

【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¹,唐丹粒²,李涵³;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

前景广阔、效果更佳,且人源脂肪干细胞(hADSCs)取材容易、无免疫原性、无伦理争议,是临床治疗 SCI 引起神经功能丧失疾病的理想种子细胞。

【设计思路】 建立小鼠 SCI 模型,体外分离培养 hADSCs,将其诱导分化为运动神经细胞(hADSCs-MN)并注入小鼠受损脊髓内;通过行为学评分(BMS)、动物电生理、组织病理学观察等方法追踪 hADSCs 或 hADSCs-MN 在损伤脊髓内的迁移去向、分化方向和功能整合情况。

【实验内容】 hADSCs 的分离、纯化、培养并鉴定,体外诱导 hADSCs 为 hADSCs-MN 并鉴定,其中,hADSCs-MN 用表达绿色荧光蛋白的慢病毒标记简称 ANF,未诱导的 hADSCs 用相同慢病毒标记简称 AF,hADSCs-MN 用过表达 Thymidine Kinase 及 mCherry 荧光蛋白的单纯疱疹病毒标记简称 ANH,未诱导的 hADSCs 用相同单纯疱疹病毒标记简称 AH。C57 雌鼠采用显微镜下钳夹法钳夹脊髓 T9 节段造模,术前 1 天及术后记录 BMS 评分直至处死,造模 1 周后分五组(分别为注射 ANF、AF、ANH、AH 的 A、B、C、D 实验组各 10 只和注射 PBS 的对照组 10 只)。细胞注射后第 7 周取每组部分小鼠注射 Ganciclovir(杀死过表达 Thymidine Kinase 的 ANH 和 AH 组细胞),另取部分小鼠注射 WGA 和 BDA,所有小鼠通过动物电生理检查神经传导通路恢复情况。细胞注射后第 8 周对所有小鼠进行灌注取脊髓,常规制片,通过 WGA 及 BDA 逆行、顺行神经示踪剂示踪外源细胞在损伤脊髓内的功能整合情况;通过用神经细胞标记物 MAP2、GFAP 及运动神经元标记物 ChaT、HB9、Islet 进行免疫组化观察脊髓生理状态及外源细胞在脊髓内的迁移去向、分化方向和功能整合情况。

【材料】 50 只 6 周 C57 雌性小鼠;人源脂肪;诱导液;双抗;手术及显微外科器械;立体定向仪等。

【可行性】 相关文献已证实 hADSCs 具有多向分化潜能,可帮助恢复受损神经功能,Suelen 等证实钳夹型 SCI 造模法可取,预实验手术成功率达 94%。

【创新性】 采用模拟性强、稳定性好、精确性高的显微镜下钳夹法造模;巧妙设置多组对照,对 hADSCs 以及 hADSCs-MN 对 SCI 的治疗效果进行探究,为临床上 SCI 的治疗方案提供实验基础。

关键词: SCI;人源脂肪干细胞;诱导分化

B-S1-53

痒行为共情的中枢神经机制

庞丽¹,孙蓬飞²,李政³;指导教师:张玲
同济大学 2011 级临床医学

摘要: 共情(empathy)是一个个体可以通过自身的共感,同构出他人的情感状态,同时明白这种情感状态属于别人。本研究意在探究建立痒行为共情的啮齿动物模型的可行性,并进一步研究岛叶在痒行为共情中的作用以及 pERK 的分子机制。通过向小鼠颊部皮下注射 5 μg/μL 的组胺溶液,共 10 μL,致痒其中一只小鼠而可以引起另一只同笼小鼠抓痒次数显著增加。分别在 16 只 8 周龄 ICR 雌性小鼠和 16 只雄性小鼠上进行实验后,发现上述现象在同笼的雌性小鼠明显,但在同笼的雄性小鼠上无此现象。另外,16 只 8 周龄雌性 ICR 小鼠设置阴性对照后观察到,与注射安慰剂 PBS 同笼的小鼠抓痒行为未增加。同时,为进一步研究上述现象在中枢神经系统的机制,我们选用 pERK 作为神经元活化信号,对小鼠全脑进行免疫组织化学染色,显示前岛叶、前扣带、蓝斑、杏仁核高度活化。通过向共情鼠的前岛叶定位注射喹啉酸而将其损毁后,发现其不再产生共情痒。向共情鼠的岛叶定向注射病毒感染相应区域神经元后,改变其基因表达从而使氯离子通道持续开放而抑制该脑区,发现其不再产生共情痒。因此,本实验提示,痒行为可通过共情而产生,而这种共情痒在雌性小鼠中现象更加显著。并且,在共情痒产生的过程中,前岛叶、前扣带、蓝斑、杏仁核都被激活。

关键词: 痒;共情;前岛叶;磷酸化的胞外信号调节激酶 pERK