

人参总皂苷抑制钙调神经磷酸酶信号通路 参与其抗右室肥厚作用的实验研究

秦 娜¹ 魏立伟² 黄燮南³

摘要 目的 观察人参总皂苷(total ginsenosides, TG)对野百合碱(monocrotaline, MCT)所致大鼠右室肥厚的影响并探讨其与钙调神经磷酸酶(CaN)信号通路的关系。**方法** 将 50 只雄性 SD 大鼠随机分为正常对照组, MCT 模型组, TG 低、中、高剂量组, 每组 10 只, 各给药组动物均腹腔注射给药 18 天。用药前后测定各组大鼠的右心室收缩压(RVSP)、右室肥厚指数(RVHI)、右心重/体重(RVW/BW); Ca^{2+} 荧光指示剂 Fura-2/AM 测定心肌细胞内 Ca^{2+} 浓度; Real time-PCR 检测心肌组织心房利钠因子(ANF)、CaN mRNA 的表达, Western blot 检测心肌组织 CaN 蛋白表达。**结果** 与 MCT 模型组比较, TG 低、中、高剂量预防给药均使 RVSP、RVHI、RVW/BW 及 ANF mRNA 表达明显降低, 显著降低心肌细胞 Ca^{2+} 浓度, 以及心肌组织 CaN mRNA 和 CaN 蛋白表达。**结论** TG 能明显改善 MCT 诱导的大鼠右室肥厚, 其抗心肌肥厚作用至少与抑制 CaN 信号转导通路有关。

关键词 人参总皂苷; 右室肥厚; 钙调神经磷酸酶; 野百合碱

Total Ginsenosides Fought against Right Ventricular Hypertrophy through Inhibiting Calcineurin Signal Pathway QIN Na¹, WEI Li-wei², and HUANG Xie-nan³ 1 Disposable Center for Intravenous Pharmacy, Luoyang Orthopedics Hospital, Henan (471000), China; 2 Department of Sports Medicine, Luoyang Orthopedics Hospital, Henan (471000), China; 3 Faculty of Pharmacology, Zunyi Medical Hospital, Guizhou (563000), China

ABSTRACT Objective To observe the effect of total ginsenosides (TG) on monocrotaline (MCT) induced right ventricular hypertrophy rats, and to explore its correlation with calcineurin (CaN) pathway. **Methods** Fifty male Sprague Dawley rats were randomly divided into the normal control group, the MCT model group, and the low, middle, high dose TG treatment groups, 10 in each group. All medication was performed by peritoneal injection for 18 days. Right ventricular peak systolic pressure (RVSP), right ventricular hypertrophy index (RVHI), and right ventricular weight/body weight (RVW/BW) were measured. Intracellular free calcium concentrations were measured by Ca^{2+} fluorescence indicator Fura2/AM. The atrial natriuretic factor (ANF) and CaN mRNA expression of the myocardial tissue were quantitatively analyzed by Real-time PCR. The protein expression of CaN was detected by Western blot. **Results** Compared with the MCT model group, preventive treatment of TG at the 3 doses could significantly reduce RVSP, RVHI, RVW/BW, and ANF mRNA expression, and decrease Ca^{2+} concentration in myocardial cells, CaN mRNA and protein expression in the myocardial tissue. **Conclusion** TG could obviously improve MCT-induced right ventricular hypertrophy, which was possibly achieved through suppressing MCT-activated CaN signal transduction.

KEYWORDS total ginsenosides; right ventricular hypertrophy; calcineurin; monocrotaline

心肌肥厚是心肌对多种心血管刺激的适应性反

应, 早期有一定代偿意义。但长期的心肌肥厚将发展为心力衰竭、心律失常和猝死^[1]。右室肥厚、右心衰竭是肺动脉高压死亡的主要原因^[2]。因此, 逆转右室肥厚是提高患者生存率和生活质量的重要环节。

人参主要活性物质人参皂苷有阻滞钙离子通道^[3,4]、抗血管平滑肌细胞增殖^[5,6]、调节一氧化氮(nitric oxide, NO)的释放^[7,8]等作用。目前资料表

基金项目: 贵州省自然科学高等教育发展基金项目资助(No. 2005110)

作者单位: 1. 河南省洛阳正骨医院静脉药物配置中心(河南 471000); 2. 河南省洛阳正骨医院运动医学科(河南 471000); 3. 贵州省遵义医学院药理学教研室(贵州 563000)

通讯作者: 黄燮南, Tel: 0852-8609623, E-mail: huangxienan@aliyun.com.cn

DOI: 10.7661/CJIM.2015.01.0093

明,某些抗心肌肥厚药物的作用可能与其降低细胞内钙离子(Ca²⁺)有关。本课题组前期的研究表明,人参皂苷 Rb₁ 能显著对抗野百合碱(monocrotaline, MCT)所致大鼠右室肥厚和外源性前列腺素 F_{2α} 所致培养乳鼠心肌细胞肥大作用,其机制可能部分与其降低细胞内 Ca²⁺ 从而抑制 CaN-NFAT3 信号通路有关^[9,10],人参总皂苷的各单体间结构相似,推测若干成分可能具有 Rb₁ 类似的抗心肌肥厚作用,而且人参总皂苷较人参皂苷 Rb₁ 便宜,来源丰富,更易于开发利用。本研究拟探讨人参总皂苷(total ginsenosides, TG)对 MCT 诱导的大鼠右心室肥厚作用及其可能的作用机制,为传统中药人参的开发利用提供基础药理学依据。

材料与方法

1 动物 雄性 SD(Spragye-Dawley)大鼠,清洁级,体重(200 ± 20)g。由第三军医大学大坪医院实验动物中心提供(许可证号:SCXK20020003)。

2 药物 TG 由北京天然药物研究院赵锐教授惠赠(用 JTY-300 型反相制备色谱固定相分离,纯度 > 93%)。MCT(批号:106K1602),美国 Sigma 公司产品。

3 试剂与仪器 ANF、CaN、β-actin 和逆转录试剂盒由大连宝生物工程有限公司;SYBR[®] GREEN PCRMaster Mix(ABI 公司);CaN 催化亚基(CnA)兔抗大鼠多克隆抗体(加拿大 Stressgen 公司);actin 兔抗大鼠多克隆抗体(Santa Cruz 公司)。实时荧光定量 PCR 仪(美国 Bio-RAD 公司);逆转录仪(德国 Eppendorf 公司),Model 550 型酶标仪(美国 Bio-Tek 公司);Lcycler 荧光定量 PCR 仪(美国 Bio-RAD 公司)。

4 方法

4.1 模型制作方法 50 只雄性 SD 大鼠按随机数字表法分为正常对照组,MCT 模型组,TG 低、中、高剂量组,每组 10 只。MCT 诱导的右室肥厚模型制备参考文献^[11],即除正常对照组外其他 4 组单次腹腔注射 2% MCT 60 mg/kg,模型制备成功率 > 90%^[12]。

4.2 分组及给药方法 造模 24 h 后 TG 低、中、高剂量组每天分别腹腔注射 TG 20、40、60 mg/kg,各组 TG 的剂量参考文献^[13]及结合预实验的结果确定,MCT 模型组腹腔注射等量的生理盐水,共 18 天。

4.3 观察项目及检测方法

4.3.1 右心室收缩压(RVSP)的测定 造模 18 天后,采用右心导管术^[14],检测 RVSP。

4.3.2 右室肥厚指数(RVHI)测定 称右室

(RV)和左室及室间隔(LV+S)的重量,计算 RVHI 和 RV/体重(BW),RVHI = RV/(LV+S)。

4.3.3 右心肌细胞内钙离子(Ca²⁺)浓度的测定 取 100 mg 心肌,酶法分离心肌细胞,应用 Ca²⁺ 荧光指示剂 Fura-2/AM 测定大鼠心肌细胞内 Ca²⁺ 浓度。

4.3.4 心肌组织 ANF、CaN mRNA 的表达 采用 Real time-PCR 检测右心肌组织总 RNA 的提取及逆转录操作按试剂盒说明进行。根据 Fen bank 数据库中提供的 ANF、CaN 和 β-actin mRNA 序列(由大连宝生物工程有限公司合成引物)。Real time-PCR 反应条件:95 °C,10 min 进入循环;95 °C,15s、60 °C,1 min,循环 45 次。以 Ct 值为统计参数依次计算下列数据:(1)Ct 平均值 = (Ct1 + Ct2 + Ct3)/3 (重复管),(2)ΔCt = Ct 平均值 - Ct 中间值,(3)基因的表达 = 2^(-ΔCt),(4)以目的基因的表达/内参基因的表达进行 ANF 和 CaN 的相对定量。

表 1 目的基因引物序列

| 基因 | 引物序列 | 引物长度 (bp) |
|---------|--|-----------|
| ANF | 上游 5'-TCGAGCAGATTTGGCTGTTATCTTC-3' 下游 5'-TGACAGGATTGGAGCCAG-3' | 75 |
| CaN | 上游 5'-CTGAGATGCTGGTAAACGTCCTGA-3' 下游 5'-TGCTCGGATCTTGTTCCTGATG-3' | 122 |
| β-actin | 上游 5'-GGCCAACCGTGAAAAGATGA-3' 下游 5'-CAGCCTGGATGGCTACGTACA-3' | 104 |

4.3.5 右心肌组织 CaN 蛋白的表达 采用 Western blot 检测右心室组织约 100 mg,加 RIPA 裂解缓冲液 1 mL 匀浆,12 000 × g,4 °C 离心 20 min,取上清液用 Bradford 蛋白浓度检测试剂盒进行蛋白定量。取 40 μg 蛋白经聚丙烯酰胺变性凝胶分离,电转膜法转移到 PVDF 膜上。封闭、分别加 CaN 一抗(1:200)稀释、辣根过氧化物酶标记二抗,二氨基联苯胺显色,凝胶成像系统分析。每组重复 3 次。

4.4 统计学方法 应用 SPSS 13.0 软件进行分析,各组计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间均数比较采用单因素方差分析,两两比较用 LSD-t 检验, P < 0.05 为差异有统计学意义。

结 果

1 TG 对 MCT 诱导心肌肥厚大鼠 RVSP、RVHI 及 RV/BW 的影响(表 2) 与正常对照组比较,MCT 模型组在腹腔注射 MCT18 天后 RVSP、RVHI、RVW/

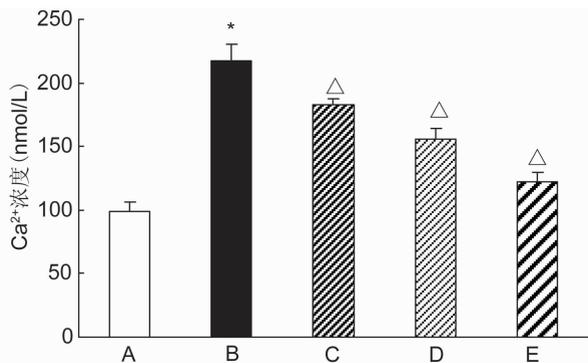
BW 分别增加了 64%、30%、44%，与 MCT 模型组比较，TG 各剂量组上述指标明显降低 ($P < 0.01$)，但 TG 各剂量组差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。

表 2 TG 对 MCT 诱导心肌肥厚大鼠 RVSP、RVHI 及 RV/BW 的影响 ($\bar{x} \pm s$)

| 组别 | n | RVSP(mmHg) | RVHI | RVW/BW |
|--------|---|---------------------------|----------------------------|----------------------------|
| 正常对照 | 8 | 16.76 ± 1.04 | 0.251 ± 0.016 | 0.459 ± 0.021 |
| MCT 模型 | 8 | 28.21 ± 3.70* | 0.327 ± 0.032* | 0.632 ± 0.037* |
| TG 低剂量 | 8 | 19.38 ± 0.80 [△] | 0.274 ± 0.011 [△] | 0.491 ± 0.010 [△] |
| 中剂量 | 8 | 18.74 ± 1.96 [△] | 0.269 ± 0.013 [△] | 0.476 ± 0.009 [△] |
| 高剂量 | 8 | 17.74 ± 0.61 [△] | 0.254 ± 0.013 [△] | 0.455 ± 0.011 [△] |

注：与正常对照组比较，* $P < 0.01$ ；与 MCT 模型组比较，[△] $P < 0.01$

2 不同剂量 TG 对 MCT 诱导心肌肥厚大鼠心肌细胞内 Ca^{2+} 浓度的影响(图 1) MCT 模型组大鼠心肌细胞内 Ca^{2+} 浓度较正常对照组明显增高 ($P < 0.01$)，TG 能剂量依赖性降低右室肥厚大鼠心肌细胞内 Ca^{2+} 浓度 ($P < 0.01$)，与 MCT 模型组比较，分别降低了 15.9%、28.5%、43.6%。

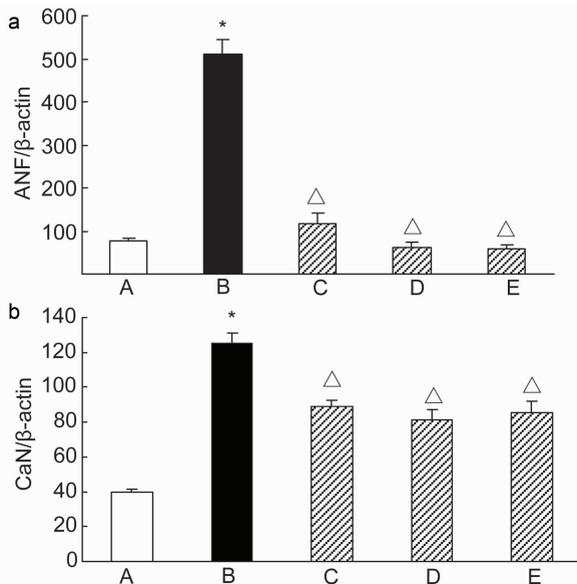


注：A 为正常对照组；B 为 MCT 模型组；C 为 TG 低剂量组；D 为 TG 中剂量组；E 为 TG 高剂量组；与正常对照组比较，* $P < 0.01$ ；与 MCT 模型组比较，[△] $P < 0.01$ ；下图同

图 1 不同剂量 TG 对 MCT 诱导心肌肥厚大鼠心肌细胞内 Ca^{2+} 浓度的影响

3 各组 ANF、CaN mRNA 表达水平比较(图 2) 与正常对照组比较，MCT 模型组 ANF、CaN mRNA 表达明显增加，ANF、CaN mRNA 分别增加了 5.6、2.1 倍 ($P < 0.01$)。TG 预防给药均明显抑制 ANF、CaN mRNA 表达，与 MCT 模型组比较，TG 低剂量组 CaN mRNA 表达分别减少了 28.7%、29.3% ($P < 0.01$)，TG 各剂量组间比较，差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。

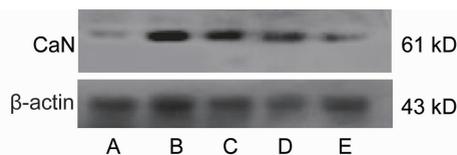
4 各组大鼠右心室组织中 CaN 蛋白表达比较(图 3, 表 3) 与正常对照组比较，MCT 模型组 CaN



注：a 为 ANFmRNA 表达；b 为 CaNmRNA 表达

图 2 各组 ANF、CaN mRNA 表达水平比较

蛋白表达明显增高，TG 预防给药能降低 CaN 蛋白表达，TG 低、中、高剂量组分别减少了 16%、42%、66%，差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。



注：A 为正常对照组；B 为模型组；C 为 TG 低剂量组；D 为 TG 中剂量组；E 为 TG 高剂量组

图 3 各组大鼠右心室组织中 CaN 蛋白电泳图

表 3 各组大鼠右心室组织中 CaN 蛋白表达比较 ($\bar{x} \pm s$)

| 组别 | n | CaN |
|--------|---|--------------------------|
| 正常对照 | 8 | 0.86 ± 0.04 |
| MCT 模型 | 8 | 3.43 ± 0.38* |
| TG 低剂量 | 8 | 2.85 ± 0.24 [△] |
| 中剂量 | 8 | 1.96 ± 0.12 [△] |
| 高剂量 | 8 | 1.14 ± 0.23 [△] |

注：与正常对照组比较，* $P < 0.01$ ；与 MCT 模型组比较，[△] $P < 0.01$

讨 论

MCT 所诱导肺动脉高压继发的右室肥厚是公认的右室肥厚模型。MCT 是从野百合种子中提取的一种吡咯烷生物碱，在大鼠体内被肝脏的混合功能氧化酶转化为野百合吡咯 (MCT-pyrrole) 后，可损伤肺血管内皮细胞，进而引起肺动脉平滑肌细胞进行性增殖，

导致肺动脉高压,继发 RVH^[12]。本实验结果表明,大鼠在单次腹腔注射 MCT 18 天后, RVSP、RVHI、RVW/BW 均明显高于正常对照组,说明 MCT 右室肥厚的模型制备成功, TG 预防给药组能明显减轻上述指标的增高,其中,由于模型组给药前后 BW 无差别甚至略低,与正常对照组比较明显偏轻, RV/BW 可能因模型组体重减轻而产生一定的非特异效应,但 RVHI 的明显升高强烈提示 RVH 的发生。单从检测指标上看, TG 高剂量给药组比低剂量效果更为明显,然统计学分析表明, TG 各剂量组间差异无统计学意义。心肌组织胎儿基因 ANF 水平增高是心肌肥大的标志之一,心肌肥大时 ANF 基因重新活化,表达明显增加^[15]。因此,本实验用 Real time-PCR 检测了 ANF mRNA 在心肌组织中的表达情况。结果显示, MCT 模型组比正常对照组 ANF mRNA 表达明显增加,进一步从基因水平上证实了心肌肥厚的形成, TG 各剂量具有减轻 MCT 引起心肌肥厚的作用,降低 RVSP 可能参与了其抗心肌肥厚作用。

多项研究表明,人参皂苷具有钙通道阻滞作用^[13,16],而心肌细胞内 Ca^{2+} 持续升高及由此激活的瞬时受体电位通道 (TRPC)-CaN-NFAT3 在心肌肥厚的病理过程起重要调节作用^[17,18]。激活 CaN 的转位入细胞核,与心肌细胞核内的转录因子如 GATA4,活化多种心肌肥厚的相关基因,调节心脏中 ANF、脑钠肽 (BNP)、 β -肌球蛋白重链 (β -MHC) 等肥大基因特异性表达,导致心肌肥厚形成;抑制 CaN 的活性可减轻心肌肥厚^[19,20]。本实验结果显示, MCT 右室肥厚模型大鼠心肌细胞内 Ca^{2+} 浓度明显增高,而 TG 预防给药能显著地降低心肌肥厚大鼠心肌细胞内 Ca^{2+} 浓度,另外, CaN mRNA 和其蛋白表达检测结果表明,模型组 CaN mRNA 和其蛋白表达水平均增高,提示 CaN-NFAT 通路参与了 MCT 诱导的右室肥厚的发生。TG 低、中、高剂量预防给药同样能显著降低 CaN mRNA 和其蛋白表达水平,提示其抗心肌肥厚作用与逆转心肌细胞内钙超载,抑制 CaN 通路有关。需要指出的是, TG 对 CaN mRNA 表达的影响各个剂量组之间差异无统计学意义,但对 Ca^{2+} 浓度和 CaN 蛋白水平的影响 TG 剂量组之间有统计学意义,能剂量依赖性降低或增高蛋白的表达,其原因可能是本实验所用 CaN 的引物不是针对其活性部分的;机体对 CaN 活性的调节发生在蛋白水平上。总之,以上结果提示, TG 抗心肌肥厚的作用至少与其抑制 CaN 信号通路有关。

心肌肥厚的发生发展是一个多因素参与的复杂的病理生理过程, TG 抗心肌肥厚的作用除影响 CaN 信

号通路外,还可能与其它信号通路有关,值得进一步研究。

参 考 文 献

- [1] Berenji K, Drazner MH, Rothermel BA, et al. Does load-induced ventricular hypertrophy progress to systolic heart failure [J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2005, 289(1): H8-H16.
- [2] Voelkel NF, Quaife RA, Leinwand LA, et al. Right ventricular function and failure: report of a National Heart, Lung, and Blood Institute Working Group on cellular and molecular mechanisms of right heart failure [J]. *Circulation*, 2006, 114(17): 1883-1891.
- [3] Zhong GG, Sun CW, Li YY, et al. Calcium channel blockade and anti-free-radical actions of panaxadiol saponins Rb₁, Rb₂, Rb₃, Rc, and Rd [J]. *Acta Pharmacologica Sin*, 1995, 16(3): 255-260.
- [4] Jiang Y, Liu W, Wang XM, et al. Calcium channel blockade and anti-free-radical actions of panaxatriol saponins in cultured myocardiocytes [J]. *Acta Pharmacologica Sin*, 1996, 17(2): 138-141.
- [5] Ma ZC, Gao Y, Wang YG, et al. Ginsenoside Rg₁ inhibits proliferation of vascular smooth muscle cells stimulated by tumor necrosis factor- α [J]. *Acta Pharmacologica Sin*, 2006, 27(8): 1000-1006.
- [6] Zhang HS, Wang SQ. Ginsenoside Rg₁ inhibits tumor necrosis factor- α (TNF- α)-induced human arterial smooth muscle cells (HSMCs) proliferation [J]. *J Cellul Biochem*, 2006, 98(6): 1471-1481.
- [7] KW Leung, YK Cheng, NK Mak, et al. Signaling pathway of ginsenoside-Rg₁ leading to nitric oxide production in endothelial cells [J]. *FEBS Lett*, 2006, 580(13): 3211-3216.
- [8] Yu J, Eto M, Akishita M, et al. Signaling pathway of nitric oxide production induced by ginsenoside Rb₁ in human aortic endothelial cells: a possible involvement of androgen receptor [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2007, 353(3): 764-769.
- [9] Jiang QS, Huang XN, Yang GZ, et al. Inhibitory effect of ginsenoside Rb₁ on calcineurin signal pathway in cardiomyocyte hypertrophy induced by prostaglandin F₂ [J]. *Acta Pharmacologica Sin*, 2007, 28(8): 1149-1154.
- [10] Jiang QS, Huang XN, Dai ZK, et al. Inhibitory effect of ginsenoside Rb₁ on cardiac hypertrophy induced by monocrotaline in rats [J]. *J Ethnopharmacol*, 2007, 111(3): 567-572.

- [11] 徐叔云,卞如濂,陈修. 药理实验方法学 [M]. 第 3 版. 北京:人民卫生出版社, 2002: 1030 - 1032.
- [12] Brown L, Miller J, Dagger A, et al. Cardiac and vascular responses after monocrotaline-induced hypertrophy in rats [J]. *J Cardiovasc Pharmacol*, 1998, 31(1): 108 - 115.
- [13] 李永民,陈晓春,刘华,等. 人参总皂苷合黄连小檗碱对慢性心衰大鼠血浆 BNP、心肌细胞内钙离子浓度的影响 [J]. *中国中药杂志*, 2009, 34(3): 324 - 327.
- [14] 孙波,刘文利. 右心导管测定大鼠肺动脉压的实验方法 [J]. *中国医学科学院学报*, 1984, 6(6): 465 - 467.
- [15] Chien KR, Knowlton KU, Zhu H, et al. Regulation of cardiac gene expression during myocardial growth and hypertrophy: molecular studies of an adaptive physiologic response [J]. *FASEB J*, 1991, 5(15): 3037 - 3046.
- [16] JH Lee, SM Jeong, JH Kim, et al. Effects of ginsenosides and their metabolites on voltage-dependent Ca^{2+} channel subtype [J]. *Mol Cells*, 2006, 21(1): 52 - 62.
- [17] Bush EW, Hood DB, Papst PJ, et al. Canonical transient receptor potential channels promote cardiomyocyte hypertrophy through activation of calcineurin signaling [J]. *J Biol Chem*, 2006, 281(44): 33487 - 33496.
- [18] Nakayama H, Wilkin BJ, Bodi I, et al. Calcineurin-dependent cardiomyopathy is activated by TRPC in the adult mouse heart [J]. *FASEB J*, 2006, 20(10): 1660 - 1670.
- [19] Molkentin JD, Lu JR, Antos CL, et al. A calcineurin-dependent transcriptional pathway for cardiac hypertrophy [J]. *Cell*, 1998, 93(2): 215 - 228.
- [20] Sussman MA, Lim HW, Gude N, et al. Prevention of cardiac hypertrophy in mice by calcineurin inhibition [J]. *Science*, 1998, 281(5383): 1690 - 1693.

(收稿:2013-04-07 修回:2014-04-15)

· 征订启事 ·

欢迎订阅 2015 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;2003—2012 年连续 10 年被评为“百种中国杰出学术期刊”;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”。并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、美国医学索引(MEDLINE)、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《中文核心期刊要目总览》,每年影响因子及总被引频次在中医药类期刊中均名列前茅。

《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:25.00 元/期。全年定价:300.00 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 - 62874291;E-mail: cjim@cjim.cn; 网址: http://www.cjim.cn。