

小檗碱对 $A\beta_{25-35}$ 损伤大鼠皮层神经元的保护作用

王 静, 张艳军*, 常亮堂

天津中医药大学中药学院 天津市中药药理重点实验室, 天津 300193

摘要: **目的** 考察小檗碱对 $A\beta_{25-35}$ 损伤的神经元的保护作用, 并初步探讨其机制。**方法** 40 $\mu\text{g/mL}$ $A\beta_{25-35}$ 作用原代培养大鼠脑皮层神经元 36 h, 复制阿尔茨海默病 (Alzheimer's disease, AD) 细胞模型, 同时加入小檗碱进行干预, 实验分为对照组、模型组、0.5 $\mu\text{mol/L}$ 小檗碱组、2 $\mu\text{mol/L}$ 小檗碱组。通过 Hoechst33258 染色观察神经元凋亡形态, Annexin V-FITC/PI 双标流式细胞术检测早期凋亡情况, Western blotting 检测活化的 Caspase-3 蛋白表达, 实时荧光定量 RT-PCR 检测雷帕霉素靶 (target of Rapamycin, mTOR) 相关基因表达。**结果** 与对照组比较, AD 细胞模型神经元凋亡明显增加。2 $\mu\text{mol/L}$ 小檗碱能显著减少 $A\beta$ 损伤神经元早期凋亡 ($P<0.05$), 0.5、2 $\mu\text{mol/L}$ 小檗碱均能抑制异常活化的 Caspase-3 蛋白表达。0.5、2 $\mu\text{mol/L}$ 小檗碱显著下调了 AD 模型异常活化的 mTOR mRNA 和下游底物核糖体 S6 蛋白激酶 (S6kinase, S6K) P70S6K mRNA 的表达 ($P<0.05$ 、0.01), 同时显著上调了 AD 细胞模型真核细胞始动因子 4E 结合蛋白 1 (4E binding protein, 4EBP1) mRNA 的表达 ($P<0.01$)。**结论** 小檗碱对 $A\beta_{25-35}$ 损伤的原代培养大鼠皮层神经元具有一定神经保护作用, 其保护作用可能是通过抑制 mTOR 途径实现的。

关键词: 小檗碱; 阿尔茨海默病; 雷帕霉素靶 (mTOR); 神经元; 凋亡

中图分类号: R286.1 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2011)04-0728-06

Protection of berberin on cortical neurons of rat injured by $A\beta_{25-35}$

WANG Jing, ZHANG Yan-jun, CHANG Liang-tang

Tianjin Key Laboratory of Chinese Materia Medica Pharmacology, College of Chinese Materia Medica, Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 300193, China

Abstract: Objective To observe the protective effect of berberin on the cortical neurons of rat injured by $A\beta_{25-35}$ and investigate its mechanism. **Methods** $A\beta_{25-35}$ was used to treat the cortical neurons of primary culture rat, at the final concentration of 40 $\mu\text{g/mL}$ for 36 h, Alzheimer's disease (AD) model was reproduced, and then interfered with berberin together. The experiments were divided into control, model, 0.5 $\mu\text{mol/L}$ berberin, and 2 $\mu\text{mol/L}$ berberin groups. Hoechst33258 stain assay was used to observe the morphological change, Annexin V-FITC/PI double stain flow cytometry assay was used to examine the early neural apoptosis; Western blotting assay was used to observe the activated Caspase-3 protein expression; and RT-PCR assay was used to investigate the mRNA expression of target of Rapamycin (mTOR) related genes. **Results** Neural apoptosis of AD model significantly increased when treated with 40 $\mu\text{g/mL}$ $A\beta_{25-35}$ for 36 h compared with the control group ($P<0.01$). Following 2 $\mu\text{mol/L}$ berberin treatment, the percentage of $A\beta_{25-35}$ -induced cell apoptosis significantly decreased ($P<0.05$) compared with the model group. Berberin (0.5 and 2 $\mu\text{mol/mL}$) inhibited $A\beta_{25-35}$ -induced abnormal activated Caspase-3 expression, down-regulated the expression of abnormal activated mTOR mRNA and S6kinase P70S6K mRNA ($P<0.05$, 0.01), and up-regulated the expression of 4E binding protein (4EBP1) mRNA of AD model ($P<0.01$). **Conclusion** Berberin exhibits the protective effects against $A\beta_{25-35}$ -induced toxicity in cortical neurons of primary cultured rat, which may relate with the inhibition of mTOR signal pathway.

Key words: berberin; Alzheimer's disease (AD); target of Rapamycin (mTOR); neurons; apoptosis

阿尔茨海默病 (Alzheimer's disease, AD) 是一种常见的慢性进行性精神功能衰退性疾病, 主要症状为记忆力和认知力减退、言语障碍、精神运动

异常等症状, 最显著的神经组织学病理特征是神经细胞之间存在大量的老年斑 (senile plaques, SP) 和神经细胞内存在神经元纤维缠结 (neurofibrillary

收稿日期: 2010-12-22

基金项目: 教育部科学技术研究重点项目 (208009); 高等学校博士学科点专项科研基金 (20101210110001)

作者简介: 王 静 (1978—), 女, 天津市人, 博士研究生。E-mail: arare.wong@gmail.com

*通讯作者 张艳军 E-mail: zyjsunye@163.com

tangle, NFT)。关于 AD 的发病机制有淀粉样蛋白 (amyloid beta-protein, A β) 级联假说、tau 蛋白异常变化假说和神经原纤维变性假说、凋亡假说以及自由基损伤假说等,但其确切的发病原因目前还不十分明确。

小檗碱又称黄连素,是从毛茛科植物黄连 *Coptis chinensis* Franch.、三角叶黄连 *C. deltoidea* C. Y. Cheng et Hsiao 或云连 *C. teeta* Wall. 的干燥根茎中提取的一种异喹啉类生物碱,是我国历史悠久的传统药物的主要成分,临床上主要用于治疗胃肠道疾病。近年来随着对小檗碱药效作用的深入研究,发现小檗碱在体内外均具有抑制肿瘤细胞增殖的活性^[1-6]。此外,小檗碱对于治疗中枢神经系统包括神经退行性疾病及精神疾病的潜力越来越受到关注^[7-8]。Wang 等^[9]研究显示,小檗碱能透过血脑屏障直接作用于皮层神经元和海马。本实验原代培养大鼠皮层神经元,复制 AD 细胞模型,观察小檗碱的神经保护作用并初步探讨其作用机制。

1 材料

1.1 动物

孕期 16 天大鼠(由天津中医药大学实验动物中心提供)。SPF 级成年 SD 大鼠,体质量 (250 $\pm$ 30) g,北京维通利华实验动物有限公司提供,合格证号 SCXK (京) 2008-0001。

1.2 主要试剂与仪器

DMEM/F12 培养基、B27 (Gibco),兔抗-MAP-2 (Millipore)、羊抗兔 IgG-CY3 (武汉博士德生物工程有限公司),噻唑蓝 (MTT)、A β_{25-35} 、Hoechst33258 (Sigma),Annexin V-FITC/PI 细胞凋亡检测试剂盒 (南京凯基生物发展科技有限公司),Rabbit-Cleaved caspase-3 (Cell Signaling Technology)、Mouse monoclonal Anti β -actin IgG1 (Santa Cruz),PrimeScriptTM RT Reagent Kit (Perfect Real Time)、SYBR[®]RPremix Ex TaqTM (Perfect Real Time) (TaKaRa),小檗碱 (购于中国药品生物制品检验所,质量分数>99%)。

荧光显微镜 (DM R $\times$ A2, Leica),流式细胞仪,PCR 扩增仪 (Hydromer),ABI[®]7300 实时荧光定量系统 (Applied Biosystems, 美国),Gene Genius 凝胶成像分析仪 (Bio Image System Gene Company)。

2 方法

2.1 大鼠胎鼠脑皮层神经元的分离、培养及鉴定

取孕期 16 d 大鼠,脱颈处死,75%酒精浸泡消

毒,无菌操作取出胎鼠,分离胎鼠大脑皮层,剥离脑膜,将皮层组织剪碎,0.125%胰酶 37 $^{\circ}$ C 消化 10 min。FBS 终止消化,过 75 μ m 筛网,1 000 r/min 离心 5 min,弃上清液。加 15 mL 种植液 (DMEM/F12+10%胎牛血清+1%双抗)重悬,接种于 75 cm² 培养瓶中。利用差速黏附法纯化神经元,培养 1 h 后,弃除贴壁细胞,将未贴壁细胞调整细胞数为 1 $\times$ 10⁶ 个/mL,接种于预先包被 0.01%多聚赖氨酸的培养板中。4 h 后换成含 B27 无血清培养液 (DMEM/F12+2%B27+1%双抗),以后隔天半量换液。正常培养 7 d 后用于实验。

微管相关蛋白 2 (MAP-2) 免疫荧光染色鉴定原代培养神经元纯度。将神经元正常培养 7 d 后,收获细胞爬片进行染色,4%多聚甲醛固定,PBS 洗 3 次后,5% BSA 室温封闭 20 min,甩去封闭液,分别滴加一抗 MAP-2 (1:200),4 $^{\circ}$ C 过夜,PBS 洗 3 次后,加入二抗羊抗兔-CY3 (1:1 000),室温避光放置 1 h,DAPI 复染核 10 min,甘油封片,荧光显微镜下计数神经元阳性细胞比例。

2.2 分组及药物干预

将神经元正常培养 7 d 后,加入 A β_{25-35} 复制 AD 细胞模型,使其终质量浓度为 40 μ g/mL。同时加入小檗碱作用 36 h,实验分为对照组、模型组、小檗碱 (0.5、2.0 μ mol/L) 组。

2.3 Hoechst33258 染色检测小檗碱对 AD 模型神经元凋亡形态的影响

原代培养神经元接种于 96 孔板中,正常培养 7 d 后,加入 A β_{25-35} 及小檗碱进行干预,共同作用 36 h。加入细胞固定液,4 $^{\circ}$ C 固定细胞,5 min 后加入 Hoechst33258 染色液孵育 10 min,荧光显微镜下观察神经元凋亡形态的变化。

2.4 流式细胞术检测小檗碱对 AD 模型神经元早期凋亡的影响

原代培养神经元种植于 12 孔板中,正常培养 7 d 后,加入 A β_{25-35} 及小檗碱进行干预,共同作用 36 h 后,根据试剂盒步骤处理细胞,采用流式细胞术检测小檗碱对 AD 模型神经元早期凋亡的影响。

2.5 Western blotting 检测小檗碱对 AD 模型神经元活化的 Caspase-3 蛋白表达的影响

原代培养神经元种植于 6 孔板中,正常培养 7 d 后,加入 A β_{25-35} 及小檗碱进行干预,共同作用 36 h,加入蛋白裂解液提取蛋白。蛋白定量、变性后样品以 SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳分离,湿电转移法转移

至硝酸纤维素膜，膜在室温下封闭 1 h 后加入用封闭液稀释的 cleaved Caspase-3 抗体，室温结合 4 ℃ 过夜，加入适当比例的封闭液稀释的二抗稀释液反应 1 h。用化学发光法显色，X-射线胶片曝光。

2.6 实时荧光定量 RT-PCR 法检测小檗碱对 AD 模型神经元雷帕霉素靶 (target of Rapamycin, mTOR) 相关基因表达的影响

将原代培养神经元种植于 6 孔板中，正常培养 7 d 后，加入 Aβ₂₅₋₃₅ 及小檗碱进行干预，共同作用 36 h。抽提总 RNA，根据试剂盒说明书进行逆转录、扩增，用 ABI®7300 实时荧光定量系统进行分析，根据 C_t 值，以空白作为标准，计算各组基因表达为空白的倍数，以此倍数进行统计。检测各组 mTOR 及下游底物核糖体 S6 蛋白激酶 (S6 kinase, S6K) 和真核细胞始动因子 4E 结合蛋白 1 (4E binding protein, 4EBP1) mRNA 表达。引物序列见表 1。

表 1 引物序列
Table 1 Sequence of primers

目的基因	引物序列	扩增长度/bp
β-actin	正向引物: AGAGGGAAATCGTGC	138
	反向引物: CGATAGTGATGACT	
mTOR	正向引物: GGCTTCTGAAGATGCTGTCC	152
	反向引物: AGTTCGAAGGGCAAGAGTGA	
P70S6K	正向引物: TCAGTGAAAGTGCCAACCAG	212
	反向引物: TGTCTGAGGATTGCTGTGC	
4EBP1	正向引物: CACAGCAGTCAGGCCTTGTA	180
	反向引物: CAGGGAGGGTGTAGGTGAGA	

2.7 统计学处理

实验数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示，采用 SPSS11.5 统计软件进行单因素方差分析。

3 结果

3.1 神经元的分离、培养及鉴定

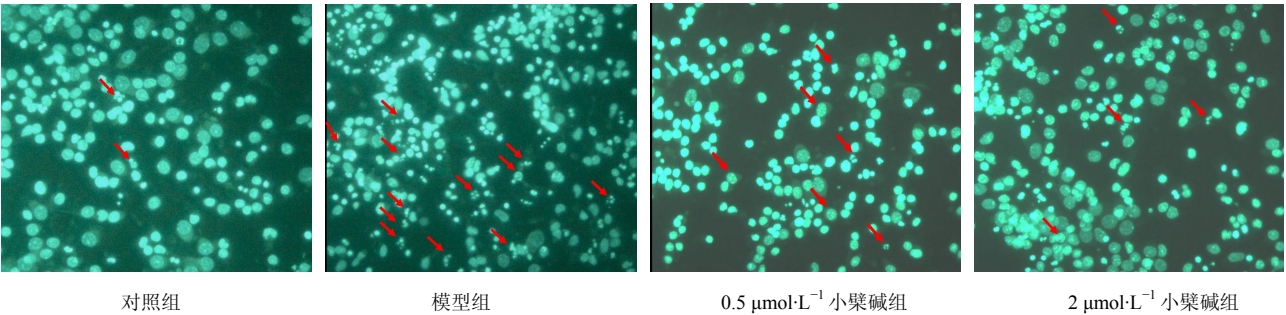


图 3 Hoechst33258 染色观察神经元凋亡形态变化

Fig. 3 Morphological change of neuron apoptosis observed by Hoechst33258 staining

倒置显微镜下观察，接种 2~4 h 大部分细胞贴壁，呈圆形或椭圆形，12 h 部分细胞开始伸出 1~2 个突起，培养 2~3 d 后，细胞明显增大，大部分细胞突起伸出，并伸长，胞体发亮，培养 5~7 d 后细胞突起延长，形成神经细胞网络，见图 1 (×200)。

荧光显微镜下观察，由图 2 (×400) 可知，MAP-2 在胞浆和突起表达，呈红色荧光，蓝色为 DAPI 染色，用于标记细胞核记录总细胞数，MAP-2 阳性细胞数占总细胞数的 95% 以上。

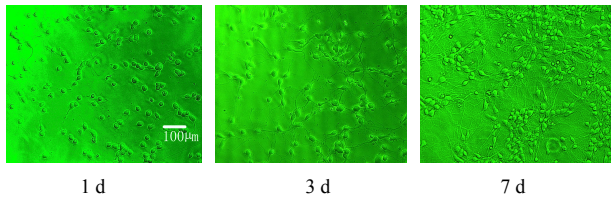


图 1 原代培养大鼠皮层神经元

Fig. 1 Cortical neurons of primary cultured rat

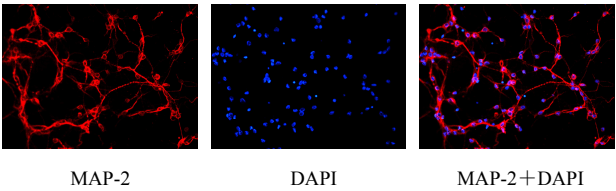


图 2 MAP-2 免疫荧光染色

Fig. 2 MAP-2 immunofluorescence staining

3.2 小檗碱对神经元凋亡形态变化的影响

在荧光显微镜下，活细胞核呈弥散、均匀荧光，坏死细胞不被 Hoechst 染色，出现细胞凋亡时，细胞核或细胞质内可见浓染致密的颗粒块状荧光及明显核形态变化，出现 3 个或 3 个以上的 DNA 荧光碎片，即是凋亡细胞，见图 3。对照组细胞大部分细胞核呈弥散、均匀荧光，只出现极少数 3 个或 3 个以上 DNA 荧光碎片，而模型组 3 个或 3 个以上 DNA 荧光碎片数量明显增加 (箭头所示为出现 3 个

或 3 个以上 DNA 碎片的细胞核), 0.5、2.0 $\mu\text{mol/L}$ 小檗碱组与模型组比较, 细胞凋亡数量明显减少。

3.3 小檗碱对神经元早期凋亡变化的影响

根据流式细胞双染色原理, Annexin V 阳性、PI 阴性 (Annexin V⁺PI⁻) 标记的细胞为早期凋亡细胞。由表 2 结果可见, 与对照组比较, 模型组细胞早期凋亡率明显升高 ($P<0.01$); 与模型组比较, 2 $\mu\text{mol/L}$ 小檗碱组细胞早期凋亡率明显降低 ($P<0.01$)。

3.4 小檗碱对 AD 模型神经元活化的 Caspase-3 蛋白表达的影响

由图 4 可见, 对照组无活化的 Caspase-3 蛋白表达, 模型组细胞活化的 Caspase-3 蛋白表达明显, 0.5、2 $\mu\text{mol/L}$ 小檗碱组均能抑制异常活化的 Caspase-3 蛋白表达。

表 2 小檗碱对 AD 模型神经元凋亡的影响 ($\bar{x}\pm s, n=3$)

Table 2 Effect of berberin on A β -induced neuron apoptosis of AD model ($\bar{x}\pm s, n=3$)

组 别	C/($\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)	Annexin V ⁺ PI ⁻ /%
对照	—	4.08 $\pm$ 3.04
模型	—	18.58 $\pm$ 2.03 ^{##}
小檗碱	0.5	18.00 $\pm$ 15.70
	2.0	2.95 $\pm$ 2.47 ^{**}

与对照组比较: ^{##} $P<0.01$; 与模型组比较: ^{**} $P<0.01$

^{##} $P<0.01$ vs control group; ^{**} $P<0.01$ vs model group

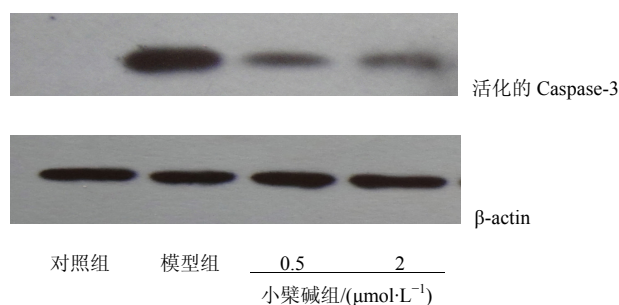


图 4 小檗碱对 AD 模型神经元活化的 Caspase-3 蛋白表达的影响

Fig. 4 Effect of berberin on activated Caspase-3 protein expression in neuron of AD model

3.5 小檗碱对 AD 模型神经元 mTOR 相关基因表达的影响

由表 3 可知, 与对照组比较, 模型组 mTOR mRNA 表达有增加的趋势, P70S6K mRNA 表达显著增加 ($P<0.01$), 4EBP1 mRNA 表达明显增加 ($P<0.01$); 与模型组比较, 0.5 $\mu\text{mol/L}$ 小檗碱组 mTOR 和 P70S6K mRNA 表达明显减少 ($P<0.05$),

表 3 小檗碱对 AD 模型神经元 mTOR 相关基因表达的影响 ($\bar{x}\pm s, n=6$)

Table 3 Effect of berberin on mRNA expression of mTOR related genes in neuron of AD model ($\bar{x}\pm s, n=6$)

组 别	C/($\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)	mTOR	P70S6K	4EBP1
对照	—	1.05 $\pm$ 0.67	0.95 $\pm$ 0.47	1.06 $\pm$ 0.48
模型	—	1.54 $\pm$ 0.48	2.00 $\pm$ 0.64 ^{**}	3.86 $\pm$ 1.57 ^{**}
小檗碱	0.5	1.01 $\pm$ 0.21 [#]	1.08 $\pm$ 0.12 ^{##}	6.82 $\pm$ 0.86 ^{***}
	2.0	0.36 $\pm$ 0.14 ^{###}	0.69 $\pm$ 0.22 ^{###}	12.13 $\pm$ 3.97 ^{***}

与对照组比较: ^{**} $P<0.01$; 与模型组比较: [#] $P<0.05$ ^{##} $P<0.01$

^{**} $P<0.01$ vs control group; [#] $P<0.05$ ^{##} $P<0.01$ vs model group

并接近正常水平, 4EBP1 mRNA 表达明显增加 ($P<0.01$); 与模型组比较, 2 $\mu\text{mol/L}$ 小檗碱组 mTOR 和 P70S6K mRNA 表达显著减少 ($P<0.01$), 并低于对照组, 4EBP1 mRNA 表达显著增加 ($P<0.01$), 并显著高于对照组。

4 讨论

传统观点认为神经元处于一种有丝分裂后的终末分化状态, 成熟神经元一般停留在 G₀ 期。研究发现, 某些神经系统疾病, 如神经退行性变和脑缺血等病理情况下, 神经元可以重新进入细胞周期, 但重新进入细胞周期的神经元不能完成整个细胞周期进行增殖, 而发生凋亡^[10]。有研究表明抗肿瘤细胞增殖药物环磷酰胺有可能具有神经保护作用^[11]。一些细胞周期抑制剂用于 AD 治疗的研究也有相关报道^[12]。细胞周期有可能成为治疗神经退行性疾病的新靶点^[13-14]。

有研究显示^[15], 神经退行 tau 蛋白病 (neurodegenerative tauopathies) 包括 AD, tau 蛋白过度磷酸化引起神经元细胞周期活化, 而这一过程取决于过度活跃的 mTOR, mTOR 是一种丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶, 也是一种重要的信号分子, 它参与细胞周期的调控、蛋白合成、糖平衡和能量代谢等多种病理生理过程, 在细胞生存、生长、增殖中起着关键作用^[16]。

本实验体外培养胎鼠大脑皮质神经元, A β_{25-35} 干预神经元复制 AD 模型, 选择具有抑制细胞增殖活性的中药成分小檗碱, 考察其对 A β_{25-35} 损伤神经元的保护作用。许多证据显示 A β 在 AD 的病因学和病程发展中起关键作用, A β 的神经毒性是造成 AD 神经退行性变的主要机制之一^[17-18], 通过研究 DNA 断裂情况和神经细胞死亡的形态特征, 证实 A β 引起的细胞死亡主要为典型的凋亡形式^[19-20]。因

此,本研究通过 Hoechst33258 染色观察神经元凋亡形态, Annexin V-FITC/PI 双染流式细胞术检测早期凋亡,结果显示,2 $\mu\text{mol/L}$ 小檗碱作用 36 h 可显著降低 $\text{A}\beta_{25-35}$ 导致的神经元凋亡。Caspase-3 是所有细胞凋亡的最后执行者,是细胞凋亡蛋白级联反应的必经之路^[21],随着这种蛋白酶的激活,神经元将不可逆性地发生凋亡^[22]。Western blotting 实验结果显示小檗碱能抑制 $\text{A}\beta_{25-35}$ 引起的 Caspase-3 蛋白表达的异常升高。以上结果提示小檗碱能够抑制 $\text{A}\beta_{25-35}$ 损伤的神经元凋亡,具有一定神经保护作用。

为了进一步考察其作用机制,应用实时荧光定量 PCR 方法检测了 mTOR 及其相关基因 P70S6K 和 4EBP1 mRNA 的表达。mTOR 是神经元细胞周期活化的关键上游信号,异常表达时可引起神经元重新进入细胞周期。激活后的 mTOR 可调节两条不同的下游通路: S6K 和 4EBP1。研究表明,激活后的 mTOR 对 S6K 起正调节作用,而对 4EBP1 起负调节作用^[15]。本研究结果显示,小檗碱可以显著下调 mTOR 和 P70S6K mRNA 表达,同时显著上调 4EBP1 mRNA 表达,提示小檗碱可能通过抑制异常活化的 mTOR,进而阻止受损的神经元重新进入细胞周期而发挥保护作用。也有研究显示,与正常小鼠比较,转基因 AD 模型小鼠大脑中磷酸化 mTOR 及其下游底物磷酸化 P70S6K 蛋白表达减少,因此认为 mTOR 活性抑制可能是其致病因素。关于 mTOR 信号通路在神经退行性疾病中的作用目前还不十分明确,但以上证据表明,AD 中 mTOR 异常对其病理发展及治疗具有重要的意义。小檗碱对 AD 模型神经元的神经保护作用,可以通过进一步考察细胞周期相关蛋白表达, mTOR 通路蛋白表达及其活化情况明确其作用机制,并以此为突破点寻找中药成分中通过阻止受损的神经元重新进入细胞周期,发挥神经保护作用的药物,可能为治疗 AD 提供新的靶点及思路。

参考文献

- [1] Lizuka N, Miyamoto K, Okita K, *et al.* Inhibitory effect of *Rhizoma Coptidis* and berberine on the proliferation of human esophageal cancer cell lines [J]. *Cancer Lett*, 2000, 148(1): 19.
- [2] Jantova S, Cipak L, Cernakova M, *et al.* Effect of berberine on proliferation, cell cycle and apoptosis in HeLa and L1210 cells [J]. *J Pharm Pharmacol*, 2003, 55(8): 1143.
- [3] 章涛, 李荭清, 杨俊卿, 等. 小檗碱抑制人乳腺癌 MDA-MB-231 细胞增殖及其与过氧化物酶体增殖物激活受体 γ 的关系 [J]. *中草药*, 2009, 40(2): 244-247.
- [4] Lin C C, Lin S Y, Chung J G, *et al.* Down-regulation of cyclinB1 and up-regulation of weel by berberine promotes entry of leukemia cells into the G₂-M₂ phase of the cell cycle [J]. *Anticancer Res*, 2006, 26(2): 1097-1104.
- [5] 来丽娜, 赵娜, 郭春花, 等. 小檗碱对 HeLa 细胞凋亡及其凋亡相关蛋白表达的影响 [J]. *中草药*, 2008, 39(2): 244-247.
- [6] 张卫东, 吴定国, 王金松, 等. 黄连素对人肝癌 HepG2 细胞周期及凋亡的影响 [J]. *武汉大学学报: 医学版*, 2008, 29(6): 767-768.
- [7] Kulkarni S K, Dhir A. Berberine: a plant alkaloid with therapeutic potential for central nervous system disorders [J]. *Phytother Res*, 2010, 24(3): 317-324.
- [8] 刘北忠, 张静, 杨俊卿, 等. 小檗碱对铝过负荷致小鼠慢性脑损伤的保护作用及机制 [J]. *中草药*, 2008, 39(9): 1351-1354.
- [9] Wang X, Wang R, Xing D, *et al.* Kinetic difference of berberine between hippocampus and plasma in rat after intravenous administration of *Coptidis Rhizoma* extract [J]. *Life Sci*, 2005, 77(24): 3058-3067.
- [10] Park D S, Obeidat A, Giovanni A, *et al.* Cell cycle regulators in neuronal death evoked by excitotoxic stress: implications for neurodegeneration and its treatment [J]. *Neurobiol Aging*, 2000, 21(6): 771-781.
- [11] Kitazawa H, Numakawa T, Adachi N, *et al.* Cyclophosphamide promotes cell survival via activation of intracellular signaling in cultured cortical neurons [J]. *Neurosci Lett*, 2010, 470(2): 139-144.
- [12] Neve R L, McPhie D L. The cell cycle as a therapeutic target for Alzheimer's disease [J]. *Pharmacol Ther*, 2006, 111(1): 99-113.
- [13] Bonda D J, Lee H P, Kudo W, *et al.* Pathological implications of cell cycle re-entry in Alzheimer disease [J]. *Exp Rev Mol Med*, 2010, 29 (12): e19.
- [14] Gustaw-Rothenberg K, Lerner A, Bonda D J, *et al.* Biomarkers in Alzheimer's disease: past, present and future [J]. *Biomark Med*, 2010(4): 15-26.
- [15] Khurana V, Lu Y, Steinhilb M L, *et al.* mTOR-mediated cell-cycle activation causes neurodegeneration in a drosophila tauopathy model [J]. *Curr Biol*, 2006, 16(3): 230-241.
- [16] Hay N, Sonenberg N. Upstream and downstream of mTOR [J]. *Genes Dev*, 2004(16): 1926-1945.
- [17] Mruthinti S, Capito N, Sood A, *et al.* Cytotoxicity of Abeta1-42, RAGE23-54, and an Abeta-RAGE complex in

- PC-12 cells [J]. *Curr Alzheimer Res*, 2007, 4(5): 581-586.
- [18] Irie K, Murakami K, Masuda Y, *et al.* The toxic conformation of the 42-residue amyloid beta peptide and its relevance to oxidative stress in Alzheimer's disease [J]. *Mini Rev Med Chem*, 2007, 7(10): 1001-1008.
- [19] Hu J, Geng M, Li J, *et al.* Acidic oligosaccharide sugar chain, a mariner-derived acidic oligosaccharide, inhibits the cytotoxicity and aggregation of amyloid beta protein [J]. *J Pharmacol Sci*, 2004, 95(2): 248-255.
- [20] Lafay-Chebassier C, Paccalin M, Page G, *et al.* mTOR/p70S6k signalling alteration by A beta exposure as well as in APP-PS1 transgenic models and in patients with Alzheimer's disease [J]. *J Neurochem*, 2005, 94(1): 215-225.
- [21] Cheng E H, Kiseh D G, Clem R T, *et al.* Conversion of bcl-2 to bax-like death factor by caspases [J]. *Science*, 1997, 278(5345): 1966-1968.
- [22] Kim T W, Pettingll W H, Jung Y K, *et al.* Alternative cleavage of Alzheimer-associated Presenilins during apoptosis by caspase-3 family protease [J]. *Science*, 1997, 277(5324): 373-376.

欢迎订阅

Chinese Herbal Medicines (CHM)

我国第一份中药专业的英文期刊——*Chinese Herbal Medicines* (CHM) (中草药英文版) 经国家新闻出版总署 (新出综合[2008]1343 号文件) 批准, 国内统一连续出版号为: CN12—1410/R, 已于 2009 年 10 月正式创刊。

CHM 由天津药物研究院和中国医学科学院药用植物研究所主办, 天津中草药杂志社出版。中国工程院院士、中国医学科学院药用植物研究所名誉所长肖培根教授担任主编; 中国工程院院士、天津药物研究院刘昌孝研究员, 天津药物研究院院长汤立达研究员, 中国医学科学院药用植物研究所所长陈士林研究员共同担任副主编; 天津药物研究院医药信息中心主任、《中草药》杂志执行主编陈常青研究员担任编辑部主任。

办刊宗旨 以高起点、国际化为特点, 继承和发扬祖国医药学遗产, 报道和反映中草药研究最新进展, 宣扬我国中草药的传统特色, 加强与世界各国在传统药物研究的经验交流, 在中医和西医、传统与现代、东方与西方之间架起一座理解和沟通的桥梁, 促进中药现代化、国际化。

主要栏目 综述与述评、论著、快报、简报、文摘、信息和国际动态、人物介绍、来信、书评等栏目。

读者对象 国内外从事中医药研究、管理、监督、检验和临床的专业技术人员。

CHM 邀请相关领域的院士和国内外知名专家加盟, 组建一支国际化、高水平、精干的编委会队伍 (第一届编辑委员会由 49 位专家组成, 其中院士 10 名, 国外编委 19 名)。吸引国内外高质量的稿件, 提高期刊的学术质量; 坚持按照国际标准编排, 加强刊物规范化和标准化, 充分利用计算机、网络技术和英语, 加强与国际知名科技期刊的交流合作; 充分发挥中医药特色, 争取在较短时间内进入国际最著名的检索系统——美国科学引文索引 (SCI), 把 CHM 办成国际知名期刊之一。

欢迎广大作者踊跃投稿! 欢迎广大读者积极订阅! 自办发行, 直接与编辑部订阅!

本刊已正式开通网上在线投稿系统。欢迎投稿、欢迎订阅! 网址: www.tiprpress.com

Chinese Herbal Medicines (CHM)编辑部

天津编辑部

地址: 天津市南开区鞍山西道 308 号

邮编: 300193

E-mail: chm@tiprpress.com

Tel: (022)27474913

Fax: (022)23006821

北京编辑部

地址: 北京市海淀区马连洼北路 151 号

邮编: 100193

E-mail: chm@tiprpress.com

Tel: (010)62894436

Fax: (010)62894436

开户银行: 兴业银行天津南开支行

账号: 44114010010081504

户名: 天津中草药杂志社