

· 基础研究 ·

密骨胶囊和健脾方对切卵大鼠小肠及腓肠肌中 VDR mRNA 表达的影响

王立童, 赵咏芳, 王翔, 徐宇, 陈元川, 詹红生

(上海中医药大学附属曙光医院 上海市中医药研究院骨伤科研究所, 上海 200021)

【摘要】 目的: 观察密骨胶囊、健脾方对大鼠小肠、腓肠肌中维生素 D 受体(vitamin D receptor, VDR) mRNA 表达的影响, 探讨补肾、健脾不同功效的中药复方, 是否对机体不同组织器官 VDR mRNA 的表达存在一定选择性。方法: 复制切卵大鼠骨质疏松模型, 随机分为假切组、模型组、密骨胶囊组和健脾方组, 术后 12 周开始灌胃, 灌胃 12 周后取材。测定骨密度、子宫重量、腓肠肌重/体重, 同时对大鼠小肠、腓肠肌中 VDR mRNA 进行半定量。结果: 密骨胶囊能提高切卵大鼠骨密度($P<0.05$), 提高腓肠肌重/体重($P<0.05$), 上调小肠和腓肠肌中 VDR mRNA 的表达($P<0.01$); 健脾方能维持大鼠骨密度($P>0.05$), 上调腓肠肌中 VDR mRNA 的表达($P<0.01$); 密骨胶囊、健脾方均无增加子宫重量作用。结论: 密骨胶囊和健脾方能通过上调切卵大鼠小肠和腓肠肌中 VDR mRNA 的表达, 而起到治疗骨质疏松症的作用。

【关键词】 密骨胶囊; 健脾方; 卵巢切除术; 大鼠; 小肠; 腓肠肌; 维生素 D; RNA, 信使; 基因表达

Influence of Migu (密骨) capsule and Strengthening Spleen prescription (健脾方) on the expression of small intestine VDR mRNA in calf muscle on ovariectomy rats WANG Li-tong, ZHAO Yong-fang, WANG Xiang, XU Yu, CHEN Yuan-chuan, ZHAN Hong-sheng*. *Shuguang Hospital Affiliated of Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 200021, China

ABSTRACT **Objective:** To observe the effect of Migu capsule and Strengthening Spleen prescriptions on the expression of vitamin D receptor on small intestine and calf muscle of the rat, while observing whether the Chinese medicine complex prescriptions of different effect such as invigorating the kidney and strengthening the spleen had selectivity to expression of the VDR mRNA. **Methods:** Copy the model of osteoporosis by ovariectomy operation, the rats were randomly divided into four groups, pseudo-resection group, model group, Migu capsule group and strengthening Spleen prescriptions group. Drug delivery 12 weeks later from operation, stomach lavage last for 12 weeks. Then, to observe the effect of medicine on the rats' bone mineral density, uterus weight, calf muscle/weight, and the VDR mRNA in small intestine and calf muscle through RT-PCR. **Results:** Migu capsule enhanced bone mineral density ($P<0.05$), raised calf muscle/weight ($P<0.05$), up-regulated expression of calf muscle VDR mRNA in the small intestine ($P<0.01$). Strengthening Spleen prescriptions remained bone mineral density ($P>0.05$), up-regulated expression of calf muscle VDR mRNA ($P<0.01$), there was no obvious difference in uterus weight in Migu capsule group and Strengthening Spleen prescription group. **Conclusion:** Migu capsule and Strengthening Spleen prescriptions can cure osteoporosis by improving the expression of calf muscle VDR mRNA in the small intestine.

Key words Migu capsule; Strengthening Spleen prescription; Ovariectomy; Rats; Intestine, small; Calf muscle; Vitamin D; RNA, messenger; Gene expression

Zhongguo Gushang/China J Orthop & Trauma, 2009, 22(5): 367-370 www.zggszz.com

按中医“肾藏精, 主骨”和“脾为后天之本, 气血化生之源,

基金项目: 1. “中医骨伤科学”国家重点学科和上海市重点学科项目(编号: 100508, T0303); 2. 国家自然科学基金(编号: 30371793, 30300459, 30472222, 30500674); 3. 教育部新世纪优秀人才支持计划(编号: NCET040438); 4. 教育部博士点基金(编号: 20040268012); 5. 上海市曙光计划(编号: 03SG61); 6. 上海市科委重点项目(编号: 04JC14071); 7. 上海市科委启明星计划(编号: 04qmx1434)

通讯作者: 詹红生 Tel: 021-53821650 E-mail: shgsyjs@139.com

濡润宗筋”的理论, 以补肾、健脾为组方原则的中药复方治疗原发性 I 型骨质疏松症已取得较好的临床疗效^[1-4]。为了评价补肾、健脾中药复方对骨量、骨强度的改善程度, 以及作用途径和靶点的选择趋向性, 本实验以切卵大鼠为研究对象, 观察补肾、健脾中药复方对小肠、腓肠肌内维生素受体(VDR) mRNA 的影响, 为中医药治疗骨质疏松症提供理论指导依据。

1 材料与方法

1.1 材料 3 月龄未孕产的雌性 SD 大鼠 60 只, 采用随机数字表法随机分为 4 组: 假切组、模型组、密骨胶囊组和健脾方

表 1 动物分组、手术、给药、取材情况

Tab.1 The group, operation and administer of the rats and the draw of the materials from it

组别	鼠数	手术方法	术后 12 周取材只数	给药时间和剂量	术后 24 周取材只数
假切组	20	假切术	10	-	10
模型组	20	双侧卵巢切除术	10	-	10
密骨胶囊组	10	双侧卵巢切除术	-	术后 12 周灌胃 2 ml/d	10
健脾方组	10	双侧卵巢切除术	-	术后 12 周灌胃 2 ml/d	10

组,其中假切组和模型组每组 20 只,余每组 10 只。除假切组外,其余 3 组大鼠均行双侧卵巢切除术。按体表面积换算大鼠用药量,用 0.5%CMC 配成悬液。大鼠自由摄取标准饲料和蒸馏水,切卵后 12 周开始治疗性给药,假切组、模型组灌胃同体积生理盐水。连续灌胃 12 周,于假切组、模型组中各随机取 10 只进行取材,剩余 40 只于术后 24 周全部取材(见表 1)。

1.2 观察项目与方法

1.2.1 骨密度测定 以 DPX-L 型双能 X 线骨密度仪(附动物骨密度测定软件)进行骨密度(BMD)测定。

1.2.2 子宫重量、腓肠肌重量、体重的称取 称取大鼠体重并记录,麻醉后将大鼠处死摘取完整子宫、腓肠肌,去除周围软组织,放入 10%甲醛中固定,用滤纸吸干子宫、腓肠肌组织周围水分,在千分之一精密的天平上称取子宫、腓肠肌重量并记录。

1.2.3 小肠、腓肠肌 VDR mRNA 表达的检测 用 Primer 3.0 软件设计大鼠 VDR 和 β -actin (内参)mRNA 引物序列,VDR 引物序列(280 bp):5'forward primer:GTG ACT TTG ACC GGC ACG TG-3';5'reverse primer:ATC ATC TCC CTC TTA CGC TG-3'。 β -actin 引物序列(213 bp):5'forward primer:TTG ATG TCA CGC ACG ATT TC-3';5'reverse primer:TGT CCC TGT ATG CCT CTG GT-3',由上海生工公司合成。

用氯仿抽提异丙醇沉淀法抽提小肠、腓肠肌组织中总 RNA,用核酸蛋白分子仪进行 RNA 含量测定,设定 RNA 量为 2 μ g,计算各组所需 RNA 及 DEPC 水的体积。RT 反应体系:oligo(DT)151 μ l,dNTP(10 mmol/l)1 μ l,Rnasin(40 u/ μ l)2 μ l,M-MLV (100 u/ μ l)2 μ l,5xbuffer 4 μ l,DEPC 水和总 RNA 体积通过计算确定,总反应体系为 20 μ l,反应条件 42 $^{\circ}$ C 60 min,94 $^{\circ}$ C 5 min。PCR 反应体系:dNTP(10 mmol/l)1 μ l,10xbuffer 5 μ l,TaqDNAPolymerase 1 μ l,VDRR/ β -actin 1 μ l,VDRL/ β -actin 1 μ l,cDNA 2 μ l,DEPC 水 39 μ l,总反应体系为 50 μ l。反应条件:94 $^{\circ}$ C 预变性 5 min,94 $^{\circ}$ C 变性 4 s,55 $^{\circ}$ C 退火 1 min,72 $^{\circ}$ C 延伸 2 min,30 个循环后,72 $^{\circ}$ C 延伸 5 min。PCR 扩增产物用 1.7%琼脂糖凝胶电泳采用天能凝胶成像分析系统拍照,电泳条带的光密度值用天能凝胶图像处理系统 4.00 软件包进行分析。

1.3 统计学方法 数据以均数 \pm 标准差($\bar{x}\pm s$)表示,各组测量数据间比较分别采用重复测量方差分析、多因素方差分析,用 SPSS 13.0 统计处理软件包, $P<0.05$ 为有统计学意义。

2 结果

2.1 股骨骨密度 剔除因意外导致大鼠中途死亡及因卵巢摘除不完全所致子宫重量异常偏大,最终共得 50 只大鼠股骨骨密度数据(见表 2)。结果提示:卵巢切除 12、24 周后模型组

股骨骨密度比同时时间点假切组骨密度低($P<0.05$);术后 24 周与术后 12 周比较,假切组与模型组的股骨骨密度无明显变化($P>0.05$)。术后 24 周时密骨胶囊组、健脾方组的股骨骨密度均较术后 12 周时模型组的股骨骨密度升高($P<0.05$);与卵巢切除 24 周后模型组股骨骨密度比较,术后 24 周密骨胶囊组股骨骨密度升高($P<0.05$),健脾方组股骨骨密度无明显变化($P>0.05$),与假切组比较,健脾方组股骨骨密度亦无明显变化($P>0.05$)。

表 2 股骨骨密度测量结果($g/cm^2, \bar{x}\pm s$)

Tab.2 Results of femoral BMD($g/cm^2, \bar{x}\pm s$)

组别	股骨 BMD			
	鼠数	术后 12 周	鼠数	术后 24 周
假切组	10	0.247 \pm 0.026	8	0.254 \pm 0.018
模型组	8	0.219 \pm 0.016 [○]	8	0.227 \pm 0.011 [*]
密骨胶囊组	-	-	8	0.241 \pm 0.013 ^{●▲}
健脾方组	-	-	8	0.237 \pm 0.017 [*]

注:与同期假切组比较,[○] $P=0.017$,^{*} $P=0.003$;与术后 12 周模型组比较,[●] $P=0.009$,^{*} $P=0.040$;与同期模型组比较,[▲] $P=0.037$

Note:Compared with sham group in same period,[○] $P=0.017$,^{*} $P=0.003$; Compared with model group of postoperative 12 weeks,[●] $P=0.009$,^{*} $P=0.040$; Compared with model group in same period,[▲] $P=0.037$

2.2 子宫重量结果 卵巢切除 12 周后,大鼠子宫明显萎缩,24 周后持续萎缩状态;前后两时间点比较,随月龄的增加,无论卵巢切除与否,子宫重量都在增加,密骨胶囊、健脾方治疗性给药 12 周后,均使子宫重量增加;横向比较,术后 24 周密骨胶囊、健脾方无明显增加子宫重量的作用(见表 3)。

表 3 大鼠子宫重量结果($g, \bar{x}\pm s$)

Tab.3 Results of the uterus weight($g, \bar{x}\pm s$)

组别	子宫重量			
	鼠数	术后 12 周	鼠数	术后 24 周
假切组	10	0.557 \pm 0.129	10	0.734 \pm 0.068 [◆]
模型组	8	0.077 \pm 0.013 [○]	10	0.141 \pm 0.018 ^{●◆}
密骨胶囊组	-	-	8	0.161 \pm 0.051 ^{●◆}
健脾方组	-	-	8	0.124 \pm 0.032 ^{●◆}

注:与同期假切组比较,[○] $P=0.000$,^{*} $P=0.000$;与同组术后 12 周比较,[◆] $P=0.002$;与术后 12 周模型组比较,[●] $P=0.000$

Note:Compared with sham group in same period,[○] $P=0.000$,^{*} $P=0.000$; Compared with postoperative 12 weeks in same group,[◆] $P=0.002$; Compared with model group of postoperative 12 weeks,[●] $P=0.000$

2.3 腓肠肌重量比与体重比结果 去除体重因素,卵巢切除

12 周后,大鼠腓肠肌重量降低,24 周后仍有维持降低的趋势。假切大鼠前后两时间点比较,随月龄的增加,腓肠肌重量降低;而切卵大鼠前后两时间点比较,随月龄增加,腓肠肌重量无明显变化。密骨胶囊治疗性给药 12 周后,大鼠腓肠肌重量明显升高,健脾方则无增加腓肠肌重量作用;横向比较,术后 24 周密骨胶囊增加了大鼠腓肠肌重量,而健脾方治疗后大鼠腓肠肌重量仍处于切卵后降低的状态(见表 4)。

表 4 大鼠腓肠肌重量比与体重比结果($\bar{x}\pm s$)

Tab.4 Results of the small intestine weight to the weight of the rat($\bar{x}\pm s$)

组别	腓肠肌重量/体重			
	鼠数	术后 12 周	鼠数	术后 24 周
假切组	10	0.006 40±0.000 66	10	0.005 85±0.000 31 [◆]
模型组	8	0.005 46±0.000 37 [○]	10	0.005 69±0.000 86
密骨胶囊组	-	-	8	0.006 96±0.001 19 ^{◆●▲*}
健脾方组	-	-	8	0.004 98±0.001 24

注:与同期假切组比较,[○]P=0.002,^{*}P=0.011;与本组术后 12 周比较,[◆]P=0.034;与术后 12 周模型组比较,[●]P=0.009;与同期模型组比较,[▲]P=0.018;与同期健脾方组比较,[#]P=0.006

Note: Compared with sham group in same period, [○]P=0.002, ^{*}P=0.011; Compared with postoperative 12 weeks in same group, [◆]P=0.034; Compared with model group of postoperative 12 weeks, [●]P=0.009; Compared with model group in same period, [▲]P=0.018; Compared with SSP group in same group, [#]P=0.006

2.4 中药对小肠中 VDR 基因表达的影响 大鼠小肠 VDR mRNA/ β -actin 结果表明:卵巢切除 12 周后,大鼠小肠 VDR mRNA 的表达降低,24 周后持续低表达状态;前后两时间点比较,随月龄的增加,无论卵巢切除与否小肠中 VDR mRNA 的表达无差异。密骨胶囊治疗性给药 12 周后,使小肠 VDR mRNA 的表达升高,健脾方组无表达;横向比较,术后 24 周密骨胶囊上调了小肠 VDR mRNA 的表达(见表 5)。大鼠小肠 VDR mRNA/ β -actin 表达电泳图见图 1。

表 5 大鼠小肠 VDR mRNA/ β -actin 结果($\bar{x}\pm s$)

Tab.5 Results of VDR mRNA/ β -actin of the small intestine ($\bar{x}\pm s$)

组别	VDR mRNA/ β -actin			
	鼠数	术后 12 周	鼠数	术后 24 周
假切组	6	0.591 0±0.045 2	6	0.624 2±0.040 1
模型组	6	0.459 7±0.039 9 [○]	6	0.479 0±0.043 0 [*]
密骨胶囊组	-	-	6	1.062 8±0.058 3 ^{◆●▲*}

注:与同期假切组比较,[○]P=0.000,^{*}P=0.000;与术后 12 周模型组比较,[◆]P=0.000;与术后 24 周模型组比较,[▲]P=0.000

Note: Compared with sham group in same period, [○]P=0.000, ^{*}P=0.000; Compared with model group of postoperative 12 weeks, [◆]P=0.000; Compared with model group of postoperative 24 weeks, [▲]P=0.000

2.5 中药对腓肠肌中 VDR 基因表达的影响 大鼠腓肠肌 VDR mRNA/ β -actin 结果表明:卵巢切除 12 周后,大鼠腓肠肌 VDR mRNA 的表达降低,24 周后持续低表达状态;前后两时

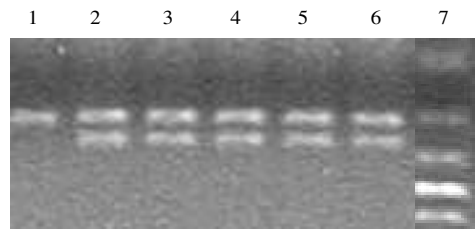


图 1 大鼠小肠 VDR mRNA/ β -actin 表达电泳图。上方条带为 β -actin,下方条带为 VDR mRNA,由 1 至 7 分别为健脾方组、密骨胶囊组、术后 24 周假切组、术后 24 周模型组、术后 12 周模型组、术后 12 周假切组及 Marker

Fig.1 The electrophoresis graph of VDR mRNA/ β -actin of the small intestine's expression. The up strap was β -actin and the one below was VDR mRNA. From 1 to 7 were separately Strengthening Spleen prescriptions group, Migu capsule group, 24 weeks later pseudo-resection group, 24 weeks later model group, 12 weeks later model group, 12 weeks later pseudo-resection group and Marker

间点比较,随月龄的增加,未切卵大鼠腓肠肌 VDR mRNA 的表达降低,切卵大鼠腓肠肌 VDR mRNA 表达有降低趋势。密骨胶囊、健脾方治疗性给药 12 周后,均使腓肠肌 VDR mRNA 的表达升高;横向比较,术后 24 周密骨胶囊、健脾方均升高了腓肠肌 VDR mRNA 的表达,两者比较健脾方的促进腓肠肌 VDR mRNA 表达作用更明显。大鼠腓肠肌 VDR mRNA/ β -actin 表达电泳图见图 2。

表 6 大鼠腓肠肌 VDR mRNA/ β -actin 结果($\bar{x}\pm s$)

Tab.6 Results of VDR mRNA/ β -actin of the small intestine ($\bar{x}\pm s$)

组别	VDR mRNA/ β -actin			
	鼠数	术后 12 周	鼠数	术后 24 周
假切组	6	1.235 3±0.398 9	6	0.635 5±0.041 8 [◆]
模型组	6	0.399 0±0.059 2 [○]	6	0.357 2±0.041 0 [*]
密骨胶囊组	-	-	6	0.494 3±0.019 3 ^{◆●▲*}
健脾方组	-	-	6	0.640 5±0.046 7 ^{◆▲}

注:与同期假切组比较,[○]P=0.003,^{*}P=0.000;与同组术后 12 周比较,[◆]P=0.014;与术后 12 周模型组比较,[●]P=0.004,[#]P=0.000;与术后 24 周模型组比较,[▲]P=0.000;与同期健脾方组比较,[#]P=0.000

Note: Compared with sham group in same period, [○]P=0.003, ^{*}P=0.000; Compared with postoperative 12 weeks in same group, [◆]P=0.014; Compared with model group of postoperative 12 weeks, [●]P=0.004, [#]P=0.000; Compared with model group of postoperative 24 weeks, [▲]P=0.000; Compared with SSP group in same period, [#]P=0.000

3 讨论

1,25-(OH)₂D₃ 是体内最具活性的维生素 D (Vit D) 代谢产物,它的合成受血清钙、磷浓度和甲状旁腺素的调节,当血清钙浓度降低时,刺激甲状旁腺分泌甲状旁腺素,同时增强肾脏 1 α 羟化酶的活性,使活性 Vit D 合成增加,后者又通过反馈调节机制抑制甲状旁腺素的分泌形成 Vit D 和钙磷代谢的协调机制。当 Vit D 代谢紊乱时,可以引起一系列的钙磷代谢的紊乱,这是骨质疏松症发病的重要原因之一[5]。Vit D 在血液中与 Vit D 结合蛋白(DBP)形成复合物进行运输和代谢,经过细

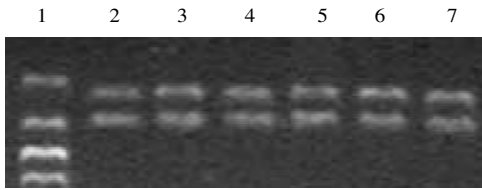


图 2 大鼠腓肠肌 VDR mRNA、β-actin 表达电泳图。上方条带为 β-actin，下方条带为 VDR mRNA，由 1 至 7 分别为 Marker，术后 24 周假切组、术后 24 周模型组、术后 12 周模型组、术后 12 周假切组、健脾方组和密骨胶囊组

Fig.2 The electrophoresis graph of VDR mRNA, β-actin of the small intestine's expression. The up strap was β-actin and the below one is VDR mRNA. From 1 to 7 are separately Marker, 24 weeks sham group, 24 weeks model group, 12 weeks model group, 12 weeks sham group, Strengthening Spleen prescriptions group and Migu capsule group

胞膜与细胞核中的 VDR 结合，对靶基因的转录和翻译进行调控，从而实现其对细胞生物学功能的影响。因此，VDR 功能本质上反映了 1,25-(OH)₂D₃ 的功能。

骨骼肌是 1,25-(OH)₂D₃ 的靶器官之一^[6]，1,25-(OH)₂D₃ 与 VDR 结合后，诱导肌细胞合成许多蛋白质，这些蛋白质均是执行骨骼肌功能的重要成分。临床与实验研究显示在各种 Vit D 缺乏的状态中，如骨质疏松症时会出现肌无力、肌肉收缩和肌肉松弛异常。1,25-(OH)₂D₃ 在肌肉中一方面是通过基因作用于肌肉细胞的 VDR 受体，另一方面通过在肌肉细胞膜水平上调节钙离子通道，蛋白激酶 A 及 C 信号转导的非基因途径来影响肌肉的钙代谢。小肠黏膜上皮细胞中存在 VDR，1,25-(OH)₂D₃ 主要通过影响钙从小肠进入细胞外液的主动转运而实现对肠钙吸收的调节^[7]。此外，肠钙吸收的效能随年龄的增加而降低，在卵巢切除的大鼠模型上也可以观察到肠钙吸收效能的减低。

研究表明：补肾方能提高骨密度，而健脾方维持了骨密度，因肾主骨生髓，故以补肾为治则的密骨胶囊在提高股骨骨密度上较健脾方更明显。亦发现密骨胶囊增加了大鼠腓肠肌的重量，因肌力与 BMD 和 BMC 的关系没有肌肉与 BMD 和 BMC 的关系紧密，肌肉对 BMD 有着更为直接的影响^[8]，结合骨密度结果可见密骨胶囊提高骨密度、腓肠肌重量均较健脾方明显，是由于肾主骨、生髓所以补肾则骨健——骨密度升高，因肌肉与骨密度关系密切，故腓肠肌重量随之亦较高，至

于两者的相关性有待于进一步研究。密骨胶囊、健脾方无明显增加子宫重量作用，说明具补肾和健脾作用的中药复方对子宫无不良反应。

健脾方上调了腓肠肌中 VDR mRNA 的表达(因标本污染的原因在小肠未做出表达)，王翔等^[9]研究发现健脾方能上调小肠 VDR mRNA 的表达。因脾主运化调节小肠受盛化物，脾化生精气以养肌肉，故脾与小肠、肌肉关系密切。密骨胶囊能明显上调腓肠肌、小肠中 VDR mRNA 的表达，是由于先天之本得补，则五脏六腑均得以滋养，同时也反映了补肾中药多靶点作用和 VDR 分布的广泛性。

综上所述，补肾、健脾中药之所以能增加骨量，具有治疗骨质疏松症的作用，与其上调小肠、腓肠肌中 VDR mRNA 的表达有关，结合既往研究表明补肾健脾中药具有多靶点的调节作用，这将为研究不同功效的中药在治疗骨质疏松症所引起的不同症状中的应用奠定了良好的理论基础，对大鼠其他靶器官的选择调节作用将另文介绍。

参考文献

- [1] 史晓林, 吴连国, 徐建春. 骨强饮对去卵巢大鼠腰椎骨形态计量学的影响. 中国骨伤, 2008, 21(4): 287-288.
- [2] 庞菲, 任艳玲. 论补肾健脾活血中药治疗原发性骨质疏松症的作用机制. 辽宁中医药大学学报, 2008, 10(3): 50-51.
- [3] 朱勤, 刘康, 史晓林, 等. 骨强饮与密骨胶囊对去势大鼠腰椎骨形态计量学影响的对比研究. 中国骨质疏松杂志, 2008, 14(1): 58-60.
- [4] 肖永华, 姜良铎, 秦腊梅, 等. 复方中药对去卵巢大鼠骨密度、骨生物力学和血清雌二醇、孕酮水平等的实验研究. 陕西中医学院学报, 2005, 28(1): 14-18.
- [5] 朱汉民. 1,25 羟化维生素 D₃ 和骨质疏松. 国外医学: 内分泌学分册, 2003, 23(2): 119-122.
- [6] 廖二元, 谭利华. 代谢性骨病学. 北京: 人民卫生出版社, 2003. 129-129.
- [7] Wasserman H, Fullmer CS. Vitamin D and intestinal calcium transport: facts, speculations and hypotheses. Nutr, 1995, 125: 1971 - 1979.
- [8] 王建华. 补肾方药对去卵巢大鼠骨密度及血清雌激素水平影响的实验研究. 河北中医药学报, 2003, 18(3): 6-7.
- [9] 王翔, 赵咏芳, 石印玉, 等. 健脾方对去势大鼠维生素 D 代谢的影响. 中国骨质疏松杂志, 2007, 13(6): 429-432.

(收稿日期: 2008-12-10 本文编辑: 连智华)

本刊关于“通讯作者”有关事宜的通知

本刊要求集体署名的文章必须明确通讯作者。凡文章内注明通讯作者的稿件，与该稿件相关的一切事宜(包括邮寄稿件、收稿通知单、退稿、退修稿件、校样、版面费、稿费、赠刊等)均与通信作者联系。如文内未注明通讯作者的文章，按国际惯例，有关稿件的一切事宜均与第一作者联系，特此声明!

《中国骨伤》杂志社