

DOI:10.3724/SP.J.1008.2013.00006

## 转录因子 ChREBP- $\alpha$ 增强小鼠原代肝细胞的脂质合成能力

周露婷<sup>1△</sup>, 杨瑞<sup>1△</sup>, 李玲<sup>1</sup>, 陈榕<sup>1,2</sup>, 张晔<sup>1</sup>, 印慨<sup>3</sup>, 邹大进<sup>2</sup>, 张海<sup>1</sup>, 章卫平<sup>1\*</sup>

1. 第二军医大学基础部病理生理学教研室, 上海 200433

2. 第二军医大学长海医院内分泌科, 上海 200433

3. 第二军医大学长海医院普通外科, 上海 200433

**[摘要]** **目的** 构建含转录因子 *ChREBP- $\alpha$*  基因的重组腺病毒载体, 检测其在小鼠原代肝细胞中的表达及其对脂质合成的调节作用。 **方法** 将 *ChREBP- $\alpha$*  cDNA 克隆到穿梭质粒 pShuttle-CMV 载体, 与 pAdEasy 质粒在大肠杆菌 BJ5183 中同源重组, 获得腺病毒载体 pAd-*ChREBP- $\alpha$* , 在 293A 细胞中进行病毒的包装和扩增, 检测病毒的滴度; 将腺病毒 Ad-*ChREBP- $\alpha$*  感染小鼠原代肝细胞, 用实时荧光定量 PCR 及蛋白质印迹法检测 *ChREBP- $\alpha$*  的表达, 实时荧光定量 PCR 检测 *ChREBP- $\alpha$*  靶基因 *LPK* mRNA 的表达。用核素 <sup>14</sup>C 示踪法测定肝细胞的脂质合成速率。 **结果** 成功制备了 *ChREBP- $\alpha$*  重组腺病毒, 利用其在原代肝细胞过表达 *ChREBP- $\alpha$* , 可显著上调靶基因 *LPK* 的表达, 并增强肝细胞的脂质合成速率。 **结论** 成功制备了具有生物学活性、能在原代肝细胞中过表达的 *ChREBP- $\alpha$*  重组腺病毒, 为研究 *ChREBP- $\alpha$*  的糖脂代谢调控作用奠定了基础。

**[关键词]** 脂代谢障碍; 重组腺病毒; 肝细胞; 碳水化合物反应元件结合蛋白**[中图分类号]** R 589.2**[文献标志码]** A**[文章编号]** 0258-879X(2013)01-0006-05

### Transcription factor ChREBP- $\alpha$ enhances lipogenesis of primary hepatocytes

ZHOU Lu-ting<sup>1△</sup>, YANG Rui<sup>1△</sup>, LI Ling<sup>1</sup>, CHEN Rong<sup>1,2</sup>, ZHANG Ye<sup>1</sup>, YIN Kai<sup>3</sup>, ZOU Da-jin<sup>2</sup>, ZHANG Hai<sup>1</sup>, ZHANG Wei-ping<sup>1\*</sup>

1. Department of Pathophysiology, College of Basic Medical Sciences, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China

2. Department of Endocrinology, Changhai Hospital, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China

3. Department of General Surgery, Changhai Hospital, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China

**[Abstract]** **Objective** To construct recombinant adenovirus expressing mouse *ChREBP- $\alpha$* , and examine the effect of *ChREBP- $\alpha$*  overexpression on lipid synthesis in mouse primary hepatocytes. **Methods** The mouse *ChREBP- $\alpha$*  cDNA was subcloned into pShuttle-CMV vector, and the product was transformed into *E. coli* strain BJ5183 for homologous recombination with pAdEasy-1. The resultant recombinant vector was transfected into 293A cells for viral package. Mouse primary hepatocytes were infected with adenoviruses Ad-*ChREBP- $\alpha$* , and gene expression was analyzed at mRNA and protein levels by real-time PCR and Western blotting analysis. The expression levels of *ChREBP* target gene *LPK* were measured at mRNA level by real-time PCR, and the fatty acid synthesis rate was determined by [<sup>14</sup>C]-acetate incorporation. **Results** We successfully constructed recombinant adenoviruses expressing mouse *ChREBP- $\alpha$* . Adenovirus-mediated overexpression of *ChREBP- $\alpha$*  markedly increased *LPK* mRNA expression and fatty acid synthesis in primary hepatocytes. **Conclusion** We have successfully constructed recombinant adenoviruses expressing mouse *ChREBP- $\alpha$* , which is biologically active and can overexpress *ChREBP- $\alpha$*  in primary hepatocytes. Overexpression of *ChREBP- $\alpha$*  can enhance lipid synthesis.

**[Key words]** lipid metabolism disorders; recombinant adenovirus; hepatocytes; carbohydrate response element binding protein

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2013, 34(1):6-10]

**[收稿日期]** 2012-11-12 **[接受日期]** 2012-12-26**[基金项目]** 国家杰出青年科学基金(31025013), 国家自然科学基金(81100614). Supported by National Science Foundation for Distinguished Young Scholars (31025013), and National Natural Science Foundation of China(81100614).**[作者简介]** 周露婷, 博士生. E-mail: zhouluting@smmu.edu.cn; 杨瑞, 助理实验师. E-mail: yangrui@smmu.edu.cn

△共同第一作者(Co-first authors).

\* 通信作者(Corresponding author). Tel: 021-81871018, E-mail: wzhang@smmu.edu.cn

肝脏是体内糖脂代谢的重要场所。碳水化合物反应元件结合蛋白(carbohydrate response element binding protein, ChREBP)是调控肝脏糖脂代谢的重要转录因子之一,能够与 L 型丙酮酸激酶(L-type pyruvate kinase, LPK)等靶基因启动子区的碳水化合物反应元件(carbohydrate response element, ChRE)结合,从而调控其基因转录<sup>[1]</sup>。2012 年,哈佛医学院 Barbara Kahn 实验室在白色脂肪组织中又发现了 ChREBP 的另一亚型 ChREBP- $\beta$ ,遂将原先的 ChREBP 命名为 ChREBP- $\alpha$ <sup>[2]</sup>。ChREBP- $\alpha$  是肝脏中 ChREBP 的主要亚型,是调节肝脏内糖酵解及脂质合成的重要转录因子,参与调控肝脏脂质从头合成途径,在葡萄糖利用及维持能量平衡中起到非常重要的转录调节作用<sup>[3]</sup>。ChREBP- $\alpha$  与脂肪肝、胰岛素抵抗等疾病的发生有密切的关系<sup>[4]</sup>。因此,对 ChREBP- $\alpha$  调控肝脏糖脂代谢机制进行深入研究,将使我们脂肪肝等疾病的发病机制有更明确的认识。本研究构建了 ChREBP- $\alpha$  重组腺病毒,并分析了其对小鼠原代肝细胞体外脂质合成速率的影响,为进一步研究肝脏糖脂代谢及 ChREBP- $\alpha$  的调控功能奠定了基础。

## 1 材料和方法

1.1 主要材料与试剂 携带小鼠 ChREBP- $\alpha$  的表达质粒 pCMVS4-Flag-ChREBP- $\alpha$  由法国医学中心 Catherine Postic 教授馈赠,AdEasy<sup>TM</sup>腺病毒系统购自美国 Qbiogene 公司,293A 细胞由第二军医大学东方肝胆外科研究所钱其军教授惠赠。Effectene 转染试剂盒购自 Qiagen 公司,限制性内切酶、T<sub>4</sub> DNA 连接酶均购自美国 NEB 公司,质粒提取试剂盒、凝胶回收试剂盒均购自 Axygen 公司,兔抗 ChREBP 多克隆抗体(sc-33764)购自 Santa Cruz 公司,HRP 标记的羊抗兔二抗购自 Cell Signaling 公司。

1.2 ChREBP- $\alpha$  重组腺病毒载体的构建及鉴定 质粒 pCMVS4-Flag-ChREBP- $\alpha$  (#364) 先经 Bgl II 酶切、T<sub>4</sub> DNA 聚合酶补平后,再用 Hind III 酶切,胶回收 Flag-ChREBP- $\alpha$  目的基因片段;腺病毒穿梭质粒 pShuttle-CMV 先经 Not I 酶切、T<sub>4</sub> DNA 聚合酶补平后,再用 Hind III 酶切,纯化后与 ChREBP cDNA 片段连接,构建穿梭载体质粒 pShuttle-ChREBP- $\alpha$ ,经 DNA 测序鉴定。利用电穿孔方法,将腺病毒骨架质粒 pAdEasy-1 转化到感受态细菌 BJ5183 中,挑取单克隆提取质粒并进行鉴

定,鉴定正确的克隆用 CaCl<sub>2</sub>法成功制备感受态细菌 BJ5183-pAdEasy。用 Pme I 酶切、线性化穿梭载体质粒 pShuttle-ChREBP- $\alpha$  后,转化到感受态细菌 BJ5183-pAdEasy 中进行同源重组;挑取单克隆提取质粒,经 Pac I 酶切鉴定正确后得到 pAd-ChREBP- $\alpha$  (#365),再将其转化到 Top10 感受态细菌中,经柱纯化大量制备质粒 DNA。

1.3 重组腺病毒 Ad-ChREBP- $\alpha$  的包装及滴度测定 经 Pac I 酶切线性化的 pAd-ChREBP- $\alpha$ ,用 Effectene 转染试剂盒 pAd-ChREBP- $\alpha$  转染 293A 细胞,转染后 10~14 d,可见到部分细胞出现细胞病变反应(CPE)。细胞完全被病毒感染后,收集细胞、液氮和 37℃ 水浴反复冻融细胞,释放出腺病毒,记为初次收集病毒液。重复感染 293A 细胞,大量扩增腺病毒,获得较高滴度腺病毒 Ad-ChREBP- $\alpha$ 。用 TCID<sub>50</sub>法检测病毒滴度,用再次收集的病毒液做连续 10 倍的稀释,从 10<sup>-3</sup>~10<sup>-10</sup>,将稀释好的病毒液接种到 96 孔培养板中,每孔 100  $\mu$ L,每个稀释度 10 个孔,另设 10 孔为阴性对照。培养 10 d 时观察每孔细胞病变现象(如某一浓度各孔细胞全部病变,比率为 1,如无细胞病变,则比率为 0),计算病毒滴度。

1.4 ChREBP- $\alpha$  蛋白在原代肝细胞中表达的检测 用改良过的两步原位胶原酶灌注法分离小鼠原代肝细胞,以 1.2 $\times$ 10<sup>6</sup>接种于 60 mm 培养皿中,培养液为 M199(10% FBS)、100 nmol/L 胰岛素、100 nmol/L 地塞米松(Dex)。细胞贴壁后,用 1 $\times$ PBS 洗细胞 2 次,分别加入含有腺病毒 Ad-ChREBP- $\alpha$  或对照腺病毒(Ad-LacZ)的新鲜培养液,先加少量培养液,2 h 后补加培养液,使病毒更多地感染原代肝细胞。48 h 后用 RIPA 裂解液裂解细胞提取蛋白,95℃ 水浴变性,电泳,转膜到 PVDF 膜,5% 脱脂牛奶室温封闭 1 h,一抗为抗 ChREBP-兔多克隆抗体,进行蛋白质印迹分析。

1.5 ChREBP- $\alpha$  及其靶基因 LDK 在原代肝细胞中 mRNA 表达的检测 Ad-ChREBP- $\alpha$  或 Ad-LacZ 感染小鼠原代肝细胞 48 h 后,用 TRIzol 提取总 RNA,按照 TRIzol(Invitrogen 公司)试剂盒说明书进行操作。实时荧光定量 PCR 分两步反应进行。第一步: cDNA 的合成。以 oligo(dT)为引物,1  $\mu$ g RNA 为模板,按照 Rever Tra Ace 反转录试剂盒(ToYoBo 公司)说明书合成 cDNA。第二步: Real-time PCR 反应。设计 ChREBP- $\alpha$  及其靶基因 LPK 引物,用 SYBR green 在荧光定量 PCR 仪(Eppendorf 公司)

扩增,由荧光曲线上读出 Ct 值。以 36B4 为内参照,用  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  法计算 *ChREBP- $\alpha$*  及 *LPK* 的 mRNA 表达水平。

1.6 核素<sup>14</sup>C 示踪法检测原代肝细胞感染 pAd-*ChREBP- $\alpha$*  后脂质合成能力变化 分离小鼠原代肝细胞,以  $6 \times 10^5$  接种于 6 孔板中,细胞贴壁后分别加入腺病毒 Ad-*ChREBP- $\alpha$*  或 Ad-*LacZ*。24 h 后,加入  $1.85 \times 10^4$  Bq [<sup>14</sup>C] 标记的醋酸盐,培养 17 h,用  $1 \times$  PBS 洗细胞 2 次,加入 2.5 mL 裂解液(5 g 氢氧化钾+50 mL 甲醇+20 mL 双蒸馏水),收集细胞裂解液到离心管内,90℃ 加热 3 h,加入 4 mL 石油醚,静置 3 min 使之分层;转移上层 3 mL 液体到另外的离心管内,直接风干,风干后加入 2.5 mL 闪烁液,核素检测仪检测核素<sup>14</sup>C 的含量<sup>[5]</sup>。

## 2 结果

2.1 重组腺病毒载体的构建及鉴定 利用 *Bgl* II / *Hind* III 双酶切体系从质粒 pCMVS4-*Flag- $\alpha$*  获得 *Flag- $\alpha$*  基因,片段大小为 2.4 kb 左右(图 1);将其克隆入 pShuttle-CMV 穿梭载体,经酶切鉴定,得到约为 9 kb 和 1.5 kb 的片段,经 DNA 测序证实其序列正确。穿梭质粒 pShuttle-*ChREBP- $\alpha$*  经 *Pme* I 酶切、线性化后,转化到含有腺病毒骨架质粒 pAdEasy 的感受态细菌 BJ5183 中,进行同源重组,挑取阳性克隆、提取质粒 DNA,经 *Pac* I 酶切鉴定重组质粒 pAd-*ChREBP- $\alpha$* ,电泳结果显示为 30 kb 左右的大片段和 4.5 kb 左右的小片段(图 2)。

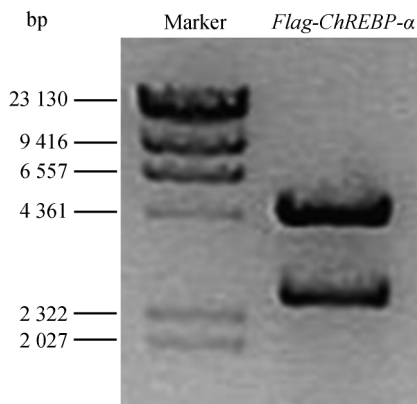


图 1 质粒 pCMVS4-*Flag- $\alpha$*  的酶切鉴定

Fig 1 Identification of plasmid pCMVS4-*Flag- $\alpha$*

2.2 重组腺病毒的包装及滴度测定 用 Effectene

转染试剂盒将线性化后的 pAd-*ChREBP- $\alpha$*  转染到培养好的 293A 细胞,转染后 14 d,细胞完全出现细胞病变反应,收集细胞,反复冻融法释放出病毒。再次感染 293A 细胞,收集细胞,反复冻融法释放出病毒,检测病毒滴度,第 2 次感染收集的病毒滴度可达到  $1 \times 10^9$  PFU。

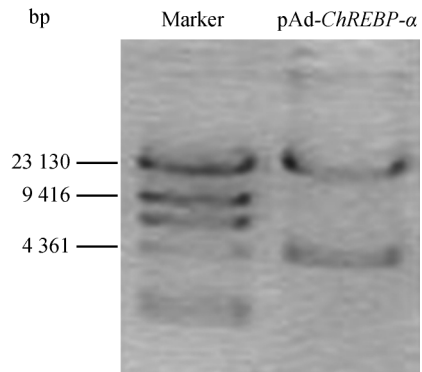


图 2 重组腺病毒质粒 pAd-*ChREBP- $\alpha$*  的 *Pac* I 酶切鉴定

Fig 2 Identification of plasmid pAd-*ChREBP- $\alpha$*  digested by *Pac* I

2.3 重组腺病毒 Ad-*ChREBP- $\alpha$*  在小鼠原代肝细胞中的表达 蛋白质印迹结果显示,小鼠原代肝细胞感染 Ad-*ChREBP- $\alpha$*  腺病毒 48 h 后,与对照组相比,*ChREBP- $\alpha$*  的 mRNA 和蛋白表达水平均升高(图 3),表明 Ad-*ChREBP- $\alpha$*  在小鼠原代肝细胞中过表达成功。

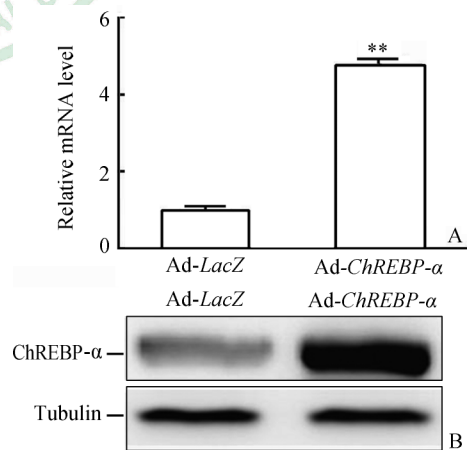


图 3 重组腺病毒 pAd-*ChREBP- $\alpha$*  在小鼠原代肝细胞中的表达

Fig 3 Expression of pAd-*ChREBP- $\alpha$*  in primary hepatocytes A: Quantitative RT-PCR analysis for *ChREBP- $\alpha$*  mRNA expression; B: Western blotting analysis for *ChREBP- $\alpha$*  protein expression. \*\*  $P < 0.01$  vs Ad-*LacZ* group.  $n = 6, \bar{x} \pm s$

2.4 重组腺病毒 Ad-*ChREBP- $\alpha$*  对小鼠原代肝细

胞生物学功能的影响 小鼠原代肝细胞感染 Ad-*ChREBP- $\alpha$*  后, ChREBP- $\alpha$  的直接靶基因 *LPK* 的 mRNA 表达水平升高 ( $P < 0.01$ , 图 4A), 说明 ChREBP- $\alpha$  在小鼠原代肝细胞中过表达成功并发挥了生物学作用。通过  $^{14}\text{C}$  核素示踪法检测肝细胞的脂质合成水平, 结果显示, 与感染对照腺病毒 Ad-*LacZ* 组相比, 经腺病毒 Ad-*ChREBP- $\alpha$*  感染的小鼠原代肝细胞的脂质合成速率升高 ( $P < 0.01$ , 图 4B)。

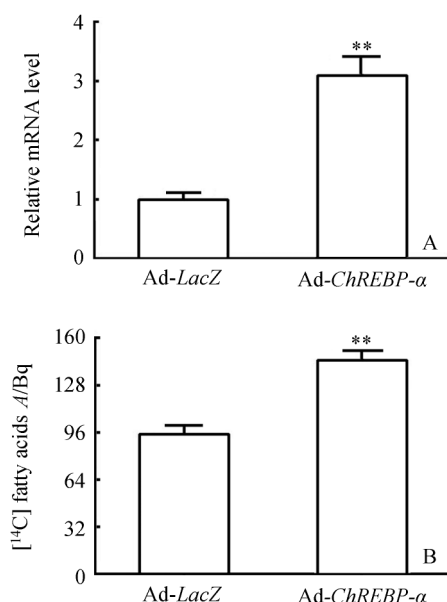


图4 ChREBP- $\alpha$  重组腺病毒增强小鼠原代肝细胞的 *LPK* mRNA 表达以及脂质合成能力

Fig 4 Increased *LPK* mRNA expression and fatty acid synthesis in primary hepatocytes after adenovirus-mediated ChREBP overexpression

A: Quantitative RT-PCR analysis for *LPK* mRNA expression; B: Fatty acid synthesis rate. \*\*  $P < 0.01$  vs Ad-*LacZ* group.  $n = 6, \bar{x} \pm s$

### 3 讨论

*ChREBP* 基因定位于染色体 7q11.23, 基因组 DNA 长度为 33 kb, 含有 17 个外显子及 16 个内含子, 属于碱性螺旋-环-螺旋-亮氨酸拉链转录因子家族<sup>[6]</sup>。最初人们研究发现遗传性 Williams-Beuren 综合征缺失 *ChREBP* 基因, 认为该基因与 Williams-Beuren 综合征的发生有关<sup>[6]</sup>。随后研究发现, ChREBP 与 Mlx 结合后以二聚体的形式在体内发挥着重要的作用<sup>[7]</sup>, 与肿瘤、肥胖、脂肪肝等疾病的发生都有密切的联系。

ChREBP 是调节肝脏内葡萄糖糖应答基因的重要

转录因子, 在葡萄糖作用下肝细胞表达上调的基因中, 大部分受 ChREBP 的调控<sup>[3]</sup>, 这些基因参与肝脏内葡萄糖转化生成三酰甘油的整个过程, 其靶基因主要有控制糖酵解过程的 *LPK* 基因及参与脂质合成过程的乙酰辅酶 A 羧化酶基因 (*ACC*)、脂肪酸合成酶基因 (*FAS*) 等。*ChREBP* 基因敲除小鼠肝脏脂质合成速率降低<sup>[8]</sup>。ChREBP 参与非酒精性脂肪肝及胰岛素抵抗的发生, 脂肪肝模型小鼠 ob/ob 小鼠肝脏 ChREBP- $\alpha$  的表达升高, 在 ob/ob 小鼠肝脏组织特异性敲除 *ChREBP* 后能改善 ob/ob 小鼠脂肪肝以及胰岛素抵抗的发生<sup>[9]</sup>。

ChREBP 的发现以及对其功能的研究使人们对肝脏糖脂代谢的调节过程更加清楚, 对脂肪肝、糖尿病等疾病的发病机制有了更深入的了解, 但是 ChREBP 对肝脏糖脂代谢的调控机制还有待更进一步的研究, Catherine Postic 实验室构建了 Ser196 及 Thr666 位点突变的 *ChREBP* 腺病毒, 并报道了小鼠过表达该腺病毒后肝脏糖脂代谢的改变<sup>[10]</sup>。而我们实验室构建了小鼠 *ChREBP- $\alpha$*  全长序列腺病毒, 为进一步研究 ChREBP- $\alpha$  的功能提供了有效、快捷的工具。目前慢病毒、反转录病毒载体转染效率都较低, 而腺病毒载体具有较高的转染效率, 既能感染增殖期细胞又能感染静止期细胞<sup>[11]</sup>。反转录病毒可随机整合到宿主染色体, 导致基因失活或激活癌基因。而腺病毒几乎在所有已知细胞中都不整合到染色体中。本研究采用 AdEasy<sup>TM</sup> 系统成功构建了复制缺陷型的腺病毒 Ad-*ChREBP- $\alpha$* , 其骨架质粒 pAdEasy-1 是 E1 和 E3 区双缺失的载体, 可以在表达 E1 的包装细胞系 293A 细胞中扩增。通过在 293A 细胞中包装、扩增, 我们得到病毒滴度较高并且在小鼠原代肝细胞中能高效表达的腺病毒 Ad-*ChREBP- $\alpha$* , 为进一步深入研究 ChREBP- $\alpha$  的功能提供了有力的工具。

### 4 利益冲突

所有作者声明本文不涉及任何利益冲突。

### [参考文献]

- [1] Yamashita H, Takenoshita M, Sakurai M, Bruick R K, Henzel W J, Shillinglaw W, et al. A glucose-responsive transcription factor that regulates carbohydrate metabolism in the liver[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2001, 98:9116-9121.

- [2] Herman M A, Peroni O D, Villoria J, Schön M R, Abumrad N A, Blüher M, et al. A novel ChREBP isoform in adipose tissue regulates systemic glucose metabolism[J]. *Nature*, 2012, 484: 333-338.
- [3] Ma L, Robinson L N, Towle H C. ChREBP \* Mlx is the principal mediator of glucose-induced gene expression in the liver[J]. *J Biol Chem*, 2006, 281: 28721-28730.
- [4] Denechaud P D, Dentin R, Girard J, Postic C. Role of ChREBP in hepatic steatosis and insulin resistance[J]. *FEBS Lett*, 2008, 582: 68-73.
- [5] Jiang G, Li Z, Liu F, Ellsworth K, Dallas-Yang Q, Wu M, et al. Prevention of obesity in mice by antisense oligonucleotide inhibitors of stearyl-CoA desaturase-1 [J]. *J Clin Invest*, 2005, 115: 1030-1038.
- [6] de Luis O, Valero M C, Jurado L A. WBSR14, a putative transcription factor gene deleted in Williams-Beuren syndrome; complete characterisation of the human gene and the mouse ortholog[J]. *Eur J Hum Genet*, 2000, 8: 215-222.
- [7] Cairo S, Merla G, Urbinati F, Ballabio A, Reymond A. WBSR14, a gene mapping to the Williams-Beuren syndrome deleted region, is a new member of the Mlx transcription factor network[J]. *Hum Mol Genet*, 2001, 10: 617-627.
- [8] Iizuka K, Bruick R K, Liang G, Horton J D, Uyeda K. Deficiency of carbohydrate response element-binding protein (ChREBP) reduces lipogenesis as well as glycolysis[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2004, 101: 7281-7286.
- [9] Dentin R, Benhamed F, Hainault I, Fauveau V, Fougelle F, Dyck J R, et al. Liver-specific inhibition of ChREBP improves hepatic steatosis and insulin resistance in ob/ob mice[J]. *Diabetes*, 2006, 55: 2159-2170.
- [10] Benhamed F, Denechaud P D, Lemoine M, Robichon C, Moldes M, Bertrand-Michel J, et al. The lipogenic transcription factor ChREBP dissociates hepatic steatosis from insulin resistance in mice and humans[J]. *J Clin Invest*, 2012, 122: 2176-2194.
- [11] He T C, Zhou S, da Costa L T, Yu J, Kinzler K W, Vogelstein B. A simplified system for generating recombinant adenoviruses[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1998, 95: 2509-2514.

[本文编辑] 尹 茶

## 《军医大学学报(英文版)》征稿、征订启事

《军医大学学报(英文版)》(*Journal of Medical Colleges of PLA*)是由第二、三、四军医大学及南方医科大学(原第一军医大学)共同主办、国内外公开发行人(CN 31-1002/R, ISSN 1000-1948)的高级医药学综合性英文学术刊物,1986年6月创刊。本刊主要报道基础、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、新理论、新技术和新方法。辟有专家论坛、基础研究、临床研究、经验交流、短篇报道、个案报告等栏目。

本刊为中国英文版科技论文统计源期刊,并被纳入中国期刊网、万方数据库和中文科技期刊数据库等国内所有重要检索系统,已被美国《化学文摘》(CA)、俄罗斯《文摘杂志》(VINITI Abstract Journal)、波兰《哥白尼索引》(IC)和荷兰《斯高帕斯》(Scopus)等国际知名检索系统收录,期刊全文已进入爱思唯尔(Elsevier)科技出版集团所属的 ScienceDirect 全文数据库(<http://www.elsevier.com/locate/jmcpla>)。

为了弘扬科研创新精神,推动医学事业发展,促进海内外学术交流,本刊面向全国和海外作者征稿。

来稿要求:来稿请附中文的文题、作者姓名、单位名称及较详细的中文摘要和3~8个关键词,参考文献放在文末。来稿务必写清个人通讯地址及联系电话,编辑部在接到稿件30日内通知作者稿件是否被采用。

刊发周期:由全国相关学科领域的知名专家和权威人士进行审稿,对审稿通过的论文2~6个月内安排刊出。国家、省部级基金资助和重点攻关项目稿件优先发表。

本刊为双月刊,A4开本,80g铜版纸彩色印刷,每期定价15元,全年90元。可在当地邮局订阅(邮发代号4-725),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《军医大学学报(英文版)》编辑部,邮编:200433

联系人:徐佳 电话:021-81870788 转 818 分机

E-mail: jydxxb@yahoo.com.cn