

黑蒜提取液对 Lewis 肺癌细胞株的放疗增敏作用

杨桂青 王 东 王义善 王园园 杨 柯

摘要 **目的** 探讨黑蒜提取液(black garlic extract, BGE)对肺癌 Lewis 细胞放射敏感性的影响。**方法** 采用 MTT 法测定 BGE 作用后肺癌 Lewis 细胞增殖率,平板集落形成实验观察 BGE 联合放疗对细胞克隆形成率的影响,Hoechst 荧光染色观察细胞形态的变化,流式细胞仪检测 BGE 作用后细胞周期的变化,Real time-PCR 检测 B 淋巴细胞瘤-2(bcl-2)、凋亡促进蛋白(bax)mRNA 的表达。**结果** BGE 对肺癌 Lewis 细胞株生长有明显的抑制作用。BGE 联合⁶⁰Co γ 射线照射能够促进 Lewis 细胞凋亡,诱导 Lewis 细胞的 G₂/M 期阻滞,明显降低 bcl-2 表达,促进 bax 高表达。**结论** 黑蒜提取液对肺癌 Lewis 细胞具有放射增敏作用,其增敏机制可能与其改变细胞周期及影响 bcl-2、bax 蛋白表达有关。

关键词 黑蒜提取液;Lewis 肺癌细胞;放射敏感性

Radiosensitization Effect of Black Garlic Extract on Lung Cancer Cell Line Lewis Cells YANG Gui-qing, WANG Dong, WANG Yi-shan, WANG Yuan-yuan, and YANG Ke National Key Department of Tumor Treatment by Integrative Medicine/Non-traumatic Center for Tumor Diagnosis and Treatment of the Whole Army, 107th Hospital of the People's Liberation Army, Shandong (264002), China

ABSTRACT **Objective** To explore the radiosensitization effect of black garlic extract (BGE) on lung cancer cell line Lewis cells. **Methods** The inhibition rate of lung cancer cells after BGE action was detected by MTT. Effect of BGE combined radiotherapy on the colony formation rate was observed by cloning formation assay. Changes of the cell morphology were observed by Hoechst staining. Changes of the cell cycle were detected by flow cytometry. Real time PCR was used to detect mRNA expressions of bcl-2 and bax. **Results** BGE could have significant inhibitory action on the growth of lung cancer Lewis cells. The combination of BGE and radiotherapy (by ⁶⁰Co γ) significantly induced Lewis cells' apoptosis in G₂/M stage, obviously decreased the expression of bcl-2, and up-regulated the expression of bax. **Conclusions** BGE could sensitize the lung cancer Lewis cells to ionizing irradiation. This effect might be probably caused by changing the cell cycles and affecting expressions of bax and bcl-2.

KEYWORDS black garlic extract; Lewis lung carcinoma cell; radiosensitization

肺癌是目前严重影响人类健康的恶性肿瘤,放射治疗是肺癌的重要治疗手段之一。放射增敏剂可以增加放射治疗对肿瘤细胞的杀伤力。随着中医学与现代医学的发展,中西医结合治疗肿瘤已经逐渐被接受并广泛应用于临床。中药在肿瘤防治中具有不可替代的作用,中药增敏剂已成为目前肿瘤研究的热点。黑蒜是将新鲜优等生蒜投入到发酵箱,采用特殊技术经过一系列特殊工艺加工而成^[1]。黑蒜

中含有硫化合物大蒜素、S-烯丙基半胱氨酸、艾乔恩、氨基酸、硒、锌及多种维生素等。现代医学研究证明,黑蒜具有抑制亚硝胺合成、抗氧化、保护机体 N-亚硝胺氧化损伤、促肿瘤细胞凋亡等作用^[2,3]。已有研究证明黑蒜的主要成分大蒜素具有抗肿瘤和辐射保护作用^[4],但黑蒜对肺癌的放射增敏研究未见报道。本实验通过观察黑蒜提取液联合钴 60 (⁶⁰Co) γ 射线对肺癌 Lewis 细胞株的影响,研究黑蒜提取液对肺癌的放射增敏作用,并初步探讨其可能机制。

材料与方法

1 细胞系、试剂及仪器 Lewis 肺癌细胞株购自中国医学科学院药物研究所。黑蒜:大连华谷蒜业有

基金项目:全军科技攻关项目(No. 06G034)

作者单位:解放军第 107 医院国家中西医结合肿瘤治疗重点专科/全军肿瘤微创诊疗中心(山东烟台 264002)

通讯作者:王义善, Tel: 15853529999, E-mail: wangyishan288@163.com

DOI: 10. 7661/CJIM. 2013. 08. 1093

限公司。DMEM 高糖培养基(12800-017)、已灭活胎牛血清(01-100-0):美国 Hyclone 公司;Hoechst 33258 荧光染料(C1011)、Giemsa 染液(51811-82-6)、MTT 试剂(M-2128):美国 Sigma 公司;胰蛋白酶(trypsin)(NO502660):美国 Amer-sco 公司;DMSO(67-68-5):安徽安特化工有限公司;细胞周期试剂盒(4010331):上海贝博公司;RNAiso Plus(D9108A)、反转录试剂盒(D2639A)、Real time-PCR 试剂盒(D305):大连 TaKaRa 公司。数控超声波清洗器(KQ500DB)、旋转蒸发器(RE-501):上海越众仪器设备有限公司;酶联免疫检测仪(MK3):美国 Thermo Fisher 公司;医用直线加速器(YZB/USA316-22):美国西门子公司;显微镜、荧光显微镜、37℃培养箱(HHS-24):上海东星建材实验设备有限公司;FACS 流式细胞仪(FACSCalibur):美国 BD 公司;Rotorgene3000 Real time-PCR 扩增仪:澳大利亚 Corbett。

2 方法

2.1 细胞培养 将 Lewis 细胞培养于含 10% 灭活胎牛血清、青-链霉素各 100 U/mL 的 DMEM 培养液中,置于 37℃、5% CO₂ 饱和湿度孵箱中无菌培养(细胞倍增时间为 20~24 h)。

2.2 黑蒜提取液的制备 称取并捣碎 100 g 果脯膏状黑蒜瓣成酱,常温下加 95% 乙醇至 1 000 mL 搅拌均匀,浸泡 24 h 后数控超声波清洗器清洗 30 min,真空过滤,重复过滤滤渣,旋转蒸发器中浓缩滤液至 50 mL(温度≤47℃),以 1:1 比例于 0.9% 生理盐水中溶解混匀(相当于生药 1 g/mL),0.22 μm 滤膜过滤除菌,4℃ 储存备用。

2.3 MTT 法检测细胞增殖率 收集对数生长期 Lewis 细胞,轻轻反复吹打细胞悬液使之均匀后,吸取 10 μL 细胞悬液,加至 90 μL 台盼蓝中混匀,计算四角大方格内的细胞数。细胞计数完毕后,以每孔 3×10³ 个接种于 96 孔培养板。24 h 后,分别加入终浓度为 0.2、0.4、0.6、0.8、1.0 g/mL 的黑蒜提取液样品,同时设 Lewis 细胞对照组(0.1% DMSO),每个药物浓度设 5 个复孔。于 37℃ 5% CO₂ 培养箱中继续培养 24、48、72 h 后,每孔加 MTT 溶液 8 μL 继续孵育 4 h 后,每孔加入 100 μL DMSO,振荡 10 min,用酶联免疫检测仪在测量波长 570 nm、参考波长 630 nm 处测得吸光度(A)值,实验独立重复 3 次,取平均值,并计算细胞增殖率。细胞增殖率(%) = 实验组 A 值/对照组 A 值 × 100%。

2.4 平板集落形成实验检测克隆形成率 取对

数生长期 Lewis 细胞,用 0.25% 胰酶消化并吹打制成单个细胞悬浮液,含 10% 胎牛血清的 DMEM 培养液倍比稀释到所需体积,使细胞浓度为 1×10⁶ 个/mL,2 mL 培养瓶接种 6 瓶,分别加入终浓度为 0.2、0.4、0.6、0.8、1.0 g/mL 的黑蒜提取液,同时设 Lewis 细胞对照组(0.1% DMSO)。细胞贴壁 24 h 后,不同浓度黑蒜提取液组分别给予⁶⁰Co γ 垂直照射 2 Gy(剂量率为 200 cGy/min,源皮距为 100 cm,下同)。照射后即 0.25% 胰酶消化并吹打制成单个细胞悬浮液,反复倍比稀释计数,每培养皿接种 500 个细胞,每组设 3 个平行样本,置 37℃ 5% CO₂ 培养箱中培养 14 天后取出,吸取培养液,洗涤,固定, Giemsa 染液染色,干燥。在显微镜(10×)计数大于 50 个细胞的克隆数,计算克隆形成率。克隆形成率(%) = 实验组细胞克隆数/对照组细胞克隆数 × 100%。

2.5 Hoechst 荧光染色观察细胞形态变化 取对数生长期 Lewis 细胞,调整细胞密度为 4×10⁵ 个/mL 的单细胞悬液,接种于 6 孔培养板;置 37℃ 5% CO₂ 饱和湿度恒温培养箱培养 24 h,分别加入 0、0.5、1.0 g/mL 的黑蒜提取液(分别为照射组、黑蒜低剂量加照射组、黑蒜高剂量加照射组),以最终浓度 0.1% DMSO 为 Lewis 细胞对照组。细胞贴壁 24 h 后 3 个照射组分别给予⁶⁰Co γ 照射 2 Gy。弃培养基,固定 10 min,洗涤,加入 Hoechst 33258 染色液,使其终浓度为 10 μg/mL,冰上染色,洗涤,紫外光激发,荧光显微镜下(×400)观察细胞形态并拍照。

2.6 流式细胞仪检测细胞周期 细胞以 1×10⁵ 个/mL 密度接种于 25 mL 培养瓶中,于 37℃ 培养箱内培养 24 h,待细胞贴壁生长后,分别加入 0、0.5、1.0 g/mL 的黑蒜提取液(分别为照射组、黑蒜低剂量加照射组、黑蒜高剂量加照射组),以最终浓度 0.1% DMSO 为 Lewis 细胞对照组。细胞贴壁 24 h 后 3 个照射组分别给予⁶⁰Co γ 照射 2 Gy。24 h 后,胰酶消化细胞,洗涤,离心,弃上清液,固定,加入等体积 PI 染液,4℃ 放置 30 min,应用流式细胞仪检测细胞周期情况。

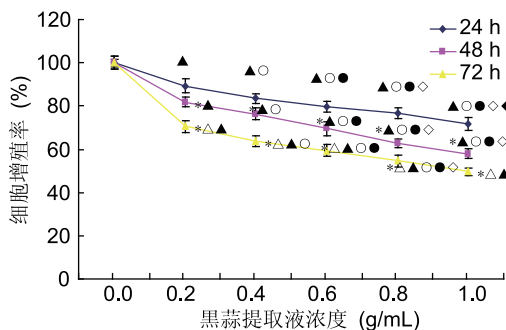
2.7 Real time-PCR 检测 B 淋巴细胞瘤-2(bcl-2)、凋亡促进蛋白(bax) mRNA 表达 细胞以 1.0×10⁵ 个/mL 密度接种于 25 mL 培养瓶中,于 37℃ 培养箱内培养 24 h,待细胞贴壁生长后,分别加入 0、0.5、1.0 g/mL 的黑蒜提取液(分别为照射组、黑蒜低剂量加照射组、黑蒜高剂量加照射组),以最终浓度 0.1% DMSO 为 Lewis 细胞对照组。细胞贴壁 24 h 后 3 个照射组分别给予⁶⁰Co γ 照射 2 Gy。24 h

后,收集各组细胞, RNAiso Plus 提取总 RNA, 反转录成 cDNA。bcl-2 mRNA 上游引物序列为: 5'-GATT-GTGGCCTTCTTTGAGTTC-3', 下游引物序列为: 5'-ACTCATTCAACCAGACATGCAC-3'。bax mRNA 上游引物序列为: 5'-GAGACACCTGAGCTGACCT-TG-3', 下游引物序列为: 5'-GAAGTTGCCATCAG-CAAACAT-3'。配制反应体系: 将试剂 10 μ L SYBRR Premix Ex Taq (2 $\times$)、0.8 μ L PCR Reverse Primer (10 μ mol/L)、2.0 μ L DNA 模板及 7.2 μ L dH₂O 共 20.0 μ L 液体混匀, 置于 Real time-PCR 扩增仪, 按照 Real Time PCR 反应程序: 95 $^{\circ}$ C 30 s; PCR 反应 95 $^{\circ}$ C 5 s, 60 $^{\circ}$ C 20 s, 40 个循环; 溶解曲线分析基因改变。

2.8 统计学方法 应用 SPSS 17.0 统计软件进行数据处理。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 多组比较采用单因素方差分析; 多个样本均数两两比较方差齐者采用 LSD 检验, 方差不齐者采用 tamhane's T2 多重分析。P < 0.05 为差异有统计学意义。

结 果

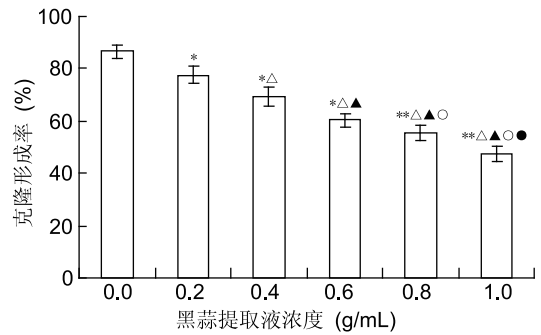
1 黑蒜提取液不同浓度组细胞增殖率比较(图 1) 相同时间内黑蒜提取液对细胞生长抑制作用随药物浓度的增加而加强, 与 Lewis 细胞对照组比较, 差异均有统计学意义(P < 0.05)。相同浓度的黑蒜提取液对细胞生长抑制作用随作用时间的延长而加强(P < 0.05)。



注: 与本组 24 h 比较, *P < 0.05; 与本组 48 h 比较, Δ P < 0.05; 与 Lewis 细胞对照组比较, $\blacktriangle$ P < 0.05; 与 0.2 g/mL 浓度组比较, $\circ$ P < 0.05; 与 0.4 g/mL 浓度组比较, $\bullet$ P < 0.05; 与 0.6 g/mL 浓度组比较, $\diamond$ P < 0.05; 与 0.8 g/mL 浓度组比较, $\blacklozenge$ P < 0.05

图 1 黑蒜提取液不同浓度组细胞增殖率比较

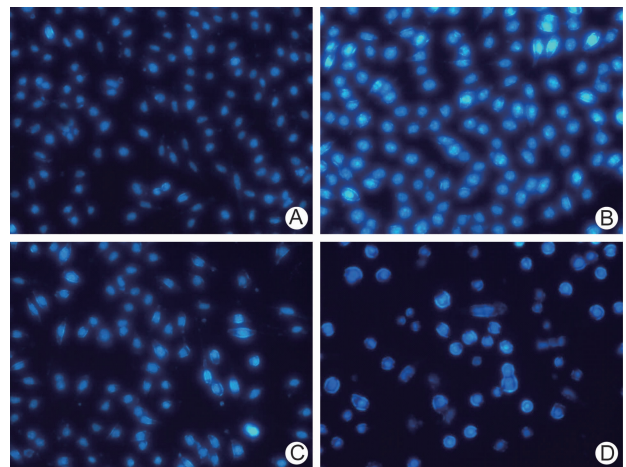
2 黑蒜提取液不同浓度组克隆形成率比较(图 2) 与 Lewis 细胞对照组比较, 不同浓度黑蒜提取液联合照射组的克隆形成率均明显下降(P < 0.05, P < 0.01), 且呈剂量依赖性。



注: 与 Lewis 细胞对照组比较, *P < 0.05, **P < 0.01; 与 0.2 g/mL 浓度组比较, Δ P < 0.05; 与 0.4 g/mL 浓度组比较, $\blacktriangle$ P < 0.05; 与 0.6 g/mL 浓度组比较, $\circ$ P < 0.05; 与 0.8 g/mL 浓度组比较, $\bullet$ P < 0.05

图 2 黑蒜提取液不同浓度组克隆形成率比较

3 各组细胞形态比较(图 3) 荧光显微镜下观察可见, Lewis 细胞对照组细胞多数呈现弥散均匀的荧光; γ 线照射及黑蒜提取液联合 γ 线照射作用 24 h 后, 细胞出现典型的凋亡形态学变化。与 Lewis 细胞对照组比较, 照射组细胞核呈波纹状, 部分染色质出现浓缩状态; 黑蒜低剂量加照射组细胞核的染色质高度凝聚、边缘化; 黑蒜高剂量加照射组细胞膜膨胀, 部分细胞核裂解为碎块。



注: A 为 Lewis 细胞对照组; B 为照射组; C 为黑蒜低剂量加照射组; D 为黑蒜高剂量加照射组; 图 4 同

图 3 各组细胞凋亡形态比较 (Hoechst 荧光染色, $\times 400$)

4 各组不同细胞周期比例比较(表 1) 与 Lewis 细胞对照组比较, 黑蒜高剂量加照射组、黑蒜低剂量加照射组及照射组 G₀/G₁ 期、S 期细胞比例明显减少, G₂/M 期细胞比例明显增加(P < 0.05)。与照射组比较, 黑蒜低剂量加照射组及黑蒜高剂量加照射组 G₀/G₁ 期、S 期细胞比例明显减少, G₂/M 期细胞比例

明显增加($P < 0.05$)。与黑蒜低剂量加照射组比较,黑蒜高剂量加照射组作用更明显($P < 0.05$)。

表 1 各组不同细胞周期比例比较 (% , $\bar{x} \pm s$)

组别	n	G ₀ /G ₁ 期	S 期	G ₂ /M 期
Lewis 细胞对照	3	61.82 ± 1.79	28.49 ± 1.56	10.79 ± 1.34
照射	3	56.65 ± 1.98 *	26.55 ± 2.86 *	17.88 ± 2.49 *
黑蒜低剂量加照射	3	52.39 ± 2.53 *△	24.21 ± 2.78 *△	23.18 ± 2.28 *△
黑蒜高剂量加照射	3	50.85 ± 1.90 *△▲	22.13 ± 2.43 *△▲	27.54 ± 2.97 *△▲

注:与 Lewis 细胞对照组比较, * $P < 0.05$; 与照射组比较, △ $P < 0.05$; 与黑蒜低剂量加照射组比较, ▲ $P < 0.05$; 图 4 同

5 各组 bcl-2、bax mRNA 表达比较 (图 4)

Lewis 细胞对照组、照射组、黑蒜低剂量加照射组及黑蒜高剂量加照射组 bcl-2 mRNA 相对表达量分别为 1.01 ± 0.11 、 0.82 ± 0.12 、 0.70 ± 0.01 、 0.51 ± 0.09 ; bax mRNA 相对表达量分别为: 1.00 ± 0.08 、 1.51 ± 0.22 、 1.82 ± 0.12 、 3.58 ± 0.15 。与 Lewis 细胞对照组比较,照射组、黑蒜低剂量加照射组及黑蒜高剂量加照射组 bcl-2 mRNA 表达均明显降低($P < 0.05$), bax mRNA 表达均明显升高($P < 0.05$)。与照射组比较,黑蒜低剂量加照射组及黑蒜高剂量加照射组 bcl-2 mRNA 表达均明显降低($P < 0.05$), bax mRNA 表达均明显升高($P < 0.05$)。与黑蒜低剂量加照射组比较,黑蒜高剂量加照射组作用更明显($P < 0.05$)。

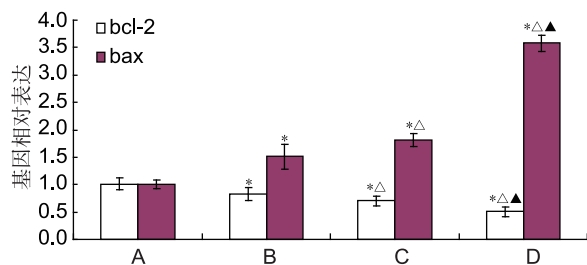


图 4 各组 bcl-2、bax mRNA 表达比较

讨 论

目前肺癌已经成为严重危害人类生命和健康的主要疾病之一,84%的肺癌患者诊断时已是晚期,5 年生存率不到 15%^[5]。2008 年全世界 150 万人被诊断为肺癌,130 万死于肺癌,肺癌生存率自 1960 年至今没有发生改变^[6]。放射治疗在肺癌的治疗中具有重要作用,但放射性肺炎、放射性食管炎以及晚期的肺纤维化、食管狭窄、神经病变等放疗副反应严重影响患者的生活质量。精确的诊断及正确的放射治疗方案可有效提高放射治疗效果,但放疗增敏剂的应用是我们更应该寻求的新路径。至今,人们在肿瘤放射增敏方面做了大量研究工作,中医药具有广阔的开发前景,目前

已有研究证实复方苦参注射液、蝎毒及含三氧化二砷的中药制剂可增加辐射敏感性^[7-9]。

大蒜为多年生草本植物,百合科葱属,性温、味辛平、入脾胃经,可杀虫、消肿止痛、止泻止痢。近年来国内文献在其抗恶性肿瘤的药理实验研究方面报道较多,主要针对其主要成分大蒜素。研究证实,大蒜素对肿瘤细胞的抑制活性很强,抗癌谱广,副反应小,而且有抗病毒、增强人体免疫力等作用^[10,11]。黑蒜是将大蒜在一定温湿度条件下,运用独特工艺在长达 1 个月的时间内慢慢发酵而成,不仅利于保存,而且提高了其抗氧化性^[12]。Wang X 等^[13]通过实验发现,黑蒜提取液不仅能够提高小鼠血清超氧化物歧化酶、谷胱甘肽及脾脏胸腺指数,而且能够促进 SGC-7901 胃癌细胞的凋亡。

本实验 MTT 及集落形成实验结果表明,黑蒜提取液对 Lewis 细胞具有生长抑制及辐射增敏作用。大量研究表明细胞放射敏感性与细胞凋亡密切相关^[14]。通过荧光显微镜下观察可见黑蒜提取液联合放疗作用 24 h 后,细胞出现典型凋亡形态学变化,表明黑蒜提取液联合放疗对 Lewis 细胞具有促凋亡作用,能增强 Lewis 细胞株放射敏感性。射线对增殖期细胞杀伤力远大于静止期细胞,对 G₂/M 期更为敏感,调动 S 期或 G₁ 期进入对放疗相对敏感的 G₂/M 期,是放疗敏感性研究的一个重要方向^[15]。本研究显示,黑蒜提取液能诱导 Lewis 细胞的 G₂/M 期阻滞,提高 Lewis 细胞放射敏感性。

bcl-2 能够增加细胞对凋亡刺激因素的抵抗力而阻止细胞正常生理凋亡,bcl-2 蛋白可抑制细胞死亡和延长细胞寿命,是目前公认的抗凋亡基因。bax 作为一种促细胞凋亡基因,与 bcl-2 两者可形成同/异源二聚体,共同调控细胞凋亡。当外界的刺激使 bcl-2 表达增强时,bcl-2 与 bax 结合成异源二聚体,抑制 bax 的促凋亡作用,减少肿瘤细胞的程序性死亡。当 bax 蛋白大量表达并与 bcl-2 形成异源二聚体,或 bax 蛋白自身形成同源二聚体时,则加速细胞凋亡^[16]。本实验结果表明,黑蒜提取液可以明显降低 bcl-2 表达,促进 bax 高表达,从而发挥对 bcl-2 的拮抗作用,促进肿瘤细胞的凋亡,发挥对 Lewis 细胞辐射增敏作用。

综上所述,黑蒜提取液对肺癌 Lewis 细胞具有放射增敏作用,其增敏机制可能与其改变细胞周期及影响 bcl-2、bax 基因表达有关。这将为临床提高肺癌放射敏感性提供新的治疗选择和实验依据,进一步的验证仍待深入研究。

参 考 文 献

- [1] 杨桂青,王园园,王义善.黑蒜的成分及抗肿瘤机制研究进展[J]. 中国医师杂志, 2012, 14(1): 134-136.
- [2] Kim SH, Jung EY, Kang DH, et al. Physical stability, antioxidative properties, and photoprotective effects of a functionalized formulation containing black garlic extract[J]. J Photochem Photobiol Biol, 2012, 117(2012): 104-110.
- [3] Purev U, Chung MJ, Oh DH. Individual differences on immunostimulatory activity of raw and black garlic extract in human primary immune cells[J]. Immunopharmacol Immunotoxicol, 2012, 34(4): 651-660.
- [4] 范婷,蔺新英,赵妍,等.大蒜素对小鼠辐射损坏的辅助保护作用[J]. 环境与健康杂志, 2007, 24(9): 718-720.
- [5] Kassis ES, Vaporciyan AA, Swisher SG, et al. Application of the revised lung cancer staging system (IASLC Staging Project) to a cancer center population[J]. J Thorac Cardiovasc Surg, 2009, 138(2): 412-418.
- [6] Shirai K, Nakagawa A, Abe T, et al. Use of FDG-PET in radiation treatment planning for thoracic cancers[J]. Int J Mol Imaging, 2012, 2012: 1-9.
- [7] 任庆兰,吴永忠,陈晓品,等.三氧化二砷对肺癌移植瘤的放疗增敏效应[J]. 癌变·畸变·突变, 2011, 23(1): 22-25.
- [8] 陈芳,黄小陆,梁林,等.复方苦参注射液对人宫颈癌细胞株 Hela 的体外放疗增敏作用[J]. 广东医学, 2011, 32(7): 842-844.
- [9] 纪宁,朱蕙霞,季斌.艾迪注射液对肺癌细胞 A549 放射增敏作用的实验研究[J]. 实用肿瘤杂志, 2010, 25(1): 60-63.
- [10] Hu YZ, Chen L, Yi CZ, et al. Experimental study on inhibitory effects of diallyl sulfide on growth and invasion of human osteosarcoma MG-63 cells[J]. J Huazhong Univ Sci Technol Med Sci, 2012, 32(4): 581-585.
- [11] Batcioglu K, Yilmaz Z, Satilmis B, et al. Investigation of *in vivo* radioprotective and *in vitro* antioxidant and antimicrobial activity of garlic (*Allium sativum*) [J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2012, 16(Suppl3): 47-57.
- [12] 王鑫,杨柯.黑蒜对肿瘤防治作用的研究进展[J]. 实用医药杂志, 2011, 28(2): 176-178.
- [13] Wang X, Jiao F, Wang QW, et al. Aged black garlic extract induces inhibition of gastric cancer cell growth *in vitro* and *in vivo* [J]. Mol Med Reports, 2012, 5(1): 66-72.
- [14] Harada T, Harada K, Ueyama Y. The enhancement of tumor radioresponse by combined treatment with cepharanthine is accompanied by the inhibition of DNA damage repair and the induction of apoptosis in oral squamous cell carcinoma [J]. Int J Oncol, 2012, 41(2): 565-572.
- [15] Dunne AL, Mothersill C, Robson T, et al. Radiosensitization of colon cancer cell lines by docetaxel: mechanisms of action[J]. Oncol Res, 2004, 14(9): 447-454.
- [16] Cory S, Adams JM. The Bcl2 family: regulators of the cellular life or death switch [J]. Nat Rev Cancer, 2002, 2(9): 647-656.

(收稿:2012-11-26 修回:2013-05-09)

本刊网站改版升级

中国中西医结合杂志社网站自 2013 年 1 月 1 日起改版升级。升级后的网站包含新闻、会议征文、论坛、专家博客、常用资料下载等功能,同时新增全文下载功能,读者可免费注册并登陆后进行免费下载,欢迎广大读者点击查看。欢迎各位作者、读者访问我社网站 <http://www.cjim.cn>,希望能够为中医、中西医结合医学领域专业人员提供一个展示、交流、学习的平台。

(本刊讯)