

· 基础研究 ·

长期负性情绪应激对 D-gal 大鼠认知功能及
海马 NR2B 基因甲基化表达的影响李 宁¹ 刘紫阳² 詹向红¹ 李 伟¹ 刘 永¹ 侯俊林¹

摘要 **目的** 探讨长期负性情绪应激对大鼠脑老化进程的影响机制。**方法** 将雌雄各半的 70 只 Wistar 大鼠分别采用随机方法,分为空白对照组、D-gal 脑老化模型组、应激脑老化组,每组 14 只且雌雄各半,其余大鼠做为攻击鼠参与负性情绪应激的诱导;采用颈后部皮下多点注射 D-gal 0.1g/(kg·d)制备脑老化大鼠模型;采用不可预知性刺激,诱导应激脑老化组大鼠长期负性情绪应激;采用 Morri's 水迷宫实验记录大鼠水下寻台时间(SPL),评价大鼠学习记忆功能;采用 ELISA 测定大鼠血浆促肾上腺皮质激素(ACTH)和皮质酮(CORT)含量;采集大鼠海马样本制备匀浆,采用甲基化特异性 PCR 法(MSP)检测海马 N-甲基-D-天门冬氨酸受体-2B 亚型(NR2B)基因调控区胞嘧啶-磷酸-鸟嘌呤位点(CpG)甲基化程度,采用 ELISA 法测定甲基化转移酶 1(DNMT1)活性。**结果** 与 D-gal 脑老化模型组比较,应激脑老化组大鼠的 SPL 明显延长, NR2B 基因启动子区 CpG 甲基化程度及 DNA DNMT1 活性显著增高($P < 0.05$),血浆 CORT、ACTH 水平显著升高($P < 0.05$)。**结论** 长期情绪调节不良能够加速机体大脑老化进程,其机制可能与慢性情绪应激引发机体特定基因甲基化程度增高有关。

关键词 负性情绪应激; DNA 甲基化; 海马 N-甲基-D-天门冬氨酸受体-2B 亚型; 认知功能

Effects of Long-term Negative Emotional Stress on Cognitive Function and Methylation of NR2B Gene in Hippocampus of D-gal Rats LI Ning¹, LIU Zi-yang², ZHAN Xiang-hong¹, LI Wei¹, LIU Yong¹, and HOU Jun-lin¹ 1 Basic Medical College, Henan University of TCM, Zhengzhou (450046); 2 Basic Medical College, Shandong University of TCM, Jinan (250355)

ABSTRACT **Objective** To study the mechanism of long-term negative emotional stress on the brain aging process in rats. **Methods** Totally 70 Wistar rats, half male and half female, were randomly divided into a blank control group, D-gal brain aging model group, and stress-induced brain aging group, 14 in half male and half female each group. As offense side, the remaining rats were involved in the induction of negative emotional stress. The D-gal brain aging model was prepared by subcutaneous injection of D-gal 0.1 g/(kg·d) into the posterior neck of a rat. Unpredictable stimulation was used to induce long-term negative emotional stress of rats in the stress-induced brain aging group. Morri's water maze test was used to record the rats' searching platform latency (SPL) and evaluate their learning and memory function. The contents of adrenocorticotrophic hormone (ACTH) and corticosterone (CORT) in rat plasma were detected by ELISA. Rat hippocampal samples were collected to prepare homogenate, and methylation-specific PCR (MSP) was used to detect the degree of methylation of cytosine-phosphoric acid-guanin 2 (CpG) in the region of NR2B gene regulation. The activity of DNA methyltransferase 1 (DNMT1) was detected by ELISA. **Results** Compared with the D-gal brain aging model group, the SPL of was significantly prolonged, the degree of CpG methylation and DNA DNMT1 activity in the hippocampal NR2B gene regulation region were significantly elevated, and plasma CORT and ACTH levels significantly

基金项目: 国家自然科学基金面上项目(No. 81173148, No. 81473556)

作者单位: 1. 河南中医药大学基础医学院(郑州 450046); 2. 山东中医药大学基础医学院(济南 250355)

通讯作者: 詹向红, Tel: 0371-65680202, E-mail: zxh371@163.com

DOI: 10.7661/j.cjim.20190123.126

increased in the stress-induced brain aging group ($P < 0.05$). **Conclusions** Long-term emotional maladjustment accelerated the brain aging process. And its mechanism might be related to increased methylation of specific genes in the body caused by chronic emotional stress.

KEYWORDS negative emotional stress; DNA methylation; N-methyl-D-aspartate receptor subtype-2B; cognitive function

脑器官的老化主要表现为认知功能的衰退。中医学称脑为“元神之府”，主司精神、意识、思维、记忆等功能，认为脑的老化主要是脏腑气机失调、精气血津液输布失常不能上输于脑，脑失濡养所致。现代医学认为脑老化是多种因素共同作用的结果，近年来有学者通过“生物—心理—社会医学”模式研究认为，情绪活动作为影响躯体功能的主要中间媒介，其变化能够引起机体生理、病理唤醒，与脑老化密切相关^[1]；本课题组前期临床研究也发现，较之情绪调节良好的个体，肝郁型轻度认知功能障碍（mild cognitive impairment, MCI）患者认知下降速度加快，并且采用疏肝法可以改善患者的总体认知水平^[2,3]，说明长期的负性情绪应激可以造成认知功能的下降。表观遗传研究认为，机体基因组整体甲基化水平变化及特定基因甲基化异常，是衰老相关疾病发生发展的重要因素^[4]，相关研究显示与学习记忆密切相关的 NR2B 基因启动子区的甲基化水平增加，可导致该基因表达沉默，引发学习记忆障碍，造成认知功能的衰退^[5]，另有从环境因素与 DNA 甲基化的关系研究发现，一过性强烈负性情绪伤害作为外部环境刺激因素，可造成海马区 DNA 甲基化程度增高，导致中枢神经系统功能的损伤进而影响认知水平^[6]，这些研究虽然从表观遗传学的角度对情绪引起认知功能损伤进行了探索，但关于长期的负性情绪应激能否通过影响表观遗传调节而造成认知功能衰退尚无定论，本实验针对处于长期负性情绪应激状态 D-gal 大鼠进行研究，通过检测其认知功能的改变及其海马 NR2B 基因甲基化程度变化，从表观遗传学的角度探讨长期负性情绪应激影响认知功能导致脑老化的相关机制。

材料与方法

1 动物 SPF 级 3 月龄 Wistar 大鼠 70 只，雌雄各半，体重分别为雌鼠（ 300 ± 10 ）g、雄鼠（ 360 ± 10 ）g，购置于山东鲁抗公司（批号：SCXK[鲁]2013-0001）；在河南省中医药研究院动物实验中心独立通风环境动物实验室饲养（SYXK[豫]2012-0009）；实验过程经河南中医药大学动物伦理委员会批准（No. DWLL201302006）。

2 主要试剂及仪器 D-半乳糖（美国 Amresco 公司，批号：20130806）；SDS-PAGE 凝胶电泳试剂盒（南京凯基，批号：KGP113）；糖皮质激素受体（GR）试剂盒（Sc-1004 Santa CruzBiotechnology. Cat. No. L3188）；NMDAR、CaM、CREB Western Blotting 试剂盒（南京凯基，批号：KGP1201）；甲基化处理试剂盒（美国 ZYMO 公司，批号：d5006）、DNMT1 试剂盒（上海沪峰，批号：FA03364B）、Smart 视频图像跟踪分析系统（Media Cybernetics. Inc）、Power-Pac 基础电泳仪电源（美国 Bio-Rad 公司，164-5051）、凝胶成像仪（英国 SYNGENE 公司，G:BOX-ChemiXR5）等。

3 动物分组 正常饲养大鼠 1 周，剔除体重和旷场实验得分偏离较大的个体 5 只（雄鼠 3 只，雌鼠 2 只），将剩余 65 只大鼠按雌、雄分别采用随机数字表法分为空白对照组、D-gal 脑老化模型组、应激脑老化组，每组 14 只雌雄各半；为防止电击后大鼠意外和保证攻击效果，将未参与随机分组的 23 只大鼠和 5 只被剔除的大鼠共 28 只均列为攻击鼠，在目标鼠（14 只应激脑老化组大鼠）长期负性情绪应激引入的间接电击刺激实验中，随机从中选取一只接受电击后对目标鼠进行一对一攻击。

4 D-gal 脑老化模型的造模方法 D-gal 脑老化模型组、应激脑老化组大鼠颈后部皮下多点注射 D-gal 0.1g/(kg·d)，持续 6 周，复制脑老化大鼠模型^[7]。

5 长期负性情绪应激的引入 采用本课题组改良后不可预知性刺激诱导大鼠产生负性情绪应激^[8]。具体方法为：应激脑老化组大鼠自实验第 15 天开始依次每天接受束缚、强迫游泳、间接电击、摇晃、强光、潮湿垫料、噪声、惩罚性饮水 8 种不同的刺激中的一种，持续 4 周。

5.1 束缚 将大鼠放入长 17 cm、直径 6 cm 一端为可调节的圆锥形塑料瓶口的束缚筒中，水平放置 6 h，期间不予饮食。

5.2 强迫游泳 将大鼠置于不透光的盛有（ 23 ± 0.5 ）℃ 的干净温水塑料桶内（桶高 50 cm，直径 30 cm，水深 30 cm）于刺激当天强迫游泳，每次游

泳 15 min, 每天持续游泳 8 次, 每次间隔时间不超过 1 min。

5.3 间接电击 采用本课题组改良的间接电击法, 随机选取 1 只应激脑老化组大鼠作为目标鼠单独放入特质金属笼内, 再从攻击鼠中随机选取 1 只放入笼内; 金属笼连接 TDGC 单项接触式调压器, 将电压设置为 36 U (电极一端连接金属笼, 另一端作为电击端) 用电极的电击端触碰攻击鼠腹部, 攻击鼠遭受电击被激惹后对目标鼠发起攻击, 发生打斗、对峙等, 该过程使目标鼠产生心理应激。针对每只目标鼠选择一只攻击鼠进行电击刺激, 频率 1 ~ 2 次/min, 每只攻击鼠当天刺激 15 min, 之后在剩余攻击鼠中再随机选取 1 只新的攻击鼠进行刺激, 依次攻击其他目标鼠。

5.4 摇晃 将大鼠放入固定在多用调速振荡器上的小型鼠笼中, 按照 160 次/min 频率水平往复振荡, 每次振荡 30 min。

5.5 强光 将频闪仪设置为 300 闪/min 并固定于大鼠眼睛前方 10 cm 处, 5 h/d。

5.6 潮湿垫料 晨 8:00 时将大鼠移出鼠笼, 按照每 100 g 垫料喷 250 mL 标准喷蒸馏水后将大鼠放回鼠笼, 晚 8:00 时更换为干燥垫料。

5.7 噪声 采用大鼠饮水冲突实验系统设置噪声 (持续白噪音), 噪声强度为 90 dB, 主频 0.25 ~ 4.00 KHz, 制成录音后通过距离大鼠 20 ~ 30 cm 扬声器播放, 3 h/d。

5.8 惩罚性饮水 实验前剥夺脑老化应激组大鼠饮水 48 h, 并提前 4 h 将大鼠置于饮水冲突设备鼠笼中适应, 然后逐一进行约束饮水刺激。大鼠每 20 次舔吸水管口给予 1 次 0.5 mA 电击刺激, 刺激时间为 2 s, 每只大鼠刺激 10 min。

6 标本采集及制备 实验第 37 天始, 进行为期 6 天的 Morri's 水迷宫测试; 随后按 2 g/kg 乌拉坦腹腔注射麻醉取样。

6.1 制备血浆 用真空 EDTA-2Na 抗凝采血管经腹主动脉取血 5 ~ 8 mL, 离心, 取上清, -80 °C 保存。

6.2 分离海马及匀浆 大鼠断头后迅速用止血钳钝性开颅, 取脑组织置于冰面上, 分离海马, 称重后以 1:10 的比例加入 0.4 mol/L 的高氯酸; 冰浴下充分匀浆, 冰浴沉淀 30 min, 于 4 °C、10 000 r/min 离心 15 min; 取上清液, 每 1 mL 上清液加 0.75 mL 4% 碳酸氢钠溶液, 混匀后于 4 °C、3 000 r/min 离心 5 min; 取上清液, 过 0.45 μm 滤膜, 分装, -80 °C 保存, 用于

测定各项生物化学活性物质。

7 指标检测及方法

7.1 空间学习记忆能力测定 采用 Morri's 水迷宫法。记录大鼠寻找水下平台的潜伏期, 即寻台时间 (SPL), 为期 6 天。

7.2 HPA 轴功能检测 采用 ELISA 测定大鼠血浆促肾上腺皮质激素 (adrenocorticotrophic hormone, ACTH) 和皮质酮 (corticosterone, CORT) 含量。

7.3 表观遗传学检测 采用甲基化特异性 PCR 法^[9] (methylation-specific PCR, MSP) 检测 NR2B 基因调控区 CpG 甲基化程度。

检测步骤: 引物设计合成 (引物序列见表 1) - DNA 提取质检 - DNA 亚硫酸氢盐修饰 - 扩增 - 琼脂糖电泳检测。

表 1 引物序列信息

引物名称	引物序列	产物长度 (bp)
NR2BM-F	TGGGGTGAAGAATAAATTTAACG	325
NR2BM-R	ACAAAAATCACACACCACCAAT	325
NR2BU-F	TGGGGTGAAGAATAAATTTAATG	325
NR2BU-R	ACAAAAATCACACACCACCAAT	325

7.4 采用 ELISA 法测定甲基化转移酶 1 (DNA methyltransferase1, DNMT1) 活性。

8 统计学方法 采用 SPSS 20.0 统计分析软件完成。定量资料采用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 多组间均数比较采用单因素方差分析, 组间两两比较采用 LSD 或 Dunnett T3 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1 一般情况观察 空白对照组大鼠皮毛光泽、反应灵敏、活动自如、精神状态良好; D-gal 脑老化模型组大鼠毛发干枯发黄、精神倦怠、行动迟缓、反应迟钝; 应激脑老化组大鼠毛发杂乱、光泽差, 精神萎靡、反应迟钝、粪便稀薄。

2 各组大鼠血浆 CORT 及 ACTH 水平比较 (表 2) 与空白对照组比较, 应激脑老化组大鼠血浆 CORT、ACTH 水平升高 ($P < 0.05$); 与 D-gal 脑老化模型组比较, 应激脑老化组大鼠血浆 CORT、ACTH 水平升高 ($P < 0.05$)。

3 各组大鼠 Morri's 水迷宫 SPL 比较 (表 3) 与空白对照组比较, D-gal 脑老化模型组、应激脑老化组大鼠 SPL 明显延长 ($P < 0.05$); 与 D-gal 脑老化模型组比较, 应激脑老化组大鼠 SPL 明显延长 ($P < 0.05$)。

表 2 各组大鼠血浆 CORT 及 ACTH 水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	CORT(nmol/L)	ACTH(ng/L)
空白对照	14	336.40 ± 42.77	59.67 ± 17.97
D-gal 脑老化模型	14	345.75 ± 43.61	57.73 ± 15.96
应激脑老化	14	431.28 ± 40.66 * Δ	90.16 ± 14.47 * Δ
F	—	21.331	17.660
P	—	0.001	0.001

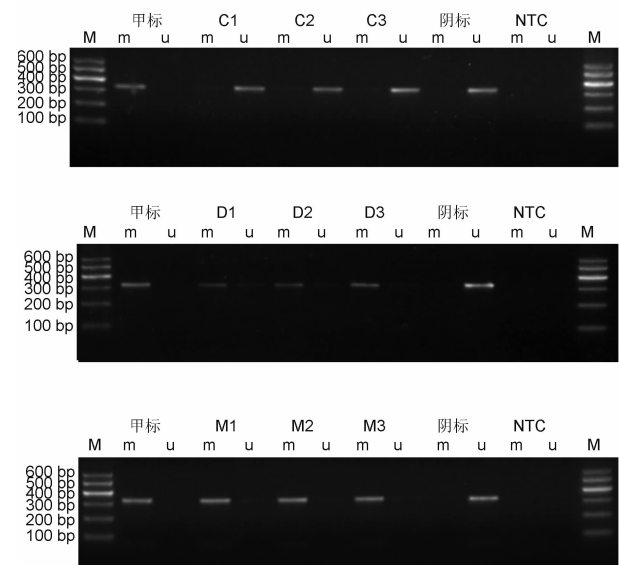
注:与空白对照组比较,* $P < 0.05$,与 D-gal 脑老化模型组比较, $\Delta P < 0.05$

表 3 各组大鼠 Morri's 水迷宫 SPL 比较 ($s, \bar{x} \pm s$)

组别	n	SPL
空白对照	14	22.10 ± 11.22
D-gal 脑老化模型	14	30.08 ± 7.60 *
应激脑老化	14	37.99 ± 9.86 * Δ
F	—	10.435
P	—	0.001

注:与空白对照组比较,* $P < 0.05$;与 D-gal 脑老化模型组比较, $\Delta P < 0.05$

4 各组大鼠海马 NR2B 基因启动子区 CpG 甲基化程度比较(见图 1,表 4) 与空白对照组比较,D-gal 脑老化模型组、应激脑老化组大鼠海马 NR2B 基因启动子区 CpG 甲基化程度明显升高($P < 0.05$);与 D-gal 脑老化模型组比较,应激脑老化组大鼠海马 NR2B 基因启动子区 CpG 甲基化程度明显升高($P < 0.05$)。



注:m 代表甲基化条带;u 代表非甲基化条带;M 为 marker,其中最亮的为 400 bp;甲标为阳性标准品;阴标为阴性标准品;NTC 为阴性对照;C 为空白对照组;D 为 D-gal 脑老化模型组;M 为应激脑老化组

图 1 各组大鼠海马 NR2B 基因启动子区 CpG 甲基化程度的琼脂糖电泳胶

表 4 各组大鼠海马 NR2B 基因启动子区 CpG 甲基化程度比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	CpG 甲基化
空白对照	14	0.04 ± 0.01
D-gal 脑老化模型	14	0.19 ± 0.02 *
应激脑老化	14	1.07 ± 0.07 * Δ
F	—	12.553
P	—	0.000

注:与空白对照组比较,* $P < 0.05$,与 D-gal 脑老化模型组比较, $\Delta P < 0.05$

5 各组大鼠海马 DNMT1 活性比较(表 5) 与空白对照组比较,D-gal 脑老化模型组、应激脑老化组大鼠海马 DNMT1 活性显著升高($P < 0.05$);与 D-gal 脑老化模型组比较,应激脑老化组大鼠海马 DNMT1 活性显著升高($P < 0.05$)。

表 5 各组大鼠海马 DNMT1 活性比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	DNMT1($\mu\text{g/L}$)
空白对照	14	64.83 ± 18.72
D-gal 脑老化模型	14	195.88 ± 27.91 *
应激脑老化	14	613.02 ± 38.52 * Δ
F	—	846.580
P	—	0.001

注:与空白对照组比较,* $P < 0.05$;与 D-gal 脑老化模型组比较, $\Delta P < 0.05$

讨 论

中医学认为人的精神意识思维活动责之于脑,而分属于五脏,其功能以五脏精气为物质基础,“人有五脏化五气,以生喜怒悲忧恐”(《素问·阴阳应象大论篇》),肝疏泄正常,情志调畅,五脏气血和利,精气充沛,则脑功能可正常发挥;若人之肝气不疏、情志不调,则脏腑气机升降失常,精气血津液输布不畅,不能上达于脑,则脑失所养,加速脑老化进程。本课题组前期的研究证明,慢性愤怒应激(单一情绪)可通过影响海马神经元线粒体膜电位造成海马神经元凋亡升高,以及使下丘脑—垂体—肾上腺轴(hypothalamic pituitary adrenal,HPA)和交感—肾上腺髓质系统(sympatho-adrenomedullary system,SAS)持续兴奋造成神经内分泌紊乱和免疫功能抑制,从而加重 D-gal 大鼠的衰老及脑老化程度,加速衰老进程^[10,11]。本研究结果显示:与空白对照组比较,D-gal 脑老化模型组大鼠在 Morri's 水迷宫实验 SPL 明显延长,表明 D-gal 脑老化模型组大鼠空间定位和学习记忆功能出现了明显的下降,提示造模成功;与 D-gal 脑老化模型组比较,应激脑老化组大鼠 Morri's 水迷宫实验 SPL 明显延长,且血浆 CORT、ACTH 水平明显升高,表明长期

负性情绪应激使 D-gal 脑老化大鼠 HPA 轴功能亢进,累及其海马功能受损,造成 D-gal 脑老化大鼠空间学习能力进一步减退,提示长期负性情绪应激使 D-gal 脑老化大鼠认知功能损伤加速。这在本课题组前期研究慢性单一情绪应激可加速脑老化基础上,从复合情绪的角度又进行了更深入探索。

现代研究认为,个体遗传因素和社会环境因素的影响,二者均可通过影响表观遗传调节,导致机体从正常老化向病理性老化转变^[12],其中 DNA 甲基化是表观遗传学最主要现象之一;在哺乳动物中,DNA 甲基化过程主要通过 3 种 DNA 甲基化转移酶(DNMTs)的作用而实现,其中的 DNMT1 主要维持染色体复制过程中 DNA 甲基化状态的稳定,起到了至关重要的作用^[13]。针对学习记忆分子机制的研究认为,存在于海马神经元突触后膜上的兴奋性神经递质受体 N-甲基-D 天冬氨酸受体(N-methyl-D-aspartate receptors, NMDA)是突触可塑性及长时程增强效应(long-term depression, LTP)的主要调控者,构成了中枢神经系统学习和记忆等重要功能的基础^[14];NR2B 是 NMDA 受体亚基中的一种^[15],其能够与兴奋性神经递质结合而介导蛋白合成,增强学习记忆功能^[16],被认为是生物的聪明基因^[17]。本研究结果显示:与空白对照组相比,D-gal 脑老化模型组、应激脑老化组大鼠海马 NR2B 基因 CpG 岛区甲基化的程度和海马 DNMT1 均明显升高;这与 Müller M^[18]等通过转基因的方法,使小鼠前脑的 NR2B 基因过度表达,发现 NR2B 基因高表达小鼠的学习和记忆能力得到显著提高,而在敲除 NR2B 基因后,其空间学习能力明显降低,LTP 也完全丧失的研究结果基本一致,提示本研究 D-gal 脑老化模型组、应激脑老化组大鼠认知功能的损伤,可能是由于海马 DNMT1 活性增强造成 NR2B 基因 CpG 岛区甲基化程度升高,导致 NR2B 基因沉默引起表达缺陷,使蛋白表达和突触后膜功能降低所引起的。

长期负性情绪应激可造成 HPA 轴过度激活从而损伤海马,导致认知功能的下降。而海马 NR2B 基因的表达又直接影响了认知功能水平,那么长期负性情绪应激能否通过影响海马 NR2B 基因 CpG 岛区甲基化,而造成认知功能的损害呢?陈家旭团队针对慢性束缚应激下大鼠脑区 NMDA 受体的研究表明,慢性束缚应激过程中大鼠认知功能的下降,可能与 NR2A 和 NR2B 表达降低从而影响神经的突触可塑性,使 LTP 诱导过程受到抑制有关^[19];张敏等^[20]研究发现,长期的慢性应激可累及 HPA 轴调节中枢海马功能,其机制可能与糖皮质激素受体(GR)和 NR2B 的介入

有关;Kader F 等^[21]在最近的研究中发现,情绪的应激紊乱与 DNA 甲基化异常高度相关。本研究在 D-gal 脑老化模型基础上,引入长期复合负性情绪刺激,通过检测各组脑老化大鼠学习记忆功能、血液相关生化指标以及海马 DNMT1 活性和 NR2B 基因 CpG 岛区甲基化的程度,探讨长期负性情绪应激造成认知功能下降的表观遗传学机制,结果显示:与对照组比较,D-gal 脑老化模型组大鼠海马 DNMT1 活性和 NR2B 基因 CpG 岛区甲基化的程度增高,但是血浆 CORT、ACTH 水平却无明显的变化,说明 D-gal 脑老化模型组大鼠认知功能减退与海马 NR2B 基因 CpG 岛区甲基化的程度关系密切,但 NR2B 甲基化程度增高并不是由于 HPA 轴功能过度激活所引起的,提示 D-gal 脑老化大鼠模型成功。与 D-gal 脑老化模型组比较,应激脑老化组大鼠 Morri's 水迷宫实验 SPL 明显延长,海马 DNMT1 活性和 NR2B 甲基化程度明显增高,并同时伴有血浆 CORT、ACTH 水平显著升高,说明在慢性负性情绪应激的作用下,应激脑老化组大鼠的认知功能损伤更加严重,可能是由于长期负性情绪应激使该组大鼠 HPA 轴功能亢进,进一步增强了其海马 DNMT1 活性,加重了海马 NR2B 基因 CpG 岛区甲基化的程度,引起海马 NR2B 基因表达缺陷,最终导致认知功能的进一步损伤所造成的。

综上,长期负性情绪应激降低 D-gal 衰老及脑老化大鼠学习记忆能力,加速脑老化进程;海马 DNMT1 活性增强造成海马 NR2B 基因 CpG 岛区甲基化的程度升高,引起海马 NR2B 基因表达的缺陷,可能是长期负性情绪应激加速脑老化进程的机制之一。

利益冲突:无。

参 考 文 献

- [1] Fransquetab PD, Lacaze P, Saffery R, et al. Blood DNA methylation as a potential biomarker of dementia: A systematic review[J]. *Alzheimer's Dementia*, 2018, 14(1): 81-103.
- [2] 侯俊林,詹向红,孙前明,等.疏肝法对肝郁型 MCI 患者认知功能、尿 8-OHdG 及血浆 SOD 和 LPO 的影响[J]. *中国中医基础医学杂志*, 2017, 23(8): 1102-1104.
- [3] 吕茹,詹向红,潘玉颖,等.情绪调节差异对正常中老年人基本认知能力的影响[J]. *中医学报*, 2018, 33(6): 1076-1079.
- [4] 郑静,金国琴.中药对衰老相关性 DNA 甲基化的作用[J]. *中药药理与临床*, 2017(3): 211-214.
- [5] 张均田.认知过程中的表观遗传学机制[J]. *中国药理学通报*, 2015, 31(1): 1-7.

- [6] 曹家雪, 张红平, 杜立新. 环境因素对 DNA 甲基化的影响[J]. 遗传, 2013, 35(7): 839-846.
- [7] 陈可冀, 李春生主编. 新编抗衰老中药学[M]. 北京: 人民卫生出版, 1998: 153-162.
- [8] 王慧霞, 詹向红, 李伟, 等. 负性情绪应激大鼠模型的建立与评价[J]. 中国老年学杂志, 2015, 35(15): 4140-4142.
- [9] Schilling E, Rehli M. Global, comparative analysis of tissue-specific promoter CpG methylation[J]. Genomics, 2007, 90(3): 314-323.
- [10] 詹向红, 李伟, 赵君攻, 等. 慢性愤怒应激对大鼠衰老进程及其神经内分泌免疫机制的影响[J]. 中华中医药杂志, 2010, 25(1): 111-113.
- [11] 詹向红, 刘胜利, 李伟, 等. 慢性愤怒应激对脑老化大鼠学习记忆及海马神经元的影响[J]. 中国老年学杂志, 2013, 33(20): 5038-5040.
- [12] 张连成, 傅涛, 高淑青. 认知老化的机制研究进展[J]. 中国临床心理学杂志, 2018, 22(6): 999-1003.
- [13] Ganat Y, Soni S, Chacon M, et al. Chronic hypoxia up-regulates fibroblast growth factor ligands in the perinatal brain and induces fibroblast growth factor-responsive radial glial cells in the sub-ependymal zone [J]. Neuroscience, 2002, 112(4): 977-991.
- [14] 刘德山. ApoE4 通过影响 NMDA 受体功能加剧 SX-FAD 小鼠认知功能障碍[D]. 福州: 福建医科大学, 2013.
- [15] Zhu X, Dong J, Shen K, et al. NMDA receptor NR2B subunits contribute to PTZ-kindling-induced hippocampal astrocytosis and oxidative stress [J]. Brain Res Bull, 2015, 114: 70-78.
- [16] 冀胜军. BDNF 基因转录的表观遗传调控在电离辐射所致神经发生损伤及认知功能障碍过程中的作用研究[D]. 苏州: 苏州大学, 2014.
- [17] Goebel DJ, Poosch MS. NMDA receptor subunit gene expression in the rat brain: a quantitative analysis of endogenous mRNA levels of NR1Com, NR2A, NR2B, NR2C, NR2D and NR3A[J]. Brain Res Mol Brain Res, 1999, 69(2): 164-170.
- [18] Müller M, Tokay T, Porath K, et al. Enhanced NMDA receptor-dependent LTP in the epileptic CA₁ area via upregulation of NR2B[J]. Neurobiol Dis, 2013, 54: 183-193.
- [19] 王竹风, 汪宝军, 陈家旭, 等. 逍遥散对慢性束缚应激下脑区 NMDA 受体 NR2A 和 NR2B 表达的影响[J]. 北京中医药, 2013, 32(4): 300-304.
- [20] 张敏, 图娅. 电针对慢性应激抑郁模型大鼠海马糖皮质激素受体和 N-甲基-D-天冬氨酸受体 2B 表达的影响[J]. 中国中医药信息杂志, 2008, 15(2): 25-27.
- [21] Kader F, Ghai M, Maharaj L. The effects of DNA methylation on human psychology [J]. Behav Brain Res, 2018, 346: 47-65.

(收稿: 2018-08-11 在线: 2019-03-27)

责任编辑: 李焕荣

英文责编: 张晶晶

第 28 次全国中西医结合肝病学术会议征文通知

中国中西医结合学会肝病专业委员会 2019 年学术年会——“第 28 次全国中西医结合肝病学术会议”拟于 2019 年 9 月中旬在天津市举行。会议将以常见慢性肝病(慢性病毒性肝炎、肝纤维化、肝硬化、肝癌、脂肪性肝病、酒精性肝病、胆汁淤积与自身免疫性肝病、药物性肝病及代谢性肝病)的中西医结合防治研究进展和临床经验总结为重点展开交流与讨论,并将邀请国内知名专家做特邀报告。参会代表将获国家级继续教育学分。现征文如下。

征文要求 (1) 提交 500-1000 字中英文摘要。摘要须按照“目的、方法、结果、结论”格式撰写,用于会刊印刷(注意结果中提供重要的数据资料)。另提交中文论文全文(用于评审优秀论文)。写明作者姓名、单位名称、电子邮箱、地址及邮编。通过电子邮件发送至 zgzyjhgxbx@126.com。本次征文不接受纸质文稿。(2) 投稿论文文本格式如下:中文标题用黑体、小四号字体,作者姓名及单位用楷体小五,正文宋体五号,1.5 倍行距,英文及数字用 Times New Roman 字体。(3) 已在学术刊物公开发表过的论文,不再受理。

截稿日期 2019 年 7 月 20 日。