基础研究 文章编号:0253-3626(2011)01-0042-04

电刺激对局灶性脑梗死大鼠 LINGO1 和 NgR1 表达的影响

王进平[1],李光勤[1],马冉冉[1],米秀娟[1],黄浩然[1],李 莉[2]
(1.重庆医科大学附属第一医院神经内科,重庆 400016;2.第三军医大学新桥医院疼痛科,重庆 400037)

【摘 要】目的:观察电刺激对局灶性脑梗死大鼠缺血侧皮质含亮氨酸重复序列和免疫球蛋白结构域的 Nogo 受体作用蛋白(LRR and Ig domain-containing,Nogo Receptor-interacting protein,LINGO1)和 Nogo-66 受体(Nogo-66 receptor,NgR1)表达的影响,探讨电刺激促进卒中后运动功能恢复的机制。方法:利用线栓法制作 SD 大鼠大脑中动脉闭塞模型,将大鼠随机分为正常组、假手术组、缺血组和电刺激组。电刺激在造模 90 min 后进行,30 min/d。于缺血 1、3、7、14、21 d 利用 RT-PCR 和免疫组化检测缺血皮质 LINGO1 和 NgR1 的 mRNA 及蛋白表达。结果:电刺激组运动功能恢复较缺血组明显改善($P<0.05$)。LINGO1 mRNA 及蛋白表达在缺血后 1 d 达峰,21 d 时仍然较假手术组高($P<0.01$)。电刺激组 7 d 其 LINGO1 蛋白表达较缺血组低($P<0.05$),21 d 时 LINGO1 mRNA 及蛋白表达较对照组高($P<0.01$)。NgR1 mRNA 及蛋白表达在缺血后 1 d 开始上升($P<0.01$),3 d 达峰($P<0.01$),缺血 14 d 时较假手术组无明显差异($P>0.05$)。电刺激组 3 d 和 7 d NgR1 mRNA 及蛋白表达较缺血组低($P<0.05$)。结论:局灶性脑梗死大鼠缺血皮质 LINGO1 和 NgR1 的表达明显上调,脑梗死急性期予以电刺激后 LINGO1 蛋白和 NgR1 mRNA 及蛋白表达下调,可能是其促进运动功能恢复的机制之一。

【关键词】脑梗死;LINGO1;NgR1;电刺激
【中国图书分类法分类号】R743.3 【文献标志码】A 【收稿日期】2010-08-09

Effect of electrical stimulation on the expressions of LINGO1 and NgR1 in the brain of rats after focal cerebral infarction

WANG Jin-ping, et al
(*Department of Neurology, the First Affiliated Hospital, Chongqing Medical University*)

【Abstract】*Objective*: To explore the mechanism of electrical stimulation improves motor recovery in a rat stroke model. *Methods*: Spragne-dawley (SD) rats were subjected to establish the stroke model and randomly divieded into ischemic group, electrical stimulation group, sham operation group and normal group. Electrical stimulation was used 90 min after the operation, 30 min/d. The expressions of LINGO1 and NgR1 were measured with RT-PCR and immunohistochemistry at 1 d, 3 d, 7 d, 14 d, 21 d respectively after the ischemia. *Results*: Motor function significantly recovered in electrical stimulation group compared with the ischemic group ($P<0.05$). The expressions of LINGO1 mRNA and protein in ischemic group reached the peak at 1d and were still higher than sham operation group at 21 d ($P<0.01$). The expression of LINGO1 protein in electrical stimulation group was lower than ischemic group at 7 d ($P<0.05$) but the expressions of LINGO1 mRNA and protein were higher in electrical stimulation group than in ischemic group at 21d ($P<0.01$). The expressions of NgR1 mRNA and protein in ischemic group elevated at 1d ($P<0.01$), reached the peak at 3 d ($P<0.01$) and returned to normal at 14 d ($P>0.05$). The expressions of NgR1 mRNA and protein in electrical stimulation group were lower than ischemic group at 3d and 7 d ($P<0.05$). *Conclusions*: The expressions of LINGO1 and NgR1 in the ischemic cortex increased significantly. The decreased expressions of LINGO1 protein, NgR1 mRNA and NgR1 protein induced by electrical stimulation might be one of the mechanisms of motor recovery after acute cerebral infarction.

【Key words】cerebral infarction; LINGO1; NgR1; electrical stimulation

卒中是威胁人类生命和健康的三大疾病之一,往往导致运动功能障碍。目前的已有研究证实外周穴位电刺激可以促进卒中后肢体运动功能恢复[1-3],但其机制尚不清楚。中枢神经系统损伤后存在 Nogo-A、髓磷脂相关节糖蛋白(Myelin-associated glycoprotein,MAG)和少突胶质细胞-髓磷脂糖蛋白(Oligodendrocyte myelinglycoprotein,OMgp)这 3 种髓鞘相关抑制因子(Myelin-associated inlibiror factors,MAIFs)以及它们共同受体 NgR1[4],通过激活神经元内的 RhoA 信号通路抑制轴突生长[5],继而影响运动功能恢复。而 NgR1 无跨膜结构它必

作者介绍:王进平(1983-),男,硕士,研究方向:脑血管病。
通信作者:李光勤,男,教授,Email:liguangqin@tom.com。

须依赖和 LINGO1 协同作用来传导这种抑制性信号从而发挥它的抑制作用[6]。已有研究发现 NgR1 蛋白在局灶性脑梗死大鼠的缺血皮质表达明显提高[7],而 LINGO1 在脑缺血皮质的表达仍然不明确。如何下调上述两种蛋白表达,促进缺血性脑损害后运动功能恢复是目前研究热点。本实验通过建立大鼠脑梗死模型观察 LINGO1 和 NgR1 mRNA 及蛋白的动态表达,探讨 LINGO1 和 NgR1 在局灶性脑梗死大鼠缺血皮质的表达意义以及电刺激对上述两种 mRNA 和蛋白表达的影响,为临床进一步研究神经损伤后修复和电刺激促进缺血性卒中后功能恢复提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 动物分组

成年雄性健康 SD(Spraguer-dawley)大鼠 100 只,体重 250~300 g,月龄 2~3 个月(由重庆医科大学动物中心提供)。并随机分为 4 组:正常组(n=10)、假手术组(n=30)、脑缺血组(n=30)和电刺激组(n=30),后 3 个组再根据缺血时间(线栓法阻断血管至取材的时间)随机分为 5 个亚组:(1)1 d 组;(2)3 d 组;(3)7 d 组;(4)14 d 组;(5)21 d 组。每组各 6 只,共 30 只。

1.2 动物模型建立及纳入标准

参考 Zea-Longa 等[8]的插线方法,采用线栓法制备大鼠大脑中动脉局灶性脑梗死模型(Middle cerebral occlusion,MCAO)。参考 Longa 的 5 分制评分标准,在手术结束、大鼠麻醉清醒后进行评分:0 分:无神经功能缺失;1 分:轻度局灶性神经功能缺失(不能完全伸展左前肢,提尾悬吊时左前肢屈曲);2 分:中度局灶性神经功能缺失(爬行时向左转圈,追尾);3 分:重度局灶性神经功能缺失(爬行时向左倾倒);4 分:不能自主行走,意识障碍。评分为 1~3 分大鼠纳入实验,处死前再进行 1 次评分。其中造模后缺血组评分为 1 分的大鼠 12 只,2 分的大鼠 10 只,3 分的大鼠 8 只。电刺激组评分为 1 分的大鼠 11 只,2 分的大鼠 11 只,3 分的大鼠 8 只。

1.3 电刺激方法

电刺激组参考华兴邦[9]编著的《大鼠穴位图谱的研制》选人中、百会穴;采用频率为 20~100 Hz 的混频,波宽为 1 ms 的疏密波,刺激强度以大鼠四肢肌肉轻微抖动,安静耐受为度。电刺激在造模 90 min 后进行干预治疗,30 min/d。

1.4 LINGO1 和 NgR1 mRNA 表达检测

按 Trizol 说明书提示提取组织总的 RNA,所得 RNA 用紫外分光光度计测量 RNA 浓度并定量。引物序列如下:LINGO1 引物序列为上游 5'-GGGCTCAATTACCTGCGTGTG-3',下游 5'-CCAGTGGGTTGGAGTCCAGAA-3'(118bp)。NgR1 引物序列为上游 5'-GTATCCCCAGTGTTCCTGAGC-3',下游 5'-GGCAAACAGGTAGAGGGTCAT-3'(140 bp)。内参采用 GAPDH 上游 5'-CCATGTTCGTCATGGGTGTGAACCA-3',下游 5'- GCCAGTAGAGGCAGGGATGATGTTC-3'(251 bp)。反应条件:94℃预变性 3 min,进入循环 94℃变性0.5 min,58℃退火 0.5 min,72℃延伸 0.5 min,35 个循环,72℃延伸 3 min。反应结束后将 RT-PCR 产物在琼脂糖凝胶上进行电泳,电泳条带用美国 Bio-Rad 凝胶图像处理系统做吸光度测定,计算目的条带和内参照光密度比值。

1.5 LINGO1 和 NgR1 蛋白表达检测

在线栓法阻断血管后的各时间点用 3.5%水合氯醛将大鼠深麻醉,经左心室灌注磷酸盐缓冲液(PBS,pH 7.25~7.35)200 ml 和 4%多聚甲醛磷酸盐缓冲液(4%PFA·PBS)200 ml 进行内固定。断头取视交叉后 2~4 mm 处脑组织进行石蜡包埋后做冠状连续切片。NgR1 和 LINGO1 抗体购自博奥森公司;SABC 免疫组化试剂盒和 DAB 显色试剂盒购于北京中杉生物技术有限公司。用图像信号采集分析系统测量计数每个视野(10×40 倍)下阳性细胞数,每个部位随机测 3 个视野,取其平均值。

1.6 统计学处理

应用 SPSS18 统计软件,正态分布数据以均值 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,2 组以上计量数据比较采用单因素方差分析(one-way,ANOVA),即 F 检验,其中两两比较采用 LSD 检验。非正态分布数据用中位数(范围)表示,统计分析采用 Mann-Whitney 检验。P<0.05 为差异有统计学意义。

表 1 MCAO 大鼠 LINGO1 mRNA 表达($\bar{x} \pm s$)

组别	只数	1 d	3 d	7 d	14 d	21 d
正常组	10	0.394 ± 0.038	–	–	–	–
假手术组	30	0.399 ± 0.035	0.370 ± 0.033	0.375 ± 0.033	0.357 ± 0.018	0.382 ± 0.026
缺血组	30	1.116 ± 0.059*	0.975 ± 0.058*	0.938 ± 0.024*	0.873 ± 0.041*	0.670 ± 0.042*
电刺激组	30	1.111 ± 0.056*	0.961 ± 0.043*	0.922 ± 0.022*	0.840 ± 0.028*	0.821 ± 0.034*▲

注:与假手术组相比 *P<0.01;与缺血组相比 ▲P<0.01

表 2 MCAO 大鼠 NgR1 mRNA 表达($\bar{x} \pm s$)

组别	只数	1 d	3 d	7 d	14 d	21 d
正常组	10	0.354 ± 0.018	–	–	–	–
假手术组	30	0.387 ± 0.026	0.370 ± 0.032	0.375 ± 0.033	0.380 ± 0.010	0.382 ± 0.026
缺血组	30	0.452 ± 0.021*	0.688 ± 0.021*	0.632 ± 0.021*	0.391 ± 0.011	0.400 ± 0.016
电刺激组	30	0.476 ± 0.011*	0.658 ± 0.014*△	0.587 ± 0.022*▲	0.383 ± 0.009	0.395 ± 0.016

注:与假手术组相比 *P<0.01;与缺血组相比 △P<0.05,▲P<0.01

2 结 果

2.1 行为学改变

假手术组无神经功能缺失症状。缺血组和电刺激组大鼠术后两周内普遍出现进食少，体重下降，Longa 评分 3 分的大鼠往往出现拱背嗜睡，毛色发黄。大鼠运动功能在缺血 3 d 后开始恢复，表现为 Longa 评分减少。电刺激组大鼠 14 d 组和 21d 组运动功能恢复较缺血组明显。差异具有统计学意义（$P<0.05$，见表 3）。

2.2 LINGO1 和 NgR1 mRNA 表达结果

正常组和假手术组的 LINGO1 mRNA 和 NgR1 mRNA 表达无统计学差异（$P>0.05$）。大鼠缺血皮质 LINGO1 mRNA 在缺血 1 d 后表达达到最高峰（$P<0.01$），3~21 d 表达依次下降，21 d 时表达仍高于假手术组（$P<0.01$）。电刺激 1~14 d 对 LINGO1 mRNA 表达无明显影响（$P>0.05$），在 21 d 时表达较缺血组升高（$P<0.01$）（图 1，表 1）。大鼠缺血皮质 NgR1 mRNA 表达 1 d 后表达开始上调（$P<0.01$），3 d 达到高峰（$P<0.01$），然后缓慢下降，14 d 后恢复正常（$P>0.05$）。电刺激 1 d 时NgR1 mRNA 表达较缺血组无统计学意义（$P>0.05$），电刺激 3 d、7 d 时较缺血组下调（$P<0.05$），14 d 和 21 d 时较对照组无明显差异（图 2，表 2）。

2.3 LINGO1 和 NgR1 蛋白表达结果

在模型组各个时间点大鼠缺血脑组织 LINGO1 和 NgR1 表达主要集中在细胞膜及细胞浆弱阳性表达，显示为粗细不等的棕黄色颗粒，LINGO1 除了在细胞膜及细胞浆表达外还在髓鞘表达。LINGO1 如图在缺血 1 d 后表达明显增强达到高峰颜色加深（$P<0.01$），3~21 d 表达较最高峰稍有下降，但较假手术组仍然维持高位表达（$P<0.01$）。电刺激 7 d 组 LINGO1 蛋白表达较缺血组下调（$P<0.05$），在 21 d 组表达较缺血组升高（$P<0.01$），其余各组无明显影响（$P>0.05$）（图 3、4，表 4）。NgR1 蛋白在缺血 1 d 表达较假手术组开始增加（$P<0.01$），3 d 表达最高（$P<0.01$），然后下降，14 d 恢复正常（$P>0.05$）。NgR1 蛋白的表达在电刺激 1 d 后较缺血组无统计学意义（$P>0.05$），电刺激 3、7 d 后表达较缺血组下调（$P<0.05$），电刺激 14 d 后表达较假手术组无明显差异（$P>0.05$）（图 5、6，表 5）。

3 讨 论

LINGO1 和 NgR1 同为中枢神经系统富含亮氨酸重复结构蛋白家族成员。LINGO1 只在中枢神经系统特异性表达[6]，NgR1 mRNA 除了在中枢神经系统内明显表达外，在心脏和肾脏中仅检测到低水平的表达[10]。NgR1 蛋白是与Nogo-A、MAG 和 OMgp 这 3 种髓鞘相关抑制因子（MAIFs）相结合的受体蛋白，它能与 LINGO1 和 TROY 形成受体复合物将抑制轴突生长的信号跨膜传导至神经元胞内使细胞骨架动力学改变引起神经元内生长锥的溃变，从而抑制轴突再生[4,5]。

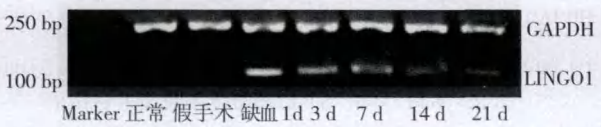


图 1　MCAO 大鼠 LINGO1 mRNA 表达

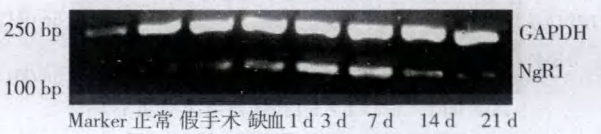


图 2　MCAO 大鼠 NgR1 mRNA 表达

表 3　模型组和治疗组大鼠神经功能评分比较 [中位数(范围)]

组别	只数	Longa 评分				
		1 d	3 d	7 d	14 d	21 d
缺血组	30	2.5(1~3)	1.5(1~3)	1.5(1~3)	1(1~2)	1(0~1)
电刺激组	30	2(1~3)	2(1~3)	1(0~2)	0.5(0~1)$^{\triangle}$	0(0~1)$^{\triangle}$

注：与缺血组相比$^{\triangle}P<0.05$

表 4　各缺血时间点 MCAO 大鼠 LINGO1 蛋白表达($\bar{x}\pm s$)

组别	只数	1 d	3 d	7 d	14 d	21 d
正常组	10	30.50 ± 3.63	–	–	–	–
假手术组	30	30.78 ± 2.76	32.39 ± 1.97	31.17 ± 2.98	30.89 ± 2.59	31.78 ± 2.65
缺血组	30	54.67 ± 2.54*	50.89 ± 2.63*	49.89 ± 2.87*	47.83 ± 2.38*	41.22 ± 3.26*
电刺激组	30	55.50 ± 2.43*	51.39 ± 3.27*	47.94 ± 2.58$^{*\triangle}$	47.50 ± 2.53*	46.11 ± 2.19$^{*\blacktriangle}$

注：与假手术组相比 $^{*}P<0.01$；与缺血组相比$^{\triangle}P<0.05$，$^{\blacktriangle}P<0.01$

表 5　各缺血时间点及其电针组 MCAO 大鼠 NgR1 蛋白表达($\bar{x}\pm s$)

组别	只数	1 d	3 d	7 d	14 d	21 d
正常组	10	29.83 ± 3.05	–	–	–	–
假手术组	30	29.44 ± 3.29	31.17 ± 3.45	29.78 ± 3.15	30.28 ± 2.80	30.11 ± 2.85
缺血组	30	33.56 ± 2.43*	47.61 ± 4.46*	42.56 ± 4.46*	30.67 ± 4.10	30.56 ± 3.62
电刺激组	30	32.44 ± 2.23*	44.56 ± 3.31$^{*\triangle}$	39.72 ± 2.27$^{*\triangle}$	29.83 ± 2.17	29.33 ± 2.14

注：与假手术组相比 $^{*}P<0.01$；与缺血组相比$^{\triangle}P<0.05$



图 3 正常大鼠 LINGO1 蛋白表达(SABC 法，×400)

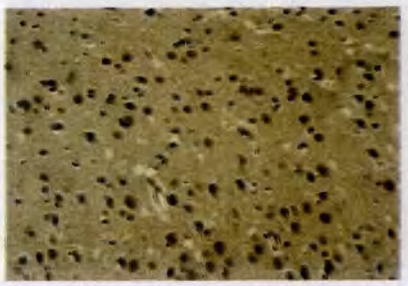


图 4 缺血 1 d MCAO 大鼠 LINGO1 蛋白表达(SABC 法，×400)

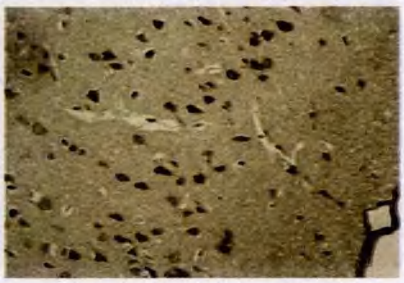


图 5 正常大鼠 NgR1 蛋白表达(SABC 法，×400)

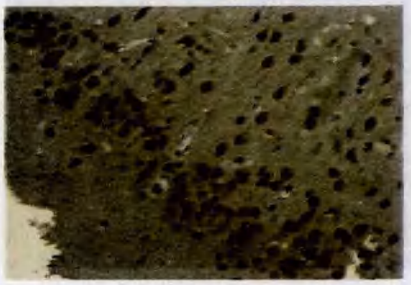


图 6 缺血 3 d MCAO 大鼠 NgR1 蛋白表达(SABC 法，×400)

LINGO1 除了与 NgR1 相互作用以外，还可以与 EGFR 相互作用抑制神经元存活[11]；与 TrkA 相互作用抑制髓鞘形成[12]。

在 CNS 损伤的动物模型中，LINGO1 和 NgR1 的表达都提高了，阻断 LINGO1 或 NgR1 均可以促进运动功能恢复。在大鼠脊髓损伤模型中，Mi 等[6]使用荧光定量 RT-PCR 发现造模 14 d 后 LINGO1 mRNA 表达较对照组提高约 5 倍。Ji 等[13]使用 LINGO1 拮抗剂鞘内注射 3 d 后，发现治疗组 Rho-GTP 水平较对照组降低，并能促进脊髓损伤后运动功能恢复。本研究发现 LINGO1 mRNA 和蛋白表达在 MCAO 后 1 d 达峰，3~14 d 表达稍下降，21 d 表达仍较假手术组高。在 MCAO 模型中，Jiang 等[7]研究发现，在缺血后 6 h NgR1 表达显著增强，24 h 达到高峰。Lee 等[14]在 MCAO 缺血 7 d 后使用 NgR 拮抗剂侧脑室注射治疗 2 月后，治疗组运动功能明显恢复。本研究发现 NgR1 的表达趋势和 Jiang 等的研究基本一致，表达在 1 d 升高，3 d 达峰，14 d 恢复正常。

有研究认为在脑缺血早期由于组织缺血缺氧、氧自由基、兴奋性氨基酸、细胞内钙超载等刺激机体产生应答反应[15]。本研究推测上述因素可能共同上调了 LINGO1 和 NgR1 转录水平和蛋白水平的表达而且这两种蛋白参与了脑缺血早期的病理生理变化，他们的协同作用可加强对轴突再生的抑制作用，LINGO1 在早期的高表达还可以抑制神经元的存活。

目前研究发现电刺激促进脑梗死后神经功能恢复的作用机制主要有两个方面：①局部刺激可引起局部神经营养因子的释放以濡养局部的神经(例如 NGF)，这些营养因子具有逆行性上行传导的特性，保护、濡养中枢的神经细胞。②刺激产生上行传导的神经信号，使得中枢胞体产生动作电位，调节神经元的存活、神经突触的强度、神经递质的释放及髓鞘化等[16]。本研究发现电刺激 14 d、21 d 组运动功能恢复较缺血组明显改善，而且电刺激可下调髓鞘相关抑制因子的受体蛋白 LINGO1 和 NgR1 表达，LINGO1 和 NgR1 表达下调可抑制 RhoA 的活性促进轴突再生，进而促进神经功能恢复。Trifunovski 等[17]研究发现往大鼠海马注射 BDNF 和红藻氨酸后注射侧海马 LINGO1 mRNA 的表达明显提高了，由于 BDNF 和红藻氨酸可促进突触可塑性的形成，提示 LINGO1 也可能参与了上述过程。本研究发现通过电刺激干预后 21 d 组 LINGO1 表达较缺血组明显提高，提示脑梗死恢复期电刺激后 LINGO1 表达上调，可能参与了突触可塑性的形成。

综上所述，本实验从基因转录和蛋白表达水平动态检测了 LINGO1 和 NgR1 在脑皮层缺血后不同时间点的表达变化，结果提示 LINGO1 和 NgR1 都参与了脑缺血后的病理生理过程。脑梗死急性期予以电刺激后 LINGO1 蛋白和 NgR1 mRNA 及蛋白表达下调，可能是其促进神经功能恢复的机制之一。本研究提示 LINGO1 和 NgR1 在 1 d 和 3 d 分别达峰，提示拮抗剂和电刺激越早运用越好，最好在缺血 3 d 以内。

参 考 文 献

[1] Kimberley T J, Lewis S M, Auerbach E J, et al. Electrical stimulation driving functional improvements and cortical changes in subjects with stroke[J]. Experimental Brain Research, 2004, 154(4): 450-460.

[2] Berner Y N, Kimchi O L, Spokoiny V, et al. The effect of electrical stimulation treatment on the functional rehabilitation of acute geriatric patients with stroke-apreliminary study[J]. Archives of Gerontology and Geriatrics, 2004, 39: 125-132.

[3] 游国清，燕铁斌. 功能性电刺激及其在脑卒中后偏瘫患者中的应用[J]. 中华物理医学与康复杂志，2007，29(2)：142-144.

[4] Schwab J M, Tuli S K, Failli V. The Nogo receptor complex: confining molecules to molecular mechanisms[J]. TRENDS in Molecular Medicine, 2006, 12(7): 293-297.

[5] Nikolic M. The role of Rho GTPases and associated kinases in regulating neurite outgrowth[J]. The International Journal of Biochemistry & Cell Biology, 2002, 34(7): 731-745.

[6] Mi S, Lee X, Shao Z, et al. LINGO-1 is a component of the Nogo-66

基础研究 文章编号:0253-3626(2011)01-0046-05

葡萄糖调节蛋白 78 与胃癌细胞化疗敏感性的关系

李禄椿,高 青,颜晓丽
(重庆医科大学附属第一医院消化内科,重庆 400016)

【摘 要】目的:探讨葡萄糖调节蛋白 78(Glucose regulated protein 78,GRP78)在不同胃癌细胞株中的表达和对化疗药物敏感性的关系,并探讨其初步机制。方法:用 RT-PCR 及 Western blot 法检测分化程度不同的胃癌细胞株 MKN45、SGC7901 和 NCI-N87 中 GRP78 的表达,并分别观察经 Ca^{2+} 载体 A23187 和 Ca^{2+} 螯合剂 BAPTA-AM 处理后的 SGC7901 中 GRP78 的表达,MTT 法检测各组胃癌细胞株对多种化疗药物的敏感性。Western blot 法检测 SGC7901 及分别经 A23187 和 BAPTA-AM 处理后细胞 AKT/PKB 蛋白表达水平,流式细胞仪检测细胞的凋亡率。结果:GRP78 在 3 种胃癌细胞系中均有表达,在 MKN45 中为高表达,对化疗药物的敏感性最低;在 NCI-N87 中为低表达,但对化疗药物的敏感性最高。A23187 组 SGC7901 细胞 GRP78mRNA 和蛋白及 AKT/PKB 蛋白的表达显著上调,对长春新碱(Vincristine,VCR)的敏感性降低;而在 BAPTA-AM 组则与之相反。结论:GRP78 在不同分化的胃癌细胞株中表达水平不同,对化疗药物的敏感性亦不同。改变胃癌细胞 GRP78 的表达能影响其下游蛋白 AKT/PKB 的表达水平,从而影响胃癌细胞对化疗药物的敏感性。

【关键词】胃癌;葡萄糖调节蛋白 78;敏感性
【中国图书分类法分类号】R34;R735.2;R73-36+1 【文献标志码】A 【收稿日期】2010-10-07

Research on the relation between expression GRP78 in gastric cancer cell lines and its sensitivity to chemotherapeutic drugs

LI Lu-chun, et al
(*Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital, Chongqing Medical University*)

【Abstract】*Objective*: To research the sensitivity of different gastric cancer cell lines to chemotherapeutic drugs and evaluate GRP78 expression in order to analyze the relation between them. *Methods*: The SGC7901 cells were treated by calcium ionophore A23187 and Ca^{2+} chelator BAPTA-AM. The sensitivity of different gastric cancer cell lines to different chemotherapeutic drugs was detected by MTT assay. The expression of GRP78 was assessed by RT-PCR and Western blot. The expression of AKT/PKB in SGC7901, A23187-SGC7901 and BAPTA-AM-SGC7901 was analyzed by Western blot. Cell apoptosis was analyzed by flow cytometry in order to evaluate the therapeutic sensitivity to VCR. *Results*:

作者介绍:李禄椿(1984-),女,硕士,
研究方向:消化道肿瘤。
通信作者:高 青,男,主任医师,Email:gaoqing27@yahoo.com.cn。

receptor/p75 signaling complex[J].Nature Neuroscience,2004,7(3):221-228.
[7] Jiang W,Xia F,Han J L,et al.Patterns of Nogo-A, NgR, and RhoA expression in the brain tissues of rats with focal cerebral infarction[J].Translational Research,2009,154(1):40-48.
[8] Longa E Z,Weinstin P R,Carlson S,et al.Reversible middle cerebral artery occlusion without craniectomy in rats[J].Stroke,1989,20(1):84-91.
[9] 华兴邦,李辞蓉.大鼠穴位图谱的研制[J].实验动物与动物实验,1991,1(1):1-5.
[10] Fournier A E,GrandPre T,Strittmatter S M.Identification of a receptor mediating Nogo66 inhibition of axonal regeneration[J].Nature,2001,409(6818):341-346.
[11] Inoue H,Lin L,Lee X,et al.Inhibition of the leucine-rich repeat protein LINGO-1 enhances survival,structure,and functi-on of dopaminergic neurons in Parkinson's disease models[J].Proc Natl Acad Sci USA,2007,104(36):14430-14435.
[12] Lee X,Yang Z,Shao Z,et al.NGF regulates the expression of axonal LINGO-1 to inhibit oligodendrocyte differentiation and myelination[J].The Journal of Neuroscience,2007,27(1):220-225.
[13] Ji B, Li M,Wu W T,et al.LINGO-1 antagonist promotes functional recovery and axonal sprouting after spinal cord injury[J].Mol Cell Neurosci,2006,33(3):311-320.
[14] Lee J K,Kim J E,Sivula M,et al.Nogo receptor antagonism promotes stroke recovery by enhancing axonal plasticity[J].The Journal of Neuroscience,2004,24(27):6209-6217.
[15] Tanaka K.Mechanisms of ischemic cellular injury in response to reduction in cerebral blood flow[J].Nippon Rinsho,2006,64(s7):139-145.
[16] 杜 静.神经营养因子和细胞因子在介导针灸效应中的作用[J].针刺研究,2008,33(1):37-40.
[17] Trifunovski A,Josephson A,Ringman A,et al.Neuronal activity-induced regulation of Lingo-1[J].Neuro Report,2004,15(15):2397-2400.

(责任编辑:冉明会)