

DOI:10.3724/SP.J.1008.2008.01141

体外诱导人胚胎干细胞定向分化为神经干细胞

王晶^{1,2}, 尚丽新¹, 李亚里^{2*}, 彭红梅², 闫志凤², 徐黎明¹, 吴楠¹, 王树鹤¹

1. 北京军区总医院妇产科, 北京 100700

2. 中国人民解放军总医院妇产科, 北京 100853

[摘要] 目的:探讨体外定向诱导人胚胎干细胞(human embryonic stem cells, hESCs)生成高纯度神经干细胞(neural stem cells, NSCs)的方法。方法:模拟体内神经细胞分化发育的不同阶段及微环境,分三阶段诱导 hESCs 定向生成 NSCs。形态学观察结合免疫荧光细胞化学、流式细胞术和 RT-PCR 检测胚胎干细胞标志和神经干细胞标志;NSCs 分化实验对所诱导的 NSCs 的分化潜能进行检测。结果:体外培养的 hESCs 在胚胎成纤维细胞饲养层上连续传代培养 50 代,仍保持 SSEA-4, TRA-1-81 阳性,表达 Nanog 基因,流式细胞术检测 SSEA-4 阳性表达率为 83.44%;经三步法最终可诱导形成纯度高达 90% 以上的 nestin 阳性细胞,表达 nestin 基因,流式细胞术检测 nestin 阳性表达率为 89.38%;诱导生成的细胞反复传代,仍表现为 nestin 阳性,并可进一步分化为神经元、星形神经胶质细胞和少突胶质细胞。结论:模拟体内神经分化过程的三步诱导法,可诱导 hESCs 生成较高纯度的 NSCs,并能较好维持其干细胞特性和具有进一步分化的能力。

[关键词] 人胚胎干细胞;神经干细胞;细胞分化

[中图分类号] R 321.58 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 0258-879X(2008)10-1141-06

Study on differentiation of human embryonic stem cells into neural stem cells

WANG Jing^{1,2}, SHANG Li-xin¹, LI Ya-li^{2*}, PENG Hong-mei², YAN Zhi-feng², XU Li-ming¹, WU Nan¹, WANG Shu-he¹

1. Department of Gynecology and Obstetrics, General Hospital, PLA Beijing Military Area Command, Beijing 100700, China

2. Department of Gynecology and Obstetrics, General Hospital of PLA, Beijing 100853

[ABSTRACT] **Objective:** To search for a method to induce human embryonic stem cells (hESCs) differentiating into neural stem cells (NSCs) *in vitro*. **Methods:** hESCs were induced to differentiate into NSCs by three-step differentiation under a condition simulating the microenvironment and different development stages of neural cells *in vivo*. The surface markers of hESCs and NSCs were detected by morphological observation, immunocytochemistry assay, flow cytometry and RT-PCR. The plasticity of NSCs was evaluated by differentiating test. **Results:** The hESCs retained expression of SSEA-4, TRA-1-81 proteins and Nanog genes after cultured for 50 passages. Flow cytometry revealed the positive rate of SSEA-4 was 83.44%. After induced by the three-step differentiation the purity of nestin-positive cells was higher than 90%. Flow cytometry revealed that the positive rate of nestin was 89.38%. The differentiated cells retained the characteristics of NSCs after repeated passaging and could be further induced into neurons, astrocytes and oligodendrocytes. **Conclusion:** The present three-step differentiation method can induce hESCs into high purity NSCs, while retaining the plasticity of stem cells.

[KEY WORDS] human embryonic stem cells; neural stem cells; cell differentiation

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2008, 29(10):1141-1146]

人胚胎干细胞(human embryonic stem cells, hESCs)是从早期的胚胎内细胞团(inner cell mass, ICM)分离培养的一种全能性细胞系,具有自我更新及多向分化能力^[1-2],并可在体外进行遗传操作和选择^[3],因此具有广阔的应用前景。hESCs 细胞的体外分化为研究胚胎早期发育的细胞和分子机制提供

了良好的模型,也可为未来临床上的移植治疗提供供体细胞来源。

神经干细胞(neural stem cells, NSCs)具有自我复制和分化为各种类型神经细胞的潜能,植入受者体内可与受者脑组织很好地整合,因此作为神经系统损伤及退行性疾病替代治疗的良好材料,一直备

[收稿日期] 2008-01-24 **[接受日期]** 2008-07-16

[基金项目] 军队医药卫生科研基金(06G101). Supported by Medical Science Research Foundation of the PLA(06G101).

[作者简介] 王晶,博士,主治医师。

* 通讯作者(Corresponding author). Tel:010-66721222, E-mail:j2728@tom.com

受关注^[4-5]。既往 NSCs 多来源于胚胎脑组织,来源有限。hESC 的出现为 NSCs 提供了新的来源。尽管目前已有体外诱导 hESCs 定向生成神经细胞的方法,但是这些失去了分化潜能的终末细胞在受者体内并不能与受者脑组织很好地整合,不能真正实现神经再生与功能修复。因此能否将 hESCs 较高产率和纯度地定向诱导分化为 NSCs,并维持多向分化潜能是其在神经系统替代治疗中得以应用的关键^[6]。本研究模拟体内神经细胞分化发育的不同阶段及微环境,分三步法诱导 hESCs 较高纯度地定向生成 NSCs,为解决 NSCs 的来源问题奠定基础,并为研究胚胎神经发育机制提供体外分化模型。

1 材料和方法

1.1 试剂

1.1.1 无血清胚胎干细胞培养液 Knockout™ DMEM 培养基(Gibco)、20%血清替代品(Gibco)、1%非必需氨基酸(Gibco)、0.1 mmol/L 巯基乙醇(Gibco)、2 mmol/L 谷氨酰胺(Gibco)、4 ng/ml 碱性成纤维细胞生长因子(bFGF)、50 IU/ml 青霉素、50 IU/ml 链霉素。

1.1.2 拟胚体培养液 DMEM/F12(1:1)培养基(Gibco)、20%血清替代品(Gibco)、1%非必需氨基酸(Gibco)、0.1 mmol/L 巯基乙醇(Gibco)、2 mmol/L 谷氨酰胺(Gibco)、50 IU/ml 青霉素、50 IU/ml 链霉素。

1.1.3 N2 培养液 DMEM/F12(1:1)培养基(Gibco,112500-062)、胰岛素(Sigma,I5500)25 μg/ml、转铁蛋白(Sigma,T1147)100 μg/ml、孕酮(Sigma)6 ng/ml、腐胺(Sigma,P7630)16 μg/ml、亚硒酸钠(Sigma,S5261)30 nmol/L、肝素钠 2 μg/ml。

1.1.4 生长因子 bFGF 20 ng/ml,GDNF 10 ng/ml,BDNF 10 ng/ml,均购自 Peprotech。

1.1.5 抗体 鼠抗 SSEA4、鼠抗 TRA-1-81、兔抗 nestin、兔抗 GFAP、兔抗 O4、鼠抗 NSE 均购自博士德生物工程有限公司;TRITC 标记山羊抗小鼠 IgG,FITC 标记山羊抗小鼠 IgG,FITC 标记山羊抗兔 IgG 均购自北京中山生物技术有限公司。

1.2 方法

1.2.1 鼠胚胎成纤维细胞(MEF)饲养层的制备 无菌取出妊娠 13.5 d 的 ICR 小鼠胚胎,去除头和内脏,残余部分用 PBS 冲洗干净。0.25%胰酶、0.02% EDTA 4℃ 消化过夜,次日加入等体积的 MEF 培养液终止,稍用力震荡,制成细胞悬液,以 1×10^5 /ml 的密度接种到含 MEF 培养液的 10 cm 培

养皿中。37℃、6% CO₂ 饱和湿度培养,48 h 换液,4~5 d 后待细胞铺满皿底时,25 Gy γ 放射源照射,使 MEF 失去有丝分裂活性。照射后立即冻存,于 hESCs 传代前日复苏,放入预先用 0.1% 明胶处理过的 10 cm 培养皿中,置于培养箱中备用。

1.2.2 人胚胎干细胞的培养 将 hESCs 系 PKU (北京大学医学部第三医院生殖中心提供)接种在 MEF 饲养层上,于 37℃、6% CO₂ 条件下培养。每日更换培养液,约 6~7 d 用 0.1% 胶原酶 IV 消化传代。

1.2.3 三步法诱导 hESCs 定向生成 NSCs (1)拟胚体(EB)的诱导:采用悬浮培养法。将汇合的 hESCs (约 $10^6 \sim 10^7$ 个细胞)用胶原酶消化、离心,沉淀用拟胚体培养液悬浮,细胞悬液移入 10 cm 细菌培养皿中,37℃、6% CO₂ 条件下培养。每 2 d 更换 1 次培养液。(2)Nestin 阳性细胞的选择:在无血清培养液中培养 7 d 的拟胚体接种到明胶包被的组织培养皿,加入 N2 培养液和 20 ng/ml bFGF,每 2 d 更换培养液。1~2 d 后拟胚体贴壁、展开,倒置镜下可见小而发亮的细胞呈灶状生长。2 周后,机械法将此种细胞取下,接种至新的组织培养皿中,培养液相同。第 2 日可见大量实性小细胞团(神经球)呈悬浮状,继续培养 1 周。(3)NSCs 的纯化与扩增:将所获得的神经球用 0.25% 胰酶消化 3 min 后,吹打成单细胞悬液,接种到新的组织培养皿中,培养液为 N2 培养液和 20 ng/ml bFGF,每 2 d 换液,4~5 d 传代。

1.2.4 hESCs 和 NSCs 的鉴定 (1)免疫荧光细胞化学法检测 SSEA-4、TRA-1-81、nestin 的表达:将第 50 代的 hESCs 及纯化 NSCs 固定于多聚赖氨酸包被的盖玻片上,正常羊血清封闭,分别加入 SSEA-4、TRA-1-81 及 nestin 一抗,37℃ 孵育 1 h,TRITC、FITC 标记二抗 37℃ 孵育 30 min,荧光显微镜观察。(2)流式细胞术检测 hESCs 中 SSEA-4、NSCs 中 nestin 阳性细胞比例:胰蛋白酶消化反复传代的细胞,PBS 冲洗,4% 多聚甲醛固定,Triton X-100 透化,分别加入 SSEA-4 一抗和 nestin 一抗 37℃ 1 h,FITC 标记二抗 37℃ 30 min,流式细胞仪检测。(3)RT-PCR 检测 Nanog 和 nestin 的表达:取未分化的 hESCs、纯化的神经干细胞,PBS 洗 2 次后用 TRIzol 提取细胞总 RNA。然后用随机引物逆转录合成 cDNA 后进行 PCR 检测,PCR 反应条件为 94℃ 变性 1 min,55℃ 退火 30 s,72℃ 延伸 1 min,扩增 35 个循环。用 β-actin 做内参照。各引物序列如下,Nanog 上游引物 5'-CAA AGG CAA ACA ACC CAC TT-3',下游引物 5'-TCT GCT GGA GGC TGA GGT AT-3'; nestin 上游引物 5'-CAG CTG

GCG CAC CTC AAG ATG-3', 下游引物 5'-AGG GAA GTT GGG CTT AGG ACT GG-3'; β -actin 上游引物 5'-GAT CCA CAT CTG CTG GAA GG-3', 下游引物 5'-AAG TGT GAC GTT GAC ATC CG-3'。(4) NSCs 分化实验: ① NSCs 分化为神经元。将反复传代的 NSCs 接种于多聚赖氨酸包被的 6 孔培养板中, 撤除生长因子, 加入 N2 培养液和 10 ng/ml BDNF、10 ng/ml GDNF, 培养 10 d。② NSCs 分化为胶质细胞。将 NSCs 接种于多聚赖氨酸包被的 6 孔培养板中, 加入 N2 培养液和 10 ng/ml PDGF, 培养 10 d。免疫荧光细胞化学法检测星形胶质细胞特异性标志 GFAP、少突细胞特异性标志 O4 和神经元特异性标志 NSE 的表达, 镜下 ($\times 100$) 随机统计 10 个视野下阳性细胞比例。流式细胞术检测分化细胞中 GFAP、O4、NSE 阳性细胞比例。

2 结 果

2.1 hESCs 的生长情况 细胞呈典型集落状生长, 集落形态呈扁平状。集落内细胞界限清楚、核大、核

仁清晰, 细胞核/细胞质比例高。集落周边与 MEF 饲养层界限清楚, 无分化迹象。一般 6~7 d 后饲养层上即可布满大量的集落, 此时需传代培养。传代后第 2 日即可见许多小集落, 集落逐渐增大, 中央逐渐隆起。hESCs 稳定增殖了 12 个月, 传代 50 代。

2.2 诱导 hESCs 定向生成 NSCs 的形态特征

2.2.1 拟胚体的诱导 接种在细菌皿中的胚胎干细胞不贴壁、聚集成小团呈悬浮生长 (图 1A), 约 1 周左右囊性变, 称为成熟拟胚体 (图 1B)。

2.2.2 神经干细胞的筛选 拟胚体接种后 1~2 d 贴壁、展开, 中心出现有 2~3 个突起的小细胞, 培养中呈灶性增生 (图 1C)。2 周后机械方法取下上述灶状增生的小细胞, 接种, 第 2 日出现大量悬浮的神经球。神经球由有 2~3 个或长或短突起的小细胞组成, 贴壁下细胞增殖旺盛 (图 1D)。

2.2.3 神经干细胞的纯化与扩增 培养 7 d 后将悬浮的神经球打散成单细胞, 细胞贴壁生长 (图 1E), 密度高时, 呈现拉网生长特性 (图 1F)。本实验得到大量纯净的、增殖旺盛的神经干细胞。

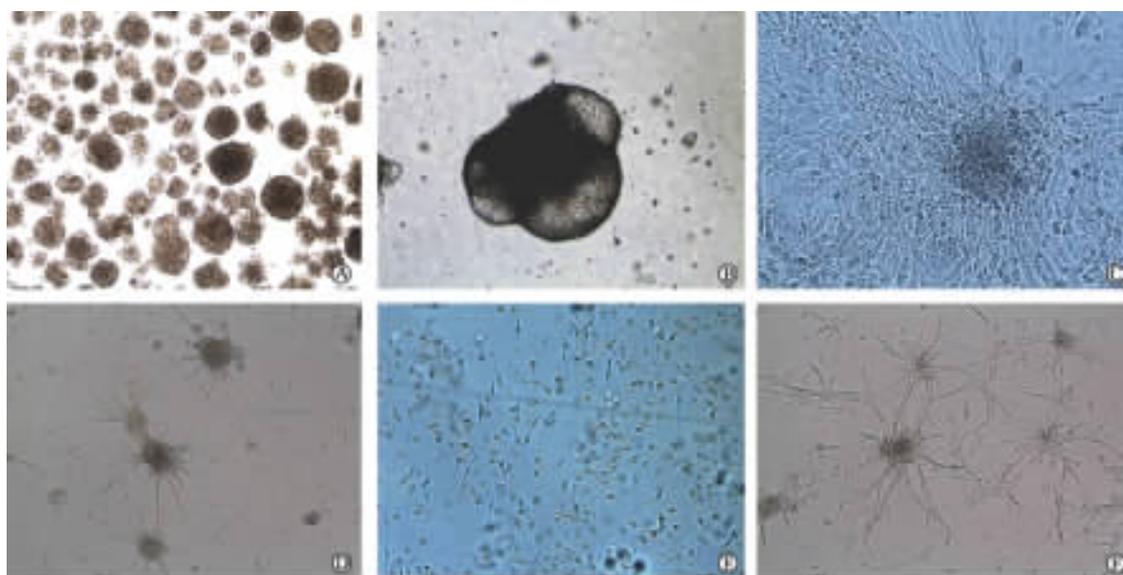


图 1 诱导 hESCs 定向生成 NSCs 的形态特征

Fig 1 Morphology of NSCs induced from hESCs

A: EB of 3rd day; B: EB of 7th day; C: An attached EB shows small elongated at cells concentrated the center after 2 d; D: Attached neurospheres; E: Isolated NSCs; F: NSCs cultured in a network of process pattern. Original magnification: $\times 40$

2.3 hESCs 的全能性鉴定 免疫荧光细胞化学法检测第 50 代的 hESCs 特异性表面抗原 SSEA-4、TRA-1-81 表达阳性 (图 2)。流式细胞术检测 SSEA-4 阳性表达率为 83.44%。RT-PCR 检测到 hESCs 特异基因 Nanog 的表达 (图 3)。hESCs 染色体核型为正常的 46XX 核型。

2.4 神经干细胞的鉴定 RT-PCR 检测到神经干细胞标志基因 nestin 的表达 (图 4)。免疫荧光法检测显示 nestin 表达强阳性, 表达率为 $(90.02 \pm 3.57)\%$ (图 5)。反复传代后仍表达 nestin。流式细胞术检测 89.38% 的细胞 nestin 表达阳性。

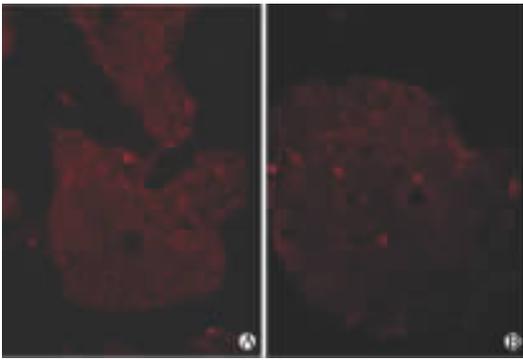


图2 hESCs 细胞免疫荧光鉴定

Fig 2 Cell surface marker expression in hESCs

A: SSEA-4 positive hESCs (passage 50); B: TRA-1-81 positive hESCs (passage 50). Original magnification: ×40

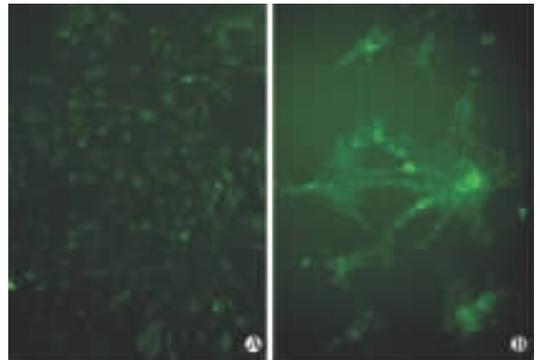


图5 免疫荧光细胞化学法检测神经干细胞 nestin 的表达

Fig 5 Expression of nestin in NSCs as detected by immunofluorescent method

A: Isolated NSCs are positively stained for nestin; B: NSCs cultured in a network of process pattern expressing nestin. Original magnification: ×100

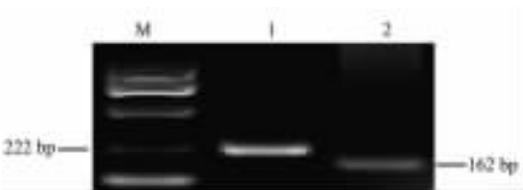


图3 RT-PCR 检测 hESCs 特异基因 Nanog 的表达

Fig 3 Expression of Nanog gene in hESCs

M: Marker; 1: β-actin; 2: Nanog

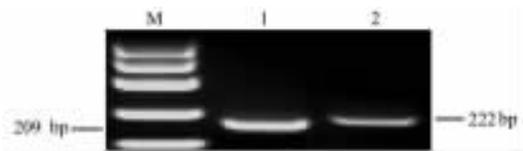


图4 RT-PCR 检测神经干细胞特异基因的表达

Fig 4 Expression of nestin gene on NSCs

M: Marker; 1: Nestin; 2: β-actin

2.5 神经干细胞分化实验结果 Nestin 阳性细胞在分化培养基中逐渐向周围长出较长的突起, 分化为简单双极或大的多极细胞, 极少数为锥形, 胞体能伸展很长的突触, 第10日可见大量神经元样、胶质细胞样细胞形成。经10 d 分化培养后, 进行免疫荧光检测, 镜下随机统计10个视野下阳性细胞比例, nestin 阳性细胞基本消失, GFAP 阳性的星形胶质细胞(32.14±3.18)%(图6A), NSE 阳性的神经元为(20.57±2.66)%(图6B), O4 阳性少突胶质细胞较少, 为(0.29±0.13)%(图6C)。流式细胞术检测 GFAP 阳性细胞表达率为33.25%(图7A), NSE 阳性细胞表达率为18.10%(图7B), O4 阳性细胞表达率为0.47%(图7C)。

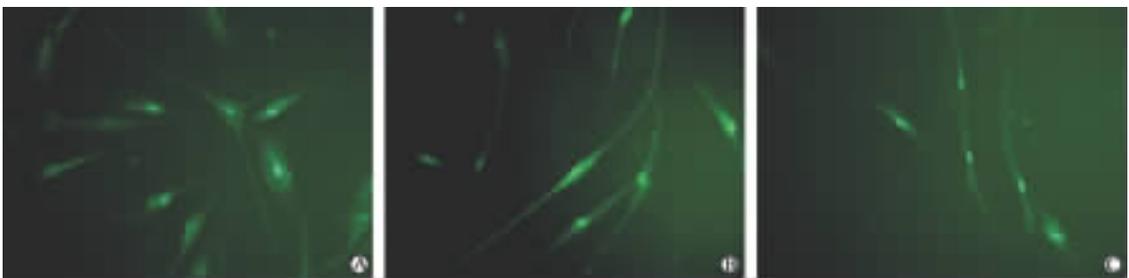


图6 神经干细胞分化实验

Fig 6 Differentiation of NSCs

A: Differentiation of NSCs for 10 days shows that the majority of cells are GFAP⁺ astrocytes; B: NSE⁺ neurons are detected after 10 days' differentiation; C: O4⁺ oligodendrocytes are observed after 10 days' differentiation. Original magnification: ×100

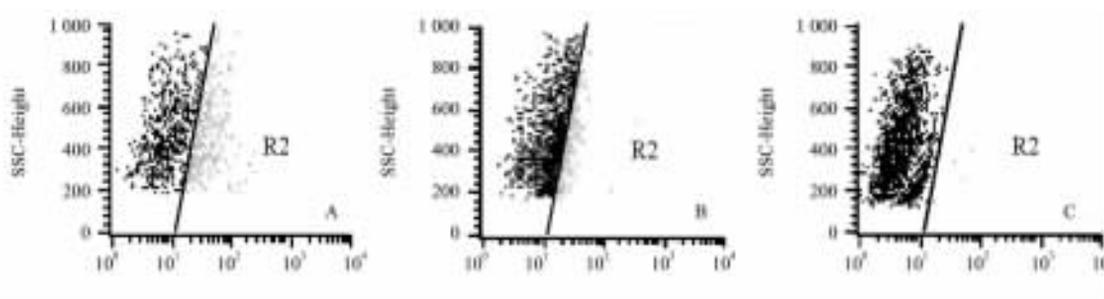


图 7 流式细胞术检测神经干细胞分化后各 Marker 的阳性表达率

Fig 7 Expression rates of NSC markers after differentiation as detected by FCM

A: GFAP⁺ astrocytes account for 33.25% after 10 days' differentiation; B: NSE⁺ neurons account for 18.10% after 10 days' differentiation; C: O4⁺ oligodendrocytes account for 0.47% after 10 days' differentiation

3 讨论

3.1 人胚胎干细胞的培养及鉴定 人胚胎干细胞培养的关键是维持其未分化状态, MEF 能分泌促进 hESCs 增生和抑制其自主分化的因子, 因此可作为培养 hESCs 的饲养层。制作饲养层的关键步骤是对 MEF 细胞进行预处理, 使其在保持分泌功能的基础上失去增殖能力, 以免与 hESCs 生长发生竞争。目前常使用的是丝裂霉素 C 处理法^[7], 但其作用的时间和剂量较难调控。处理不足无法有效抑制增殖; 处理过量则造成 MEF 细胞的死亡, 不但丧失分泌功能, 而且释放的 DNA 碎片和溶酶体酶干扰 hESCs 的生长及正常核型的维持。本实验在 MEF 原代培养时用 25 Gy γ 射线照射后冻存, 使用前复苏, 结果显示可有效抑制 hESCs 分化, 使其稳定增殖了 12 个月, 传代 50 代, 仍表达 SSEA-4、TRA-1-81, 保持 46XX 的正常核型, 为 hESCs 的培养提供了有效的体外培养体系。

3.2 人胚胎干细胞可诱导分化为神经干细胞 近年发现, 体外定向诱导 hESCs 可生成 NSCs, 且这种 hESCs 来源的 NSCs 较其他来源的 NSCs 具有更大的增殖和发育潜能, 但多数方案诱导过程烦琐, hESCs 生成 NSCs 产率和纯度不高, 且采用的诱导分化试剂价格昂贵, 因此建立高效和廉价的诱导方案, 一直是该技术得以在临床应用的关键^[8-9]。

本研究以人胚胎干细胞 PKU 系为模型, 发现 hESCs 经三步法可诱导形成 nestin 阳性细胞。诱导分化的 hESCs 首先要形成拟胚体, 本实验将 hESCs 悬浮培养于细菌培养皿中, 较悬滴培养法可获得更多的拟胚体, 进一步诱导可产生大量的细胞用于移植, 故该法更具应用价值。

hESCs 细胞经拟胚体阶段后可分化为内、中、外 3 个胚层, 而神经细胞起源于外胚层, 如何有效抑制内胚层和中胚层的发育和诱导外胚层向神经细胞分化是获得高纯度 NSCs 的关键。Ying 等^[10]发现, 当 ESCs 在明胶包被的培养板上生长而撤去白血病抑制因子(LIF) 时, 细胞分化被启动, 但分化细胞在有血清存在时并不表达神经外胚层特异的基因——Sox1 基因, 而在无血清时出现该基因的表达, 推测血清中含有的一些细胞因子促使 ESCs 向非神经细胞如向内皮、造血细胞分化, 而无血清存在时, 相关的信号途径不再被激活, 基因表达下调或关闭。另外, 研究^[11-12]表明胚胎在神经分化时, 需要 bFGF 的信号, bFGF 是广谱的神经营养因子, 是促进 NSCs 增殖的有丝分裂原。本实验采用无血清的 N2 培养基加 bFGF 因子筛选 nestin 阳性细胞, 在拟胚体接种 2 周后机械法取下中心灶性增生的小细胞, 第 2 日可获得大量悬浮的神经球。7 d 后将神经球打散成单细胞贴壁, 结果得到了 90% 以上纯净的 nestin 阳性细胞。这些 nestin 阳性细胞 4~5 d 即需传代, 反复传代后, 仍表达 nestin 蛋白及基因, 且在不同的分化培养基中可分化为 GFAP 阳性的星形胶质细胞、NSE 阳性的神经元、O4 阳性的少突胶质细胞, 说明这种 nestin 阳性细胞能进行自我更新、并能分化为神经系统的三类神经细胞, 因此是典型的神经干细胞。

本实验成功地建立了高效和廉价的诱导 hESCs 生成 NSCs 的方法, 为解决 NSCs 的来源困难问题奠定了实验基础, 并为研究胚胎神经发育机制提供了体外分化模型。利用 hESCs 多向分化的潜能, 联合治疗性克隆, 将使建立具有低免疫原性及组织特异性的永生化 NSC 系成为可能。体内神经谱系的

分化过程是一个多因素影响、多因子参与的复杂过程,探明神经谱系分化的分子机制,找到神经谱系分化过程中起作用的关键因素和因子仍然是有待解决的问题。

[参考文献]

- [1] Zeng X M, Cai J L, Chen J C, You Z B, Fotter E, Wang Y, et al. Dopaminergic differentiation of human embryonic stem cells [J]. *Stem Cells*, 2004, 22: 925-940.
- [2] Mai Q, Yu Y, Li T, Wang L, Chen M J, Huang S Z, et al. Derivation of human embryonic stem cell lines from parthenogenetic blastocysts [J]. *Cell Res*, 2007, 17: 1008-1019.
- [3] Cambell K H S, Wilmot A E. Totipotency or multipotentiality of cultured cells: Application and progress [J]. *Theriogenology*, 1997, 47: 63-67.
- [4] Lim D A, Huang Y C, Alvarez-Buylla A. The adult neural stem cell niche: lessons for future neural cell replacement strategies [J]. *Neurosurg Clin N Am*, 2007, 18: 81-92.
- [5] Hsu Y C, Lee D C, Chiu I M. Neural stem cells, neural progenitors, and neurotrophic factors [J]. *Cell Transplant*, 2007, 16: 133-150.
- [6] Reubinoff B E, Irsyksen P, Turetsky T, Pera M F, Reinhartz E, Itzik A, et al. Neural progenitors from human embryonic stem cells [J]. *Nat Biotechnol*, 2001, 19: 1134-1140.
- [7] Klimanskaya I, Chung Y, Becker S, Lu S J, Lanza R. Derivation of human embryonic stem cells from single blastomeres [J]. *Nat Protoc*, 2007, 2: 1963-1972.
- [8] Sally T. The development of neural stem cells [J]. *Nature*, 2001, 414: 112-117.
- [9] Zhang S, Wernig M, Duncan I D, Brüstle O, Thomson J A. *In vitro* differentiation of transplantable neural precursors from human embryonic stem cells [J]. *Nat Biotechnol*, 2001, 19: 1129-1133.
- [10] Ying Q L, Stavridis M, Griffiths D, Li M, Smith A. Conversion of embryonic stem cells into neuroectodermal precursors in adherent monoculture [J]. *Nat Biotechnol*, 2003, 21: 183-186.
- [11] Streit A, Berliner A J, Papanayotou C, Sirulnik A, Stem C D. Initiation of neural induction by FGF signalling before gastrulation [J]. *Nature*, 2000, 406: 74-78.
- [12] Partanen J. FGF signaling pathways in development of the mid-brain and anterior hindbrain [J]. *J Neurochem*, 2007, 101: 1185-1193.

[本文编辑] 李丹阳

• 消息 •

《第二军医大学学报》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(CN31-1001/R, ISSN 0258-879X)的综合性医药卫生类学术期刊,1980年6月创刊。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、药学和中国医学等领域的新科研成果。由著名肝胆外科专家、国家最高科技奖获得者吴孟超院士任主编。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。

本刊一直被《中文核心期刊要目总览》确认为“中国综合性医药卫生类核心期刊”;是“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”;被包括万方数据——中国数字化期刊群、中国学术期刊综合评价数据库等在内的国内所有重要检索系统收录,并被荷兰《医学文摘》(EMBASE)、美国《化学文摘》(CA)、英国国际农业与生物科学中心(CABI)文摘数据库、俄罗斯《文摘杂志》(PЖ)、波兰《哥白尼索引》等国际检索系统收录。先后获得“第二届国家期刊奖百种重点期刊奖”、“第三届国家期刊奖提名奖”和“首届全国高校精品科技期刊奖”。

本刊为月刊, A4开本, 80g铜版纸彩色双胶印刷, 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

E-mail: bxue@smmu.edu.cn 或 bxue304@yahoo.com.cn

http://www.ajsmmu.cn 或 http://journals.smmu.edu.cn