

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2017.17.001

文章编号: 1005-8982(2017)17-0001-06

基础研究·论著

青藤碱对胶原诱导性关节炎大鼠滑膜血管新生的影响*

石宇红, 彭琼, 任亚飞, 许佳, 李丽梅, 李宝贞, 莫汉有
(桂林医学院附属医院 风湿免疫科, 广西 桂林 541002)

摘要:目的 观察青藤碱对 II 型胶原诱导性关节炎模型大鼠(CIA)低氧诱导因子 1 α (HIF-1 α)、血管内皮生长因子(VEGF)及基质金属蛋白 9(MMP-9)的影响,探讨青藤碱对类风湿关节炎(RA)滑膜血管新生的作用机制。**方法** 40 只远交群大鼠,随机选取 10 只作为对照组,余 30 只大鼠采用尾根部皮下注射 II 型胶原和不完全弗氏佐剂的方法复制关节炎模型。15 d 后造模大鼠随机分为模型组、雷公藤组、青藤碱组,每组 10 只。雷公藤组:雷公藤多甙片 9.68 mg/(kg·d)灌胃给药;青藤碱组:青藤碱片 100 mg/(kg·d)灌胃给药;模型组灌服等体积 0.9%氯化钠注射液。1 次/d,共 28 d。期间测量大鼠踝关节肿胀度。灌药 28 d 后处死大鼠,免疫组织化学法检测关节滑膜组织 HIF-1 α 水平,酶联免疫吸附试验测定血清中 VEGF、MMP-9 水平。**结果** 与模型组比较,青藤碱组和雷公藤组大鼠关节肿胀度减轻($P < 0.05$);青藤碱组和雷公藤组滑膜组织中 HIF-1 α 表达降低($P < 0.05$);青藤碱组和雷公藤组血清中 VEGF、MMP-9 表达降低($P < 0.05$)。**结论** 青藤碱可降低 CIA 踝关节肿胀,疗效与雷公藤多甙相当。其机制可能是通过下调 HIF-1 α 的表达及 VEGF、MMP-9 水平,从而减少滑膜新生血管生成。

关键词: 青藤碱; II 型胶原诱导性关节炎;低氧诱导因子 1 α ;基质金属蛋白 9

中图分类号: R285.5

文献标识码: A

Effect of Sinomenine on synovial angiogenesis in rats with collagen-induced arthritis*

Yu-hong Shi, Qiong Peng, Ya-fei Ren, Jia Xu, Li-mei Li, Bao-zhen Li, Han-you Mo
(Department of Rheumatology and Immunology, the Affiliated Hospital of Guilin Medical University, Guilin, Guangxi 541002, China)

Abstract: Objective To observe the effect of Sinomenine on the expression of hypoxia-inducible factor-1 α (HIF-1 α), vascular endothelial growth factor (VEGF) and matrix metalloproteinase 9 (MMP-9) in rats with type II collagen-induced arthritis (CIA), and to explore its therapeutic roles and mechanism. **Methods** Totally 40 male SD rats were recruited, among which 10 were randomly selected as the normal control group. The CIA model was established in the rest 30 rats by subcutaneous injection of type II collagen of bovine emulsion in the tail root and induction of incomplete Freund's adjuvant. On day 15 primary immunization rats were randomly divided into 3 groups, i.e. model group, Tripterygium Glycosides (TG) group (at a daily dose of 9.68 mg/kg body weight), and Sinomenine (SIN) group (at a daily dose of 100 mg/kg body weight), 10 in each group. The corresponding medication was given to the rats of each group by gastrogavage once daily for 28 days. An equal volume of sodium chloride injection was given to the rats in the normal control group and the model group by gastrogavage, once daily for 28 successive days. The swelling degree of the joints was measured. The rats were sacrificed after 28-day treatment. Plasma levels of VEGF and MMP-9 were measured with ELISA. The expression of HIF-1 α in synovium was detected by immunohistochemistry. **Results** Compared with the model group, the swelling degree of the joints was significantly alleviated in the TG group and the SIN group ($P < 0.05$), the HIF-1 α expression obviously decreased in the synovium of the

收稿日期:2016-07-05

* 基金项目:国家自然科学基金(No:81460257);广西中医药管理局课题(No:gzzc1238);广西省桂林市攻关课题(No:20140120-1-2)

TG group and the SIN group ($P < 0.05$), the plasma levels of VEGF and MMP-9 were lower in the TG group and the SIN group ($P < 0.05$). **Conclusions** SIN could markedly alleviate the swelling degree of joints in the CIA model rats. Its therapeutic efficacy is equal to that of TG. Its mechanism might be by down-regulating the HIF-1 α expression in joints and the plasma levels of VEGF and MMP-9, thereby reducing synovial neovascularization.

Keywords: Sinomenine; type II collagen-induced arthritis; hypoxia-inducible factor-1 α ; vascular endothelial growth factor; matrix metalloproteinase-9

新生血管翳是类风湿关节炎(rheumatoid arthritis, RA)关节破坏的关键。目前研究发现,血管新生与低氧诱导因子-1 α (hypoxia-inducible factor-1 α , HIF-1 α)^[1]、血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)^[2-3]、基质金属蛋白酶9(matrix metalloproteinase-9, MMP-9)^[4]有关,其共同作用可影响新生血管的形成。

青藤碱是从青风藤中提取的单体,其对 RA、强直性脊柱炎等自身免疫性疾病有较好的治疗作用。本研究通过复制 II 型胶原诱导关节炎大鼠(collagen-induced arthritis rats, CIA)模型,探讨青藤碱对模型大鼠 HIF-1 α 、VEGF 及 MMP-9 的影响和作用机制。

1 材料与方法

1.1 实验动物

选用清洁级远交群(sprague dawley, SD)大鼠,雄性,40 只,体重 120~160 g。由桂林医学院实验中心提供(动物许可证号:SYXK 桂 2013-0001)。在桂林医学院实验中心动物室适应性饲养 1 周。

1.2 药品与试剂

青藤碱(正清风痛宁片,湖南正清制药集团股份有限公司,批号:Z43020278),雷公藤多甙片(浙江得恩德制药有限公司,批号:Z33020422),牛 II 型胶原(美国 Chondrex 公司),不完全弗氏佐剂(美国 Sigma 公司),HIF-1 α 小鼠单克隆抗体(美国 Thermo 公司),羊抗鼠二抗(福州迈新生物工程有限公司),逆转录聚合酶链反应(reverse transcription-polymerase chain reaction, RT-PCR)试剂盒(大连宝生生物工程有限公司),VEGF 试剂盒(南京建成生物工程研究所),MMP-9 试剂盒(北京中山生物技术有限公司)。

1.3 实验仪器

基因扩增仪(德国 Biometra 公司),凝胶电泳结果图像分析仪(上海培清 JS-780),可调式微量移液器(德国 Eppendorf 公司),光学显微镜及照相系统(日本 Olympus 公司,IX71),病理组织切片机(德国

LEICA RM 公司,2025),高速冷冻离心机(德国 Eppendorf 公司,5804R),微量台式高速冷冻离心机(美国 Thermo 公司)。

1.4 动物模型的复制及分组

健康雄性 SD 大鼠 40 只,适应性喂养 1 周后,随机选取 10 只作为对照组,其余 30 只复制 II 型 CIA 大鼠模型。取适量浓度为 2 mg/ml 牛 II 型胶原溶液逐滴加入等容积的弗氏不完全佐剂中,牛 II 型胶原终浓度调整为 1 mg/ml。用匀浆器在冰浴中充分乳化至滴加水不扩散,取乳化后的混合物按 200 μ g/只,于尾根部皮下注射,7 d 后按牛 II 型胶原 100 μ g/只,尾根部皮下加强免疫 1 次。免疫 15 d 后,将大鼠分为模型组、雷公藤组、青藤碱组,每组 10 只。

1.5 给药方法及样本制备

分组后开始灌胃给药,对照组正常条件下喂养,不做任何处理;模型组给予 0.9%氯化钠注射液 100.00 mg/(kg \cdot d);雷公藤组给予雷公藤多甙片 9.68 mg/(kg \cdot d);青藤碱组给予青藤碱片 100.00 mg/(kg \cdot d)。以上药物均连续灌胃 28 d。28 d 后戊巴比妥钠麻醉,腹主动脉取血,2 500 r/min 离心 20 min,取血浆,分装后置入 -80 $^{\circ}$ C 冰箱冷冻保存备用。取腕关节、膝关节或踝关节的滑膜组织于 4%多聚甲醛中固定。

1.6 观察指标及检测方法

1.6.1 关节肿胀度测量 第 1 次免疫前在大鼠后肢踝关节上方 0.5 cm 处进行标记,分别于免疫前及给药完成后用足趾容积测量仪测量踝关节排水体积,计算关节肿胀度。肿胀度=(Vt-Vo)/Vo \times 100%,Vo 为造模前的容积,Vt 为给药完成后的容积。

1.6.2 滑膜病理学评分 留取血样后处死大鼠,取腕关节、膝关节或踝关节放入 4%多聚甲醛固定 16 h,10%乙二胺四乙酸(ethylene diamine tetraacetic acid, EDTA)溶液脱钙,常规脱水、浸蜡、包埋切片、苏木精-伊红染色法(hematoxylin-eosin staining, HE)染色。光镜下观察关节滑膜增生、滑膜下炎症程度及血管翳生成情况。滑膜微血管检测:每个标本在 100 倍

光镜下随机抽取 5 个视野做毛细血管计数,以 5 个视野计数的均值作为每个标本的血管计量指标。微血管密度结果判定:低倍镜下找到病灶中微血管最密集(热点)的 3 个区,高倍镜(400 倍)下计数该 3 个区的微血管数或微淋巴数,取 3 个高倍镜下的微血管数平均值。

1.6.3 免疫组织化学法检测 HIF-1 α 的表达 滑膜组织切片先脱蜡、水化,0.01 mol/L、pH 6.0 柠檬酸微波修复,3%双氧水 H₂O₂ 封闭,正常山羊血清封闭,加一抗,40℃过夜;加二抗,加链霉素抗生物素蛋白-过氧化物酶溶液,加二氨基联苯胺(Diaminobenzidine, DAB)显色液,冲洗、复染、封片、镜检。HIF-1 α 阳性细胞为在胞质或胞核中可见黄色或棕褐色阳性产物的细胞。每张切片随机检测 10 个高倍镜视野。①阳性细胞所占比例评分:阴性为 0 分,<10%为 1 分,11%~50%为 2 分,51%~75%为 3 分,>75%为 4 分。②按阳性着色程度评分:无着色、与背景色一致为 0 分,浅黄色略高于背景色为 1 分,棕黄色、明显高于背景色为 2 分,棕褐色为 3 分。③两者乘积判定阳性结果。

1.6.4 酶联免疫吸附试验 (enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA) 检测 VEGF 浓缩洗涤液用双蒸水稀释,加入血浆标本稀释液 1.0 ml 至标准品中,待彻底溶解后,静置 15 min 混匀(浓度为 2 μ g/L),然后根据需要进行稀释。以生物素化抗体稀释液稀释生物素化抗体,以酶结合物稀释液稀释浓缩酶结合物。要求注入自动洗板机的洗涤液为 350 μ l,注入与吸出间隔 15~30 s,洗板 4 次。除空白孔外,分别将标本或不同浓度标准品(100 μ l/孔)加入相应孔后用封板胶纸封住反应孔,37℃孵箱孵育 90 min,洗板 4 次。除空白孔外,加入生物素化抗体工作液(100 μ l/孔),用封板胶纸封住反应孔,37℃孵箱孵育 60 min,洗板 4 次。除空白孔外,加入酶结合物工作液(100 μ l/孔),封住板孔,37℃孵箱孵育 30 min,洗板 4 次。加入底物显色剂 100 μ l/孔,37℃避光孵育 15~20 min(视颜色深浅灵活掌握),加入终止液 100 μ l/孔,混匀后即刻(5 min 内)测量 450 nm 处吸光度值。

1.6.5 ELISA 法检测 MMP-9 的表达 采用血浆样品,肝素锂抗凝。其余步骤同 VEGF。经稀释后加至预经单抗或明胶包被的反应微孔,37℃温育反应 2 h,洗涤 5 次后加入辣根过氧化物-亲和素偶联物,37℃、30 min;再洗涤 5 次后加入 100 μ l/孔 3,4,5-

三甲氧基苯甲醛底物液室温反应 10~15 min,最后加入 50 μ l 1.8 mol/L 盐酸终止反应。根据标准曲线计算 MMP-9 表达量。

1.7 统计学方法

数据分析采用 SPSS 16.0 统计软件,计量资料以均数 \pm 标准差($\bar{x}\pm s$)表示,多组间比较用单因素方差分析,方差齐则两两比较用 LSD-*t* 检验, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组大鼠关节肿胀度比较

造模后第 15 天除对照组外,其他 3 组大鼠踝、跖趾关节及趾关节出现不同程度红肿,用药 28 d 后,对照组、模型组、雷公藤组、青藤碱组大鼠关节肿胀度分别为(11.21 \pm 3.12)%、(67.46 \pm 13.72)%、(31.46 \pm 12.57)%和(38.51 \pm 13.86)%。各组关节肿胀度比较,经方差分析,差异有统计学意义($F=8.293, P=0.001$)。模型组与对照组的关节肿胀度比较,经 LSD-*t* 检验,差异有统计学意义($t=24.311, P=0.000$),青藤碱组、雷公藤组与模型组比较,经 LSD-*t* 检验,差异有统计学意义($t=2.456$ 和 $2.919, P=0.015$ 和 0.004),青藤碱组和雷公藤组关节肿胀度比模型组低,药物干预作用明显。

2.2 大鼠踝关节病理学变化

HE 染色结果显示,对照组大鼠滑膜细胞扁平形,排列整齐,有少量纤维及毛细血管,关节结构完整,软骨层表面光滑,无结构破坏。模型组大鼠滑膜细胞层明显增多,滑膜细胞水肿,排列紊乱,部分滑膜组织可见呈绒毛状增生,炎症细胞及纤维细胞浸润,有较多毛细血管,关节软骨粗糙,关节腔内有纤维素样渗出。雷公藤组滑膜细胞排列尚整齐,纤维组织轻度增生,可见少量炎症细胞,血管增生不明显,关节软骨表面基本光滑,关节腔纤维素样渗出不多。青藤碱组滑膜细胞层数较模型组增多,达到 5、6 层,有少量炎症细胞存在,较雷公藤组稍增多,关节软骨组织有轻度破坏。各组各项病理学评分比较,经方差分析,差异有统计学意义($P<0.05$)。模型组与对照组病理学评分(总分、滑膜增生、炎症细胞浸润、新生血管数)比较,经 LSD-*t* 检验,差异有统计学意义($t=14.321$ 、 9.425 、 8.923 和 9.425 , 均 $P=0.000$),青藤碱组与模型组病理学评分(总分、滑膜增生、炎症细胞浸润、新生血管数)比较,经 LSD-*t* 检验,差异有统计学意义($t=2.162$ 、 2.131 、 2.836 和 $2.126, P=0.041$ 、 0.042 、 0.021

和 0.045)。见表 1 和图 1。

2.3 青藤碱对 II 型 CIA 大鼠滑膜 HIF-1 α 蛋白表达的影响

免疫组织化学法结果显示,HIF-1 α 蛋白在正常关节组织中不表达或仅有微弱表达,而在低氧状态下则在胞质或细胞核中可见黄色或棕褐色的阳性产物。对照组基本没有 HIF-1 α 蛋白表达;模型组有 HIF-1 α 阳性物质在细胞质或细胞核中高表达,呈深褐色,尤其是位于滑膜最外层细胞;而雷公藤组和青藤碱组 HIF-1 α 轻度表达。采用半定量积分法进行分析,对照组、模型组、雷公藤组、青藤碱组大鼠 HIF-1 α 蛋白表达量分别为(1.422 \pm 0.783)、(7.354 \pm 2.548)、(3.122 \pm 1.178)和(3.743 \pm 1.624),经方差分析,差异有统计学意义($F=13.781, P=0.000$)。模型组

与对照组比较,经 LSD- t 检验,差异有统计学意义($t=11.345, P=0.000$),青藤碱组、雷公藤组与模型组比较,经 LSD- t 检验,差异有统计学意义($t=2.358$ 和 2.615, $P=0.024$ 和 0.011)。见图 2。

表 1 各组大鼠滑膜病理学评分比较 ($n=10, \bar{x} \pm s$)

组别	总分	滑膜增生	炎症细胞浸润	新生血管数
对照组	0.093 \pm 0.035	0.021 \pm 0.008	0.031 \pm 0.009	0.023 \pm 0.002
模型组	0.782 \pm 0.095	0.517 \pm 0.013	0.137 \pm 0.062	0.218 \pm 0.145
青藤碱组	0.563 \pm 0.168 [†]	0.275 \pm 0.129 [†]	0.106 \pm 0.028 [†]	0.161 \pm 0.163 [†]
雷公藤组	0.457 \pm 0.211 [†]	0.246 \pm 0.137 [†]	0.095 \pm 0.031 [†]	0.147 \pm 0.153 [†]
F 值	14.985	10.468	6.729	8.873
P 值	0.000	0.000	0.000	0.001

注:† 与模型组、对照组比较, $P<0.05$

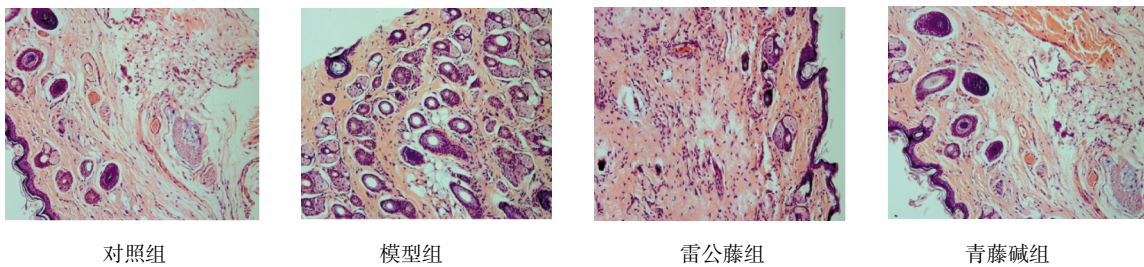


图 1 大鼠踝关节腔病理学改变 (HE \times 200)

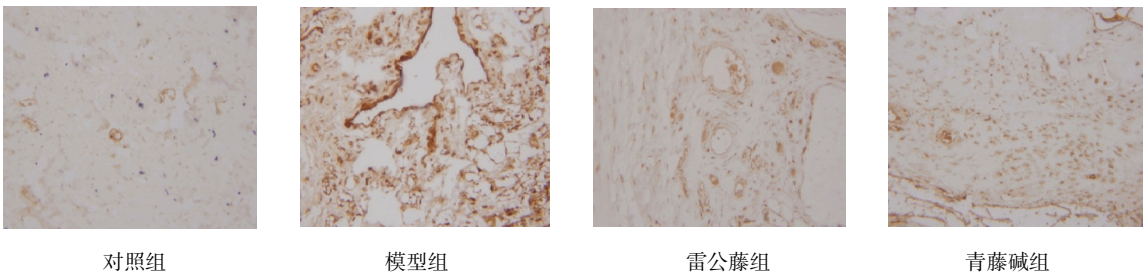


图 2 大鼠关节滑膜组织 HIF-1 α 的表达 (链霉菌抗生物素蛋白-过氧化物酶连接法 \times 200)

2.4 CIA 大鼠外周血中 VEGF 和 MMP-9 的水平

各组外周血 VEGF、MMP-9 水平比较,经方差分

表 2 各组大鼠外周血中 VEGF 和 MMP-9 的表达比较 ($n=10, \mu\text{g/L}, \bar{x} \pm s$)

组别	VEGF	MMP-9
对照组	28.6 \pm 5.4	16.2 \pm 4.8
模型组	135.7 \pm 18.5	82.4 \pm 9.3
雷公藤组	74.8 \pm 10.3 [†]	40.6 \pm 8.5 [†]
青藤碱组	68.2 \pm 11.3 [†]	42.5 \pm 10.1 [†]
F 值	42.563	38.956
P 值	0.000	0.000

注:† 与模型组、对照组比较, $P<0.05$

析,差异有统计学意义($F=42.563$ 和 38.956,均 $P=0.000$)。模型组与对照组的 VEGF、MMP-9 水平比较,经 LSD- t 检验,差异有统计学意义($t=14.332$ 和 5.314, 均 $P=0.000$),青藤碱组与模型组的 VEGF、MMP-9 水平比较,经 LSD- t 检验,差异有统计学意义($t=2.033$ 和 5.821, $P=0.040$ 和 0.013)。见表 2。

3 讨论

RA 是我国常见的自身免疫性疾病之一,严重者可导致人群丧失劳动力和致残,严重影响患者的生活和生存质量。目前其发病机制仍未完全明确。基于 RA 的主要病理改变是在炎症的刺激下,大量炎症细胞增生、浸润,关节滑膜充血、水肿、组织疏松,毛细

血管通透性增高,纤维素及浆液渗出至关节腔内,滑膜细胞合成包括肿瘤坏死因子及白细胞介素等多种细胞因子,促进关节滑膜成纤维细胞增殖和微血管新生,滑膜血管翳形成,继而侵蚀软骨与骨组织,造成关节结构破坏,最终导致关节畸形及功能损害^[5-7]。新生血管形成和细胞外基质降解是 RA 病理过程的核心环节,控制新生血管形成和细胞外基质降解成为控制 RA 关节软骨侵蚀破坏的关键。VEGF 是已知的最强刺激血管新生的因子之一,在血管新生中发挥核心调控作用^[8-9]。在血管的发育过程中,HIF-1 对血管新生也起重要作用,通过抑制 HIF-1 α 的降解,可使 VEGF 表达增加,最终导致缺血组织的血管新生^[10]。既往研究也发现,CIA 大鼠模型中滑膜组织有 HIF-1 α 高表达,并与炎症程度呈正相关^[11]。在缺氧条件下 RA 患者滑膜细胞 HIF-1 α 与 VEGF 表达增高密切相关,提示 HIF-1 α -VEGF 信号途径在类风湿炎的发生、发展中起重要作用。MMP-9 是一类可有效降解细胞外基质和细胞膜成分的蛋白水解酶,同时通过释放生长因子、趋化因子及细胞因子等,参与人体许多生理及病理过程。在对肿瘤血管新生的研究中已经发现,MMP-9 可在卵巢上皮癌过度表达,促进肿瘤血管的生成^[12]。在对类风湿关节炎的研究中也发现,在 MMP-9 的作用下可出现滑膜衬里细胞增生、大量炎症细胞浸润、滑膜下细胞增生及滑膜下层血管生成,导致增生的滑膜组织向软骨面生长,形成血管翳,从而出现关节破坏^[13]。提示 MMP-9 在关节滑膜血管新生的过程中也发挥重要作用。

青藤碱在我国用于治疗类风湿关节炎的历史悠久,青藤碱是从中药青藤中提取的单体生物碱,具有抗炎、镇痛、免疫调节等作用,现已用于 RA 的治疗。目前研究发现,青藤碱可通过下调 T 细胞转铁蛋白受体表达,减少细胞对铁离子的摄入,从而抑制 T 细胞的活化与增殖;还可减少白细胞介素 6 的产生,抑制 B 细胞的活化,从而抑制关节免疫炎症和关节破坏作用^[14]。其还可以通过抑制滑膜细胞产生炎症介质,如 TNF- α 、IL-1 β 、致炎因子干扰素- γ 及一氧化氮等,发挥其抗炎镇痛的效果^[15-17];并且青藤碱可提高 CIA 大鼠外周血 OPG 水平,OPG/RANKL 比值升高,提示其有骨保护作用^[16]。但对于血管新生方面的研究,国内研究较少。本研究初步讨论青藤碱对 HIF-1 α 、VEGF 及 MMP9 的影响,为青藤碱多种药理学的免疫研究提供依据。

本实验对 CIA 大鼠模型给予雷公藤多甙和青藤

碱治疗后,发现青藤碱可以降低 CIA 大鼠的关节肿胀程度,并且在光镜下也看到其对滑膜血管新生有抑制作用,其作用与雷公藤多甙效果相当。HIF-1 α 的表达水平提示其可降低 HIF-1 α 在滑膜的表达,结合对外周血 VEGF 和 MMP-9 的检测,显示青藤碱可降低 VEGF 和 MMP-9 的表达,效果与雷公藤多甙相当。因此笔者认为,青藤碱的抗风湿机制除前面所说的免疫抑制和抗炎镇痛等作用外,还有可能通过影响 HIF-1 α 、VEGF 及 MMP-9 的表达,抑制血管新生,从而减少滑膜血管翳的生成,减少关节破坏。

参 考 文 献:

- [1] LI G Q, LIU D, ZHANG Y, et al. Anti-invasive effects of celastrol in hypoxia-induced fibroblast-like synoviocyte through srp-porssing of HIF-1 α /CXCR4 signaling pathway [J]. *Int Immunopharmacol*, 2013, 17(4): 1028-1036.
- [2] LUCA S, EMILIE D, NADIA B, et al. Active immunisation against peptides of vegf improves joint inflammation and destruction in collagen-induced arthritis[J]. *Ann Rheum Dis*, 2014, 73: A15-A16.
- [3] 杨波, 梁清华, 吴丹, 等. 胶原诱导性关节炎大鼠滑膜血管内皮生长因子与微血管密度[J]. *中国组织工程研究*, 2014, 18(7): 1051-1056.
- [4] MOLLER M N, WERTHER K, NALLA A, et al. Angiogenesis in vestibular schwannomas: expression of extracellular matrix factors MMP-2, MMP-9, and TIMP-1 [J]. *Laryngoscope*, 2010, 120(4): 657-662.
- [5] BARTOK B, FIRESTEIN G S. Fibroblast-like synoviocytes: key effector cells in rheumatoid arthritis[J]. *Immunol Rev*, 2010, 233(1): 233-255.
- [6] HUBER L C, DISTLER O, TARNER I, et al. Synovial fibroblasts: key players in rheumatoid arthritis[J]. *Rheumatology (Oxford)*, 2006, 45(6): 669-675.
- [7] WONG C K, CHEN DA P, TAM L S, et al. Effects of inflammatory cytokine IL-27 on the activation of fibroblast-like synoviocytes in rheumatoid arthritis [J]. *Arthritis Res Ther*, 2010, 12(4): R129.
- [8] SAWAGUCHI Y, HIRATA K, SUZUKI R, et al. Suppression of murine collagen-induced arthritis by vaccination of synovial vascular endothelial cells[J]. *Life Sci*, 2013, 92(23): 1125-1130.
- [9] YOON J, KORKMAZ N, PARK H J, et al. Angiogenic Type I collagen extracellular matrix integrated with recombinant bacteriophages displaying vascular endothelial growth factors [J]. *Adv Healthc Mater*, 2016, 5(2): 205-212.
- [10] FAN L, LI J, YU Z, et al. Hypoxia-inducible factor prolyl hydroxylase inhibitor prevents steroid-associated osteonecrosis of the femoral head in rabbits by promoting angiogenesis and in-

- hibiting apoptosis[J]. PLoS One, 2014, 9(9): DOI: org/10.1371/journal.pone.0107774.
- [11] 王险峰, 陈森洲, 侯巧燕. 缺氧诱导因子 -1 α 和血管内皮细胞生长因子在胶原性关节炎动物模型中的表达与意义[J]. 现代免疫学, 2010, 3: 212-216.
- [12] 杨树艳, 杨宝丽, 李少华. 基质金属蛋白酶 -2 及基质金属蛋白酶 -9 与卵巢上皮性癌血管生成的关系[J]. 中国现代医学杂志, 2011, 21(22): 2726-2728.
- [13] LI B T, ZHANG F Z, XU T S, et al. Increasing production of matrix metalloproteinases, tumor necrosis factor- α , vascular endothelial growth factor and prostaglandin E2 in rheumatoid arthritis synovial fibroblasts by different adiponectin isoforms in a concentration-dependent manner[J]. Cell Mol Biol (Noisy-le-grand), 2015, 61(7): 27-32.
- [14] 陈光星, 李晓娟, 刘清平, 等. 青藤碱对 T 淋巴细胞活化增殖的影响[J]. 广州中医药大学学报, 2008, 25(5): 425-427.
- [15] 牟慧, 蔡辉, 姚茹冰, 等. 青藤碱对佐剂性关节炎大鼠行为学特征和滑膜中 TNF- α 的影响[J]. 山东医药, 2013, 53(9): 4-6.
- [16] 姚茹冰, 高佩芳, 蔡辉. 青藤碱对环瓜氨酸肽刺激类风湿关节炎 T 细胞分泌 IFN- γ 及 IL-4 的影响[J]. 中国中医急症, 2012, 21(9): 1437-1438.
- [17] 邵继征, 田瑶. 青藤碱对家兔关节液中的精氨酸及瓜氨酸的抑制作用[J]. 中国医院药学杂志, 2013, 33(13): 1029-1031.

(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 ISSN1005-8982/CN43-1225/R, 旬刊, 系中国科技论文统计源期刊、北京大学图书馆中文核心期刊、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。本刊设基础研究·论著、临床研究·论著、综述、新进展研究·论著、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, 也应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. 出版社: 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]. 中国医学工程, 1998, 8(11): 3-5。 英文格式: SZEMAN B, NAGY G. Changes in cognitive function in patient with diabetes mellitus[J]. Orv Hetil, 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(参考文献 35 条以上)。
5. 栏目对中英文摘要的要求: 基础研究·论著、临床研究·论著、新进展研究·论著需中英文摘要齐全, 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。