

## B 实验设计大赛

S-1 生理学,病理生理学,药理学,神经生物学

B-S1-1

# 发育期干预基底前脑诱导的睡眠 $\delta$ 波对学习记忆的影响

王 瑞<sup>1</sup>, 张秦喆<sup>2</sup>, 柳 禹<sup>3</sup>; 指导教师: 陈 芳

1. 第三军医大学 2010 级临床医学

2. 第三军医大学 2011 级临床医学

3. 第三军医大学 2012 级临床医学

**【立论依据】** 迄今的研究表明成人  $\delta$  波既能指示睡眠的深度,又可预示认知活动的程度。婴儿的睡眠时间高于成人,其脑电频率一般较低,常表现为 0.5~4 Hz 的脑电波。这种低频  $\delta$  波与神经系统的突触发育有关,而基底前脑的胆碱能神经元在腺苷的抑制下促进  $\delta$  波的发生。我们推测婴儿期睡眠  $\delta$  波可促进学习记忆能力。但婴儿睡眠  $\delta$  波与成年时学习记忆能力的关系如何目前未见报道。我们前期的研究发现睡眠  $\delta$  波可通过电刺激基底前脑进行干预,因此,可从减少  $\delta$  波的角度帮助深入理解睡眠的学习记忆功能。

**【设计思路】** 婴儿的认知能力以及思维深度都处在快速发育的阶段,大鼠生后 17~21 d 是脑突触发育的关键期,在睡眠期高频电刺激基底前脑,可影响神经元的超极化并抑制神经元集群同步化能力,扰乱睡眠  $\delta$  波的产生及维持,从而影响学习记忆相关脑区的突触发育,对成年学习记忆能力产生不可逆损害。

**【实验内容】** 在关键期(17~21 d)的睡眠期给予基底前脑电刺激(0.04 mA, 8 Hz)特征性地干预睡眠  $\delta$  波,观察实验组与对照组大鼠睡眠觉醒周期及脑电波发展规律的区别。干预处理阶段结束后饲养动物至成年,对其学习记忆能力进行行为学实验检测(T 迷宫、水迷宫、旷场实验),观察空间记忆、工作记忆的损害情况。同期透射电镜观察海马、内嗅皮层、前额叶皮层突触的数量及形态的差别,免疫组化检测基底前脑胆碱能、谷氨酸能及  $\gamma$ -氨基丁酸能神经元的形态变化。

**【材料】** 以大鼠为实验对象,200  $\mu$ m 电极进行深部核团电刺激。

**【可行性】** 此方案推理正确,理论上可行。本校睡眠实验室拥有 Grass 多导睡眠记录系统,并能用配套软件顺畅分析脑电数据;生理教研室行为学设备完善;中心实验室可开展电镜实验,技术上可行。

**【创新性】** 以往的研究重点在于  $\delta$  波发育的规律和机制,或者是成人  $\delta$  波与学习记忆功能的关系。本方案则聚焦于幼年睡眠  $\delta$  波的发育变化对成年认知能力的影响,并试图从关键期神经元突触发育的角度阐明深度睡眠影响认知的机制。

**关键词:** 基底前脑;睡眠  $\delta$  波;学习记忆

B-S1-2

# $\omega$ -3 多不饱和脂肪酸对新生儿缺血缺氧所致脑瘫的防治作用

季 皓,王 朔;指导教师:李成仁

第三军医大学 2011 级预防医学

**【立论依据】** 脑瘫是新生儿尤其是早产儿最常见最严重的并发症之一,缺血缺氧(HI)是主要原因,而脑白质是其主要损伤部位,其中的晚期少突胶质细胞前体(OPCs)是主要受损细胞。脑黄金 DHA 的主要成分( $\omega$ -3 多不饱和脂肪酸,  $\omega$ -3)对胎儿及婴儿的大脑特别脑白质的生长发育极为重要。但  $\omega$ -3 对 HI 所致脑瘫是否具有防治作用目前还不清楚,深入探究其在 HI 脑白质损伤中的作用,对新生儿脑瘫的及时干预有着重要意义。

**【设计思路】** 体外观察  $\omega$ -3 对培养 OPCs 缺氧条件下增殖、分化和凋亡等的作用;体内观察  $\omega$ -3 对 HI 模型脑

白质损伤及动物行为学的影响,得出  $\omega$ -3 对新生儿 HI 所致脑瘫的防治作用。

**【实验内容】** (1) $\omega$ -3 对缺氧后 OPCs 的作用:体外培养 OPCs,制作缺糖缺氧(OGD)模型,给予  $\omega$ -3 预处理以及缺氧后给药,LDH 和 MTT 检测细胞受损和活性,BrdU、Ki67 和 PCNA 免疫荧光观察细胞增殖,TUNEL 染色显示细胞凋亡,免疫荧光、蛋白质印迹和 q-PCR 检测细胞 PDGFR- $\alpha$ 、A2B5、NG2、CNPase、PLP 和 MBP 等少突胶质细胞相关蛋白和 mRNA 的表达。(2) $\omega$ -3 对缺氧后脑白质损伤的影响:制备新生大鼠 HI 模型,预给予或缺氧后补充  $\omega$ -3,不同时相点取材,免疫荧光、蛋白质印迹和 q-PCR 检测脑白质中 PDGFR- $\alpha$ 、A2B5、NG2、CNPase、PLP 和 MBP 等少突胶质细胞相关蛋白和 mRNA 的表达,快蓝和 Fluomeylin 染色显示白质髓鞘的情况,BrdU、Ki67 和 PCNA 免疫荧光染色检测细胞的增殖,TUNEL 染色显示细胞的凋亡。(3) $\omega$ -3 对缺氧模型大鼠成年后行为学的影响:应用旷场、斜杆、Y 迷宫和 Morris 水迷宫等行为学测试,检测模型鼠成年后的运动能力和学习记忆能力。取材观察大脑重量、大脑的白、灰质分布以及神经反射速度。

**【材料】** 新生大鼠、缺氧罐、 $\omega$ -3、各种细胞培养、分子生物学和免疫组织化学试剂。

**【可行性】** 以前研究表明  $\omega$ -3 对创伤后脑白质损伤具有保护作用,因此有理由推测  $\omega$ -3 对缺氧造成的脑白质损伤及少突胶质细胞损伤具有防护作用;指导教师一直进行脑缺氧方面的研究,可以提供指导和帮助。

**【创新性】** 本项目创新将  $\omega$ -3 引入新生儿脑瘫的防治研究,以期对 HI 性脑损伤的防治提供新措施。

**关键词:**  $\omega$ -3 多不饱和脂肪酸;新生儿脑瘫;脑白质损伤;缺血缺氧

## B-S1-3

# 少突胶质细胞对能量物质的转运障碍是神经退行性疾病的始动因素

刘腾飞;指导教师:姚忠祥  
第三军医大学 2010 级临床医学

**【立论依据】** 神经退行性疾病发病率高,机制不清,仍缺乏有效的治疗策略和手段。目前研究发现:(1)在神经退行性疾病脑组织中均存在异常蛋白聚集物明显增多,它可引起氧化应激反应而损伤神经元和胶质细胞。(2)对少突胶质细胞及其形成的髓鞘的损伤早于神经元。(3)髓鞘上存在单羧酸盐转运体 1(MCT1),其功能是向神经元轴突转运营养物质。(4)在超氧化物歧化酶 1(SOD1)突变的肌萎缩侧索硬化症(ALS)模型小鼠中,髓鞘 MCT1 明显降低。据此,我们提出假说:在神经退行性疾病中,异常蛋白聚集物所致的氧化应激反应首先导致少突胶质细胞损伤,降低其 MCT1 表达和功能,进而影响少突胶质细胞向轴突的能量物质转运,最终引起神经元变性死亡。证实这一假说将为神经退行性疾病的防治提供新的途径和方法。

**【设计思路】** 以阿尔兹海默症(AD)模型小鼠为代表,比较其与正常对照小鼠相同发育阶段的 MCT1 表达情况,明确少突胶质细胞向轴突转运能量物质的变化特征;在此基础上,观察氧化应激反应与 MCT1 的关系,并进一步阐明 MCT1 的分子伴侣 CD147 等在其中的作用及其调控途径;结合动物行为学观察,从整体功能方面说明其效应。

**【实验内容】** (1)正常对照小鼠和 AD 模型小鼠在相同发育阶段的 MCT1 表达情况(已完成部分实验)。(2)AD 模型小鼠氧化应激反应水平与 MCT1 变化的关系及其调控途径。(3)行为学观察小鼠运动功能和精神神经症状的变化。

**【材料】** PS1/APP 双转基因 AD 小鼠、免疫荧光双标记和分子生物学等常规试剂、行为学检测设备等。

**【可行性】** (1)理论方面:如前所述,现有研究证据已高度提示少突胶质细胞向轴突的能量物质转运可能是神经退行性疾病的始动因素。(2)实验方面:实验所需的设备、技术、试剂和动物等均为常规条件,本实验室均已具备。

**【创新性】** 少突胶质细胞的髓鞘包裹了神经元轴突表面积 99%,但其重要性一直未受重视。本项目正是从少突胶质细胞这一全新视角,探讨其向轴突转运能量物质功能的变化,以期阐明神经退行性疾病的病理学机制,为相关疾病的防治探索新的思路和途径。

**关键词:** 神经退行性疾病;少突胶质细胞;能量物质转运;氧化应激反应;AD;MCT1