

加,子代认知下降、超重、发生糖代谢异常风险亦增加<sup>[3]</sup>。本研究显示,经过“知己管理模式”对饮食及运动量的强化干预,干预组的血糖、HbA1c、糖代谢异常发生率较对照组明显下降,这提示积极的生活方式可降低其发展为 T2DM 的风险。Bao 等<sup>[4]</sup>最新的大样本前瞻性队列研究也显示了增加体力活动可以帮助预防其向 T2DM 进展。

有研究表明 GDM 孕妇的 IR 程度明显高于正常孕妇,而 IR 是 T2DM 发生的重要机制之一。本研究显示,经过强化干预,干预组的 FIns、2hIns、HOMA-IR 较对照组下降,提示生活方式干预可改善 GDM 患者的 IR 程度。

多项研究表明,GDM 患者的 LDL-C 及炎症指标(如 CRP、FIB、IL-6)均高于非 GDM 孕妇,而 LDL-C、CRP 及 FIB 升高与代谢综合征、心血管疾病相关<sup>[5]</sup>。GDM 患者产后血脂紊乱,高炎症状态可能导致大血管病变增加。本研究显示,强化干预组的 TC、TG、LDL-C、CRP、FIB 较对照组明显下降,而 HDL-C 水平较对照组上升。

综上所述,采用“知己管理模式”强化干预 GDM

的生活方式,对 GDM 患者的血糖、血脂、IR 及炎症状况都有一定程度的改善。产后行为干预对预防或延缓 GDM 发展为 DM 具有重要意义,临床工作中要加强对 GDM 的产后随访。

#### 参考文献

- 1 Malcolm J. Through the looking glass: gestational diabetes as a predictor of maternal and offspring long-term health [J]. *Diabetes Metab Res Rev*, 2012,28:307-311
- 2 Koh D, Miller YD, Marshall AL, *et al*. Health-enhancing physical activity behavior and related factors in postpartum women with recent gestational diabetes mellitus [J]. *J Sci Med Sport*, 2010,13(1):42-45
- 3 Fraser A, Lawlor DA. Long-term health outcomes in offspring born to women with diabetes in pregnancy [J]. *Curr Diab Rep*, 2014,14:489
- 4 Bao W, Zhang C, Tobias DK, *et al*. Physical activity and sedentary behaviors associated with risk of progression from gestational diabetes mellitus to type2 diabetes mellitus: a prospective cohort study [J]. *JAMA Med*, 2014,174(7):1047-1055
- 5 Edalat B, Sharifi F, Badamchizadeh Z, *et al*. Association of metabolic syndrome with inflammatory mediators in women with previous gestational diabetes mellitus [J]. *Diabetes Metabolic Disorders*, 2013,12:8

(收稿日期:2014-12-03)

(修回日期:2014-12-11)

## 全长型脾酪氨酸激酶基因转染对人喉鳞癌裸鼠移植瘤的生长抑制作用

张朝晖 李志海 蔡志毅 陶宝鸿 金巧智

**摘要** 目的 探讨全长型脾酪氨酸激酶[full-length spleen tyrosine kinase, SYK(L)]基因转染对人喉鳞状细胞癌 Hep-2 细胞裸鼠移植瘤生长的影响。**方法** 建立人喉鳞癌 Hep-2 细胞裸鼠皮下移植瘤模型,分为 SYK(L)重组质粒转染组、阴性对照质粒转染组和生理盐水组,分别向瘤体内注射 SYK(L)重组质粒 pIRES2-EGFP-SYK(L)及脂质体混合物、阴性对照质粒 pIRES2-EGFP 及脂质体混合物和生理盐水,观察肿瘤生长情况。通过实时荧光定量聚合酶链式反应(quantitative real time fluorescence polymerase chain reaction, Q-RT-PCR)、Western blot 法检测各组瘤体内的 SYK(L) mRNA 及蛋白表达水平。**结果** SYK(L)重组质粒转染组的肿瘤平均体积为  $367.61 \pm 81.23 \text{ mm}^3$ ,明显小于阴性对照质粒转染组  $900.20 \pm 131.41 \text{ mm}^3$  及生理盐水组  $930.71 \pm 143.73 \text{ mm}^3$ ,差异有统计学意义( $F = 99.91, P < 0.01$ );Q-RT-PCR 结果显示 SYK(L)重组质粒转染组瘤体内 mRNA 相对表达量为  $2.268 \pm 0.075$ ,明显高于阴性对照质粒转染组( $1.212 \pm 0.025$ )及生理盐水组( $1.175 \pm 0.031$ )( $F = 102.01, P < 0.01$ );Western blot 法检测结果显示 SYK(L)重组质粒转染组瘤体内相对蛋白含量( $0.834 \pm 0.021$ )明显高于阴性对照质粒转染组( $0.243 \pm 0.041$ )和生理盐水组( $0.301 \pm 0.039$ ),差异有统计学意义( $F = 104.13, P < 0.01$ )。**结论** 全长型脾酪氨酸激酶基因转染对人喉鳞癌裸鼠移植瘤有明显的生长抑制作用,有望成为基因治疗喉癌的新靶点及途径。

**关键词** 全长型脾酪氨酸激酶 喉癌 移植瘤 抑制 基因疗法

**中图分类号** R739.6

**文献标识码** A

**DOI** 10.11969/j.issn.1673-548X.2015.06.019

基金项目:浙江省中医药科学研究基金资助项目(2013ZA132);台州市科技计划项目(2009KYB241)

作者单位:318000 台州学院医学院附属市立医院耳鼻喉科

通讯作者:李志海,电子信箱:li00hai@sohu.com

**Inhibitory Effect of SYK(L) Gene Therapy on Human Laryngeal Carcinoma Xenograft Model in Nude Mice by Cationic Liposome Mediated Transfection.** Zhang Chaohui, Li Zhihai, Cai Zhiyi et al. Department of Otolaryngology, Zhejiang Taizhou Municipal Hospital, Zhejiang 318000, China

**Abstract Objective** To observe the effect of cationic liposome mediated full-length spleen tyrosine kinase [SYK(L)] gene transfection on the growth of human laryngeal cancer Hep-2 cells in the nude mice. **Methods** 15 nude mouse tumor models were made by subcutaneous injection of human laryngeal carcinoma Hep-2 cell. Then they were randomly and equally divided into 3 groups. The tumor growth was monitored after intratumoral injection of SYK(L) overexpression vector pIRES2-EGFP-SYK(L), plasmid vector pIRES2-EGFP and saline. The gene and protein expression of SYK(L) expressions in tumour tissues were detected by Q-RT-PCR and western blot. **Results** Mean volume of the SYK(L) overexpression vector pIRES2-EGFP-SYK(L)-treated tumors was  $367.61 \pm 81.23 \text{ mm}^3$ , significantly less than that of tumors treated with plasmid vector pIRES2-EGFP  $900.20 \pm 131.41 \text{ mm}^3$  or saline  $930.71 \pm 143.73 \text{ mm}^3$  ( $F = 99.91, P < 0.01$ ). Q-RT-PCR analysis indicated that the  $2^{-\Delta\Delta CT}$  of SYK(L) mRNA in SYK(L) overexpression vector pIRES2-EGFP-SYK(L)-treated group ( $2.268 \pm 0.075$ ) was significantly higher than that in plasmid vector pIRES2-EGFP-treated group ( $1.212 \pm 0.025$ ) and saline treated group ( $1.175 \pm 0.031$ ) ( $F = 102.01, P < 0.01$ ). Western blot showed that the level of SYK(L) protein in SYK(L) overexpression vector pIRES2-EGFP-SYK(L)-treated group ( $0.834 \pm 0.021$ ) was significantly higher than that in plasmid vector pIRES2-EGFP-treated group ( $0.243 \pm 0.041$ ) and saline treated group ( $0.301 \pm 0.039$ ) ( $F = 104.13, P < 0.01$ ). **Conclusion** The growth of human laryngeal carcinoma xenograft in nude mice could be inhibited significantly by SYK(L) gene transfection. This suggests that SYK(L) gene transfection could be an effective therapy for human laryngeal carcinoma.

**Key words** Full-length spleen tyrosine kinase; SYK(L); Laryngeal carcinoma; Xenograft tumor; Inhibition; Gene therapy

脾酪氨酸激酶(spleen tyrosine kinase, SYK)是一种非受体型酪氨酸激酶,其基因由日本学者 Taniguchi 于 1991 年从猪脾 cDNA 克隆出来。人类编码基因位于染色体 9q22,蛋白质相对分子质量为 72kDa,由 629 个氨基酸组成<sup>[1]</sup>。最初对 SYK 的研究集中在它对造血细胞尤其是免疫细胞增殖、分化及吞噬等功能作用的影响<sup>[2]</sup>。最近研究发现 SYK 在乳腺癌、肝癌、鼻咽癌、胃癌、结肠癌、胰腺癌、前列腺癌、肺癌等多种肿瘤组织中低表达,SYK 表达量与肿瘤细胞的生长、浸润和转移能力呈负相关,由此推测 SYK 可能为潜在的抑癌基因<sup>[3-5]</sup>。SYK 蛋白有全长型脾酪氨酸激酶[SYK(L)]和缩短型脾脏酪氨酸激酶[SYK(S)]两种异构体,有关研究表明发挥潜抑癌基因功能的为 SYK(L)<sup>[6]</sup>。

本研究组在前期实验中发现,SYK(L)喉鳞癌组织中 SYK(L)蛋白表达降低,其低表达与喉鳞癌的生长及淋巴结转移密切相关,并运用载体构建及基因转染技术将 SYK(L)基因转入喉鳞癌 Hep-2 细胞中,结果发现高表达 SYK(L) Hep-2 细胞的增殖、侵袭及转移能力明显降低<sup>[7]</sup>(部分研究结果待发表)。本研究在此基础上,通过建立人喉鳞癌 Hep-2 细胞裸鼠皮下移植瘤模型,将 SYK(L)重组质粒 pIRES2-EGFP-SYK(L)和脂质体混合物直接注入裸鼠皮下移植瘤体内,体内观察对肿瘤生长的影响,为临床应用 SYK(L)基因治疗喉癌提供实验基础。

## 材料与方法

1. 实验材料: BALB/C 雄性裸小鼠购自上海斯莱克实验动物有限公司[实验动物许可证号: SCX(沪)2012-0002],人喉鳞癌细胞株 Hep-2 购买于中国科学院上海细胞库, SYK(L)重组质粒 pIRES2-EGFP-SYK(L)载体由本课题组构建并成功鉴定<sup>[7]</sup>。阴性对照质粒 pIRES2-EGFP 购自上海捷瑞生物有限公司,脂质体 lipofectamine<sup>TM</sup> 2000 为美国 Invitrogen 公司产品。高纯总 RNA 快速提取试剂盒购自 Generay 公司,反转录试剂盒 RevertAid First Strand cDNA synthesis Kit 购自 Fermentas 公司, qPCR 试剂 IQ SYBR Green Supermix 购自 Bio-Rad 公司,美国 Abcam 公司定制兔抗人的 SYK(L)特异性抗体,二抗羊抗兔抗体购自福州迈新生物技术开发有限公司,3-磷酸甘油醛脱氢酶(GAPDH)来自英国 Abcam 公司。OD 值测量仪器(高精度分光光度计)为 Merinton SMA 4000;定量 PCR 仪为 CFX connect real-time PCR System,配套使用的分析软件为 BIO-RAD CFX Manager。

2. 方法: (1)细胞培养: Hep-2 细胞在含有 10% 胎牛血清、100U/ml 青霉素、100μg/ml 链霉素的 RPMI 1640 培养基中贴壁生长,置于 37℃、5% CO<sub>2</sub> 保湿培养箱中培养。(2)人喉鳞癌 Hep-2 细胞裸鼠皮下移植瘤模型建立: 收集 Hep-2 细胞悬液,磷酸盐缓冲液(PBS)调整悬液浓度为  $1 \times 10^6/0.2 \text{ ml}$ ,每只裸鼠右侧腋窝皮下接种 0.2ml 细胞悬液。接种肿瘤细胞后,定期观察小鼠的精神、饮食及排便等情况,称量小鼠体重。接种部位皮下长出米粒大小的硬结,为移植瘤模型建成。(3)分组治疗及疗效观察:待肿瘤长到 6~8mm 时,选用瘤体大小一致的裸鼠 15 只,随机分为 3 组, SYK(L)重组质粒转染组、阴性对照质粒转染组和生理盐水组,每组 5 只。生理盐水组每次每 100μl 0.9% 生理盐水多点注射入瘤体; SYK(L)重组

质粒转染组及阴性对照质粒转染组每次每只分别多点注射 SYK(L) 重组质粒及阴性对照质粒脂质体混合液 100 $\mu$ l (质粒和脂质体用量分别为 20 $\mu$ g 和 40 $\mu$ l, 分别用无菌 PBS 溶液稀释至 50 $\mu$ l, 轻轻混匀, 合并两者, 室温孵育 10min)。以上注射液的制备及注射均在无菌条件下进行 (复合物随配随用)。每隔 3 天局部注射 1 次, 共注射 8 次, 注射前用游标卡尺测量肿瘤最长径 (a) 和横径 (b)。注射 33 天后处死动物, 计算各组肿瘤体积, 并绘制肿瘤生长曲线。肿瘤体积计算公式  $V = a \times b^2 \times 0.5236$  (a 为长轴距离, b 为短轴距离)。(4) 实时荧光定量聚合酶链式反应 (quantitative real time fluorescence polymerase chain reaction, Q-RT-PCR) 检测 SYK(L) mRNA 在移植瘤中的表达: 分别取新鲜的肿瘤组织 100mg, 用液氮研磨至粉末状, Trizol-离心柱法提取各组织总 RNA。进行 RNA 纯度的测定和 RNA 的定量后, 参照反转录试剂盒说明完成反转录反应。参照实时荧光定量 PCR 试剂盒说明书完成荧光定量 PCR 扩增, PCR 扩增反应体积为 25 $\mu$ l。SYK(L) 上游引物: 5'-TACCCAACATTACGCCAAGAT-3', 下游引物: 5'-AGAATGCTTCCACATCAACA-3'。GAPDH 基因作为内参, 上游引物: 5'-AGAAGCTGGGGCTCATTG-3', 下游引物: 5'-AGGGGCCATCCACAGTCTTC-3'。反应条件为 95 $^{\circ}$ C 10s、60 $^{\circ}$ C 20s、72 $^{\circ}$ C 30s, 共 40 个循环。每个样本重复 5 次, 实验结果由荧光定量 PCR 分析软件 BIO-RAD CFX Manager 自动统计计算各组的 SYK(L) mRNA 相对表达量  $2^{-\Delta\Delta CT}$ 。(5) Western blot 法检测 SYK(L) 蛋白在移植瘤中的表达: 分别取新鲜的肿瘤组织 100mg, 用液氮研磨至粉末状, 按美国 Active Motif 公司试剂盒操作步骤抽提蛋白, 采用 BCA 法测定蛋白浓度。取 50 $\mu$ g 的蛋白加入 5 $\times$  SDS 上样缓冲液混匀, 进行聚丙烯酰胺凝胶电泳、PVDF 转膜及封闭后, 移入含有一抗 SYK(L) 单克隆抗体的小袋中, 室温孵育 2h, 洗膜后将 PVDF 膜转移到含二抗的玻璃平皿中, 于室温摇床上孵育 1h。用显色液显色、拍照, 移入凝胶成像分析仪中, 化学光敏模式曝光显影。GAPDH 作为内参照, Image J 软件 (NIH) 计算 SYK(L) 与 GAPDH 的灰度比, 进行蛋白相对表达分析。实验重复 3 次。

3. 统计学方法: 实验数据采用 SPSS 18.0 统计软件进行数据处理, 检验各组数据的正态性, 对不符合正态性的数据进行正态性数据转换。所有结果用均数  $\pm$  标准差 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示, 多组间均数间比较及两组间均数比较均采用单因素方差分析, 以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 结 果

1. 裸鼠皮下移植瘤模型建立及 SYK(L) 重组质粒治疗对肿瘤体积的影响: 在裸鼠皮下接种 Hep-2 细胞 1 周后, 右侧腋窝接种部位皮下长出米粒大小的硬结, 表明裸鼠皮下移植瘤移植瘤模型建成。接种 22 天后分组治疗, 治疗前重组质粒转染组、阴性对照质粒转染组、生理盐水组肿瘤平均体积分为 141.32  $\pm$  41.32、137.12  $\pm$  39.23 和 130.79  $\pm$  45.13mm<sup>3</sup>, 差

异无统计学意义 ( $F = 14.89, P > 0.05$ )。治疗期间无一只裸鼠死亡, 各组裸鼠治疗前后均未出现消瘦、行动迟缓等症状, 各组裸鼠荷瘤前后体重比较未见明显差异, 裸鼠个体具有均衡性, 各组移植瘤的生长曲线见图 1。治疗 32 天后 SYK(L) 重组质粒转染组肿瘤平均体积为 367.61  $\pm$  81.23mm<sup>3</sup>, 阴性对照质粒转染组肿瘤平均体积为 900.20  $\pm$  131.41mm<sup>3</sup>, 生理盐水组肿瘤平均体积为 930.71  $\pm$  143.73mm<sup>3</sup>。SYK(L) 重组质粒转染组肿瘤平均体积明显小于阴性对照质粒转染组及生理盐水组, 差异有统计学意义 ( $F = 99.91, P < 0.01$ ), 阴性对照质粒转染与生理盐水组相比, 肿瘤平均体积差异无统计学意义 ( $F = 89.73, P > 0.05$ )。此结果表明 SYK(L) 重组质粒对人喉鳞癌裸鼠移植瘤的生长有明显的抑制作用。

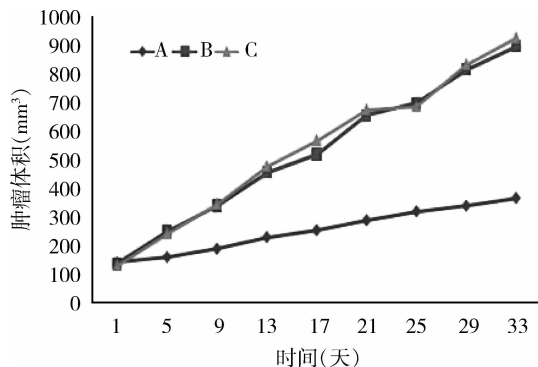


图 1 人喉鳞癌 Hep-2 细胞裸鼠皮下移植瘤 SYK(L) 重组质粒治疗试验中不同组按时间点绘制的肿瘤平均体积生长曲线

A. SYK(L) 重组质粒转染组; B. 阴性对照质粒转染组; C. 生理盐水组

2. Q-RT-PCR 检测 SYK(L) mRNA 在移植瘤中的表达: 各组移植瘤瘤体内 SYK(L) 及内参照基因 GAPDH 扩增曲线及溶解曲线表明 PCR 扩增效率稳定、CT 值稳定重现好、引物特异性好。mRNA 相对表达量采用  $2^{-\Delta\Delta CT}$  计算。重组质粒转染组移植瘤 SyK(L) mRNA 相对表达量  $2^{-\Delta\Delta CT}$  为 2.268  $\pm$  0.075, 显著高于阴性对照质粒转染组 1.212  $\pm$  0.025 及生理盐水组 1.175  $\pm$  0.031, 差异有统计学意义 ( $F = 102.01, P < 0.01$ ); 阴性对照质粒转染组与生理盐水组相比较, SyK(L) mRNA 相对表达量  $2^{-\Delta\Delta CT}$  差异无统计学意义 ( $F = 67.73, P > 0.05$ , 图 2)。

3. Western blot 法检测 SYK(L) 蛋白在移植瘤中的表达: 重组质粒转染组瘤体内 SYK(L) 相对蛋白含量为 0.834  $\pm$  0.021, 显著高于阴性对照质粒转染组

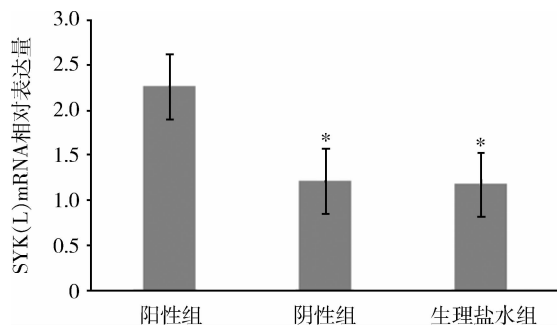


图2 各组各组瘤体 SYK(L) mRNA 相对表达量差异性比较

阴性组代表阴性对照质粒转染组,阳性组代表 SYK(L) 重组质粒转染组;与阳性组比较,\*  $P < 0.01$

( $0.243 \pm 0.041$ ) 及生理盐水组 ( $0.301 \pm 0.039$ ), 差异有统计学意义 ( $F = 104.13, P < 0.01$ ); 阴性对照质粒转染组与生理盐水组相比较, SYK(L) 相对蛋白含量差异无统计学意义 ( $F = 76.73, P > 0.05$ , 图3)。

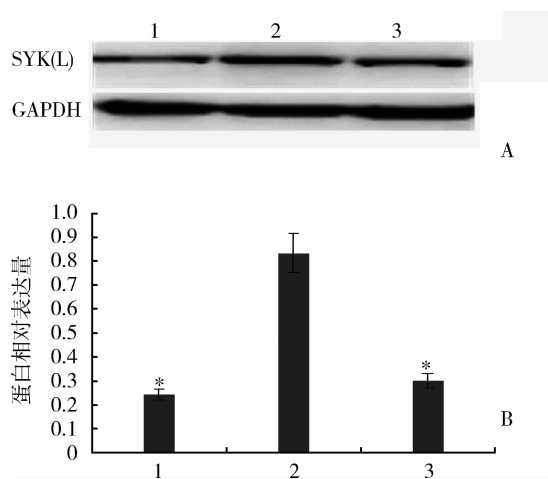


图3 各组瘤体 SYK(L) 蛋白的表达

A. Western blot 法检测各组细胞 SYK(L) 蛋白的表达, GAPDH 作为内参; B. 各组细胞中 SYK(L) 蛋白相对表达量比较; 1. 阴性对照质粒转染组; 2. SYK(L) 重组质粒转染组; 3. 生理盐水组; 与 SYK(L) 重组质粒转染组相比,\*  $P < 0.01$

## 讨 论

喉癌是头颈部常见恶性肿瘤之一,近10年其发生率呈现逐年上升的趋势<sup>[8]</sup>。尽管喉癌治疗方法不断改进,但目前治疗上仍然以手术治疗为主。因喉具有发声、呼吸和吞咽等重要功能,许多患者术后发声功能受损或完全丧失,严重影响其生存质量,且仍有30%~40%的患者死于肿瘤的复发或转移,故寻求新的有效防治手段来提高喉癌患者生存质量及生存率已成为目前喉癌防治的重要工作目标<sup>[9~11]</sup>。生物基

因技术的发展,为喉癌的基因生物治疗中提供了良好的应用前景。

肿瘤基因生物治疗关键之一为选择理想的治疗靶点,而理想的治疗靶点必须:①广泛存在于多种肿瘤中,在肿瘤的发生、发展中起着重要作用;②在肿瘤组织及正常组织中的存在有显著差异,对其干预为肿瘤特异性杀伤而不损害正常细胞<sup>[8]</sup>。SYK(L)是脾酪氨酸激酶的同种异构体,研究表明 SYK(L) 在多种肿瘤的发生、发展中都起着一定作用,本课题组前期研究发现 SYK(L) mRNA 及蛋白在喉鳞癌细胞 Hep-2 及喉鳞癌组织中低表达,在正常黏膜组织中高表达<sup>[7]</sup>。表明 SYK(L) 基因及蛋白异常低表达在喉癌发生、发展中发挥重要作用,通过改变 SYK(L) 的低表达状态,有望使 SYK(L) 成为喉癌基因治疗的新靶点。

近年来,随着基因治疗的深入开展,通过转染目的基因到病变组织中已成为可能。多种病毒载体已经被证实能非常有效地转染 DNA 到病变组织<sup>[12]</sup>。但是,病毒载体的病毒效价低、准备时间长、基因易突变等缺点使其应用受到限制。而阳离子脂质体通过离子的相互作用,能将任何分子量大小的 DNA 简便、安全可靠转染到各种细胞<sup>[13]</sup>。本课题研究采用组体外构建 SYK(L) 重组质粒 pIRES2-EGFP-SYK(L),将 SYK(L) 重组质粒与阳离子脂质体 lipfectamineos<sup>TM</sup> 2000 混合物多点注入喉鳞癌 Hep-2 细胞裸鼠皮下移植瘤体内,探讨其对在体肿瘤生长的影响,治疗期间无1只裸鼠死亡,各组裸鼠治疗前后均未出现消瘦、行动迟缓及体重明显改变等症状,说明通过阳离子脂质体转染 SYK(L) 基因的方法具有特异、高效和毒性不良反应小等特点,适合于喉癌的基因治疗。

本实验结果表明,与注射阴性对照质粒及生理盐水的裸鼠皮下移植瘤比较,注射 SYK(L) 重组质粒的裸鼠皮下移植瘤的 SYK(L) mRNA 和蛋白表达水平明显增高,且肿瘤的生长明显降低。其结果表明 SYK(L) 重组质粒通过基因转染可以提高瘤体内 SYK(L) mRNA 和蛋白的表达,并对人喉癌裸鼠皮下移植瘤体生长产生了显著的抑制作用,提示 SYK(L) 有可能成为抑制喉癌生长的基因新靶点。但 SYK(L) 抑制喉癌生长的机制尚不明确,进一步研究 SYK(L) 在喉癌中低表达的调控机制及抑制肿瘤生长的机制,进一步阐述 SYK(L) 与喉癌的关系,可为喉癌基因治疗的研究提供新的思路与手段。

## 参考文献

- 1 Matsuo H, Yokooji T, Morita H, *et al.* Aspirin augments IgE-mediated histamine release from human peripheral basophils via syk kinase activation[J]. *Allergol Int*, 2013, 62(4): 503-511
- 2 Hoellenriegel J, Coffey GP, Sinha U, *et al.* Selective, novel spleen tyrosine kinase (Syk) inhibitors suppress chronic lymphocytic leukemia B-cell activation and migration[J]. *Leukemia*, 2012, 26(7): 1576-1583
- 3 Kimura Y, Chihara K, Takeuchi K, *et al.* Syk inhibitors[J]. *Nihon Rinsho*, 2013, 71(7): 1248-1252
- 4 Ishizuka F, Shimazawa M, Inoue Y, *et al.* Toll-like receptor 4 mediates retinal ischemia/reperfusion injury through nuclear factor- $\kappa$ B and spleen tyrosine kinase activation[J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2013, 54(8): 5807-5816
- 5 Dong SW, Zhang P, Zhong RR, *et al.* Expression of putative tumor suppressor gene spleen tyrosine kinase in esophageal squamous cell carcinoma[J]. *Clin Lab*, 2013, 59(5-6): 647-653
- 6 Jin Q, Liu C, Yan C, *et al.* 5-aza-CdR induces the demethylation of Syk promoter in nasopharyngeal carcinoma cell[J]. *Gene*, 2011(2): 224-226
- 7 李志海, 蔡志毅, 陶宝鸿, 等. pIRES2-EGFP-SyK(L)载体构建及稳定转染喉癌 Hep-2 细胞株的建立[J]. *中国卫生检验杂志*, 2013, 23(13): 2718-2721
- 8 Lee JJ, Ko E, Cho J, *et al.* Methylation and immunoexpression of p16 (INK4a) tumor suppressor gene in primary breast cancer tissue and their quantitative p16 (INK4a) hypermethylation in plasma by real-time PCR[J]. *Korean J Pathol*, 2012, 46(6): 554-561
- 9 文连姬, 高丽芳, 汲坤, 等. 沉默 Syrvivin 抑制喉癌细胞 Hep-2 的实验研究[J]. *中华耳鼻咽喉头颈外科杂志*, 2010, 45(8): 675-679
- 10 王建亭, 龚树生, 刘英鹏. 蛋白激酶 CK2  $\alpha$  特异性 siRNA 对人喉癌裸鼠移植瘤的抑制作用[J]. *临床耳鼻咽喉头颈外科杂志*, 2009, 23(6): 267-270
- 11 康猛, 江玲燕, 王鸿. 基因和表观及联合治疗对喉癌荷瘤鼠肿瘤的抑制作用研究[J]. *中华耳鼻咽喉头颈外科杂志*, 2012, 47(2): 753-758
- 12 余文发, 赵玉林, 王慧敏, 等. 阻断氯通道对人喉癌裸鼠移植瘤 ERK1/2 和 ATK1 的影响[J]. *中国耳鼻咽喉头颈外科*, 2013, 20(1): 17-30
- 13 Nijjar JS, Tindell A, McInnes IB, *et al.* Inhibition of spleen tyrosine kinase in the treatment of rheumatoid arthritis[J]. *Rheumatology*, 2013, 52(9): 1556-1562 (收稿日期: 2014-11-15)  
(修回日期: 2014-12-01)

## 维生素 A 缺乏对初生鼠 FUT8 表达与心脏发育关系的影响

邓念慧 赵钱雷 吴丽慧

**摘要** 目的 本研究通过研究维生素 A 缺乏 (vitamin A deficiency, VAD) 对初生鼠 FUT8 ( $\alpha$ -1,6fucosyltransferase,  $\alpha$ -1,6FUCT) 的表达, 探讨 VAD 对初生鼠心脏发育的关系及其在糖分子水平上可能的机制。方法 通过美国营养学会的改良配方建立 VAD 大鼠模型。VAD 饲料喂养母鼠及所产仔鼠为实验组 (VAD 组), 正常饲料喂养母鼠及所产仔鼠为对照组, 在初生鼠中进行比较两组 FUT8 表达与心脏发育。通过高效液相色谱检测维生素 A 含量并比较两组产仔率, 利用 HE 染色观察两组心脏发育, 采用反转录聚合酶链反应和小扁豆凝集素点印迹的方法检测两组初生鼠 FUT8 的表达。结果 对照组母鼠产仔率高于 VAD 组 ( $P < 0.001$ ); RT-PCR 及 LCA 凝集素点印迹示 VAD 组子鼠 FUT8 的表达量在转录水平和蛋白水平均高于对照组; HE 染色发现 VAD 组子鼠心血管内皮细胞形态变得不规则、分散, 而且 VAD 组心肌细胞胞质变得疏松。结论 维生素 A 缺乏组会引起 FUT8 表达的升高, 影响心肌细胞形态的改变, 这说明 VAD 与心脏发育有关, 维生素 A 可能促进心脏发育。

**关键词** 维生素 A 缺乏 FUT8 心脏发育

**中图分类号** R591

**文献标识码** A

**DOI** 10.11969/j.issn.1673-548X.2015.06.020

**Effects of Vitamin A Deficiency on Neonatal Rat FUT8 Expression and the Development of the Heart.** Deng Nianhui, Zhao Qianlei, Wu Lihui. *Department of Children's Health Care, Yuying Children's Hospital of Wenzhou Medical University, Zhejiang 325003, China*

**Abstract Objective** In this article, we studied the expression of FUT8 in neonatal rat to investigate the influence of Vitamin A deficiency (VAD) in the development of the neonatal rat's cardiovascular system and the potential mechanism. **Methods** We established

基金项目: 浙江省医药卫生优秀青年科技人才专项基金资助项目 (2005QN016); 温州市科技局重大项目 (H20060023)

作者单位: 325003 温州医科大学第二临床学院 (邓念慧、赵钱雷、吴丽慧); 310053 杭州, 浙江医学高等专科学校 (吴丽慧)

通讯作者: 吴丽慧, 电子信箱: lhwu@wzmc.net