

B-S1-4

神经病理性痛小鼠模型中线粒体解偶联蛋白 4 参与启动脊髓背角神经元线粒体自我保护的机制研究

郭保霖¹, 吴亦琳², 罗世城³; 指导教师: 王亚云

1. 第四军医大学 2010 级临床医学
2. 第四军医大学 2011 级临床医学
3. 第四军医大学 2011 级航空航天临床医学

【立论依据】 神经病理性疼痛发病率高但治疗手段匮乏。最新研究揭示线粒体可能通过调控突触可塑性参与慢性痛发生发展过程,但其具体机制仍不清楚。本小组前期基于坐骨神经选择性损伤(SNI)模型小鼠,利用线粒体成像结合免疫荧光技术发现,线粒体在痛起初期未见明显改变,但在维持期数量增加,且外形由短棒状改变为簇状;生化检测发现,线粒体氧化应激产物在慢性痛发生后持续增加,线粒体膜电位($\Delta\Psi_m$)在慢性痛起始和维持阶段呈双向改变;利用行为药理学方法发现,鞘内注射腺相关病毒携带过表达线粒体解偶联蛋白 4(UCP4)质粒能明显缓解小鼠痛行为。以上结果提示:线粒体参与慢性痛发生发展过程;UCP4 可能通过开启线粒体自我保护机制而发挥镇痛作用。

【设计思路】 本设计基于预实验结果进一步利用转基因动物及病毒载体等,从形态学、电生理学等方面进一步探讨 UCP4 在慢性痛状态下开启线粒体自我保护的调控机制,为镇痛新药研发提供靶点。

【实验内容】 (1) SNI 模型建立,并鞘内注射 RNAi、overexpressing 及空病毒载体,进行线粒体功能学检测(HP、MDA、ROS 含量、 $\Delta\Psi_m$ 改变等),明确 UCP4 表达干预后线粒体功能改变。(2) 结合线粒体示踪剂及免疫组化方法,明确 UCP4 表达干预后线粒体动力学分布以及亚细胞形态的改变。(3) 利用全细胞电压膜片钳记录方法,分别在 GAD67-GFP(GABA 能神经元) knock-in 小鼠及 Fos-GFP(Fos 神经元) knock-in 小鼠上,记录病毒干预后脊髓背角 I-IV 层神经元微小兴奋性突触后电流(mEPSCs)和微小抑制性突触后电流(mIPSCs),结合激动剂和拮抗剂,明确 UCP4 作用的突触类型及神经元性质。

【材料】 8 周 C57BL/6 小鼠、GAD67-GFP knock-in 小鼠及 Fos-GFP knock-in 小鼠,腺相关病毒载体,相关方法所需材料。

【可行性】 预实验结果明确,具备实验条件,腺相关病毒包装成功,转基因小鼠已获得,实验周期短。

【创新性】 本设计从临床实际问题出发,基于前期研究成果,创新性提出 UCP4 是启动线粒体自我保护机制发挥镇痛效应的重要分子。实验设计上利用腺相关病毒载体干预 UCP4 水平,从多角度进行机制探究。

关键词: 线粒体;解偶联蛋白;神经病理性痛

B-S1-5

中枢 P 物质对慢性咳嗽豚鼠模型咳嗽敏感性的神经调控机制

顾大川, 孙乐家, 景 丹, 张伟韬; 指导教师: 董 榕

东南大学 2010 级临床医学

【立论依据】 慢性咳嗽是严重困扰人类健康的顽症,临床调查显示大部分慢性咳嗽患者的咳嗽阈值明显降低,这种咳嗽敏感性的增高可能是慢性咳嗽患者症状持续存在的基础。在慢性咳嗽发生时,由 P 物质(substance P, SP)等神经源性炎性介质所介导的气道神经源性炎症可使咳嗽感受器数量增加,导致咳嗽敏感性增高,但其机制尚未完成阐明。

【设计思路】 鉴于在咳嗽敏感性增高时延髓相关核团内 SP 的表达量增高,我们提出假说认为延髓相关核团