

· 基础研究 ·

大鼠背根神经节机械敏感性离子通道的生物物理学性质

岳寿伟 张杨 万子兵 隋建峰

【摘要】 目的 探讨新生大鼠背根神经节(DRG)的机械敏感性离子通道(MS通道)生物物理学性质。**方法** 取出新生大鼠DRG细胞,培养2~4 d后,应用细胞贴附式和内面向外式膜片钳技术对细胞膜上的MS通道电流进行记录,对通道生物物理学性质,如压力-电流关系、电位-电流关系、动力学和离子选择性等进行了分析。采用的机械刺激方式为负压抽吸。**结果** 压力可引起大鼠背根神经节上的机械敏感性非选择性阳离子通道开放,压力恒定时,电流恒定;去除压力,电流回到基线水平。在平衡溶液中,通道的电位-电流关系近似为直线。在膜电位为正值时,通道电流表现为外向电流,同时表现出外向整流特性, +40 ~ +60 mV 电流的弦电导为 $(96.2 \pm 3.6) \text{ pS}$;当膜电位为负值时,通道电流表现为内向电流, -60 ~ 0 mV 斜率电导为 $(62.5 \pm 0.4) \text{ pS}$ 。通道的平均逆转电位为 $(-2.3 \pm 0.8) \text{ mV}$ 。通道的动力学分析表明压力可使短开放时间和长开放时间都明显升高,长关闭时间明显减少,而短关闭时间变化不大。**结论** 分析了大鼠DRG神经元细胞膜上的MS通道的生物物理学性质,有助于进一步了解大鼠背根神经节神经元细胞电活动的机制。

【关键词】 机械敏感性离子通道; 背根神经节; 膜片钳; 大鼠; 电生理

Study of biophysical properties of mechanosensitive channels in cultured dorsal root ganglion neurons of neonatal rats YUE Shou-wei*, ZHANG Yang, WAN Zi-bing, SUI Jian-feng. * Department of Rehabilitation Medicine, Qilu Hospital, Shandong University, Ji'nan 250012, China

【Abstract】 Objective To investigate the biophysical properties of mechanosensitive (MS) channels in cultured dorsal root ganglion neurons of neonatal rats. **Methods** MS channels current of cultured dorsal root ganglion neurons of neonatal rats were recorded using cell-attached and inside-out patch-clamp technique. The biophysical properties such as pressure response relationship, current voltage relationship, channel kinetics and ion selectivity were analyzed. Membrane stretch was achieved by the application of negative pressure (suction) to a patch-clamp electrode. **Results** One type of MS non-selective cation ion channels in the membrane patches tested in cultured dorsal root ganglion neurons of neonatal rats were recorded. Those channels were activated rapidly when suction was applied, and kept active during sustained application of negative pressure and quickly turned off when the suction was released. The MS channels exhibited a nearly linear current voltage relationship in the balance solution. The outward chord conductance was $(96.2 \pm 3.6) \text{ pS}$ (mV is between +40 mV and +60 mV) and the inward slope conductance was $(62.5 \pm 0.4) \text{ pS}$ (mV is between -60 mV and 0 mV). This kind of channels appeared to be outward rectifier. The average reversal potential was $(-2.3 \pm 0.8) \text{ mV}$. The channel kinetics analysis indicated that suction could significantly increase the duration of short-openings and long-openings and decrease that of long-closings, with no effects on short-closings. **Conclusion** The results of this study could serve as a reference to the understanding of electric activity of DRG neurons.

【Key words】 Mechanosensitive channels; Dorsal root ganglion neurons; Patch-clamp; Rats; Electrophysiology

生物体对机械刺激产生反应和适应的能力在许多生理现象中起重要作用,例如体液平衡和血压、细胞体积和形状调控、细胞移动、组织生长和形态发生等^[1]。当活细胞和有机体受到环境中的机械刺激时,机械信号随即转化成生物信号,使细胞作出反应,此过程被称

为机械转导。机械信号的转导有多种途径,在此过程中,机械敏感性离子通道(mechanosensitive channel, MS通道)起了很重要作用。机械敏感性离子通道是一类随细胞膜张力变化通道开放概率呈现相应变化的离子通道。当机械-电信号进行转换时,施加在分子膜上的机械力量信号就转换成电信号或生化信号。背根神经节(dorsal root ganglion, DRG)是躯体感觉初级传入神经元细胞体的聚集处,细胞膜上有多种离子通道,参与感觉信号的传递。我们采用膜片钳技术对新生大

基金项目:国家自然科学基金资助课题(No. 30472006)

作者单位:250012 济南,山东大学齐鲁医院康复医学科(岳寿伟、张杨);第三军医大学生理学教研室(万子兵、隋建峰)

鼠 DRG 神经元细胞膜上的 MS 通道进行了研究,分析了通道的生物物理学特性,对于进一步了解大鼠背根神经节神经元细胞电活动的机制,为临床治疗相关的神经疾病提供依据,具有一定的理论意义。

材料与方法

一、材料与试剂

清洁级新生 SD 大鼠,雌雄不拘,由第三军医大学实验动物中心提供。乙二醇-双-(2-氨基乙基)四乙酸(ethylene glycol-bis(β -amino-lether)-N, N', N'-teraacetic acid, EGTA)、N-2-羟乙基哌嗪-N'-2-乙磺酸(N-2-hydroxyethyl piperazine-N'-2-ethanesulfonic acid, HEPES)、L-多聚赖氨酸和神经生长因子(neuro growth factor, NGF)为美国 Sigma 公司产品, Dulbecco 改良 MEM 培养液(dulbecco's modified eagle's medium, DMEM)/F12 培养基及胎牛血清为 Hyclone 公司产,兔抗鼠神经元特异性烯醇化酶(neuro-specific enolase, NSE)购自北京中山公司, SABC 免疫组化试剂盒(即用型)购自博士德公司。其余无机盐均为国产分析纯产品。

(一) 试剂

单通道记录时,正常的电极液和浴液的浓度都为:140 mmol/L NaCl, 5 mmol/L KCl, 2 mmol/L $MgCl_2$, 5 mmol/L EGTA, 10 mmol/L HEPES, pH 为 7.2 (NaOH 调节), 甘露醇调节渗透压至 320 mOsmol/L。测量阴离子选择性时用 140 mmol/L 的 NaGlu 和 70 mmol/L 的 Na_2SO_4 代替溶液中的 NaCl。测量阳离子选择性时分别用 K^+ 、 Li^+ 取代溶液中的 Na^+ , 或者 100 mmol/L 的 Ca^{2+} 和 140 mmol/L 的 N-甲基-D-葡萄糖胺代替电极液中的 Na^+ 。盐桥的制备采用高浓度钾溶液:1 mol/L 的 KCl, 1 g/L 的琼脂, pH 为 7.4。

(二) 仪器设备

微电极控制器(PP-83, 日本成茂)、膜片钳放大器(华中科大仪博生命科学仪器有限公司 PC2C)、倒置显微镜(重庆光学仪器厂)、微电极操纵器(SM-21, 日本成茂)、数/模转换器(Digidata1200, 美国)、pCLAMP 9.0 软件(美国 Axon)。

二、细胞培养

取新生 SD 大鼠。先用酒精棉球消毒鼠全身,再用眼科剪剪开椎管,在解剖显微镜下用显微镊子取出胸腰所有节段的 DRG,放入加 DMEM/F12 培养液的小烧杯中(烧杯尽量置于冰袋上)。吸出 DMEM/F12,加入 1.25 mg/ml 的胰酶 1 ml,混匀后置于 37℃ CO_2 培养箱中消化 15 min。加入含有 5% 血清的 DMEM/F12 2 ml,终止消化后,用吸管反复吹打数次至液体变混。1 200 r/min 离心 15 min 后,弃去上清液,加入 DMEM/

F12,重新吹打分散细胞。将混均的液体滴至培养皿中事先经 L-多聚赖氨酸(10%)处理的盖玻片上,置于 CO_2 培养箱中,5 h 后加满含 15% 胎牛血清、100 μ m 青-链霉素、50 ng/ml NGF 的 DMEM/F12 培养液,再放入 CO_2 培养箱中,37℃ 孵育 4 d 后进行实验,2 d 换 1 次培养液。

三、背根神经节细胞的鉴定

分别采用光镜检查细胞形态,台盼蓝拒染试验鉴定细胞活性, NSE 染色。4% 多聚甲醛固定,4℃ 固定 > 2 h, 0.01 mol/L PBS 清洗 3 次,每次 5 min;滴加 10% 山羊血清在盖玻片上,37℃ 孵育 30 min;加入 1:200 兔抗鼠 NSE 抗体,每片 50 μ l,于 4℃ 冰箱过夜;PBS 清洗后将 1:200 生物素化山羊抗兔 IgG 滴加在盖玻片上,37℃ 孵育 1 h;PBS 清洗后滴加 2.5% 硫酸镍胺溶解的 ABC 复合物,以 DAB 显色,酒精脱水,二甲苯透明,树胶封片。阳性者染蓝黑色,普通显微镜下计数染色阳性神经元数目。

四、实验单通道记录

选用胞体光滑、折光性好,细胞直径在 7 ~ 50 μ m 的圆形细胞进行膜片钳的单通道记录,采用标准的膜片钳单通道封接技术^[2]。玻璃微电极采用外径 1.5 mm sutter instrument 玻璃微吸管,经 2 次拉制成锥度约 20°、尖端开口直径约 1 μ m 的微电极,再经热抛光。电极充灌液充灌后的微电极电阻值为 3 ~ 8 M Ω ,内插入乏极化氯化银电极与膜片钳放大器探头相连。在倒置显微镜监视下,调节微操纵器使电极与细胞之间形成高阻抗封接,形成细胞贴附式和内面向外式记录,调节串联电阻和补偿电容。通常置钳制电位于 -60 mV,以 gap-free 连续采样,所得资料通过 PC2Clamp 记录软件输入计算机储存。封接阻抗为 2 ~ 6 G Ω ,串连电阻在 20 M Ω 以下,液结电位低于 10 mV。实验过程中向灌流槽中通以混合气饱和的细胞外液灌洗,调节流速约 2 ml/min,使槽内液体 1 min 内完全更新。实验在室温下 20 ~ 22℃ 进行。

机械刺激的施加:在电极固定器上,通过三通管与一个玻璃针管相连,通过拔活塞可对细胞产生负压。使用水银压力器来记录所施加负压的大小^[3]。

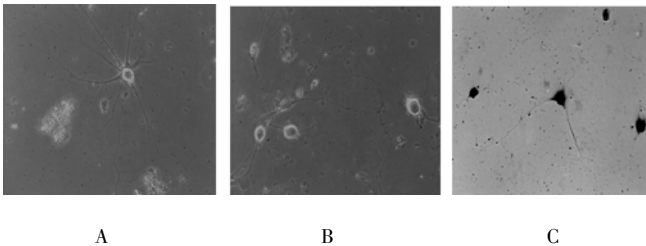
五、统计学分析

实验数据处理用 pCLAMP9.0 软件包中 Clampfit 程序进行。拟合采用高斯拟和与指数方程拟合。使用 SPSS 10.0 软件进行分析,数据以($\bar{x} \pm s$)表示,采用单因素方差(One-Way ANOVA)比较组间差异, $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

结 果

一、大鼠背根神经节细胞的鉴定

接种时 DRG 细胞为小球形,培养 6~12 h 后贴壁并长出几微米突起。贴壁的神经元继续生长,突起增多、伸长。培养 2~3 d 时神经元之间开始形成网络。神经元胞体呈圆形、椭圆形和多角形,以圆形居多,胞体大,折光性强,并伸出较长突起,核仁 1~4 个不等。详见图 1。台盼蓝拒染实验显示 >90% 的细胞有活性。



注:A 和 B 为培养 4 d 的典型 DRG 神经元和神经元之间形成的网络;C 为培养 4 d 的 DRG 细胞 NSE 染色后,阳性细胞为蓝黑色,可见伸出的突起及细胞间的纤维联系($\times 200$)

图 1 培养中典型的神经元和神经元之间形成的网络及鉴定

二、单通道电流的性质

(一) 压力-电流关系

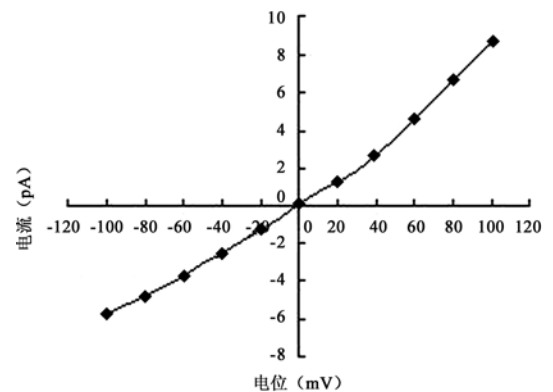
形成细胞贴附式,钳制膜电位为 -60 mV,在未施加负压时,通道的自发性开放很少。逐渐增大所施负压的值,当负压为 $-12 \sim -15$ mmHg ($1 \text{ mmHg} = 0.133 \text{ kPa}$) 时,开始出现内向电流。最大负压约为 -50 mmHg。压力再加大,细胞膜就被破坏掉了, $P_{1/2} = -37$ mmHg (half-maximal pressures)。压力恒定时,电流恒定;去除负压,电流回到基线水平。在施加负压的 30 s 内,电流无明显衰减趋势。同一电位下,随压力的增大,通道活性也增大,但电流的幅度不变。通道的开放概率(open probability, NPo)是指在某一钳制电位下,通道的总开放时间占通道持续去极化或超极化过程的比值。钳制膜电位为 -60 mV 时的平均幅度为 $(-3.40 \pm 0.13) \text{ pA}$ ($n = 25$),平均 NPo 为 0.448 ± 0.125 ($n = 35$)。

(二) 电位-电流关系

形成内面向外式,在持续施加 -40 mmHg 的负压 300 ms,内膜电位变化为 $-100 \sim +100$ mV,以 20 mV 为单位进行阶跃。以 V_m 值为横轴,相应的电流幅度为纵轴作图,可得一近似直线,直线的斜率即为电导值(图 2)。在膜电位为正值时,通道电流表现为外向电流,同时表现出外向整流特性, $+40 \sim +60$ mV 时电流的弦电导为 $(96.2 \pm 3.6) \text{ pS}$ 。当膜电位为负值时,通道电流表现为内向电流,内向电流 $-60 \sim 0$ mV 的斜率电导为 $(62.5 \pm 0.4) \text{ pS}$ ($n = 25$)。当电流振幅为 0 时的电位,为逆转电位(Erev)。在平衡溶液中的平均 $E_{rev} = -2.3 \pm 0.8 \text{ mV}$ ($n = 25$),符合此状态下的 Nernst 方程。

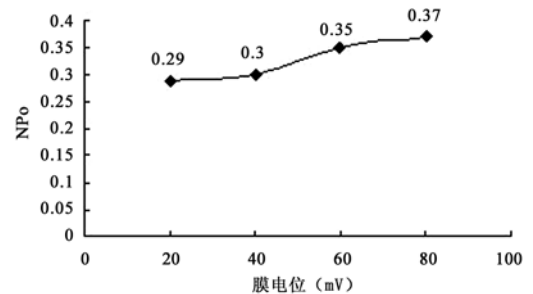
随电压的增大,电流也增大。且当膜去极化时,通

道的开放概率有所增大,在大气压下的自发性开放的概率也增大,但并不呈现明显的电压依赖性(图 3, $P > 0.05$, $n = 15$)。



注:平衡溶液中,内面向外式结构,压力为 -40 mmHg,膜电位变化 $-100 \sim +100$ mV

图 2 DRG 神经元的电位-电流曲线

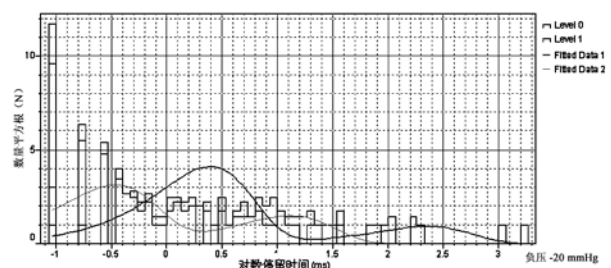


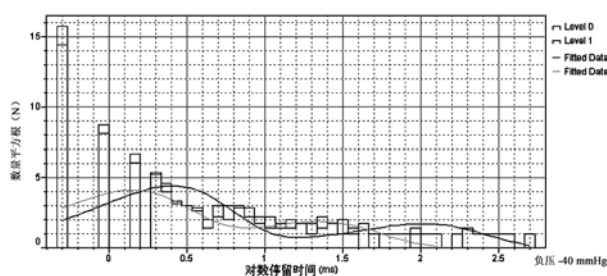
注:内面向外式结构,压力为 -40 mmHg,不同膜电位下,DRG 神经元 MS 通道的开放概率相似($P > 0.05$)

图 3 膜去极化对开放概率的影响

(三) 通道动力学

通道的开放时间长短不一,短的小于 1 ms,长的大于 10 ms,开放时间分布直方图呈指数状。通道的关闭时间差异也很大,有短于 1 ms 的闪烁样关闭,也有长达数百 ms 的长时程关闭。对 26 例膜片进行动力学分析表明,与 -20 mmHg 压力下的时间常数相比, -40 mmHg 压力下的短开放时间和长开放时间都明显升高($P < 0.05$),长关闭时间明显减少($P < 0.05$),而短关闭时间变化不大($P > 0.05$)(图 4)。可见压力是通过增加开放时间和减少长关闭时间来增加通道的活性的。





注:当负压为 -20 mmHg 时,双指数拟合的两个开放常数分别为 (1.3376 ± 0.2481) ms 和 (13.0002 ± 0.4679) ms,关闭常数分别为 (2.4595 ± 0.1769) ms 和 (23.3234 ± 0.7972) ms。当负压为 -40 mmHg 时,短开放时间和长开放时间都明显增加,分别变为 (1.7466 ± 0.3407) ms 和 (17.92 ± 0.6103) ms。此时的短关闭时间变化不大,变为 (2.2661 ± 0.2534) ms,而长关闭时间明显减少,为 (14.0712 ± 0.1653) ms

图 4 内面向外式结构,当膜电位为 -60 mV,负压为 -20 mmHg 和 -40 mmHg 时 MS 通道开放、关闭时间分布直方图及其拟合曲线

(四)通道的离子选择性

形成内面向外式结构,电极液中用 140 mmol/L N-甲基-D-葡萄糖胺代替 Na^+ ,压力为 -50 mmHg 时,膜电位为负值时,测不到内向电流,说明通道不能通过大分子有机物(图 5A)。

在双离子溶液中,用 140 mmol/L 的 K^+ 、 Li^+ 分别取代溶液中的 Na^+ ,电极液仍为原成分。用 100 mmol/L 的 Ca^{2+} 取代电极液中的 Na^+ ,溶液为原成分。在各种电位下,测量内面向外式的膜片的电流幅度,通过 I-V 曲线确定逆转电位,来确定对阳离子的选择性。用 140 mmol/L 的 NaGlu 和 70 mmol/L 的 Na_2SO_4 代替溶液中的 NaCl,来确定对阴离子的通透性。相对通透性用 Goldman-Hodgkin-Katz 公式来计算。

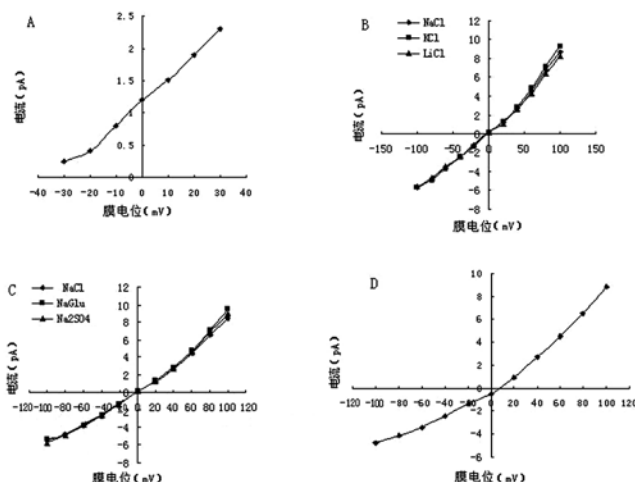
$$P_{\text{K}}/P_{\text{Na}} = \frac{[\text{Na}^+]_{\text{pipette}} - [\text{Na}^+]_{\text{bath}} \exp\{-E_{\text{rev}}/(RT/ZF)\}}{[\text{K}^+]_{\text{bath}} \exp\{-E_{\text{rev}}/(RT/ZF)\} - [\text{K}^+]_{\text{pipette}}}$$

其中 E_{rev} 是内面向外式时的逆转电位, P_{K} 、 P_{Na} 分别指 K^+ 和 Na^+ 的渗透性, R 是通用气体常数, T 是绝对温度, F 是 Farady 常数, Z 为离子的化学价。结果如表 1 所示。

表 1 机械敏感性离子通道的离子选择性

项 目	$P_{\text{K}}/P_{\text{Na}}$	$P_{\text{Li}}/P_{\text{Na}}$	$P_{\text{Ca}^{2+}}/P_{\text{Na}^{+}}$
逆转电位 (mV)	-2.70	-1.70	13.12
通透率比值	0.93	0.97	0.84

用 K^+ 、 Li^+ 、 Ca^{2+} 取代 Na^+ 后未改变通道的逆转电位,各种离子的相对通透率相似,说明本研究得到的通道为非选择性阳离子通道(图 5B、D)。而当改变溶液中阴离子成分为谷氨酸、 SO_4^{2-} 时,通道电流的性质没有发生变化,说明通道对阴离子没有通透性或者对阴离子没有选择性,但显然后者的可能性很小(图 5C)。



注:A 电极液中用 140 mmol/L N-甲基-D-葡萄糖胺代替 Na^+ ; B 用 140 mmol/L K^+ 、 Li^+ 分别取代溶液中的 Na^+ ; C 用 140 mmol/L NaGlu 和 70 mmol/L Na_2SO_4 代替溶液中的 NaCl; D 用 100 mmol/L Ca^{2+} 取代电极液中的 Na^+

图 5 内面向外结构,压力为 -50 mmHg,双离子溶液中,离子替代后的 I-V 曲线

讨 论

本研究运用膜片钳技术记录了大鼠 DRG 神经元细胞膜上的 MS 通道的电导、离子选择性、通道动力学等生物物理学性质。因为压力可重复、可逆的激活此电流,在离开细胞的膜片也可以产生 MS 电流,而此时膜片已不能受到细胞中的第二信使系统的调节,而且通道电流的产生没有时间上的延迟,所以 MS 电流是直接被机械刺激激活的。通道对阳离子的相对通透性相似,对阴离子无通透性,且在平衡盐溶液中的逆转电位接近 0 mV,故为一种非选择性阳离子通道。本研究得到的结果与 Cho 等^[5] 人研究得到的低阈值 MS 通道相似,但本研究的压力阈值更低,施加负压的差别可能是由于所使用的仪器的差别。

本研究中,作用在膜上的压力是引起通道开放的诱因。正压和负压都可以引起 MS 通道的开放^[6]。但由于正压易于破坏膜片的封接,所以本研究使用的是负压刺激。压力介导的膜张力(T)可通过 Laplace's 公式计算^[7]。 $T = Pr/2$ 。 P 为膜上的压力, r 为膜片半径。但形成封接后,电极内的膜片比正常细胞膜平滑,其半径要大得多,所以不能精确估算出实际膜上产生的张力。而且,膜为脂质双分子层,并且与其下的细胞骨架相连接,并不能认为是单纯通过膜上的张力引起通道开放的。

通道的开放和关闭时间都可使用二次指数拟合,说明通道的开放和关闭时间都呈现两种状态:快速的短暂开放/关闭和长时程开放/通道活动静息期。通道的动力学分析显示压力可使短开放时间和长开放时间

都明显升高,长关闭时间明显减少,而短关闭时间变化不大。而且我们前面的研究也显示如果破坏细胞骨架,就可破坏 MS 的机械敏感性,因此,我们可以设想 MS 通道的门控机制符合栓系模型。该模型认为,MS 通道嵌入细胞膜中与细胞内细胞骨架和细胞外基质成分紧密相连。这种锚定作为门控弹簧,可提供开放通道所需的张力^[8]。机械力通过细胞骨架和细胞外基质直接传给通道,而不需要增加脂质双分子膜上的张力。MS 通道由多个亚基组成,有的组成通道蛋白,有的组成通道蛋白与细胞骨架或细胞外基质之间的连接蛋白。当压力作用于细胞膜时,连接蛋白将机械刺激传递到通道蛋白,通道开放,产生电流。而连接蛋白由于自身的弹性会自动回缩,所以通道暂时关闭。如果机械刺激持续存在,连接蛋白会继续传递机械信号,通道再次开放。当压力较大时,连接蛋白回缩的频率会减少,持续的时间会缩短,所以通道的开放时间会延长,关闭时间会缩短。

DRG 神经元是初级感觉传入神经元,感觉信息在 DRG 神经元的神经纤维末梢形成,经过 DRG 神经元胞体向上级神经元传递。当椎间盘突出、椎管狭窄等因素引起 DRG 直接受压,或者由于周围组织的粘连、水肿等间接压迫 DRG 时,MS 通道开放,神经兴奋性升高,产生电流,并通过电压依赖性的钠通道沿轴突传递。而且,DRG 神经元的结构和解剖位置特殊,神经外膜不发达,缓解外部压力的作用差。同时此处的血液供应丰富,易受压迫,出现内膜下水肿,更容易刺激 MS 通道的开放,产生电兴奋,参与痛觉信号的传递。

总之,我们使用膜片钳技术较系统的研究了大鼠 DRG 神经元细胞膜 MS 通道的生物物理学性质,为进一步探讨 DRG 受压导致的根性神经痛提供了理论依据。

参 考 文 献

- 1 Huang H, Kamm RD, Lee RT. Cell mechanics and mechanotransduction: pathways, probes, and physiology. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2004, 287: C1-C11.
- 2 Hamill OP, Mary A, Neher E, et al. Improved patch-clamp techniques for high-resolution current recording from cells and cell-free membrane patches. *Pflüger Arch*, 1981, 391: 85-100.
- 3 SU X, Wachtel RE, Gebhar GF. Mechanosensitive potassium channels in rat colon sensory neurons. *Neurophysiology*, 2000, 84: 836-843.
- 4 Chang D, Dawson D. Calcium activates basolateral conductances for K and Cl in digitonin-permeabilized colonic epithelial cells (Abstract). *Federation Proc*, 1986, 45: 512.
- 5 Cho H, Shin J, Shin CY, et al. Mechanosensitive ion channels in cultured sensory neurons of neonatal rats. *Neuroscience*, 2002, 22: 1238-1247.
- 6 Takahashi A, Gotoh H. Mechanosensitive whole-cell currents in cultured rat somatosensory neurons. *Brain Res*, 2000, 869: 225-230.
- 7 Guharay F, Sachs F. Stretch-activated single ion channel currents in tissue-cultured embryonic chick skeletal muscle. *J Physiol (Lond)*, 1984, 352: 685-701.
- 8 Alenghat FJ, Ingber DE. Mechanotransduction: all signals point to cytoskeleton, matrix and integrins. *Sci STKE*, 2002, 2002: PE6.

(修回日期:2005-12-20)

(本文编辑:熊芝兰)

· 消息 ·

关于召开全国医药学术交流会 暨临床药理学研究进展学术研讨会的通知

为引导医药学工作者及时了解国内外医药学的最新动态,准确掌握新药信息及合理使用新药,经中国药理学学会研究,拟定于 2006 年 8 月中旬在乌鲁木齐市召开全国医药学术交流会暨临床药理学研究进展学术研讨会,会议主题为“了解新药动态,倡导科学用药”。会议由中国药理学学会主持,华中科技大学同济医学院临床药理研究所和《医药导报》杂志社共同承办,参加者可获国家级 I 类继续教育学分 10 分,并颁发论文证书。会议期间将邀请国内知名医药学专家作专题讲座。现将会议有关事宜通知如下。

会议内容包括:①抗心力衰竭药物的临床应用研究进展;②新药的临床合理应用;③药物不良反应监测与基础研究;④代谢性药物相互作用;⑤调血脂药物的临床应用研究进展;⑥抗高血压药物的临床应用研究进展;⑦维吾尔药物的发展历史与现状。会议期间进行论文交流,经考试合格后颁发结业证书。

本次会议征文内容为:①抗肿瘤药物研究进展及其给药方法与合理利用;②生物制品的开发与研究进展;③疫苗的流通管理与合理使用;④抗病毒药物研究进展与合理使用;⑤中药、天然药物的研究、筛选与应用;⑥心脑血管药物的研究与开发进展;⑦新上市抗生素的应用与疗效评价;⑧其它有关药学的热点问题等。未公开发表且符合上述内容要求的论文均可参加本次会议征文,字数请控制在 4 000 字以内,综述不超过 5 000 字。论文截止日期:2006 年 4 月 30 日,论文请邮寄至《医药导报》编辑部或发电子邮件,并注明“会议征文”字样,来稿一律不退,请自留底稿。会议详细报到时间、地点另行通知。

联系地址:430030 武汉市航空路 1 号《医药导报》杂志社;电话:027-83643083,83666619;E-mail:y198203@public.wh.hb.cn。

中国药理学学会、《医药导报》杂志社