

淫羊藿苷对Ⅱ型胶原诱导型关节炎大鼠骨破坏及血清 RANKL/OPG 的干预作用

刘益杰¹ 冯 伟¹ 何东仪² 汪巧巧³

摘要 **目的** 观察淫羊藿苷对Ⅱ型胶原诱导型关节炎(collagen-induced arthritis, CIA)大鼠血清破骨细胞分化因子(receptor activator of NF κ B-ligand, RANKL)和护骨素(osteoprotegerin, OPG)的影响及对骨破坏的保护作用。**方法** 除正常组(8只)外,其余大鼠用牛Ⅱ型胶原和完全弗氏佐剂注射诱导建立 CIA 大鼠模型。选取关节炎指数(arthritis index, AI) ≥ 6 分的 CIA 大鼠 24 只,根据其 AI 评分分为模型组、甲氨喋呤组和淫羊藿苷组,每组 8 只。正常组和模型组给予生理盐水灌胃,甲氨喋呤组给予甲氨喋呤每周 5 mg/kg 灌胃,淫羊藿苷组给予淫羊藿苷 20 mg/(kg·d)灌胃,均连续给药 4 周。每周记录大鼠 AI 评分。给药结束后,HE 染色观察踝关节组织形态学变化;X 射线检查足趾骨质破坏与骨质疏松情况;ELISA 法测定血清 RANKL、OPG 水平。**结果** 给药 4 周后,与模型组比较,淫羊藿苷组 AI 评分、Larsen 评分、血清 RANKL 水平及 RANKL/OPG 比值明显降低,OPG 水平明显升高,差异均有统计学意义($P < 0.05$, $P < 0.01$);甲氨喋呤组上述指标均降低,差异无统计学意义($P > 0.05$)。HE 染色示淫羊藿苷组关节滑膜增生、炎症细胞浸润与软骨面破坏程度明显减轻。**结论** 淫羊藿苷能缓解或减轻 CIA 大鼠骨破坏程度,其作用机制可能与降低 CIA 大鼠血清 RANKL 水平,提高 OPG 浓度进而降低 RANKL/OPG 比例有关。

关键词 淫羊藿苷;胶原诱导型关节炎;破骨细胞分化因子;护骨素;骨破坏

Effect of Icaritin on Bone Destruction and Serum RANKL/OPG Levels in Type II Collagen-induced Arthritis Rats LIU Yi-jie¹, FENG Wei¹, HE Dong-yi², and WANG Qiao-qiao³ 1 Basic Medicine Department of Rehabilitation, Rehabilitation College, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai (201203), China; 2 Internal Medicine Department of Rheumatology, Shanghai Guanghua Hospital of Integrated Traditional and Western Medicine, Shanghai (200052), China; 3 Department of Laboratory TCM, Basic Medical College, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai (201203), China

ABSTRACT **Objective** To observe the effect of Icaritin (ICA) on serum receptor activator of NF κ B-ligand (RANKL)/osteoprotegerin (OPG) production and bone destruction in type II collagen-induced arthritis (CIA) rats. **Methods** The CIA rat model was established in all rats, except those in the normal group ($n=8$) using bovine type II collagen and complete Freund's adjuvant. Totally 24 CIA rats with arthritis index (AI) ≥ 6 were selected and divided into the model group, the methotrexate (MTX) group, and the ICA group according to the AI score, 8 in each group. Normal saline was given to rats in the normal group and the model group by gastrogavage. MTX at the weekly dose of 5 mg/kg was given to rats in the MTX group. ICA at the daily dose of 20 mg/kg was given to rats in the ICA group. All medication lasted for 4 weeks. The AI scores were recorded once a week. Histomorphologic changes of the ankle joint were observed by HE staining. The bone destruction and the osteoporosis of the foot phalanx were detected by X-ray. Serum levels of RANKL and OPG were determined by enzyme-linked immunosorbent

基金项目:上海市浦江计划资助项目(No. 10PJ1409300);上海高校创新团队(第二期)建设项目;上海市自然科学基金资助项目(No. 09ZR1432000);上海市浦东新区卫生系统重点学科群建设项目(No. PWZxkq2011-01)

作者单位:1.上海中医药大学康复医学院康复基础教研室(上海 201203);2.上海市光华中西医结合医院类风关内科(上海 200052);3.上海中医药大学基础医学院实验中医教学教研室(上海 201203)

通讯作者:冯 伟, Tel: 021-51323025, E-mail: fwginger@hotmail.com

DOI: 10.7661/CJIM.2013.09.1221

assay (ELISA). Results After 4-week intervention, when compared with the model group, AI score and Larsen score were significantly lower, the serum RANKL concentration and the RANKL/OPG ratio obviously decreased, while the serum OPG concentration obviously increased in the CIA group ($P < 0.05$, $P < 0.01$). In the MTX group, the aforesaid indices decreased, but without statistical difference ($P > 0.05$). Results of HE staining indicated that hyperplasia of joint synovium, infiltration of inflammatory cells, and the degree of articular cartilage destruction were obviously alleviated in the ICA group. Conclusion ICA could alleviate or lessen the degree of articular cartilage destruction in CIA rats, and its mechanism might be associated with reducing serum levels of RANKL and elevating levels of OPG, thus further decreasing the ratio of RANKL/OPG.

KEYWORDS Icarin; collagen-induced arthritis; receptor activator of NF κ B-ligand; osteoprotegerin; osteoclastogenesis

类风湿关节炎(rheumatoid arthritis, RA)是一种以关节滑膜炎为特征、以骨破坏为最终转归的慢性自身免疫性疾病,破骨细胞(osteoclast, OC)在其骨质破坏的病理机制中发挥重要作用^[1]。破骨细胞分化因子(receptor activator of NF κ B-ligand, RANKL)和护骨素(osteoprotegerin, OPG)是调控 OC 激活、分化及其骨吸收活性的核心因子。前者通过与破骨细胞分化因子受体(receptor activator of NF κ B, RANK)结合来刺激 OC 的分化,增强其活性,并抑制其凋亡;后者可以竞争性结合 RANKL,从而阻断 RANKL 与其受体 RANK 的结合,进而负性调节 OC 的分化、增殖和活性, RANKL/RANK/OPG 环路是调节骨代谢的重要途径^[2]。淫羊藿苷是传统补阳类中药淫羊藿的主要有效成分。笔者前期研究证实淫羊藿苷能抑制 IL-1 β 刺激类风湿关节炎成纤维滑膜细胞(rheumatoid arthritis synovial fibroblasts, RASFs)的增殖,下调其培养上清中肿瘤坏死因子 α (TNF- α)和 RANKL 的含量^[3]。本研究采用 II 型胶原诱导型关节炎(collagen-induced arthritis, CIA)大鼠为研究对象,从组织病理学和放射学角度观察淫羊藿苷对 CIA 大鼠骨破坏的保护作用,并分析大鼠血清 RANKL/OPG 变化,为其临床用于 RA 防治提供实验依据。

材料与方法

1 动物 清洁级 Wistar 雌性大鼠 40 只,体重(120 $\pm$ 10) g,购自上海斯莱克实验动物有限公司,动物合格证号:SCXK(沪)-2007-0005,饲养环境为上海中医药大学实验动物中心 SPF 级动物房。

2 药物、试剂及仪器 淫羊藿苷(南京泽朗生物有限责任公司,批号:ZL090912,纯度 $\geq$ 98%),甲氨蝶呤注射液[MTX,批号:090504,上海医药(集团)有

限公司]。牛 II 型胶原(Chondrex 公司,美国)、弗氏完全佐剂(Sigma 公司,美国)、冰醋酸(北京化学试剂公司),RANKL、OPG ELISA kit (Cusabio, 中国)。低温高速台式离心机(Eppendorf, 5804R 型)、酶标仪(Bio-Tek, ELX800 型)。

3 分组、造模及给药 将牛 II 型胶原溶解于 0.05 mol/L 乙酸,与等体积弗氏完全佐剂充分乳化(冰上操作),配制成胶原乳剂,使胶原终浓度为 2 mg/mL。初次免疫于大鼠尾根部 2~3 cm 处皮下注射 100 μ L 胶原乳剂,1 周后加强免疫于大鼠臀部脊柱两侧皮下分点注射初次免疫半量胶原乳剂。正常组(8 只)注射等量生理盐水。

激发免疫后 1 周, CIA 模型大鼠出现不同程度关节肿胀。筛选关节炎指数(arthritis index, AI)评分 $\geq$ 6 分者,根据其 AI 评分分为模型组、甲氨蝶呤组和淫羊藿苷组,每组 8 只。正常组和模型组给予生理盐水 3 mL/(kg $\cdot$ d)灌胃,甲氨蝶呤组给予每周 MTX 5 mg/kg^[4]灌胃,淫羊藿苷组给予淫羊藿苷 20 mg/(kg $\cdot$ d)^[5]灌胃,均连续给药 4 周后处死大鼠并取材。

4 观察指标及检测方法

4.1 AI 评分 参照文献[6]方法对 CIA 大鼠足趾肿胀程度进行 AI 评分。评价标准为:0 分:无关节炎;1 分:有红色斑点或轻度肿胀;2 分:关节部位中度肿胀;3 分:严重肿胀;4 分:严重肿胀且不能负重。每只大鼠四肢评分相加得到该大鼠 AI 评分,总分为 0~16 分,每周记录 1 次。

4.2 HE 染色观察大鼠踝关节软骨组织形态学变化 取各组大鼠右后肢置于 10% 中性福尔马林溶液中固定 10 天,隔 3 天换液。固定结束后, 10% EDTA 溶液脱钙 2 个月;后经脱水、包埋、切片, HE 常规染色,观察各组大鼠踝关节软骨的破坏情况。

4.3 大鼠足趾关节 X 线放射学检查 给药结束

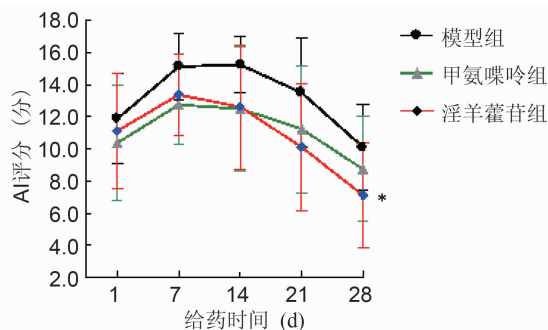
后,自胫骨近端分离大鼠左侧后肢,X线(电压 30 kV,电流 30 mA,曝光时间 4 ms)检查其足趾骨质改变情况,参照 Larsen 评分标准^[7]对大鼠足趾关节骨质破坏情况进行评分,评分标准为:0 分:正常;1 分:轻度异常,包括关节周围软组织肿胀,骨质疏松和(或)轻微关节间隙狭窄;2 分:明确的早期异常,包括明显骨质侵蚀改变,有或没有关节间隙的狭窄;3 分:轻度关节破坏,伴关节间隙狭窄 < 正常的 50%;4 分:重度关节破坏,关节间隙狭窄 ≥ 正常的 50%,但未消失;5 分:多个关节残毁,关节间隙消失。Larsen 评分由放射科医生和骨伤科医生一同参与。

4.4 ELISA 法测定大鼠血清 RANKL、OPG 水平 给药结束后,以 0.1 mL/100 g 3%戊巴比妥钠腹腔麻醉大鼠,经腹主动脉取不抗凝血液约 4 mL,4 ℃静置过夜后于 4 ℃、3 000 r/min 离心 20 min,仔细收集上清,-20 ℃保存。ELISA 法测定血清 RANKL、OPG 浓度。

5 统计学方法 应用 SPSS 18.0 统计软件进行分析。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组比较采用单因素方差分析,组间两两比较采用 LSD 法。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1 各组大鼠 AI 评分比较(图 1) 激发免疫 1 周后,开始干预前,正常组足趾及踝部无红、肿、溃破等现象,AI 评分为 0;模型组大鼠出现不同程度急性关节炎足趾肿胀症状,AI 评分为 (11.88 ± 2.80) 分,与正常组比较,差异有统计学意义($P < 0.01$),提示造模成功。给药 4 周后,模型组 AI 评分为 (10.13 ± 2.64) 分,甲氨喋呤组 AI 评分为 (8.75 ± 3.28) 分,淫羊藿苷组为 (7.13 ± 2.70) 分,其中淫羊藿苷组与模型组比较,差异有统计学意义($P < 0.05$)。

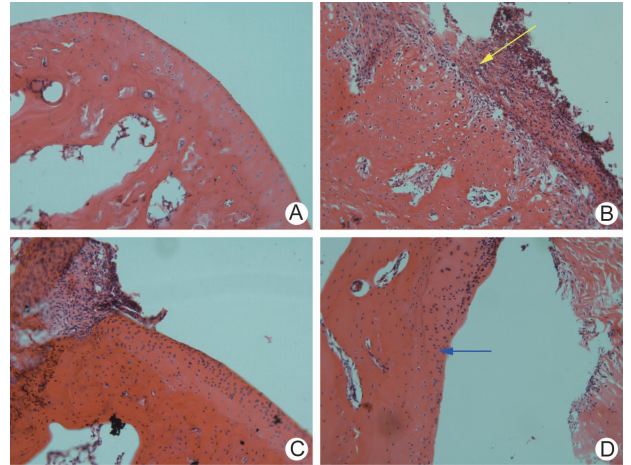


注:与模型组同期比较,* $P < 0.05$

图 1 各组大鼠 AI 评分比较

2 各组大鼠踝关节软骨组织形态学比较(图 2)

HE 染色结果显示,正常组踝关节软骨面平滑,潮线清晰,未见明显滑膜增生、炎症细胞浸润;模型组大鼠踝关节关节面破坏严重,大量炎症细胞浸润吞噬软骨面及软骨下骨;甲氨喋呤组踝关节部分关节软骨破坏,部分潮线清晰,少量炎症细胞浸润;淫羊藿苷组关节软骨轻度破坏,轻度滑膜增生与炎症细胞浸润,潮线基本可见。



注:A 为正常组;B 为模型组;C 为甲氨喋呤组;D 为淫羊藿苷组;图 3 同;B 图箭头示严重踝关节软骨面侵蚀和炎症细胞浸润;D 图箭头示关节软骨面骨破坏和炎症细胞浸润情况明显缓解
图 2 各组大鼠踝关节软骨组织形态学比较 (HE, ×200)

3 各组大鼠足趾关节放射学检查结果(图 3)及 Larsen 评分比较 各组大鼠 X 线片示:正常组左后踝关节、足趾关节未见明显骨质疏松及骨质破坏,关节关系较为清晰,Larsen 评分为 0;模型组大鼠见明显关节结构模糊、间隙消失,关节破坏融合,见明显骨质破坏和疏松,Larsen 评分为 (4.38 ± 0.74) 分,明显高于正常组($P < 0.05$);甲氨喋呤组大鼠骨质疏松和破坏较模型组缓解程度不明显,关节结构和关节间隙多



图 3 各组大鼠足趾关节 X 线片比较

模糊欠清晰, Larsen 评分为 (3.88 ± 1.26) 分, 较模型组降低 ($P > 0.05$); 淫羊藿苷组骨质疏松、骨破坏程度缓解明显, 关节间隙较模型组大鼠关节间隙清晰, 部分大鼠 X 线示仅有足趾关节不同程度关节破坏、骨质疏松, 踝关节 X 线表现接近正常组, 淫羊藿苷组 Larsen 评分为 (3.25 ± 0.71) 分, 较模型组和甲氨喋呤组均明显降低 ($P < 0.05$)。

4 各组大鼠血清 RANKL、OPG 水平及 RANKL/OPG 比值比较(表 1) 给药 4 周后, 模型组大鼠血清 RANKL、OPG 水平及 RANKL/OPG 比值均较正常组明显升高 ($P < 0.01, P < 0.05$)。与模型组比较, 甲氨喋呤组血清 RANKL、OPG 水平及 RANKL/OPG 比值降低, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$); 淫羊藿苷组血清 RANKL 水平及 RANKL/OPG 比值明显降低, OPG 水平明显升高, 差异均有统计学意义 ($P < 0.05, P < 0.01$)。

表 1 各组大鼠血清 RANKL、OPG 水平及 RANKL/OPG 比值比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	RANKL (pg/mL)	OPG (pg/mL)	RANKL/OPG
正常	8	115.50 $\pm$ 5.27	622.68 $\pm$ 21.44	0.19
模型	8	220.97 $\pm$ 41.76 **	827.02 $\pm$ 109.22 *	0.27 **
甲氨喋呤	8	206.27 $\pm$ 44.41	782.00 $\pm$ 108.80	0.26
淫羊藿苷	8	140.92 $\pm$ 30.91 Δ	1 117.18 $\pm$ 186.74 Δ	0.13 $\Delta\Delta\Delta$

注: 与正常组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; 与模型组比较, $\Delta P < 0.05$, $\Delta\Delta P < 0.01$; 与甲氨喋呤组比较, $\Delta\Delta P < 0.05$

讨 论

RA 患者骨破坏导致骨折风险增高, 如何在 RA 早期有效地延缓或抑制骨破坏的进程和发生是临床防治 RA 重点之一。OC 的过度增殖活化是引起骨侵蚀和破坏的直接原因, RANKL/RANK/OPG 系统是调控 OC 骨吸收活性的核心环节, 其动态平衡维持正常骨代谢平衡。RA 患者及动物模型血液和关节滑液 RANKL 水平增高, OPG 水平降低^[8,9]。本研究中模型组 CIA 大鼠血清 RANKL、OPG 水平均较正常组明显升高, 但 RANKL 升高幅度大于 OPG, RANKL/OPG 比值明显高于正常组, 提示该阶段模型大鼠虽然诱导骨破坏的关键因子占主导地位, 但是伴有骨保护因素的升高, 对此将进一步深入探索和观察。

淫羊藿具有补肾壮阳、祛风除湿, 强健筋骨等功效。衣蕾等^[10]以淫羊藿等补肾活血祛风中药联合甲氨喋呤治疗 RA 66 例, 用药 3 个月后患者 RA 相关临床症状和类风湿因子等实验室指标均显著改善。淫羊藿苷是淫羊藿的主要有效成分, 具有调节骨代谢和免

疫功能的作用。有研究表明, 淫羊藿苷可以显著促进人成骨细胞的增殖, 增加碱性磷酸酶的活性和钙化结节的数量, 提高骨形态发生蛋白 -2 mRNA 水平^[11]; 抑制去卵巢小鼠骨质丢失, 增强胫骨 OPG/RANKL 比例^[12]。淫羊藿苷能减少巨噬细胞集落刺激因子和 RANKL 诱导小鼠骨髓源性 OC 的吸收陷窝数及面积, 减少 Tracp 染色阳性多核细胞数^[13]; 可以诱导兔 OC 凋亡, 并抑制其骨吸收活性^[14]。同时, 淫羊藿苷能保护软骨细胞免受炎症因子 TNF- α 的损伤^[15], 抑制 T 淋巴细胞的活化进而促进免疫反应^[16], 表现为免疫抑制的负向调节作用。病理状态下 RASFs 肿瘤样异常增生及其分泌的炎症细胞因子, 为炎症免疫和关节软骨的破坏提供微环境; RASFs 释放大量 RANKL, 促进破骨细胞前体细胞向具有骨吸收活性的 OC 分化^[17]。笔者前期研究证实淫羊藿苷能抑制 RASFs 分泌 TNF- α 和 RANKL 的含量^[3]。本实验以淫羊藿苷连续干预 CIA 大鼠 4 周后, 踝关节 HE 染色、足趾 X 射线 Larsen 评分结果均显示大鼠足趾局部炎症肿胀程度、炎症细胞浸润情况及关节骨破坏程度均得到缓解。进一步分析证实淫羊藿苷能降低血清 RANKL 水平, 升高血清 OPG 水平, 提示淫羊藿苷能改善或抑制 CIA 大鼠骨破坏程度, 而这种作用可能具有双向性: 一方面抑制和延缓骨破坏的发生, 另一方面提高其成骨能力。

综上所述, 淫羊藿苷对 CIA 大鼠骨破坏具有保护作用, 其可能机制是通过抑制 RANKL 分泌、提高 OPG 分泌进而降低 RANKL/OPG 比值, 有待进一步深入研究。

参 考 文 献

- [1] Teitelbaum SL. Bone resorption by osteoclasts [J]. Science, 2000, 289(5484): 1504 - 1508.
- [2] 牛红青, 张莉芸, 李小峰, 等. RANKL/RANK/OPG 系统及其在类风湿性关节炎骨质破坏中的作用 [J]. 中国药物与临床, 2008, 8(5): 395 - 398.
- [3] 刘益杰, 冯伟, 褚立希, 等. 淫羊藿苷对 IL-1 β 刺激的类风湿性关节炎滑膜成纤维细胞增殖和 TNF- α 、RANKL 表达的影响 [J]. 上海中医药杂志, 2012, 46(3): 77 - 81.
- [4] 刘益杰, 朱鸿飞, 冯伟, 等. 淫羊藿苷对牛 II 型胶原诱导型关节炎小鼠 IL-17/RANKL 轴的影响 [J]. 时珍国医国药, 2012, 23(11): 2776 - 2779.
- [5] 刘益杰, 朱鸿飞, 冯伟, 等. 染料木素和青藤碱对佐剂型关节炎大鼠血清 IL-17、Tracp 的影响 [J]. 上海中医药大学学报, 2011, 25(1): 46 - 48.

- [6] Redlich K, Hayer S, Ricci R, et al. Osteoclasts are essential for TNF- α -mediated joint destruction [J]. J Clin Invest, 2002, 110(10): 1419 - 1427.
- [7] Solymossy C, Dixey J, Utley M, et al. Larsen scoring of digitized X-ray images [J]. Rheumatology (Oxford), 1999, 38(11): 1127 - 1129.
- [8] 樊秋贵, 郭钧, 杨民. OPG, RANKL, RANK 等因子在类风湿性关节炎患者血清及滑膜液中的变化及意义[J]. 中华风湿病学杂志, 2007, 11(1): 38 - 40.
- [9] 景丽娟, 王美美. RANKL/OPG 系统与大鼠 II 型胶原诱导性关节炎发病的关系及⁹⁹锝-亚甲基二磷酸盐的干预作用[J]. 中国药科大学学报, 2011, 42(3): 251 - 254.
- [10] 衣蕾, 雷媛琳, 吉海旺, 等. 补肾活血祛风法联合甲氨蝶呤治疗类风湿性关节炎 66 例[J]. 陕西中医, 2010, 31(6): 698 - 671.
- [11] Yin XX, Chen ZQ, Liu ZJ, et al. Icariin stimulates proliferation and differentiation of human osteoblasts by increasing production of bone morphogenetic protein 2 [J]. Chin Med J (Eng), 2007, 120(3): 204 - 210.
- [12] Mok SK, Chen WF, Lai WP, et al. Icariin protects against bone loss induced by oestrogen deficiency and activates oestrogen receptor-dependent osteoblastic functions in UMR106 cells [J]. Br J Pharmacol, 2010, 159(4): 939 - 949.
- [13] 吕明波, 刘兴炎, 葛宝丰, 等. 淫羊藿苷对小鼠骨髓源性破骨细胞诱导生成及骨吸收功能的影响[J]. 中国骨质疏松杂志, 2007, 13(5): 315 - 319.
- [14] 吕明波, 刘兴炎, 葛宝丰, 等. 淫羊藿苷对破骨细胞活性的影响[J]. 中国骨伤, 2007, 20(8): 529 - 531.
- [15] 张文亮, 李荣亨, 王淑美, 等. 复元胶囊及其主要成分淫羊藿苷、三七皂苷 R1 治疗骨关节炎的分子机制研究[J]. 中国中药杂志, 2011, 36(15): 2113 - 2117.
- [16] 滕菲, 曾耀英, 黄秀艳, 等. 淫羊藿甙对小鼠 T 淋巴细胞体外中期和晚期活化的影响[J]. 细胞与分子免疫学杂志, 2008, 24(11): 1059 - 1062.
- [17] Shigeyama Y, Pap T, Kunzler P, et al. Expression of osteoclast differentiation factor in rheumatoid arthritis [J]. Arthritis Rheum, 2000, 43(11): 2523 - 2530.

(收稿: 2012-04-13 修回: 2013-06-03)

欢迎订阅 2014 年《Chinese Journal of Integrative Medicine》

(中国结合医学杂志, 英文版)

《Chinese Journal of Integrative Medicine》(中国结合医学杂志, 英文版)是由中国中西医结合学会、中国中医科学院主办的国际性学术期刊,旨在促进结合医学及替代医学的国际交流,及时发表结合医学或替代医学领域的最新进展、趋势以及临床实践、科学研究、教育、保健方面经验和成果的科学论文。1995 年创刊,由中国科学院院士陈可冀担任主编。设有述评、专题笔谈、论著、临床经验、短篇交流、病例报告、综述、中西药相互作用、政策法规、学术探讨、思路与方法、跨学科知识、会议纪要、书评、读者来信等栏目。本刊被多种国际知名检索系统收录,如: Science Citation Index Expanded (SCI-E)、Index Medicus/MEDLINE、Chemical Abstracts (CA)、Abstract Journal (AJ)、CAB Abstracts、CAB International、Excerpta Medica (EMBASE)、Expanded Academic、Global Health、Google Scholar、Index Copernicus (IC)、Online Computer Library Center (OCLC)、SCOPUS 等。本刊于 2007 年被 SCI-E 收录。根据 2013 年 6 月底汤姆森公司公布的 2012 年期刊引证报告,本刊 SCI 影响因子为 1.059。2010 年 10 月 1 日与汤森路透集团签约,正式采用 ScholarOne Manuscripts 在线投审稿系统。

《Chinese Journal of Integrative Medicine》为大 16 开本,铜版纸印刷,彩色插图,2011 年改为月刊,80 页,国内定价为 40.00 元/期,全年定价:480.00 元。国际标准刊号:ISSN 1672 - 0415,国内统一刊号:CN 11 - 4928/R,国内邮发代号:82 - 825,海外发行由 Springer 公司代理。国内订户在各地邮局均可订阅,也可直接汇款至本社邮购。

地址:北京海淀区西苑操场 1 号,中国中西医结合杂志社,邮政编码:100091;电话:010 - 62886827,62876547,62876548;传真:010 - 62874291;E-mail: cjim_en@cjim.cn;网址: <http://www.cjim.cn>。