

· 基础研究 ·

电刺激对 2 型糖尿病大鼠骨骼肌细胞葡萄糖载体 4 转位及相关信号蛋白的影响

林强 吴毅 胡永善 胡瑞萍

【摘要】 目的 观察电刺激对 2 型糖尿病大鼠(OLETF)骨骼肌细胞葡萄糖载体 4(GLUT4)转位及相关信号蛋白的影响,探讨电刺激诱导的骨骼肌收缩促进 OLETF 大鼠骨骼肌细胞 GLUT4 转位的细胞内信号转导机制。**方法** 取 20 只 OLETF 大鼠,分离趾长伸肌,按照抑制剂和电刺激干预的不同分为 6 组,每组 6~8 个骨骼肌样本,用 Western Blot 法测定骨骼肌中蛋白激酶 B(protein kinase B, PKB/Akt)、腺苷酸激活的蛋白激酶(AMPK)、细胞外信号调节激酶(ERK)的表达和活性变化,用免疫荧光方法观察 GLUT4 在细胞膜及细胞内膜的分布。**结果** ①电刺激诱导 OLETF 大鼠骨骼肌收缩后,其细胞膜上 GLUT4 的分布明显增加。②与无电刺激组相比,电刺激组 OLETF 大鼠骨骼肌细胞 Akt、AMPK 蛋白活性明显增加($P < 0.01$);而 ERK 蛋白活性无明显改变($P > 0.05$)。③抑制 AMPK 信号通路后,电刺激组 OLETF 大鼠骨骼肌细胞 Akt 蛋白活性较无电刺激组明显增加($P < 0.01$);抑制 PI3K 信号通路后,电刺激组 OLETF 大鼠骨骼肌细胞 AMPK 蛋白活性较无电刺激组明显增加($P < 0.01$)。**结论** 电刺激诱导的骨骼肌收缩可促进 GLUT4 转位至细胞膜,这一过程是通过 AMPK 和/或 PI3K 信号转导通路实现的,仅抑制其中一条信号转导通路不能阻止 GLUT4 的转位。

【关键词】 葡萄糖载体 4; 电刺激; 糖尿病; 信号转导通路

The effect of electrical stimulation on GLUT4 translocation and related signaling proteins in skeletal muscle of OLETF rats LIN Qiang, WU Yi, HU Yong-shan, HU Rui-ping. Department of Rehabilitation Medicine, Huashan Hospital, Fudan University, Shanghai 200040, China

Corresponding author: WU Yi, Email: wuyi3000@yahoo.com.cn

【Abstract】 Objective To observe the effects of electrical stimulation on GLUT4 translocation and related signaling proteins in the skeletal muscle of OLETF rats, and to explore the intracellular mechanism by which muscle contractions induced by electrical stimulation promote GLUT4 translocation. **Method** Forty extensor digitorum longus muscles were isolated from twenty Otsuka Long-Evans Tokushima Fatty (OLETF) rats, and then randomly assigned to one of six groups. Akt, AMPK and ERK proteins were detected by western blot analysis, and the distribution of GLUT4 in these skeletal muscles was observed by immunofluorescence. **Results** The expression of GLUT4 on the cell membrane was significantly higher in the electrically stimulated groups than in the unstimulated groups. The phosphorylation level of Akt and the phosphorylation level of AMPK increased significantly after electrical stimulation. However, there was no significant difference between the stimulated and unstimulated groups with regard to the phosphorylation of ERK. When the AMPK signaling pathway was blocked, the phosphorylation level of Akt in electrical stimulated group was significantly higher than that in non-electrical stimulated group ($P < 0.01$). When PI3K signaling pathway was blocked, the AMPK phosphorylation increased significantly in the stimulated group compared with the unstimulated group. **Conclusion** Skeletal muscle contraction induced by electrical stimulation resulted in the translocation of GLUT4 from intracellular membranes to the cell surface. This process was mediated by AMPK and/or PI3K signaling pathways. Blocking one of these pathways could not inhibit GLUT4 translocation.

【Key words】 Glucose transporter type 4; Electrical stimulation; Diabetes mellitus; Signaling transduction

骨骼肌是人体内摄取葡萄糖和代谢葡萄糖最主要的组织之一。葡萄糖跨膜转运是骨骼肌利用葡萄糖的

首要步骤。葡萄糖跨膜进入骨骼肌细胞需要细胞膜上的葡萄糖载体(glucose transporter, GLUT)协助扩散。GLUT 有多种亚型,其中葡萄糖载体 4(GLUT4)是存在于骨骼肌、脂肪组织中帮助葡萄糖转运的蛋白。胰岛素和运动均可以通过促进 GLUT4 的表达和转位来调节骨骼肌摄取葡萄糖^[1]。本研究采用国际上公认的自发性 2 型糖尿病大鼠(Otsuka Long-Evans Tokushi-

基金项目:国家自然科学基金项目(30370685),美国中华医学会基金(CMB)资助项目(98-676)

作者单位:200040 上海,复旦大学附属华山医院康复医学科,复旦大学上海医学院康复与运动医学系

通讯作者:吴毅,Email: wuyi3000@yahoo.com.cn

na Fatty, OLETF) 作为 2 型糖尿病动物模型,通过添加两种信号蛋白的抑制剂孵育离体骨骼肌,再以电刺激方式使骨骼肌收缩,观察电刺激对 2 型糖尿病大鼠骨骼肌细胞 GLUT4 转位的影响,并分析电刺激促进骨骼肌细胞 GLUT4 转位的信号转导机制。

材料与方法

一、实验材料

采用自发发病的 OLETF 大鼠作为糖尿病动物模型,共 20 只,每只体重 400 ~ 600 g。实验期间,动物饲养于复旦大学实验动物科学部,所有大鼠均给予常规饮食和饮水,饲养条件为室温 25℃,每日光照约 12 h。

实验溶液和试剂包括:Kreb 液:NaCl 6.9 g、KCl 0.35 g、CaCl₂ 0.28 g、NaHCO₃ 2.1g、KH₂PO₄ 0.16 g、MgSO₄ 0.29 g、葡萄糖 2.0 g,加蒸馏水至 1 000 ml。兔抗大鼠 Ser473 磷酸化 Akt 多克隆抗体、小鼠抗大鼠磷酸化 ERK 单克隆抗体购自 Sigma,兔抗大鼠 Akt 多克隆抗体、兔抗大鼠 ERK 多克隆抗体、兔抗大鼠 GLUT4 多克隆抗体购自 Santa Cruz。兔抗大鼠 AMPK α 单克隆抗体、兔抗大鼠 AMPK α Thr172 磷酸化单克隆抗体、LY294002 (PI3K 特异性抑制剂) 购自 Cell Signaling Technology。Compound C (AMPK 特异性抑制剂) 购自 Merck。小鼠抗大鼠 GAPDH 抗体、辣根过氧化物酶标记的山羊抗兔 IgG 和山羊抗鼠 IgG 购自康成生物公司。ECL 购自天根生物公司。

实验仪器包括:SMUP-E 型生物信号处理系统、奥林巴斯 CX41-32PFL 荧光显微镜。

二、骨骼肌分组

根据抑制剂的不同和电刺激与否,将骨骼肌样本分为 6 组,每组含 6 ~ 8 个骨骼肌样本。6 组分别为电刺激组、无电刺激组、LY294002 组、Compound C 组、LY294002 + 电刺激组、Compound C + 电刺激组。

三、样本取材、孵育、电刺激和保存

采取颈椎脱臼法处死大鼠,分离出趾长伸肌,两端保留完整的肌腱,沿骨骼肌纵长切开数条肌膜。将骨骼肌两端的肌腱用细线结扎,以静息张力固定于电极架上,并垂直悬浮于 Kreb 液中,静置 30 min 使骨骼肌逐渐稳定。静置过程中始终保持 Kreb 液恒温 29℃,通 O₂。

静置 30 min 后,依照分组加入 LY294002 (终浓度 50 μ mol/L^[2]) 或 Compound C (终浓度 20 μ mol/L^[3]),继续以静息张力孵育 30 min,未加抑制剂组同样继续孵育 30 min。孵育过程中始终保持孵育液恒温 29℃,通 O₂。

孵育 30 min 后,给予电刺激使骨骼肌强直性收缩。电刺激条件:电压 25 V、电刺激频率 100 Hz,电刺

激脉冲时间 0.2 ms。共刺激 2 次,每次持续 5 min,中间休息 1 min,共 11 min^[4]。电刺激过程中仍保持孵育液恒温 29℃,通 O₂。

将骨骼肌取下并剪成两部分,一部分以锡箔纸包裹,置于液氮速冻,并转移至 -70℃ 冰箱,以备 Western Blot 实验用,另一部分置于 4% 多聚甲醛中固定过夜,第 2 天置于 20% 蔗糖中脱水过夜,第 3 天置于 30% 蔗糖中脱水过夜,第 4 天转移至 -70℃ 冰箱,以备免疫荧光实验用。

四、Western Blot 免疫印迹技术检测蛋白

取骨骼肌约 100 mg,剪碎后置于组织匀浆液 600 μ l (2% SDS, 50 mmol/L Tris-HCl pH6.8, 10% 甘油, 1 mmol/L Na₃VO₄, 1 mmol/L PMSF, 5 g/L Leupeptin) 中,采用 Polytron PT10-35 组织扩散仪制备组织匀浆 (7 500 ~ 10 000 g)。所得匀浆置于 4℃、12 000 r/min 离心 10 min,取上清液,采用改良 Lowery 法测定蛋白浓度,以备上样。

采用 Western Blot 法测定蛋白含量。取含等量总蛋白 (50 μ g) 的样品,100℃ 变性 10 min 后,进行 10% 不连续 SDS-PAGE 电泳。电泳毕,在 Bio-Rad Mini 湿式转移电泳槽以 100 V, 350 mA 转膜 2 h。转膜结束后,将聚偏二氯乙烯膜在 5% 脱脂奶粉中室温封闭 3 h,加一抗兔抗大鼠 Ser473 磷酸化 Akt 多克隆抗体 1:1000、兔抗大鼠 AMPK α Thr172 磷酸化单克隆抗体 1:1000、小鼠抗大鼠磷酸化 ERK 单克隆抗体 1:1000, 4℃ 孵育过夜。PBS 漂洗 3 次后,加二抗辣根过氧化物酶标记的山羊抗兔 IgG (磷酸化 ERK 用山羊抗鼠 IgG) 1:3000,室温孵育 3 h, PBS 漂洗 3 次, ECL 显影,暗室压片。同方法测总 Akt、AMPK、ERK 蛋白含量。采用 TotalLab V2.01 图像分析软件对显影后的条带灰度进行分析。

五、骨骼肌细胞 GLUT4 免疫荧光

取骨骼肌标本,以 OCT 冰冻切片包埋剂包埋,以 6 nm 厚度作骨骼肌横断面切片。用冷丙酮固定切片 30 min,再用 1% BSA 液封闭骨骼肌切片 30 min。切片滴加一抗兔抗大鼠 GLUT4 多克隆抗体 (用 1% BSA 液按 1:100 稀释),移至 4℃ 冰箱过夜。将切片用 PBS 液洗 3 次,每次 5 min。滴加二抗荧光标记的山羊抗兔抗体 (用 1% BSA 液按 1:50 稀释),室温孵 1.5 ~ 2 h。最后以 50% 甘油封片,盖玻片覆盖,荧光显微镜下观察^[5]。

六、统计学分析

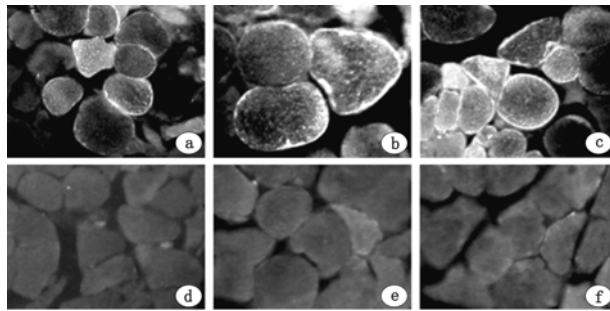
数据采用 Stata 7.0 统计软件进行分析。所有定量数据进行正态性和方差齐性检验。计量资料符合正态性分布者以 ($\bar{x} \pm s$) 表示,组间差异用 *t* 检验, *P* < 0.05 为差异有统计学意义。

结 果

一、电刺激对 OLETF 大鼠骨骼肌细胞 GLUT4 转

位的影响

免疫荧光结果显示:电刺激组骨骼肌细胞 GLUT4 在肌细胞膜上分布较无电刺激组明显增加。LY294002 + 电刺激组骨骼肌细胞 GLUT4 在肌细胞膜上分布较 LY294002 组明显增加。Compound C + 电刺激组骨骼肌细胞 GLUT4 在肌细胞膜上分布较 Compound C 组亦明显增加(图 1)。

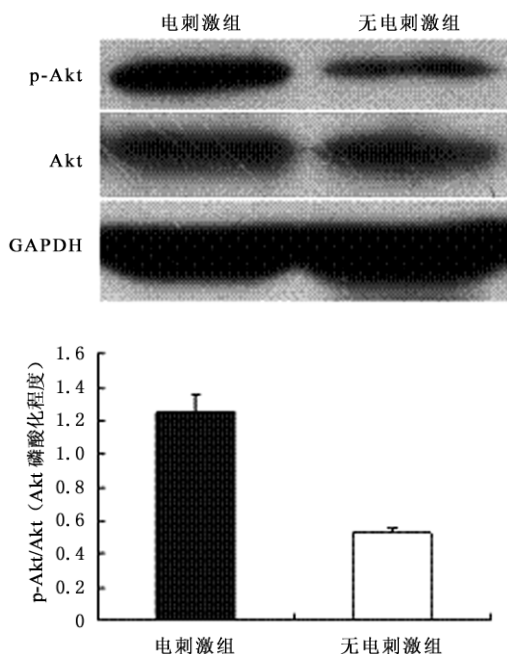


注:a 为电刺激组;b 为无电刺激组;c 为 LY294002 + 电刺激组;d 为 LY294002 组;e 为 Compound C + 电刺激组;f 为 Compound C 组

图 1 各组骨骼肌细胞 GLUT4 蛋白在肌细胞膜上分布

二、电刺激对 OLETF 大鼠骨骼肌细胞 Akt、AMPK、ERK 信号蛋白的影响

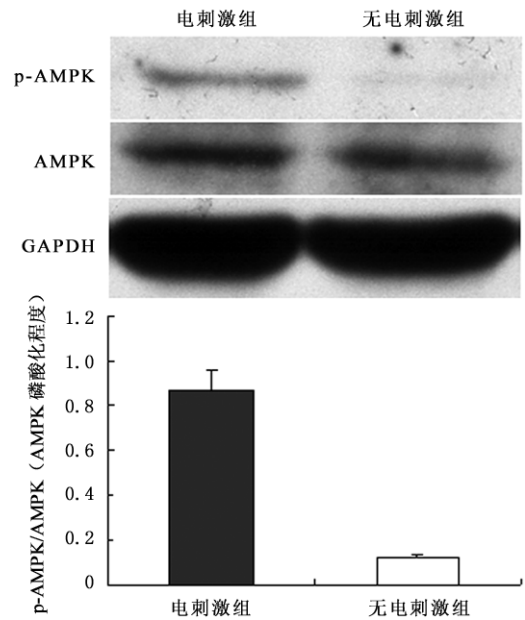
电刺激组和无电刺激组骨骼肌细胞均可检测到 Akt、AMPK、ERK 及其磷酸化蛋白的特异性条带。电刺激组骨骼肌细胞 Akt 磷酸化程度 (p-Akt/Akt) 较无电刺激组增加 2.39 倍, 差异有统计学意义 ($t = 11.03, P < 0.01$) (图 2); 电刺激组骨骼肌细胞中 AMPK 磷酸



注:与无电刺激组相比,电刺激组骨骼肌细胞中 p-Akt/Akt 明显增高, 差异有统计学意义 ($P < 0.01$)

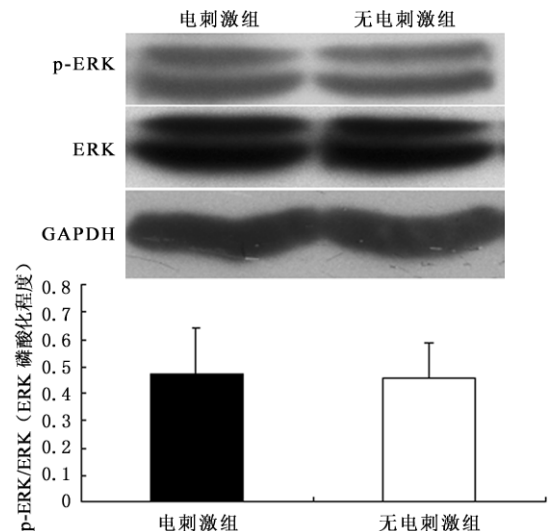
图 2 电刺激组与无电刺激组骨骼肌细胞中 Akt 磷酸化程度

化程度 (p-AMPK/AMPK) 较无电刺激组增加 7.26 倍, 差异有统计学意义 ($t = 13.28, P < 0.01$) (图 3); 而电刺激组骨骼肌细胞中 ERK 磷酸化程度 (p-ERK/ERK) 与无电刺激组相比, 差异无统计学意义 ($t = 0.57, P > 0.05$) (图 4)。



注:与无电刺激组相比,电刺激组骨骼肌细胞中 p-AMPK/AMPK 明显增高, 差异有统计学意义 ($P < 0.01$)

图 3 电刺激组与无电刺激组骨骼肌细胞中 AMPK 磷酸化程度



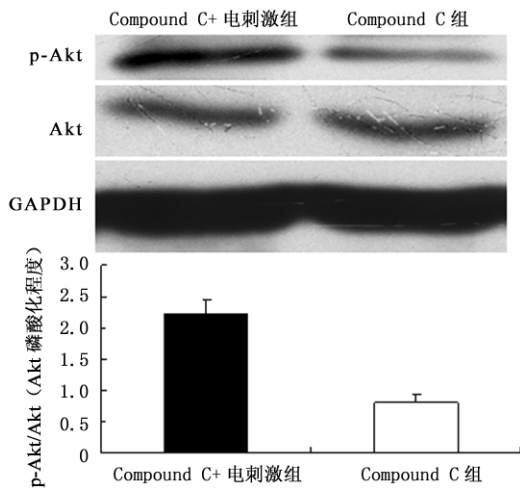
注:电刺激组与无电刺激组骨骼肌细胞中 p-ERK、ERK、p-ERK/ERK 差异均无统计学意义 ($P > 0.05$)

图 4 电刺激组与无电刺激组骨骼肌细胞中 ERK 磷酸化程度

三、抑制 AMPK 信号转导通路时,电刺激对 OLETF 大鼠骨骼肌细胞 PI3K/Akt 通路的影响

Compound C + 电刺激组和 Compound C 组大鼠骨骼肌细胞中均检测到 Akt 及其磷酸化蛋白的特异性条带。Compound C + 电刺激组骨骼肌细胞中 p-Akt/Akt

(Akt 磷酸化程度)较 Compound C 组增加 2.73 倍,差异有统计学意义($t=9.26, P<0.01$) (图 5)。

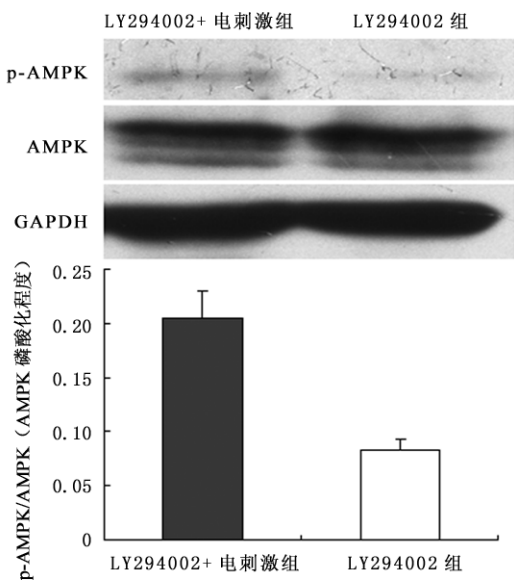


注:Compound C + 电刺激组骨骼肌细胞中 p-Akt 蛋白较 Compound C 组明显增加;而 Akt 蛋白无明显改变; p-Akt/Akt 亦明显增加,差异有统计学意义($P<0.01$)

图 5 Compound C + 电刺激组与 Compound C 组骨骼肌细胞中 Akt 磷酸化程度

四、抑制 PI3K 信号转导通路时,电刺激对 OLETF 大鼠骨骼肌细胞 AMPK 通路的影响

LY294002 + 电刺激组和 LY294002 组大鼠骨骼肌细胞均检测到 AMPK 及其磷酸化蛋白的特异性条带。LY294002 + 电刺激组骨骼肌细胞 p-AMPK/AMPK 较 LY294002 组增加 2.47 倍($t=7.59, P<0.01$) (图 6)。



注:LY294002 + 电刺激组骨骼肌细胞中 p-AMPK 蛋白较 LY294002 组明显增加;而 AMPK 蛋白无明显改变; p-AMPK/AMPK 亦明显增加,差异有统计学意义($P<0.01$)

图 6 LY294002 + 电刺激组与 LY294002 组骨骼肌细胞中 AMPK 磷酸化程度

讨 论

GLUT4 在骨骼肌葡萄糖转运过程中发挥重要的作用。GLUT4 通常循环于骨骼肌细胞膜和细胞浆。在运动或胰岛素刺激后,胞浆中的 GLUT4 转位至细胞膜上,从而发挥其生理作用。有学者报道,在糖尿病及肥胖状态下,不仅有 GLUT4 基因表达的异常,而且还存在 GLUT4 转位的缺陷^[6],而运动和胰岛素可通过多种途径对这些缺陷进行代偿,从而改善骨骼肌葡萄糖的摄取。我们的免疫荧光研究结果显示,OLETF 大鼠骨骼肌接受电刺激而收缩后,其细胞膜上 GLUT4 的分布较相应的无电刺激组显著增多,提示电刺激诱导的骨骼肌收缩与骨骼肌主动收缩类似,通过某种或多种途径促使骨骼肌细胞中的 GLUT4 转位至细胞膜上。无论是抑制 PI3K 信号转导通路,还是抑制 AMPK 信号转导通路,都不能阻止这一过程。

骨骼肌细胞 GLUT4 的转位受到很多因素的影响,其中,胰岛素和运动是调节骨骼肌细胞 GLUT4 转位的两个生理因素。有研究表明,胰岛素和骨骼肌收缩分别作用于细胞内不同的 GLUT4 存储池,而这两种存储池又分别接受不同的信号转导通路调节^[7]。在胰岛素介导的信号转导通路中,胰岛素首先与细胞膜上的胰岛素受体结合,引起胰岛素受体自身磷酸化及其 β 亚基酪氨酸蛋白激酶活化,后者使细胞内 IRS-1 酪氨酸残基磷酸化,从而激活磷脂酰肌醇 3 激酶 (phosphoinositide 3-kinase, PI3K) 途径或 Ras-丝裂素原激活蛋白激酶 (mitogen-activated protein kinase, MAPK) 途径^[8]。而在运动介导的信号转导途径中,骨骼肌收缩会引发细胞内发生两个变化:胞内 Ca^{2+} 增加和 AMP 与 ATP 之比增加,从而激活 AMP 激活的蛋白激酶 (AMP-activated protein kinase, AMPK),AMPK 则是运动促进骨骼肌细胞 GLUT4 转位过程中的关键信号蛋白^[7]。然而,对于 AMPK 下游的信号分子,我们还知之甚少。

本研究观察到电刺激诱导 OLETF 大鼠骨骼肌收缩后,激活骨骼肌细胞的 AMPK 信号转导通路,这与大多数学者的研究结果相吻合。近年来有研究发现,在运动促进骨骼肌摄取葡萄糖的过程中,AMPK 信号转导通路可能只是众多信号转导通路中的一种^[9]。还有研究表明,运动可以通过 AMPK 信号转导途径使 Akt 的底物 AS160 发生磷酸化,而 Akt 是胰岛素激活骨骼肌葡萄糖摄取过程中的关键信号蛋白^[10],因此,AMPK 也参与调节胰岛素信号通路下游的一些信号蛋白^[11]。这些研究表明,运动既可以激活骨骼肌细胞 AMPK 蛋白,也可以激活胰岛素信号通路中的下游信号蛋白,还有可能激活其他未知通路中的相关蛋白,从

而促进骨骼肌细胞 GLUT4 转位和葡萄糖摄取。本研究中,电刺激诱导 OLETF 大鼠骨骼肌收缩后,不仅使 AMPK 蛋白活性增加,而且使胰岛素信号通路中的 Akt 蛋白活性增加,这提示骨骼肌收缩不但可以直接激活 AMPK 蛋白,而且还可能通过某种途径激活胰岛素信号通路中的 Akt 蛋白,从而使 GLUT4 转位增加,这与我们前期研究中耐力运动干预的实验结果相吻合^[12]。Bruss^[13]以 AMPK 激动剂(5-aminoimidazole-4-carboxamide ribonucleoside, AICAR)孵育骨骼肌,发现 AICAR 可以激活 AMPK 蛋白,但没有激活 Akt 蛋白,而我们的研究表明,电刺激可以同时激活骨骼肌细胞 AMPK 蛋白和 Akt 蛋白,这提示电刺激诱导骨骼肌收缩并激活 Akt 蛋白可能并不完全依赖于 AMPK 蛋白的活性,即电刺激也可能通过 AMPK 之外的信号转导途径激活 Akt 蛋白。此外,我们前期研究表明,耐力运动可以提高 2 型糖尿病大鼠骨骼肌细胞 ERK 蛋白活性^[12],而本研究观察到电刺激后骨骼肌细胞 ERK 蛋白活性无明显改变,这可能是由于电刺激诱导的骨骼肌收缩不足以引起 MAPK 信号通路中的 ERK 蛋白活性发生改变。

骨骼肌收缩对 AMPK 和 PI3K/Akt 信号转导通路均有影响,并促进骨骼肌细胞 GLUT4 转位和葡萄糖摄取。为了进一步观察这两条信号转导通路之间的关系,本研究分别抑制两条信号转导通路,并观察电刺激对相关信号蛋白的影响。研究发现,以 LY294002 抑制 PI3K 信号转导通路时,电刺激仍可激活骨骼肌 AMPK 蛋白,而以 Compound C 抑制 AMPK 信号转导通路时,电刺激仍可激活骨骼肌 Akt 蛋白。这提示在电刺激促进骨骼肌细胞 GLUT4 转位的过程中,AMPK 和 PI3K 都参与其信号转导过程,因此,仅抑制其中一条信号通路不能阻止 GLUT4 的转位。

电刺激诱导的骨骼肌收缩可促进 GLUT4 转位至细胞膜,这一过程是通过 AMPK 和/或 PI3K 信号转导通路实现的,仅抑制其中一条信号转导通路不能阻止 GLUT4 的转位。

参 考 文 献

- [1] Herman MA, Kahn BB. Glucose transport and sensing in the maintenance of glucose homeostasis and metabolic harmony. *J Clin Invest*, 2006, 116:1767-1775.
- [2] Ethier MF, Cappelluti E, Madison JM. Mechanisms of interleukin-4 effects on calcium signaling in airway smooth muscle cells. *J Pharmacol Exp Ther*, 2005, 313:127-133.
- [3] Fryer LG, Parbu-Patel A, Carling D. Protein kinase inhibitors block the stimulation of the AMP-activated protein kinase by 5-amino-4-imidazolecarboxamide riboside. *FEBS Lett*, 2002, 531:189-192.
- [4] Ai H, Ralston E, Lauritzen HP, et al. Disruption of microtubules in rat skeletal muscle does not inhibit insulin-or contraction-stimulated glucose transport. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2003, 285: E836-844.
- [5] Huang J, Imamura T, Babendure JL, et al. Disruption of microtubules ablates the specificity of insulin signaling to GLUT4 translocation in 3T3-L1 adipocytes. *J Biol Chem*, 2005, 280:42300-42306.
- [6] Takeuchi M, Itakura A, Okada M, et al. Impaired insulin-regulated membrane aminopeptidase translocation to the plasma membrane in adipocytes of Otsuka Long Evans Tokushima Fatty rats. *Nagoya J Med Sci*, 2006, 68:155-163.
- [7] Jessen N, Goodyear LJ. Contraction signaling to glucose transport in skeletal muscle. *J Appl Physiol*, 2005, 99:330-337.
- [8] Thong FS, Dugani CB, Klip A. Turning signals on and off: GLUT4 traffic in the insulin-signaling highway. *Physiology*, 2005, 20:271-284.
- [9] Huang S, Czech MP. The GLUT4 glucose transporter. *Cell Metab*, 2007, 5:237-252.
- [10] Sarbassov DD, Ali SM, Sabatini DM. Growing roles for the mTOR pathway. *Curr Opin Cell Biol*, 2005, 17:596-603.
- [11] Um SH, D'Alessio D, Thomas G. Nutrient overload, insulin resistance, and ribosomal protein S6 kinase 1, S6K1. *Cell Metab*, 2006, 3:393-402.
- [12] 胡瑞萍, 吴毅, 胡永善. 运动对大鼠骨骼肌胰岛素信号转导蛋白表达和活性的影响. *中国康复医学杂志*, 2005, 20:409-411.
- [13] Bruss MD, Arias EB, Lienhard GE, et al. Increased phosphorylation of Akt substrate of 160 kDa (AS160) in rat skeletal muscle in response to insulin or contractile activity. *Diabetes*, 2005, 54:41-50.

(修回日期:2008-05-11)

(本文编辑:阮仕衡)

· 消息 ·

第八届“脑卒中患者运动再学习方案”学习班通知

北京大学第一医院物理医学康复科拟定于 2008 年 10 月举办第八届“脑卒中患者运动再学习方案”学习班,本班采用理论解析与实践操作相结合,授课内容强调理论循证性与临床技能实用性。授课时间为 2008 年 10 月 19 至 24 日(19 日全天报到);学费 1000 元(含资料费);食宿统一安排,费用自理。考试合格者授予国家级继续教育学分(10 学分)。报名材料请于 2008 年 9 月 30 日前寄至北京大学第一医院物理医学康复科黄真医师,邮编 100034;或 E-mail: huangzhen6313@yahoo.com.cn;联系电话:010-66551122-2455。本学习班报名人数限 50 人,以往参加过“中风病人运动再学习方案”学习班的学员优先。请学员按时到北京市西城区西什库大街 7 号,北大医院第二住院部教学楼一层报到。

北京大学第一医院物理医学康复科