

脂筏募集蛋白分析针刺对阿尔茨海默病小鼠跨膜细胞信号途径的影响

聂 坤 张雪竹 赵 岚 贾玉洁 韩景献

摘要 **目的** 揭示针刺治疗阿尔茨海默病(Alzheimer's disease, AD)中参与神经元功能调控的跨膜细胞信号途径。**方法** 以 SAMP8 小鼠为 AD 动物模型,用液质联用蛋白质组学方法检测益气调血扶本培元针法对早老化痴呆小鼠 SAMP8 海马脂筏募集的跨膜细胞信号蛋白数量和种类的影响。**结果** 与对照组比较,针刺组小鼠 SAMP8 海马脂筏募集的细胞信号类蛋白质数量增多 39 种,其中,离子通道蛋白 14 种, G 蛋白 8 种,跨膜信号受体 8 种,激酶 9 种,共涉及包括 G 蛋白偶联受体信号、酶耦联受体信号和离子通道介导 3 类主要的细胞信号途径;与非穴组比较,针刺组海马脂筏募集的激酶类信号蛋白数量显著增加,增加的激酶从功能上看,以调节神经元细胞骨架相关的突触功能和神经递质分泌为主。**结论** 针刺治疗 AD 的细胞生物学机制,可能是通过多种跨膜细胞信号改善神经元突触的功能和促进神经递质分泌,达到改善 AD 患者大脑认知功能的效果。

关键词 脂筏;液质联用蛋白质组学;阿尔茨海默病;跨膜细胞信号转导

Effect of Acupuncture on Transmembrane Signal Pathway in AD Mice: an Analysis Based on Lipid-raft Proteomics NIE Kun, ZHANG Xue-zhu, ZHAO Lan, JIA Yu-jie, and HAN Jing-xian *Institute of Acupuncture and Moxibustion, First Teaching Hospital of Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin (300193), China*

ABSTRACT **Objective** To reveal the transmembrane signal pathway participating in regulating neuron functions of treating Alzheimer's disease (AD) by acupuncture. **Methods** SAMP8 mice was used for AD animal model. The effect of acupuncture method for qi benefiting, blood regulating, health supporting, and root strengthening on the amount and varieties of transmembrane signal proteins from hippocampal lipid rafts in SAMP8 mice was detected using HPLC MS/MS proteomics method. **Results** Compared with the control group, acupuncture increased 39 transmembrane signal proteins from hippocampal lipid rafts in SAMP8 mice, of them, 14 belonged to ionophorous protein, 8 to G protein, 8 to transmembrane signal receptor, and 9 to kinase protein. Totally 3 main cell signal pathways were involved, including G-protein-coupled receptors signal, enzyme linked receptor signal, and ion-channel mediated signal. Compared with the sham-acupuncture group, acupuncture resulted in significant increase of kinase signal protein amount. From the aspect of functions, they were dominant in regulating synapse functions relevant to cytoskeleton and secreting neurotransmitters. **Conclusion** The cell biological mechanism for treating AD by acupuncture might be achieved by improving synapse functions and promoting the secretion of neurotransmitters through transmembrane signal transduction, thus improving cognitive function of AD patients.

KEYWORDS lipid raft; HPLC MS/MS proteomics; Alzheimer's disease; transmembrane signal transduction

基于三焦理论的“益气调血,扶本培元”针法在

基金项目:国家自然科学基金资助项目(No. 81072882, No. 81202739)

作者单位:天津中医药大学第一附属医院针灸研究所(天津 300193)

通讯作者:聂 坤, Tel: 022-27432210, E-mail: nk637@hotmail.com

DOI: 10. 7661/CJIM. 2014. 08. 0991

临床上对阿尔茨海默病(Alzheimer's disease, AD)患者认知能力有明显改善作用^[1]。动物实验亦显示,针刺不仅显著改善 AD 动物模型 SAMP8 痴呆小鼠的认知能力,而且还能改变其神经元突起的形态并促进神经干细胞的分化与迁移^[2],提示该针法治疗 AD 的生物学机制涉及复杂的跨膜细胞信号途

径调控。

为阐明该针法治疗 AD 的跨膜细胞信号途径相关机制,本研究以 SAMP8 小鼠为 AD 动物模型,采用液质联用蛋白质组学方法(HPLC MS/MS)检测益气调血扶本培元针法对 SAMP8 小鼠海马组织脂筏募集的跨膜细胞信号蛋白数量和种类的影响,来揭示针刺治疗 AD 疗法涉及到的跨膜细胞信号途径。

材料与方法

1 动物及分组 SAMP8 小鼠 60 只,月龄为 7 个月,体重(24.28 ± 1.89)g,雌雄各半,由天津中医药大学第一附属医院实验动物中心提供(动物合格证号 0004600)。随机分为 3 组,即对照组、针刺组和非穴组,每组 20 只。

2 试剂和仪器 蛋白酶抑制剂、蔗糖购自 Sigma 公司;超速离心机,Hitachi Himac CP80WX;Morris 水迷宫行为学分析系统,由中国医学科学院药物研究所提供。

3 穴位选择和针刺方法 针刺组选取膻中、中脘、气海及双侧血海、足三里,穴位定位参照《实验针灸学》^[3]中的动物穴位图谱。针刺方法:血海穴施捻转泻法 30 s,其他穴位均行捻转补法 30 s;非穴组取双侧肋下固定非经非穴点,用平补平泻捻转手法各 30 s;对照组不进行针刺干预,代之以相同时间的捉抓刺激。各组每天做相应处理 1 次,第 7 天暂停 1 次,连续 1 个月。

4 海马脂筏提取 依照文献[4]中蔗糖密度梯度超速离心法提取脂筏,即:颈椎脱臼法处死小鼠,迅速剥取完整海马组织置玻璃匀浆器中,按质量/体积比 400 mg/mL 加入脂筏提取液,按 5 μ L/mL 比例加入蛋白酶抑制剂冰上充分匀浆。将匀浆后悬浊液倒入 EP 管中 4 $^{\circ}$ C 下静置 90 min,然后 4 $^{\circ}$ C,1 000 $\times$ g,低速离心 15 min。离心后小心吸取上清液用于超速离心(Hitachi Himac CP80WX):用转头 P80AT,蔗糖密度梯度由下至上依次为 40%、30%、5%蔗糖,样品在 40%蔗糖中,离心参数:4 $^{\circ}$ C,200 000 $\times$ g,20 h。超速离心完成后,在 5%蔗糖与 30%蔗糖分界处看到一层连成片状乳黄色脂质物质,即为脂筏,取出后置于 -80 $^{\circ}$ C 冰箱备用。

5 观察指标及检测方法

5.1 小鼠的逃避潜伏期 采用 Morris 水迷宫的隐蔽平台试验。针刺结束后,各组小鼠进行 1 个 5 天隐蔽平台试验的 Morris 水迷宫测试,以评价针刺对 SAMP8 小鼠学习记忆能力的影响,具体方法见文

献[5,6]描述,即:每次训练时将动物面朝池壁轻轻放入水中,记录小鼠从入水至找到平台的游泳路线的长度及找到平台的时间(逃避潜伏期),然后让小鼠在平台上停留 20 s。如果 120 s 内找不到平台,潜伏期记为 120 s,并将小鼠置于平台上休息 20 s。每天在 2 个人水点各训练 1 次,以两次潜伏期的算术均值作为这一天的成绩进行统计分析。

5.2 脂筏样品中跨膜信号蛋白质种类和数量 HPLC MS/MS 液质联用蛋白质组学(由中科院上海中科新生命公司提供技术服务)。脂筏经过酶解和肽链纯化,取酶解后的肽段样品,上样约 3 μ g (MS1 为 profile 模式,MS2 为 centroid 模式,每个 MS1 后进行 3 次 MS2)。每组样品按照预备实验方法各进行 3 次重复实验。合并输出每组样品蛋白质鉴定列表。

5.3 脂筏样品中跨膜信号蛋白质鉴定 采用 HPLC MS/MS shotgun analysis 法^[7]。各组蛋白质列表基于 Swissport 数据库,利用 SEQUEST software 软件(University of Washington, licensed to Thermo Finnigan)对 MS/MS raw data 进行蛋白质鉴定。物种选小鼠, b ions 和 y ions 也包括进搜索参数中;检索出的蛋白质的筛选参数设置为 Xcorr (1 + ≥ 1.9 ; 2 + ≥ 2.2 ; 3 + ≥ 3.75) and DelCn (≥ 0.1)。

利用 Bioworks 3.1 Software (Thermo)软件中的 Turbo SEQUEST 程序,把获得的 MS/MS 蛋白表达谱自动在小鼠数据库(IPI MOUSE v3.29)进行检索,检索参数的包括如下:Variable modifications, Oxidation (Methionine); fixed modifications, Carbamidomethyl (C); peptide tolerance, ± 3.0 Da; fragment ions tolerance, ± 0.0 Da; max missed cleavages。有效的 SEQUEST 结果要满足以下要求:要有 1 个 a DCn score 至少是 0.1;如果是单肽的话,Xcorr 至少是 1.9;酶解后肽段 Xcorr 至少 2.2。

鉴定出的蛋白质的细胞定位和功能分析在 gene ontology 数据库分析完成。依据细胞定位,排除定位于细胞核与核糖体的杂蛋白,其他定位于膜系统以及胞浆蛋白定义为脂筏蛋白。脂筏蛋白再依据功能分析,筛选出跨膜信号转导相关蛋白。

6 统计学方法 应用 SPSS 16.0 统计软件对水迷宫实验数据进行统计与分析。各组数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用双因素方差分析,以 3 个不同的处理组作为组间因素,不同的训练天数作为组内因素, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1 各组小鼠认知能力测试结果比较(表 1) 对照组小鼠的逃避潜伏期随训练天数增加有所缩短,但差异无统计学意义($P>0.05$);针刺组小鼠的逃避潜伏期随训练天数的增加而明显缩短,与对照组及非穴组同期比较,第 2 天及以后差异均有统计学意义($P<0.05$);而非穴组随着时间的增加亦有所缩短,与同期对照组组间比较,从第 2 天起,差异均有统计学意义($P<0.05$)。

2 各组样品中总蛋白及脂筏蛋白的数据分析 脂筏蛋白种类分析显示,以液质联用蛋白质组学方法能检测出对照组 SAMP8 小鼠海马脂筏中 449 种蛋白,根据蛋白的细胞定位,鉴定出脂筏蛋白 319 种;针刺组检测出 570 种蛋白,鉴定出脂筏蛋白 361 种;而非穴组检测出 455 种蛋白,鉴定出脂筏蛋白 301 种。在鉴定出的脂筏蛋白中,脂筏的标志性蛋白质 Flotillin-1、Flotillin-2、HSP90 及 Thy-1 都被发现;对鉴定

出的脂筏蛋白质 GO 功能注释的分析结果显示,有涉及神经递质的释放和重吸收机能蛋白,如 SNAP-25、Synaptotagmin(Syt);有涉及细胞内信号转导,如小 G 蛋白;蛋白功能群还包括细胞骨架组装与神经元内物质运输相关蛋白,以及转运蛋白及非受体离子通道如电压门控离子通道家族。此外,还有细胞表面识别与黏附相关蛋白等。

3 针刺非穴对海马脂筏募集跨膜信号转导相关蛋白的影响(表 2) 非穴组样品共鉴定出脂筏蛋白 301 种。与对照组比较,有 113 种脂筏蛋白是非穴组特有(数据未列出)。对 113 种新募集的蛋白进行功能分析发现,非穴位针刺对海马脂筏募集蛋白的影响主要以结合蛋白和跨膜细胞信号转导相关蛋白为主要特征,此外还有催化活性的酶,细胞骨架相关蛋白和转运蛋白等。其中,跨膜细胞信号转导相关蛋白总共有 21 种,其中离子通道蛋白 9 种,G 蛋白 8 种,跨膜信号受体 3 种,激酶 1 种。

表 1 各组小鼠认知能力测试结果比较 ($\bar{x}\pm s$)

组别	n	逃避潜伏期(s)				
		第 1 天	第 2 天	第 3 天	第 4 天	第 5 天
对照	20	85.50 ± 13.80	69.28 ± 18.10	53.63 ± 25.26	64.22 ± 11.05	65.96 ± 15.57
针刺	20	78.85 ± 17.27	56.65 ± 10.36 ^{*△}	53.11 ± 18.20 ^{*△}	32.15 ± 8.12 ^{*△}	28.41 ± 12.66 ^{*△}
非穴	20	80.44 ± 8.81	78.05 ± 9.22 [*]	67.33 ± 18.23 [*]	55.02 ± 6.88 [*]	51.72 ± 8.47 [*]

注:与对照组同期比较,^{*} $P<0.05$;与非穴组比较,[△] $P<0.05$

表 2 非穴组脂筏募集的信号转导相关蛋白

功能 [*]	蛋白 ID	蛋白名称
c	IPI00356063	Sodium channel subunit beta-2
c	IPI00117357	Voltage-dependent calcium channel alpha-2-delta-2 subunit
c	IPI00170310	Slc8a2 sodium-calcium exchanger
c	IPI00109213	Slc8a1 sodium/calcium exchanger 1
c	IPI00120643	Isoform 2 of calcium-activated potassium channel subunit alpha 1
c	IPI00133224	Isoform 1 of FX1D domain-containing ion transport regulator 6 precursor
c	IPI00230013	Isoform 2B of dihydropyridine-sensitive L-type calcium channel subunits
c	IPI00331064	Voltage-dependent R-type calcium channel subunit alpha-1E
c	IPI00356287	Sodium channel protein type 9 subunit alpha
g	IPI00138406	Rap1a Ras-related protein Rap-1A
g	IPI00116770	Rab18 Ras-related protein Rab-18
g	IPI00122245	Rhoc Rho-related GTP-binding protein RhoC
g	IPI00126042	Rab14 Ras-related protein Rab-14
g	IPI00411115	Rab8b Ras-related protein Rab-8B
g	IPI00465871	Gpr158 Probable G-protein coupled receptor
g	IPI00466588	Rap2c Ras-related protein Rap-2c
g	IPI00108372	Rasgrf2 Guanine nucleotide release/exchange factor Ras-GRF2
k	IPI00471270	Serine/threonine-protein kinase LMTK3
r	IPI00116355	glial cell line derived neurotrophic factor family receptor
r	IPI00113772	Gamma-aminobutyric-acid receptor
r	IPI00117630	Inositol 1,4,5-trisphosphate receptor type 1

注:g 为 G 蛋白;c 为离子通道蛋白;k 为激酶;r 为跨膜信号受体;下表同

4 益气调血扶本培元针法对海马脂筏募集跨膜信号转导相关蛋白的影响(表 3) 针刺组共鉴定出脂筏蛋白共有 361 种。与对照组比较,158 种脂筏蛋白是针刺组特有。在 158 种针刺特异蛋白中,跨膜细胞信号转导相关蛋白总共有 39 种。其中离子通道蛋白 14 种,G 蛋白 8 种,跨膜信号受体 8 种,激酶 9 种,脂筏蛋白种类发生了巨大改变,158 种新蛋白被募集到脂筏中。与非穴组比较,针刺组海马脂筏募集的激酶数量显著增加,且离子通道蛋白和跨膜信号受体数量呈现出同步增多的特点,而 G 蛋白数量无变化。

讨 论

益气调血扶本培元针法是基于三焦气化异常导致痴呆的创新性病机所设,取穴为膻中、中脘、气海、血海和足三里,其义在补上、中、下三焦之气,活血化瘀,扶本培元,有异于目前常用的调肝法、补肾法、祛瘀法等,是一种全新的 AD 治疗思路。大量临床和基础研究都显示该针法有独特的疗效和特定的生物学机制^[8,9]。在此项研究中,Morris 水迷宫的数据再一次表明,该针法通过某种机制明显地改善了痴呆小鼠 SAMP8 海马神经元相关的学习记忆能力。

表 3 针刺组脂筏募集的信号转导相关蛋白

功能*	蛋白 ID	蛋白名称
c	IPI00751774	Calcium-activated potassium channel subunit alpha 1
c	IPI00109213	Sodium-calcium exchanger
c	IPI00120643	Kcnma1 Isoform 2 of Calcium-activated potassium channel subunit alpha 1
c	IPI00133719	Kcna1 Potassium voltage-gated channel subfamily A member 1
c	IPI00123672	Kcnj4 Inward rectifier potassium channel 4
c	IPI00124792	Kcnj10 ATP-sensitive inward rectifier potassium channel 10
c	IPI00131720	Cacnb4 Voltage-dependent L-type calcium channel subunit beta-4
c	IPI00133732	Kcna3 Potassium voltage-gated channel subfamily A member 3
c	IPI00170310	Slc8a2 Sodium-calcium exchanger
c	IPI00227840	Kcnq2 Potassium voltage-gated channel subfamily KQT member 2
c	IPI00230013	Cacna2d1 Dihydropyridine-sensitive L-type calcium channel subunits alpha-2
c	IPI00311200	Atp2a3 ATPase, Ca ²⁺ transporting
c	IPI00331064	Cacna1e Voltage-dependent R-type calcium channel subunit alpha-1E
c	IPI00111158	Cacna2d2 Voltage-dependent calcium channel alpha-2-delta-2 subunit
g	IPI00126042	Rab14 Ras-related protein Rab-14
g	IPI00224518	Rab5c Ras-related protein Rab-5C
g	IPI00108372	Guanine nucleotide release/exchange factor Ras-GRF2 release Ras-GRF2
g	IPI00115546	Guanine nucleotide-binding protein G(o) subunit alpha 2
g	IPI00122245	Rho-related GTP-binding protein RhoC
g	IPI00138406	Rap1a Ras-related protein Rap-1A
g	IPI00116563	Rab5b
g	IPI00116938	Guanine nucleotide-binding protein G(I)/G(S)/G(T) subunit beta 3
k	IPI00620349	Kalrn Kalirin, RhoGEF kinase
k	IPI00272387	Citron Rho-interacting kinase
k	IPI00356608	AP2-associated protein kinase 1
k	IPI00116546	cAMP-dependent protein kinase type II -alpha regulatory subunit
k	IPI00109672	Yes1 Proto-oncogene tyrosine-protein kinase Yes
k	IPI00122143	Jak2 Janus kinase 2
k	IPI00421000	Diacylglycerol kinase beta
k	IPI00471270	Serine/threonine-protein kinase LMTK3
k	IPI00112584	Calcium/calmodulin-dependent protein kinase type II
r	IPI00321320	Glutamate [NMDA] receptor subunit
r	IPI00462846	Receptor-type tyrosine-protein phosphatase delta
r	IPI00130546	Gamma-aminobutyric-acid receptor subunit beta-3
r	IPI00131369	Gamma-aminobutyric-acid receptor subunit gamma-2
r	IPI00131472	Gria3 Glutamate receptor 3
r	IPI00110598	Gamma-aminobutyric-acid receptor subunit alpha-2
r	IPI00136965	Gria1 Glutamate receptor 1
r	IPI00553387	glutamate receptor, metabotropic 5

脂筏是一种富含胆固醇、鞘(磷)脂和蛋白质的微结构域,不溶于非离子去污剂,是细胞膜的功能结构域^[10,11],与信号转导、蛋白质的转运、胆固醇运送、胞内钙离子的稳态平衡密切相关^[12]。由于细胞各种跨膜信号转导都是通过脂筏募集到大量下游蛋白来完成,因此脂筏募集的蛋白质种类变化,提供了观察细胞信号转导活化变化的窗口。

本研究通过液质联用蛋白组学方法,检测益气调血扶本培元针法干预后小鼠海马神经元脂筏募集的跨膜信号相关蛋白的变化。脂筏蛋白组学的数据显示该针法具有明显的穴位特异性。在非穴组中,针刺干预后有 113 种新蛋白被募集到海马脂筏中;而在针刺组中有 158 种新蛋白被募集到海马脂筏中;针刺穴位募集的跨膜信号蛋白 39 种,明显多于非穴组的 21 种。可见,与针刺非穴位相比,针刺穴位能产生更复杂更强烈的细胞生物学效应。

对针刺组脂筏募集跨膜信号蛋白的种类分析发现,针刺穴位募集的跨膜蛋白呈现出激酶数量显著增加的特点,针刺组的激酶数量(9 种)多于非穴组(1 种)。这 9 种激酶中,从信号类型看, cAMP-dependent protein kinase type II, Diacylglycerol kinase beta 涉及 G 蛋白偶联受体信号途径; Citron Rho-interacting kinase, Yes1, Jak2, LMTK3 涉及酶耦联受体信号途径; Kalirin, AP2-associated protein kinase 1, Calcium/calmodulin-dependent protein kinase type II 涉及离子通道介导的信号途径。从神经元功能来看, Kalirin, Calcium/calmodulin-dependent protein kinase type II 参与调解神经元细胞骨架有关的形态维持和神经递质分泌^[13,14]; LMTK3, AP2-associated protein kinase 1 是受体介导的细胞内吞作用的关键调解信号^[15,16]; Yes1, Jak2, Citron Rho-interacting kinase 涉及各种细胞因子介导的胞内信号途径^[17-19]。对这些激酶的功能分析表明,针刺穴位产生的细胞生物学效应,涉及到胞内 3 类跨膜信号转导途径,主要涉及细胞骨架相关的突触功能以及各种细胞因子介导的细胞生理活动。

针刺干预同样促进脂筏募集更多的离子通道蛋白和跨膜信号受体。与对照组比较,针刺组离子通道蛋白增加 14 种,跨膜信号受体增加 8 种。其中,增多的跨膜信号受体主要是神经递质谷氨酸和 γ -氨基丁酸受体,这两种神经递质在维持神经元兴奋性上有关键作用^[20,21];增加的 14 种离子通道蛋白,主要是电压门控的钠离子钾离子通道。

综上,针刺干预对 SAMP8 小鼠海马神经元跨膜

细胞信号的影响,主要是促进脂筏募集更多的激酶、离子通道蛋白和跨膜信号受体,这些跨膜信号分子涉及了包括 G 蛋白偶联受体介导的、酶耦联受体介导和离子通道介导 3 类细胞跨膜信号途径,产生了广泛强烈的细胞生物学效应。从这些信号蛋白功能上分析,这些跨膜信号分子与多种调节神经元细胞骨架相关的突触功能和各种细胞因子介导的细胞活动相关,而神经元电生理活动和神经元兴奋性神经递质的分泌,也是针刺的细胞生物学效应,这提示针刺治疗 AD 的细胞生物学机制,可能是通过多种跨膜细胞信号改善神经元突触的功能和促进神经递质分泌,达到改善 AD 患者大脑认知功能的效果。

参 考 文 献

- [1] 于建春,于涛,张雪竹,等.“益气调血,扶本培元”针法治疗老年期痴呆的临床应用和作用机制[J]. 天津科技, 2009, 285(2): 15-17.
- [2] 张月峰,于建春,李谈,等.“益气调血,扶本培元”针法对快速老化小鼠 SAMP8 海马和颞叶皮质神经元数量及形态的影响[J]. 上海针灸杂志, 2005, 24(9): 40-43.
- [3] 李忠仁. 实验针灸学[M]. 北京: 中国中医药出版社, 2007: 58-66.
- [4] Ishmael JE, Safic M, Amparan D, et al. Non-muscle myosins II-B and Va are components of detergent-resistant membrane skeletons derived from mouse forebrain[J]. Brain Res, 2007, 1143(27): 46-59.
- [5] Yu JC, Liu CZ, Zhang XZ, et al. Acupuncture improved cognitive impairment caused by multi-infarct dementia in rats[J]. Physiol Behav, 2005, 86(4): 434-441.
- [6] Liu CZ, Yu JC, Cheng HY, et al. Spatial memory performance and hippocampal neuron number in osteoporotic SAMP6 mice[J]. Exp Neurol, 2006, 201(2): 452-460.
- [7] Zhang L, Zhu H, Lun Y, et al. Proteomic analysis of macrophages: A new way to identify novel cell-surface antigens[J]. Cell Mol Immunol, 2007, 4(5): 359-367.
- [8] Guo Y, Shi X, Uchiyama H, et al. A study on the rehabilitation of cognitive function and short-term memory in patients with Alzheimer's disease using transcutaneous electrical nerve stimulation[J]. Front Med Biol Eng, 2002, 11(4): 234-247.
- [9] 冯春青,褚芹,石江伟,等. 益气调血扶本培元针法治疗轻度认知障碍疗效观察[J]. 吉林中医药, 2009, 29

- (10): 871–872.
- [10] Hicks DA, Nalivaeva NN, Turner AJ. Lipid rafts and Alzheimer's disease: protein-lipid interactions and perturbation of signaling [J]. *Front Physiol*, 2012, 22(3): 189.
 - [11] Sonnino S, Prinetti A. Membrane domains and the "lipid raft" concept [J]. *Curr Med Chem*, 2013, 20(1): 4–21.
 - [12] van Meer G. The different hues of lipid rafts [J]. *Cell Biol Sci*, 2002, 296(5569): 855–857.
 - [13] Penzes P, Remmers C. Kalinin signaling: implications for synaptic pathology [J]. *Mol Neurobiol*, 2012, 45(1): 109–118.
 - [14] Martinez-Penay Valenzuela I, Mouslim C, Akaaboune M, et al. Calcium/calmodulin kinase II-dependent acetylcholine receptor cycling at the mammalian neuromuscular junction *in vivo* [J]. *J Neurosci*, 2010, 30(37): 12455–12465.
 - [15] Stebbing J, Filipovic A, Lit LC, et al. LMTK3 is implicated in endocrine resistance via multiple signaling pathways [J]. *Oncogene*, 2013, 32(28): 3371–3380.
 - [16] Ricotta D, Conner SD, Schmid SL, et al. Phosphorylation of the AP2 μ subunit by AAK1 mediates high affinity binding to membrane protein sorting signals [J]. *J Cell Biol*, 2002, 156(5): 791–795.
 - [17] Werdich XQ, Penn JS. Src, Fyn and Yes play differential roles in VEGF-mediated endothelial cell events [J]. *Angiogenesis*, 2005, 8(4): 315–326.
 - [18] Zouein FA, Duhé RJ, Booz GW. JAKs go nuclear: emerging role of nuclear JAK1 and JAK2 in gene expression and cell growth [J]. *Growth Factors*, 2011, 29(6): 245–252.
 - [19] Di Cunto F, Calautti E, Hsiao J, et al. Citron rho-interacting kinase, a novel tissue-specific ser/thr kinase encompassing the Rho-Rac-binding protein citron [J]. *J Biol Chem*, 1998, 273(45): 29706–29711.
 - [20] Sun W, McConnell E, Pare JF, et al. Glutamate-dependent neuroglial calcium signaling differs between young and adult brain [J]. *Science*, 2013, 339(6116): 197–200.
 - [21] Potapenko ES, Biancardi VC, Zhou Y, et al. Astrocytes modulate a postsynaptic NMDA-GABAA-receptor crosstalk in hypothalamic neurosecretory neurons [J]. *J Neurosci*, 2013, 33(2): 631–640.

(收稿:2013-02-20 修回:2013-11-29)

《Chinese Journal of Integrative Medicine》获 “2013 中国最具国际影响力学术期刊”

2013 年 12 月 30 日,中国学术期刊(光盘版)电子杂志社、清华大学图书馆、中国学术文献国际评价研究中心联合发布《中国学术期刊国际引证年报(2013 版)》,年报从国际引证计量统计的角度,提供了重新认识中国学术期刊国际影响力的全新视角。同时也发布了“2013 中国最具国际影响力学术期刊”和“2013 中国国际影响力优秀学术期刊”名单。《Chinese Journal of Integrative Medicine》再次获得“中国最具国际影响力学术期刊”。本刊国际影响力指数 CI 为 108.767,国际他引总被引频次 464 次,国际他引影响因子 0.950。《Chinese Journal of Integrative Medicine》1995 年创刊,主编为陈可冀院士,是我国第一本被 SCI 收录的中医、替代医学及结合医学领域的杂志。2013 年 6 月公布本刊影响因子为 1.059,2014 年上升至 1.401,较以往继续稳步提升,在补充替代医学杂志领域学科排名也由 2012 年的 16 名上升至现在的第 11 名。