

# 9L/F344 大鼠脑肿瘤干细胞颅内肿瘤模型的建立

肖宗宇 陈晓娟 徐如祥

**【摘要】** 目的 建立稳定的 9L/F344 大鼠脑肿瘤干细胞颅内肿瘤模型。方法 采用无血清悬浮培养法培养大鼠 9L 胶质瘤细胞,立体定向法于近交系 F344 大鼠右侧尾状核分别接种 9L 胶质瘤细胞和 9L 肿瘤球细胞,观察大鼠存活状态,免疫组织化学染色检测肿瘤细胞 CD133 和巢蛋白表达变化。结果 9L 胶质瘤细胞在无血清培养基中呈悬浮生长,形成的悬浮肿瘤细胞球表达 CD133 和巢蛋白。9L 胶质瘤细胞组和 9L 肿瘤细胞球组大鼠肿瘤均呈浸润性生长、无明显包膜;后者肿瘤内新生血管更丰富,出血性坏死更明显。两组肿瘤细胞均表达 CD133 和巢蛋白,且组间差异无统计学意义(均  $P > 0.05$ ),但 9L 肿瘤细胞组细胞更具侵袭性。接种 9L 肿瘤球细胞的大鼠中位存活期为 15 d(95%CI: 15.219 ~ 15.781),明显短于接种 9L 胶质瘤细胞大鼠的 21 d(95%CI: 20.395 ~ 21.605;  $\chi^2 = 12.800, P = 0.000$ )。结论 9L/F344 大鼠脑肿瘤干细胞颅内肿瘤模型的成功建立,为进一步研究脑肿瘤干细胞提供了实验基础。

**【关键词】** 神经胶质瘤; 肿瘤干细胞; 免疫组织化学; 细胞,培养的; 疾病模型,动物

## Establishment of 9L/F344 rat intracerebral glioma model of brain tumor stem cells

XIAO Zong-yu<sup>1</sup>, CHEN Xiao-juan<sup>2</sup>, XU Ru-xiang<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Department of Neurosurgery, Qinghai University Affiliated Hospital, Xi'ning 810000, Qinghai, China

<sup>2</sup>Department of Neurology, Qinghai Provincial People's Hospital, Xi'ning 810007, Qinghai, China

<sup>3</sup>Department of Neurosurgery, Affiliated Bayi Brain Hospital of General Hospital of Beijing Military Command, Beijing 100010, China

Corresponding author: XIAO Zong-yu (Email: xiaozongyu@hotmail.com)

**【Abstract】 Objective** To establish the 9L/F344 rat intracerebral glioma model of brain tumor stem cells. **Methods** Rat 9L gliosarcoma stem-like cells were cultured in serum-free suspension. The expression of CD133 and nestin were tested by immunohistochemistry. A total of 48 inbredline male F344 rats were randomly divided into 2 groups, and 9L tumor sphere cells and 9L monolayer cells were respectively implanted into the right caudate nucleus of F344 rats in 2 groups. Survival time was observed and determined using the method of Kaplan-Meier survival analysis. Fourteen days after implantation or when the rats were dying, their brains were perfused and sectioned for HE staining, and CD133 and nestin were detected by immunohistochemistry. **Results** Rat 9L tumor spheres were formed with suspension culture in serum-free medium. The gliomas formed in both groups were invasive without obvious capsule. More new vessels, bleeding and necrosis could be detected in 9L tumor spheres group. The tumor cells in both groups were positive for CD133 and nestin. There was no significant difference in the expression of CD133 and nestin between 2 groups ( $P > 0.05$ , for all). According to the expression of nestin, the tumors formed by 9L tumor sphere cells were more invasive. The median survival time of the rats bearing 9L tumor sphere cells was 15 d (95%CI: 15.219–15.781), and the median survival time of the rats bearing 9L monolayer cells was 21 d (95%CI: 20.395–21.605). There was significant difference between 2 groups ( $\chi^2 = 12.800, P = 0.000$ ). **Conclusions** 9L/F344 rat intracerebral glioma model of brain tumor stem cells is successfully established, which provides a glioma model for the future research.

**【Key words】** Glioma; Neoplastic stem cells; Immunohistochemistry; Cells, cultured; Disease models, animal

doi:10.3969/j.issn.1672-6731.2015.04.012

基金项目:青海省科技创新能力促进计划项目(项目编号:2012-Z-722);青海大学中青年科研基金资助项目(项目编号:2014-QYY-6)

作者单位:810000 西宁,青海大学附属医院神经外科(肖宗宇);810007 西宁,青海省人民医院神经内科(陈晓娟);100010 北京军区总医院附属八一脑科医院神经外科(徐如祥)

通讯作者:肖宗宇 (Email: xiaozongyu@hotmail.com)

This study was supported by Technical Innovation Promotion Program of Qinghai Province (No. 2012-Z-722) and Scientific Research Foundation for Young Scholars of Qinghai University (No. 2014-QYY-6).

随着肿瘤干细胞(TSCs)研究的不断深入,提出了脑肿瘤干细胞(BTSCs)学说,认为脑肿瘤中仅有小部分肿瘤细胞具有无限增殖、自我更新、多向分化潜能和致瘤性;大部分肿瘤细胞无增殖能力或仅有短暂性增殖能力,而不具致瘤性。这部分具有干细胞特性的细胞即称为脑肿瘤干细胞<sup>[1-3]</sup>。根据脑肿瘤干细胞理论,此类细胞为脑肿瘤发生、发展和复发之根源,只有充分认识脑肿瘤干细胞生物学特性,方有利于开发靶向性杀灭肿瘤干细胞的治疗策略。在本实验中,我们选择近交系 F344 大鼠 9L 胶质瘤细胞系,通过立体定向技术成功建立 9L/F344 脑肿瘤干细胞模型,为脑肿瘤干细胞的进一步研究提供稳定且可靠的动物模型。

## 材料与方 法

### 一、实验材料

1. 细胞系来源 大鼠 9L 胶质瘤细胞系为化学致癌剂 N-甲基亚硝基脲(MNU)注射至近交系 F344 大鼠体内诱发的胶质瘤细胞<sup>[2]</sup>,由广州军区总医院王伟民教授惠赠。

2. 实验动物 无特定病原体(SPF)级近交系 F344 8 周龄大鼠 48 只,体重 200~250 g、平均(220±20)g,由北京维通利华实验动物技术有限公司提供。于万级屏障系统喂以洁净饲料,自由摄食、饮水,室温(22±3)℃、相对清晰度(60±10)%、相对湿度 40%~70%,12 h 昼-12 h 夜光照条件。

3. 主要试剂与药品 DMEM/F12 培养基和质量分数为 0.25%胰蛋白酶购自美国 Gibco 公司。胎牛血清(FBS)购自美国 Hyclone 公司。B27 添加剂购自美国 Invitrogen 公司。碱性纤维母细胞生长因子(bFGF)和表皮生长因子(EGF)购自美国 Peprotech 公司。小鼠抗大鼠巢蛋白(nestin)抗体(1:100)为美国 Chemicon 公司产品,兔抗大鼠 CD133 抗体(1:200)由美国 Santa Cruz 公司提供;Alexa Fluor 594 标记的山羊抗兔和 Alexa Fluor 488 标记的山羊抗小鼠 IgG II 抗(均 1:200)购自美国 Molecular Probes 公司。4',6-二脒基-2-苯基吲哚(DAPI)封片剂为美国 Vector Laboratories 公司产品。PV-9005 通用型超敏

小鼠 SP 二步法免疫组织化学检测试剂盒(试剂 1)、PV-9001 通用型超敏兔 SP 二步法免疫组织化学检测试剂盒(试剂 2)和浓缩型二氨基联苯胺(DAB)试剂盒均为北京中杉金桥生物技术有限公司产品。

4. 主要仪器与设备 WDT-V 型脑立体定位仪购自西安西北光电仪器厂。25 μl 微量进样器由上海医用激光仪器厂提供。

### 二、实验方法

1. 大鼠 9L 胶质瘤细胞系脑肿瘤干细胞分离培养 参照文献[4]无血清悬浮培养法,选择含体积分数为 10%胎牛血清 DMEM/F12 培养基培养的对数生长期贴壁的 9L 胶质瘤细胞,经 0.25%胰蛋白酶消化,吸管吹打制成单细胞悬液,无血清培养基[含 DMEM/F12、碱性纤维母细胞生长因子 20 ng/ml、表皮生长因子 20 ng/ml 和 B27 添加剂(1:50)]重悬细胞,细胞计数器计数,调整细胞密度至 200×10<sup>3</sup>/ml、接种于 25 cm<sup>2</sup>培养瓶,置于 37℃、体积分数为 5%二氧化碳、饱和湿度培养箱中连续培养,每 2~3 天换半液,每 7~9 天传代一次,选择传代至第 3 代的肿瘤干细胞进行实验。

2. 免疫荧光染色检测大鼠 9L 胶质瘤细胞和 9L 肿瘤细胞球 CD133 和巢蛋白表达 选择含有 10%胎牛血清的 DMEM/F12 培养基中贴壁的 9L 胶质瘤细胞、无血清培养基中悬浮生长状态良好的第 3 代 9L 肿瘤细胞球,以磷酸盐缓冲液(PBS)冲洗 5 min(×2 次),质量分数为 4%的多聚甲醛溶液固定 30 min;以体积分数为 0.3% Triton X-100 破膜、室温下反应 10 min;0.01 mol/L 磷酸盐缓冲液冲洗 5 min(×3 次),体积分数为 10%的正常山羊血清封闭 60 min;滴加 I 抗(兔抗大鼠 CD133 抗体和小鼠抗大鼠巢蛋白抗体),湿盒中 4℃孵育过夜,剔除 I 抗,0.01 mol/L 磷酸盐缓冲液冲洗 5 min(×3 次);然后滴加 II 抗(Alexa Fluor 594 标记的山羊抗兔和 Alexa Fluor 488 标记的山羊抗小鼠 IgG II 抗)、37℃孵育 1 h,剔除 II 抗,0.01 mol/L 磷酸盐缓冲液冲洗 5 min(×3 次);DAPI 封片剂复染细胞核、封片,荧光显微镜下观察。

3. 颅内肿瘤模型建立 (1)模型制备:收集呈对数生长期的大鼠 9L 胶质瘤细胞和生长状态良好的

9L 肿瘤细胞球,经 0.25% 胰蛋白酶消化制成单细胞悬液,倒置相差显微镜下计数并调整细胞密度至  $500 \times 10^3/10 \mu\text{l}$ ,于 DMEM/F12 培养基重悬。按文献 [5] 方法,于立体定位仪下选择大鼠右侧尾状核区(前囟中点前 1 mm、矢状缝右侧旁开 3 mm、硬脑膜下 5 mm)为接种靶点。近交系 F344 大鼠随机分为 9L 胶质瘤细胞组和 9L 肿瘤细胞球组,每组 24 只。参照 Olson 等 [6] 和 Farrell 等 [7] 的方法,以质量分数为 3.6% 水合氯醛溶液(1 ml/100 g)腹腔注射麻醉大鼠,头部水平位固定于立体定位仪上、门齿低于外耳道连线 3 mm,常规消毒,直径 1 mm 牙钻行颅骨钻孔,安装立体定位接种针,针头延伸至靶点并继续前进 1 mm,而后再退出 1 mm,以  $1 \mu\text{l}/\text{min}$  速度注射细胞悬液  $10 \mu\text{l}$ ,拔除接种针前留针 10 min 使细胞充分沉积,颅骨骨孔以消毒骨蜡密闭、缝合头皮切口。术后连续肌肉注射青霉素  $40 \times 10^3 \text{ U}/\text{d}(\times 3 \text{ d})$ ,观察大鼠神态、进食和活动情况。(2) 结果判定:接种后第 14 天,每组分别取 3 只大鼠灌注切取全脑,行脑组织冰冻切片,层厚  $10 \mu\text{m}$ ,置于  $-20 \text{ }^\circ\text{C}$  保存备用。其余 21 只大鼠行存活期观察,并于濒死前灌注切取全脑组织,免疫组织化学染色检测 CD133 和巢蛋白表达水平。

4. 免疫组织化学染色检测颅内肿瘤模型 CD133 和巢蛋白表达 脑组织切片置 0.01 mol/L 磷酸盐缓冲液中进行湿化、复温;体积分数为 3% 过氧化氢去离子水孵育 10 min,0.01 mol/L 磷酸盐缓冲液漂洗 2 min( $\times 3$  次);滴加 I 抗(兔抗大鼠 CD133 抗体和小鼠抗大鼠巢蛋白抗体),置湿盒中  $4 \text{ }^\circ\text{C}$  孵育过夜,剔除 I 抗,0.01 mol/L 磷酸盐缓冲液漂洗 2 min( $\times 3$  次);然后滴加免疫组织化学检测试剂 1, $37 \text{ }^\circ\text{C}$  孵育 15 min,0.01 mol/L 磷酸盐缓冲液冲洗 2 min( $\times 3$  次);再滴加免疫组织化学检测试剂 2, $37 \text{ }^\circ\text{C}$  孵育 15 min,0.01 mol/L 磷酸盐缓冲液漂洗 2 min( $\times 3$  次);DAB 显色,显微镜下控制显色时间,蒸馏水洗涤以终止反应,苏木素复染、脱水、透明、中性树脂封片。光学显微镜下观察,于固定光照强度下对每一标本肿瘤中心部位进行观察,随机观察 5 个高倍视野(HPF),CD133 以胞膜和胞质呈棕褐色为阳性、巢蛋白以胞质呈棕褐色为阳性,采用 Image Pro-Plus 软件进行图像分析,计算每一视野光密度值(OD 值),取平均值。

### 三、统计分析方法

采用 SPSS 13.0 统计软件进行数据处理与分

析。计数资料以率(%)或相对数构成比(%)表示,存活率的比较采用 Kaplan-Meier 模块和 Log-Rank 检验。计量资料以均数  $\pm$  标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示,采用两独立样本的 *t* 检验。以  $P \leq 0.05$  为差异具有统计学意义。

## 结 果

### 一、大鼠 9L 胶质瘤细胞系脑肿瘤干细胞鉴定

大鼠 9L 胶质瘤细胞经无血清培养基培养 48 ~ 72 h 后,部分形成肿瘤细胞球,免疫荧光染色显示,肿瘤细胞球 CD133 和巢蛋白表达阳性(图 1)。

### 二、大鼠 9L 胶质瘤细胞与 9L 肿瘤细胞球侵袭性的比较

近交系 F344 大鼠接种 9L 胶质瘤细胞或 9L 肿瘤球细胞后 10 d,荷瘤大鼠开始出现觅食、饮水减少、体重下降,以及反应迟钝、少动或行走不稳等症状与体征;部分大鼠出现进行性颅内高压症状,表现为眶周出血、眼球外突,后期出现癫痫发作、偏瘫或肌张力增高等症状与体征。Kaplan-Meier 生存分析显示,接种 9L 肿瘤球细胞的大鼠中位存活期为 15 d(95% CI: 15.219 ~ 15.781),接种 9L 胶质瘤细胞的大鼠为 21 d(95% CI: 20.395 ~ 21.605),组间差异具有统计学意义( $\chi^2 = 12.800, P = 0.000$ ;图 2)。

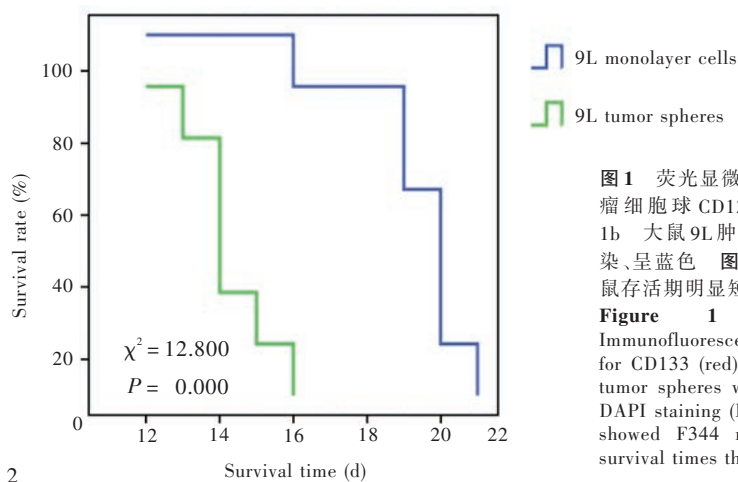
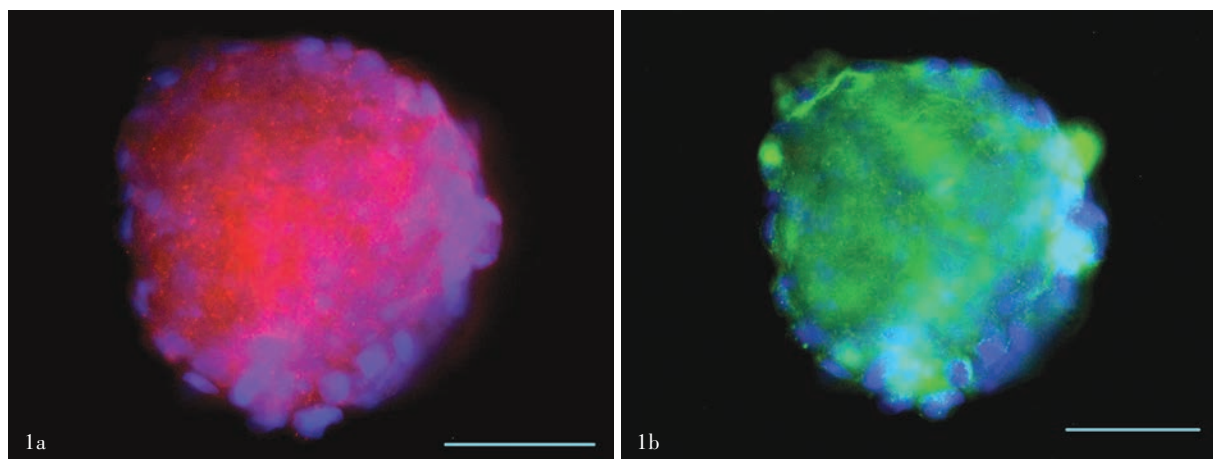
### 三、免疫组织化学检测

近交系 F344 大鼠脑组织接种 9L 胶质瘤细胞和 9L 肿瘤球细胞第 14 天,濒死前断头切取脑组织行组织病理学观察。(1) 组织学观察:9L 胶质瘤细胞和 9L 肿瘤细胞球所形成的胶质瘤表型相似,均无明显包膜,肿瘤细胞向周围脑组织呈浸润性生长,新生血管丰富,可见出血性坏死,以 9L 肿瘤细胞球组更为明显。(2) 免疫组织化学染色:9L 胶质瘤细胞和 9L 肿瘤细胞球所形成的胶质瘤 CD133 和巢蛋白均表达阳性,且二者表达水平组间差异无统计学意义(均  $P > 0.05$ ;表 1,图 3)。从巢蛋白的免疫组织化学染色可见,9L 肿瘤细胞球所形成的肿瘤更具浸润性(图 4)。

## 讨 论

胶质瘤是中枢神经系统常见恶性肿瘤,具有浸润性生长、易复发和播散转移之特点,为神经外科治疗难点。既往研究认为,所有肿瘤细胞均具有无限增殖能力 [8]。近年研究相继提出“脑肿瘤干细胞”概念,并经实验证实了脑肿瘤及其细胞系中干细胞





**图 1** 荧光显微镜观察所见 免疫荧光染色  $\times 40$  1a 大鼠 9L 肿瘤细胞球 CD133 表达阳性、呈红色,胞核以 DAPI 复染、呈蓝色 1b 大鼠 9L 肿瘤细胞球巢蛋白表达阳性、呈绿色,胞核以 DAPI 复染、呈蓝色 **图 2** Kaplan-Meier 生存分析显示,9L 肿瘤细胞球组大鼠存活期明显短于 9L 胶质瘤细胞组

**Figure 1** Immunofluorescence microscopy findings. Immunofluorescent staining  $\times 40$  9L tumor spheres were positive for CD133 (red), with blue nuclei after DAPI staining (Panel 1a). 9L tumor spheres were positive for nestin (green), with blue nuclei after DAPI staining (Panel 1b). **Figure 2** Kaplan-Meier survival analysis showed F344 rats implanted with 9L tumor spheres had shorter survival times than those implanted with 9L monolayer cells.

的存在,认为仅小部分肿瘤细胞具有无限增殖、自我更新、多向分化潜能和致瘤性,并在肿瘤发生、发展和复发过程中起决定作用<sup>[1,9-10]</sup>。若治疗过程中肿瘤干细胞残留则肿瘤易复发。因此,脑肿瘤干细胞是中枢神经系统肿瘤发生、发展和复发之根源,只有充分认识脑肿瘤干细胞的生物学特点,才有利于开发靶向性杀灭肿瘤干细胞的治疗策略。

传统观点认为,所有肿瘤细胞均具有致瘤性;而肿瘤干细胞理论则认为,仅极少数肿瘤干细胞方具有致瘤性<sup>[1,11-12]</sup>。Singh 等<sup>[13]</sup>以 CD133 作为细胞表面标志物,采用免疫磁珠法(IMS)从髓母细胞瘤和胶质母细胞瘤中分离获得 CD133<sup>+</sup>和 CD133<sup>-</sup>细胞,发现 CD133<sup>+</sup>细胞具有极强的自我更新和分化能力,将其分别植入非肥胖糖尿病(NOD)/重症联合免疫缺陷(SCID)小鼠脑组织内,12~24 周时仅 100 个 CD133<sup>+</sup>细胞可形成肿瘤,而移植  $100 \times 10^3$  个 CD133<sup>-</sup>

细胞的小鼠仅在移植部位形成胶质瘢痕,表明前者肿瘤细胞的增殖、分化和致瘤性更强。

在本研究中,我们采用无血清悬浮培养法从 9L 胶质瘤细胞获得呈悬浮球状聚集生长的肿瘤细胞球,经免疫荧光染色均表达肿瘤干细胞特异性标志物 CD133 和巢蛋白,证实经无血清悬浮培养法可成功培养出 9L 胶质瘤干细胞(GSCs),与 Bozzuto 等<sup>[2]</sup>报告的结果相符。我们将 9L 胶质瘤细胞和 9L 肿瘤球细胞分别植入近交系 F344 大鼠脑组织,结果显示,9L 肿瘤细胞球生长更迅速,且荷瘤大鼠存活期明显短于 9L 胶质瘤细胞组,由此可见,9L 肿瘤球细胞种植于脑组织后,由于富含肿瘤干细胞,肿瘤细胞增殖速度明显快于 9L 胶质瘤细胞;而 9L 胶质瘤细胞组,由于肿瘤干细胞比例低,故肿瘤细胞增殖速度相对缓慢、荷瘤大鼠存活期相对延长。

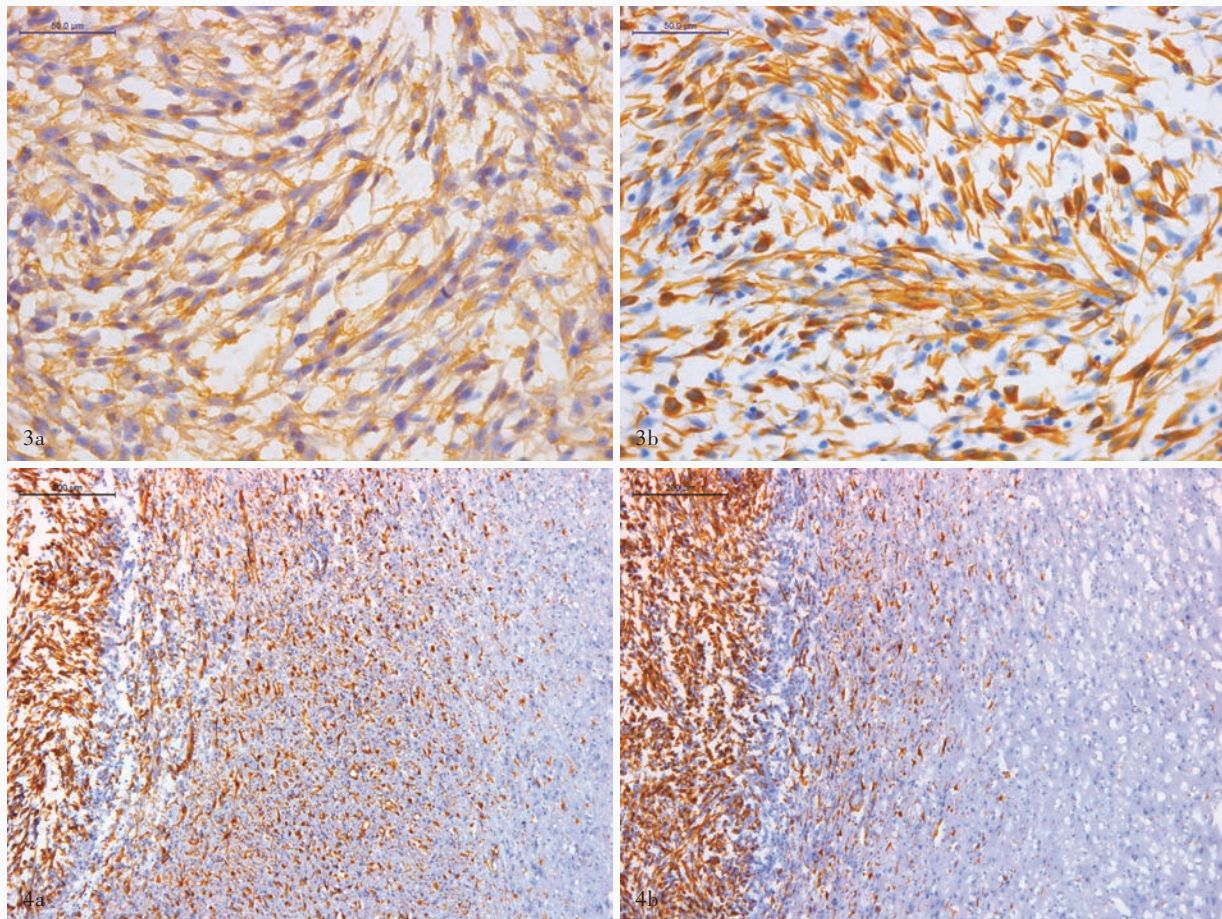
在本实验中,我们成功建立 9L/F344 大鼠脑肿

**表 1** 9L 胶质瘤细胞组和 9L 肿瘤细胞球组 CD133 和巢蛋白表达水平的比较( $\bar{x} \pm s$ , OD 值)

**Table 1.** Comparison of CD133 and nestin expression in brain tumors formed by 9L monolayer cells and 9L tumor spheres ( $\bar{x} \pm s$ , OD value)

Group	N	CD133	Nestin
Monolayer cells	10	2429.38 ± 216.11	2543.64 ± 182.17
Tumor spheres	10	2479.72 ± 266.34	2575.49 ± 161.42
<i>t</i> value		0.464	0.414
<i>P</i> value		0.648	0.684

**图 3** 光学显微镜观察所见 免疫组织化学染色(SP 二步法) × 200 3a 胶质瘤细胞 CD133 表达阳性 3b 胶质瘤细胞巢蛋白表达阳性 **图 4** 光学显微镜观察所见 免疫组织化学染色(SP 二步法) × 100 4a 接种 9L 胶质瘤细胞所形成的胶质瘤 4b 接种 9L 肿瘤球细胞所形成的胶质瘤侵袭性更强、浸润范围更广泛 **Figure 3** Optical microscopy findings. Immunohistochemical staining (SP) × 200 Glioma cells were positive for CD133 (Panel 3a). Glioma cells were positive for nestin (Panel 3b). **Figure 4** Optical microscopy findings. Immunohistochemical staining (SP) × 100 Tumor formed by 9L monolayer cells (Panel 4a). Tumor formed by 9L tumor spheres were more invasive and infiltrated more extensively (Panel 4b).



瘤干细胞颅内肿瘤模型,为脑肿瘤干细胞的进一步研究提供了实验基础。

参 考 文 献

[1] Venere M, Fine HA, Dirks PB, Rich JN. Cancer stem cells in gliomas: identifying and understanding the apex cell in cancer's hierarchy. *Glia*, 2011, 59:1148-1154.  
 [2] Bozzuto G, Toccaceli L, Mazzoleni S, Frustagli G, Chistolini P, Galli R, Molinari A. Brain tumor stem cell dancing. *Ann Ist Super Sanita*, 2014, 50:286-290.  
 [3] Schonberg DL, Lubelski D, Miller TE, Rich JN. Brain tumor stem cells: molecular characteristics and their impact on

therapy. *Mol Aspects Med*, 2014, 39:82-101.  
 [4] Ghods AJ, Irvin D, Liu G, Yuan X, Abdulkadir IR, Tunici P, Konda B, Wachsmann - Hogiu S, Black KL, Yu JS. Spheres isolated from 9L gliosarcoma rat cell line possess chemoresistant and aggressive cancer stem - like cells. *Stem Cells*, 2007, 25:1645-1653.  
 [5] Stewart PA, Hayakawa K, Hayakawa E, Farrell CL, Del MR. A quantitative study of blood - brain barrier permeability ultrastructure in a new rat glioma model. *Acta Neuropathol*, 1985, 67(1/2):96-102.  
 [6] Olson JJ, Friedman R, Orr K, Delaney T, Oldfield EH. Enhancement of the efficacy of X-irradiation by pentobarbital in a rodent brain-tumor model. *J Neurosurg*, 1990, 72:745-748.  
 [7] Farrell CL, Stewart PA, Del MR. A new glioma model in rat:



- the C<sub>6</sub> spheroid implantation technique permeability and vascular characterization. *J Neurooncol*, 1987, 4:403-415.
- [8] Dong J. Rethink and re-recognition of the 5-year study on brain tumor stem cells. *Zhongguo Xian Dai Shen Jing Ji Bing Za Zhi*, 2008, 8:384-387.[董军. 对脑肿瘤干细胞五年研究历程的反思及再认识. *中国现代神经疾病杂志*, 2008, 8:384-387.]
- [9] Alexandru-Abrams D, Jadus MR, Hsu FP, Stathopoulos A, Bota DA. Therapeutic targeting of malignant glioma. *Anticancer Agents Med Chem*, 2014, 14:1075-1084.
- [10] Pointer KB, Clark PA, Zorniak M, Alrfaei BM, Kuo JS. Glioblastoma cancer stem cells: biomarker and therapeutic advances. *Neurochem Int*, 2014, 71:1-7.
- [11] Jordan CT, Guzman ML, Noble M. Cancer stem cells. *N Engl J Med*, 2006, 355:1253-1261.
- [12] Khoshnevisan A. An overview of therapeutic approaches to brain tumor stem cells. *Med J Islam Repub Iran*, 2012, 26:31-40.
- [13] Singh SK, Hawkins C, Clarke ID, Squire JA, Bayani J, Hide T, Henkelman RM, Cusimano MD, Dirks PB. Identification of human brain tumour initiating cells. *Nature*, 2004, 432:396-401.
- (收稿日期:2015-01-15)

## 第四届全国痴呆与认知障碍学术研讨会及高级讲授班征文通知

由中华医学会、中华医学会神经病学分会主办,中华医学会神经病学分会痴呆与认知障碍学组承办,中国老年保健协会老年痴呆及相关疾病专业委员会(ADC)、中国药理学会抗衰老与老年痴呆专业委员会、中国老年学学会老年医学委员会认知障碍专家委员会、首都医科大学宣武医院共同协办的“第四届全国痴呆与认知障碍学术研讨会及高级讲授班”拟定于2015年5月21-24日在北京国际会议中心举行。

会议内容包括:轻度认知损害早期识别;不同痴呆亚型神经心理学特点与最新研究进展;认知功能障碍神经影像学最新研究进展;认知功能障碍最新临床诊断与治疗指南解读;变性病痴呆病因、病理学研究进展;痴呆病例分析与讨论;痴呆情绪症状与精神行为症状治疗与管理;痴呆认知功能筛查与评价;痴呆遗传学研究新进展;痴呆诊断外周标志物新进展;痴呆康复与护理策略;痴呆临床资料的数据统计与分析。

1. 征文内容 痴呆与认知功能障碍及相关疾病基础研究、诊断与治疗、预防、康复护理及新技术、新方法。

2. 征文要求 尚未在国内外学术会议和刊物上发表的论文摘要1份,字数1000字以内。请按照背景与目的、材料与方法、结果、结论四部分格式书写,并于文题下注明作者姓名(第一作者和通讯作者)、工作单位、邮政编码、联系方式 and Email 地址。

3. 投稿方式 会议仅接受网络投稿,请登录官方网站 [www.cmancn.org.cn](http://www.cmancn.org.cn) 在线注册并投稿,并注明会议名称。

4. 联系方式 北京市东城区东四西大街42号226室中华医学会学术会务部。邮政编码:100710。联系人:张悦。联系电话:(010)85158559。传真:(010)65123754。Email:zhangyue@cma.org.cn。投稿联系人:陈华雷[(010)89292552转839,18600959473;Email:ncn@cma.org.cn]。详情请登录会议官方网站:[www.cmancn.org.cn](http://www.cmancn.org.cn)。

## 中国脑卒中大会2015暨第五届全国心脑血管病论坛征文通知

由国家卫生计生委脑卒中防治工程委员会和中华预防医学会主办的“中国脑卒中大会2015暨第五届全国心脑血管病论坛”拟定于2015年5月7-10日在北京市国家会议中心召开。

大会继续秉承权威性、前瞻性、学术性、专业性的特点,邀请相关领导和国内外心脑血管病相关领域院士、著名专家作专题报告,为“十三五”时期心脑血管病防治布局,并发布我国近年来脑卒中筛查与干预重要数据和国内外领先学术成果。内容包括:脑卒中基础研究;脑卒中中西医结合研究;脑卒中内科诊断与治疗;脑卒中外科干预与介入治疗;脑卒中流行病学调查;脑卒中影像学;脑卒中检验学;血管超声、经颅多普勒超声(TCD)与脑卒中;糖尿病与脑卒中;血脂异常与脑卒中;高血压与脑卒中;心房颤动与脑卒中;脑卒中康复治疗;脑卒中护理;医院管理;其他。欢迎全国同道积极参会,踊跃投稿,与会者将授予国家级继续医学教育I类学分8~10分。

1. 征文内容 脑卒中筛查、心脑血管病基础与临床研究。

2. 征文要求 尚未在国内外学术会议和公开刊物上发表的论著、综述或个案报道摘要1份,字数500~1000字,要求科学性、重点突出、数据可靠、结论恰当、文字通顺精炼。请按照目的、材料与方法、结果、结论四部分格式书写,并于文题下注明作者姓名(第一作者和通讯作者)、工作单位、邮政编码、联系方式 and Email 地址。优秀论文将择期推荐至《中华神经科杂志》、《中国现代神经疾病杂志》、《中国脑血管病杂志》、《中国卒中杂志》等相关学术期刊发表。

3. 投稿方式 会议仅接受Email投稿,请以附件形式(Word文件)发送至 [csc\\_zw@126.com](mailto:csc_zw@126.com),并在邮件中注明作者联系方式。

4. 联系方式 北京市西城区新街口外大街16号11号楼4层。邮政编码:100088。投稿联系人:刘超(15313039686,Email:[csc\\_zw@126.com](mailto:csc_zw@126.com));注册联系人:石文焕(13691025002,Email:[csc\\_msc@126.com](mailto:csc_msc@126.com))。联系电话:(010)84022400。传真:(010)84025262。详情请登录会议官方网站:[www.cnstroke.com](http://www.cnstroke.com)。