• 系統編號	RC9101-0281		
• 計畫中文名稱	自由基於 PC12 細胞分化所扮演角色之探討(II)		
• 計畫英文名稱	Study on the Role of Free Radicals in Cell Differentiation of PC12 Cells (II)		
• 主管機關	行政院國家科學委員會	• 計畫編號	NSC89-2320-B038-068
• 執行機構	台北醫學院生物化學科		
• 本期期間	8908 ~ 9007		
• 報告頁數	77 頁	• 使用語言	中文
• 研究人員	施純明 Shih, Chwen-Ming		
• 中文關鍵字	自由基；細胞分化；釩化鈉；老鼠腎上腺髓質腫瘤細胞		
• 英文關鍵字	Free radical；Cell differentiation；Sodium orthovanadate；PC12 cell		

• 中文摘要

氧化還原狀態(Redox status)與細胞生理過程息息相關，包括細胞增生、分化及凋亡。釩化鈉(Sodium orthovanadate；Na/sub 3/VO/sub 4/)爲一酪蛋白磷酸水解(Protein tyrosine phosphatase)抑制劑，作用類似生長因子，已證實可產生活性氧分子(Reactive oxygen species; ROS)。因此本研究擬探討釩化鈉誘導 PC12 細胞分化過程中，ROS 所扮演的角色及其調控機制。經 15μM Na/sub 3/VO/sub 4/處理 PC12 細胞 8 天可見神經突觸外生(Neurite outgrowth)及神經細胞分化指標蛋白 Neurofilament-L (NF-L)的表現。利用抗氧化物進行細胞前處理，結果發現 N-acetylcysteine (NAC)、Pyrrolidine dithiocarbamate (PDTC)及 Catalase (CAT)可抑制 Na/sub 3/VO/sub 4/誘導 PC12 細胞分化，說明了 ROS 參與之可能性。CAT 之活性於分化開始時，呈現下降趨勢，而於第 4 天逐漸恢復，至第 10 天才回到基礎值(basal level)。爲了直接檢測胞內 H/sub 2/O/sub 2/之變化，利用流式細胞儀配合 2',7'-dichloro-dihydrofluorescein diacetate (DCFH-DA)染色之相對量，發現釩化鈉處理 2 分鐘時，胞內 H/sub 2/O/sub 2/提升 1.47 倍左右，而 NAC 或 CAT，可有效清除 H/sub 2/O/sub 2/；續利用 di-hydroethidium (HEt)檢測 O/sub 2//sup -/的產生，未發現有明顯變化。推測 Na/sub 3/VO/sub 4/誘導 PC12 細胞分化過程中，H/sub 2/O/sub 2/可能扮演重要角色。爲了闡明 ROS 敏感性(ROS-sensitive)MAPK(Mitogen-activated protein kinase)是否參與分化過程，利用西方墨漬及蛋白激分析法進行分析，結果顯示 p38MAPK 在釩化鈉處理 0-240 分鐘間呈現下降現象，並在 240 分鐘時活性僅有控制組的 58%；JNK 則在 5-15 分鐘下降，在 15 分鐘時僅有 54%的活性，至 30 分鐘時少量回升到 71%，但在 240 分鐘時僅有 14%活性；ERK 維持一定活化量，在加藥 120 分鐘時達到活化峰值(171 倍)，至 240 分鐘仍有控制組之(22.43 倍)；當 ERK 的活性維持基礎量時，p38MAPK 及 JNK 的活性卻受到抑制，推測此現象應爲釩化鈉造成 MAPK 彼此調控有關。利用 MEK 抑制劑 U0126 及不同濃度 NAC 處理細胞，均可有效減少由釩化鈉所造成 ERK 的活化。綜合上述結果顯示，釩化鈉可能藉由提升胞內 H/sub 2/O/sub 2/濃度，並透過 ROS 敏感性 MAPKs 的作用，最後導致 PC12 神經細胞的分化，但其詳細機轉，仍有待進一步確認。

- 英文摘要

查無英文摘要