

实验研究

DOI: 10.13288/j.11-2166/r.2015.06.016

通心络超微粉联合外周血间充质干细胞移植对糖尿病大鼠下肢缺血的影响

郭勇英¹, 高怀林², 孙颖³, 郑国², 张军芳⁴, 魏聪⁴, 吴以岭^{*}

(1. 河北医科大学研究生学院, 河北省石家庄市中山路 361 号, 050017; 2. 河北医科大学附属以岭医院; 3. 南京中医药大学; 4. 河北以岭医药研究院)

摘要 目的 观察通心络超微粉联合外周血间充质干细胞移植治疗糖尿病大鼠下肢缺血的疗效。方法 采用高脂喂养联合低剂量链脲佐菌素 (STZ) 注射建立糖尿病大鼠模型, 再结扎右下肢股动、静脉制造下肢缺血模型。100 只造模成功大鼠随机分为模型组、通心络组、干细胞组、联合治疗组, 每组 20 只, 以同批次 20 只健康大鼠为正常组。通心络组和联合治疗组给予通心络超微粉 0.4g/(kg·d) 灌胃, 连续治疗 28 天; 干细胞组和联合治疗组于术后第 3 天在缺血下肢皮下肌层注射约 0.4 ml 细胞悬浊液 (PB-MSCs 1.0×10^6 /ml), 分 8 个位点, 每个点注射 0.05 ml; 正常组、模型组和干细胞组大鼠以等体积的生理盐水灌胃, 同点、同量肌肉注射无菌 RPMI1640 培养液。分别于术前、术后、治疗 7 和 28 天行激光多普勒血流灌注成像检测计算双后肢血流差值, 治疗 28 天后行下肢动脉造影检测下肢血流。结果 与正常组同时时间点比较, 其余各组在术后、治疗 7 天和 28 天时双后肢血流差值显著增高 ($P < 0.01$); 与模型组同时时间点比较, 各治疗组在治疗 7、28 天时双后肢血流差值明显降低, 并且联合治疗组在治疗 28 天时较通心络组和干细胞组降低明显 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。与本组术前比较, 各治疗组术后、治疗 7 天和 28 天时双后肢血流差值比显著升高 ($P < 0.01$), 但各治疗组治疗 7 天和 28 天时双后肢血流差值均较本组术后降低, 并且治疗后 28 天降低更明显 ($P < 0.01$)。动脉造影结果显示, 模型组和各治疗组均有侧枝循环形成, 毛细血管生成, 且与已有的毛细血管相互连接形成毛细血管网, 其中联合治疗组缺血侧下肢动脉最清晰。结论 通心络超微粉联合外周血间充质干细胞移植能明显改善糖尿病大鼠下肢缺血状况, 并且优于单纯干细胞移植。

关键词 糖尿病; 下肢缺血; 外周血间充质干细胞移植; 通心络超微粉; 激光多普勒血流灌注成像

糖尿病下肢缺血是糖尿病严重的并发症之一, 其主要特点为下肢血管远端流出道闭塞, 极易导致糖尿病患者足部溃疡、坏疽, 甚至致死致残。干细胞移植血管再生技术又称为细胞性血管搭桥术, 最早使用干细胞移植治疗下肢缺血性疾病, 取得了良好效果^[1-2]。近年来干细胞移植治疗研究发现^[3], 干细胞移植到含大量细胞毒物及炎症介质的环境中很难定位及生长, 且易在此环境中死亡, 难以发挥再生和旁分泌能力。临床研究证实通心络胶囊可以预防和延缓糖尿病并发症的发生和发展^[4]。因此,

本研究采用影像学方法观察外周血间充质干细胞移植联合通心络超微粉治疗糖尿病下肢缺血的作用, 以期临床治疗提供依据。

1 材料

1.1 实验动物

健康 SPF 级雄性 SD 大鼠 120 只, 4 周龄, 体重 190 ~ 230 g, 实验动物合格证号: SCXK (京) 2009-0017, 由中国食品药品检定研究院提供。同源异体供体大鼠为清洁级雄性 SD 大鼠 10 只, 15 周龄, 约 300 g, 由北京华阜康生物科技股份有限公司提供, 实验动物许可证号: SCXK (京) 2009-0007。饲养在河北以岭医药研究院药理实验室, 光照 12 h/天, 温度 22 ~ 24℃, 相对湿度 50% ~

基金项目: 国家高技术研究发展计划 (“863” 计划) (2011AA020115); 国家重点基础研究发展计划 (“973” 计划) (2012CB518606); 河北省中医药管理局课题 (2012112)

* 通讯作者: weitem@163.com, (0311) 85908836

70%，每日正常饲料喂养。

1.2 药物

通心络超微粉（由人参、水蛭、全蝎、蜈蚣、蝉蜕、赤芍、冰片等组成，每克超微粉含生药 1.47 g，石家庄以岭药业股份有限公司提供，批号：20120924），用 0.5% 羧甲基纤维素钠溶液配制，4℃ 保存。

1.3 实验试剂

链脲佐菌素（STZ，美国 Amresco 公司，批号：1262C443/07301302），重组人粒细胞集落刺激因子（G-CSF，瑞血新，深圳新鹏生物工程有限公司，批号：201302009），细胞处理试剂盒（河北博海生物工程开发有限公司，批号：20140428），一抗（CD90、CD105、CD49A、CD49B、CD49C、CD29、CD104，德国美天旋公司，批号：30. APR. 2013），4、6-联脒-2-苯基吡啶（DAPI，河北博海生物工程开发有限公司，批号：20130808），碘海醇注射液（北京北陆药业股份有限公司，批号：130903），羧甲基纤维素钠（天津永大化学试剂开发中心生产，批号：20120418），水合氯醛（天津市大茂化学试剂厂，批号：20120228），柠檬酸缓冲液（柠檬酸 2.1 g，柠檬酸钠 2.94 g，溶于 200 ml 双蒸水中，调节 pH = 4.2 - 4.5，4℃ 保存）。

1.4 主要仪器

AL204 精密分析天平（瑞士梅特勒-托利多公司），荧光显微镜（德国 Leica 公司，型号：CTR6000），MS 分选柱（CD90、CD105、CD49A、CD49B、CD49C、CD29、CD104，德国美天旋公司），流式细胞检测仪（Beckman Coulter 公司，型号：XL-MCL），激光多普勒血流灌注成像仪（瑞典 Perimed 公司，型号：PeriScan PIM3），数字减影血管造影 X 线机（GE 公司，型号：Innova 3100-IQ）。

2 方法

2.1 大鼠外周血间充质干细胞（PB-MSCs）分离

10 只清洁级雄性 SD 大鼠每日皮下注射 G-CSF 50 μg/kg，连续 5 天，第 6 天大鼠 10% 水合氯醛 0.35 ml/100 mg 腹腔注射麻醉，用含有肝素的抗凝管腹主动脉采血 10 ml，密度梯度离心分离外周血单核细胞，确定细胞数量，重新悬浮细胞后加入 CD90/CD105/CD49A/CD49B/CD49C/CD29/CD104 微珠、混匀、孵育、离心，弃上清。用 MS 柱放于

MACS 分选器磁铁部位，将细胞悬液加到柱子中，收集通过柱子阴性的细胞。将分选柱与分选磁铁分离，冲洗掉柱子中带磁性标记的细胞，收集得到的是目的细胞即干细胞。加入 0.1 ml 无菌的 DAPI 溶液染色。用 RPM1640 培养基稀释至 4 ml（干细胞浓度 0.5×10^6 /ml ~ 2.0×10^6 /ml），冰上保存，计数细胞数，收集干细胞，以备移植。

2.2 模型制备

参照文献 [5-6] 的造模方法并进行改进。SPF 级雄性 SD 大鼠采用高脂喂养（热量配比：脂肪 59.8%，碳水化合物 20.1%，蛋白质 20.1%）8 周，禁食 16 h 后腹腔注射 STZ（35 mg/kg），正常对照组注入同体积的柠檬酸钠缓冲溶液，72 h 后测尾尖血糖在 16.7 mmol/L 以上者入选为糖尿病模型。造模成功大鼠于 10% 水合氯醛腹腔注射麻醉下，仰卧固定备皮消毒后，纵行切开右侧腹股沟正中皮肤，于腹股沟下分离出股动脉和股静脉，结扎并剪断股动脉和股静脉，伤口局部涂撒青霉素，缝合皮肤，建立糖尿病下肢缺血模型。

2.3 动物分组及给药

将造模成功的糖尿病下肢缺血大鼠采用随机数字表法分为模型组、通心络组、干细胞组、联合治疗组，每组 20 只，另选择 20 只健康大鼠作为正常组。通心络组和联合治疗组给予通心络超微粉 0.4 g/（kg·d）灌胃，连续治疗 28 天；干细胞组和联合治疗组于术后第 3 天在缺血下肢皮下肌层注射约 0.4 ml 细胞悬液（PB-MSCs 1.0×10^6 /ml），小腿肌肉内，分 8 个位点，深度 1 cm，间距 5 mm，每个点注射 0.05 ml 此细胞悬液，避血管注射；正常组、模型组和干细胞组大鼠以等体积的生理盐水灌胃，同点、同量肌肉注射无菌 RPM1640 培养液。

2.4 观察指标及方法

2.4.1 激光多普勒血流灌注成像仪检测 分别于术前、术后、治疗后 7 天及 28 天腹腔麻醉下，将大鼠俯卧位放在 37℃ 加热垫上 10 min 后，将大鼠俯卧位放置，定位扫描足部 2 min，检测大鼠后肢血流量，双后肢血流差值比（%）=（健侧血流 - 患侧血流）/健侧血流。

2.4.2 动脉造影检测^[7] 治疗后第 28 天在腹腔麻醉下取腹正中切口，分离腹膜，在腹主动脉处穿刺、缓慢推注造影剂碘海醇，同时拍片观察各组大鼠血管形态。

2.5 统计学方法

采用 SPSS 22.0 统计软件分析，所有数据用均

数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 数据进行正态分布检验和方差齐性检验, 符合正态分布的数据进行多个样本均数比较采用单因素方差分析, 符合正态分布与方差齐的多个样本均数间的两两比较用最小显著差法 (LSD), 若方差不齐采用 *Dunnnett's T3* 法。

3 结果

3.1 各组大鼠不同时间点双后肢血流差值比较

表 1 示, 术前各组大鼠双后肢血流差值较小, 各组比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$); 与正常组同时间点比较, 其余各组在术后、治疗 7 天和 28 天时双后肢血流差值显著增高 ($P < 0.01$); 与模型组同时间点比较, 通心络组、干细胞组、联合治疗组在治疗 7、28 天时双后肢血流差值明显降低, 并且联合治疗组在治疗 28 天时较通心络组和干细胞组降低明显 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。与本组术前比较, 模型组及各治疗组术后、治疗 7 天和 28 天时双后肢血流差值比显著升高 ($P < 0.01$), 但各治疗组治疗 7 天和 28 天时双后肢血流差值均较本组术后降低, 并且治疗后 28 天降低更明显 ($P < 0.01$)。

3.2 各组大鼠下肢动脉造影结果比较

正常组大鼠下肢股动脉造影血流通畅, 下肢动脉管壁厚度均匀, 大血管显示清晰, 动脉末期小动脉显影清晰, 毛细血管期造影剂染色均匀。模型组大鼠下肢股动脉造影血流缓慢, 有少量侧枝循环形成, 下肢动脉管壁厚度不均, 部分管壁呈现凹凸不平, 大血管显示清晰, 动脉末期小动脉显影减少, 毛细血管期造影剂染色无加深, 表明此组虽然已有毛细血管相互连接形成毛细血管网, 但毛细血管生成不明显。与模型组比较, 各治疗组动脉造影显示血管形态及血流均有不同程度改善: 通心络组大鼠股动脉血流较通畅, 有少量侧枝循环形成, 动脉末期小动脉显影, 毛细血管期造影剂加深, 表明此组有毛细血管生成, 且与已有的毛细血管相互连接形成毛细血管网。干细胞组股动脉血流稍缓慢, 有侧

枝循环形成, 部分下肢动脉管壁厚度不均, 部分管壁呈现凹凸不平, 动脉末期小动脉稍显影, 毛细血管期造影剂稍深, 表明此组毛细血管生成明显, 且与已有的毛细血管相互连接形成毛细血管网。联合治疗组的股动脉血流通畅, 侧枝循环形成, 动脉末期小动脉显影, 毛细血管期造影剂加深, 表明此组毛细血管生成明显, 且与已有的毛细血管相互连接形成毛细血管网。

4 讨论

糖尿病下肢缺血是由于糖尿病患者长期糖脂代谢紊乱及血管内皮损伤等致动脉粥样硬化, 累及下肢远端动脉^[8-9], 使血管壁弹性减弱, 管腔狭窄, 血管阻塞, 造成肢端缺血缺氧。中医学认为, 消渴日久, 气阴两虚, 脉络瘀阻, 血行不畅, 肢端失养, 久病入络, 可诱发消渴下肢缺血; 基于脉络与中小血管、微血管、微循环在解剖形态学上的密切相关性, 提出脉络-血管系统概念^[10]。

通心络胶囊是络病学说指导下研制的中药复方制剂, 具有益气活血化瘀、搜风通络止痛功效^[11]。以往实验证实, 通心络胶囊 (超微粉) 具有保护血管内皮、降低血脂、稳定消退动脉粥样硬化的作用^[12-14]。干细胞是一种具有自我复制能力的多潜能细胞, 在一定条件下, 可分化为多种功能细胞, 通过干细胞移植可促进缺血肢体的新生血管形成, 改善和恢复肢体血流, 从而达到治疗缺血肢体的目的。近年来, 干细胞移植治疗糖尿病下肢缺血的研究已日益广泛^[15-16]。然而干细胞移植后因受移植环境中细胞毒物及炎症介质的影响, 降低了其生存率、有效率及远期疗效^[3]。既往临床研究发现通心络联合自体干细胞移植可以改善干细胞移植环境, 提高糖尿病足临床疗效, 且治疗效果优于单纯干细胞移植^[17]。因此本实验观察外周血间充质干细胞移植联合通心络治疗糖尿病大鼠下肢缺血影像学变化, 并探讨其可能的作用机制。

本研究采用高脂联合低剂量 STZ 制作糖尿病

表 1 各组大鼠不同时间点双后肢血流差值比较 ($\%, \bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	术前	术后	治疗 7 天	治疗 28 天
正常组	20	0.47 ± 0.19	0.44 ± 0.18	0.58 ± 0.13	0.44 ± 0.18
模型组	20	0.59 ± 0.28	69.85 ± 7.31*#	67.61 ± 11.64*#	53.86 ± 3.40*#
通心络组	20	0.48 ± 0.22	70.87 ± 7.26*#	54.10 ± 8.37*△▲#▼	37.04 ± 5.75*△▲#▼●
干细胞组	20	0.54 ± 0.22	70.13 ± 7.31*#	53.72 ± 6.18*△#▼	30.80 ± 13.08*△▲#▼●
联合治疗组	20	0.58 ± 0.25	71.19 ± 6.82*#	47.35 ± 5.25*△#▼	21.31 ± 5.64*△#▼●

注: 与正常组同时间比较, * $P < 0.01$; 与模型组同时间比较, △ $P < 0.01$; 与联合治疗组同时间比较, ▲ $P < 0.05$; 与本组术前比较, # $P < 0.01$; 与本组术后比较, ▼ $P < 0.01$; 与本组治疗 7 天比较, ● $P < 0.01$

模型,并结扎糖尿病大鼠单侧下肢股动脉、股静脉造成糖尿病大鼠下肢缺血模型,然后进行 PB-MSCs 的移植,并给予通心络超微粉灌胃。结果显示,各治疗组均改善糖尿病下肢缺血血流,但联合治疗组疗效显著优于单纯通心络组和干细胞组。动脉造影显示,术后大鼠缺血侧肢可以看见新生血管形成和侧枝循环建立,其中联合治疗组动脉末期小动脉显影清晰,毛细血管期造影剂最深,毛细血管生成明显,且与已有的毛细血管相互连接形成毛细血管网。提示通心络超微粉可促进干细胞移植后血管新生、侧枝循环建立,改善缺血肢体的血流灌注,缩短治疗时间,有明显的治疗作用。既往研究发现,通心络胶囊能促进大鼠脑缺血区域微血管新生^[18],大剂量的通心络具有一定的促血管新生作用^[19],且通心络^[20]能够通过促进血管内皮生长因子(VEGF)大量表达而保护脑毛细血管内皮细胞,促毛细血管新生。因此,推测通心络提高干细胞移植疗效可能与其具有降脂、抗炎、抗氧化^[21]及保护血管内皮,改善机体内环境,促进血管新生、侧枝循环建立^[22]等机制有关。总之,通心络超微粉联合外周血间充质干细胞移植治疗糖尿病下肢缺血具有较好的作用,也为该类疾病的治疗和研究提供了依据。

参考文献

- [1] Tateishi-Yuyama E, Matsubara H, Murobara T, et al. Therapeutic angiogenesis for patients with limb ischemic by autologous transplantation of bone-marrow cells: a pilot study and a randomized controlled trail [J]. Lancet, 2002, 360(9331): 427-435.
- [2] Subramaniam V, Waller EK, Murrow JR, et al. Bone marrow mobilization with granulocyte macrophage colony-stimulating factor improves endothelial dysfunction and exercise capacity in patients with peripheral arterial disease [J]. Am Heart J, 2009, 158(1): 53-60.
- [3] 郭勇英,高怀林. 干细胞治疗糖尿病足的实验研究进展 [J]. 中国细胞生物学学报, 2014, 36(4): 530-539.
- [4] 张爱华,高昆山,翠星慧,等. 通心络对糖尿病患者血管内皮损伤的影响 [J]. 中国康复理论与实践, 2007, 13(9): 876-877.
- [5] 杨盛家,陈兵,罗涛,等. 大鼠后肢急性缺血模型的构建及评估 [J]. 中国普通外科杂志, 2009, 18(6): 580-583.
- [6] 周迎生,高妍,李斌,等. 高脂喂养联合链脲佐菌素注射的糖尿病大鼠模型特征 [J]. 中国实验动物学报, 2005, 13(3): 154-158.
- [7] Tamarat R, Silvestre JS, Le Ricousse-Roussanne S, et al. Impairment in ischemia-induced neovascularization in diabetes: bone marrow mononuclear cell dysfunction and therapeutic potential of placenta growth factor treatment [J]. Am J Pathol, 2004, 164(2): 457-466.
- [8] 任叶高,陆再英,陈灏珠,等. 内科学 [M]. 5 版. 北京: 人民卫生出版社, 2004, 271-277, 363-365.
- [9] 刘作金,朱仕钦,罗云生. 血管内皮细胞损害在动脉硬化性闭塞症发病中的意义 [J]. 中华实验外科杂志, 1999, 16(6): 537-538.
- [10] 吴以岭. “脉络-血管系统”相关性探讨 [J]. 中医杂志, 2007, 48(1): 5-8.
- [11] 吴以岭. 络病学 [M]. 北京: 中国科学技术出版社, 2004: 1148-1150.
- [12] 刘培强,王国伟,韩晔,等. 通心络胶囊对肢体动脉硬化性闭塞症患者血管内皮细胞功能的影响 [J]. 河北医药, 2004, 26(7): 561-562.
- [13] 陈志,隋旭涛,迟静荔,等. 通心络对动脉粥样硬化斑块消退作用的临床观察 [J]. 中西医结合心脑血管病杂志, 2004, 2(7): 379-381.
- [14] 庞宗然,贾春华,李晓军,等. 通心络超微粉对肥胖型 T2DM 大血管损伤大鼠血清 sVCAM-1、TNF- α 的影响 [J]. 辽宁中医杂志, 2008, 35(7): 1107-1108.
- [15] 任超,刘小云,耿德勤,等. 自体骨髓干细胞移植治疗下肢缺血性疾病的疗效观察 [J]. 中国全科医学, 2013, 16(18): 2152-2156.
- [16] 陈明卫,李燕萍,唐益忠,等. 不同来源和移植途径的自体干细胞治疗糖尿病缺血性下肢血管病变的随机对照研究 [J]. 中华临床医师杂志(电子版), 2013, 7(14): 6418-6423.
- [17] 高怀林,丁来标,曹月香,等. 通络中药结合自体外周血干细胞移植治疗糖尿病足的疗效及其对血清 VEGF、bFGF 的影响 [J]. 疑难病杂志, 2012, 11(1): 26-28.
- [18] 常丽萍,秦拔,魏聪,等. 通心络超微粉对脑缺血大鼠微血管的影响 [J]. 中医杂志, 2013, 54(13): 1138-1140, 1144.
- [19] 王文键,傅晓东,陈伟华,等. 通心络促血管生成作用的实验研究 [J]. 疑难病杂志, 2003, 2(1): 2.
- [20] 马芳. 通心络促脑缺血后毛细血管新生的实验研究 [J]. 卫生职业教育, 2004, 22(17): 151-152.
- [21] Zhang L, Liu Y, Lu XT, et al. Traditional Chinese medication Tongxinluo dose-dependently enhances stability of vulnerable plaques: a comparison with a high-dose simvastatin therapy [J]. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2009, 297(6): 2004-2014.
- [22] 高怀林,丁来标,曹月香,等. 通络中药结合外周血干细胞移植治疗糖尿病足的疗效观察及其对氧化应激状态的影响 [J]. 中国中医基础医学杂志, 2011, 17(12): 1350-1351.

Effect of Tongxinluo Ultrafine Powder with Peripheral Blood Mesenchymal Stem Cell Transplantation on Lower Limb Ischemia in Diabetic Rats

GUO Yongying¹, GAO Huailin², SUN Ying³, ZHENG Guo², ZHANG Junfang⁴, WEI Cong⁴, WU Yiling¹

(1. Graduate School of Hebei Medical University, Hebei Province, 050017; 2. Yiling Hospital, Hebei Medical University; 3. Nanjing University of Chinese Medicine; 4. Hebei Yiling Institute of Pharmaceutics)

ABSTRACT Objective To observe the efficacy of *Tongxinluo* (TXL) ultrafine powder combined with peripheral blood mesenchymal stem cell transplantation in the treatment of lower limb ischemia in diabetic rats. **Methods**

Diabetic rat models were established by high-fat diet combined with low dose of streptozotocin (STZ) injection. Then the right femoral artery and vein were ligated to make the lower limb ischemia models. In total 100 successful models were randomly divided into model group, TXL group, stem cell group, and combined treatment group, with 20 in each. Another 20 healthy rats from the same batch were selected as normal group. The TXL group and combined treatment group received TXL ultrafine powder 0.4 g/(kg·d) by gavage for 28 days. Three days post-operation, the stem cell group and combined treatment group were injected with 0.4 ml of cell suspension (PB-MSCs 1.0×10^6 /ml) at 8 points in the subcutaneous muscle layer of the lower extremity with ischemia, 0.05 ml each point. The normal group, model group and stem cell group received the same volume of normal saline by gavage and were injected with the same volume of sterile RPM1640 medium at the same points in muscles. The laser Doppler perfusion imaging was applied before and after operation, as well as on day 7 and day 28 of treatment, to detect the difference of blood flow between the two hind limbs, and on day 28 of treatment, lower limb angiography was applied to detect the arterial blood flow. **Results** Compared with the normal group, the differences of blood flow between the two hind limbs in the other groups were significantly larger post-op and on day 7 and day 28 of treatment ($P < 0.01$). Compared with the model group, the differences of blood flow between the two hind limbs in each treatment group were significantly smaller on day 7 and day 28 of treatment, and compared with the TXL group and stem cell group, the difference of blood flow between the two hind limbs in the combined treatment group on day 28 of treatment was significantly smaller ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). Compared within the group pre-op, the differences of blood flow between the two hind limbs in each treatment group post-op and on day 7 and day 28 increased significantly ($P < 0.01$), but compared with that post-op, the differences of blood flow between the two hind limbs decreased on day 7 and day 28 of treatment in each treatment group, especially on day 28 ($P < 0.01$). Arteriography showed that in the model group and each treatment groups, especially in the combined treatment group, there were collateral circulation and capillary angiogenesis, with which and the existing capillaries networks were formed. **Conclusion** TXL ultrafine powder with peripheral blood mesenchymal stem cell transplantation could improve the lower limb ischemia in diabetic rats, and it was superior to stem cell transplantation alone.

Keywords diabetes mellitus; lower limb ischemia; peripheral blood mesenchymal stem cell transplantation; *Tongxinluo ultrafine powder*; laser Doppler perfusion imaging

(收稿日期: 2014-09-11; 修回日期: 2014-12-15)

编辑: 邓 媛

欢迎邮购 《中医杂志》

2000 年合订本 85 元, 2001 年合订本 95 元, 2002 年合订本 105 元, 2003 年合订本 105 元, 2004 年合订本 115 元, 2005 年合订本 125 元, 2007-2010 年合订本每年 140 元。2011 年 (缺 5、6 期) —2013 年每册 9.80 元, 2011-2013 年合订本 (每年 4 本), 每年 280 元, 2014 年合订本 (共 4 本) 400 元。《中医杂志》2006-2009 年增刊每册 40 元。以上免费邮寄, 如需挂号每件另加 3 元。

欲购者请汇款至北京东直门内南小街 16 号中医杂志社读者服务部, 邮编: 100700, 电话: (010) 64014411-3036