



## AQP4在中枢神经细胞水肿中的表达研究

The study of AQP4 expression in the central nervous system edema

立项时间： 2013年

项目组成员：莫永婷（2011级全科）张文艳（2011级临床）

李 蕾（2011级临床）蒋海艳（2011级临床）

周小青（2011级临床）

指导老师：张晓 教授 脊髓损伤与修复

### 项目简介：

脊髓损伤（spinal cord injury, SCI）后会出现水肿、炎细胞增多等反应，脊髓水肿与AQP4有关，但其在SCI后的表达具有什么作用还不是很清楚。本项目采用免疫组化和免疫荧光技术，检测AQP4在水肿的中枢神经系统中不同细胞上不同时间段表达变化，从而研究其导致细胞水肿可能的机制。结果显示，AQP4主要表达于血管内皮、星形胶质细胞和小胶质细胞，但未在炎症细胞上表达。脊髓损伤后6hAQP4的表达量达到最高，随后开始下降，至12h降到最低，在1d后又开始重新上升；AQP4表达与细胞水肿呈一定的正相关。所以AQP4在中枢神经细胞水肿的形成与消失有一定的调节功能。

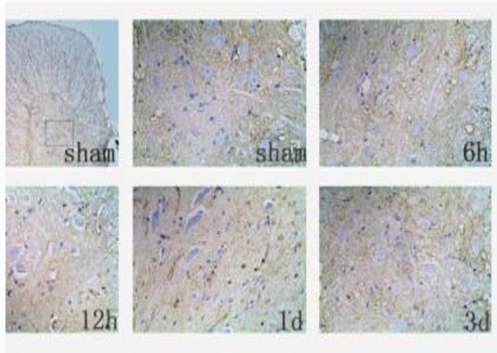


图1. 脊髓损伤后脊髓前角细胞表达

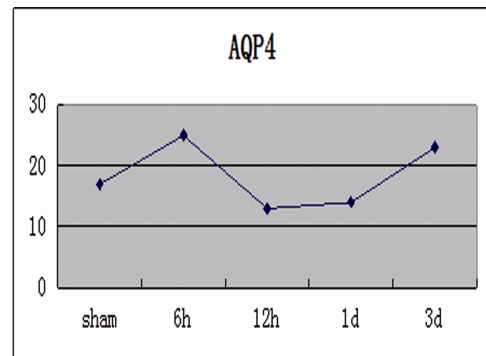


图2. AQP4在脊髓损伤后的细胞表达数

### 创新点

1. 探索AQP4在急性脊髓损伤后的各个时间段的表达变化。
2. 探索脊髓损伤后水肿后AQP4在星形胶质细胞中的表达变化以及在小胶质细胞、炎症细胞上的表达进一步了解脊髓损伤水肿的发生机制以及与炎症的联系。



## 大鼠脊髓机械性顿挫损伤后的病理变化研究

### *The study of pathological changes after mechanical contusion-induced spinal cord injury*

课题来源：基础医学院大学生创新能力提升计划

立项时间：2013年

项目成员：周旭旭（11级临本） 饶莹（10级临本）

黄志翔（10级临本） 林晓莹（11级临本）

指导老师：张晓 教授 脊髓损伤与修复

#### 项目简介

脊髓损伤 (Spinal Cord Injury, SCI) 导致了出血、水肿和脊髓内各种细胞的损伤，这些细胞的功能障碍导致脊髓内环境发生了紊乱，脊髓内环境的紊乱必然会使细胞产生相应的变化，来应对脊髓的内环境变化。那么，脊髓损伤后，脊髓组织和细胞到底发生怎样的变化？目前还不清楚。本实验采用改良的Allen's法制备连续时间点的脊髓钝挫伤动物模型，利用组织芯片技术、免疫组化技术和Q-PCR技术，探讨脊髓组织细胞的病理变化和炎症因子白细胞介素-6 (IL-6) mRNA基因水平上的变化。实验表明，脊髓损伤后第7天是脊髓损伤修复的关键点，渗出的炎性细胞与神经胶质细胞共同参与了脊髓内早期的炎症反应。

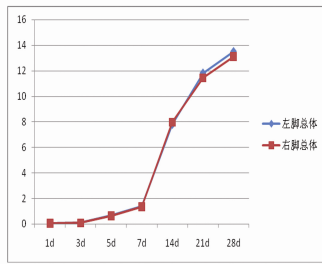


Fig 1. 大鼠运动功能评分趋势图

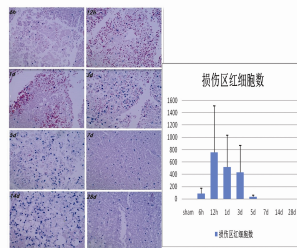


Fig 2. 大鼠脊髓HE染色，红细胞在损伤区的变化

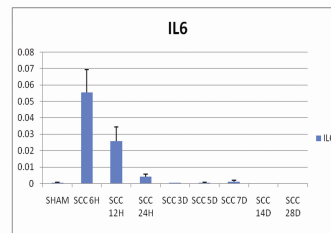


Fig 3. 损伤区IL-6mRNA表达水平

#### 创新点

1. 首次采用自行设计的脊髓组织芯片制备技术，实现了包含18个时间点的组织芯片的制备，不仅消除了免疫组织化学技术长存在系统误差问题，使实验各组间的可比性得以提高，而且提高了工作效率。

2. 首次观察了脊髓损伤后，损伤区的红细胞在第7天停止渗出，损伤区红细胞与大鼠运动功能恢复具有相互影响的关系，为将来的研究提供了新的方向。



























## 慢病毒介导干扰IL-1 $\beta$ 影响AKT1信号通路促进大鼠脊髓损伤后运动功能恢复

立项时间：2013年省级大学生创新计划（201313705029，201313705030）

项目成员：胡析（13级临本）林晓莹（11级临本）李宏涛（12级临本）

指导老师：张晓教授 脊髓损伤与恢复

项目简介：

目的：脊髓损伤是一种由于各种外力所导致的脊髓压迫或断裂，具有高致残率和死亡率。白细胞介素-1 $\beta$ （IL-1 $\beta$ ）作为一种促炎因子，在中枢神经系统中发挥着重要的作用，但通过什么信号通路发挥作用的机制却不清楚。PI3K/AKT信号通路是中枢神经系统中的一条重要通路，它是脊髓组织中神经生长因子发挥修复作用的重要通路，但其在脊髓损伤后的表达变化特点却不清楚。并且，IL-1 $\beta$ 在PI3K/AKT这条信号通路中所起的作用也未见报道。因此，本研究将探讨脊髓损伤后IL-1 $\beta$ 和AKT1的表达变化，以及它们在脊髓损伤修复中的作用。

方法：运用慢病毒介导的micRNA干扰技术抑制IL-1 $\beta$ 的表达；采用Q-PCR技术测定IL-1 $\beta$ 、AKT1以及PI3K的基因表达变化；免疫荧光技术定位IL-1 $\beta$ 和AKT1的表达；Westernblot技术检测干扰前IL-1 $\beta$ 的蛋白表达变化；BBB行为学评分评估脊髓损伤后大鼠运动功能的恢复。

结果：在慢病毒介导的micRNA干扰抑制IL-1 $\beta$ 的表达后，免疫组化结果显示IL-1 $\beta$ 的阳性细胞数相较于对照组明显减少，差异有统计学意义（ $P < 0.05$  图1, 2）。通过免疫荧光双标发现AKT1在脊髓前角神经元表达（图3）。同时，Q-PCR结果显示，AKT1的表达明显增加，差异有统计学意义（ $P < 0.05$  图4）。并且大鼠运动功能也有所恢复（图5）。

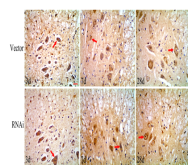


图1 免疫组化显示干扰后IL-1 $\beta$ 的表达分布

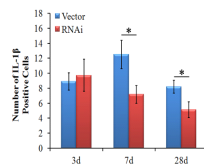


图2 阳性细胞计数显示干扰后IL-1 $\beta$ 表达下降

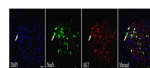


图3 免疫荧光双标显示AKT1在神经元中的表达

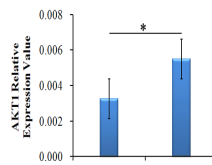


图4 Q-PCR结果显示，AKT1的表达明显增加

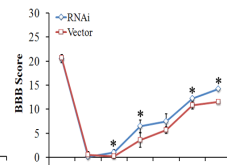


图5 BBB评分显示干扰IL-1后运动功能恢复

意义：本实验首次发现大鼠脊髓损伤之后，如果大鼠进行IL-1 $\beta$ 干预，会促进大鼠体内PI3K/AKT通路中AKT1的上调，进而促进大鼠运动功能的恢复。

创新点：

- 首次发现IL-1 $\beta$ 在PI3K/AKT通路中的作用，进而利用这条信号通路促进脊髓损伤大鼠运动功能的恢复。为今后临床上治疗脊髓损伤提供了新的实验依据。
- 成功构建慢病毒介导的micRNA干扰模型研究IL-1 $\beta$ 对脊髓损伤的影响。

