

组心肌 SIRT2 表达水平及其活性;RIP1 的乙酰化水平。采用免疫共沉淀方法检测 RIP1-RIP3 复合物(necrosome)水平;免疫组化方法检测下游分子 MLKL 的质-膜转位;再灌注后测定心肌梗死面积。采用成年 SIRT2 KO 和 RIP3 KO 小鼠建立心肌 I/R 平行实验,分析 SIRT2 介导的促坏死在心肌缺血易损中的关键作用。进而,采用心肌点注射腺病毒或 siRNA 上调/下调成年和老年心肌 SIRT2 的表达,在整体水平明确衰老状态下心肌 SIRT2 对 I/R 心肌 Necroptosis 以及心肌损伤的影响。运用离体心脏灌流结合 SIRT2 特异阻断剂 AGK2 和 Necroptosis 抑制剂 nec-1,建立成/老年小鼠离体心脏 I/R 模型。在器官水平探讨干预 SIRT2 介导的 Necroptosis 能否抑制衰老心肌死亡。再则,建立体外心肌细胞缺氧/复氧(H/R)模型,使用 AGK2 或 nec-1 处理细胞;采用细胞动缘探测系统观察单心肌细胞收缩舒张功能;流式细胞仪检测 PI 和 Annexin V 双阳性细胞定量检测心肌 Necroptosis 程度与细胞存活率。在细胞水平阐明干预 SIRT2 介导的 Necroptosis 促进衰老心肌存活的分子机制。

【材料】 成年(4 个月龄)及老年(22 个月龄)C57 小鼠。

【可行性】 老年组 I/R 心肌 SIRT2 活性显著增高,RIP1 乙酰化水平随之降低,necrosome 水平升高,MLKL 细胞质-膜转位增加(均 $P < 0.05$)。离体灌流实验发现,AGK2 可有效抑制老年 I/R 心肌 SIRT2 活性,减小老年组心肌损伤。心肌细胞实验显示,抑制 SIRT2 介导的 Necroptosis 可提高 H/R 后心肌存活率(均 $P < 0.05$)。现有的实验结果表明本设计切实可行。

【创新性】 我们有望首次证实:SIRT2 介导的 Necroptosis 加重是老年心肌缺血易损性增加的重要原因;针对性的抑制心肌 SIRT2 可显著改善衰老心肌抗 I/R 损伤能力。本研究将为降低老年缺血性心脏病患者的心肌损伤提出新的干预靶点。

关键词: 衰老;缺血再灌注;程序性坏死;SIRT2

B-S1-9

氯胺酮对 SD 幼鼠未成熟神经细胞 CREB 元件的影响

谢明峰,翁彦颖,龚鑫;指导教师:刘潜,徐仙赞

赣南医学院

【立论依据】 氯胺酮是常用儿科麻醉药物,近年,其临床安全性日益受到关注。大量动物实验提示其对未成熟神经细胞有毒性作用,但机制尚不清楚。课题组在与哈佛大学合作的前期研究中发现氯胺酮可能通过上调 CyclinD1 异常启动细胞周期,导致神经细胞凋亡,但如何上调 CyclinD1 尚未知。另有研究显示糖原合成酶激酶-3(GSK-3)可能参与氯胺酮诱导的神经细胞凋亡;已知 GSK-3 β 可激活环磷腺苷反应元件结合蛋白(cAMP-response element binding protein, CREB),后者可在转录水平上调 Cyclin D1。那么,氯胺酮是否可通过 GSK-3 β -CREB 通路,上调 Cyclin D1,异常启动细胞周期,从而导致未成熟神经细胞凋亡呢?如能证实这一推测,对临床合理使用氯胺酮具有重要参考价值。

【设计思路】 作为上述系列研究之一,本课题主要探讨 CREB 是否参与了氯胺酮对未成熟神经细胞毒性作用,同时辅以行为学指标探讨氯胺酮对幼鼠短期神经毒性影响,为后续机制研究奠定基础。在本课题组前期建立的 P7SD 幼鼠模型中,探讨氯胺酮对未成熟神经细胞 CREB 蛋白环节的影响,同时辅以行为学指标探讨氯胺酮对幼鼠短期神经毒性作用。

【实验内容】 (1)取 P7SD 幼鼠,腹腔注射等体积不同浓度氯胺酮。(2)观察氯胺酮对 P7 幼鼠短期神经毒性作用。(3)分别用免疫组化法和蛋白质印迹法检测皮层及海马 CREB 蛋白表达及磷酸化水平。

【材料】 P7 幼鼠、氯胺酮和免疫组化及蛋白质印迹实验等相关材料。

【可行性】 (1)理论依据充分:文献及前期研究支持该假设;(2)实验技术可行:本课题涉及的动物模型建立,腹腔注射、皮层及海马的取样、免疫组化、蛋白质印迹等均为成熟技术;(3)团队稳定:所在团队人员及方向稳定,目前承担着国家自然科学基金课题及与哈佛大学合作课题等重大项目,具备丰富的相关研究经验和基础。

【创新性】 首次以 P7SD 幼鼠为模型,探讨 CREB 是否参与氯胺酮致未成熟神经细胞毒性作用,为后续研究奠定基础。

关键词: 氯胺酮;环磷腺苷反应元件结合蛋白;凋亡

B-S1-10

Nogo-A 分子对 Neuro2A 细胞突起生长的作用研究

王世伟¹,张 箴²;指导教师:米亚静,张 妮

1. 西安医学院 2010 级精神卫生

2. 西安医学院 2011 级预防医学

【立论依据】 少突胶质细胞来源的 Nogo-A 分子,作为中枢神经系统损伤后重要的轴突抑制因子备受关注。近年来发现 Nogo-A 在神经元中呈现高表达,但是对于神经元中 Nogo-A 的自主性功能尚在起步研究阶段。我们更加关注, Nogo-A 在神经元发育中潜在的功能。

【实验内容】 选择丙戊酸钠(VPA)诱导的神经母细胞瘤 Neuro2A 作为细胞分化模型,首先,考察 Nogo-A 分子在 Neuro2A 细胞未分化组,不同时间分化组中的表达模式;其次,利用 RNA 干扰技术下调 Neuro2A 细胞中内源性 Nogo-A,考察细胞分化比例以及分化细胞中突起长度的变化情况。

【材料】 Neuro2A 细胞系,VPA,DMEM 培养基,胎牛血清,培养皿,Nogo-A 抗体,免疫印迹相关耗材,shRNAs。

【可行性】 前期文献调研扎实。西安医学院科研平台拥有细胞培养室,可满足本实验中的细胞系培养。上述抗体已购置,针对 Nogo-A 的 shRNAs 已合成好。指导教师长期从事神经元分化与保护方面的研究,可提供了强有力的技术保障和实验指导。

【创新性】 少突胶质细胞表面的 Nogo-A 通过与神经元表面的 NgR 结合,激活 RhoA-ROCK,进而抑制突起生长。近来大量的数据显示,神经元中的 Nogo-A 表达丰富,可能参与调控神经元的发生、分化。基于文献报道,本研究拟利用 VPA 诱导的 Neuro2A 细胞分化模型,明确 Nogo-A 在 Neuro2A 细胞分化过程中的表达变化,进一步利用 RNA 干扰策略下调内源性 Nogo-A 表达,通过细胞分化和突起生长的指标分析 Nogo-A 对 Neuro2A 细胞分化的影响,为研究神经元中 Nogo-A 的自主性功能提供依据。

关键词: Nogo-A;神经元分化;突起生长;神经元发育;Neuro2A

B-S1-11

激活 AMPK 对心肌纤维化的保护作用及其机制的研究

孙玉喜,宋家起,朱宇航;指导教师:戚汉平,孙宏丽

哈尔滨医科大学(大庆校区)2010 级精神医学

【立论依据】 心肌纤维化的治疗一直是困扰着国民的一大难题。心肌纤维化主要表现为:心脏重量、容积增加及形态的改变。初始阶段这种改变还能维持有效的心脏功能。长期纤维化,会导致心脏顺应性降低,最终导致心力衰竭发生。因此,如何抑制心肌纤维化的发生是改善心功能,是避免心力衰竭的关键。但是,目前临床上对心肌纤维化的治疗仍不能令人满意。心肌纤维化的主要病理改变之一,是心肌成纤维细胞(CF)的过度增殖。所以,控制心肌纤维化的关键,就是控制成纤维细胞的增殖。抑制成纤维细胞的增殖,我们就必须从成纤维细胞的细胞周期寻求突破点。正常细胞分化周期可分为 G₁、S、G₂、M 四个时期。其中影响细胞进程的关键时期,是 G₁ 期向 S 期转化和 G₂ 期向 M 期转化。目前,研究最多的是 G₁ 期向 S 期转化,其过程主要是关键蛋白 Rb,进而激活转录因