

· 论著 ·

精氨酸-甘氨酸-天冬氨酸对氧化苦参碱脂质体减轻肝纤维化的增强作用研究

柴宁莉 徐世平 石卉 常青 赵擎 万军 蔡昌豪 吴本俨

【摘要】 目的 探讨精氨酸-甘氨酸-天冬氨酸(Arginine-Glycin-Aspartic acid, RGD)三肽序列对氧化苦参碱脂质体(oxymatrine liposomes, OXYL)治疗四氯化碳诱导的肝纤维化(hepatic fibrosis, HF)作用的影响。**方法** 建立四氯化碳诱导的大鼠 HF 模型,制备 RGD-OXYL 和 OXYL。动物分组为:正常对照组;肝纤维化模型组;OXYL 治疗组;RGD-OXYL 治疗组;RGD 脂质体组。检测各组大鼠血清 ALP,利用 HE 染色和 Masson 染色评价肝脏病理损伤及细胞外基质沉积情况。分离各组大鼠的肝脏组织,利用半定量 PCR 检测纤维化相关基因(TIMP-1, MMP-2)表达。**结果** 成功合成 OXYL 及 RGD-OXYL。与肝纤维化组比较,OXYL 治疗组大鼠的 ALP 水平下降(344.47 ± 27.52 vs 550.69 ± 43.78 , $P < 0.05$)、肝损伤减轻、细胞外基质沉积面积显著减少($2.36\% \pm 0.09\%$ vs $7.70\% \pm 0.60\%$, $P < 0.05$)、纤维化相关基因(TIMP-1, MMP-2)表达下调;与 OXYL 治疗组大鼠相比,RGD-OXYL 治疗组大鼠 ALP 水平(272.51 ± 19.55 vs 344.47 ± 27.52 , $P < 0.05$)和肝损伤及细胞外基质沉积面积($0.26\% \pm 0.09\%$ vs $2.36\% \pm 0.09\%$, $P < 0.05$)及纤维化相关基因(TIMP-1, MMP-2)表达等指标均有进一步改善。**结论** 氧化苦参碱脂质体可减轻四氯化碳诱导的肝纤维化,抑制纤维化相关基因表达。RGD 偶联的 OXYL 治疗效果优于 OXYL。

【关键词】 氧化苦参碱脂质体; 肝纤维化; 精氨酸-甘氨酸-天冬氨酸

【中图分类号】 R285.5 **【文献标识码】** A doi:10.3969/j.issn.1674-1749.2012.09.002

Arginine-Glycin-Aspartic acid could enhance oxymatrine liposomes therapeutic effect on hepatic fibrosis CHAI Ning-li, XU Shi-ping, SHI Hui, et al. Department of Gastroenterology, South Building of Chinese PLA General Hospital, Beijing 100853, China

Corresponding author: CHAI Ning-li, E-mail: csxlily@163.com

【Abstract】 Objective To investigate whether Arginine-Glycin-Aspartic acid (RGD) could enhance Oxymatrine liposomes (OXYL) therapeutic effect on CCl₄-induced hepatic fibrosis in rat. **Methods**

CCl₄-induced hepatic fibrosis model was constructed based on rats. Different formulations of oxymatrine were established in this study, i. e. RGD-OXYL and OXYL. Animals were divided into five groups, which was control group, CCl₄-induced hepatic fibrosis group, OXYL group, RGD-OXYL group and RGD-Liposomes control group. To evaluate the anti-fibrotic effect, levels of alkaline phosphatase, hepatic histopathology (HE and Masson staining) were detected. Moreover, fibrosis-related gene expression of matrix metalloproteinase-2 (MMP-2), tissue inhibitor of metalloproteinases-1 (TIMP-1) were determined via semi-quantitative polymerase chain reaction. **Results** Oxymatrine can attenuate CCl₄-induced hepatic fibrosis, as defined by reducing serum alkaline phosphatase (344.47 ± 27.52 vs 550.69 ± 43.78 , $P < 0.05$), attenuating liver injury and improving collagen deposits ($2.36\% \pm 0.09\%$ vs $7.70\% \pm 0.60\%$, $P < 0.05$) and down regulating fibrosis-related gene expression, i. e., MMP-2, TIMP-1 ($P < 0.05$). RGD could enhance the therapeutic effect of OM in terms of serum alkaline phosphatase (272.51 ± 19.55 vs

基金项目:国家自然科学基金(30600848)

作者单位:100853 北京,中国人民解放军总医院南楼消化内科

作者简介:柴宁莉(1972-),博士,副主任医师,中华医学会消化内镜分会青年委员。研究方向:肝胆疾病相关基础及临床研究。

E-mail: csxlily@163.com

文献标引:

柴宁莉,徐世平,石卉,等.精氨酸-甘氨酸-天冬氨酸对氧化苦参碱脂质体减轻肝纤维化的增强作用研究[J].环球中医药,2012,5(9):645-650.

344.47±27.52, $P < 0.05$), liver injury, collagen deposits ($0.26\% \pm 0.09\%$ vs $2.36\% \pm 0.09\%$, $P < 0.05$) and down regulating fibrosis-related gene expression, i. e., MMP-2, TIMP-1 ($P < 0.05$).

Conclusion OXYL could attenuate CCL4-induced hepatic fibrosis and inhibit fibrosis-related gene expression. RGD could enhance therapeutic effect. of OXYL.

【Key words】 Oxymatrine liposomes; Hepatic fibrosis; Arginine-Glycin-Aspartic

氧化苦参碱(oxymatrine, OXY)是从中药苦豆子中提取的成分,是苦参碱的氮-氧化物。既往研究表明,该药有抗炎、平喘、保护心肌、调节免疫和抗肿瘤等作用。近年的研究又表明氧化苦参碱有抗乙型肝炎和丙型肝炎病毒的作用,并有抑制胶原活动度、防止肝纤维化的作用^[1]。但因传统给药方式使药物全身分布,局部血药浓度低,致其难以进入肝实质细胞杀灭病毒,达不到很好的治疗效果。近年来,备受关注的脂质体是一种以磷脂等材料作为膜材而构成的具有封闭囊泡结构的药物载体,且其经静脉注射后,自然靶器官主要为肝脏,由此可提高局部血药浓度并减少全身不良反应。精氨酸-甘氨酸-天冬氨酸(Arginine-Glycin-Aspartic acid, RGD)三肽序列对肝星状细胞(hepatic stellate cells, HSCs)有特异性的靶向性的特点,但目前尚无 RGD 偶联 OXYL 对 OXYL 疗效影响的研究。本实验通过建立慢性肝损伤纤维化的大鼠研究模型,构建氧化苦参碱脂质体(oxymatrine liposomes, OXYL)及 RGD-OXYL,评价 RGD 是否可增强 OXYL 对肝纤维化的治疗作用,并探索其对纤维化相关基因表达的影响,为非病毒性肝纤维化治疗中氧化苦参碱的机制研究提供线索。

1 材料与方法

1.1 实验动物和试剂

清洁级 SD 大鼠 30 只,重约 200 g(第四军医大学实验动物中心),大豆卵磷脂(天津远航化学品有限公司),胆固醇(北京奥博星生物技术责任有限公司),甲醇(西安化学试剂厂),氯仿(西安化学试剂厂),98.9% 氧化苦参碱(西安大河药业有限责任公司)。

1.2 制备 OXYL(逆相蒸发法)

将大豆卵磷脂 5.0 g,胆固醇 2.5 g,溶于氯仿甲醇 50 ml 混合液中,70 ℃ 水浴挥干溶剂,加入油酸 0.5 g,聚山梨酯 2.5 g,搅拌融化。另将氧化苦参碱 1.5 g,聚乙烯吡咯烷酮 2.5 g 溶于 PH 7.4 磷酸缓冲液中,水浴加热至 70 ℃,再将两者混合,恒温搅拌,

灌装,密封,超声乳化,所得乳剂在旋转蒸发仪上减压蒸除有机溶剂,然后再进行短时超声,即得乳白色脂质体混悬剂。

1.3 氧化苦参碱肝三肽序列对肝星状细胞靶向脂质体的制备

按 RGD: 氧化苦参碱脂质体 = 10:1 摩尔比加入 RGD,室温震荡过夜,得到 RGD 修饰的 OXYL 液 RGD-OXYL,冰浴下旋涡震荡 30 分钟,通过凝胶柱(CL-4B),层析法除去未偶联的脂质体。

1.4 动物模型的制备及给药方法

雄性 SD 大鼠 50 只,体重约 200 g,食用标准饲料,饮自来水。大鼠分成 5 组,正常对照组 10 只,其余 4 组均复制四氯化碳腹腔注射诱导肝纤维化模型。其中 OXYL 治疗组肌肉注射 OXYL 50 mg/kg, 3 次/周;RGD-OXYL 治疗组肌肉注射 RGD-OXYL 50 mg/kg, 3 次/周;正常对照组、肝纤维化模型组给予等量的生理盐水处理;RGD 脂质体组肌肉注射 RGD 脂质体 50 mg/kg, 3 次/周。

1.5 碱性磷酸酶检测

8 周末用眶静脉取血方法获得各组大鼠血清,送检至中国人民解放军总医院生化科,检测碱性磷酸酶。

1.6 组织学检测

肝组织用 10% 福尔马林固定后,石蜡包埋。切片行 HE 染色观察肝损伤程度,行 Masson 染色检测细胞外基质沉积。在光镜下观察,随机选取 5 个视野测量面积密度(胶原纤维面积/肝组织面积×100%),取平均值,比较各组大鼠肝组织细胞外基质沉积差异。

1.7 测定肝组织中的基质金属蛋白酶-2(MMP-2)及基质金属蛋白酶抑制剂-1(TIMP-1)的 mRNA 表达

以“看家基因”硝酸甘油醛脱氢酶(glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, GADPH)作为内参照。GADPH 引物序列 5'-ACC CCC CAA TGT ATC CGT TGT-3'和 5'-TAC TCC TTG GAG GCC ATG TA-3';MMP-2 引物序列 5'-CTA TTC TGT CAG

CAC TTT GG-3'和 5'-CAG ACT TTG GTT CTC CAA CTT-3';TIMP-1 引物序列 5'-ACA GCT TTC TGC AAC TCG-3'和 5'-CTA TAG GTC TTT ACG AAG GCC-3'。用 Image J 软件测量并计算靶基因与看家基因的灰度比值。

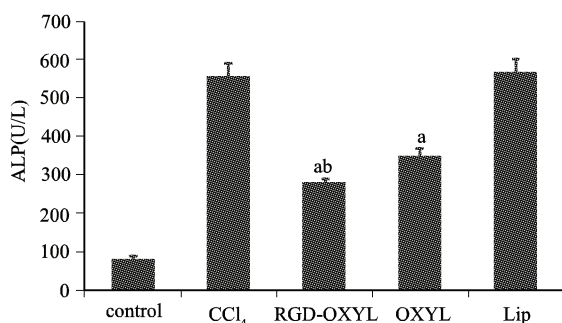
1.8 统计学分析

统计学处理采用 SPSS 16.0 统计软件包,所有计量资料使用均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示。参数采用单因素方差(One-Way ANOVA)检验,非参数用 Mann-Whitney U 检验比较组间差异。 $P < 0.05$ 时,差异有统计学意义。

2 结果

2.1 RGD 可增强 OXYL 降低模型大鼠血清 ALP 水平的作用

8 周末模型大鼠血清,检测各组 ALP 水平,结果发现肝与纤维化组相比,OXYL 可显著降低血清 ALP(344.470 ± 27.515 v. s. 550.691 ± 43.797 , $P < 0.05$);与 OXYL 治疗组相比,RGD-OXYL 治疗组血清 ALP 水平进一步降低(272.508 ± 19.548 v. s. 344.470 ± 27.515 , $P < 0.05$)。见图 1。



control:正常对照组;CCl₄:肝纤维化组;RGD-OXYL:精氨酸-甘氨酸-天冬氨酸-OXYL 治疗组;OXYL: OXYL-治疗组;Lip:RGD 脂质体组

注:与正常对照组比较,^a $P < 0.05$;与 OXYL 治疗组比较,^b $P < 0.05$, $n = 10$

图 1 8 周末各组大鼠的 ALP (U/L) 水平

2.2 RGD 可显著增强 OXYL 改善四氯化碳诱导的肝损伤的作用

取 8 周末模型大鼠肝组织,HE 染色观察肝脏损伤程度(图 2)。肝纤维化模型组及 RGD 脂质体组病理组织学检查示肝细胞脂肪变性,以胞浆内出现大泡性脂滴为特征,细胞不同程度肿胀,大片溶解坏死的肝细胞及纤维增生处有炎性细胞浸润,肝组织内可见假小叶形成。与肝纤维化模型

组相比,RGD-OXYL 治疗组肝脏脂肪变和纤维化程度减轻,肝细胞脂肪变和坏死较轻,原先存在的假小叶由于肝细胞增殖而变大,但纤维隔变细。OXYL 治疗组与 RGD-OXYL 治疗组比较可见肝细胞脂肪变较重,但与肝纤维化模型组相比纤维化程度减轻。

2.3 RGD 可增强 OXYL 减少细胞外基质沉积面积的作用

取 8 周末模型大鼠肝组织,Masson 染色观察细胞外基质沉积情况。正常大鼠肝组织纤维化分级全部为 0 级;肝纤维化模型组(CCl₄)和 RGD 脂质体组(Lip)肝纤维化多为肝小叶结构破坏,汇管区有大量纤维组织增生(4 期);治疗组:肝细胞排列紊乱,肝小叶结构尚完整,部分肝小叶结构有破坏,汇管区有中等量 OXYL 纤维组织增生(2,3 期);RGD-OXYL 治疗组:肝细胞排列规整,肝小叶结构完整,汇管区有少量纤维组织增生(1,2 期)(图 3)。与肝纤维化模型组(CCl₄)相比,OXYL 治疗组胶原面积密度显著减小($P < 0.05$),与 OXYL 治疗组相比,RGD-OXYL 治疗组可进一步减小胶原面积密度($P < 0.05$)。见图 3~4。

2.4 RGD 可增强 OXYL 下调 MMP-2 的 mRNA 水平的作用

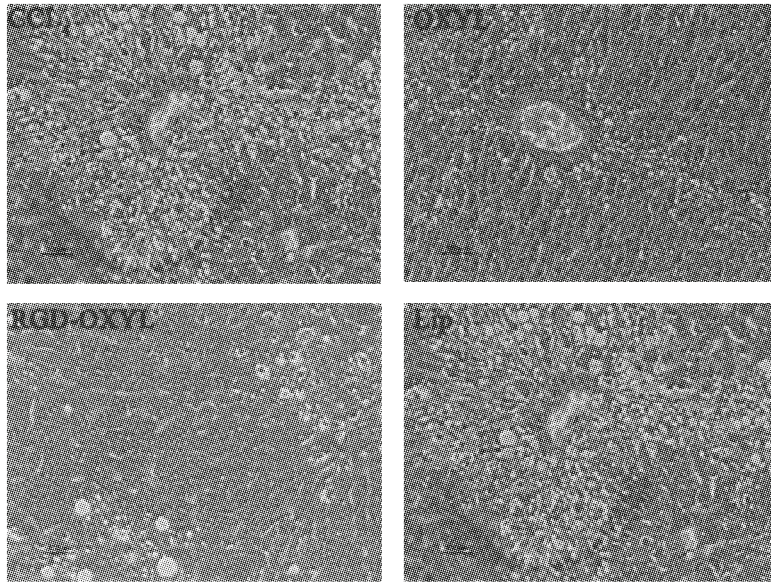
MMP-2,即明胶酶 A,主要来源于活化的 HSCs,在肝纤维化发生时表达上调,是纤维化进展的重要分子。因此分离各组大鼠 HSCs,用半定量 PCR 比较各组大鼠 HSCs 中 MMP-2 的表达水平有无差异。结果发现,与肝纤维化模型组(CCl₄)相比,OXYL 治疗组 MMP-2 表达显著下调($P < 0.05$);与 OXYL 治疗组比较,RGD-OXYL 治疗组 MMP-2 表达进一步下调($P < 0.05$)。见图 5~6。

2.5 RGD 可增强 OXYL 下调 TIMP-1 的 mRNA 水平的作用

MMP-1 是人类主要的间质性胶原酶,主要降解间质胶原。而 TIMP-1 与 MMP-1 结合后抑制其活性,阻止细胞外基质降解。TIMP-1 亦来自于激活的 HSCs,在肝纤维化发生时表达显著上调。因此分离各组大鼠 HSCs,用半定量 PCR 比较各组大鼠 HSCs 中 TIMP-1 的表达水平有无差异。与肝纤维化模型组(CCl₄)相比,OXYL 治疗组 TIMP-1 表达显著下调($P < 0.05$);与 OXYL 治疗组比较,RGD-OXYL 治疗组 TIMP-1 表达进一步下调($P < 0.05$)。见图 7~8。

文献标引:

柴宁莉,徐世平,石卉,等.精氨酸-甘氨酸-天冬氨酸对氧化苦参碱脂质体减轻肝纤维化的增强作用研究[J].环球中医药,2012,5(9):645-650.



CCl₄:肝纤维化模型组; OXYL:氧化苦参碱脂质体治疗组; RGD-OXYL:精氨酸-甘氨酸-天冬氨酸-OXYL 治疗组; Lip:RGD 脂质体组
图 2 各组大鼠 8 周末肝脏损伤程度比较(HE 染色,×400)

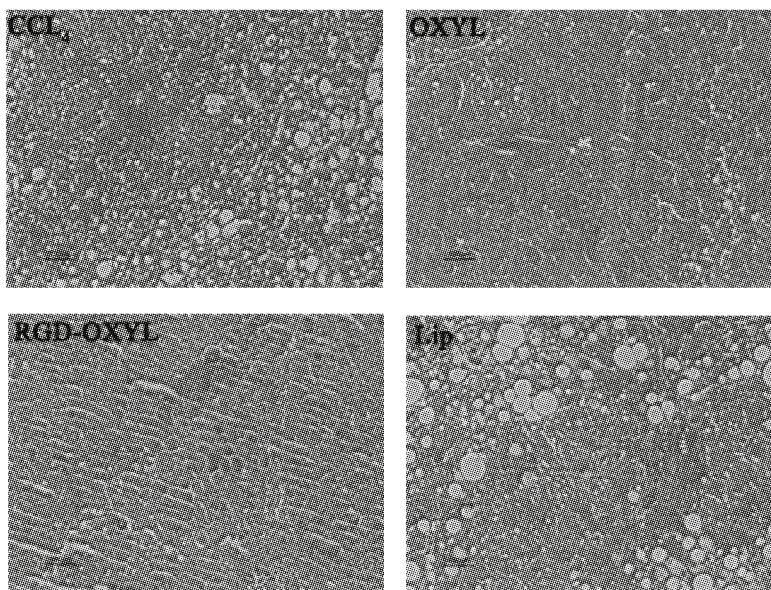
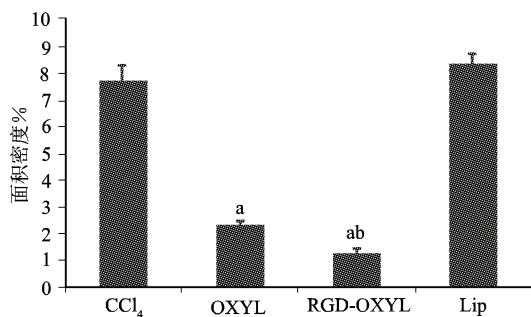
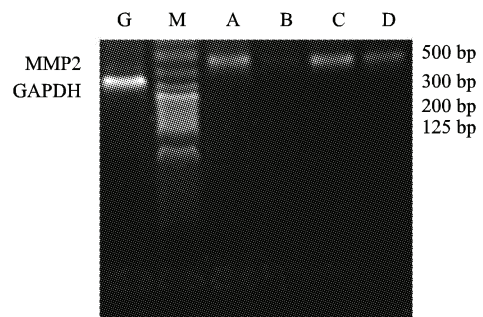


图 3 各组大鼠 8 周末肝脏组织细胞外基质沉积情况比较(Masson 染色,×400)



注:与肝纤维化组(CCl₄)比较,^a $P<0.05$;与 OXYL 治疗组比较,^b $P<0.05$, $n=5$

图 4 各组大鼠肝脏组织胶原面积密度

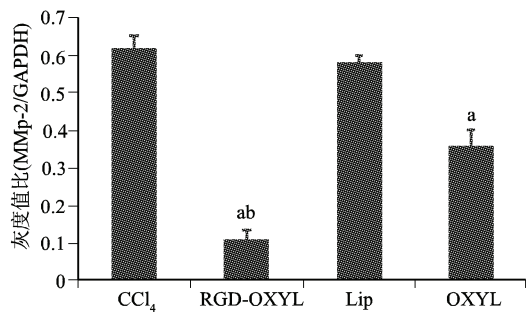


G:GAPDH;M:Marker;A:肝纤维化模型组(CCl₄);B:RGD-OXYL 治疗组;C:RGD 脂质体组;D:OXYL 治疗组

图 5 各组大鼠肝脏 HSCs 中 MMP-2 的 mRNA 水平

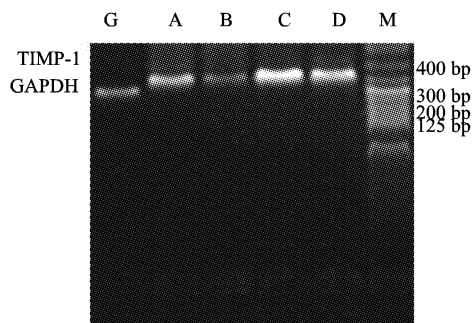
文献标引:

柴宁莉,徐世平,石卉,等.精氨酸-甘氨酸-天冬氨酸对氧化苦参碱脂质体减轻肝纤维化的增强作用研究[J].环球中医药,2012,5(9):645-650.



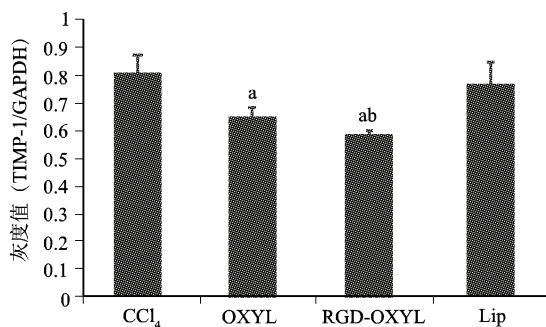
CCl₄:肝纤维化组; RGD-OXYL:精氨酸-甘氨酸-天冬氨酸-OXYL 治疗组; OXYL: OXYL-治疗组; Lip:RGD 脂质体组注: 与对照组比较, ^a*P*<0.05; 与 OXYL 治疗组比较, ^b*P*<0.05, *n*=5

图 6 各组大鼠肝脏 HSCs 中 MMP-2 的 mRNA 水平 (MMP-2/GAPDH 比值)



G:GAPDH; A:OXYL 治疗组; B: RGD-OXYL 治疗组; C: 肝纤维化模型组 (CCl₄); D:RGD 脂质体组; M:Marker

图 7 各组大鼠肝脏 HSCs 中 TIMP-1 的 mRNA 水平



CCl₄:肝纤维化组; RGD-OXYL:精氨酸-甘氨酸-天冬氨酸-OXYL 治疗组; OXYL:OXYL-治疗组; Lip:RGD 脂质体组注: 与对照组比较, ^a*P*<0.05; 与 OXYL 治疗组比较, ^b*P*<0.05, *n*=5

图 8 各组大鼠肝脏 HSCs 中 TIMP-1 的 mRNA 水平 (TIMP-1/GAPDH 比值)

3 讨论

各种慢性肝损伤均可发展至肝纤维化,目前认为肝纤维化是对创伤的一个修复过程,在此损伤修复的反应中,细胞外基质 (extracellular matrix,

ECM)^[2],肝星状细胞 (hepatic stellate cells, HSCs) 和细胞因子共同参与发挥了致纤维化的作用^[3]。因此大量研究着眼于逆转肝纤维进展,其中氧化苦参碱 (oxymatrine, OXY) 具有广泛的研究和应用前景。

OXY 是一种四环喹啉啉类生物碱,对多种肝病的治疗,发现其对乙型肝炎^[4],丙型肝炎,肝纤维化及肝癌都具有较好的疗效。然而用于临床的 OXY 剂型仍存在以下不足:(1) 药物半衰期短, *t*_{1/2} 只有 0.5 小时,药物清除较快;(2) 需要多次给药来维持血药浓度,给药剂量大,易导致毒副作用发生。脂质体可阻止蛋白酶分解被包裹的药物,具有延长药物作用时间、使药物用量减少、提高药物稳定性、降低药物毒副作用等特点,是比较理想的靶向药物载体,目前已被广泛应用于研究。

本研究成功构建了氧化苦参碱脂质体 (OXYL),并用其治疗四氯化碳诱导的肝纤维化大鼠,结果发现大鼠血清 ALP 水平、肝脏损伤程度及细胞外基质沉积均得到明显改善,且未出现毒副作用,证实该种剂型的氧化苦参碱可能成为临床有效的治疗肝纤维化的药物。但是,由于网状内皮系统可摄取脂质体,使得其靶向性降低,需要进一步研究可增加药物靶向性的剂型。

新型人工合成的 RGD 肽是一类含有精氨酸-甘氨酸-天冬氨酸序列 (Arginine-Glycin-Aspartic acid, RGD) 的短肽,是整合素与其配体结合的识别位点。由于细胞表面的整合素介导 ECM 与 HSCs 细胞膜受体结合,影响 HSCs 的生物学功能,RGD 能够竞争性与整合素结合,不但减少 ECM 与 HSCs 粘附,还可作为 HSCs 的特异性配体^[5]。本课题组建立了 RGD 偶联的 OXYL,发现其改善大鼠血清 ALP 水平、肝脏损伤程度及细胞外基质沉积的功能较 OXYL 显著增强。

目前氧化苦参碱治疗肝纤维化的机制尚不明确,课题组从抑制细胞外基质沉积促进纤维化进展的角度,观察了相关基因表达。MMP-2^[6],即明胶酶 A,主要来源于活化的 HSCs,可降解周围基底膜中的 IV 型胶原支架,使得维持 HSCs 静态的基底膜遭到破坏,HSCs 被激活,分泌间质性胶原,使得 MMP-1 表达增加,刺激 MMP-2 酶原的激活,从而上调 MMP-2 表达,造成恶性循环。TIMP-1^[7]主要来源于活化的 HSCs,在肝纤维化过程中,激活的 HSCs 分泌 TIMP-1 抑制胶原的降解^[8]。Janssen AP 等^[9]发

现, TIMP-1 可显著促进纤维化发展。因此下调 MMP-2 和 TIMP-1 的表达可能是肝纤维化减轻的重要机制。本课题组的研究发现 OXYL 可显著下调模型大鼠肝脏 HSCs 中 MMP-2 和 TIMP-1 的表达, RGD-OXYL 下调二者表达的功能更为显著。提示氧化苦参碱可能通过下调 MMP-2 和 TIMP-1 的方式减轻肝脏损伤、减少细胞外基质沉积, 从而延缓肝纤维化的进展。

综上所述, 本研究首次建立了氧化苦参碱脂质体和 RGD 偶联的氧化苦参碱脂质体, 增强了药物延缓肝纤维化进展的作用, 同时极大地降低了药物的毒副作用, 可为临床采用氧化苦参碱治疗肝纤维化提供新的思路。此外, 氧化苦参碱可能通过下调 MMP-2 和 TIMP-1 减少细胞外基质形成, 延缓纤维化进展。但氧化苦参碱通过何种方式下调上述两种分子的表达, 仍需进一步研究。

参 考 文 献

- [1] Wu XN, Wang GJ. Experimental studies of oxymatrine and its mechanisms of action in hepatitis B and C viral infections[J]. Chin J Dig Dis, 2004, 5(1):12-16.
- [2] Stern MM, Myers RL, Hammam N, et al. The influence of extracellular matrix derived from skeletal muscle tissue on the pro-

- liferation and differentiation of myogenic progenitor cells ex vivo [J]. Biomaterials, 2009, 30(12):2393-2399.
- [3] Friedman, SL. Molecular regulation of hepatic fibrosis, an integrated cellular response to tissue injury[J]. J Biol Chem, 2000, 275(4):2247-2250.
- [4] Xu WS, Zhao KK, Miao XH, et al. Effect of oxymatrine on the replication cycle of hepatitis B virus in vitro [J]. World J Gastroenterol, 2010, 16(16):2028-2037.
- [5] 杜施霖, 王吉耀, 陆伟跃, 等. 含有精-甘-天冬氨酸序列的环肽与大鼠肝星状细胞体外结合的特性[J]. 中华肝脏病杂志, 2005, 13(5):362-365.
- [6] Wang XB, Liu P, Tang ZP, et al. The role of changes of MMP-2, 9 activity in the development of liver fibrosis in rats [J]. Zhonghua Gan Zang Bing Za Zhi, 2004, 12(5):267-270.
- [7] Rossi L, Ergen AV, Goodell MA. TIMP-1 deficiency subverts cell-cycle dynamics in murine long-term HSCs[J]. Blood, 2011, 117(24):6479-6488.
- [8] Schiffelers RM, Koning GA, ten Hagen TL, et al. Anti-tumor efficacy of tumor vasculature-targeted liposomal doxorubicin[J]. J Control Release, 2003, 91(1-2):115-122.
- [9] Janssen AP, Schiffelers RM, ten Hagen TL, et al. Peptide-targeted PEG-liposomes in anti-angiogenic therapy [J]. Int J Pharm, 2003, 254(1):55-58.

(收稿日期: 2012-07-04)

(本文编辑: 秦楠)

· 信息之窗 ·

《环球中医药》2013 年征稿启事

《环球中医药》杂志是由中华人民共和国卫生部主管, 中华国际医学交流基金会主办, 国内外公开发行的中医药学术期刊, 本刊为中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊), 美国《化学文摘》收录期刊。

欢迎广大中医药学界同仁积极投稿。

1 杂志主要用稿方向是中医临床研究。同时也欢迎中医实验研究、中医理论研究、中药研究。对介绍中医在海外的生存现状, 海外对中医的法律、法规、态度, 国内外中医药学术与文化的沟通与交流, 外国民族传统医药文章优先刊登。欢迎综述文章。对中医护理、中医院管理、临床个案报道择优刊登。

2 本刊在重点反映科研成果与临床进展的同时, 重视学术思考与海内外信息交流。主要栏目有: 述评、论著、理论探讨、综述、临床经验、学术论坛等; 特色栏目有: 中医病案析评、海外中医、争鸣、中医文化、名医心鉴等。

3 “论著”、“综述”等以 4000~5000 字为宜, “临床经验”等栏目须 2000 字以上。重大科研创新与理论突破稿件不受字数限制。“论著”、“理论探讨”与“综述”栏目文章须有英文题名、中英文摘要和中英文关键词。

4 请作者以电子邮件方式投稿, 发送至 hqzhyy@163.com。本刊 1 周左右手工发回含稿号的收稿回执, 4~12 周左右回复稿件处理情况。如未及时收到稿号回执和稿件处理情况请电话或邮件查询。

编辑部地址: 北京市东城区东四西大街 46 号综合楼 203 室

邮编: 100711 电话: 010-65269860 010-65133322 转 5203

网址: www.hqzyy.com

文献标引:

柴宁莉, 徐世平, 石卉, 等. 精氨酸-甘氨酸-天冬氨酸对氧化苦参碱脂质体减轻肝纤维化的增强作用研究[J]. 环球中医药, 2012, 5(9):645-650.