

## B-S1-16

## 左归降糖益肾方对 2 型糖尿病肾病小鼠的肾脏保护作用及基于 Rho/ROCK 信号通路改善足细胞损伤的影响

米 婷<sup>1</sup>, 何溪沁冰<sup>2</sup>, 刘震宇<sup>3</sup>, 林政桦<sup>1</sup>, 陈佳芳<sup>3</sup>; 指导教师: 喻 嵘, 吴勇军

1. 湖南中医药大学 2010 级中医临床专业
2. 湖南中医药大学 2008 级中医临床专业
3. 湖南中医药大学 2012 级中医临床专业
4. 湖南中医药大学 2011 级临床医学专业

**【立论依据】** 观察左归降糖益肾方对 2 型糖尿病肾病(DN)小鼠血糖、血肌酐、尿素氮、尿微量白蛋白及 Rho、ROCK 蛋白表达的影响研究左归降糖益肾方对 2 型糖尿病肾病小鼠的肾脏保护作用及基于 Rho/ROCK 信号通路改善足细胞损伤的影响。

**【设计思路】** MKR 转基因 2 型糖尿病小鼠给予高脂饮食联合右侧肾切除建立糖尿病肾病模型。观察左归降糖益肾方对 DN 小鼠血糖、肾功能及 Rho、ROCK 蛋白表达等的影响研究其是否具有保护 DN 肾脏的作用及是否通过抑制 Rho/ROCK 信号通路改善足细胞损伤。

**【实验内容】** 8 周龄 MKR 小鼠 50 只随机分为 5 组, 空白组(A 组)、DN 组(B 组)、DN+左归降糖益肾方组(C 组)、DN+Rho/ROCK 信号通路抑制剂 Y-27632 组(D 组)、DN+糖适平+贝那普利组(E 组)。B、C、D、E 组给予高脂饮食联合右侧肾切除造模。手术后 2 周开始给药。C 组小鼠给予中药提取液灌胃治疗 30 d。D 组小鼠给予 Y-27632 腹腔注射 15 d(隔天注射)。E 组给予糖适平+贝那普利灌胃治疗 30 d。A、B 组则以等体积蒸馏水灌胃。30 d 后处死小鼠。电化学法检测小鼠空腹血糖, 全自动生化仪检测尿素氮、血肌酐, ELISA 法测定尿微量白蛋白, 免疫组化及蛋白质印迹法测定肾脏组织 Rho、ROCK 蛋白表达, 光镜观察肾小球形态结构, 电镜观察足细胞形态结构。

**【材料】** MKR 小鼠、左归降糖益肾方、贝那普利、糖适平、Y-27632、高脂饲料等。

**【可行性】** 课题组前期研究表明高脂饮食联合右侧肾切除的 MKR 转基因 2 型糖尿病小鼠是良好的糖尿病肾病模型; 左归降糖益肾方具有改善糖尿病肾病的作用。国内外研究中均表明抑制 Rho/ROCK 信号通路具有保护糖尿病肾脏的作用。故本实验基于 Rho/ROCK 信号通路研究左归降糖益肾方对糖尿病肾病的作用机制具有可行性。

**【创新性】** (1)MKR 转基因 2 型糖尿病小鼠给予高脂饮食联合右侧肾切除建立糖尿病肾病模型。(2)近年来研究发现 Rho/ROCK 信号通路在糖尿病肾病发生发展过程中起重要作用。本实验基于 Rho/ROCK 信号通路探讨左归降糖益肾方对糖尿病肾病足细胞损伤的影响。

**关键词:** 左归降糖益肾方; Rho/ROCK 信号通路; 糖尿病肾病; 足细胞

## B-S1-17

## 维生素 A 对小鼠肝再生的作用及其作用机制探索

王力翔, 谢 艳, 葛少白, 赖 轩; 指导教师: 王 林

北京协和医学院 2010 级临床医学

肝细胞具有很强再生能力, 视黄醇对于肝再生的作用目前还没有定论。通过几条途径, 推测维 A 可能促进肝再生。在术前采用视黄醇灌胃探索其对肝再生的作用及其可能机制。

**【立论依据】** 肝细胞具有很强的再生能力, 而一些物质能够诱导肝细胞再生的加强。视黄醇能够促进肝细胞

再生可能通过两个途径:一是视黄醇是 ADH 的底物之一,而氧化产生的视黄醛又是 ALDH 的底物之一。饲喂视黄醇可能能够诱导肝细胞 ALDH 活性的增强,从而避免肝切产生的胞内脂肪醛类物质对于肝细胞的损伤;二是视黄醇的代谢产物视磺酸可以促进一系列与细胞分裂分化相关的基因的表达,从而促进肝细胞再生。

**【设计思路】** 在小鼠肝切术前给予维生素 A 刺激,与对照组对比,检测维 A 对于小鼠肝再生是否有作用,并在此基础上进一步探索相关可能的机制。

**【实验内容】** 取 6-8 周雄性小鼠分为六组:A-C 组在术前 24、48、72 h 进行视黄醇灌胃处理,D-F 组在同样时间用大豆油灌胃。A、D 组术前另外腹腔注射 ALDH2 拮抗剂 Daizin。B、E 组术前另外腹腔注射 ALDH2 激动剂 alda-1。50%肝切。在术后 48、96、144 h 分别处死一批小鼠,测量残肝重、ALDH2 活性、血清转氨酶浓度等指标检测肝脏的再生情况。

**【材料】** 动物:C57 6-8 周小黑鼠;器械:小动物手术器械;小鼠胃灌流器、纱布,酒精棉球;鼠笼,鼠粮,鼠板;1.5 mL ep 管;试剂:戊巴比妥钠;酒精;全反式视黄醇(维生素 A);生理盐水;Daizin(ALDH2 拮抗剂);alda-1(ALDH2 激动剂)

**【可行性】** 纵观整个实验,最大的困难在于肝切术的实现。对此,进行了预实验。选择小鼠左前叶和左中叶,进行肝叶蒂部结扎 50%肝切除。经过多次手术操作观察,目前手术成功率高,确立了手术的可操作性。而其余的操作都比较容易实现。

**【创新性】** 大多数研究都是关于药物长期处理对于肝脏的影响,很少有关于急性大剂量药物处理对于肝再生影响的研究。另外,视黄醇能否通过激活 ALDH2 来促进肝脏再生的机制也是首次验证。

**关键词:** 视黄醇;肝再生;ALDH2

B-S1-18

## PINK1 低表达诱导线粒体自噬障碍致糖尿病缺血心肌易损及机制

孙嘉星<sup>1</sup>,丁家琦<sup>1</sup>,钮春子<sup>2</sup>;指导教师:季乐乐,张海锋

1. 第四军医大学 2010 级临床医学八年制
2. 第四军医大学 2010 级口腔医学八年制

**【立论依据】** 糖尿病患者发生缺血性心脏病(IHD)后心肌损伤程度明显高于非糖尿病患者,但其具体机制尚待阐明。线粒体自噬是细胞通过自噬机制选择性清除线粒体的过程,对于维持线粒体功能和细胞生存至关重要。新近研究表明,线粒体激酶 PINK1 可通过线粒体融合蛋白 Mfn2 募集并结合 E3 泛素连接酶 Parkin,介导线粒体自噬。然而,PINK1 在糖尿病心肌中的表达变化及其介导的 Mfn2-Parkin 通路在心肌缺血损伤中的作用尚不清楚。

**【设计思路】** 本课题拟在整体和细胞水平研究 PINK1 在糖尿病心肌中是否低表达、并引发线粒体自噬障碍,进而增加糖尿病缺血心肌易损性。

**【实验内容】** (1) 高脂饲料(45%脂肪含量)喂养 C57BL/6 小鼠 16 周,建立 2 型糖尿病(T2DM)小鼠模型。(2) 在对照和 T2DM 小鼠构建心肌缺血(MI)模型,观察缺血心肌损伤、心肌 PINK1-Mfn2-Parkin 信号变化、线粒体自噬及线粒体功能。(3) 分离乳鼠心肌细胞,高糖/高脂培养,利用腺病毒转染过表达 PINK1 或 RNAi 技术剔除 PINK1 表达,研究 PINK1 介导的线粒体自噬与心肌细胞缺氧损伤的关系。

**【材料】** C57BL/6 小鼠,SD 乳鼠,线粒体膜电位测试盒,TUNEL 凋亡检测试剂盒,蛋白质印迹、RNA 干扰、腺病毒转染所需试剂等。

**【可行性】** 我们成功制备了 T2DM 小鼠模型;预实验结果提示,与对照组相比,T2DM 小鼠心肌 PINK1 表达减少,且 MI 后心肌线粒体自噬水平显著降低,心肌缺血损伤加重( $P < 0.05$ )。过表达 PINK1 可有效增加高糖/高脂培养心肌细胞的线粒体自噬,减少缺氧心肌细胞凋亡( $P < 0.05$ )。以上结果强烈提示,PINK1 的低表达通过影