

# 清开灵对快速老化痴呆小鼠学习记忆能力的影响及作用机制研究

邱 蕾<sup>1</sup> 郑 璐<sup>1</sup> 张 瑶<sup>1</sup> 冯天骄<sup>1</sup> 于建春<sup>2</sup> 张占军<sup>1</sup> 王永炎<sup>3</sup>

**摘要** **目的** 探讨清开灵对快速老化痴呆小鼠 (senescence accelerated mouse-prone/8, SAMP8) 学习记忆能力、全脑神经递质及磷脂酰肌醇 3 激酶激活的丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶 B 磷酸化 (phosphatidylinositol 3-kinase/protein kinase B, PI3K/AKT) 信号通路的影响。**方法** 将 SAMP8 老化鼠随机分为模型组、清开灵组 [1.3 mL/(kg·d)] 及安理申组 [0.58 mg/(kg·d)], 治疗 90 天; 抗快速老化亚系小鼠 (senescence accelerated mouse-resistance/1, SAMR1) 作为对照组。采用水迷宫方法检测小鼠学习记忆能力, 以高效液相色谱电化学法检测小鼠全脑乙酰胆碱 (ACh) 及单胺类神经递质含量, 蛋白质印迹法 (Western-blot) 测定脑 Gab1 (Grb2-associated binder-1)、AKT、473 位点丝氨酸磷酸化蛋白激酶 B (phospho-serine/threonine protein kinase B, pAKT473) 的蛋白表达。**结果** 与对照组 SAMR1 鼠比较, 模型组 SAMP8 小鼠在隐平台试验和反向试验第 3 天潜伏期显著升高 ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ), ACh、5-羟色胺 (5-HT) 水平显著降低 ( $P < 0.01$ ,  $P < 0.05$ ), Gab1 蛋白表达水平显著降低 ( $P < 0.01$ )。给药后, 清开灵组小鼠在第 2~5 天隐平台试验和反向试验中潜伏期较模型组显著降低 ( $P < 0.05$ ), ACh、5-HT 含量明显升高 ( $P < 0.05$ ), Gab1 蛋白表达水平显著增加 ( $P < 0.01$ ), AKT 蛋白磷酸化水平显著增加 ( $P < 0.05$ )。**结论** 清开灵能改善 AD 模型小鼠的学习记忆能力, 这一作用可能与其提高脑内 ACh、5-HT 的水平, 激活 PI3K/AKT 通路有关。

**关键词** 清开灵; 痴呆; 神经递质; 蛋白激酶 B; Gab1

**Effect and Mechanism of Action of Qingkailing on Learning and Memory Capacity of SAMP8 Mouse** QIU Lei, ZHENG Lu, ZHANG Yao, et al *State Key Laboratory of Cognitive Neuroscience and Learning, Beijing Normal University, Beijing (100875)*

**ABSTRACT** **Objective** To investigate the influence of Qingkailing (QKL) on learning and memory abilities, global neurotransmitter and phosphatidylinositol 3-kinase/protein kinase B (PI3K/AKT) signaling pathway of senescence accelerated mouse-prone/8 (SAMP8) mice with Alzheimer's dementia (AD). **Methods** SAMP8 mice were modeled and divided into the model group, the QKL group and the donepezil hydrochloride group, all treated for 90 days. And a control group was set up with senescence accelerated mouse-resistance/1 (SAMR1) mice. Morris water maze was used to test the learning and memory abilities of mice; contents of acetylcholine (ACh) and monoamine neurotransmitters in brain were measured by HPLC; levels of Grb2-associated binder-1 (Gab1), AKT and phospho-serine/threonine protein kinase B (PAKT473) were evaluated by Western-blot. **Results** Compared with the control group, in the model group, the average escape latency detected by hidden platform trial and reverse trial on the 3rd day was higher ( $P < 0.01$ ); levels of ACh, 5-hydroxytryptamine (5-HT) and Gab1 were lower ( $P < 0.01$ ,  $P < 0.05$  and  $P < 0.01$ ), respectively. As compared with the model group, the escape latency (within the 2nd to 5th day) decreased ( $P < 0.01$ ), levels of ACh and 5-HT increased ( $P < 0.05$ ), and Gab1 protein expression increased ( $P < 0.01$ ) in the QKL treated group after treatment, in addition, the level of phosphorylated AKT protein significantly increased ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** QKL could improve the learning and memory ability of AD model mice, which is probably related to its function in increasing cerebral ACh, 5-HT

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (No. 30873458); 北京市自然科学基金资助项目 (No. 7082050); 全国优秀博士学位论文专项基金资助项目 (No. 2007B7); 高等学校博士学科点专项基金资助项目 (No. 200800271014); 国家自然科学基金重点项目 (No. 30930031)

作者单位: 1. 北京师范大学认知神经科学与学习国家重点实验室 (北京 100875); 2. 天津中医药大学第一附属医院; 3. 中国中医科学院临床基础医学研究所

通讯作者: 张占军, Tel: 010-58802005, E-mail: zhang\_rzs@bnu.edu.cn

and activating PI3K/AKT pathway.

**KEYWORDS** Qingkailing; dementia; neurotransmitter; protein kinase B; Gab2-associated binder-1

老年性痴呆 (Alzheimer's disease, AD) 已成为老龄化社会的第四大杀手,但至今仍没有能根本防治的药物,只能对症治疗。由传统方剂安宫牛黄丸化裁而成的清开灵注射液基于“毒损脑络”的理论,在中风后血管性痴呆的临床治疗中显示出良好的治疗功效<sup>[1]</sup>。由于血管性痴呆 (vascular dementia, VD) 和 AD 有共同的危险因素,病理改变也相互重叠<sup>[2]</sup>,因此,我们试图通过快速老化痴呆小鼠模型,观察清开灵对 AD 模型小鼠学习记忆功能的影响,并从磷脂酰肌醇 3 激酶激活的丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶 B 磷酸化 (phosphatidylinositol 3-kinase/protein kinase B, PI3K/AKT) 信号通路和相关神经递质的变化探讨清开灵恢复大脑功能的可能机制。

### 材料与方 法

1 实验动物 8 月龄 SAMP8 鼠 60 只,健康 SAMR1 鼠 20 只,雌雄各半,体重 (35 ± 5) g。由天津中医药大学第一附属医院动物中心提供。

2 试剂与药物 清开灵口服液 (10 mL/支,成分:胆酸、珍珠母、猪去氧胆酸、栀子、水牛角、板蓝根、黄芩苷、金银花;北京中医药大学药厂提供,批号 061105);安理申片 [盐酸多奈哌齐,5 mg/片,卫材 (中国) 药业有限公司,批号 060109A]; AKT、473 位点丝氨酸磷酸化蛋白激酶 B (phospho-serine/threonine protein kinase B, pAKT473)、Gab1 (Grb2-associated binder-1) 兔抗鼠一抗 (Sigma 公司);羊抗兔二抗 (北京中杉金桥生物公司);二喹啉甲酸 (bicinchoninic acid, BCA) 蛋白质检测试剂 (Pierce 公司);蛋白质西方杂交免疫印迹 ECL 化学发光检测试剂盒 (ECL Plex Western Blotting Detection System, Amersham 公司)。

3 仪器 Morris 水迷宫 (上海移数信息科技有限公司);库仑电化学检测器 (HPLC, 5600A, USA);台式低温高速冷冻离心机 (Sigma 3K15)。

4 分组及给药 SAMP8 老化鼠随机分为模型组、清开灵组及安理申组,每组 20 只;SAMR1 鼠作为对照组。用药组根据临床治疗用药剂量换算,清开灵给药剂量每日 1.3 mL/kg,安理申给药剂量为每日 0.58 mg/kg,模型组与对照组灌服等量生理盐水。连续灌胃给药 90 天。

5 Morris 水迷宫行为学测定 各组小鼠于给药 90 天后进行检测,参照 Vorhees CV 等<sup>[3]</sup>的方法,测试

包括:(1) 隐平台试验,进行 5 天,平台位置固定,每天从位于平台对侧的 2 个标记点入水,记录小鼠从入水至找到平台的时间 (逃避潜伏期),到达平台后让小鼠停留 10 s。如果 90 s 内找不到平台,潜伏期记为 90 s,并将小鼠置于平台上休息 10 s。(2) 反向试验,进行 3 天,操作基本同隐平台试验,但平台位置移至对面象限。

6 神经递质检测 参照 Leung 等<sup>[4]</sup>的方法,小鼠进行完行为学实验后全部断头处死,冰台上迅速取出全脑,称重,液氮快速冷冻, -80 °C 保存。其中,每组 10 只做神经递质检测。提取时全脑置于冰冷的 0.1 mol/L 高氯酸中匀浆 20 s (每 0.1 g 脑重加入高氯酸 1 mL)。高氯酸中含 0.04 % (w/v) Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>5</sub> 和 0.04 % (w/v) EDTA。脑匀浆于 4 °C 14 000r/min 离心 20 min。上清液以 0.2 μm 滤膜滤过、分装, -80 °C 冷藏,用于乙酰胆碱 (ACh) 和单胺类神经递质的检测。用外标法定量,峰面积计算含量,分别检测 ACh、去甲肾上腺素 (NE)、多巴胺 (DA)、5-羟色胺 (5-HT) 及其代谢产物的浓度。

7 蛋白检测 采用 Western Blot 法<sup>[5]</sup>,将各组冻存新鲜脑组织分别取 5 g,用 buffer 漂洗 2 次,2 min/次,加入 RIPA 裂解液、匀浆器匀浆 (冰浴),低速离心 (1 000 g, 10 min, 4 °C),取上清。用 BCA 蛋白定量检测试剂盒检测蛋白浓度,牛血清白蛋白作标准。蛋白样品用上样缓冲液稀释后煮沸 5 min,12% SDS-PAGE 电泳分离,转移至硝酸纤维素膜,5% 脱脂牛奶 (TBST 稀释) 室温封闭 2 h,加 AKT、p-AKT473、Gab1 一抗 (1: 1 000) 及 β-actin 一抗 (1:5 000) 孵育 3 h,弃掉一抗,TTBS 漂洗 3 次,15 min/次。加二抗 (1:1 000) 室温孵育 1 h,充分洗膜,加化学发光物,胶片曝光。应用 Motic 凝胶分析软件包进行光密度测定,以 β-actin 为对照计算相对密度,作为蛋白表达相对量。

8 统计学方法 实验数据均采用  $\bar{x} \pm s$  表示,应用 SPSS 11.5 统计软件处理。水迷宫隐平台试验和反向试验结果采用重复测量数据的双因素方差分析,以组别作为组间因素,不同的训练天数作为组内因素。其余数据均采用单因素方差分析。事后比较采用最小显著差数法 (least significant difference, LSD)。P < 0.05 为差异有统计学意义。

### 结 果

#### 1 Morris 水迷宫试验结果 (表 1)

表 1 各组 Morris 水迷宫试验结果 (x̄ ± s)

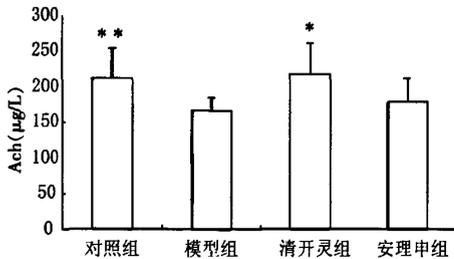
组别	n	隐平台试验 (s)					反向试验 (s)		
		第 1 天	第 2 天	第 3 天	第 4 天	第 5 天	第 1 天	第 2 天	第 3 天
对照	20	40.79 ± 15.11	44.21 ± 11.64	42.14 ± 5.69	35.62 ± 8.69	35.01 ± 8.40	47.43 ± 11.83	40.47 ± 11.54	32.43 ± 6.69
模型	20	52.13 ± 10.51*	54.94 ± 6.69*	53.92 ± 8.96**	54.42 ± 9.94**	57.66 ± 5.11**	54.73 ± 11.09	50.78 ± 12.88	58.59 ± 3.01**
清开灵	20	41.28 ± 10.97	36.49 ± 12.24 <sup>△△</sup>	31.57 ± 8.71 <sup>△△</sup>	41.73 ± 8.48 <sup>△△</sup>	46.40 ± 9.11 <sup>△</sup>	40.71 ± 12.44 <sup>△</sup>	38.60 ± 15.80 <sup>△</sup>	42.52 ± 13.89 <sup>△△</sup>
安理申	20	49.26 ± 11.38	43.89 ± 10.43 <sup>△</sup>	42.32 ± 9.82 <sup>△△</sup>	34.61 ± 8.69 <sup>△△</sup>	45.16 ± 14.16 <sup>△△</sup>	43.16 ± 12.20 <sup>△</sup>	41.94 ± 12.19	34.91 ± 11.22 <sup>△△</sup>

注:与对照组同期比较,\*P<0.05,\*\*P<0.01;与模型组同期比较,<sup>△</sup>P<0.05,<sup>△△</sup>P<0.01

1.1 隐平台试验 模型组逃避潜伏期显著长于对照组(P<0.05,0.01);从第 2 天起,清开灵组和安理申组逃避潜伏期短于模型组(P<0.05,0.01)。

1.2 反向试验 模型组逃避潜伏期较对照组长,第 3 天差异有统计学意义(P<0.01);清开灵组和安理申组潜伏期则短于模型组(P<0.05,P<0.01)。

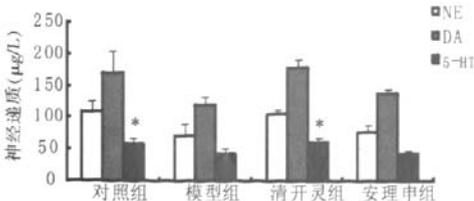
2 各组 Ach 水平比较(图 1) 与对照组比较,模型组小鼠全脑 Ach 含量显著降低(P<0.01)。清开灵能显著升高 SAMP8 小鼠全脑 ACh 含量(P<0.05);安理申治疗组小鼠全脑 ACh 水平虽有升高趋势,但与模型组比较差异无统计学意义。



注:与模型组比较,\*P<0.05,\*\*P<0.01

图 1 各组小鼠全脑 Ach 含量比较

3 各组单胺类神经递质水平比较(图 2) 与对照组比较,模型组小鼠全脑 5-HT 含量明显降低(P<0.05),DA、NE 呈下降趋势。清开灵可增加 SAMP8 小鼠全脑 NE、DA、5-HT 的含量,接近正常对照组水平,其中,5-HT 升高显著,与模型组比较差异有统计学意义(P<0.05)。安理申组各项神经递质含量和模型组比较差异无统计学意义。

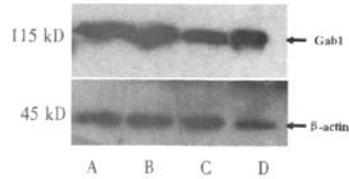


注:与模型组比较,\*P<0.05

图 2 各组小鼠中枢神经递质含量比较

4 各组 Gab1 蛋白表达比较(图 3,表 2) 各组均有不同程度的 Gab1 蛋白表达。与对照组比较,模

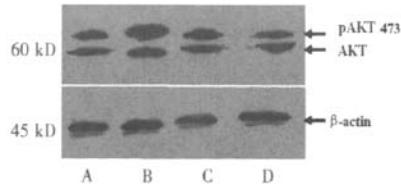
型组 Gab1 蛋白表达明显减少(P<0.01)。清开灵组及安理申组可增加 Gab1 蛋白的表达,与模型组比较差异有统计学意义(P<0.01)。



注: A 为对照组; B 为清开灵组; C 为模型组; D 为安理申组

图 3 各组小鼠 Gab1 蛋白表达

5 各组 AKT/pAKT473 蛋白表达比较(图 4,表 2) 各组均有不同程度的 AKT/pAKT473 蛋白表达。模型组 AKT 蛋白表达较对照组显著增加(P<0.05),pAKT473 蛋白表达较对照组明显减少(P<0.05)。清开灵对 AKT 表达的影响不大,但可显著提高 pAKT473 蛋白的表达,与模型组比较差异有统计学意义(P<0.05)。



注: A 为对照组; B 为清开灵组; C 为安理申组; D 为模型组

图 4 各组小鼠 AKT/pAKT473 蛋白表达

表 2 各组蛋白免疫印迹杂交信号强度灰度平均值比较 (x̄ ± s)

组别	n	Gab1/β-actin	AKT/β-actin	pAKT473/β-actin
对照	3	2.714 ± 0.068	0.776 ± 0.036	0.818 ± 0.014
模型	3	1.594 ± 0.128**	0.943 ± 0.037*	0.725 ± 0.020*
清开灵	3	2.046 ± 0.123 <sup>△△</sup>	0.969 ± 0.017	1.878 ± 0.134 <sup>△</sup>
安理申	3	2.029 ± 0.044 <sup>△△</sup>	0.968 ± 0.019	1.413 ± 0.162 <sup>△</sup>

注:与对照组比较,\*P<0.05,\*\*P<0.01;与模型组比较,<sup>△</sup>P<0.05,<sup>△△</sup>P<0.01

### 讨 论

中药清开灵注射液主要用于中风后的 AD,在临床治疗中取得了较好的疗效。“毒损脑络”是清开灵治疗 VD 的理论基础,该学说是中医中风认识上的创

新性理论,认为中风发病是由于毒邪损伤脑络,络脉破损或络脉拘挛瘀闭,气血渗灌失常所致<sup>[6]</sup>。所谓“毒”,泛指在正常生命过程中机体内不存在的物质,或原本适应机体生命活动的物质超过了生命机体的需求而对机体形成危害,后者可称为内毒<sup>[7]</sup>。在 AD 患者脑内异常聚集的  $\beta$  淀粉样蛋白( $\beta$ -amyloid, A $\beta$ )也可视为是内毒聚集的一种表现,其对神经元有显著的神经毒作用,导致进行性的认知障碍,发生不可逆性痴呆。

内毒为病,易损络脉。络者行气血、溢奇邪。络脉既是人体运行气血,联络脏腑形体官窍,沟通上下内外的通道,也是机体最重要的运毒、排毒管道,是机体排毒最重要的功能结构载体<sup>[8]</sup>。新近的国外研究表明,AD 的病理过程中大脑除了有 A $\beta$  的产生增加,更多的表现是对 A $\beta$  清除能力的相对不足<sup>[9]</sup>。此外,很多患者在被诊断为 AD 的同时也患有与年龄和高血压相关的脑血管疾病,而且几乎 90% 的 AD 患者存在不同程度的脑淀粉样血管病<sup>[10]</sup>。可见 VD 和 AD 不但有共同的危险因素,而且病理改变也有很多相似之处,因此,采用祛瘀化痰清毒药物可使内生之毒得以减轻或消除,使气机畅,脉道通,各种代谢产物得以及时排除,脑府重新得到营血的濡养,调和营卫,恢复脑神的功能正常。

清开灵由胆酸、珍珠母、猪去氧胆酸、栀子、水牛角、板蓝根、黄芩苷、金银花等组成。方中栀子为君药,泻火解毒,活络,善入血分,解血络壅塞之热毒,黄芩入气分,猪去氧胆酸入血分,共具清热解暑之功为臣药。三药为苦寒之品,共具祛除火毒之功,毒邪祛则络脉易复。珍珠母水解液平肝潜阳安神,恢复脑神的功能正常。因此,我们推测清开灵对改善 AD 应有一定的作用。

基于以上考虑,我们采用 SAMP8 作为实验动物模型,观察清开灵对 AD 的治疗作用。结果发现,清开灵能明显改善模型小鼠的学习记忆能力,这一功效与其提高脑内胆碱能神经递质 Ach 及单胺类神经递质 5-HT 的水平以及增加 Gab1 蛋白的表达,使磷酸化的 AKT 明显增加,进而激活 PI3K/AKT 抗凋亡通路有关。神经递质是神经冲动突触连接的物质基础,与认知功能密切相关<sup>[11]</sup>。胆碱能神经元大量损失导致其递质合成减少是 AD 的主要病理表现之一<sup>[12]</sup>,单胺类神经递质与学习记忆也有一定关系,其中,5-HT 能触发神经突触的易化作用,促进神经冲动的传递<sup>[13]</sup>。PI3K/AKT 是一种保护机体应对各种应激的重要生存信号通路,在细胞的凋亡、存活以及增殖等活动中发挥了重

要的生物学功能<sup>[14]</sup>。PI3K 下游有多种效应分子,AKT 处于这一通路的中心环节,是 PI3K 下游的直接靶点。AKT 调节域内的 Ser473 位点发生磷酸化,是 AKT 活化的必要过程<sup>[15]</sup>。实验证明痴呆小鼠经清开灵治疗后,pAKT473 含量明显增加,而 AKT 总量并没有显著改变,说明清开灵有效促进了 AKT 的活化。磷酸化的 AKT 一方面通过诱导各种抗凋亡蛋白基因表达抑制凋亡,另一方面通过直接磷酸化凋亡级联反应调节蛋白促进细胞生存<sup>[16]</sup>。PI3K/AKT 通路由此在脑缺血再灌注损伤过程中发挥保护作用<sup>[17]</sup>。Gab1 是接头蛋白家族成员之一,多种生长因子和细胞因子的刺激可使 Gab1 发生酪氨酸磷酸化,其酪氨酸残基可与 PI3K 结合,募集并活化 PI3K,进而激活 PI3K/AKT 信号通路<sup>[18]</sup>。过表达 Gab1 对剥夺血清引起的 PC12 细胞和交感神经元凋亡具有保护作用<sup>[19]</sup>。

清开灵通过疏通脑络,排除内毒,恢复血络濡养大脑的功能,同时调节气络,激活 PI3K/AKT 信号通路,发挥神经元保护作用,恢复其正常的递质水平,促进神经冲动传递,从而改善 AD 模型小鼠的认知能力。本实验根据“毒损脑络”病机和“解毒通络”治法为清开灵的扩展应用提供了初步的实验依据;同时,通过挖掘传统经典中医药,为从现今的对症治疗逐步向对因治疗的推进提供了一条新途径。

#### 参 考 文 献

- [1] 刘方, 白文. 清开灵注射液治疗脑血管性痴呆 32 例 [J]. 北京中医药大学学报(中医临床版), 2004, 11(1):21-23.  
Liu F, Bai W. Treatment of 32 cases of cerebrovascular dementia with Qingkailing Injection [J]. J Beijing Univ Tradit Chin Med (Clin Med), 2004, 11(1):21-23.
- [2] 孙亚男, 张本恕. 阿尔茨海默病与血管性痴呆的共性研究进展 [J]. 国外医学(老年医学分册), 2007, 28(5):207-211.  
Sun YN, Zhang BS. Progress in the common of Alzheimer disease and vascular dementia [J]. Foreign Med Sci (Geriatr), 2007, 28(5):207-211.
- [3] Vorhees CV, Williams MT. Morris water maze: procedures for assessing spatial and related forms of learning and memory [J]. Nat Protoc, 2006, 1(2):848-858.
- [4] Leung PY, Tsao CS. Preparation of an optimum mobile phase for the simultaneous determination of neurochemicals in mouse brain tissues by high-performance liquid chromatography with electrochemical detection [J]. J Chromatogr Biomed Appl, 1992, 576(2):245-254.

- [5] Sambrook J and Russell DW. 黄培堂译. 分子克隆实验指南(第 3 版)[M]. 北京: 科学出版社, 2002:1723-1726. Sambrook J, Russell DW, editors. Hoang PT, translator. Molecular cloning: a laboratory manual [M]. 3rd ed. Beijing: Science Press, 2002:1723-1726.
- [6] 王永炎. 关于提高脑血管疾病疗效难点的思考[J]. 中国中西医结合杂志, 1997, 17(4):195-196. Wang YY. Thinking on difficulty of elevating effectiveness in treating cerebral vascular disease[J]. Chin J Integr Tradit West Med, 1997, 17(4):195-196.
- [7] 李澎涛, 王永炎, 黄启福. “毒损脑络”病机假说的形成及其理论与实践意义[J]. 北京中医药大学学报, 2001, 24(1):1-6. Li PT, Wang YY, Huang QF. The hypothesis of the injury of brain collaterals by toxins and its theoretical and practical significance [J]. J Beijing Univ Tradit Chin Med, 2001, 24(1):1-6.
- [8] 王永炎, 杨宝琴, 黄启福. 络脉病与病络[J]. 北京中医药大学学报, 2003, 26(4):1-2. Wang YY, Yang BQ, Huang QF. Collateral vessels diseases and diseased collateral vessels [J]. J Beijing Univ Tradit Chin Med, 2003, 26(4):1-2.
- [9] Zlokovic BV. Clearing amyloid through the blood-brain barrier [J]. J Neurochem, 2004, 89(4):807-811.
- [10] David MA Mann, 田金洲, 时晶, 等. 阿尔茨海默病发病机制中的血管性病理因素[J]. 中华老年多器官疾病杂志, 2007, 6(1):8-9. David MA Mann, Tian JZ, Shi J, et al. The vascular pathological factors in the mechanism of Alzheimer's disease [J]. Chin J Multiple Organ Dis Elder, 2007, 6(1):8-9.
- [11] 李欢欢, 程灶火. 记忆分子生物学研究进展[J]. 国外医学:精神病学分册, 2002, 29(1):59-62. Li HH, Cheng ZH. Progress in molecular biology of memory [J]. Foreign Med Sci (Section of Psychiatry), 2002, 29(1):59-62.
- [12] Rogers SL, Farlow MR, Doody RS, et al. A 24-week, double-blind, placebo-controlled trial of donepezil in patients with Alzheimer's disease [J]. Neurology, 1998, 50(1):136-145.
- [13] 韩太真, 吴馥梅. 学习与记忆的神经生物学[M]. 北京: 北京医科大学中国协和医科大学联合出版社, 1998: 220-236. Han TZ, Wu FM, editors. Neurobiology of learning and memory [M]. Beijing: Beijing Medical University and Peking Union Medical College United Publishing House, 1998: 220-236.
- [14] Brazil DP, Yang ZZ, Hemmings BA. Advances in protein kinase B signalling: AKTion on multiple fronts [J]. Trends Biochem Sci, 2004, 29(5):233-242.
- [15] Schubert KM, Scheid MP, Duronio V. Ceramide inhibits protein kinase B/Akt by promoting dephosphorylation of serine 473 [J]. J Biol Chem, 2000, 275(18):13330-13335.
- [16] Kim AH, Khursigara G, Sun X, et al. Akt phosphorylates and negatively regulates apoptosis signal-regulating kinase 1 [J]. Mol Cell Biol, 2001, 21(3):893-901.
- [17] Xu XS, Chua CC, Gao FP, et al. Neuroprotective effect of humanin on cerebral ischemia/reperfusion injury is mediated by a PI3K/Akt pathway [J]. Brain Res, 2008, 1227: 12-18.
- [18] Mattoon DR, Lamothe B, Lax I, et al. The docking protein Gab1 is the primary mediator of EGF-stimulated activation of the PI-3K/Akt cell survival pathway [J]. BMC Biol, 2004, 2:24.
- [19] Korhonen JM, Said FA, Wong AJ, et al. Gab1 mediates neurite outgrowth DNA synthesis, and survival in PC12 cells [J]. J Bio Chem, 1999, 274(52):37307-37314. (收稿:2010-02-05 修回:2010-03-29)

### 第十一次全国中西医结合防治呼吸系统疾病学术研讨会征文通知

由中国中西医结合学会呼吸病专业委员会主办, 中国中医科学院广安门医院承办的“第十一次全国中西医结合防治呼吸系统疾病学术研讨会暨全国呼吸病中西医结合研究高级进修班”定于 2010 年 10 月底在北京召开。会议主题突出“临床实用”。届时将邀请呼吸内科领域的名老中医及北京协和医院、北大医院等单位的著名专家进行学术讲座, 交流中医、中西医结合防治呼吸系统疾病的基础理论、临床治疗经验和最新进展。现将会议征文事宜通知如下。

**征文内容** 与肺部感染、哮喘、慢性阻塞性肺疾病、弥漫性肺间质疾病、肺血管病、呼吸睡眠暂停综合征、肺动脉血栓栓塞症、胸膜和纵隔疾病及其他呼吸疾病的临床治疗经验、综合防治策略或基础研究等方面的文章, 呼吸系统少见病、疑难病中西医结合诊治的临床报道, 临床治疗上述疾病的名老中医专家经验总结及介绍等。

**征文要求** 论文须尚未公开发表, 字数不超过 3 000 字, 摘要不超过 300 字, 注明作者姓名、工作单位、通讯地址、邮编及第一作者的电子邮箱及联系电话。论文格式为 word 文档, 标题黑体 3 号字, 内容宋体 5 号字。

**截稿日期** 2010 年 8 月 31 日。

**联系方式** 联系人: 边永君, 刘志国, 吴若菡; 联系电话: 010-88001444; 稿件请发至电子邮箱: hxn2010@163.com 或 hxn2010@sina.com。