

青天葵对内毒素致急性肺损伤大鼠肺水通道蛋白 1 和 5 表达的影响

许银姬 陈远彬 王丽丽 林 琳

摘要 目的 通过观察青天葵预先给药对内毒素致急性肺损伤 (acute lung injury, ALI) 大鼠肺水通道蛋白 1 和 5 (aquaporin 1 and 5, AQP-1、AQP-5) 表达的影响, 探讨其保护作用机制。方法 SD 大鼠 24 只随机分为正常组 (A 组)、青天葵预保护组 (B 组)、内毒素模型组 (C 组)。B、C 组采用舌底静脉注射内毒素 (5 mg/kg) 复制 ALI 模型, B 组预先给予 10 mL/kg 青天葵水煎液及每天灌胃处理, 造模 8 h 后检测 3 组肺湿/干重比 (W/D), 观察肺脏水通透性的变化, HE 染色观察肺组织病理学的改变, 免疫组化法及逆转录多聚酶链反应 (RT-PCR) 法检测 AQP-1、AQP-5 在肺内的表达。结果 与 C 组比较, B 组及 A 组肺 W/D 比值明显降低 ($P < 0.05$), B 组肺水肿病理改变程度明显减轻, AQP-1、AQP-5 在肺内的蛋白表达水平升高 ($P < 0.05$)。结论 青天葵预先给药可通过促进 ALI 大鼠肺 AQP-1 和 AQP-5 的表达上调, 增加清除和转运肺水, 改善水液代谢, 减轻肺水肿状态, 从而有效保护急性肺损伤。

关键词 青天葵; 内毒素; 急性肺损伤; 水通道蛋白 1 和 5

Effect of Nervilia fordii on Lung Aquaporin 1 and 5 Expression in Endotoxin-induced Acute Lung Injury Rat
XU Yin-ji, CHEN Yuan-bin, WANG Li-li, et al *Guangdong Provincial Hospital of Traditional Chinese Medicine, Guangzhou (510120)*

ABSTRACT **Objective** To explore the protective mechanism of *Nervilia fordii* (NF) by observing the effect of its pretreatment on lung aquaporin 1 and 5 (AQP-1, AQP-5) expression in rats with endotoxin-induced acute lung injury (ALI). **Methods** Twenty-four SD rats were randomly divided into 3 groups, the normal group (A), the NF pre-intervention group (B) and the endotoxin model group (C). Rats in Group B and C were made into ALI by endotoxin (5 mg/kg) injection via sublingual vein, and NF pretreatment was applied to Group B. Animals were sacrificed at the 8 h after modeling, their lung were taken for observing the water permeability change by wet/dry weight ratio (W/D) measuring, pathological feature by HE staining, and the expression of AQP-1, AQP-5 was detected by immunohistochemistry and RT-PCR. **Results** The W/D ratio of lung was higher in model rats than in normal rats, but as compared with Group C, it was significantly lower ($P < 0.05$) in Group B. The pulmonary edematous change was significantly mild and the AQP-1 and AQP-5 protein expressions were significantly higher in Group B than in Group C ($P < 0.05$). **Conclusion** NF pretreatment can promote lung AQP-1 and AQP-5 expression up-regulation, increase lung water clearance and transportation to improve the water balance and eliminate pulmonary edema, so as to effectively protect lung from acute injury.

KEYWORDS *nervilia fordii*; endotoxin; acute lung injury; aquaporin 1 and 5

急性肺损伤 (acute lung injury, ALI) 是指心源性以外的各种肺内外致病因素导致的急性、进行性缺氧性呼吸衰竭, 以呼吸困难、难治性低氧血症和非心源性肺水肿为临床特征。内毒素所致的 ALI 是临床上常见的危重病症, 病理特征为血管通透性增高性肺水

肿^[1], 主要表现为肺组织明显肿胀, 组织间大量液体聚集。肺水肿的程度与 ALI 的预后呈正相关, 因此, 改善 ALI 的肺水肿具有重要的临床意义。水通道蛋白家族 (AQPs) 是一种可调节进出细胞膜的水通道同源蛋白质大家族的总称, 发生 ALI 后 AQPs 表达下降^[2-4], 导致肺水肿时机体清除过多水肿液的能力下降, 引起过多液体在肺泡腔、肺间质的积聚, 从而加重肺泡和间质水肿^[5]。AQPs 对肺水肿的形成和消除具有重要意义。

青天葵清热解暑, 散瘀消肿, 药用价值高。青天

基金项目: 国家自然科学基金资助课题 (No. 30472209)

作者单位: 广东省中医院内三呼吸科 (广州 510120)

通讯作者: 林 琳, Tel: 13903002015, Fax: 020 - 81874903,

E-mail: drlinlin620@163.com

葵对急性肺损伤具有保护作用,可以抑制内毒素导致的炎症反应,减少肺水含量^[6],但青天葵是否能通过影响 AQP_s 对 ALI 肺起保护作用,尚未见报道。本实验通过观察中药青天葵对内毒素致 ALI 的肺组织病理形态学改变的作用及其对 AQP-1、AQP-5 蛋白表达水平的影响,进而探讨在急性肺损伤的病理条件下青天葵与 AQP_s 之间的关系。

材料与方法

1 动物 健康 SD 大鼠 24 只,雌雄各半,体重(203.0 ± 12.5)g,由广州中医药大学动物实验中心提供。

2 药物及试剂 青天葵水煎液(青天葵饮片,购自广东省中医院,常规煎煮后,水浴锅中浓缩,1 mL 含 0.2g 生药量,药液 4 ℃ 冰箱保存备用);内毒素(LPS, Escherichiacoli 055:B5, Sigma 公司);AQP-1、AQP-5 兔抗鼠多克隆抗体(美国 Chemicon);PBS 缓冲液(pH 7.2 ~ 7.4);0.01 mol/L 枸橼酸钠缓冲溶液、DAB 显色试剂盒(AR1025, 武汉博士德生物技术有限公司);免疫组化试剂盒(ZYMED SP-9000/9001/9002, 北京中杉金桥生物技术有限公司);TIANScript RT Kit 试剂盒(KR104, 北京 TIANGEN 公司),SYBR Green 试剂盒(FP202, 北京 TIANGEN 公司)。

3 仪器 烤箱;微波炉;水浴锅;电子天平;移液枪;显微镜;Imaga-ProPlus 6.0 软件分析系统等。

4 方法

4.1 动物分组 将实验用 SD 大鼠随机分为 3 组,每组 8 只,即正常组(简称 A 组)、青天葵预保护组(简称 B 组)、内毒素模型组(简称 C 组)。

4.2 内毒素致大鼠 ALI 模型的制备 实验造模前, B 组预先每天灌胃 10 mL/kg 青天葵水煎液进行预防治疗,连续 7 天, A 组与 C 组则以等量生理盐水代替。造模时,全部动物以 10% 的水合氯醛溶液腹腔注射麻醉,仰卧固定, B 组及 C 组经舌底静脉缓慢注射 LPS(5 mg/kg),复制 ALI 动物模型, A 组注射以等量生理盐水代替。

4.3 观察项目及检测方法

4.3.1 肺湿/干重(W/D)比值的测定 造模后 8

h,常规处死大鼠后,开胸取出左肺,称湿重后,置烤箱(60 ℃, 36 h)烤至衡重,再称干重,然后计算 W/D 比值。

4.3.2 肺组织病理形态观察 取右肺下叶经多聚甲醛固定,常规脱水、石蜡包埋、切片、HE 染色观察,并对肺病理损伤的轻重程度综合评析。

4.3.3 免疫组化法检测肺组织 AQP 蛋白分布 取右肺下叶组织,常规脱蜡、水化后,用 3% H₂O₂ 去除内源性氧化酶,抗原微波热修复,再按照以下步骤进行:(1)滴加正常山羊血清封闭液,室温 15 min,甩去多余液体;(2)滴加 I 抗(AQP1 稀释 100 倍, AQP5 稀释 200 倍), 37 ℃ 3 h, PBS 洗 3 次,每次 3 min;(3)滴加生物素化二抗, 37 ℃ 15 min, PBS 洗 3 次,每次 3 min;(4)滴加链霉素亲和素试剂, 37 ℃ 15 min, PBS 洗 4 次,每次 5 min;(5)DAB 显色;(6)蒸馏水洗,苏木素复染 2 min,盐酸酒精分化;(7)脱水、透明、封片、镜检。所有切片放大倍数为 ×40。每张切片观察 10 个视野(视野直径为 1 mm),免疫组化结果以 10 个视野下的累积光密度(integrated optical density, IOD)来表示,采用 Imaga-ProPlus 6.0 软件分析 AQP 蛋白的表达。

4.3.4 荧光定量 RT-PCR 分析肺组织 AQP-1、AQP-5 表达 取右肺上叶组织 100 mg,采用 TRIzol 试剂参照说明书提取总 RNA,在 260 nm 和 280 nm 处使用紫外分光光度计测定 RNA 含量;参照 cDNA 第一链合成试剂说明书将 RNA 逆转录合成 cDNA,其中 2 μL cDNA 为模板扩增,肌动蛋白 β-actin 作为内参照,并设立阴性对照。反应条件相同。引物序列见表 1。通过观察实时检测荧光量的变化,获得在 PCR 扩增过程中,不同肺组织达到一定的荧光信号(阈值)时所需的循环次数,即 CT 值(Cycle Threshold)的改变。ΔCT 值则表示肺组织 AQP 的 CT 值与其内参照物肌动蛋白 β-actin 的 CT 值之比,比较 ΔCT 值可分析发生 ALI 时各组大鼠肺组织 AQP-1 和 AQP-5 蛋白表达的变化。

4.4 统计学方法 应用 SPSS 13.0 统计软件进行分析,所有实验测定值用 $\bar{x} \pm s$ 表示,计量资料采用单因素方差分析,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

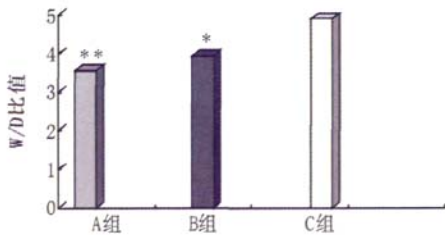
表 1 实时 PCR 引物序列

基因	正向引物	反向引物	基因序号	位点
β-actin	ACGCCAGGTCATCACTATTG	TGGATGCCACAGGATTCCAT	X03672	811-904
AQP-1	CTGGCCTTTGGTTTGAGCAT	CCACACACTGGCGGATGAT	NM-007472	218-367
AQP-5	GCGCTCAGCAACAACACAAC	GTGTGACCGACAAGCCAATG	NM-009701	854-1003

结 果

1 3 组肺组织大体观察 A 组:肺组织体积适中,颜色淡红,表面干净,未见肿胀及充血现象;C 组:肺组织肿胀明显,整个肺充血,呈暗红色,表面可见散在斑点状坏死病灶,切面可有淡红或白色泡沫样液体溢出;B 组:肺组织肿胀较 C 组减轻,肺表面充血明显减轻,未见明显斑点状坏死病灶。

2 3 组肺 W/D 比值比较(图 1) 与 A 组比较, C 组 W/D 比值明显升高,差异有统计学意义($P < 0.01$);与 C 组比较, B 组 W/D 比值(3.9378 ± 0.6166)明显降低,差异有统计学意义($P < 0.05$),而 A 组与 B 组比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。



注: A 组为正常组; B 组为青天葵预保护组; C 组为内毒素模型组; 与 C 组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

图 1 3 组肺 W/D 比值结果

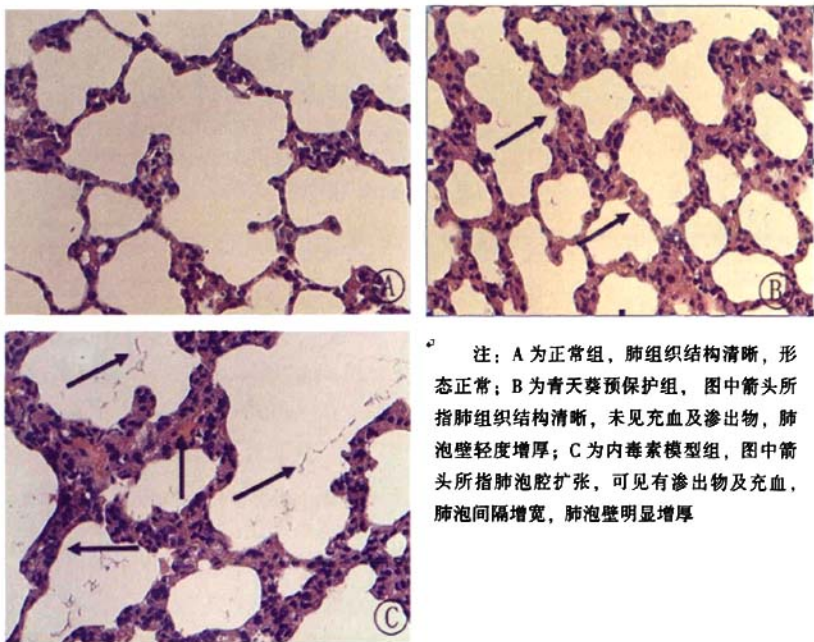
3 3 组肺组织病理观察结果(图 2) A 组肺组织结构清晰,形态正常,未见病理改变;C 组:肺间质

水肿,肺泡间隔明显增宽,肺泡壁增厚,结构破坏较为严重,肺泡腔扩张,腔内弥漫性出血及散在支气管内出血,可见红细胞和中性粒细胞浸润,出现明显的急性肺损伤的病理形态学改变;B 组:肺组织结构尚清晰,破坏较轻,肺泡间隔变窄,红细胞及中性粒细胞渗出减少,肺组织病理学形态明显改善,病理损伤明显减轻。

4 3 组肺组织免疫组化染色结果 光镜下观察,肺组织染色呈棕黄色者为阳性表达反应。通过检测 IOD 值比较 3 组肺组织之间水通道蛋白表达水平的差异。

4.1 3 组 AQP-1 表达比较(图 3, 表 2) A 组:肺组织可表达较高水平 AQP-1,染色呈棕黄色颗粒,可见在气道周围毛细血管、肺泡毛细血管内皮细胞上呈明显棕黄色分布,肺泡上皮也可见 AQP-1 阳性染色。B 组可见 AQP-1 在肺泡上皮、肺毛细血管内皮细胞上呈棕黄色分布,但染色较 A 组变浅。C 组:肺组织表达更低水平的 AQP-1,仅可见少量棕黄色颗粒分布,染色极浅。与 C 组比较, A 组及 B 组 AQP-1 在肺组织的表达明显上调($P < 0.05$)。

4.2 3 组 AQP-5 表达比较(图 4, 表 2) A 组:肺组织表达高水平 AQP-5,主要定位于 I 型肺泡上皮细胞的肺泡腔面,也可见分布于气道周围毛细血管及肺泡毛细血管内皮细胞上,染色呈明显棕黄色, II 型肺泡上皮细胞未见染色。B 组:肺组织的 I 型肺泡上



注: A 为正常组,肺组织结构清晰,形态正常; B 为青天葵预保护组,图中箭头所指肺组织结构清晰,未见充血及渗出物,肺泡壁轻度增厚; C 为内毒素模型组,图中箭头所指肺泡腔扩张,可见有渗出物及充血,肺泡间隔增宽,肺泡壁明显增厚

图 2 3 组肺组织病理观察结果 (HE 染色, $\times 40$)

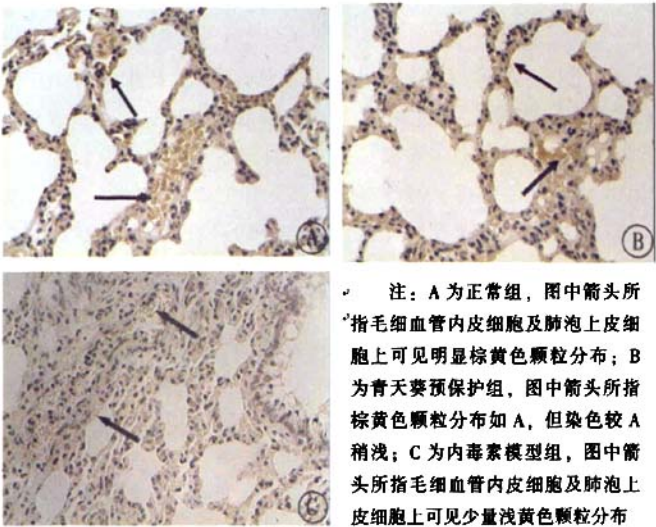


图 3 3 组 AQP-1 表达结果 (免疫组化, ×40)

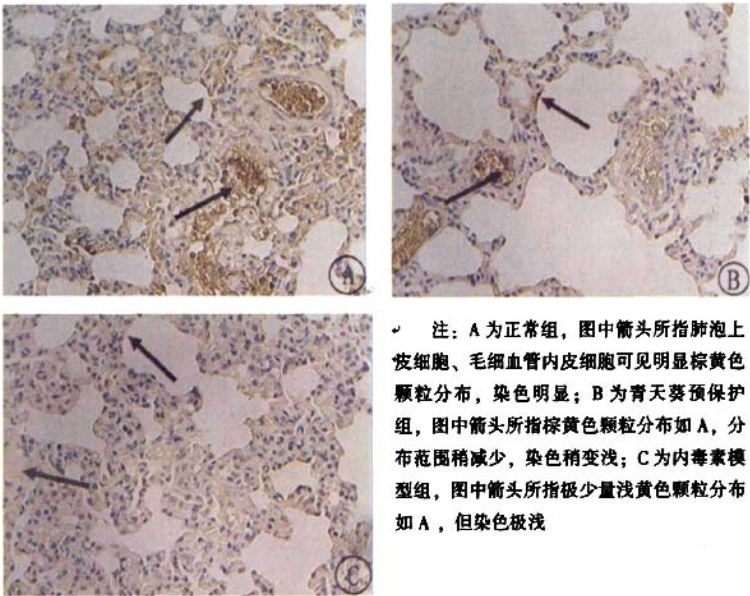


图 4 3 组 AQP-5 表达结果 (免疫组化, ×40)

皮细胞可表达高水平 AQP-5，呈明显棕黄色颗粒分布，染色较 A 组稍变浅。C 组：肺组织 AQP-5 表达水平低，呈浅黄色或仅部分显色。3 组比较，C 组的 AQP-5 在肺组织的表达明显下降 ($P < 0.05$)，而 B 组 AQP-5 表达较 C 组明显上调 ($P < 0.05$)。

表 2 3 组肺组织 AQP-1 及 AQP-5 表达的累积光密度值比较 (IOD 值, $\bar{x} \pm s$)

组别	n	AQP-1	AQP-5
A	8	119.2097 ± 6.0196*	149.1430 ± 2.1271*
B	8	102.5495 ± 7.8226*	117.3678 ± 9.0814*
C	8	73.5672 ± 6.9918	80.0193 ± 8.9408

注：与 C 组比较，* $P < 0.05$

5 3 组肺组织实时荧光定量 PCR 分析 AQP-1 及 AQP-5 表达比较 (表 3) 通过实时检测肺组织荧光量的变化，获取 CT 值，每个模板的 CT 值与该模板的起始拷贝数的对数存在线性关系，起始拷贝数越多，CT 值越小。 Δ CT 值则表示肺组织 AQP 的 CT 值与其内参照物肌动蛋白 β -actin 的 CT 值之比， Δ CT 值越大，表示 AQP 的蛋白表达水平越低。

RT-PCR 结果表明，与 C 组比较，A 组及 B 组肺组织 AQP-1 和 AQP-5 的 Δ CT 值明显下降，差异有统计学意义 ($P < 0.05$)，提示 C 组 AQP-1 和 AQP-5 在肺

组织中的表达下降;而 B 组肺 AQP-1 和 AQP-5 的 CT 值水平与 A 组比较,差异无统计学意义($P>0.05$),提示青天葵干预急性肺损伤时,可促进 AQP-1 和 AQP-5 蛋白表达水平上调。

表 3 3 组 AQP-1 和 AQP-5 表达比较 (ΔCT 值, $\bar{x} \pm s$)

组别	n	AQP-1	AQP-5
A	8	2.3738 ± 0.4653*	3.1885 ± 0.2436*
B	8	3.1096 ± 0.4252*	5.6035 ± 0.3108*
C	8	7.6290 ± 0.6237	13.0918 ± 0.1728

注:与 C 组比较,* $P<0.05$

讨 论

内毒素所致的 ALI 是临床上常见的危重病症,脂多糖是内毒素的主要成分,通过损伤肺血管内皮细胞、激活白细胞、促进氧自由基及多种炎症介质的释放、改变肺内多种蛋白(如表面活性蛋白、水通道蛋白等)的表达等途径诱发 ALI^[7,8]。ALI 的病理学特征为肺毛细血管内皮细胞损伤和肺泡上皮细胞屏障破坏导致血管通透性增高和肺水肿,归结到底,就是肺内液体渗出与清除失衡的结果^[9]。以往侧重于研究毛细血管内皮的通透性,普遍认为发生通透性肺水肿主要是由于肺微血管内皮细胞受损所致,而对肺组织存在的 AQPs 在病理生理条件下的作用认识不足。肺水的转运主要有两条途径,一是钠的主动转运;二是在肺泡上的 AQPs。AQPs 是近年来发现的一组与水通透有关的细胞膜转运蛋白,参与构成肺泡。毛细血管膜屏障的水分子通道,主要介导自由水被动跨生物膜转运,对保持细胞内外水平衡起重要作用^[9]。目前已证实分布于肺组织中的 AQPs 主要有 4 种:AQP-1、AQP-3、AQP-4 和 AQP-5^[10]。其中,AQP-1 主要在气道周围毛细血管、肺泡毛细血管内皮细胞和脏层胸膜间皮细胞上表达,主要参与肺间质内液体的转运发挥作用;AQP-5 主要定位于肺泡 I 型上皮细胞的肺泡腔面^[11],主要作用是清除肺泡腔内水分。在 AQPs 清除和转运肺水的过程中,AQP-1 和 AQP-5 起主导作用,而 AQP-3 和 AQP-4 可能不参与 ALI 的形成过程^[7]。肺水肿时液体首先积聚在支气管周围,继而进入肺间质和肺泡腔,AQP 表达量或功能的下降可能降低肺损伤时机体对肺组织中过多液体的清除能力,从而加重肺泡和间质的水肿,因此充分认识肺脏水通道蛋白的作用对临床治疗肺水肿具有重要意义^[12]。

ALI 是临床较常见的危重病,病死率高。西医治疗措施主要在积极去除病因和控制原发病的基础上,依赖于支持性治疗。目前尚缺乏常规的、疗效明确药物。糖皮质激素、白三烯制剂等有一定的治疗作用,

但均存在局限性,疗效不满意的现象。中医学认为 ALI 的病因病机为邪毒内侵,损及内脏,气血运行障碍,气机逆乱,脉络瘀滞。治宜清热泻肺、活血利水为大法^[13]。青天葵,始载于《岭南采药录》,具有清热解毒,散瘀消肿等功效^[14]。药理实验证实,青天葵对急性肺损伤疗效显著^[15];研究发现,针对内毒素诱导的全身炎症反应及 ALI 模型,使用青天葵治疗,进行药效学及抗炎机制研究,同样证明了青天葵对 ALI 具有保护作用^[6]。青天葵的药用价值较高,具有理想的清热解毒抗炎功效,但现代研究报道还较少。

本研究中,内毒素造模后,肺组织出现明显的肿胀,全肺充血,可见暗红色斑点状病灶,肺组织 W/D 比值显著升高,光镜下观察肺组织出现明显的肺损伤病理改变,证明内毒素成功诱导了 ALI,而预先使用青天葵进行干预,肺组织的损伤指标明显下降,提示青天葵可以有效保护 ALI,表现为肺组织肿胀减轻,W/D 比值下降,斑点状病灶消失,肺组织病理损伤明显得到改善。同时,与内毒素模型组比较,青天葵预保护组 AQP-1、AQP-5 的蛋白表达水平明显升高,证实了青天葵对 AQP-1、AQP-5 的调节效应,说明青天葵可以通过调节 AQP-1、AQP-5 的蛋白表达水平,增强对肺间质和肺泡腔内过多液体的清除能力,调节水平衡,改善肺内水液代谢,从而减轻肺水肿状态。

实验结果也显示,青天葵预先给药并没有完全阻断肺损伤的发生与发展,考虑一方面可能与青天葵药物剂量浓度,给药时间长短,造模后是否继续给药等因素有关,有待进一步深入研究;另一方面,由于 ALI 发病机制较为复杂,可通过多种途径引起 ALI 的发生,青天葵目前证实了可以阻抑内毒素导致的炎症反应,可调节肺水通道蛋白,但对 ALI 的其他发病环节(如钠离子通道调控失衡、基质金属蛋白酶表达及活性的失调等)尚未开展深入研究,可能只针对其中的某些发病环节起效。

综上所述,青天葵预先给药能减轻内毒素致大鼠急性肺损伤,其保护机制与青天葵通过促进肺 AQP-1 和 AQP-5 的蛋白表达水平上调,增加肺泡水清除率和转运肺内液体,调节水平衡有关。

参 考 文 献

[1] Ackland GL, Mythen MG. Negative pressure pulmonary edema as an unsuspected imitator of acute lung injury/ARDS [J]. Chest, 2005, 127(5):1867-1868.
[2] Jiao G, Li E, Yu R. Decreased expression of AQP-1 and AQP-5 in acute injured lung in rats [J]. Chin Med J (Engl), 2002, 115(5):963-967.

- [3] Towne JE, Krane CM, Bachurski CJ, et al. Tumor necrosis factor alpha inhibits aquaporin 5 expression in mouse lung epithelial cells [J]. *J Biol Chem*, 2001, 276 (22): 18657-18664.
- [4] Lai KN, Leung JC, Metz CN, et al. Role for macrophage migration inhibitory factor in acute respiratory distress syndrome [J]. *J Pathol*, 2003, 199(4):496-508.
- [5] Towne JE, Harrod KS, Krane CM, et al. Decreased expression of aquaporin (AQP)1 and AQP5 in mouse lung after acute viral infection [J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2000, 22(1):34-44.
- [6] 谢友良, 许银姬, 林琳, 等. 青天葵对急性肺损伤大鼠的保护作用. 第三届世界中西医结合大会论文摘要集, 2007:694.
Xie YL, Xu YJ, Lin L, et al. The protective function of the *Nervilia fordii* on acute lung injury of rats [J]. The paper abstract collection of third world cooperation of Chinese and Western medicine congress, 2007: 694.
- [7] 李波, 陈东, 王桂芳, 等. 水通道蛋白 1、3、4、5 在内毒素性急性肺损伤小鼠肺组织中的表达 [J]. 第二军医大学学报, 2008, 29(2):131-133.
Li B, Chen D, Wang GF, et al. Expression of AQP-1, AQP-3, AQP-4 and AQP-5 in pulmonary tissues of mice with endotoxin-induced acute lung injury [J]. *Acad J Second Milit Med Univ*, 2008, 29(2):131-133.
- [8] Holub M, Lawrence DA. Influence of endotoxin-induced acute lung injury on pulmonary innate and adaptive immunity [J]. *APMIS*, 2003, 111(5):571-58.
- [9] 谢艳萍, 陈才平, 王建春, 等. 急性肺损伤大鼠肺水通道蛋白 1 和 5 的表达及功能的实验研究 [J]. 中华结核和呼吸杂志, 2005, 28(6):385-387.
Xie YP, Chen CP, Wang JC, et al. Experimental study on the expression and function of aquaporin-1 and aquaporin-5 in rats with acute lung injury induced by Hpopolysaccharid [J]. *Chin J Tuberc Respir Dis*, 2005, 28(6):385-387.
- [10] Takano H, Inoue K, Yanagisawa R, et al. Protective role of metallothionein in acute lung injury induced by bacterial endotoxin [J]. *Thorax*, 2004, 59(11):1057-1062.
- [11] 胡琼. 水蛋白通道与肺水肿 [J]. 临床军医杂志, 2007, 35(6):733.
Hu Q. Aquaporin and pulmonary edema [J]. *Clin J Med Off*, 2007, 35(6):733.
- [12] 郭玉, 刘少滨. 呼吸道水通道蛋白研究进展 [J]. 国际呼吸杂志, 2007, 27(17):1352-1353.
Guo Y, Liu SB. Advances in aquaporins of respiratory tract [J]. *Int J Respir*, 2007, 27(17):1352-1353.
- [13] 李敏, 李锋, 胡波, 等. 丹参对内毒素致急性肺损伤大鼠肺水通道蛋白 1 的调节效应 [J]. 中国中医药信息杂志, 2007, 14(3):31-32.
Li M, Li F, Hu B, et al. The effect of SM on aquaporin-1 expression in rats with acute lung injury induced by lipopolysaccharide [J]. *Chin J Informat Tradit Chin Med*, 2007, 14(3):31-32.
- [14] 邱志楠, 潘俊辉. 青天葵临床新用 [J]. 广州医学院学报, 1995, 23(2):96-97.
Qiu ZN, Pang JH. New clinical of *Nervilia fordii* [J]. *Acad J Guangzhou Med Coll*, 1995, 23(2):96-97.
- [15] 黄松, 陶艳, 蒋东旭. 青天葵的药学研究概况 [J]. 时珍国医国药, 2007, 18(10):2453-2454.
Huang S, Tao Y, Jiang DX. The pharmaceutical research survey of *Nervilia fordii* [J]. *Lishizhen Med Materia Med Res*, 2007, 18(10):2453-2454.

(收稿:2009-12-30 修回:2010-04-28)

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: hxnh_2010@163.com 或 hxnh2010@sina.com。