

软骨组织工程中细胞因子功能的研究进展

何劼, 赵建宁

(解放军第二军医大学南京临床医学院, 江苏 南京 210002)

【摘要】 随着骨关节疾病发病率的增加以及人们对生活质量提出的更高要求, 修复软骨损伤成为骨科临床一个重要的问题。软骨组织工程以其不损伤自身组织、可调控、创伤小等优点成为修复软骨组织损伤的突破口。本文就多种细胞因子在促进软骨种子细胞生长起的作用的最新研究做一综述。

【关键词】 软骨; 细胞因子类; 组织工程; 综述文献

Current advances on effects of cytokines in cartilage tissue engineering HE Jie, ZHAO Jian-ning The Nanjing Clinical Medical College Affiliated to the Second Military University of PLA, Nanjing 210002, Jiangsu, China

ABSTRACT Because of the increasing incidence of bone and joint diseases and no natural repair mechanism to heal damaged or diseased cartilage, cartilage tissue engineering will provide a better treatment than the existing pharmacologic surgical and cell based treatments which may offer temporary relief but are incapable of restoring damaged cartilage to its normal phenotype. In this article, we major on the current advances of the effects of cytokines in cartilage tissue engineering.

Key words Cartilage; Cytokines; Tissue engineering; Review literature

Zhongguo Gushang/China J Orthop & Trauma 2007, 20(12): 872-875 www.zggssz.com

随着社会经济的发展、生活水平的提高以及人口老龄化现象, 以软骨面破坏为主要表现的骨关节炎等疾病的发病率日益增加。为此, 如何微创修复损伤的软骨, 缓解患者痛苦, 提高生活质量成为骨科临床一个亟待解决的问题。软骨退变后纤维化, 软骨细胞及软骨含水量减少, 纤维等细胞外间质含量增加, 通过适当锻炼增加应力以及关节内注射透明质酸钠等药物虽可一定程度上修复损伤的软骨面并延缓其老化, 但毕竟其远期疗效有限。以选取种子细胞体外培养组织或器官并移植到体内发挥功能的组织工程方法成为解决这一问题的突破口。

组织工程学是应用工程学和生命科学的原理、方法, 开发应用能够恢复、维持及提高受损组织和器官功能的生物学替代物的一门新兴学科, 软骨组织工程学是其一分支。主要包括 3 个基本要素: 选取软骨种子细胞, 构建生物载体材料, 将培育的软骨载体复合物移植到体内发挥作用。其中如何调控种子细胞的生长和繁殖, 使其分泌正常的基质并在多次传代后不老化, 成为研究的热点。本文就多种细胞因子在促进软骨种子细胞生长起的作用的最新研究做一综述。

对软骨种子细胞有明显调节作用的细胞因子主要有转化生长因子- β (transforming growth factor β , TGF- β)、骨形态发生蛋白 (bone morphogenetic protein, BMP)、胰岛素样生长因子 (insulin like growth factor, IGF)、成纤维细胞生成因子 (fibroblast growth factor, FGF)、肿瘤坏死因子 (tumour necrosis fac-

tor, TNF)、甲状旁腺激素相关蛋白 (PTHrP)、肝细胞生长因子 (hepatocyte growth factor, HGF) 以及近几年新发现的软骨调节素 (chondromodulin) 等。

1 转化生长因子- β (TGF- β)

TGF- β 是一族具有多种功能的蛋白多肽, 分子量 100~250 KD, 在多种细胞中, TGF- β 经表达、修饰后与 LTBP (latent TGF- β binding protein) 结合形成同源二聚体 LAP (latency association protein)。研究表明在生长板软骨细胞中, 由 LTBP 储存的 TGF- β 是细胞成熟依赖性的^[1]。二聚体成体具有活性, 分子量 25 KD^[2], 根据其在抑制内皮细胞、造血细胞的生长及间充质干细胞生成细胞外间质等方面所起作用的不同, 分为 TGF- β 1、TGF- β 2、TGF- β 3^[3]。它广泛存在于动物正常组织和转化细胞中, 以骨组织和血小板中含量最为丰富, 通过自分泌、内分泌以及旁分泌等方式发挥作用, 参与纤维化疾病、寄生虫病、自身免疫性疾病以及肿瘤形成等很多疾病的病理过程。

细胞外间质中的糖蛋白如 decorin, biglycan 以及 fibronectin 等通过阻断 TGF- β 作用通道来调节 TGF- β 的功能^[4]。Hausser 等^[5]发现 decorin 促进 TGF- β 与成骨细胞 MC3T3-E1 上的 TGF- β 受体的结合。II 型胶原本身可加强 TGF- β 对软骨细胞的作用, 而加热失活后的 II 型胶原则不具备此作用^[6]。在组织工程细胞培养体系中加入 II 型胶原也可以增加 TGF- β 1 的表达^[7]。

体外实验表明, TGF- β 可促进骨膜间充质细胞的增殖和分化, 促进成骨和成软骨细胞的增殖, 刺激 II 型胶原、骨粘蛋白和骨桥蛋白的合成。Moretto 等^[8]研究了种子细胞在何

种体外培养条件下具有促进生长作用。体外的培养液中加入促增殖物: TGF-β 1 (1 ng/ml)、FGF-2和 PGF(platelet derived growth factor), 或者促分化培养液: TGF-β 1 (10 ng/ml)和胰岛素。结果表明在促分化培养液中预先培养的软骨组织含有更多的 GAG和 II 型胶原, 并具有体内生长的更强的生命力。Glowacki等^[9]在实验中发现 TGF-β 和 IL-1α 均能够显著促进 4-硫酸黏多糖软骨素聚集。用 chondroinductive DBP 溶液培养的人真皮成纤维细胞高表达内源性生长因子, 在含有 1% Nutridoma 的 DMEM 溶液中培养的人真皮成纤维细胞在加入 TGF-β 和 IL-1α 11 d 后也有明显的 4-硫酸黏多糖软骨素聚集。表明在组织工程细胞培养中 TGF-β 和 IL-1α 可作为胎牛血清的替代品。通过单独或联合转染 TGF-β 1 及 IGF-1 进软骨细胞后, 细胞分泌的 TGF-β 1、IGF-1、II 型胶原含量均明显增加, 细胞增殖能力显著增强^[10]。生长因子的来源及功能见表 1。

2 胰岛素样生长因子 (IGF-1)

1957年 Salmon 和 Daughaday 发现一种新的生长因子能够刺激软骨硫化, 并改变了以往认为是生长激素发挥此作用的观念, 并将其命名为硫化因子 (sulfation factor)。以后逐渐认识其多方面的作用, 20 世纪 70 年代早期更名为生长调节素 (somatomedin), 并与血小板源性生长因子、内皮细胞生长因子以及成纤维细胞生长因子等回归为一组广谱生长因子。该因子在血清中有胰岛素样作用, 但是不能被抗胰岛素抗体所拮抗, 故将其命名为胰岛素样生长因子 (insulin-like growth factor, IGF)。IGF-1 是由 70 个氨基酸组成的单链多肽, 分子量为 7.7 KD, 由 3 个二硫键交叉连接, 被认为是软骨细胞合成代谢的主要促生长因子。

IGF-1 通过与 IGFBPs (IGF-binding protein) 相互作用来调节其生物学功能。目前已发现 6 种 IGFBPs, 分别命名为 IGFBP1-6, 在软骨组织中检测到 IGFBP2、3 和 6 但其作用尚不清楚^[12]。在实验中发现 IGF 的类似物与 IGFBP 没有亲和力, 具有比 IGF 更强的作用, 由此可以推测 IGFBP 在软骨的

生长发育中可能起抑制作用^[13]。IGF 与软骨 IGFBP 结合调节了 IGF 在软骨细胞上的转运^[14]。

IGF-1 可刺激单层培养中人软骨细胞的增殖, 且与其剂量呈正相关。Kellner 等^[15]在实验中发现 IGF-1 在体外软骨组织工程中具有显著的正面效应, 而胰岛素也被证明能够与 IGF-1 的受体相结合, 并产生相同的效应。他们在实验中将牛关节软骨细胞在多聚葡氨酸 (PGA) 支架上培养 7 周, 结果显示体外胰岛素 (0.05~50 mg/ml) 能够促进组织工程软骨的生长速度及多聚葡氨酸的聚集, 并能优化软骨形态, 并以 2.5 mg/ml 的浓度效应最为明显。IGF-1 与透明质酸联合应用时具有显著的促进组织工程软骨细胞生长的作用^[16]。IGF-1 与 bFGF 或 TGF-β 2 的混合物也可明显促进组织工程软骨的发生以及 II 型胶原的生长^[17]。腺病毒介导 hIGF-1 基因转染对软骨细胞增殖的影响存在量效和时效依赖关系, 浓度 50 μg/L 时促进增殖的能力最强, 72 h 内, 细胞呈线性增殖, 并达到峰值, 此后增殖下降^[18]。

3 成纤维细胞生成因子 (FGF)

20 世纪 40 年代在脑与垂体中发现一种可促进成纤维细胞增殖的物质, 之后在多种组织中均发现此种物质。1974 年 Gospodarowicz 等从牛神经组织中纯化到一种分子量约 16~18 KD 的蛋白质, 并将其命名为成纤维细胞生长因子 (fibroblast growth factor, FGF)。根据等电点的不同, 将其分为酸性和碱性 2 种。广泛存在于脑、垂体、肝、肾、骨、软骨等多种组织细胞中。

FGFs 多通过与细胞外基质中的肝素黏多糖分子上的相应受体结合, 并激活细胞, 产生相应的效应^[19]。比如 Perlecan 是一种在软骨细胞上高度表达的硫酸肝素黏多糖, 它通过增加 FGF 受体的结合效率来放大 FGF 介导的细胞活化功能^[20]。

bFGF 是重要的有丝分裂促进分子, 也是形态发生和分化的诱导因子, 在正常生理和病理过程中参与生长发育和组织损伤修复过程。Veilleux 等^[21]研究了 FGF-2 与 IGF-1 各自功能及其共同效应, 结果显示 5 ng/ml 的 FGF-2 可明显促进软

表 1 生长因子的来源及功能^[11]

Tab 1 Source and effects of cytokines

因子	来源	作用	备注
PDGF	血小板、内皮细胞、胎盘	促进结缔组织、胶质与平滑肌细胞的增殖	两个蛋白质链形成 3 种不同的二聚体: AA、AB、BB
EGF	血小板、内皮细胞、胎盘	促进间充质、胶质及内皮细胞的增殖	与 EGF 有关
TGF-α	在变异细胞中广泛存在	可能对正常的创伤愈合有重要作用	
FGF	广泛存在, 蛋白与细胞外间质相连	促进众多细胞的增殖, 抑制一些干细胞, 促进胚胎中胚层的形成	至少有 19 个家族成员与 4 个不同的受体
NGF	存在于有神经支配的组织	促进神经轴突向外生长及神经细胞的存活	一些蛋白最初被认为是原癌基因; trkA, trkB, trkC
EPO	肾脏	促进红细胞的增殖、分化	
TGF-β	激活 TH1 细胞和 NK 细胞	抗炎 (抑制细胞因子的合成与 II 类 MHC 的表达), 促进伤口的愈合, 抑制巨噬细胞和淋巴细胞的增殖	至少有 100 个不同的家族成员
IGF-1	主要由肝脏合成	促进多种细胞的增殖	与 IGF-II 及前胰岛素有关, 也被称为 Somatomedin C
IGF-2	多种细胞	促进多种胚胎细胞的增殖	与 IGF-I 及前胰岛素有关
BM P	存在并在骨组织分离	胚胎的早期发生; 促进骨、软骨等结缔组织的发育	

骨细胞的生物合成能力及 GAG (glycosaminoglycan) 的聚集, 更高剂量的 FGF-2 以及与 TGF-1 的混合物所产生的效应均较弱, 同时发现在此浓度下生长的软骨细胞使得作为载体的胶原支架崩解, 这成为软骨细胞发生的一个定性标志。FGF 促进软骨细胞发育分化也存在剂量依赖性。Ding 等^[22]将关节软骨细胞分为 2 组, 1 组在 Ham F-12 与 bFGF 混合液中培养, 2 组仅用 Ham F-12 培养, 第 2 代细胞注射入皮下行活体内培养。结果表明, 在体外培养后, 1 组的细胞数目增长了 70 倍, 2 组增长了 5.4 倍。体内培养后, 1 组在细胞质量与体积上均较 2 组高, 但两组在组织学上均与原先的软骨细胞一致。

4 骨形态发生蛋白 (BMP)

骨形态发生蛋白是一组疏水性的酸性糖蛋白, 属于转化生长因子超家族, 等电点 5.0 ± 0.2 , 含 10 余种氨基酸。BMP 被认为在胚胎形成过程中发挥着重要的作用, 可能是早期发育及器官形成的主要分子。在运动系统, 则促进骨、软骨及运动系统相关结缔组织的发生。目前已成功分离并克隆出 16 种 BMP cDNA, 其中 3 种已成功从宿主细胞内表达并经动物实验证实具有高度的异位成骨活性, 分别是 BMP-7、BMP-2、BMP-4。Borden 等发现 BMP-6 调节 MSCs 成骨分化能力是 BMP-2、BMP-4 的 2~2.5 倍, 而且在糖皮质激素羟基强的松龙存在的情况下, BMP-2、4 和 6 的诱导功能均可以增加到原来的 10 倍左右, 他们认为这是羟基强的松龙提高了 MSCs 对各种 BMPs 的反应敏感性所致^[23]。

BMP-2 在 N 末端有 1 个肝素结合位点, 通过与肝素结合调节 BMP-2 的生物学活性^[24]。BMP-2 能结合 II 型前胶原 A₁ 软骨细胞特异性 II 型胶原由 2 个片断 A 和 B 组成^[25]。而 BMP-2 通过结合 A 片断在软骨的发生中具有重要的作用。

Nawata 等^[26]研究发现在 10 mg rhBMP-2 存在的情况下, 将肌肉源性的间充质细胞移植到大鼠腹部筋膜下, 移植 4 d 后表达了 II 型胶原 mRNA, 5 周后有成熟的软骨细胞团形成, 1 mg 及空白对照组均无此现象, 以此浓度及方法来修复软骨缺损, 6 个月内可恢复正常形态。软骨细胞体外增殖的过程中会发生去分化现象, 在表型上表现为 I 型胶原的表达增加及 II 型胶原表达减少。研究者将 11 例无基础疾病的个体的膝关节软骨细胞在 rhBMP-2 存在的情况下置于 3 D 或 2 D 的体系中培养, 结果表明在 2 D 体系中, II 型胶原及 IL-1 α 的相应 mRNA 的表达无明显增加, 而在 3 D 体系中培养则有明显增加^[27]。GDFs 是高度保守的 BMP 信号分子的一个亚家族, 在骨骼系统中起着多种不同的功能。GDF-5、6 和 7 因为蛋白质 C 末端的信号转导区域的氨基酸序列的高度同源性而被归为一组。一些自然发生或实验中给予敲除 GDFs 的大鼠模型给认识 GDF 在骨组织的功能提供了可能。最近研究表明 GDF-5 在肌腱、韧带的修复、椎间盘退化、软骨修复以及骨塑形等方面可能起着重要作用^[28]。

5 血小板源性生长因子 (PDGF)

血小板源性生长因子是大约 60 KD 的蛋白, 自 A、B 2 条具有 60% 同源性的多肽链通过二硫键结合构成的二聚体, 有 AA、AB、BB 3 种。最初被认为是纤维细胞生长的促进因子, 血浆中大量存在, 但细胞浆内微量存在。现在发现还具有促进结缔组织、胶质与平滑肌细胞的增殖等功能^[11]。

PDGF 通过结合细胞外间质或胞浆内的蛋白分子 (包括 α 2-巨球蛋白) 可以激活其生物学活性。PDGF 是强阳离子蛋白, 所以只能结合在带负电荷的蛋白上。结合在 PDGF 受体上并形成二聚体, 激活下游酪氨酸蛋白激酶, 引发磷酸化并产生生物活性。

6 软骨调节素 (ChM)

软骨调节素 (chondromodulin) 是一组软骨特异性生长因子, 分为 I、II、III 3 种。1991 年 Kato 发现一种软骨提纯物刺激软骨细胞活性与转化生长因子所诱导的完全不同, 估计这种因子的分子量为 24~27 KD^[29]。同年, Hiakiki 等^[30]证实并克隆了 25 KD 的糖蛋白 chondromodulin 1, 并报道了它的结构和生物学活性。ChM-1 是由 120 个氨基酸残基组成的一个分子更大的跨膜蛋白的 C 末端, 存在于细胞外基质、肥大及增生的软骨细胞、胎儿静息软骨细胞、成熟的椎间盘组织中。ChM-1 在体内和体外均能够刺激软骨细胞培养体系中软骨细胞的生长及集落形成, 并抑制新生组织血管形成的作用^[31]。

软骨组织工程技术为临床软骨缺损修复提供了一个极富应用前景的方法, 但如何选择合适的培养体系, 控制软骨细胞的发生、发育及分化, 并将培养的软骨细胞集落移植至体内, 维持其活性、延长其寿命等问题均还有待解决。各种软骨细胞生长因子在软骨细胞的发育分化中起着各种不同的作用, 其信号转导的途径和相互之间交互对话的机制, 以及量效及时效关系还需进一步探索。

参考文献

- Pedrozo HA, Schwartz Z, Gomez R, et al Growth plate chondrocytes store latent transforming growth factor (TGF)-beta 1 in their matrix through latent TGF-beta 1 binding protein I. *J Cell Physiol* 1998; 177 (2): 343-354
- Lawrence A. Latent TGF-beta: an overview. *Mol Cell Biochem*, 2001; 219: 163-170
- Anita B, Roberts molecular and cell biology of TGF- β . *Miner and Electrolyte Metab*, 1998; 24: 111-119.
- Hildebrand A, Romaris M, Rasmussen LM, et al Interaction of the small interstitial proteoglycans biglycan, decorin and fibronectin with transforming growth factor beta. *Biochem J* 1994; 302 (Pt 2): 527-534
- Hausser H, Groning A, Hasilik A, et al Selective inactivity of TGF-beta/decorin complexes. *FEBS Lett* 1994; 353 (3): 243-245
- Qi WN, Scully SP. Extracellular collagen modulates the regulation of chondrocytes by transforming growth factor beta 1. *J Orthop Res* 1997; 15 (4): 483-490.
- Qi WN, Scully SP. Extracellular collagen regulates expression of transforming growth factor beta 1 gene. *J Orthop Res* 2000; 18 (6): 928-932
- Moretto M, Wendt D, Dickinson SC, et al Effects of in vitro preculture on in vivo development of human engineered cartilage in an ectopic model. *Tissue Eng* 2005; 11 (9-10): 1421-1428.
- Glawacki J, Yates KE, Maclean R, et al In vitro engineering of cartilage effects of serum substitutes TGF-beta and IL-1alpha. *Orthod Craniofac Res* 2005; 8 (3): 200-208.
- 相川, 卫小春. pcDNA3+ 转化生长因子- β 1 单独转染及其与 pAT153+ 胰岛素样生长因子-1 共转染兔软骨细胞的研究. *中华实验外科杂志*, 2005; 22 (10): 1243-1245.
- Lee SJ. Cytokine delivery and tissue engineering. *Yonsei Med J*, 2000;

- 41 (6): 704-719
- 12 Chevalier X, Tyler JA. Production of binding proteins and role of the insulin-like growth factor I binding protein 3 in human articular cartilage explants. *Br J Rheumatol* 1996, 35: 515-522
- 13 Morales TI. The role and content of endogenous insulin-like growth factor binding proteins in bovine articular cartilage. *Arch Biochem Biophys* 1997, 343: 164-172
- 14 Bhakta NR, Garcia AM, Frank EH, et al. The insulin-like growth factors (IGFs) I and II bind to articular cartilage via the IGF-binding proteins. *J Biol Chem*, 2000, 275(8): 5860-5866
- 15 Kellner K, Schulz MB, Göpferich A, et al. Insulin in tissue engineering of cartilage: a potential model system for growth factor application. *J Drug Target* 2001, 9(6): 439-448.
- 16 Huang JR, Liu SL, Song WD. Stimulation of insulin-like growth factor I to chondrogenesis of engineering cartilage tissue. *Zhongguo Xue Fu Chong Jian Wai Ke Za Zhi* 2004, 18(1): 49-52
- 17 Chua KH, Amnuddin BS, Fuzina NH, et al. Interaction between insulin-like growth factor I with other growth factors in serum depleted culture medium for human cartilage engineering. *Med J Malaysia* 2004, 59 (Suppl B): 7-8.
- 18 黄宗强, 刘尚礼, 等. 腺病毒介导 hGF-1 基因转染对软骨细胞增殖的影响. *中华临床解剖学杂志*, 2005 (23): 9-13
- 19 Powers CJ, Malesky SW, Wellstein A. Fibroblast growth factors, their receptors and signaling. *Endocr Relat Cancer* 2000, 7: 165-197
- 20 Mongiat M, Otto J, O'Hershaw R, et al. Fibroblast growth factor-binding protein is a novel partner for perlecan protein core. *J Biol Chem*, 2001, 276: 10263-10271
- 21 Veilleux N, Spector M. Effects of IGF-2 and IGF-1 on adult canine articular chondrocytes in type II collagen glycosaminoglycan scaffolds in vitro. *Osteoarthritis Cartilage* 2005, 13(4): 278-286
- 22 Ding XB, Cheng NX, Chen B, et al. Regeneration of autologous tissue engineered cartilage by using basic fibroblast growth factor in vitro culture. *Zhonghua Zheng Xue Wai Ke Za Zhi* 2004, 20(3): 215-218
- 23 肖祥池, 李健. 以骨髓基质干细胞为种子细胞的骨组织工程学研究进展. *广东医学*, 2002, 23(12): 1325-1327.
- 24 Ruppert R, Hoffmann E, Sebold W. Human bone morphogenetic protein 2 contains a heparin-binding site which modifies its biological activity. *Eur J Biochem*, 1996, 237: 295-302
- 25 Zhu Y, Oganessian A, Keene DR, et al. Type II procollagen containing the cysteine-rich amino propeptide is deposited in the extracellular matrix of prechondrogenic tissue and binds to TGF-beta 1 and BMP-2. *J Cell Biol* 1999, 144: 1069-1080
- 26 Nawata M, Wakitani H, Nakaya H, et al. Use of bone morphogenetic protein 2 and diffusion chambers to engineer cartilage tissue for the repair of defects in articular cartilage. *Arthritis Rheum*, 2005, 52(1): 155-163.
- 27 Grunder T, Gassmaier C, Fritz J, et al. Bone morphogenetic protein (BMP)-2 enhances the expression of type II collagen and aggrecan in chondrocytes embedded in alginate beads. *Osteoarthritis Cartilage*, 2004, 12(7): 559-567
- 28 Mikić B. Multiple effects of GDF-5 deficiency on skeletal tissues: implications for therapeutic bioengineering. *Ann Biomed Eng* 2004, 32(3): 466-476
- 29 Kato Y, Nakasani K. *Methods in enzymology*. San Diego: Academic Press, 1991. 416-424
- 30 Hiraki Y, Tanaka H, Inoue H, et al. Molecular cloning of a new class of cartilage-specific matrix chondronodulin-1, which stimulates growth of cultured chondrocytes. *Biochem Biophys Res Commun* 1991, 175(3): 971-977.
- 31 Hiraki Y, Shukunami C. Chondronodulin-1 as a novel cartilage-specific growth modulating factor. *Pediatr Nephrol* 2000, 14(7): 602-605.

(收稿日期: 2007-03-20 本文编辑: 连智华)

• 读者 • 作者 • 编者 •

本刊关于中英文摘要撰写的要求

为了便于国际间的交流, 本刊要求述评、骨伤论坛、临床研究、基础研究及综述类题目的稿件必须附中英文摘要。

临床研究和基础研究等论著类稿件的中英文摘要按结构式的形式撰写, 即包括目的(说明研究的背景和要解决的问题)、方法(说明主要工作过程, 包括所用原理、条件、材料、对象和方法, 有无对照, 病例或实验次数等)、结果(客观举出最后得出的主要数据资料)、结论(对结果的分析、研究、比较、评价, 提出主要贡献和创新、独到之处, 或提出问题及展望)4部分, 文字一般不超过400字, 英文摘要应较中文摘要详细。述评、骨伤论坛和综述类稿件可采用报道性摘要的形式, 文字在200字左右。

中英文摘要均采用第三人称撰写, 不使用第一人称“*I*”、“*We*”和“*本文*”等主语, 应着重反映文章的新内容和新观点。不要对论文的内容作诠释和评论。不要使用非公知公用的符号和术语, 英文缩写第1次出现时要注明英文全称, 其后括号内注明缩写。

英文摘要的内容应包括文题(为短语形式, 可为疑问句)、作者姓名(汉语拼音, 姓的全部字母均大写, 复姓应连写; 名字的首字母大写, 双字名中间加连字符)、作者单位名称、所在城市、邮政编码、省和国名。作者应列出全部作者的姓名, 如作者工作单位不同, 只列出通讯作者的工作单位, 在通讯作者姓名的右上角加“*”, 同时在单位名称首字母左上角加“*”。例如: *MA Yong-gang*^{*}, *LIU Shi-qing*, *LIU Min*, *PENG Hao*^{*} Department of Orthopaedics, the People Hospital of Wuhan University, Wuhan 430060 Hubei, China

另外, 有关中医药英译的要求: 中药材译名用英文; 中成药、方剂的名称用汉语拼音, 剂型用英文, 并在英文后用括号加注中文, 例如: *Xuifu Zhuyu* decoction(血府逐瘀汤); 中医证型的英译文后以括号注明中文, 例如: deficiency both of *Yin* and *Yang*(阴阳两虚)。