

利用果蝇模型探讨 SCA3/MJD 与 PD 发病机制的相关性

崔莹¹, 李清华², 韦荔莉², 胡艳梅¹, 林小慧², 陈梅玲²

摘要 目的 探讨脊髓小脑性共济失调 3 型/马查多—约瑟夫疾病(SCA3/MJD)与帕金森疾病(PD)在发病机制中的相关性。方法 利用经典的 GAL4/UAS 系统,使用 MHC-GAL4 启动子,使毒性蛋白质片段(SCA3tr-Q78)特异性地在果蝇飞行肌中表达,构建 MHC-GAL4/UAS 系统的 SCA3/MJD 果蝇疾病模型。同样使用 MHC-GAL4 启动子,构建可导致常染色体隐性遗传性 PD 的致病基因 PINK1 无效突变的果蝇,得到经典的 PD 果蝇模型——PINK1⁸⁹。结果 两种疾病模型果蝇的翅膀异常率均增高,肌肉内线粒体均出现退化,ATP 值均明显降低,线粒体氧化呼吸链 Complex I 的亚基 ND42 的 mRNA 及 NDUFS3 蛋白的表达量均下降。结论 同样作为神经退行性变的 SCA3/MJD 及 PD 在果蝇疾病模型中体现出了类似的果蝇表型异常及线粒体功能障碍,类似的发病机制可能为“异病同治”找到理论基础。

关键词 脊髓小脑性共济失调 3 型/马查多—约瑟夫疾病;帕金森疾病;线粒体;果蝇

中图分类号 Q 5;R 741

文献标志码 A **文章编号** 1000-1492(2016)03-0341-05

脊髓小脑性共济失调 3 型/马查多—约瑟夫疾病(spinocerebellar ataxia type 3/Machado Joseph disease, SCA3/MJD)为常染色体显性遗传迟发性神经退行性疾病,是由于 SCA3 基因编码区存在大于 47 个由 CAG 编码的多聚谷氨酰胺(polyglutamine, polyQ)而引起的^[1]。研究^[2]证明 SCA 患者可无明显的共济失调症状,而以帕金森综合征为主要临床表现,且给予多巴胺制剂后治疗效果良好。同样,有研究^[3-4]表明维生素 K₂ 可以挽救帕金森疾病(Parkinson's disease, PD)模型的表型,且对 SCA3 转基因果蝇模型的神经毒性具有抑制作用。PINK1

(PTEN-induced putative kinase 1, PINK1)是一种 PD 相关基因,其编码线粒体相关的丝/苏氨酸激酶已证实对线粒体自噬、形态及质量控制均有调节作用^[5]。过表达 PINK1 可以挽救 SCA3 转基因果蝇模型的线粒体功能^[6]。该研究探讨在肌球蛋白重链-半乳糖调节上游启动子元件/上游激活序列(myosin heavy chain-galactose-regulated upstream promoter element 4/upstream activation sequence, MHC-GAL4/UAS)系统中 SCA3 转基因果蝇模型与 PD 转基因果蝇模型在表型上的对比,并检测两者线粒体功能缺陷及分子发病机制的相关性。

1 材料与方法

1.1 主要材料 果蝇品系: W1118、UAS-SCA3tr-Q78、UAS-SCA3tr-Q27、MHC-GAL4 购自美国 Bloomington 果蝇中心。UAS-PINK1⁸⁹ 由中南大学医学遗传学国家重点实验室惠赠。戊二醛(天津市科密欧化学试剂有限公司), HClO₄(天津市科密欧化学试剂有限公司), KOH(天津市科密欧化学试剂有限公司)。显微镜 H-7650、高效液相色谱仪(德国 Agilent 公司)。

1.2 方法

1.2.1 果蝇杂交

1.2.1.1 构建 UAS-SCA3tr-Q27/+; MHC-GAL4/+ 的果蝇 将 UAS-SCA3tr-Q27 的雄果蝇与 MHC-GAL4 的处女蝇杂交,收取 F1 代雄果蝇,其基因型为 UAS-SCA3tr-Q27/+; MHC-GAL4/+ 的目的果蝇,即为与 SCA3/MJD 转基因果蝇相对应的正常对照果蝇。

1.2.1.2 构建 UAS-SCA3tr-Q78/+; MHC-GAL4/+ 的果蝇 将 UAS-SCA3tr-Q78 的雄果蝇与 MHC-GAL4 的处女蝇杂交,收取 F1 代雄果蝇,其基因型为 UAS-SCA3tr-Q78/+; MHC-GAL4/+ 的目的果蝇,即为 SCA3/MJD 疾病组果蝇。

1.2.1.3 构建 W1118/+; MHC-GAL4/+ 的果蝇 将 W1118 的雄果蝇与 MHC-GAL4 的处女蝇杂交,收取 F1 代雄果蝇,即基因型为 W1118/+; MHC-GAL4/+ 的目的果蝇,即为与 PINK1⁸⁹ PD 转基因果

2015-12-29 接收

基金项目:国家自然科学基金(编号:81360488,81160163);广西自然科学基金项目(编号:2012GXNSFAA053104、2013GXNSFAA019110);广西壮族自治区研究生教育创新计划资助项目(编号:YCSZ2014208)

作者单位:¹桂林医学院临床学院,桂林 541004

²桂林医学院附属医院神经内科,桂林 541001

作者简介:崔莹,女,硕士研究生;

陈梅玲,女,副教授、硕士生导师、责任作者, E-mail: cmmling@sina.com.cn

蝇相对应的正常对照组果蝇。

1.2.1.4 构建 PINK1^{B9}/y;MHC-GAL4/+ 的果蝇 将 PINK1^{B9}/FM6 的处女蝇与 MHC-GAL4 的雄性果蝇杂交,收取 F1 代雄果蝇,即基因型为 PINK1^{B9}/y;MHC-GAL4/+,即为 PD 疾病组果蝇。

1.2.2 数据采集

1.2.2.1 果蝇形态学检测 观察 4 组实验果蝇体态:UAS-SCA3tr-Q27/+;MHC-GAL4/+,UAS-SCA3tr-Q78/+;MHC-GAL4/+,W1118/+;MHC-GAL4/+,UAS-PINK1^{B9}/y;MHC-GAL4/+。

1.2.2.2 果蝇线粒体观察 果蝇分组同 1.2.2.1,每组随机挑选第 5 天雄性果蝇 5 只,固定于 2.5% 的戊二醛。于显微镜 H-7650 (15 000 ×) 下直接观察果蝇胸部间接飞行肌肉的线粒体形态。

1.2.2.3 果蝇 ATP 值检测 果蝇分组同 1.2.2.1 取第 5 天雄性果蝇,每组取 10 mg 果蝇胸部组织(约 50 只果蝇胸部组织);在液氮中研磨,得到果蝇胸部组织,并加入 200 μl HClO₄ 继续研磨;研磨后 3 500 r/min 离心 15 min,取上清液,缓慢加入 0.2 mol/L KOH,将样品 pH 调至 7.5,3 500 r/min 离心 15 min;准备新的 EP 管移入上清液进行样品制备。此后,将样品在高效液相色谱仪上进行 ATP 水平检测。该试验独立重复 3 次。

1.2.2.4 果蝇 mRNA 水平检测 果蝇分组同 1.2.2.1,用实时荧光定量 PCR(real-time quantitative polymerase chain reaction, Real-Time PCR) 检测 MHC-GAL4/UAS 系统的正常对照组果蝇组及 SCA3/MJD 与 PD 疾病果蝇组中 ND42 mRNA 表达水平。取第 5 天的雄性果蝇胸部 10 mg(约 50 只果蝇胸部组织),提取总 RNA。用 primer 5.0 软件设计引物,合成 18s(内参)、ND42 引物,由 Invitrogen 有限公司合成,进行全定量 PCR,检测上述果蝇品系 ND42 的 mRNA 表达水平。具体引物序列如下:18s 上游:5'-TCTAGCAATATGAGATTGAGCAATAAG-3',下游:5'-AATACACGTTGATACCTTCATTGCTAGC-3';ND42 上游:5'-CGTTTCGATGTCCTCCGAGCT-3',下游:5'-GTCTGCATTGTAGCCAGGAC-3'

1.2.2.5 Western blot 检测烟酰胺腺嘌呤二核苷酸脱氢酶铁-硫蛋白 3 (NADH dehydrogenase [ubiquinone] iron-sulfur protein 3,NDUFS3) 蛋白的表达 果蝇分组同 1.2.2.1,检测 MHC-GAL4/UAS 系统的正常对照组果蝇组及 SCA3/MJD 与 PD 疾病果蝇组中 NDUFS3 蛋白表达水平。取第 5 天的雄性果蝇胸部 10 mg(约 50 只果蝇胸部组织),用 RIPA 裂解液提

取总蛋白。配制 12% SDS 聚丙烯酰胺凝胶,将蛋白与 5 × Loading Buffer 混合后上样,使用 50 mA 恒流电泳。将蛋白转至 PVDF 膜上(恒压 150 V,1 h)。用 5% 脱脂牛奶将膜封闭 2 h 后用 TBST 冲洗 1 次。一抗以工作液浓度 1:1 000,4℃ 孵育过夜,加入辣根过氧化酶标记的二抗(NDUFS3 为鼠抗 1:1 000;β-actin 为鼠抗 1:1 000)孵育 1 h,用 ECL 发光剂压胶片发光、显影。

1.3 统计学处理 利用 SPSS 17.0 统计软件进行分析,实验数据采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间计量资料比较采用成组设计的 *t* 检验。

2 结果

2.1 SCA3/MJD 转基因果蝇模型与 PD 转基因果蝇模型 将人类 SCA3/MJD 致病的外源基因 UAS-SCA3tr-Q78 转入果蝇基因组内,构建出 SCA3/MJD 转基因果蝇模型。当这种模型在 MHC-GAL4 肌肉启动子的启动下,使毒性蛋白特异地在肌肉组织中表达时,果蝇表现出翅膀表型的异常及运动能力的缺陷。与表达正常长度 CAG 重复序列的 UAS-SCA3tr-Q27 的正常对照组果蝇相比,果蝇翅膀出现竖立、分叉、下垂等异常现象。这种果蝇肌肉功能受损的情况同样出现于 PINK1 基因敲除的 PD 果蝇转基因果蝇模型——PINK1^{B9}果蝇模型中,见图 1。

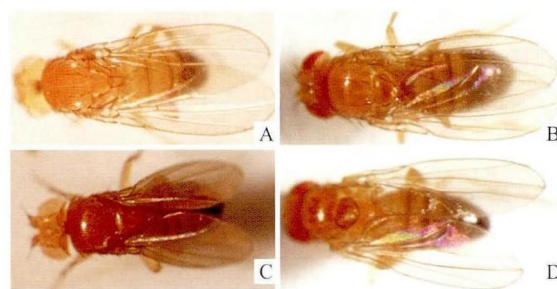


图 1 PD 果蝇模型与 SCA3tr-Q78 果蝇模型翅膀异常

A: 正常对照组,基因型为 w1118/+;MHC-GAL4/+;B: 正常对照组,基因型为 SCA3tr-Q27/+;MHC-GAL4/+;C: PD 疾病模型组,基因型为 PINK1^{B9}/y;MHC-GAL4/+;D: SCA3/MJD 疾病模型组,基因型为 SCA3tr-Q78/+;MHC-GAL4/+

2.2 SCA3/MJD 转基因果蝇模型与 PD 转基因果蝇模型的 ATP 水平比较 SCA3/MJD 转基因果蝇模型与 PD 转基因果蝇模型的 ATP 水平均比相对应的正常对照组明显降低,差异有统计学意义($t_1 = 6.252, P_1 < 0.01; t_2 = 5.436, P_2 < 0.01$)。见图 2。

2.3 SCA3/MJD 转基因果蝇与 PD 转基因果蝇模型的肌肉线粒体的观察 透射电镜下观察显示,

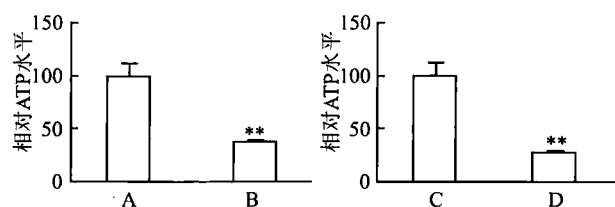


图2 PD果蝇模型与SCA3tr-Q78果蝇模型ATP水平比较

A: 正常对照组, 基因型为 *w1118/+; MHC-GAL4/+*; B: PD 疾病模型组, 基因型为 *PINK1⁸⁹/y; MHC-GAL4/+*; C: 正常对照组, 基因型为 *SCA3tr-Q27/+; MHC-GAL4/+*; D: SCA3/MJD 疾病模型组, 基因型为 *SCA3tr-Q78/+; MHC-GAL4/+*; 与相应的正常对照组比较: ** $P < 0.01$

SCA3/MJD 转基因果蝇线粒体与正常对照组相比, 线粒体表现出过度膨胀的形态、线粒体形态不分明, 融合在一起。同样地 PD 转基因果蝇与正常对照组果蝇相比也表现出线粒体膨胀的形态。见图3。

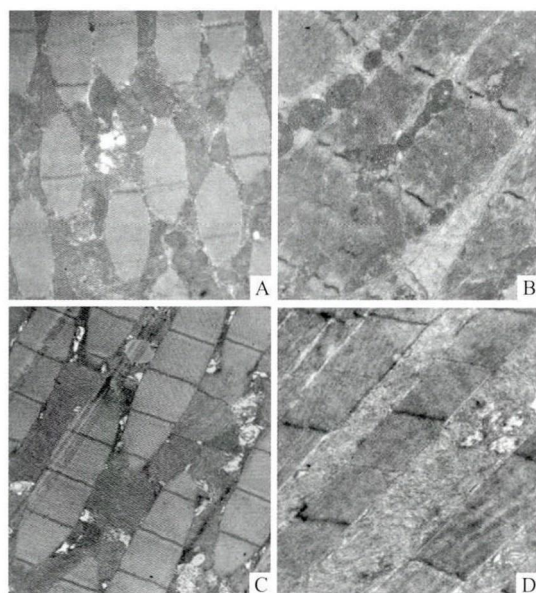


图3 PD果蝇模型与SCA3tr-Q78果蝇模型中肌肉

线粒体形态 透射电镜 $\times 15\ 000$

A: 正常对照组, 基因型为 *w1118/+; MHC-GAL4/+*; B: 正常对照组, 基因型为 *SCA3tr-Q27/+; MHC-GAL4/+*; C: PD 疾病模型组, 基因型为 *PINK1⁸⁹/y; MHC-GAL4/+*; D: SCA3/MJD 疾病模型组, 基因型为 *SCA3tr-Q78/+; MHC-GAL4/+*

2.4 SCA3/MJD 转基因果蝇与 PD 转基因果蝇模型的线粒体功能相关指标的检测 与正常对照组相比, 两种疾病组的 ND42 mRNA 水平及 NDUFS3 蛋白表达量均明显降低 ($t_3 = 3.292, P_3 < 0.05$; $t_4 = 3.644, P_4 < 0.05$)。见图4。

3 讨论

SCA3 是 SCA 中最常见的亚型, 在中国人群中,

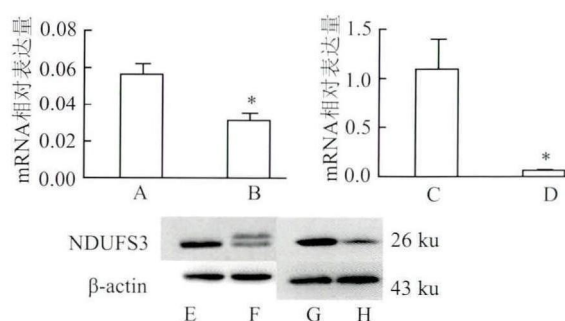


图4 SCA3tr-Q78果蝇模型与PD果蝇模型中标志线粒体 Complex I 的组分 ND42 mRNA 表达水平及 NDUFS3 蛋白的表达水平

A, E: 正常对照组, 基因型为: *w1118/+; MHC-GAL4/+*; B, F: PD 疾病模型组, 基因型为 *PINK1⁸⁹/y; MHC-GAL4/+*; C, G: 正常对照组, 基因型为 *SCA3tr-Q27/+; MHC-GAL4/+*; D, H: SCA3/MJD 疾病模型组, 基因型为 *SCA3tr-Q78/+; MHC-GAL4/+*; 与相应的正常对照组比较: * $P < 0.05$

该型几乎占有所有 SCA3 患者的 50%^[7-8]。SCA3/MJD 致病基因编码区内具有异常 CAG 三核苷酸重复序列, 正常重复次数在 13 ~ 36, 而 SCA3/MJD 患者可高达 62 ~ 82 次。将重复 78 次的三核苷酸 CAG 的序列的 cDNA 经 PUA 载体整合入果蝇胚胎中, 构建出表达突变蛋白 SCA3tr-Q78 的果蝇^[9]。选用在肌肉组织中特异性表达的 MHC-GAL4 启动子启动^[10], 使突变蛋白的毒性在果蝇的肌肉中表达, SCA3/MJD 转基因果蝇表现出异常的翅膀叉开、竖起、下垂的异常形态。由于 SCA3 在临床上除了以小脑性共济失调、眼球运动障碍、视神经萎缩、锥体束征等的表现外, 国内外均有报道提出, SCA3/MJD 和 PD 在临床表现上具有相似性, 发病部位也具有重叠性, 在基因诊断出的 SCA3/MJD 的家系中出现了临床表现为帕金森病症状的患者^[11]。且对于此类疾病确切的发病机制目前尚不清楚, 也无任何特殊的治疗方法。已经有大量的研究^[12-13]表明, 由帕金森相关基因 PINK1 突变导致的 PD 果蝇模型明显地表现出了果蝇肌肉组织的退化、线粒体功能障碍的致病特点。研究^[14]证明 SCA 患者可无明显的共济失调症状而以帕金森综合征为主要临床表现, 且给予多巴胺制剂后治疗效果良好。另外有研究^[15]表明, 维生素 K₂ 已经被证实可以作为类似泛醌的电子传递链重要组分。可以挽救 PD 转基因果蝇 PINK1⁸⁹ 的表型及线粒体功能。国内也有研究^[16]证实了, 维生素 K₂ 同样可以挽救 SCA3/MJD 转基因果蝇的神经毒性。且过表达帕金森相关基因 PINK1 可以挽救 SCA3/MJD 转基因果蝇的线粒体功能^[17]。这些研究均表明 SCA3 与 PD 的发病机制有着相似

性。但是具体的发病机制的相关性比较尚不明确。本研究显示 SCA3/MJD 转基因果蝇与 PD 转基因果蝇一样在 MHC-GAL4 启动子启动后具有相似的翅膀异常表现。肌肉中的线粒体也同样表现为过度膨胀的形态。体现线粒体功能的 ATP 水平也同样表现为疾病组明显比相应的正常对照组降低。且 SCA3/MJD 的线粒体功能障碍不仅仅体现在已有研究^[18-19]所表明的 mtDNA 表达的降低及线粒体氧化呼吸链 Complex II 的功能受损,本研究也表明 SCA3/MJD 转基因果蝇中线粒体氧化呼吸链 Complex I 的亚基 ND42 的 mRNA 表达同 PINK1 基因突变所致的 PD 一样表达降低;Complex I 的组分 NDUFS3 蛋白的表达量也同样明显降低。本研究显示,对这两种神经退行性变的转基因果蝇模型 SCA3/MJD 和 PINK1^{B9}的发病机制的相关性研究,得到了这两种疾病模型无论在表型上还是在线粒体功能异常上具有一致的表现,也就能解释可以提高线粒体电子传递链水平的维生素 K₂ 能够同样抑制 SCA3/MJD 及 PD 转基因果蝇的神经毒性,及过表达 PINK1 不仅可以挽救 PINK1^{B9}转基因果蝇的表型,也同时可以挽救 SCA3/MJD 转基因果蝇线粒体功能的原因。为同样类型发病机制的神经退行性疾病能够达到“异病同治”找到理论基础。

参考文献

- [1] Jacobi H, Bauer P, Giunti P, et al. The natural history of spinocerebellar ataxia type 1, 2, 3, and 6: a 2-year follow-up study [J]. *Neurology*, 2011, 77(11):1035-41.
- [2] 宋兴旺, 郭纪锋, 杨茜, 等. 表现为帕金森综合征的 SCA3/MJD 一家系临床及基因突变研究 [J]. *中华内科杂志*, 2006, 45(10):841-2.
- [3] Vos M, Esposito G, Edirisinghe J N, et al. Vitamin K₂ is a mitochondrial electron carrier that rescues pink1 deficiency [J]. *Science*, 2012, 336(6086):1306-10.
- [4] 韦荔莉, 陈梅玲, 林小慧, 等. 维生素 K₂ 对 SCA3/MJD 转基因果蝇的神经保护作用研究 [J]. *华夏医学*, 2014, 27(1):1-4.
- [5] Pridgeon J W, Olzmann J A, Chin L S, et al. PINK1 protects against oxidative stress by phosphorylating mitochondrial chaperone TRAP1 [J]. *PLoS Biol*, 2007, 5(7):e172.
- [6] 曾爱源, 李琼, 黄强, 等. 过表达 PINK1 改善 SCA3/MJD 转基因果蝇模型的线粒体功能 [J]. *中国生物化学与分子生物学报*, 2015, 31(1):88-95.
- [7] Bossy-Wetzel E, Schwarzenbacher R, Lipton S A. Molecular pathways to neurodegeneration [J]. *Nat Med*, 2004, 10 Suppl:S2-9.
- [8] Jiang H, Tang B, Xia K, et al. Spinocerebellar ataxia type 6 in Mainland China: molecular and clinical features in four families [J]. *J Neurol Sci*, 2005, 236(1-2):25-9.
- [9] Warrick J M. Ataxin-3 suppresses polyglutamine neurodegeneration in *Drosophila* by a ubiquitin-associated mechanism [J]. *Mol Cell*, 2005, 18(1):37-48.
- [10] Takeyama K, Ito S, Yamamoto A, et al. Androgen-dependent neurodegeneration by polyglutamine-expanded human androgen receptor in *Drosophila* [J]. *Neuron*, 2002, 35(5):855-64.
- [11] Züchner S, Vance J M. Mechanisms of disease: a molecular genetic update on hereditary axonal neuropathies [J]. *Nat Clin Pract Neurol*, 2006, 2(1):45-53.
- [12] Geisler S, Holmström K M, Treis A, et al. The PINK1/Parkin-mediated mitophagy is compromised by PD-associated mutations [J]. *Autophagy*, 2010, 6(7):871-8.
- [13] Park J. The PINK1-Parkin pathway is involved in the regulation of mitochondrial remodeling process [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2009, 378(3):518-23.
- [14] Rahman M S. Genetic testing for spinocerebellar ataxias in patients diagnosed as Parkinson's disease in Bangladesh [J]. *Mymensingh Med J*, 2015, 24(1):44-51.
- [15] Vos M. Vitamin K₂ is a mitochondrial electron carrier that rescues pink1 deficiency [J]. *Science*, 2012, 336(6086):1306-10.
- [16] 韦荔莉, 陈梅玲, 林小慧, 等. 维生素 K₂ 对 SCA3/MJD 转基因果蝇的神经保护作用研究 [J]. *华夏医学*, 2014, 27:1-4.
- [17] Yang Y, Ouyang Y, Yang L, et al. Pink1 regulates mitochondrial dynamics through interaction with the fission/fusion machinery [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2008, 105(19):7070-5.
- [18] Laço M N, Oliveira C R, Paulson H L, et al. Compromised mitochondrial complex II in models of Machado-Joseph disease [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2012, 1822(2):139-49.
- [19] Yu Y C, Kuo C L, Cheng W L, et al. Decreased antioxidant enzyme activity and increased mitochondrial DNA damage in cellular models of Machado-Joseph disease [J]. *J Neurosci Res*, 2009, 87(8):1884-91.

Research on the correlated pathogenesis between SCA3/MJD transgenic *Drosophila* models and PD transgenic *Drosophila* models

Cui Ying¹, Li Qinghua², Wei Lili², et al

(¹Clinical College of Guilin Medical University, Guilin 541004; ²Dept of Neurology, Affiliated Hospital of Guilin Medical University, Guilin 541001)

Abstract Objective To reveal the correlated pathogenesis between Spinocerebellar ataxia type 3(SCA3)/Machado

网络出版时间:2016/1/28 14:23:10 网络出版地址:http://www.cnki.net/kcms/detail/34.1065.R.20160128.1423.016.html

PEDF 对肺腺癌 A549 细胞迁移、侵袭能力和转移相关蛋白表达水平的影响

程宇,束军,徐胜,李晓峰

摘要 **目的** 观察色素上皮衍生因子(PEDF)对肺腺癌 A549 细胞迁移、侵袭能力以及对转移相关蛋白如纤维连接蛋白(FN)和基质金属蛋白酶 9(MMP-9)表达水平的影响。**方法** 设不加 PEDF 的肺腺癌 A549 细胞为阴性对照组, PEDF 干预组细胞分别加入 180、360 和 720 nmol/L PEDF; Transwell 检测 PEDF 对 A549 细胞迁移和侵袭能力的影响; 半定量 RT-PCR 法检测 PEDF 对 FN、MMP-9 mRNA 表达水平的影响; ELISA 法检测 PEDF 对 A549 细胞培养上清液中 and 细胞内的 FN、MMP-9 蛋白表达水平的影响。**结果** PEDF 干预组的 A549 细胞迁移细胞数和侵袭细胞数均显著低于阴性对照组($P < 0.05$),随着 PEDF 浓度的增加,迁移和侵袭细胞数逐渐减少($P < 0.05$)。各浓度 PEDF 干预组 A549 细胞的 FN、MMP-9 表达水平较阴性对照组显著降低($P < 0.05$),随着 PEDF 浓度的增加, FN、MMP-9 表达水平逐渐降低($P < 0.05$)。**结论** PEDF 在体外能显著抑制肺腺癌 A549 细胞的迁移和侵袭能力,能显著抑制转移相关蛋白(FN、MMP-9)的表达水平。

关键词 色素上皮衍生因子;肺腺癌;转移;迁移;侵袭

中图分类号 R 734.2;R 73-37

文献标志码 A **文章编号** 1000-1492(2016)03-0345-06

2015-12-08 接收

基金项目:安徽省自然科学基金面上项目(编号:1308085MH141);

安徽医科大学科研基金资助项目(编号:2010xkj115)

作者单位:安徽医科大学第四附属医院呼吸内科,合肥 230022

作者简介:程宇,女,硕士研究生;

束军,男,副教授,硕士生导师,责任作者, E-mail: J. Shu

@126.com

肺癌在恶性肿瘤发病率及死亡率中居于首位。全世界每年新发肺癌病例数为 180 多万, 占所有恶性肿瘤的 13%; 因肺癌导致的死亡患者近 160 万, 占所有恶性肿瘤死亡的 19.4%^[1]。转移是肺癌患者预后不良的重要因素, 对其转移能力的研究对于肺癌患者的治疗和预后有着非常重要的意义。肿瘤的转移是有多步骤的复杂过程, 其中肿瘤细胞和细胞外基质(extracellular matrix, ECM)之间的相互作用在介导和调节肿瘤的转移中起重要作用^[2]。纤维连接蛋白(fibronectin, FN)是细胞外基质的重要组成部分, 参与细胞黏附、迁移、侵袭和肿瘤转移。同时, 基质金属蛋白酶 9(matrix metalloproteinase 9, MMP-9)介导的 ECM 的降解对肿瘤的生长和转移有重要意义^[3]。色素上皮衍生因子(pigment epithelial-derived factor, PEDF)在体内生理和病理过程中有多种活性, 包括神经营养、抗血管生成、抗肿瘤生成和抗转移等。然而, 关于 PEDF 对肺腺癌转移能力的影响及其机制目前仍不十分清楚。该研究旨在观察不同浓度 PEDF 对肺腺癌 A549 细胞迁移和侵袭能力的影响, 以及对转移相关蛋白 FN 和 MMP-9 表达水平的影响。

1 材料与方法

1.1 主要试剂和仪器 人肺腺癌细胞株 A549 由

Joseph disease(MJD) and Parkinson's Disease(PD). **Methods** Here, using the classical model of GAL/UAS system, and the MHC-GAL4 promotor to make the pathogenic protein fragment (SCA3tr-Q78) expressed in Drosophila muscles, thus SCA3/MJD transgenic Drosophila models were constructed. Using the same approach, we constructed the classical PD transgenic Drosophila models—PINK1⁸⁹ which was dominantly modified PD related gene PINK1 null mutant. **Results** The two disease models exhibited similar abnormal wing posture, the degraded mitochondria in muscle fibers and the decreased ATP levels. In the disease models, the expression of mitochondrial oxidative respiratory chain complex I subunit ND42 mRNA decreased and the expression of NDUF3 protein reduced which also marked the function of complex I. **Conclusion** The two neurodegenerative diseases SCA3/MJD and PD show the similar abnormal phenotypes and the mitochondrial dysfunction. The similar pathogenesis may raise the theoretical basis for "the same cure for different diseases".

Key words SCA3/MJD; PD; mitochondria; Drosophila