|  |  |
| --- | --- |
| 成果名称: | 温敏型水凝胶生物支架负载Lingo-1 shRNA促进脊髓损伤修复的研究 |
| 完成单位: | 中山大学 |
| 主要人员: | 万勇、吴洪福、岑景盛、钟茜、任先越、王乐、王珏、叶美红 |
| 介绍: | 课题来源与背景：本课题来源于国家自然科学基金，脊髓损伤轴突再生的困难是由于局部产生的髓鞘抑制因子抑制轴突再生。本课题组前期工作表明，温敏型水凝胶在大鼠脊髓损伤模型中具轴突生长的生物支架和局部递送负载药物的作用。基于髓鞘抑制因子是通NR1/lingo-1/p75（or Troy）信号复合物介导的信号通路激活RhoA抑制轴突再生，而Lingo-1 是该信号复合物发挥活性的基础，在该信号通路起关键作用。    技术原理及性能指标：本课题组成功构建慢病毒载体介导Lingo-1-shRNA拮抗Lingo-1基因，在建立全横断脊髓损伤模型成功后，即刻体内拟采用温敏型水凝胶负载Lingo-1-shRNA协同修复脊髓损伤，使慢病毒Lingo-1-shRNA被水凝胶包裹而定位植入作用于损伤局部，达到在水凝胶植入同时局部为Lingo-1-shRNA慢病毒有效转染浓度要求，持续释放，有效将siRNA传递到目标细胞内，转染细胞。同时研究应用温敏型水凝胶生物支架负载递送Lingo-1-shRNA促进脊髓损伤修复的可行性和优越性，探讨Lingo-1-shRNA对轴突再生的影响和机制。发现动物脊髓损伤后，局部注射温敏型水凝胶生物支架负载递送Lingo-1-shRNA能够显著改善脊髓损伤后运动功能和脊髓诱发电位的恢复。通过免疫荧光检测显示水凝胶负载Lingo-1-shRNA能够显著提高损伤局部靶细胞的有效转染，PCR和WB结果显示能够明显减少损伤区域组织细胞Lingo-1及RhoA的基因表达水平，TUNEL染色显示损伤后细胞的凋亡水平明显被抑制，组织学染色显示水凝胶负载Lingo-1-shRNA能够显著促进损伤区轴突的再生及神经通路的发生，进而修补脊髓空洞面积。    技术的创造性与先进性：该课题证明生物支架负载RNA干扰沉默特定基因促进脊髓损伤神经修复的可行性和优越性，有望解决在活体内局部应用RNA干扰Lingo-1基因表达进而促进轴突再生修复的难题，为脊髓损伤修复提供新的方法与思路。    技术的成熟程度，适用范围和安全性：本课题的研究成果具有较大的临床转化能力，主要应用于脊髓损伤修复，动物实验表明安全性良好，有潜在的经济效益和良好的社会效益。    应用方面情况及存在的问题：利用脊髓损伤模型首次对体内 RNA 干扰 Lingo-1 基因对神经轴突再生的影响进行研究，从而为将来临床应用打下实验基础；还可应用温敏型水凝胶递送 Lingo-1 RNAi，即实现生物支架负载 RNAi分子药物局部定位治疗以修复脊髓损伤，证明了生物支架负载 RNA 干扰沉默特定基因促进脊髓损伤神经修复的可行性和优越性，为其更广泛的应用奠定了基础。在此项研究的基础上，可以进一步研发促进脊髓损伤修复的新型生物材料和载药技术，为后续相关研究打下了良好的基础。但是本课题制作的是全横断脊髓损伤模型，在临床工作中大多数脊髓损伤属于钝挫伤。 |
| 批准登记号: | 粤科成登（2）字【2018】0411 |
| 登记日期: | 2018-10-25 |
| 研究起止时间: | 2012.01 至2015.12 |
| 所属行业: | 科学研究和技术服务业 |
| 所属高新技术类别: |  |
| 评价单位名称: | 国家自然科学基金委员会 |
| 评价日期: | 2016.01.06 |