

## B-S1-36

## H<sub>2</sub> 受体阻断剂在缓解和治疗胃食管返流症中的作用

冯雯卿, 易懿; 指导教师: 胡优敏

上海交通大学医学院 2010 级临床医学八年制

**【立论依据】** 胃食管返流症(GRED)是临床上常见疾病之一,约占总体人群的 1/3~1/2。据调查,上海地区成人胃食管反流相关症状发生率为 7.68%,GRED 患病率为 3.86%。文献研究表明,反酸可刺激食管粘膜 5-羟色胺的分泌,导致食管平滑肌收缩协调受损,减少回流物质的清除,引起食管粘膜的损伤和食管炎。H<sub>2</sub> 受体阻断剂类药物对胃肠道黏膜具有保护作用,临床上用于 GRED 的保护性治疗,然而作用机制并不是十分明确。

**【设计思路】** 通过离体和整体动物实验,观察 H<sub>2</sub> 受体阻断剂对下食管括约肌的作用,明确其在缓解和治疗 GRED 中的作用。在离体实验方面,我们用大鼠的下食道括约肌肌条的收缩紧张性、频率及幅度的变化来反映药物的作用和效果。在整体实验方面,利用 NO 对大鼠进行胃食管反流症的急性造模,通过观察食管粘膜的损伤直观反映受损结果,同时做药物的对比。

**【实验内容】** 制备大鼠下食道括约肌离体标本,在 Krebs 溶液中,加入不同浓度法莫替丁、奥美拉唑、西咪替丁。记录下食道括约肌的肌张力和收缩频率,观察加药后药物对下食道括约肌的影响。采用硝酸甘油对大鼠进行急性胃食管反流征的病理建模。

**【材料】** 雄性 SD 大鼠,法莫替丁、奥美拉唑、西咪替丁等 H<sub>2</sub> 受体阻断剂类药物,硝酸甘油。

**【可行性】** 用澳大利亚 AD Instruments 公司的多通道生物信号高速采集系统 PowerLab/8s 和张力换能器记录肌条的收缩。对于食管粘膜的损伤判断也采取直观的方法,具有很强的可操作性。

**【创新性】** H<sub>2</sub> 受体阻断剂一直被认为抑制胃酸生成,而对于下食管括约肌是否具有作用目前没有明确的实验结果,把观察目标锁定在下食管括约肌同时结合整体观察是我们的主要创新。同时,把环状肌肉改成了肌条,能使我们的实验更加直观,有助于排除基础蠕动的的影响。NO 的急性病理造模也是目前在国际上比较前沿的方法。同时通过结合离体实验、整体观察,分析 H<sub>2</sub> 受体阻断剂在 GRED 的影响和作用。

**关键词:** 胃食管返流症; H<sub>2</sub> 受体阻断剂; 法莫替丁; 下食管括约肌

## B-S1-37

## 血管紧张素 II-1 型受体自身抗体直接抑制人肾上腺皮质细胞分泌醛固酮的机制探讨

廖扬<sup>1</sup>, 尹晓辰<sup>2</sup>, 高明阳<sup>3</sup>; 指导教师: 刘慧荣, 张苏丽

1. 首都医科大学 2010 级基础医学

2. 首都医科大学 2011 级基础医学

3. 首都医科大学 2012 级临床医学

**【立论依据】** 子痫前期是妊娠期特发疾病,醛固酮(ALD)水平下降引起的血容量及胎盘灌注不足是子痫前期孕妇病情恶化的主要原因,但 ALD 下降的原因及机制不清。研究发现,子痫前期孕妇体内存在高滴度的血管紧张素 II(AngII) 1 型受体(AT1R)自身抗体(AT1-AA)。AT1-AA 可专一识别激活 AT1R 细胞外第二环表位(AT1R-ECII)肽段,发挥类内源性 AngII 样作用。本实验室前期发现,AT1-AA 与子痫前期患者体内 ALD 呈负相关,且 AT1-AA 可使怀孕及未孕的大鼠血清 ALD 水平降低。提示 AT1-AA 可能通过某种直接或间接机制影响了肾上腺皮质细胞分泌 ALD 的功能。

**【设计思路】** 为排除其他因素对 ALD 分泌的影响,本研究拟通过离体实验探究 AT1-AA 是否可直接作用于肾上腺皮质细胞,干扰 ALD 分泌;如果是,进一步探究参与 ALD 分泌异常的关键酶及信号通路。

**【实验内容】** 将子痫前期患者血清中提纯的 AT1-AA、提纯患者血清中 AT1-AA 后剩余的 IgGs(nsIgG)、正常孕妇血清中提纯的 IgGs(ngIgG)、AngII、AT1-AA+AT1R 阻断剂氯沙坦、氯沙坦,分别作用于人肾上腺皮质球状带 H295R 细胞。不同时间点(6、12、24、48、72 h)后用放射免疫法检测细胞上清液中 ALD 的分泌量。预实验结果显示,AT1-AA 作用于 H295R 细胞 12 h 后上清中 ALD 含量下降,符合预期;然后用蛋白质印迹、RT-PCR、荧光分光光度法分别检测合成 ALD 的两种限速酶——StAR 与 CYP11B2 的含量、转录、活性的变化;用蛋白质印迹法检测介导 ALD 合成的经典信号通路 AT1R-PLC-PIP2-PKC 以及经血管内皮生长因子受体交联激活的 Ras-Raf-MEK-MAPK 通路中重要信号蛋白的变化,并用阻断剂及 siRNA 技术对发生变化的关键信号蛋白的作用进行验证。

**【材料】** H295R 细胞株;DMEM/F12 培养基;氯沙坦;PKC 等信号蛋白单抗等。

**【可行性】** 理论上,已证实 AT1-AA 在体内与 ALD 的水平呈负相关,且肾上腺皮质细胞表面表达 AT1R,因此有 AT1-AA 直接作用于肾上腺皮质细胞并干扰 ALD 合成的可能性。本实验室有支持蛋白质印迹、RT-PCR 等实验相关设备,实验组成员也已掌握相关实验技术。

**【创新性】** 原创性地探究 AT1-AA 直接作用于肾上腺皮质细胞,抑制其分泌 ALD 的能力及其具体信号通路。同时证实 AT1-AA 除发挥类 AT1R 激动剂作用外,在某些病理情况下,也可能发挥与 AngII 相反的作用。

**关键词:** 血管紧张素 II-1 型受体;自身抗体;醛固酮;醛固酮合成酶;子痫前期

## B-S1-38

# 芳香烃受体(Ahr)蛋白介导类风湿关节炎(RA)骨破坏机制研究的实验设计

杜晓楠<sup>1</sup>,佟玉龙<sup>2</sup>;指导教师:袁慧慧,赵文明

1. 首都医科大学 2010 级基础医学

2. 首都医科大学 2009 级基础医学

**【立论依据】** 近年发现,芳香烃受体蛋白(Aryl hydrocarbon receptor, Ahr)与 RA 骨破坏密切相关,可能成为 RA 的潜在治疗靶点。

**【设计思路】** Wnt 信号通路是成骨分化成熟的必需信号,干扰 Wnt 信号通路可显著抑制成骨。我们的前期实验结果显示升高的 Ahr 抑制了成骨细胞的分化发育和功能。为此,我们推测 Ahr 的内源性配体可能会拮抗 Wnt 蛋白与受体的结合;或 Ahr 作为胞内蛋白可能会促进  $\beta$ -catenin 磷酸化降解;以及 Ahr 入核后可能直接或通过抑制 Wnt 信号通路而间接抑制成骨的靶基因转录,最终导致 RA 骨破坏。

**【实验内容】** 本实验将通过测定关节炎小鼠 Ahr 活化后成骨细胞分化成熟中各期标志性分子表达量的变化,明确 Ahr 活化对关节炎小鼠成骨细胞分化、发育和功能的抑制作用;通过测定 Ahr 活化后各期成骨细胞相关转录因子表达量的变化,明确 Ahr 活化对关节炎小鼠各期成骨细胞转录因子的抑制作用;通过测定 Ahr 活化后各期成骨细胞 Wnt 信号通路相关分子表达量的变化,探讨 Ahr 抑制 Wnt 信号通路分子降低成骨的机制;最后通过体内实验评估 Ahr 对关节炎骨破坏的影响。

**【材料】** 胶原诱导关节炎小鼠,分离的小鼠骨髓间充质干细胞,Ahr 激动剂(TCDD)和抑制剂(DIM),real-time PCR、蛋白质印迹、免疫化学染色、流式细胞术、MTT、CHIP 等实验方法中需要的各种试剂及设备。

**【可行性】** 相关文献显示 Ahr 激动剂可抑制成骨细胞分化发育,拮抗 Ahr 可改善关节炎症状,这为深入研究提供了理论依据;我们的前期结果显示 RA 模型鼠关节成骨细胞高表达 Ahr;Ahr 表达量与骨密度负相关,原代培养关节炎小鼠成骨细胞的成熟度下降,这为本实验设计提供了数据支持。