

· 基础研究 ·

解毒通络方对异丙肾上腺素诱导大鼠心肌纤维化作用及机制研究

惠 菊¹ 徐培斌¹ 潘 阳¹ 郭家娟² 李相军³

摘要 目的 基于探讨糜酶/血管紧张素(Ang) II 途径探讨解毒通络方治疗心肌纤维化的机制。方法 40 只 Wistar 大鼠随机分为正常对照(Ctrl)组、异丙肾上腺素模型(ISO)组、解毒通络方[灌胃解毒通络方 50 g/(kg·d), JTF]组和卡托普利治疗[卡托普利 0.005 g/(kg·d), CAP]组, 每组 10 只。各组行 HE 染色及 Masson 染色评价心肌纤维化程度; 碱水解法测定各组大鼠羟脯氨酸含量; ELISA 法测定各组心肌组织 Ang II 含量; Western Blot 及相对定量实时 PCR 分别检测各组大鼠心肌组织糜酶蛋白及 mRNA 表达量。结果 与 Ctrl 组比较, ISO 组大鼠心肌组织胶原纤维面积、羟脯氨酸和 Ang II 含量、糜酶蛋白和 mRNA 表达增加($P<0.05$, $P<0.01$)。与 ISO 组比较, JTF 及 CAP 组大鼠心肌组织胶原纤维面积、羟脯氨酸和 Ang II 含量、糜酶蛋白 mRNA 表达下降($P<0.05$, $P<0.01$), JTF 组大鼠心肌组织糜酶蛋白含量下降($P<0.05$)。与 CAP 组比较, JTF 组大鼠心肌组织糜酶蛋白 mRNA 表达降低($P<0.05$)。结论 解毒通络方能够抑制和延缓大鼠心肌纤维化进程, 其机制与抑制糜酶/Ang II 途径有关。

关键词 心肌纤维化; 解毒通络; 异丙肾上腺素; 糜酶

Effect and Mechanism of Jiedu Tongluo Formula on Myocardial Fibrosis Induced by Isoproterenol in Rats HUI Ju¹, XU Pei-bin¹, PAN Yang¹, GUO Jia-juan², and LI Xiang-jun³ 1 College of Traditional Chinese Medicine, Changchun University of Chinese Medicine, Changchun (130117); 2 Department of Cardiology, Affiliated Hospital of Changchun University of Chinese Medicine, Changchun (130021); 3 School of Pharmacy, Jilin University, Changchun (130000)

ABSTRACT Objective To investigate the effect and mechanism of Jiedu Tongluo Formula (JTF) on myocardial fibrosis based on chymase/angiotensin II (Ang II) pathway. **Methods** Totally 40 rats were randomly divided into control group (Ctrl), isoproterenol model group (ISO), JTF group (50 g/kg per day) and captopril group (CAP, 0.005 g/kg per day), 10 in each group. HE staining and Masson staining were used to evaluate myocardial fibrosis. Alkaline hydrolysis method was used to detect hydroxyproline content. ELISA method was used to test Ang II content in cardiac tissue. Western Blot and quantitative Real-time PCR were used to detect protein and mRNA expression of chymase in cardiac tissue respectively. **Results** Compared with Ctrl group, collagen fiber area of myocardial, content of hydroxyproline and Ang II, protein and mRNA expression of chymase increased in ISO group ($P<0.05$, $P<0.01$). Compared with ISO group, collagen fiber area of myocardial, content of hydroxyproline and Ang II, mRNA expression of chymase decreased in JTF and CAP group ($P<0.05$, $P<0.01$), protein expression of chymase decreased in JTF group ($P<0.05$). Compared with CAP group, mRNA expression of chymase decreased in JTF group ($P<0.05$). **Conclusion** JTF could inhibit and delay the progression of myocardial fibrosis in rats, the mechanism may related to inhibit chymase/Ang II pathway.

KEYWORDS myocardial fibrosis; Jiedu Tongluo Formula; isoproterenol; chymase

基金项目: 国家自然科学基金青年科学基金项目(No. 81503544); 吉林省科技厅资助项目(No. 20180101108JC)

作者单位: 1. 长春中医药大学中医学院(长春 130117); 2. 长春中医药大学附属医院心内科(长春 130021); 3. 吉林大学药学院(长春 130000)

通讯作者: 郭家娟, Tel: 0431-86177018, E-mail: gjj-2005@163.com

DOI: 10.7661/j.cjim.20200120.105

心肌纤维化(myocardial fibrosis, MF)是多种心血管病不断进展至终末期的共同病理表现,可直接导致心力衰竭、恶性心律失常和心源性猝死等,其严重程度和疾病的发展及预后密切相关^[1,2]。近年研究发现,除经典的肾素-血管紧张素系统(renin-angiotensin system, RAS)外,心脏糜酶(chymase)/血管紧张素(angiotensin, Ang) II 途径亦在 MF 发生及进展中发挥着重要的调控作用,后者可通过协同组胺发挥前炎症因子的效应、参与胶原酶的激活、参与细胞外基质的形成和降解以及促使组织中的 Ang I 转变为 Ang II 等多种途径参与心肌纤维化的形成^[3]。已故国医大师任继学教授认为, MF 病机为“毒伤血络”,阴阳失衡、脏腑功能失调及气血运行失畅等可使机体产生大量生理病理产物,致使体内浊毒内生,败坏血络,如此循环往复,终致心体受损,心气虚衰而竭,导致心肌纤维化^[4]。依据任继学教授提出的“毒伤血络”学说,黄永生教授根据多年临床实践经验,提出以解毒通络方治疗心肌纤维化,自拟解毒通络方,方由夏枯草、牛膝、茺蔚子三药组成。研究显示,解毒通络方能够改善心衰患者胸闷、气短、乏力等症状,并能有效抑制心肌纤维化大鼠心肌组织中组织糜酶及 I、II 型胶原的表达,延缓心肌纤维化进程^[5]。本研究以大剂量盐酸异丙肾上腺素(isoproterenol, ISO)单次多点皮下注射法复制大鼠心肌纤维化模型,进一步验证并阐明解毒通络方治疗心肌纤维化的机制,为临床应用理论依据。

材料与方

1 动物 Wistar 大鼠,雄性,6~8 周龄,体重 180~200 g,购自辽宁长生生物技术有限公司[许可证号:SCXK(Liao)2015-0001],于长春中医药大学医学实验动物中心饲养。本实验经长春中医药大学药学院实验动物伦理委员会审批同意(No. 20180096)。

2 药物制备 夏枯草颗粒剂(批号:16070022)、牛膝颗粒剂(批号:16060136)、茺蔚子颗粒(批号:16080117)购自四川新绿色科技发展有限公司,颗粒质量标准符合《中华人民共和国药典》规定。3 种草药颗粒按质量比 3:2:1 混匀,灌胃前用温水溶解,冷却至室温后进行灌胃。

3 试剂及仪器 主要试剂:盐酸 ISO(Sigma-Aldrich, I5627)、卡托普利(Sigma-Aldrich, C8856)、羟脯氨酸含量检测试剂盒(南京建成生物工程研究所, A030-2-1)、大鼠 Ang II ELISA 检测试剂盒(武汉伊莱瑞特生物科技股份有限公司, E-EL-R1430c)、组织总蛋白提取试剂(北京全式金生物技术有限公

司, DE01)、Bradford 法蛋白定量盒(北京全式金生物技术有限公司, DQ101)、兔抗大鼠 chymase 多克隆抗体(武汉爱博泰克生物科技有限公司, A11480)、小鼠抗大鼠 GAPDH 单克隆抗体(武汉爱博泰克生物科技有限公司, AC002)、HRP 标记羊抗兔 Ig G(武汉爱博泰克生物科技有限公司, AS014)、HRP 标记羊抗小鼠 Ig G(武汉爱博泰克生物科技有限公司, AS003)、ECL 显色试剂盒(北京全式金生物技术有限公司, DW101-01)、TRIzol(Gibco, 15596-026)、二步法逆转录 RT-qPCR 试剂盒(北京全式金生物技术有限公司, AQ201-01)。主要仪器:全自动化学发光图像分析系统(上海天能, Tanon 4600)、荧光定量 PCR 仪(德国耶拿, qTOWER3G)、酶标仪(美国 MD, VersaMax)、显微成像系统(Nicon, 8i)。

4 分组及造模 大鼠经适应性饲养 7d 后,按体重随机分为正常对照(Ctrl)组、ISO 模型(ISO)组、解毒通络(JTF)组和卡托普利(CAP)组,每组 10 只。除 Ctrl 组外,其余各大组大鼠均按 0.005 g/kg 体重单次多点皮下注射盐酸 ISO(每个注射点注射体积 < 0.1 mL)^[6],并自由进食及给水,对照组大鼠注射等体积生理盐水。造模当天同时开始药物干预, JTF 组大鼠按 50 g/(kg·d)灌胃解毒通络方冲剂(相当于临床用量的等量^[7]), CAP 组大鼠按 0.005 g/(kg·d)灌胃卡托普利溶液, Ctrl 组、ISO 组大鼠每日灌胃等体积纯净水,连续 14 d。

5 观测指标

5.1 HE、Masson 染色评价心肌纤维化程度 取心室肌组织利用梯度酒精脱水,行常规石蜡包埋,各组大鼠心肌组织经常规石蜡包埋并制备石蜡 5 μm 切片,经二甲苯脱蜡后分别行 HE 及 Masson 三色染色。HE 染色用以定性评估心肌坏死程度及间质增生特点; Masson 三色染色通过 Image J(NIH, Version 1.52)软件半定量分析各组大鼠心肌纤维化程度。

5.2 碱水解法检测羟脯氨酸含量 取 100 mg 大鼠心室肌组织按照试剂盒说明书进行羟脯氨酸含量测定。各组大鼠心肌组织羟脯氨酸含量以 μg/mg 组织湿重计算。

5.3 ELISA 检测 Ang II 含量 按 ELISA 试剂盒使用说明书进行大鼠心肌组织 Ang II 含量检测。主要步骤为:(1)每凹孔加入 50 μL 用稀释缓冲液稀释的含抗原的心肌组织标本,空白孔加蒸馏水 50 μL, 30 °C 作用 30 min;(2)洗涤:移去包被液,凹孔用洗涤缓冲液洗 5 次,每次 1 min;(3)各孔加入 50 μL 辣根过氧化物酶标记的检测抗体溶液,空白孔不加, 37 °C

作用 30 min; (4) 洗涤: 移去包被液, 凹孔用洗涤缓冲液洗 5 次, 每次 1 min; (5) 所有孔加入底物 A、B 各 50 μL , 37 $^{\circ}\text{C}$ 避光孵育 10 min; (6) 每孔加终止液 50 μL ; (7) 观察记录结果: 用酶标仪在 450 nm 波长下测量 OD 值, 计算 Ang II 含量。各组大鼠心肌组织 Ang II 含量以 $\mu\text{g}/\text{mg}$ 组织湿重表示。

5.4 Western Blot 检测大鼠心肌组织糜酶表达量 将 50 mg 心尖部心肌组织充分裂解, 以 Bradford 法进行蛋白定量后, 取 100 μg /样本行 SDS PAGE 电泳、经 0.22 μm PVDF 膜转膜后, 用 5% 脱脂奶粉封闭、免抗 chymase 多克隆抗体 (按 1:1 000 稀释) 杂交后显色, 同时用同一样本检测 GAPDH 作为内对照, 用全自动化学发光图像分析系统成像并分析各组大鼠 chymase 相对表达量。

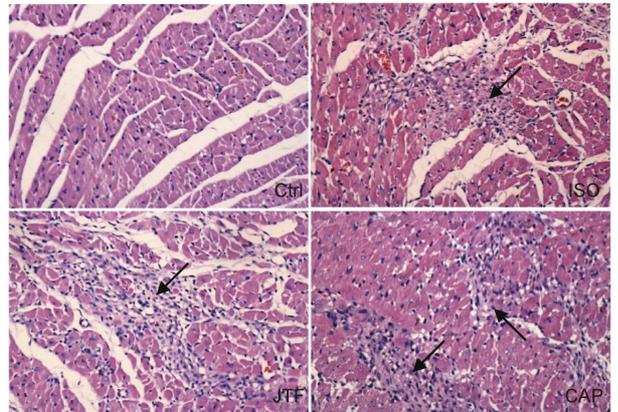
5.5 相对定量实时 PCR 检测大鼠心肌组织糜酶 mRNA 表达 采用相对定量实时 RT-qPCR 法检测各组大鼠心肌组织糜酶 mRNA 表达。首先, 用 TRIzol 法提取各组大鼠心肌组织总 RNA, 按二步法进行糜酶基因表达检测, 以 GAPDH 作为内参基因。糜酶 (GI: 6978666) 引物序列为上游: 5'-GAGAATGTG-CAGGGCAGTTG-3', 下游: 5'-GGGCTCCTG-GAGTCTCATCT-3', PCR 产物长 94 bp。内参 GAPDH (NM_017008.4) 引物序列为上游: 5'-GT-TACCAGGGCTGCCTTCTC-3', 下游: 5'-GATGGT-GATGGGTTTCCCGT-3', PCR 产物长 177 bp。以 $2^{-\Delta\Delta\text{CT}}$ 表示糜酶 mRNA 的相对表达量, $\Delta\Delta\text{CT} = (\text{CT}_{\text{chymase}} - \text{CT}_{\text{GAPDH}})_{\text{experiment}} - (\text{CT}_{\text{chymase}} - \text{CT}_{\text{GAPDH}})_{\text{control}}$ [6]。

6 统计学方法 采用 GraphPad Prism 5.0 软件分析。计量数据表示为 $\bar{x} \pm s$, 用单因素方差分析法进行组间差异比较, 组间两两比较用 Newman-Keuls 分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

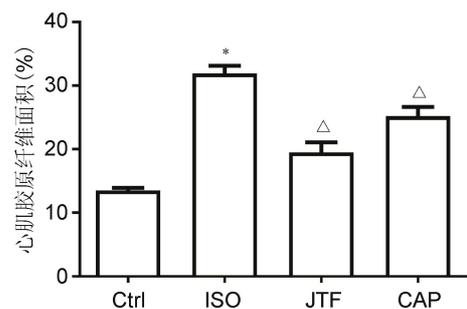
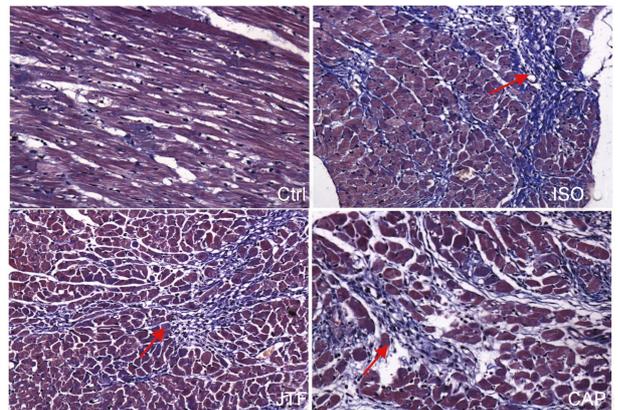
1 各组大鼠心肌组织学变化比较 (图 1、2) ISO 组大鼠可见边界清楚的大小不一的心肌坏死灶, 表现为心肌细胞溶解、断裂, 增生的巨噬细胞、成纤维细胞及胶原成分填充坏死空架, 坏死灶主要分布在乳头肌及内层心肌, 而中、外层心肌病灶少见。JTF 组和 CAP 组大鼠心肌组织坏死病变特点与 Ctrl 组大鼠表现相似, 但坏死灶数量及面积均有不同程度减轻, 少见心肌大面积坏死整合灶。与 Ctrl 组比较, ISO 组大鼠心肌组织胶原纤维面积 ($P < 0.01$); 与 ISO 组比较, JTF 组及 CAP 组大鼠心肌组织胶原纤维面积减

少 ($P < 0.01$)。



注: 箭头所示为增生的巨噬细胞、成纤维细胞及胶原成分填充坏死空架

图 1 各组大鼠心肌组织学变化比较 (HE 染色, $\times 200$)



注: 箭头所指为胶原成分填充坏死灶; 与 Ctrl 组比较, * $P < 0.01$; 与 ISO 组比较, ^ $P < 0.01$

图 2 各组大鼠心肌组织学变化比较 (Masson 染色, $\times 200$)

2 各组大鼠心肌组织羟脯氨酸及 Ang II 含量比较 (表 1) 与 Ctrl 组比较, ISO 组大鼠心室组织羟脯氨酸及 Ang II 含量明显增加 ($P < 0.05$)。与模型组比较, JTF 组和 CAP 组大鼠心肌组织羟脯氨酸及 Ang II 含量降低 ($P < 0.05$), 两组间比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。

表 1 各组大鼠心肌组织羟脯氨酸及 Ang II 含量比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	羟脯氨酸 (mg/g)	Ang II ($\mu\text{g/g}$)
Ctrl	10	0.151±0.005	299.2±90.6
ISO	10	0.350±0.011*	810.4±136.3*
JTF	10	0.191±0.023 [△]	552.8±90.5 [△]
CAP	10	0.265±0.027 [△]	562.9±124.1 [△]

注:与 Ctrl 组比较,* $P<0.05$;与 ISO 模型组比较,[△] $P<0.05$

3 各组大鼠心肌组织糜酶蛋白及 mRNA 表达比较(表 2) 与 Ctrl 组比较,ISO 组大鼠心肌组织糜酶蛋白及 mRNA 表达增加($P<0.05$)。与 ISO 组比较,JTF 组大鼠心肌组织糜酶蛋白及 mRNA 表达降低($P<0.05$),CAP 组大鼠心肌组织糜酶蛋白 mRNA 表达降低($P<0.05$)。与 CAP 组比较,JTF 组大鼠心肌组织糜酶蛋白 mRNA 表达降低($P<0.05$)。

表 2 各组大鼠心肌组织糜酶蛋白及 mRNA 表达比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	糜酶蛋白	糜酶 mRNA
Ctrl	10	0.63±0.10	1.03±0.23
ISO	10	1.07±0.13*	4.28±0.85*
JTF	10	0.69±0.09 [△]	1.95±0.69 [△]
CAP	10	0.87±0.06	2.93±0.67 ^{△▲}

注:与 Ctrl 组比较,* $P<0.05$;与 ISO 组比较,[△] $P<0.05$;与 JTF 组比较,[▲] $P<0.05$

讨 论

机体阴阳气血失调,脏腑功能失调致虚,虚则内生毒邪,浊毒内生,不能及时排出体外,淤积日久入络,而络病则影响人体气血的运行、脏腑的功能,如此循环往复,终致心体受损,心气血阴阳俱衰竭,此即为任继学教授提出的心肌纤维化“毒伤血络”学说^[8]。

黄永生教授本着治病必求其本的原则,根据多年临床实践经验,提出以解毒通络方治疗心肌纤维化。本方由夏枯草、牛膝、菟蔚子组成,其中夏枯草味苦辛、性寒,有疏通气血之功,其通络散结之能调畅营气以散毒,为该方君药;牛膝味甘酸,性平,具有补益肝肾,滋阴潜阳之功,为臣药;菟蔚子味辛甘、微苦、微寒,性凉,具有顺气活血化痰之能,祛瘀而通,上行而下达为佐使药。三药组合使肝肾阴阳平衡,气血畅通,营行毒除而通络。

ISO 属儿茶酚胺类药物,大鼠皮下注射 ISO 后,ISO 可通过激动心脏 β 肾上腺素受体,加快心率、增加心肌收缩力,增加心肌耗氧量,进而引起心肌微循环障碍,导致心肌损伤,镜下显示为境界清楚的大小不一的心肌坏死灶,表现为心肌细胞溶解、断裂,随着病程发展,逐渐由增生的巨噬细胞、成纤维细胞及胶原成分填

充坏死空架^[7]。本研究用 ISO 单次多点皮下注射法复制心肌纤维化大鼠模型,结果显示,大鼠经 ISO 注射后,其心肌组织可见境界清楚的大小不一的心肌坏死灶,增生的巨噬细胞、成纤维细胞及胶原成分填充坏死空架,即发生明显心肌纤维化。

本研究中,JTF 组及 CAP 组大鼠心肌组织均可见大小不等的心肌坏死病灶,但与 ISO 组比较,其数量及面积均有不同程度减轻,且少见心肌大面积坏死整合灶。Masson 三色染色分析各组大鼠心肌纤维化程度,结果显示,在心肌溶解性坏死留下的空架内有大量纤维组织填充,ISO 组大鼠心肌组织胶原纤维面积较 Ctrl 组增加,而与 ISO 比较,JTF 组及 CAP 组大鼠心肌组织胶原纤维面积减少,提示解毒通络方可明显抑制大鼠心肌纤维化程度,延缓心肌纤维化进程,疗效与卡托普利相当。

Ang II 是近年公认的致纤维化因素,与心肌纤维化在内的多种器官纤维化有关。研究结果显示,Ang II 有刺激心肌成纤维细胞增殖作用,在体内和体外均可刺激其合成和分泌细胞外基质,进而促进心肌纤维化进程^[9,10]。近年研究显示,除经典 RAS 途径外,在心脏,还存在糜酶/Ang II 途径^[11]。糜酶是最早发现于肥大细胞的一种丝氨酸蛋白酶,是目前已知的最强有力的局部组织 Ang I 转换酶,目前认为,糜酶途径来源的 Ang II 的生物学活性约为 RAS 来源的 20 倍^[12,13]。本研究结果显示,ISO 组心肌组织 Ang II 含量以及糜酶含量和 mRNA 表达较 Ctrl 组增加,而经解毒通络方治疗后心肌组织 Ang II 含量以及糜酶 mRNA 表达降低,其效果与卡托普利相当。此外,解毒通络方大鼠还出现心肌组织糜酶含量降低,提示除 Ang II 经典生成途径外,解毒通络方还可能通过心肌组织中糜酶/Ang II 途径,即 Ang II 的糜酶生成途径可能是解毒通络方的治疗心肌纤维化的靶点之一。

综上,解毒通络方可抑制 ISO 诱导大鼠心肌纤维化,其机制与抑制糜酶/Ang II 途径有关

利益冲突:所有作者无利益冲突。

参 考 文 献

- [1] 李霞,谭元生. 中医药防治心肌纤维化作用的研究进展[J]. 中西医结合心脑血管病杂志, 2014, 12(2): 229-231.
- [2] Yue Z, Zhang Y, Xie J, et al. Transient receptor potential (TRP) channels and cardiac fibrosis[J]. Curr Top Med Chem, 2013, 13(3): 270-282.
- [3] Kennedy S, Wu J, Wadsworth RM, et al. Mast

- cells and vascular diseases [J]. *Pharmacol Ther*, 2013, 138(1): 53-65.
- [4] 任玺勃, 南征著主编. 任继学医学全书 [M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2014: 142-143.
- [5] 王景妍, 王博宇, 尹延丽, 等. 解毒通络方抑制异丙肾上腺素诱导心肌损伤大鼠的胶原合成 [J]. *中国老年学杂志*, 2017, 37(19): 4719-4722.
- [6] 高海成, 孙波, 苗春生, 等. 大剂量盐酸异丙肾上腺素诱发大鼠心肌缺血性坏死模型的建立 [J]. *中国生物制品学杂志*, 2009, 22(3): 288-290, 296.
- [7] 李才, 任立群主编. 人类疾病动物模型的复制 [M]. 第二版. 北京: 人民卫生出版社, 2018: 42-54.
- [8] 崔英子, 郭家娟, 李相军, 等. 潜阳解毒通络方对自发性高血压大鼠心肌纤维化的影响 [J]. *中国继续医学教育*, 2015, 7(28): 178-180.
- [9] Livak KJ, Schmittgen TD. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the $2^{-\Delta\Delta Ct}$ method [J]. *Methods*, 2001, 25(4): 402-408.
- [10] Sadoshima J, Izumo S. Molecular characterization of angiotensin II-induced hypertrophy of cardiac myocytes and hyperplasia of cardiac fibroblasts. Critical role of the AT1 receptor subtype [J]. *Circ Res*, 1993, 73(3): 413-423.
- [11] Ma ZG, Yuan YP, Zhang X, et al. Piperine attenuates pathological cardiac fibrosis via pPAR-gamma/AKT pathways [J]. *EBio Medicine*, 2017, 18: 179-187.
- [12] Kanemitsu H, Takai S, Tsuneyoshi H, et al. Chronic chymase inhibition preserves cardiac function after left ventricular repair in rats [J]. *Eur J Cardiothorac Surg*, 2008, 33(1): 25-31.
- [13] Wei CC, Hase N, Inoue Y, et al. Mast cell chymase limits the cardiac efficacy of Ang I-converting enzyme inhibitor therapy in rodents [J]. *J Clin Invest*, 2010, 20(4): 1229-1239.

(收稿: 2019-02-15 在线: 2020-09-01)

责任编辑: 邱禹

欢迎订阅 2020 年《中国中西医结合杂志》

《中国中西医结合杂志》是由中国科学技术协会主管、中国中西医结合学会和中国中医科学院主办的中西医结合综合性学术期刊。1981 年创刊,由中国科学院院士陈可冀教授担任总编辑。设有述评、专家论坛、专题笔谈、临床论著、基础研究、临床报道、综述、学术探讨、思路与方法学、临床试验方法学、病例报告、中医英译、会议纪要等栏目。本刊多次获国家科委、中宣部、新闻出版署及国家中医药管理局颁发的全国优秀期刊奖;2001 年被新闻出版署评为“双效期刊”,列入中国期刊方阵;2002—2017 年 15 次被评为“百种中国杰出学术期刊”;2012—2017 年连续评为“中国最具国际影响力学术期刊”;3 次获中国科协择优支持基础性和高科技学术期刊专项资助;4 次获“国家自然科学基金重点学术期刊专项基金”资助;4 次获“中国科协精品科技期刊工程项目期刊”,2018 年共计 22 篇论文入选“F5000 中国精品科技期刊顶尖学术论文”;2015 年 5 月荣获中国科协精品科技期刊 TOP 50 项目;2018 年入选“中文科技期刊精品建设计划”。本刊被多种国内外知名检索系统收录,如:中国科学引文数据库、中国生物医学文献数据库、美国《化学文摘》(CA)、俄罗斯《文摘杂志》(AJ)、日本《科学技术文献速报》(JST)、美国《乌利希期刊指南》(Ulrich's PD)、波兰《哥白尼索引》(IC)、英国《国际农业与生物科学研究中心》(CABI)、WHO 西太平洋地区医学索引(WPRIM)等;为中国科技论文统计源期刊、中国学术期刊综合评价数据库统计源期刊,被编入北京大学图书馆《中文核心期刊要目总览》,每年影响因子及总被引频次在中西医结合期刊中均名列前茅。

《中国中西医结合杂志》为大 16 开本,月刊,128 页;铜版纸印刷,彩色插图。国内定价:30.00 元/期。全年定价:360.00 元。国际标准刊号:ISSN 1003-5370,国内统一刊号:CN 11-2787/R,国内邮发代号:2-52,国外代号:M640。国内外公开发售,在各地邮局均可订阅,也可直接汇款至本社邮购。

地址:北京市海淀区西苑操场 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:010-62876547-815;E-mail: cjim@cjim.cn;网址: <http://www.cjim.cn>。