

DOI: 10.13288/j.11-2166/r.2019.18.016

艾灸“足三里”对疲劳模型大鼠海马炎症因子及小胶质细胞活化的影响

王红梅¹, 李天歌¹, 蒲荣², 水玲³, 白树梅³, 卢峻^{*}, 陈英松³

(1. 北京中医药大学针灸推拿学院, 北京市朝阳区北三环东路 11 号, 100029; 2. 解放军总医院第八医学中心; 3. 内蒙古医科大学)

摘要 目的 探讨艾灸足三里治疗疲劳的可能作用机制。方法 24 只 SD 大鼠随机分为正常组、模型组和艾灸组, 每组 8 只。模型组和艾灸组大鼠以慢性负重力竭游泳 21 天建立疲劳大鼠模型。艾灸组在造模同时艾灸大鼠双侧“足三里”, 隔日 1 次, 共 11 次; 正常组和模型组不予处理。干预前后比较各组大鼠力竭游泳时间。干预后观察各组大鼠旷场实验行为, 采用实时荧光定量 PCR 法检测海马白细胞介素 1 β (IL-1 β)、白细胞介素 6 (IL-6)、肿瘤坏死因子 α (TNF- α) mRNA 表达, 采用免疫组化法检测海马 (CA1 区、CA3 区) 小胶质细胞标记物离子钙接头蛋白 1 (Iba-1) 表达。结果 干预后艾灸组力竭游泳时间为 (658.00 $\pm$ 250.76) s, 较模型组 (263.38 $\pm$ 105.87) s 显著延长 ($P < 0.01$)。各组大鼠旷场实验的水平移动距离、垂直移动距离差异均无统计学意义 ($P > 0.05$)。与正常组比较, 模型组大鼠海马 IL-1 β 、IL-6、TNF- α mRNA 表达及 Iba-1 表达升高 ($P < 0.01$); 与模型组比较, 艾灸组大鼠海马 IL-6 mRNA 表达及 Iba-1 表达降低 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。结论 艾灸“足三里”可改善大鼠运动性疲劳, 其机制可能与抑制海马小胶质细胞的活化和炎症因子有关。

关键词 艾灸; 足三里; 疲劳; 小胶质细胞; 离子钙接头蛋白 1; 炎症因子

随着人类社会的发展, 慢性疲劳作为一种亚健康状态, 其防治日益受到关注^[1]。研究显示, 长期大负荷、超强度运动容易产生运动性疲劳, 可引起机体炎症反应和免疫功能的抑制, 进一步导致慢性疲劳的出现^[2]。艾灸具有温通气血、扶正补虚的功效。大量研究^[3-5]显示, 艾灸对消除运动性疲劳有促进作用。足三里是足阳明胃经的合穴, 具有调理脾胃、补益气血、补虚扶正的作用, 是治疗运动性疲劳的常用穴^[6]。我们前期研究^[8-9]显示, 艾灸可以降低疲劳大鼠外周促炎性细胞因子水平。本研究采用慢性力竭游泳建立疲劳大鼠模型, 进一步观察艾灸足三里对疲劳所致大脑神经炎症反应及小胶质细胞活化的影响, 探讨艾灸缓解疲劳的可能机制。

1 材料和方法

1.1 实验动物

SPF 级 SD 大鼠 24 只, 雄性, 体重 (200 $\pm$ 20) g, 由北京维通利华实验动物技术有限公司提

供, 实验动物许可证号: SCXK (京) 2016-0011。实验前适应性喂养 1 周, 自由饮水和摄食。

1.2 主要试剂与仪器

SYBR qPCR 试剂盒 (批号: 005196-20-1, 美国 Kapa Biosystems 公司); 逆转录试剂盒 (批号: 50231, 北京康为世纪生物科技有限公司); Trizol 提取试剂盒 (批号: 15596026, 美国 Life 公司); 小胶质细胞标记物离子钙接头蛋白 1 (Iba-1) 多克隆抗体 (批号: ab178847, 英国 Abcam 公司); 兔二步法免疫组化试剂盒 (批号: K182430C)、二氨基联苯胺 (DAB) 显色试剂盒 (批号: K187721A), 均为北京中杉金桥公司产品; 4% 多聚甲醛 (批号: DE-0094, 北京拜尔迪生物技术有限公司); 氨基甲酸乙酯 (批号: 20130609, 上海化学试剂有限公司)。

实时定量 PCR 仪 (型号 ABI7500, 美国应用生物公司); 半自动轮转式切片机 (型号 RM2245, 德国 Leica 公司); 显微镜 (型号 DP72, 日本 Olympus 公司); 旷场实验仪 (型号 7431, 意大利 UGO BASILE 公司); 自贴式艾炷 (高 1 cm, 直径

基金项目: 国家自然科学基金 (81560802)

* 通讯作者: lumed@126.com, 13810903044

0.8 cm, 北京中研太和医疗器械有限公司)。

1.3 模型建立

参照文献 [9-10], 大鼠适应性饲养 1 周后, 在水温 $(30 \pm 2)^\circ\text{C}$ 、水深 50 cm 的水桶 (半径 26 cm) 里适应性游泳 3 天, 每日 1 次, 每次 20 min。随后大鼠每日 1 次负重 (所负铅坠重量为体重的 5%) 力竭游泳, 持续 21 天。游泳条件同适应性游泳。大鼠浮在水面不动时, 用棒驱赶使其维持运动状态。当大鼠游泳动作明显失调、不能再坚持, 且沉入水底 10 s 不能回到水面时视作力竭。力竭后大鼠被及时捞起, 用毛巾擦干后置笼中休息。

1.4 动物分组和干预方法

24 只 SD 大鼠根据随机数字表法分为正常组、模型组和艾灸组, 每组 8 只。正常组大鼠正常摄食饮水, 不接受任何刺激。模型组和艾灸组大鼠建立大鼠疲劳模型, 艾灸组从第 1 天游泳结束后开始用自贴式小艾炷施灸双侧“足三里”, 每穴灸 3 壮, 隔日 1 次, 共 11 次。参照《实验针灸学》[11]取“足三里” (膝关节后外侧, 在腓骨小头下约 5 mm 处)。

1.5 观察指标及方法

1.5.1 行为学观察 1) 力竭游泳时间: 记录大鼠从入水至力竭的时间。在实验第 1 天、21 天对模型组与艾灸组进行观测。2) 旷场实验: 在实验结束后观测大鼠 5 min 内在旷场仪内的水平移动距离和垂直移动距离, 以反映大鼠的自主行为和探究行为 [12]。

1.5.2 海马白细胞介素 1β (IL- 1β)、白细胞介素 6 (IL-6) 及肿瘤坏死因子 α (TNF- α) mRNA 表达 采用实时荧光定量 PCR (RT-PCR) 法检测。实验结束后每组采用随机数字表法选取 5 只大鼠, 以 20% 氨基甲酸乙酯 (1 g/kg) 麻醉断头后迅速取出海马, 置于液氮中, 然后移入 -80°C 冰箱保存。采用 RT-PCR 法检测 IL- 1β 、IL-6 及 TNF- α 的 mRNA 表达, 引物由 Intrivigon 公司合成。按 Trizol 提取试剂盒操作说明书提取 RNA; 并按逆转录试剂盒说明将其逆转录成 cDNA; 以一个样本的 cDNA 稀释后作为标准品做基因的定量 PCR, 扩增条件为 95°C 15 min 变性, 94°C 15 s, 57°C 30 s, 72°C 45 s; 共 40 个循环, 最后是 72°C 10 min 延伸。引物序列: IL- 1β : 上游 5'-GAGTCTGCA-CAGTTCCTCCAA-3', 下游 5'-TGTCCCGACCATT-GCTGTTT-3', 片段长度 88bp; IL-6: 上游 5'-CACTTCACAAGTCGGAGGCT-3', 下游 5'-TCTGA-CAGTGCATCATCGCT-3', 片段长度 114bp; TNF-

α : 上游 5'-CGTCAGCCGATTTGCCATTT-3', 下游 5'-CTCCCTCAGGGGTGTCCTTA-3', 片段长度 89bp; β -actin: 上游 5'-ACGTTGACATCCGTAAAGAC-3', 下游 5'-GGACTCATCGTACTCCTGCT-3', 片段长度 81bp。反应结束后, 根据测得的样品阈值 (Ct) 及标准曲线, 求出待测样品的相对起始浓度, 用目的基因相对起始拷贝数除以 β -actin 的相对起始拷贝数, 得到目的基因 mRNA 表达相对值。

1.5.3 海马 Iba-1 表达 采用免疫组化法检测。实验结束后每组剩余的 3 只大鼠进行常规左心室灌流固定。先快速灌注生理盐水约 150 ml, 至大鼠肝脏发白, 随即灌注 4% 多聚甲醛约 250 ml。取脑放入 4% 多聚甲醛后固定, 常规石蜡包埋切片, 片厚 $10\ \mu\text{m}$ 。室温下石蜡切片复温 15 min。放置在 60°C 恒温箱中烘烤 30 min。脱蜡至水, 热修复抗原后, PBS 洗 5 min $\times$ 3。滴加山羊血清, 37°C 20 min。滴加一抗 (Iba-1 抗体, 1: 8000), PBS 洗 5 min $\times$ 3。滴加二抗, 37°C 20 min。PBS 洗 5 min $\times$ 3。DAB 显色, 苏木素轻度复染, 乙醇梯度脱水, 二甲苯透明, 中性树胶封片, 显微镜下观察并照相。应用 Image Pro Plus 6.0 图像分析软件分析海马 CA1 区、CA3 区 Iba-1 免疫组化染色的平均光密度值 (MOD)。

1.6 统计学方法

采用 SPSS 20.0 软件进行数据处理。计量数据符合正态分布以均数 $\pm$ 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 采用单因素方差分析, 并进一步使用 LSD 法进行组间差异分析。两组力竭游泳时间比较采用 t 检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 模型组和艾灸组大鼠不同时间力竭游泳时间比较

表 1 示, 第 1 天两组大鼠力竭游泳时间比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$); 第 21 天与模型组比较, 艾灸组大鼠力竭游泳时间显著延长 ($P < 0.01$)。

表 1 模型组和艾灸组大鼠不同时间力竭游泳时间比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	第 1 天	第 21 天
模型组	8	988.50 $\pm$ 236.52	263.38 $\pm$ 105.87
艾灸组	8	1001.38 $\pm$ 232.30	658.00 $\pm$ 250.76*

注: 与模型组比较, * $P < 0.01$

2.2 干预后各组大鼠旷场实验结果比较

表 2 示, 干预后各组大鼠旷场实验的水平移动距离、垂直移动距离差异均无统计学意义 ($P > 0.05$)。

表 2 干预后各组大鼠旷场实验结果比较 (cm, $\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	水平移动距离	垂直移动距离
正常组	8	1233.38 $\pm$ 79.69	141.50 $\pm$ 39.83
模型组	8	1092.88 $\pm$ 262.56	120.88 $\pm$ 45.53
艾灸组	8	1175.75 $\pm$ 78.87	133.75 $\pm$ 36.59

2.3 干预后各组大鼠海马 IL-1 β 、IL-6、TNF- α mRNA 表达比较

表 3 示, 干预后与正常组比较, 模型组大鼠海马 IL-1 β 、IL-6、TNF- α mRNA 表达显著升高 ($P < 0.01$)。与模型组相比, 艾灸组海马 IL-6 mRNA 表达显著降低 ($P < 0.05$), 而 IL-1 β 、TNF- α mRNA 表达差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。

表 3 干预后各组大鼠海马 IL-1 β 、IL-6、TNF- α mRNA 表达比较 ($2^{-\Delta\Delta Ct}$, $\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	IL-1 β	IL-6	TNF- α
正常组	5	0.28 $\pm$ 0.18	0.22 $\pm$ 0.10	0.34 $\pm$ 0.18
模型组	5	0.47 $\pm$ 0.09*	0.59 $\pm$ 0.20*	0.72 $\pm$ 0.12*
艾灸组	5	0.33 $\pm$ 0.24	0.25 $\pm$ 0.17 Δ	0.58 $\pm$ 0.23

注: IL-1 β , 白细胞介素 1 β ; IL-6, 白细胞介素 6; TNF- α , 肿瘤坏死因子 α ; 与正常组比较, * $P < 0.01$; 与模型组比较, $\Delta P < 0.05$ 。

2.4 干预后各组大鼠海马小胶质细胞标记物 Iba-1 表达比较

图 1 示, 免疫组化染色显示, 正常组大鼠海马 CA1 区、CA3 区可见散在分布的 Iba-1 反应阳性细

胞, 胞体瘦长, 有伸向各个方向的呈分支状细长的弯曲突起, 呈典型“分枝样”, 呈现静息状态。与正常组比较, 干预后模型组大鼠 Iba-1 反应阳性细胞胞体变大, 突起短而粗大, 分支回缩减少, 呈现活化状态。艾灸组大鼠 Iba-1 反应阳性细胞活化形态较模型组明显改善, 胞体肥大减轻, 趋向静息形态。表 4 示, 与正常组比较, 干预后模型组大鼠海马 CA1、CA3 区 Iba-1 阳性细胞 MOD 值显著升高 ($P < 0.01$); 与模型组比较, 艾灸组 CA1、CA3 区 Iba-1 阳性细胞 MOD 值明显降低 ($P < 0.01$)。

表 4 干预后各组大鼠海马 CA1 区、CA3 区 Iba-1 表达比较 (MOD 值, $\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	CA1	CA3
正常组	3	0.015 $\pm$ 0.001	0.015 $\pm$ 0.001
模型组	3	0.020 $\pm$ 0.017*	0.018 $\pm$ 0.001*
艾灸组	3	0.016 $\pm$ 0.001 Δ	0.016 $\pm$ 0.001 Δ

注: Iba-1, 离子钙接头蛋白 1; 与正常组相比, * $P < 0.01$; 与模型组相比, $\Delta P < 0.01$ 。

3 讨论

中医学没有疲劳的病名, 但从其病因和症状看, 可归属于中医学“虚劳”“劳倦”等范畴。李东垣于《脾胃论》中提出“形体劳役则脾病”, 张介宾《景岳全书卷十七·脾胃》记载“盖脾胃之伤于外者, 惟劳倦最能伤脾, 脾伤则表里相通, 而胃受其困者为甚”, 王肯堂亦云“脾主四肢, 若劳力辛苦, 伤其四肢, 则根本竭矣”, 可见疲劳多因劳致虚, 病位主要在脾胃。艾灸有温通经脉、调和气血、扶正补虚之功效^[3]。孙思邈《千金翼方》言:“一切病, 皆灸三里三壮”, 《通玄指要

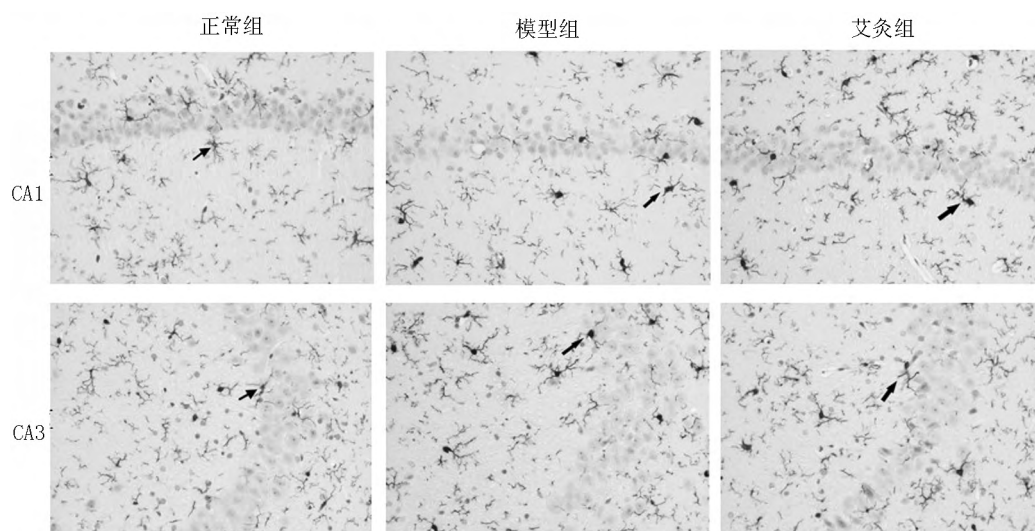


图 1 各组大鼠海马 CA1 区、CA3 区离子钙接头蛋白 1 (Iba-1) 表达免疫组化染色 ($\times 400$)

赋》曰“三里却五劳之羸瘦”。足阳明胃经为多气多血之经，足三里是足阳明胃经的合穴，为补虚保健的要穴，可以调理脾胃、扶正补虚、补益气血，是目前针灸治疗运动性疲劳研究中常用的穴位之一^[4]。艾灸足三里，使脾胃健运，气血生化有源，可以有效缓解疲劳症状，有助于恢复体力。本实验结果显示，艾灸组力竭时间较模型组显著增加，说明艾灸可有效缓解大鼠运动性疲劳，与既往研究结果^[5]一致。

长期大强度运动，可以引起机体免疫炎症反应，同时也是一种典型的慢性应激^[6]。小胶质细胞是神经炎症主要的效应细胞，当出现炎症反应时小胶质细胞是最先被活化的效应细胞^[7-18]。其过度活化后会释放大细胞因子，特别是促炎性细胞因子如 IL-1 β 、IL-6、TNF- α 等，加重炎症反应并产生细胞毒性作用，损伤海马神经细胞^[9]。Iba-1 是小胶质细胞的特异性抗体，当出现脑部炎症或脑部损伤时，小胶质细胞活化的同时也导致 Iba-1 表达增加。临床研究^[20]发现，在慢性疲劳患者海马、丘脑等部位存在大量活化的小胶质细胞，提示活化的小胶质细胞参与了慢性疲劳的病理过程。本研究结果显示，模型组大鼠海马 IL-1 β 、IL-6、TNF- α mRNA 表达显著增加，海马 Iba-1 表达升高。而艾灸组大鼠海马内 Iba-1 及 IL-6 mRNA 表达降低，表明艾灸可下调慢性疲劳大鼠海马小胶质细胞的活化，降低促炎性细胞因子水平。有研究显示，运动大鼠 TNF- α 增高的同时伴有单核细胞数目的升高^[21]，单核细胞是 TNF- α 的主要来源；而巨噬细胞是 IL-1 β 的主要来源^[22]。本研究未观察到艾灸后海马 IL-1 β 、TNF- α mRNA 下降，可能与艾灸没有显著影响大鼠单核细胞和巨噬细胞的数量有关。

综上所述，艾灸“足三里”可改善运动性疲劳，其机制可能与艾灸抑制海马小胶质细胞的活化和炎症因子增高，从而缓解脑内炎症反应和海马神经元损伤有关。

参考文献

- [1] 中华中医药学会. 亚健康中医临床指南 [M]. 北京: 中国中医药出版社, 2006: 10.
- [2] EDWARDS JP, WALSH NP, DIMENT PC, et al. Anxiety and perceived psychological stress play an important role in the immune response after exercise [J]. Exerc Immunol Rev, 2018, 24: 26-34. PMID: 29461966.
- [3] 刘阳, 王蓓蓓, 高洁, 等. 不同时间艾灸预处理对大鼠运动疲劳缓解作用的实验研究 [J]. 湖南中医杂志, 2016, 32(1): 162-163, 168.

- [4] ZHOU L, LIANG Y, ZHOU X, et al. Effect of moxibustion at Shénquè (神阙 CV 8) on anti-exercise-induced fatigue in exhaustive rats in varying degrees [J]. World J Acupunct Moxibust, 2017, 27(4): 35-40.
- [5] 赵霞, 赵瑞玲. 艾灸命门、足三里对运动性疲劳恢复的影响研究 [J]. 山西大同大学学报(自然科学版), 2017, 33(4): 87-88, 92.
- [6] 卢丽, 张红林, 图娅, 等. 近 5 年针灸推拿消除运动性疲劳研究进展 [J]. 针灸临床杂志, 2012, 28(1): 69-71.
- [7] 许慧倩, 张宏如, 顾一煌. 艾灸防治运动性疲劳的研究进展 [J]. 针刺研究, 2014, 39(2): 169-173.
- [8] 陈英松, 卢峻, 吴七柱, 等. 艾灸对疲劳模型大鼠血清 IL-6 和 IL-10 的影响 [J]. 山东中医杂志, 2008, 27(6): 404-405.
- [9] LU J, ZHANG HL, YIN ZZ, et al. Moxibustion attenuates inflammatory response to chronic exhaustive exercise in rats [J]. Int J Sports Med, 2012, 33(7): 580-585.
- [10] 侯莉娟, 刘晓莉, 乔德才. 大鼠游泳运动疲劳模型建立的研究 [J]. 实验动物科学与管理, 2005, 22(1): 1-3.
- [11] 张露芬. 实验针灸学 [M]. 北京: 化学工业出版社, 2010: 9.
- [12] 王维刚, 刘震泽, 吴文婷, 等. 旷场实验在小鼠行为分析中的应用 [J]. 中国细胞生物学学报, 2011, 33(11): 1191-1196.
- [13] 张建斌, 王玲玲, 胡玲, 等. 艾灸温通作用的理论探讨 [J]. 中国针灸, 2011, 31(1): 51-54.
- [14] 董晓敏, 吴立红, 孙清华, 等. 经皮穴位电刺激足三里抗运动性疲劳的临床研究 [J]. 浙江中医杂志, 2008, 43(6): 353-354.
- [15] 张皓然, 张宏如, 卢圣锋, 等. 逆灸对力竭运动大鼠心肌组织中 AMPK、mTOR 的影响 [J]. 中国针灸, 2017, 37(5): 521-526.
- [16] DIMENT BC, FORTES MB, EDWARDS JP, et al. Exercise intensity and duration effects on in vivo immunity [J]. Med Sci Sports Exerc, 2015, 47(7): 1390-1398.
- [17] CHERRY J, OLSCHOWKA J, O'BANION M. Neuroinflammation and M2 microglia: the good, the bad, and the inflamed [J]. J Neuroinflammation, 2014, 11: 98. doi: 10.1186/1742-2094-11-98.
- [18] TANG Y, LE W. Differential roles of M1 and M2 microglia in neurodegenerative diseases [J]. Mol Neurobiol, 2016, 53(2): 1181-1194.
- [19] KINGWELL K. Neurodegenerative disease: microglia in early disease stages [J]. Rev Neurol, 2012, 6(8): 475. doi: 10.1038/nrneurol.2012.172.
- [20] NAKATOMI Y, MIZUNO K, ISHII A, et al. Neuroinflammation in patients with chronic fatigue syndrome/myalgic encephalomyelitis: An ¹¹C-(R)-PK11195 PET study [J]. J Nucl Med, 2014, 55(6): 945-950.

[1] MOLDOVEANU AI, SHEPHARD RJ, SHEK PN. Exercise elevates plasma levels but not gene expression of IL-1beta, IL-6, and TNF-alpha in blood mononuclear cells [J]. J Appl Physiol (1985), 2000, 89(4): 1499-1504.

[2] CARMICHAEL MD, DAVIS JM, MURPHY EA, et al. Role of brain macrophages on IL-1beta and fatigue following eccentric exercise-induced muscle damage [J]. Brain Behav Immun, 2010, 24(4): 564-568.

Effects of Moxibustion at “Zusanli (ST 36)” on Inflammatory Factors and Microglia Activation in Hippocampus of Fatigue Model Rats

WANG Hongmei¹, LI Tiange¹, PU Rong², SHUI Ling³, BAI Shumei³, LU Jun¹, CHEN Yingsong³

(1. School of Acupuncture, Moxibustion and Tuina, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029; 2. The Eighth Medical Center of PLA General Hospital; 3. Inner Mongolia Medical University)

ABSTRACT Objective To explore the possible action of moxibustion at Zusanli (ST 36) in treating fatigue. **Methods** A total of 24 SD rats were randomly divided into a normal group, a model group, and a moxibustion group, with 8 rats in each group. Rats in the model group and the moxibustion group were exposed to chronic loaded gravity for 21 days to establish a fatigue rat model. In the moxibustion group, moxibustion on bilateral “Zusanli (ST 36)” was performed, once every other day for 11 times. The normal group and the model group were not treated. The exhaustive swimming time of each group was compared before and after the intervention. After the intervention, the open-field experimental behavior of the rats in each group was observed. Real-time quantitative polymerase chain reaction (PCR) was used to detect the mRNA expression of interleukin-1β (IL-1β), interleukin-6 (IL-6) and tumor necrosis factor-α (TNF-α) in hippocampus. Immunohistochemistry was used to detect the expression of microglia marker ion-calcium adaptor protein 1 (Iba-1) in hippocampus (CA1 region, CA3 region). **Results** After intervention, the exhaustive swimming time of the moxibustion group was (658.00 ± 250.76) s, which was significantly prolonged than that of the model group (263.38 ± 105.87) s ($P < 0.01$). There was no significant difference in the horizontal movement distance and vertical movement distance of the open-field test between the groups ($P > 0.05$). Compared with the normal group, the expression of IL-1β, IL-6, TNF-α mRNA and Iba-1 in the hippocampus of the model group was increased ($P < 0.01$). Compared with the model group, the hippocampus IL-6 mRNA expression of the moxibustion group and Iba-1 expression were decreased ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). **Conclusion** Moxibustion at “Zusanli (ST 36)” could improve exercise-induced fatigue in rats, and its mechanism may be related to inhibition of hippocampal microglial activation and inflammatory factors.

Keywords moxibustion; Zusanli (ST 36); fatigue; microglia; ion-calcium adaptor protein 1; inflammatory factors
(收稿日期: 2019-03-04; 修回日期: 2019-06-18)

编辑: 邓 媛

欢迎邮购 《中医杂志》 过刊

1988、1989、2000、2001 年合订本, 每本 100 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(缺 5、6 期)—2013 年每册 9.80 元, 2014(缺 21 期)—2017 年(缺 3、5、15、18 期) 每册 15 元, 2018 年每册 20 元(缺 5、7、9 期)。2011—2013 年合订本(每年 4 本), 每年 280 元, 2014、2015、2016、2017 年合订本(每年 4 本), 每年 400 元。2018 年合订本, 600 元(共 4 本)。《中医杂志》2006—2008 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市东直门内南小街 16 号, 收款人: 中医杂志社

或关注《中医杂志》官方微信 (zyzzgz) 购买。邮编: 100700, 电话: (010) 64089195。