

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2017.06.004

文章编号: 1005-8982(2017)06-0017-06

小鼠 CD45⁻/CD31⁺ 肺侧群细胞诱导分化的研究*

张明杰,李宗泽,徐杨,梁迅

(锦州医科大学 生物化学与分子生物学教研室,辽宁 锦州 121000)

摘要:目的 探讨在体外诱导分化肺侧群细胞(SP)的特性。**方法** 取小鼠肺组织,流式细胞术分选小鼠白细胞分化抗原(CD)45⁻/CD31⁺肺SP;免疫荧光检测分选肺SP三磷酸腺苷结合转运蛋白G超家族成员2(ABCG2)的表达;逆转录聚合酶链反应(RT-PCR)检测肺SP中ABCG2、酪氨酸激酶2(Tie2)及血管性血友病因子(vWF)的表达。细胞体外分化诱导14d后,免疫荧光检测细胞vWF的表达;RT-PCR检测分化诱导前后细胞中ABCG2和vWF的表达。**结果** 流式细胞术成功分选出CD45⁻/CD31⁺肺SP细胞,免疫荧光检测其表达ABCG2;RT-PCR检测SP表达ABCG2和Tie2,不表达vWF。主群细胞表达vWF;分化诱导前的肺SP表达ABCG2;分化诱导后的肺SP表达vWF。**结论** CD45⁻/CD31⁺肺SP是血管内皮细胞的祖细胞,具有干细胞分化特性。在体外培养可分化为血管内皮细胞。

关键词: 侧群细胞;血管内皮细胞;三磷酸腺苷结合转运蛋白G超家族成员2

中图分类号: R329.2

文献标识码: A

Differentiation of mouse CD45⁻/CD31⁺ lung side population cells into endothelial cells *in vitro**

Ming-jie Zhang, Zong-ze Li, Yang Xu, Xun Liang

(Department of Biochemistry and Molecular Biology, Jinzhou Medical University,
Jinzhou, Liaoning 121000, China)

Abstract: Objective To investigate the characteristics of differentiation of lung side population (LSP) cells *in vitro*. **Methods** Mouse lung tissue was taken, and mouse CD45⁻/CD31⁺ LSP cells were sorted by flow cytometry. Immunofluorescence was used to detect the expression of ATP-binding cassette sub-family G member 2 (ABCG2) in the isolated LSP cells. RT-PCR was applied to detect the expression of *ABCG2*, *Tie2* and *vWF* in mouse CD45⁻/CD31⁺ LSP cells. After the LSP cells were cultured for 14 days, the expression of *vWF* was detected by immunofluorescence, and the mRNA expression of *ABCG2* as well as *vWF* of both freshly isolated LSP cells and cultured LSP cells were examined by RT-PCR. **Results** Flow cytometry sorted out the CD45⁻/CD31⁺ LSP cells, and immunofluorescence tested that they expressed *ABCG2*. RT-PCR results revealed that LSP cells expressed *ABCG2* as well as *SMA* and *Tie2*, but did not express *vWF*. LMP highly expressed *vWF*. The CD45⁻/CD31⁺ LSP cells expressed *ABCG2*, but did not express *vWF* before induction of differentiation; while the cells expressed *vWF* in stead of *ABCG2* after the induction of differentiation. **Conclusions** CD45⁻/CD31⁺ LSP cells might be the progenitor cells of vascular endothelial cells, which possess the characteristics of stem cell differentiation, and can be differentiated into vascular endothelial cells *in vitro*.

Keywords: side population cell; endothelial cell; ATP-binding cassette sub-family G member 2

肺疾病是引起死亡的主要原因^[1-3]。肺移植并不是5年死亡率<50%的万灵药^[4],因此迫切需要新方

法。侧群细胞(side population cells, SP)是利用Hoechst染料和流式细胞仪进行造血干细胞分离时

收稿日期:2016-08-25

* 基金项目:国家自然科学基金 No:81370619)

[通信作者] 梁迅, E-mail: 1161653758@qq.com

发现的特殊细胞。白细胞分化抗原 cluster of differentiation, CD) 45⁺ 为血液细胞标记, CD45⁻ 为肺细胞标记, CD31⁺ 为内皮细胞标记, CD31⁻ 为间充质细胞标记。以往的研究对 CD45⁺ 和 CD31⁺ 已做报道, 但未报道 CD45⁻/CD31⁺ [6-7]。本实验收集小鼠肺, 流式细胞术分选出 CD45⁻/CD31⁺ 侧群细胞, 体外诱导培养, 探讨其是内皮细胞的祖细胞, 可以在体外发育成内皮细胞, 为临床治疗肺疾病提供新思路。

1 材料与方法

1.1 实验材料

1.1.1 主要试剂 内皮培养基 endothelial cell growth medium-2, EGM-2), 购自美国 Cambrex 公司, Methocult GF M3534 购自加拿大 STEMCELL Technologies 公司, Trypsin 购自美国 Sigma 公司, 胶原酶、分散酶购自上海吉凯基因化学技术有限公司, RNA 提取试剂盒购自德国 QIAGEN 公司, cDNA 逆转录试剂盒购自美国 ABI 公司, 逆转录聚合酶链反应 (reverse transcription polymerase chain reaction, RT-PCR) 试剂盒购自美国 Promega 公司, 抗体购自英国 Abcam 公司, Hoechst33342、DAPI、胰蛋白酶、维拉帕米及碘化丙啶 (propidium iodide, PI) 仪购自美国 Sigma 公司。

1.1.2 实验仪器 二氧化碳 CO₂ 孵箱购自美国 Sheldon Manufacturing Inc 公司, 流式细胞仪购自美国贝克曼库尔特公司, 超净工作台购自新加坡 ESCO 公司, 酶标仪购自德国 BMG 公司, 离心机购自德国 Het-tich 公司, 聚合酶链反应 polymerase chain reaction, PCR) 仪购自美国 Thermo Scientific 公司。

1.1.3 实验动物 实验小鼠来自辽宁省锦州医科大学动物实验中心。

1.2 实验方法

1.2.1 收集细胞 取小鼠肺组织用刀片搅碎, 在 37°C、0.1% 胶原酶、2.4 u/ml 分散酶和 2.5 mmol CaCl₂ 条件下孵育 1 h, 磷酸盐缓冲溶液 phosphate balanced solution, PBS) 悬浮、过滤, 收集细胞 [8]。

1.2.2 流式细胞术分选 CD45⁻/CD31⁺ 小鼠肺侧群细胞及检测 取收集的细胞计数, 将细胞数量调整为 1×10⁶ 个/ml 浓度, 重悬细胞于培养液中。实验组加入终质量浓度为 5 mg/L 的荧光染料 Hoechst33342; 对照组加入终质量浓度为 5 mg/L 的荧光染料 Hoechst 33342 及终质量浓度为 100 mg/L 的维拉帕米。37°C 避光水浴 90 min, 每隔 20 min 轻微震荡 1 次。

90 min 后终止染色, 用冷的 PBS 洗涤, 4°C、1 000 r/min 离心 5 min, 去上清液, 用冷的 PBS 重悬。加入终质量浓度为 2 mg/L 的 PI, 上流式细胞仪分选, Hoechst33342 的激发光为 375 nm。流式细胞仪分别收集侧群细胞与主群细胞。用 CD44 和干细胞抗原 1 (stem cell antigen 1, Sca1) 抗体检测其表达情况 [9]。

1.2.3 免疫荧光染色检测三磷酸腺苷结合转运蛋白 G 超家族成员 2 (ATP-binding cassette sub-family G member 2, ABCG2) 蛋白表达 将玻片放在流式细胞仪特定位置收集细胞。丙酮固定几秒 (-20°C), PBS 漂洗 3 次, 2 min/次。0.5% Txiton X-100 处理 20 min, PBS 漂洗 3 次, 2 min/次。血清封闭 20 min, PBS 漂洗 3 次, 2 min/次。滴加一抗, 37°C 孵育 2 h, PBS 漂洗 3 次, 2 min/次。滴加二抗, 37°C 孵育 30 min, PBS 漂洗 3 次, 2 min/次。加入 4', 6-二脒基-2-苯基吲哚 (4', 6-diamidino-2-phenylindole, DAPI) 染色 5 min, PBS 漂洗 3 次, 2 min/次。荧光显微镜观察并拍照。

1.2.4 RT-PCR 检测 ABCG2、血管性血友病因子 (von Willebrand factor, vWF) 及酪氨酸激酶 2 (tyrosine kinase, Tie2) 基因的表达 收集的细胞用冷的 PBS 漂洗 2 次, 12 000 r/min 离心 3 min, 弃上清液, 加入 350 μl 裂解缓冲液, 充分裂解。加入 1 ml Trizol, 冰上匀浆。转入新的 1.5 ml 离心管, 室温保存 5 min。加 0.2 ml 氯仿, 震荡混匀, 室温放置 5 min。4°C、10 000 r/min 离心 15 min, 将上层吸到一个新的 1.5 ml 离心管, 按照试剂盒说明书提取 RNA。按照试剂盒说明书将其逆转录成 cDNA。按照试剂盒说明书进行 PCR 反应, 反应条件为: 95°C 预变性 3 min, 95°C 变性 1 min, 55°C 退火 30 s, 72°C 延伸 1 min, 共 30 个循环, 72°C 继续延伸 10 min。PCR 扩增产物用

表 1 PCR 引物序列

| 基因 | 引物序列 |
|---------|-----------------------------------|
| ABCG2 | 正向: 5'-GTGGCATCTCTGGAGGAGAA-3' |
| | 反向: 5'-GGGCCACATGATTCTTCCAC-3' |
| Tie2 | 正向: 5'-CCGTGGACAGGGGAGATAAT-3' |
| | 反向: 5'-CCACTACACCTTTCTTTACA-3' |
| β-actin | 正向: 5'-GGTGTGATGGTGGGAATGGGTC-3' |
| | 反向: 5'-CTTCTCCAGGGAGGAAGAGGATG-3' |
| vWF | 正向: 5'-GCGATTCCCACTCTTCC-3' |
| | 反向: 5'-TTGACGAGGCAGGGGTTCC-3' |

1%琼脂糖凝胶电泳检测。见表 1。

1.2.5 细胞克隆形成实验及流式细胞术检测其是否为 CD45⁺/CD31⁺ 小鼠肺侧群细胞 用 Methocult GF M3534 media 培养基连续培养 CD45⁺/CD31⁺ 小鼠肺侧群细胞 14 d,用流式细胞仪检测。

1.2.6 细胞体外分化诱导及免疫荧光检测 vWF 表达和 RT-PCR 检测 ABCG2 的表达 将流式细胞仪分选的细胞用 EGM-2 培养基在 37℃、5%CO₂ 条件下,连续培养 14 d。14 d 后,取一部分培养的细胞应用免疫荧光技术检测 ABCG2 的表达,再取一部分培养的细胞(14 d)和新分选的细胞(0 d)通过 RT-PCR 反应检测两者 ABCG2 和 vWF 的表达,方法同 1.2.4。通过 Image Pro Plus 6.0 软件进行分析,测其积分光密度值,以各条带值与内参条带值之比为目的基因的相对表达量。

1.3 统计学方法

数据分析采用 SPSS 17.0 统计软件,计量资料以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,用 t 检验,P<0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 分选的 CD45⁺/CD31⁺ 小鼠肺侧群细胞

分离的收集的细胞经过流式分选后,侧群细胞位

于左下角两种荧光均很弱的区域。实验组低染区侧群细胞比例为 0.4%,对照组低染区侧群细胞比例 < 0.4%,被维拉帕米阻滞,证实从小鼠肺组织收集的细胞中确实存在侧群细胞。进一步分选出 CD45⁺/CD31⁺ 肺侧群细胞,所占比例为 22%。CD 分化群 44 及 Sca1 检测结果呈现 CD44 阴性,Sca1 阳性。见图 1。

2.2 ABCG2 蛋白的表达

分选的 CD45⁺/CD31⁺ 肺侧群细胞进行免疫荧光染色,观察到细胞表达 ABCG2 蛋白。见图 2。

2.3 ABCG2、vWF 及 Tie2 基因的表达

RT-PCR 检测基因表达,结果呈现肝脏特异性脂蛋白(liver specific lipoprotein,LSP)高表达 ABCG2,肺主群细胞(lung main population,LMP)不表达 ABCG2。LSP 表达的 ABCG2 相对含量与 LMP 比较,经 t 检验,差异有统计学意义(t=58.441,P=0.000)。LMP 高表达 vWF,LSP 不表达 vWF,LSP 表达的 vWF 相对含量与 LMP 比较,经 t 检验,差异有统计学意义(t=12.291,P=0.000)。Tie2 在 LSP 与 LMP 中均表达,LSP 表达的 Tie2 相对含量与 LMP 比较,经 t 检验,差异有统计学意义(t=95.905,P=0.000);Tie2 是内皮细胞的标记,提示 LSP 可能是内皮细胞的祖细胞。见表 2 和图 3。

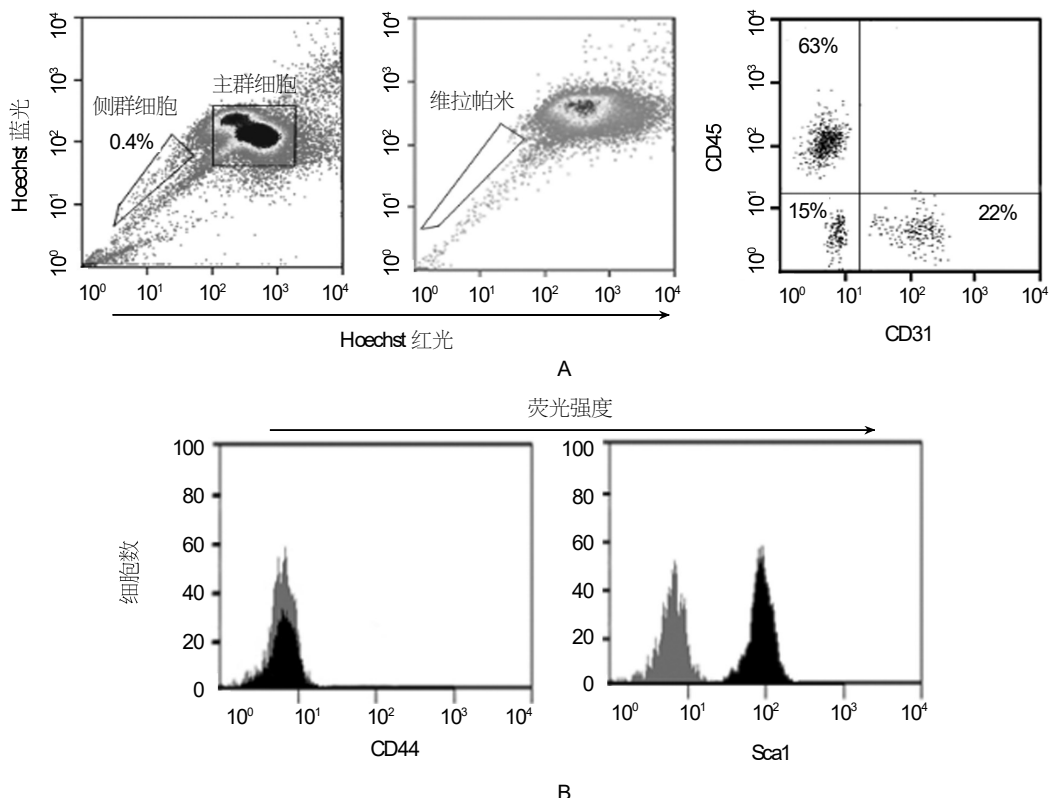
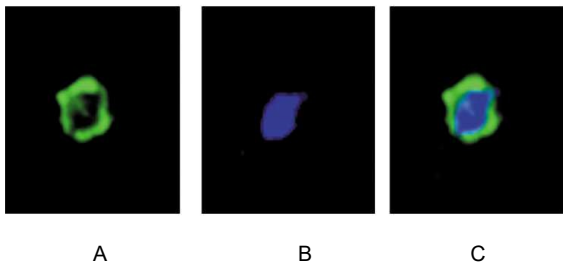


图 1 分选的小鼠 CD45⁺/CD31⁺ 肺侧群细胞



A: ABCG2 蛋白的表达; B: DAPI 染色细胞核; C: A 和 B 的合并图
图 2 ABCG2 蛋白的表达 (× 40)

表 2 CD45⁺/CD31⁺ 肺 SP 与肺 MP 的 ABCG2、vWF 及 Tie2 相对表达量比较 (n=8, $\bar{x} \pm s$)

| 组别 | ABCG2 | Tie2 | vWF |
|---|--------------|--------------|--------------|
| CD45 ⁺ /CD31 ⁺ 肺 SP 组 | 0.506± 0.024 | 0.312± 0.013 | 0.016± 0.005 |
| 肺 MP 组 | 0.012± 0.003 | 0.503± 0.042 | 0.824± 0.023 |
| t 值 | 58.441 | - 12.291 | - 95.905 |
| P 值 | 0.000 | 0.000 | 0.000 |

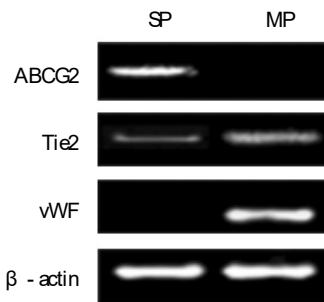


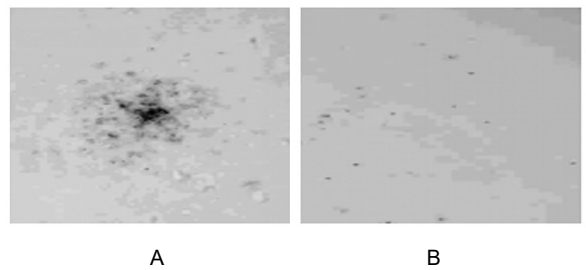
图 3 ABCG2、vWF 及 Tie2 的表达

2.4 CD45⁺/CD31⁺ 小鼠肺侧群细胞的检测结果

分选的 CD45⁺/CD31⁺ 肺侧群细胞克隆形成实验后,结果呈现 LSP 大量增殖并呈现聚集生长状态,流式技术结果呈现 Sca1 阳性,其仍然是 CD45⁺/CD31⁺ 小鼠肺侧群细胞。见图 4、5。

2.5 vWF 和 ABCG2 的表达

细胞体外分化诱导,免疫荧光检测结果呈现有 ABCG2 的表达;RT-PCR 检测结果呈现诱导前的 LSP 表达 ABCG2,诱导后的 LSP 不表达 ABCG2,诱导前 LSP 表达的 ABCG2 相对含量与诱导后比较,经 t 检验,差异有统计学意义 (t=62.682, P=0.000)。诱导后的 LSP 表达 vWF,诱导前的 LSP 不表达 vWF,诱导前的 LSP 表达的 vWF 相对含量与诱导后比较,经 t 检验,差异有统计学意义 (t=- 19.503, P=0.000);说明 CD45⁺/CD31⁺ 小鼠肺侧群细胞分化成血管内皮细胞。见图 6、7 和表 3。



A: 侧群细胞形成细胞克隆; B: 侧群细胞未形成细胞克隆

图 4 CD45⁺/CD31⁺ 小鼠肺侧群细胞克隆形成

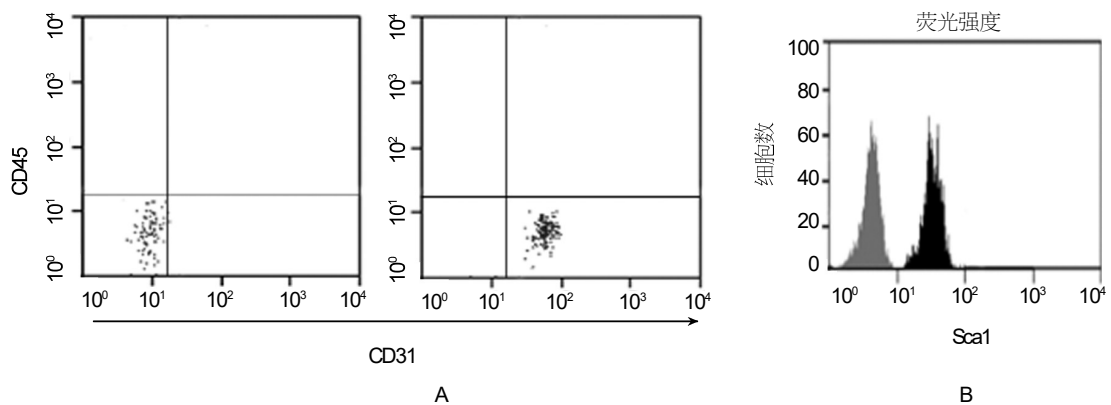
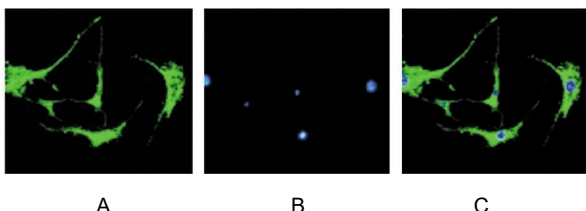


图 5 流式细胞仪检测 CD45⁺/CD31⁺



A: vWF 的表达; B: DAPI 染色细胞核; C: A 和 B 的合并图
图 6 vWF 的表达 (× 40)

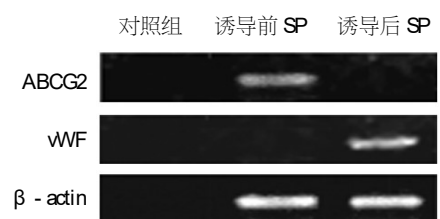


图 7 ABCG2 和 vWF 的表达

表 3 诱导前后侧群细胞 ABCG2、vWF 的相对表达量比较
($n=8, \bar{x} \pm s$)

| 组别 | ABCG2 | vWF |
|-----|-------------------|-------------------|
| 诱导前 | 0.710 \pm 0.025 | 0.012 \pm 0.005 |
| 诱导后 | 0.031 \pm 0.018 | 0.321 \pm 0.044 |
| t 值 | 62.682 | - 19.503 |
| P 值 | 0.000 | 0.000 |

3 讨论

近年来,对侧群细胞的研究和应用都取得很大进展,侧群细胞由于分布广泛,含量丰富,又有明确的表型标记和分离纯化方法,所以可以用于基因治疗、生物医学研究、生长发育过程研究等领域。侧群细胞可以通过不对称分裂产生大量与自己相同的子代细胞,同时也能分化成具有有限分化能力的后代。MOSERLE 等^[10]发现,肝癌细胞株 Hep3B、MHCC97-L、MHCC97-H 及 HCCLM3 所含的侧群细胞比例分别为 0.9%、4.2%、14.5%和 28.7%,所得高纯度的侧群细胞在体外培养后,这 4 种细胞株始终能保持一定的侧群细胞比例,说明侧群细胞具有自我更新的功能,这有助于维持稳定的细胞储备。新的研究表明,侧群细胞及肿瘤干细胞驱动和维持人类肿瘤的多种类型^[11]。侧群细胞在动物模型中能够产生肿瘤,非侧群细胞则不能^[12],从肿瘤干细胞中分离侧群细胞,进而研究侧群细胞的特性^[13]。侧群细胞的克隆形成和侵袭能力明显高于非侧群细胞,该特征进一步表明侧群细胞的其他属性^[14]。同时,对肺侧群细胞进行研究,对肺损伤及肺部疾病的治疗有非常重要的意义,对肿瘤的防治和干细胞生物学的发展有深远的影响^[15]。

肺是呼吸系统的一部分,功能是进行气体交换,良好的肺功能是维持生命的保障。胸外科角度上肺是胸腔内最大的脏器,也是胸外科中病变种类和发病数量最多的器官。常见的肺部疾病有气胸、肺大泡、肺气肿和肺癌,肺源性心脏病、呼吸衰竭、肺栓塞、肺脓肿、肺炎、新生儿肺炎、小儿肺炎、气管炎、哮喘、肺结核、尘肺、间质性肺疾病、呼吸系统疾病等。肺部疾病比较常见,而且发病来后果严重,甚至危及生命,例如慢性肺源性心脏病,是由于肺组织、肺动脉的原发性病变,使肺血管阻力增加,肺动脉压力升高,从而造成右心负荷加重,右心室肥大,最终导致右心功能衰竭,继而危及生命^[16]。研究肺侧群细胞分化为血管内皮细胞,可以为由于肺损伤及肺疾病

等引起的细胞损伤提供新的细胞,从而延缓病情。

本实验分选小鼠 CD45⁺/CD31⁺ 肺侧群细胞,通过体外诱导分化培养,最终分化发育为血管内皮细胞。实验结果表明,CD45⁺/CD31⁺ 肺侧群细胞是血管内皮细胞的祖细胞,具有干细胞分化特性。这为临床干细胞的来源获取提供新途径,并且为干细胞的研究及肺部疾病的治疗研究提供新的思路。

参 考 文 献:

- [1] TASHKIN D P, ROTH M D, CLEMENTS P J, et al. Mycophenolate mofetil versus oral cyclophosphamide in scleroderma-related interstitial lung disease (SLSII): a randomised controlled, double-blind, parallel group trial [J]. *The Lancet Respiratory Medicine*, 2016, 4(9): 708-719.
- [2] GUYATT G H, BERMAN L B, TOWNSEND M, et al. A measure of quality of life for clinical trials in chronic lung disease[J]. *Thorax*, 1987, 42(10): 773-778.
- [3] van MARGER L J, ALLRED E N, PAGANO M, et al. Do clinical markers of barotrauma and oxygen toxicity explain interhospital variation in rates of chronic lung disease[J]. *Pediatrics*, 2000, 105(6): 1194-1201.
- [4] MURPHY B P, INDER T E, HUPPI P S, et al. Impaired cerebral cortical gray matter growth after treatment with dexamethasone for neonatal chronic lung disease[J]. *Pediatrics*, 2001, 107(2): 217-221.
- [5] SUMMER R, KOTTON D N, LIANG S, et al. Embryonic lung side population cells are hematopoietic and vascular precursors[J]. *American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology*, 2005, 33(1): 32-40.
- [6] LIANG S X, KHACHIGIAN L M, AHMAD I Z, et al. In vitro and in vivo proliferation, differentiation and migration of cardiac endothelial progenitor cells (SCA1⁺/CD31⁺ side population cells)[J]. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*, 2011, 9(8): 1628-1637.
- [7] SUMMER R, FITZSIMMONS K, DWYER D, et al. Isolation of an adult mouse lung mesenchymal progenitor cell population[J]. *American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology*, 2007, 37(2): 152-159.
- [8] LIANG S X, SUMMER R, SUN X, et al. Gene expression profiling and localization of Hoechst-effluxing CD45⁻ and CD45⁺ cells in the embryonic mouse lung[J]. *Physiological Genomics*, 2005, 23(2): 172-181.
- [9] LIANG S X, TAN T Y L, GAUDRY L, et al. Differentiation and migration of Sca1⁺/CD31⁺ cardiac side population cells in a murine myocardial ischemic model [J]. *International Journal of Cardiology*, 2010, 138(1): 40-49.
- [10] MOSERLE L, GHISI M, AMADORI A, et al. Side population and cancer stem cells: therapeutic implications[J]. *Cancer Letters*, 2010, 288(1): 1-9.
- [11] BOESCH M, ZEIMET A G, FIEGL H, et al. High prevalence of side population in human cancer cell lines[J]. *Oncoscience*,

- 2016, 3(3/4): 85.
- [12] TABOR M H, CLAY M R, OWEN J H, et al. Head and neck cancer stem cells: the side population[J]. *The Laryngoscope*, 2011, 121(3): 527- 533.
- [13] NAKAYAMA M, OGASAWARA S, AKIBA J, et al. Side population cell fractions from hepatocellular carcinoma cell lines increased with tumor dedifferentiation, but lack characteristic features of cancer stem cells[J]. *Journal of Gastroenterology and Hepatology*, 2014, 29(5): 1092- 1101.
- [14] YANG M, ZHANG R, YAN M, et al. Detection and characterization of side population in Ewing's sarcoma SK-ES-1 cells in vitro[J]. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2010, 391(1): 1062- 1066.
- [15] 曹志飞, 李新平, 陈志欣, 等. 边缘细胞的研究进展[J]. *中国药理学通报*, 2007, 23(11): 1405- 1408.
- [16] 应茵, 黄萍, 羊波. 中药防治肺心病实验研究进展[J]. *浙江中西医结合杂志*, 2013, 23(1): 75- 78.

(童颖丹 编辑)

欢迎订阅《中国现代医学杂志》

《中国现代医学杂志》创刊于 1991 年,是一本医学综合性学术期刊。由中华人民共和国教育部主管,中南大学湘雅医院承办。创刊以来始终坚持以服务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,密切关注世界医学发展的新趋势,积极推广国内医药卫生领域的新技术、新成果,及时交流广大医药卫生人员的医学科学理论和业务技术水平,成为国内外医学学术交流的重要园地,已进入国内外多个重要检索系统和大型数据库。如:中文核心期刊(中文核心期刊要目总览 2008、2011 和 2014 版)、中国科技论文与引文数据库即中国科技论文统计源期刊(CSTPCD)、俄罗斯文摘(AJ)、中国学术期刊综合评价数据库、中国期刊网全文数据库(CNKI)、中文科技期刊数据库、中文生物医学期刊文献数据库(CMCC)、超星“域出版”及中国生物医学期刊光盘版等。

《中国现代医学杂志》辟有基础研究·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。主要刊登国内外临床医学、基础医学、预防医学以及医学相关学科的新理论、新技术、新成果,以及医院医疗、教学、科研、管理最新信息、动态等内容。主要读者为广大医药卫生科技人员。

《中国现代医学杂志》为半月刊,国际标准开本(A4幅面),全刊为彩色印刷,无线胶装。内芯采用 90 g 芬欧汇川雅光纸(880×1230 mm),封面采用 200 g 紫鑫特规双面铜版纸(635×965 mm)印刷,每个月 15、30 日出版。定价 35 元/册,全年 840 元。公开发行,国内统一刊号:CN 43-1225/R;国际标准刊号:ISSN 1005-8982;国内邮发代号:42-143。欢迎新老用户向当地邮局(所)订阅,漏订或需增订者也可直接与本刊发行部联系订阅。

联系地址:湖南省长沙市湘雅路 87 号《中国现代医学杂志》发行部,邮编:410008

电话:0731-84327938;传真:0731-89753837;E-mail:xdyx99@126.com

唯一官网网址:www.zgxdyx.com

《中国现代医学杂志》编辑部