

· 基础研究 ·

沉默穴位局部缝隙连接蛋白 43 的表达 对针刺促大鼠胚泡着床效应的影响

郑翠红 黄光英 王伟

【摘要】目的 观察穴位局部缝隙连接蛋白(Cx43)的表达对针刺促大鼠胚泡着床效应的影响,探讨 Cx43 与针刺效应之间的相关性。**方法** 将孕鼠随机分为正常对照组、模型组、针刺组、干扰对照组和干扰组。除正常对照组外,其余 4 组以米非司酮造成大鼠胚泡着床障碍模型。干扰组在各针刺穴位局部注射 P-Cx43-shRNA(1)干扰质粒;干扰对照组以同样方法注射 P-con-shRNA 对照质粒。针刺组、干扰对照组和干扰组予以 7 d 针刺治疗。妊娠第 8 天观察各组大鼠着床胚泡质量及其发育、妊娠率和平均着床胚泡数的差异。**结果** ①干扰组“足三里”穴位处 Cx43 mRNA 及蛋白水平均低于针刺组,差异均有统计学意义($P < 0.05$, $P < 0.01$);干扰对照组与针刺组相比,差异无统计学意义($P > 0.05$);②与正常对照组相比,模型组和干扰组中子宫着床胚泡数较少,着床胚泡质量差,胚泡明显较小,且大小不均一,分布不均匀,血供较差。针刺组和干扰对照组大鼠胚泡着床情况较模型组明显改善;③正常对照组、模型组、针刺组、干扰对照组和干扰组的妊娠率分别为 100%, 50%, 75%, 75%, 50%,但各组间的差异无统计学意义;④模型组、干扰组平均着床胚泡数均较正常对照组低,差异具有统计学意义($P < 0.01$);与针刺组相比,干扰组平均着床胚泡数较少,差异具有统计学意义($P < 0.05$)。**结论** 针刺能明显改善胚泡着床障碍大鼠的胚泡着床质量及其发育,并有提高其妊娠率和平均着床胚泡数的趋势。穴位局部注射 Cx43 特异性 shRNA 真核表达载体有效地沉默穴位局部 Cx43 的表达,并显著影响针刺促胚泡着床效应,说明 Cx43 在针刺效应中发挥着重要的作用。

【关键词】 缝隙连接蛋白 43; 针刺; RNA 干扰; 着床

The influence of acupuncture on blastocyst nidation when Cx43 expression at the acupoints is silenced

ZHENG Cui-hong*, HUANG Guang-ying, WANG Wei. * Institute of Integrated Traditional and Western Medicine, Tongji Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430030, China

Corresponding author: HUANG Guang-ying, Email: gyhuang@tjh.tjmu.edu.cn

【Abstract】Objective To investigate the influence of acupuncture on promoting rat blastocyst nidation with Cx43 expression at the acupoints silenced, and to relate Cx43 with acupuncture's effects. **Methods** Mated female rats were randomly divided into five groups: normal control, model, acupuncture, interference-control and interference. Mifepristone was used to induce a model of nidation disorder, and RNA interference technology was used to silence the expression of Cx43 at acupoints. P-Cx43-shRNA(1) was injected locally into the acupoints of rats in the interference group, and P-con-shRNA was injected in the interference-control group. Acupuncture was administered to the acupuncture, interference-control and interference groups for 7 days. On the 8th day of pregnancy, the quality of blastocysts, pregnancy rates, and the average amount of blastocysts in each group were observed. **Results** ①The mRNA and protein level of Cx43 at the zusanli (ST36) acupoints in the interference group were significantly lower than in the acupuncture group ($P \leq 0.05$, $P \leq 0.01$). There was no significant difference between the interference-control group and the acupuncture group. ②Compared with the normal control group, the quality of blastocysts in the model and interference groups was bad, and the amount was less. Their size was comparatively small, they were inhomogeneous, poorly distributed and had poor blood supply. The results improved in the acupuncture group and the interference-control group compared with the model group. ③The pregnancy rates in the normal control, model, acupuncture, interference-control and interference groups were 100%, 50%, 75%, 75%, and 50% respectively, but these differences were not statisti-

DOI:10.3760/cma.j.issn.0254-1424.2009.04.007

基金项目:国家自然科学基金重大研究计划资助项目(90209009),国家重点基础研究发展计划资助项目(2006CB504502)

作者单位:430030 武汉,华中科技大学同济医学院附属同济医院中西医结合研究所(郑翠红,黄光英),神经内科(王伟)

通信作者:黄光英, Email: gyhuang@tjh.tjmu.edu.cn

cally significant. ④The average amount of blastocysts in the model and interference groups was significantly less than in the normal group ($P \leq 0.01$). Compared with the acupuncture group, the average amount of blastocysts in the interference group was lower ($P \leq 0.05$). **Conclusion** Acupuncture can improve the quality and quantity of blastocysts in a rat model of nidation disorder. Local injection of Cx43 shRNA expression vector can silence the expression of Cx43 in acupoints and markedly influence acupuncture's effect. This demonstrated that Cx43 was involved in acupuncture's effects.

【Key words】 Cx43; Acupuncture; RNA interference; Nidation

近几年来,临床研究发现,在以体外受精-胚胎移植为中心的辅助生殖技术(assisted reproductive technology, ART)中联合应用针刺治疗能明显提高临床怀孕率^[1,2]。本课题组在前期研究中亦发现,针刺能显著改善胚泡着床障碍大鼠(米非司酮造模)的胚泡着床质量及其发育,能显著提高其平均着床胚泡数^[3],但针刺效应产生的机制、经穴信号传导的方式至今仍不清楚。

缝隙连接(gap junction, GJ)是动物细胞间普遍存在的亲水性低电阻通道,它允许分子量 < 1000 D 或直径 < 1.5 nm 的水溶性小分子和离子在细胞间直接传递^[4],使相邻细胞可以共享一些具有特殊功能的小分子物质,从而能够快速和可逆地促进相邻细胞对外界信号的协同反应。缝隙连接蛋白(connexin, Cx)是组成 GJ 的基本结构蛋白,尽管在 Cx 基因家族中有 20 多个成员,但组成人角质形成细胞间 GJ 的主要蛋白是 Cx43 和 Cx26^[5],且免疫组化结果显示, Cx43 在表皮角质形成细胞、皮脂腺、汗腺和毛发中均有表达,而 Cx26 仅在汗腺和毛发中有表达^[6]。本课题组以前的研究发现, Cx43 不仅在皮肤表皮组织中有表达,在真皮及皮下组织中的一些分散的肥大的细胞中亦有强表达,并且 Cx43 的表达与穴位、经脉存在一定的相关性^[7,8]。

为进一步研究 Cx43 与针刺效应之间的关系,本研究继续以米非司酮造成大鼠胚泡着床障碍模型,采用传统的针刺方法进行治疗,并应用 Cx43 基因特异性 shRNA 质粒表达载体来沉默针刺穴位局部 Cx43 的表达,观察对针刺效应的影响,从而探讨 Cx43 与针刺效应之间的相关性。

材料与方法

一、质粒的制备

Cx43 特异性 shRNA 真核表达载体由本实验室构建,并经体外实验证实 P-Cx43-shRNA(1)对 Cx43 基因有较好的基因沉默效果,对照质粒 P-con-shRNA 对 Cx43 的表达没有影响。P-Cx43-shRNA(1)质粒及对照质粒的大量制备采用杭州 V-gene 公司的质粒 DNA 中量快速制备法提取,具体按说明书方法操作。

二、实验动物及分组、注射及针刺处理

1. 实验动物及分组:清洁级健康成年雌性未孕 Wistar 大鼠 40 只,体重 210 ~ 230 g,清洁级健康成年雄性 Wistar 大鼠 20 只,体重 250 ~ 300 g,均由华中科技大学同济医学院实验动物中心提供。所有实验大鼠均统一喂养,每笼 4 ~ 5 只,白昼周期 12 h,房间温度保持在 $(22 \pm 2)^\circ\text{C}$ 。适应性喂养 1 周后,雌、雄大鼠以 2:1 的比例于下午 6:00 合笼,次日晨 8:00 时进行阴道涂片,显微镜下观察,以涂片中发现大量精虫者记为妊娠第 1 天。应用随机数字表将孕鼠 40 只完全随机化分为正常对照组、模型组(米非司酮)、针刺组(米非司酮 + 针刺)、干扰对照组(米非司酮 + 针刺 + P-con-shRNA)和干扰组(米非司酮 + 针刺 + P-Cx43-shRNA(1)),每组 8 只。

2. 注射及针刺处理:将米非司酮片剂研碎后悬浮于食用麻油溶液中配成浓度为 2 mg/ml 的米非司酮溶液。模型组、针刺组、干扰对照组、干扰组大鼠均按 5 mg/kg 体重的总量分两次于妊娠第 1 天及第 2 天上午 8:30 头颈部皮下注射米非司酮溶液,正常对照组则注射相应体积的油溶剂(食用麻油)。针刺组、干扰对照组、干扰组以自制布袋固定,剪毛暴露穴位,并做好标记。从妊娠开始每日下午予以针刺治疗,取双侧足三里、三阴交及太冲穴,毫针直刺或斜刺 0.2 ~ 0.7 cm (取穴位置及针刺深度均参照华兴邦等^[9]研制的大鼠穴位图谱及比较解剖学原理),每隔 10 min 捻针 1 次,每次捻针 30 s,频率约 2 Hz,手法为平补平泻捻转法,每穴每次总针刺时间 30 min,连续 7 d;模型组和正常对照组给予同样方法固定而不予针刺。干扰组于妊娠第 1 天、第 3 天、第 6 天上午 9:00 在双侧各针刺穴位局部均皮内皮下注射用灭菌 PBS 稀释的 P-Cx43-shRNA(1)质粒 20 mg,体积 100 ml;干扰对照组于妊娠第 1 天、第 3 天、第 6 天上午 9:00 在双侧各针刺穴位局部均皮内皮下注射 P-con-shRNA 质粒 20 mg,稀释方法同干扰组。

三、针刺效应的观察

针刺治疗 7 d 后,各组大鼠均于妊娠第 8 天下午 4:00 颈部脱臼处死,剖腹观察各组大鼠子宫血供情况及着床胚泡大小,记录各组大鼠妊娠情况及胚泡着床数目,然后取双侧标记的足三里穴位皮肤组织。左侧组织放于 10% 中性甲醛溶液中固定约 24 h 后,进行常

规石蜡包埋。右侧新鲜组织在液氮里速冻后 -80°C 保存,用作 RT-PCR 和免疫印迹实验。

四、针刺穴位处 Cx43 基因沉默效率的鉴定

分别从针刺组、干扰对照组、干扰组中各取 3 个石蜡组织标本,每一组织块连续切取 $3\text{ }\mu\text{m}$ 的组织切片 3 张,均作常规组织免疫荧光染色;石蜡切片常规脱腊至水后进行抗原修复;滴加 10% 牛血清白蛋白 (bovine serum albumin, BSA) 湿盒内室温孵育 40 min 封闭非特异性背景染色;滴加 Cx43 抗体 (ADI, USA) 工作液 (1:1000 稀释),湿盒内 4°C 过夜;滴加 1:200 稀释的异硫氰酸荧光素 (fluorescein isothiocyanate, FITC) 标记的二抗工作液 (用 1% BSA 稀释),避光湿盒内室温孵育 1 h;滴加碘化丙啶 (propidium iodide, PI) 染液复染 12~15 min;50% 甘油缓冲液封片,激光扫描共聚焦显微镜检测并拍照。FITC 和 PI 两种染料均由氩离子激光器 488 nm 激发,分辨率为 1024×1024 ,发射波长分别为 525 nm 和 610 nm。

对于免疫印迹实验,各组另取 3 个新鲜标本加入组织蛋白匀浆液进行匀浆 [匀浆液组成:25 mmol/L Tris, 1% 12-烷基磺酸钠 (sodium dodecyl sulfate, SDS), 5% 2-巯基乙醇 (2-mercaptoethanol, 2-ME), 10 mmol/L 乙二胺四乙酸 (ethylenediamine tetraacetic acid, EDTA), 2 mmol/L 苯甲基磺酰氟化物 (phenylmethyl sulfonyl fluoride, PMSF), 10 mg/L aprotinin, 10 mg/L leupeptin, 10 mg/L antipain, and 10 mg/L pepstatin, 8 mol/L urea] 后,离心取上清,用考马斯亮蓝法测总蛋白浓度;12% 的 SDS-PAGE 分离蛋白质,电转移法将蛋白质转移至硝酸纤维素膜上 (200 mA, 3.5 h),7% 的脱脂奶粉 (含 0.1% 的 Tween-20) 封闭 2 h,分别加入抗 Cx43 抗体 (1:1000)、抗 b-actin 抗体 (1:500), 4°C 孵育过夜;洗膜后加入相应种属的辣根过氧化物酶 (horseradish peroxidase, HRP) 标记的二抗 (1:5000, PIERCE),摇床上室温孵育 2 h;用增强化学发光法 (ECL 试剂盒) 显像曝光,采用激光扫描仪检测各条带的光密度。

另分别从针刺组、干扰对照组、干扰组中各取 3 个新鲜组织标本用于 RT-PCR 实验。应用 Trizol (Takara, Japan)、氯仿、异丙醇提取组织总 RNA。应用逆转录试剂盒及 taq DNA 多聚酶 (Fermentas) 逆转录合成 cDNA 第一链。Cx43 引物序列:5' GAG CCC ATC AAA AGA CTG CG 3' (up); 5'CTG GTT GTC GTC GGG GAA AT 3' (down) (265 bp)。内参 β -actin 引物:5' CAT CCT GCG TCT GGA CCT 3' (Up), 5' TCA GGA GGA GCA ATG ATC TTG 3' (down) (480 bp)。PCR 扩增条件: 95°C 变性 5 min 后,按 90°C 变性 50 s、 54°C 退火 50 s、 72°C 延伸 50 s,循环 30 次。用 1.5% 琼脂糖凝

胶电泳鉴定 PCR 产物,照相并进行灰度值分析,以目的产物/内参照的灰度值比值表示结果。

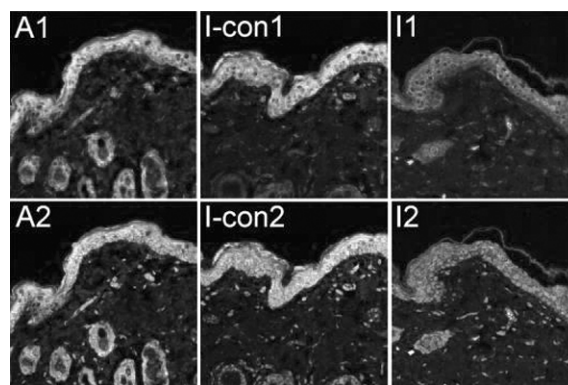
五、统计学分析

所有计量资料的实验数据以 $(\bar{x} \pm s)$ 表示,采用 SPSS 11.5 版统计软件进行统计学分析,经单因素方差分析后作各均数间的两两比较。各组间妊娠率的比较用 χ^2 检验。 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

结 果

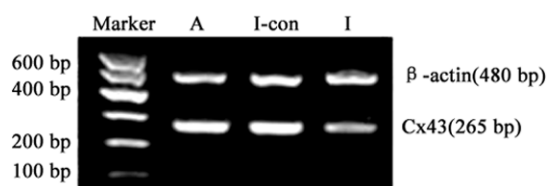
一、针刺穴位处 Cx43 基因沉默效率的鉴定

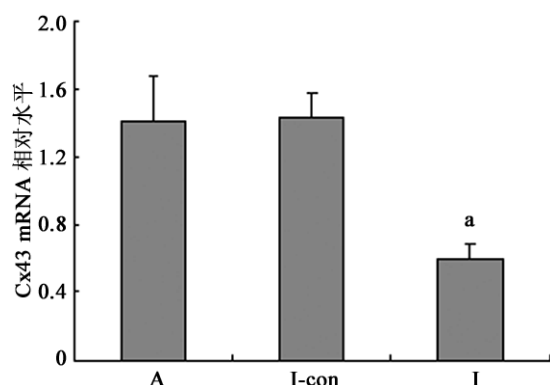
大鼠足三里免疫荧光组织化学染色结果显示,针刺组大鼠足三里皮肤组织中 Cx43 主要在表皮棘细胞层角质形成细胞的胞浆胞膜中表达;与针刺组相比,干扰对照组 Cx43 的表达未见明显变化,但干扰组代表 Cx43 表达的荧光强度较弱 (图 1)。RT-PCR 及琼脂糖凝胶电泳结果显示,干扰对照组足三里穴位处 Cx43 mRNA 水平与针刺组相比,差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。干扰组足三里穴位处 Cx43 mRNA 水平较针刺组降低了 57.4%,两者相比差异有统计学意义 ($P < 0.05$),见图 2。免疫印迹结果显示,干扰对照组足三里穴位处 Cx43 蛋白水平与针刺组相比,差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。干扰组足三里穴位处 Cx43 蛋白水平较针刺组相比降低了 47.0%,两者相比差异有统计学意义 ($P < 0.01$),见图 3。



注:A、I-con、I 分别代表针刺组、干扰对照组及干扰组;绿色荧光 FITC 代表 Cx43 的表达,红色为 PI 复染细胞核的颜色;A1~I1 为单通道 FITC 绿色荧光图像,A2~I2 为 FITC 绿色荧光及 PI 红色荧光的融合图像

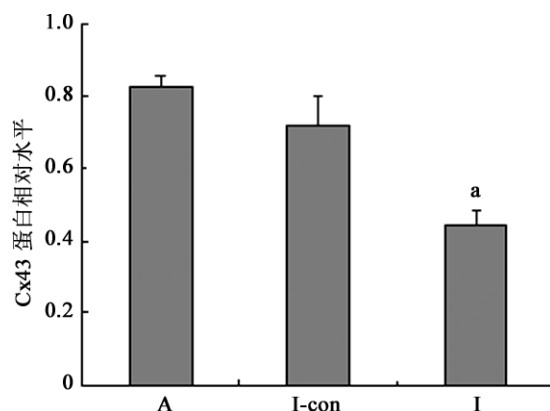
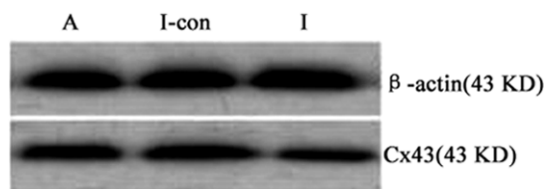
图 1 组织免疫荧光法检测各组足三里皮肤组织 Cx43 的表达 (免疫荧光染色, $\times 400$)





注: A、I-con、I 分别代表针刺组、干扰对照组、干扰组;与针刺组相比,^a $P < 0.05$

图 2 RT-PCR 及琼脂糖凝胶电泳检测各组大鼠足三里 Cx43 mRNA 水平

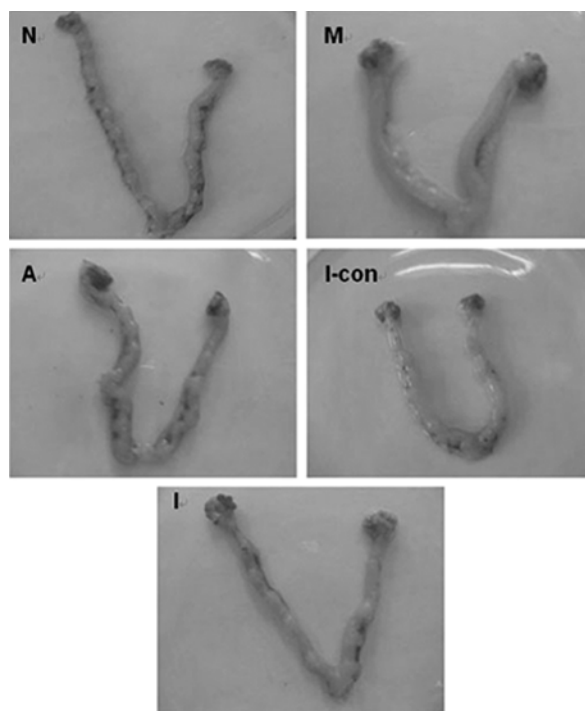


注: A、I-con、I 分别代表针刺组、干扰对照组、干扰组,与针刺组相比,^a $P < 0.01$

图 3 免疫印迹法检测各组大鼠足三里 Cx43 蛋白水平

二、各组大鼠子宫及胚胎发育情况的观察

正常妊娠组于第 8 天时可见大鼠子宫着床胚泡数较多,胚泡成串珠状隆起,胚泡大小一致且在子宫的两侧分布均匀;子宫血供丰富、充血。模型组妊娠子宫着床胚泡数较正常组少,着床胚泡质量差,胚泡明显较小,且大小不均一,分布不均匀,血供较差,有些部位隆起不明显,边界欠清,但颜色呈暗红色或褐色,为吸收胚胎;模型组中非妊娠子宫可见子宫颜色苍白,血供差,无膨大。针刺组及干扰对照组大鼠的胚泡着床情况较模型组有明显改善,胚泡大小一致,且分布较均匀,血供较好,与正常组相比没有明显的区别。而干扰组胚泡着床情况与模型组相似,胚泡着床的质量差,详见图 4。

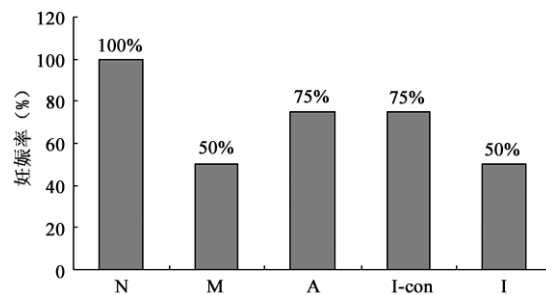


注: N、M、A、I-con 和 I 分别代表正常对照组、模型组、针刺组、干扰对照组、干扰组;正常对照组可见大鼠子宫着床胚泡数较多,胚泡成串珠状隆起,胚泡大小一致且在子宫的两侧分布均匀,子宫血供丰富;模型组子宫着床胚泡数较正常组少,着床胚泡质量差,胚泡明显较小,且大小不均一,分布不均匀,血供较差。针刺组及干扰对照组大鼠胚泡着床情况较模型组明显改善;而干扰组胚泡着床情况与模型组相似,胚泡着床质量差

图 4 各组大鼠子宫着床胚泡肉眼观

三、各组大鼠妊娠率及平均着床胚泡数的比较

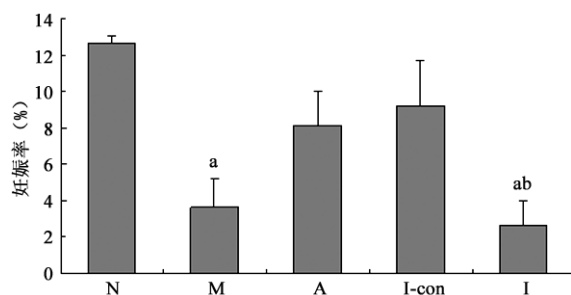
正常对照组、模型组、针刺组、干扰对照组、干扰组的妊娠率分别为 100% (8/8), 50% (4/8), 75% (6/8), 75% (6/8), 50% (4/8)。模型组、干扰组妊娠率与正常组相比有下降趋势,针刺组、干扰对照组妊娠率与模型组相比有增高趋势,但经 χ^2 检验分析,各组间的差异无统计学意义,见图 5。正常对照组、模型组、针刺组、干扰对照组、干扰组的平均着床胚泡数分别为 (12.62 ± 0.46) , (3.62 ± 1.53) , (8.12 ± 1.91) , $(9.25$



注: N、M、A、I-con 和 I 分别代表正常对照组、模型组、针刺组、干扰对照组、干扰组

图 5 各组妊娠率的比较

± 2.44), (2.62 ± 1.33)。比较各组大鼠平均着床胚泡数结果表明,模型组、干扰组平均着床胚泡数均较正常对照组低,差异具有统计学意义($P < 0.01$);与模型组相比,针刺组平均着床胚泡数有升高趋势,但差异无统计学意义($P > 0.05$);与针刺组相比,干扰组平均着床胚泡数较少,差异具有统计学意义($P < 0.05$),干扰对照组与针刺组相比,差异无统计学意义($P > 0.05$),见图 6。



注: N、M、A、I-con 和 I 分别代表正常对照组、模型组、针刺组、干扰对照组、干扰组;与正常对照组相比, $aP < 0.01$;与针刺组相比, $bP < 0.05$

图 6 各组平均着床胚泡数的比较

讨 论

近几年, RNA 干扰(RNA interference, RNAi)技术取得了惊人的发展,已成为大多数研究者沉默基因表达、研究基因功能的主要手段^[10]。siRNAs(small interfering RNAs, siRNAs)表达载体的使用大大地增加了 RNAi 的应用范围,与病毒载体相比,质粒载体还具有安全性好、无免疫原性、不限制载体容量、可大量制备、耗资较少等优点^[11]。目前,在哺乳类系统的应用,无论是离体细胞水平,还是在体动物水平均取得了可喜的成绩,即通过电穿孔、局部注射或静脉注射的方法已经能够成功地将化学合成的 siRNAs 或表达 siRNAs 的载体导入到哺乳动物细胞中,如经大鼠尾静脉快速高压注射可以将大量溶于生理盐水的 siRNA 有效地运送到肝细胞中^[12]。Song 等^[13]报道了一个更高的转染效率,并把它归功于 3 次重复的注射。在本研究中,尽管由于组织的自发荧光使我们未能观察到针刺穴位处的转染效率,但我们最终获得了针对 Cx43 的有效干扰效率,分析其成功原因可能也是与穴位处几次重复注射以及注射局部,尤其是皮内形成了较高压力有关。

着床是哺乳类动物生殖过程中的重要环节。小鼠的着床时间约发生在受精后第 4 天胚泡到达子宫的时候^[14],对大鼠而言第 5 天是着床最佳窗口,随后子宫将进入一个非接受性时期,不利于着床^[15]。在此过程中,雌激素和孕激素是胚泡植入和随后蜕膜化过程中两个必需的卵巢激素,并且雌激素是始发胚泡黏附所

必需的,孕激素则是在以上两过程中均需要的^[16]。米非司酮是一种孕激素受体拮抗剂,能竞争性地与孕激素受体结合,因此在黄体期胚泡着床前应用米非司酮可阻断孕激素发挥生理效应而干扰着床。本实验将米非司酮按 5 mg/kg 体重的总量分 2 次于妊娠第 1 天及第 2 天进行头颈部皮下注射可将妊娠第 8 天妊娠率控制在 50% 左右,与文献报道一致^[17]。

大量临床实践证明,针刺对机体生殖内分泌系统具有良好的双向调节作用。本研究所选择的穴位“三阴交”为足三阴经交会穴,有补三阴、调气血、益胞脉的功能;足三里为足阳明胃经之保健要穴,可以调补脾胃、扶正培元而益气血生化之源;“太冲”为足厥阴肝经之原穴,配三阴交以疏肝解郁、调理气血。三穴相配能达到培中土、滋肝肾、补冲任、益胞脉之功。我们的研究结果也表明,针刺以上穴位能显著改善胚泡着床障碍大鼠的胚泡着床质量及其发育,并有提高平均着床胚泡数的趋势,这与在辅助生殖技术中应用针刺治疗的结果相一致。

缝隙连接细胞间通讯(gap junctional intercellular communication, GJIC)是细胞间直接通讯的重要方式之一,在细胞的生长、多细胞器官间的协调性以及自稳调控中起重要作用。目前,电信号和机械刺激信号的传递也均归功于 GJIC。针刺运针时传递给组织一个机械性信号,在体内可被转换为生物电信号或化学信号,这些信号引起机体一系列的变化,如肌动蛋白聚合、信号转导通路激活以及细胞外基质组成的调整等^[18]。Jiang 等^[19]证明,分别由 Cx43、Cx46 构成的半通道对机械性刺激都很敏感,这有利于针刺给予机体的机械性刺激信号在体内转变为生物化学性或生物电信号。Swartz 等^[20]推测,这种由于机械性刺激引起的细胞外基质组成的变化可能是不同类型细胞间 GJIC 的一种形式。鉴于 Cx43 是大鼠皮肤中 GJ 的主要成分,并且 Cx43 与穴位之间存在一定的相关性,因此我们首次应用 RNA 干扰技术进一步研究了 Cx43 与针刺效应之间的关系。我们的研究结果提示,针刺这个机械性刺激可能激活了 GJ 通道,加强了细胞间的交流。而局部高压注射 Cx43shRNA 表达载体能有效地沉默穴位处 Cx43 的表达,并且 Cx43 表达的降低能显著地影响针刺促胚泡着床效应,说明 Cx43 在针刺效应中发挥着极其重要的作用。

参 考 文 献

- [1] Westergaard LG, Mao Q, Kroglund M, et al. Acupuncture on the day of embryo transfer significantly improves the reproductive outcome in infertile women: a prospective, randomized trial. *Fertil Steril*, 2006, 85:1341-1346.
- [2] Smith C, Coyle M, Norman RJ. Influence of acupuncture stimula-

- tion on pregnancy rates for women undergoing embryo transfer. *Fertil Steril*, 2006, 85: 1352-1358.
- [3] 刘新玉, 黄光英, 张明敏. 针刺改善大鼠胚泡着床障碍机制初探. *中国中西医结合杂志*, 2007, 27: 633-636.
- [4] Delmar M, Coombs W, Sorgen P, et al. Structural bases for the chemical regulation of Connexin 43 channels. *Cardiovasc Res*, 2004, 62:268-275.
- [5] Arita K, Akiyama M, Tsuji Y, et al. Changes in gap junction distribution and connexin expression pattern during human fetal skin development. *J Histochem Cytochem*, 2002, 50: 1493-1500.
- [6] Salomon D, Masgrau E, Vischer S, et al. Topography of mammalian connexins in human skin. *J Invest Dermatol*, 1994, 103: 240-247.
- [7] 郑翠红, 黄光英, 张明敏, 等. 缝隙连接蛋白 Cx43 在大鼠经脉线上表达的实验研究. *中国针灸*, 2005, 25: 629-632.
- [8] 黄光英, 郑翠红, 张明敏. 针刺对大鼠“足三里”穴缝隙连接蛋白 Cx43 表达的影响. *中国针灸*, 2005, 25: 565-568.
- [9] 华兴邦, 李辞蓉, 周浩良, 等. 大鼠穴位图谱的研制. *实验动物与动物实验*, 1991, 3:1-5.
- [10] Dykxhoorn DM, Novina CD, Sharp PA. Killing the messenger: short RNAs that silence gene expression. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2003, 4: 457-467.
- [11] Rautsi O, Lehmusvaara S, Salonen T, et al. Type I interferon response against viral and non-viral gene transfer in human tumor and primary cell lines. *J Gene Med*, 2007, 9:122-135.
- [12] Lewis DL, Hagstrom JE, Loomis AG, et al. Efficient delivery of siRNA for inhibition of gene expression in postnatal mice. *Nat Genet*, 2002, 32: 107-108.
- [13] Song E, Lee SK, Wang J, et al. RNA interference targeting Fas protects mice from fulminant hepatitis. *Nat Med*, 2003, 9: 347-351.
- [14] Paria BC, Reese J, Das SK, et al. Deciphering the cross-talk of implantation: advances and challenges. *Science*, 2002, 296: 2185-2188.
- [15] Psychoyos A. Uterine receptivity for nidation. *Ann NY Acad Sci*, 1986, 476:36-42.
- [16] Tessier C, Deb S, Prigent-Tessier A, et al. Estrogen receptors alpha and beta in rat decidua cells: cell-specific expression and differential regulation by steroid hormones and prolactin. *Endocrinology*, 2000, 141: 3842-3851.
- [17] 李晓艳, 胡伦颖, 高秉兰. 米非司酮对大鼠胚泡着床影响的研究. *湖北医科大学学报*, 1998, 19:351-353.
- [18] Langevin HM, Yandow JA. Relationship of acupuncture points and meridians to connective tissue planes. *Anat Rec*, 2002, 269: 257-265.
- [19] Jiang JX, Cherian PP. Hemichannels formed by connexin 43 play an important role in the release of prostaglandin E(2) by osteocytes in response to mechanical strain. *Cell Commun Adhes*, 2003, 10:259-264.
- [20] Swartz MA, Tschumperlin DJ, Kamm RD, et al. Mechanical stress is communicated between different cell types to elicit matrix remodeling. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2001, 98:6180-6185.

(修回日期:2008-09-18)

(本文编辑:松 明)

· 消息 ·

全国高等学校康复治疗专业第二届规范化教学及管理研讨会征文及会议通知

为了进一步优化课程设置、提高教学质量,现定于 2009 年在广州召开第二届研讨会,届时将邀请国际物理治疗师协会(WCPT)、国际作业治疗师联盟(WFOT)的主要负责人参会,并邀请香港、台湾从事康复治疗教育的专家介绍香港和台湾培养治疗师的模式。本次会议由中山大学附属第二医院承办,现将有关事项通知如下。

会议主题:优化课程设置,规范专业教学。会议时间:2009 年 8 月 7 日~10 日,7 日报到,10 日教学机构探访。会议地点:广州市沿江东路湖滨宾馆。会议参加人员:各省高等学校康复治疗专业教学管理人员、授课老师,各大教学医院康复科医生、治疗师等带教老师。会议主要内容:WCPT 和 WFOT 对物理治疗师(PT)和作业治疗师(OT)的基本要求及发展趋势,香港、台湾 PT 和 OT 的培训模式及经验,国内康复治疗专业课程设置、教学大纲及教材建设和教学管理经验交流。会务费:700 元(含资料费),交通费、住宿费自理。征文内容:与康复治疗专业教育有关的教学及临床实习方面的研究或经验交流,包括:康复治疗专业的课程设置及其教学大纲;康复治疗专业的授课经验及实习管理;康复治疗专业的师资培训等。文章按照杂志论文的要求和格式,字数限 4000 字以内。稿件优秀者向全国性杂志推荐发表。征文截止日期:2009 年 6 月 30 日,以电子邮件方式投稿,分别发送到:rehab2ndhosp_sy-sugz@126.com, dmjin@126.com, 电话/传真:020-81332880, 洪老师。

卫生部教材办公室 全国高等学校教材建设委员会
全国高等学校康复治疗专业教材编写委员会