

· 基础研究 ·

桂枝加葛根汤对脂多糖诱导神经炎症小鼠学习记忆障碍的改善作用

徐颖¹ 张宗奇² 赵妍¹ 董献文¹ 王星禹¹ 张利青¹

摘要 目的 研究桂枝加葛根汤(Guizhi plus Gegen Decoction, GGD)对脂多糖(lipopolysaccharides, LPS)诱导神经炎症小鼠学习记忆的影响及可能的作用机制。方法 63只雄性ICR小鼠随机分为5组:正常对照组(正常组,13只)、神经炎症模型组(模型组,13只)、桂枝加葛根汤低剂量组(GGD低组,10只)、桂枝加葛根汤高剂量组(GGD高组,14只)、阳性对照组(对照组,13只)。给予小鼠腹腔注射LPS(0.33 mg/kg)建立阿尔茨海默氏病(Alzheimer's disease, AD)的神经炎症模型;GGD低组(6 g/kg)和GGD高组(12 g/kg)给予GGD灌胃治疗共4周;阳性对照组给予二甲基四环素(50 mg/kg)腹腔注射共3天,药物治疗结束后每天行为学测试前4 h注射LPS造模,然后5组小鼠同时进行行为学测试,分别采用旷场实验、新异物体识别任务和Morris水迷宫观察GGD对神经炎症小鼠学习记忆的影响。结果 旷场实验显示各组小鼠之间的活动时间及活动距离差异无统计学意义($P > 0.05$),LPS及GGD对小鼠的活动能力均没有产生影响;新异物体识别任务显示,LPS诱导后小鼠对新物体的探索时间明显缩短($P < 0.05$),而GGD低组和GGD高组小鼠的探索能力及记忆保持能力明显改善($P < 0.05, P < 0.01$);Morris水迷宫结果显示,LPS诱导后小鼠的逃避潜伏期明显延长($P < 0.05$),穿越原平台的游泳时间百分比明显减少($P < 0.05$),GGD低组和GGD高组小鼠逃避潜伏期均明显缩短,游泳时间百分比明显增加($P < 0.05, P < 0.01$)。结论 GGD对LPS诱导的神经炎症小鼠学习记忆障碍具有一定程度的改善作用。

关键词 桂枝加葛根汤;神经炎症;学习记忆;阿尔茨海默氏病

Enhanced Effect of Guizhi plus Gegen Decoction on Learning and Memory Disorder in LPS Induced Neuroinflammatory Mice XU Ying¹, ZHANG Zong-qi², ZHAO Yan¹, DONG Xian-wen¹, WANG Xing-yu¹, and ZHANG Li-qing¹ 1 Department of Physiology, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai (201203), China; 2 Department of Neurology, Shuguang Hospital Affiliated to Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai (201203), China

ABSTRACT Objective To explore the potential effect of Guizhi plus Gegen Decoction (GGD) in improving learning and memory of lipopolysaccharides (LPS) induced neuroinflammatory mice and its possible mechanisms. Methods Totally 63 male ICR mice were randomly divided into 5 groups, i.e., the normal control ($n = 13$), the model group ($n = 13$), the low dose GGD group ($n = 10$), the high dose GGD group ($n = 14$), and the positive control group ($n = 13$). Mice were intraperitoneally injected with LPS (0.33 mg/kg) to induce Alzheimer's disease (AD) model. Mice in the high and the low dose GGD groups were administered with 12 g/kg or 6 g/kg by gastrogavage for 4 successive weeks. Mice in the control group were intraperitoneally injected with minocycline (50 mg/kg) for 3 days. By the end of treatment LPS were injected 4 h before behavior test each day, and then behavior test was conducted in mice of each group. Effect of GGD on learning and memory of AD mice was observed by using open field test, novel object recognition task, and Morris water maze. Results Open field test showed there was no statistical

基金项目:国家自然科学基金资助项目(No. 81274119);上海市教育委员会科研创新项目(No. 13YZ050);上海市教育委员会预算内科研项目(No. 2010JW04);上海市教育委员会重点学科资助项目(No. J50301)

作者单位:1.上海中医药大学生理教研室(上海 201203);2.上海中医药大学附属曙光医院神经内科(上海 201203)

通讯作者:徐颖, Tel:021-51322587, E-mail:ying6122003@aliyun.com

DOI: 10.7661/CJIM.2014.02.0179

difference in the movement time and the movement distance among all groups ($P > 0.05$), suggesting that LPS and GGD had no effect on locomotor activities of mice. In novel object recognition test, AD mice spent significantly shorter time to explore novel object after they were induced by LPS ($P < 0.05$), while for AD mice in the low and high dose GGD groups, their capacities for exploration and memory were significantly improved ($P < 0.05$, $P < 0.01$). Results of Morris water maze showed that AD mice exhibited increased escape latency ($P < 0.05$) and spent much less time in swimming across the original platform (both $P < 0.05$). However, AD mice in the low and high dose GGD groups had obvious shortened latency and increased time percentage for swimming ($P < 0.05$, $P < 0.01$). Conclusion GGD possessed certain improvement in learning and memory disorder of LPS induced AD mice.

KEYWORDS Guizhi plus Gegen Decoction; neuroinflammation; learning and memory; Alzheimer's disease

随着人口的老龄化,各种神经退行性疾病的发生增多,如阿尔茨海默氏病(Alzheimer's disease, AD)、帕金森氏病(Parkinson's disease, PD)等,其主要临床症状为严重的进行性认知障碍。近年来的研究表明,脑内炎症反应可能是这些神经系统疾病重要的发病机制之一,由此提出了此类疾病的神经炎症机制,并对突触可塑性、学习记忆以及神经发生都有着重要的影响^[1-3]。

桂枝加葛根汤(Guizhi plus Gegen Decoction, GGD)出自《伤寒论》,临床上主治颈椎病和脑血管疾病,可提高脑血流量和提高记忆能力,其作用可能与抗炎作用相关^[4,5]。本研究采用脂多糖(lipopolysaccharides, LPS)诱导小鼠的神经炎症 AD 模型,通过一系列行为学检测方法,在整体水平研究 GGD 能否改善 AD 等神经退行性疾病学习记忆功能障碍的影响。

材料与方法

1 实验动物 63 只雄性 ICR 小鼠,3 月龄,体重 30 g 左右,上海中医药大学实验动物中心提供,动物生产许可证号:SCXK(沪)2008-0003。动物饲养在室温(22 ± 2) $^{\circ}\text{C}$,湿度 45%~65%和明暗交替(12 h/12 h)环境中,自由摄食和饮水。

2 实验药物 GGD 由桂枝 6 g 葛根 12 g 麻黄 9 g 芍药 6 g 生姜 9 g 炙甘草 6 g 大枣 12 枚组成,生药均由上海中医药大学附属曙光医院药剂科提供 GGD 生药共 90 g,水煎后浓缩,小鼠剂量按成人表面积 9 倍计算生药量,分别设低剂量(6 g/kg)和高剂量(12 g/kg);脂多糖(Lipopolysaccharide, LPS, 10 mg)购自美国 Sigma 公司(批号 L-2630),二甲基四环素(Minocycline hydrochloride, 25 mg)购自美国 Sigma 公司(批号 M-9511)。

3 实验仪器 Morris 水迷宫仪器设备及记录软件为上海吉星软件有限公司的 DigBehv 动物行为分析系统;旷场实验和新异物体识别任务仪器设备和记录软件为成都仪器厂的 MGS-1 型大(小)鼠自发活动图像分析系统。

4 动物分组、处理方法及模型制备 小鼠按随机数字表法分为 5 组:正常对照组(正常组,13 只)、神经炎症模型组(模型组,13 只)、桂枝加葛根汤低剂量组(GGD 低组,10 只)、桂枝加葛根汤高剂量组(GGD 高组,14 只)、阳性对照组(对照组,13 只)。GGD 低剂量组(6 g/kg)和高剂量组(12 g/kg),每天 1 次灌胃治疗,共 4 周;对照组小鼠给予二甲基四环素治疗,按 50 mg/kg 腹腔注射,每天 1 次,连续 3 天,于行为学测试前 3 天进行治疗;正常组小鼠给予等剂量双蒸水灌胃。GGD 低组、GGD 高组、对照组小鼠分别治疗结束后和模型组于每天开始行为学测试前 4 h 给予腹腔注射 LPS 进行造模,模型制作方法依据相关文献[6],通过给予小鼠腹腔注射 LPS(0.33 mg/kg),4 h 后 LPS 穿过血脑屏障,导致大量细胞因子释放,造成神经炎症模型。根据国外文献支持和本研究中行为学实验结果表明神经炎症 AD 模型制作成功。然后与正常组小鼠同时进行行为学测试,行为学实验均在 9:00—18:00 于室内进行。

5 观察指标及方法

5.1 旷场实验 方法参照参考文献[7]。将单只小鼠放入四周壁和底部为灰色的方形敞口观察箱中心(60 cm × 60 cm × 29 cm),采用旷场实验追踪分析系统通过红外装置记录其活动时间(s)、总距离(cm)等,共 5 min。每只鼠实验结束,将箱底及四壁清理干净,喷洒 75% 酒精,以避免气味干扰。

5.2 新异物体识别任务 方法参照参考文献[8]。实验装置包括一个方形的测试盒(60 cm × 60

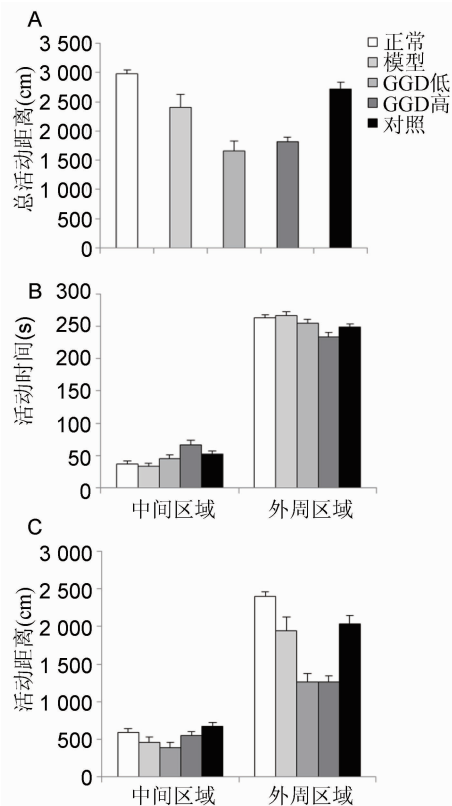
cm × 29 cm) 和 4 ~ 5 种大小相似但形状、颜色及质地均有差异的玩具。在训练阶段, 随机选择两个玩具放进测试盒, 位置随机。记录 15 min 内小鼠探究玩具的时间, 探究时间是指小鼠在玩具周围约 5 cm (鼠体长的 2/3) 范围内, 注视、嗅或碰触物体 (除尾巴) 的时间。训练结束后, 依次选择 1 h 和 24 h 两种不同的延迟时间, 进行记忆保持实验各 15 min。在记忆保持测试中, 用一新玩具替换训练时其中一个旧玩具, 并记录鼠在每个玩具上的探究时间。计算鼠在新玩具上探究时间与在两个玩具上探究总时间的比值, 作为测量实验鼠学习记忆能力的参数。每次实验结束, 用 75% 酒精擦拭测试盒及玩具, 以避免气味的干扰。

5.3 Morris 水迷宫 方法参照参考文献 [9]。水迷宫由一不锈钢圆形水池和一可移动位置的平台组成, 直径为 100 cm, 水深 30 cm。先在水池内注入清水, 然后加入少许墨汁使水变成不透明, 水温控制在 (22 ± 2) °C。水池被分为 4 个相同的象限, 每个象限的池壁上方贴有不同形状的标志作为参照物, 平台位于某个象限的中间, 水面高出平台 2 cm。测试共 6 天, 分别测定: (1) 定位航行实验: 实验第 1 ~ 4 天, 每天分上午和下午两个时间段, 每个时间段训练 2 次, 分别将小鼠从两个象限入水测试, 记录其逃避潜伏期 (从入水至找到安全平台的时间), 测试时限定为 70 s。若小鼠在 70 s 内尚未找到平台, 则将小鼠拿到平台上并使其在上面停留 30 s; 若小鼠在 70 s 内找到平台, 也让其在平台上停留 30 s。水池上空通过摄像机与监视器和计算机连接, 采用水迷宫检测软件系统自动跟踪小鼠游泳轨迹。(2) 空间搜索实验: 实验第 5 天, 撤除平台, 小鼠在原平台象限的对侧象限入水, 记录其原平台所在象限的游泳距离占总距离的百分比 (%)、时间百分比 (%)。(3) 可视平台实验: 实验第 6 天, 使水池内平台高出水面 2 cm, 在平台对侧象限放入小鼠, 在小鼠可视情况下记录其逃避潜伏期, 以此排除小鼠视力对寻找平台的影响。

6 统计学方法 实验数据通过统计软件 SPSS 17.0 数据均采用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用单因素方差分析, 组间差异采用 LSD 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1 各组旷场实验结果比较 (图 1) 旷场实验结果提示, 各组在总活动距离、测试盒中间区域和外周区域的活动时间和距离差异无统计学意义 (均 $P > 0.05$)。

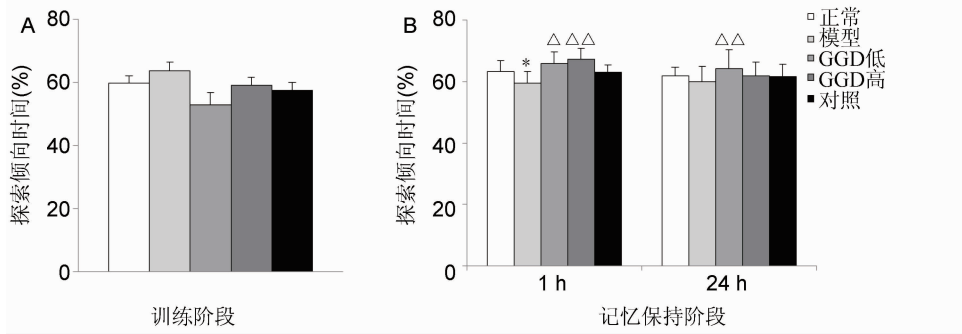


注: A 为各组小鼠的总活动距离; B 为小鼠在测试盒中间区域和外周区域的活动时间; C 为小鼠在中间区域和外周区域的活动距离

图 1 各组旷场实验结果比较

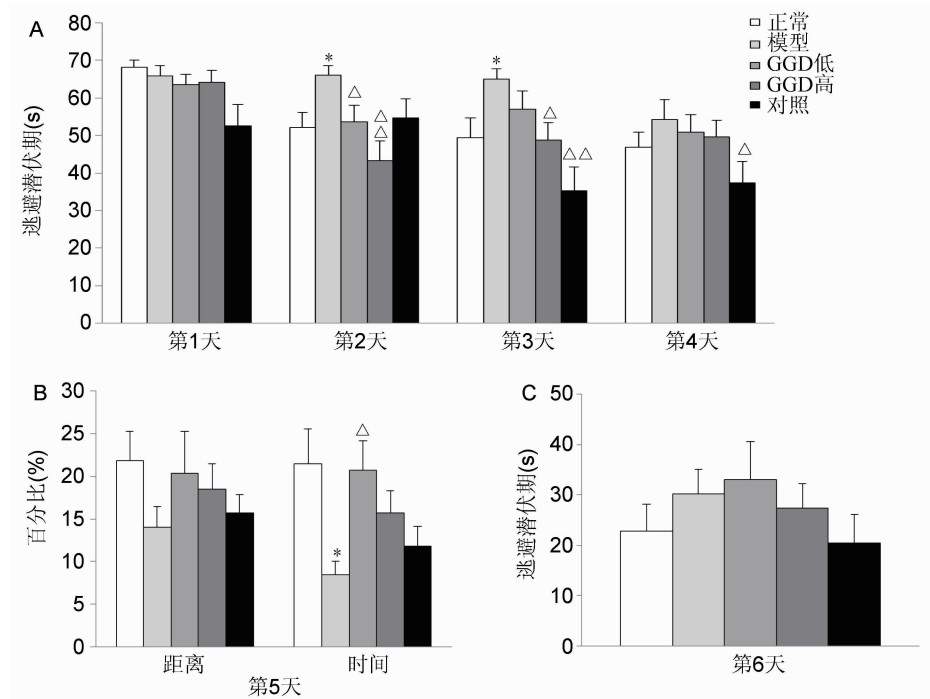
2 各组新异物体识别任务实验结果比较 (图 2) 新异物体识别任务结果显示: (1) 在训练阶段中, 各组小鼠分别在两种物体上探索时间差异无统计学意义 ($P > 0.05$); (2) 训练结束后, 依次延迟 1 h 和 24 h 后进行短期和长期记忆保持测试, 结果显示 LPS 处理后小鼠在 1 h 后表现对新物体的好奇心明显较差 ($P < 0.05$), GGD 低、GGD 高组小鼠在新物体探索的时间比率较高, 差异有统计学意义 ($P < 0.05, P < 0.01$); 在 24 h 延迟实验中, GGD 高组小鼠在新物体上探索的时间显著高于模型组, 差异有统计学意义 ($P < 0.01$)。

3 各组 Morris 水迷宫实验结果比较 (图 3) 水迷宫实验结果显示: (1) 定位航行实验, 第 1 天各组小鼠的逃避潜伏期差异无统计学意义 ($P > 0.05$); 第 2、3 天模型组小鼠与正常组比较出现了明显延长, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$); 与模型组比较, GGD 高组和对照组小鼠逃避潜伏期均不同程度缩短, 差异有统计学意义 ($P < 0.05, P < 0.01$)。 (2) 第 5 天空间探索实验中, 撤除平台, 与正常组比较, 模型组穿越平台所在原象限的时间占总游泳时间的百分比明显减少, 差



注:A 为训练阶段中各组小鼠对两种物体的探索时间;B 为训练结束后,依次延迟 1 h 和 24 h 后进行短期和长期记忆保持测试;与正常组比较, * $P < 0.05$;与模型组比较, $\Delta P < 0.05$, $\Delta\Delta P < 0.01$

图 2 各组小鼠新异物体识别任务实验结果比较



注:A 为定位航行实验(第 1~4 天)各组小鼠逃避潜伏期;B 为空间探索实验(第 5 天)穿越原平台时间和距离百分比;C 为可视平台实验(第 6 天)各组小鼠逃避潜伏期;与模型组比较, * $P < 0.05$;与模型组比较, $\Delta P < 0.05$, $\Delta\Delta P < 0.01$

图 3 各组小鼠 Morris 水迷宫实验结果比较

异有统计学意义($P < 0.05$),同时其距离百分比也有减少趋势;与模型组比较,GGD 低组小鼠的时间百分比均明显增加,差异有统计学意义($P < 0.05$)。(3)第 6 天可视平台实验中,各组小鼠的逃避潜伏期差异无统计学意义($P > 0.05$)。

讨 论

AD 等神经退行性疾病临床上主要表现为进行性的记忆减退和认知障碍,是导致老年人痴呆的最主要原因,病理上主要表现为脑内由细胞内微管相关蛋白 tau 蛋白的过度磷酸化导致的神经纤维缠结和细胞外

β 淀粉样蛋白(amyloid β -protein, A β)组成的老年斑,主要集中前脑如皮质、海马和杏仁核等区域,导致脑内神经突触的丢失、胶质细胞激活和炎症过程^[10]。AD 患者死后的尸检中发现患者大脑皮质的神经炎性斑块病灶周围常存在激活的小胶质细胞和反应性星形胶质细胞,释放大炎症介质和神经毒性物质,如白细胞介素-1 β (interleukin-1 β , IL-1 β)、肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF- α)、一氧化氮(nitric oxide, NO)、活性氧(reactive oxygen species, ROS)、谷氨酸盐等,会造成神经元损伤并引起凋亡,对学习记忆和突触可塑性均有影响,炎症介质和损伤

的细胞又进一步激活胶质细胞,形成恶性循环^[6]。

本课题组前期利用 LPS 诱导小胶质细胞的体外 AD 模型,产生大量炎性因子 NO、IL-1 β 和 TNF- α 等,并对其信号通路做了一些相关的研究工作,为进一步从整体动物实验证实神经炎症对 AD 小鼠学习记忆的改变,本实验则通过 LPS 诱导小鼠 AD 的神经炎症模型,在每天的行为学开始测试 4 h 之前给小鼠腹腔注射 LPS,4 h 后小鼠中枢表达大量 IL-1 β 基因,从而导致小鼠的神经炎症机制^[11]。国外研究也发现,LPS 脑室内或腹腔内注射可以引起动物脑内慢性炎症,LPS 与小胶质细胞膜上受体复合体结合,激活转录核因子(nuclear factor- κ B,NF- κ B)等信号通路引起致炎因子基因的表达,并导致 A β ₁₋₄₂ 水平提高,海马神经元发生凋亡、变性,认知能力降低^[12,13]。由此可见,神经炎症与 AD 发病过程、学习记忆障碍之间有着重要的联系,因此控制神经退行性病变过程中的炎症反应,对 AD 患者改善学习记忆等防治将具有潜在作用。

临床上发现抗炎药如布洛芬、二甲胺四环素等可降低炎性物质导致的神经元和胶质细胞中 A β 产生,从而改善 AD 的认知障碍等症状,但这些药物的安全性及耐药性问题也影响了临床使用^[14]。中医药经济、有效、副作用少,在 AD 治疗上具有独特的理论和丰富的实践经验,中医认为脾肾俱虚,肝脾不调,清阳不升,痰瘀阻络易致神经退行性疾病的发生,《伤寒论》中的 GGD 具有运脾升清、调和肝脾、温经通络的功效,可适用于虚中夹实的 AD 等神经退行性疾病的治疗^[4]。现代药理学研究发现,GGD 主要有效成分中含有桂皮醛、葛根素和姜黄素等,具有较强的抗炎解热、镇痛镇静、增加脑血流量等神经保护作用^[15-17]。因此,本研究通过行为学检测方法在 LPS 诱导小鼠神经炎症 AD 模型基础上,观察 GGD 对 AD 动物学习记忆能力的影响。根据本实验旷场试验结果可见 LPS 及 GGD 对小鼠的活动能力均没有产生影响。

新物体识别任务可检测海马依赖的短期和长期记忆能力^[18]。本实验结果体现出在训练阶段中,各组小鼠在探索能力和记忆能力上无差别;而训练结束后,LPS 处理的小鼠对旧物体的短期记忆保持能力较差,而 GGD 低和高剂量治疗后小鼠短期记忆力有所恢复;在延迟 24 h 实验中,LPS 处理后的小鼠对探索过的旧玩具表现出较强的识别记忆能力。实验结果提示,GGD 可以改善神经炎症小鼠的探索能力及短期和长期记忆保持能力。

Morris 水迷宫为常用于检测动物海马依赖的空间参考记忆能力,本实验中水迷宫实验 1~4 天为定

位航行实验,结果提示 LPS 对小鼠的空间记忆能力有损伤;GGD 低组和 GGD 高组小鼠损伤的记忆能力有一定的恢复。第 5 天空间探索实验中,经过前 4 天训练的正常小鼠对原水下平台的位置均有所记忆,会在原平台位置附近反复搜索多次,形成较长的平台附近停留时间,表现出寻找水下平台的目的性、针对性很强。结果提示模型组小鼠的空间记忆保持力降低;而给予 GGD 低剂量治疗后,小鼠的时间百分比均明显增加,距离百分比虽差异无统计学意义但有增加趋势,受损的记忆保持力得已恢复。在第 6 天可视平台实验中,各组小鼠对于可见的平台所测得的逃避潜伏期差异无统计学意义,以此可排除小鼠视力对寻找平台的影响。以上结果说明各组小鼠空间学习记忆能力有较大差异,LPS 对小鼠空间记忆能力有明显破坏作用,而 GGD 的治疗则有改善作用。

综上所述,通过以上 3 种行为学检测结果提示 LPS 和 GGD 在没有影响小鼠活动能力的基础上,LPS 诱导的神经炎症小鼠学习记忆能力明显降低,而 GGD 对所受损的学习记忆能力具有一定程度的改善作用,其深入的分子生物学机制将在以后的研究中进一步探讨。

参 考 文 献

- [1] Bonow RH, Aid S, Zhang Y, et al. The brain expression of genes involved in inflammatory response, the ribosome, and learning and memory is altered by centrally injected lipopolysaccharide in mice [J]. *Pharmacogenom J*, 2009, 9 (2): 116-126.
- [2] Min SS, Quan HY, Ma J, et al. Chronic brain inflammation impairs two forms of long-term potentiation in the rat hippocampal CA₁ area [J]. *Neurosci Lett*, 2009, 456(1): 20-24.
- [3] Boucherie C, Hermans E. Adult stem cell therapies for neurological disorders: benefits beyond neuronal replacement [J]. *J Neurosci Res*, 2009, 87(7): 1509-1521.
- [4] 窦维华,徐姗姗.桂枝加葛根汤化裁治疗老年痴呆症 [J]. *四川中医*, 2010, 28(5): 75-76.
- [5] 马麟,赵玉堂.桂枝加葛根汤抗炎镇痛作用研究 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2012, 18(7): 249-251.
- [6] Glass CK, Saijo K, Winner B, et al. Mechanisms underlying inflammation in neurodegeneration [J]. *Cell*, 2010, 140(6): 918-934.
- [7] Prult L, Belzung C. The open field as a paradigm to measure the effects of drugs on anxiety-like be-

- haviors: a review[J]. *Eur J Pharmacol*, 2003, 463 (1-3): 3-33.
- [8] Cao XH, Wang HM, Mei B, et al. Inducible and selective erasure of memories in the mouse brain via chemical-genetic manipulation[J]. *Neuron*, 2008, 60: 353-366.
- [9] Morris R. Developments of a water-maze procedure for studying spatial learning in the rat[J]. *J Neurosci Methods*, 1984, 11(1): 47-60.
- [10] Pratico D, Trojanowski JQ. Inflammatory hypotheses: novel mechanisms of Alzheimer's neurodegeneration and new therapeutic targets[J]. *Neurobiol Aging*, 2000, 21(3): 441-445.
- [11] Licinio J, Wong ML. Pathways and mechanisms for cytokine signaling of the central nervous system[J]. *J Clin Invest*, 1997, 100(12): 2941-2947.
- [12] Lee JW, Lee YK, Yuk DY, et al. Neuroinflammation induced by lipopolysaccharide causes cognitive impairment through enhancement of beta-amyloid generation[J]. *J Neuroinflamm*, 2008, 5: 37.
- [13] Wang Q, Rowan MJ, Anwyl R. Beta-amyloid-mediated inhibition of NMDA receptor-dependent long-term potentiation induction involves activation of microglia and stimulation of inducible nitric oxide synthase and superoxide[J]. *J Neurosci*, 2004, 24(27): 6049-6056.
- [14] Pinnen F, Sozio P, Cacciatore I, et al. Ibuprofen and glutathione conjugate as a potential therapeutic agent for treating Alzheimer's disease[J]. *Arch Pharm (Weinheim)*, 2011, 344(3): 139-148.
- [15] Hwang H, Jeon H, Ock J, et al. 2'-hydroxy cinnamaldehyde targets low-density lipoprotein receptor-related protein-1 to inhibit lipopolysaccharide-induced microglial activation[J]. *J Neuroimmunol*, 2011, 230(1-2): 52-64.
- [16] Sikora E, Bielak-Zmijewska A, Mosieniak G, et al. The promise of slow down ageing may come from curcumin [J]. *Curr Pharm Des*, 2010, 16(7): 884-892.
- [17] Zhong SZ, Ge QH, Li Q, et al. Peoniflorin attenuates $A\beta_{1-42}$ mediated neurotoxicity by regulating calcium homeostasis and ameliorating oxidative stress in hippocampus of rats [J]. *J Neurol Sci*, 2009, 280(1-2): 71-78.
- [18] Rampon C, Tang YP, Goodhouse J, et al. Enrichment promotes structural changes and rescues nonspatial memory deficits in CA1-NMDAR1-knockout mice [J]. *Nat Neurosci*, 2000, 3(3): 238-244.

(收稿:2013-02-28 修回:2013-11-01)

全国中西医结合虚证与老年医学学术研讨会征文通知

中国中西医结合学会虚证与老年医学专业委员会拟于2014年5月8-10日在山东省潍坊市召开第十四次全国中西医结合虚证与老年医学学术研讨会,会议主题为“老年疾病中西医结合防治”。大会特邀老年医学领域国内外知名专家、院士就老年疾病及药物合理应用等作专题报告。欢迎各位专家学者踊跃投稿。现将有关征文事宜通知如下:

征文内容 (1)衰老与老年疾病的基础与临床研究;(2)重点征文领域:心脑血管疾病、肿瘤、老年康复、老年营养支持及老年病合理用药等。

征文要求 (1)来稿须为尚未公开发表的论文,形式可以为研究报告、病例报道、论著或综述。要求科学性强,论点鲜明。来稿务必真实、准确,文责自负;(2)来稿请寄全文(5000字以内),内容依次为:论文题目、作者姓名、工作单位部门、通讯地址和邮编、结构化摘要(目的、方法、结果、结论)、关键词、正文、参考文献,文中可有图表,应为清晰的原图或计算机图形文件;(3)请投电子版文稿,word文档排印,中文宋体字,英文Times New Roman,标题用四号字体,作者姓名、摘要(500字以内)、关键词、正文、参考文献用五号字体,请标注通讯作者、电子邮箱、联系电话。论文如属省部级以上科研基金课题,请予注明;(4)经评审录用的论文将收入“会议学术论文集”,优秀论文将推荐给有关学术杂志。

截稿日期 2014年3月31日

联系人 王华, Tel:13864093172, E-mail:wang1386409@163.com。