

A-S1-16

神经保护短肽 NAP 对小鼠社会隔离模型抑郁样行为的作用研究

刘友平¹, 李白嘉², 毕航³, 张磊¹; 指导教师: 党永辉

1. 西安交通大学 2010 级临床医学

2. 西安交通大学 2009 级临床医学

3. 西安交通大学 2011 级临床医学

【目的】 为探究神经保护短肽 NAP 对社会隔离(social isolation, SI)模型小鼠抑郁样行为的影响及其机制。

【方法】 通过随机分组建立 SI 模型, 以群养组(group housed, GH)为对照, 利用构建好的带有 NT4-NAP 融合基因的腺相关病毒(AAV)经鼻给药进行干预, 分为 SI(NAP)、SI(AAV)、GH(NAP)、GH(AAV)四组, 每组 8 只小鼠。首先, 测试每组抑郁样行为, 包括旷场实验(open field test, OFT)、强迫游泳(forced swimming test, FST)和悬尾实验(tail suspension test, TST)。同时检测模型建立后体重变化。其次, 为探究 NAP 干预 SI 小鼠模型抑郁样行为的作用机理, 根据目前已有抑郁症发病假说, 利用 ELISA 技术选择检测小鼠脑内前额叶皮质(prefrontal cortex, PFC)、伏隔核(nucleus accumbens, NAc)、尾状核(caudate nucleus, CPu)和海马(hippocampus, HIP)等核团脑源性神经营养因子(brain-derived neurotrophic factor, BDNF)、5-羟色胺(5-hydroxy tryptamine, 5-HT)和血清皮质酮(corticosterone)浓度变化。

【结果】 (1)NAP 干预对体重的影响: 从建立模型开始连续检测体重 6 周, 发现 SI 组小鼠体重增长明显高于 GH 组; (2)NAP 干预对行为的影响: OFT 中, SI(AAV)组自主活动明显低于 GH(AAV)组, 但给予 NAP 干预后, SI(NAP)组与 GH(NAP)组自主活动差异消失; FST 中, SI(AAV)组不动时间明显高于 GH(AAV)组, 给予 NAP 干预后 SI(NAP)组小鼠不动时间显著减短, 与 GH(NAP)组相比无统计学差异; TST 中 SI(AAV)组与 GH(AAV)组无统计学差异, 予 NAP 干预后有产生差异趋势; (3) NAP 作用机理研究: 测试脑内 BDNF 浓度发现, NAP 干预后可逆转或减弱 SI 模型导致的 PFC、NAc、CPu、HIP 等核团中 BDNF 浓度差异; SI 模型下, 各核团 SI(AAV)组与 GH(AAV)组无统计学差异, 予 NAP 干预后, SI 组 CPu、HIP 核团中 5-HT 较 GH 组升高; SI(AAV)组血中皮质酮浓度明显低于 GH(AAV)组, 但予 NAP 干预后, SI(NAP)组与 GH(NAP)组自主活动差异消失。

【结论】 NAP 主要通过影响脑内 BDNF 和血中皮质酮浓度对抗小鼠社会隔离模型所致抑郁样改变。

关键词: 神经保护肽; NAP; 社会隔离; 抑郁样行为

A-S1-17

Z-十八碳-9-烯-丙磺酰胺调节脑缺血后小胶质细胞激活的作用研究

徐振田, 谢安智, 索大琴; 指导教师: 金鑫

厦门大学 2011 级临床医学

【目的】 脑缺血再灌注损伤(cerebral ischemia reperfusion injury, CIRI)是指因脑缺血致脑组织坏死前, 闭塞的脑血管再通后脑损伤进一步加重的现象, 是引起多种脑部疾病的重要病理生理基础。小胶质细胞被证实是中枢神经系统的免疫细胞, 有吞噬、抗原提呈和表达大量免疫相关因子的功能, 脑缺血时小胶质细胞过度活化, 释放大量的自由基、炎症因子和前列腺素, 对中枢神经系统造成过多的病理损害, 促使神经细胞的死亡, 加重缺血性中风的损伤。Z-十八碳-9-烯-丙磺酰胺(N15)是油酰乙醇胺(oleoylethanolamide, OEA)的类似物, 前期我们已经建立了

稳定的小鼠大脑中动脉栓塞(MCAO)模型,同时发现 N15 治疗后可以明显降低小鼠脑缺血后的神经功能损伤、减小脑梗死体积、减轻脑水肿和血脑屏障的通透性,降低脑缺血后损伤侧皮层炎症因子 TNF- α 、IL-6 蛋白的表达。前期研究中已证明 N15 确切的脑缺血保护作用,但相关机制尚不清楚。在此课题中,我们利用线栓法建立小鼠局灶性脑缺血(Middle cerebral artery occlusion, MCAO)模型,研究 N15 对脑缺血再灌注小鼠的保护作用。

【方法】 利用免疫组化和蛋白质印迹法观察 N15 对脑缺血后小胶质细胞活化及分泌的前炎症细胞因子和细胞毒性介质的作用,并考察 MAPKs(ERK、JNK 和 p38)、NF- κ B、Nrf2、HO-1、NQO1 等信号转导通路在 N15 调节小胶质细胞活化过程中的调控作用。以小胶质细胞活化及其释放的因子诱导的炎症反应为靶点,探索 N15 抗脑缺血新的作用机制。我们的研究将为 N15 开发成为新一代抗脑缺血药物奠定理论基础。

关键词: N15; 脑缺血; 小胶质细胞; 炎症因子

A-S1-18

S1P 通过促进慢性炎症反应加重缺血性心力衰竭

夏云龙; 指导教师: 闫文俊, 陶 凌, 张海锋

第四军医大学 2010 级临床医学八年制

【目的】 心肌梗死(MI)是导致心力衰竭(心衰)的最常见原因,以慢性炎症反应为特点的心脏重构是心衰发展过程中的重要环节。然而,导致 MI 后慢性炎症反应的具体机制尚不完全清楚。1-磷酸鞘氨醇(S1P)是一种生物活性溶血鞘脂,本课题组前期发现 S1P 可减轻急性心肌缺血损伤。鞘氨醇激酶 1(SphK1)和 S1P 裂解酶(SPL)分别是调控 S1P 生成和降解的关键酶,S1P 受体 1(S1PR1)是心肌表达的唯一 S1P 受体,本课题拟在前期证实 MI 后心肌组织中 SphK1-S1P-S1PR1 和 SPL 表达均显著升高的基础上,进一步研究 S1P 信号在 MI 后心衰中的作用。

【方法】 (1)80 只雄性 C57BL/6J 小鼠(8~10 周)随机分为以下 4 组:假手术组、MI 组、MI+FTY720 组、MI+THI 组。FTY720 可降低 SphK1 和 S1PR1 表达,于术后 24 h 腹腔注射给药,3 mg/(kg·d),1 次/d,持续 4 周;THI 是 SPL 抑制剂,于术后 24 h 饮水饲喂,25 mg/L,2 次/d,持续 4 周。以上各组分别于 4 周后行以下检测:①超声心动图,②心脏切片 Masson-trichrome 染色,③心肌组织 S1P 含量,④心肌组织 SphK1、S1PR1、SPL、p-p65NF- κ B/p65NF- κ B、pSTAT3/STAT3 的蛋白表达,⑤胎儿基因 ANP、BNP 和 α -SMA 的 mRNA 水平,⑥胶原蛋白 I α 1、I α 2 和 III α 1 的 mRNA 水平。(2)分离培养 SD 乳鼠(1~2 d)心肌细胞,分别采用 0、1.0 和 10 mmol/L 的 S1P 处理 24 h,检测 SPL、p-p65NF- κ B/p65NF- κ B 的蛋白水平和 TNF- α 、IL-6、MCP-1 和 MMP2 的 mRNA 水平。

【结果】 (1)与 MI 组相比,MI+FTY720 组小鼠心肌组织中 SphK1-S1P-S1PR1 表达下降、NF- κ B-STAT3 活性下降、心脏重构显著减轻、心脏功能显著改善[左心室射血分数:MI+FTY720 组(43.5 \pm 3.0)% vs MI 组(32.4 \pm 2.7)%, P <0.05];与 MI 组相比,MI+THI 组小鼠 SphK1-S1P-S1PR1 表达升高、NF- κ B-STAT3 活性增高、心脏重构显著加重、心脏功能显著下降[左心室射血分数:MI+THI 组(25.4 \pm 2.3)% vs. MI 组(32.4 \pm 2.7)%, P <0.05]。(2)在心肌细胞中,S1P 处理 24 h 可剂量依赖性增加 TNF- α 、IL-6、MCP-1 和 MMP2 的 mRNA 水平,并增加 SPL 的蛋白和 mRNA 水平。

【结论】 (1)MI 后心肌组织中 SphK1-S1P-S1PR1 通过 NF- κ B-STAT3 炎症信号促进心脏重构和心衰;(2)SPL 在 S1P 的诱导下表达升高,通过降解 S1P 减轻 MI 后心脏重构和心衰。本研究首次揭示了病理性 S1P 信号参与 MI 心脏结构和功能的不良改变,为延缓缺血性心衰进展提供了新的潜在干预靶点。

关键词: 心肌梗死; 心脏重构; 心力衰竭; 1-磷酸鞘氨醇