

针刺调控 Hsp84、Hsp86 表达延缓快速老化痴呆小鼠 SAMP8 脑衰老作用的研究

贾玉洁 聂 坤 张雪竹 李 晶 郭 琳

摘要 **目的** 探讨热休克蛋白(Hsp)84、Hsp86 与快速老化痴呆小鼠 SAMP8 (senescence accelerated mouse prone 8) 脑衰老的相关性及针刺的调控作用。**方法** 取 10 只正常老化小鼠 SAMR1 (senescence accelerated mouse resistant 1) 为正常对照组。另取 30 只 SAMP8 按照随机数字表法分为空白对照组、针刺组和非穴组, 每组 10 只。针刺组给予“三焦”针法治疗, 非穴组针刺双胁下两个固定非穴位点; 其余两组给予等量的捉抓刺激; 均每天 1 次, 持续 15 天。评价动物神经肌肉协调性, 检测海马氧化损伤及蛋白质羰基化水平; Real-time PCR 和 Western blot 法检测海马及 Neuro-2a 细胞中 Hsp84 和 Hsp86 mRNA 和蛋白表达情况。**结果** 与正常对照组比较, 空白对照组紧绳实验成功率降低 ($P < 0.01$), 海马超氧化物歧化酶 (superoxide dismutase, SOD) 和谷胱甘肽过氧化物酶 (glutathione peroxidase, GSH-Px) 水平下降 (均 $P < 0.01$), 超氧阴离子和蛋白质羰基化水平升高 ($P < 0.01$, $P < 0.05$), 海马 Hsp84、Hsp86 mRNA 和蛋白呈低表达 (均 $P < 0.01$); 与空白对照组和非穴组比较, 针刺组紧绳实验成功率提高 ($P < 0.05$); 海马 SOD 和 GSH-Px 水平上升 ($P < 0.05$, $P < 0.01$), 超氧阴离子和蛋白质羰基化水平降低 ($P < 0.01$, $P < 0.05$); 海马 Hsp84、Hsp86 mRNA 和蛋白呈高表达 (均 $P < 0.01$)。A β_{25-35} 处理后的 Neuro-2a 细胞中 Hsp84 和 Hsp86 mRNA 表达水平降低 (均 $P < 0.01$)。**结论** 衰老后蛋白质氧化损伤增多及 Hsp84 和 Hsp86 表达下降是造成 SAMP8 脑内变性蛋白堆积和脑衰老的部分原因。针刺通过调控 Hsp84 和 Hsp86 表达延缓脑衰老。

关键词 阿尔茨海默病; 衰老; 热休克蛋白 84; 热休克蛋白 86

Acupuncture Regulated the Expressions of Hsp84 and Hsp86 and Postponed Brain Aging in SAMP8 JIA Yu-jie, NIE Kun, ZHANG Xue-zhu, LI Jing, and GUO Lin *Institute of Acupuncture, First Teaching Hospital, Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin (300193)*

ABSTRACT **Objective** To observe the correlations between heat shock protein 84 (Hsp84) / Hsp86 and brain aging in senescence accelerated mouse prone 8 (SAMP8) and the regulation effects of acupuncture. **Methods** Ten senescence accelerated mouse resistant 1 (SAMR1) were recruited as a normal control group. Another 30 SAMP8 mice were divided into the blank control group, the acupuncture group, and the non-acupoint group by random digit table, 10 in each group. Mice in the acupuncture group received treatment with "Sanjiao" acupuncture method. Mice in the non-acupoint group were needled at two fixed non-acupoints located at bilateral hypochondrium of the body. Catching stimulus at equal volume was given to mice in the rest two groups. All intervention was performed once per day for 15 successive days. Neuromuscular coordination of mice was evaluated. Levels of oxidative stress and protein carbonyl were determined. mRNA and protein expression levels of Hsp84 and Hsp86 in the hippocampus of mice and Neuro-2a cells were detected using Real-time PCR and Western blot. **Results** Compared with the normal control group, the success rate of tight rope experiment was lowered ($P < 0.01$), levels of superoxide dismutase (SOD) and glutathione peroxidase (GSH-Px) in the hippocampus were reduced ($P < 0.01$), the levels of superoxide anion and protein carbonyl increased ($P < 0.01$, $P < 0.05$), mRNA and

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (No. 81473766, 81674056); 天津市自然科学基金重点项目 (No. 16JCZDJC36200)

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: 张雪竹, Tel: 022-27432210, E-mail: zhangxuezhuzhu1999@126.com

DOI: 10.7661/CJIM.2016.12.1474

protein expression levels of Hsp84 and Hsp86 in the hippocampus decreased ($P < 0.01$) in the blank control group. Compared with the blank control group and the non-acupoint group, the success rate of tight rope experiment was elevated ($P < 0.05$), levels of SOD and GSH-Px were increased ($P < 0.05$, $P < 0.01$), the levels of superoxide anion and protein carbonyl decreased ($P < 0.01$, $P < 0.05$), and expression levels of Hsp84 and Hsp86 in the hippocampus increased ($P < 0.01$) in the acupuncture group. mRNA expression levels of Hsp84 and Hsp86 were decreased in Neuro-2a cells after treated with $A\beta_{25-35}$ ($P < 0.01$). Conclusions Increased oxidative damage of protein and decreased expression levels of Hsp84 and Hsp86 might be partial reasons for resulting in accumulation of denatured protein and brain aging in SAMP8. Acupuncture could delay brain aging by regulating the expressions of Hsp84 and Hsp86.

KEYWORDS Alzheimer's disease; aging; heat shock protein84; heat shock protein86

阿尔茨海默病(Alzheimer's disease, AD)是衰老相关疾病。细胞衰老是机体衰老的基本单位。随着衰老,细胞内增高的氧化应激水平导致蛋白质损伤逐渐增加。加之衰老后生物大分子损伤与修复功能之间发生失衡,导致变性蛋白在细胞内异常堆积,促进衰老细胞的功能进一步衰退^[1]。 β 淀粉样蛋白(amyloid β -protein, $A\beta$)沉积形成的老年斑和 Tau 蛋白过度磷酸化形成的神经纤维原缠结是 AD 的两大主要病理特征,两者的出现均与蛋白质被异常修饰后出现构象改变、发生错误折叠有关^[2]。

热休克蛋白(Hsps)是一类分子伴侣蛋白,为细胞内蛋白质质量控制所必需。其中 Hsp90 能促进应激反应下产生的变性蛋白再次折叠以恢复正常构象,防止变性蛋白积聚从而对细胞存活起保护作用^[3]。Hsp90 广泛参与多种细胞生命活动,有促进细胞增殖、抑制细胞衰老或凋亡的作用;其最主要的两种亚型在人类细胞内分别是 Hsp90 α 和 Hsp90 β ;在小鼠细胞内则对应为 Hsp86 和 Hsp84。

快速老化鼠 SAMP8 (senescence accelerated mouse strain 8)是由日本引进的快速老化痴呆小鼠,由于随增龄出现 $A\beta$ 沉积、神经元丢失等病理改变并伴有明显的学习记忆障碍^[4],因此被作为脑衰老或 AD 模型广泛使用。本研究拟以 SAMP8 及小鼠 Neuro-2a 神经细胞为研究对象,探讨 Hsp84 和 Hsp86 与 SAMP8 脑衰老的相关性及针刺的调控作用,以期阐明 SAMP8 发生脑衰老的部分原因及针刺的作用机制。

材料与方法

1 动物 30 只健康 7 月龄雄性 SAMP8 及 10 只同源正常老化鼠 SAMR1 (senescence accelerated mouse resistant 1),饲养在完全相同的条件下,自由饮食饮水。动物由天津中医药大学第一附属医院实验动物中心提供,合格证号:SCXK(津)2015 -

0003,清洁级。

2 主要试剂及仪器 超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD, 批号:03/2015)、超氧阴离子(批号:03/2015)、谷胱甘肽过氧化物酶(glutathione peroxidase, GSH-Px, 批号:03/2015)和蛋白质羰基化试剂盒(批号:03/2015)购自南京建成生物科技有限公司。Neuro-2a 细胞系为实验室自有。 $A\beta_{25-35}$ (Sigma 公司,批号:055K4624)、TRIzol (Life Technologies 公司,批号:1065074); Superscript First-strand Synthesis System (Invitrogen 公司,批号:1168191)、Platinum SYBR Green qPCR SuperMixUDG (Invitrogen 公司,批号:1108077)、anti-Hsp90 alpha antibody (Abcam 公司,批号:GR35643-1)、anti-Hsp90 beta antibody (ABCam 公司,批号:GR35685-1)、anti- β -actin 抗体 (Santa Cruz 公司,批号:c0311)。化学发光底物 (Millipore 公司,批号:1030502)。PCR 仪 (型号:7500 Real-time, Applied Biosystems 公司)、酶标仪 (型号:Elx800, Bio-Tek 公司)、半干式蛋白转印槽 (型号:TE70, Amersham 公司)、凝胶成像系统 (型号:ChemiDoc XRS, Bio-Rad 公司)。

3 动物分组及干预方法 选取 10 只健康雄性 7 月龄正常老化鼠 SAMR1 为正常对照组,另取 30 只 SAMP8 按随机数字表法分为空白对照组、针刺组和非穴组,每组 10 只。针刺组采用“三焦”(益气调血,扶本培元)针法进行针刺,取穴为膻中、中脘、气海、血海_(双)和足三里_(双)。针刺方法:膻中、中脘、气海和足三里分别施捻转补法 30 s,血海施捻转泻法 30 s。非穴组取双肘下两个固定非穴位点,行平补平泻手法 105 s。均每天针刺 1 次,持续 15 天,第 8 天休息 1 次。具体方法参见文献[5]。

4 检测指标及方法

4.1 紧绳实验评价动物神经肌肉协调性 将细

绳(长 60 mm,直径 2 mm)在两个木柱间绷紧,细绳高于地面 20 cm。提尾将小鼠提高于绳子,再慢慢降低使其前爪抓住绳子中央,当小鼠身体低于绳子后放开。将 60 s 内到达柱子视为成绩合格,记录每组小鼠的合格率。针刺治疗结束后立即进行紧绳试验,每只小鼠每天测试 3 次,连续进行 2 天。

4.2 海马氧化应激和蛋白质羰基化水平测定
依照说明书,采用 SOD、超氧阴离子和 GSH-Px 试剂盒测定海马氧化应激水平;采用蛋白质羰基化试剂盒测定蛋白质羰基化水平。

4.3 细胞中 Hsp84 和 Hsp86 mRNA 表达 采用 Real-time PCR 法检测 Hsp84 和 Hsp86 mRNA 表达。20 μmol/L 的 Aβ₂₅₋₃₅ 处理小鼠 Neuro-2a 神经细胞 24 h,诱导 AD 细胞模型。冰上迅速分离海马组织或收集细胞,按照 RNA 提取试剂盒提取说明 TR-lzol 法提取其中总 RNA。取 2 μg 总 RNA 为模板逆转录为 cDNA。反应条件为:37 ℃ 反转录 60 min,95 ℃ 5 min 灭活 M-MLV 逆转录酶。取 5 μL cDNA 加入到含有上下游引物、荧光染料 SYBR green 的反应体系中,实时荧光定量 PCR 法检测组织中 Hsp84 和 Hsp86 基因相对于管家基因 GAPDH 的表达情况。所有引物选自 Primer Bank 数据库。引物由上海生工合成。Hsp84 上游引物:5'-CCCATCACCTC-TATTTG-3';下游引物:5'-AAGTGGTCCTCCCAGT-CA-3';Hsp86 上游引物:5'-ATCTCATTCCCAG-CAAAC-3';下游引物:5'-CCAAATAGGCAGAGTA-AAA-3'。GAPDH 上游引物:5'-CCTTCCGTGTTCTACCC-3';下游引物:5'-AAGTCGCAGGAGACAACC-3'。PCR 扩增条件为:95 ℃ 预变性 5 min;95 ℃ 10 s、50 ℃ 20 s、72 ℃ 20 s,进行 40 个循环。反应结束,2^{-ΔΔCt}法分析结果,计算 Hsp84 和 Hsp86 mRNA 的相对表达量。所有样品重复检测 3 次。

4.4 Western blot 法检测 Hsp84 和 Hsp86 蛋白表达 分离动物海马组织,常规方法提取样品中的总蛋白并定量。蛋白样品进行 SDS 聚丙烯酰胺凝胶电泳、转膜、封闭后,分别与 Hsp84(1:1 000)、Hsp86

(1:1 000)的一抗杂交,再经与相应的 HRP 标记的二抗(1:2 000)杂交、化学发光显色等步骤,凝胶图像分析系统测定光密度值。每个样品重复测量 3 次,取均值分析。实验以 β-actin(1:500)作为内参照物。

5 统计学方法 采用 SPSS 13.0 软件进行统计。所有数据均行正态分布及方差齐性检验,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示。组间比较采用单因素方差分析,细胞实验组间比较采用两独立样本 *t* 检验。*P* < 0.05 为差异有统计学意义。

结 果

1 各组小鼠神经肌肉协调性比较(表 1) 与正常对照组比较,空白对照组紧绳实验成功率降低(*P* < 0.01);与空白对照组和非穴组比较,针刺组紧绳实验成功率升高(*P* < 0.05)。

表 1 各组小鼠神经肌肉协调性比较 (%, $\bar{x} \pm s$)		
组别	<i>n</i>	紧绳实验成功率
正常对照	10	73.33 ± 10.33
空白对照	10	46.67 ± 13.66 *
针刺	10	58.33 ± 11.69 ^{ΔΔ}
非穴	10	40.00 ± 10.95

注:与正常对照组比较,**P* < 0.01;与空白对照组比较,^Δ*P* < 0.05;与非穴组比较,^{ΔΔ}*P* < 0.05

2 各组小鼠海马组织氧化应激和蛋白质羰基化水平比较(表 2) 与正常对照组比较,空白对照组海马 SOD 和 GSH-Px 水平明显下降(*P* < 0.01),超氧阴离子和蛋白质羰基化水平升高(*P* < 0.01,*P* < 0.05)。与空白对照组和非穴组比较,针刺治疗能提高海马 SOD 和 GSH-Px 水平(*P* < 0.05,*P* < 0.01),降低超氧阴离子和蛋白质羰基化水平(*P* < 0.01,*P* < 0.05)。

3 各组海马组织 Hsp84、Hsp86 mRNA 表达比较(表 3) 与正常对照组比较,空白对照组海马组织 Hsp84、Hsp86 mRNA 水平下降(*P* < 0.01);与空白对照组比较,针刺组海马组织 Hsp84、Hsp86 mRNA 水平升高,且高于非穴组(*P* < 0.01)。

表 2 各组小鼠海马组织氧化应激和蛋白质羰基化水平比较 ($\bar{x} \pm s$)					
组别	<i>n</i>	SOD (U/mg pro)	超氧阴离子 (U/g pro)	GSH-Px (U/mg pro)	蛋白质羰基化 (nmol/mg)
正常对照	10	47.19 ± 6.34	387.26 ± 45.41	15.13 ± 1.47	2.67 ± 0.78
空白对照	10	37.45 ± 3.12 **	524.63 ± 59.89 **	5.09 ± 0.78 **	3.59 ± 1.03 *
针刺	10	41.55 ± 3.46 ^{ΔΔ}	405.23 ± 37.24 ^{ΔΔΔ}	7.92 ± 1.44 ^{ΔΔΔ}	3.01 ± 0.88 ^{ΔΔ}
非穴	10	38.13 ± 5.30	508.84 ± 35.93	5.52 ± 0.99	3.65 ± 1.20

注:与正常对照组比较,**P* < 0.05,***P* < 0.01;与空白对照组比较,^Δ*P* < 0.05,^{ΔΔ}*P* < 0.01;与非穴组比较,^{ΔΔ}*P* < 0.05

表 3 各组海马组织 Hsp84、Hsp86 mRNA

相对表达量比较 (%, $\bar{x} \pm s$)

组别	n	Hsp84 mRNA	Hsp86 mRNA
正常对照	10	100.00 $\pm$ 12.28	100.00 $\pm$ 10.94
空白对照	10	13.51 $\pm$ 1.84 *	16.13 $\pm$ 2.26 *
针刺	10	28.38 $\pm$ 3.02 Δ^{Δ}	29.03 $\pm$ 2.65 Δ^{Δ}
非穴	10	13.66 $\pm$ 1.50	15.92 $\pm$ 1.88

注:与正常对照组比较, * $P < 0.01$;与空白对照组比较, $\Delta P < 0.01$;与非穴组比较, $\Delta P < 0.01$

4 各组小鼠海马 Hsp84、Hsp86 蛋白表达水平比较(图 1) 与正常对照组比较,空白对照组 Hsp84、Hsp86 蛋白表达水平下降;与空白对照组和非穴组比较,针刺组治疗能提高两者表达,以 Hsp84 升高更为明显。

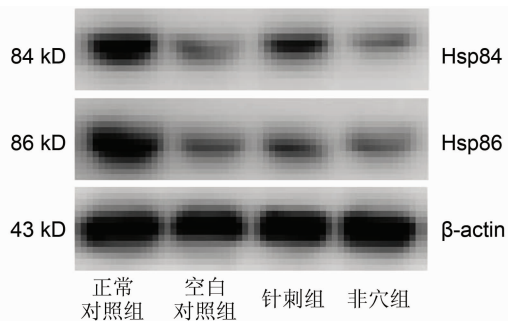


图 1 各组小鼠海马 Hsp84、Hsp86 蛋白表达

5 两组神经细胞 Hsp84、Hsp86 mRNA 表达水平比较(表 4) 小鼠 Neuro-2a 神经细胞经 $A\beta_{25-35}$ 诱导培养 24 h 后,细胞中 Hsp84、Hsp86 mRNA 相对表达水平下降($P < 0.05$)。

表 4 两组神经细胞 Hsp84、Hsp86 mRNA

相对表达量比较 (%, $\bar{x} \pm s$)

组别	n	Hsp84 mRNA	Hsp86 mRNA
正常对照	3	100.00 $\pm$ 11.29	100.00 $\pm$ 17.84
$A\beta_{25-35}$	3	67.57 $\pm$ 6.66 *	58.97 $\pm$ 7.87 *

注:与正常对照组比较, * $P < 0.05$

讨 论

衰老过程中,中枢神经系统长期暴露于慢性氧化应激的条件下,加之内源性防御机能减退,导致氧自由基增加。增多的氧自由基破坏蛋白质天然构象,造成蛋白质肽链发生错误折叠,导致蛋白质功能发生改变,进而引起蛋白质毒性^[1]。蛋白质毒性是导致衰老及衰老相关疾病的关键组分,多种神经系统退行性疾病如 AD、帕金森氏综合征和肌萎缩侧索硬化症等均与蛋白毒性相关^[6]。

Hsps 是氨基酸序列高度保守的一类分子伴侣蛋白,为细胞内蛋白质质量控制所必需。作为机体内源性防御系统,Hsps 在细胞遭遇热、化学等应激刺激时被大量诱导表达,通过维持蛋白质正常结构及细胞内蛋白稳态来保护细胞的正常功能。衰老过程中 Hsps 水平逐渐降低^[3]。Hsps 的表达水平是应激条件下细胞缓冲能力及维持细胞内蛋白质动态平衡能力的体现,其下降代表了细胞内源性防御反应的减弱^[7]。具有内源性保护作用的热休克反应可见于多种神经系统疾病中,包括脑卒中、癫痫、脑外伤和神经退行性病变。热休克蛋白是细胞对衰老和神经退行性疾病中氧自由基和氮自由基产生的神经毒性的主要防御机制。Hsp90 在细胞中表达丰度较高,广泛参与多种细胞生命活动,有促进细胞增殖、抑制细胞衰老或凋亡的作用。Hsp90 能与蛋白质结合形成复合物,促进新生肽链正确折叠装配,防止其形成寡聚体;Hsp90 还能促进变性蛋白质进行结构修复,若修复失败则启动泛素化途径使之降解;防止错误蛋白在细胞内积聚,从而对细胞存活起保护作用^[8]。

$A\beta$ 沉积形成的老年斑和 Tau 蛋白过度磷酸化形成的神经纤维原缠结是 AD 的两大主要病理特征,二者的出现均与蛋白质异常折叠有关^[2]。Hsp90 作为调控蛋白质正确折叠的主要因子,参与 $A\beta$ 聚集和 Tau 过度磷酸化的调控。研究显示,早发、晚发 AD 及 MCI 患者的血清 Hsp90 水平均较对照组明显下降^[9];提高患者 Hsp90 水平,可阻止 $A\beta$ 诱导的神经毒性^[10,11],提示 Hsp90 与 AD 间存在密切联系^[12]。小胶质细胞是脑内的巨噬细胞,AD 脑内小胶质细胞活化程度与 $A\beta$ 堆积量密切相关。Hsp 可通过 TLR4 途径激活 NF- κ B 和 p38 MARK,进一步诱导小胶质细胞活化,促进小胶质细胞的吞噬作用和 $A\beta$ 降解以加速 $A\beta$ 清除^[13]。Hsp 与 $A\beta$ 在细胞内共定位,Hsp90 可抑制 $A\beta$ 的早期聚集;并以浓度依赖的方式降低 $A\beta$ 的聚集速度^[14],抑制 $A\beta$ 相关的毒性作用。Hsp 在 Tau 蛋白的聚集和降解过程中也发挥重要作用。AD 脑中 Hsp 与神经元纤维缠结共定位,且二者水平呈负相关。Hsp90 通过与其他分子伴侣形成复合物,能减少 Tau 聚集、促进异常 Tau 蛋白降解、促进磷酸化 Tau 蛋白清除;Hsp90 复合物还促进 Tau 蛋白再折叠转为无害 Tau^[8,15]。Akt 激酶与 Tau 蛋白磷酸化密切相关,能阻碍 Hsp90 复合物介导的 Tau 蛋白的降解。同时,Akt 还是 Hsp90 的客户蛋白,Hsp90 乙酰化可抑制 Akt 与 Hsp90 的结合,加速 Akt 降解,从而降低 Tau 磷酸化水平^[16]。

本研究发现 8 月龄 SAMP8 神经肌肉协调性较差、脑内氧化损伤和蛋白质羰基化水平增高,提示此时 SAMP8 已出现明显老态,衰老后过高的氧化应激水平导致脑内蛋白质损伤增多。本研究还发现 SAMP8 脑内 Hsp84 和 Hsp86 表达量下降;同时细胞实验也证实 $A\beta_{25-35}$ 强烈抑制神经细胞中 Hsp84 和 Hsp86 的表达。说明衰老脑组织应激反应能力下降导致 Hsp84 和 Hsp86 在有害刺激下的诱导表达减少。Hsp84 和 Hsp86 的匮乏导致其无法促进大量变性蛋白再次折叠转为正常构象或经泛素化途径降解排出,造成 SAMP8 脑内变性蛋白的堆积,最终导致脑衰老。

“三焦”针法为韩景献教授总结其多年临床经验所创立。韩景献教授认为,老年痴呆往往为多因素兼夹致病、多脏器同时受累,其证候特征涉及上、中、下三焦,因此提出“三焦气化失司”导致痴呆的病机学说^[17]。该学说认为人的意识是在元神调控下,于后天获得的思维活动能力,所以精神活动与后天五脏精气的盛衰密切相关。而三焦是统领脏腑气机升降、气血津液输布的枢纽。衰老导致三焦气化失司,脏腑的气血津液化生、输布异常,痰瘀浊毒内生。“阳气者,精则养神”,清阳不升则神失所养,浊阴不降则神明被扰,病损元神,发为痴呆。因此主张从调理三焦气化角度防治痴呆。“三焦”针法取穴为膻中、中脘、气海、血海和足三里。膻中意在疏利上焦气化,调补宗气,以行气血;中脘、足三里意在促进中焦气化,益气和中,以生气血,化痰浊;气海意在总调下焦气化,培补、振奋和升发元气。四穴通过调节三焦各部的气机,进而调节三焦各部所属脏腑的气机,既各司其气,又上下贯为一体,协调共济,加上血海的行血养血,以保证全身气化功能的通畅调达。前期研究发现,针刺能明显提高 SAMP8 鼠的学习记忆能力^[18,19]。该针法改善认知的作用是通过增加脑血流、减轻血脑屏障渗漏、改善线粒体呼吸链功能^[20]、抗凋亡^[19]等多方面实现的。本研究进一步发现,针刺治疗能降低 SAMP8 脑内氧化应激和蛋白质损伤水平,提高 Hsp84 和 Hsp86 表达量,提示针刺通过促进 Hsp84 和 Hsp86 表达来减少蛋白质氧化损伤的积累,达到延缓脑衰老的作用。

综上,Hsp84 和 Hsp86 可能是延缓衰老、治疗 AD 的潜在靶标,今后要进一步深入研究 Hsps 与衰老和 AD 的相关性,以为阐明 AD 发病机制及开发相应治疗策略提供佐证。

参 考 文 献

- [1] Calderwood SK, Murshid A, Prince T. The shock of aging: molecular chaperones and the heat shock response in longevity and aging—a mini-review[J]. *Gerontology*, 2009, 55(5): 550–558.
- [2] Bobkova NV, Garbuz DG, Nesterova I, et al. Therapeutic effect of exogenous Hsp70 in mouse models of Alzheimer's disease[J]. *J Alzheimer's Dis*, 2014, 38(2): 425–435.
- [3] Sherman MY, Goldberg AL. Cellular defenses against unfolded proteins: a cell biologist thinks about neurodegenerative diseases[J]. *Neuron*, 2001, 29(1): 15–32.
- [4] Morley JE, Kumar VB, Bernardo AE, et al. Beta-amyloid precursor polypeptide in SAMP8 mice affects learning and memory[J]. *Peptides*, 2000, 21(12): 1761–1767.
- [5] 刘金凤, 张莹, 孙金平, 等. 针刺疗法对老年痴呆小鼠脑内 p53 蛋白表达的影响[J]. *中国中西医结合杂志*, 2013, 33(10): 1367–1371.
- [6] Carman A, Kishinevsky S, John Koren WL, et al. Chaperone-dependent neurodegeneration: a molecular perspective on therapeutic intervention[J]. *J Alzheimer's Dis Parkinsonism*, 2013, (Suppl 10): 1–12.
- [7] Zhao H, Michaelis ML, Blagg BS. Hsp90 modulation for the treatment of Alzheimer's disease[J]. *Adv Pharmacol*, 2012, 64(1): 1–25.
- [8] Salminen A, Ojala J, Kaarniranta K, et al. Hsp90 regulates tau pathology through co-chaperone complexes in Alzheimer's disease[J]. *Progr Neurobiol*, 2011, 93(1): 99–110.
- [9] Gezen-Ak D, Dursun E, Hanagasi H, et al. BDNF, TNF α , HSP90, CFH, and IL-10 serum levels in patients with early or late onset Alzheimer's disease or mild cognitive impairment[J]. *J Alzheimer's Dis*, 2013, 37(1): 185–195.
- [10] Koren J, Jinwal UK, Lee DC, et al. Chaperone signaling complexes in Alzheimer's disease[J]. *J Cellul Molec Med*, 2009, 13(4): 619–630.
- [11] Ansar S, Burlison JA, Hadden MK, et al. A non-toxic Hsp90 inhibitor protects neurons from $A\beta$ -induced toxicity[J]. *Bioorganic Med Chemistry Lett*, 2007, 17(7): 1984–1990.
- [12] Yokota T, Mishra M, Akatsu H, et al. Brain site-specific gene expression analysis in Alzheimer's disease patients[J]. *Eur J Clin Invest*, 2006,

- 36(11): 820–830.
- [13] Kakimura JI, Kitamura Y, Takata K, et al. Microglial activation and amyloid- β clearance induced by exogenous heat-shock proteins[J]. FASEB J, 2002, 16(6): 601–603.
- [14] Evans CG, Wisén S, Gestwicki JE. Heat shock proteins 70 and 90 inhibit early stages of amyloid $\beta_{(1-42)}$ aggregation *in vitro* [J]. J Biol Chemistry, 2006, 281(44): 33182–33191.
- [15] Dickey CA, Kamal A, Lundgren K, et al. The high-affinity HSP90-CHIP complex recognizes and selectively degrades phosphorylated tau client proteins[J]. J Clin Invest, 2007, 117(3): 648.
- [16] Sahara N, Murayama M, Mizoroki T, et al. *In vivo* evidence of CHIP up-regulation attenuating tau aggregation [J]. J Neurochemistry, 2005, 94(5): 1254–1263.
- [17] 韩景献. “三焦气化失常-衰老”相关论[J]. 中医杂志, 2008, 49(3): 200–203.
- [18] Li G, Zhang X, Cheng H, et al. Acupuncture improves cognitive deficits and increases neuron density of the hippocampus in middle-aged SAMP8 mice [J]. Acupunct Med, 2012, 30(4): 339–345.
- [19] Cheng H, Yu J, Jiang Z, et al. Acupuncture improves cognitive deficits and regulates the brain cell proliferation of SAMP8 mice [J]. Neurosci Lett, 2008, 432(2): 111–116.
- [20] Zhang X, Li G, Guo L, et al. Age-related alteration in cerebral blood flow and energy failure is correlated with cognitive impairment in the senescence-accelerated prone mouse strain 8 (SAMP8) [J]. Neurol Sci, 2013, 34(11): 1917–1924.

(收稿:2016-01-15 修回:2016-09-10)

中国中西医结合杂志社座谈会在上海召开

2016 中国医师协会中西医结合医师大会于 2016 年 11 月 5—6 日在上海召开,《中国中西医结合杂志》及 *Chinese Journal of Integrative Medicine* 座谈会在会议期间举行。杂志主编陈可冀院士致欢迎辞,提出杂志发展亦要“不忘初心,与时俱进”,指出刊物的成长离不开专家、编委的支持,希望通过此次座谈会加强编委与杂志社的沟通,提升杂志的学术水平。随后,《中国中西医结合杂志》李焕荣主任、*Chinese Journal of Integrative Medicine* 郭艳主任就两刊的基本情况和取得的成绩分别汇报,并就目前形势提出进一步提升期刊学术质量、提升国内国际影响力的具体计划和措施,也对面临的问题进行了分析。

与会专家肯定了杂志取得的成绩及在我国中西医结合事业发展中的地位 and 作用,并就期刊发展中的问题进行了热烈的讨论,多角度提出了建设性意见和建议,为杂志社的发展建言献策。主要包括:在目前数字出版时代,要顺势而为,加强网站和微信平台建设,开发 App;加强编委作用,明确编委责任,积极促进发挥编委在审稿、约稿、组稿的作用,帮助把握国际研究热点,增加更符合临床实际需要的选题;大力加快审稿和发表周期;重视学术导向,并注意引导研究方向。

(田琳记录 郭艳撰稿)