

积,即 A $\beta$  假说;但如何利用药物进行干预,一直未有重大突破。研究显示:激活 LXR 可上调 ABCA1 和 ApoE 的表达,促进脂类流出和膜内外脂类的重新分配,降低胆固醇浓度,进而减少 A $\beta$  的分泌并促进其清除。LXR 有  $\alpha$  和  $\beta$  两种亚型。现有的 LXR 激动剂均同时激动 LXR  $\alpha$  和  $\beta$  受体,而 LXR $\alpha$  的激活是造成该药副作用的主要原因。故本课题拟研究一种新合成的化合物——LXR $\beta$  亚型激动剂(以下简称 C19)对 AD 的治疗效果,探究其选择性激活 LXR $\beta$  亚型后,调节胆固醇代谢进而影响 AD 发病进程的治疗新思路。

**【实验内容】** 离体实验:建立 AD 细胞模型和血脑屏障模型,均分别行 DMSO(溶剂组)、T0901317(阳性对照组)、C19(实验组)处理,检测 ABCA1、ApoE、A $\beta$  含量及外排胆固醇能力,探究 C19 对脂质转运及 A $\beta$  产生和清除的影响。在体实验:随机分组的 AD 小鼠行 C19(AD 实验组)、T0901317(AD 阳性对照组)、DMSO(AD 溶剂组)处理,并设立 AD 空白对照组(未处理)和 C57 空白对照组(未处理),3 个月后取大脑额顶皮质、海马、脑脊液、血液、肝肾等组织器官,检测 ABCA1、ApoE、A $\beta$  等蛋白表达量以及胆固醇如 24OHC 含量、肝肾毒性等指标,拟验证 C19 可通过胆固醇代谢途径对 A $\beta$  生成和清除产生影响,减少 A $\beta$  的生成,实现对 AD 的治疗作用。

**【材料】** APP-PS1 转基因 AD 小鼠、星形胶质细胞、脑微血管内皮细胞、转染 CHOAPP<sub>sw</sub> 细胞

**【可行性】** 已对部分 APP/PS1 转基因小鼠腹腔注射 C19 3 个月,取脑,冰冻切片,免疫组化染色观察老年斑变化,发现 C19 可明显减少海马皮质的 A $\beta$  含量,改善大脑皮质萎缩状况;对肝肾功能、血脂等指标的检测显示,AD 实验组和 AD 空白对照组、AD 溶剂组之间胆固醇代谢相关指标有明显差异;肝肾组织切片 HE 染色显示 C19 暂无明显毒副作用。

**【创新性】** 首次合成靶向 LXR $\beta$  亚型的 AD 治疗药物,不受  $\alpha$  亚型的毒副作用影响;首次研究特异性激活 LXR $\beta$  亚型后,对胆固醇代谢、A $\beta$  沉积和 AD 病情的影响机制;首次研究转基因 AD 小鼠脑脊液中 24OHC 浓度及 C19 对其在中枢和外周的浓度变化的影响。

**关键词:** 阿尔兹海默病;胆固醇代谢;肝 X 受体  $\beta$  亚型激动剂;选择性受体激动剂

## B-S1-34

# 虾青素对脊髓压迫性损伤脱髓鞘病变的治疗作用及其机制的研究

李 虎,康雪丽,郭维丽,刘文科;指导教师:孙善全

重庆医科大学 2011 级临床医学七年制

**【立论依据】** 在临床上,脊髓压迫性损伤(CSCI)十分常见,但目前尚缺乏有效的治疗方法。在 CSCI 过程中脊髓血液循环障碍,缺血使细胞内产生大量 ROS,自由基同膜脂质不饱和脂肪酸作用致膜脂质过氧化,一方面导致内质网应激,激活内质网 caspase12, caspase12 在无 Cyt-C 的参与下激活下游的 caspase9 和 caspase3,级联反应发生;另一方面内质网应激释放大量的 Ca<sup>2+</sup>,引起胞浆 Ca<sup>2+</sup> 超载,而大量的 Ca<sup>2+</sup> 从胞浆进入线粒体导致其膜的结构及通透性改变,其结果是 Cyt-C 的过度释放,进而激活 caspase9 和 caspase3,级联反应发生,引起少突胶质细胞凋亡。研究表明,CSCI 中少突胶质细胞(OL)凋亡是诱发脱髓鞘病变的重要原因之一,而脱髓鞘病变是 CSCI 继发性损伤的重要病理改变之一。因此,如何抑制少突胶质细胞凋亡,是控制 CSCI 病情发展的关键。虾青素是目前发现的最强的天然抗氧化物质,具有强大的自由基清除和抗凋亡能力,但关于虾青素对 CSCI 脱髓鞘病变的影响尚未见报道。

**【设计思路】** 本实验通过自制脊髓压迫器,建立脊髓压迫性损伤大鼠模型,对虾青素抗 OL 凋亡及其机制进行研究。

**【实验内容】** (1)建立 CSCI 大鼠模型,根据 BBB 评分法进行神经行为学评定。(2)LFB 染色观察脱髓鞘病变,并用神经纤维髓鞘计数法计数。(3)分别利用 TUNEL 和化学发光法检测 OL 凋亡数量和自由基含量的变化。(4)利用荧光双标分别检测少突胶质细胞中 Cyt-C、caspase-12 和 caspase-3 的表达变化,利用 Ca<sup>2+</sup> 荧光剂测量细胞

内游离  $\text{Ca}^{2+}$  的浓度,激光共聚焦检测线粒体内  $\text{Ca}^{2+}$  的浓度,在分子生物学层面上对 CSCI 中 OL 的凋亡机制以及虾青素的作用途径进行研究。

**【材料】** 雄性 SD 大鼠,脊髓压迫器,高纯度虾青素等。

**【可行性】** (1)本课题组成功研制脊髓压迫器,并取得专利 ZL:200520009289X;稳定性高,可靠性强。(2) LFB 染色显示虾青素治疗组脱髓鞘病变显著低于 CSCI 组,初步证明虾青素可明显减轻 CSCI 后所导致的脱髓鞘病变。

**【创新性】** (1)首次将虾青素应用于 CSCI 的研究和治疗,并取得初步成果;(2)对少突胶质细胞凋亡的内质网途径和线粒体途径进行研究,并把两条途径联系起来。

**关键词:** 虾青素;脊髓压迫;脱髓鞘;自由基;少突胶质细胞

## B-S1-35

# 关节应力平衡失调对大鼠膝关节退变的影响

张影<sup>1</sup>,林毅<sup>2</sup>,颜赫<sup>1</sup>,张才新<sup>1</sup>,时晓迪<sup>1</sup>;指导教师:金利新

1. 青岛大学 2011 级临床医学

2. 青岛大学 2011 级医学影像

**【立论依据】** 骨性关节炎(osteoarthritis, OA)是严重威胁人类健康与生活质量的慢性退行性骨关节病。经典的 OA 动物模型是以膝关节直接损伤为前提,研究多局限于疾病的某一阶段及单一组织,对疾病的进展及关节各组织间的变化规律缺乏完整的认识。设计更接近临床 OA 发病过程的动物模型并综合观察,对系统认识 OA 的演变从而更有效的防治、避免“脚痛医脚”具有重要意义。

**【设计思路】** 资料显示,本体感觉功能重建可以改善 OA 的病情,提示感觉障碍与 OA 存在某种联系。可以设想,反射弧传入受阻会引起关节周围肌肉张力及肌力改变,关节静止及运动过程处于非生理状态,可造成关节软骨应力平衡失调,引发关节一系列改变。观察这些改变的先后顺序及特点并探讨其可能存在的内部联系有助于对 OA 发病过程的全面认识。

**【实验内容】** 实验组选择性切断大鼠右侧 L3、L4 脊神经后根,正常对照组不进行手术。于术后 2、6 和 10 周取大鼠膝关节液并处死,取右侧完整膝关节,分离关节囊及韧带、半月板、股骨下端、胫骨上端、髌骨,制作组织石蜡切片。常规 H-E 染色、番红 O/固绿染色观察骨组织学改变及特点;免疫组化染色对各组织 IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$ 、MMP-1 的表达进行观察分析。观察不同时期膝关节各构件的变化特点及规律。

**【材料】** 10 周龄雄性 Wistar 大鼠,石蜡切片机,显微镜,相关试剂,图像分析系统。

**【可行性】** 预试验结果显示,随时间推移,实验组大鼠关节软骨依次出现表面粗糙、细胞排列紊乱、潮线复制、漂移和中断;透明软骨层变薄、钙化层逐渐增厚( $P < 0.05$ )甚至骨化;软骨下骨板厚度及骨小梁体积分数早期显著降低,后逐渐恢复并呈增大趋势( $P < 0.01$ ); TNF- $\alpha$ 、MMP-1 阳性细胞见于关节软骨中层,随时间推移,表达呈递增趋势( $P < 0.01$ );软骨下骨未见典型 TNF- $\alpha$ 、MMP-1 阳性细胞。显示关节软骨与软骨下骨可能存在不同的变化机制。

**【创新性】** 创建非关节构件直接损伤 OA 动物模型,避免创伤性骨关节炎嫌疑;在时间和空间上全面认识 OA 发病及进展,更好地认识 OA 进程的关键靶点和机制。

**关键词:** 关节应力平衡失调;OA;感觉缺陷;TNF- $\alpha$ ;MMP-1