

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。

**【材料】** 黑腹果蝇、免疫组化 1 抗: anti-HRP-FITC、BP104(Nrg)、Syx1A; 2 抗: Cy5(mouse)

**【可行性】** 黑腹果蝇具有与人类相似的基因序列与神经结构, 容易进行杂交与系统性的研究, 其爬行更被广泛应用为前瞻性的行动指标, 为从胶质细胞的角度研究神经退行性病变的机理提供了绝佳的在体环境。而其简易的测量行为模式可为神经退行性病变的症状提供基础式的分析, 从中获取理论上的依据。因此, 分析果蝇行为模式从而探讨胶质细胞在神经退化中的作用存在一定可行性。

**【创新性】** 胶质细胞调节神经退行性病变的病理机制成为研究热点, 结合果蝇模式生物的遗传工具与行为模式分析, 我们的项目连接两者领域的专长特点, 为临床治疗与预防提供了创新的思路与策略。

**关键词:** 胶质细胞; 神经退行性疾病; 黑腹果蝇; 爬行模式

## B-S1-51

# LCVS1002 诱导大鼠视网膜变性

刘弋维; 指导教师: 徐国彤, 吕立夏

同济大学 2011 级临床医学

**【立论依据】** Müller 细胞的胶质化是很多视网膜变性疾病共有的病理过程, 抑制胶质化能够保护视网膜。课题组前期研究表明 LCVS1002 在早期实验性糖尿病视网膜膜(diabetic retinopathy)病变大鼠的玻璃体中明显升高, 我们推测 LCVS1002 可能参与了 DR 的视网膜变性。

**【设计思路】** 体内试验: 检测正常 SD 大鼠和 STZ 诱导的糖尿病大鼠的视网膜组织中 LCVS 1002 和 GFAP 的表达; 在 SD 大鼠过表达 LCVS1002 以及在 DR 大鼠视网膜 knockdown-LCVS1002 检测其视网膜结构和功能的变化。体外试验: 以 661w 细胞为研究对象, 检测 LCVS1002 对神经视网膜作用的可能机制。

**【实验内容】** (1) 选用正常 SD 大鼠, 采用视网膜免疫荧光方法检测出生后 1~6 周视网膜 LCVS1002、GFAP 的表达。(2) 选用正常 SD 大鼠, 对照组腹腔注射枸橼酸缓冲液, 实验组注射链脲佐菌素(STZ), 采用视网膜组织免疫荧光检测造模成功后的第 1~7 天视网膜 LCVS 1002 和 GFAP 的表达。(3) 选用正常 SD 大鼠, 在出生后 10 d 实验组视网膜下腔注射 LCVS1002 腺相关病毒(AAV2/8), 对照组注射相同滴度空病毒载体, 采用视网膜电生理、组织免疫荧光和 TUNEL 方法在 4、6 周分别检测视功能、LCVS1002、GFAP、Recoverin 的表达和视网膜细胞的凋亡情况。(4) LC3-II 腺病毒感染 661W 细胞后 24 h, 用 LCVS1002 处理, 检测自噬。

**【材料】** 体内实验材料: 雄性 SD 大鼠, 由同济大学医学院实验动物中心提供。体外实验材料: 661W 细胞系。

**【可行性】** 实验所用病毒由公司商品化提供, 实验所用技术包括视网膜下腔注射、免疫荧光、细胞培养是实验常规技术, 能够保证实验顺利开展。

**【创新性】** 首次证明 LCVS1002 能够引起 DR 视网膜变性, 参与 DR 早期的病变, 有望作为一个 DR 的生物标记物(biomarker)。

**关键词:** LCVS1002; 视网膜变性; 胶质化; 糖尿病视网膜病变

## B-S1-52

# 人源脂肪干细胞治疗小鼠脊髓损伤的研究

周志<sup>1</sup>, 唐丹粒<sup>2</sup>, 李涵<sup>3</sup>; 指导教师: 高山峨

1. 同济大学 2012 级临床医学七年制

2. 同济大学 2012 级临床医学七年制

3. 同济大学 2013 级临床医学贯通培养

**【立论依据】** 脊髓损伤(SCI)是一种高致残率、高耗费的多发重症疾病。相比现有治疗方式, 干细胞替代治疗