

DOI: 10.13288/j.11-2166/r.2016.16.016

活血、破血药对动脉粥样硬化大鼠主动脉组织内源性凋亡途径的影响

谢海波¹, 刘亚娟², 汪典², 卢青¹, 罗尧岳², 刘越美¹, 陈旭¹

(1. 湖南中医药大学第一附属医院, 湖南省长沙市雨花区韶山中路 95 号, 410007; 2. 湖南中医药大学)

摘要 目的 探讨活血药(当归、川芎)、破血药(三棱、莪术)改善动脉粥样硬化的可能作用机制。方法 将 60 只大鼠随机分为空白组、模型组、他汀组、活血组、破血组, 空白组 8 只, 其余各组均 13 只。采用高脂饲料喂养结合腹腔注射维生素 D₃ 法复制动脉粥样硬化大鼠模型。造模成功后, 空白组、模型组灌服 10 ml/(kg·d) 白开水, 活血组灌服当归、川芎煎液, 破血组灌服三棱、莪术煎液, 他汀组灌服阿托伐他汀钙, 给药量均为 1.8 g/(kg·d), 每天 1 次, 连续 4 周。取主动脉组织, 光镜下观察主动脉组织病理变化, 免疫组化法检测主动脉组织细胞色素 C (Cyt-C) 及细胞凋亡诱导因子 (AIF) 蛋白的表达, 原位杂交法检测主动脉组织半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶 3 (Caspase-3) mRNA 表达情况。结果 与模型组比较, 他汀组、活血组及破血组主动脉组织粥样硬化病变均有不同程度减轻, 其中他汀组与破血组病变改善最为明显。与空白组比较, 模型组主动脉组织 Cyt-C、AIF 蛋白及 Caspase-3 mRNA 表达显著增多 ($P < 0.05$, $P < 0.01$); 与模型组比较, 他汀组、破血组主动脉组织 Cyt-C、AIF 蛋白及 Caspase-3 mRNA 表达均减少, 活血组 Cyt-C 蛋白、Caspase-3 mRNA 表达均减少 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$); 破血组主动脉组织 Caspase-3 mRNA 表达低于活血组 ($P < 0.05$)。结论 活血药、破血药均能改善动脉粥样硬化, 且破血药效果优于活血药; 活血药可能通过抑制 Cyt-C 表达, 降低 Caspase-3 mRNA 水平, 破血药可能通过抑制 Cyt-C 表达, 下调凋亡诱导因子 AIF 表达及降低 Caspase-3 mRNA 水平来抗动脉粥样硬化。

关键词 动脉粥样硬化; 活血药; 破血药; 内源性凋亡途径; 细胞色素 C; 细胞凋亡诱导因子

动脉粥样硬化 (atherosclerosis, AS) 是冠心病、脑卒中等心脑血管疾病的重要病理基础。随着人们生活水平的提高, AS 的发病率呈上升趋势。AS 的形成是多种因素参与、相互影响、相互作用的复杂过程, 确切的发病机制尚未完全清楚。近年来研究发现, 细胞凋亡是 AS 的独立危险因素^[1], 斑块内细胞异常凋亡, 对其稳定性有不利影响。细胞受到凋亡诱导因素和凋亡抑制因素的双重作用, 正常情况下, 凋亡抑制因素起主导作用, 细胞很少发生凋亡。当凋亡诱导因素作用增强, 或凋亡抑制因素作用减弱时, 就会激活细胞凋亡程序, 诱导细胞过度凋亡^[2]。目前公认的细胞凋亡途径包括: 内源性凋亡途径、死亡受体凋亡途径和内质网介导的细胞凋亡途径^[3]。本研究观察活血药(当归、川芎)和破血药(三棱、莪术)对 AS 大鼠主动脉

组织形态学、主动脉组织 Cyt-C 及 AIF 蛋白表达、主动脉组织 Caspase-3 mRNA 表达的作用, 探讨活血药(当归、川芎)、破血药(三棱、莪术)对主动脉组织内源性凋亡途径的影响。

1 材料与方法

1.1 动物

SPF 级雄性 SD 大鼠 60 只, 体重 (182.70 ± 32.61) g, 由湖南省斯莱克景达实验动物有限公司提供, 动物许可证号: SCXK (湘) 2013 - 0004; 动物合格证号: 43004700004536。

1.2 药物与试剂

阿托伐他汀钙片 (立普妥) 由大连辉瑞制药有限公司分装 (批号: H31244); 维生素 D₃ 注射液由上海通药业股份有限公司提供 (批号: 121132); 丙基硫氧嘧啶片由江苏省南通市精华制药集团股份有限公司生产 (批号: 31140106); 胆酸钠由河南省平顶山市慧生源生物制品有限公司分

基金项目: 湖南省中医药科研计划项目 (2013119)

* 通讯方式: 896339240@qq.com, 13786197990

装 (批号: 20140113); 胆固醇由河南省平顶山市慧生源生物制品有限公司提供 (批号: 20140203); 猪油购自农贸市场; 活血药 (当归、川芎以 1:1 配伍)、破血药 (三棱、莪术以 1:1 配伍) 均购于湖南中医药大学第一附属医院, 由湖南中医药大学药学技能中心药剂实验室制备、浓缩为 0.18 g/ml 药液, 4℃ 冷藏备用; 免疫组化所用细胞色素 C (Cyt-C) 试剂盒及细胞凋亡诱导因子 (AIF) 试剂盒均由武汉博士德生物工程有限公司提供, 批号分别为 BA0781、BA3715; 原位杂交所用半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶 3 (Caspase-3) 试剂盒由武汉博士德生物工程有限公司提供, 批号为 MK1247- τ 。

1.3 主要实验仪器

IKA RCT basic 磁力搅拌器, 德国 IKA 集团; KD2258 型超薄切片机, 浙江省金华市科迪仪器设备有限公司; TP-B 摊烤片机, 天津市久圣医疗电子有限公司; Thermo Scientific 3913 恒温培养箱, 赛默飞世尔科技 (中国) 有限公司; OLYMPUS BX43 双目生物摄影显微镜, 日本 OLYMPUS 公司; Motic 医学图象分析管理系统, 麦克奥迪实业集团有限公司。

1.4 动物分组及模型建立

大鼠适应性饲养 1 周后, 按照随机数字表法分为空白组、模型组、他汀组、活血组、破血组, 其中空白组 8 只, 其余各组均 13 只。将大鼠常规分笼饲养, 自由饮食饮水, 光周期、暗周期均为 12 小时 (光照时间为 6:00—18:00), 背景噪音为 (40±10) dB, 温度为 (21±2)℃, 湿度为 50%~70%。空白组大鼠给予普通饲料, 其余各组大鼠于造模的第 1 天腹腔注射维生素 D₃ 60 万 IU/kg, 第 3、6、9 周分别补充注射维生素 D₃ 10 万 IU/kg, 并自造模第 1 天起喂饲高脂饲料 (2% 胆固醇, 0.5% 胆酸钠, 3% 猪油, 0.2% 丙基硫氧嘧啶和 94.3% 的基础饲料) 以复制 AS 模型^[1-3]。20 周后, 按抽签法随机抽取 3 只大鼠处死, 取主动脉组织, HE 染色后光镜下观察, 结果显示有动脉粥样斑块形成, 说明大鼠 AS 模型建立成功。

1.5 给药方法

造模成功后按 10 ml/(kg·d) 灌胃给药。空白组、模型组灌服白开水; 活血组灌服当归、川芎煎液 1.8 g/(kg·d) (相当于成人日用药量当归、川芎各 10 g); 破血组灌服三棱、莪术煎液 1.8 g/(kg·d) (相当于成人日用药量三棱、莪术各 10 g); 他

汀组灌服阿托伐他汀钙 1.8 mg/(kg·d) (相当于成人日用药量 20 mg)。每天 1 次, 连续 4 周。以上剂量均采用成人体重 60 kg 体表面积换算。灌胃结束共 49 只大鼠存活 (因腹腔注射维生素 D₃ 死亡 4 只, 灌胃损伤死亡 4 只, 因查看造模是否成功处死 3 只), 其中空白组 6 只, 模型组 10 只, 他汀组 11 只, 活血组 11 只, 破血组 11 只。

1.6 观察指标及方法

末次给药 24 h 后处死动物。无菌条件下取主动脉组织, 固定、包埋, 制备 5 μ m 组织切片, HE 染色, 光镜下观察主动脉组织病理变化; 免疫组化法检测主动脉组织 Cyt-C 及 AIF 蛋白的表达; 原位杂交法检测主动脉组织 Caspase-3 mRNA 表达情况。

1.7 统计学方法

采用 SPSS19.0 软件进行统计分析, 数据以 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 满足正态性者, 组间比较使用单因素方差分析, 不满足正态性者用秩和检验。P<0.05 认为具有统计学意义。

2 结果

2.1 光镜下各组主动脉组织病理学情况

图 1 示, 空白组大鼠主动脉组织血管内皮细胞完整, 内弹性膜走行正常, 平滑肌及弹性纤维排列完整。模型组大鼠主动脉管壁明显隆起, 管腔狭窄, 内皮细胞及内弹性膜基本消失, 内膜明显增厚, 中膜平滑肌及弹性纤维走行紊乱, 出现明显钙化、斑点, 炎性细胞浸润, 并可见透明软骨化。他汀组大鼠主动脉内膜稍增厚, 平滑肌排列稍紊乱。活血组大鼠主动脉管壁部分隆起, 内膜增厚, 平滑肌走行紊乱, 出现钙化点。破血组病变与他汀组相似, 主动脉内膜稍增厚, 平滑肌排列稍异常。

2.2 各组大鼠主动脉组织 Cyt-C 蛋白表达比较

表 1 示, 与空白组比较, 模型组主动脉组织 Cyt-C 蛋白表达显著增多 (P<0.01); 与模型组比较, 他汀组、活血组及破血组主动脉组织 Cyt-C 蛋白表达均显著减少 (P<0.05 或 P<0.01); 他汀组、活血组、破血组 Cyt-C 蛋白表达组间两两比较差异均无统计学意义 (P>0.05)。

2.3 各组大鼠主动脉组织 AIF 蛋白表达比较

表 1 示, 与空白组比较, 模型组主动脉组织 AIF 蛋白表达显著增多 (P<0.05); 与模型组比较, 他汀组、破血组主动脉组织 AIF 蛋白表达均减少 (P<0.05); 活血组与模型组比较差异无统计学意义 (P>0.05); 破血组与他汀组比较, 差异无统计学意义 (P>0.05)。

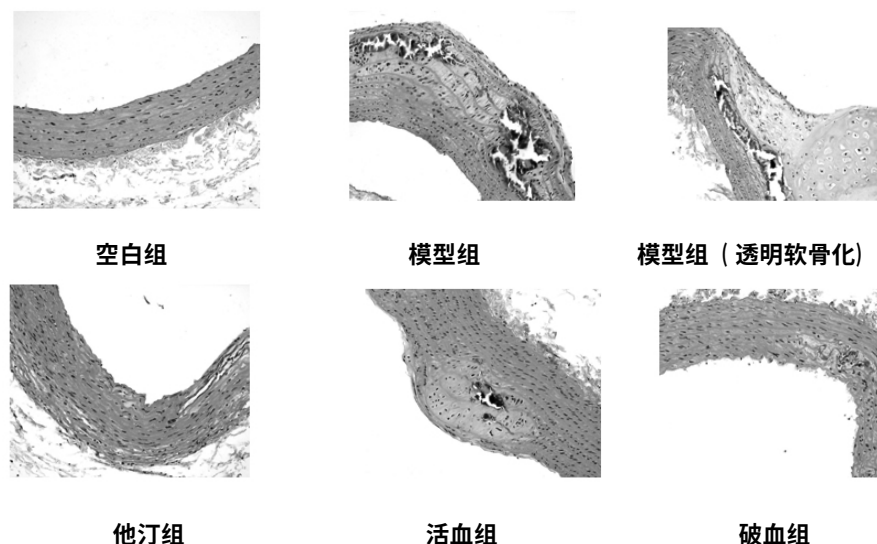


图 1 各组大鼠主动脉组织病理图 (HE 染色, 光镜 $\times 100$)

表 1 各组大鼠主动脉组织 Cyt-C、AIF 蛋白及 Caspase-3 mRNA 表达比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	Cyt-C 蛋白	AIF 蛋白	Caspase-3 mRNA 平均灰度值
空白组	6	122.67 $\pm$ 43.68 **	127.33 $\pm$ 48.34 *	122.45 $\pm$ 17.13 **
模型组	10	247.60 $\pm$ 46.84	181.30 $\pm$ 36.42	80.24 $\pm$ 28.58
他汀组	11	186.27 $\pm$ 35.30 *	129.36 $\pm$ 36.96 *	118.16 $\pm$ 16.08 **
活血组	11	183.91 $\pm$ 89.60 *	150.09 $\pm$ 57.05	97.86 $\pm$ 8.62 *
破血组	11	163.91 $\pm$ 69.06 **	128.18 $\pm$ 46.57 *	114.80 $\pm$ 20.0 ** Δ

注: Cyt-C, 细胞色素 C; AIF, 细胞凋亡诱导因子; Caspase-3, 半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶 3; 与模型组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; 与活血组比较, $\Delta P < 0.05$

2.4 各组大鼠主动脉组织 Caspase-3 mRNA 表达比较

由于原位杂交法所测得的灰度值大小与基因表达量的多少成反比, 结合本实验各组大鼠主动脉 Caspase-3 mRNA 平均灰度值得出以下结果, 表 1 示, 与空白组比较, 模型组主动脉组织 Caspase-3 mRNA 表达显著增多 ($P < 0.01$); 与模型组比较, 他汀组、活血组及破血组主动脉组织 Caspase-3 mRNA 表达均显著减少 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$); 破血组主动脉组织 Caspase-3 mRNA 表达低于活血组 ($P < 0.05$); 破血组与他汀组比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。

3 讨论

内源性凋亡途径又称为线粒体凋亡途径。在凋亡诱导因素作用下, 位于线粒体内、外膜之间的线粒体膜通透性转变孔过度开放, 线粒体膜通透性增加, 主动脉组织 Cyt-C 等促凋亡蛋白数量增多, 释放进入细胞质, 与凋亡蛋白酶活化因子 1 (Apaf-1)

形成多聚复合体, 激活半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶 9 (procaspase-9), 启动半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶 (Caspase) 家族级联反应, 活化下游效应者 Caspase-3, 最终导致细胞凋亡^[6-7], 其中大量 Cyt-C 进入细胞质是线粒体凋亡途径中最关键的环节。另有研究发现, 在凋亡诱导因素的作用下, 位于线粒体双层膜间隙的凋亡诱导因子 AIF 数量增多, 并越过通透性增加的线粒体外膜进入细胞质, 直接将基因组 DNA 裂解为 DNA 片段, 导致 DNA 片断化与染色质降解, 发动非 Caspase 依赖性的细胞凋亡^[8]。

研究表明, 在内源性凋亡途径中, B 细胞淋巴瘤-2 (Bcl-2) 家族蛋白通过影响线粒体外膜通透性而调控细胞凋亡^[9]。其中抗凋亡蛋白 Bcl-2 主要维持线粒体外膜完整性, 促凋亡蛋白 Bax 能破坏其完整性, 而 Bax 是内源性凋亡途径的主要介导者^[10]。当 Bax 被激活后, 其构象发生改变, 并插入线粒体外膜形成蛋白孔道, 利于 Cyt-C、AIF 等释放^[11], 而 Bcl-2 能将易位到线粒体的 Bax 重新移回到细胞质而阻止线粒体外膜通透性增加^[12]。正常情况下, 促凋亡蛋白与抗凋亡蛋白平衡协调, 但当各种刺激打破这种平衡, 就会导致细胞凋亡。

综上所述, 在细胞内源性凋亡途径中, 抗凋亡蛋白 Bcl-2 和促凋亡蛋白 Bax 共同调控着线粒体膜的通透性, 影响 Cyt-C、凋亡诱导因子 AIF 等的释放, 进而激活了 Caspase 依赖性 & 非 Caspase 依赖性的细胞凋亡路径。

前期研究已证实, 活血药 (当归、川芎)、破血药 (三棱、莪术) 通过调节内源性凋亡途径中

Bcl-2 及 Bax 蛋白表达而抑制 AS 大鼠细胞凋亡^[3]。本研究结果显示,模型组 Cyt-C 及 AIF 的蛋白表达均高于空白组,证实在大鼠 AS 病变的过程中确实启动了内源性凋亡程序。他汀组、活血组及破血组主动脉组织 Cyt-C 蛋白表达均低于模型组 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$); 他汀组、活血组、破血组组间比较均无统计学意义 ($P > 0.05$),提示活血、破血药及阿托伐他汀钙均能通过下调 Cyt-C 蛋白表达来抑制细胞凋亡,且三类药物对内源性凋亡途径中 Cyt-C 蛋白表达的作用无差异。他汀组、破血组主动脉组织 AIF 蛋白表达均低于模型组 ($P < 0.05$); 活血组、模型组组间比较无差异 ($P > 0.05$); 破血组与他汀组组间比较无统计学意义 ($P > 0.05$),表明破血药能通过降低 AIF 蛋白水平来抑制内源性凋亡途径中的非 Caspase 依赖性的细胞凋亡路径,但活血药对 AIF 蛋白表达无影响。活血组、破血组主动脉 Caspase-3 mRNA 的表达均低于模型组 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$); 破血组主动脉 Caspase-3 mRNA 表达低于活血组 ($P < 0.05$); 破血组与他汀组相比较,差别无统计学意义 ($P > 0.05$),提示活血、破血药均能通过下调 Caspase-3 mRNA 水平抑制细胞凋亡,从而起到抗 AS 的作用,破血药效果优于活血药,且破血药与目前公认的他汀类抗 AS 药物阿托伐他汀钙效果相当。

针对本次实验结果,我们认为,在内源性凋亡途径中,细胞质中高表达的 Cyt-C 能启动 Caspase 家族级联反应,活化下游效应者 Caspase-3,最终导致细胞凋亡。而本实验结果显示,活血药(当归、川芎)、破血药(三棱、莪术)对 Cyt-C 及 Caspase-3 mRNA 表达程度的影响不尽相同,原因可能是 Caspase-3 并不是内源性凋亡途径的特异性蛋白酶,而是 Caspase 家族级联反应中的执行蛋白酶,为多种凋亡途径的共同效应部分,死亡受体凋亡途径及内源性凋亡途径均可将其激活^[4],由此可推断,AS 的病变过程启动了不止一种细胞凋亡途径,而是多种细胞凋亡途径共同作用、相互影响的过程。

Effect of Blood-activating Drug and Stasis-breaking Drug on Endogenous Apoptotic Pathway of Aortic Tissue in Atherosclerosis Rats

XIE Haibo¹, LIU Yajuan², WANG Dian², LU Qing¹, LUO Yaoyue², LIU Yuemei¹, CHEN Xu¹

(1. The First Hospital of Hunan University of Chinese Medicine, Changsha, 410007; 2. Hunan University of Chinese Medicine)

ABSTRACT Objective To study the possible mechanism of blood-activating drug [Danggui (*Angelicaesenenensis* Radix 当归) and Chuanxiong (*Ligusticum Wallichii* 川芎)] and stasis-breaking drug [Sanleng (*Rhizoma Sparganii* 三棱) and Ezhu (*Curcuma Zedoary* 莪术)] in improving atherosclerosis. **Methods** Sixty rats were randomly divided

参考文献

- [1] 方丽娟,刘乃丰. 细胞凋亡与动脉粥样硬化关系的研究进展 [J]. 东南大学学报(医学版),2010,29(1):107-110.
- [2] 王雪婷,王俭勤. 内皮细胞凋亡与动脉粥样硬化 [J]. 实用医学杂志,2011,27(16):3072-3074.
- [3] 赵彦超,顾耘. 细胞凋亡通路研究进展 [J]. 现代医学,2013,41(4):285-288.
- [4] 周红,吴晓燕,袁艺标,等. 三种剂量维生素 D₃ 结合高脂饲料建立大鼠动脉粥样硬化模型的比较 [J]. 中国动脉硬化杂志,2012,11(20):995-998.
- [5] 张海平,吴翊馨. 动脉粥样硬化模型大鼠接受有氧运动后的组织学变化 [J]. 中国组织工程研究与临床康复,2007,11(45):9051-9052.
- [6] OLA MS, NAWAZ M, AHSAN H. Role of Bcl-2 family proteins and Caspases in the regulation of apoptosis [J]. Mol Cell Biochem,2011,351(1/2):41-58.
- [7] 朱鹏立,尚秀玲,蒋娜,等. 白藜芦醇对动脉粥样硬化兔 Fas/FasL 凋亡途径的影响 [J]. 临床心血管病杂志,2009,25(12):945-948.
- [8] SCHARSTUHL A, MUTSAERS HA, PENNING SW, et al. Involvement of VDAC, Bax and ceramides in the efflux of AIF from mitochondria during curcumin-induced apoptosis [J]. PLoS One,2009,4(8):e6688.
- [9] 李捷萌,陈彦青,刘荣国. 线粒体凋亡途径与 Bcl-2 家族蛋白研究进展 [J]. 医学综述,2008,14(4):489-490.
- [10] 侯炳旭,冯丽英. JNK 信号通路介导的凋亡在疾病中的作用 [J]. 世界华人消化杂志,2011,19(17):1819-1825.
- [11] 赵婧,屈艺,母得志. Akt 与细胞线粒体凋亡途径 [J]. 生命的化学,2010,30(4):528-532.
- [12] EDLICH F, BANERJEE S, SUZUKI M, et al. Bcl-xL retrotranslocates Bax from the mitochondria into the cytosol [J]. Cell,2011,145(1):104-116.
- [13] 谢海波,罗尧岳,莫新民,等. 活血、破血药对动脉粥样硬化大鼠 Bcl-2、Bax 蛋白表达及细胞凋亡率的影响 [J]. 新中医,2013,45(4):148-150.
- [14] 李小艳. Caspase 家族的研究进展 [J]. 内蒙古中医药,2012,31(2):107.

into a blank group, a model group, a statin group, a blood-activating group, and a stasis-breaking group. There were 8 rats in the blank group, and 13 rats in each of the other groups. Rat model of atherosclerosis was established with high-fat diet combined with intraperitoneal injection with vitamin D3. After successfully modeling, 10 ml/(kg · d) of boiled water was given to rats in the blank group and the model group, and 1.8 g/(kg · d) of decoction of Danggui and Chuanxiong, decoction of Sanleng and Ezhu, or atorvastatin calcium were given to the rats in the blood-activating group, the stasis-breaking group and the statin group, respectively, once a day, for four weeks. Pathological changes of aortic tissue was observed under light microscope. Expression of cytochrome C (Cyt-C) and the apoptosis inducing factor (AIF) protein in aortic tissue were detected with immunohistochemical method, and the expression of cysteine aspartic protease 3 (Caspase-3) mRNA in aortic tissue was detected using in-situ hybridization method. **Results**

Compared with the model group, atherosclerosis of aortic tissue relieved in varying degrees in the statin group, the blood-activating group and the stasis-breaking group, especially in the statin group and the stasis-breaking group. Compared with the blank group, the expression of Cyt-C, AIF protein and Caspase-3 mRNA of aortic tissue increased significantly in the model group ($P < 0.05$, $P < 0.01$); Compared with the model group, the expression of Cyt-C, AIF protein, and Caspase-3 mRNA in aortic tissue decreased in the statin group and the stasis-breaking group, and the expression of Cyt-C and Caspase-3 mRNA decreased in the blood-activating group ($P < 0.05$ or $P < 0.01$); The expression of Caspase-3 mRNA in aortic tissue in the stasis-breaking group was lower than that in the blood-activating group ($P < 0.05$). **Conclusion** Both blood-activating drug and stasis-breaking drug can improve atherosclerosis, and the effect of stasis-breaking drug is better than that of blood-activating drug; Blood-activating drug may inhibit the expression of Cyt-C and reduce the level of Caspase-3 mRNA to resist atherosclerosis. On this basis, stasis-breaking drug also may reduce the expression of apoptosis inducing factor AIF to resist atherosclerosis.

Keywords atherosclerosis; blood-activating drug; stasis-breaking drug; endogenous apoptotic pathway; cytochrome C; apoptosis inducing factor

(收稿日期: 2015-11-15; 修回日期: 2015-12-22)

编辑: 王利芬

首届全国经方及经典名方研究与临床应用高峰论坛 暨国医名师学术思想及临床经验传承研修班

由中医杂志社主办, 刘玉洁名老中医传承工作室协办, 央地共创(北京)科技中心承办的“首届全国经方及经典名方研究与临床应用高峰论坛暨国医名师学术思想及临床经验传承研修班”拟定于2016年9月23日—25日在北京举办, 论坛倡导“百家争鸣”的学术氛围, 将秉承“高端性、前瞻性、学术性、实用性”的特点, 全力打造经方医学高水平学术盛会, 搭建传承国医名师学术思想及临床经验的学习交流平台。本次论坛的主题为“传承国粹、创新发展”, 将邀请聂惠民, 曹洪欣, 仝小林, 王庆国, 姜良铎, 郝万山, 史新德, 傅延龄, 张雪亮, 冯学功, 刘景源等国医名师、“973”项目首席科学家、国家级名老中医传承工作室(站)专家及经方专家学者进行精彩专题讲座与现场互动, 同时将邀请国家级重点学科(专科)带头人交流疑难病研究的新进展、新成果, 以及全国各地的专家学者、中青年人才代表共同探讨运用经方诊治常见病、疑难危重病的新经验、新思路。欢迎中医药界同仁积极参加会议并投稿, 将授予国家级继续教育 I 类学分。现将论坛有关事宜通知如下:

一、会议内容及征文: 论文要求: 请参照《中医杂志》投稿要求, 只接收电子文稿, 投稿信箱: zyzz1955@126.com, 汇编进《首届全国经方及经典名方研究与临床应用高峰论坛暨国医名师学术思想及临床经验传承研修班》论文集符合条件的优秀论文将择优在《中医杂志》发表。论文投稿截止日期 2016 年 8 月 31 日。征集范围: 1. 经方及经典名方临床应用总结与研究; 2. 经方及经典名方研究的方法探讨; 3. 运用经方及经典名方诊治常见病、多发病及疑难危重病的临床应用探讨; 4. 经方及经典名方的实验研究成果总结; 5. 经方及经典名方的组方配伍规律探讨; 6. 经方及经典名方与病名证的相关性探讨; 7. 国医名师学术思想、临床经验继承与经方研究; 8. 仲景学说的理论与文献研究; 9. 仲景学说的多学科研究; 10. 《伤寒论》和《金匮要略》的研究与临床应用; 11. 经方及经典名方用药剂量与临床应用; 12. 经方剂量考证研究与现代临床应用; 13. 经方及经典名方疗效评价及安全性研究; 14. 经方体质研究; 15. 经方多学科研究探讨; 16. 国医名师诊治典型病例的探讨; 17. 国医名师治疗临床常见病、疑难危重病的用药经验; 18. 名老中医及中青年人才治疗疑难病新思路、新方法、新经验及验案交流。二、会议时间及地点: 时间: 2016 年 9 月 23—25 日(23 日全天报到, 24 日全天会议, 25 日上午会议, 下午撤会。)地点: 北京(具体地点见第二轮会议通知)三、会议费用: 1500 元/人(含会议研修费、资料费、会议期间 24 日—25 日正餐等), 在校学生凭学生证减免会议费 600 元, 住宿统一安排, 费用自理。四、其它事项: 1. 欢迎与会代表提供疑难讨论病例, 会务组将结合会议计划酌情安排与专家互动答疑。2. 具体内容请登陆中医杂志社网站(www.jtcm.net.cn)查询。五、联系方式: 地址: 北京市东城区东直门内南小街 16 号中医杂志社, 邮政编码: 100700。联系电话: 010-57039906, 联系人: 张宇(18911259118) 微信报名: zyzz1955