

**【实验内容】** 查阅文献,寻找可注射水凝胶体系,参照临床要求对材料进行改造,从而达到更优化的成胶条件;将改造后的水凝胶进行大鼠皮下注射实验,检测大鼠血常规及病理切片,初步评估水凝胶的毒理情况;利用蠕动泵构建不同血流动力条件,进行栓塞试验,评估水凝胶的机械性质;接着构造兔颈动脉瘤以及猪脑血管畸形模型,进行 DSA 手术,评估体内治疗效果;筛选出最优材料后进行临床随机对照试验,构造猪脑动脉畸形模型,随机分入弹簧圈、Onyx 胶新材料治疗组,DSA 手术干预,随访半年后,结合各项检测数据进行评价。

**【材料】** 兔颈动脉瘤模型、猪脑动脉畸形模型、流变仪、智能蠕动泵、微导管、微导丝球囊、血常规分析仪、病理切片相关仪器、DSA 手术配套设施

**【可行性】** 目前已合成四种符合临床要求的栓塞材料,并在 DSA 技术下进行体内试验,结果显示栓塞效果好,血管炎性反应小,进一步试验已顺利开展中。

**【创新性】** 本项目的创新点主要体现在以下几方面:(1)跨学科合作优势;(2)已有材料的改造及其新应用;(3)临床新材料效果评价。与传统治疗方式相比较,结合临床各项指标,对新材料的临床效果作一初步评价,为后续试验提供基础。

**关键词:** 栓塞术;脑动脉畸形;动脉瘤;水凝胶

## B-S6-2

# 利用新型神经元荧光成像技术 mGRASP 实时观察突触结构的动态变化

任 君<sup>1</sup>,白春晟<sup>2</sup>,刘 旭<sup>3</sup>;指导教师:叶海虹

1. 首都医科大学 2009 级基础医学五年制
2. 首都医科大学 2011 级基础医学五年制
3. 首都医科大学 2012 级基础医学五年制

**【立论依据】** 突触虽然是神经系统重要的功能单位,但针对突触的通用研究方法仍具有一定局限性,有待完善改进,为加深对突触发生、病变现象及机制的研究,本实验设计建立创新性研究方法,实现体外动态观察神经元突触结构的变化。

**【设计思路】** 本实验引入新型培养装置 Microfluidic Chamber 和跨突触结构重组 GFP 荧光蛋白对 mGRASP 实现神经元突触体外动态观察。Microfluidic Chamber 有双侧培养空间,由微通道相通,仅能允许神经元轴突通过,同时根据流体动力学原理其双侧液体不会发生混合。mGRASP 全称为 mammalian GFP reconstitution across synaptic partners,包括 Pre 和 Post 两个蛋白,分别携带 GFP 蛋白的一部分,当二者距离约为 20 nm 左右时,能重组 GFP 发出绿色荧光,反之则无荧光信号。Pre 和 Post 通过 neurexin 和 neuroligin 固定表达在突触前膜和突触后膜上,利用突触间隙约为 20 nm 且小于正常细胞间距的原理,用绿色荧光特异性标记突触,体外动态观察突触结构。

**【实验内容】** 本实验在新型培养装置 Microfluidic Chamber 进行孕 17 天小鼠胎鼠皮层神经元原代培养,体外培养 6~7 d,在两侧分别加入携带 mGRASP Pre 和 Post 基因的慢病毒感染神经元,基于 Microfluidic Chamber 良好的液相分隔性,能做到两侧分别表达 Pre 和 Post 蛋白,而不会出现二者同一细胞中共表达的情况。培养 4 周左右,表达 Pre 的神经元轴突穿过微通道与另一侧表达 Post 的神经元接触,形成突触后即可在突触间隙发出绿色荧光。可在培养基中加入神经营养因子或药物,体外动态观察生理、病理刺激对突触结构的影响。

**【材料】** 实验动物为孕 17 d ICR 小鼠;Microfluidic Chamber 购自 Xona Microfluidics 公司,货号为 RD450;mGRASP 基因由 Dr. Jinhyun Kim 惠赠。

**【可行性】** 在 Microfluidic Chamber 中进行神经元原代培养为已掌握技术;mGRASP 蛋白已在细胞中表达,能检测到绿色荧光,证明实验可行。

**【创新性】** 由于突触结构的特性和通用标记方法大多具有细胞毒性,目前尚无较好办法实现神经元突触的体外动态观察,mGRASP 作为荧光蛋白无明显细胞毒性,表达后仍可进行长期观察。mGRASP 的应用必须基于 Pre 和 Post 独立表达,一旦在同一细胞中共表达即可发出绿色荧光,失去特异性标记突触的作用,因此 mGRASP 多通过定位注射的方式应用于在体实验,本实验设计创新性的利用 Microfluidic Chamber 良好的液相分隔性,实现了 mGRASP 的体外应用,进而动态观察突触结构。

**关键词:** 神经元突触;Microfluidic Chamber;mGRASP;动态观察

## B-S6-3

# 去细胞肝支架诱导大鼠损伤肝脏再生的研究

饶志恒<sup>1</sup>,黄俊杰<sup>1</sup>,李若冰<sup>2</sup>,陈 纳<sup>3</sup>;指导教师:梅 劲

1. 温州医科大学 2011 级临床医学

2. 温州医科大学 2013 级临床医学

3. 温州医科大学 2012 级临床医学

**【立论依据】** 基于结合国内外对肝脏去细胞的研究及前期的基础,利用肝脏去细胞支架在体内诱导损伤肝组织的修复与再生。以解决肝功能衰竭供体缺乏,在外科手术后损失修复与再生的空缺。

**【设计思路】** 制造肝损伤模型研究去细胞支架对于肝脏损伤修复及再生的作用。

**【实验内容】** 通过外科手术造成大鼠肝脏损伤,移植去细胞支架修补创面;检测去细胞基质内生长因子含量与移植后支架内细胞的类型;观测移植后肝脏形态及内部结构的改变与蛋白表达情况。

**【材料】** 去细胞肝脏支架。

**【可行性】** 去细胞支架相较于其他生物材料具有完全模拟机体细胞的生存环境;去细胞支架含有的一系列黏附分子及生长因子是细胞与组织再生的关键因素;运用去细胞支架体外培养细胞已初具成效。

**【创新性】** 相较国外针对去细胞支架的体外研究,体内移植能模拟真正的体内生理环境;运用新型生物材料修复肝损伤。

**关键词:** 去细胞;肝脏;细胞外基质;组织工程;组织再生

## B-S6-4

# 利用脱细胞骨软骨纤维支架形成可修复软骨缺损的软骨-骨复合组织

王安琪<sup>1</sup>,丁一鸣<sup>1</sup>,林紫珊<sup>1</sup>,王 鸯<sup>1</sup>,张嘉威<sup>2</sup>;指导教师:周叶方

1. 中南大学 2011 级临床医学

2. 中南大学 2011 级医学检验

**【立论依据】** 目前,因自体软骨组织修复力极其有限,故对软骨缺损的治疗是临床上的一大难题。现在的治疗方式多为手术移植治疗,包括自体骨移植,单一软骨组织移植以及高分子材料支架移植,但存在损伤大,细胞存活率低和机体相容性差等不足。对此,体外构建一种克服传统治疗缺点的新的组织工程材料显得极其重要。

**【设计思路】** 因自体骨移植损伤大,故设计体外构建组织材料;因单一软骨组织移植机体相容性差,故设计构建软骨骨复合组织;因软骨细胞存活率低,故设计构造脱细胞骨软骨纤维支架种植细胞,提供骨、软骨细胞最佳生长微环境。所以,实验设计体外利用异体脱细胞骨软骨纤维支架构建软骨-骨复合组织,再移植到动物体内生长,