

候选致病基因进行序列分析,并与 300 例正常对照人群的基因序列进行序列比对。

【结果】 在该家系中,4 例患者均为男性,另有 5 例女性确认为是携带者。测序结果显示,所有患者和携带者中 EDA 基因的第 220 个密码子发生点突变(C→T),造成密码子 CCA 转变为 CTA,对应的氨基酸残基由脯氨酸转变为亮氨酸。同时,在该家系的其他健康成员以及随机选取的 300 例正常对照人群中均未检测到该突变。

【结论】 XLHED 是一种 X 连锁的遗传疾病,目前研究发现 XLHED 的发生发展与 3 个基因有关,分别是位于 Xq12-q13.1 的 EDA、位于 2q11-q43 的 EDAR 和位于 1q42.2-q43 的 EDARADD。本 XLHED 家系是由 EDA 基因突变引起的。已知 EDA 蛋白具有 4 个功能区,包括:跨膜区、弗林蛋白酶切割位点、(Gly-X-Y)19 胶原样结构域、TNF 同源结构域。其中(Gly-X-Y)19 胶原样结构域及 TNF 同源结构域位于细胞外,构成细胞外 C 末端结构域。本课题组所鉴定的突变 c.659C>T 是一个新的,且从未被报道过的错义突变。在 19 个(Gly-X-Y)胶原样结构域中,本次鉴定的突变发生在第 13 个(Gly-X-Y)的 Y 位,造成脯氨酸残基被亮氨酸残基替代。由于脯氨酸和亮氨酸侧链基团的差异,很可能造成肽链上该位点之后氨基酸残基的空间走向改变,影响 EDA 蛋白的空间构象,进而造成 EDA-EDAR 结合障碍,使之无法有效激活 NF- κ B 的信号传导途径。进一步阻断或削弱了外胚层发育所必须的基因表达。本课题的完成将进一步丰富 EDA 基因突变谱,并为 XLHED 致病机制的研究提供新思路和新线索。

关键词: XLHED;EDA;突变;X-连锁

A-S2-39

MiR-497 通过抑制胰岛素受体的表达导致 E3 大鼠 HFD-MetS 模型肝胰岛素抵抗

王美晨¹,李嘉熙¹,刘 鹏²,张 鹏³;指导教师:李冬民

1. 西安交通大学医学部 2010 级临床医学七年制
2. 西安交通大学医学部 2010 级口腔医学七年制
3. 西安交通大学医学部 2010 级口腔医学五年制

【目的】 本实验旨在探究 microRNA 参与调控 E3 大鼠高脂饮食诱导的代谢综合征(HFD-MetS)模型肝胰岛素受体(InsR)表达下降的分子机制。

【方法】 首先根据 microRNA 数据库预测并选择可能调控 InsR 表达的候选 microRNAs,用实时定量 PCR 法检测 E3 大鼠 HFD-MetS 模型肝中这些候选 microRNAs 的表达水平,选择与 InsR mRNA 表达呈负相关的关键 microRNA。然后用该关键 microRNA 的模拟物和抑制剂瞬时转染大鼠肝癌细胞系 CBRH-7919 细胞 24 h。无血清培养基培养 4 h 后,用 100 nmol/L 的胰岛素分别处理上述细胞 0、5、15 min,用实时定量 PCR 和蛋白质印迹检测 InsR、AKT 及磷酸化 AKT 的表达。最后,分别构建包含 miR-497 结合位点和突变结合位点的、野生型和突变型的胰岛素受体 mRNA 3'UTR 区双荧光素酶报告基因载体(简称为野生型载体和突变型载体),用 miR-497 模拟物和抑制剂分别与空载体、野生型载体、突变型载体转染 293T 细胞、观察萤火虫/海肾虫荧光强度比值的相对改变。

【结果】 实时定量 PCR 及相关分析结果显示 miR-497 在 E3 大鼠 HFD-MetS 模型肝中表达显著上调,并与 InsR 表达水平呈负相关。用 miR-497 模拟物瞬时转染 CBRH-7919 细胞 24 h,InsR 的 mRNA 和蛋白质表达水平与对照组相比显著下降,胰岛素处理 5、15 min 后在 ser473 和 Thr308 位点磷酸化的 AKT 与对照组相比也明显下降;而 miR-497 抑制剂瞬时转染后,InsR 的 mRNA 和蛋白质及胰岛素处理后 ser473 和 Thr308 位点磷酸化的 AKT 与对照组相比明显上调,这些结果说明 miR-497 负性调节了胰岛素受体表达。最后用 miR-497 模拟物分别与空载体、野生型载体及突变型载体转染 293T 细胞后,与空载体组相比,野生型载体组相对的萤火虫/海肾虫荧光强度比值明显下降,突变型载体组无变化,而用 miR-497 抑制剂分别与上述三种载体转染 293T 细胞后,野生型载体组结果恰相反、突变型载体组亦无变化;这些结果进一步提示 miR-497 可直接与大鼠 InsR mRNA 的 3-UTR

区结合。

【结论】 在 E3 大鼠 HFD-MetS 模型肝中上调的 miR-497 可能通过抑制胰岛素受体的表达而导致肝胰岛素抵抗的发生。

关键词: miR-497; 胰岛素受体; 肝胰岛素抵抗; E3 大鼠; HFD-MetS 模型

A-S2-40

Z-十八碳-9-烯-丙磺酰胺对脂多糖诱导的 THP-1 细胞炎症因子表达的影响

张琳琳, 罗秀梅; 指导教师: 金鑫

厦门大学 2011 级临床医学

【目的】 动脉粥样硬化(atherosclerosis, AS)是一种慢性炎症性疾病,病变过程中单核-巨噬细胞通过分泌多种细胞因子促进炎症的发生,对 AS 的形成和发展起到重要的作用。因此抑制炎症性单核细胞的产生则成为预防和治疗 AS 病变的关键。本实验室的前期研究证明,油酰乙醇胺(oleoyethanolamide, OEA)作为高效过氧化物酶体增殖物激活受体- α (PPAR- α)特异性内源性配体,能够抑制细菌脂多糖(LPS)诱导的炎症反应,对预防和治疗 AS 具有良好的药理作用。Z-十八碳-9-烯-丙磺酰胺(N15)是一种新合成的化学药物,其化学结构与 OEA 相似,为 OEA 的衍生物,但具体药理作用尚未完全清楚。我们的前期结果表明,LPS 诱导后细胞中炎症因子 IL-6、基质金属蛋白酶-2(MMP-2)及基质金属蛋白酶-9(MMP-9)的表达明显增加,N15 干预后可降低 LPS 诱导产生的 IL-6、MMP-2 及 MMP-9 的蛋白表达水平,并呈现一定的剂量依赖性。在此课题中,我们采用人急性白血病单核细胞(THP-1),观察 N15 对 LPS 诱导的单核细胞炎症因子 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6、MMP-2 及 MMP-9 蛋白表达的影响,并考察 N15 的抗炎作用与 PPAR α 受体的相关性,同时研究 TLR-4 信号转导通路在 N15 抗炎机制中发挥的作用,明确 N15 是否具有抑制炎症反应的生物活性,并进一步阐明其抗炎的相关作用机制,为其治疗 AS 提供理论依据。

关键词: Z-十八碳-9-烯-丙磺酰胺; 炎症因子; PPAR- α ; TLR-4; 动脉粥样硬化

A-S2-41

取向通道胶原支架复合 SDF-1 促进细胞迁移治疗骨软骨缺损的研究

陈鹏飞¹, 陶佳栋², 茅棋江¹; 指导教师: 欧阳宏伟

1. 浙江大学 2010 级临床医学

2. 浙江大学 2010 级自动化控制

【目的】 胶原是治疗骨软骨缺损的一种常用生物材料,但目前所使用的胶原支架的结构大多为无序(random collagen scaffold),不利于自体干细胞向缺损部位迁移以进行缺损修复。基质细胞衍生因子-1(stromal cell-derived factor, SDF-1)可能会促进间充质干细胞向软骨下骨迁移。本研究通过用有取向通道的胶原支架(radially oriented collagen scaffold)替代无序胶原支架并结合 SDF-1 促进干细胞向缺损部位迁移,提高骨软骨缺损修复的疗效。

【方法】 采用胶原冻干和热交联制作了传统的无序胶原支架和有取向的胶原支架,分别用电镜对支架通道进行表征,并进行力学性能、细胞毒性和细胞增殖等检测;通过 HE 染色和 CCK-8 细胞计数检测骨髓间充质干细胞在支架内的迁移;建立新西兰兔骨软骨缺损模型,将两种胶原支架分别复合 SDF-1 移植到缺损部位,分别在 6、12 周收集样本,通过 ICRS 评分、Safranin O 染色以及免疫组化染色检测软骨的再生情况。