation 调节 C/EBP $\alpha$ 介导的细胞分化

刘佳,张清,阮班来,陈薇,郑建宇,徐步轩,姜佩佳,王桂玲  
中国医科大学

CCAAT/增强子结合蛋白  $\alpha$  (C/EBP $\alpha$ ) 是 C/EBP 蛋白家族的成员, 含有高度保守的转录激活结构域和亮氨酸拉链结构域, 其中 Sumoylation 位点 (K161) 位于转录激活结构域 III (TE-III) 内。研究表明 C/EBP $\alpha$  的 Sumoylation 修饰对 C/EBP $\alpha$  介导的细胞由分化状态向增殖状态的转变至关重要, 且在肿瘤细胞中, 其作用机制尚不清楚。MORC2 是含有锌指结构域的 MORC 蛋白家族的成员之一, 主要定位在细胞核。研究表明 MORC2 具有参与染色体重建、转录抑制及肿瘤发生的功能。我们研究发现 MORC2 能与 C/EBP $\alpha$  的转录激活域 (TE-III) 相互作用, 并且 MORC2 过表达促进了野生型而不是突变体 (C/EBP $\alpha$ K161R) 的 Sumoylation 的修饰及降解。同时发现 MORC2 的过表达抑制了 C/EBP $\alpha$  介导的 C2C12 细胞分化, 促进细胞增殖。在不同分化等级的胃癌组织中, 发现随着分化等级的降低, C/EBP $\alpha$  表达随着减少, 而 MORC2 表达逐渐增多; 并且 MORC2 过表达与临床胃癌患者的侵袭性表型和生存期缩短显著相关。综上所述, 我们的研究表明 MORC2 的表达通过 Sumoylation 调节 C/EBP $\alpha$  介导的分化/增殖的开关, 影响其蛋白稳定性导致细胞由分化向增殖恶性转化和肿瘤发生。

## PU-078

### SuperPATH 入路与传统后侧入路行全髋关节置换术疗效差异的 Meta 分析

车先达,李鹏翠  
山西医科大学第二医院

**目的** 通过 Meta 分析比较 SuperPATH 与常规后路手术治疗全髋关节置换术的临床疗效。  
**方法** 检索包括国内外 2016 年至 2018 年已发表的临床对照研究。所检索的数据库包括 Embase、Pubmed、Central、Cinahl、PQDT、Cochrane Library、中国知网、维普、万方、CBM 等数据库。在提取数据后, 使用 Review Manager 5.3 软件进行数据分析, 以比较 SuperPATH 方法与传统后路方法在全髋关节置换术方面的差异。  
**结果** 依据以上检索策略, 共检索到相关文献 31 篇, 并最终纳入 16 篇文献。通过比较发现, 在行全髋关节置换术时, SuperPATH 入路术后 Harris 髋关节评分[95% CI (3.34, 5.90),  $P < 0.001$ ]及手术所需时间[95% CI (3.30, 20.26),  $P = 0.007$ ]超过传统的后外侧入路, 差异具有统计学意义。而 SuperPATH 入路术后髋关节活动度[95% CI (1.28, -1.40),  $P < 0.001$ ], 术后 VAS 评分[95% CI (-2.99, -1.49),  $P < 0.001$ ], 手术切口长度[95% CI (-7.00, -4.70),  $P < 0.001$ ], 手术失血量[95% CI (-131.97, -92.87),  $P < 0.001$ ]及术后首次负重时间[95% CI (-93.94, -64.55),  $P < 0.001$ ]小于常规后外侧入路组, 差异具有统计学意义。  
**结论** SuperPATH 入路较传统后外侧入路行全髋关节置换术具有更好的治疗效果, 尤其是 Harris 髋关节评分, VAS 评分, 手术切口长度, 手术失血量及术后首次负重时间等方面。

## PU-079

### MTHFR C677T 基因多态性与同型半胱氨酸水平的协同效应增加了缺血性脑卒中的发病风险

刘富泳,刘阳  
郑州大学基础医学院

**背景** 同型半胱氨酸 (Hcy) 在血管功能及缺血性脑卒中 (IS) 的发病机制中发挥着重要作用。MTHFR 基因多态性可通过影响 Hcy 的代谢途径从而影响 IS 的发病风险。本研究采用病例-对照研究来评估中国人群的 MTHFR C677T 多态性、血浆 Hcy 水平与 IS 易感性之间的关系。

**方法** 共招募 300 名 IS 患者和 261 名正常对照。采用循环酶法测定血浆 Hcy 浓度。使用 PCR-RFLP 的方法对 MTHFR C677T 的多态性进行基因分型。

**结果** 与对照组相比, IS 患者血浆 Hcy 水平显著升高 ( $P < 0.05$ )。经过校正后, IS 组 MTHFR C677T 的 T 等位基因频率 (54%) 显著高于对照组 (38.3%) ( $P < 0.05$ ; OR = 1.890, 95%CI: 1.489-2.399)。此外, TT 基因型的血浆 Hcy 水平显著高于 CC 和 CT 基因型 ( $P < 0.05$ )。

**结论** 高同型半胱氨酸血症 (HHcy)、MTHFR C677T 多态性与 IS 存在相关性。并且 MTHFR C677T 基因多态性与同型半胱氨酸水平的协同效应增加了缺血性脑卒中的发病风险。

## PU-080

### 伊洛前列素通过抑制 ILC2s 的增殖及功能活化减轻早期炎症反应

张照婧,杨柳,蒋莉莉,完颜媛媛,袁方,贺颖,李付广,程晓丽  
郑州大学基础医学院

**目的** 探讨伊洛前列素 (iloprost) 通过抑制 2 型固有淋巴细胞 (Group 2 innate lymphoid cells, ILC2s) 的增殖和功能活化, 从而减轻 ILC2s 在气道炎症早期发挥的促炎效应。

**Purpose:** To investigate iloprost reduced the inflammatory responses by inhibits the proliferation and functional activation of group 2 innate lymphoid cells(Group 2 innate lymphoid cells, ILC2s).

**方法** 选用 C57BL/6J 退役雌鼠, 采用密度梯度离心法结合磁珠分选法分离小鼠谱系阴性 (Lineage-) 淋巴细胞; 流式细胞术分选出 Lineage-KLRG-1+Sca-1+细胞, 即 ILC2s。将分选所得 ILC2s 分为 vehicle 组、IL-33 组、IL-33+伊洛前列素组和单独伊洛前列素组, 培养 72h。细胞计数检测不同组细胞数, 胞内染色检测分组培养 72h 后 ILC2s 核内 Ki-67 蛋白、转录因子 GATA3 表达情况及信号转导及转录因子 5 (STAT5) 磷酸化水平; ELISA 检测细胞培养上清中 IL-5、IL-13 分泌量; 实时荧光定量 PCR 检测 ILC2s 中 IL-5、IL-13、GATA3、PPAR $\gamma$  的 mRNA 表达量。

**结果** 与介质组相比, IL-33 组 ILC2s 细胞数目明显增多 ( $p < 0.05$ ), IL-33+伊洛前列素组的细胞数目明显减少 ( $p < 0.05$ ); IL-33+伊洛前列素组较 IL-33 组, ILC2s 核内 Ki-67、GATA3 表达量明显减少 ( $p < 0.05$ ), STAT5 磷酸化水平降低 ( $p < 0.05$ ); IL-33+伊洛前列素组的细胞培养上清中 IL-5、IL-13 水平较 IL-33 组明显降低 ( $p < 0.05$ ), 且实时荧光定量检测发现 IL-33+伊洛前列素组 ILC2s 内 IL-5、IL-13、GATA3 的 mRNA 表达量较 IL-33 组 ILC2s 明显降低 ( $p < 0.05$ ), 而 IL-33+伊洛前列素组 ILC2s 内 PPAR $\gamma$  的 mRNA 表达量较 IL-33 组 ILC2s 明显升高 ( $p < 0.05$ )。

**结论** IL-33 可明显促进 ILC2s 的增殖与功能活化, 而伊洛前列素能够明显抑制由 IL-33 刺激导致的 ILC2s 的细胞增殖, 并且能够明显抑制 ILC2s 分泌 2 型细胞因子的量, 减轻 ILC2s 在过敏性哮喘发生早期发挥的促炎作用。

## PU-081

### DNA 甲基化和 miRNAs 对缺血性脑卒中外周血 ALOX5AP 基因表达的表现遗传调控

张照婧<sup>1</sup>,刘富泳<sup>1</sup>,别小帅<sup>1</sup>,王远丽<sup>1</sup>,李艾帆<sup>2</sup>,王小鸥<sup>1</sup>,徐丽妍<sup>3</sup>,张旭冉<sup>4</sup>,赵会玲<sup>1</sup>,王君<sup>1</sup>,刘阳<sup>1</sup>,姚启慧<sup>1</sup>,董慧<sup>1</sup>,徐妍<sup>1</sup>,郑红<sup>1</sup>,贺颖<sup>1</sup>

- 1.郑州大学基础医学院医学遗传与细胞生物学系
- 2.郑州市第一人民医院神经内科
- 3.河南省人民医院, 省立眼科医院
- 4.4. 河南中医药大学第一附属医院, 检验科

ALOX5AP 基因已被证实为缺血性脑卒中 (Ischemic stroke, IS) 的独立风险基因, 但该基因的表达调控机制尚不明确。本研究旨在探讨 DNA 甲基化和 miRNAs 对 ALOX5AP 基因表达的表现遗传调控机制。首先, 我们采用荧光定量 PCR (Real-time quantitative PCR, Real-time PCR) 对 IS 组和健康对照组之间 ALOX5AP 基因的表达差异进行了检测与分析, 结果显示 IS 组 ALOX5AP 基因表达量较健康对照组明显提高 ( $P < 0.05$ )。随后, 我们通过 MethylTarget 目的区域甲基化测序的方法检测 ALOX5AP 基因启动子区 17 个 CpG 位点的甲基化状态, 但结果显示该基因启动子区的甲基化水平在两组之间并不存在显著性差异 ( $P > 0.05$ )。为进一步探究 ALOX5AP 基因表达调控机制, 我们通过数据库预测得到 miR-335 和 miR-495 可能作用于 ALOX5AP mRNA 的 3'-UTR 区, 并调控 ALOX5AP 基因的表达。同时荧光定量 PCR 结果显示 IS 组中 miR-335 和 miR-495 表达量显著低于健康对照组 ( $P < 0.05$ )。最后, 双荧光素酶报告基因实验显示共转染 miRNA mimic 和野生型报告基因的实验组, 其荧光素酶活性显著低于其他实验组 ( $P < 0.05$ ), 这表明 miR-335 和 miR-495 可以结合 ALOX5AP 基因的 3'-UTR 区, 从而调控该基因的表达。

## PU-082

### APC 在人肝癌细胞系脂肪代谢过程中对线粒体的影响

刘静,林国南  
首都医科大学基础医学院

**目的** 观察在人肝癌细胞系脂肪代谢过程中, 腺瘤样结肠息肉基因 (adenomatous polyposis coli, APC) 对细胞中线粒体的影响。

**方法** 给人肝癌细胞 (BEL-7402) 转染 APC 基因敲减质粒, 并用油酸 (oleic acid, OA) 刺激各组细胞, 使细胞中产生脂质堆积。使用油红 O 染色法检测各组细胞中脂质堆积的情况; 使用 ATP 含量检测试剂盒检测各组细胞中的 ATP 含量; 使用荧光探针标记法检测各组细胞内氧自由基 (reactive oxygen species, ROS) 的含量。

**结果** 给细胞转染 APC 敲减质粒后, APC 基因的 mRNA 表达量降低 ( $P < 0.05$ ), 蛋白表达也降低 ( $P < 0.05$ ); 与对照组细胞相比, APC 基因敲减组细胞添加油酸刺激后细胞内脂质堆积减少 ( $P < 0.05$ ), ATP 含量增高 ( $P < 0.05$ ), 细胞内氧自由基数量降低 ( $P < 0.05$ )。

**结论** 在人肝癌细胞系脂质代谢过程中, APC 可以影响细胞中线粒体的生理功能, 当敲减 APC 基因后, 在人肝癌细胞系脂质代谢过程中对线粒体的生物学功能具有保护作用。

**关键词:** 脂肪肝细胞; 腺瘤样结肠息肉基因; 线粒体

## PU-083

### CYBA 基因在先兆子痫胎盘组织中的表达及作用机制研究

李慧  
青岛大学附属医院

**目的** 本文旨在探究编码烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸氧化酶 p22phox 亚基的 CYBA 基因在先兆子痫孕妇胎盘中的表达及可能的作用机制，为先兆子痫的发病机理提供新的理论依据。

**方法** 首先分别应用荧光定量 PCR 和 Western-blot 检测先兆子痫和对照组胎盘中 CYBA 基因 mRNA 和蛋白质的表达情况，其次分别检测在氯化钴和 TNF- $\alpha$  刺激的 HTR-8 / Svneo 细胞中 CYBA 基因 mRNA 的表达情况。最后，应用 Graphpad Prism 软件进行数据分析， $P < 0.05$  表示差异有统计学意义。

**结果** 先兆子痫胎盘中 CYBA 基因 mRNA 和蛋白表达明显增加，分别用氯化钴和 TNF- $\alpha$  刺激 HTR-8 / Svneo 细胞 24 小时后 CYBA 基因 mRNA 表达也增加 ( $P < 0.05$ )。

**结论** CYBA 基因可能在先兆子痫的氧化应激发病机制中起作用，其作用可能与 TNF- $\alpha$  相关的炎症通路有关。

## PU-084

### 糖尿病微血管病变患者红细胞能量代谢改变及其机制的研究

孙明玥,苏燕  
内蒙古科技大学包头医学院

**背景** 糖尿病微血管病变患者红细胞的变形能力降低是微血管病变的发病基础，而红细胞能量代谢是维持红细胞变形能力的主要因素之一，越来越多的临床研究发现糖尿病微血管病变患者红细胞能量代谢发生改变，但其机制尚不明确。

**目的** 探讨糖尿病微血管病变患者红细胞能量代谢改变与糖尿病微血管病变之间的关系。

**方法** 选取 80 名至少合并一种微血管病变的糖尿病患者与 20 名体检健康正常人，测定其红细胞内 ATP 含量、己糖激酶 (HK) 活性、丙酮酸激酶 (PK) 活性、活性氧含量及红细胞衰亡率。采用独立样本 t 检验，单因素方差分析和卡方检验进行组间变量比较。

**结果** 糖尿病微血管病变患者组的红细胞内 ATP 含量 ( $8422 \pm 105.7$ ) 明显高于正常人组 ( $6719 \pm 191$ )，差异具有统计学意义 ( $P < 0.0001$ )；糖尿病微血管病变患者组的红细胞 HK 活性 ( $15.32 \pm 0.7664$ ) 与正常人组 ( $15.34 \pm 1.958$ ) 之间没有明显变化，差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )；糖尿病微血管病变患者组的红细胞 PK 活性 ( $201.8 \pm 15.16$ ) 明显高于正常人组 ( $91.73 \pm 11.42$ )，差异具有统计学意义 ( $P < 0.0001$ )；糖尿病微血管病变患者组红细胞内 ROS 含量 ( $4799 \pm 328.2$ ) 明显高于正常人组 ( $2406 \pm 244.3$ )，差异具有统计学意义 ( $P < 0.0001$ )；糖尿病微血管病变患者组的红细胞衰亡率 ( $5.551 \pm 0.356$ ) 明显低于正常人组 ( $8.355 \pm 0.513$ )，差异具有统计学意义 ( $P < 0.0001$ )。

**结论** 糖尿病微血管病变患者体内红细胞内氧化应激增高，能量代谢旺盛，红细胞衰亡减少，可能与高糖损伤红细胞后的代偿性代谢增高有关。

## PU-085

### miR-200 靶向作用于 cMyc 抑制骨肉瘤细胞增殖并促进其凋亡

张龙,孙晓娟,吕智  
山西医科大学第二医院

**目的** 骨肉瘤 (osteosarcoma, OS) 是青少年最常见的原发性恶性骨肿瘤, 恶性程度高、侵袭性强、复发和转移率高。研究表明 cMyc 与癌症发展有密切联系, cMyc 的异常表达能够维持癌细胞的增殖活性。miR-200 可抑制肿瘤细胞活性及表观调控作用, 但在 OS 中作用尚不明确。本文旨在探讨 miR-200 在体外水平对 OS 增殖与凋亡能力的影响以及对转移的作用。

**方法** ①采集 OS 病人术后肿瘤组织及正常骨组织标本, qRT-PCR 检测 miR-200 基因表达水平; 免疫组化检测 cMyc 在 OS 中表达和分布; 转染 miR-200 使其高表达、转染 anti-miR-200 抑制其表达、转染 cMyc siRNA 敲除细胞中 cMyc; 转染后 qRT-PCR 和 Western Blot 分别检测 miR-200 对 cMyc 的调控作用及 OS 细胞的增殖能力。②检测转移相关基因 MMPs 的表达; Luciferase 实验检测细胞中 miR-200 与 cMyc 基因结合位点以及对 cMyc 的抑制作用; 细胞功能学实验 (克隆实验、侵袭试验和流式细胞学实验) 检测 miR-200/cMyc 抑制骨肉瘤细胞的生长转移作用。

**结果** ①qRT-PCR 结果显示 miR-200 在 OS 组织中的表达水平明显低于正常骨组织标本, 并且 cMyc 在 OS 组织中的表达水平高于正常骨组织; 免疫组化结果显示 cMyc 在 OS 组织样本中表达较正常对照组明显增强; miR-200 过表达组 OS 细胞增殖能力较其他组均明显减弱, qRT-PCR 和 Western Blot 结果均显示 miR-200 可抑制 cMyc 的表达。②Western Blot 结果显示 miR-200 过表达组中 MMPs 的表达量低于其他组; 荧光素酶基因报告实验结果提示, miR-200 的上调可以明显降低载有 cMyc 基因 3'-UTR 的荧光报告基因的荧光强度; 克隆实验和侵袭试验结果显示过表达 miR-200 可抑制 OS 细胞增殖和侵袭能力; 流式细胞学检测结果提示 miR-200 可促进 OS 细胞凋亡。

**结论** miR-200 可以靶向作用于 cMyc 基因, 进而抑制 OS 细胞增殖和侵袭能力, 并促进其凋亡。

## PU-086

### 应用光学-断层扫描成像策略揭示移植干细胞的体内命运

鲁凤凤,苏鑫,王超,刘长城,沈晟伟,宋艳祥,姜栋,刘中民,何志颖  
上海市东方医院同济大学附属东方医院

以干细胞为基础的再生医学在临床研究与应用中有着巨大的前景。然而, 目前对干细胞移植体内后的命运转归 (包括分布、存活、细胞清除) 的了解仍不足。探索干细胞在移植体内后的命运转归是挖掘再生过程潜在的机制及达到更好治疗效果的核心问题。由此, 我们结合生物光学成像与断层扫描成像, 建立了双示踪策略来原位观察体内移植的干细胞。生物光学成像是通过萤火虫荧光素酶来识别体内移植的活细胞。常规检测体内移植的活细胞是通过小动物活体成像二维成像系统显示的荧光信号值来判断其趋势。与此不同的是, 我们采用的 Cherenkov 三维成像系统可以检测到真实的体内移植的活细胞的动态变化, 通过精确定量分析统计出移植体内的活细胞的存活及增殖规律。干细胞移植体内后的分布与安全性评估对于干细胞的临床应用是至关重要的。通过结合微计算机断层扫描技术与 Cherenkov 三维活体成像与临床影像分析, 实现了移植体内的活细胞的精确定位, 移植后的干细胞在体内的命运转归及如何进行再生修复。通过此新的光学成像策略可以检测标记好的活细胞在移植体内后的实时动态变化。例如: 应用肝细胞移植治疗肝衰竭小鼠。选取移植后不同时间点, 通过建立的成像策略进行精确的定位与定量分析, 拟合了体内肝细胞移植后的存活、增殖及分布规律。

## PU-087

### 解析内质网应激蛋白转录因子 XBP1S 调控自然杀伤 NK 细胞发育成熟后的免疫功能及相关分子机制

王宇峰<sup>1</sup>,张一博<sup>1</sup>,易萍<sup>2</sup>,董文娟<sup>2</sup>,Nalin AP<sup>2</sup>,张建英<sup>2</sup>,朱正<sup>2</sup>,陈立超<sup>2</sup>,Benson DM<sup>2</sup>,Mundy-Bosse BL<sup>2</sup>,Freud AG<sup>2</sup>,Caligiuri MA<sup>2</sup>,余建华<sup>2</sup>  
1.吉林大学第一医院  
2.俄亥俄州立大学

自然杀伤(NK)细胞是一种先天免疫细胞,是机体对抗感染和肿瘤发生的第一道防线。NK 细胞的发育以及发育成熟后的功能调控是其得以发挥免疫作用的两个关键环节。T-BET、EOMES、SMAD4 等转录因子作为 NK 细胞发育调控的关键分子已经相继被报导(Gordon *et al.*, *Immunity*, 2012; Cortez *et al.*, *Nature Immunology*, 2017; Wang *et al.*, *JCI*, 2019)。然而, NK 细胞发育成熟后,其免疫功能调控的关键分子及相关机制还尚未被了解。我们发现内质网应激蛋白 XBP1S 作为 IL-15 信号下游重要的转录因子,调控原代人 NK 细胞的肿瘤杀伤活性、功能基因的表达及生存。IL-15 通过激活下游 AKT 信号,引起 XBP1S 蛋白去泛素化,导致其在细胞核内积累,进而活化 NK 细胞。另一方面,我们发现 XBP1S 直接结合于 NK 细胞功能性基因颗粒酶 B(Granzyme B, *GZMB*)启动子区域,并利用蛋白间的相互作用募集 T-BET,共同调控 *GZMB* 的基因转录。我们的通过探索 XBP1S 调控 NK 细胞的分子机制,确定其作为 NK 细胞抗肿瘤治疗靶点的生物学功能,为提高 NK 或 CAR-NK 细胞抗肿瘤免疫活性提供了新的策略。

## PU-088

### 硫化氢对博来霉素诱导的肺纤维化的保护作用

徐祎彤<sup>1</sup>,刘宇健<sup>1</sup>,朱晓燕<sup>2</sup>  
1.上海体育学院  
2.中国人民解放军海军军医大学

肺纤维化是一种致死率较高的慢性疾病,特发性肺纤维化患者在确诊后平均只有 3-5 年寿命。迄今为止,仍没有发现能够有效改善肺纤维化疾病患者的生存和生活质量的药物及治疗方法。硫化氢是继 NO 和 CO 后发现的第三种内源性气体分子信号。近年来,多项研究证明 H<sub>2</sub>S 具有抗炎、抗氧化应激和抗衰老等生理学作用。

本实验分别使用含有 BLM, H<sub>2</sub>S, BLM+H<sub>2</sub>S 的培养基处理 L2 (大鼠 II 型肺泡上皮细胞) 细胞 24 小时,后将对照和 BLM 组细胞培养基更换为普通培养基, H<sub>2</sub>S 组细胞更换成相同的新鲜培养基, BLM+H<sub>2</sub>S 组细胞更换为仅含 H<sub>2</sub>S 的培养基, 72 小时后收集上清液作为条件培养基分别处理 NIH3T3 (小鼠成纤维细胞) 细胞 48 小时。

实验结果证明,与对照组相比, BLM 处理过的 L2 细胞 P53 和 P21 的蛋白表达显著增高,而 H<sub>2</sub>S 可以明显降低 P53 和 P21 的浓度表达,单独使用 H<sub>2</sub>S 处理的细胞 P53 和 P21 的表达与对照组无显著性差异。而使用 BLM 组上清作为条件培养基培养的 NIH3T3 细胞 Fibronectin 的蛋白表达明显增高, H<sub>2</sub>S 能够明显抑制 BLM 干预造成的 Fibronectin 的浓度升高。细胞衰老会分泌一系列衰老相关分泌型因子 (SASP),其中包括炎症因子、组织重建蛋白酶及生长因子等。RT-PCR 结果显示, BLM 处理过的 L2 细胞中, MCP-1、Pai1、MMP10 及 TGF- $\beta$  含量显著上升,而 H<sub>2</sub>S 的干预则可以显著降低上述因子的表达。BLM 组上清处理过的 NIH3T3 细胞 Foxm1、Ccnb1、Cdc25b 和 Aurkb 基因含量均明显升高,而 H<sub>2</sub>S 可以能够明显逆转上述因子的增高。说明 H<sub>2</sub>S 能够有效改善由于细胞衰老造成的成纤维细胞增殖。

综合以上实验结果,可以说明在博来霉素诱导的肺纤维化中肺泡上皮细胞衰老会引起成纤维细胞的增殖,而硫化氢可以通过抑制细胞衰老减少成纤维细胞的增殖,从而改善肺纤维化。

## PU-089

### 透视引导与机器人辅助椎弓根置钉疗效的荟萃分析

高阳阳<sup>1</sup>, 车先达<sup>1</sup>, 韩鹏飞<sup>2</sup>, 李鹏翠<sup>1</sup>  
1. 山西医科大学第二医院 (山西红十字医院)  
2. 山西省长治市第二人民医院

**目的** 通过这次 Meta 分析比较机器人辅助与透视引导椎弓根置钉疗效的差异。

**方法** 检索包括 2008 年 12 月至 2018 年 12 月在国内发表的临床对照研究。所检索的数据库包括 Embase、Pubmed、Central、中国知网、维普、万方、CBM 等数据库。检索的关键词为机器人辅助、透视引导、传统徒手、椎弓根螺钉, 检索策略为椎弓根螺钉并且机器人辅助或透视引导或传统徒手。提取数据后, 采用 Review Manager 5.3 软件进行数据分析。

**结果** 依据以上检索策略, 共检索到 1515 篇相关文献, 并最终将 6 篇文献纳入。通过对结果的统计分析发现, 机器人辅助组的置钉精准度优于透视引导组[95%CI (1.55, 4.06),  $p=0.0002$ ], 而透视引导组术中辐射强度少于机器人辅助组[95%CI (0.42, 0.82),  $p<0.001$ ], 两者差异均有统计学意义。但是机器人辅助组的并发症发生例数[95%CI (0.23, 4.65),  $p=0.96$ ]及翻修例数[95%CI (0.03, 3.17),  $p=0.33$ ]与透视引导组比较, 其差异无统计学意义, 术中透视时间两组相当[95%CI (-38.55, 78.26),  $p=0.51$ ], 两组术后发生背部疼痛[95%CI (-0.58, 0.38),  $p=0.68$ ]、腿部疼痛评分[95%CI (-0.20, 0.19),  $p=0.94$ ]及两组手术时间[95%CI (-6.33, 53.02),  $p=0.12$ ]也相当, 其差异均无统计学意义。

**结论** 机器人辅助与透视引导成人椎弓根螺钉植入比较时, 前者具有更高的置钉精准度, 尤其是在经皮条件下。不可避免地其术中辐射强度也较传统透视辅助更多。

## PU-090

### 氯硝柳胺通抑制黑色素瘤干细胞干性维持从而发挥抑瘤作用的研究

辛浩然<sup>1</sup>, 李杰<sup>2</sup>, 张浩<sup>2</sup>, 邓芳<sup>2</sup>  
1. 陆军军医大学第一附属医院 (西南医院)  
2. 陆军军医大学高原医学系病理生理教研室

氯硝柳胺是一种通过解偶联线粒体氧化磷酸从而影响虫体能量代谢, 治疗寄生虫的良好药剂。近几年的研究中, 许多证据提示氯硝柳胺是潜在的高效抑瘤剂。但尚未发现其在黑色素瘤中作用的研究报道。我们运用 CCK-8 法、Transwell 法、流式细胞凋亡分析等实验从细胞增殖、侵袭、凋亡等角度证实了氯硝柳胺对黑色素瘤细胞的抑制作用。同时 L-DOPA 检测、成球实验和克隆形成实验提示氯硝柳胺可能减弱黑色素瘤细胞干性, 促进其终末分化。在细胞生物学的实验的基础上, 动物在体的裸鼠荷瘤实验显示氯硝柳胺能有效抑制黑色素瘤在裸鼠体内的生长。以上结果提示氯硝柳胺在细胞和动物水平均能以较低的生物安全剂量发挥抑制黑色素瘤作用。有大量证据证明, 干细胞的分化潜能与线粒体代谢率之间有明确的联系。而黑色素谱系细胞的分化与 Wnt-Frz- $\beta$ -catenin-TCF/LEF1- MITF-Tyr 信号通路的激活明确相关。在后续分子机制的筛查中, 我们通过 Guassia 荧光素酶报告基因系统和 Western Blot 等技术发现并证实了 Wnt-Frz- $\beta$ -catenin-TCF/LEF1- MITF-Tyr 信号通路的异常变化。同时, 我们利用 JC1 (线粒体膜电位荧光探针) 检测发现, 氯硝柳胺作用后, 人黑色素瘤细胞能量代谢率下降。我们推测氯硝柳胺的抑瘤机制可能是通过降低线粒体能量代谢率, 抑制黑色素瘤干细胞的干性维持, 促进其走向终末分化, 从而抑制整个瘤群的生长。综上所述, 氯硝柳胺表现出良好的抑制人黑色素瘤的作用, 且其机制可能与能量代谢和干性维持有关。本研究有助于阐明线粒体能量代谢与肿瘤干细胞干性维持之间的关系, 为根治肿瘤提供新思路。同时有助于明确氯硝柳胺用于治疗黑色素瘤的实效并阐明其分子机制。



**PU-091****CDK4/6 抑制剂诱导肝细胞衰老在慢性肝损伤  
肝癌发生中的作用和机制**

陈文健, 陈苗苗, 何维志, 宋艳祥, 刘长城, 蔡永超, 何志颖  
上海市东方医院同济大学附属东方医院

2018 年, 肝癌成为全球范围内第六大致死性癌症, 75%-85%的肝癌病例为肝细胞癌 (hepatocellular carcinoma, HCC)。针对肿瘤的衰老诱导治疗是肿瘤治疗中极有前景的方案, 而肝癌的衰老诱导目前还处于探索阶段。在肝癌发生发展中研究肝细胞损伤、肝细胞衰老及肝癌细胞的衰老诱导, 对于肝癌的预防和治疗具有重要意义。我们前期研究表明, 诱导酪氨酸代谢障碍  $Fah^{-/-}$ 小鼠慢性肝损伤时导致 HCC 的发生, 而  $Fah^{-/-}$ 小鼠急性肝损伤时通过诱导肝细胞衰老能抑制 HCC 的发生。进一步研究发现, 选择 CDK4/6 抑制剂 PD-0332991 作为肝细胞衰老诱导剂, 在 HCC 发生前添加能抑制 HCC 发生; 在 HCC 发生后添加却反而促进了 HCC 的进展。初步分析表明, 肝细胞衰老可通过激活免疫监视作用抑制肝细胞癌变, 而肝细胞衰老产生的衰老相关分泌表型又能促进已有 HCC 的进展。慢性肝损伤下肝细胞发生衰老通过什么机制产生两种矛盾结局、临床应用是否也有类似风险, 都需要我们进一步的深入研究。本研究采用肝损伤动物模型 ( $Fah^{-/-}$ 小鼠), 利用细胞衰老诱导剂 PD-0332991, 在 HCC 发展的不同阶段诱导肝细胞衰老, 探讨细胞衰老在 HCC 发生和发展中的作用及其分子机制, 为干预 HCC 及靶向药物研究提供新的理论基础。

**PU-092****HDAC4 通过与 PCNA 的相互作用调控软骨细胞增值其作用机制**

魏东  
山西医科大学第二医院

**目的** 探讨 HDAC4 组蛋白脱乙酰基酶 4(Histone deacetylase 4, HDAC4) 通过与 PCNA 的相互作用调控软骨细胞增值其作用机制。

**方法** western-blot 法检测 hdac4 及 PCNA 在骨软骨细胞系转染表达情况; 免疫共沉淀法检测共转染后细胞核中 HDAC4 与 PCNA 相互结合情况, 作用位点。

**结果** Western blot 及 qRT-PCR 检测结果显示, HDAC4 能与 PCNA 结合并相互作用, 通过影响 PCNA 转录后修饰过程, 使 PCNA 蛋白含量增高, 进而促进软骨细胞增值。

**结论** HDAC4 通过与 PCNA 的相互作用, 上调 PCNA 蛋白含量增高促进软骨细胞增值。

**PU-093****猪前交叉韧带重建联合髌骨脱位多间室骨关节炎  
模型的步态时相分析**

赵瑞鹏, 李鹏翠, 卫小春  
山西医科大学第二医院

**目的** 探讨猪前交叉韧带重建联合髌骨脱位术制备多间室骨关节炎 (Osteoarthritis, OA) 模型并分析其步态时相特征。

**方法** 18 月龄健康雌性巴马小型猪 4 只, 右后肢 (Right Hind Limb, RH) 实施前交叉韧带重建联合髌骨脱位术制备多间室骨关节炎模型, 为实验组。左后肢 (Left Hind Limb, LH) 不做处理, 为

对照组。取右后肢髌骨外侧切口，以髌骨外缘 2cm 为中心纵向切“S”形切口，长约 8 cm，逐层切开膝关节外侧支持带和部分股四头肌，切开关节囊，向内推开髌骨使其内脱位，显露膝关节前交叉韧带。前交叉韧带重建导向器钩住韧带股骨止点端与纵轴线成 45°，插入导销固定。空心钻（内径 0.8cm）以导销为圆心从股骨外侧髌外面钻向内侧前交叉韧带附着点，钻透前（深约 1.8cm）停止空心钻，防止韧带从止点处断裂。克氏针（直径 1mm）沿着孔道外围不断穿透，保证股骨块带着前交叉韧带完整分离，向内推出腱骨块检查前交叉韧带附着点完整后复原，2 根克氏针（直径 1.5mm）交叉固定骨块。彻底冲洗伤口，髌骨内脱位状态下部分缝合外侧关节囊，手法屈伸膝关节观察髌骨运动轨迹并保证髌骨不能复位于股骨滑车沟内，关节囊外层逐层缝合。术后行 X 线检测，确保模型制备成功。步态数据采集：为了排除动物个体行走、学习技能之间的差异。所有实验动物术前 10 天开始步态训练，全程匀速、正常步态通过步态分析仪记录 1 次，每只动物每天成功记录 5 次为止，连续训练 10 天。术前，术后 7 天、15 天、30 天、45 天、60 天、75 天、90 天采集动物步态数据，每个时间点记录 5 次。采集步态时相数据，分析 LH 和 RH 支撑相、摆动相指标变化规律。

**结果** 自然状态下 LH 和 RH 摆动相时间基本相等，无统计学差异 ( $U=8$ )，为 0.4s。造模后 7 天、15 天 RH 摆动相时间明显增加，LH 摆动相时间基本保持不变，差别具有统计学意义 ( $U<0.05$ )。造模后 30 天、45 天、60 天、75 天、90 天 RH 支撑相时间逐渐恢复到自然水平，和 LH 比较无显著差异，差别不具有统计学意义 ( $U>0.05$ )。自然状态下 LH 和 RH 支撑相时间基本相等，无统计学差异 ( $U=8$ )，为 0.55s。造模后 7 天、15 天、30 天 RH 支撑相时间明显缩短，LH 支撑相时间有所增加，差别具有统计学意义 ( $U<0.05$ )。术后 45 天、60 天、75 天、90 天 RH 支撑相时间恢复逐渐恢复到自然水平，和 LH 比较无显著差异，差别不具有统计学意义 ( $U>0.05$ )。

**结论** 前交叉韧带重建联合髌骨脱位术可以制备多间室 OA 模型；OA 动物模型的步态时相在病程早期改变不显著。

## PU-094

### 生物活性肽和化疗药物作用胃癌细胞后差异 lncRNAs 的筛选

韩汶延<sup>1</sup>, 肖瑞<sup>2</sup>, 张传领<sup>2</sup>, 苏依拉其木格<sup>1</sup>, 李贤<sup>1</sup>, 苏秀兰<sup>1</sup>

1. 内蒙古医科大学附属医院

2. 内蒙古医科大学

**目的** 探讨抗癌生物活性肽 (ACBP) 与化疗药物奥沙利铂 (ASLB) 对胃癌细胞 lncRNAs 表达的影响, 深入阐释 ACBP 对胃癌细胞作用的新机制。

**方法** 体外常规培养胃癌细胞 MKN-45, 指数增殖期细胞分别用 ACBP 和 ASLB 处理, 提取 RNA 后进行测序, 生物信息学分析差异表达 lncRNAs, 再利用 qRT-PCR 技术进行验证。

**结果** 通过配对比较分析, 检测到共有 17897 个 lncRNAs, 其中包括 2074 个新的 lncRNAs。ACBP 和 ASLB 作用后有 1386 个 lncRNAs 存在差异表达 (与对照组相比改变超过 1.5 倍,  $q$ -value $<0.05$ )。包括 914 个上调和 472 个下调 lincRNAs。通过 KEGG 通路分析显示, 差异表达的 lncRNAs 与激活新陈代谢通路和蛋白结合过程相关。进一步利用分层聚类分析预测的结果显示: ACBP 单独作用或者与联合 ASLB 联合作用 MKN-45 后, 显著抑制 DNA 的复制过程, 而且显著影响 AMP 激活的蛋白激酶 (AMPK) 信号通路。

**结论** ACBP 和 ASLB 作用胃癌细胞后对转录组具有一定的调控作用, 这一研究结果为我们进一步研究 ACBP 和 ASLB 作用 lncRNAs 的新机制提供新的证据。

## PU-095

### 关节软骨的生物力学

黄凌岸

山西医科大学第二医院（山西红十字医院）

生物力学研究范围涉及细胞、细胞质基质等生物微观结构体的生长发育及力学环境关系的研究，同时也包括组织、器官等宏观生物结构体的形态功能与力学参数的研究，对关节软骨生物力学特性研究有助于了解关节软骨应力负荷下的力学行为，并有助于掌握正常组织与变性组织之间的差异，以期为临床软骨损伤治疗提供力学理论。目前以正常软骨为参照，依据二相或三相理论，建立软骨力学的有限元模型进行力学测试，或以传统的生物力学实验进行测试。本文将对软骨结构，力学建模理论及力学测试进行综述。

## PU-096

### 红景天苷对机械牵拉引起的内皮损伤的保护作用

张慧,江来

上海交通大学医学院附属新华医院

机械通气作为一种呼吸支持和维持手段，广泛应用于临床。但不恰当的机械通气特别是大潮气量通气有可能诱发或加重肺损伤，即机械通气肺损伤。研究表明，大潮气量通气可以引起肺泡过度扩张从而造成气压伤和容量伤。同时，机械刺激可引起炎症因子的释放，引发生物伤导致肺屏障功能彻底破坏。

中药红景天中重要成分红景天苷具有抗氧化、抗衰老等作用。近年来，多项研究证实红景天苷在多种肺损伤模型包括机械通气肺损伤中发挥保护作用，但其具体机制仍不明确，需要进一步探索。

用体重在 15-20 g 之间的 ICR 小鼠，提取肺血管内皮原代细胞（MLVECs），用含 10%胎牛血清的 DMEM 培养基培养，传代两次后将细胞接种于牵拉板，将其分为对照组，牵拉组，牵拉加红景天苷组，采用 20%强度，30 次/分钟的频率牵拉细胞，4h 后收集细胞，提取细胞蛋白。用基质金属蛋白酶-9（Matrix metalloproteinase-9, MMP9）小干扰 RNA（siRNA）干预原代细胞，转染 24h 后牵拉细胞，将其分为对照组，牵拉组，牵拉加干扰组，4h 后收集细胞，提取细胞蛋白。采用 western blot 方法检测肺组织中 MMP-9、VE-cadherin、ZO-1 蛋白的相对表达量。

实验结果表明，与对照组相比，牵拉组 MLVECs 的 MMP-9 蛋白显著上调，并伴随血管连接相关蛋白 VE-cadherin 和 ZO-1 蛋白的降低，而牵拉加红景天苷则可以抑制牵拉引起的 MMP-9 蛋白的上调，增加 VE-cadherin 和 ZO-1 蛋白的表达；研究表明，MMP-9 作为基质金属蛋白酶家族的重要一员，可以水解细胞连接蛋白，与我们的猜想一致，采用 MMP-9 siRNA 干扰 MLVECs 并牵拉后，MMP-9 siRNA 在抑制细胞 MMP-9 蛋白表达的同时可以改善牵拉引起的 VE-cadherin 和 ZO-1 蛋白的降低。

因此，我们得出结论：红景天苷可以减少机械牵拉引起的 MLVECs 的 MMP-9 蛋白升高，并增加 VE-cadherin 和 ZO-1 蛋白的表达，且该效应可能是通过抑制 MMP-9 水解血管连接蛋白 VE-cadherin 和 ZO-1 的表达而起作用。

**PU-097****帕金森病标志物磷酸化  $\alpha$ -突触核蛋白在血浆外泌体中的定量分析研究**

徐妍,谢振华,郑恒星,贺颖,郑红,陈辉  
郑州大学基础医学院

**目的** 为了探寻血浆外泌体中帕金森病潜在的生物标志物,初步探讨了帕金森病关键蛋白  $\alpha$ -突触核蛋白 ( $\alpha$ -synuclein,  $\alpha$ -syn) 和 Ser29 磷酸化  $\alpha$ -突触核蛋白(p- $\alpha$ -syn)在帕金森病患者组和健康对照组血浆外泌体中的表达水平的差异情况。

**方法** 分别收集帕金森病患者和健康对照血浆样本各 36 例,使用外泌体沉淀法分离出血浆中的外泌体,应用 Western Blot 技术定量分析检测帕金森病患者组和健康对照组血浆外泌体中  $\alpha$ -syn 和 p- $\alpha$ -syn 表达水平,同时结合质谱技术分析了帕金森病患者组和健康对照组血浆中蛋白的差异表达情况。

**结果** 帕金森病患者组血浆外泌体中  $\alpha$ -syn 寡聚体 (26~42 KDa) 与总  $\alpha$ -syn 的比率 ( $\alpha$ -syn 寡聚体/总  $\alpha$ -syn)、p- $\alpha$ -syn 寡聚体与总 p- $\alpha$ -syn 的比率 (p- $\alpha$ -syn 寡聚体 / 总 p- $\alpha$ -syn) 均显著地高于健康对照组 ( $P < 0.05$ ),并且受试者工作特征曲线 ROC 的分析性能均为中度,提示可用于辅助 PD 的诊断。

**结论** 血浆外泌体中  $\alpha$ -突触核蛋白寡聚体/总  $\alpha$ -突触核蛋白、磷酸化  $\alpha$ -突触核蛋白寡聚体/总磷酸化  $\alpha$ -突触核蛋白水平的增加可能是帕金森病潜在的生物标志,应用于帕金森病疾病诊断具有较良好前景,为帕金森病的生物标志物研究提供了理论依据。

**PU-098****PD-1 在肝细胞癌患者外周血 T 淋巴细胞的表达及其预后意义**

潘华政,曹永献,刘世海,李鹏,刘自民  
青岛大学附属医院

**背景** 程序性细胞死亡蛋白 1 (pd-1) 通过抑制 T 细胞活化与免疫逃避相关。本研究的目的是探讨 PD-1 表达的意义,分析 PD-1、甲胎蛋白 (AFP) 在肝细胞癌 (HCC) 中表达的关系。

**方法** 研究对象为 46 例二期、三期肝癌患者。用多色流式细胞仪检测外周血 T 淋巴细胞中 pd-1 的表达,电化学检测 AFP,并用卡普兰-迈耶分析其与预后相关因素。

**结果** PD-1 表达与 AFP 表达相关。PD-1 阳性组的总生存率明显较低。

**结论** 在肝癌患者中,PD-1 表达与预后不良相关,与 AFP 表达相关。

**PU-099****“HSF1-miR-449b- XPC”通路促进膀胱尿路上皮癌发生、发展的作用及机制研究**

黄亚琴,石家仲,王志,王欢欢,杨劲  
陆军军医大学基础医学院

DNA 损伤应答系统异常可导致肿瘤基因组的高度不稳定,与肿瘤的发生、发展密切相关。我们前期工作发现 XPC 作为 DNA 损伤应答过程中的早期信号启动分子,可通过调控 P53 通路影响细胞周期、凋亡和 DNA 修复等系列重要生命活动,XPC 表达缺陷与膀胱癌的发生、发展密切相

关。为进一步探讨膀胱癌中 XPC 表达缺陷的机制,在生物信息学预测的基础上,本研究首先利用 Luciferase 报告基因检测等技术证实了 XPC 是 miR-449b 的新型靶基因,然后利用启动子报告系统和 ChIP 等技术进一步证实了 HSF1 对 miR-449b 具有关键转录激活作用,从而证实了“HSF1-miR-449b-XPC”通路存在。进一步的循证医学研究表明,HSF1、miR-449b 的高表达以及 XPC 表达缺失与膀胱癌临床病理学分级相关。为深入研究“HSF1-miR449b-XPC”通路促进膀胱癌发生、发展的机制,我们分别建立过表达 miR-449b 以及干扰 HSF1 的膀胱癌细胞模型,并进行了化疗药物敏感性、DNA 修复能力、细胞侵袭转移、基因组稳定性等细胞学与动物学研究:过表达 miR-449b 降低细胞的 DNA 损伤修复能力,增加细胞对多种 DNA 损伤的敏感性(顺铂、紫外和博来霉素),增加 DNA 损伤诱导突变频率;过表达 miR-449b 能诱导 EMT,提高细胞的侵袭转移能力和致瘤能力;外源导入回补 XPC 后可以逆转过表达 miR-449b 产生的上述效应,说明 miR-449b 的确通过降低 XPC 表达发挥上述作用。干扰 HSF1 得到与过表达 miR-449b 相反的结果,但同时过表达 miR-449b 则能完全逆转干扰 HSF1 的效应,说明 HSF1 通过促进 miR-449b 表达发挥调控 DNA 损伤应答并促进 EMT 的功能。综上所述,本研究揭示了 HSF1、miR-449b 在 DNA 损伤应答与肿瘤中的崭新角色,为进一步以 XPC 基因表观遗传沉默作为膀胱癌早期诊断或预警、预后指标的研究提供了重要的实验基础。

## PU-100

### 苦瓜多肽对小鼠的免疫调节和抗氧化作用

杨晓宇,苏秀兰  
内蒙古医科大学附属医院

**目的** 探究苦瓜多肽对免疫抑制小鼠的免疫调节和抗氧化作用。

**方法** 构建免疫抑制小鼠模型,将小鼠随机分为 4 组,即空白对照组、苦瓜肽组、环磷酰胺组、苦瓜肽+环磷酰胺组。小鼠以灌胃的方式给予高、中、低剂量苦瓜多肽后,分别测定各组脾脏指数、肝脏指数以及腹腔巨噬细胞吞噬鸡红细胞能力、血清中过氧化氢酶(CAT)、丙二醛(MDA)和谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)水平,流式细胞仪检测外周血淋巴细胞+亚群、NK 细胞杀伤活性。

**结果** 与环磷酰胺组相比,苦瓜多肽能够显著提高小鼠肝脾指数,提高 CAT、GSH-Px 水平并降低 MDA 含量;淋巴细胞数增多;与环磷酰胺组相比,联合组能够提高小鼠肝脾指数,提高 CAT、GSH-Px 水平并降低 MDA 含量。

**结论** 苦瓜多肽能有效拮抗环磷酰胺对小鼠免疫功能的抑制作用,提高免疫抑制小鼠的抗氧化能力。

## PU-101

### 基于 TCGA 数据库膀胱癌转移相关基因的生物信息学分析

Liusha<sup>1</sup>,石家仲<sup>1</sup>,黄亚琴<sup>1</sup>,王力伟<sup>2</sup>,丁华<sup>2</sup>,杨劲<sup>1</sup>

1.陆军军医大学基础医学院

2.陆军军医大学第一附属医院泌尿外科

**摘要** 膀胱癌是全球第十大最常见的癌症,每年估计有 549,000 例新发病例和 200,000 死亡病例。其中非肌层浸润性膀胱癌(NMIBC)约占所有膀胱癌诊断的 70%,其五年生存率接近 90%。肌层浸润性膀胱癌(MIBC)约占 20%~40%。MIBC 易转移至盆腔淋巴结及其他脏器,转移患者五年生存率降至约 6%。由于肿瘤转移是肿瘤相关死亡的主要原因,因此探索 MIBC 转移的机制至关重要。在本研究中,我们从 TCGA 数据库下载膀胱癌病例录组测序数据和临床病理信息,把 MIBC

病例按肿瘤转移与否分组（非转移组：转移组=133:131）。差异表达基因分析（R package, EdgR 和 DeSeq2）得到 385 具有显著表达差异的基因（Differential expressed genes, DEGs）（Fold Change $\geq$ 2,  $p < 0.001$ ）。随后，我们分别对 DEGs 进行了 GO 和 KEGG 途径富集分析：在转移组上调的 209 个 DEGs 主要参与表皮细胞分化、表皮发育、角质化、角质形成细胞分化、核小体组装等 GO 生物学过程，并主要富集在 ECM Receptor Interaction, Focal adhesion 等 KEGG 通路；在转移组下调的 176 个 DEGs 主要参与膜电位调节 GO 生物学过程，并主要富集在 Neuroactive ligand-receptor interaction, Pancreatic secretion, Nicotine addiction 等 KEGG 通路。对 DEGs 进行蛋白质-蛋白质相互作用（PPI）分析，发现了明显相互关联的两个网络结构，第一个网络结构中主要包含组蛋白家族基因：HIST1H2BB, HIST1H3B, HIST1H1E 等；第二个网络结构中主要包含角蛋白家族基因：KRT6C, KRT24, KRT27 等；对所有 hub 基因进行生存分析（KM 分析），筛选出 HIST1H3F（ $P=0.02$ ）及 KRT38（ $P=0.001$ ）和预后相关。综上，我们的研究显示膀胱癌转移进展过程中 HIST1H3F 与 KRT38 可能发挥着重要的作用。

## PU-102

### CK5 与 CK20 在膀胱癌中的表达及临床意义

张静琦<sup>1</sup>, 陈志文<sup>1</sup>, 杨劲<sup>2</sup>

1. 陆军军医大学第一附属医院（西南医院）

2. 陆军军医大学基础医学院细胞生物学教研室

膀胱癌是世界上第九大最常见的恶性肿瘤，也是泌尿系统中最常见的肿瘤，同时是治疗费用最昂贵的肿瘤之一，因此研究其发病、进展及耐药机制并进行临床转化显得尤为迫切。目前基于全基因组学的研究已提出了几种膀胱癌的分子分类系统，其中 UNC 分类将尿路上皮癌分为基底型和腔内型。两组的分子特点反映了尿路上皮分化的不同阶段，腔内型表达高分化的伞状细胞的生物标记，例如 CK20；而基底型表达低分化的基底细胞的生物标记，例如 CK5 及 CD44 等。目前该分类系统仍存有争议，本研究通过运用本院来源的组织样本验证该分类系统在膀胱癌的价值并探讨 CK5 与 CK20 在膀胱癌中的表达及临床意义。我们首先制备了包含 149 例膀胱癌组织及 62 例癌旁组织的组织芯片，然后采用免疫组化方法检测了组织芯片中 CK5 与 CK20 的表达情况。结果显示 149 例膀胱癌组织中 85 例(57.0%)CK5 阳性，82 例(55.0%)CK20 阳性，癌旁组织中分别为 56 例(90.3%)阳性和 32 例(51.6%)阳性，癌与癌旁中 CK5 表达差异有统计学意义( $P < 0.001$ )，而 CK20 无统计学差异( $P=0.650$ )；CK5 与 CK20 的表达呈负相关，相关系数为-0.294( $P < 0.001$ )；Kaplan-Meier 结果表明 CK5-CK20<sup>+</sup>的患者预后较 CK5<sup>+</sup>CK20<sup>+</sup>、CK5<sup>+</sup>CK20<sup>-</sup>、CK5<sup>-</sup>CK20<sup>-</sup>的患者差；多因素 Cox 分析结果表明病理分期、淋巴结阳性、CK5-CK20<sup>+</sup>是影响预后的独立危险因素。综上所述，本研究显示 CK5 与 CK20 组合可以作为预测膀胱癌患者预后的生物标记，该分类为膀胱癌的个体化诊疗提供了新思路。

## PU-103

### 基于甲基化驱动基因的预后模型预测膀胱癌患者的总体存活率

王力伟<sup>1</sup>, 石家仲<sup>2</sup>, 陈志文<sup>1</sup>, 杨劲<sup>2</sup>

1. 陆军军医大学第一附属医院（西南医院）泌尿外科

2. 陆军军医大学基础医学院细胞生物学教研室

**摘要** 膀胱癌是我国泌尿系统最常见的恶性肿瘤，全球每年有超过三十万的新发患者，易复发趋势和化疗耐受使得膀胱癌而成为最难治疗且代价高昂的癌症之一。DNA 甲基化是表观遗传学调控的重要机制，对癌细胞的生物学行为有重要影响。为了研究膀胱癌预后相关的 DNA 甲基化驱动基

因, 我们从 TCGA 数据库下载了膀胱癌的甲基化数据、转录组数据和临床数据, 应用 R 软件中 MethyIMix 包分析得到 167 个甲基化驱动基因。接下来, 我们采用 LASSO-Cox 回归以降低维度并筛选预后相关的甲基化驱动基因, 构建了一个六基因 (ARHGDI B、LURAP1、IDH2、ARL14、GSTM2 和 LINC00526) 风险评估模型。生存分析表明, 低风险组患者的总生存期明显优于高风险组, 该结果在另外八个亚分组中得到了进一步的证实, 显示了该模型在评估预后方面的可靠性。为了指导临床工作, 我们设计了基于风险评分和四个临床指标的诺模图, 可以预测单个患者总生存期。进一步的综合生存分析显示了 IDH2 的高甲基化和 ARL14 的低甲基化与患者较好的生存结果相关, ARHGDI B 的高表达且低甲基化状态与较好的生存结果相关。位点甲基化分析显示 LURAP1 和 GSTM2 中 5 个位点的高甲基化与更好的预后相关, ARHGDI B、LINC00526 和 ARL14 中 9 个位点的高甲基化与预后不良相关。本研究发现了六个甲基化驱动基因并构建了预后预测模型, 有望成为预测个性化抗癌治疗的工具, DNA 甲基化水平的检测可能是膀胱癌患者诊断和预后的重要手段, 有望作为抗肿瘤药物开发的治疗靶点。

## PU-104

### 人骨髓间充质干细胞衰老过程中 DNA 损伤应答特性研究

余瑾, 黄亚琴, 石家仲, 杨劲  
陆军军医大学

干细胞是大多数成体组织维持组织更新的细胞来源。相对于分化细胞, 长期的生存使得干细胞遭受和积累更多的 DNA 损伤, 从而引发基因组不稳定、衰老和癌变。然而, 伴随着干细胞衰老, 其 DNA 损伤应答能力是否有改变还不清楚。我们推测: 干细胞衰老过程中 DNA 损伤应答能力下降可能加速干细胞衰老并且使细胞功能下降, 同时破坏细胞凋亡屏障, 促发干细胞恶性转化。在本研究中, 以人骨髓来源的间充质干细胞 (MSCs) 为模型, 我们比较了年轻和衰老的人 MSCs (y-MSCs, s-MSCs) 对氧化应激诱导的 DNA 损伤和 DNA 双链断裂损伤的应答模式。首先将 MSCs (y-MSCs) 经长期体外培养至 40 代以建立衰老干细胞模型 (s-MSCs), 结果显示 s-MSCs 衰老相关  $\beta$ -半乳糖苷酶染色阳性细胞明显增多, 增殖能力明显下降, P53 和 P16 表达显著上调, 证实其衰老状态。采用  $H_2O_2$  诱导氧化损伤以模拟氧化应激, 然后采用 DCFH 探针荧光标记法观察细胞中氧化应激产物活性氧的积累情况, qPCR 检测 DNA 损伤应答分子表达来检测 MSCs 对氧化应激的应答模式。结果显示, 与 y-MSCs 相比, 氧化损伤后衰老细胞 ROS 的积累明显增加, DNA 损伤应答分子 OGG1, XRCC1 的诱导表达幅度明显下调且有滞后的倾向。采用博来霉素诱导 DNA 双链断裂, 然后采用单细胞凝胶电泳和免疫荧光检测 DNA 损伤修复情况, qPCR 检测 DSB 损伤应答基因表达水平。结果显示, 与 y-MSCs 相比, o-MSCs 对 DNA 双链损伤修复速度明显减慢, 修复基因 XRCC4, Ku70, BRCA1, BRCA2 的本底表达水平和诱导表达水平明显降低。综上所述, 我们证实衰老间充质干细胞的 DNA 损伤应答能力下降, 为衰老干细胞 DNA 损伤积累引发基因组不稳定乃至恶转这一假说提供了新的支持证据。

## PU-105

### XPC 低表达促进顺铂诱导的膀胱癌细胞保护性自噬

丁华<sup>1</sup>, 王欢欢<sup>1</sup>, 陈志文<sup>2</sup>, 杨劲<sup>1</sup>

1. 陆军军医大学基础医学院细胞生物学教研室

2. 陆军军医大学附属第一医院 (西南医院) 泌尿外科

膀胱癌是全球泌尿系常见肿瘤之一。目前, 以顺铂为基础的化疗方案仍是膀胱癌临床化疗的首选, 但先天性或获得性耐药严重影响了膀胱癌患者的预后转归。XPC 是 DNA 核苷酸切除修复途径

的损伤识别蛋白之一，可通过调控 DNA 修复决定细胞命运。我们前期的研究显示 XPC 在膀胱癌组织中广泛低表达，且敲低 XPC 表达降低膀胱癌细胞对顺铂的敏感性。自噬作为一种高保守的生命活动，在细胞应激过程中发挥重要的作用，但自噬是否参与了 XPC 低表达导致的膀胱癌细胞顺铂敏感性降低还不清楚。在本研究中，我们推测 XPC 低表达通过促进膀胱癌细胞保护性自噬进而降低其对顺铂的敏感性。我们的研究发现：在膀胱癌细胞 T24 中敲低 XPC 后促进顺铂诱导的自噬，表现为 LC3II/LC3I 比例增高，SQSTM1 表达降低，GFP-LC3 puncta 聚集增多，提示顺铂诱导自噬对细胞具有保护作用。更为重要的是，在敲低 XPC 的 T24 细胞中用氯喹抑制自噬可部分恢复其顺铂敏感性。综上所述，XPC 通过促进保护性自噬介导了膀胱癌 T24 细胞的顺铂耐药。

## PU-106

### 膀胱癌 XPC 低表达影响中心体畸变的机制研究

王欢欢,黄亚琴,石家仲,杨劲  
陆军军医大学基础医学院

XPC (Xeroderma pigmentosum group C)作为 DNA 损伤应答过程中的早期信号启动分子，参与多条 DNA 损伤修复途径。我们前期工作发现膀胱癌中 XPC 普遍低表达，并且 XPC 低表达和肿瘤脱落细胞的染色体畸变密切相关，提示 XPC 低表达可能是膀胱癌染色体畸变和高异质性的遗传学基础。因此，我们推测 XPC 低表达有可能通过调控中心体扩增影响膀胱癌中异倍体、杂合性缺失等染色体畸变的发生进而参与膀胱癌的发生发展甚至复发。本研究首先分别利用免疫荧光染色从膀胱癌病理组织、Xpc 敲除鼠、膀胱癌细胞系等多层面证实 XPC 低表达或缺失导致中心体扩增和分裂畸变。膀胱癌细胞模型还显示顺铂诱导 DNA 损伤显著放大 XPC 低表达导致得中心体扩增和分裂畸变。进一步的研究揭示了 XPC 低表达在顺铂诱导 DNA 损伤条件下导致的中心体扩增的新分子机制：首先，XPC 低表达导致的中心体扩增不依赖其核苷酸切除修复途径；其次，XPC 低表达上调转录因子 Pit-1 表达，而后者作为 BRCA1 的转录抑制子下调 BRCA1 的表达；最后，BRCA1 表达下调导致双链损伤无法正常修复，从而引起损伤累积并持续激活 ATM-Chk1/Chk2 信号通路，进而引发 G2/M 过长的周期阻滞并最终导致中心体扩增。综上所述，本研究阐明了膀胱癌中 XPC 低表达导致中心体扩增的一个新机制，同时发现 XPC 在 DNA 损伤应答信号转导中的新角色，为更全面的理解 XPC 在 DNA 损伤应答及膀胱癌复发、预后诊断提供了新的信息。

## PU-107

### 建立具有再生毛发能力的小鼠永生生化毛囊干细胞株

星懿展,马小良,李玉红  
陆军军医大学基础医学院

生后毛囊的周期性生长依赖于毛囊干细胞 (hair follicle stem cell, HFSC) 的反复激活。体外研究 HFSC 首先需要一种简单、经济的 HFSC 细胞株。在以往方法的基础上，我们从毛囊膨出区分离出 HFSC，用诱导的可逆 SV40 大 T 抗原使其永生生化。通过单克隆筛选，获得了一株永生细胞株 iHFSC2，其 CD34 表达率最高，形态也与原代 HFSC (pHFSC)相似。RNA 测序结果显示，iHFSC2 和 pHFSC 在转录水平上表达模式相似。荧光激活细胞分选、western blot 和免疫荧光实验表明，已知的 HFSC 标记物在蛋白水平上也有相似之处。当移植到裸鼠体内时，iHFSC2 可以再生毛囊。再生毛囊来源于 iHFSC2，毛囊结构完整，膨出区有 HFSC。因此本研究成功建立了小鼠 HFSC 细胞株。



## PU-108

## NK 细胞应用于乳腺癌治疗的研究进展

郭伟春<sup>1,2</sup>, 梁俊青<sup>2</sup>

1. 内蒙古医科大学研究生学院

2. 内蒙古医科大学附属人民医院

乳腺癌高居中国女性恶性肿瘤发病率首位, 其传统治疗方法(包括手术、放疗、化疗、内分泌治疗等)的副作用使得患者往往难以耐受。自然杀伤细胞(Natural killer cell, NK cell)是一种对先天免疫系统至关重要的细胞毒性淋巴细胞, NK 细胞杀伤活性无 MHC 限制, 能够识别和杀死肿瘤细胞, 同时保留健康细胞, 它们被命名为“天然杀手”, 在免疫监视和早期抗感染免疫过程中起重要作用。本文主要总结了 NK 细胞在乳腺癌中的病理生理适应性, 对 NK 细胞有影响的近期治疗方法的进行了综述, 包括基于细胞因子的, 病毒和细菌疗法以及细胞疗法。虽然关于乳腺癌中 NK 细胞的若干问题仍未得到有效解决并且需要进一步的研究, 但是已有广泛的理论支持 NK 细胞靶向疗法在乳腺癌中的临床应用前景。

## PU-109

## HMGB1 在癌症中的表达及临床意义

张志慧, 苏秀兰

内蒙古医科大学附属医院

**目的** 探讨外周血标本中肺癌、肝癌、胃癌、结直肠癌、食管食道癌中 HMGB1 的表达情况及意义, 探讨 HMGB1 在健康人群中的表达情况及健康人群与癌症患者相比较的差异。

**方法** 收集内蒙古医科大学附属医院放疗科全血血样 100 例, 其中胃癌 20 例, 肝癌、食管食道癌、胃癌、结直肠癌各 20 例, 健康人群 20 例。提取血液中 RNA 并采用 q-PCR 法测定 HMGB1 在五种癌症中的表达情况, 进而与健康人群进行比较并分析其意义。

**结果** 全血中的 HMGB1 在对照组的表达量为  $1.249 \pm 0.760$ 。在肺癌组的表达量为  $3.191 \pm 1.907$ , 肝癌组的表达量为  $1.054 \pm 0.743$ , 结直肠癌组的表达量为  $3.199 \pm 1.824$ , 食管食道癌的表达量为  $5.523 \pm 3.344$ 。差异均有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。HMGB1 在健康对照组中表达量显著低于癌症组表达量, 且都有统计学意义。

**结论** HMGB1 在肿瘤患者的血液中均呈高表达。HMGB1 对未来治疗癌症方面可能会成为一个新的靶标。由于样本量有限, 本实验只对少量的样本做了研究, 希望在以后的研究中扩大样本量进一步深入的研究。高迁移率族蛋白 B1 (HMGB1) 得名于其在聚丙烯酰胺凝胶电泳中具有较快的迁移速率作为一种非组蛋白染色体结合蛋白, 主要存在于真核生物细胞的胞核内。随着研究的不断深入, 发现 HMGB1 不仅作为炎症介质介导炎症反应, 而且其过表达与肿瘤的发生发展、侵袭转移以及预后等关系密切。近年来大量文献也报道了 HMGB1 与人类肿瘤的发生发展相关。据报道高迁移率族蛋白 (HMGB1) 在多种癌症中呈现高表达。希望 HMGB1 对临床筛查癌症成为一个关键的因子。

## PU-110

## PAK1 小分子抑制剂 AK963 抑制人胃癌细胞增殖迁移及机制研究

周颖, 张健, 李丰

中国医科大学

**目的** 胃癌是我国最常见的恶性肿瘤, 其发病率和死亡率居各类肿瘤的首位, 因此, 寻找胃癌的治

疗靶点是当前肿瘤研究领域的热点。PAK1 作为 I 类 PAK 家族的代表,是进化上保守的丝/苏氨酸蛋白激酶,在肿瘤细胞信号转导过程中具有枢纽作用,因此已成为有效的肿瘤治疗靶点。但目前针对该靶点抑制剂的研究正处于起步阶段。

本研究旨在通过高通量筛选,获得效能较高的 PAK1 小分子抑制剂。并进一步验证该小分子化合物的活性和激酶抑制作用,检测其对胃癌细胞生物学功能的影响并探讨潜在机制,为 PAK1 靶向抑制剂的开发及胃癌治疗提供新策略。

**研究方法** 通过筛选,选择活性较好的小分子化合物 AK963,采用 MTT 和集落形成实验检测该化合物对胃癌细胞增殖的影响;流式细胞术检测其对胃癌 BGC823 细胞周期的影响;Transwell 实验观察小分子对胃癌细胞迁移及侵袭能力的影响;共焦激光扫描显微镜技术观察 AK963 对细胞骨架及与 ECM 粘附的影响;并将 AK963 与 PAK1 变构抑制剂 IPA-3 的理化性质进行比较,发现其优势;Western blot 检测 AK963 对 PAK1 活性及 PAK1 下游相关信号通路的影响来揭示引起上述生物学现象的机制。计算机模拟小分子化合物与 PAK1 蛋白分子的对接情况,揭示 AK963 与 PAK1 的作用方式。

**结果** 1、在体内外,AK963 均能够以剂量依赖的方式抑制 PAK1 的激酶活性。2、综合比较两个化合物的分子性质,发现 AK963 化合物具有更高的成药性,适合作为先导化合物用于进一步的结构修饰和药物研发。3、AK963 抑制人四种胃癌细胞增殖并诱导 BGC823 细胞周期 G2/M 期阻滞。4、AK963 抑制 PAK1 活性,通过 NF- $\kappa$ B 依赖的方式下调 cyclinB1 的表达,从而引起 G2/M 细胞周期阻滞。5、AK963 抑制胃癌细胞 BGC823 细胞的迁移及侵袭能力。6、AK963 能够引起胃癌细胞 BGC823 细胞骨架的重排,包括抑制丝状伪足和促进黏着斑复合体的形成,增强胃癌细胞 BGC823 对 ECM 的粘附。7、AK963 能够抑制 PAK1-LIMKI-Cofilin 信号通路的活性。8、AK963 通过抑制 PAK1 激酶活性抑制下游 PAK1-ERK-FAK 信号通路。9、化合物 AK963 能够作用于 PAK1 的激酶域,可形成氢键,且与 PAK1 有较高的亲和力,从而发挥其活性的作用。

**结论** 1、AK963 在体内体外均能够抑制 PAK1 的激酶活性,且作用具有一定的选择性。2、AK963 通过 NF- $\kappa$ B 依赖的方式下调 cyclinB1 的表达,从而引起 G2/M 细胞周期阻滞,抑制胃癌细胞的增殖。3、AK963 通过抑制 PAK1-LIMKI-Cofilin 和 PAK1-ERK-FAK 两条通路,抑制细胞丝状伪足形成,促进粘着斑复合体的形成,从而抑制胃癌细胞迁移侵袭能力。4、化合物 AK963 与 PAK1 有较高亲和力,并可作用于激酶的活性位点发挥抑制作用。

## PU-111

### Circle RNA as a potential prognosis biomarker for breast cancer

王立斌,李晓菡,马芳,张旭,于晶晶  
宁夏医科大学总医院

Non-coding RNA(ncRNA) was a special RNA which was by-products of aberrant RNA splicing. Circle RNA have a continuous closed loop. Most circRNAs are stable and conserved, and often expressed in different tissues. CircRNA have been reported to be dysregulated in many different human malignancy cancer, and served as new diagnostic biomarkers and targets for cancer therapy. Here we aimed to investigate whether circRNA could influence the breast cancer metastasis.

The cancer and adjacent normal tissue samples of patients with breast cancer were collected and the circRNAs expression profile microarray being applied. With the bioinformational analysis combined with qPCR, we find 4 circRNAs which may correlated with breast cancer. Among them, 2 were high-expressed(circ-COL1A1-A1, circ-COL1A1-A2) and 2 were low-expressed (circ-NTRK3-A1, circ-NTRK3-A2). Based on statistic analysis, we identified the 4 circRNAs were correlated with breast cancer patient's survival, tumor size and metastasis.

The findings together implied that the 4 circRNAs could be considered as a potential breast

cancer prognosis biomarker. Further research would illustrate the involvement of 4 circRNA in breast cancer tumorigenesis and metastasis.

## PU-112

### 高糖降低体外培养红细胞能量代谢的机制研究

李旭妍,苏燕  
包头医学院

**目的** 探讨高糖环境对红细胞能量代谢的影响方式及其分子机制的影响。

**方法** 采集 6 名健康成人新鲜抗凝血,离心去除白细胞和血浆,用 PBS 悬浮 RBCs,然后轻轻混匀 6 组 RBCs 后分为 4 组,分别向其中加入 D-葡萄糖 (Sigma 47829),使其终浓度分别为 0mmol/L、6mmol/L、20mmol/L 和 30mmol/L。37°C 下培养,于培养期 0、24、48 小时,取部分悬液检测 ATP 含量、己糖激酶 (HK) 活性、丙酮酸激酶 (PK) 活性、活性氧含量及红细胞衰亡率。采用单因素方差分析和卡方检验进行组间变量比较。

**结果** 高糖培养 24 和 48 小时后,随着葡萄糖浓度的增加,红细胞内 HK 活性、PK 活性、ATP 含量均增加 ( $P<0.05$ ), ROS 含量和红细胞衰亡率均降低 ( $P<0.05$ ); 随着时间的延长,各不同浓度高糖培养组红细胞的丙酮酸激酶活性、ROS 含量和红细胞衰亡率均增加 ( $P<0.05$ ), 而 HK 活性是降低 ( $P<0.05$ ), 红细胞内 ATP 含量在 24 小时增加,而在 48 小时 ATP 含量反而下降,该差异具有显著性 ( $P<0.05$ ), 而 0mmol/L 组的红细胞由于没有外环境的能量供应,胞内的 ATP 不断被消耗,因此呈下降趋势 ( $P<0.05$ )。

**结论** 单纯的高糖环境能够影响红细胞的能量代谢、氧化应激和红细胞衰亡,且随着葡萄糖浓度的增加和培养时间的延长对红细胞内酶活性、ATP 含量、ROS 含量及衰亡率的变化趋势影响是不同的。

## PU-113

### 神经中胚层来源间质干细胞分化体系的建立与功能评价

王慧艳,李岱睿,翟志臣,项鹏,李伟强  
中山大学

神经中胚层祖细胞 (Neuromesodermal progenitors, NMP) 定位于原结-原条边界和尾侧外胚层,具有神经和中胚层的多向分化能力,可发育成为脊髓及其周围的脊柱,软骨和肌肉组织等,提示 NMP 可能是间质干细胞 (MSC) 的发育起源之一,但目前未见报道。由于 NMP 存在于胚胎发育早期,无法直接从早期胚胎分离 NMP 进行研究。人多能干细胞包括人胚胎干细胞以及人诱导多能干细胞,因具备自我更新和多向分化的特性,能够定向分化为三胚层来源的各种细胞类型,被认为是获得特定发育起源 MSC 的理想体外细胞模型。因此,本研究首先利用人多能干细胞建立了 NMP 来源 MSC 的简单、高效、无血清的分化体系,对分化细胞进行 MSC 表面标志物、增殖能力、成脂/成骨/成软骨分化能力等进行鉴定,证实成功诱导得到 NMP 来源的 MSC (NMP-MSC)。转录组测序结果显示, NMP-MSC 具有与骨髓来源间质干细胞相似的因表达特征,且不同细胞株来源的 NMP-MSC 之间均质性较高。另外,我们还对 NMP-MSC 的体内外免疫调节能力进行了检测,结果显示,与 BMSC 相比, NMP-MSC 表现出更强的免疫调节能力,可以显著抑制 T 细胞增殖和炎症因子的分泌,并显著降低接触性超敏反应模型炎性反应的强度,具有更好的治疗效果。以上研究结果为研究 NMP-MSC 的发育机理提供了理想的体外细胞模型,也可以为 MSC 的临床转化应用提供高质量、性质均一的种子细胞来源,为推动 MSC 的临床转化提供重要的科学依据。

## PU-114

## 自噬抵抗细胞上皮-间叶样表型转化进程 维持视网膜色素上皮稳态

冯浩<sup>1</sup>,赵昕<sup>2</sup>,宋晓宇<sup>2</sup>,曹流<sup>2</sup>

1.中国医科大学附属第一医院

2.中国医科大学

增殖性玻璃体视网膜病变（PVR）是眼球内手术后导致视力丧失的最严重的纤维化性并发症，目前尚无有效治疗方法。自噬是维持组织及细胞内环境稳定的重要细胞生物学行为，在抵抗阻止纤维化进程中发挥重要作用。然而，自噬是否可以抵抗眼内纤维化进程阻止 PVR 进展仍不清楚。在本次研究中，我们发现敲除 ATG7 基因的小鼠 MEF 细胞中间叶性标志物高表达，促进细胞自噬可以诱导 Twist 与 P62 结合，促进 Twist 的降解，并降低间叶性蛋白的表达。通过体外构建视网膜色素上皮细胞（RPE）EMT 模型，发现自噬在 RPE 细胞 EMT 进程中被激活。并且在通过敲减 ATG7 构建自噬缺陷 RPE 细胞中观察到上皮标志物 claudin-1 的低表达及间叶性标志物的上调，伴随着细胞迁移及收缩性的增加。重要的是，通过促进 RPE 细胞自噬可以维持 RPE 上皮特性，并有效逆转 TGF- $\beta$ 2 所诱导的 RPE 纤维化。这些观察结果揭示自噬是维持 RPE 层稳定抵抗纤维化的重要途径，促进自噬可能成为治疗 PVR 的有效方法

## PU-115

## 不同年龄来源的眼眶周脂肪间充质细胞生物学特性的比较研究

张明琦<sup>1,2</sup>,曹流<sup>2</sup>,何伟<sup>1</sup>

1.沈阳何氏眼科医院

2.中国医科大学

**目的** 脂肪间充质干细胞是一种来源于成体脂肪组织的干细胞，体内含量丰富，易于自体应用，无伦理和免疫排斥问题，是临床上干细胞应用首选的种子细胞。眼眶周脂肪间充质干细胞是一类蕴含于眼周整形术后脂肪组织的干细胞。临床上眼眶周脂肪组织主要来源于中年爱美人士，中年来源的眼眶周脂肪间充质干细胞是否仍具有间充质干细胞的生物学特性，是制约干细胞临床应用的重要因素。而目前国内外关于年龄对眼眶周脂肪间充质干细胞生物学特性的报道甚少，因此本研究比较了不同年龄眼眶周脂肪间充质干细胞的生物学特性，及其旁分泌功能对角膜上皮细胞损伤修复的影响，从而为临床上间充质干细胞的研究和应用奠定了坚实基础。

**方法** 本研究选取不同年龄来源的眼眶周脂肪间充质干细胞，比较了年龄因素对间充质干细胞的增殖、克隆形成能力、标志蛋白、多向分化能力、分泌因子能力和组织修复能力的影响。

**结果** 采用外植体培养法分离培养了不同年龄来源的眼眶周脂肪间充质干细胞，研究发现年龄因素影响了干细胞的增殖能力、成骨分化能力和成软骨分化能力，及其旁分泌功能对角膜上皮细胞损伤修复能力。

**结论** 年龄因素显著影响眼眶周脂肪间充质干细胞的体外增殖能力，成骨和成软骨的分化能力；并且随着年龄的增长，眼眶周脂肪间充质干细胞的旁分泌因子能力显著下降。由此可见，年龄因素是影响眼眶周脂肪间充质干细胞生物学特性的重要因素之一，因此临床自体脂肪间充质干细胞治疗时应充分考虑供体的年龄等影响因素。

## PU-116

## 自噬相关基因 Atg7 调控三阴性乳腺癌恶性进展

李明洋,刘经纬,曹流  
中国医科大学

细胞自噬在乳腺癌发生发展中的具体作用一直是个谜团。在此研究中,我们在乳腺癌细胞系和患者组织中探寻了 Atg7 的潜在功能。与良性乳腺组织相比,我们观察到 Atg7 蛋白在三阴性乳腺癌中存在着显著低表达,而在其他乳腺癌分型中无差异。此外,Atg7 高表达的三阴性乳腺癌患者具有恶性程度更低的临床病理参数和更长的预后生存时间。在三阴性乳腺癌细胞中,我们发现提升 Atg7 表达水平可以抑制细胞增殖和迁移并促进细胞凋亡,这与临床病理参数上统计出的结果一致。最后,Atg7 可降低三阴性乳腺癌细胞线粒体内有氧代谢水平,并且通过有氧糖酵解途径调控上皮间质转换。以上结果在分子和临床两个层面提供了 Atg7 可调控三阴性乳腺癌进展的重要依据,为将来的深入研究提供了理论基础。

## PU-117

## 血红素氧合酶 1 在温热诱导的 HPV 感染细胞中的作用及机制研究

杨阳<sup>1,2</sup>,高兴华<sup>1</sup>,宋晓宇<sup>2</sup>,曹流<sup>2</sup>  
1.中国医科大学附属第一医院  
2.中国医科大学细胞生物学教研室

**背景** 宫颈癌是女性最常见的恶性肿瘤,持续的人乳头瘤病毒(HPV)感染是宫颈癌发生最重要的危险因素。温热治疗作为宫颈癌的辅助疗法已应用于临床,然而由温热治疗所引起的细胞保护性蛋白血红素氧合酶 1(HO-1)表达增加,严重影响了温热治疗的疗效,但其确切的机理不甚清楚。

**目的** 探索 HO-1 在宫颈癌温热治疗中的作用及其调控机制。

**方法** 采用 RT-PCR 及 Western 方法观察温热前后 HO-1 表达变化, siRNA 转染方法敲除目标基因 HO-1,蛋白组学分析相关蛋白变化,MTS 方法检测细胞增殖,流式细胞术分析细胞凋亡和周期,RT-PCR 检测病毒拷贝数及整合程度。

**结果** 温热可诱导宫颈癌组织及癌前病变皮损中 HO-1 表达增加及 HPV 病毒拷贝数降低。敲除 HO-1 后细胞自噬水平增加,凋亡抑制蛋白下降,有效地降低宫颈癌细胞的耐热性。同时,HO-1 也参与温热诱导的细胞自噬依赖性的抗病毒效应。

**结论** 敲除 HO-1 可通过细胞自噬依赖性途径增加凋亡及抗病毒效应,有效的降低宫颈癌细胞的耐热性,提示温热联合敲除 HO-1 对于临床宫颈癌的治疗具有重大的潜力。

## PU-118

## 细胞自噬相关蛋白 Atg7 抑制 PKM2 磷酸化参与 Warburg 效应调节影响细胞上皮间质转化

冯艳玲<sup>1</sup>,刘经纬<sup>1</sup>,郭文东<sup>1</sup>,关奕<sup>1</sup>,徐红德<sup>1</sup>,郭启强<sup>1</sup>,宋晓宇<sup>1</sup>,羿菲<sup>1</sup>,刘汀<sup>1</sup>,张文字<sup>1</sup>,董想<sup>1</sup>,Longyue L. Cao<sup>2</sup>,Brian P. O'Rourke<sup>2</sup>,曹流<sup>1</sup>  
1.中国医科大学 2.艾伯特爱因斯坦医学院

肿瘤细胞代谢重编程是肿瘤发生发展过程的一个显著特征。细胞的自噬行为是生物体进化过程

中保留下来的广泛存在的自我消化的过程，自噬能通过调节细胞内稳态来改变细胞的代谢。肿瘤细胞即使在氧气充足的情况下，依然通过糖酵解的形式代谢产能，这一肿瘤细胞特有的能量代谢过程被称之为 Warburg 效应。尽管自噬和 Warburg 效应均参与肿瘤细胞的能量代谢应激反应，但它们之间的分子关系并不十分清楚。我们的研究发现自噬相关蛋白 Atg7 通过结合 Warburg 效应关键调节分子 PKM2，阻碍其与上游直接激酶 FGFR1 的结合抑制 PKM2 的酪氨酸 105 位点磷酸化，从而抑制 Warburg 效应。Atg7 缺失引起的 PKM2 高磷酸化能够促进细胞的上皮间质转化。相反，Atg7 的过表达能够抑制 PKM2 磷酸化和 Warburg 效应，从而抑制肿瘤细胞的上皮间质转化。我们的研究揭示了 Atg7 和 Warburg 效应之间的分子联系，期望为肿瘤防治提供新的理论依据和治疗策略。

## PU-119

### **Chronic psychological stress promotes lung metastatic colonization of circulating breast cancer cells by decorating a pre-metastatic microenvironment through activating $\beta$ -adrenergic signaling**

刘丹<sup>1</sup>,陈泓宇<sup>2</sup>,施明<sup>1</sup>

- 1.徐州医科大学
- 2.解放军总医院

Numerous studies have indicated that primary tumors induce a pre-metastatic niche formation at distant organs by secreting tumor-derived factors. The present study shows that pre-exposure to chronic stress enhanced lung colonization efficiency by circulating tumor cells, suggesting that chronic stress critically influences pre-metastatic lungs before arrival of disseminated tumor cells. Ablation of the sympathetic nerve function by 6-OHDA or blockage of the  $\beta$ -adrenergic signaling by propranolol remarkably suppressed stress-induced lung metastasis. Depletion of circulating monocytes or lung macrophages strongly abolished stress-induced lung seeding by tumor cells, whereas treatment of mice with  $\beta$ -adrenergic agonist isoproterenol (ISO) in pre-metastatic phase promoted the infiltration of macrophages to the lung. Meanwhile, the monocytes in peripheral blood, spleen, and bone marrow were remarkably increased in response to ISO stimulation. These data indicate that the  $\beta$ -adrenergic signaling induces mobilization and release of bone marrow-derived monocytes in the pre-metastatic phase and that the recruitment and infiltration of monocytes/macrophages in the pre-metastatic lung promote lung metastatic colonization by tumor cells. Our data demonstrate that the disturbance of host macroenvironmental homeostasis influences on future metastatic organs.

## PU-120

### **SATB1 promotes human esophageal cancer partially by direct regulating mTOR genes**

胡文<sup>4</sup>,孙泉<sup>2</sup>,熊蓉<sup>2</sup>,张若兰<sup>2</sup>,岳秋菊<sup>2</sup>,胡欣<sup>2</sup>,刘康<sup>2</sup>,宋桂芹<sup>2,3</sup>

- 1.川北医学院
- 2.中国四川省南充市川北医学院第二临床医学院，南充市中心医院组织工程与干细胞研究所
- 3.中国四川省南充市川北医学院生物教研室
- 4.川北医学院 17 级医学影像学

SATB1(一种特殊的富含 AT 序列结合蛋白 1)已被证明在食管癌中发挥致癌作用。然而 SATB1 作为一种转录因子，如何促进食管癌仍不清楚。本文通过综合分析确定了人食管癌细胞中 SATB1 直接调控的基因。特别地是，NextBio 相关分析显示，SATB1 CHIP-Seq 中所识别的与 SATB1 结

合的基因在人类食管癌中经常发生失调。通过 SATB1 结合基因与 SATB1 调控基因的重叠来鉴定 SATB1 的直接靶基因。通过生物分析软件 (IPA)发现在这些 SATB1 直接调控基因中, mTOR(雷帕霉素靶蛋白)通路是最丰富的途径。qPCR 分析证实了 SATB1 对这些基因表达的调控作用。ChIP-Seq 分析显示, SATB1 与这些 mTOR 基因的启动子区域结合。利用 ChIP-qPCR 验证了 SATB1 在 RHOB 上的结合。此外, RHOB 的下调可以促进人类食管癌细胞的生长。值得注意的是, 与 SATB1 相比, RHOB mRNA 的表达与人类食管癌患者的生存率呈正相关。综上所述, SATB1 通过直接调控这些 mTOR 基因(如 RHOB)来调控 mTOR 通路, 从而部分促进人类食管癌的发生。

## PU-121

### PD-L1 基因在巴斯德毕赤酵母中的高效分泌表达及免疫原性分析

王清  
青岛大学附属医院

**目的** 根据巴斯德毕赤酵母 (*Pichia pastoris*, *P. pastoris*) 密码子的偏好, 将人 PD-L1 基因进行密码子优化, 在 *P. pastoris* 中表达 PD-L1, 并对重组蛋白进行生物学活性评价。

**方法** 按照 *P. pastoris* 表达系统密码子偏好, 优化基因序列, 人工合成完整的基因; 构建 pPIC9k-PD-L1 重组表达质粒, 用电穿孔法转化 *P. pastoris* GS115, 在 MD 平板上筛选重组克隆, 用 G418 快速筛选高拷贝转化子, 阳性克隆经甲醇诱导表达后, 培养上清用十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE), 颗粒增强透射免疫比浊法(PETIA)鉴定。重组蛋白的免疫原性经 Western blot 和动物实验鉴定。

**结果** 表达产物分子量约 19KD, 优化后的人 PD-L1 基因在 *P. pastoris* 转化菌种得到了高效表达, 表达量占分泌总蛋白 80%以上, 产物浓度为 750~894mg / L。Western blot 和动物实验显示重组蛋白较好的免疫原性。

**结论** 密码子优化后 PD-L1 在 *P. pastoris* 中获得高效分泌表达, 可用于制备抗血清和诊断试剂标准品。

## PU-122

### CK5/6、P63、P40、CK7、TTF-1、NapsinA、CD56、Syn 及 CgA 在肺鳞癌、肺腺癌及小细胞肺癌活检标本中的表达及意义

刘秀兰,杨宏新,武建强,王妍,李晓丹,王静媛  
内蒙古医科大学

**目的** 检测 CK5/6、P63、P40、CK7、TTF-1、NapsinA、CD56、Syn 及 CgA 在肺鳞癌、肺腺癌及小细胞肺癌活检标本中的表达, 探讨其表达对于肺鳞癌、肺腺癌及小细胞肺癌的鉴别诊断意义。

**方法** 314 例肺癌患者行组织学免疫组化 SP 法, 检测 CK5/6、P63、P40、CK7、TTF-1、NapsinA、CD56、Syn 及 CgA 的表达, 结合相应的临床病理结果进行分析。

**结果** 肺鳞癌 61 例, 肺腺癌 114 例, 小细胞肺癌 139 例。CK5/6、P63 在肺鳞癌的灵敏度和特异度分别为 77.05%和 96.44%、83.61%和 88.93%, 与肺腺癌和小细胞肺癌比较差异有统计学意义 ( $P<0.05$ ), P40 在肺鳞癌中阳性率高达 100%, 特异度为 98.81%。CK7、TTF-1、NapsinA 在肺腺癌的灵敏度和特异度分别为 85.09%和 78.69%、79.82%和 93.44%、56.14%和 95.08%, 与肺鳞癌和小细胞肺癌比较差异有统计学意义 ( $P<0.05$ )。TTF-1、Syn、CgA、CD56 在小细胞肺癌中的灵敏度和特异度分别为 86.33%和 93.44%、89.21%和 98.36%、74.10%和 100%、96.40%和 96.72%。

**结论** CK5/6、P63 和 P40 联合检测可作为诊断肺鳞癌的特异性免疫指标。CK7、TTF-1 和 NapsinA 联合检测可作为诊断肺腺癌的特异性免疫指标。CD56、TTF-1、Syn 及 CgA 联合检测可作为诊断小细胞肺癌的特异性免疫指标。

## PU-123

### 冠心病病人血清 IL-18 与新蝶呤浓度变化及临床意义

王哲

青岛大学医学院附属医院

**目的** 探讨冠心病 (CHD) 病人血清白介素-18 (IL-18) 及新蝶呤 (Npt) 浓度变化及其临床价值。

**方法** 采用 ELISA 法检测 60 例不同类型 CHD 患者血清 IL-18 和 Npt 浓度, 同时选取 20 例同期健康体检者作对照。

**结果** CHD 组患者血清 IL-18 和 Npt 浓度均高于对照组 ( $t=2.273, 5.344; P<0.05$ )。AMI 组血清 IL-18 浓度显著高于 UAP 组、SAP 组和对照组 ( $F=8.507, t=3.308\sim 4.535; P<0.01$ )。AMI 组和 UAP 组血清 Npt 浓度均明显高于 SAP 组和对照组 ( $F=7.161, t=2.023\sim 4.165, P<0.05$ )。重度病变组血清 IL-18 和 Npt 浓度显著高于中度病变组及轻度病变组 ( $F=11.720, 15.098, t=2.598\sim 5.442, P<0.05$ ), 中度病变组显著高于轻度病变组 ( $t=2.239, 2.062, P<0.05$ )。CHD 患者血清 IL-18 与 Npt 的浓度呈正相关 ( $r=0.615; P<0.01$ )。AMI 患者血清 IL-18 和 Npt 浓度的 ROC 曲线下面积 ( $AUC^{ROC}$ ) 为 0.870 和 0.739; UAP 患者血清 IL-18 和 Npt 的  $AUC^{ROC}$  为 0.471 和 0.683。

**结论** 血清 IL-18 和 Npt 浓度变化对 CHD 具有较高的诊断价值, 其中 Npt 是预测冠状动脉斑块稳定性的良好指标。两者的联合检测对评估 CHD 的病变程度和预后判断具有重要意义。

## PU-124

### 脂肪细胞分泌含 miR-27a 外泌体通过抑制 PPAR $\gamma$ 诱导骨骼肌胰岛素抵抗的作用机制研究

于洋,徐樱溪,关奕,羿菲,王卓,杨帆,李丹妮,宋晓宇,曹流  
中国医科大学转化医学院, 教育部细胞生物学重点实验室

骨骼肌胰岛素抵抗是全身胰岛素抵抗及 2 型糖尿病的重要前提。脂肪组织是机体能量储存器和内分泌器官, 近年研究证实脂肪也是肥胖循环系统 miRNA 的主要来源。miR-27a 高表达于脂肪组织, 且在临床肥胖患者中证实与空腹血糖、胰岛素抵抗程度呈正相关。PPAR $\gamma$  是 miR-27a 的下游预测靶点, 同时也是骨骼肌葡萄糖摄取信号通路关键信号分子 IRS-1 和 GLUT4 的核转录因子。因此推测脂肪细胞分泌含 miR-27a 外泌体通过抑制 PPAR $\gamma$  诱导骨骼肌胰岛素抵抗。

**方法** 本研究利用骨骼肌细胞过表达 miR-27a 模型、棕榈酸处理的脂肪细胞及脂肪细胞 miR-27a 沉默上清液共孵育的骨骼肌细胞模型阐明肥胖状态下, 脂肪源性含 miR-27a 外泌体诱导骨骼肌胰岛素抵抗的作用机制。

**结果** 荧光报告素酶实验验证 miR-27a 结合在 PPAR $\gamma$  mRNA 3'UTR 端。C2C12 骨骼肌细胞过表达 miR-27a 后, PPAR $\gamma$  表达显著下降, 骨骼肌葡萄糖摄取信号通路关键信号分子 IRS-1 和 GLUT4 表达显著下降, 细胞糖消耗、糖摄取能力显著下降, 此现象被 PPAR $\gamma$  激活剂罗格列酮所扭转。棕榈酸处理过的脂肪细胞上清液孵育后的骨骼肌细胞内 FABP4 和 miR-27a 含量显著升高, 骨骼肌细胞糖消耗、糖摄取能力显著下降, PPAR $\gamma$  表达显著降低, 且葡萄糖摄取信号通路关键分子 IRS-1 和 GLUT4 显著降低, 而给予脂肪细胞 miR-27a 沉默后, 上述指标均有所改善。



**结论** 脂肪源性含 miR-27a 外泌体能够被骨骼肌摄取并诱导骨骼肌胰岛素抵抗, 其潜在机制可能是通过 miR-27a 抑制 PPAR $\gamma$ 。

## PU-125

### 黄连素抑制 JNK/NF $\kappa$ B 信号通路保护心肌 细胞缺氧复氧损伤机制研究

郑丽霞,张洲,武晋英,马孟涛,徐红德,宋晓宇,曹流,于洋  
中国医科大学

黄连素被证实能够参与心肌缺血再灌注保护作用, 而其机制有待进一步明确。Janus 激酶(JNK)活化介导的炎症损伤是导致心肌缺血再灌注损伤的重要诱因。本研究构建复方黄连素增加其生物利用度, 并在细胞水平探讨增强生物利用度的复方黄连素通过调控 JNK/NF $\kappa$ B 信号通路保护心肌细胞缺氧复氧损伤的作用机制。

**方法** 本研究利用血清药理学方法收集含黄连素大鼠血清, MTT 检测含黄连素血清对缺氧复氧 H9C2 细胞保护作用, 含黄连素血清联合 JNK 激活剂、抑制剂验证复方黄连素通过 JNK/NF $\kappa$ B 信号通路保护心肌细胞缺氧复氧损伤的作用机制。

**结果** 采用 1000mg/kg 复方黄连素灌胃给药大鼠 7 天, 制备大鼠含药血清。采用含黄连素血清预处理 H9C2 细胞能显著改善缺氧 8h 复氧 12h 细胞存活, 给予 JNK 激活剂能显著降低复氧期细胞存活率, 给予 JNK 抑制剂能显著改善复氧期细胞存活率, JNK 激活剂联合给予含黄连素血清能部分扭转 JNK 引起的心肌细胞损伤, 抑制 JNK 激活引起的 NF $\kappa$ B 核易位, 及 NF $\kappa$ B 转录调控的下游 TNF- $\alpha$  释放。

**结论** 黄连素通过调控 JNK/NF $\kappa$ B 信号通路保护心肌细胞缺氧复氧损伤。

## PU-126

### 蛋白酶体抑制剂诱导 SH-SY5Y 细胞构建帕金森 病模型的蛋白质组学研究

张洲,白宁,郭启强,周婷婷,郭文东,李娜,宋晓宇,曹流,于洋  
中国医科大学转化医学院, 教育部细胞生物学重点实验室

帕金森病是常见的神经系统退行性疾病之一。然而, 这种疾病的病因仍不清楚。本文利用蛋白酶体抑制剂(PSI)诱导 SH-SY5Y 细胞建立 PD 模型, 并进行蛋白质组学研究分析。

**方法** 将 SH-SY5Y 细胞分为对照组和处理组, 其中处理组给予 2.5 $\mu$ M PSI。采用 MTT 检测细胞活力。吡啶橙/溴化乙锭,  $\alpha$ -synuclein 免疫荧光和苏木精-伊红染色验证 PD 模型。将发生显著变化的蛋白斑点分离, 用二维凝胶电泳和 DIGE De Cyder 软件进行分析, 然后用 MALDI-TOF 质谱和数据库检索进行鉴定。

**结果** MTT 实验结果表明, 在 PSI 处理后, 细胞活力存在时间和剂量依赖性的下降。2.5 $\mu$ M PSI 能诱导细胞凋亡, H&E 染色和  $\alpha$ -synuclein 免疫荧光验证 PSI 处理组细胞出现嗜酸性内涵体。因此, 采用 2.5 $\mu$ M PSI 处理 SH-SY5Y 细胞 24h 作为后续造模条件。以上两种细胞进行蛋白质组学探讨, 共发现差异表达蛋白 18 种, 其中上调蛋白 7 种, 下调蛋白 11 种。其中鉴定成功的 5 个蛋白点参与泛素蛋白酶体通路诱导的 PD 过程。

**结论** 研究发现 5 个差异表达蛋白点包括线粒体热休克蛋白 75 (MTHSP75)、磷酸甘油酸盐脱氢酶 (PHGDH)、层粘连蛋白结合蛋白(LBP)、酪氨酸 3 /色氨酸 5-木糖酶激活蛋白(14-3-3 $\epsilon$ )和 YWHAZ 蛋白(14-3-3 $\zeta$ ), 其功能参与线粒体功能障碍、丝氨酸合成、淀粉样蛋白清除、细胞凋亡和神经保护

过程。这些发现可能为深化我们对 PD 发病机制的认识提供新的线索。

## PU-127

### 黄连素通过 AMPK/mTOR 途径减轻糖尿病诱导有丝分裂后多种细胞损伤的机制研究

马国婧<sup>1</sup>,姜波<sup>2</sup>,吴璇<sup>2</sup>,李小曼<sup>2</sup>,董想<sup>2</sup>,宋晓宇<sup>2</sup>,曹流<sup>2</sup>,于洋<sup>2</sup>

1.中国医科大学附属第一医院

2.中国医科大学

**背景** 糖尿病是以糖脂代谢紊乱为特征的慢性代谢综合征。慢性高血糖和高脂血症导致多种糖尿病并发症的发生,增加骨骼肌、心脏、脑、肾等有丝分裂后细胞凋亡,严重影响组织的功能。黄连素是天然中草药黄连的提取成分,近年研究表明其具有显著的抗糖尿病活性,是 AMPK $\alpha$ 1 亚基的天然激活剂。因此,我们推测黄连素通过 AMPK 介导的自噬信号通路激活保护高糖诱导的神经元、足细胞和心肌细胞凋亡。

**方法** 构建高糖诱导的 SH-SY5Y、PODO、H9C2 凋亡模型,给予 5 $\mu$ M 黄连素联合 3-MA、Compound C 和 AICAR,MTT 法测定细胞活力,通过 Hoechst 33258 和 MDC 染色检测细胞凋亡和自噬状态,Western Blot 检测凋亡相关蛋白 (bcl-2/bax) 和自噬相关蛋白 (AMPK/mTOR/ULK/Beclin-1/LC3II) 的表达。用 Caspase-3 活性试剂盒检测各组 Caspase-3 的活性。

**结果** 30mM 高糖处理组细胞存活率为对照组的 60%~70%,核分裂和细胞凋亡增加,MDC 染色荧光强度降低,凋亡相关蛋白表达增加,自噬相关蛋白表达降低,黄连素明显恢复细胞存活率,激活自噬信号通路,抑制细胞凋亡,其保护作用部分被 3-MA 和 Compound C 阻断。

**结论** 黄连素能够通过 AMPK 介导的自噬信号通路激活保护高糖诱导的神经元、足细胞和心肌细胞凋亡。

## PU-128

### 基于量子点免疫层析的 Galectin-3 定量检测技术在心力衰竭中的临床应用

王环

青岛大学附属医院

针对心力衰竭的快速检测,建立了基于量子点的荧光免疫层析分析方法及快速定量检测试纸条,实现血清中 Galectin-3 的快速定量检测。该检测试纸条采用双抗体夹心法,通过 N-羟基琥珀酰 (NHS) 和 1-乙基-3-(3-二甲氨基丙基) 碳二亚胺盐酸盐 (EDC) 共价偶联法,将量子点与 Galectin-3 单克隆抗体偶联,制备抗体荧光标记物,同时优化不同条件下单克隆抗体与量子点的偶联效果,构建 Galectin-3 荧光免疫层析检测试纸条,通过建立量子点荧光强度与 Galectin-3 标准品浓度之间的定量关系,从而实现人体血清中 Galectin-3 的定量检测。并对该检测方法的线性、精密性、抗干扰性、回收率、稳定性、参考范围等临床性能进行评价。结果表明, Galectin-3 检测试纸条定量检测线性范围为 0-160.0ng/ml,浓度为 0.47ng/mL 的日内不精密度为 9.74%,日间不精密度为 8.92%。浓度为 3.75ng/mL 的日内不精密度为 5.08%,日间不精密度为 6.60%。浓度为 30.00ng/mL 的日内不精密度为 3.18%,日间不精密度为 4.66%。表观正常人群 95%置信区间的上限为 19.18 ng/mL。临床样本测试结果显示与 ELISA 方法具有良好的一致性 ( $r=0.998$ ,  $P<0.01$ )。该研究为 Galectin-3 在心力衰竭中的快速检测,及荧光免疫层析检测试纸条的研发提

供了技术基础。

## PU-129

### DKK-1 调控脑内小胶质细胞功能促进肺癌脑转移研究

甘冬雪,秦小雪,陈誉华,李波  
中国医科大学

肺癌具有脑转移倾向,具体机制不明。前期工作发现,脑微血管内皮细胞(HBMECs)可以内吞来源于肺癌细胞的外泌体(exosomes),且诱导其过表达 wnt 信号相关分子 DKK-1。C57 小鼠脑内注射 DKK-1 重组蛋白可减少 C57BL/6 脑组织中小胶质细胞数量及抑制其活化,并与小鼠肺腺癌细胞在脑内形成克隆的能力相关。建立体外 HBMEC 同小胶质细胞共培养体系,收集肺癌细胞源性外泌体,处理 HBMEC 则可抑制培养体系中小胶质细胞的活化,且减少小胶质细胞分泌炎症因子;利用 RNAi 技术下调 HBMEC 细胞中 DKK-1 表达水平,前述现象受到抑制,这些提示肺癌细胞源性外泌体可通过调控 HBMEC 分泌 DKK-1 调控脑内小胶质细胞的活化及功能。进一步的 Real-time PCR 和 Western blot 实验结果表明,DKK-1 重组蛋白可抑制小胶质细胞活化。利用立体定位仪建立小鼠肺癌脑内移植瘤模型,分离纯化培养脑内反复种植的三轮鼠肺腺癌细胞,Real-time PCR 和 Western blot 结果提示,脑内定植后的肺癌细胞中 DKK-1 的表达水平同其恶性表型负相关,即 DKK-1 表达水平低的肺癌细胞具有更高的恶性表型。将上述脑内定植的肺癌细胞与小胶质细胞共培养,结果表明低表达 DKK-1 的肺癌细胞可诱导小胶质细胞由 M1 型转变为 M2 型,说明脑内定植的肺癌细胞内 DKK-1 表达及分泌受到抑制,间接促进小胶质细胞向促癌性小胶质细胞(M2 型)转变。综上,脑外肺癌细胞通过其外泌体调控脑微血管内皮细胞 DKK-1 表达及分泌,抑制小胶质细胞的活化以维持其静息状态,当肺癌细胞进入脑内定植生存后,其自分泌的 DKK-1 减少,消除对脑内小胶质细胞的抑制作用,促进其向 M2 型小胶质细胞转变,重塑肿瘤微环境以利于肺癌细胞脑内生存。

## PU-130

### 单核细胞源 resistin 加速增龄小鼠脑微血管重构及其与阿尔茨海默病的关系

韦佳祎,刘东鑫,李颖,董言斌,刘辉,苏正康,王康吉,邹晓俏,悦晋丽,秦小雪,方文刚,赵伟东,陈誉华  
中国医科大学发育细胞生物学教研室,教育部医学细胞生物学重点实验室

脑内淀粉样蛋白(amyloid-beta, A $\beta$ )沉积是阿尔茨海默病(Alzheimer's disease, AD)的重要病理特征。超过 90%的 AD 患者同时存在脑血管病理改变:脑微血管分支减少、密度下降,血脑屏障受损及脑血流量减少等。AD 患者脑微血管病理改变的机制尚不清楚。我们在研究单核细胞于 AD 病变中的作用时发现:AD 患者外周血单核细胞(monocyte, CD14+CD16-)过表达 resistin。为了解单核细胞过表达 resistin 的病理意义,我们基于 CD68 启动子制备了单核细胞特异性高表达人 resistin 的转基因小鼠(CD68-RSN 小鼠),并与高表达 APP/PS1 的 AD 模型小鼠杂交,获得 CD68-RSN/APP/PS1 小鼠。对 12、16 个月龄的杂交鼠的分析结果显示:与同龄 APP/PS1 小鼠相比,CD68-RSN/APP/PS1 小鼠脑内 A $\beta$  沉积显著增加并显示更为严重的记忆障碍。为了进一步研究 resistin 的作用机制,我们检测了脑微血管内皮细胞上直接与脑内 A $\beta$  代谢相关的受体 LRP1、Pgp、RAGE 以及 Megalin, qPCR 结果显示以上受体的表达均没有改变。但有意思的是,免疫荧光结果显示:与同龄 APP/PS1 小鼠相比,CD68-RSN/APP/PS1 小鼠脑组织中微血管的分支减少、密度显著下降(16 个月的微血管密度显著低于 12 个月龄)。以上研究结果提

示：CD68-RSN/APP/PS1 小鼠脑内 A $\beta$  沉积的增加，可能源于 resistin 介导的脑微血管重构所致。进一步的研究表明：与野生型小鼠相比，CD68-RSN 小鼠脑血管内皮细胞的衰老相关基因 beta-galactosidase、p16、FOXO3 表达上调。该结果提示：resistin 介导的脑微血管重构过程可能由脑血管内皮细胞衰老机制介导的。本项目将发现并证实单核细胞/单核细胞源性 resistin 在 AD 发病中的地位 and 作用机制，提出 AD 患者中过表达的单核细胞源 resistin 是 AD 发病的潜在风险因子新概念，为 AD 的诊断和治疗提供了新思路 and 干预靶点。（本研究受国家自然科学基金#31571057 资助）。

## PU-131

### The role of RUNX1 in tumor growth and metastasis of human head and neck squamous cell carcinoma

冯晓冬,王清,伦立民  
青岛大学医学院附属医院

Runt-related transcription factors are essential regulators of a diverse range of developmental processes and have roles in proliferation, differentiation, apoptosis and cell lineage specification. The present study was designed to investigate the expression and function of the runt-related transcription factor 1 (RUNX1) in head and neck squamous cell carcinoma (HNSCC). In clinical analyses, mRNA and protein expression of RUNX1 were increased in tissues of HNSCC patients. This increased expression of RUNX1 was significantly correlated with the tumor size ( $P=0.019$ ), N stage ( $P=0.036$ ) and American Joint Committee on Cancer (AJCC) stage ( $P=0.021$ ). Cox proportional hazard models showed that RUNX1 expression was an independent prognostic indicator for overall survival in HNSCC patients (HR 5.572; 95% CI 1.860–9.963;  $P<0.001$ ). Moreover, suppression of RUNX1 inhibited HNSCC cells proliferation, migration and invasion. Further investigation indicated that expressions of N-cadherin and vimentin in HNSCC cells were decreased, while E-cadherin expression was increased after RUNX1 knockdown. Our data suggest that the increased expression of RUNX1 in HNSCC was associated with tumor growth and metastasis. RUNX1 may be considered as a sensitive biomarker for tumor recurrence risk and prognosis in patients with HNSCC.

## PU-132

### CEBPB 通过调控 ZEB1 抑制上皮-间质转变降低肝细胞癌细胞的迁移、侵袭与远处转移能力

于兵,杨丽华,乔时,胡以平  
海军军医大学

上皮-间质转变在肝细胞癌细胞的迁移、侵袭与远处转移的过程中发挥着重要的作用。我们前期研究表明 CEBPB 不仅可抑制肝细胞癌干细胞的生物学特性，同时也能抑制肝细胞癌细胞的体外迁移与侵袭能力，但其作用机制尚不明确。本研究中我们发现 CEBPB 通过抑制肝细胞癌细胞的上皮-间质转变减低肝细胞癌细胞的体外迁移与侵袭能力，组织芯片、Real-Time PCR 以及 Western Blot 结果表明 CEBPB 过量表达后，肝癌细胞的上皮细胞细胞的标志物（E-Cadherin, ZO-1 等）的表达明显上调，而间质细胞的标志物（N-Cadherin, vimentin 等）的表达则明显受到抑制，同时促进上皮-间质转变的调节因子（SNAI1、ZEB1、TWIST 等）的表达也受到抑制。为进一步阐明 CEBPB 作用的机制，我们通过 Chip-Seq 和 Chip-PCR 的方法发现 CEBPB 可结合于 ZEB1 的启动子区域调控 ZEB1 的表达，随后通过 Luciferase 荧光素酶报告系统确证了 CEBPB 可降低 ZEB1 的

转录活性,从而减弱肝癌细胞的上皮-间质转变,进而减弱肝癌细胞的迁移、侵袭能力。肺毛细血管肿瘤转移的动物模型研究结果显示通过 shRNA 降低 CEBPB 表达后显著提高肝细胞癌细胞在肺部的远处转移,而 CEBPB 过量表达后内则明显降低了肝细胞癌细胞在肺部的远处转移。本研究阐明了 CEBPB 抑制肝癌细胞的迁移、侵袭与远处转移的作用靶点,为肝癌转移的治疗提供了新的靶点。

## PU-133

### 翻转课堂教学模式在医学细胞生物学实验教学中的应用

于敏,徐明,方瑾  
中国医科大学

在传统的实验课教学中,教师为传授知识和技能的主体,学生则被动接受老师讲授的内容,常导致学习效果不理想。翻转课堂利用现代教育技术手段,通过网络平台发布微课等教学资料供学生在课前进行学习,而在课堂上,教师主要指导学生完成学习任务、促进讨论、提供个性化指导,因此翻转课堂有助于学生进行主动学习、提升其学习质量。本研究利用实验微视频,探索翻转课堂教学模式在医学细胞生物学实验教学中的应用效果。

针对大学二年级临床医学专业本科生进行医学细胞生物学实验课的翻转课堂教学模式。课前,教师通过网络教学平台向学生发布学习任务和实验微视频等学习资源,学生根据自身时间安排学习微视频,并在课前完成在线测试。课中,学生以小组为单位,完成实验的讲解和操作,教师对学生点评、提出问题启发学生的思考和讨论、总结要点与难点。课后,教师向学生发放调查问卷,对教学效果进行评价。

100%的学生完成了微视频学习、课前测试与课后调查问卷。学生对翻转课堂的总体满意度达到 88.46%,80.77%的学生愿意推广翻转课堂教学模式。84.62%和 96.15%的学生认为翻转课堂教学模式有助于提升操作规范性和实验成功率。在课堂教学环节中,教师针对操作技巧的示范、疑难问题的答疑、个性化协助和鼓励是确保教学效果的重要因素。

翻转课堂教学模式在医学细胞生物学实验教学中获得了满意的教学效果,学生对这一教学模式的认可度较高,并提出了其学习需求,为有效实施翻转课堂提供了参考。

## PU-134

### miR-3120-5p 通过打靶 Axin2 促进肠癌细胞干性及侵袭能力的实验研究

李宏丹<sup>2,1</sup>,李丰<sup>2</sup>  
1.锦州医科大学

2.中国医科大学细胞生物学系,国家卫健委细胞生物学重点实验室,教育部医学细胞生物学重点实验室

众所周知,肿瘤细胞的干性和侵袭能力是结肠癌复发和转移的主要原因。microRNAs 的失调会破坏细胞信号通路的平衡和生长过程,导致肿瘤发生过度增殖、侵袭转移、化疗药物耐受等。在本研究中,我们应用肠癌细胞系 HCT-116 和 SW-480 来探索 miR-3120-5p 对肠癌细胞干性和侵袭能力的影响。我们发现标志肠癌干细胞标志物的 CD133+LGR5 在 miR-3120-5p 高表达的两种肠癌细胞中的比例多于对照组癌细胞。并且,将 miR-3120-5p 转入这两个细胞株中,经流式细胞术,qRT-PCR 和克隆球形成实验检测,肿瘤干细胞的比例上调。进一步经 transwell 实验,明胶酶谱实验和蛋白印记实验发现 miR-3120-5p 能够促进肠癌细胞的侵袭能力。用 TargetScan 靶基因预测,我们发现 Axin2 是 miR-3120-5p 的一个潜在的靶点,荧光素酶报告基因分析显示 miR-3120-5p 能够与 Axin2 结合。为了验证靶基因,我们在肠癌细胞中转染 Axin2 的 siRNA,下调 Axin2 的表达,

结果发现抑制 Axin2 的表达能够促进肠癌细胞的干性和侵袭能力。不仅如此, Axin2 过表达还能够部分逆转 miR-3120-5p 引起的肠癌细胞干性和侵袭能力上调。总之, 我们的结果阐明了 miR-3120-5p 通过打靶 Axin2 促进肠癌细胞干性和侵袭能力, 用 antago-miR-3120-5p 下调 miR-3120-5p 的表达可能在肠癌细胞治疗方面发挥重要作用。

## PU-135

### Phosphorylation of SMC1A promotes hepatocellular carcinoma cell proliferation and migration

张莹<sup>1,2</sup>, 羿菲<sup>2</sup>, 曹流<sup>2</sup>

1. 中国医科大学附属第一医院

2. 中国医科大学

Structural maintenance of chromosomes protein 1A (SMC1A) has been implicated in the development of a variety of cancer types. However, its role in hepatocellular carcinoma remains unknown. In this study, we found that phosphorylated SMC1A was highly expressed in HepG2 and Bel7402 cells when compared with other cancer cell lines. Furthermore, SMC1A knockdown dramatically reduced HepG2 and Bel7402 cell proliferation and migration. Re-expressing phosphomimetic mutants S957DS966D significantly enhanced the proliferation and migration of SMC1A knockdown HepG2 and Bel7402 cells. In addition, phosphorylated SMC1A promotes hepatocellular carcinoma cells growth in vivo. Importantly, the expression of phosphorylated SMC1A was significantly higher in human hepatocellular carcinoma cells when compared to peritumor benign hepatocytes, and its overexpression was significantly associated with worse prognostic outcomes. These observations suggest that phosphorylation of SMC1A is a vital event in tumorigenesis and disease progression in hepatocellular carcinoma thus necessitating further investigation.

## PU-136

### 基于 TCGA 数据库寻找影响肺腺癌预后的肿瘤微环境因子

毕可伟, 魏序格, 李波

中国医科大学

肿瘤微环境由肿瘤细胞, 多种免疫细胞及基质细胞构成, 在肿瘤细胞的生长, 病灶形成和耐药等病理过程中发挥了重要作用。免疫细胞和基质细胞在肿瘤微环境中的比例与肿瘤细胞的恶性转归有着潜在的相关性。肺癌的发病率及死亡率逐年增加, 其中腺癌是最为常见的早期肺癌病理类型, 因此从肿瘤微环境角度出发, 在肺腺癌早期微环境中寻找能够影响肺腺癌发生发展及预后的独立因素, 对其疾病的早期诊断及预后判定具有重要的临床意义。TCGA 数据库由于其使用的便捷性和数据信息的广泛深入性而成为目前肿瘤研究中对大数据进行数据文本挖掘的依据。我们利用 ESTIMATE 算法评估 TCGA 数据库中有关 551 例肺腺癌样本的转录本二代测序结果, 针对免疫和基质基因转录本成分依据 ESTIMATE 算法评估出得分高低两组, 进一步对高分组和低分组进行基因差异表达分析, 共获得 379 个与肿瘤微环境相关的差异基因。对这些获得的差异基因进行单因素/多因素 COX 回归分析, 建立患者风险预测模型 (AUC=0.704)。联合差异基因 PPI 蛋白网络互作分析, 得到 COX 模型与互作节点共有差异基因 BLK。对该基因的 logistic 回归分析显示 BLK 与患者临床 TMN 分期, stage 分期(stage III VS stage I, p-value=0.007)等具有显著相关性。对 BLK 的单因素/多因素 COX 联合分析(多因素 COX HR=0.73, 单因素 COX p-value=0.007)显示该基因可以作为一个独立的预后因子。基因集富集分析 (GSEA) 提示过表达 BLK 的样本中其转录本功能通

路富集于细胞黏附,趋化因子信号转导等。肺腺癌肿瘤微环境中 BLK 可能作为一个潜在独立的不良预后标志分子,其可能调控肺癌细胞黏附及调控趋化因子信号通路参与肺腺癌的发生发展过程。

## PU-137

### 通过抑制机械张力诱导的 YAP 激活维持肝细胞的生理功能

孙平新<sup>1</sup>,张冠宇<sup>1</sup>,苏小惠<sup>1,2</sup>,金彩霞<sup>1</sup>,虞欣璐<sup>1</sup>,吕竺蔓<sup>1</sup>,马浩鑫<sup>1</sup>,张明亮<sup>4</sup>,魏万国<sup>2</sup>,李文林<sup>1</sup>

1.第二军医大学

2.中国科学院上海高等研究院

3.同济大学医学院

4.上海交通大学医学院

肝细胞是执行肝脏功能的主要细胞类型。功能性肝细胞在药物的开发与评价、肝脏疾病的细胞治疗等领域具有重要的应用价值。但是,如何在体外维持成熟肝细胞的功能一直以来都是一个悬而未决的难题;即使是新鲜分离的肝细胞经短暂的体外培养后也会发生去分化、并丧失肝细胞的核心功能。目前,对成熟肝细胞去分化的分子机制的认识仍然有待深入。在本研究中,我们发现机械张力诱导的 YAP (yes-associated protein) 激活触发了成熟肝细胞的去分化,降低体外培养环境的机械张力足以抑制肝细胞的去分化并维持其功能。基于该机制上的认识,我们通过化学筛选鉴定了一个小分子的组合可以通过调节细胞机械张力维持肝细胞的生理功能。本研究揭示了成熟肝细胞去分化的分子基础,并建立了在体外维持肝细胞生理功能的有效手段。

## PU-138

### 在体内和体外实验中评估羊膜和脐带间充质干细胞对肿瘤发生发展的影响

孟明耀<sup>1,2</sup>,李琳<sup>1,2</sup>,王文举<sup>1,2</sup>,刘菲菲<sup>1,2</sup>,宋健<sup>1,2</sup>,杨松林<sup>1,2</sup>,谭晶<sup>1,2</sup>,高慧<sup>1,2</sup>,赵旖旎<sup>1,2</sup>,唐维伟<sup>1</sup>,韩睿<sup>1,2</sup>,朱凯<sup>1,2</sup>,廖力微<sup>1,2</sup>,侯宗柳<sup>1,2</sup>

1.昆明市延安医院

2.云南省肿瘤免疫防治重点实验室

**目的** 目前人间充质干细胞(hMSCs)已应用于多种治疗方法。但是, MSCs 在肿瘤进展中的作用仍不清楚。一些研究表明, MSCs 可促进肿瘤生长,而其他人有相反的结果。由于 MSC 对肿瘤细胞的研究缺乏具体证据,因而阻碍了其进一步应用。

**方法** 在目前的研究中,我们使用羊膜(hAMSCs)和脐带(hUCMSCs)的在体内和体外对肿瘤的发生发展的影响进行评估。在体内实验中,我们建立了皮下异种移植肿瘤细胞的裸鼠模型和小鼠的转移瘤模型。此外,我们还通过细胞因子芯片分析肿瘤细胞 SPC-A-1 与 MSC 共培养上清中的细胞因子。

**结果** 我们的研究表明, hUCMSCs 不仅不会促进癌细胞的增殖,还会抑制其迁移。此外,它们抑制人脐静脉内皮细胞(HUVEC)中的管形成。虽然 hAMSCs 显示出对癌细胞运动的抑制作用,但其对癌细胞的增殖作用确实增强。在体内数据显示, hUCMSCs 不会促进肺腺癌和胃癌异种移植的发展。然而, hAMSCs 可以做到。小鼠转移瘤模型的结果也证明了这一点即 hUCMSCs 和 hAMSCs 均不会显著增强肺转移。细胞因子芯片结果显示,共培养上清液中有 11 种炎症因子, 8 种生长因子和 11 种趋化因子有显著分泌和改变。

**结论** 体外和体内研究数据表明，与 hAMSCs 的应用相比，hUCMSCs 在新的治疗策略和应用中应该是更安全的。而且，这是首次阐明 UCMSC-和 AMSC-a 如何影响肿瘤生长和转移的可能的分子机制。

## PU-139

### 脐带间充质干细胞对食蟹猴多发性硬化模型的治疗作用

刘师节<sup>1,4</sup>,王晋<sup>1,2</sup>,韩睿<sup>1,4</sup>,孟明耀<sup>1,4</sup>,杨莉<sup>1,3</sup>,高慧<sup>1,4</sup>,赵旖旎<sup>1,4</sup>,杨利蓉<sup>1,4</sup>,王润清<sup>1,4</sup>,唐维伟<sup>1,4</sup>,和占龙<sup>5</sup>,李琳<sup>1</sup>,候宗柳<sup>1,4</sup>

- 1.昆明市延安医院
- 2.昆明市延安医院放射科
- 3.昆明市延安医院老年病科
- 4.云南细胞生物与临床转化研究中心
- 5.中国医学科学院生物研究所

多发性硬化症 (MS) 是一种在全世界范围内影响了 250 万青年人的脱髓鞘疾病。最近的研究表明，干细胞移植治疗是一种极具潜力的疗法，越来越多研究聚焦在其是否能改善 MS 患者的生活质量。在本项研究中，我们成功在食蟹猴中建立实验性自身免疫性脑脊髓炎 (EAE) 模型，这是最常见的模拟 MS 病程的模型。为了评估人脐带间充质干细胞 (UCMSCs) 对 MS 的治疗效果，我们通过静脉内注射将 UCMSCs 移植到食蟹猴 EAE 模型中。研究结果表明，UCMSC 移植显著改善了 MS 的临床症状。磁共振结果和临床症状表明，UCMSCs 治疗后脱髓鞘病灶明显减少。此外，本研究还表明，发挥对 MS 的治疗作用，主要表现在 UCMSCs 通过免疫调节功能，影响食蟹猴 MS 模型中细胞因子分泌，对外周血中功能性 T 细胞分化产生影响。

## PU-140

### AD 脑内炎症环境促进神经干细胞增殖

尚德淑,商宇,刘晓颖,陈添娇,张玉琪,陈誉华  
中国医科大学

阿尔茨海默病 (Alzheimer's disease, AD) 是一种最常见的痴呆类型，目前尚无有效治疗手段。神经干细胞是存在于成年脑内的具有神经再生功能的细胞，但随着年龄增长脑内神经干细胞数量明显减少。免疫炎症反应被认为是 AD 发病的重要机制，找到 AD 脑内炎症环境对神经干细胞影响的机制对于促进神经再生，达到缓解疾病的目的具有重要意义。我们选取以往已报道文献中与 AD 相关的脑脊液中的因子，检测其对神经干细胞增殖和分化的作用。CXCL1 是一种重要的趋化因子，CXCL1 升高并且被认为是早期联合诊断阿尔茨海默病的指标之一。而 resistin 是炎症前分子，与急性和慢性炎症有关，有研究报道痴呆患者外周血抵抗素浓度水平与脑内浓度成正相关。我们发现体外  $A\beta$  能使活化巨噬细胞合成与分泌更多的 CXCL1，将 CXCL1 注射入野生型小鼠侧脑室，腹膜内注射 BrdU 标记增殖神经干细胞，发现小鼠室管膜下层 BrdU 与 Nestin 双阳性细胞数量明显增加；CXCL1 抑制培养的神经干细胞分化为星形胶质细胞，并通过增加 NOX2/gp91phox 表达促进活性氧的生成，动物体内抑制活性氧的生成能够阻断 CXCL1 促进的神经干细胞增殖作用。而侧脑室注射 resistin 时，我们发现小鼠脑内室管膜下区的神经干细胞和移植的神经干细胞向星形胶质细胞分化的数量减少；体外实验表明，非定向分化培养条件下，resistin 促进神经干细胞增殖；随着浓度升高，resistin 会导致向星形胶质细胞分化的神经干细胞线粒体 JC-1 染色由聚合型向单体型转变，提示 resistin 通过改变线粒体膜电位抑制其分化。上述结果提示，在 AD 脑内炎症环境下，脑脊液中的炎症因子可能反应性地促进室管膜下层神经干细胞增殖。是否这种以影响神经干细胞内活性氧水平和线粒体功能改变为基础的细胞增殖会最终造成神经干细胞耗竭需要进一步研究。



## PU-141

### GRP78 的 siRNA 改良的间充质干细胞分泌的外泌体抑制肝癌细胞对索拉菲尼的耐药

李宏丹<sup>1</sup>,杨成<sup>2</sup>,史一杰<sup>1</sup>,赵亮<sup>1</sup>

1.锦州医科大学

2.锦州市中心医院

索拉菲尼是一种有效的临床肝癌治疗用药，能够有效改善肝癌病人的预后。然而，却经常发生获得性耐药。因而，迫切的需要研究出替代方案来克服索拉菲尼耐药。外泌体能够承载并传输各种分子，可以改良携带治疗药物。GRP78 在索拉菲尼耐药的肿瘤细胞中表达明显高于索拉菲尼敏感的细胞。在本研究中，我们用 GRP78 的 siRNA 改良工具细胞 BM-MSCs，使其分泌的外泌体中含有 GRP78 的 siRNA。结果发现 GRP78 的 siRNA 改良后的外泌体与索拉菲尼联合治疗能够有效地在肝癌细胞中打靶 GRP78，在体外抑制癌细胞的生长和侵袭。进一步，在体内裸鼠模型中，我们发现 GRP78 的 siRNA 改良后的外泌体与索拉菲尼联合治疗也能够抑制肿瘤的生长和转移。总之，GRP78 的 siRNA 改良后的外泌体能够增加癌细胞对索拉菲尼的敏感性，逆转索拉菲尼耐药。

## PU-142

### 胃癌细胞中 HSF1 结合 MORC2 通过 PRC2 下调 ArgBP2

佟宇鑫,李妍,顾卉,王春玉,刘福团,邵阳光,李丰

中国医科大学

ArgBP2 (Arg kinase-binding protein 2) 是一种支架蛋白 (scaffold protein)，整合细胞黏附和肌动蛋白细胞骨架重组相关的多条信号通路。作为潜在的肿瘤抑制子，ArgBP2 在抑制癌症转移方面发挥重要作用。但是，ArgBP2 在胃癌细胞迁移中的作用及其调控机制目前尚不清楚。我们鉴定了 ArgBP2 的增强子，并证明 HSF1 (heat shock factor1) 与 MORC2 (microorchidia, CW-type zinc finger 2) 直接相互作用且 HSF1 结合到 ArgBP2 的增强子上。我们的结果表明 HSF1 的 mRNA 在胃癌临床样本中高表达，且 HSF1 的表达与肿瘤的大小明显正相关。体外实验结果表明 HSF1 促进胃癌细胞的增殖、迁移和侵袭。HSF1 和/或 MORC2 促进 PRC2 (polycomb repressive complex 2) 复合物，特别是 EZH2 (enhancer of zeste homolog 2) 招募到 ArgBP2 的增强子上，EZH2 催化 H3K27 的三甲基化，导致 ArgBP2 的转录抑制。此外，HSF1 和 MORC2 诱导的胃癌细胞的迁移和侵袭依赖于 ArgBP2 或 EZH2。临床数据分析表明 ArgBP2 与 MORC2、HSF1 和 EZH2 负相关。我们的结果为进一步研究 HSF1 下调 ArgBP2 的机制奠定了基础，有助于进一步研究 HSF1&MORC2-PRC2-ArgBP2 信号通路及其在胃癌中的功能。

## PU-143

### 基于液滴阵列芯片的核酸适配体实时定量 RT-PCR 方法的建立及其在外泌体定量检测中的应用

刘先博,方瑾

中国医科大学

肿瘤细胞通过分泌外泌体调节肿瘤微环境，与肿瘤的发生发展密切相关。近年来，基于外泌体的液体活检技术因其非侵入性、迅速便捷等优势，已逐渐被用于进行肿瘤的筛查诊断和预后评价，

但目前高灵敏度检测肿瘤特异性外泌体仍然是一个挑战。

课题组前期通过 Cell-SELEX 技术筛选获得能够特异性结合转移性大肠癌 LoVo 细胞的核酸适配体 W3, 研究发现其靶标分子可以通过外泌体的形式分泌, 即 W3 可以与表达有 W3 靶分子的外泌体特异性结合, 为本研究发展高灵敏度检测肿瘤特异性外泌体提供了重要基础。利用液滴阵列实时定量 RT-PCR 系统, 包括液滴阵列芯片、激光诱导荧光检测和数据采集系统。首先通过包被有外泌体蛋白 CD63 抗体的液滴阵列芯片捕获待测体系中的外泌体, 再利用 W3 核酸适配体与芯片上捕获到的外泌体特异性结合, 最后将 W3 核酸适配体作为报告分子, 通过 RT-PCR 技术对其进行扩增, 根据体系中输出的荧光信号检测 W3 核酸适配体的含量, 进而对结合在芯片上的外泌体进行特异性定量分析。基于上述方法, 实现了对细胞上清及病人血清中相应外泌体的特异性定量检测, 为高灵敏度检测肿瘤特异性外泌体提供了方法学基础, 有望用于肿瘤的早期诊断和预后监测。

## PU-144

### 以大肠杆菌 IbeA 蛋白侵袭结构域为靶点的抗菌先导抑制剂的计算机筛选与鉴定

徐晓倩, 蔡莹, 陈誉华  
中国医科大学

新生儿细菌性脑膜炎是儿科严重感染性疾病之一, 临床上尽管有针对细菌的抗生素和相关的支持疗法, 但仍有 5%-40% 的患儿死亡。大肠杆菌 K1 株 (*E. coli* K1) 是引起新生儿细菌性脑膜炎最常见的革兰氏阴性致病菌。现已知, 引起大肠杆菌性脑膜炎的首要条件是: 血行播散的大肠杆菌必须穿过主要由脑微血管内皮细胞 (BMECs) 组成的血脑屏障, 其中关键的环节是 *E. coli* 黏附并侵袭进入 BMECs。陈誉华教课题组首次在体内 (*In vivo*) 鉴定出 Caspr1 为大肠杆菌毒力因子 IbeA 在 BMECs 上的受体。IbeA 通过 229-343 氨基酸片段结合于 Caspr1 胞外段 203-355aa 组成的 Laminin 蛋白家族结构域实现细菌穿透血脑屏障。基础以上研究结果, 我们首选通过计算机辅助同源建模的方法构建了 Caspr1(203-355aa) 及 IbeA(229-343aa) 的三维空间结构, 并预测了二者之间的结合模式及互作位点, 通过 MM/GBSA 及 RMSD 确定了二者的稳定结合。基于预测模型, 我们发现 IbeA(229-343aa) 恰好是一个稳定性较高的小分子结合口袋, 这一证据表明, IbeA(229-343aa) 区域可能在调解细菌入侵方面发挥关键作用。进而我们利用荷兰 SPECS 公司提供的类药性小分子化合物库中对所获分子模型进行虚拟筛选, 从 213279 种市售化合物中寻找潜在的抑制剂。对结合能排序在前的 50 种小分子在体外通过表面等离子共振 (SPR) 测试其与 IbeA (229-343aa) 纯化蛋白的结合能力滴定, 9 种化合物表现出直接结合能力。进而通过体外毒性测试及细菌侵袭实验证实 4 种分子可在低细胞毒性范围内显著减少或阻止细菌侵入 hBMECs。本研究结果可为研发阻断新生儿细菌性脑膜炎的小分子化合物药物提供可靠的结构生物学及分子靶标资料, 并提供潜在的类药性小分子结构。

## PU-145

### Generation of insulin-secreting cells from mouse gallbladder stem cells by small molecules in vitro

陈费, 王敏君  
海军军医大学

Background: Stem cell derived pancreatic  $\beta$ -like cells hold great promise for treating diabetes. Gallbladder belongs to the extrahepatic bile duct system and possess stem-like cells. These stem cells could be expanded in vitro and have the potential of differentiating into hepatocytes,

cholangiocytes or pancreatic cells. In this study, we aimed to investigate an approach for the generation of pancreatic  $\beta$ -like cells from gallbladder stem cells (GSCs) without genetic modification. We first isolated CK19 and EpCAM positive cells from the gallbladder of CK19CreERT; Rosa26R-GFP mouse. The Gallbladder stem cells could be expanded for more than 15 passages. They expressed typical hepatic stem cell markers including CK19, EpCAM, Sox9, Albumin etc. By screening method, we found that adding Noggin, FR180204 and Cyclopamine could efficiently induce gallbladder stem cells differentiating into insulin-secreting cells. These cells expressed Pdx1, Nkx6.1 and Insulin, but were negative for Gcg. After transplantation with cellulosic sponge, they could ameliorate hyperglycemia in the diabetic mice. This study provides a new approach which can generate insulin-secreting cells from gallbladder without genetic modification. This offering an option for  $\beta$  cell therapy in treating type 1 diabetes.

## PU-146

### 皮肤罕见肿瘤 Paget's 病的多组学研究

张国红<sup>1</sup>, 周宋霞<sup>1</sup>, 麦瑞琴<sup>1</sup>, Youwen Zhou<sup>2</sup>  
1. 汕头大学医学院  
2. University of British Columbia

Paget's 病是好发于乳腺、阴囊等部位的皮肤罕见恶性肿瘤，临床表现为皮肤瘙痒、糜烂伴红肿等典型的湿疹症状；其组织病理学特征是皮肤鳞状上皮内出现黏液腺癌，至今发病机制不明。Paget's 病按照发病部位分为乳腺 Paget's 病(MPD)与乳腺外 Paget's 病(EMPD)。我们利用表达谱芯片以及 RNA-seq 筛选出阴囊 Paget's 病肿瘤组织中先锋转录因子 FOXA1 的异常高表达。进一步在构建 Paget's 病组织样本库的基础上，利用免疫组织化学染色在大样本 MPD(n=86)与 EMPD(n=59)肿瘤组织中予以验证；结果发现，FOXA1 在 Paget's 病肿瘤组织中的阳性表达为 88%，而在正常对照皮肤不表达。最后，利用组织显微切割联合外显子组测序研究策略，分析 40 对 Paget's 病肿瘤组织中的体细胞突变；结果提示，组蛋白相关基因 KMT2C(39%)、ARID2 (22%) 发生高频突变；而且 Paget 细胞突变类型提示其符合皮肤角质形成细胞来源的特征。KMT2C 与 FOXA1 相互作用参与调控雌/雄激素与组蛋白的相互作用，以及影响鳞状上皮向腺上皮的化生。综合以上发现，我们利用多组学研究策略，寻找 Paget's 病的发生分子基础，为进一步详尽阐明其发生机制奠定基础。

## PU-147

### 年轻血液促进衰老肝细胞逆转并提高老年肝脏再生和代谢功能

刘清桂, 陈费, 王敏君  
海军军医大学

肝脏是人体功能最为复杂的器官，老年个体肝脏因肝细胞衰老而导致其再生和代谢功能低下，不仅直接影响老年人群的生活质量，还极易引发衰老相关的肝脏疾病。因此，有效缓解或预防老年肝脏功能异常引起的衰老疾病，实现健康老龄化，将取得巨大的社会效益和经济效益。在本研究中，我们首先建立年轻和老年小鼠的联体共生模型实现血液互换共享。随后我们发现在年轻血液微环境的作用下，老年小鼠肝脏的肝细胞衰老发生逆转，表现为衰老相关  $\beta$  半乳糖苷酶活性降低，细胞周期抑制因子表达下降以及高倍体肝细胞比例降低等。其次，联体后老年肝脏进行三分之二肝切后剩余的肝细胞可以快速发生增殖，其增殖能力恢复至年轻肝细胞一样，并完成了损伤肝脏的再生。更为重要的是，老年肝脏因脂质代谢降低而发生的脂肪肝现象以及糖原储存能力也因年轻血液的作用而发生了逆转，老年血清甘油三脂、低密度脂蛋白等指标降低。因此，年轻血液促进肝细胞

衰老逆转的同时提高了老年肝脏再生与代谢功能，为临床上衰老相关疾病的防治奠定了重要基础。

## PU-148

### 血清腺苷脱氨酶（ADA）活性与冠心病的关系：一项基于 9929 例参与者的回顾性病例-对照研究

玄超<sup>1</sup>, 田婷婷<sup>1</sup>, 凌·演演<sup>1</sup>, 何国伟<sup>2</sup>, 田清武<sup>1</sup>, 伦立民<sup>1</sup>

1. 青岛大学医学院附属医院

2. 俄勒冈健康和科学大学, 波特兰, 美国

**目的** 甲硫氨酸循环-碳代谢生化过程中的多种底物，代谢物，酶和辅因子等均与心血管疾病的发生有密切关系。同型半胱氨酸、尿酸、非对称二甲基精氨酸等可以导致内皮功能损伤，是心血管疾病的独立危险因素。L-精氨酸、腺苷、叶酸等可以保护内皮功能是心血管系统的保护性因素。腺苷脱氨酶（Adenosine Deaminase, ADA）参与腺苷的代谢，其与冠心病的关系目前仍处于医学假说阶段。本研究旨在通过大样本回顾性病例-对照研究探索血清 ADA 活性与冠心病的关系。

**方法** 基于医院的回顾性病例对照研究（2012 年 12 月-2018 年 7 月）共纳入冠心病患者 5212 例和年龄、性别匹配的没有冠心病症状的对照患者 4717 例。血清 ADA 活性的测定采用过氧化物酶法。

**结果** 与对照组相比（ $11.71 \pm 4.20 \text{U/L}$ ），冠心病组血清 ADA 活性显著降低（ $10.08 \pm 3.57 \text{U/L}$ ，unpaired *t*-test,  $P < 0.001$ ）。心肌梗死组血清 ADA 活性（ $9.77 \pm 3.80 \text{U/L}$ ,  $n=1873$ ）与稳定性心绞痛（ $10.26 \pm 3.70 \text{U/L}$ ,  $n=1332$ ）和不稳定性心绞痛组（ $10.25 \pm 3.22 \text{U/L}$ ,  $n=2007$ ）相比显著降低（one-way ANOVA,  $P < 0.001$ ）。经多因素校正后，血清 ADA 活性仍与冠心病呈显著负相关性（OR = 0.852, 95%CI: 0.839-0.865,  $P < 0.001$ ）。此外，血清 ADA 活性与血糖水平呈正相关（ $r=0.237$ ,  $P < 0.001$ ），并在糖尿病患者中显著升高（ $11.27 \pm 4.04 \text{U/L}$ ,  $P < 0.001$ ）。

**结论** 本研究首次证明了冠心病患者特别是心肌梗死患者血清 ADA 活性显著下降。这可能与冠心病状态时机体为维持腺苷水平保护冠脉内皮功能和心血管系统有关。ADA 活性测定已广泛应用于临床实验室，揭示其活性与冠心病状态的关系对疾病的预防、控制和治疗有一定意义。

## PU-149

### HIV-1 的治疗策略研究

孙有湘

青岛大学附属医院

HIV-1/AIDS 治疗是目前全球共同面对的难题，HIV-1 不仅容易变异导致耐药株产生，其基因组还能够整合进宿主染色体形成潜伏感染，使治疗药物和机体免疫系统失去攻击靶点，导致 HIV-1 感染机体后很难被彻底清除实现治愈。当前高效抗反转录病毒疗法（Highly active antiretroviral therapy, HAART）是 HIV-1 治疗的主要手段，可将体内病毒载量控制在检测限下甚至有潜力阻断 HIV-1 的水平和垂直传播路径。然而从体内清除 HIV-1 潜伏库，实现治愈的目标仍是艰巨的科研课题。近年从 HIV-1“精英控制者”体内分离得到了多种单克隆广谱中和抗体，有研究发现被动输注抗体可不仅能够阻断 HIV-1 在自体内的 cell to cell 以及 cell-free 传播通路，抗体分子还能通过其 Fc 结构域介导的免疫效应清除游离病毒颗粒并抑制病毒潜伏库导致的 HAART 停用后的病毒反弹。通过载体介导 HIV-1 广谱中和抗体基因在 HIV-1 患者体内长期稳定表达，已成为 HIV-1 治疗新的研究热点。本文就 HIV-1/AIDS 治疗的新技术、新进展做一综述。

## PU-150

### 基于网络药理学探索青藤碱抗乳腺癌作用的靶点及相关通路研究

李晓梅<sup>1,2</sup>, 司亚晨<sup>3</sup>, 谌卫<sup>3</sup>, 于兵<sup>2</sup>, 罗清<sup>1</sup>

1. 遵义医科大学附属医院 肿瘤医院肿瘤研究室, 遵义市汇川区大连路 149 号, 563000

2. 海军军医大学细胞生物学教研室, 上海市杨浦区翔殷路 800 号, 200433

3. 上海长海医院肾内科, 上海市杨浦区长海路 128 号, 200433

青藤碱对 MCF-7 等乳腺癌细胞的增殖、侵袭和转移具有明显的抑制作用。然而, 其作用的靶点尚不明确。网络药理学是基于“疾病-基因-靶点-药物”相互作用网络基础, 从多靶点的研究策略出发, 整体上预测药物的作用靶点。本研究通过青藤碱网络药理学的分析, 探寻青藤碱抗乳腺癌作用中的主要作用靶点及相关通路。我们通过蛋白质-化学相互作用网络 STITCH 数据库、基于分子结构的二维和三维相似性 Swiss Target Prediction 数据库以及 TCMPTD 数据库检索青藤碱作用的相关靶点, 分别得到 38、16、10 个相关靶点, 将三个数据库检索结果取并集后最终筛选得到 58 个青藤碱作用的候选靶点。随后, 应用 Funrich 3.1.3 软件对筛选的靶点进行 GO 富集和 KEGG 通路分析构建青藤碱药物分子-靶点-通路网络图, 结果显示青藤碱作用的靶点主要富集于 ERK、TLRs、NF- $\kappa$ B、ERBB 受体以及 MAPK 等 10 个信号通路。利用 Real-Time PCR 对筛选靶点进行 RNA 水平的进一步验证, 结果显示 MYD88、MAPK14、OPRM1 等 13 个基因在青藤碱作用后发生显著的变化, 进一步的信号通路分析显示这些变化显著的基因主要分布于 TLRs、MAPK 以及 ERBB 受体等信号通路。本研究通过网络药理学揭示了青藤碱在抗乳腺癌作用中的潜在靶点, 为乳腺癌治疗的多靶点药物的开发和机制研究提供实验依据。

## PU-151

### Calmodulin 与核仁解旋酶互作调控核糖体 RNA 的生成

杨佳琳, 赵伟东  
中国医科大学

钙调蛋白 Calmodulin (CaM) 由 148 个氨基酸组成, 分子量为 16.7kDa, 是钙离子结合蛋白, 存在于几乎所有的真核细胞中。CaM 每个末端有两个 Ca<sup>2+</sup> 结构域, 每个结构域可以结合一个 Ca<sup>2+</sup>, 一个 CaM 可以结合 4 个 Ca<sup>2+</sup>, 并在与 Ca<sup>2+</sup> 结合后构象翻转, 疏水基团暴露。从而 CaM 可与下游多种靶蛋白相互作用, 并依赖钙离子调节它们的功能。

核仁解旋酶, 主要分布在核仁与核基质中。据文献报道, 核仁解旋酶与 RNA polymerase 1 (POL I) 最大的亚基 RPA194 直接结合, 从而抑制 POL I 的转录过程。

研究表明, CaM 可以调节 RNA 聚合酶 II 依赖性的基因转录, 但 CaM 参与调控 rRNA 的生成尚未见报道。

本研究首先确定 CaM 能够影响新生 (nacent) rRNA 生成。在 Neuro-2a 细胞中, 用 4 硫代尿嘧啶标记 30min 内生成的新生 RNA, 并利用链霉亲和素磁珠提出新生 RNA, 反转录并进行实时荧光定量进行分析。结果显示, 在 CaM 过表达的情况下, 45S nacent RNA 水平明显升高; 在 CaM Knockdown 或 CaM 抑制剂处理条件下, 45S nacent RNA 水平明显降低。同时利用荧光素蛋白酶报告基因实验证明在 rDNA 水平上过表达 CaM 能够促进 45S promoter 的转录。

为找到与 CaM 作用并调节 rRNA 的靶蛋白, 我们利用 GST pull down 实验结合蛋白质谱分析, 发现 CaM 可与核仁解旋酶结合。通过免疫共沉淀发现核仁解旋酶与 CaM 结合, 细胞免疫荧光发现二者在细胞核中存在共定位。同时过表达 CaM 时, 通过免疫共沉淀发现核仁解旋酶与 RPA194 的结合减少; 在 CaM Knockdown 或 CaM 抑制剂条件下, 核仁解旋酶与 RPA194 的结合增加。由此认为, CaM 与核仁解旋酶竞争性结合 RPA194 从而调节 rRNA 的新生。

本研究准备进一步确认核仁解旋酶与 CaM 结合的关键结构域，并在神经元中对 CaM 调控 rRNA 生成的生理功能进行探讨。

## PU-152

### 肌动蛋白亚型参与巨噬细胞吞噬细菌的机制

赵文心,马岚,杨雪婷,李晶莹,杜书嵩,张雪薇,赵伟东  
中国医科大学

作为固有免疫系统的基础，巨噬细胞对细菌的吞噬作用是宿主抵御病原体入侵的第一道防线。研究表明，吞噬过程涉及多个阶段，包括相关分子模式 MAMP 的识别、肌动蛋白细胞骨架重塑、吞噬杯的形成、周围辅助受体的进一步参与、膜融合等，其中肌动蛋白纤丝的重塑与去重塑是吞噬过程的基础。本研究利用细菌吞噬实验，激光扫描共聚焦显微镜成像技术，对不同亚型肌动蛋白在巨噬细胞吞噬细菌过程中的作用进行研究。

在佛波酯（PMA）诱导作用下，人单核细胞株 THP-1 细胞分化成为具有吞噬能力的巨噬细胞，进行巨噬细胞吞噬大肠杆菌（E. coli K1 株 RS218）的吞噬试验，并对 F-actin 和细菌进行免疫荧光染色后，利用共聚焦扫描显微镜观察，发现巨噬细胞在吞噬细菌过程中可明显看到细胞骨架的聚集，呈现为较多的斑块状结构，且 beta-和 gamma-亚型肌动蛋白均出现明显的聚集情况；进一步利用细胞松弛素 D (CD) 和红海棉素 B (Latrunculin B)抑制肌动蛋白的聚集，发现抑制肌动蛋白的聚集可以显著减弱巨噬细胞对大肠杆菌的吞噬。进一步，利用 RNAi 技术分别对 beta-和 gamma-亚型肌动蛋白进行单独 RNA 干扰以及联合 RNA 干扰，然后进行巨噬细胞吞噬细菌实验。

结果显示，下调巨噬细胞中的 beta-和 gamma-亚型肌动蛋白后，均可减弱巨噬细胞的吞噬细菌能力；有趣的是，当 beta-和 gamma-亚型肌动蛋白同时下调时，巨噬细胞的吞噬细菌能力则进一步下降，说明 beta-和 gamma-亚型肌动蛋白均在巨噬细胞吞噬细菌过程中发挥重要作用，且 beta-和 gamma-亚型肌动蛋白的作用相互独立，不能互相代偿。

## PU-153

### 呼肠孤病毒直接活化 NK 细胞的相关机制研究

廖春香,赵星  
贵州医科大学

**目的** 基于前期研究成果，我们提出了“呼肠孤病毒（reovirus）可以通过抗原递呈细胞非依赖性途径直接活化 NK 细胞”的假设，通过该研究，希望为临床的结直肠癌治疗提供新思路。

**方法** 1. Ficoll 密度梯度离心法分离健康志愿者外周血单个核细胞（PBMC），经诱导活化、扩增 NK 细胞，流式细胞仪检测 CD3 及 CD56 的表达以鉴定 NK 细胞纯度。2. reovirus 及 dsRNA 类似物 Poly- (I:C) 与 NK 细胞共孵育后的细胞分别为 Reo-NK、Poly-NK，CCK-8 法比较三种 NK 细胞对 DLD-1 的杀伤效应。3. TBK-1/IKKe 阻断剂 Bx795 处理 Reo-NK、Poly-NK 后，CCK-8 法检测其杀伤效应。4. 流式细胞仪检测上述 3 种不同处理的 NK 细胞 CD69 的表达情况，并用 ELISA 检测不同处理的 NK 细胞产生的穿孔素、IFN- $\gamma$  等含量的变化。

**结果** 1. NK 细胞培养到第 14 天时数量达  $10^9$  以上，存活率达  $(96.47 \pm 2.66)\%$ ，流式鉴定纯度达  $(89.03 \pm 3.9)\%$ 。2. 杀伤效应：Poly-NK 组及 Reo-NK 组均显著高于 NK 细胞组 ( $P < 0.01$ )。3. Poly-NK 及 Reo-NK 经 Bx795 处理后，对 DLD-1 细胞的杀伤效应均明显降低 ( $P < 0.01$ )。4. 流式细胞仪检测结果显示 Poly-NK 及 Reo-NK 组相比 NK 组的 CD69、穿孔素、IFN- $\gamma$  的表达均高于单独 NK 细胞处理组 ( $P < 0.05$ )。

**结论** TBK-1/IKKe 阻断剂 Bx795 可以阻断 dsRNA 对 NK 细胞的直接活化，降低了 NK 细胞对

DLD-1 细胞的杀伤率, 说明 dsRNA 直接活化 NK 细胞的机制与 TBK-1/IKKe 信号通路有关。

## PU-154

### 硫化氢对肺上皮细胞纤维化及衰老的保护作用

张书礼, 刘宇健  
上海体育学院

**研究目的** 通过博莱霉素诱导肺上皮细胞纤维化, 探讨硫化氢对肺上皮细胞纤维化以及衰老过程中的保护作用。

**研究方法** 将大鼠肺上皮细胞系 (L2), 用含 10%胎牛血清的 F-12HAM'S(1X)培养基培养, 接种于六孔板, 24h 后分别加入博莱霉素、硫化氢干预, 将其分为对照组 (Control)、博莱霉素组 (BLM)、硫化氢组 (H<sub>2</sub>S)、博莱霉素+硫化氢组 (BLM+H<sub>2</sub>S)。剂量: 博莱霉素(10ug/ml), NaHS(10 umol/L)。

在给药干预时, 对于博莱霉素+硫化氢组 (BLM+H<sub>2</sub>S), 需单独加入 H<sub>2</sub>S,使其预适应半小时后, 将 H<sub>2</sub>S 吸除后再加入 BLM+H<sub>2</sub>S。48h 后换药, 对照组 (Control)、博莱霉素组(BLM)用含 10%胎牛血清的 F-12HAM'S(1X)培养基培养, 硫化氢组 (H<sub>2</sub>S)、博莱霉素+硫化氢组 (BLM+H<sub>2</sub>S)用含 H<sub>2</sub>S 的培养基培养。72h 后再换一次药。96h 后, 收集细胞, 一部分提取细胞蛋白, 通过蛋白印迹法检测 P53、P21 蛋白的相对表达量; 一部分进行 β-gal 染色观察细胞衰老。

**研究结果** 3.1 硫化氢可以改善肺纤维

蛋白印迹法结果显示: 与 Control 组相比, BLM 组肺纤维化相关衰老指标 P53、P21 的表达显著增加; 与 BLM 组相比, BLM+H<sub>2</sub>S 组中的 P53、P21 表达明显下降。

3.2 外源性补充 H<sub>2</sub>S 均可以抑制肺上皮细胞衰老

β-gal 染色结果显示: 与 Control 组相比, BLM 组 L2 细胞衰老程度明显加重; 与 BLM 组相比, BLM+H<sub>2</sub>S 组细胞衰老程度明显改善。

**研究结论** 硫化氢对博莱霉素引起的肺上皮细胞纤维化具有保护作用, 并对其引起的肺上皮细胞衰老具有改善作用。

## PU-155

### 小分子化合物 LC-0882 通过靶向 PAK4 激酶信号通路抑制胃癌细胞增殖与侵袭

张红艳<sup>1</sup>, 张健<sup>1</sup>, 王健<sup>2</sup>, 赵冬梅<sup>2</sup>, 程卯生<sup>2</sup>, 李丰<sup>1</sup>

1. 中国医科大学

2. 中国药科大学制药工程学院

胃癌作为最常见的消化道肿瘤, 已成为全球癌症相关死亡的第三大诱因。因此开发新型高效的胃癌治疗药物迫在眉睫。P21 活化激酶 (P21-activated kinase, PAK) 为一类进化上保守的丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶, 目前被认为是肿瘤细胞内信号网络的关键调节因子。迄今为止, PAK 家族共发现 6 个成员, 根据其结构及生化特性, 将它们分为两类, I 类包括 PAK1-3, II 类包括 PAK4-6。PAK4 是目前研究得最为深入的 II 类 PAK 成员, 在细胞的生长、生存、增殖及迁移侵袭过程中发挥重要作用, 其过度表达、基因扩增、基因突变广泛存在于多种肿瘤中。由于 PAK4 与肿瘤的发生发展密切相关, 已被确认为潜在的肿瘤治疗新靶点。我们课题组研究发现化合物 LC-0882 能够通过下调 phospho-PAK4/cyclinD1 和 CDK4/6 的表达水平抑制胃癌细胞的增殖。通过阻遏 PAK4/LIMK1/cofilin 信号通路抑制胃癌细胞的迁移和侵袭。同时, LC-0882 还能够抑制胃癌细胞丝状伪足的形成。综上所述, 作为能够抑制胃癌细胞增殖侵袭的新型小分子抑制剂, LC-0882 为胃癌

治疗新策略的研究提供了新的依据。

## PU-156

### 类风湿性关节炎患者外周血单个核细胞对人羊膜间充质干细胞基本特征及炎症因子分泌的影响

王婕,余丽梅,于泓,陈辉,蒋珊珊,杨亦彬,刘祖林,范振海  
遵义医科大学附属医院

**摘要** 和其他来源间充质干细胞一样,人羊膜间充质干细胞(human amniotic mesenchymal stem cell, hAMSCs)也可通过免疫调节和分泌功能,对类风湿性关节炎(rheumatoid arthritis, RA)产生明显治疗作用。本研究则主要探讨 RA 患者外周血单个核细胞对 hAMSCs 分泌炎症因子的影响。将传代至第 5 代的 hAMSCs 与符合纳入、剔除标准的 RA 患者外周血单个核细胞分别进行单独培养和共培养 7 天,流式细胞术检测 hAMSCs 免疫表型,CCK-8 法检测 hAMSCs 增殖能力,并诱导 hAMSCs 向成骨、成脂与成神经细胞分化,CBA 法检测细胞培养上清液中 7 种炎症因子含量,ELLISA 法检测 PGE2 含量。结果显示,与 hAMSCs 单培养组比较,共培养组 hAMSCs 的 CD105 阳性表达率明显降低( $P<0.05$ ),而 CD90、CD73、CD44 阳性表达和 CD34、CD45、CD11b、CD19 和 HLA-DR 阴性表达百分率无明显差异;hAMSCs 增殖能力及向成骨细胞、成脂细胞和成神经细胞分化百分率均无明显差异( $P>0.05$ );共培养组细胞培养上清液中 IL-4 和 IL-10 的含量明显增高( $P<0.05$ ),PGE2 含量明显增高( $P<0.05$ ),而 IL-2、IL-6、TNF- $\alpha$ 、IFN- $\gamma$  和 IL-17A 分泌水平无明显差异( $P>0.05$ )。

基金来源:贵州省科技厅国际合作项目[黔科合外 G 字(2014)7015 号和遵义市科技局重大专项[遵市科合(2016)6 号]

## PU-157

### Inhibition of SIRT1 suppresses the Self-Renewal and Tumorigenicity of Cancer Stem Cells by inducing cell senescence in Hepatocellular Carcinoma

陈佳佳,王敏君  
海军军医大学

Cancer stem cells have been considered to be involved in the tumorigenesis, tumor recurrence, and therapeutic resistance in hepatocellular carcinoma (HCC). Therefore, to search for new and effective methods for targeting liver CSCs is essential for the long-term stability and cure of liver cancer. In this study, we found that SIRT1 was highly expressed in liver CSCs of HCC cell lines and human HCC tissues. In vitro study revealed that decreased SIRT1 level significantly downregulated the stemness-associated genes of liver CSCs and reduced the CSC stemness properties. Downregulated SIRT1 suppressed liver CSCs proliferation by decreasing the self-renewal abilities including colony and sphere formation. Furthermore, knockdown of SIRT1 in CSCs inhibited tumorigenicity and produced the smaller HCC tumor *in vivo*. Mechanistically, SIRT1 silencing by shRNA induced CSC senescence in the p53-p21 and p16 pathway. Our data further illustrated that the formed tumor from SIRT1 silencing CSCs expressed higher SA- $\beta$ -Gal activity but lower proliferative capacity. Taken together, our findings pointed that induction of senescence in liver CSCs is an effective tumor suppression method for HCC, and SIRT1 may be served as a promising new approach to target at CSCs in HCC treatment.



## PU-158

糖尿病对兔骨髓内皮祖细胞及循环内皮祖细胞  
功能的影响存在差异谭强  
秦皇岛市第一医院

**目的** 探讨糖尿病对骨髓内皮祖细胞(bone marrow endothelial progenitor, BM-EPC)与循环内皮祖细胞(circulating EPC)功能的影响是否存在差异。

**方法** 四氧嘧啶法制造家兔糖尿病模型, 8 周后糖尿病兔分别抽取骨髓或外周血后于体外培养骨髓 EPC 及循环 EPC, 进行细胞鉴定并分别测定两种细胞的集落数、增殖力、黏附功能、成血管能力。糖尿病兔随机分为骨髓 EPC 组 (n=6)、循环 EPC 组 (n=6) 及糖尿病对照组 (n=6), 制造急性心肌缺血模型后, 分别心肌内自体移植骨髓 EPC、循环 EPC 及培养液。4 周后免疫荧光观测移植细胞存活、Masson 染色测定心肌坏死面积、免疫组化法测定血管密度、行超声心动图分析心功能的变化、实时定量 PCR 法测定血管内皮生长因子 (VEGF) 及碱性成纤维细胞生长因子的 mRNA 表达。

**结果** 与正常对照兔比较, 糖尿病损害了循环 EPC 的集落数、增殖力、黏附力、成血管能力; 也损害了骨髓 EPC 的成血管能力, 但不影响骨髓 EPC 的集落数、增殖力和黏附力。骨髓 EPC、循环 EPC 及糖尿病对照三组比较, 骨髓 EPC 移植可以减少糖尿病兔心肌坏死面积 ( $6.98\pm 0.94\%$ ,  $13.03\pm 2.97\%$ ,  $15.84\pm 4.74\%$ ,  $P<0.05$ )、增加血管密度 ( $792.24\pm 87.43$ ,  $527.65\pm 70.72$ ,  $372.35\pm 76.7$  条/ $\text{mm}^2$ ,  $P<0.05$ )、提高 VEGF ( $6.25\pm 2.33$ ,  $2.19\pm 1.01$ ,  $1.55\pm 0.52$  RQ,  $P<0.05$ ) 及 bFGF ( $6.38\pm 2.65$ ,  $1.24\pm 0.76$ ,  $1.18\pm 0.82$  RQ,  $P<0.05$ ) 的 mRNA 表达、改善左室射血分数 ( $61.37\pm 4.26$ ,  $46.95\pm 5.49$ ,  $50.26\pm 9.55\%$ ,  $P<0.05$ )。而自体循环 EPC 移植尽管增加了血管密度, 但不能减少糖尿病兔心肌坏死面积、不能提高 VEGF 及 bFGF 的 mRNA 表达、不能改善心功能。**结论** 糖尿病损害了循环 EPC 的集落数、增殖、黏附、成血管功能以及骨髓 EPC 体外成血管功能, 但没有影响骨髓 EPC 的集落数、增殖、粘附功能; 糖尿病兔骨髓 EPC 自体移植可以通过促血管新生及旁分泌作用减少心肌坏死并改善缺血心肌的心功能。

## PU-159

人羊膜间充质干细胞衰老改变及 miRNA  
和 mRNA 差异表达分析余丽梅, 齐斌, 王玉莹, 范振海, 方宁, 万卫红  
遵义医科大学附属医院

**目的** 研究羊膜间充质干细胞 (hAMSCs) 体外扩增过程中衰老改变及其 miRNA 与 mRNA 的差异表达, 为深入探讨 hAMSCs 衰老的分子机制和优化培养体系奠定基础。

**方法** 镜下观察 hAMSCs 形态, 图像分析测定细胞表面积, MTT 法检测细胞活力, 绘制生长曲线;  $\beta$ -半乳糖苷酶染色, 并计算阳性颗粒积分光密度值 (IOD); 流式细胞术检测、分析细胞表明标志与细胞周期; 定向诱导成骨、成脂细胞分化, 茜素红和油红染色后观测 hAMSCs 分化潜能。芯片杂交检测、生物信息学分析 hAMSCs miRNA 和 miRNA 表达谱变化。

**结果** 含 10% 胎牛血清的 L-DMEM 培养基培养的 hAMSCs, 至 P7 开始细胞形态逐渐变为多形性, 表面积也渐增大。P3、P5 不同, P7、P9hAMSCs 生长速度变慢, 倍增时间由 21.4、24.2 延长至 59.1 和 99.8 小时; 且 hAMSCs 胞浆内  $\beta$ -半乳糖苷酶染色阳性的蓝染细胞明显增高, IOD 值也显著增高; hAMSCs 成骨细胞分化明显下降, 成脂细胞分化增多。与 P3、P5、P7 hAMSCs 不同, P9 代 hAMSCs G0/G1 期细胞百分率增至 80.95%, 而 S 期细胞减少为 11.52%, 生长指数降至

19.05。与 P3 hAMSCs 比较, P7 hAMSCs 差异表达上调的 miRNA 62 个, 下调的 miRNA 103 个; 差异表达上调的 mRNA 909 个, 下调 329 个。初步分析验证了部分 miRNA 与其靶基因 mRNA 表达的一致改变。

**结论** 体外传代培养过程中, P7 至 P9 hAMSCs 已渐出现明显的细胞衰老形态、细胞周期、增殖和分化能力改变, 并存在大量 miRNA 和 mRNA 表达谱的改变。

## PU-160

### Vimentin acetylation is involved in SIRT5-mediated hepatocellular carcinoma migration

郭丹  
汕头大学医学院

Sirtuin 5 (SIRT5) belongs to the sirtuin family of protein deacetylases and contributes to tumorigenesis and migration. However, the underlying molecular mechanism of SIRT5 in hepatocellular carcinoma (HCC) migration is not fully understood. Here we report that SIRT5 was significantly downregulated in HCC, based on analysis of RNA-seq data from the liver HCC dataset of The Cancer Genome Atlas (TCGA). In addition, as compared to adjacent non-tumor tissues, SIRT5 was also significantly downregulated in HCC tissues. In vitro, gain and loss-of-function studies were performed to evaluate the role of SIRT5 in epithelial-mesenchymal transition (EMT). Knockdown of SIRT5 promoted EMT, as indicated by the upregulation of Snail and downregulation of E-cadherin, whereas overexpression of SIRT5 decreased Snail and upregulated E-cadherin. Mechanistically, SIRT5 was found to bind to and deacetylate vimentin at lysine 120. Cell migration was enhanced by overexpression of either wild-type vimentin or acetylation mimetic vimentin (K120Q), whereas cell migration was inhibited by overexpression of the non-acetylation vimentin (K120R). Taken together, these findings indicated that downregulated SIRT5-mediated vimentin acetylation may be involved in the EMT in HCC. Better understanding of SIRT5 may lead to its clinical application as a biomarker for prognosis of prediction of prognosis, as well as a novel therapeutic target.