

doi:10.3969/j.issn.1671-038X.2016.07.04

健脾清化中药复方对慢性萎缩性胃炎大鼠 TLR4/NF- κ B/COX-2 信号通路的影响

李思汉¹, 黄铭涵², 黄健³, 林平², 林建龙², 钟国栋², 林煜¹, 吴菱菱¹

(¹福建中医药大学,福建 福州 350108;

²福建中医药大学附属第二人民医院 脾胃病科,福建 福州 350003;

³福建医科大学教学医院 福建省妇幼保健院,福建 福州 350001)

摘要:[目的]探讨健脾清化中药复方对慢性萎缩性胃炎(chronic atrophic gastritis,CAG)大鼠 TLR4/NF- κ B/COX-2 信号通路的影响。[方法]wistar 大鼠随机分为空白组、造模组。造模组大鼠前12周利用20 mmol/L 去氧胆酸钠溶液灌胃(2 ml/次/d)联合60%乙醇空腹灌胃(每次2 ml,2次/周)及0.5 g/L 氨水自由饮用,建立CAG大鼠模型。确认造模成功后,将造模组大鼠随机分为模型组、中药低剂量组、中药高剂量组各8只;将空白组大鼠随机分为空白对照组和空白中药组各8只。中药低剂量、高剂量组、空白中药组分别按照1.5 ml/kg,6 ml/kg,6 ml/kg 的健脾清化复方原液剂量并予生理盐水补齐至4 ml 灌胃,空白对照组及CAG模型组给予生理盐水4 ml 灌胃,均1次/d,给药30 d。观察各组大鼠的胃组织病理组织学变化,以及对TLR4、NF- κ B、COX-2、MYD88 mRNA 表达量的影响。[结果]中药干预组胃黏膜萎缩情况明显好转,与模型组比较显著差异($P<0.01$),以中药高剂量组疗效更为显著。与空白组比较,模型组、中药高、低剂量组 TLR4、NF- κ B、COX-2、MYD88 mRNA 水平均明显增高($P<0.01$)。同模型组比较,中药高、低剂量组 TLR4、NF- κ B、COX-2、MYD88 mRNA 水平有下调($P<0.01$),特别以中药高剂量组表现明显。[结论]健脾清化中药复方对CAG大鼠胃黏膜组织病理有明显改善作用,并可有效阻断TLR4/NF- κ B/COX-2 信号通路的持续活化。

关键词:健脾清化中药复方;慢性萎缩性胃炎;TLR4/NF- κ B/COX-2 信号通路

中图分类号:R573.3

文献标志码:A

文章编号:1671-038X(2016)07-0504-05

Effects of Jianpi Qinghua TCM compound on the TLR4/NF- κ B/COX-2 signaling pathway in rats with chronic atrophic gastritis

LI Si-han¹, HUANG Ming-han², HUANG Jian³, LIN Ping², LIN Jian-long²,
ZHONG Guo-dong², LIN Yu¹, WU Ling-ling¹

(¹Fujian University of Traditional Chinese Medicine, Fuzhou 350108, China; ²Department of Digestive, the Second People's Hospital Affiliated to Fujian University of Traditional Chinese Medicine, Fuzhou 350003, China; ³Maternity and Child Care Centers in Fujian Province, Fuzhou 350001, China)

Corresponding author: HUANG Ming-han, E-mail: huangminghan2010@163.com

Abstract:[Objective]To observe the effects of Jianpi Qinghua TCM compound on the activity of the TLR4, NF- κ B, COX-2 and MYD88 signaling pathway in rats with chronic atrophic gastritis(CAG). [Methods]CAG rat models were established by intragastric administration with deoxycholic acid sodium salt(2 ml once a day)with concentration of 20 mmol/L, 60% ethanol(2 ml twice a week)lavaging on an empty stomach and giving 0.5 g/L aqueous ammonia to drink freely for 12 weeks. CAG models were divided into 3 groups at random: model group(MG), low-dose group of Chinese medicine(LDG)and high-dose group of Chinese medicine(HDG), 8 rats per group. Normal rats were randomly divided into blank control group

收稿日期:2016-04-09

基金项目:福建省卫生厅青年科研项目(No:2013-1-40);福建省自然科学基金(No:2015J01403);福建省中青年教师教育科研项目(No:JA15247);福建省科技厅重点项目(No:2015Y0023);福建省卫生厅中医科研项目(No:wzpw201305)

作者简介:李思汉,男,硕士研究生,研究方向:脾胃病的基础与临床研究

通讯作者:黄铭涵, E-mail: huangminghan2010@163.com

(BCG) and blank control group of Chinese medicine (BCGCM), 8 rats per group. 1.5 ml/kg, 6 ml/kg and 6 ml/kg of Jianpi Qinghua TCM compound were given to the LDG, HDG and BCGCM with the dose and up to 4 ml with normal saline, once a day for 30 days. Respectively, animals in BCG and MG were only given 4 ml normal saline. Pathological changes of the rats stomach tissue were observed and the expression of TLR4, NF- κ B, COX-2 and MYD88 mRNA was measured respectively. [Results] The gastric mucosal atrophy in the groups treated with Jianpi Qinghua TCM compound improved markedly, showing significant difference as compared with that in the MG ($P < 0.01$). The improvement in the HDG was the best. Besides, compared with the BCG, the expression of TLR4, NF- κ B, COX-2, MYD88 mRNA increased especially in the MG, LDG and HDG, showing statistical significance ($P < 0.01$). Compared with the MG, the expression of TLR4, NF- κ B, COX-2 and MYD88 mRNA reduced in the LDG and HDG, showing statistical significance ($P < 0.01$). [Conclusion] Jianpi Qinghua TCM compound had significant effect on improving the pathological changes of gastric mucosa. Besides, it could inhibit the continuous activation of TLR4, NF- κ B, COX-2 signal pathway.

Key words: Jianpi Qinghua TCM compound; CAG; TLR4, NF- κ B, COX-2 signaling pathway

慢性萎缩性胃炎 (chronic atrophic gastritis, CAG) 是我国常见的胃黏膜慢性病变, 人群胃镜检出率为 7.5%~13.8%^[1]。CAG 主要组织病理学改变是炎症、固有腺体萎缩或伴有肠化、异型增生, 与胃癌发生密切相关, WHO 将其列为重要的癌前状态^[2]。积极有效地开展对 CAG 的干预阻断对胃癌的防治具有重要意义。本研究旨在通过 CAG 模型大鼠体内实验, 系统探讨健脾清化中药复方对 CAG 胃黏膜上皮细胞 TLR4/NF- κ B/COX-2 信号通路的影响, 阐明其治疗作用和分子机制。

1 材料与方法

1.1 材料

动物: 45 只清洁级健康 Wistar 大鼠, 雄性体重 (110 $\pm$ 10)g, 购自上海斯莱克实验动物有限公司[合格证号: SCXK(沪): 0164377, 2012-0002]。

药物及试剂: 健脾清化中药复方组成: 白扁豆 220 g、茯苓 220 g、薏苡仁 220 g、茵陈 110 g、佩兰 66 g、白豆蔻 33 g、黄连 33 g、厚朴 66 g、赤芍 110 g, 由福建省药监局批准 (闽药制字 Z05104030), 经福建中医药大学附属第二人民医院制剂室生产和提供。煎液滤过, 滤液在 60 $^{\circ}$ C~70 $^{\circ}$ C 减压浓缩至 500 ml, 分装灭菌。动物实验部分药物按照成人 (按平均体重 60 kg 计算) 标准用药量为每日 30 ml, 根据药物剂量等效换算, 大鼠低、高剂量分别为 1.5 ml/kg、6 ml/kg。

主要试剂与仪器: RNase inhibitor (Takara), Trizol 全 RNA 提取试剂盒 (Invitrogen), MMLV 逆转录试剂盒 (Promega), Revertaid TM First Strand cDNA Synthesis Kit (Thermo), SYBR Premix Ex TaqTM (Perfect Real Time) 试剂盒 (Takara), dNTP mix (Takara)、实时荧光定量 Primers (生工

生物工程有限公司合成); IQ5 TM real-time PCR 检测系统 (Bio-Rad)。

1.2 方法

1.2.1 CAG 大鼠模型构建 45 只 Wistar 大鼠均于实验前适应喂养 1 周, 控制室温 20-24 $^{\circ}$ C。随机分出 16 只作为空白组; 另外 29 只作为 CAG 造模组。空白组大鼠在正常饲养环境中, 正常饮用水以及正常饲料饮食。CAG 造模组大鼠前 12 周以 0.5 g/L 氨水作为饮用水自由饮用, 20 mmol/L 去氧胆酸钠溶液每日灌胃 1 次, 每次 2 ml, 60% 乙醇每周空腹灌胃 2 次, 每次 2 ml, 饲养环境及饲料与空白组一致; 12 周末, 随机处死 3 只大鼠, 取胃行病理检查, 判断 CAG 模型成功与否。

1.2.2 实验分组及干预 造模结束后, 剔除死亡及随机处死的大鼠共计 5 只, 将余下造模成功的 24 只大鼠随机分为模型组 ($n=8$)、中药低剂量组 ($n=8$)、中药高剂量组 ($n=8$); 将空白组大鼠随机分为空白对照组 ($n=8$) 和空白中药组 ($n=8$)。其中中药低剂量、高剂量组分别按照 1.5 ml/kg、6 ml/kg 的健脾清化复方原液剂量每日灌胃 1 次; 空白中药组按照高剂量组灌胃; 根据大鼠体重将药液用生理盐水稀释至每次 4 ml/只。空白对照组及 CAG 模型对照组给予每次 4 ml/只生理盐水灌胃。灌胃共 30 天, 第 31 天处死。

1.2.3 标本采集 实验结束后, 对大鼠予脱臼处死。迅速剖腹取胃, 沿胃大弯剪开, 生理盐水冲洗, 并将胃黏膜平铺于硬纸板上, 肉眼观察了解胃黏膜变化情况, 于胃窦部剪取黄豆大组织 2 块, 立即放入液氮中统一冻存, 以便下一步行 RT-PCR 检测。余下的胃窦部组织迅速置于 4% 多聚甲醛溶液中, 固定后石蜡包埋。

(1)苏木精-伊红染色评价病理组织学改变:连续 4 μm 切片 5 张,HE 染色,光学显微镜下观察了解胃黏膜病理组织学改变。

(2) RT-PCR 检测 TLR4、NF- κ B、COX-2、MYD88 mRNA 的表达:提取组织总 RNA,反转录后进行 PCR 扩增,GAPDH 为内参。引物如下:TLR4 正义链:5'-GCCC TCAGTCTTGAGT-GTC-3',反义链:5'-TAACACAGGGCGCCTA-AGAG-3',产物长度 93bp;NF- κ B 正义链:5'-AGTTTGACGGTGAGCTGGTA-3',反义链:5'-GCCTCGGCCTGCCGCAAGCCT-3',产物长度 300bp;COX-2 正义链:5'-GGC TGTATATCT-GCTCTATATGC-3',反义链:5'-CCGCTTC-CTTTGTCCATCAG-3',产物长度 306bp;MYD88 正义链:5'-GGACTGCCAGAAATACATACGC-3',反义链:5'-CTTGTCTGTGGGACACTGCTC-3',产物长度 94bp;GAPDH 正义链:5'-CAACGG-GAAACCCATCACCA-3',反义链:5'-ACGCCAG-TAGACTCCACGACAT-3',产物长度 96bp。PCR 反应条件如下:50℃ 预变性 2min,95℃ 变性 10min;95℃ 15S,60℃ 1min,进行 40 个扩增循环。以 Ct 值表示目标基因表达量,GAPDH 为内参,根据 $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$ 计算各目标基因表达量。

1.3 统计学处理

采用 SPSS 16.0 软件统计数据,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示。计量资料先采用单因素方差分析(one-way ANOVA)后行 Dunnett's t 检验进行各组均值间两两比较;计数资料用秩和检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 大鼠死亡情况

空白组大鼠实验期间均全部存活。造模后期造模组大鼠死亡 2 只,治疗期间模型组死亡 1 只,中药干预组大鼠治疗期间无死亡。上述死亡大鼠均极度萎靡消瘦死亡,解剖可见胃黏膜苍白、变薄,病理取

材后光学显微镜下可见不同程度的胃黏膜萎缩变薄,固有层腺体数量减少,排列紊乱,伴异型增生或轻度肠上皮化生。

2.2 干预后各组胃组织病理变化比较

表 1 显示,空白中药组大鼠经健脾清化复方干预,胃黏膜未见异常改变。模型组大鼠,胃黏膜病变多集中在中、重度萎缩,发病率为 100%,无药物干预其萎缩改善不明显。经健脾清化复方治疗后,实验大鼠胃黏膜萎缩情况明显好转,经秩和检验与模型组比较显著差异($P < 0.01$),中药高剂量组有 3 只大鼠胃黏膜转正常,但与低剂量组比较无显著性差异($P > 0.05$)。

表 1 各组胃组织病理变化比较 例(%)

组别	例数	正常	萎缩		
			轻度	中度	重度
空白对照组(1)	8	8	0	0	0
空白中药组(2)	8	8	0	0	0
模型组(3)	7	0	0	1	6
中药低剂量组(4)	8	1	4	2	1
中药高剂量组(5)	8	3	4	1	0

(3) : (4) $P < 0.01$; (3) : (5) $P < 0.01$; (4) : (5) $P > 0.05$ 。

2.3 干预后各组 TLR4、NF- κ B、COX-2、MYD88 mRNA 表达量的比较

表 2 显示,与空白对照组相比,模型组、中药高、低剂量组 TLR4、NF- κ B、COX-2、MYD88 mRNA 水平均明显增高,组间差异显著($P < 0.01$),提示胃黏膜萎缩时伴 TLR4/NF- κ B/COX-2 信号通路的持续激活。同模型组比较,中药高、低剂量组 TLR4、NF- κ B、COX-2、MYD88 mRNA 水平降低($P < 0.01$),组间差异显著,特别以中药高剂量组表现明显,说明健脾清化复方治疗可有效阻断 TLR4/NF- κ B/COX-2 信号通路的持续活化。

表 2 各组 TLR4、NF- κ B、COX-2、MYD88 mRNA 表达量的比较

组别	例数	TLR4	NF- κ B	COX-2	MYD88
空白对照组	8	1.63 $\pm$ 0.24	1.32 $\pm$ 0.15	1.04 $\pm$ 0.15	1.18 $\pm$ 0.23
空白中药组	8	1.60 $\pm$ 0.17	1.44 $\pm$ 0.34	1.14 $\pm$ 0.09	1.25 $\pm$ 0.29
模型组	7	3.72 $\pm$ 0.28 ²⁾³⁾	5.73 $\pm$ 0.80 ²⁾³⁾	3.45 $\pm$ 0.32 ²⁾³⁾	3.89 $\pm$ 0.90 ²⁾³⁾
中药低剂量组	8	2.03 $\pm$ 0.31 ¹⁾³⁾⁴⁾	2.81 $\pm$ 0.41 ²⁾³⁾⁴⁾	1.92 $\pm$ 0.22 ²⁾³⁾⁴⁾	1.85 $\pm$ 0.21 ²⁾³⁾⁴⁾
中药高剂量组	8	1.69 $\pm$ 0.22 ⁴⁾⁵⁾	2.30 $\pm$ 0.22 ²⁾³⁾⁴⁾⁶⁾	1.29 $\pm$ 0.28 ¹⁾⁴⁾⁶⁾	1.41 $\pm$ 0.18 ¹⁾⁴⁾⁶⁾

与空白对照组比较¹⁾ $P < 0.05$,²⁾ $P < 0.01$;与空白中药组比较³⁾ $P < 0.01$;与模型组比较⁴⁾ $P < 0.01$;与中药低剂量组比较⁵⁾ $P < 0.05$,⁶⁾ $P < 0.01$ 。

3 讨论

根据 CAG 患者临床症状,中医将其归属于“胃脘痛”、“胃痞病”、“嘈杂”等病范畴。近年来,广大学者在 CAG 病因病机方面进行了积极探索。唐旭东等^[3]从文献角度对 CAG 中医证候特征进行总结分析,认为本病虚实夹杂、本虚标实,本虚以气虚、阴虚为主,标实以气滞为主,其次为血瘀。沈洪^[4]认为气虚血瘀、胃络阻滞为 CAG 的病机关键。李佃贵^[5]基于“浊毒”学说阐述了 CAG 的中医发病规律。柴科夫^[6]认为血瘀是慢性萎缩性胃炎的主要病机之一。杨春波等^[7]认为脾胃湿热证与消化系统疾病尤其是慢性胃炎的关系密切,是 CAG 等癌前病变的重要病机。在前期研究中^[8-9],我们结合南方地域特点及中医证素调查,认为 CAG 除与脾虚证相关外,与“脾胃湿热、血瘀”关系密切,其病机为脾胃亏虚,脾胃运化功能失调,湿浊内生,蕴而化热,湿热阻滞于胃,久踞成瘀,从而致使痰、湿、热、瘀互结,胃络受损,致胃黏膜腺体逐渐萎缩而致 CAG 发生。

近年来研究发现,胃黏膜上皮细胞 TLRs/ NF- κ B/COX-2 信号转导通路在 CAG 的发病过程中扮演了重要的角色^[10-13]。Toll 样受体(Toll-like receptors, TLRs)是人类免疫系统中重要的膜受体,目前被认为是哺乳动物细胞中唯一将细胞外抗原识别信息向细胞内传递的跨膜蛋白^[14]。TLRs 可识别病原相关的外源性配体及某些内源性配体。在 TLRs 家族成员中,与 CAG 发生、发展关系最为密切的是 TLR4^[10-12]。TLR4 与相应配体识别并结合后发生二聚化,激活接头蛋白 MyD88,进一步激活 MyD88 依赖型信号通路,使核转录因子- κ B(nuclear factor- κ B, NF- κ B)和 AP-1 活化或激活干扰素调节因子(IRF),最终引起促炎细胞因子以及共刺激分子基因(IL-6、IL-8、TGF- α 等)的转录和表达或诱导 I 型干扰素的合成^[14]。

TLR4/NF- κ B 通路激活后,活化的 NF- κ B 可上调众多炎症相关基因的表达,其中环氧合酶-2(Cyclooxygenase-2, COX-2)是最重要的促炎因子之一。COX-2 的过度表达可增加了胃癌发生的风险,现在比较认同的机制观点,是认为 COX-2 可通过促进细胞增殖、抑制细胞凋亡、促进血管形成、抑制免疫功能等机制,参与肿瘤的发生和发展^[15]。因此,TLR4/NF- κ B/COX-2 信号通路的持续激活,在慢性萎缩性胃炎持续存在和发展过程中起重要作用^[15-16]。本研究模型组大鼠造模成功后,与空白组相比,TLR4、NF- κ B、COX-2、MYD88 mRNA 水平均明显增高($P<0.01$),组间差异显著,证实胃黏膜萎缩时伴 TLR4/NF- κ B/COX-2 信号通路的持续激

活。因此,阻断胃黏膜上皮细胞该通路的持续活化,是 CAG 药物治疗的一个新思路^[16-17]。

健脾清化复方是我科治疗萎缩性胃炎的院内制剂,由白扁豆、茯苓、薏苡仁、茵陈、佩兰、白豆蔻、黄连、厚朴、赤芍 9 味中药组成。方中白扁豆健脾化湿,茯苓、薏苡仁渗利健脾,茵陈味苦性寒,归脾、胃、肝、胆经,最善清利中焦之湿热,佩兰芳化湿浊、悦脾和胃,白豆蔻行气燥湿、祛除中焦湿邪,黄连清热燥湿解毒,厚朴化湿消胀,赤芍清热凉血、祛瘀止痛。诸药合用,共奏健脾清化、醒脾舒络之功。我们之前研究证实,该方治疗总有效率达 90.2%,治疗组中医证候疗效显效率、总有效率及各主要症状、病理组织学疗效均高于常规对照组($P<0.01$ 或 $P<0.05$),胃黏膜免疫组化检测提示可有效抑制 NF- κ B 活化,下调 COX-2 高表达,对 CAG 黏膜损害有明显改善作用。

本研究结果提示,健脾清化中药复方干预对正常饲养组大鼠胃黏膜无影响。模型组大鼠造模成功后,经健脾清化中药复方治疗,HE 染色病理提示其胃黏膜萎缩情况明显好转,经秩和检验与模型组比较显著差异($P<0.01$),以中药高剂量组疗效更为显著,其中有 3 只大鼠胃黏膜转正常。与空白组相比,模型组、中药高低剂量组 TLR4、NF- κ B、COX-2、MYD88 mRNA 水平均明显增高($P<0.01$),提示胃黏膜萎缩时伴 TLR4/NF- κ B/COX-2 信号通路的持续激活。同模型组比较,中药高、低剂量组 TLR4、NF- κ B、COX-2、MYD88 mRNA 水平下调($P<0.01$),特别以中药高剂量组表现明显,说明健脾清化中药复方可有效阻断 TLR4/NF- κ B/COX-2 信号通路的持续活化,值得进一步深入研究。

参考文献

- [1] 陈佳,李守英,徐红.慢性萎缩性胃炎的研究进展[J].中国老年学杂志,2013,33(14):3540-3542.
- [2] FOX JG, WANG TC. Inflammation, atrophy, and gastric cancer[J]. J Clin Invest, 2007, 117:60-69.
- [3] 王萍,唐旭东,卞立群,等.慢性萎缩性胃炎中医证候特征及辨证用药规律分析[J].中国中医药信息杂志,2008,15(12):92-93.
- [4] 沈洪,单兆伟,陆为民,等.胃舒胶囊治疗萎缩性胃炎癌前病变气虚血瘀证临床与实验研究[J].中医杂志,2001,45(9):539-542.
- [5] 李佃贵,李海滨,裴林,等.慢性萎缩性胃炎从“浊毒”论治[J].四川中医,2004,22(1):17-18.
- [6] 柴科夫.活血化瘀法防治慢性萎缩性胃炎辨证[J].中医药学刊,2004,22(3):389-390.
- [7] 杨春波,黄可成,肖丽春,等.脾胃湿热证的临床研究—400 例资料分析[J].中医杂志,1994,35(7):425-

- 427.
- [8] 施婧瑶, 林 平. 运用证素理论探讨慢性胃炎中医分型思路[J]. 中医药临床杂志, 2010, 22(10):868—869.
- [9] 林 平, 黄小燕, 施婧瑶, 等. 慢性胃炎证素特点[J]. 福建中医药大学学报, 2013, 23(2):7—9.
- [10] SÁNCHEZ-ZAUCO NA, GIONO-CEREZO S, Maldonado-Bernal C. Toll-like receptors, pathogenesis and immune response to *Helicobacter pylori*[J]. Salud Pública Mex, 2010, 52:447—454.
- [11] PIMENTEL-NUNES P, AFONSO L, LOPES P, et al. Increased expression of toll-like receptors(TLR)2, 4 and 5 in gastric dysplasia[J]. Pathol Oncol Res, 2011, 17:677—683.
- [12] VENERITO M, WEX T, MALFERTHEINER P. *Helicobacter pylori* related and non-related lesions in the stomach[J]. Minerva Gastroenterol Dietol, 2011, 57:395—403.
- [13] PIMENTEL-NUNES P, GONÇALVES N, BOAL-CARVALHO I, et al. *Helicobacter pylori* induces increased expression of Toll-like receptors and decreased Toll-interacting protein in gastric mucosa that persists throughout gastric carcinogenesis [J]. *Helicobacter*, 2013, 18:22—32.
- [14] AKIRA S, TAKEDA K. Toll-like receptor signalling [J]. *Nat Rev Immunol*, 2004, 4:499—511.
- [15] THIEL A, MRENA J, RISTIMÄKI A. Cyclooxygenase-2 and gastric cancer[J]. *Cancer Metastasis Rev*, 2011, 30:387—395.
- [16] PIMENTEL-NUNES P, GONÇALVES N, BOAL-CARVALHO I, et al. *Helicobacter pylori* induces increased expression of Toll-like receptors and decreased Toll-interacting protein in gastric mucosa that persists throughout gastric carcinogenesis [J]. *Helicobacter*, 2013, 18:22—32.
- [17] SUN WH, ZHU F, CHEN GS, et al. Blockade of cholecystokinin-2 receptor and cyclooxygenase-2 synergistically induces cell apoptosis, and inhibits the proliferation of human gastric cancer cells in vitro[J]. *Cancer Lett*, 2008, 263:302—311.
- [18] 黄铭涵, 陈 琴, 高尤亮, 等. 清化饮对脾胃湿热型慢性萎缩性胃炎的疗效及机制研究[J]. 时珍国医国药, 2015, 26(10):2444—2446.

网上投稿注意事项

本刊采用远程投稿处理系统,请登录“www.whuhzss.com”投稿。注册用户名上传文章后,投稿系统一旦收到稿件,即自动发回“收稿回执”并通知编号。作者可根据此编号上网查询稿件处理情况。凡寄给个人的稿件,本刊一律不予受理。凡通过 E-mail 投寄的稿件均不算正式投稿。

请另寄纸质稿件存档。纸质稿件一份为计算机打印稿,要求字迹清楚,附单页标注第一作者联系电话(手机)及 E-mail 信箱。英文摘要及参考文献应隔行打印。特殊文种、上下角标符号、字母大小写及需排斜体等应予注明。照片图要求有良好的清晰度和对比度,不可用复印件,黑白图、彩色图(要求刊印彩色图者需另附彩色图印刷工本费)均可;图中需标注的符号(包括箭头)请用另纸标上,不要直接写在图片上,每幅图片的背面应贴上标签,注明图号、作者姓名及图的上下方位,图片不可折损。线条图应墨绘在白纸上,以计算机制图者应提供激光打印图样。病理照片要求注明染色方法和放大倍数。图中各种标志均应打印。每幅图、表各占 1 页,并连带图、表说明集中附于文后,分别按其在正文中出现的先后顺序连续编码。

来稿均须附单位推荐信及 50 元审稿费。推荐信应注明稿件无一稿多投、不涉及保密、署名无争议等项内容。作者中如有外籍作者或论文系作者在国外进修、学习、工作后撰写,还应附有国外所属工作单位同意在本刊发表的函件。

本刊再次强调:在审阅中的稿件,作者如欲改投他刊,请立刻与本刊联系说明原因,如发现一稿多投的情况,视为学术不端,我们将严肃处理,通报所有相关杂志和该作者单位,并予以披露。本刊一般不退原稿,请作者自留底稿。

如有疑问,请拨打编辑部电话咨询,咨询电话:(027)85726342-8011。