

· 实验研究 ·

川芎嗪对脂多糖诱导巨噬细胞环氧化酶-2 表达和
心肌细胞凋亡的影响

万敬员 叶笃筠 吴 萍 张 力 龚 霞 黄云峰

摘要 目的 观察川芎嗪对脂多糖(LPS)诱导 RAW264.7 小鼠巨噬细胞环氧化酶-2(COX-2)基因表达和活性的影响,进一步研究川芎嗪对脂多糖诱导乳鼠心肌细胞凋亡的作用及其机制。方法 采用 RT-PCR 和免疫印迹检测巨噬细胞 COX-2 基因表达,酶联免疫分析其活性,并应用荧光显微镜技术对乳鼠心肌细胞凋亡进行检测,荧光分光光度计测定细胞内钙离子浓度。结果 10^{-6} mol/L, 10^{-5} mol/L 和 10^{-4} mol/L 川芎嗪可显著减少 LPS 刺激的巨噬细胞 COX-2 mRNA 和蛋白的表达($P < 0.05$, $P < 0.01$),但不同浓度川芎嗪对 COX-2 活性无明显作用; 10^{-5} mol/L 川芎嗪可显著降低心肌细胞内钙浓度,拮抗 LPS 诱导的乳鼠心肌细胞凋亡($P < 0.05$)。结论 川芎嗪具有抑制 LPS 诱导巨噬细胞 COX-2 表达和乳鼠心肌细胞凋亡的药理学效应。

关键词 川芎嗪;环氧化酶-2;凋亡

Effect of Tetramethylpyrazine on Lipopolysaccharides Induced Macrophage Cyclo-oxidase-2 Expression and Apoptosis of Cardiac Myocytes WAN Jing-yuan, YE Du-yun, WU Ping, et al *Department of Pathophysiology, Faculty of Basic Medical Sciences, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan (430030)*

Objective To observe the effect of tetramethylpyrazine (TMP) on lipopolysaccharides (LPS) induced macrophage cyclo-oxidase-2 (COX-2) gene expression and activity in RAW264.7 mice, and to further investigate the effect and mechanism of TMP on LPS induced apoptosis of cardiac myocytes in suckling mice. **Methods** RT-PCR and Western Blot (WB) were used to investigate the macrophage COX-2 gene expression, ELISA was used to measure its activity, fluorescence microscopy was used to determine the apoptosis of murine neonatal cardiac myocyte, and fluorescence spectrophotometry was used to detect the concentration of intracellular calcium ion (Ca^{2+}). **Results** TMP of 10^{-6} mol/L could significantly reduce the COX-2 mRNA and protein expression ($P < 0.05$), in 10^{-5} mol/L and 10^{-4} mol/L could significantly decrease the COX-2 expression ($P < 0.01$) stimulated by LPS, but couldn't influence the activity of COX-2 by different TMP concentration. TMP in 10^{-5} mol/L could significantly lower the concentration of intracellular Ca^{2+} in cardiac myocyte, and antagonize the LPS induced apoptosis of cardiac myocyte in suckling mice ($P < 0.05$). **Conclusion** TMP has the pharmacological effect in inhibiting LPS induced macrophage COX-2 expression and apoptosis of cardiac myocyte in suckling mice.

Key words tetramethylpyrazine; cyclo-oxidase-2; apoptosis

环氧化酶-2(cyclooxygenase-2, COX-2)是催化花生四烯酸生成前列腺素类物质的限速酶,可被炎症因子、生长因子、原癌基因、过氧化体增殖物、脂多糖、促瘤物等诱导表达,参与肿瘤生成、免疫抑制、细胞凋亡、

炎症发生等病理过程^[1]。因此,COX-2 成为临床治疗相关疾病的一个关键的药物靶点。但近年来发现 COX-2 抑制药的应用可导致正常心肌细胞凋亡,引发心血管疾病。基于川芎嗪(tetramethylpyrazine, TMP)是传统的活血化瘀药物,并且有明显的抗凋亡作用,因此,本研究旨在通过离体细胞水平探讨川芎嗪对脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)诱导 RAW264.7 巨噬细胞 COX-2 和乳鼠心肌细胞凋亡的影响。

基金项目:国家自然科学基金资助项目(No. 30200373, 30371415)

作者单位:华中科技大学同济医学院病理生理学系(武汉 430030)

通讯作者:叶笃筠, Tel: 027-83657984, E-mail: yedy@mails. timu.

edu. cn

材料和方法

1 药物与试剂 川芎嗪(常州制药厂,批号 971210),脂多糖、花生四烯酸、PGE₂ 酶免试剂盒均购自 Sigma 公司,Fluo-3 acetoxymethyl ester(AM)、bromo-A23187 为 Calbiochem 公司产品,NS398 购自 Cayman 公司,Trizol 总 RNA 提取试剂、DMEM 培养基购自 GIBCO Brl 公司,Celecoxib 为美国希尔公司产品,胎牛血清为浙江三利生物制品厂,COX-2 多克隆抗体购自 Santa Cruz 公司,碱性磷酸酶试剂盒为深圳晶美公司产品,COX-2 引物(上游:5' TGG TGC CTG GTC TGA TGA TG3',下游:5' GCA ATA CGA TTT TGG TAC TG3',产物长度 252bp)、 β -actin(上游 5'-GGC TAC AGC TTC ACC ACC AC-3',下游 5'-TAC TCC TGC TTG CTG ATC CAC-3',产物长度为 498bp)均由上海博亚公司合成,凋亡检测试剂盒购自江苏碧云天公司。

2 RAW264.7 巨噬细胞培养 RAW264.7 小鼠巨噬细胞(购自中国科学院上海细胞所)用含 10% 的胎牛血清,2mmol/L L-谷氨酰胺,100U/ml 青霉素和链霉素的 DMEM 培养液在 37℃、5% CO₂ 6 孔板中培养,在实验前换用新鲜无血清的 DMEM 培养液,调整细胞浓度为 1×10^9 /L。按实验设计将培养细胞分成 5 组进行 COX-2 mRNA 和蛋白的检测,(1)对照组:用 0.2% Me₂SO 处理 9h,(2)LPS 处理组:1 μ g/ml LPS 处理 9h,(3)10⁻⁶mol/L TMP 干预组:1 μ g/ml LPS 处理 6h 后加 10⁻⁶mol/L TMP 共同处理 3h,(4)10⁻⁵mol/L TMP 干预组,(5)10⁻⁴mol/L TMP 干预组,后两组处理方法同第 3 组。

3 COX-2 mRNA 检测 采用逆转录聚合酶链反应(RT-PCR)技术,依据 RNA 提取液 Trizol 试剂盒说明提取 6 孔板培养细胞中总 RNA,取 2 μ g 进行逆转录合成 cDNA。利用 COX-2 引物和内参 β -actin 引物作 PCR 扩增,扩增产物在 1% 琼脂糖凝胶电泳,COX-2 扩增片段长度为 252bp, β -actin 为 498bp,经图像分析系统处理,以 COX-2 和 β -actin 的平均光密度比值进行半定量分析。

4 COX-2 蛋白检测 采用免疫印迹法检测 COX-2 蛋白,6 孔板培养细胞用蛋白裂解液裂解、超声破碎,取上清液,变性。上样前测量样品中总蛋白含量,以 8% 聚丙烯酰胺凝胶电泳分离,转膜,封闭后,加入一抗,稀释度为 1:1 000,4℃ 孵育过夜。二抗稀释度 1:500,用碱性磷酸酶试剂盒显色,结果经扫描输入计算机进行分析。

5 COX-2 活性检测 采用酶联免疫法,RAW264.7 巨噬细胞用 LPS(1 μ g/ml)或 0.2% Me₂SO (对照组)处理 6h 后,LPS 诱导 COX-2 的表达,然后分别加入含不同浓度的 TMP 或 NS398 的新鲜培养液处理 30min,倒掉培养液,重新加入含 10 μ mol/L 的花生四烯酸,30min 后收集培养液,按照酶免试剂盒说明检测前列腺素 E₂(prostaglandin E₂, PGE₂)水平,COX-2 活性用 PGE₂ 的生成量与总蛋白含量的比值来标准化。为了评价 PGE₂ 的生成量是否与 COX-2 有关,我们用 COX-2 特异性活性抑制工具药 NS398 和 TMP 作对比性研究。收集细胞培养液上清液,按照 PGE₂ 酶免试剂盒说明检测 PGE₂ 水平,COX-2 活性用 PGE₂ 的生成量与总蛋白含量的比值来表示。

6 乳鼠心肌细胞分离和培养 取出生 1~3 天的 Wistar 大鼠(华中科技大学同济医学院实验动物中心提供)心脏,剪成 1mm × 1mm × 1mm 大小的组织块,用 0.125% 胰蛋白酶消化、离心收集细胞,加入含 15% 胎牛血清的 DMEM 培养液在 37℃、5% CO₂ 培养箱中孵育 2h,用差速贴壁法除去非心肌细胞。收集细胞悬液,加入培养瓶中在 37℃、5% CO₂ 培养箱中培养。在培养最初两天,加入 0.1mmol/L 的 5-溴脱氧尿嘧啶核苷,以抑制非心肌细胞的生长。用上述方法培养的细胞镜下可见粗糙的颗粒状胞浆和小的浓缩核,证明为心肌细胞,符合实验要求。培养状态良好的乳鼠心肌细胞实验前换用无血清 DMEM,使细胞处于静止状态。调整浓度为 1×10^9 /L。

7 心肌细胞凋亡检测 上述培养的乳鼠心肌细胞随机分成 4 组,(1)空白对照组:用无血清 DMEM 单独培养 36h,(2)LPS 处理组:加 1 μ g/ml LPS 处理 36h,(3)TMP 干预组:1 μ g/ml LPS 处理 24h,再分别加 10⁻⁵mol/L 的 TMP 共同培养 12h,(4)COX-2 特异性抑制剂 Celecoxib 对照组:1 μ g/ml LPS 处理 24h,再分别加 10⁻⁵mol/L 的 Celecoxib 共同培养 12h。采用荧光显微技术按凋亡检测试剂盒说明对盖玻片细胞进行 Hoechst 33258 染色,待细胞充分显色后用固定液固定,立即在荧光显微镜下进行拍照和图像分析,检测心肌细胞凋亡情况。在同一放大倍数下每组细胞随机选取 5 幅图像,分别计算各组细胞的凋亡率。

8 心肌细胞内钙离子浓度测定 分离和培养良好的乳鼠心肌细胞加入 1ml 分析缓冲液(4.3mmol/L Na₂HPO₄, 24.3mmol/L NaH₂PO₄, 4.3mmol/L K₂HPO₄, 113mmol/L NaCl, 5mmol/L 葡萄糖, 0.5% BSA, 2mmol/L 丙磺舒; pH7.4)和 10 μ mol/L fluo-3/AM 避光 37℃ 温育 1h。负载后的细胞 1 000r/min,离心 10min,用分析缓冲

液洗两次。然后用含 1mmol/L Ca^{2+} 的分析缓冲液再次悬浮细胞,调整浓度为 $8 \times 10^5/\text{ml}$,随机分成 4 组,(1)空白对照组:单独培养 3h,(2)LPS 处理组:加 $1\mu\text{g/ml}$ LPS 处理 3h,(3)TMP 干预组: $1\mu\text{g/ml}$ LPS 处理 1h,再分别加不同浓度的 TMP 共同处理 2h,(4)COX-2 特异性抑制剂 Celecoxib 对照组: $1\mu\text{g/ml}$ LPS 处理 1h,再分别加不同浓度的 Celecoxib 共同处理 2h。最后 37°C 荧光分光光度计下分别选定激发光 506nm 和发射光 562nm 波长的光源测定心肌细胞内 fluo-3 的荧光强度 F 值。细胞内 Ca^{2+} 浓度用公式 $[\text{Ca}^{2+}]_i = K_d (F - F_{\min}) / (F_{\max} - F)$ 计算, $K_d = 450\text{nmol/L}$, $F_{\max}$ 为在乳鼠心肌细胞悬液中加入 $1\mu\text{mol/L}$ bromo-A23187 后的荧光强度, $F_{\min}$ 为加入 5mmol/L EGTA 后的荧光强度。

9 统计学方法 采用 SAS 7.0 软件包进行数据处理,采用 t 检验进行比较,显著性差异水平以 $P < 0.05, 0.01$ 为标准。

结 果

1 不同浓度 TMP 对 LPS 刺激的 RAW264.7 巨噬细胞 COX-2mRNA 表达的影响 TMP 随浓度依赖性地抑制 LPS 刺激的 COX-2mRNA 表达(见图 1),在 10^{-6}mol/L TMP 作用下 COX-2mRNA 表达低于单纯 LPS 刺激组 ($P < 0.05$), 10^{-5}mol/L TMP COX-2 mRNA 表达明显低于单纯 LPS 刺激组 ($P < 0.01$),最大的药物效应为 10^{-4}mol/L 。另外分别用不同浓度的 TMP 单独处理 6h 后,COX-2mRNA 表达相对单纯空白对照组无差异(结果未展示)。

2 不同浓度 TMP 对 LPS 刺激的 RAW264.7 巨噬细胞 COX-2 蛋白表达的影响 见图 2。 10^{-6}mol/L 、

10^{-5}mol/L 和 10^{-4}mol/L 能显著抑制 LPS 刺激的 COX-2 蛋白表达 ($P < 0.01$),实验结果显示明显的量效关系。

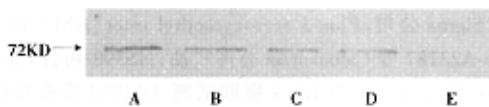
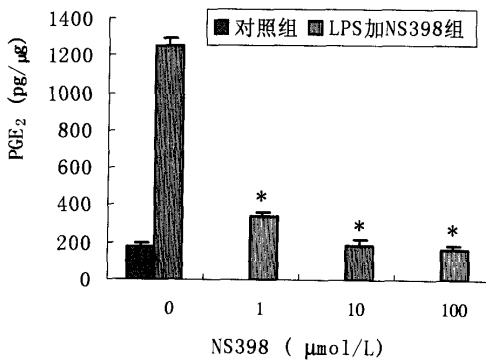
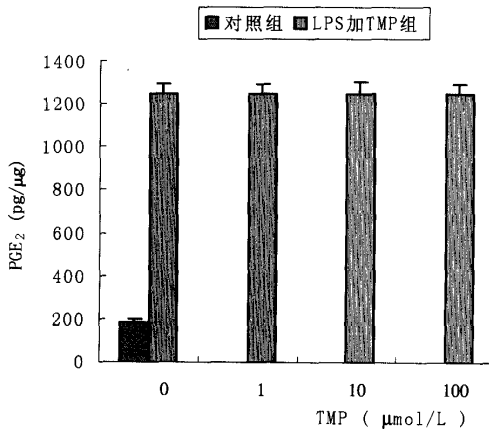


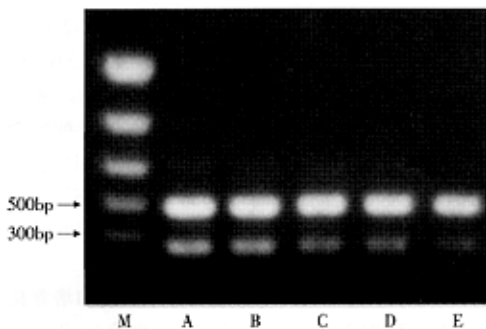
图 2 TMP 对 LPS 刺激的 RAW264.7 巨噬细胞 COX-2 蛋白表达的作用

3 不同浓度 TMP 对 LPS 刺激的 RAW264.7 巨噬细胞 COX-2 活性的影响 见图 3。数据显示不同浓度的 TMP 对 LPS 刺激的 RAW264.7 巨噬细胞 PGE_2 的生成量无明显的影响。而 NS398 在 10^{-6}mol/L 就可完全阻断诱导性 COX-2 催化的 PGE_2 的生成量。免疫印迹分析证明用 TMP 或 NS398 处理乳鼠心肌细胞 30min 后 COX-2 蛋白水平未改。



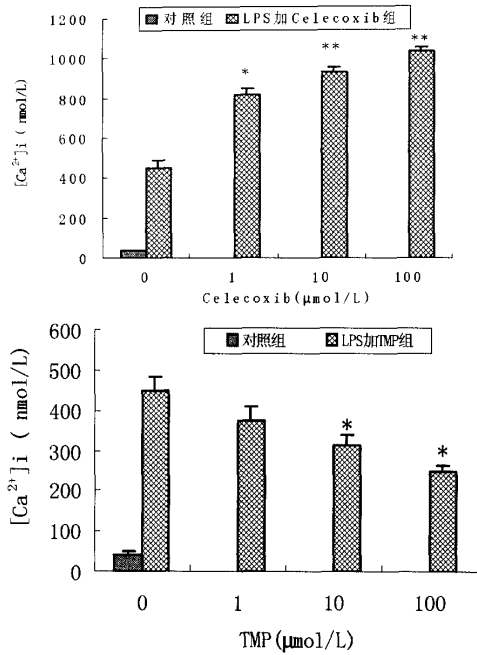
注:与单纯 LPS 组比较,* $P < 0.01$; $n = 6$

图 3 TMP 和 NS398 对 LPS 刺激的 RAW264.7 巨噬细胞 COX-2 活性的影响



注: A. 单纯 LPS 组; B. $\text{LPS} + 10^{-6}\text{mol/L}$ LMP; C. $\text{LPS} + 10^{-5}\text{mol/L}$ LMP; D. $\text{LPS} + 10^{-4}\text{mol/L}$ LMP; E. 空白对照组; B 与 A 比较, $P < 0.05$; C 和 D 分别与 A 比较, $P < 0.01$; 图 2 同

图 1 TMP 对 LPS 刺激的 RAW264.7 巨噬细胞 COX-2mRNA 表达的作用



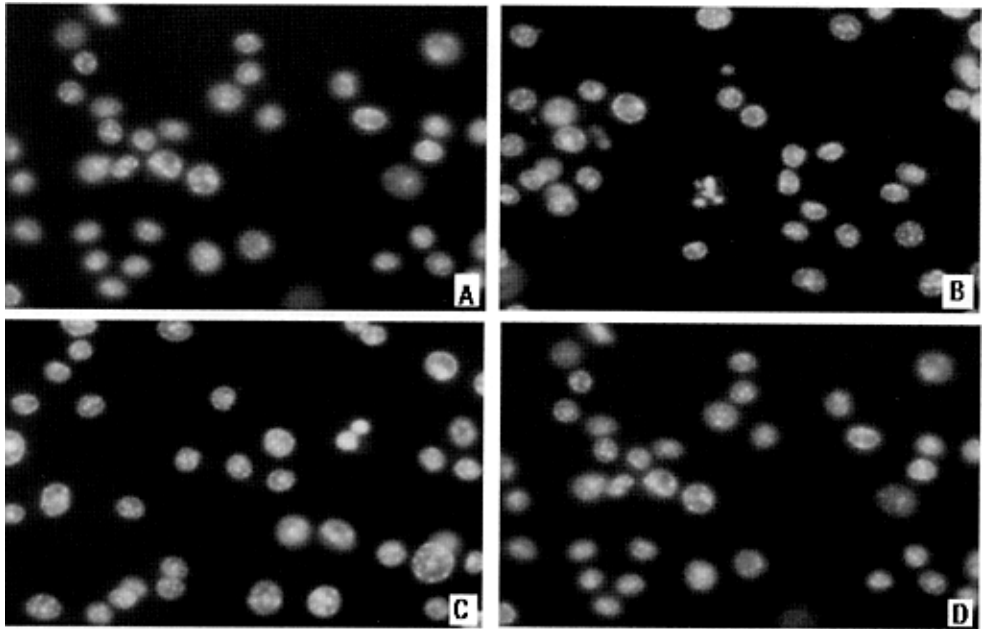
注:与单纯 LPS 组比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$; $n = 6$
图 4 荧光分光光度计检测乳鼠心肌细胞内钙离子浓度

4 TMP 和 COX-2 特异性抑制剂对 LPS 刺激的乳鼠心肌细胞内钙离子浓度的影响 fluo-3/AM 负载后的乳鼠心肌细胞,处理后细胞内钙浓度:结果见图 4。TMP 剂量依赖性降低细胞内钙浓度;Celecoxib 则促进细胞内钙浓度。

5 TMP 和 COX-2 特异性抑制剂对 LPS 诱导的乳鼠心肌细胞凋亡的作用 见图 5。LPS 加 TMP 组,在 10^{-5}mol/L TMP 作用下细胞凋亡率为 5.6%,与单纯 LPS 作用组 (10.2%) 比较差异有显著性 ($P < 0.05$);LPS 加 Celecoxib 组,在 10^{-5}mol/L Celecoxib 作用下细胞凋亡率为 17.6%,与单纯 LPS 作用组比较,差异有显著性 ($P < 0.01$);空白对照组细胞凋亡率为 2.5%。

讨 论

LPS 是革兰氏阳性菌细胞壁内毒素的主要成分,可以引起脓毒症休克,是临床细菌感染患者死亡的首要原因。业已明确,脂多糖与 LPS 结合蛋白 (LPB) 结合后锚定至细胞膜 CD14 分子上,经 Toll 样受体 (Toll like receptor-4, TLR4) 及其下游分子激活核因子 κB (NF- κB)。NF- κB 的激活可促进早期反应基因如



注:A.空白对照组;B.1 $\mu\text{l/ml}$ LPS 处理组;C.1 $\mu\text{l/ml}$ LPS 加 10^{-5}mol/L TMP 组;D.1 $\mu\text{l/ml}$ LPS 加 10^{-5}mol/L Celecoxib 组;C 与 B 比较, $P < 0.05$;D 与 B 比较, $P < 0.01$

图 5 荧光显微镜检测乳鼠心肌细胞凋亡的结果 ($\times 200$)

COX-2 等的表达,进而引发一系列炎症介质产生,严重时可导致全身炎症反应综合征。而全身炎症反应综合征的发生,脂溶性炎症介质又处于一个核心的地位^[2],因此,临床上把促进脂溶性炎症介质产生的关键限速酶 COX 的抑制剂作为治疗炎症性疾病的有效药物。

目前已知,环氧化酶(COX)存在两种异构体,COX-1 属于结构酶,在细胞中稳定表达,与机体一系列生理功能如血小板激活、胃肠道的保护及肾脏功能相关,COX-2 为诱导酶可被多种刺激因子诱导产生,参与许多病理生理过程。非甾体类消炎药作为 COX 酶的非特异性抑制剂广泛用于临床,但由于其也抑制 COX-1,引起胃肠道的不良反应,故逐步被 COX-2 特异性抑制剂如 Vioxx 和 Celecoxib 所取代^[3]。然而,临床应用和基础研究发现 COX-2 特异性抑制剂可诱导心肌等实质细胞凋亡,导致心血管疾病风险性增加^[4,5]。因此,重新寻找既能抑制 COX-2 又能拮抗心肌等实质细胞凋亡的药物就显得尤其重要。

TMP 是中药伞形科植物川芎的有效成分,化学结构为四甲基吡嗪,作为活血化瘀药物广泛应用于临床各科,如降低肺动脉高压,抗慢性肝炎,治疗妊娠高血压综合征和心脑血管疾病^[6]。同时也发现,它可抑制许多细胞因子和炎症介质,如 IL-6、TNF- α 、IL-1、NO 等^[7],拮抗心肌细胞的凋亡^[8]。基于其广泛的药理学效应,本研究探讨 TMP 对 LPS 诱导的 COX-2 表达和活性的影响。并与 COX-2 选择性抑制剂 NS398 作为对照,以期找到这些中西药作用的异同性,为临床应用提供实验依据。先前的研究表明 NS398 作为一种工具药特异性抑制 COX-2 活性阻断前列腺素类物质的生成,进而反馈性促进 COX-2 基因的表达^[9]。本研究结果发现,TMP 对 LPS 刺激的 COX-2 的 mRNA 和蛋白表达有明显的抑制作用,但其对 COX-2 的活性却无影响。这一结果提示,中药 TMP 是从基因表达水平抑制 COX-2,因此其作用缓慢而持久;而 COX-2 特异性抑制剂则直接阻断活性,因此其作用快但易反跳。至于 TMP 是直接抑制 LPS 刺激的 COX-2 的转录和翻译过程或是通过上游信号产生抑制作用还不清楚,田晔^[10]等发现 TMP 可影响 NF- κ B 的表达,本实验室先期研究发现 TMP 可抑制 TLR-4 的表达,这些实验结果说明 TMP 可能通过阻断 LPS 的信号传导而发挥作用。

近年来,临床用药导致实质细胞凋亡的不良反应日益被人们所重视。大量的证据表明,具有广谱抗炎和抗癌效应的 COX-2 特异性抑制药在长期治疗过程

中导致心肌等实质细胞凋亡,增加心血管的风险性。鉴于此,本实验以 COX-2 特异性抑制药 Celecoxib 和 TMP 对照性研究其对 LPS 诱导乳鼠心肌细胞凋亡的影响。其结果显示 Celecoxib 可加重 LPS 诱导的乳鼠心肌细胞凋亡,而 TMP 则拮抗 LPS 诱导的乳鼠心肌细胞凋亡。Celecoxib 和 TMP 互为相反的作用效果其具体作用靶点是否相同?其作用机制是否存在某种联系?均有待进一步研究。据报道 COX-2 抑制剂可抑制肌浆网 Ca^{2+} -ATP 酶导致细胞内钙超载,进而启动钙依赖性细胞凋亡程度^[11],为此笔者用荧光分光光度计检测细胞内钙浓度,发现用 Celecoxib 处理 LPS 刺激的乳鼠心肌细胞其细胞内钙离子浓度明显增高,TMP 处理后则乳鼠心肌细胞内钙离子浓度降低。因此我们认为 Celecoxib 和 TMP 对 LPS 诱导的乳鼠心肌细胞凋亡的不同效应,可能是与其对细胞内钙离子浓度的影响结果不同所致。

总之,本研究结果提示 TMP 能抑制 LPS 诱导小鼠 RAW264.7 巨噬细胞 COX-2 基因的表达,同时又能改善 LPS 诱导的心肌细胞凋亡,并且它和 COX-2 特异性抑制药的作用存在明显差异。因此,TMP 可望作为一种不良反应小的抗炎药物为今后临床研究和应用提供一些新的途径,同时也为进一步探讨相关中药的作用机制奠定了基础。

参 考 文 献

- 1 Singh Balraj, Lucei Anthony. Role of cyclooxygenase-2 in breast cancer. *J Surg Res* 2002;108:173—179.
- 2 Nathan C. Points of control in inflammation. *Nature* 2002;420:846—852.
- 3 Stichtenoth DO, Frolich JC. The second generation of inhibitors. *Drugs* 2003;63(1):33—45.
- 4 Howes LG, Krum H. Selective cyclooxygenase-2 inhibitors and myocardial infarction. *Drug Safety* 2002;25(12):829—835.
- 5 Mukherjee D, Nissen SE, Topol EJ. Risk of cardiovascular events associated with selective COX-2 inhibitors. *JAMA* 2001;286(8):954—959.
- 6 徐 浩,史大卓,管昌益,等.川芎嗪的临床应用和药理作用. *中国中西医结合杂志* 2003;23(5):376—379.
Xu H, Shi DZ, Guan CY, et al. Effect of clinic and pharmacology of tetramethylpyrazine. *Chin J Integr Tradit West Med* 2003;23(5):376—379.
- 7 Liu YH, Liu YF, Guo XX, et al. Current studies on anti-endotoxic chemical components of traditional Chinese medicine in China. *Acta Pharmacol Sin* 2001;22(12):1071—1077.
- 8 李 源,段 红,王天成,等.川芎嗪对再灌注大鼠心肌细胞

- c-fos 基因表达及凋亡的影响. 心脏杂志 2000;12(3):213—215.
- Li Y, Duan H, Wang TC, et al. Effects of tetramethylpyrazine on c-fos expression and apoptosis of myocardial cells in myocardial ischemic reperfusion in rats. Chin Heart J 2000;12(3):213—215.
- 9 Xu XM, Garcia LS, Chen XM, et al. Suppression of inducible cyclooxygenase 2 gene transcription by aspirin and sodium salicylate. Proc Natl Acad Sci 1999; 96: 5292—5297.
- 10 田 晔, 窦从让. 川芎嗪对原代神经细胞缺血性再灌注后核因子 κ B 表达的影响及其意义. 中华临床杂志 2002;2(11):16—17.
- Tian Y, Dou CR. The effect of ligustrazine on the expression of NF- κ B in primary cultured neurons after ischemia-reperfusion injury. J Chin Clin 2002;2(11):16—17.
- 11 Johnson AJ, Hsu AL, Lin HP, et al. The cyclooxygenase-2 inhibitor celecoxib perturbs intracellular calcium by inhibiting endoplasmic reticulum Ca^{2+} -ATPases: a plausible link with its anti-tumor effect and cardiovascular risks. Biochem J 2002; 366:831—837.
- (收稿:2004-04-26 修回:2004-06-15)

· 征订启事 ·

《浙江中医杂志》与《养生月刊》2005 年征订启事

《浙江中医杂志》创刊于 1956 年 12 月, 历史悠久, 为中国医学核心期刊, 中国中文核心期刊, 中国自然科学核心期刊。刊物突出中医特色, 理论实践并重, 提高普及兼顾, 内容务求真实, 栏目不断更新。近 50 年来, 在发掘整理祖国医药宝库, 总结名老中医经验, 交流临床心得, 扶植中医人才等方面, 作出了举世瞩目的贡献。开设的栏目有: 名医真传、经验交流、学术探讨、实验研究、方药运用、专科擅膏、证治探求、医史新获、文献综述等。月刊, 每期定价: 3.50 元。邮发代号: 国内 32—11, 国外 M185。

《养生月刊》(原《气功》杂志) 以介绍科学实用的保健知识和传统的中医养生理论, 报道国内外科学研究的成果与信息, 崇尚科学, 反对迷信, 努力为保障人民的心身健康作出新贡献为宗旨。刊物的特色为文化色彩浓厚, 内容科学实用, 栏目丰富多彩, 版面生动活泼, 聘请名家主笔, 突出科学性、实用性、可读性。开设的栏目有: 养生讲席、精神卫生、传统国术、旅游天地、文化乐园、养生秘籍、美容金页、收藏乐趣等。月刊, 大 32 开, 96 页, 每期定价: 3.50 元。邮发代号: 国内 32—12, 国外 M491。

以上期刊国内读者在全国各地邮局(所)均可订阅, 国外读者可向中国国际图书贸易总公司(北京 399 信箱)联系订阅。浙江中医杂志社地址: 浙江省杭州市天目山路 132 号, 邮政编码: 310007; 电话: 0571—88082214 转 3409; 网址: www.zjtcn.gov.cn; 电子信箱: zjzz@chinajournal.net.cn

《安徽中医学院学报》征订启事

《安徽中医学院学报》是国内外公开发行的中医药学术刊物(ISSN:1000—2219, CN:34—1066/R), 创刊已 20 余年。以提高为主, 注重实用, 立足安徽, 面向全国。主要反映最新的中医药科研、临床、教学成果与经验。辟有理论研究、中医基本概念论析、安徽近代名老中医学术精华、新安医学研究、临床研究、临床经验、针灸经络、方药研究、实验研究、文献研究、教学

研究、综述等栏目。可供广大中医药人员、中西医结合工作者、中医院校师生及自学深造中医者参阅。

《安徽中医学院学报》是中国科技核心期刊、中国科技论文统计源期刊、中国科学引文数据库来源期刊和中国学术期刊综合评价数据库来源期刊, 被《中文科技资料目录·医药卫生》、万方数据库、中国期刊网、《中文生物医学期刊文献数据库-CM-CC》、《中文科技期刊数据库》(科学技术部西南信息中心)、《中文科技资料目录·中草药》、《中国医学文摘·中医》、《中国药学期刊文摘》和《中国医学文摘·护理学》收录。

《安徽中医学院学报》为双月刊, 双月 1 日出版。国际标准 A4 开本, 64 内页。2005 年每册国内定价为 4.00 元, 全年 24.00 元。欢迎广大读者及时到当地邮局(所)订阅, 国内代号 26—23。国外读者请与中国国际图书贸易总公司(北京 399 信箱)联系, 国外代号 BM6534。

《安徽中医学院学报》编辑部地址: 合肥市梅山路安徽中医学院内(230038), 电话: (0551)5169048, 传真: (0551)5169046, E-mail: xbbjb@ahctm.edu.cn, 网址: http://www.AHZY.china-journal.net.cn

《新中医》征订启事

《新中医》(月刊)是由国家中医药管理局主管、广州中医药大学主办的一份国家级中医药学术刊物, 是被中华人民共和国新闻出版总署列入“中国期刊方阵—双效期刊”重点建设的刊物。《新中医》是中国生物医学核心期刊, 2004 年《新中医》再次被确认为中国中文核心期刊, 是一份被学术界认定的核心刊物。

从 2005 年第 1 期起, 《新中医》将增加页码, 扩充信息量, 由原来每期 80 页增加到每期 96 页, 并进一步调整专栏, 规范编排, 尽最大努力满足广大读者的需要, 欢迎广大读者订阅。2005 年定价: 每期 7.8 元, 全年 12 期, 共 93.60 元。国内邮发代号: 46—38, 国外代号: M186。漏订者可直接向编辑部发行科订购, 地址: 广州市机场路 12 号大院广州中医药大学内, 邮政编码: 510405。