

Visfatin 在妊娠糖尿病孕妇血清及胎盘组织中的表达

霍琰 刘素新 张文辉 张洁 范艳丽 靳颖 冯静

【摘要】 目的 通过测定妊娠糖尿病(GDM)及正常妊娠妇女血清 visfatin、胎盘组织 visfatin 及过氧化物酶体增殖物活化受体(PPAR) γ 的表达,探讨 visfatin、PPAR γ 在 GDM 中的作用及相互关系。**方法** 选取 2011 年 10 月至 2012 年 10 月在河北省人民医院妇产科行择期剖宫产终止妊娠的患者 57 例,其中 GDM 组 30 例、正常妊娠组 27 名。酶联免疫吸附法测定血清 visfatin 水平,实时荧光定量反转录 PCR 测定胎盘组织 visfatin 及 PPAR γ mRNA 表达水平,免疫蛋白印迹法检测胎盘组织 visfatin 及 PPAR γ 蛋白的表达水平。**结果** GDM 组产前血清 visfatin 水平明显低于正常妊娠组[(6.72 ± 3.79) ng/ml vs. (8.87 ± 4.08) ng/ml, $t = -2.06$, $P = 0.04$];胎盘组织 visfatin mRNA 及蛋白表达水平在两组间无明显差异($P > 0.05$);GDM 组 PPAR γ mRNA 及蛋白表达水平低于正常妊娠组[(0.26 ± 0.11) vs. (0.60 ± 0.41), $t = -2.77$, $P < 0.05$; (0.34 ± 0.09) vs. (0.73 ± 0.13), $t = -7.03$, $P < 0.05$],在 GDM 组,胎盘组织 visfatin mRNA 表达与 PPAR γ mRNA 表达水平呈正相关($r = 0.67$, $P = 0.02$)。**结论** Visfatin 在 GDM 的发病中起一定作用,并与胎盘组织中 PPAR γ mRNA 表达相关。

【关键词】 妊娠糖尿病;内脂素;过氧化物酶体增殖物活化受体

Circulating levels of visfatin and its expression in placental tissue in pregnant women with gestational diabetes Huo Yan, Liu Suxin, Zhang Wenhui, Zhang Jie, Fan Yanli, Jin Ying, Feng Jing. Department of Obstetrics and Gynecology, the People's Hospital of Hebei Province, Shijiazhuang 050051, China

【Abstract】 Objective To investigate the serum visfatin and placental level of visfatin, peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR) γ in pregnant women with or without gestational diabetes mellitus (GDM), analyze their co-relationship and roles in GDM. **Methods** Fifty-seven pregnant women were enrolled at the department of Obstetrics and Gynecology in Hebei general hospital from October 2011 to October 2012. All pregnancies were undertaken elective C-section. Thirty of these women suffered from GDM. The remaining 27 age-matched pregnant women with normal oral glucose tolerance test were served as controls. Serum visfatin level, its mRNA expression, PPAR γ mRNA expression (quantitative real-time PCR) and its protein level in placental tissue from women with GDM and normal pregnant controls were measured. **Results**

Serum visfatin was significantly lower in women with GDM compared with those in healthy controls [(6.72 ± 3.79) ng/ml vs. (8.87 ± 4.08) ng/ml, $t = -2.06$, $P = 0.04$]. However, there were no differences in visfatin mRNA and protein expression between the two groups($P > 0.05$). PPAR γ mRNA and protein expression were lower in GDM group compared with the healthy control group[(0.26 ± 0.11) vs. (0.60 ± 0.41), $t = -2.77$, $P < 0.05$; (0.34 ± 0.09) vs. (0.73 ± 0.13), $t = -7.03$, $P < 0.05$]. The visfatin mRNA expression in placenta was positively correlated with PPAR γ mRNA expression in GDM group ($r = 0.67$, $P = 0.02$). **Conclusions** Visfatin may play a role in the pathogenesis of GDM, and there is an association between visfatin and PPAR γ in GDM.

【Key words】 Gestational diabetes mellitus; Visfatin; Peroxisome proliferator-activated receptor γ

(Int J Endocrinol Metab, 2014, 34:300-304)

妊娠糖尿病(GDM)是妊娠期首次出现或发生的糖代谢异常。以往报道发病率 2% ~ 5%,随着

GDM 诊断标准的改变,其发生率明显增加,是成人胎源性疾病的主要原因之一^[1]。

GDM 的病理机制主要为胰岛素抵抗,与脂肪细胞因子密切相关。Visfatin 是新近发现的脂肪细胞因子,主要由内脏脂肪组织表达,具有代谢及炎症调

节作用^[2-6]。可以通过胰岛素模拟作用增加脂肪细胞和骨骼肌细胞摄取葡萄糖,抑制肝糖原释放,促进甘油三酯聚集并增加其在前脂细胞中的合成^[7]。

过氧化物酶体增植物活化受体 γ (PPAR γ) 是细胞核表面受体,被其配体激活后可参与脂肪细胞分化,调节细胞内胰岛素信号通路^[8]。在 GDM 胎盘中表达降低,与胎儿宫内营养密切相关。已有研究表明,PPAR γ 可以诱发单核细胞中 visfatin 的表达^[9-10]。

因此,本实验测定 GDM 及正常妊娠妇女血清 visfatin 水平及胎盘组织中 visfatin、PPAR γ 的表达,以探讨二者在 GDM 中的作用及相互关系。

1 对象与方法

1.1 研究对象及分组 选择 2011 年 10 月至 2012 年 10 月于河北省人民医院妇产科行择期剖宫产终止妊娠者共 57 名,均为单胎。分为两组:GDM 组及正常妊娠组。GDM 组 30 例,诊断标准为国际糖尿病与妊娠研究协会制定的标准,确诊 GDM 时间为妊娠 24~28 周,均通过饮食、运动管理控制血糖,血糖控制基本满意^[11]。正常妊娠组为同期糖耐量正常的孕妇,共 27 名。所有孕妇均无高血压、多囊卵巢综合征、肝、肾功能异常、胎膜早破等内、外科疾病及产科并发症。经患者同意并签署知情同意后收取患者血液,胎盘组织标本。

1.2 标本采集 于剖宫产手术当天抽取肘静脉血(空腹 8 h 以上) 5 ml,4℃,3 000 r/min($r=10$ cm)离心 10 min 分离血清,分别检测空腹血糖和空腹胰岛素(FINS)及各项生化指标。胎盘娩出后,立即取胎盘组织(避开两边胎膜、血管及梗死灶),取母面距脐带附着约 2 cm 处以利刀切取 0.5 cm × 0.5 cm × 0.5 cm 组织两块,以生理盐水冲洗后快速放入液氮中冷冻,约 15 min 后取出放入 -80℃ 冰箱保存。上述过程均快速、严格无菌操作。

1.3 检测方法

1.3.1 孕妇空腹血糖检测用葡萄糖氧化酶法,放射免疫法检测 FINS 水平,高压液相色谱法测定糖化血红蛋白(HbA1c)、全自动生化仪测定血脂(胆固醇、甘油三酯、高密度脂蛋白-胆固醇及低密度脂蛋白-胆固醇)水平。稳态模型评估-胰岛素抵抗指数(HOMA-IR) = 空腹血糖 × FINS/22.5。酶联免疫吸附法测定血清 visfatin 水平(Bluegene, China, 敏感度 0.1 ng/ml, 批内差异 CV < 10%, 批间差异 CV < 10%)。

1.3.2 实时荧光定量反转录 PCR 检测胎盘组织

visfatin 及 PPAR γ mRNA 的表达水平 (1) 胎盘组织总 RNA 提取:20 mg 左右胎盘组织加入 1 ml TransZol 试剂,用匀浆器研磨抽提总 RNA。(2) 反转录:按北京金式金生物技术有限公司 EasyScript First-strand cDNA synthesis SuperMix 试剂盒操作。(3) 引物设计,由上海生物工程有限公司采用美国 PE 公司 391 型 DNA 自动合成仪合成。以 GAPDH 为内参,上游引物 5'-TGAACGGGAAGCTCACTG-3',下游引物 5'-GCTTCACCACCTTCTTGATG-3',产物 121 bp; visfatin, 上游引物 5'-CCGAGTTCAACATCCTC-CTG-3',下游引物 5'-TTCACGGCATTCAAAGTAGG-3',产物 104 bp; PPAR γ 上游引物 5'-GCCCTTCAC-TACTGTTGACTTCT-3',下游引物 5'-CAGGCTC-CACCTTTGATTGC-3',产物 143 bp。(4) PCR 反应体系:参照试剂盒说明操作,2 × UltraSYBR Mixture (with ROX) 10 μ l,上游引物(10 μ mol/L) 1 μ l,下游引物(10 μ mol/L) 1 μ l, cDNA 8 μ l,建立总体积 20 μ l 的反应体系。(5) 结果分析,以 GAPDH 为内参,采用 ABI 公司 7300 型荧光定量 PCR 仪计算 visfatin 及 PPAR γ mRNA 表达的相对量 RQ 值。

1.3.3 Western 印记检测胎盘组织 visfatin 及 PPAR γ 蛋白的表达水平 按蛋白裂解液说明书提取蛋白质,电泳,切胶,转膜(4℃、200 mA、90 min),室温封闭 4 h,加入 1:2 000 鼠抗人 β -actin 一抗(美国 Proteintech 公司),1:400 兔抗人 visfatin 一抗(美国 Proteintech 公司),1:1 000 兔抗人 PPAR γ 一抗(美国 Immunoway 公司),4℃摇床孵育过夜。洗涤,加入 1:10 000 羊抗鼠、羊抗兔二抗(均购自北京康为世纪生物科技有限公司)。室温孵育 2 h 后,弃去二抗,洗涤。低背景化学发光剂,曝光、显影、定影。数码成像分析系统软件对结果进行分析,以 visfatin/ β -actin 及 PPAR γ / β -actin 的灰度比值表示 visfatin 及 PPAR γ 蛋白的相对表达水平。

1.4 统计学处理 所有数据处理均应用 SPSS13.0 软件,数据结果以 $\bar{x} \pm s$ 或 M (中位数)表示,多组间比较,符合正态性及方差齐性用单因素方差分析,否则用非参数检验。相关性分析采用 Pearson 或 Spearman 分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 GDM 及正常妊娠组孕妇血清 visfatin 及一般临床资料 GDM 组及正常妊娠组,孕妇年龄、孕周、孕前及产前体重指数均无差异;GDM 组空腹血糖、HbA1c 水平较正常妊娠组显著升高($P < 0.05$),而血清 visfatin 水平明显低于正常妊娠组[(6.72 ± 3.79) ng/ml vs. (8.87 ± 4.08) ng/ml, $t = -2.06$,

$P=0.04$]。GDM 组新生儿体重明显高于正常妊娠组 ($P<0.05$) ,见表 1。

表 1 GDM 组及正常妊娠组血清 visfatin 及一般临床资料比较

指标	GDM 组 (<i>n</i> = 30)	正常妊娠组 (<i>n</i> = 27)	<i>P</i> 值
年龄	29.23 ± 2.80	27.85 ± 2.41	0.05
孕前期体重指数 (kg/m ²)	23.37 (3.07)	23.88 (2.87)	0.67
孕周 (周)	39.21 ± 0.75	39.46 ± 0.48	0.14
目前体重指数 (kg/m ²)	30.20 (4.54)	29.04 (3.83)	0.07
FPG (mmol/L)	4.61 ± 0.58	4.23 ± 0.51	0.01
FINS (μU/ml)	12.68 ± 4.74	11.63 ± 4.91	0.41
HOMA-IR	2.38 (1.48)	2.24 ± 1.08	0.18
HbA1c (%)	5.88 ± 0.38	5.48 ± 0.38	<0.01
TC (mmol/L)	4.67 ± 0.89	4.93 ± 0.79	0.16
TG (mmol/L)	3.26 ± 1.03	2.80 ± 0.93	0.07
HDL-C (mmol/L)	1.32 ± 0.23	1.40 ± 0.26	0.15
LDL-C (mmol/L)	2.73 ± 0.75	2.89 ± 0.69	0.31
VLDL-C (mmol/L)	1.45 ± 0.41	1.27 ± 0.42	0.08
母血 visfatin (ng/ml)	6.72 ± 3.79	8.87 ± 4.08	0.04
新生儿出生体重 (g)	3931.67 ± 552.34	3603.70 ± 423.57	0.02

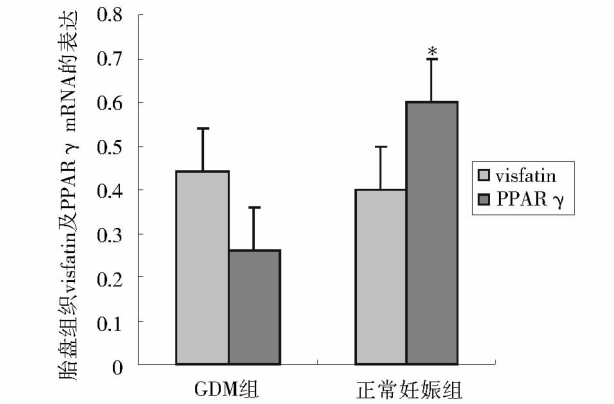
注:FPG:空腹血糖;FINS:空腹胰岛素;HOMA-IR:稳态模型评估-胰岛素抵抗指数;HbA1c:糖化血红蛋白;TC:总胆固醇;TG:甘油三酯;HDL-C:高密度脂蛋白-胆固醇;LDL-C:低密度脂蛋白-胆固醇;VLDL:极低密度脂蛋白。统计描述符合正态性用均值 ± 标准差,不符合正态性采用中位数(四分位数间距)

2.2 胎盘组织 visfatin、PPAR γ mRNA 及蛋白表达水平 孕末期 GDM 组胎盘组织 visfatin mRNA 及蛋白表达水平与正常妊娠组相比,差异无统计学意义[(0.44 ± 0.24) *vs.* (0.40 ± 0.23) , $t = -0.86$, $P > 0.05$; (0.33 ± 0.21) *vs.* (0.52 ± 0.24) , $t = -1.64$, $P > 0.05$];而 GDM 组 PPAR γ mRNA 及蛋白表达水平均明显低于正常妊娠组[(0.26 ± 0.11) *vs.* (0.60 ± 0.41) , $t = -2.77$, $P < 0.05$; (0.34 ± 0.09) *vs.* (0.73 ± 0.13) , $t = -7.03$, $P < 0.05$],见图 1, 2。

2.3 相关性分析 在正常妊娠组,血清 visfatin 水平与空腹血糖呈正相关($r = 0.51$, $P = 0.01$) 。本研究未发现血清 visfatin 水平与胎盘 visfatin mRNA 及蛋白表达具有相关性。而在 GDM 组,胎盘组织 visfatin mRNA 与 PPAR γ mRNA 表达呈正相关($r = 0.67$, $P = 0.02$) 。

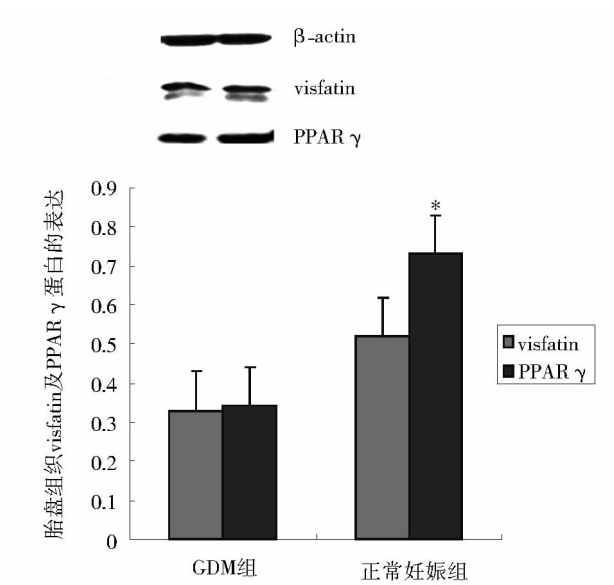
3 讨论

1994 年 visfatin 作为前 B 细胞克隆增殖因子首



注:与正常妊娠组相比,* $P < 0.05$;GDM:妊娠糖尿病;PPAR γ :过氧化物酶体增殖物活化受体 γ

图 1 GDM 组及正常妊娠组胎盘组织中 visfatin 及 PPAR γ mRNA 的表达



注:与正常妊娠组相比,* $P < 0.05$;GDM:妊娠糖尿病;PPAR γ :过氧化物酶体增殖物活化受体 γ

图 2 GDM 组及正常妊娠组胎盘组织中 visfatin 及 PPAR γ 蛋白的表达

次被发现,研究表明 visfatin 在内脏脂肪组织中高度表达^[2]。Visfatin 是烟酰胺腺嘌呤二核苷酸生物合成的限速酶,烟酰胺腺嘌呤二核苷酸对烟酰胺腺嘌呤二核苷酸依赖的脱乙酰酶,sirtuin-1 的活性有调节作用^[7]。Sirtuin-1 在肝脏、脂肪组织和骨骼肌完全或部分通过上调脂联素的生物合成来改善胰岛素敏感性^[12-14]。此外,sirtuin-1 也增加由葡萄糖刺激的胰腺 β 细胞的胰岛素分泌^[15]。当 visfatin 处于低水平时,可以损害葡萄糖刺激的胰岛素分泌^[16]。

Visfatin 作为脂肪细胞因子,其血清表达水平在 GDM 的研究中仍存在争议。而 Telejko 等^[17]通过对中、晚期 GDM 及正常妊娠妇女进行研究,发现孕中期

GDM 与正常妊娠妇女 visfatin 水平无区别,孕晚期 GDM 妇女 visfatin 水平较正常妇女降低。造成这些矛盾的结果可能与种族、GDM 的诊断标准及样本量大小有关。本研究表明,GDM 组孕末期血清 visfatin 水平明显下降。Visfatin 水平降低可能会增加胰岛素抵抗并降低胰岛素的分泌能力,在 GDM 妇女中,可能加重全身葡萄糖调节功能的损害。

与以往研究相似,本研究未发现 GDM 组血清 visfatin 水平与空腹血糖、FINS 及 HOMA-IR 具有相关关系。但在正常妊娠组,visfatin 与空腹血糖呈正相关。我们推测正常妊娠时,visfatin 模拟胰岛素作用,参与血糖的调节。而在 GDM 时,由于炎症反应、激素等多种因素的相互影响,干扰了 visfatin 与血糖间的平衡,因此,visfatin 分泌不足是 GDM 发病的原因之一,visfatin 是 GDM 的保护因子。

关于 visfatin 在胎盘组织中的表达研究相对较少且结果相左。Ma 等^[18]发现,GDM 组孕晚期胎盘组织 visfatin 的表达明显高于正常妊娠组,但 Telejko 等^[17]及罗佳茜等^[19]均发现,孕晚期 GDM 与正常孕妇胎盘组织 visfatin 表达水平无差异。本研究结果与后者一致。而 Telejko 等^[17]还发现胎盘组织 visfatin 的 mRNA 表达与白细胞介素-6、肿瘤坏死因子- α mRNA 的表达呈正相关,并与新生儿体重呈正相关。因此推测,visfatin 以旁分泌/自分泌的形式在胎盘局部起作用,以利于胎盘母儿界面的葡萄糖转运。这也是血清 visfatin 水平与胎盘 visfatin 基因表达无相关性的原因。

Mayi 等^[20]通过对巨噬细胞的研究表明,PPAR γ 是调控糖、脂代谢及炎症反应基因表达的核受体,其配体可以 PPAR γ 依赖的方式增加巨噬细胞中 visfatin 基因的表达。Visfatin mRNA 水平表达增加,可伴随蛋白表达(30%)及分泌(30%)增加。PPAR γ 配体增加 NAD⁺ 的合成,而该过程被 visfatin 特异抑制剂 FK866 抑制,表明 PPAR γ 调节 visfatin 在巨噬细胞中的表达。而 PPAR γ 是否在滋养细胞中调节 visfatin 的表达,还未见报道。

以往研究表明,在糖尿病小鼠胎盘及脂肪组织中一氧化氮、基质金属蛋白酶及肿瘤坏死因子- α 等炎症因子水平升高可造成前炎症环境,致使 PPAR γ 水平降低^[21-22]。另外,本研究发现胎盘组织 PPAR γ 的表达在 GDM 组明显降低,后者胎盘组织中 visfatin mRNA 与 PPAR γ mRNA 水平呈正相关,推测 PPAR γ 对胎盘组织 visfatin 基因的表达可能具有调节作用。但其具体作用机制还有待进一步研究。

总之,在妊娠末期,GDM 妇女血清 visfatin 水平降低,胎盘组织 PPAR γ mRNA 表达降低。虽然胎盘组织 visfatin mRNA 表达与正常妊娠组相比未见明显差异,但与 PPAR γ mRNA 水平呈正相关,表明 visfatin 在 GDM 的发病中起一定作用,并与 PPAR γ 间可能存在调节关系,但还需进一步研究。

参 考 文 献

- [1] American College of Obstetricians and Gynecologists Committee on Practice Bulletins-Obstetrics. ACOG practice bulletin. Clinical management guidelines for obstetriciangynecologists. Number 30, September 2001 (replaces Technical Bulletin Number 200, December 1994). Gestational diabetes [J]. Obstet Gynecol, 2001, 98(3): 525-538.
- [2] Fukuhara A, Matsuda M, Nishizawa M, et al. Visfatin a protein secreted by visceral fat that mimics the effects of insulin [J]. Science, 2005, 307(5708): 426-430.
- [3] Sonoli SS, Shivprasad S, Prasad CV, et al. Visfatin--a review [J]. Eur Rev for Med Pharmacol Sci, 2011, 15(1): 9-14.
- [4] Revollo JR, Grimm AA, Imai S. The regulation of nicotinamide adenine dinucleotide biosynthesis by Nampt/PBEF/visfatin in mammals [J]. Curr Opin Gastroenterol, 2007, 23(2): 164-170.
- [5] Filippatos TD, Derdemezis CS, Gazi IF, et al. Increased plasma visfatin levels in subjects with the metabolic syndrome [J]. Eur J Clin Invest, 2008, 38(1): 71-72.
- [6] Jia SH, Li Y, Parodo J, et al. Pre-B cell colony-enhancing factor inhibits neutrophil apoptosis in experimental inflammation and clinical sepsis [J]. J Clin Invest, 2004, 113(9): 1318-1327.
- [7] Saddi-Rosa P, Oliveira CS, Giuffrida FM, et al. Visfatin, glucose metabolism and vascular disease: a review of evidence [J]. Diabetol Metab Syndr, 2010, 2: 21.
- [8] Lehrke M, Lazar MA. The many faces of PPARgamma [J]. Cell, 2005, 123(6): 993-999.
- [9] Mayi TH, Rigamonti E, Pattou F, et al. Liver X Receptor (LXR) activation negatively regulates visfatin expression in macrophages [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2011, 404(1): 458-462.
- [10] Choi KC, Ryu OH, Lee K W. Effect of PPAR-alpha and -gamma agonist on the expression of visfatin, adiponectin, and TNF-alpha in visceral fat of OLETF rats [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2005, 36(3): 747-753.
- [11] Metzger BE, Gabbe SG, Persson B, et al. International association of diabetes and pregnancy study groups recommendations on the diagnosis and classification of hyperglycemia in pregnancy [J]. Diabetes Care, 2010, 33(3): 676-682.
- [12] de Kreutzenberg SV, Ceolotto G, Papparella I, et al. Downregulation of the longevity-associated protein sirtuin 1 in insulin resistance and metabolic syndrome: potential biochemical mechanisms [J]. Diabetes, 2010, 59(4): 1006-1015.
- [13] Milne JC, Lambert PD, Schenk S, et al. Small molecule activators of SIRT1 as therapeutics for the treatment of type 2 diabetes [J]. Nature, 2007, 450(7170): 712-716.
- [14] Qiao L, Shao J. SIRT1 regulates adiponectin gene expression through Foxo1-C/EBP-beta binding protein alpha transcriptional complex [J]. J Biol Chem, 2006, 281(52): 39915-39924.

- [15] Ramachandran D, Roy U, Garg S, et al. Sirt1 and mir-9 expression is regulated during glucose-stimulated insulin secretion in pancreatic β -islets[J]. FEBS J, 2011, 278(7):1167-1174.
- [16] Revollo JR, Korner A, Mills KF, et al. Namp1/PBEF/Visfatin regulates insulin secretion in beta cells as a systemic NAD biosynthetic enzyme[J]. Cell Metab, 2007, 6: 363-375.
- [17] Telejko B, Kuzmicki M, Zonenberg A, et al. Visfatin in gestational diabetes: serum level and mRNA expression in fat and placental tissue[J]. Diabetes Res Clin Pract, 2009, 84(1):68-75.
- [18] Ma Y, Cheng Y, Wang J, et al. The changes of visfatin in serum and its expression in fat and placental tissue in pregnant women with gestational diabetes[J]. Diabetes Res Clin Pract, 2010, 90(1): 60-65.
- [19] 罗佳茜,刘兴会,张力等. Visfatin 在妊娠期糖尿病患者胎盘组织中的表达及意义[J]. 四川大学学报(医学版)2011, 42(2): 204-207.
- [20] Mayi TH, Duhem C, Copin C, et al. Visfatin is induced by peroxisome proliferator-activated receptor gamma in human macrophages[J]. FEBS J, 2010, 277(17): 3308-3320.
- [21] Lehmann JM, Moore LB, Smith-Oliver TA, et al. An antidiabetic thiazolidinedione is a high affinity ligand for peroxisome proliferator-activated receptor gamma (PPAR gamma) [J]. J Biol Chem, 1995, 270(22): 12953-12956.
- [22] Li L, Yang GY, Shi SC, et al. The adipose triglyceride lipase, adiponectin and visfatin are downregulated by tumor necrosis factor- α (TNF- α) *in vivo*[J]. Cytokine, 2009, 45(1): 12-19.
- (收稿日期:2014-04-05)

· 读者 · 作者 · 编者 ·

《国际内分泌代谢杂志》对参考文献著录的要求

本刊参考文献著录格式基本执行 GB/T 7714-2005《文后参考文献著录规则》。采用顺序编码制著录,依照其在文中出现的先后顺序用阿拉伯数字标出,并将序号置于方括号中,排列于文后。尽量避免引用摘要作为参考文献。引用文献(包括文字和表达的原意)务请作者与原文核对无误。日文汉字请按日文规定书写,勿与我国汉字及简化字混淆。同一文献作者不超过 3 人者,全部著录;超过 3 人者,可以只著录前 3 人,后依文种加表示“等”的文字。作者姓名一律姓氏在前,名字在后,国外作者的名字采用首字母缩写形式,缩写名后不加缩写点;不同作者姓名之间用逗号隔开,不用“和”、“and”等连词。外文期刊名称用缩写,以《Index Medicus》中的格式为准;中文期刊使用刊名全称。每条参考文献均须著录起止页。自 2014 年起,文献题名后用中括号增加标注文献类型标志项目和期号。

示例如下:

- [1] 卢绮萍,裘法祖,吴在德,等. 不同肝缺血时限肝硬变及非肝硬变肝组织基因差异表达及其意义[J]. 中华外科杂志,2007,45(1):50-53.
- [2] Halpern SD, Ubel PA, Caplan AL. Solid-organ transplantation in HIV-infected patients[J]. N Engl J Med, 2002, 347(4):284-287.
- [3] Murray PR, Rosenthal KS, Kobayashi GS, et al. Medical microbiology [M]. 4th ed. St. Louis: Mosby, 2002.
- [4] 褚骏仁. 昏厥与休克//董承琅,陶寿淇,陈灏珠. 实用心脏病学 [M]. 3 版. 上海:上海科学技术出版社,1993:561-585.
- [5] 余建斌. 我们的科技一直在追赶:访中国工程院院长周济 [N/OL]. 人民日报,2013-01-12(2). [2013-3-20]. http://paper.people.com.cn/rmrb/html/2013-01/12/nw.D110000renmrb_20130112_5-02.htm.

本刊编辑部