

A-S2-2

人参皂苷 Rg1 对衰老大鼠免疫系统的影响

张力恒,孙嘉政,张 晶,邵 月,冉瑞图;指导教师:王亚平
重庆医科大学 2011 临床医学七年制

【目的】 面临人口老化进程加快和人们寿命提高的趋势,老年人群的健康已经成为社会科学和医学科学高度关注的重大问题。免疫系统衰老是生物体衰老的关键环节,它将导致机体免疫、造血、修复功能障碍和肿瘤发生率提高。本研究阐释人参抗衰老成分 Rg1 对免疫系统衰老调控作用及其相关机理,为防治衰老相关疾病,促进祖国医学发展提供理论与实验依据。

【方法】 建立 D-半乳糖致免疫功能衰退大鼠模型,通过体内注射人参皂苷 Rg1 干预衰老进程。检测以下指标:(1)外周血白细胞与淋巴细胞总数及 CD4⁺/CD8⁺ T 细胞比例;(2)股骨骨髓有核细胞数、细胞增殖与形成 CFU-GM 能力;(3)脾脏、胸腺实质结构比例与衰老细胞比例,脾细胞、胸腺细胞增殖能力,分泌 IL-2/6, TNF-α, GM-CSF 水平和细胞产生活 ROS、SOD、MDA、GSH、GSSH 水平;(4)腹腔巨噬细胞吞噬功能与吞噬指数。

【结果】 连续注射 D-半乳糖能成功建立免疫功能衰退大鼠模型。与衰老模型组大鼠比较,注射人参皂苷 Rg1 使衰老大鼠白细胞和淋巴细胞总数提高,CD4⁺/CD8⁺ T 细胞比例升高;股骨骨髓有核细胞数升高、细胞增殖与形成 CFU-GM 能力提升;脾脏与胸腺实质结构比例增加,衰老细胞比例减少;脾细胞和胸腺细胞增殖能力提高,分泌 IL-2/6、TNF-α、GM-CSF 水平提高,产生 AGEs、ROS、MDA、GSH/GSSG 水平下降,SOD 活性明显回升;腹腔吞噬细胞吞噬中性红能力明显增强,吞噬指数增加。

【结论】 (1)D-半乳糖能成功建立免疫功能衰退大鼠模型;(2)人参皂苷 Rg1 是人参的抗衰老成分,能有效提高免疫系统功能,阻止致衰剂导致的免疫系统衰退,其机理与拮抗 D-半乳糖对免疫系统的氧化损伤密切相关。

关键词: 人参皂苷 Rg1;抗衰老;免疫系统;机理

A-S2-3

双酚 A 暴露经 DNA 甲基化途径影响滋养细胞功能的机制探讨

兰 曦¹,邱喻兰²,谭秋菊²,罗 美¹,刘 佳¹;指导教师:丁裕斌
1. 重庆医科大学 2010 级卫生检验
2. 重庆医科大学 2010 级医学检验

【目的】 本研究采用双酚 A(bisphenol A,BPA)暴露的人滋养细胞模型(绒毛外滋养层细胞系 HTR-8 和合体化滋养层细胞系 Bewo),分析滋养细胞分化及功能相关的重要基因的甲基化修饰及相应基因表达的改变,探索 BPA 暴露对滋养细胞的影响,从而为 BPA 高暴露人群提供科学的优生和生殖健康指导。

【方法】 蛋白质印迹法检测 E-cadherin、N-cadherin、vimentin、GCM-1、systin-1 等蛋白的表达;免疫荧光检测蛋白表达与定位;甲基化测序(BGS)验证 DNA 甲基化差异基因;Transwell 实验检测滋养细胞侵袭能力;RT-PCR 检测滋养细胞功能相关基因 mRNA 水平。

【结果】 粘附相关标志蛋白 E-cadherin 在人滋养细胞侵袭模型 HTR-8 滋养细胞系中弱表达,其编码基因 CDH1 基因启动子呈超甲基化状态。BPA 暴露后,E-cadherin 的表达随 BPA 浓度增加呈梯度上调,侵袭能力标志蛋白 N-cadherin 的表达呈梯度下调。Transwell 实验显示 HTR-8 细胞的侵袭能力随 BPA 浓度增加而逐渐减弱;重亚硫酸盐测序(bisulfite genomic sequence,BSP)结果显示,BPA 暴露后人基因组长重复序列 LINE-1 甲基化程度明显减少,人基因组短重复序列 ALU 甲基化程度无明显变化。蛋白质印迹和免疫荧光结果显示,BPA 暴露的人滋养细胞合体化模型 Bewo 细胞系中,合体化标志蛋白 systin-1 和 GCM-1 的表达随 BPA 浓度增加而逐渐减弱。

【结论】 BPA 暴露可使人滋养细胞侵袭模型 HTR-8 细胞系中粘附、侵袭相关蛋白 E-cadherin、N-cadherin 的表达分别上调和下调,合体化模型 Bewo 细胞系中功能相关蛋白表达降低,这表明随 BPA 浓度增加,HTR-8 细胞侵袭能力逐渐减弱,Bewo 细胞合体化能力也逐渐减弱;伴随人基因组长重复序列 LINE-1 甲基化程度明显降低。研究结果显示,BPA 可能通过 DNA 甲基化途径影响人滋养层细胞侵袭和合体化功能。

关键词: BPA;滋养细胞;DNA 甲基化;侵袭

A-S2-4

穿山龙总皂苷抗 2 型糖尿病的生物活性及分子机制研究

姚 红¹,胡玉鹏¹,张一萌²;指导教师:彭金咏

1. 大连医科大学 2010 级药学

2. 大连医科大学 2009 级临床药学

【目的】 建立大孔吸附树脂法富集高纯度穿山龙总皂苷(TSDN)的制备工艺,并考察其抗 2 型糖尿病(T2DM)的生物活性及分子机制。

【方法】 (1)采用 D101 树脂富集 TSDN,UV 测定粗提物中 TSDN 含量,HPLC 进行主成分定量分析。(2)在 TSDN 抗 T2DM 研究中,采用高脂饮食合并 STZ(30 mg/kg)诱导 T2DM 大鼠,选取空腹血糖高于 16.7 mmol/L 的大鼠随机分为模型组、给药组(200、100 和 50 mg/kg TSDN)和阳性对照组(10 mg/kg,格列本脲),同时设空白组和单纯给药组(TSDN 200 mg/kg),灌胃给药 12 周。测定大鼠体重、饮水(饮食)量和尿量来评价 TSDN 对 T2DM 大鼠能量代谢的影响;测定空腹血糖、血清胰岛素等评价对 T2DM 大鼠血糖的影响;测定血脂水平评价对 T2DM 大鼠血脂的影响;测定自由基水平来考察 TSDN 的抗氧化能力;测定骨密度、肌酐和尿素氮水平评价对 T2DM 引起骨和肾损伤的保护作用;同时进行组织病理学分析,并采用 ELISA 法、real-time PCR 和蛋白质印迹法进行分子机制的研究。

【结果】 (1)在 TSDN 制备中,采用 D101 大孔树脂用 4BV 30%乙醇除杂,12BV 70%乙醇洗脱,产物得率为 3.71%,TSDN 含量为(87.32±5.7)%,其中原薯蓣皂苷、甲基原薯蓣皂苷和薯蓣皂苷的含量分别为(12.3±3.4)%、(23.1±1.9)%和(41.2±2.5)%。(2)在 TSDN 抗 T2DM 实验中,与模型组相比,不同剂量 TSDN 均能显著降低 T2DM 大鼠血糖和血脂水平、饮食(饮水)量;增加大鼠体重、促进胰岛素分泌、改善葡萄糖耐量和胰岛素耐量;组织病理学检查表明 TSDN 可以增加肝糖原储存,减轻肝损伤;同时,能显著清除过量的自由基,并对 T2DM 引起的骨和肾脏损伤也有一定的保护作用。进一步结果表明 TSDN 可降低 GSK-3 β 酶活力,下调 TNF- α 、IL-6 等表达,降低 MAPKs 磷酸化水平,上调 IRS-1、GLUT-4 等表达,并升高 GK 酶活力。

【结论】 建立的 TSDN 制备工艺简单可行,产物纯度高。TSDN 具有较好的抗 T2DM 作用,这种作用是通过调节糖异生和糖酵解关键酶的表达、改善脂质代谢、降低氧化应激水平来实现的,本实验为 TSDN 抗 T2DM 研究提供了实验依据,也为该天然产物的深入研究和开发奠定了基础。

关键词: 穿山龙总皂苷;2 型糖尿病;氧化应激