



读书报告

张文雅

2019-01-06



Tumour-originated exosomal miR-155 triggers cancer-associated cachexia to promote tumour progression

Qi Wu^{1†}, Si Sun^{2†}, Zhiyu Li¹, Qian Yang¹, Bei Li¹, Shan Zhu¹, Lijun Wang¹, Juan Wu³, Jingping Yuan³, Changhua Yang⁴, Juanjuan Li^{1*} and Shengrong Sun^{1*}

肿瘤来源的外泌体miR-155触发癌症相关恶病质以促进肿瘤的进展



目录

01 研究背景

02 材料方法

03 研究结果

04 心得体会



01

研究背景





恶病质（cachexia）亦称恶液质。表现为极度消瘦，皮包骨头，形如骷髅，贫血，无力，完全卧床，生活不能自理，极度痛苦，全身衰竭等综合征。多由癌症和其他严重慢性病引起。可看作是由于全身许多脏器发生障碍所致的一种中毒状态。此症的发生多指机体处于严重的机能失调状态。致病因素通过各种途径使机体代谢发生改变，导致体内氧化过程减弱，氧化不全产物堆积，营养物质不能被充分利用。见于多种疾病，其中以肿瘤伴发的恶病质最为常见，称为肿瘤恶病质。



02

材料方法





1.细胞培养（4T-1 cell 小鼠乳腺癌细胞、C2C12 cell 成肌细胞、HEK 293 T cell 人胚肾细胞、3T3-L1 cell 前脂肪细胞）

2.细胞迁移

3.外泌体分离与鉴定（试剂盒；透射电镜、NTA、WB）

4.免疫组化

5.细胞转染

6.荧光素酶分析（GV 272载体，HEK 293 T cells）

7.Seahorse analyses

细胞接种于XF 24细胞培养板中，密度为 2×10^4 个/孔，在CA-CM或AD-CM中培养24h。去除培养基，清洗，在37°C条件下，在XF改良DMEM检测培养基中加入1mM谷氨酰胺，葡萄糖2.5mM，丙酮酸钠1mM，肉碱0.5mM，棕榈酸酯1mM，BSA 0.2mM，37°C下孵育1h。



糖酵解试验：在基础状态(无葡萄糖)或注射10 mm葡萄糖、5 μ M寡霉素和50 mM 2DG后测定细胞外酸化率(ECAR)。

脂肪酸氧化实验 (FAO)：在基础状态下(1 mM 棕榈酸酯与0.2 mM BSA络合)或注射5 μ M寡霉素、1 μ M FCCP, 5 μ M rotenone (鱼藤酮) 和5 μ M antimycin A (抗霉素A) 后测定氧消耗率 (OCR)。

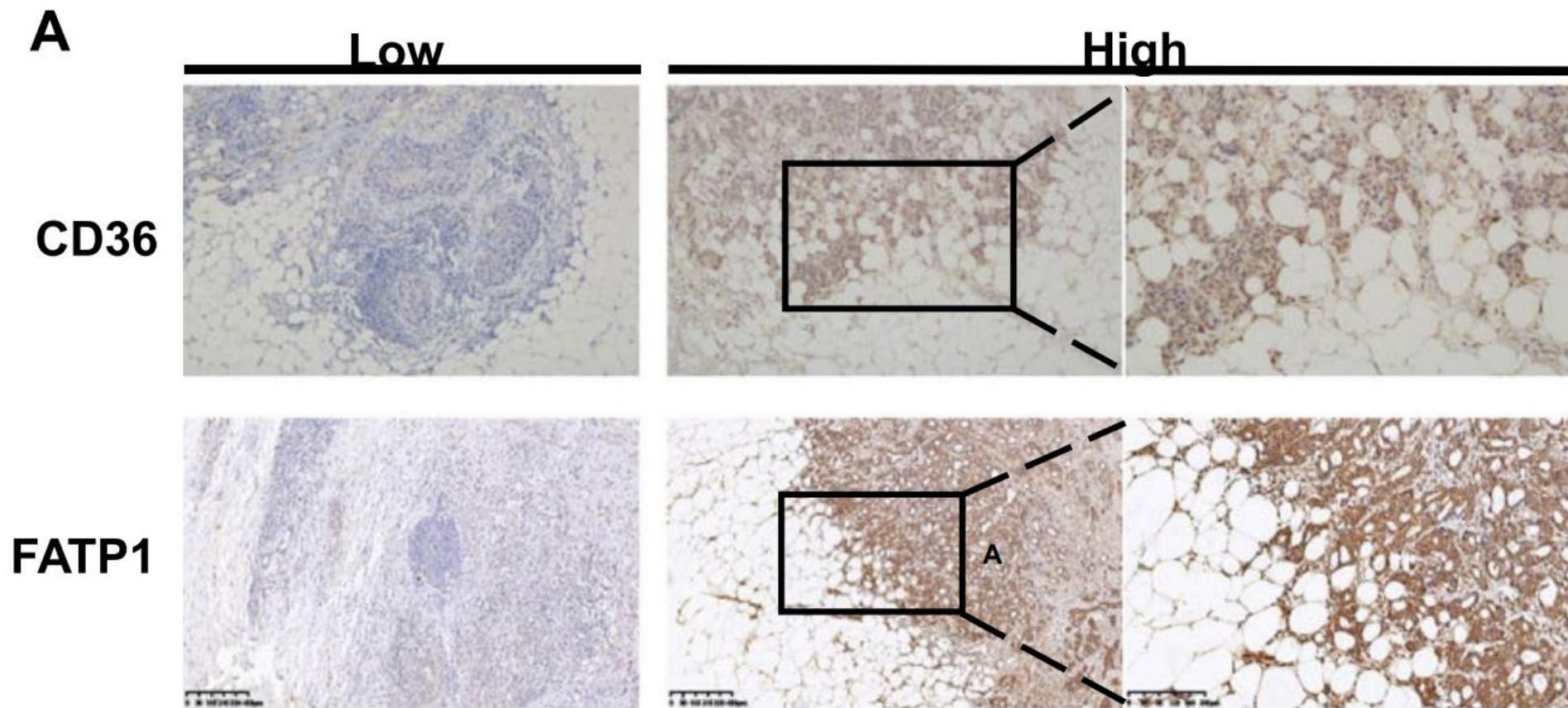


03

研究结果



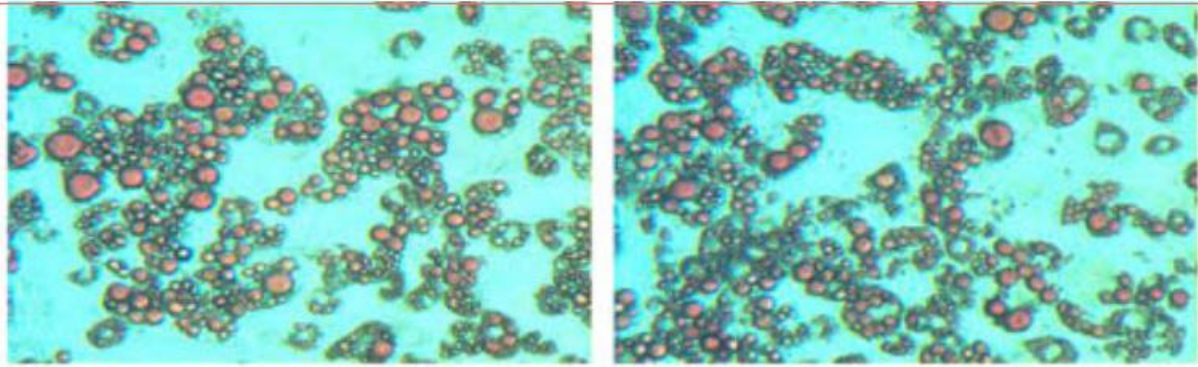
1. Tumour-derived exosomes rewrite metabolic characteristics in adipocytes and skeletal muscle cells



FATP-1 (fatty acid transport protein-1) 脂肪酸转运蛋白

CD36 脂肪酸转运受体

C



Exosomes
CytoD(2μg/ml)

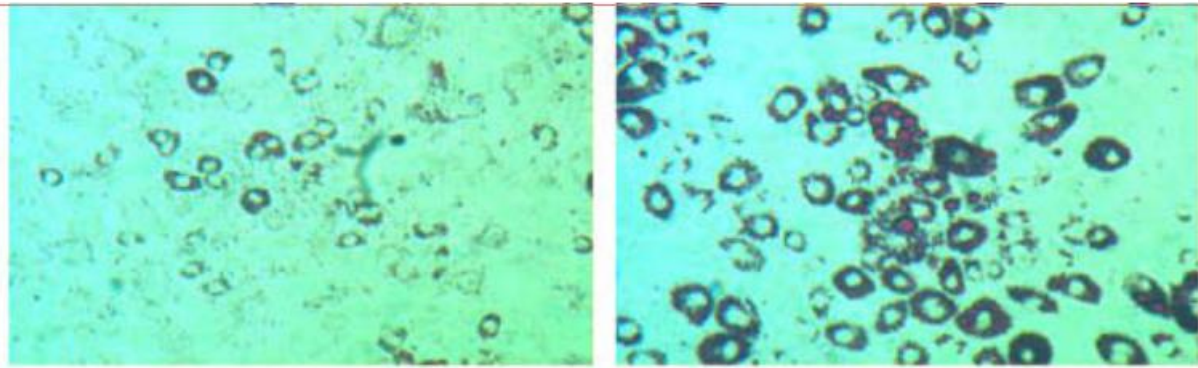
-

-

-

+

Cyto D (cytochalasin D)
细胞松弛素D, 一种细胞内吞
抑制剂。



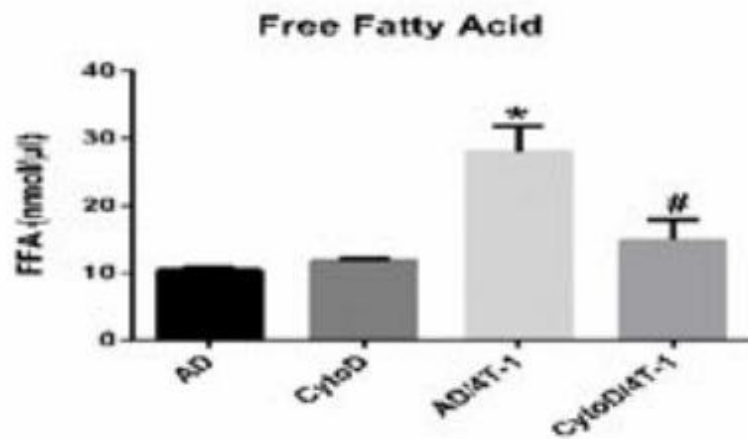
+

-

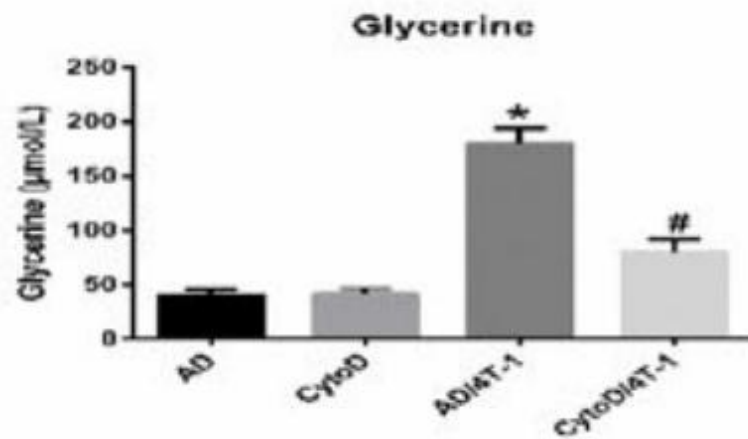
+

+

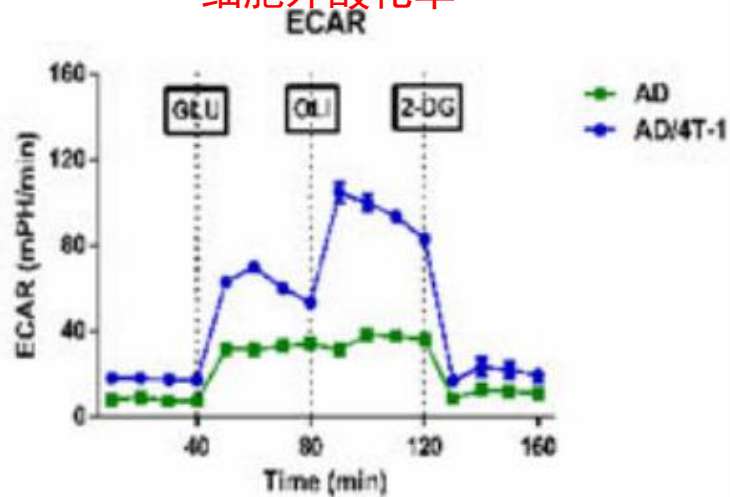
游离脂肪酸



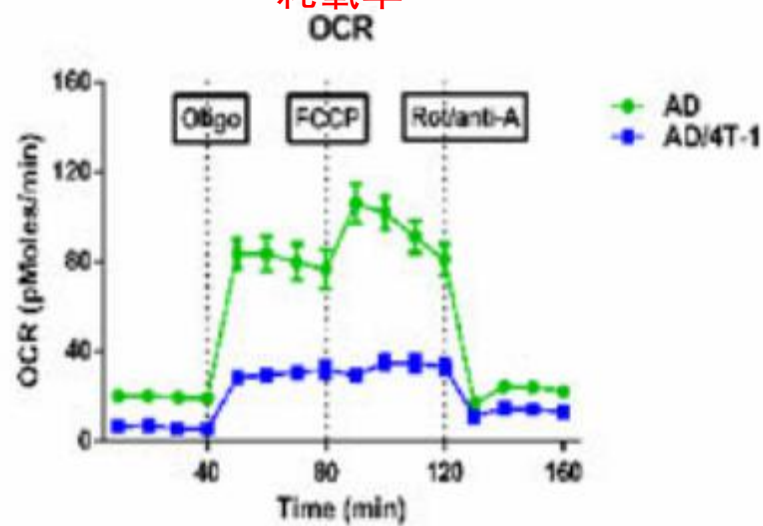
甘油



细胞外酸化率



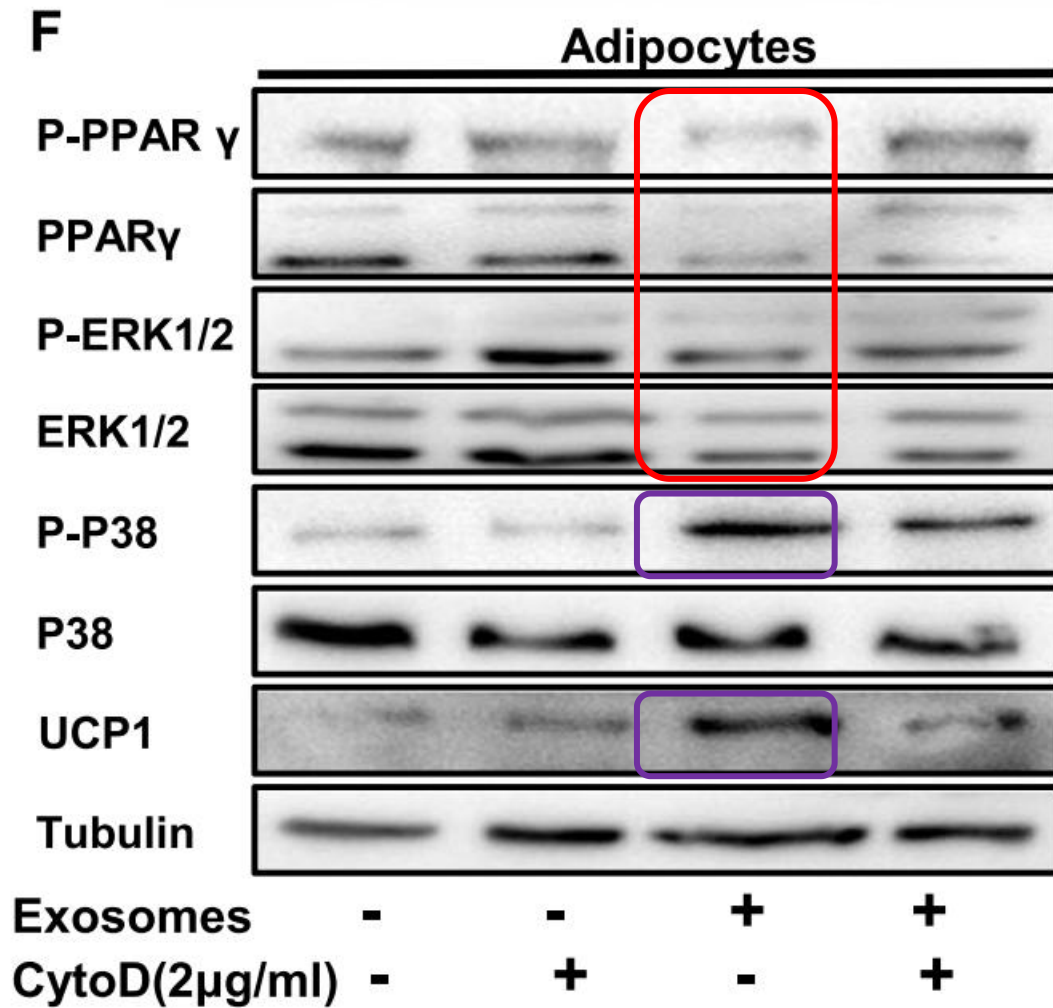
耗氧率



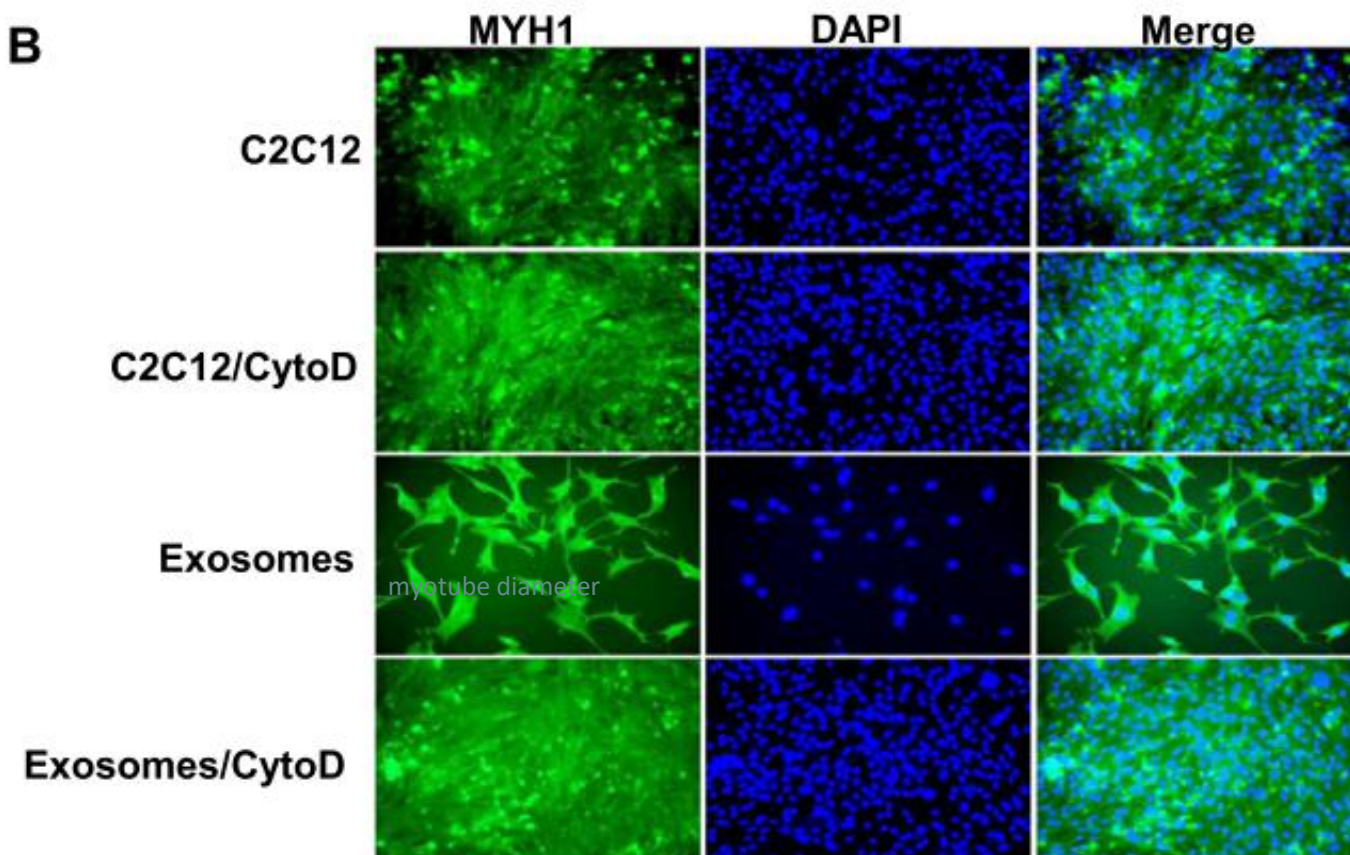
在葡萄糖存在下，共培养的脂肪细胞的无氧糖酵解已经达到最大值。

- ERK1/2 细胞外调节蛋白激酶
- P38 MAPK 丝裂原活化蛋白激酶, 与凋亡的启动、细胞周期的静止等密切相关, 并且具有细胞特异性
- UCP1 解偶联蛋白1, 仅在棕色脂肪的线粒体内表达, 使葡萄糖和脂肪酸分解产生的能量不能转化为 ATP, 而只能转化为热能

肿瘤细胞外泌体诱导脂肪细胞的褐/棕色分化, 促进脂肪细胞分解代谢。

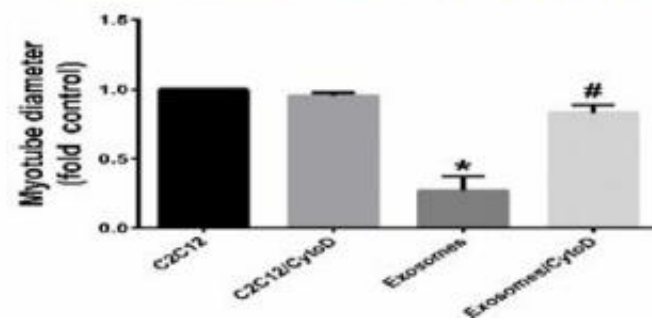


B



MYH1 (myosin heavy chain 1)
肌球蛋白重链1

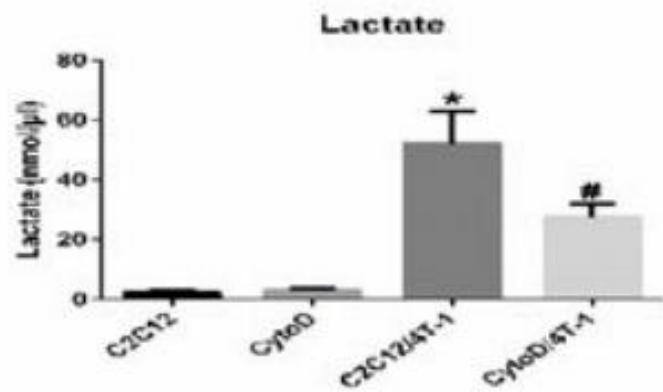
myotube diameter 肌管直径



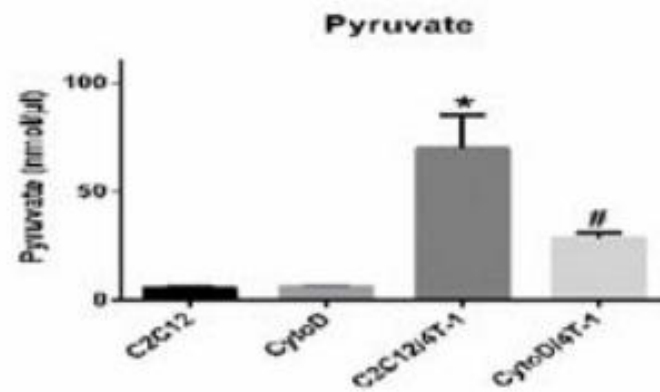
肌球蛋白重链1(MYH 1)丢失、肌管萎缩



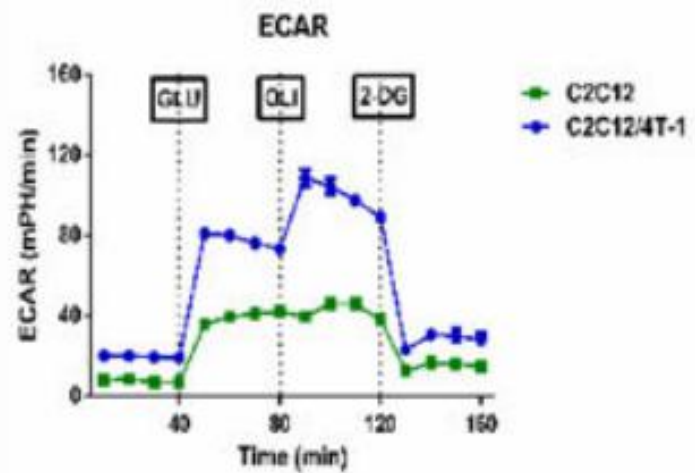
乳酸



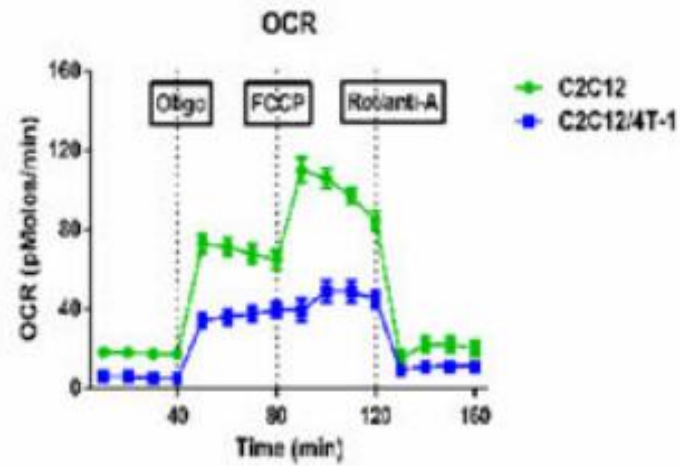
丙酮酸



细胞外酸化率

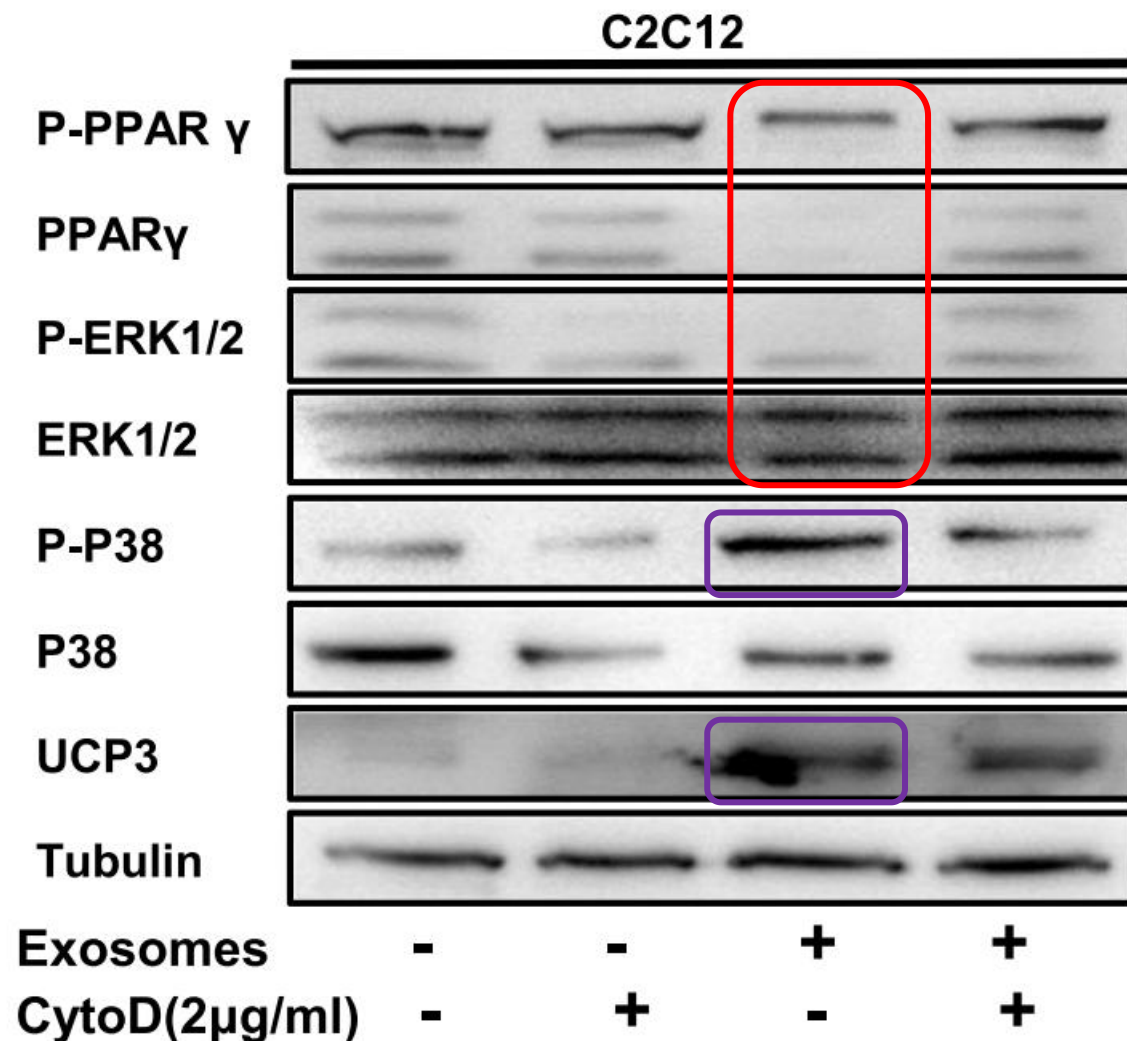


耗氧率



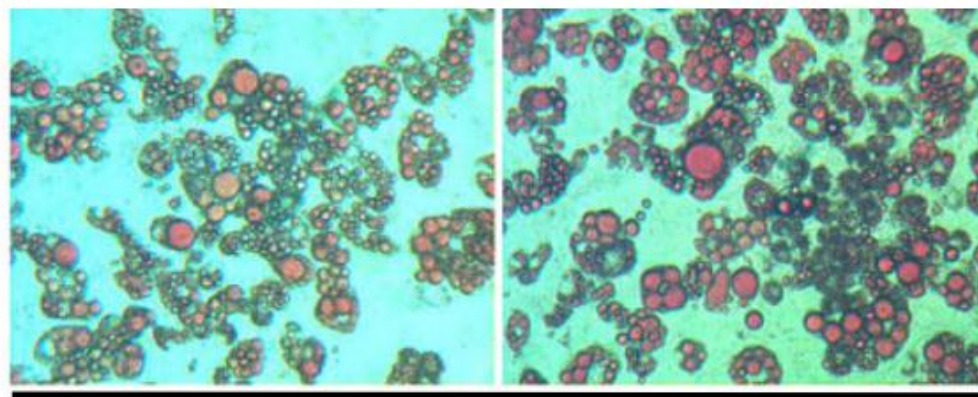
- ERK1/2 细胞外调节蛋白激酶
- P38 丝裂原活化蛋白激酶
- UCP3 解偶联蛋白3，在棕色脂肪表达，减少脂肪酸过度代谢产生的活性氧

肿瘤细胞外泌体引起肌肉细胞的异常转化，促进肌肉细胞的分解代谢。



2.Activated PPAR γ ameliorates tumour exosomes associated cachectic wasting

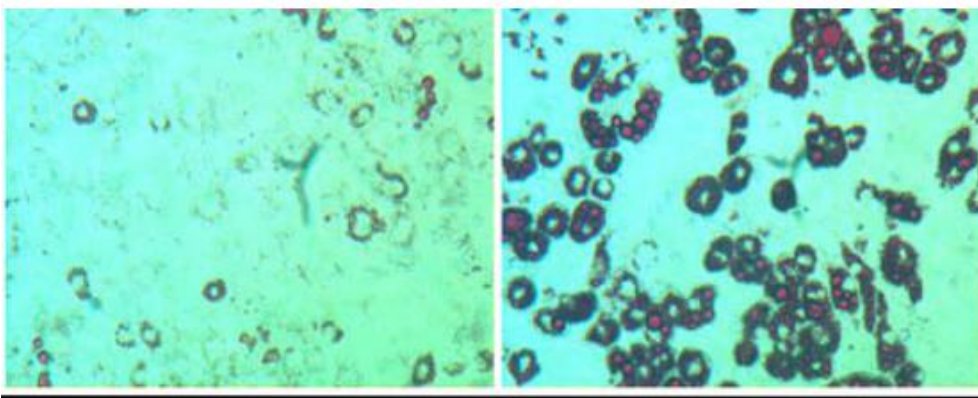
A



**Exosomes
PRO(10 μ M)**

-
-

-
+

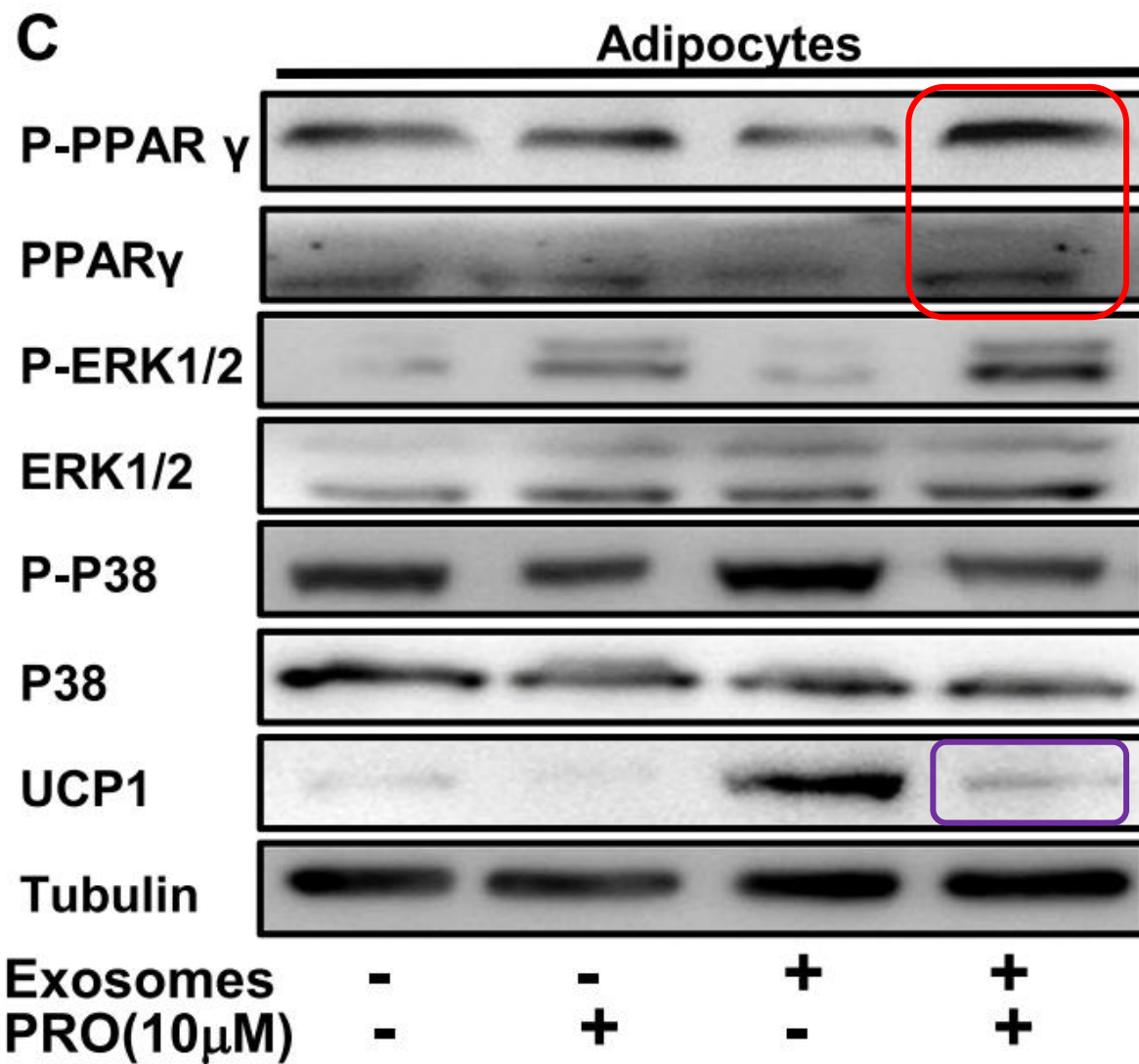


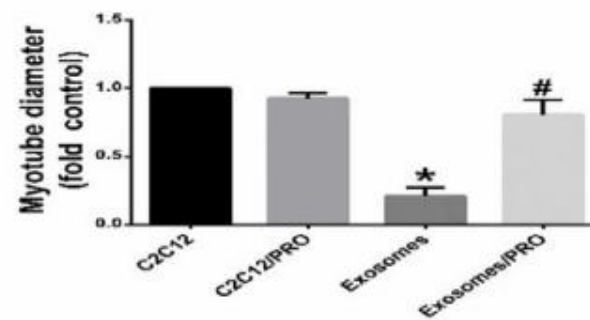
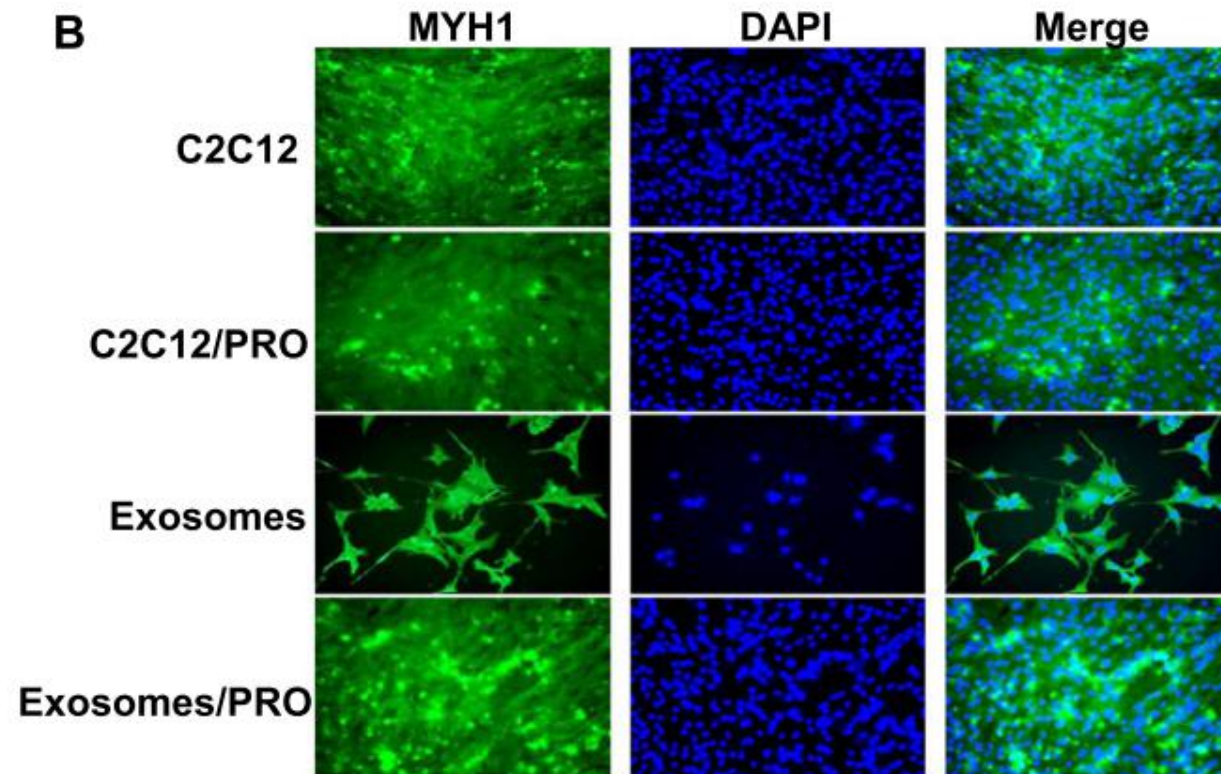
+
-

+
-

Propranolol 被鉴定为
PPAR γ 激活剂，部分逆转癌细
胞诱导的脂质激活。

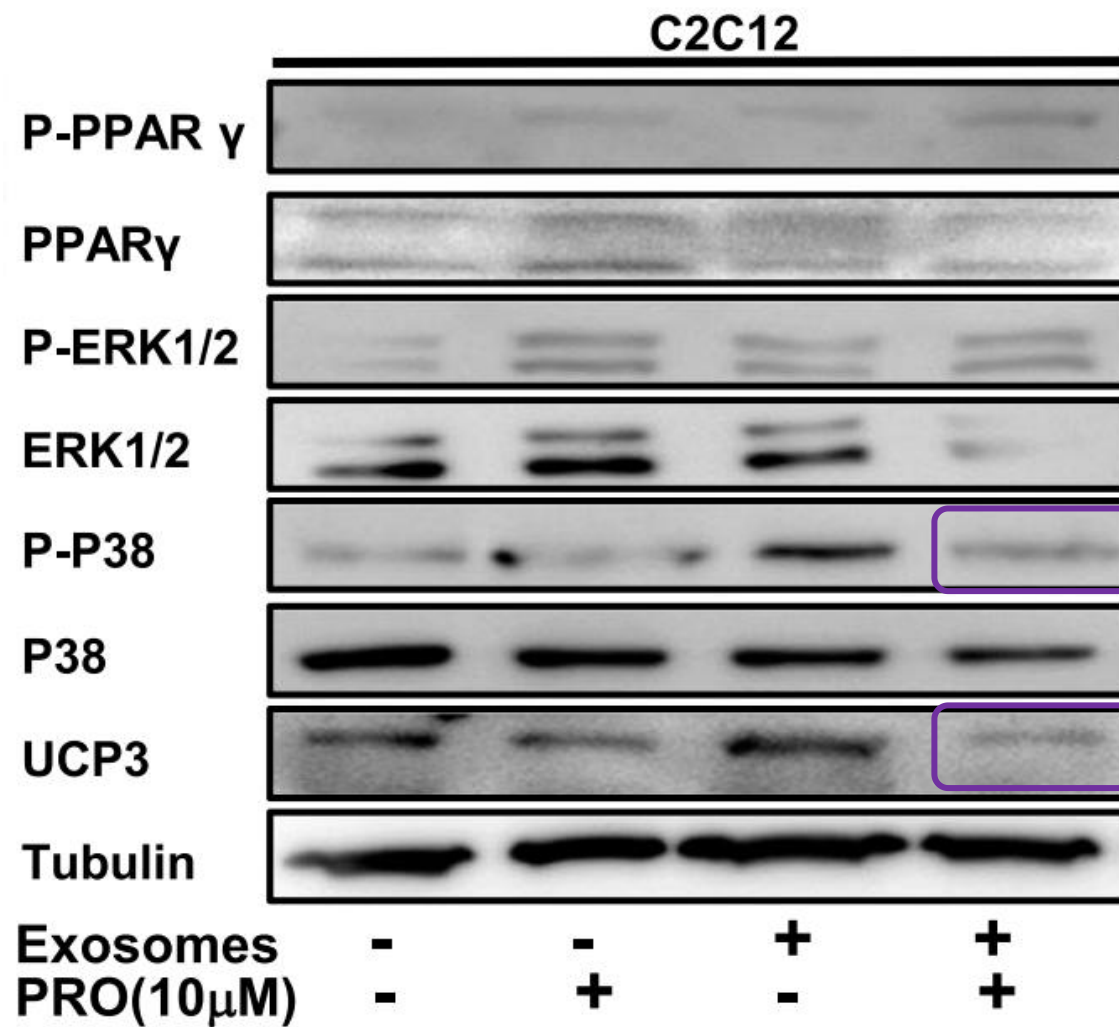
- ERK1/2 细胞外调节蛋白激酶
- P38 丝裂原活化蛋白激酶
- UCP1 解偶联蛋白1，仅在棕色脂肪的线粒体内表达





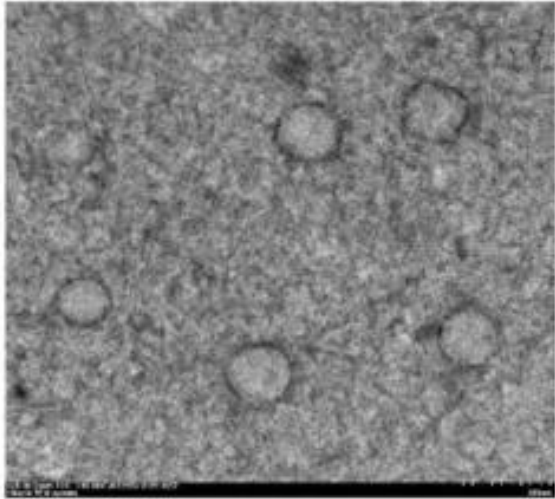
- ERK1/2 细胞外调节蛋白激酶
- P38 丝裂原活化蛋白激酶
- UCP3 解偶联蛋白3，在棕色脂肪表达，减少脂肪酸过度代谢产生的活性氧

Propranolol可抑制肿瘤外泌体诱导的脂肪细胞和肌肉细胞内分解代谢物的活化。

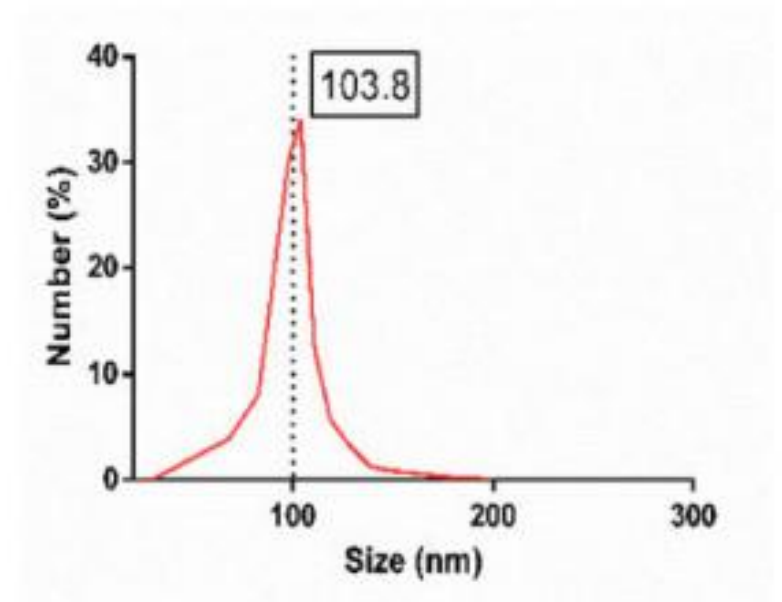
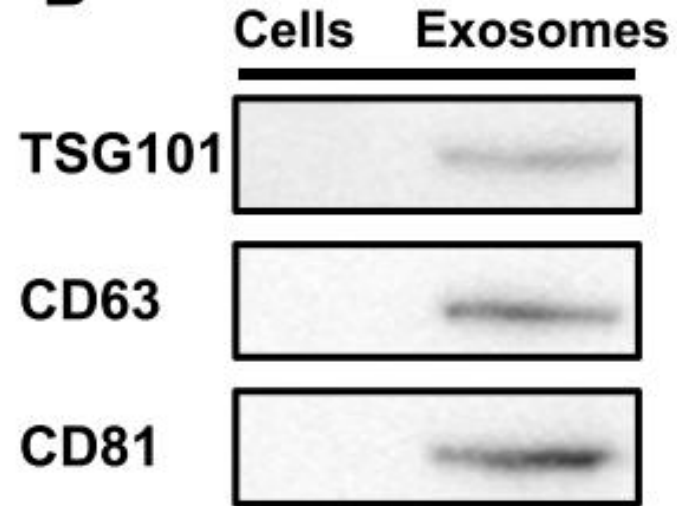


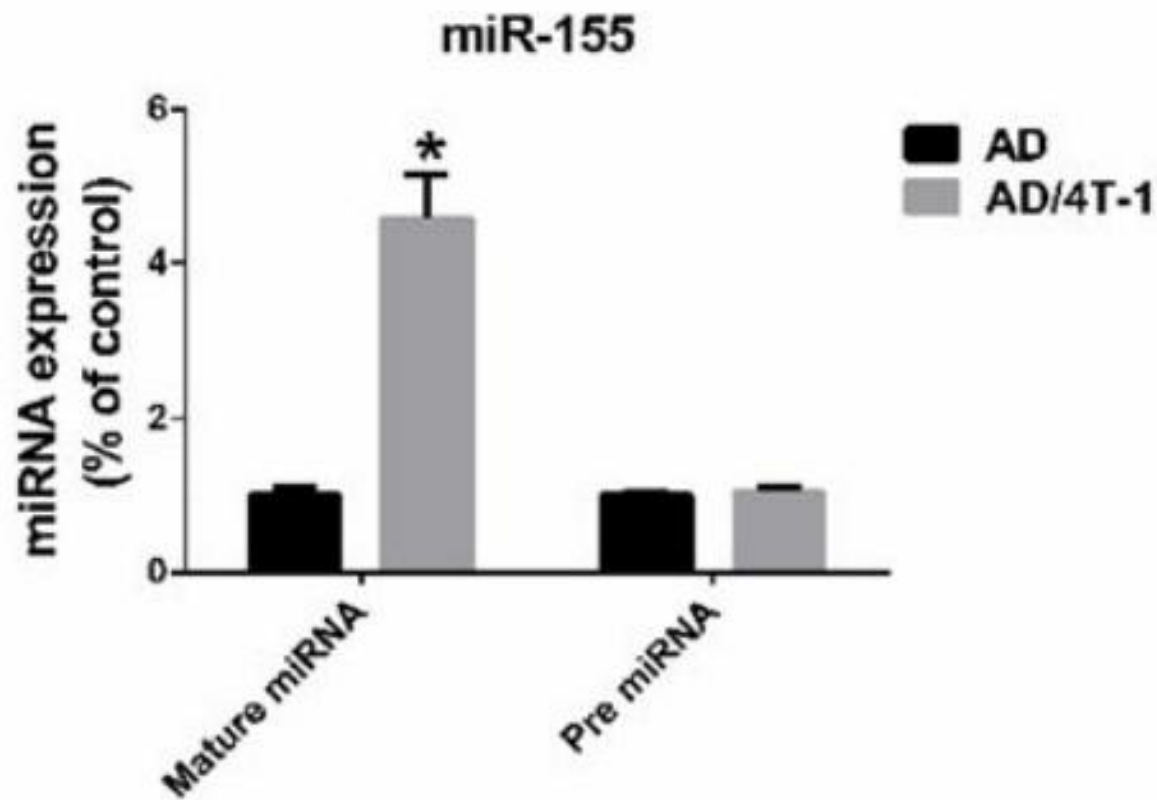
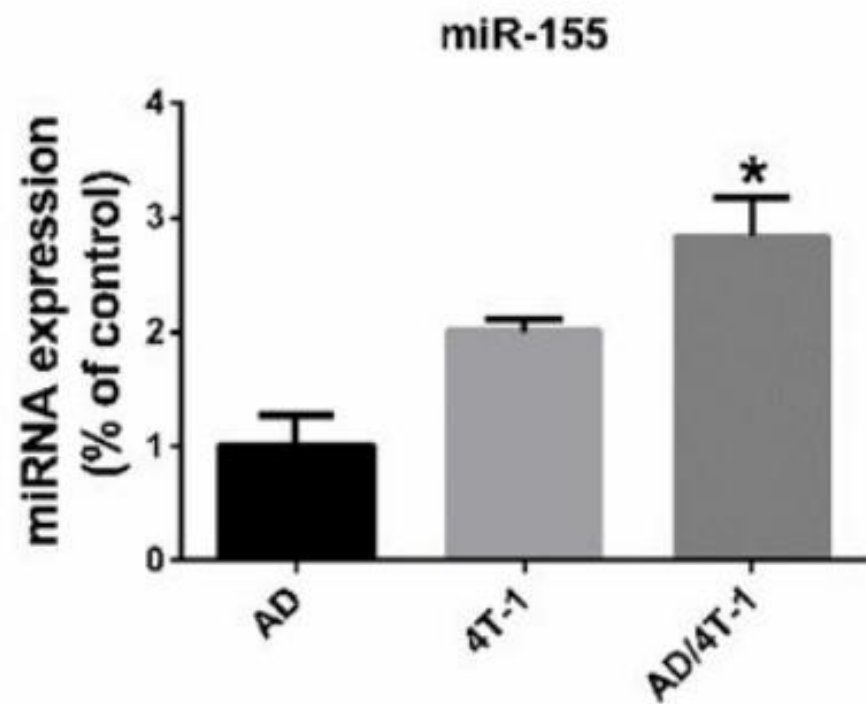
3.Exosomal miR-155 from breast cancer cells mediates the adipocyte metabolism

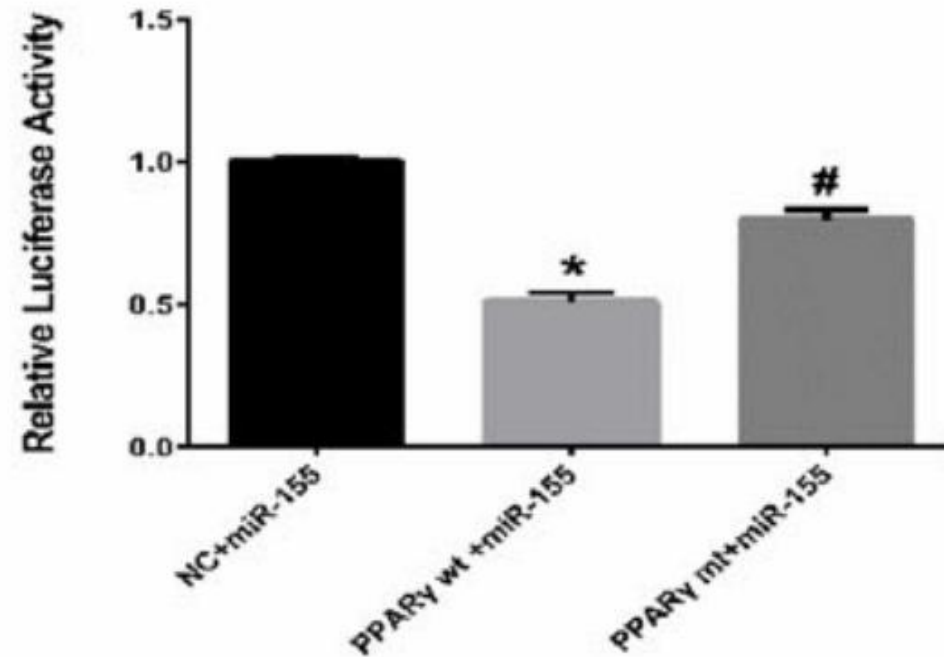
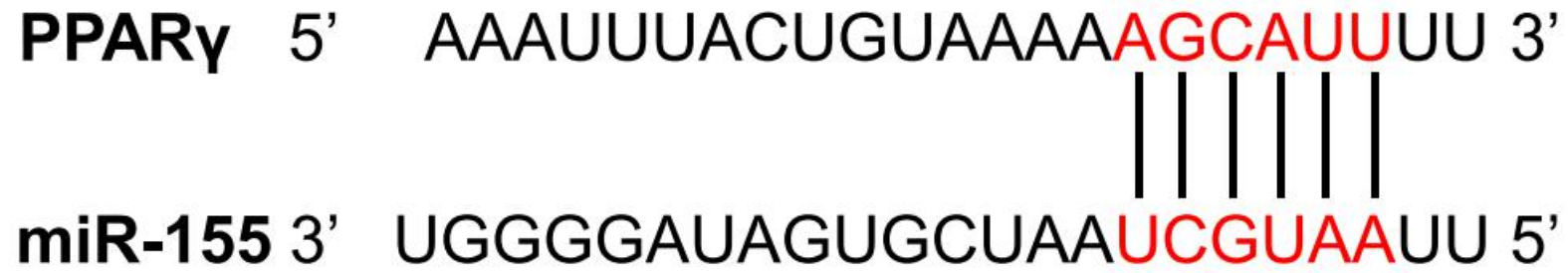
A



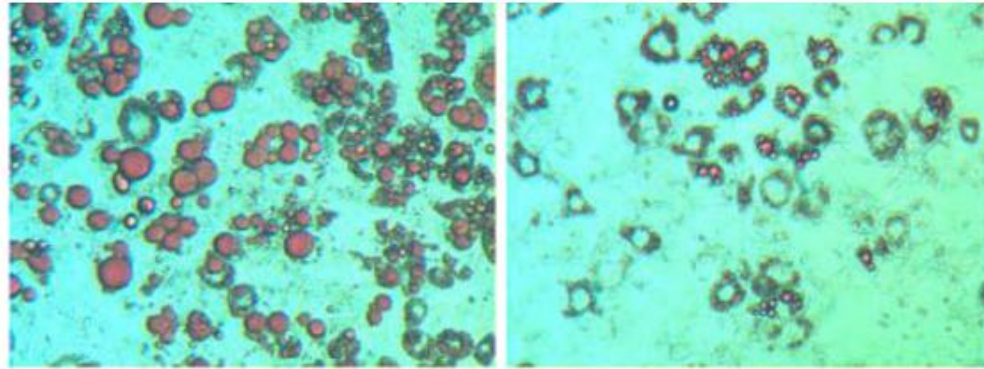
B







G



Exosomes

miR-155 mimic

miR-155 inhibition

-

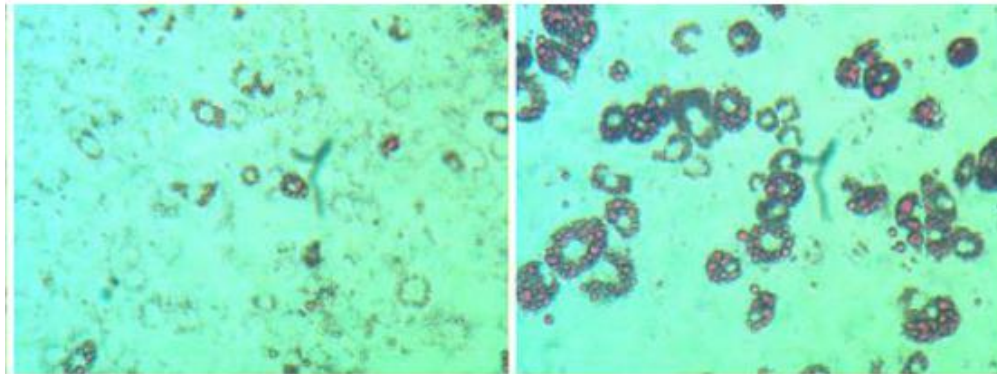
-

-

-

+

-



+

-

-

+

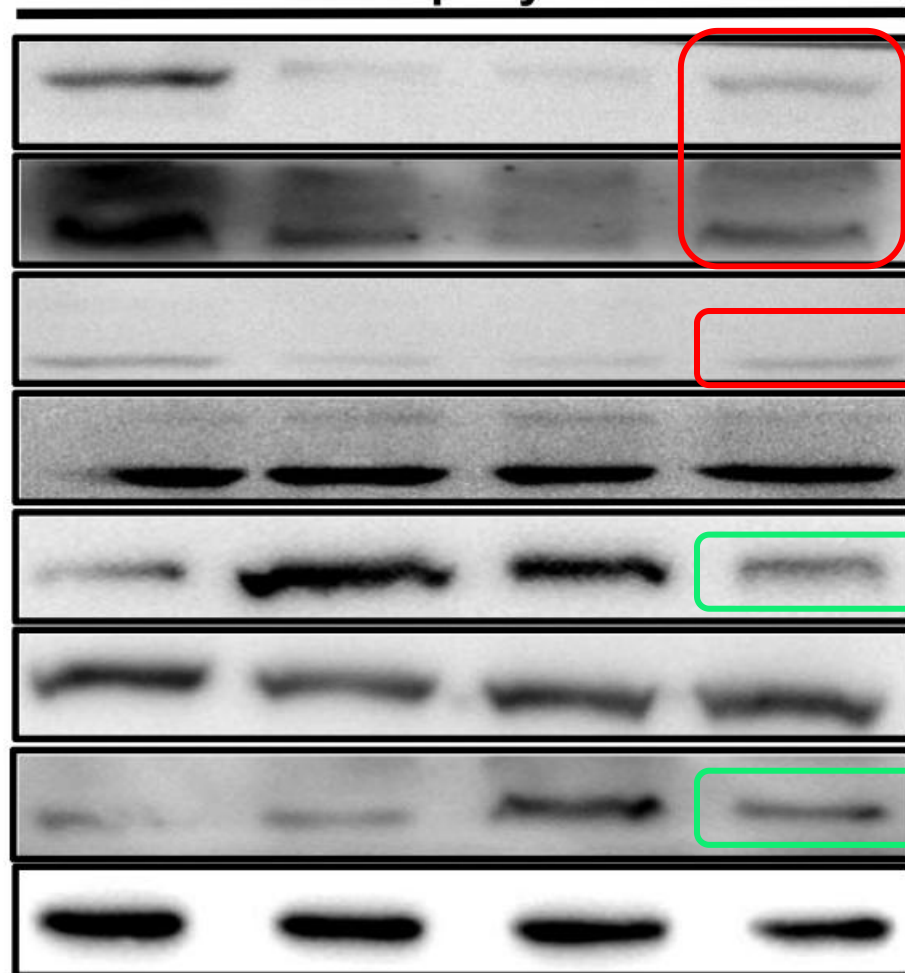
-

+

H**Adipocytes****P-PPAR γ** **PPAR γ** **P-ERK1/2****ERK1/2****P-P38****P38****UCP1****Tubulin**

Exosomes	-	-	+	+
miR-155 mimic	-	+	-	-
miR-155 inhibition	-	-	-	+

肿瘤外泌体的miR-155通过下调PPAR γ 来介导脂肪细胞的能量代谢。





04

心得体会





知识储备少



实验技术的灵活运用



论文的撰写能力





THANKS YOU!!!

