

·综述·

CKIP-1 与骨质疏松的最新研究进展

胡炯¹ 王博² 吴鹏² 史晓林^{1*}

1. 浙江中医药大学附属第二医院骨科, 杭州 310005

2. 浙江中医药大学, 杭州 310053

中图分类号: R589.5 文献标识码: A 文章编号: 1006-7108(2016) 08-1053-05

摘要: 骨质疏松是严重威胁中老年人健康的骨科常见病。酪蛋白激酶 2 相互作用蛋白 1(casein kinase 2 interaction protein 1, CKIP-1)是近年来发现的一种重要分子,它通过与其他分子的相互作用在许多细胞行为中都发挥着重要的作用。CKIP-1 是参与调节骨形成的最重要的蛋白因子,与骨质疏松有密切联系,并已成为药物设计的新靶点。因此,对其的深入研究将为骨质疏松、病理机制阐明及骨疾病防治带来积极影响。本文就 CKIP-1 与骨质疏松症的关系进行综述。

关键词: 酪蛋白激酶 2 相互作用蛋白 1;骨质疏松;泛素连接酶

Progress of research on the relationship between CKIP-1 and osteoporosis

HU Jiong¹, WANG Bo², WU Peng², SHI Xiaolin^{1*}

1. Department of Orthopedics, Second Affiliated Hospital of Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou 310005

2. Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou 310053, China

Corresponding author: SHI Xiaolin, Email:yisheng198386912@163.com

Abstract: Osteoporosis is a common health problem worldwide that affects many older people. Casein kinase 2 interaction protein 1 (casein kinase 2 interaction protein 1, CKIP-1) is an important molecule discovered in recent years. It plays an important role in many cell behaviors through its interaction with other molecules. CKIP-1 has been attributed a critical role in regulating bone remodeling. It has close relationship with osteoporosis, and is a target for developing new drugs for the treatment of osteoporosis. Therefore, in depth research on CKIP-1 will contribute to the prevention of osteoporosis and other bone diseases as well as understanding the pathogenesis of these diseases. This article reviews the relationship between CKIP-1 and osteoporosis.

Key words: Casein kinase 2 interaction protein 1; Osteoporosis; Smurf1

骨质疏松症是以骨组织显微结构受损,骨矿成分和骨基质等比例不断减少,骨质变薄,骨小梁数量减少,脆性增加和骨折危险度升高的一种全身骨代谢障碍的疾病。其主要临床表现为骨痛及腰背痛、驼背、易发骨折等,其中以原发性骨质疏松症最常见。因骨质疏松症引发的骨折及其并发症是老年人致残和致死的重要原因。随着进入老龄化社会,骨质疏松症病人逐年增加。以髌部骨折为例,每年全球约有 450 万患者,其中 50% 的病人属于亚洲国家,因此骨质疏松症将是一个严峻的公共卫生问题^[1-3],对骨质疏松的防治研究具有重要的医学和社会学意义。

酪蛋白激酶 2 相互作用蛋白(casein kinase 2 interaction protein 1, CKIP-1)是近年被发现的一种新型凋亡因子,研究表明其在骨质疏松成骨过程中起到重要作用,是骨形成负调控因子^[6-7]。本文就 CKIP-1 与骨质疏松症的关系进行综述。

1 CKIP-1 结构和特性

CKIP-1 是在研究酪蛋白激酶 2(CK2)的过程中发现的。CK2 存在于所有的真核细胞中,CK2 在不同物种中具有高度保守性,具有重要的生物学功能,参与包括转录、翻译、形态发生及细胞周期调控在内的许多生物学过程。CK2 是一个四聚体 ser/thr 蛋白激酶,具有两个调控亚基($\beta 2$),两个催化亚基(α 和 α^1)。研究发现,CK2 的两个催化亚基具有功能的特异性,如 CK2 α^1 与控制细胞的增殖和存活有关。因此,在用酵母双杂交技术鉴定与 CK2 相互作

基金项目: 国家自然科学基金项目(81373878);浙江省自然科学基金项目(LY12H29007,LY13H290009)

* 通讯作者: 史晓林, Email:yisheng198386912@163.com

用的蛋白质时,发现了一种新型的 CK2 相互作用蛋白:CKIP-1 能与 CK2 α 相互作用,但不能与 CK2 α^1 相互作用。后来人们又通过实验发现 CKIP-1 在体外条件下不能改变 CK2 激酶的活性,CK2 也不能改变 CKIP-1 蛋白的磷酸化水平,所以推测 CKIP-1 既不是 CK2 的直接调控因子,也不是 CK2 的底物,而认为是 CKIP-1 的一种非酶活性的间接调控因子,它通过调节 CK2 的亚细胞定位发挥对 CK2 功能的调控作用。全长的 CKIP-1 cDNA 编码有 409 个氨基酸,分子量约为 46kD。其蛋白质分子的 N 端包含一个 PH 结构域 (pleckstrin homology domain),它与 CKIP-1 的质膜定位密切相关,还参与 CKIP-1 与其他蛋白质的相互作用(如与 CK2 的相互作用)。可以和 Akt 发生相互作用,抑制肿瘤的增殖^[8-9]。CKIP-1 的 C 末端结构域可以通过 caspase-3 切割的方式被释放,结合并调控 C-Jun/AP-1 的转录因子活性,促进肿瘤细胞凋亡^[10]。CKIP-1 可以招募 ATM 到质膜定位,为毛细血管扩张性共济失调综合征 (ataxia telangiectasia syndrome, ATS) 病人来源细胞的质膜异常表达提供分子机制^[11]; CKIP-1 可被 IFN γ 和 IL-2 诱导表达,通过与 IFP35 和 Nmi 的相互作用,防止细胞因子应答过度^[12]; CKIP-1 的 PH 结构域具有核定位信号的功能,提示 CKIP-1 的 N 端 PH 结构域的核定位信号与 C 端 PH 抑制信号之间的协调作用在调控 CKIP-1 亚细胞定位中的决定作用^[13]。

CKIP-1 是一种没有酶活性的调控蛋白,但是它具有许多参与蛋白质-蛋白质相互作用、蛋白质-脂质相关互作的结构域或模体,具有非常重要的生物学功能。CKIP-1 通过与其他蛋白质或脂质的相互作用,可能在介导细胞质与细胞核之间的信号转导中起到重要作用,它通过自身亚细胞的定位调节其他分子的亚细胞定位从而对其功能进行调控,在癌变、凋亡在内的许多细胞行为中发挥着重要的作用。研究表明 CKIP-1 通过 Smurf1 介导的泛素-蛋白酶体调控成骨过程,发挥重要的负调控作用。

2 CKIP-1 成骨抑制作用

泛素-蛋白酶系统是真核细胞中蛋白质降解的主要途径。发现这一途径的 3 位科学家在 2004 年被授予诺贝尔化学奖^[14]。泛素 (ubiquitin, Ub) 是由 76 个氨基酸组成的极为保守的蛋白。泛素化修饰是一种常见的蛋白质修饰,广泛参与蛋白质的降解,细胞的吞噬作用,跨膜蛋白的分类与转运, DNA 的

修复等细胞生物学过程。在泛素化过程中有 3 种酶介导了这一过程,它们是泛素活化酶 (E1)、泛素结合酶 (E2) 和泛素连接酶 (E3)。E3 可以促进单泛素或多泛素转运到底物上。Smurf1 属于 E3 泛素连接酶家族。泛素标记需要被降解的蛋白质,继而使被标记的蛋白在蛋白酶体中被降解。E3 泛素连接酶主要负责特异性识别靶蛋白底物。Smurf1 主要通过 Smad1、5 作用,引发 Smad 蛋白及与它们相互作用的蛋白质的泛素化和降解^[15]。Smurf1 含有 1 个 HECT 结构域和 2 个 WW 结构域。在 HECT 结构域的羧基端有一个高度保守的半胱氨酸残基,该半胱氨酸与泛素之间可形成硫酯键,一旦将这个高度保守的半胱氨酸残基突变为丙氨酸或甘氨酸后,Smurf1 便完全丧失其泛素化和降解特定蛋白质的活性^[16]。WW 结构域是 Smurf1 的另一个重要特征,定位于其第 236 到 311 位氨基酸之间,含有大约 30 个氨基酸,其中包含高度保守的 2 个色氨酸和 1 个脯氨酸,具有与富含脯氨酸的小肽 (PPXY 结构) 相结合的能力。

Smurf1 介导 BMP 受体的降解,骨形态发生蛋白 (bone morphogenetic protein, BMP) 是一类具有多种功能的分泌型细胞生长因子,属于 TGF- β 超家族的成员。经典的 BMP 信号通路由 BMP 配体、BMP 特异性受体、Smads 信号转导蛋白等组成,Smurf1 通过介导 BMP I 型受体的降解,影响 BMP/BMPRI s/BMPRII s 三聚体的形成,进而从起始抑制 BMP 信号通路的下传^[17]。Smurf1 同 Smad6/7 在细胞核内结合,然后共同出核被运送到细胞膜上引发 BMP I 型受体的降解。Murakami 等^[18]发现,仅有 Smad6/7 或者 Smurf1 降解 BMP I 型受体的能力大为下降,提示这种降解功能是由两者形成的复合物共同完成的。

Smurf1 介导 Smad1 和 Smad5 蛋白的降解:早期在非洲蟾蜍胚胎中证实了 Smurf1 可以介导 Smad1 的降解。Zhao 等^[19]通过检测成骨细胞中 Smurf1 对 Smad1 降解的介导作用,发现在成肌/成骨前体细胞 C2C12 细胞系中,Smurf1 可以剂量依赖性地介导 Smad1 的降解,并且 Smurf1 介导 Smad1 的降解是以一种蛋白酶体依赖性的方式进行的。研究发现,一旦 Smurf1 的催化位点发生突变,其对 Smad1 的降解作用将明显变弱。同时蛋白酶体抑制剂可以剂量依赖性地逆转 Smurf1 对 Smad1 的降解作用。许多不同的蛋白酶体抑制剂也可以增强内源性 Smad1 蛋白的水平。Ying 等^[20]通过在 C2C12 细胞系中过表

达 Smurf1 发现 Smad5 蛋白的水平明显降低,并且这种降低可以被乳胞素(lactacystin,一种蛋白酶体抑制剂)逆转,通过 RNA 干扰技术沉默 C2C12 细胞内源性的 Smurf1 后,Smad5 蛋白的水平明显上升。

Smurf1 介导转录因子 Runx2 蛋白的降解:Runxs 是新发现的一类调控间充质干细胞向成骨方向分化的特异性转录因子,包括 Runx1、2、3。Runx2 通常也称作 Cbfa1(核结合因子),其作为 BMP-2 的靶基因,是成骨细胞分化、骨发育的重要调节因子,在成骨细胞分化过程中起着重要作用。Runx2 在 BMP 信号通路中同 Smad1 蛋白结合形成一种复合物,共同激活下游靶基因的表达。由于转录因子 Runx2 蛋白结构中含有 Smurf1 可识别的 PY 结构,Zhao 等^[19]研究了 Smurf1 在 C2C12 和成骨前体细胞系 2T3 中对 RuNX2 蛋白降解的介导作用,通过免疫共沉淀实验证实了 Smurf1 蛋白和 Runx2 蛋白之间的相互作用。Smurf1 可以剂量依赖性地降低细胞中原本十分稳定表达的 Runx2 蛋白水平,并且这种降解现象是蛋白酶体依赖性的 Smad6 在与 Runx2 结合的过程中,可以增强这一降解作用。

CKIP-1 可以作为 Smurf1 的激活因子,在 Smurf1 介导的泛素-蛋白酶体降解途径中发挥功能。Smurf1 作为泛素连接酶可以降解多种蛋白,包括 Smad1/5、TGF- β 受体、BMP 受体、骨特异性转录因子 Runx2 以及磷酸化形式的 MEKK2 等,从而负调控骨形成。CKIP-1 的 C 末端结构域可以与 Smurf1 两个 WW 结构域之间的连接区(Smad ubiquitylation regulatory factor 1)发生相互作用,增强 Smurf1 的泛素连接酶活性。CKIP-1 基因敲除的小鼠表现出与 Smurf1 基因敲除小鼠相似的表型,即骨量的上升和骨形成速率的增强^[21]。同时,CKIP-1 还可以结合蛋白酶体亚基 Rpt6,作为接头蛋白偶联 Smurf1 与蛋白酶体,增强泛素化蛋白底物的降解,CKIP-1 在 Smurf1 与底物的相互作用以及底物招募至 26S 蛋白酶体的过程中发挥双重作用^[22]。综上,CKIP-1 作为 Smurf1 的增强性因子,可以通过调控 Smurf1 的泛素连接酶活性来影响骨量,CKIP-1 作为生理条件下的骨形成负调控因子,有望成为新的治疗骨质疏松的药物靶点。见图 1。

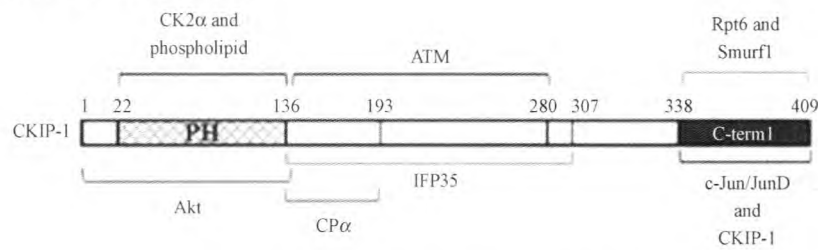


图 1 CKIP-1 与相互作用蛋白的结合区域

Fig.1 CKIP-1' binding regions with interacting proteins

3 CKIP-1 在骨质疏松治疗中的地位

骨骼形成之后,终生都处于由成骨细胞控制的骨形成和破骨细胞控制的骨吸收共同调控的重塑过程之下。这种重塑过程中的平衡一旦被打破,就会导致骨骼系统出现异常,进而引起骨病的发生。成骨细胞和破骨细胞共同维持着成骨的稳态,二者的功能相反,而且二者的来源也截然不同,成骨细胞是由间充质干细胞分化而来,而破骨细胞则是由骨髓中的单核/巨噬细胞前体细胞分化而来。过去 10 多年的研究大大丰富了人们对破骨细胞分化及功能调控的分子机制的了解,其中突破性的研究进展是 RANKL/RANK/OPG 信号通路的发现和破骨细胞体外诱导培养技术的建立^[23],目前破骨细胞已成为重要的药靶,但是以破骨作为药靶的骨质疏松治疗药

物有一个明显缺陷,即其只能降低骨吸收的速率,并不能刺激重症骨质疏松患者的新骨形成。Lu 等^[24]证实破骨相关的标志物分子在血清中检测没有发现差别,用长骨组织的 RNA 检测也没有发现破骨细胞相关的标志物基因转录水平的变化,并且 Smurf1 在破骨细胞中不表达,提示 CKIP-1 可能不影响破骨细胞的功能。

相对而言,对控制成骨细胞分化的基因了解较少,基于成骨细胞功能研究的药物研发报道非常有限。目前研究证实以成骨细胞分化特异转录因子 Runx2 为代表的一系列转录因子和信号转导分子在发育早期成骨细胞介导的骨形成中发挥重要作用。这些敲除小鼠往往表现为出生时骨骼发育缺陷(如 Runx2)。这些对胚胎期骨发育具有重要作用的基因往往因为副作用大而难以成为药物靶标。对于骨

病来说,其主要发病人群表现为骨质疏松。中老年发病居多,在绝经期后的妇女中表现尤为严重。现在仅仅发现了几个分子影响了成体内成骨细胞的功能(Stat1、LRP5、Tob、Shn3、Smurf1)^[25-26],而对这些基因和信号通路的深入研究有可能找到促进成骨细胞活性使骨形成增加,从而有效治疗骨质疏松这种老年病的方法。最新研究表明 CKIP-1 影响了体内成骨细胞的功能。CKIP-1 敲除小鼠的骨量升高随着年龄的增大而更加显著,这种小鼠对于体内成骨细胞调控机制的研究可以起到很好的推动作用。同时提示 CKIP-1 有可能成为理想的药物靶标。

4 CKIP-1 尚待解决的疑问

CKIP-1 是影响了全身的骨量还是部分骨量? 骨的形成分为两类,膜内成骨和骨内成骨,而对于长骨来说又分为皮质骨和松质骨,那么 CKIP-1 对骨骼系统的影响是广谱性的还是特异性的? 部分研究显示与野生型小鼠相比,CKIP-1 敲除的小鼠表现的骨量升高在顶骨、尾椎骨和股骨处尤为显著。

CKIP-1 是否参与间充质干细胞的分化? CKIP-1 的缺失可以增强成骨细胞的分化能力,而成骨细胞是由来源于中胚层的间充质干细胞分化而来,小鼠的间充质干细胞具有四系分化能力,可以分化为成骨细胞、成肌细胞、软骨细胞和脂肪细胞。那么 CKIP-1 敲除的小鼠其间充质干细胞分化能力是不是也得到了增强? 如果是,那么其影响了间充质干细胞的某一谱系分化还是四系分化能力? 对骨骼系统的分析发现,CKIP-1 敲除小鼠与野生型相比,骨形态学上没有明显差异,提示可能没有影响软骨细胞的分化;对脂肪组织的 HE 染色结果发现脂肪细胞形态上没有明显差别,但是否影响了两者的功能及影响了成肌细胞的分化,目前还没有相关报道。

CKIP-1 在骨骼系统所发挥的作用对 Smurf1 的依赖程度有多大? 目前的研究仍然不能排除 CKIP-1 可以通过不调控 Smurf1 的通路影响成骨细胞,目前的数据只是证明在 CKIP-1 缺失的条件下 Smurf1 的活性确实受到了削弱,但是 CKIP-1 敲除小鼠骨量升高的表型是单独由于 Smurf1 活性降低导致还是包括 Smurf1 在内的多个分子协同调节?

5 结语

CKIP-1 是一种没有酶活性的调控蛋白,但是它具有许多参与蛋白质-蛋白质相互作用、蛋白质-脂质相互作用的结构域或模体,还有许多潜在的磷酸

化位点,因此它具有非常重要的生物学功能。CKIP-1 通过与其他蛋白质或脂质的相互作用,可能在介导细胞质与细胞核之间的信号转导中起到重要作用,它通过自身亚细胞的定位调节其他分子的亚细胞定位从而对其功能进行调控,在骨骼正常生理活动中起着至关重要的作用,并与多种骨疾病密切相关。因此,CKIP-1 不仅是研究骨代谢、骨质疏松的关键,而且已成为骨质疏松治疗的靶点。

【参考文献】

- [1] Lippuner K. The future of osteoporosis treatment—A research update. *Swiss Med Wkly*, 2012, 142(14): 1-11.
- [2] 秦岭, 张戈(译), 梁秉中, 等. 美国国家卫生院有关骨质疏松症的预防、诊断和治疗的共识文件. *中国骨质疏松杂志*, 2002, 8(1): 90-93.
Qin L, Zhang G, Liang BZ, et al. Consensus document on prevention, diagnosis, and treatment of osteoporosis in the United States National Health Center. *Chinese Journal of Osteoporosis*, 2002, 8(1): 90-93. (in Chinese)
- [3] 朴俊红, 庞莲萍, 刘忠厚, 等. 中国人口状况及原发性骨质疏松症诊断标准和发病率. *中国骨质疏松杂志*, 2002, 8(1): 1-7.
Pu JH, Pang LP, Liu ZH, et al. Diagnostic criteria and incidence of primary osteoporosis in China. *Chinese Journal of Osteoporosis*, 2002, 8(1): 1-7. (in Chinese)
- [4] Kim JH, Liu X, Wang JH, et al. Wnt signaling in bone formation and its therapeutic potential for bone diseases. *Ther Adv Musculoskelet Dis*, 2013, 5(1): 13-31.
- [5] Lu KF, Yin XS, Weng TJ, et al. Targeting WW domains linker of HECT-type ubiquitin ligase Smurf1 for activation by CKIP-1. *Nat Cell Biol*, 2008, 10(8): 994-1002.
- [6] Xi S, Tie Y, Lu K, et al. N-terminal PH domain and C-terminal auto-inhibitory region of CKIP-1 coordinate to determine its nucleus-plasma membrane shuttling. *FEBS Lett*, 2010, 584(6): 1223-1230.
- [7] Wang Y, Nie J, Zhang L, et al. CKIP-1 couples Smurf1 ubiquitin ligase with Rpt6 subunit of proteasome to promote substrate degradation. *EMBO Rep*, 2012, 13(11): 1004-1011.
- [8] Bosc DG, Graham KC, Saulnier RB, et al. Identification and characterization of CKIP-1, a novel pleckstrin homology domain-containing protein that interacts with protein kinase CK2. *J Biol Chem*, 2000, 275(19): 14295-14306.
- [9] Tokuda E, Fujita N, Oh-hara T, et al. Casein kinase 2-interacting protein-1, a novel Akt pleckstrin homology domain-interacting protein, down-regulates PI3K/Akt signaling and suppresses tumor growth in vivo. *Cancer Res*, 2014, 67(20): 9666-9676.
- [10] Zhang L, Xing G, Tie Y, et al. Role for the pleckstrin homology domain-containing protein CKIP-1 in AP-1 regulation and apoptosis. *EMBO J*, 2015, 24(4): 766-778.
- [11] Zhang L, Tie Y, Tian C, et al. CKIP-1 recruits nuclear ATM partially to the plasma membrane through interaction with ATM.

- Cell Signal,2006,18(9):1386-1395.
- [12] Zhang L,Tang Y,Tie Y,et al. The PH domain containing protein CKIP-1 binds to IFP35 and Nmi and is involved in cytokine signaling. *Cell Signal*,2007,19(5): 932-494.
- [13] Xi S,Tie Y,Lu K,et al. N-terminal PH domain and C-terminal auto-inhibitory region of CKIP-1 coordinate to determine its nucleus-plasma membrane shuttling. *FEBS Lett*,2014,584(6): 1223-1230.
- [14] Vogel G,Nobel P. Gold medal from cellular trash. *Science*,2004,306(5695): 400-401.
- [15] Sangadala S, Metpally RP, Reddy BV. Molecular interaction between Smurf1 WW 2 domain and PPXY motifs of Smad1, Smad5, and Smad6-modeling and analysis. *J Biomol Struct Dyn*, 2007,25(1):11-23.
- [16] Zhu H, Kavsak P, Abdollah S, et al. A SMAD ubiquitin ligase targets the BMP pathway and affects embryonic pattern formation. *Nature*,1999,400(6745):687-693.
- [17] Chan MC, Nguyen PH, Davis BN, et al. A novel regulatory mechanism of the bone morphogenetic protein (BMP) signaling pathway involving the carboxyl-terminal tail domain of BMP type II receptor. *Mol Cell Biol*,2007,27(16):5776-5789.
- [18] Murakami G, Watabe T, Takaoka K, et al. Cooperative inhibition of bone morphogenetic protein signaling by smurf1 and inhibitory smads. *Mol Biol Cell*,2003,14(7):2809-2817.
- [19] Ying SX, Hussain ZJ, Zhang YE. Smurf1 facilitates myogenic differentiation and antagonizes the bone morphogenetic protein-2-induced osteoblast conversion by targeting Smad5 for degradation. *J Biol Chem*,2003,278(40):39029-39036.
- [20] Ducy P,Zhang R, Geoffroy V, et al. Osf2/Cbfa1: a transcriptional activator of osteoblast differentiation. *Cell*,1997,89(5):747-754.
- [21] Lu K, Yin X, Weng T, et al. Targeting WW domains linker of HECT-type ubiquitin ligase Smurf1 for activation by CKIP-1. *Nat Cell Biol*,2008,10(8):994-1002.
- [22] Wang Y,Nie J,Wang Y, et al. CKIP-1 couples Smurf1 ubiquitin ligase with Rpt6 subunit of proteasome to promote substrate degradation. *EMBO Rep*,2012,13(11):1004-1011.
- [23] Dougall WC, Glaccum M, Charrier K, et al. RANK is essential for osteoclast and lymph node development. *Genes Dev*,1999,13(18):2412-2424.
- [24] Lu K. Targeting WW domains linker of HECT-type ubiquitinligase Smurf1 for activation by CKIP-1. *Nature cell biology*,2008(10):994-1002.
- [25] Shi Y,Feng Y,Kang J, et al. Critical regulation of CD4+ T cell survival and autoimmunity by beta-arrestin 1. *Nat Immunol*,2007,8(8):817-824.
- [26] Lamhamedi-Cherradi SE, Zheng SJ, Maguschak KA, et al. Defective thymocyte apoptosis and accelerated autoimmune diseases in TRAIL-/- mice. *Nat Immunol*,2013,4(3):255-260.

(收稿日期: 2015-11-27)

(上接第 1015 页)

- [5] 贺美玲, 隆春玲, 郭志华, 等. 小组心理干预对空巢老年人焦虑抑郁情绪的影响. *中华护理杂志*, 2013, 48(5): 450-452.
- He ML, Long CL, Guo ZH, et al. Group psychological intervention on anxiety and depression empty nest elderly. *Chinese Journal of Nursing*, 2013, 48(5): 450-452. (in Chinese)
- [6] 李秀珍. 健康教育对骨质疏松症患者健康知识和生活方式的干预. *中国临床*, 2005, 9(43): 132-133.
- Li XZ. Health education intervention on osteoporosis health knowledge and lifestyle. *Chinese Clinical*, 2005, 9(43): 132-133. (in Chinese)
- [7] 宋琼, 陈长香, 李淑杏, 等. 社区老年人经济收入与支出情况对自我健康管理的影响. *河北联合大学学报*, 2013, 13(5): 10-11.
- Song Q, Chen CX, Li SX, et al. Income and expenditures for the impact of the elderly self-health management in community. *Hebei United University*, 2013, 13(5): 10-11. (in Chinese)
- [8] 刘文红, 王黎, 常华, 等. 公寓型养老机构老年人自我照顾能力现状及其影响因素. *中国护理管理*, 2014, 14(4): 372-375.
- Liu WH, Wang L, Chang H, et al. Self-care status quo and its influencing factors of the older apartment type pension agency. *Chinese Nursing Management*, 2014, 14(4): 372-375. (in Chinese)
- [9] Carleton RN, Abrams MP, Asmundson Gordon JG, et al. Blood gene expression profiles suggest altered immune function associated with symptoms of generalized anxiety disorder. *Brain Behavior and Immunity*, 2015, 43: 184-191.
- [10] Lilly S, Copeland WE, Adrian A, et al. Sleep problems predict and are predicted by generalized anxiety/depression and oppositional defiant disorder. *Journal of the American Academy of Child & Adolescent Psychiatry*, 2014, 53(5): 550-558.
- [11] Anna W. Potential role of the 5-HT 6 receptor in depression and anxiety: an overview of preclinical data. *Pharmacological Reports*, 2010, 62(4): 564-577.

(收稿日期: 2015-12-25)