

· 论 著 ·

携带人内皮抑素基因的肿瘤特异性增殖型腺病毒对卵巢癌的体内治疗作用

陈 雄¹,沙金燕^{1*},惠 宁¹,古 航¹,薛惠斌²

(1. 第二军医大学长海医院妇产科,上海 200433;2. 第二军医大学东方肝胆外科医院病毒与基因治疗实验室,上海 200438)

[摘要] **目的:**探讨携带人内皮抑素基因的肿瘤特异性增殖型腺病毒 CX-hE 对卵巢癌裸鼠瘤株 OV-90 的抑制作用。**方法:**BALB/c 裸鼠右背部皮下接种 OV-90 细胞成瘤。(1)18 只荷瘤裸鼠随机分为 PBS 对照组、CX-hE 治疗组和 Ad-hE 治疗组,皮下种植瘤内直接注射。各药物隔日注射 1 次,共注射 5 次。取肝脏组织行常规病理检查。(2)另 15 只荷瘤裸鼠随机分 3 组,分别瘤内单次注射 CX-hE、Ad-hE 和 ONYX-015 病毒纯化液。注射后第 1、3、7 天球后静脉取血 ELISA 检测人内皮抑素浓度,肿瘤组织行 Hexon 单克隆抗体免疫组化染色及微血管免疫组化染色。**结果:**(1)CX-hE 组肿瘤生长速度较缓慢,开始治疗后 2 周肿瘤体积已明显小于 Ad-hE 组($P<0.05$)和 PBS 组($P<0.01$)。常规 H-E 染色显示 CX-hE 组肿瘤组织内见散在坏死灶;肝脏无明显病理变化。(2)瘤内单次注射各药物后,裸鼠血清中均可检测到内皮抑素蛋白表达,随时间延长表达量逐渐升高。CX-hE 组人内皮抑素浓度始终高于 Ad-hE 组($P<0.01$),增长速度较快。CX-hE 单次瘤内注射 2 周,肿瘤 Hexon 免疫组化染色可见大量密集分布的阳性肿瘤细胞。CX-hE 组肿瘤微血管免疫组化可见残余的癌巢内尚有散在分布的阳性血管内皮细胞。**结论:**瘤内直接注射的治疗方法可使瘤生长速度减慢,CX-hE 治疗效果优于 Ad-hE,未观察到各治疗组肿瘤生长停止或完全消退的理想治疗效果。

[关键词] 内皮抑素类;腺病毒科;基因疗法;卵巢肿瘤

[中图分类号] R 737.9 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 0258-879X(2006)07-0750-05

Therapeutic effects of tumor-selective replication-competent adenovirus carrying human endostatin gene on ovarian cancer:an *in vivo* study in mice

CHEN Xiong¹,SHA Jin-yan^{1*},HUI Ning¹,GU Hang¹,XUE Hui-bin²(1. Department of Obstetrics and Gynecology, Changhai Hospital, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China; 2. Laboratory of Virus and Gene Therapy, Eastern Hepatobiliary Surgery Hospital,Second Military Medical University, Shanghai 200438)

[ABSTRACT] **Objective:**To study the inhibitory effect of tumor-selective replication-competent adenovirus-mediated human endostatin(CX-hE)on transplanted ovarian cancer (OV-90) in nude mice. **Methods:** BALB/c nude mice were inoculated subcutaneously with OV-90 cells to establish the animal model bearing human ovarian cancer. Eighteen nude mice bearing cancer were divided into 3 groups to receive intratumoral injection of PBS, CX-hE or Ad-hE, 1/2 d, 5 times. Then their livers were harvested for pathologic examination. Another 15 nude mice were divided into 3 groups to receive single intratumoral injection of CX-hE, Ad-hE or ONYX-015. Venous blood was collected on day 1,3 and 7 after injection for hEndo measurement by ELISA. The tumors were harvested for pathologic examination and immunohistochemical staining. **Results:** The tumors grew more slowly in CX-hE group and their sizes were markedly smaller than those of Ad-hE group($P<0.05$) and PBS group($P<0.01$). Endostatin levels were detected in the sera of nude mice in all single injection groups, and the endostatin expression in CX-hE group increased as time passing by. The endostatin level in CX-hE treated group was much higher($P<0.01$) and increased faster than that in Ad-hE treated group. Immunohistochemical staining for Hexon of adenovirus capsid showed more positive tumor cells in the tumor tissues treated with CX-hE. Immunohistochemical staining for vWF revealed a decreased microvessel density in the tumor tissues treated with CX-hE. **Conclusion:** CX-hE and Ad-hE can inhibit tumor growth and the effect of CX-hE is superior to that of Ad-hE. There is no growth halt or disappearance of tumors in all groups.

[KEY WORDS] endostatins;adenoviridae;gene therapy; ovarian neoplasms

[Acad J Sec Mil Med Univ,2006,27(7):750-754]

卵巢癌是女性生殖器常见的恶性肿瘤,死亡率居妇科恶性肿瘤首位。新生血管的生成满足其不断生长所需的丰富血供是实体肿瘤一个重要特征,且在肿瘤的转移过程中也起着决定性作用。卵巢癌富含血管,易发生腹腔内转移。

已发现新生血管抑制剂中,内皮抑素(endosta-

tin,Endo)作用最为明显,可显著抑制血管内皮生长因子(VEGF)诱导的内皮细胞增殖、迁移和血管生

[作者简介] 陈 雄,博士生,讲师、主治医师。

E-mail:smmuchenxiong@msn.com

* Corresponding author.

成以及实验动物实体肿瘤的生长和转移^[1]。前期研究证实携带人内皮抑素(hEndo)基因的肿瘤特异性增殖型腺病毒 CX-hE 可在肿瘤细胞内大量增殖,直接产生溶瘤效应,并产生高浓度的内皮抑素^[2]。本研究采用 BALB/c 裸鼠建立荷人卵巢癌 OV-90 皮下种植瘤动物模型,通过瘤内注射携带 hEndo 基因肿瘤特异性增殖型腺病毒 CX-hE,观察其体内治疗卵巢癌的作用,以阐明肿瘤特异性增殖型腺病毒和 hEndo 基因治疗肿瘤的机制。

1 材料和方法

1.1 实验动物、细胞株、腺病毒和主要试剂 4~6 周龄雄性 BALB/C 裸鼠 35 只,平均质量 21~28 g,由上海中科院动物培育中心提供。在第二军医大学实验动物中心清洁级动物实验室饲养。293 细胞由 Microbix Biosystems 公司提供;人卵巢癌细胞株 OV-90 由 ATCC 提供。ONYX-015(dl1520)由美国加州大学 Berk AJ 教授惠赠;携带 hEndo 基因的增殖缺陷型腺病毒 Ad-hE;携带 hEndo 基因的肿瘤特异性增殖型腺病毒 CX-hE 本室制备^[2]。抗 Hexon 单克隆抗体由 Biodesign International 提供;Ⅷ因子相关抗原一抗由 DAKO 公司提供;EnVision 二抗试剂盒由 DAKO 公司提供;Endonstatin ELISA 试剂盒由 Chemicon International 公司提供;兔抗 Endonstatin 单克隆抗体购自 R&D Systems 公司;HRP-羊抗兔 IgG 抗体购自 R&D Systems 公司;hEndo 由 Entremed 公司提供。

1.2 动物模型的建立 裸鼠先在清洁级动物实验室适应性饲养 1 周。体外培育人卵巢癌细胞株 OV-90 细胞,取对数生长期贴壁生长细胞,0.25%胰酶消化,离心、收集细胞用 PBS 液重悬,1 000/min 室温下离心 2 min,弃上清,PBS 液重悬后离心收集细胞,细胞悬液密度调整至 5×10^7 /ml。于裸鼠右背部皮下接种 OV-90 细胞,0.1 ml/只,1 周后成瘤。

1.3 实验动物的处理 对 18 只肿瘤生长至 4~5 mm 的裸鼠进行随机分组,分为 3 组,每组各 6 只。对照组:每只裸鼠肿瘤内直接注射 100 μ l PBS;CX-hE 治疗组:瘤内注射 CX-hE 病毒纯化液每只 1×10^9 /100 μ l;Ad-hE 治疗组:瘤内注射 Ad-hE 病毒纯化液每只 1×10^9 /100 μ l。隔日注射 1 次,共注射 5 次。分别于第一次注射后 0、3、7、14、21、28 d 时测量并计算肿瘤体积,肿瘤体积计算公式:肿瘤体积(mm^3)= $A \times B^2/2$ (A、B 分别为经过中心点的肿瘤最大径和最小径)。实验结束各组动物取肝脏组织行常规病理检查。

另取 15 只成瘤裸鼠随机分为 3 组,分别瘤内单次注射 CX-hE、Ad-hE 和 ONYX-015 病毒纯化液每只 1×10^9 /100 μ l。注射后第 1、3、7 天麻醉状态下球后静脉取血 0.1 ml,肝素抗凝,4 000 r/min,离心 15 min,取血清,-80℃冻存,备 ELISA 检测 hEndo 浓度。取血结束后 1 周动物处死,肿瘤标本行腺病毒外壳蛋白五邻体 Hexon 免疫组化染色和肿瘤微血管免疫组化染色。

1.4 统计学处理 数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 SPSS 10.0 软件进行方差分析。

2 结 果

2.1 裸鼠卵巢癌动物模型的建立 5×10^6 个 OV-90 卵巢癌细胞每只裸鼠皮下注射后 7 d,可观察到直径约 4~5 mm 大小的皮下肿瘤结节,致瘤率为 100%,但 2 只裸鼠成瘤不理想,予以剔除。

2.2 CX-hE 和 Ad-hE 治疗效果观察 结果见表 1。与 Ad-hE 治疗组和 PBS 对照组相比较,CX-hE 治疗组裸鼠皮下种植肿瘤生长速度较缓慢,治疗开始后第 14 天肿瘤体积已明显小于 Ad-hE 治疗组($P < 0.05$)和 PBS 组($P < 0.01$)。21 d 后,CX-hE 治疗组肿瘤增长速度开始加快,但仍明显小于另外两组($P < 0.05$)。Ad-hE 对裸鼠皮下种植肿瘤的生长也有一定的抑制作用,治疗开始后第 14 天肿瘤体积小于 PBS 组($P < 0.05$)。治疗过程中各组均未观察到肿瘤消失或缩小,也没出现明显的毒性反应;晚期则因恶液质而明显消瘦。实验结束后动物颈椎脱臼法处死检查,肝脏外观、质地正常,无硬化、结节和淤胆等病理改变。

2.3 H-E 常规染色 肿瘤组织常规 H-E 染色,CX-hE 治疗组肿瘤细胞核大深染,分裂象不规则,其肿瘤组织内可见散在坏死灶以及继发性增生纤维间隔的形成(图 1A),其他组未见明显类似病理改变;裸鼠肝脏病理示肝小叶结构清晰,无肝细胞变性、坏死和再生假小叶结节等形成(图 1B),与 PBS 对照组比较无明显差异。

2.4 裸鼠血清 hEndo 浓度 ELISA 检测 瘤内单次分别注射 CX-hE、Ad-hE 或 ONYX-015 后 1、3、7 d,用 ELISA 方法分别检测了 3 组血清中 hEndo 的浓度,结果见表 2。可看出瘤内单次注射携带 hEndo 基因腺病毒后,荷卵巢癌裸鼠血清中均可检测到 hEndo 蛋白表达,随着时间延长表达量逐渐升高。hEndo 浓度 CX-hE 治疗组裸鼠体内始终高于 Ad-hE 治疗组(第 7 天, $P < 0.01$),且增长速度较快。

表 1 治疗组和对照组肿瘤体积

Tab 1 Tumor volumes of treated and control groups

(n=6, $\bar{x}\pm s$, V/mm³)

Group	0 d	3 d	7 d	14 d	21 d	28 d
CX-hE	42.7±5.4	103.6±18.6	312.8±40.3	524.7±58.6**△	940.2±99.6*△	1 600.0±253.4
Ad-hE	40.8±9.5	155.2±28.4	438.5±59.5	995.2±163.4*	1 590.0±320.9	2 766.0±826.7
PBS	38.6±6.2	108.5±19.7	537.8±79.5	1 387.0±365.8	2 862.0±559.4	4 893.0±929.6

Time was counted after the first injection; * $P<0.05$, ** $P<0.01$ vs PBS group; △ $P<0.05$ vs Ad-hE group

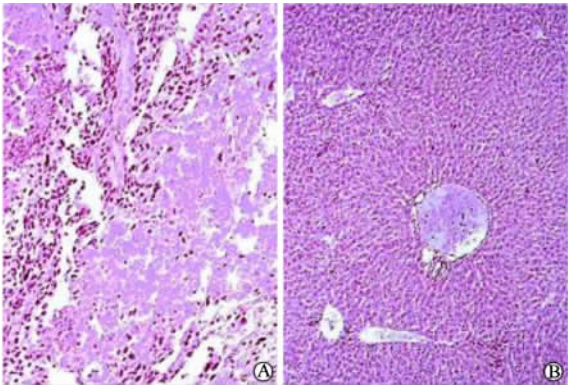


图 1 CX-hE 治疗组肿瘤组织(A)和
肝脏(B)常规 H-E 染色

Fig 1 Histological changes of tumor tissues(A) and
liver tissues(B) in CX-hE groups(H-E, ×300)

表 2 CX-hE 及 Ad-hE 治疗组荷瘤裸鼠血清 hEndo 浓度

Tab 2 Serum hEndo concentrations of nude mice bearing
human ovarian cancer treated with CX-hE and Ad-hE

(n=5, $\bar{x}\pm s$, ρ_B /ng · ml⁻¹)

Group	1 d	3 d	7 d
CX-hE	283±41	964±127	1 900±201**
Ad-hE	29±36	574± 93	633±122
ONYX-015	143±23	186± 53	157±49

** $P<0.01$ vs Ad-hE group

2.5 腺病毒外壳蛋白五邻体 Hexon 表达 腺病毒外壳蛋白五邻体 Hexon 是腺病毒晚期基因的表达产物。外壳蛋白表达是腺病毒复制的结果,也是病毒颗粒成熟包装的重要标志。其中外壳蛋白的 Hexon 经单克隆抗体免疫组化染色后在阳性细胞内可见到棕黄色颗粒。本组实验结果见图 2。CX-hE 单次瘤内注射 14 d 后,肿瘤标本 Hexon 免疫组化染色可见大量密集分布的阳性肿瘤细胞(图 2A),而相邻的脂肪和纤维组织内未见阳性染色(图 2B);Ad-hE 组肿瘤组织内仅见淡染阳性细胞散在分布(图 2C)。表明 CX-hE 具有肿瘤组织特异性且能在体内增殖。

2.6 肿瘤微血管免疫组化检测 Von Willebrand 因子(vWF)是血管内皮细胞特异性标志物,通过 vWF 免疫组化染色,可标记肿瘤组织中的微血管 S 内皮细胞,以检测 CX-hE 在肿瘤新生血管生长抑制治疗的作用。CX-hE 组残余的癌巢内尚有散在分布的阳性血管内皮细胞(图 3A);ONYX-015 组阳性染色的血管内皮细胞明显多于 CX-hE 组,且血管管腔不规则(图 3B),表明 CX-hE 确能体内抑制血管新生。

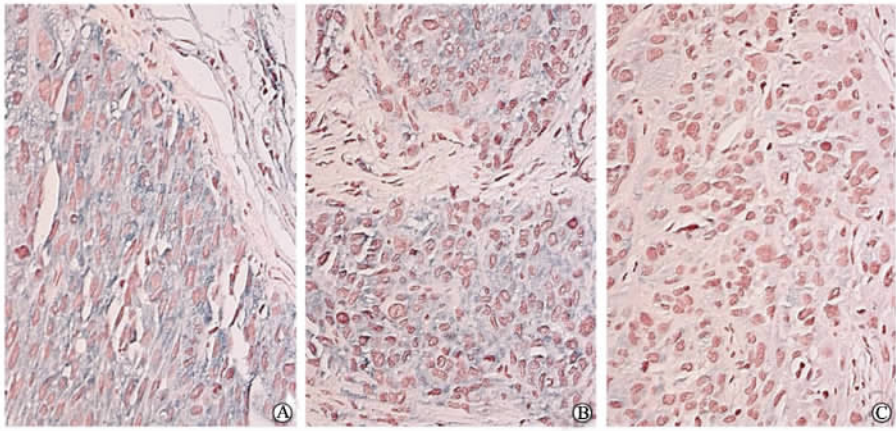


图 2 肿瘤组织 Hexon 免疫组化染色

Fig 2 Immunohistochemical staining for Hexon in tumor tissues (×300)

A: Tumor tissue in CX-hE group; B: Fat tissue near tumor in CX-hE group; C: Tumor tissue in Ad-hE group

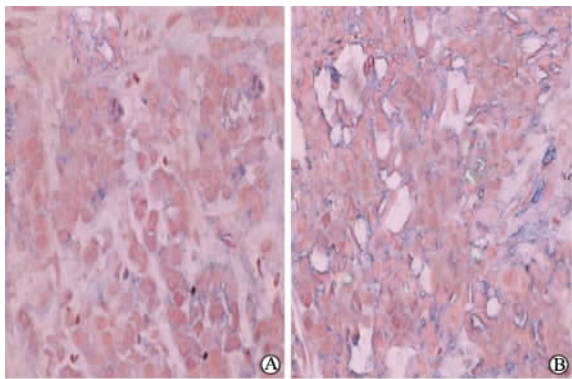


图 3 肿瘤组织 vWF 免疫组化染色

Fig 3 Immunohistochemical staining for vWF of vessel endothelial cells in tumor tissues(×300)

A: CX-hE group; B: ONYX-015 group

3 讨 论

卵巢癌缺乏有效的早期诊断方法,诊断时多为晚期,目前国内 5 年生存率仍徘徊在 25%~30%,卵巢癌已成为严重威胁妇女生命及健康的肿瘤。90 年代以来,肿瘤基因治疗逐步从实验室进入临床,基因治疗成为热点。55%~80%原发性卵巢癌发现有 p53 的突变^[3],肿瘤基因治疗关键要高效安全的基因导入系统。病毒载体能有效地将原位基因导入肿瘤细胞中,体内外实验表明,腺病毒介导卵巢癌转基因治疗能有效抑制卵巢癌细胞生长,并延长卵巢癌小鼠模型生存期^[4]。

近年来肿瘤特异性溶瘤病毒已成为肿瘤治疗的研究新方向^[5],其仅在肿瘤细胞中复制,而对正常细胞不影响或影响极小。能够靶向肿瘤细胞增殖,且病毒本身可杀死肿瘤细胞,而不损害正常细胞,从肿瘤细胞释放出来的病毒可继续感染周围的肿瘤细胞,具有疗效放大作用。ONYX-015 被认为是最为有效的肿瘤生物治疗方案之一^[6],并已在卵巢癌治疗中实验应用^[7]。

新生血管生成在肿瘤的生长和转移过程中起着决定性的作用,卵巢癌肿瘤组织中 VEGF 的高表达与肿瘤的转移和预后有明显的相关性。hEndo 相对分子质量为 18 500,1999 年克隆出了全长 hEndo 基因。Endo 可显著抑制体外 VEGF 诱导的内皮细胞迁移和血管生成以及实验动物实体肿瘤的生长和转移^[1],长期应用无毒副作用和耐药性问题发生^[8,9]。

为检验 CX-hE 对卵巢癌 OV-90 的体内治疗作用,我们建立皮下人卵巢癌种植瘤裸鼠动物模型,采用瘤内直接注射的治疗方法,实验结果表明:各治疗组皮下种植瘤生长减慢,CX-hE 治疗效果优于 Ad-

hE,可能存在以下原因:(1)高浓度 hEndo 表达:瘤内单次注射 CX-hE 病毒后 3 d 裸鼠血清内 hEndo 浓度达 974 ng/ml,7 d 后达 1 897 ng/ml。hEndo 在浓度为 700 ng/ml 时即可显著抑制内皮细胞的增殖和新生血管生成,血管内皮细胞 vWF 免疫组化染色提示 CX-hE 治疗组肿瘤组织内微血管明显减少。(2)病毒在肿瘤细胞中复制、增殖,裂解肿瘤细胞后扩增病毒再感染周围肿瘤细胞并继续增殖,对 CX-hE 治疗组肿瘤组织内 Hexon 的免疫组化染色见到大量阳性细胞,显示腺病毒在肿瘤细胞内复制并扩散。由于 Ad-hE 为增殖缺陷型病毒,无法在肿瘤细胞内反复扩增,影响基因产物的表达。(3)增殖病毒直接溶瘤效应:我们的增殖型腺病毒保留了 E3 区基因,E3 区基因的相对分子质量为 11 600 的蛋白,又称腺病毒死亡蛋白(ADP)具有促使感染细胞裂解的功能。常规 H-E 染色证实肿瘤组织内存在坏死灶。

腺病毒治疗的安全性同样引人关注。在 ONYX-015 I 期临床试验中通过各种途径即使注射 2×10^{13} 个病毒也没有观察到明显的与病毒注射剂量有直接关系的毒性反应^[10]。由于静脉注射腺病毒后主要分布于肝脏,其毒性也主要表现为对肝脏组织的损伤^[11],在本实验中我们也未发现 CX-hE 造成明显的肝脏损伤。

本实验在多次注射 CX-hE 后,肿瘤并未完全消退,只是生长速度慢于各对照组,可能因素如下:活体肿瘤组织可产生类似于 VEGF 和 BFGF 等血管生长因子拮抗 Endo;也不排除肿瘤细胞产生某种蛋白酶灭活、降解 Endo;尽管动物实验中 Endo 可显著抑制包括恶性程度很高的 Lewis 肺癌等在内的恶性肿瘤生长和转移^[8],但治疗剂量大,血清浓度每毫升可高达数十微克,远高于本实验结果;腺病毒体积(直径为 90 nm)比化疗药物、免疫因子大,且肿瘤组织内坏死灶、纤维间隔及正常组织等物理阻隔效应都限制病毒在肿瘤组织内有效扩散;腺病毒受体(CAR)肿瘤组织内低表达也会影响腺病毒感染和扩散能力;肿瘤细胞的高度异质性,即使在同一起来源的肿瘤组织内,其 p53 基因的功能状态也不尽相同。

有报道 Endo 基因治疗单独使用有效率低,但可增强肿瘤细胞对化疗和放疗的敏感性,联合化疗和放射治疗后可使原来对化疗、放疗不敏感的肿瘤表现出很好效果^[12~14]。我们希望携带 hEndo 基因的肿瘤特异性增殖型腺病毒治疗卵巢癌的方法能成为卵巢癌术后患者继化疗、放疗后的一种重要辅助治疗手段。

[参 考 文 献]

[1] Eriksson K, Magnusson P, Dixelius J, et al. Angiostatin and endostatin inhibit endothelial cell migration in response to FGF and VEGF without interfering with specific intracellular signal transduction pathways[J]. FEBS Lett,2003,536(1-3): 19-24.

[2] 徐建国,钱其军,薛惠斌,等. 在结肠癌细胞内高效表达内皮抑素的增殖型腺病毒载体的构建与鉴定[J]. 第二军医大学学报, 2004,25:280-283.

[3] Alvarez AA, Axelrod JR, Whitaker RS, et al. Thrombospondin-1 expression in epithelial ovarian carcinoma: Association with p53 status, tumor angiogenesis, and survival in platinum-treated patients[J]. Gynecol Oncol,2001,82:273-278.

[4] Zang RY, Shi DR, Lu HJ, et al. denovirus 5 E1a-mediated gene therapy for ovarian carcinoma cells *in vitro* and *in vivo* [J]. Int J Gynecol Cancer, 2001, 11: 18-23.

[5] Hawkins LK, Lemoine NR, Kirn D. Oncolytic biotherapy: a novel therapeutic platform[J]. Lancet Oncol,2002,3: 17-26.

[6] Nemunaitis J, Khuri F, Ganly I, et al. Phase II trial of intratumoral administration of ONYX-015, a replication-selective adenovirus, in patients with refractory head and neck cancer [J]. J Clin Oncol,2001,19: 289-298.

[7] Vasey PA, Shulman LN, Campos S, et al. Phase I trial of intraperitoneal injection of the E1B-55-kd-gene-deleted adenovirus ONYX-015 (dl1520) given on days 1 through 5 every 3 weeks in patients with recurrent/refractory epithelial ovarian cancer[J]. J Clin Oncol, 2002,20: 1562-1569.

[8] Bergers G, Javaherian K, Lo KM, et al. Effects of angiogene-

sis inhibitors on multistage carcinogenesis in mice[J]. Science, 1999,284: 808-812.

[9] Thomas JP, Arzooonian RZ, Alberti D, et al. Phase I pharmacokinetic and pharmacodynamic study of recombinant human endostatin in patients with advanced solid tumors[J]. J Clin Oncol,2003,21: 223-231.

[10] Reid T, Galanis E, Abbruzzese J, et al. Intra-arterial administration of a replication-selective adenovirus (dl1520) in patients with colorectal carcinoma metastatic to the liver: a phase I trial[J]. Gene Ther,2001,8: 1618-1626.

[11] Liu ZX, Govindarajan S, Okamoto S, et al. Fas- and tumor necrosis factor receptor 1-dependent but not perforin-dependent pathways cause injury in livers infected with an adenovirus construct in mice[J]. Hepatology,2000,31: 665-673.

[12] Zheng AQ, Song XR, Yu JM, et al. Liposome transfected to plasmid-encoding endostatin gene combined with radiotherapy inhibits liver cancer growth in nude mice[J]. World J Gastroenterol,2005,11: 4439-4442.

[13] Wu Y, Yang L, HU B, et al. Synergistic anti-tumor effect of recombinant human endostatin adenovirus combined with gemcitabine[J]. Anticancer Drugs, 2005,16: 551-557.

[14] Hong SY, Lee MH, Kim Jung, et al. Adeno-associated virus mediated endostatin gene therapy in combination with topoisomerase inhibitor effectively controls liver tumor in mouse model[J]. World J Gastroenterol,2004,10: 1191-1197.

[收稿日期] 2006-03-06 [修回日期] 2006-05-14

[本文编辑] 曹 静

- 第三届全国期刊奖提名奖期刊
- 第二届全国期刊奖百种重点期刊
- 中国基础医学类核心期刊
- 中国综合性医药卫生类核心期刊
- 中国科技论文统计源期刊
- 中国科学引文数据库统计源期刊

- 中国学术期刊综合评价数据库统计源期刊
- 荷兰《医学文摘》(EMBASE)源期刊
- 美国《化学文摘》(CA)源期刊
- 俄罗斯《文摘杂志》(PЖ)源期刊
- 波兰《哥白尼索引》源期刊

《第二军医大学学报》2007 年征订启事

《第二军医大学学报》是由第二军医大学主办的国内外公开发行的综合性医药卫生类学术期刊。本刊面向全国和海外作者征稿,主要报道基础、临床、预防、军事医学、药理学和中国医学等领域的最新科研成果。由中国科学院院士、肝胆外科专家、国家最高科技奖获得者吴孟超教授任主编。辟有:院士论坛、专家论坛、专题报道、论著、研究快报、临床病理(例)讨论、个案报告等栏目。读者对象主要为从事医药卫生工作的中高级科研、医疗、教学、预防机构人员和高等医药院校的师生。《第二军医大学学报》为月刊,A4 开本,80 g 铜版纸印刷,每期定价 15 元,全年共 180 元。可在当地邮局订阅(邮发代号 4-373),漏订者可来函本刊编辑部办理邮购。

地 址:上海市翔殷路 800 号《第二军医大学学报》编辑部;
邮 编:200433; 联系人:商素芳;
电 话:021-25074352,021-25074340 转 824 分机; 传 真:021-25074344
E-mail:bxue@smmu.edu.cn;bxue304@yahoo.com.cn
http://journals.smmu.edu.cn