

22;Byun 等则发现 Rv0315(一种新的 MTB 抗原)可促进 DC 的成熟进而诱导 Th1 型免疫应答。而 38KD 蛋白作为 MTB 的一种具有强免疫原性的免疫原,其对树突状细胞的影响尚不清楚。本课题通过体外诱导表达 MTB-38KD 蛋白,刺激小鼠 DC,研究其相关分子的变化情况,以明确 38KD 蛋白对 DC 的功能影响。

【设计思路】 构建 38KD 载体,诱导蛋白表达纯化后体外刺激小鼠 DC,在不同时间点检测 DC 相关分子表达情况。

【实验内容】 38KD 蛋白基因从 MTB 提取扩增验证后,将其构建到 pET28a 质粒上转入大肠杆菌 BL21(DE3),IPTG 诱导蛋白表达并纯化,以不同浓度 38KD 蛋白刺激小鼠骨髓源 DC,在不同时间点用流式细胞术检测表面 CD11c、B7、MHC-II 等分子表达、ELISA 检测培养上清 IL-4、IL-10、IL-12、IFN- γ 分泌情况。

【材料】 昆明小鼠、MTB 菌株、质粒 pET28a、BL21(DE3)、DNA 纯化试剂盒、质粒提取试剂盒、SDS-PAGE 配胶所需试剂、相关细胞因子 ELISA 检测试剂盒、荧光标记抗体(抗 CD11c、B7、MHC-II)等。

【可行性】 已有研究表明 MTB 的抗原成分与 DC 有关,38KD 蛋白作为 MTB 的主要免疫原,极有可能对 DC 的功能有一定的影响;项目组已构建 38KD 蛋白原核表达载体,并参与发表相关科研文章,具有一定的结核研究基础,并可提供相关理论和技术支持。

【创新性】 本课题首次观察 MTB-38KD 蛋白对小鼠 DC 的影响,为后续抗 MTB 感染机制的研究提供理论基础。

关键词: 结核分枝杆菌;38KD 蛋白;原核表达;树突状细胞

B-S3-3

梔子柏皮汤与阿苯达唑对肝吸虫感染大鼠肝胆管的保护作用

林 添,邓 威,陈 鹏;指导教师:李 娟

赣南医学院 2012 级临床医学

【立论依据】 肝吸虫可引起宿主肝胆管炎症,严重感染导致门脉区肝纤维组织增生和肝细胞萎缩变性。阿苯达唑广泛应用于肝吸虫病治疗,但存在与成虫寄生部位隔离、副作用大、患者依从性不佳等不足。梔子柏皮汤具有消炎、抗菌、解热、护肝、利胆等作用。

【设计思路】 本研究拟用梔子柏皮汤和阿苯达唑按析因设计治疗肝吸虫感染模型大鼠,通过观察各组大鼠的胆汁分泌量、肝功能血清学指标及肝胆管组织病理学改变,初步探讨梔子柏皮汤和阿苯达唑对肝胆管的影响及其相互作用,为其临床应用提供实验依据。

【实验内容】 (1)建立肝吸虫感染大鼠模型;(2)动物分组及处理:动物按 2 \times 2 析因设计分组,各治疗组接受相应药物治疗,模型组取等量生理盐水灌胃,平行操作;(3)胆汁引流术测胆汁流量;(4)腹主动脉取血,检测血清谷丙转氨酶 (ALT)、谷草转氨酶 (AST)、总胆红素 (TBIL)、透明质酸酶 (HA)、层粘连蛋白 (LN) 和 III 型前胶原 (PC III) 水平;(5)大鼠肝胆管组织病理学检查。

【材料】 (1)含肝吸虫囊蚴的麦穗鱼;(2)180~220 g SD 大鼠 50 只;(3)梔子、黄柏、甘草;(4)透明质酸酶 (HA)、层粘连蛋白 (LN) 和 III 型前胶原 (PC III) 试剂盒。

【可行性】 (1)梔子柏皮汤具有护肝利胆、消炎抗菌的作用,阿苯达唑可杀灭肝吸虫成虫,本研究从消灭病原体和保护宿主两方面联合用药以增强疗效,在理论上具备可行性;(2)本课题预实验中已成功建立肝吸虫囊蚴感染大鼠模型;(3)课题组成员已掌握动物实验技术;(4)实验室具备相应的实验设备和器材。

【创新性】 本实验首次采用析因设计的方法来研究梔子柏皮汤与阿苯达唑对肝吸虫感染大鼠肝胆管的影响,既探讨梔子柏皮汤对肝吸虫感染大鼠的保肝利胆作用,又探讨阿苯达唑对肝吸虫的直接杀灭效果,并分析梔子柏皮汤与阿苯达唑之间的交互作用。实验结果可为梔子柏皮汤临床应用于肝吸虫病的治疗提供科学依据。

关键词: 梔子柏皮汤;阿苯达唑;肝吸虫感染;肝胆管