DOI: 10.16016/j.1000-5404.1998.01.002

damage during severe burns on the molecular level. **Methods**: In the in vivo burn model established in rats, alterations of the anion sites at basal lamina of the myocardial cells was assessed with a PEI cationic probe. The membrane permeability of the myocardial cells was observed using colloidal lanthanum as a marker and the myocardial water content measured. **Results**: The anion sites of basal lamina of the myocardial cells showed regular linear lattice arrangement (40~80 mm). The PEI granules of the basal lamina were decreased at the 1st h and decreased significantly at the 6th h after burns. The lanthanum granules entered into the myocardial cells at the 1st h and the myocardial water content was significantly increased ($P < 0.01$) at the 3rd h after burns. **Conclusion**: The damage of the basal lamina and decrease of the anion sites on the myocardial cells might be a contributive factor causing the increase of membrane permeability, tissue edema and membrane protective barrier dysfunction after severe burns

Key words burns; myocardial cell; anionic site; polyethyleneimine; sialic acid; basal lamina

博士生论文摘要

NHE-1基因表达在人肺癌细胞 pHi调节及凋亡调控中的作用

The effect of NHE-1 gene on the pHi regulation and apoptosis in lung cancer cells

黄桂君* 钱桂生 (第三军医大学附属新桥医院呼吸内科研究所) 重庆, 400037

肿瘤细胞普遍增强的糖酵解优势,导致其酸性产物的异常增加,因而存在其 pHi调节的内在规律和特点。探明肿瘤细胞 pHi调节的分子机制,将为以酸化肿瘤细胞和诱发肿瘤细胞凋亡的治疗策略提供重要的依据和手段。为此,本实验以人肺癌组织细胞为对象,探讨人肺癌细胞在整体条件下 pHi调节的分子机制。阐明 Na^+/H^+ 交换泵家族第一亚型 NHE-1基因表达在人肺癌细胞 pHi调节及凋亡调控中的作用。以半定量逆转录 PCR及 mRNA原位杂交技术研究了 27例人肺癌组织手术新鲜标本 NHE-1基因表达水平,并对其 pHi调节的分子机制和特点进行了初步探讨。在体外细胞培养中,以反义技术等手段研究了 NHE-1硫代型反义核酸对人肺癌 A549细胞酸化及凋亡的诱导作用。以套式引物 PCR及分子克隆技术,构建反义表达 NHE-1基因部分序列的重组逆转录病毒载体。人肺癌组织细胞 NHE-1 mRNA表达水平非常显著地高于正常肺组织($P < 0.001$),系正常肺组织的 11.81倍。A549细胞在 20μmol/L 浓度 NHE-1反义核酸作用下,出现胞内酸化(pHi= 6.55)及细胞凋亡。随作用时间增加,细胞凋亡率增高。在反义核酸作用 24 48 72h后,细胞凋亡率分别为 30.1%、91.2%、99.6%。电镜下可见"凋亡小体"等细胞凋亡的形态特征。细胞凋亡原位检测到基因组 DNA降解片段。在 NHE-1反义核酸作用下,A549细胞的 NHE-1表达受抑制,细胞 mRNA原位杂交显示其 mRNA含量减少,并与细胞酸化及凋亡的时相吻合。从人肺癌组织细胞克隆出了 NHE-1 cDNA的部分序列,并成功地构建了其反义表达的重组逆转录病毒载体。人肺癌组织细胞通过上调 NHE-1基因超表达,以增加其胞膜 NHE-1的数量分布和 Na^+/H^+ 交换,可能是其在整体条件下 pHi调节的主要分子机制和特点。NHE-1基因的超表达事件对维持人肺癌细胞在机体内的抗凋亡生长亦起着重要的作用。针对 NHE-1基因的硫代型反义核酸能有效地抑制人肺癌细胞 NHE-1的表达,并能诱导胞内 pHi下降与胞内酸化。在 NHE-1反义核酸作用下,当肺癌细胞 pHi下降到 6.55时,可诱发细胞凋亡;其诱发机制可能与酸性 pHi依赖的核酸内切酶激活有关。所构建的反义表达重组载体,将为在有机整体实施基因治疗研究奠定基础。

关键词 细胞内 pH;酸碱平衡;肺肿瘤;NHE-1基因;基因表达;凋亡;反义技术;基因治疗

中图法分类号 R734.2

(收稿: 1997-11-14;修回: 1997-12-10)

(编辑 王 红)

* 黄桂君,男,33岁,主治医师,讲师,博士研究生

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net