

## A-S1-29

## 艳山姜挥发油对 LPS 诱导的 HUVECs 炎性损伤保护作用实验研究

文 波<sup>1</sup>, 杨光燕<sup>2</sup>, 付凌云<sup>1</sup>, 刘小红<sup>1</sup>, 令狐克刚<sup>3</sup>, 石廷雨<sup>3</sup>; 指导教师: 沈祥春, 张彦燕

1. 贵阳医学院 2009 级医学生物技术
2. 贵阳医学院 2010 级医学生物技术
3. 贵阳医学院 2010 级药学

**【目的】** 研究艳山姜挥发油(essential oil from *Alpinia Zerumbet*, EOFAZ)对脂多糖(LPS)诱导的人脐静脉内皮细胞(human umbilical vascular endothelial cells, HUVECs)炎性损伤的保护作用。

**【方法】** 体外培养 HUVECs, 以 LPS 复制 HUVECs 炎性损伤模型。MTT 法分析探讨 LPS 复制模型的浓度与时间。预先 1 h 给予艳山姜挥发油, 采用吉姆萨染色(Giemsa staining)进行形态学观察, MTT 分析细胞存活率, 生化酶学法分析培养上清液乳酸脱氢酶(LDH)活力和 NO 含量; 酶联免疫法分析白介素 1(IL-1)、白介素 6(IL-6)、内皮素 1(ET-1)的释放。

**【结果】** 与空白组(control)比较, 模型组(LPS, LPS 15  $\mu\text{g}/\text{mL}$  作用 12 h)致 HUVECs 损伤。与模型组比较, 艳山姜挥发油高(HD, 4  $\mu\text{g}/\text{L}$ )、中剂量组(MD, 1  $\mu\text{g}/\text{L}$ )、低剂量组(LD, 0.25  $\mu\text{g}/\text{L}$ )均可升高 NO 含量, 降低 LDH 外漏, 减少 IL-1、IL-6 和 ET-1 释放。

**【结论】** 艳山姜挥发油对 LPS 诱导的 HUVECs 炎性损伤具有保护作用。

**关键词:** 艳山姜; 脐静脉内皮细胞; 脂多糖; 乳酸脱氢酶; 一氧化氮

## A-S1-30

## 牛磺酸对青春前期大鼠睾丸缺血再灌注损伤的保护作用

张建华<sup>1</sup>, 张莹斌<sup>1</sup>, 施一波<sup>1</sup>, 徐忠娇<sup>1</sup>, 葛蕾洁<sup>1</sup>, 寿梦娜<sup>1</sup>, 裘磊<sup>2</sup>; 指导教师: 张金萍

1. 绍兴文理学院医学院 2011 级临床医学
2. 绍兴文理学院医学院 2011 级医学检验

**【目的】** 探究牛磺酸对青春前期大鼠睾丸扭转复位后缺血再灌注损伤的保护作用。

**【方法】** 将 32 只 4 周龄健康雄性 SD 大鼠, 随机分为假手术组、生理盐水组、单次给药组(300 mg/kg)、连续给药组(300 mg/kg), 每组 8 只, 建立左侧睾丸扭转复位动物模型(720°, 2 h)。生理盐水组与给药组于复位前 30 min 分别腹腔注射生理盐水与牛磺酸, 连续给药组术后每天注射一次牛磺酸注射液, 连注 7 d。于术后 6 周处死所有实验动物, 取两侧睾丸, 剔除睾丸附着筋膜, 冷生理盐水洗净血污后滤纸拭干、称重。采用化学比色法检测睾丸组织中总抗氧化能力(T-AOC)及一氧化氮合酶(NOS)活性, 羟胺法检测超氧化物歧化酶(SOD)活性, TBA 法检测丙二醛(MDA)含量。

**【结果】** (1)与假手术组比较, 生理盐水组的睾丸系数有所减少, 差异无显著性( $P > 0.05$ ); 与生理盐水组比较, 单次给药组和连续给药组的睾丸系数均有所增加, 差异无显著性( $P > 0.05$ ); 与同侧生理盐水组比较, 单次给药组和连续给药组手术侧、对侧的睾丸系数均有所增加, 差异无显著性( $P > 0.05$ )。与同组对侧比较, 手术侧睾丸系数有所下降, 差异无显著性( $P > 0.05$ )。(2)与假手术组比较, 各组睾丸组织(除连续给药组 SOD 活性) SOD、T-AOC、NOS 活性均下降, MDA 含量升高, 其中生理盐水组各指标差异显著( $P < 0.05$ ); 与同侧生理盐水组比较, 单次给药组手术侧和对侧 SOD、T-AOC、NOS 活性均升高, MDA 含量降低, 其中手术侧 MDA 含量差异显著( $P < 0.05$ ); 与同侧生理盐水组比较, 连续给药组手术侧和对侧 SOD、T-AOC、NOS 活性均升高, MDA 含量降低, 差异

显著( $P < 0.05$ )。与同组手术侧比较,两给药组 SOD、T-AOC、NOS 活性、MDA 含量均升高,其中连续给药组 SOD 活性、单次给药组 T-AOC 活性差异显著( $P < 0.05$ )。

**【结论】** 牛磺酸可以通过有效清除氧自由基、保护氧化酶活性和抑制脂质过氧化,对青春前期大鼠睾丸缺血再灌注损伤有明显的保护作用,并对其对侧睾丸组织损伤亦有一定的保护作用,且连续给药明显优于单次给药。

**关键词:** 睾丸;缺血再灌注;氧自由基;牛磺酸;青春前期;大鼠

## A-S1-31

# BMPs 与 wnt-3a 促进 C3T3-E1 细胞成骨作用的研究

张 晔<sup>1</sup>, 常宇晨<sup>2</sup>; 指导教师:史念珂

1. 天津医科大学 2011 级临床医学七年制
2. 天津医科大学 2012 级临床医学七年制

**【目的】** 在促进 MSCs 骨形成的众多调节因子中,骨形成蛋白(BMPs)家族在胚胎发育及骨骼形成中扮演重要的角色。目前发现的 BMPs 家族成员骨诱导活性中,具有成骨活性的有 BMP2、7、9 亚型。除了 BMP 通路外,wnt 通路在骨形成中也起到了重要的作用。本实验旨在进行 BMP-2/wnt-3a、BMP-7/wnt-3a、BMP-9/wnt-3a 三种联合转染,观察感染后细胞各基因和蛋白的干扰效率及细胞体外成骨分化的影响,评价三种转染的成骨分化能力的强弱,并与单独转染效果进行比较。

**【方法】** 以 cDNA 文库为模版,应用 PCR 方法获得 BMP2、BMP7、BMP9、wnt-3a 基因的编码序列,经大肠杆菌转化后抽取质粒,构建基因表达质粒载体,酶切鉴定重组体并且经测序进一步确定。然后用 pLP/VSVG、pLP2、pLP1 质粒与 BMP2、BMP7、BMP9、wnt-3a 共转染 293FT 细胞。包装 pELNS-BMP2、BMP7、BMP9、wnt-3a 后转染小鼠间充质干细胞 MC3T3-E1 细胞,GFP 荧光证实转染效果。茜素红染色检测钙结节,蛋白质印迹和 real-time PCR 检测成骨相关基因(Runx2)的表达水平,鉴定各成骨诱导因子的单独转染效能。最后用双基因联合转染(BMP-2/wnt-3a、BMP-7/wnt-3a、BMP-9/wnt-3a 三组)MC3T3-E1 细胞,GFP 荧光证实转染效果;应用 ELISA 检测 MC3T3-E1 细胞培养上清中 BGP 和 ALP 的表达水平;应用 real-time PCR 检测 Runx2 mRNA 的表达水平;应用蛋白质印迹法检测蛋白的表达水平,鉴定双基因联合转染的成骨分化效能。

**【结果】** pELNS-BMP2、pELNS-BMP7、pELNS-BMP9、pELNS-wnt3a 表达质粒构建成功。重组慢病毒 pELNS-BMP2、pELNS-BMP7、pELNS-BMP9、pELNS-wnt3a 构建成功,成功转染 MC3T3-E1 细胞;Runx2 表达水平:BMP2>BMP9>BMP7;茜素红染色显示 BMP-2 钙结节数量最多。双基因联合转染 MC3T3-E1 细胞,GFP 荧光证实转染成功;蛋白质印迹与 real-time PCR 法显示三组联合转染 Runx2 表达水平比单独转染明显上升,且联合转染 Runx2 表达水平:BMP-2/wnt-3a>BMP-9/wnt-3a>BMP-7/wnt-3a; BGP 表达与 ALP 表达亦然。

**【结论】** BMPs 能促进间充质干细胞向成骨细胞分化,其中 BMP2 成骨效果最好。而 BMPs 与 wnt-3a 的联合转染成骨效果高于单独转染,说明 BMP 通路与 wnt 通路有协同作用。其中 BMP-2/wnt-3a 双基因联合转染比另两种转染(BMP-7/wnt-3a 和 BMP-9/wnt-3a)成骨效能更高。这为组织工程骨重建研究提供了重要的理论依据和技术支持。

**关键词:** 骨形成蛋白;wnt 通路;骨组织工程;骨再生