

## B-S1-48

## 过量氟对人成骨细胞骨分化功能的影响

陈亚茹,郝子怡,张之璐,潘娟;指导教师:张亚楼

新疆医科大学 2012 级临床医学

**【立论依据】** 过量氟能够引起氟中毒,例如氟骨症和氟斑牙。氟骨症可致关节韧带钙化,关节强直,活动困难,重病者丧失劳动能力。饮水型地方性氟中毒(简称地氟病)在新疆地区广泛流行,个别地区尤为突出,如阿克苏市 8-12 岁儿童氟斑牙检出率高达 70.8%。虽然该病病因清楚,但是致病机制未明。观察不同剂量氟作用下对成骨细胞内质网应激影响,并在此基础上探讨氟骨症发病可能的发病机制,为氟骨症的早期诊断及治疗提供科学依据。

**【设计思路】** 本文拟从内质网应激和骨分化两方面对体外染氟成骨细胞进行研究,采用 real-time PCR 技术和蛋白质印迹技术分别分析,并对两方面结果进行相关性分析,以期从成骨细胞内质网应激角度了解氟中毒致病机制。采用体外细胞染氟模型,分析不同剂量氟化钠对人成骨细胞成骨分化的直接影响。

**【实验内容】** 不同剂量氟作用下成骨分化因子 COL1A(胶原 I)、OCN(骨钙素)的 mRNA 表达(内参基因 GAPDH)情况如下:当 NaF 剂量为 5 000、10 000 mg/L 时,COL I A2 mRNA 的表达水平( $7.66 \pm 1.34$ 、 $8.96 \pm 2.30$ )均高于对照组( $1.00 \pm 0.04$ ,  $P < 0.05$ );20 000 及 40 000 组,COL I A2 表达( $2.72 \pm 0.23$ 、 $1.47 \pm 0.11$ )与对照组相比,差异无统计学意义( $P$  均  $> 0.05$ )。骨钙素 mRNA 表达在 5 000 mg/L 组( $23.70 \pm 1.20$ )高于对照组( $1.00 \pm 0.01$ ,  $P$  均  $< 0.01$ ),组间比较差异有统计学意义( $P < 0.01$ )。其余三组表达水平( $8.82 \pm 0.20$ 、 $4.23 \pm 0.13$ 、 $1.26 \pm 0.12$ )高于对照,但差异无统计学意义。采用蛋白质印迹法分析内质网应激标志分子 BIP,内参基因  $\beta$ -actin。BIP 的表达从 5 mg/L 至 40 mg/L 呈现明显的随着染氟剂量的增加而升高,4 个剂量组的表达水平均高于对照,尤其是 NaF 20 和 40 mg/L 两组蛋白表达高于对照组近 3 倍。BIP 表达与胶原 I 表达呈现负相关。

**【材料】** 合成引物、RNA 提取试剂、反转录试剂、荧光定量 PCR mix、琼脂糖、TBE 和 DNA marker、核酸染料。

**【可行性】** 以往研究未能将骨转化基因与内质网应激相联系。因此本研究在理论上是合理的。指导教师在内质网应激和成骨分化这两方面均有过研究,是本研究的基础。新疆医科大学有完善实验设施的生物学实验室,能够提供所有实验设备,是完成本项目的物质保障。

**【创新性】** 国内首次研究将染氟成骨细胞内质网应激情况与骨分化联合分析。

**关键词:** 氟;人成骨细胞;内质网应激

## B-S1-49

## 组胺介入鱼藤酮引起的多巴胺能神经元损伤的细胞分子机制

栾艺<sup>1</sup>,高昕妍<sup>1</sup>,白丛霞<sup>2</sup>,郑思涵<sup>3</sup>,陈曦<sup>4</sup>,王佳琪<sup>1</sup>,刘思禹<sup>3</sup>,闫宇<sup>4</sup>;指导教师:刘纯青

1. 大连医科大学 2011 级医学检验

2. 大连医科大学 2011 级临床血液检验

3. 大连医科大学 2012 级医学检验

4. 大连医科大学 2010 级医学检验

**【立论依据】** 帕金森病(Parkinson's disease, PD)是第二常见的慢性神经系统退行性疾病。以往临床及尸检研究发现 PD 病人脑内组胺能系统处在激活的状态,本实验的前期工作发现组胺可加重 6-OHDA 引起的大鼠黑质内多巴胺能神经元的早期退变过程。但黑质是个细胞成分复杂的脑区,包括多种神经元和胶质细胞,而组胺本身

又具有双重身份:即是神经递质,又是炎性介质,这就决定了组胺介入多巴胺能神经元损伤“微环境”的复杂性。本实验试图阐明组胺损伤多巴胺能神经元的细胞机制(黑质内哪些细胞参与)及其下游的分子机制(通过哪些受体或炎性介质起作用)

**【设计思路】** 选取 PC12 细胞及 SH-SY5Y 细胞,作为多巴胺神经元的细胞模型,以鱼藤酮造成细胞损伤,观察组胺及其多个受体拮抗剂对细胞生长的影响,以明确组胺是否直接介入鱼藤酮引起的多巴胺能细胞的损伤及其下游分子机制;选取 Wistar 胎鼠腹侧中脑进行混合神经元培养,以鱼藤酮特异损伤多巴胺能神经元,观察组胺对体系中各细胞成分形态的影响(GABA、Glu、5-HT 能神经元、星形胶质细胞、小胶质细胞),以明确黑质内其他细胞成分是否也组胺参与鱼藤酮引起的多巴胺能细胞的损伤及其下游分子机制。

**【实验内容】** (1)①PC12、SH-SY5Y 细胞的培养;②MTT 法检测组胺及其多个受体拮抗剂+鱼藤酮对 PC12 和 SH-SY5Y 细胞生长的影响;③如有变化,应用流式细胞仪观察细胞凋亡及应用荧光分光光度计观察细胞内钙的变化;④如有变化,蛋白质印迹法观察其下游信号通路上某些蛋白的变化。(2)①Wistar 胎鼠腹侧中脑神经元的培养;②细胞化学染色法观察组胺+鱼藤酮对体系内各细胞成分形态的影响;③如有变化,细胞化学染色法继续观察组胺各受体拮抗剂+鱼藤酮对该变化的影响;④如能明确某个受体介入该变化,蛋白质印迹法观察该受体下游信号通路上某些蛋白的变化;⑤如胶质细胞也有变化,ELISA 法进一步检测胶质细胞释放炎性因子的变化。

**【材料】** PC12 和 SH-SY5Y 细胞株,Wistar 孕鼠,培养液和血清,MTT,组胺及其各种拮抗剂、鱼藤酮、各种蛋白的抗体,Ca 检测试剂盒,ELISA 试剂盒

**【可行性】** (1)申请人指导教师可保证经费充足;(2)指导教师所属院系实验室具备该实验所需的所有仪器设备;(3)已经购得 PC12 和 SH-SY5Y 细胞,并建立 Wistar 胎鼠腹侧中脑混合神经元培养,预实验初步发现:组胺 H1/H2 受体拮抗剂 Pyrilamine/Cimetidine 可以减轻鱼藤酮诱导的 SH-SY5Y 细胞的损伤。原代神经元培养结果显示,组胺可加重鱼藤酮引起的星形胶质细胞及小胶质细胞的增生。即,组胺介入鱼藤酮引起的多巴胺能神经元的损伤,即有直接作用,又有间接作用。

**【创新性】** 本实验试图揭示组胺参与多巴胺能神经元损伤的属性(神经机制或炎性机制),该研究对今后从何种角度寻找神经元保护药物(受体拮抗剂或抗炎药物)具有指导意义。

**关键词:** 帕金森病;组胺;PC12 细胞;SH-SY5Y 细胞;腹侧中脑神经元培养

## B-S1-50

# 构建果蝇疾病模型研究胶质细胞对神经退化的作用机制

吴佳琪,张海芹,史靖涵;指导教师:何淑君

同济大学 2010 级临床医学

**【立论依据】** 神经退行性疾病(neurodegenerative diseases)等病变源于中枢神经系统(CNS,包括脑和脊髓)的神经元丧失以及功能退化,严重危害人类健康,对家庭和社会造成沉重负担。近期研究表明胶质细胞多方参与病变过程,包括神经元的损伤修复,以及自身细胞形态和基因表达上的改变。然而,对于胶质细胞如何参与退行性病变的具体环节所知仍然有限,因此迫切需要建立动物模型,深入阐明其病理机制,提供由胶质细胞角度出发的崭新临床治疗想法与思路。

**【设计思路】** 由于神经退行性疾病的共同特点为行动迟缓,我们选择果蝇爬行模式作为类似的行为指标,同时利用其强大的遗传表达系统,在胶质细胞中抑制不同基因的表达,从而寻找参与的目标基因,明确其在胶质细胞中对神经退化的机制作用。

**【实验内容】** 采用 100 余种不同品系的果蝇进行实验,通过与对照组相比,对果蝇幼虫爬行特点进行观察和统计学分析,筛选出 3 个目标基因:Neuroglian (Nrg), Sytaxis1A (Syx 1A), Damaged DNA binding protein 1 (DDB1)。下一步我们采用免疫组化方法对这些基因的织定位进行分析,明确其在神经元或胶质细胞的位置关系。