

DOI: 10.3969/j.issn.1005- 8982.2017.03.014

文章编号: 1005- 8982 (2017) 03- 0069- 05

Th17 细胞表面 CCR4、CCR6、CXCR3 表达量 检测对慢性乙型肝炎患者病情评估的价值*

孙立华, 朱斌, 周艳彩, 张光文

(新乡医学院第一附属医院 感染疾病科, 河南 新乡 453100)

摘要:目的 分析外周血中辅助性 T 细胞 17 (Th17) 表面 CC 趋化因子受体 4 (CCR4)、CC 趋化因子受体 6 (CCR6)、CXC 亚族趋化因子受体 3 (CXCR3) 表达量检测对慢性乙型肝炎患者病情评估的价值。**方法** 选取 2013 年 8 月 - 2015 年 12 月在该院接受治疗的乙型肝炎患者 118 例作为观察组, 同期在该院接受健康体检的肝功能正常人群 142 例作为对照组, 对比两组外周血 Th17 细胞表面 CCR4、CCR6、CXCR3 表达水平, 血清纤维化指标及肝功能指标, 并进一步分析 CCR4、CCR6、CXCR3 表达量与慢性乙肝患者病情严重程度的相关性。**结果** 慢性乙肝患者的外周血 Th17 细胞表面 CCR4、CCR6、CXCR3 表达水平, 透明质酸 (HA)、层粘连蛋白 (LN)、IV 型胶原 (IVc)、III 型前胶原 (PCIII) 值, 丙氨酸转移酶 (ALT)、白蛋白 (Alb)、总胆红素 (TBIL) 值均高于对照组, 球蛋白 (Glo) 值低于对照组, 随着慢性乙肝病情加重, 外周血 Th17 细胞表面 CCR4、CCR6、CXCR3 表达水平, HA、LN、IVc、PCIII 值, ALT、Alb、TBIL 值进一步上升, Glo 值下降。CCR4、CCR6、CXCR3 表达量与慢性乙肝患者的外周血 HA、LN、IVc、PCIII、ALT、Alb、TBIL 呈正相关, 与 Glo 呈负相关 ($P < 0.05$)。**结论** 慢性乙肝患者存在外周血 Th17 细胞表面 CCR4、CCR6、CXCR3 异常表达, 其与患者病情严重程度直接相关, 可以作为乙肝治疗的新靶点。

关键词: 慢性乙型肝炎; Th17 细胞; 病情评估

中图分类号: R512.62

文献标识码: A

Value of CCR4, CCR6 and CXCR3 expressions on peripheral blood Th17 cell surface in assessment of disease condition in chronic hepatitis B patients*

Li-hua Sun, Bin Zhu, Yan-cai Zhou, Guang-wen Zhang

(Department of Infectious Diseases, the First Affiliated Hospital of Xinxiang
Medical College, Xinxiang, Henan 453100, China)

Abstract: Objective To analyze the detective value of peripheral blood Th17 cell surface CCR4, CCR6 and CXCR3 expressions in assessment of disease condition in chronic hepatitis B patients. **Methods** Totally 118 cases of hepatitis B patients in our hospital between August 2013 and December 2015 were chosen as observation group, 142 people having health examination in our hospital at same period as control group. CCR4, CCR6 and CXCR3 expression levels on peripheral blood Th17 cell surface, serum fibrosis markers and liver function indexes were compared between the two groups. The relationships of CCR4, CCR6 and CXCR3 expressions with disease severity were further analyzed. **Results** Th17 cell surface CCR4, CCR6 and CXCR3 expression levels in peripheral blood, serum HA, LN, collagen IV, PC III, ALT, Alb and TBIL values in the observation group were higher than those in the control group, while Glo value was lower than that in the control group ($P < 0.05$); these changes became more obvious along with exacerbation of chronic hepatitis B. CCR4, CCR6 and CXCR3 expressions in peripheral blood of the patients with chronic hepatitis B were posi-

收稿日期: 2016-04-05

* 基金项目: 2013 年度河南省医学科技攻关计划 No. 201303107

tively correlated with HA, LN, collagen IV, PCⅢ, ALT, Alb and TBIL values, but negatively correlated with Glo value ($P < 0.05$). **Conclusions** In chronic hepatitis B patients, Th17 cell surface CCR4, CCR6 and CXCR3 are abnormally expressed, and have direct correlations with severity of patients' condition. They can be used as new targets for the treatment of hepatitis B.

Keywords: chronic hepatitis B; Th17 cell; condition assessment

慢性乙型肝炎是我国最常见的慢性传染性疾病,抗病毒治疗是其主要治疗手段。但是近年研究显示,单纯抗病毒治疗的效果不甚明显,许多患者病情迁延甚至逐步加重向肝硬化发展。最新研究显示,辅助性 T 细胞 17 T helper cell 17, Th17) 在慢性乙型肝炎患者的外周血和肝组织中表达上升,可能成为慢性乙肝治疗的新靶点。本研究中重点检测 Th17 细胞表面 CC 趋化因子受体 4 (CC chemokine receptor, CCR4)、CC 趋化因子受体 6 (CC chemokine receptor, CCR6)、CXC 亚族趋化因子受体 3 Chemokine CXC motif receptor 3, CXCR3) 的表达量,并进一步分析其表达水平与慢性乙肝病情的相关性,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取 2013 年 8 月 - 2015 年 12 月在本院接受治疗的慢性乙型肝炎患者 118 例作为观察组,符合世界卫生组织 (World Health Organization, WHO) 对于慢性乙型肝炎的诊断标准^[1],且既往未接受过抗病毒治疗的患者。118 例患者中男性 63 例,女性 55 例;年龄 13~53 岁,平均 35.39 ± 8.27 岁。按照病毒性肝炎防治方案中对于慢性乙型肝炎的诊断及分级标准^[1],① 轻度:病情较轻,伴乏力、头晕、食欲减退、肝区不适,肝稍肿大,可伴有轻度脾肿大,肝功能指标中存在 1、2 项轻度异常;② 中度:症状体征及实验室指标介于轻度及重度之间;③ 重度:伴明显、持久的肝炎症状,伴明显肝掌、蜘蛛痣、脾大,实验室指标中天冬氨酸氨基转移酶反复升高,伴白蛋白降低、丙种球蛋白水平显著升高。所有入组患者轻度 47 例,中度 51 例,重度 20 例。另取同期在本院接受健康体检的肝功能正常人群 142 例作为对照组,其中男性 76 例,女性 66 例;年龄 15~59 岁,平均 36.28 ± 8.11 岁。本研究经医院伦理委员会审核并批准,所有入组对象在了解研究过程后签署知情同意书,两组患者的性别、年龄等基线资料比较,差异无统计学意义 ($P > 0.05$),具有可比性。轻度慢性乙肝患者中男性 25 例,女性 22 例;年龄 14~53 岁,平均 35.81 ± 7.49 岁。中度慢

性乙肝患者中男性 28 例,女性 23 例。年龄 13~51 岁,平均 35.14 ± 8.54 岁。重度慢性乙型肝炎患者中男性 10 例,女性 10 例;年龄 14.52 岁,平均 35.52 ± 7.91 岁。轻、中、重度慢性乙肝患者的性别、年龄资料比较,差异无统计学意义 ($P > 0.05$),具有可比性。

1.2 Th17 细胞表面 CCR4、CCR6、CXCR3 表达的检测

抽取所有入组患者的治疗前、晨起空腹肘静脉血 5 ml,置入抗凝管中,并用 Ficoll 密度梯度离心法分离外周血单个核细胞 peripheral blood mononuclear cell, PBMC)。将无菌 PBMC 用培养基调节浓度至 1×10^6 个 /ml,放入 24 孔板,加入刺激剂、伊屋诺霉素及阻断剂后,在 37℃、5%二氧化碳 CO₂ 条件下培养 5 h。CD3、CD4、CD8 表面标记染色固定,室温避光放置 20 min,洗涤细胞后用流式细胞仪检测 CD4⁺ Th17 细胞、CD8⁺ Th17 细胞占总淋巴细胞百分率、Th17 细胞表面趋化因子受体 CCR4、CCR6、CXCR3 表达百分率。

1.3 血清纤维化指标的检测

在相同情况下抽取研究对象空腹外周静脉血 2 ml,室温静置后 2 000 r/min 离心 15 min,取上清并用酶联免疫吸附法 (enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA) 测定其中纤维化指标,包括透明质酸 (Hyaluronic acid, HA)、层黏连蛋白 (Lamini, LN)、IV 型胶原 (IV-collagen, IVc) 及人 III 型前胶原 precollagen III, PCIII)。

1.4 肝功能指标的检测

获取患者晨起空腹外周静脉血 2 ml 后,离心取上清并用大型自动生化仪检测肝功能指标,包括丙氨酸转氨酶 (alanine aminotransferase, ALT)、总胆红素 (total bilirubin, TBIL)、白蛋白 (Albumin, Alb)、球蛋白 (Globulin, Glo) 等。

1.5 统计学方法

数据处理采用 SPSS 21.0 统计软件,计量资料以均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示,多个总体均数的比较用方差分析,组间两两比较用 LSD-*t* 检验法,相关性分析用 Pearson 法, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 Th17细胞表面CCR4、CCR6、CXCR3的表达

慢性乙肝患者和对照组外周血Th17细胞表面CCR4、CCR6、CXCR3表达水平比较,经方差分析,差异有统计学意义($P<0.05$),慢性乙肝患者外周血Th17

细胞表面CCR4、CCR6、CXCR3表达水平高于对照组。慢性乙肝轻、中、重度患者外周血Th17细胞表面CCR4、CCR6、CXCR3表达水平比较,差异有统计学意义($P<0.05$)。慢性乙肝病情越重,Th17细胞表面CCR4、CCR6、CXCR3表达水平越高。见表1。

表1 各组患者外周血Th17细胞表面CCR4、CCR6、CXCR3表达比较(%, $\bar{x}\pm s$)

组别	CD4 ⁺ Th17			CD8 ⁺ Th17		
	CCR4	CCR6	CXCR3	CCR4	CCR6	CXCR3
轻度乙肝组 (n=47)	9.73± 0.83	6.46± 0.78	28.36± 3.46	9.26± 0.85	5.11± 0.59	40.22± 5.32
中度乙肝组 (n=51)	15.32± 1.91	11.25± 1.74	35.46± 4.62	13.27± 1.43	7.09± 0.85	58.29± 7.12
重度乙肝组 (n=20)	26.47± 3.29	19.26± 2.53	52.36± 6.09	18.39± 2.36	10.27± 1.54	63.27± 7.38
对照组 (n=142)	5.27± 0.68	4.09± 0.56	21.27± 3.56	7.11± 0.89	3.42± 0.56	31.28± 5.73
F值	9.341	8.264	10.382	7.725	8.391	9.276
P值	0.015	0.021	0.013	0.027	0.018	0.016

2.2 血清纤维化指标

慢性乙肝患者和对照组血清HA、LN、IVc、PCIII水平比较,经方差分析,差异有统计学意义($P<0.05$),慢性乙肝患者血清HA、LN、IVc、PCIII水平高于对照组。慢性乙肝轻、中、重度患者血清HA、LN、IVc、PCIII水平比较,差异有统计学意义($P<0.05$)。慢性乙肝病情越重,血清HA、LN、IVc、PCIII水平越高。见表2。

表2 各组患者的血清纤维化指标比较 (ng/ml, $\bar{x}\pm s$)

组别	HA	LN	IVc	PCIII
轻度乙肝组 (n=47)	38.27± 5.12	31.56± 4.88	28.51± 4.02	14.37± 2.54
中度乙肝组 (n=51)	79.43± 10.43	92.41± 12.37	76.43± 9.52	58.32± 7.23
重度乙肝组 (n=20)	154.03± 28.49	183.46± 30.48	213.42± 32.37	153.29± 32.48
对照组 (n=142)	19.27± 3.52	17.18± 3.09	15.27± 2.71	6.17± 0.94
F值	9.238	11.289	12.472	9.834
P值	0.016	0.012	0.011	0.014

2.3 肝功能指标

慢性乙肝患者和对照组血清ALT、Alb、TBIL、Glo水平比较,经方差分析,差异有统计学意义($P<0.05$),慢性乙肝患者血清ALT、Alb、TBIL水平高于对照组,Glo水平低于对照组。慢性乙肝轻、中、重度患者血清ALT、Alb、TBIL、Glo水平比较,差异有统计学意义($P<0.05$)。慢性乙肝病情越重,血清ALT、Alb、TBIL水平越高,Glo水平越低。见表3。

2.4 Th17细胞表面趋化因子受体表达量与慢性乙型肝炎的相关性

经相关分析发现,慢性乙型肝炎患者的Th17细胞表面CCR4、CCR6、CXCR3表达水平与HA、LN、IVc、PCIII、ALT、Alb、TBIL呈正相关,与Glo呈负相关($P<0.05$)。

表3 各组患者的肝功能指标比较 ($\bar{x}\pm s$)

组别	ALT/ (IU/L)	TBIL/ (μ mol/L)	Alb/ (g/L)	Glo/ (g/L)
轻度乙肝组 (n=47)	49.22± 6.12	41.28± 5.35	13.27± 1.75	25.36± 3.48
中度乙肝组 (n=51)	109.37± 18.39	83.26± 9.47	32.48± 4.37	18.21± 2.11
重度乙肝组 (n=20)	398.27± 49.72	118.46± 15.49	54.28± 7.11	7.39± 0.92
对照组 (n=142)	15.93± 2.09	19.27± 3.28	6.47± 0.85	35.21± 4.94
F值	13.283	9.371	7.366	8.328
P值	0.011	0.014	0.019	0.017

3 讨论

乙肝病毒是一种非细胞毒性病毒,不直接参与肝细胞的破坏,但是其在肝细胞免疫病理损伤中发挥重要作用。肝组织中被激活的淋巴细胞可以表达特定的受体分子,受相应趋化因子吸引招募并定向迁移至靶器官,产生免疫应答及炎症反应^[2]。最新研究显示,Th17细胞在慢性乙型肝炎患者的外周血及肝组织中均呈高表达,被认为是慢性乙肝的肝损伤直接相关。CCR4、CCR6、CXCR3是Th17细胞产生的3种

主要趋化因子受体,在炎症过程中趋化因子与受体上的 G 蛋白发生偶联,引起炎症细胞的迁移及活化,最终触发三磷酸肌醇形成、胞内钙离子释放、蛋白激酶 C 激活等一系列细胞级联反应^[3-4]。Th17 细胞产生的一系列趋化因子受体是炎症细胞边集、附壁、定向移动到炎症部位并攻击靶细胞的基础,其直接参与肝细胞的破坏及肝功能的损伤,在慢性乙型肝炎病情发展过程中发挥核心作用^[9]。

为明确慢性乙型肝炎患者中 Th17 细胞表面 CCR4、CCR6、CXCR3 表达情况,本研究分别选择不同严重程度的慢性乙肝患者及健康体检者作为观察对象,采用流式细胞仪检测所有研究对象的外周血 Th17 细胞表面 CCR4、CCR6、CXCR3 表达水平。慢性乙型肝炎患者的外周血 Th17 细胞表面 CCR4、CCR6、CXCR3 表达水平较高,且随着病情加重 CCR4、CCR6、CXCR3 表达量增加^[6-7]。该结果说明在慢性乙型肝炎患者中确实存在 Th17 细胞表面趋化因子受体的高表达,且在病情加重时上述趋化因子受体表达量进一步增加,说明在慢性乙肝患者中炎症因子的产生以趋化因子受体为依托发挥作用,且趋化因子受体的表达增加是导致慢性乙肝病情加重的重要内在原因之一。

肝纤维化是慢性乙型肝炎进展至肝硬化的必经阶段,是机体对各种损伤刺激进行修复的动态过程,由细胞外基质产生及降解失衡所致^[8]。早期代偿良好的慢性乙肝患者纤维化进程不明显,当乙肝病毒活性较强或者患者体质虚弱、病情进一步加重时,肝炎病情持续向肝硬化发展、机体内相关纤维化指标发生明显改变。本研究发现,慢性乙肝患者 HA、LN、IVc、PCIII 水平较正常人有所不同程度上升,说明乙肝病毒对肝细胞的损伤可以导致其在疾病不同阶段均产生纤维化趋势,而随着病情加重慢性乙肝患者的血清 HA、LN、IVc、PCIII 水平进一步上升,提示在肝细胞持续损伤并进入失代偿状态时肝脏纤维化活跃,是患者病情恶化的直观标志^[9-10]。除纤维化指标外,在慢性乙肝患者中肝功能是判断病情严重程度及预后的最常用指标,ALT、TBIL、Alb 及 Glo 是临床最常见的肝功能指标,其波动可以代表患者病情及后续走势^[11]。本研究中,慢性乙肝患者的 ALT、TBIL、Alb、Glo 水平较对照组发生明显改变,随着乙肝病情进展 ALT、TBIL、Alb 水平上升,Glo 水平下降。上述慢性乙肝患者的肝纤维化及肝功能指标值变化趋势与 Th17 细胞表面趋化因子受体表达变化一致,两者之间的相关性

需进一步检测确定。

本研究中最后采用一元线性回归分析法对慢性乙肝患者外周血 Th17 细胞表面 CCR4、CCR6、CXCR3 表达量与肝纤维、肝功能指标值进行相关性分析,结果发现 CCR4、CCR6、CXCR3 表达量与 HA、LN、IVc、PCIII、ALT、TBIL、Alb、Glo 直接相关。至此,笔者已经发现 Th17 细胞表面趋化因子受体表达量增加直接导致慢性乙肝患者病情进展,而慢性乙肝患者体内炎症相关趋化因子的增加将进一步导致趋化因子受体表达量上升,形成恶性循环^[12-13]。尽管笔者得到上述相关性结果,但是相关性分析仅仅说明两指标间的相关关系,无法证明已过关系,外周血 Th17 细胞表面 CCR4、CCR6、CXCR3 表达量是否直接影响肝纤维、肝功能,仍需体外研究及动物研究来进一步证实。

综上所述,慢性乙肝患者外周血 Th17 细胞表面 CCR4、CCR6、CXCR3 表达量与病情直接相关,可以作为疾病治疗的新靶点之一,有望打破目前慢性乙肝治疗的僵局,具有积极的临床意义。

参 考 文 献:

- [1] 中华医学会肝病学会,中华医学会感染病学分会.慢性乙型肝炎防治指南(2010年版)[J].中华流行病学杂志,2011,32(4):405-408.
- [2] DUAN Z, GAO J, ZHANG L, et al. Phenotype and function of CXCR5⁺ CD45RA⁻ CD4⁺ T cells were altered in HBV-related hepatocellular carcinoma and elevated serum CXCL13 predicted better prognosis[J]. *Oncotarget*, 2015, 6(42): 44239-44253.
- [3] 杨思佳,刘瑾红,佟雪莲,等.乙肝疫苗和乙肝免疫球蛋白联合接种对母亲 HBsAg 阳性的新生儿感染情况的影响[J].海南医学院学报,2016,22(7):698-700.
- [4] 黄文琪,许金超,闵峰,等.血清纤维化指标联合肝生化检测对慢性乙型肝炎患者病情的评估[J].肝脏,2014,19(11):856-858.
- [5] FENG H, YIN J, HAN Y P, et al. Sustained changes of treg and Th17 cells during interferon- α therapy in patients with chronic hepatitis B[J]. *Viral Immunol*, 2015, 28(8): 412-417.
- [6] de NIET A, de BRUIJNE J, PLAT-SINNIGE M J, et al. Upregulation of CXCR3 expression on CD8⁺ T cells due to the pervasive influence of chronic hepatitis B and C virus infection[J]. *Hum Immunol*, 2013, 74(8): 899-906.
- [7] 刘艳琼,杨小安,邹勇,等.慢乙肝患者外周血中 Th17 细胞趋化因子受体的表达水平[J].中华实验和临床病毒学杂志,2014,28(3):161-163.
- [8] LI W M, LIU H R. CCL20-CCR6 cytokine network facilitate treg activity in advanced grades and metastatic variants of hepatocellular carcinoma[J]. *Scand J Immunol*, 2016, 83(1): 33-37.
- [9] IFUKU H, KUSUMOTO S, TANAKA Y, et al. Fatal reactivation of hepatitis B virus infection in a patient with adult T-cell

- leukemia-lymphoma receiving the anti-CC chemokine receptor 4 antibody mogamulizumab[J]. *Hepatol Res*, 2015, 45(13): 1363-1367.
- [10] 刘明飞,余建华,汪洁,等.血、尿、腹水III型前胶原肽联合检测在肝脏疾病中的应用价值[J]. *海南医学院学报*, 2015, 21(10): 1335-1336.
- [11] 杨广德,郜玉峰,尹华发.趋化因子及其共同受体在慢性乙型肝炎发病机制中的作用[J]. *国际流行病学传染病学杂志*, 2011, 38(1): 55-58.
- [12] MAJSTOROVIĆ B, JANKOVIĆ S, DIMOSKI Z, et al. Assessment of the reliability of the serbian version of the sickness impact profile questionnaire in patients with chronic viral hepatitis[J]. *Srp Arh Celok Lek*, 2015, 143(11-12): 688-694.
- [13] MALAGUARNERA M, MOTTA M, VACANTE M, et al. Silybin-vitamin E-phospholipids complex reduces liver fibrosis in patients with chronic hepatitis C treated with pegylated interferon α and ribavirin[J]. *Am J Transl Res*, 2015, 7(11): 2510-2518.

(童颖丹 编辑)

《中国现代医学杂志》投稿须知

《中国现代医学杂志》创刊于1991年, 期刊号 ISSN 1005-8982/ CN43-1225/R, 半月刊, 系中国科技论文统计源期刊、北大中文核心期刊、中国核心学术期刊(RCCSE(A-))及湖南省十佳期刊, 被中国知网、万方数据库、超星域出版、美国《化学文摘》(CA)、俄罗斯《文摘杂志》(AJ)等国内外多个检索系统收录, 公开发行。本刊是中华人民共和国教育部主管的国家级综合性医学学术期刊, 以服务于广大医药卫生科技人员, 促进国内外医学学术交流和医学事业发展为宗旨。由中南大学、中南大学肝胆肠外科研究中心主办, 中南大学湘雅医院承办。

本刊刊登的论文内容涉及基础医学、临床医学、预防医学及医学相关学科的新理论、新技术、新成果以及医学信息、动态等。文稿须具有科学性、创新性、实用性。文字要求准确、通顺、精练。本刊设论著、临床论著、综述、新进展研究、临床报道、学术报告、病例报告等栏目。学术报告类论文字数控制在3000字以内; 病例报告类论文字数控制在800字以内。稿件格式为题名、作者姓名、作者单位、邮编、摘要(具体要求见投稿细则)、关键词、正文、参考文献。

本刊对国家级的科研成果或阶段性成果及部级以上课题项目的进展报道实行速审快发。一般稿件2个月内内有评审结果, 录用后等待发表。请作者自行登录本刊网站(www.zgxdyx.com)查询稿件处理结果, 恕不另行通知。稿件发表后, 赠当期杂志2本。

投稿细则

1. 文稿力求文字精练、准确、通顺; 文题简明、醒目, 能反映出文章的主题; 勿用不规范字。请作者仔细校对全文, 并认真复核数据。摘要应与正文内药物剂量、病例数、百分比等数据一致。如有错误, 将降低审稿人和编辑对该文真实性的信任度, 导致退稿。	6. 所有栏目需附关键词3~5个, 其中临床报道、学术报告和病例报告只需中文关键词, 其余栏目需中英文关键词齐全。
2. 文题中不使用英文缩略语。摘要中一般也不使用英文缩略语, 如因为该词出现多次而需要使用时, 应于首次出现处先写出中文全称, 然后括号内注明英文缩略语(此处不需写出英文全称)。正文中首次使用英文缩略语时, 也于首次出现处先写出中文全称, 然后括号内注明英文全称及英文缩略语。此规则对已公知、公用的缩略语除外。	7. 照片、图片(黑白原始照片必须清晰, 大小5 cm × 7 cm), 须在文章内标明其位置, 并附标题, 显微镜下照片应标明放大倍数, 图背面标明作者姓名、文章编号、图序及照片方向(上、下)。
3. 单位介绍信原件, 注明稿件非一稿多投。采用网上投稿方式时, 请将该介绍信照片插入提交的论文Word文稿第一页。	8. 所有栏目参考文献须引用10条以上, 以近5年文献为主。引用期刊的格式为: 作者. 文题. 刊名, 年, 卷(期): 起止页码.; 引用书籍的格式为: 著者. 书名. 版次. 出版地: 出版社, 年份: 起止页码.; 每条参考文献应列出作者姓名, 如超过3名者, 则在3名作者后写等。中文格式: 解勤之, 陈方平, 蹇在伏, 等. 红细胞收缩: 血小板无力症的可能代偿机制[J]. <i>中国医学工程</i> , 1998, 8(11): 3-5。 英文格式: SZEMAN B, NAGY G. Changes in cognitive function in patient with diabetes mellitus[J]. <i>Orv Hetil</i> , 2012, 153(9): 323-329.
4. 所有栏目投稿的中英文论文题目、作者姓名及作者单位需齐全(每位作者只标注一个主要单位, 其余的可以作者简介方式在首页左下角注明, 标注通信作者的必须留下通信作者本人的电话或电子邮箱, 以便核实)。	9. 综述第一作者须有副高以上职称证明, 并注明综述人、审校人字样(参考文献35条以上)。
5. 栏目对中英文摘要的要求: 论著、临床论著、新进展研究需中英文摘要齐全, 并按目的、方法、结果、结论四要素书写, 200~500个字。综述需中英文摘要齐全, 不需按四要素书写。临床报道和学术报告只需中文摘要, 病例报告无需中英文摘要。	10. 凡国家、省部级自然科学基金、博士基金、863计划及国家重点实验室项目的论文, 请注明基金名称及编号并附相关项目批准文件或任务书复印件, 可优先发表。项目主要负责人为通信作者。采用网上投稿方式时, 请将相关证明材料的照片插入提交的论文Word文稿最后一页。