

肾康灵对阿霉素肾病大鼠尿蛋白质组学的影响

艾斯^{1,2}, 郑健^{1,*}, 邱彩霞¹, 卢小露¹, 王思佳¹, 刘运军¹

(1. 福建中医药大学附属人民医院, 福建省福州市 817 中路 602 号, 350004; 2. 福建中医药大学)

摘要 目的 探讨原发性肾病综合征的诊断标志物和中药肾康灵药物治疗靶点。方法 将 50 只 SD 大鼠随机分为正常组、模型组、泼尼松组、中西药组、肾康灵组各 10 只。除正常组外其余各组大鼠于实验第 1 天按 5.5 mg/kg 剂量一次性尾静脉注射阿霉素建立阿霉素肾病大鼠模型。造模后 1 周, 正常组和模型组上午、下午各灌服蒸馏水 3 ml; 泼尼松组上午灌服泼尼松悬液 5.5 mg/kg, 下午经灌服蒸馏水 3 ml; 肾康灵组上午灌服肾康灵煎剂 1.5 g/100 g, 下午经胃灌服蒸馏水 3 ml; 中西药组上午灌服泼尼松悬液 5.5 mg/kg, 下午经胃灌服肾康灵煎剂 1.5 g/100 g。各组均连续灌胃 22 天后收集大鼠尿液, 利用 iTRAQ 定量分析技术联合质谱分析法鉴定各组差异蛋白。结果 模型组与正常组大鼠的显著差异蛋白 3 个, 其中高表达的蛋白是 afamin, isoform CRA_a, 低表达的蛋白是 gro 和 Cystatin related protein 2。中西药组与模型组比较, 显著差异表达的蛋白有 6 个, 其中高表达的蛋白是 apolipoprotein A-II, Apolipoprotein A-IV, Vitronectin, osteopontin, Coagulation factor XII, 低表达的蛋白是 afamin, isoform CRA_a。肾康灵组与模型组比较, 显著差异表达的蛋白有 6 个, 其中高表达的蛋白是 apolipoprotein A-II, Complement factor B, Vitronectin, osteopontin, Coagulation factor XII, 低表达的蛋白是 afamin, isoform CRA_a。结论 gro、Cystatin related protein 2、afamin, isoform CRA_a 可作为原发性肾病综合征的诊断标志物, afamin, isoform CRA_a、apolipoprotein A-II、Complement factor B、Vitronectin, osteopontin、Coagulation factor XII 可作为肾康灵的药物靶点。

关键词 原发性肾病综合征; 肾康灵; 阿霉素肾病; 蛋白质组学

原发性肾病综合征 (primary nephrotic syndrome, PNS) 为儿童常见的肾小球疾病, 口服糖皮质激素一直是 PNS 公认的一线治疗方法, 80% ~ 90% 的 PNS 患儿初始激素治疗可获完全缓解, 但有 76% ~ 93% 的患儿复发, 其中 45% ~ 50% 为频发或激素依赖, 则采取联合免疫抑制剂的方法^[1], 但激素和免疫抑制剂的严重毒副作用的发生率亦随之上升和加重。益肾活血中药肾康灵是福建省名老中医王著础临床经验方, 有益肾气、行气血、化瘀血之功效, 治疗小儿 PNS 临床疗效显著^[2]。本研究应用同位素标记相对和绝对定量 (iTRAQ) 技术结合串联质谱的方法对阿霉素肾病大鼠尿液进行相对和绝对定量研究, 旨在从蛋白质组学的角度探索 PNS 的发病机制, 同时为中药肾康灵的药物靶点提供依据。

1 材料与方法

1.1 动物

清洁级 3 月龄 SD 大鼠 50 只, 雌雄各半, 体重 210 ~ 250 g, 上海斯莱克实验动物有限责任公司提供, 实验动物合格证号: SCXK (沪) 2007-0005。

1.2 药物

肾康灵组成: 黄芪 30 g, 生地黄 15 g, 山萸肉 9 g, 山药 12 g, 茯苓 9 g, 牡丹皮 15 g, 三七 9 g 等。由福建中医药大学附属人民医院中药制剂室提供, 煎煮、过滤、浓缩至浓度为含生药 1.5 g/ml。注射用盐酸阿霉素, 规格: 10 mg/瓶, 意大利法玛西亚普强公司生产, 批号: 0903E1。泼尼松, 5 mg/片, 浙江仙琚制药股份有限公司, 批号: 090483。

1.3 主要试剂及仪器

丙酮购于上海国药集团 (批号: T200901); DTT 购于美国 Bio-Rad 公司 (批号: 161-0404); Tris-HCl 购于美国 Sigma 公司 (批号: T6791);

基金项目: 国家自然科学基金 (81173434)

* 通讯作者: zhengjian7816@126.com, (0591) 22861996

C18 Cartridge 购于美国 Sigma 公司 (批号: 66872-U); 乙腈购于 Merck 公司 (批号: I592230123); iTRAQ Reagent-8plex Multiplex Kit 购于美国 AB SCI-EX 公司 (批号: 4381664)。质谱仪购于美国 Thermo Finnigan 公司 (型号 Q-Exactive); 蛋白纯化仪购于 GE Healthcare 公司 (型号 AKTA Purifier 100); HPLC 液相系统 Easy nLC 购于美国赛默飞公司 (型号 EASY-nLC 1000)。

1.4 动物分组及处理方法

按大鼠体重质量分层随机法分为正常组、模型组、泼尼松组、中西药组、肾康灵组各 10 只。除正常组外其余各组大鼠于实验第 1 天按 5.5 mg/kg 剂量一次性尾静脉注射阿霉素^[8]建立阿霉素肾病大鼠模型,而正常组大鼠按同等剂量注射生理盐水。造模后 1 周,正常组和模型组上、下午各灌服蒸馏水 3 ml; 泼尼松组上午灌服泼尼松悬液 3 ml,剂量按每日 5.5 mg/kg 计算,下午灌服蒸馏水 3 ml; 中西药组上午灌服泼尼松悬液 3 ml,剂量同上,下午灌服肾康灵煎剂,按 1 ml/100 g 灌胃; 肾康灵组上午灌服肾康灵煎剂,剂量同上,下午灌服蒸馏水 3 ml。各组均连续灌胃 22 天。

1.5 尿蛋白质组学分析

1.5.1 样本处理 取各组约 15 ml 尿液样本,4℃ 5000 r/min 离心 5 min,弃沉淀,取上清,按照 1:9 (上清:丙酮) 比率加入 -20℃ 预冷丙酮,充分混匀后在 -20℃ 冰箱中放置 1 h,4℃、12000 r/min 离心 30 min,弃上清,在空气中挥干。向每组样本中加入约 500 μl SDT 裂解液, Vortex 混匀,沸水浴 10 min。超声破碎 (150 W, 超声 10 s, 间歇 15 s, 共 15 次),沸水浴 5 min,离心取上清,利用 BCA 法进行蛋白质浓度测定。

1.5.2 酶解 分别取各组尿液样本 50 μl 等量混合成两个内标样。取各样品和内标均 300 μg,分别加入 DTT 至终浓度为 100 mM 沸水浴 5 min,冷却至室温。加入 200 μl UA 缓冲液 (8 M Urea, 150 mM TrisHCl pH 8.0) 混匀,转入 10 kd 超滤离心管,14000 r/min 离心 15 min。加入 100 μl Dissolution buffer,14000 r/min 离心 10 min 重复 2 次。加入 40 μl Trypsin buffer (5 μg Trypsin in 40 μl Dissolution buffer),600 r/min 振荡 1 min,37℃ 16~18 h。换新收集管,14000 r/min 离心 10 min,取滤液,OD280 肽段定量。

1.5.3 SCX 分级 将标记后的所有肽段混合,进行 SCX 预分级,收集穿流及洗脱 fraction 约 30 份,

根据 SCX 色谱图每组样品合并成 6 份,冻干后 C18 Cartridge 脱盐。

1.5.4 质谱 每份样品采用纳升流速 HPLC 液相系统 Easy nLC 进行分离。缓冲液: A 液为 0.1% 甲酸水溶液, B 液为 0.1% 甲酸乙腈水溶液 (乙腈为 84%)。色谱柱以 95% A 液平衡。样品由自动进样器上样到上样柱 Thermo scientific EASY column (2 cm × 100 μm 5 μm - C18),再经分析柱 Thermo scientific EASY column (75 μm × 100 mm 3 μm - C18) 分离,流速为 250 nl/min。每份样品经毛细管高效液相色谱分离后用 Q-Exactive 质谱仪进行质谱分析。

1.6 数据分析

质谱分析原始数据为 RAW 文件,用软件 Maxquant 1.4.1.2 进行查库鉴定及定量分析 (参数为 Maxquant 软件标准设置), P 值采用 persus 软件中 Significant A 方法得出。利用 UniProt 数据库查询各差异蛋白的功能和定位,汇总蛋白的功能可以获得总体蛋白的 Gene Ontology (GO) 分类图。采用 KEGG 数据库进行蛋白的 Pathway 分析。

2 结果

2.1 质谱鉴定结果

经分析共鉴定出 iTRAQ 标记定量信息的蛋白 51 个。其中,模型组与正常组比较差异蛋白有 6 个,泼尼松组与模型组比较差异蛋白有 10 个,中西药组与模型组比较差异蛋白有 13 个,肾康灵组与模型组比较差异蛋白有 16 个。

2.2 蛋白质组学 GO 生物信息学分析

基于上述鉴定的差异蛋白信息,按照 GO 功能分类法,分别统计生物学过程、分子功能和细胞成分类别等各级功能的蛋白数。结果发现,按照 GO 生物功能分类,鉴定的差异蛋白主要参与生物质量控制 (56%)、多细胞器的发育 (36%)、定位的建立 (33%)、解剖结构发育 (20%)、运输 (8.75%) 等过程。按 GO 进行分子功能的蛋白分类,鉴定的差异蛋白主要参与黏合、催化活性、酶调节活力、转运活力等。按 GO 进行细胞成分的蛋白分类,鉴定的差异蛋白主要发生在细胞器、胞外区、膜、高分子配合物等。

2.3 尿液差异蛋白的筛选

在模型组与正常组大鼠的差异倍数最显著的蛋白中,选择生物学功能意义重要的 3 个差异蛋白 (见表 1),其中高表达的蛋白是 afamin, isoform

CRA_a, 低表达的蛋白是 gro 和 Cystatin related protein 2, 可作为阿霉素肾病的诊断标志物。泼尼松组与模型组比较, 显著差异表达的蛋白有 5 个 (见表 2), 其中高表达的蛋白是 Apolipoprotein A-IV, aquaporin-1, haptoglobin (Hp), Coagulation factor XII; 低表达的蛋白是 afamin, isoform CRA_a, 这些差异蛋白可能成为阿霉素肾病泼尼松治疗的靶向蛋白点。中西药组与模型组比较, 显著差异表达的蛋白有 6 个 (见表 3), 其中高表达的蛋白是 apolipoprotein A-II, Apolipoprotein A-IV, Vitronectin, osteopontin, Coagulation factor XII, 低表达的蛋白是 afamin, isoform CRA_a, 这些差异蛋白可能成为阿霉素肾病泼尼松联合肾康灵治疗的靶向蛋白点。肾康灵组与模型组比较, 显著差异表达的蛋白有 6 个 (见表 4), 其中高表达的蛋白是 apolipoprotein A-II, Complement factor B, Vitronectin, osteopontin,

表 1 模型组与正常组之间的差异蛋白

蛋白名称	模型组/正常组	P 值
gro	0.17	0.04
Cystatin related protein 2	0.13	0.01
afamin, isoform CRA_a	4.70	0.02

表 2 泼尼松组与模型组之间的差异蛋白

蛋白名称	泼尼松组/模型组	P 值
afamin, isoform CRA_a	0.17	<0.001
Apolipoprotein A-IV	2.63	0.03
aquaporin-1	3.48	<0.001
haptoglobin (Hp)	3.11	0.01
Coagulation factor XII	2.31	0.04

表 3 中西药组与模型组之间的差异蛋白

蛋白名称	中西药组/模型组	P 值
afamin, isoform CRA_a	0.29	<0.001
apolipoprotein A-II	4.43	0.02
Apolipoprotein A-IV	3.65	0.04
Vitronectin	3.73	0.04
osteopontin	4.57	0.02
Coagulation factor XII	3.69	0.04

表 4 肾康灵组与模型组之间的差异蛋白

蛋白名称	肾康灵组/模型组	P 值
afamin, isoform CRA_a	0.24	<0.001
apolipoprotein A-II	4.68	<0.001
Complement factor B	2.63	0.04
Vitronectin	2.58	0.04
osteopontin	3.88	<0.001
Coagulation factor XII	2.83	0.03

Coagulation factor XII, 低表达的蛋白是 afamin, isoform CRA_a, 这些差异蛋白可能成为阿霉素肾病肾康灵治疗的靶向蛋白点。

3 讨论

PNS 属中医学“水肿”范畴, 其病机为肺、脾、肾三脏虚损, 脏腑气血阴阳不足, 水液输布紊乱, 水湿停聚, 精微外泄而发为本病。本病以正气虚弱为本, 邪实蕴郁为标, 邪实以瘀血贯穿始终。临床常表现出虚实错杂、病情反复迁延难愈的特点, 故临证以肾虚血瘀为病机关键。肾康灵组方中黄芪补气升阳、利水消肿、益气行血, 生地黄清热凉血、益肾活血, 二药共为君药, 主益肾活血; 山茱萸补益肝肾、收敛固涩, 山药益气养阴、补脾肾、固肾精, 牡丹皮活血凉血, 三七活血化瘀止血。全方共奏益肾气、行气血、化瘀血之功。

本研究共鉴定出 iTRAQ 标记定量信息的差异蛋白 51 个, 进一步筛选生物学功能意义重要的蛋白共计 20 个。模型组与正常组比较, 显著差异表达的蛋白有 3 个, 其中差异蛋白中“gro”在炎症反应中对中性粒细胞有趋化活性, 曾被鉴定为急性肾损伤的尿液诊断标志物^[4]。“Cystatin related protein 2”阻止或减少半胱氨酸型肽链内切酶, 该酶通过亲核试剂的作用即活性中心半胱氨酸残基中的巯基来水解多肽中的缩氨酸, 这一机制过程与肾脏功能紊乱的各种形式密切相关^[5]。“Afamin, isoform CRA_a”被发现在肾脏病理确诊为急性肾移植排斥反应时表达降低, 可作为急性肾移植排斥反应的诊断标志物^[6]。可认为, 这 3 种差异蛋白可作为 PNS 的诊断标志物。

泼尼松组与模型组比较, 显著差异表达的蛋白有 5 个, 其中“Afamin, isoform CRA_a”在本研究中也鉴定为 PNS 的诊断标志物, 亦是泼尼松的治疗靶点。“Apolipoprotein A-IV”被鉴定为慢性肾脏病进展的诊断标志物, 以此来评估和提高对慢性肾脏病进展复杂生理病理的理解^[7]。“aquaporin-1”形成红细胞质膜和高通透性的肾脏近端小管的水特殊通道, 因此可以让水直接通向渗透梯度。血液透析促成膜蛋白质组重构, 尤其是 aquaporin-1 的重构^[8]。“haptoglobin”在肾脏中累积, 分泌于尿液中, 被结合珠蛋白捕获, 与血浆中游离结合珠蛋白结合以促进血红素的肝循环, 并阻止肾损害。结合珠蛋白在肾病综合征局灶节段性肾小球硬化病理类型中表达成倍增加, 并被认为是尿液中与肾小球滤

过率相关的诊断标志物^[9]。“Coagulation factor XII”是一种血清糖蛋白,参与启动血液凝固,溶解纤维蛋白,产生缓激肽和血管紧张素^[10]。

中西药组与模型组比较,显著差异表达的蛋白有 6 个。其中“afamin, isoform CRA_a”不仅是 PNS 的诊断标志物,还是泼尼松片和肾康灵的药物治疗靶点。“apolipoprotein A-II”通过与脂类的关联来稳固高密度脂蛋白的结构,是转移性肾细胞癌可幸存的患者中的独立因素,并改进了当前使用的预后生存模型^[11]。“Apolipoprotein A-IV”在泼尼松组中表达升高,在泼尼松联合肾康灵治疗组表达进一步升高。“Vitronectin”是血清和组织中细胞黏附分子和透明质酸酶,玻璃体结合蛋白曾在常染色体显性多囊肾患者的囊肿液中被鉴定出^[12]。“osteopontin”作为细胞因子促进干扰素 γ 和白介素 12 的分泌增多,抑制白介素 10 的分泌,导致 I 型变态反应的发生,曾在急性肾损伤伴难治性并发症患者尿液中发现是一个早期、敏感、具有特异性的尿液诊断标志物,其正常时具有肾保护活性^[13]。“Coagulation factor XII”在泼尼松组表达升高,在中西药组表达进一步升高,可见其可作为泼尼松和肾康灵的药物诊断标志物。

肾康灵组与模型组比较,显著差异表达的蛋白有 7 个。其中“afamin, isoform CRA_a”在模型组中表达升高,在各治疗组均表达降低,可见其既可作为 PNS 的诊断标志物,也可作为泼尼松和肾康灵的药物治疗靶点。“apolipoprotein A-II”在中西药组表达升高,在肾康灵组亦升高,且两组的表达量几乎相等,在泼尼松组无显著变化,故认为是肾康灵药物治疗靶点,而非泼尼松治疗靶点。“Complement factor B”是补体系统旁路途径的组成部分,蛋白质组学分析证明 Complement factor B 在肾脏疾病中的肾小球硬化症病理类型中表达显著升高^[14]。“Vitronectin”“osteopontin”“Coagulation factor XII”不仅在中西药组高表达,在肾康灵组同样也是高表达,故进一步肯定这 3 种蛋白为肾康灵药物治疗靶点。此仅为实验初探性研究,仍需结合大样本临床研究进一步筛选和验证。

参考文献

- [1] 中华医学会儿科学分会肾脏病学组. 儿童常见肾脏疾病诊治循证指南(一): 激素敏感、复发/依赖肾病综合征诊治循证指南(试行) [J]. 中华儿科杂志, 2009, 47(3): 167-170.
- [2] 郑健, 曾章超, 翁端怡, 等. 中西医结合治疗小儿频发

发性肾病 30 例的临床观察 [J]. 中国中西医结合杂志, 2001, 21(8): 572.

- [3] LEE VW, HARRIS DC. Adriamycin nephropathy: a model of focal segmental glomerulosclerosis [J]. Nephrology (Carlton), 2011, 16(1): 30-38.
- [4] DEVARAJAN P. Proteomics for the investigation of acute kidney injury [J]. Contrib Nephrol, 2008, 160: 1-16. doi: 10.1159/000125893.
- [5] BELLEI E, CUOGHI A, MONARI E, et al. Proteomic analysis of urine in medication-overuse headache patients: possible relation with renal damages [J]. J Headache Pain, 2012, 13(1): 45-52.
- [6] FREUE GV, SASAKI M, MEREDITH A, et al. Proteomic signatures in plasma during early acute renal allograft rejection [J]. Mol Cell Proteomics, 2010, 9(9): 1954-1967.
- [7] DEVARAJAN P. The use of targeted biomarkers for chronic kidney disease [J]. Adv Chronic Kidney Dis, 2010, 17(6): 469-479.
- [8] ANTONELLOU MH, KRIEBARDIS AG, VELENTZAS AD, et al. Oxidative stress-associated shape transformation and membrane proteome remodeling in erythrocytes of end stage renal disease patients on hemodialysis [J]. J Proteomics, 2011, 74(11): 2441-2452.
- [9] KALANTARI S, NAFAR M, SAMAVAT S, et al. Urinary prognostic biomarkers in patients with focal segmental glomerulosclerosis [J]. Nephrourol Mon, 2014, 6(2): e16806.
- [10] GERHARD DS, WAGNER L, FEINGOLD EA, et al. The status, quality, and expansion of the NIH full-length cDNA project: the Mammalian Gene Collection (MGC) [J]. Genome Res, 2004, 14(10B): 2121-2127.
- [11] VERMAAT JS, VAN DER TWEEL I, MEHRA N, et al. Two-protein signature of novel serological markers apolipoprotein-A2 and serum amyloid alpha predicts prognosis in patients with metastatic renal cell cancer and improves the currently used prognostic survival models [J]. Ann Oncol, 2010, 21(7): 1472-1481.
- [12] LAI X, BACALLAO RL, BLAZER-YOST BL, et al. Characterization of the renal cyst fluid proteome in autosomal dominant polycystic kidney disease (ADPKD) patients [J]. Proteomics Clin Appl, 2008, 2(7/8): 1140-1152.
- [13] SINGH K, MUKHERJEE AB, DE VOUGE MW, et al. Differential processing of osteopontin transcripts in rat kidney- and osteoblast-derived cell lines [J]. J Biol Chem, 1992, 267(33): 23847-23851.
- [14] ZHANG Y, XU B, KINOSHITA N, et al. Label-free

quantitative proteomic analysis reveals strong involvement
of complement alternative and terminal pathways in human

glomerular sclerotic lesions [J]. J Proteomics, 2015,
123:89-100. doi: 10.1016/j.jprot.

Impact of *Shenkangling* (肾康灵) on the Urinary Proteomics of Adriamycin Nephropathy Model Rats

AI Si^{1,2}, ZHENG Jian^{1,2}, QIU Caixia¹, LU Xiaolu¹, WANG Sijia¹, LIU Yunjun¹

(1. Renmin Hospital Affiliated to Fujian University of Traditional Chinese Medicine, Fuzhou, 350004; 2. Fujian University of Traditional Chinese Medicine)

ABSTRACT Objective To explore the diagnostic marker of primary nephrotic syndrome (PNS) and the therapeutic target of *Shenkangling* (肾康灵) decoction. **Methods** Fifty SD rats were randomized into normal group, model group, prednisone group, the herb-western medicine group and the *Shenkangling* group, 10 in each group. Except for the normal group rats in other groups were injected adriamycin 5.5 mg/kg by tail vein on the first day of the test to establish adriamycin nephropathy rats models. One week after modeling, the normal group and the model group were given 3 ml distilled water in the morning and in the afternoon respectively by gavage. The prednisone group was given prednisone suspension 5.5 mg/kg in the morning by gavage, 3ml distilled water in the afternoon. The *Shenkangling* group was given *Shenkangling* decoction 1.5 g/100 g in the morning by gavage, 3ml distilled water in the afternoon. The herb-western medicine group was given prednisone suspension 5.5 mg/kg in the morning by gavage, *Shenkangling* decoction 1.5 g/100 g in the afternoon. After 22 days, urine was collected and differential proteins in all groups were examined by isobaric tags for relative and absolute quantitation (iTRAQ) quantitative analysis technology combined with mass spectrometric method. **Results** There were three significantly differential proteins in the model group and the normal group, including highly expressed protein afamin, isoform CRA_a, as well as lowly expressed proteins gro and Cystatin related protein 2. Compared the herb-western medicine group with the model group, there were six significantly differential proteins, including highly expressed proteins apolipoprotein A-II, Apolipoprotein A-IV, Vitronectin, osteopontin and Coagulation factor XIII, as well as lowly expressed protein afamin, isoform CRA_a. Compared the *Shenkangling* group with the model group, there were six significantly differential proteins, including highly expressed proteins apolipoprotein A-II, Complement factor B, Vitronectin, osteopontin and Coagulation factor XIII, as well as lowly expressed protein afamin, isoform CRA_a. **Conclusion** Gro, Cystatin related protein 2, afamin and isoform CRA_a might be used as the diagnostic markers of PNS. Afamin, isoform CRA_a, apolipoprotein A-II, Complement factor B, Vitronectin, osteopontin and Coagulation factor XIII might be used as the therapeutic target of *Shenkangling*.

Keywords primary nephrotic syndrome; *Shenkangling*; adriamycin nephropathy; proteomics

(收稿日期: 2015-07-13; 修回日期: 2015-11-12)

编辑: 邓 媛

2015 年 《中国中医基础医学杂志》 征订启事

《中国中医基础医学杂志》是由中国中医科学院中医基础理论研究所主办的学术性期刊,于 1995 年元月创刊。本刊为中文核心期刊、中国科技核心期刊,为中国科学引文数据库、中国学术期刊、中国生物学文摘和文献、中文科技期刊等数据库收录期刊。期刊网站: www.zyjc.ac.cn。

本刊设有理论探讨、中医方法学、实验研究、中医多学科研究、临床基础、针灸研究、方药研究、中医写作与翻译、临证验案等栏目,适于中医及中西医结合科研、教学、临床人员阅读。

本刊为月刊,大 16 开。国内刊号: CN11-3554/R; 国际刊号: ISSN 1006-3250。每月 28 日出版。每册定价 10 元,全年定价 120 元。国外邮发代号: M-4690,中国国际图书贸易总公司(北京 399 信箱)订阅;国内各地邮局均可订阅,国内邮发代号: 80-330;亦可向本刊编辑部汇款邮购。汇款地址:北京市东直门内南小街 16 号,中国中医基础医学杂志社编辑部收,邮政编码: 100700,请在附言栏中写明欲购期刊年度、期号及册数。