

· 实验研究 ·

新生大鼠脑白质损害时神经细胞凋亡及 bcl-2 蛋白的表达变化

卓平辉¹, 熊英², 覃琳², 阳倩²

(1. 都江堰市人民医院儿科, 四川 都江堰 611830; 2. 四川大学华西第二医院儿科, 四川 成都 610041)

【摘要】目的 研究表明脑白质损害与少突胶质前体细胞凋亡密切相关, bcl-2 蛋白作为抗凋亡蛋白与新生大鼠脑白质损害(WMD)的关系较少报道。该文探讨 bcl-2 蛋白在新生大鼠脑白质损害(WMD)时的表达变化及意义。**方法** 将2日龄SD大鼠($n=90$), 随机分为两组, 实验组(缺氧缺血)45只, 对照组(假手术)45只, 制成WMD模型; 采用TUNEL法测定神经细胞凋亡及免疫组化(SP)法检测 bcl-2 蛋白在脑室周围白质区不同时间点的表达变化。**结果** 成功建立了WMD模型。实验组神经细胞凋亡在缺氧缺血后3d达到高峰, 凋亡指数脑白质为 37.40 ± 4.26 , 胼胝体为 29.84 ± 1.11 , 与对照组比较, 在4h, 12h, 24h, 3d, 7d有统计学意义($P < 0.05$)。实验组 bcl-2 蛋白表达在WMD后1h就上升, 12h达高峰, 平均灰度值脑白质为 124.96 ± 0.27 , 胼胝体为 130.09 ± 0.77), 在1h, 4h, 12h, 24h, 3d的表达与对照组相比, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。**结论** 新生大鼠脑白质损害时, bcl-2 蛋白早期表达增高, 而神经细胞凋亡高峰滞后, 二者具有明显时序性, 这种时序变化提示 bcl-2 蛋白可能对神经细胞具有一定保护作用。

[中国当代儿科杂志, 2007, 9(2):164-168]

【关键词】 缺氧缺血; 脑白质损害; 凋亡; bcl-2; 新生大鼠

【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1008-8830(2007)02-0164-05

Expression of bcl-2 protein and apoptosis of neurocytes in neonatal rats with brain white matter damage

ZHUO Ping-Hui, XIONG Ying, QIN Lin, YANG Qian. Department of Pediatrics, West China Second Hospital, Sichuan University, Chengdu 610041, China (Email: huaxinewboen@yahoo.com)

Abstract: Objective Some research has shown that the brain white matter damage is closely related to apoptosis of pre-oligodendrocytes. The relationship of bcl-2 protein, a protein of anti-apoptosis, with brain white matter damage in neonatal rats is rarely reported. This study examined the changes of bcl-2 protein expression following brain white matter damage in neonatal rats. **Methods** Ninety 2-day-old Sprague-Dawley (SD) rats were randomly divided into 2 groups: experimental group ($n=45$) and control group ($n=45$). Brain white matter damage was induced by ligation of the right common artery, followed by 6% hypoxia exposure in the rats from the experimental group. The rats of the control group were sham-operated, without hypoxia-ischemia treatment. The expression of bcl-2 protein in the periventricular white matter and the callositas was detected by immunohistochemical technique. Apoptosis of neurocytes in these tissues was detected by TUNEL. **Results** The apoptosis index of neurocytes in the experimental group was up-regulated at 4, 12 and 24 hrs and at 3 and 7 days, peaking at 3 days after white matter damage, compared with the control group ($P < 0.05$). The expression of bcl-2 protein in the experimental group began to increase at 1 hr, reached a peak at 12 hrs and remained a higher level until 3 days after white matter damage compared with that observed in the control group ($P < 0.05$). **Conclusions** The expression of bcl-2 protein increased at the early stage of white matter damage in neonatal rats. The peak of apoptosis lagged behind that of the bcl-2 protein expression, which suggests that bcl-2 protein may have protective effects against neuronal apoptosis.

[Chin J Contemp Pediatr, 2007, 9(2):164-168]

Key words: Hypoxia-ischemia; Brain white matter damage; Apoptosis; Bcl-2; Neonatal rats

随着产科和新生儿重症监护技术的发展, 早产儿的救治率及存活率大大提高, 脑白质损害(white matter damage, WMD)尤其是脑室周围白质软化(periventricular leukomalacia, PVL)的发生率也逐渐

提高, PVL可导致痉挛性脑性瘫痪、认知及行为学异常、视神经发育不良等严重后遗症, 脑白质主要由神经纤维和神经胶质细胞组成。在脑白质中数量最多的细胞是少突胶质细胞(oligodendrocyte, OL), 晚期

[收稿日期] 2006-09-30; [修回日期] 2006-11-28

[作者简介] 卓平辉, 男, 硕士, 主治医师。主攻方向: 新生儿疾病。

[通讯作者] 熊英, 教授, 四川大学华西第二医院新生儿科。邮编: 610041。

OL 前体细胞是 PVL 的主要靶细胞,在 PVL 的病因研究中,缺氧缺血是最重要的因素^[1,2]。缺氧缺血后,OL 前体细胞的死亡方式主要是凋亡^[3]。因此,对缺氧缺血引起的脑白质损害的发病机制进行探讨,将有助于寻求 PVL 新的防治策略。我们在建立新生大鼠 WMD 模型的基础上,观察 WMD 神经细胞凋亡及脑白质区 bcl-2 蛋白的表达变化,探讨其在神经细胞凋亡中的作用机制。

1 材料与方法

1.1 动物选择及分组

从四川省医学科学院实验动物中心购得清洁级 2 日龄(P2)SD 大鼠,共 90 只,体重 5.4~8.6 g。随机分为两组:实验组 45 只和对照组 45 只。

1.2 模型的制备

参照 Back 等^[4]的方法建立新生大鼠白质损害模型(WMD)。两组大鼠乙醚吸入麻醉后作颈腹侧正中切口,实验组分离出右侧颈总动脉,双线结扎,缝合皮下组织及皮肤,术后 37℃ 恒温水浴箱中复温 2 h 后,置于 6% O₂ + 94% N₂ 混合气缺氧仓内 4 h,缺氧仓置于 37℃ 恒温水浴箱内,缺氧后放回母鼠处饲养。对照组仅将缝线从右侧颈总动脉下穿过,不做结扎和缺氧,余同实验组。缺氧缺血组动物脑组织用苏木素-伊红染色了解脑组织病理改变,以确定 WMD 模型是否制作成功。

1.3 取材

不同时段新生大鼠吸入乙醚麻醉,开胸后经左心室灌注 0.9% 生理盐水 100 mL,4% 多聚甲醛,0.1 mol/L PBS(pH 7.4)100 mL,至肝脏明显变白及肺脏明显水肿后开颅取脑组织于上述固定液中后固定 8 h,经梯度酒精脱水,二甲苯透明后石蜡包埋,行冠状切片(6 μm)裱于经 APES 防脱片剂处理的载玻片上。

1.4 神经细胞凋亡的检测

按 TUNEL 检测试剂盒说明书提供的方法进行,所有切片染色均采用相同条件,每批染色均设阴性对照。阴性对照滴加 PBS 代替 TUNEL 反应混合物孵育切片,结果为阴性。Tunel 试剂盒,购自北京中

杉金桥生物技术有限公司。

1.5 免疫组织化学反应

切片染色均采用相同条件,每批染色均设阴性对照。阴性对照用 PBS 替代一抗孵育切片,结果为阴性。一抗 Rabbit Anti-bcl-2(sc-492),购自北京中杉金桥生物技术有限公司(稀释浓度: Bcl-2 1:100)。SP 试剂盒(kit9706),购自福州迈新生物技术有限公司。DAB 显色试剂盒(ZLI9032),购自北京中杉金桥生物技术有限公司。按 Bcl-2 检测试剂盒说明书提供的方法进行。

1.6 图像采集及分析

用 Leica DM LB2 显微镜/Pixera Penguin150CL 数码相机/Viewfinder 3.0 图像采集系统采图,Simple PCI-8 图像分析软件对图像进行分析。每张切片于 400 倍镜下同部位随机选取 5 个不同的视野采图,测量其阳性细胞的平均灰度值。TUNEL 结果计算:随机选择 5 个高倍视野(400 倍)并计数 1 000 个细胞,记录凋亡细胞数,计算凋亡指数(AI),AI = (凋亡细胞数/1 000) × 100%。

1.7 统计分析

结果用 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 SPSS12.0 统计软件,同一组内不同时间点的比较采用单因素方差分析,两组之间同一时间点的比较采用成组设计的两样本均数比较的 *t* 检验,检验水准 $\alpha = 0.05$, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 体重及行为学观察

2.1.1 体重改变 缺氧缺血前实验组和对照组体重无差异($P > 0.05$),缺氧缺血后实验组生长发育较对照组明显落后。在缺氧缺血后 3 d 实验组体重明显低于对照组($P < 0.01$),并持续至缺氧缺血后 21 d。(见表 1)。

2.1.2 行为学改变 新生鼠缺氧缺血中的主要表现:全身发绀,躁动不安,点头,四肢强直抽动等。缺氧缺血完成后的表现有:反应差,吃奶减少,动作不协调,体重增长缓慢等。

表 1 两组大鼠不同日龄体重比较

($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	P2	P5	P9	P16	P23
对照组	5	7.14 ± 1.24	11.42 ± 0.95	25.16 ± 4.28	37.86 ± 6.82	53.08 ± 5.98
实验组	5	7.18 ± 1.01	7.48 ± 0.85	15.64 ± 1.49	24.30 ± 6.98	33.94 ± 5.71
<i>t</i>		0.56	6.90	4.70	3.11	5.18
<i>P</i>		>0.05	<0.01	<0.01	<0.05	<0.01

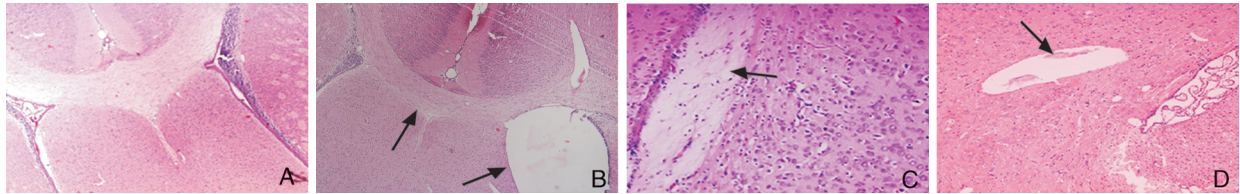


图1 脑组织病理切片图(苏木精-伊红染色×100)A: 14 d对照组;脑室大小正常;B: 缺氧缺血后14天组,右侧脑室扩大及胼胝体变薄;C: 缺氧缺血后14 d组脑室周围白质软化灶;D: 缺氧缺血后21 d组,脑室周围白质结构紊乱及白质囊肿。

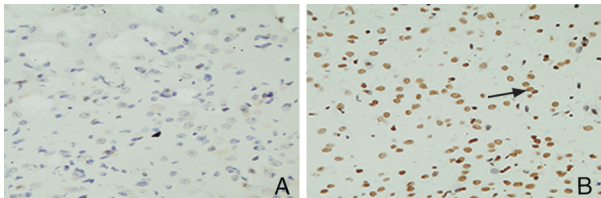


图2 神经细胞凋亡的检测结果(TUNEL×400)。A: (TUNEL×400)。3 d对照组脑室周围白质区可见少量细胞凋亡,着色浅;B: 缺氧缺血后3 d脑室周围白质区细胞凋亡:胞核呈棕黄色,出现黄至棕褐色颗粒,其形态学特征为胞体缩小,染色质浓集、核裂解以及核周新月体样浓集染色质,细胞内可见深色调亡小体。凋亡细胞明显增多,着色深。

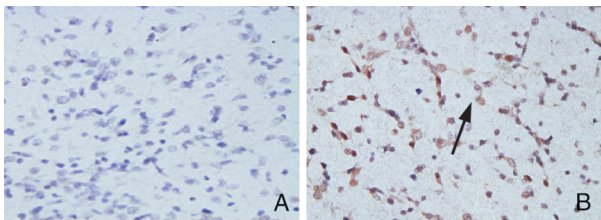


图3 免疫组化结果(SP×400)A: 对照组 bcl-2 表达:阳性细胞表现为散在性点状分布,量少,细胞浆为棕黄色,着色浅,细胞核为浅蓝色;B: 缺氧缺血后12 h组脑室周围白质 bcl-2 表达, bcl-2 表达阳性细胞表现为胞浆为棕褐色,核为深蓝色,阳性细胞明显增多。

2.2 病理改变

与对照组相比,实验组缺氧缺血后在胼胝体和脑室周围白质区可见小胶质细胞浸润和星形胶质细胞肥大增生,侧脑室扩大及胼胝体变薄,结构紊乱,软化灶的形成,软化灶的周围有小胶质细胞的增生

以及白质囊肿形成。(见图1)。

2.3 胼胝体和脑室周围白质区神经细胞凋亡

2.3.1 TUNEL 法染色结果 凋亡细胞胞核呈棕黄色,出现黄至棕褐色颗粒,其形态学特征为胞体缩小,染色质浓集、核裂解以及核周新月体样浓集染色质,细胞内可见深色调亡小体。对照组可见少量细胞凋亡。实验组凋亡细胞明显增多,着色更深。(见图2)。

2.3.2 神经细胞凋亡凋亡指数变化 对照组在胼胝体及脑室周围白质区均存在少量细胞凋亡,并且有随日龄的增加凋亡逐渐减少的趋势。实验组于缺氧缺血4 h后,凋亡指数逐渐增加,3 d达高峰,7 d以后逐渐下降,21 d凋亡基本停止。(见表2)。

2.4 胼胝体和脑室周围白质区 bcl-2 蛋白表达

2.4.1 免疫组化(SP)法结果 对照组 bcl-2 表达阳性细胞表现为散在性点状分布,细胞浆为棕黄色,着色浅,细胞核为浅蓝色。实验组 bcl-2 表达阳性细胞明显增多,着色更深。(见图3)。

2.4.2 bcl-2 蛋白表达变化 正常的新生2日龄SD大鼠的白质区、胼胝体区有 bcl-2 蛋白的少量表达,且随日龄的增加没有明显的变化。实验组 bcl-2 蛋白于缺血缺氧后1 h表达就上升,12 h达到高峰并持续至3 d。与对照组比较, bcl-2 蛋白表达在1 h, 4 h, 12 h, 24 h, 3 d有统计学意义($P < 0.05$)。(见表3)。

表2 不同时间点脑室周围白质和胼胝体凋亡指数 ($\bar{x} \pm s$)

时段	例数	脑室周围白质		胼胝体	
		对照组	实验组	对照组	实验组
30 min	5	6.30 ± 0.29	6.44 ± 0.74	5.72 ± 0.43	5.52 ± 0.49
1 h	5	5.16 ± 0.24	5.46 ± 0.39	4.98 ± 0.19	4.88 ± 0.53
4 h	5	4.74 ± 0.31	19.50 ± 1.02 ^a	3.92 ± 0.44	17.68 ± 1.04 ^a
12 h	5	4.20 ± 0.22	26.32 ± 0.53 ^a	3.64 ± 0.39	19.26 ± 0.92 ^a
24 h	5	3.86 ± 0.23	28.70 ± 0.48 ^a	3.64 ± 0.21	24.50 ± 0.51 ^a
3 d	5	3.72 ± 0.32	37.40 ± 4.26 ^a	3.46 ± 0.38	29.84 ± 1.11 ^a
7 d	5	3.60 ± 0.37	18.94 ± 0.66 ^a	3.42 ± 0.30	17.76 ± 0.34 ^a
14 d	5	3.58 ± 0.26	3.78 ± 0.29	3.32 ± 0.38	3.74 ± 0.21
21 d	5	2.42 ± 0.38	2.56 ± 0.22	2.52 ± 0.36	2.50 ± 0.27

a 与同一时间点对照组及两组组内各时间点比较均 $P < 0.05$

表3 不同时间点脑室周围白质和胼胝体 bcl-2 蛋白表达的平均灰度值

($\bar{x} \pm s$)

时段	例数	脑室周围白质		胼胝体	
		对照组	实验组	对照组	实验组
30 min	5	179.58 ± 0.65	178.30 ± 0.65	179.57 ± 0.86	179.04 ± 0.79
1 h	5	183.34 ± 1.35	176.35 ± 0.86 ^a	182.23 ± 0.85	177.17 ± 0.67 ^a
4 h	5	185.15 ± 0.26	155.44 ± 0.52 ^a	184.68 ± 1.04	158.63 ± 0.91 ^a
12 h	5	187.70 ± 0.51	124.96 ± 0.27 ^a	188.89 ± 1.01	130.09 ± 0.77 ^a
24 h	5	188.42 ± 0.40	165.74 ± 0.64 ^a	190.17 ± 0.88	169.38 ± 0.48 ^a
3 d	5	190.07 ± 0.73	172.27 ± 0.48 ^a	192.21 ± 1.47	177.71 ± 1.14 ^a
7 d	5	190.07 ± 0.75	189.19 ± 0.98	193.36 ± 0.82	192.22 ± 1.26
14 d	5	192.39 ± 0.82	191.09 ± 1.22	194.81 ± 1.61	193.59 ± 1.77
21 d	5	191.32 ± 0.69	190.23 ± 0.86	193.37 ± 1.25	192.91 ± 0.81

a 与对照组及两组组内各时间点比较均 $P < 0.05$

3 讨论

以往研究新生儿缺氧缺血性脑损伤的动物模型系参照 Rice^[5] 采用 7 日龄新生大鼠单侧颈总动脉结扎术配合 2~3 h 低氧处理,主要是由于 7 日龄新生大鼠其未成熟少突胶质细胞(OL)对于缺血等异常状况具有较强抵抗性,相反神经元却高度敏感,因而最终导致表现以神经元受损为主,白质损坏少见,因此该模型研究 PVL 并不合适。Back 等^[4] 研究证实 PVL 发生于髓鞘形成的高峰期,在人类相当于胎龄为 23~32 周的时期。Craig 等^[6] 研究显示 2~3 日龄的新生鼠神经发育是未成熟的,与人类围产期白质损伤(PVL)发生的时间窗相一致,此阶段,晚期少突胶质细胞前体占主导地位(占 OL 的 90%),髓鞘尚未全面合成和沉积,对缺氧缺血损伤具有高度敏感性。2 日龄单侧颈总动脉结扎术配合低氧处理与传统的 HIBD 模型相比日龄小、缺氧时间长、且与临床上 PVL 高发时期(<32 周)相吻合。关于 PVL 模型报道,国外多采用 Cai 等^[7] 1 日龄大鼠双颈总动脉结扎术及 back 等^[4] 2 日龄单侧颈总动脉结扎术配合低氧处理。本试验初准备采用 Cai 的模型,但是因为生后 1 天大鼠手术后死亡率较高(72 小时死亡率约为 50%),因此本实验选择 2 日龄 SD 新生大鼠,采用 Back 等的方法建立新生大鼠白质损害模型。新生大鼠在缺氧缺血处理后出现上述相应的临床表现以及病理学改变等证明新生大鼠 WMD 动物模型制作成功。

早产儿脑损害主要为白质损害,而 PVL 是早产儿最常见的白质损害形式。PVL 为脑室周围白质囊性变和凝固性坏死或弥漫性白质损害,而脑皮质损害轻。其发病因素主要为未成熟脑血流调控机制不成熟,脑白质在发育期血供不足和 OL 的前体细胞

对损伤有高度的敏感性^[2]。在对 1~5 d 新生大鼠的缺氧缺血损伤研究中^[7],提示不成熟脑白质对缺氧缺血具有易损性。由于新生动物大脑发育不完善,保留了部分程序化细胞死亡的能力,约有 50% 的细胞在脑发育过程中因凋亡而被清除,因此未成熟的脑细胞较成熟脑细胞更易于凋亡。对缺氧缺血新生猪的研究证实^[8],在不成熟脑白质中仅有凋亡性神经元死亡。我们参照 Back 等的方法建立新生大鼠白质损害(WMD)模型观察到新生大鼠脑白质损害后在脑室周围白质区及胼胝体区存在细胞凋亡,其凋亡指数呈现先上升后下降之势,表明神经细胞凋亡参与了新生大鼠脑白质损害。

bcl-2 基因是从淋巴滤泡细胞中分离出的一种原癌基因,定位于人类染色体 18q21 位点,广泛分布于发育期及成熟大鼠脑中,与神经元存活有关。根据功能可以分为促凋亡和抑凋亡两大类。bcl-2 蛋白家族如 bcl-2、bax、bcl-xl 等定位于线粒体膜上,而且实验证实:bcl-2 蛋白家族可以影响 PT 通道(Pe-mealibility transition pore)开放及线粒体内细胞色素 C、AIF 等诱导凋亡因子的释放,还可以改变线粒体外膜的通透性。如 Bax 一方面可以直接促使线粒体膜内的细胞色素 C 在外膜未被破坏的情况下通过某种通道释放至胞浆;另一方面又可以激发 PT 通道的开放。而 bcl-2 蛋白则起抑制作用,抑制细胞凋亡。已有研究结果发现^[9,10] 在大鼠前脑短暂性缺血模型中的缺血易损区海马 CA1 区,缺血 10 min 再灌注后 4 h,可有 bcl-2 mRNA 的诱导表达,缺血 3 d 后 bcl-2 mRNA 水平下降;在大鼠局灶性脑缺血 1 h 和 2 h,再灌注 24 h 后发现皮层有 bcl-2 蛋白表达,并且在缺血 2 h 神经细胞生存中起主要作用,即在存活的神经细胞中 bcl-2 蛋白表达增高。在我们的研究中:实验组的 bcl-2 蛋白在胼胝体、脑室周围白质区于缺氧缺血后 1 h 表达升高,12 h 达到高峰,后逐

渐下降,3 d 后明显减少。而神经细胞凋亡数目逐渐增多,3 d 到高峰。提示神经细胞受到损害时,首先启动了 bcl-2 基因表达以抑制神经细胞凋亡,随着缺氧缺血脑白质损害时间的延长,bcl-2 蛋白表达的逐渐下降,不能有效抑制神经细胞凋亡,继而出现神经细胞凋亡高峰的出现。从而提示 bcl-2 基因表达对缺氧缺血性脑白质损害有一定的保护作用,bcl-2 蛋白的这种时序变化可能是神经细胞自我保护机制之一。目前 bcl-2 蛋白在新生动物 WMD 的研究甚少,有待进一步探讨,为早产儿 PVL 的发病机制提供理论依据。

[参 考 文 献]

- [1] Volpe JJ. Neurology of periventricular leukomalacia in the premature infant[J]. *Pediatr Res*, 2001, 50(1): 553-562.
- [2] 姚裕家. 早产儿脑损伤的病因及病理生理机制研究进展[J]. *临床儿科杂志*, 2006, 24(3): 166-167.
- [3] Back SA, Luo NL, Borenstein NS, Levine JM, Volpe JJ, Kinney HC. Late oligodendrocyte progenitors coincide with the developmental window of vulnerability for human perinatal white matter injury[J]. *Neuroscience*, 2001, 107(13): 1302-1312.
- [4] Back SA, Han BH, Luo NL, Chrichton CA, Tam J, Arvin KL, et al. Selective vulnerability of late oligodendrocyte progenitors to hypoxia-ischemia[J]. *J Neurosci*, 2002, 22(2): 455-463.
- [5] Rice JE, Vannucci RC, Brierley JB. The influence of immaturity on hypoxic-ischemic brain damage in the rat[J]. *Ann Neurol*, 1981, 21(9): 131-141.
- [6] Craig A, Ling Luo N, Beardsley DJ, Wingate-Pearse N, Walker DW, Hohimer AR, et al. Quantitative analysis of perinatal rodent oligodendrocyte lineage progression and its correlation with human[J]. *Exp Neurol*, 2003, 181(2): 231-240.
- [7] Cai Z, Pang Y, Xiao F, Rhodes PG. Chronic ischemia preferentially causes white matter injury in the neonatal rat brain[J]. *Brain Res*, 2001, 898(2): 126-135.
- [8] Back SA, Han BH, Luo NL, Chrichton CA, Xanthoudakis S, Tam J, et al. Selective vulnerability of late oligodendrocyte progenitors to hypoxia-ischemia[J]. *J Neurosci*, 2002, 22(2): 455-463.
- [9] Shimizu S, Kanaseki T, Mizushima N, Mizuta T, Thompson CB. Role of Bcl-2 family proteins in a non-apoptotic programmed cell death dependent on autophagy genes[J]. *Nature Cell Biology*, 2004, 6(12): 1221-1228.
- [10] Bannova AV, Men'shanov PN, Il'nykh FA, Kalinina TS, Dygalo NN. Bax and Bcl-XL apoptosis protein mRNA in rat brain stem and cortex during ontogeny[J]. *Bull Exp Biol Med*, 2005, 139(6): 700-702.

(本文编辑:吉耕中)

· 消息 ·

欢迎订阅《中国当代儿科杂志》

《中国当代儿科杂志》是由中华人民共和国教育部主管,中南大学主办的国家级儿科专业学术期刊。本刊为国家科学技术部中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊),中国科学引文数据库(CSCD)收录期刊和国际权威检索机构美国 MEDLINE、俄罗斯《文摘杂志》(AJ)、美国《化学文摘》(CA)和荷兰《医学文摘》(EM)收录期刊,是《中国医学文摘·儿科学》引用的核心期刊,同时被中国学术期刊(光盘版)、中国科学院文献情报中心、中国社会科学院文献信息中心评定为《中国学术期刊综合评价数据库》来源期刊,并被《中国期刊网》、《中国学术期刊(光盘版)》和《万方数据——数字化网络期刊》全文收录。已被复旦大学、浙江大学、中南大学和中国医科大学等国内著名大学认定为儿科核心期刊。

本刊内容以儿科临床与基础研究并重,反映我国当代儿科领域的最新进展与最新动态。辟有英文论著、中文论著(临床研究、实验研究、儿童保健、疑难病研究)、临床经验、病例讨论、病例报告、社区医师园地、专家讲座、综述等栏目。读者对象主要为从事儿科及相关学科的临床、教学和科研工作者。

本刊为双月刊,大16开本,80页,亚光铜版纸印刷,逢双月15日出版,向国内外公开发行。中国标准刊号:ISSN 1008-8830, CN 43-1301/R。欢迎全国各高等医学院校,各省、市、自治区、县医院和基层医疗单位,各级图书馆(室)、科技情报研究所及广大医务人员和医学科技人员订阅。每期定价12元,全年72元。邮发代号:42-188。可通过全国各地邮局订阅或直接来函与本刊编辑部联系订阅。本刊从2006年10月1日起,开启了网上稿件远程处理系统,免审稿费,审稿周期短(4~8周)。作者请在线投稿,请登录本刊网站了解详情。

联系地址:湖南省长沙市湘雅路87号《中国当代儿科杂志》编辑部 邮编:410008

电话:0731-4327402 传真:0731-4327922 Email: ddek@vip.163.com

网址: <http://www.cjcp.org>