

**A-3-025 E-选择素调控白细胞跨内皮迁移过程中内皮细胞骨架重组**

黄丹丹<sup>1,2</sup>, 龚一心<sup>1,2</sup>, 章燕<sup>1,2</sup>, 龙勉<sup>1,2\*</sup> ( <sup>1</sup>中国科学院力学研究所, 北京, 100190; <sup>2</sup>中国科学院力学研究所生物力学与生物工程中心, 北京, 100190 )

在炎症反应发生时, 白细胞粘附并穿过血管上的内皮细胞, 在炎症部位发生募集。白细胞的粘附触发了内皮细胞上粘附分子P-选择素、E-选择素、细胞间粘附分子-1 (ICAM-1) 与微丝骨架的连接, 在上述信号分子的调控下, 导致微丝细胞骨架的快速、动态重组, 并通过肌球蛋白轻链激酶调控白细胞的跨内皮迁移, 但有关E-选择素调控微丝骨架、进而调控内皮细胞重组的现象、功能和信号转导机制目前鲜有报道。

本文尝试从细胞骨架动力学角度为E-选择素调控白细胞跨内皮迁移提供理论基础。采用Lifeact-GFP 转染脐静脉内皮细胞 (Human Umbilical Vein Endothelial Cells, HUVEC), 让内皮细胞纤维状肌动蛋白 (F-actin) 可视化。用脂多糖 (lipopolysaccharide, LPS) 分别对HUVEC 刺激4 h 和12 h, 以获得不同E-选择素表达。用磁珠分别包被E-选择素配体分子CD44 和PSGL-1 与内皮细胞上E-选择素交联, 并选取HUVEC 细胞胞体、裙边、胞间连接处等不同区域进行漂白后恢复 (fluorescence recovery after photobleaching, FRAP), 量化HUVEC 细胞上受配体交联后不同区域F-actin 的重组的动力学过程。初步结果显示, 对于不同区域, 在对照组和CD44 交联组, 相比胞间连接和胞体处, 胞体上actin 的恢复速度最快, PSGL-1 交联组仅在LPS 刺激12 h 后, 胞体动力学性质更好; 对同一区域, LPS 刺激4 h 后的细胞在胞体和裙边上actin 的恢复速度较快, 但LPS刺激时程对胞间连接处actin 的漂白后恢复影响不大。

**关键词:** E-选择素; 细胞骨架重组; 跨膜迁移; 动力学

**A-3-026 ANXA11/miR-4521/FAM129A调控K562恶性表型的新途径**

郑善亮<sup>1</sup>, 刘淑清<sup>2</sup>, 戚厚宝<sup>1</sup>, 孙旭娟<sup>1</sup>, 郭春梅<sup>1</sup>, 闫乃萌<sup>2</sup>, 张秋玲<sup>2</sup>, 王承乙<sup>1</sup>, 孙明忠<sup>1</sup> ( <sup>1</sup>大连医科大学生物技术系; <sup>2</sup>大连医科大学大学生化教研室, 大连, 116044 )

**目的:** 研究膜联蛋白ANXA11, miR-4521和FAM129A表达水平与慢性粒细胞白血病 (CML) 相关性, 探讨三者间形成调控K562细胞恶性行为的新途径。

**方法:** ANXA11干扰质粒稳转K562, 获得ANXA11下调单克隆细胞株; CCK-8法和克隆形成实验检测ANXA11下调对K562增殖影响; Transwell法检测ANXA11下调对K562迁移及侵袭影响; 检测ANXA11, miR-4521, FAM129A在人CML样本、正常供体及非恶性样本中的表达; 将miR-4521 mimics瞬时转染K562, 检测miR-4521上调对K562增殖、迁移、侵袭能力影响; 分析miR-4521与FAM129A间靶向关系; 构建WT-FAM129A 3' UTR-Psi-CHECK-2.0和MUT-FAM129A 3' UTR-Psi-CHECK-2.0双荧光素酶报告基因表达载体; 将WT-FAM129A 3' UTR -Psi-CHECK-2.0和MUT-FAM129A 3' UTR-Psi-CHECK-2.0双荧光素酶报告基因表达载体分别与miR-4521 mimics 共转染至293T细胞中, 验证靶向关系; WB和qRT-PCR 法检测miR-4521上调对FAM129A表达的影响;

**结果:** 获得ANXA11的K562单克隆细胞株; ANXA11敲低显著降低K562增殖, 迁移, 侵袭能力; 与K562-shControl相比, miR-4521表达上调2.6倍, FAM129A下调了4.7倍; 与正常供体比, ANXA11在人CML样本中高表达(100%), miR-4521是低表达 (68%), FAM129A是高表达 (73%), 且ANXA11与FAM129A表达水平正相关 ( $p < 0.05$ ), miR-4521与FAM129A间表达负相关 ( $p < 0.05$ ); miR-4521水平升高抑制K562增殖, 迁移和侵袭; miR-4521与FAM129A间靶向负调控。

**结论:** ANXA11下调能够抑制K562体外增殖, 迁移, 侵袭能力; ANXA11和FAM129A在CML样本中高表达, miR-4521低表达, miR-4521和FAM129A显著负相关, ANXA11和FAM129A显著正相关。敲低ANXA11导致miR-4521表达升高, FAM129A表达降低, 抑制K562增殖, 迁移和侵袭。ANXA11通过影响miR-4521表达调控FAM129A, 进而影响K562恶性表型及CML的临床进展。

**关键词:** CML; 膜联蛋白ANXA11; miR-4521; FAM129A