

蝎丝氨酸蛋白酶抑制剂多肽对神经胶质瘤 U87 细胞体外增殖作用的影响

王晓慧¹, 代招弟², 李立³

1. 内蒙古兴安盟扎赉特旗人民医院神经内科, 内蒙古 兴安盟 137600;
2. 内蒙古民族大学附属医院妇产科, 内蒙古 通辽 028000;
3. 内蒙古民族大学附属医院脑病科, 内蒙古 通辽 028000

摘要: **目的** 探讨蝎丝氨酸蛋白酶抑制剂(Sj7170)多肽在神经胶质瘤 U87 细胞体外增殖中的影响。**方法** 选取人胶质瘤细胞系 U87 细胞,使用重组 Sj7170(rSj7170)对其进行处理,处理浓度设置:0 μM 、2 μM 、4 μM 、6 μM 、8 μM 、10 μM 。rSj7170(10 μM)处理时间设置:0、1、2、3 d,并用血球计数板分别进行计数;收集未处理(对照组)和 rSj7170 处理过的(加肽组)U87 细胞,流式细胞仪检测细胞周期;取对数生长期的对照组和加肽组的 U87 细胞,采用软琼脂克隆形成实验观察 U87 细胞克隆形成情况;采用 Western Blot 检测周期相关蛋白的相对表达水平。**结果** U87 细胞增殖率均随 rSj7170 浓度递增而递增,且加肽组各浓度的细胞增殖率均显著高于对照组(P 均 < 0.05);10 μM rSj7170 处理过的 U87 细胞增殖率均随时间推移(1d \rightarrow 2d \rightarrow 3d)而递增(P 均 < 0.05),且加肽组 2、3 d 时的细胞增殖率均显著高于对照组(P 均 < 0.05)。rSj7170 在不同浓度和不同时间作用下均可促进 U87 细胞的增殖。对照组和加肽组 U87 细胞均在软琼脂培养基中形成了克隆,加肽组中克隆形成的数目比明显大于对照组[(284.67 \pm 26.53)% vs (100.00 \pm 0.00)% , $P < 0.01$]。在 10 μM rSj7170 处理过的 U87 细胞中,其细胞周期蛋白(Cyclins)D1、CyclinD3、E2F 转录因子 1、磷酸化视网膜神经胶质瘤蛋白家族(pRb)2/p130 的表达量明显高于未处理的对照细胞,而视网膜神经胶质瘤蛋白家族(Rb)2/p130 和 E2F5 的表达量则明显低于对照细胞,其他几个周期相关蛋白 CyclinD2、CyclinE1、CyclinE2、CDK2、CDK4、CDK6、P21、P27 表达量两组相当。**结论** 蝎丝氨酸蛋白酶抑制剂 Sj7170 能促神经胶质瘤细胞 U87 的增殖,该作用可能与细胞周期蛋白有关。

关键词: 蝎丝氨酸蛋白酶抑制剂; 神经胶质瘤; 细胞增殖; 细胞周期蛋白

中图分类号: R 739.4 **文献标识码:** A **文章编号:** 1674-8182(2017)01-0018-05

Effects of scorpion serine protease inhibitor polypeptide on proliferation of neuroglioma U87 cells in vitro

WANG Xiao-hui*, DAI Zhao-di, LI Li

* Department of Internal Neurology, Jalaid Banner People's Hospital, Xing'an League of Inner Mongolia, Xing'an League, Inner Mongolia 137600, China

Corresponding author: DAI Zhao-di, E-mail: daizhaodi@sohu.com

Abstract: Objective To investigate the effects of serine protease inhibitor of scorpion-Sj7170 polypeptide on proliferation of neuroglioma U87 cells in vitro. **Methods** Human neuroglioma cell lines U87 cells were selected. The U87 cells were treated with recombinant Sj7170(rSj7170). The concentration settings of rSj7170 treatment:0 μM 、2 μM 、4 μM 、6 μM 、8 μM 、10 μM . The time settings of 10 μM rSj7170 treatment:day-0,day-1,day-2 and day-3. U87 cells count was detected with blood cell count board to analyze the cell proliferation rate. Collecting the U87 cells untreated (control group) and treated by rSj7170 (add peptide group),flow cytometry was used to detect cell cycles. Collecting the U87 cells in logarithmic growth phase in control group and add peptide group,soft agar colony formation test was used to observe the clone formation of U87 cells. Western Blot method was used to detect the relative expression levels of cell cycle-related proteins. **Results** In add peptide group,cell proliferation rates of U87 cells increased in turn with the increase of rSj7170 concentration,and in different concentrations they were significantly higher than that in control group (all $P < 0.05$). The proliferation rates of U87 cells treated by 10 μM rSj7170 increased in turn with time going(day-1 \rightarrow day-2 \rightarrow day-3) (all $P <$

0.05), and they at day-2 and day-3 in add peptide group were significantly higher than that in control group at corresponding time points (all $P < 0.05$). The proliferation of U87 cells can be promoted in different concentrations and different times of rSj7170 treatment. The clones of U87 cells were formed in the soft agar medium in both control group and add peptide group, and the number of clone formation in add peptide group was significantly more than that in control group ($P < 0.01$). The relative expression levels of Cyclin D1, CyclinD3, E2F transcriptional factor1, phosphorylated retinal neuroglioma protein family (pRb)2/p130 in U87 cells treated by 10 μM rSj7170 were significantly higher than those in control group, while the relative expression levels of retinal neuroglioma protein family (Rb)2/p130 and E2F5 were significantly lower than those in control group, and the relative expression levels of CyclinD2, CyclinE1, CyclinE2, CDK2, CDK4, CDK6, P21, P27 were similar in two groups. **Conclusion** Scorpion serine protease inhibitor Sj7170 can promote the proliferation of neuroglioma U87 cells, and its effect may be related to cyclins.

Key words: Scorpion serine protease inhibitor; Neuroglioma; Cell proliferation; Cyclins

肿瘤是在遗传因素、环境因素和理化因素的共同作用下,使细胞周期的调节发生紊乱所导致的一类疾病^[1-2]。目前对肿瘤的研究主要集中在以下 6 个方面:信号通路中生长因子的增殖、细胞凋亡、生长抑制因子的失控、细胞无限增殖、诱导血管生成和肿瘤细胞的浸润及转移。其中快速和无限限制的增殖是肿瘤细胞所具有的一个重要特征^[3-4]。而增殖过程的正常进行则依赖于细胞周期进程的严格有序。本研究对神经胶质瘤细胞 U87 进行加和不加蝎丝氨酸蛋白酶抑制剂(Sj7170)多肽处理,探讨 Sj7170 对神经胶质瘤细胞 U87 增殖的影响;同时,对空白对照组和加肽组细胞的细胞周期进行流式细胞仪分析及构建细胞周期蛋白(Cyclin)D1 蛋白下调稳转细胞系,初步探讨 Sj7170 多肽影响细胞周期和增殖的内在机制。

1 材料与方法

1.1 实验材料 (1)细胞系:人胶质瘤细胞系 U87 细胞,由本室保存。(2)主要试剂:Trizol 试剂和 SYBR Green qPCR Mix (Toyobo);转染试剂 Lipofectamine 2000 (Invitrogen);Anti-Sj7170 抗体由北京博菲康生物技术有限公司制备;Anti-CyclinD1、anti-CyclinD2、anti-CyclinD3、anti-CDK2、anti-CDK4、anti-CDK6、anti-CyclinE1 和 anti-CyclinE2 均购自 Protein-Tech Group Inc;Anti-视网膜神经胶质瘤蛋白家族(Rb)2/p130、anti-E2F1 和 anti-E2F5 均购自艾美捷公司;anti-P21、anti-P27 购自 CST 公司;Rever Tra Ace qPCR RT Kit (TOYOBO);THUNDERBIRD SYBR qPCR Mix (TOYOBO);Fastfiler Endo-free Plasmid Kit (Omega);其余试剂均为国产分析纯。(3)主要仪器和设备:血球计数板;流式细胞仪(Beckman);生物安全柜;CO₂ 细胞培养箱;荧光定量 PCR 仪;-80℃超低温冰箱;蛋白垂直电泳仪(Junyi);凝胶自动成像系统(上海嘉鹏科技);蛋白转膜仪(Bio-rad);洗片机(泰兴苏星);漩涡振荡仪;7500 实时定量 PCR 仪;激

光共聚焦显微镜。流式细胞仪数据分析软件:Flowjo. 7. 6. 1;统计学分析软件:OriginPro 7. 5、Excel。

1.2 方法

1.2.1 细胞增殖计数法 将正处于对数生长期的 U87 细胞用胰酶消化。用血球计数板对细胞进行计数,以每孔 1×10^4 个细胞的数量,接种于 48 孔板中,每组设 3 个复孔。重组 Sj7170(rSj7170)(48 h)处理浓度设置:0 μM 、2 μM 、4 μM 、6 μM 、8 μM 、10 μM 。rSj7170(10 μM)处理时间设置:0、1、2、3 d。每天消化各组 3 个复孔的细胞,并用血球计数板分别进行计数,为保证每孔计数的结果准确,可进行多次计数,最后取平均值。

1.2.2 细胞周期分析 收集未处理(对照组)和 rSj7170 处理过的 U87 细胞(加肽组),2 000 rpm 离心 5 min,细胞数量一定要 $> 10^6$ 个。用 PBS 洗涤细胞,吹打重悬后 2 000 rpm 离心 5 min。弃去上清 PBS,加入预冷的 75% 无水乙醇吹打重悬细胞,注意此步骤一定要保证细胞能被吹散开,否则细胞成团影响固定效果,于 4℃ 固定 2 h。2 000 rpm 离心 5 min,收集细胞,弃上清,用 PBS 洗涤细胞 2 次,2 000 rpm 离心 10 min,收集细胞,重悬于 500 μl PBS 中。加入 5 μl Rnase,终浓度 1 mg/ml,37℃ 水浴 30 min。2 000 rpm 离心 5 min,弃上清,加入 500 μl PI 染液,终浓度为 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$,4℃ 避光孵育 1 h。用 300 目的尼龙网筛细胞,使其成为单个悬液,转移至流式管中,上流式细胞仪检测(波长为 488 nm,FL3 通道)。导出的数据用流式数据分析软件 Flowjo. 7. 6. 1 来处理。

1.2.3 软琼脂克隆形成 将 1.2% 和 0.7% 的低熔点琼脂糖,置于 37℃ 培养箱中,使其处于液体状态,不会凝固。将 1.2% 的低熔点琼脂糖和 $2 \times \text{DMEM}$ 培养基以 1:1 的比例混匀制备 0.6% 的下层琼脂,在 6 孔板中以 1.4 ml/每孔加入 0.6% 下层琼脂,室温下至凝固。在加药组的下层琼脂中也要加入 10 μM 的 rSj7170。取对数生长期的未处理(对照组)和

rSj7170 处理过的 U87 细胞(加肽组),用胰酶消化,吹打重悬,并用血球计数板计数,并用新鲜 $2 \times$ DMEM 培养基调整细胞个数为 10^4 个/ml。将 0.7% 的低熔点琼脂糖和 $2 \times$ DMEM 培养基以 1:1 的比例混匀制备 0.35% 的上层琼脂,在 6 孔板中以 1 ml/每孔加入 0.6% 上层琼脂和 100 μ l 细胞悬液(细胞个数为 1 000/每孔),室温下至凝固。在加药组的下层琼脂和细胞悬液中也要加入 10 μ M 的 rSj7170。将 6 孔板置于细胞培养箱中培养 2~3 周。在光学显微镜下观察到明显的克隆群体后,加入结晶紫至覆盖住琼脂层面,置于培养箱中孵育培养至出现肉眼清晰可见的克隆斑点。在成像系统下进行拍照,并计数统计,Excel 软件绘制柱形图。

1.2.4 Western Blot 检测 取对数生长期的细胞,以 4 $^{\circ}$ C PBS 缓冲液漂洗细胞两次;弃 PBS 液,向培养瓶中加入 500 μ l 含 100 mM PMSF 的蛋白裂解液,置于冰上裂解 30 min,期间于震荡仪上震荡数次,使细胞裂解充分;待裂解后,吸出裂解液于 1.5 ml 离心管中,以 4 $^{\circ}$ C, 12 000 g 离心 15 min;离心后,转移上清液进行蛋白浓度检测,其余上清液移入 1.5 ml 离心管中,储存于 -70 $^{\circ}$ C 冰箱冻存备用。按照说明书配置 BCA 标准品至 0.5 mg/ml,加入 96 孔板中,不足 20 μ l 的孔用 PBS 液补足到 20 μ l;将待测样本用 PBS 液稀释 10 倍加入 96 孔板中,每个样本都做 3 个复孔;根据样品数量,按 50 体积 BCA 试剂 A 加入 1 体积 BCA 试剂 B(50:1)配置适量 BCA 工作液,震荡混匀,标准蛋白品和待测样本中每孔加入 200 μ l 工作液,震荡混匀,在 37 $^{\circ}$ C 温箱中孵育 30 min;孵育后的样本置于酶标仪上以 562 nm 波长检测所有样本的吸光光度值;绘制蛋白浓度标准曲线:以标准品蛋白含量(μ g)为横坐标,吸光值为纵坐标,绘出标准曲线。根据所测样品的吸光光度值,在标准曲线上计算相应的蛋白含量(μ g),除以样品稀释液总体积(20 μ l),乘以样品稀释倍数 10 即为样品实际浓度;以水稀释各样本至相同浓度,加入 $5 \times$ 蛋白上样缓冲液(1:4),充分混匀,加热器以 100 $^{\circ}$ C 加热 10 min,充分变性蛋白。充分清洁配胶玻璃板,垂直固定于配胶器上,首先加入 7.5 ml 分离胶,其上用无水乙醇封胶;待分离胶充分凝固后,去除无水乙醇,继续加入浓缩胶,插入梳子,待浓缩胶凝固后,垂直拔去梳子,转移配胶板于电泳槽中;电泳槽内加入足量电泳液,每孔样本加入 30 μ l 蛋白样本,以 60 V 电压电泳浓缩胶,110 V 电压电泳分离胶。取出电泳后的凝胶,依照蛋白 Marker 标注的分子量剪切对应的凝胶,置于电转液中平衡;剪切与凝胶等大小的 PVDF 膜,于甲醇中激活几十

秒;裁剪与 PVDF 膜等大的 6 张滤纸,置于电转液中平衡数分钟;依海绵、滤纸、膜、凝胶、滤纸、海绵的顺序叠成“三明治”,置于冰上 200 mA 恒流转膜 60 min;转膜完成后取出 PVDF 膜以 5% 脱脂奶粉摇床上封闭 1 h;封闭后以 TBST 每隔 10 min 漂洗 3 次。用抗体稀释液以 1:1 000 的体积比稀释一抗,在抗体孵育盒中 4 $^{\circ}$ C 孵育相应的膜,过夜;次日,取出孵育后的 PVDF 膜,用 TBST 在摇床上室温洗膜 3 次,隔 10 min 换液;用抗体稀释液依 1:10 000 的体积比稀释羊抗兔的荧光二抗,摇床上室温孵育 1 h,孵育后用 TBST 漂洗,3 次 \times 10 min。将膜平置于 Odyssey 双色红外成像系统的扫描仪上,按说明书依次获得各目的蛋白(Cyclin 等)的荧光表达量;以 GAPDH 为内参,计算每个目的条带相对表达值,即为目的蛋白的相对表达量;应用 Odyssey 软件自带程序计算样本各条带灰度值,重复 3 次。

1.3 统计学处理 本实验所有数据均采用 SPSS 17.0 软件进行分析。计量数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间及不同时间点的比较采用多因素方差分析和重复测量方差分析,多重比较采用 LSD-*t* 检验。检验水准为 $\alpha = 0.05$ 。

2 结果

2.1 不同浓度 rSj7170 和同一浓度 rSj7170 不同时间点对 U87 细胞增殖的作用 U87 细胞增殖率均随 rSj7170 浓度递增而递增,且加肽组各浓度的细胞增殖率均显著高于对照组(P 均 < 0.05)。见表 1。10 μ M rSj7170 处理过的 U87 细胞增殖率均随时间推移(1d \rightarrow 2d \rightarrow 3d)而递增(P 均 < 0.05),且加肽组 2 d、3 d 时的细胞增殖率均显著高于对照组(P 均 < 0.05)。见表 2。提示 rSj7170 在不同浓度和不同时间作用下均可促进 U87 细胞的增殖。

2.2 rSj7170 促进 U87 细胞克隆形成 对照组和加肽组 U87 细胞均在软琼脂培养基中形成了克隆,10 μ M rSj7170 组中克隆形成的数目比为 $(284.67 \pm 26.53)\%$,对照组为 $(100.00 \pm 0.00)\%$,前者明显大于后者($P < 0.01$)。见图 1。

2.3 rSj7170 对 U87 细胞周期的影响 与 rSj7170 处理过的加肽组 U87 细胞相比,对照组 G1 期细胞数目的比例明显增加(64.26% vs 45.61%, $P < 0.05$),而 S 期细胞数目的比例减少(18.63% vs 37.82%, $P < 0.05$),G2/M 期细胞数目的比例两组相近(17.11% vs 16.57%, $P > 0.05$)。见图 2。在 10 μ M rSj7170 处理过的 U87 细胞中,其 CyclinD1、CyclinD3、E2F1、pRb2/p130 的表达量明显高于未处理的对照细胞,而

Rb2/p130 和 E2F5 的表达量则明显低于对照细胞,其他几个周期相关蛋白 CyclinD2、CyclinE1、CyclinE2、CDK2、CDK4、CDK6、P21、P27 表达量两组相当。见图 3。

表 1 不同浓度 rSj7170 对 U87 细胞增殖的影响

组别	rSj7170 浓度	U87 细胞增殖率(%, $\bar{x} \pm s$)
对照组	0	100.00 ± 0.00
加肽组	2 μM	112.35 ± 10.21 *
	4 μM	121.36 ± 11.56 *
	6 μM	139.69 ± 12.38 *
	8 μM	162.46 ± 15.84 *
	10 μM	174.78 ± 16.89 *

注:与对照组相比, * P < 0.05。

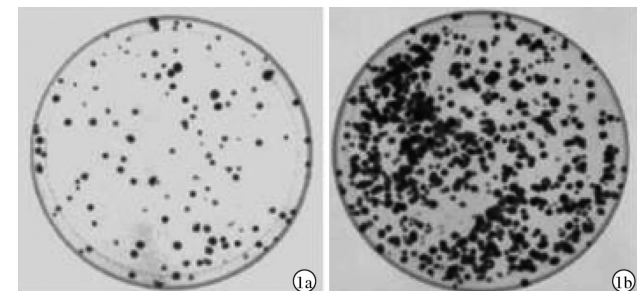
表 2 rSj7170 作用不同时间对 U87 细胞增殖的影响

不同时间	U87 细胞增殖率(%, $\bar{x} \pm s$)	
	对照组	10 μM rSj7170 组
1 d	100.00 ± 0.00	102.35 ± 10.05
2 d	189.68 ± 16.59	281.35 ± 26.54 *#
3 d	326.69 ± 28.59	479.64 ± 45.32 *#

注:与对照组比, * P < 0.05; 与 1 d 比较, # P < 0.05。

3 讨论

由于肿瘤细胞具有很强的增殖和分裂能力,肿瘤的发生、发展也与细胞的过度增殖有关,因此本研究为探讨 Sj7170 多肽对神经胶质瘤细胞的影响,对 U87 细胞的增殖状况进行了观察分析。细胞增殖的研究方法有很多,主要包括 BrdU、EdU、MTT、CCK8 等方法。而对培养中的细胞数目连续进行统计,并绘制细胞在一定时间段内的生长曲线,是一种很直接并且准确的研究方法^[5-6]。细胞周期进程的实现有赖于各级调节因子对细胞周期精确而严密的调控,这些调节因子的核心分别是 Cyclin 依赖性蛋白激酶(CDK)、CDK 的正性调控因子 Cyclin、CDK 的负性调控因子 Cyclin 依赖性蛋白激酶抑制剂(CKI)。本研究发现,rSj7170 的浓度越高,U87 细胞增殖率越高,且加肽组各浓度下增殖率均显著高于对照组;10 μM rSj7170 处理过的 U87 细胞增殖率均随时间推移(1d → 2d → 3d)而递增,且加肽组 2 d、3 d 时均显著高于对照组。提示 rSj7170 在不同浓度和不同时间作用下均可促进 U87 细胞增殖。以上结果显示 Sj7170 对人神经胶质瘤细胞有促增殖作用,这种作用是否具有广谱性?在其他细胞系中 Sj7170 是否也发挥了促增殖作用呢?有学者研究发现 rSj7170 对 HeLa、HEK293T、U937、Huh7、HepG2、K562、HL60 等 7 种细胞系的生长并无明显的增殖效应,并且对有些细胞系还有微弱的增殖抑制现象^[7-9]。因此,可以认为 Sj7170 对人神经胶质瘤细胞的促增殖作用是特异性的。细胞接种存活率只表示接种细胞后能贴壁的细胞数,但是贴壁后的细胞并不一定都能增殖或形成克隆。而能形成克隆的细胞则一定能贴壁且具备增殖能力。克隆形成率反映了细胞群体的依赖性和增殖能力这两个重要性状。既然 Sj7170 能促进 U87 细胞的增殖,它是否也能促进 U87 细胞形成克隆的能力呢?本研究显示,rSj7170 处理的加肽组细胞形成克隆的数目比大于对照组。细胞计数和克隆形成实验均提示 Sj7170 可明显促进 U87 细胞的增殖。而细胞增殖受到严密的调控机制所监控,即细胞周期。细胞周期是指连续分裂的细胞从第一次分裂完成时开始至下一次分裂完成时为止所经历的整个过程(G0/G1—S—G2—M)。细胞周期的调控若受到影响,细胞的增殖过程则直接会发生紊乱。为了探究 Sj7170 促进 U87 细胞增殖的机制,本研究观察了 Sj7170 作用过程中是否影响 U87 细胞周期的正常运转,结果发现,对照细胞与 rSj7170 处理过的加肽组细胞相比,G1 期细胞数目的比例明显增加,而 S 期细胞数目



注:1a:对照组;1b:10 μM 加肽组。

图 1 U87 细胞克隆结果(×500)

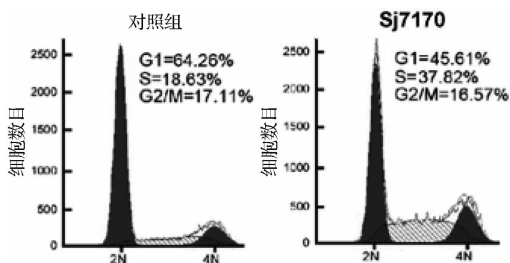
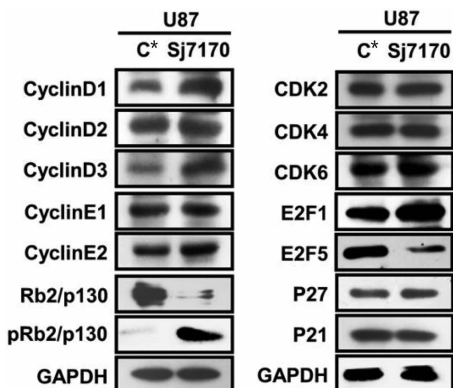


图 2 Sj7170 对 U87 细胞周期的影响



注:C*表示对照组。

图 3 Sj7170 对 U87 细胞周期蛋白的影响

的比例降低, G2/M 期细胞数目的比例两组相当。以上结果表明, S_j7170 对 U87 细胞周期的 G1 期和 S 期都有很大影响。目前在真核细胞中的 Cyclins 大约有 30 种, 而 CDK 家族的成员也在哺乳动物细胞中发现了约 11 种, 即 CDK1 ~ 11。Cyclins 与其特定的激酶之间的相互作用如下: CyclinD1 与 CDK4/6 形成复合物, 调控细胞周期 G0 (G1 期的一种静息状态) 向 S 期的转换; CyclinE 与 CDK2 形成复合物, 调控细胞周期 G1 期向 S 期的转换; CyclinA/B 与 CDK1 形成复合物, 调控细胞周期 G2 期向 M 期的转换。而对 CDK 起负调控作用的 CKI 成员分为 2 个家族, 一类为特异性抑制 CDK4 和 CDK6 激酶活性, 如 p15、p16、p18、p19 等; 另一类为抑制大多数 CDK 激酶活性, 如 p21、p27、p57 等。而细胞周期进程的实现在有赖于各级调控因子对细胞周期精确而严密的调控。其中, CyclinD 和 CyclinE 调节亚基与 CDK 催化亚基形成复合物, 共同使细胞从 G1 期顺利进入 S 期。因此本研究采用 Western Blot 方法检测了细胞中的 CyclinD1、CyclinD2、CyclinD3、CyclinE1、CyclinE2、CDK2、CDK4、CDK6、Rb2/p130、pRb2/p130、E2F1、E2F5、P21、P27 蛋白的表达, 结果提示, S_j7170 可能是通过磷酸化 Rb 蛋白, 激活转录因子 E2F, 进而上调 CyclinD1 的表达, 促进细胞从 G1 期往 S 期转变, 从而促进 U87 细胞的增殖。

各种 Cyclin-CDK 复合物通过磷酸化作用激活或者失活其他更多的蛋白质, 从而保证细胞周期的 G1、S、G2、M 各个阶段能正常运转。与它们在细胞周期中发挥的作用一致的是, Cyclins 若异常高水平表达, 特别是 CyclinD1 和 CyclinE, 有助于多种类型癌症的发生^[10]。CyclinD1 作为细胞进入增殖周期中第一个合成的周期蛋白, 在整个细胞周期中都起着至关重要的作用。CyclinD1 和 CDK4/6 相互作用形成复合物后, 磷酸化 Rb 家族 (pRb、p107、p130), pRb 从 E2F/DP1/Rb 复合物上分离下来, 从而激活转录因子 E2F, 开启 S 期很多基因的转录, 包括 CyclinE、CyclinA、DNA 聚合酶、胸苷激酶等, 从而使细胞周期顺利地由 G1 期进入 S 期。CyclinD1-CDK4/6 复合物的活性在

G1 晚期达到顶峰, 并且是 DNA 复制的起始及自主完成细胞周期的主要决定因素。CyclinD1 不依赖于 CDK4 激酶调控细胞周期的机制, 主要是通过 RAD51 相互作用, 参与 DNA 的修复过程, 从而增加了 DNA 同源重组的概率, 导致多种周期相关基因的转录, 扰乱了细胞周期的正常运转, 从而促进细胞的增殖和肿瘤的发生。

综上所述, 本研究发现, 蝎丝氨酸蛋白酶抑制剂 S_j7170 多肽能够促神经胶质瘤 U87 细胞体外增殖, 该作用可能与细胞周期蛋白有关。

参考文献

- [1] 陈科引, 马文斌, 王任直. 弥漫内生性脑桥神经胶质瘤的诊疗研究进展[J]. 中华神经外科杂志, 2015, 31(11): 1176 - 1178.
- [2] 伍健伟, 梁建峰, 何伟文, 等. 组蛋白去乙酰化酶抑制剂抑制神经胶质瘤细胞增殖的机制研究[J]. 中华神经医学杂志, 2015, 14(6): 547 - 552.
- [3] 郝萱语, 李方方, 王萍. 非编码 RNA 靶向治疗神经胶质瘤研究进展[J]. 山东医药, 2015, 55(30): 92 - 94.
- [4] 张亚飞, 刘洪梅, 于如同. 负载 siRNA 药物治疗神经胶质瘤载体的研究进展[J]. 中华神经外科杂志, 2016, 32(3): 322 - 324.
- [5] 齐玲, 徐俊杰, 赵东海. 西兰花多肽组分 II 诱导神经胶质瘤细胞凋亡的作用及其机制研究[J]. 中国病理生理杂志, 2014, 30(9): 1584 - 1589.
- [6] 鲍晓, 王明伟, 徐俊彦. 新型¹⁸F-RGD 二聚体的正常生物分布及 U87MG 荷瘤裸鼠小动物 PET/CT 显像研究[J]. 中国癌症杂志, 2013, 23(6): 408 - 412.
- [7] 张丽, 张春丽, 王荣福. ⁹⁹Tc^m-cRGD 多肽类药物设计、活性测定及⁹⁹Tc^m-cRGD 二聚体的制备[J]. 核化学与放射化学, 2011, 33(2): 106 - 113.
- [8] Zabłocka A, Mitkiewicz M, Macala J, et al. Neurotrophic Activity of Cultured Cell Line U87 is Up - Regulated by Proline - Rich Polypeptide Complex and Its Constituent Nonapeptide[J]. Cell Mol Neurobiol, 2015, 35(7): 977 - 986.
- [9] 赵慧云, 贾兵, 史纪云, 等. ⁹⁰Y 标记的不同氨基酸序列的 RGD 环肽的制备及在荷人神经胶质瘤动物模型中的评价[J]. 核化学与放射化学, 2008, 30(1): 17 - 22.
- [10] Bartek J, Lukas J. DNA repair: Cyclin D1 multitasks[J]. Nature, 2011, 474(7350): 171 - 172.

收稿日期: 2016 - 09 - 11 修回日期: 2016 - 10 - 21 编辑: 王海琴