

从而提供一种治疗软骨缺损性疾病的新的组织工程材料。

【实验内容】 (1)分离、纯化与培养兔骨髓中的间充质干细胞。(2)体外脱细胞处理家兔髌骨股骨侧的骨软骨块构建骨软骨纤维支架,对支架进行力学测试、镜下观察、异体免疫性观测等。(3)将间充质干细胞移植到脱细胞支架上,利用支架双层存留细胞外基质的诱导作用在骨和软骨层分别诱导干细胞分化形成成骨细胞和软骨细胞。(4)将得到的复合组织移植到裸鼠背部皮下,跟踪观测组织直径大小变化、生长状况、组织构成等。(5)构建兔膝关节股骨关节面软骨缺损模型,进行移植手术,持续观测实验对象膝关节活动度及应力性、影像学表现,最后做缺损修补处切片镜下观察对比,分析评估实验构建组织工程材料是否优于传统移植材料。

【材料】 实验动物家兔、裸鼠;30 g/L 戊巴比妥钠、胎牛血清、0.35 mmol/L 苯甲基磺酰氟、1% TritonX-100 等。

【可行性】 实验动物和相关试验方法为常规操作,且已有相关实验基础。

【创新性】 实验设计的骨软骨复合组织克服了传统移植所用单一软骨组织机体相容性低和细胞存活率低的缺点,可以实现从试验台到临床的转化医学概念,为软骨缺损性疾病的移植治疗提供思路,有重要的临床意义。

关键词: 脱细胞骨软骨纤维支架;骨软骨复合组织;软骨缺损修复;新型移植材料

B-S6-5

纳米短肽系统对子宫损伤高效修复过程的机制研究

于华婧¹,刘运成²,赵天鑫³,张姗姗⁴,龚剑萍⁵,李盈盈⁶,蒋初犁⁷,胡代星⁷,杜灼龙⁸,曾利平⁹;

指导教师:罗忠礼

1. 重庆医科大学 2011 级基础医学
2. 重庆医科大学 2012 级基础医学
3. 重庆医科大学 2010 级临床医学儿科方向
4. 重庆医科大学 2011 级临床医学
5. 重庆医科大学 2009 级临床医学
6. 重庆医科大学 2010 级基础医学
7. 重庆医科大学 2010 级临床医学
8. 重庆医科大学 2013 级生物信息学
9. 重庆医科大学 2013 级基础医学

【立论依据】 目前,临床上主要依靠清宫术、抗生素抗感染等措施来处理人流损伤,虽然诊疗器械升级快、新药问世频繁,但用于术后子宫康复的有效疗法仍为空白。本方案以“纳米短肽”为平台,探索高效修复子宫损伤的过程及机制,对提供新的临床干预技术和方法意义重大。在子宫损伤修复过程中,生长因子(GF)对内膜再生起重要作用。目前,国内主要研究人流手术方式及镇痛方案,刮宫术后多主张自愈,忽视损伤修复的质量研究。国际较早从 GF 着手,推动损伤的高效愈合,但传统工艺制备难而价格高、控释靶点不明,能投入相关临床实践的 GF 及其控释机制探索报道甚少。原因在于:定量调控损伤修复 GF 方面的研究较少,基础研究如高通量、高纯度 GF 生产技术没有突破,组织创伤的三维修复研究也不成熟等。D 型短肽可自组装成纳米纤维并形成水凝胶,可支持细胞三维生长,还可维持 GF 及能量物质的缓慢控释。“纳米短肽-兔网织红细胞无细胞蛋白质系统”作为 GF 制备的新途径前景广阔。

【设计思路】 采用“纳米短肽-Cell free 体系”,制备 bFGF;利用 bFGF 修饰短肽,得到纳米网络水凝胶;最后通过 SD 大鼠子宫损伤修复实验,确认短肽修饰前后的实际效果,洞察其机制并建立“纳米三维微环境-GF 损伤快速修复”的假说,为临床应用打下基础。

【实验内容】 (1)利用“短肽-Cell free 体系”,制备 bFGF。(2)合成、连接、纯化得到含修饰 bFGF 的纳米短肽。(3)短肽理化检测,自组装效能及 GF 控释分析。(4)构建 SD 大鼠子宫损伤模型,评估修复效果,建立数学模型和

假说。

【材料】 SD大鼠、新西兰大白兔、PET系列载体、短肽。

【可行性】 目标短肽模板获得国家专利授权,本方案是对其理论和应用的创新。本方案拥有“短肽-Cell free体系”及其相关技术规范。预实验中,动物实验模型损伤修复效果明显。

【创新性】 应用“短肽能量泵”优化“cell-free体系”,制备GF。采用短肽控释GF,对子宫损伤进行快速修复。将GF制备与子宫损伤修复整合为一套完备的修复策略,在控制炎症反应、减少瘢痕产生、保护子宫上实现突破,国内外尚无报道。

关键词: 纳米短肽; cell-free技术; 子宫损伤修复; bFGF

B-S6-6

Sihler's 肌内神经染色法显示皮肤内神经的改良设计

张旗, 孙迎, 杜星志, 邓代进; 指导教师: 杨胜波

遵义医学院 2012 级临床医学

【立论依据】 Sihler's 肌内神经染色法可在保持肌肉完整的情况下,肉眼清晰地观察肌内神经的三维分支分布规律。然而,关于皮肤内神经的分布,目前只是一些组织学上的证据。本小组曾用该法染色皮肤内神经,试图通过肉眼就能观察到皮肤内神经的分布规律,但尚未使之浸解透明。有资料表明:提升氢氧化钾和过氧化氢的浓度可加强皮肤漂白和缩短时间;皮肤内富含大量 I、III 型胶原蛋白,是否因为这些胶原蛋白阻碍了浸解步骤? 我们曾用 20% 硫酸浸解肌块 3 d 后,肌块软化并能顺利分出完整的单根肌纤维。为此,本研究拟改良 Sihler's 肌内神经染色法的浸解步骤,使皮肤浸解透明,希望通过肉眼就能观察到皮肤内的神经分布规律,以期为临床上神经损伤及麻醉的定位提供解剖学依据。

【设计思路】 本研究拟设计:(1)3% 氢氧化钾和 3% 过氧化氢浸解皮肤 4 周,常规的 Sihler's 染色法步骤和浸解浓度作对照;(2)先用 5% 氢氧化钾和 8% 过氧化氢浸解皮肤 2 周,再加入 0.25% 的 I、III 型胶原蛋白酶和 0.25% 胰酶浸解 2 周;(3)在 5% 氢氧化钾和 8% 过氧化氢溶液中同时加入 0.25% I、III 型胶原蛋白酶和胰酶浸解皮肤 4 周;(4)皮肤先置入 20% 的硫酸浸泡 3 d,再 5% 氢氧化钾和 8% 过氧化氢浸解 4 周。改良目的是促进皮肤透明。待皮肤透明后,续以下 Sihler's 染色步骤,即脱钙、染色、脱色、中和、透明等。

【实验内容】 改良 Sihler's 肌内神经染色法显示人体躯干、四肢等处皮肤内的神经分布。

【材料】 陈尸上的胸部、腹部、手掌面、大腿等处的皮肤;改良 Sihler's 染色法所需试剂。

【可行性】 本小组曾用 Sihler's 肌内神经染色法清晰显示肌内神经分布,对该方法有很深入的了解;方案的提出是在前期工作积累、预实验以及阅读了国内外大量资料的基础上设计的;已进入正式实验,出现了改良后皮肤质地较软和能被透明的征象,能达到预期目的。

【创新性】 清晰显示皮肤内神经的分布规律,提供前所未有的、肉眼可见的解剖学证据,为临床上神经损伤及麻醉的定位提供科学依据。

关键词: Sihler's 染色法; 改良; 皮肤; 神经分布