

A-S2-26

Muse 细胞体外诱导为神经前体细胞的初步研究

王学成¹, 马 萌², 吴煜祺³; 指导教师: 陈 雪, 王晓冬

1. 南通大学 2011 级临床医学

2. 南通大学 2012 级口腔医学

3. 南通大学 2012 级临床医学

【目的】 从成人骨髓中分离出 Muse 细胞, 体外诱导成神经前体细胞, 为细胞移植修复神经系统损伤提供种子细胞。

【方法】 利用密度梯度离心和差速贴壁法从健康成人骨髓中分离、培养骨髓基质干细胞, 通过免疫荧光细胞化学技术和流式细胞仪技术对其进行鉴定; 体外扩增、传代 6 次后利用 Muse 细胞特征性的 SSEA-3/CD105 分子表型阳性, 通过流式细胞仪从骨髓基质干细胞中分选出 Muse 细胞并进行体外培养, 观察其干细胞成球特性; 对 Muse 细胞进行胰蛋白酶孵育, 分析其应激耐受能力; 利用免疫荧光细胞化学技术和 RT-PCR 技术检测 Muse 细胞的多能干细胞标记物表达情况; 通过在培养基中添加成纤维细胞生长因子、表皮生长因子等对 Muse 细胞向神经前体细胞方向进行体外诱导, 观察神经前体细胞的干细胞成球情况, 利用免疫荧光细胞化学技术和 RT-PCR 技术对其进行表型鉴定并观察神经前体细胞标记物的表达情况。

【结果】 从成人骨髓中分离出骨髓基质干细胞, 免疫荧光细胞化学检测和流式细胞仪检测结果显示 CD90 表达阳性、CD45 和 CD11b 表达阴性; 通过流式细胞仪从骨髓基质干细胞中分选出约 0.5% 的 Muse 细胞进行培养, 细胞聚集成球, 悬浮生长, 表现为胰蛋白酶耐受; 免疫荧光细胞化学检测和 RT-PCR 检测结果显示 Muse 细胞表达多能干细胞标记物 Nanog、Oct4、Sox2 阳性; 体外诱导 Muse 细胞向神经前体细胞方向分化, 观察到细胞成球现象, 免疫荧光细胞化学检测和 RT-PCR 检测结果显示诱导后细胞表达神经前体细胞标记物 nestin、 β III-tubulin。

【结论】 从成人骨髓中成功分离出 Muse 细胞, 具有多能干细胞特性, 经体外诱导形成神经前体细胞, 为以后组织工程移植修复神经损伤提供新的种子细胞。

关键词: 骨髓基质干细胞; Muse 细胞; 神经前体细胞

A-S2-27

 β -1,4-GalT V 在体内外施万细胞病理生理过程中的表达及意义

徐 涛¹, 吴珊珊², 张 洁², 张 铭³, 田桂香¹; 指导教师: 严美娟, 张 莉

1. 南通大学 2013 级临床医学

2. 南通大学 2011 级口腔医学

3. 南通大学 2013 级影像学

【目的】 观察 β -1,4-半乳糖基转移酶 V (β 1,4 galactosyltransferase V, β -1,4-GalT V) 在生理病理状态下体内外施万细胞中的表达情况, 探讨 β -1,4-GalT V 在体内外施万细胞中可能存在的生物学作用。

【方法】 (1) 制备大鼠坐骨神经夹伤和切断模型, 利用足趾试验观察坐骨神经功能指数 (sciatic functional index, SFI); 应用腹腔注射脂多糖 (lipopolysaccharide, LPS) 建立炎症模型。通过 real-time PCR 方法, 分析 β -1,4-GalT V mRNA 在损伤及炎症性大鼠坐骨神经中的表达。利用 RT-PCR 扩增 β -1,4-GalT V 基因, 克隆至 pGEM-T 载体, 经体外转录法合成地高辛标记的正、反义 β -1,4-GalT V RNA 探针。通过原位杂交及图像分析, 观察 β -1,4-GalT V mRNA 在大鼠正常、损伤及炎症坐骨神经中的表达变化。采用原位杂交与免疫组化相结合的方法检测 β -1,4-GalT V 的具体细胞定位。(2) 利用 RNAi 和细胞转染等技术干扰 β -1,4-GalT V 在施万细胞中的表达, 运用

Lectin Blot 检测施万细胞在生理和病理状态 N 寡糖链合成情况。

【结果】 (1) β -1,4-GalT V mRNA 在坐骨神经夹伤后 2 周与切断 1 周时表达水平明显增高,与正常对照组及其他各组相比,差异有统计学意义($P < 0.05$),原位杂交结果显示 β -1,4-GalT V 主要表达于 S100 阳性的施万细胞中。 β -1,4-GalT V mRNA 的表达水平与体内炎症模型中 LPS 作用的浓度和作用时间有关,具有剂量和时间依赖性。(2)体外细胞培养时 β -1,4-GalT V mRNA 的表达水平及 N 糖链的合成也与 LPS 的作用时间和作用浓度有关。干扰 β -1,4-GalT V 的表达后可明显抑制 N 糖链的合成。

【结论】 β -1,4-GalT V 主要定位于施万细胞中,与正常生理状态下的施万细胞相比,无论是坐骨神经损伤或炎症等病理状态下体内的施万细胞,还是 LPS 处理的体外培养的施万细胞,其 β -1,4-GalT V 的表达均有不同程度的变化,提示 β -1,4-GalT V 在施万细胞的生理病理过程均发挥重要的作用。干扰了施万细胞中 β -1,4-GalT V 表达后其 N 糖链的合成也显著减少,证实了 β -1,4-GalT V 与 N 糖链的合成密切相关。

关键词: β -1,4-半乳糖基转移酶 V;施万细胞;脂多糖;N 糖链;大鼠

A-S2-28

谷氨酸对 NSCs 向神经元分化的影响

朱明健,叶 蕾,史文秀,刘 瑶,张金灿,杨 洁;指导教师:金国华,衣 昕
南通大学 2012 级口腔医学

【目的】 探讨 Glu 对 NSCs 向神经元分化的影响。

【方法】 分离培养孕 15 d SD 大鼠皮质 NSCs,将传至第 4 代的 NSCs 行 NR1 细胞流式分析并以 1×10^5 个/mL 的密度,接种于置有包被多聚赖氨酸盖玻片的 24 孔培养板各孔内分化培养,分为 control、Glu、Glu⁺ MK-801(0 h)(0 h 加 MK-801)、Glu⁺ MK-801(24 h)(24 h 加 MK-801)组培养 1、3、7、14 d 后行 DCX/Hoechst、TUNEL/Hoechst、MAP-2/Hoechst 免疫荧光双标检测。

【结果】 43% 的 NSCs NMDA 受体主要功能亚基 NR1 阳性;1 d 时 Glu 组、Glu⁺ MK-801(24 h)组 DCX 神经元前体细胞明显多于 control、Glu⁺ MK-801(0 h)组,3 d 时 MK-801(24 h)组 DCX 神经元前体细胞最多,Glu 组 DCX 神经元前体细胞数量有所下降,但多于其余两组,至 7 d 时 MK-801(24 h)组 DCX 神经元前体细胞仍较多,Glu 组 DCX 神经元前体细胞与其余两组差异无统计学意义,14 d 时 4 组几乎未见 DCX 神经元前体细胞,MAP-2/Hoechst 免疫荧光双标检测,MK-801(24 h)组 MAP-2 阳性神经元明显多于其它 3 组;TUNEL/Hoechst 免疫荧光双标显示:3、7、14 d 时 Glu 组 TUNEL 凋亡细胞明显多于其它 3 组。

【结论】 Glu 可通过 NMDA 受体促进 NSCs 向神经元分化,并在神经元成熟过程中促进其凋亡,此作用可被 MK-801 阻断。

关键词: 谷氨酸;神经干细胞;分化;凋亡

A-S2-29

同型半胱氨酸致泡沫细胞形成过程中 miR-148a 与 DNMT1 相互作用的研究

曹慧梅¹,马 媛²;指导教师:徐 华,姜怡邓,田 珏,马胜超

1. 宁夏医科大学 2012 级生物技术
2. 宁夏医科大学 2012 级临床检验

【目的】 探讨 DNMT1 和其特异性 miRNA 二者在 Hcy 致泡沫细胞形成过程中的作用,阐明特异性 miRNA