

再生可能通过两个途径:一是视黄醇是 ADH 的底物之一,而氧化产生的视黄醛又是 ALDH 的底物之一。饲喂视黄醇可能能够诱导肝细胞 ALDH 活性的增强,从而避免肝切产生的胞内脂肪醛类物质对于肝细胞的损伤;二是视黄醇的代谢产物视磺酸可以促进一系列与细胞分裂分化相关的基因的表达,从而促进肝细胞再生。

【设计思路】 在小鼠肝切术前给予维生素 A 刺激,与对照组对比,检测维 A 对于小鼠肝再生是否有作用,并在此基础上进一步探索相关可能的机制。

【实验内容】 取 6-8 周雄性小鼠分为六组:A-C 组在术前 24、48、72 h 进行视黄醇灌胃处理,D-F 组在同样时间用大豆油灌胃。A、D 组术前另外腹腔注射 ALDH2 拮抗剂 Daizin。B、E 组术前另外腹腔注射 ALDH2 激动剂 alda-1。50%肝切。在术后 48、96、144 h 分别处死一批小鼠,测量残肝重、ALDH2 活性、血清转氨酶浓度等指标检测肝脏的再生情况。

【材料】 动物:C57 6-8 周小黑鼠;器械:小动物手术器械;小鼠胃灌流器、纱布,酒精棉球;鼠笼,鼠粮,鼠板;1.5 mL ep 管;试剂:戊巴比妥钠;酒精;全反式视黄醇(维生素 A);生理盐水;Daizin(ALDH2 拮抗剂);alda-1(ALDH2 激动剂)

【可行性】 纵观整个实验,最大的困难在于肝切术的实现。对此,进行了预实验。选择小鼠左前叶和左中叶,进行肝叶蒂部结扎 50%肝切除。经过多次手术操作观察,目前手术成功率高,确立了手术的可操作性。而其余的操作都比较容易实现。

【创新性】 大多数研究都是关于药物长期处理对于肝脏的影响,很少有关于急性大剂量药物处理对于肝再生影响的研究。另外,视黄醇能否通过激活 ALDH2 来促进肝脏再生的机制也是首次验证。

关键词: 视黄醇;肝再生;ALDH2

B-S1-18

PINK1 低表达诱导线粒体自噬障碍致糖尿病缺血心肌易损及机制

孙嘉星¹,丁家琦¹,钮春子²;指导教师:季乐乐,张海锋

1. 第四军医大学 2010 级临床医学八年制
2. 第四军医大学 2010 级口腔医学八年制

【立论依据】 糖尿病患者发生缺血性心脏病(IHD)后心肌损伤程度明显高于非糖尿病患者,但其具体机制尚待阐明。线粒体自噬是细胞通过自噬机制选择性清除线粒体的过程,对于维持线粒体功能和细胞生存至关重要。新近研究表明,线粒体激酶 PINK1 可通过线粒体融合蛋白 Mfn2 募集并结合 E3 泛素连接酶 Parkin,介导线粒体自噬。然而,PINK1 在糖尿病心肌中的表达变化及其介导的 Mfn2-Parkin 通路在心肌缺血损伤中的作用尚不清楚。

【设计思路】 本课题拟在整体和细胞水平研究 PINK1 在糖尿病心肌中是否低表达、并引发线粒体自噬障碍,进而增加糖尿病缺血心肌易损性。

【实验内容】 (1) 高脂饲料(45%脂肪含量)喂养 C57BL/6 小鼠 16 周,建立 2 型糖尿病(T2DM)小鼠模型。(2) 在对照和 T2DM 小鼠构建心肌缺血(MI)模型,观察缺血心肌损伤、心肌 PINK1-Mfn2-Parkin 信号变化、线粒体自噬及线粒体功能。(3) 分离乳鼠心肌细胞,高糖/高脂培养,利用腺病毒转染过表达 PINK1 或 RNAi 技术剔除 PINK1 表达,研究 PINK1 介导的线粒体自噬与心肌细胞缺氧损伤的关系。

【材料】 C57BL/6 小鼠,SD 乳鼠,线粒体膜电位测试盒,TUNEL 凋亡检测试剂盒,蛋白质印迹、RNA 干扰、腺病毒转染所需试剂等。

【可行性】 我们成功制备了 T2DM 小鼠模型;预实验结果提示,与对照组相比,T2DM 小鼠心肌 PINK1 表达减少,且 MI 后心肌线粒体自噬水平显著降低,心肌缺血损伤加重($P < 0.05$)。过表达 PINK1 可有效增加高糖/高脂培养心肌细胞的线粒体自噬,减少缺氧心肌细胞凋亡($P < 0.05$)。以上结果强烈提示,PINK1 的低表达通过影

响线粒体自噬加重糖尿病心肌易损性的假设是可行的。本课题涉及的实验方法在前期研究中已熟练运用,为顺利完成奠定了基础;且实验室具备所需实验条件,所有实验试剂均可在国内购得。

【创新性】 PINK1-Mfn2-Parkin 介导的线粒体自噬对于糖尿病心肌易损性的作用未见报道。预实验结果证实,PINK1 低表达诱导线粒体自噬障碍致糖尿病缺血心肌易损性增加,增加心肌 PINK1 表达可显著改善糖尿病心肌抗缺血损伤的能力。如能彻底阐明该问题,可为减轻糖尿病 IHD 患者的心肌损伤提供全新的干预靶点和实验依据。

关键词: PINK1; 2 型糖尿病; 心肌缺血; 线粒体自噬

B-S1-19

大鼠血管平滑肌 Caveolin-1 与 TRPC1 相互作用及其在肺动脉高压中的变化

林达岑, 陈亚玫, 陈 颀; 指导教师: 焦海霞, 林默君
福建医科大学 2011 级预防医学

【立论依据】 业已证明,经典瞬时感受器电位 1 (TRPC1) 通道蛋白编码的钙池操纵性钙通道 (SOCC) 表达上调和功能增强与肺血管增生、重构,以及肺高压密切相关,TRPC1/SOCC 存在于胞膜窖上。Caveolin-1 (Cav1) 是胞膜窖的主要结构蛋白,野百合碱肺高压模型大鼠和原发性肺动脉高压患者的肺血管平滑肌细胞胞膜窖分布密度和 Cav1 表达都显著增加。

【设计思路与实验内容】 在对照 (CON) 组和慢性低氧肺高压 (CH) 组大鼠,采用透射电镜、定量 RT-PCR 等技术和蛋白质印迹技术,观察主动脉和肺动脉主动脉上观察胞膜窖分布密度及 Cav1 表达变化;此外观察胞膜窖结构被破坏后,环匹阿尼酸 (CPA)、苯肾上腺素 (PHEN)、内皮素-1 (ET-1) 和 KCl 所引起的肺动脉和主动脉张力的不同变化,以明确胞膜窖的结构完整与血管平滑肌张力变化之间的关系,进一步分析这种关系在肺循环和体循环之间的异同。

【材料】 SD 大鼠、8 通道信号采集系统、定量 PCR 仪、透射电镜,以及 CPA、PHEN、ET-1 和 MCD 等试剂。

【可行性】 已掌握完成本实验所需的技术、本项目 2013 年获得国家级大学生创新训练

项目资助。血管环张力实验获得初步结果:(1) 两组 MCD 预处理均抑制 PHEN 引起主动脉张力,但是对 KCl 引起的主动脉张力无抑制作用,与 CON 组比较,在 CH 组 MCD 预处理抑制作用无进一步增强。(2) 两组 MCD 预处理均抑制对 PHEN 引起的肺动脉张力,但对 KCl 引起的肺动脉张力也无抑制作用,与 CON 组比较,在 CH 组 MCD 预处理抑制作用也无进一步增强。提示,电压依赖性钙通道不依赖于胞膜窖的完整性,PHEN 介导的血管收缩可能依赖于胞膜窖的完整性,但慢性低氧预处理对这一过程没有影响。

【创新性】 本课题预期结果:(1) 在正常大鼠上,肺动脉与主动脉上均存在胞膜窖分布密度和 Cav1 表达,并对血管张力产生影响。(2) 在 CH 大鼠上,肺动脉胞膜窖分布密度和 Cav1 表达,以及血管张力的变化,可能与主动脉存在不同。本课题试图阐明肺循环与体循环血管 TRPC1/SOCC 与胞膜窖 (Cav1) 的关系,探索慢性低氧肺高压发病过程中,肺循环与体循环血管张力变化和 TRPC1/SOCC 调控的不同特点,为寻找治疗肺高压的新靶点提供理论依据。

关键词: 胞膜窖; 瞬时感受器电位蛋白 1 (TRPC1); Caveolin-1; 慢性低氧肺高压; 钙池操纵性钙通道 (SOCC)