

哮喘大鼠气道平滑肌细胞 ERK 信号通路调控 Smad6/7 的研究

卢虹蓓 张维溪 李昌崇

摘要 目的 探讨在哮喘大鼠气道平滑肌细胞(ASMC)中 ERK 信号通路对 Smad6/7 蛋白的调控。方法 复制哮喘大鼠模型,原代培养 ASMC,实验设未干预组(A组)、细胞外调节激酶(ERK)阻断剂(U0126)组(B组)、血小板源性生长因子(PDGF)组(C组)、PDGF + ERK 阻断剂组(D组)。免疫组化法测定 Smad6/7 蛋白的表达,反转录-聚合酶链反应(RT-PCR)法测定 Smad6/7 mRNA 表达。结果 哮喘大鼠 ASMC 中 Smad 6/7 蛋白 B 组显著高于 A 组($P < 0.01$),C 组显著低于 A 组($P < 0.01$),D 组与 A 组比较无统计学差异($P > 0.05$);各组哮喘大鼠 ASMC 中 Smad6/7 mRNA 表达无统计学差异。结论 哮喘大鼠 ASMC 中 ERK 信号通路调控 Smad6/7 的作用发生在蛋白水平,不发生于基因水平。

关键词 哮喘 气道平滑肌细胞 细胞外调节激酶 Smad

Regulation of ERK Signal Pathway on Smad6/7 in Airway Smooth Muscle Cells of Asthmatic Rats. Lu Hongbei, Zhang Weixi, Li Chang-chong. Department of Respiratory Diseases, Affiliated Yuying Children's Hospital of Wenzhou Medical College, Zhejiang 325027, China

Abstract Objective To explore the effect of ERK signal pathway on Smad 6/7 in airway smooth muscle cells(ASMC) of asthmatic rats. **Methods** Asthmatic rats were copied. ASMC were cultured from asthmatic rats which were divided into four groups: control group (group A), external signal regulated kinase (ERK) blocking agent (U0126) group (group B), platelet-derived growth factor(PDGF) group (group C), PDGF plus ERK blocking agent group (group D). The protein expressions of Smad6/7 were detected by immunohistochemistry technique, and the mRNA expressions of Smad6/7 were detected by RT-PCR. **Results** The expression of Smad6/7 protein in ASMC of group B was significantly higher than group A ($P < 0.01$), and group C were significantly lower than group A ($P < 0.01$). There were no significant difference between group D and group A ($P > 0.05$). There were no difference in the mRNA expressions of Smad6/7 among all these groups ($P > 0.05$). **Conclusion** The regulatory role of ERK signal pathway on Smad6/7 in ASMC of asthmatic rats was on the level of protein, but not on the level of gene.

Key words Asthma; Airway smooth muscle cells; External signal regulated kinase; Smad

气道重塑是支气管哮喘(简称哮喘)的特征性病理生理改变之一,是哮喘潜在的治疗靶点^[1]。气道平滑肌细胞(ASMC)增殖在气道重塑中占有十分重要的地位,有报道显示哮喘病人气道平滑肌厚度是对照组的3倍^[2]。当前,体外气道平滑肌细胞(airway smooth muscle cells, ASMC)培养是研究哮喘发病机制的重要手段。ERK 信号转导通路广泛存在于多种细胞内,是 MAPK 信号通路的3个家族成员之一,已发现其在气道平滑肌上广泛分布,主要以 ERK1、ERK2 两种亚型存在^[3]。我们既往的研究表明,ERK 介导的信号转导途径在 ASMC 增殖中发挥着十分重

要的作用^[4,5]。Smads 蛋白是 TGF- β 信号转导系统的重要成员,是 TGF- β 受体复合物的下游信号调节蛋白,参与调控细胞的增殖、转化、合成、分泌和凋亡^[6]。TGF- β_1 被认为是哮喘气道重塑的主要调控因子,直接影响气道壁胶原沉积,促进纤维化的形成^[7]。已知 ERK 通路和 TGF- β /Smad 通路在许多细胞中可发生对话,共同协调细胞的一些生物学行为,并且这两条通路都可促进 ASMC 的增殖,但这两条通路在哮喘发病中是否存在交互调节及它们之间发生交互调节的具体环节及分子机制目前还不清楚。

我们通过体外培养哮喘大鼠气道平滑肌细胞(ASMC),血小板源性生长因子(PDGF)刺激哮喘大鼠气道平滑肌细胞增殖以及 ERK 特异性抑制剂 U0126 阻断 ERK 通路后,观察 Smad6/7 蛋白及其 mRNA 在哮喘大鼠气道平滑肌细胞内表达情况,探讨 ERK 信号通路对 Smad6/7 的影响。

基金项目:国家自然科学基金资助项目(30571981,30271383)

作者单位:325027 温州医学院附属育英儿童医院呼吸科(卢虹蓓、张维溪、李昌崇);丽水市中心医院儿科(卢虹蓓)

通讯作者:李昌崇,电子信箱:wzlicheh@21cn.com

材料与方法

1. 主要试剂:DMEM 培养基(法国 Biowest 公司),胎牛血清(法国 Biowest 公司),胰蛋白酶(法国 Biowest 公司),大鼠 IL-1 β 双抗夹心酶联免疫吸附实验(ELISA)试剂盒(美国 Biosource 公司),大鼠抗小鼠 α -actin 单克隆抗体(武汉博士德公司),兔抗大鼠 Smad 6/7 多克隆抗体(美国 Santa Cruz 公司),重组大鼠 PDGF-BB(美国 R&D 公司),U0126(美国 Cell Signaling Technology 公司),Trizol(美国 Invitrogen 公司),RT-PCR 试剂盒(美国 Fermentas 公司),Smad6/7 和 GAPDH 引物(上海生工合成)序列如下:Smad6 上游引物:5'-TGACTGCGAGACGGTGACTT-3', Smad6 下游引物:5'-GG-GACTCTACAGCCTCCAACAG-3',产物 242 bp; Smad7 上游引物:5'-GACAAGGGAAGTGGATGGC-3', Smad7 下游引物:5'-TTAGCAGCAAGTAGTTGAACG-3',产物 389bp; GAPDH 上游引物:5'-CAAGTTCACCGGCACAGTCAA-3', GAPDH 下游引物:5'-TGGTGAAGACGCCAGTAGACTC-3',产物 140bp。

2. 实验动物:SPF 级健康雄性 SD(Sprague-Dawley)大鼠 24 只,4~6 周,体重 120~160g。温州医学院动物实验中心提供。

3. 哮喘动物模型的建立:复制我们既往已建立的哮喘大鼠模型,按随机数字表法取 12 只大鼠,第 1 天和第 8 天腹腔注射 OVA/Al(OH)₃ 混合液 1.5ml[内含 OVA1mg 和 Al(OH)₃ 100mg]^[4,5]。激发阶段,第 15 天开始以 1% OVA 生理盐水溶液雾化吸入,隔天 1 次,每次 30min,共 60 天,为哮喘大鼠,以备下一步哮喘大鼠 ASMC 培养所用。按随机数字表法另外 12 只为对照组,参照哮喘组方法,但致敏和激发时均以生理盐水代替 OVA。各组均于末次激发后 2h 处死,留取血清并立即开胸,右肺经支气管肺泡灌洗留取 BALF,切下左肺组织用于病理切片、免疫组织化学检测。

4. 光镜及电镜观察:光镜下观察 HE 染色的肺组织中的支气管周围炎症细胞浸润和平滑肌增殖情况。每组各取 1 只大鼠,用 H-600 型透射电镜观察肺组织超微结构变化。

5. BALF 中细胞分类计数:瑞氏-姬姆萨染色行白细胞分类计数。

6. 支气管壁厚度(Wat)和气道平滑肌厚度(Wam)检测:挑选每只大鼠 3~5 支有完整横断面的中小支气管,应用 Medlab 生物信号采集系统(南京琅珈公司)采集图像,医学图像分析软件 Image.pro plus 5.0 测量肺内支气管基膜周径(Pbm)、支气管总面积(Wat₁)、管腔面积(Wat₂),平滑肌外缘内气管面积(Wam₁),平滑肌内缘内气管面积(Wam₂),并用 Pbm 标准化,即分别以(Wat₁-Wat₂)/Pbm 和(Wam₁-Wam₂)/Pbm 来表示 Wat 和 Wam。

7. ELISA 法检测血清、BALF IL-1 β 含量:应用 ELISA 法测定血清和 BALF 中 IL-1 β 浓度,测定方法按试剂说明书进行。

8. 哮喘大鼠 ASMC 的培养和鉴定:取哮喘组已建立哮喘

模型大鼠,以胶原酶-胰酶混合消化法培养哮喘大鼠 ASMC,细胞生长融合后,用 0.25% 的胰蛋白酶消化,以 10⁷~10⁸/L 的密度传代培养,对细胞进行形态学观察并对细胞内平滑肌肌动蛋白 α -actin 进行免疫细胞化学染色,95% 以上的细胞呈阳性着色,证实细胞为 ASMC^[8]。取生长状态良好的 3~5 代细胞用于实验。

9. 哮喘大鼠 ASMC 的分组:取哮喘组已建立哮喘模型大鼠 ASMC 按加入药物及浓度的不同分为未干预组(A 组),加无血清 DMEM 2ml; ERK 阻断剂组(B 组),加含 U0126 的浓度 10 μ mol/L 的 DMEM 2ml; PDGF 组(C 组),加含 PDGF-BB 浓度 50 μ g/L 的 DMEM2ml; PDGF+ERK 阻断剂组(D 组),加含 PDGF-BB 和 U0126 的浓度分别为 50 μ g/L 和 10 μ mol/L 的 DMEM2ml。

10. 哮喘大鼠 ASMC 的药物干预:细胞按 6 $\times$ 10³/cm² 的密度接种于 6 孔板,待细胞长至接近融合时,吸出培养液,D-Hanks 液洗细胞,加入含 1% 胎牛血清的 DMEM/F12 培养液,细胞饥饿 24h,使细胞同步化于 G₀ 期,加入不同浓度的 PDGF-BB 和 U0126,作用一定时间后,无血清培养基洗细胞,等待下一步实验。

11. 免疫组化 SP 法检测细胞 Smad6/7 蛋白表达:哮喘大鼠 ASMC 内 Smad 6/7 蛋白的表达:从 6 孔板内取出爬有细胞的盖玻片,用 SP 法对细胞进行染色,胞质内棕黄色沉淀为阳性结果,应用 image-pro plus 图像分析软件测定阳性部位的平均吸光度(mean optical density,MOD),用以代表阳性部位的蛋白表达水平。

12. RT-PCR 法测 ASMC 内 Smad6/7 mRNA 的表达:提取哮喘大鼠 ASMC 总 RNA,取 1 μ l RNA 样品加 99 μ l DEPC 处理的水中,混匀,采用紫外分光光度法测定 OD260、OD280 的值。RNA 纯度以 OD260/OD280 的比值表示,要求比值在 1.8~2.0 之间。反转录反应体系体积为 30 μ l, GAPDH 和 Smad 同管扩增,每管加总 RNA 约 1 μ g。RT-PCR 反应条件为:42 $^{\circ}$ C 反转录 60min, 94 $^{\circ}$ C 预变性 5min, 然后 92 $^{\circ}$ C 30s, 58/60 $^{\circ}$ C 30s, 72 $^{\circ}$ C 30s 反应 37 个循环, 72 $^{\circ}$ C 充分延伸 8min, 4 $^{\circ}$ C 终止反应。产物用 2% 琼脂糖电泳,用 SmartView 凝胶数字成像系统扫描分析扩增产物条带, Smad6/7 mRNA 的相对含量用 Smad6/7 与 GAPDH 吸光度的比值表示。

13. 统计学方法:用 SPSS 10.0 软件对数据进行分析:数据均以均数 $\pm$ 标准差($\bar{x}\pm s$)表示,两组样本均数比较采用 *t* 检验;多组样本均数比较采用单因素方差分析(one-way ANOVA),以 *P*<0.05 为差异有统计学意义。

结 果

1. 一般情况:哮喘组在激发时均出现不同程度的烦躁不安、呼吸急促、腹肌抽搐、大小便失禁等症状,严重者呼吸减慢或节律不齐,行动迟缓或俯伏不动,而对照组无上述表现。经过多次激发后,哮喘组上述症状反而有所减轻,但体重增长减慢,毛色无光泽。

2. 病理改变:光镜下观察 HE 染色的哮喘大鼠肺组织中的支气管周围炎症细胞浸润和平滑肌增殖情况(图 1~图 3)。

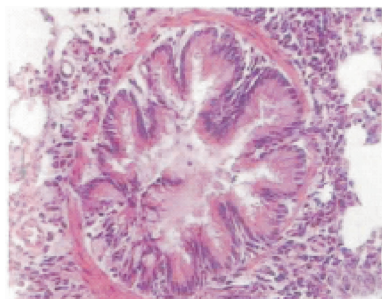


图 1 光镜哮喘组黏膜下,支气管及血管周围大量炎症细胞浸润,气道上皮黏液腺增生,支气管壁明显增厚,管腔狭窄($\times 400$)

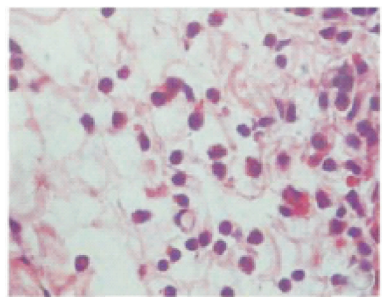


图 2 嗜酸粒细胞增多($\times 400$)

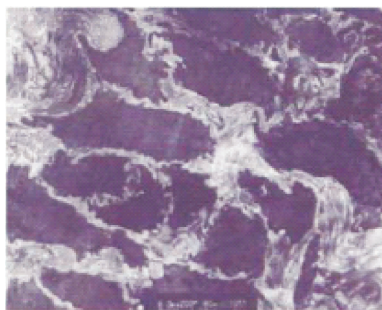


图 3 电镜下示哮喘组肺泡 II 型上皮细胞内质网扩张,胶原纤维增生,肺泡隔增宽($\times 400$)

3. BALF 中白细胞分类计数:哮喘组嗜酸粒细胞百分比 $[(9.10 \pm 2.27)\%]$ 高于对照组 $[(0.91 \pm 0.87)\%, t=2.27, P<0.01]$ 。

4. 哮喘大鼠与对照组平滑肌细胞厚度比较($\mu\text{m}^2/\mu\text{m}, \bar{x} \pm s$):哮喘大鼠 Wat 检测结果 (73.4 ± 5.6) 高于对照组 $(35.7 \pm 1.7) (P<0.01)$;哮喘大鼠 Wam 检测结果 (38.9 ± 4.2) 高于对照组 $(14.5 \pm 1.1) (P<0.01)$ 。

5. 血清、BALF 中 IL-1 β 含量比较($\text{ng/L}, \bar{x} \pm s$):哮喘组血清中 IL-1 β 浓度 (81 ± 4) 高于对照组 $(53 \pm 6) (P<0.01)$;哮喘组 BALF 中 IL-1 β 浓度 (331 ± 15) 高于对照组 $(130 \pm 9) (P<0.01)$ 。

6. ASMC 内 Smad6/7 蛋白表达:哮喘大鼠 ASMC 中 Smad 6/7 蛋白 B 组显著高于 A 组 $(P<0.01)$, C 组 Smad 6/7 蛋白显著低于 A 组 $(P<0.01)$, D 组与 A 组比较无统计学差异 $(P>0.05)$ (图 4~图 5、表 1)。

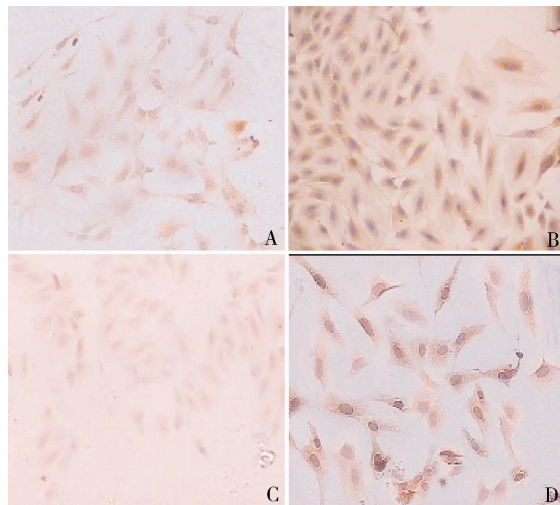


图 4 各组 ASMC 内 Smad6 蛋白的表达(SP, $\times 200$)

A. 未干预组; B. 细胞外调节激酶(ERK)阻断剂(U0126)组; C. 血小板源性生长因子(PDGF)组; D. PDGF + ERK 阻断剂组

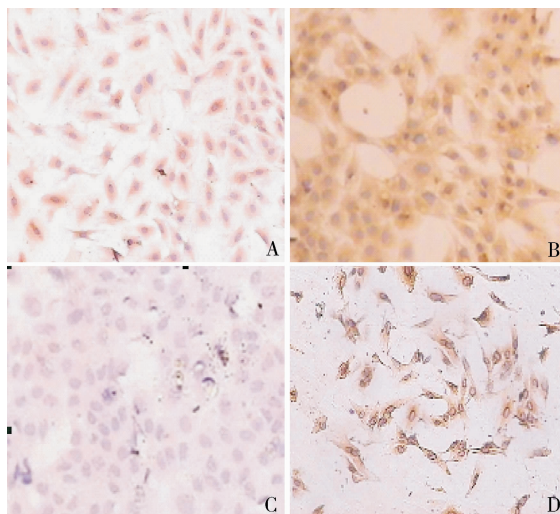


图 5 各组 ASMC 内 Smad7 蛋白的表达(SP, $\times 200$)

A. 未干预组; B. 细胞外调节激酶(ERK)阻断剂(U0126)组; C. 血小板源性生长因子(PDGF)组; D. PDGF + ERK 阻断剂组

7. ASMC 内 Smad6/7 mRNA 的表达:各组哮喘大鼠 ASMC 内 Smad6/7 的表达无显著性差异 $(P>0.05)$ (图 6~图 7、表 2)。

表 1 免疫组化检测各组哮喘大鼠气道平滑肌细胞 Smad6/7 蛋白表达 (MOD, $\bar{x} \pm s$)

组别	重复次数	平均吸光度 (MOD)	
		Smad6	Smad7
A 组	10	0.41 ± 0.02	0.56 ± 0.05
B 组	10	0.69 ± 0.05 *	0.78 ± 0.03 *
C 组	10	0.23 ± 0.04 *	0.34 ± 0.05 *
D 组	10	0.43 ± 0.03 [△]	0.53 ± 0.02 [△]
<i>F</i>		206.3	114.7
<i>P</i>		<0.01	<0.01

与 A 组比较, **P* < 0.01, [△]*P* > 0.05

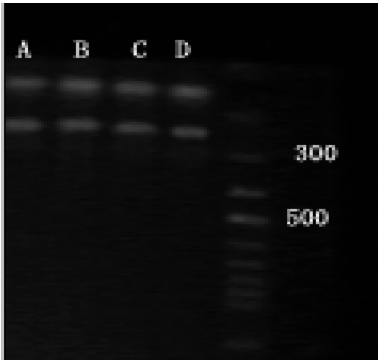


图 6 Smad6 mRNA RT-PCR 产物电泳图

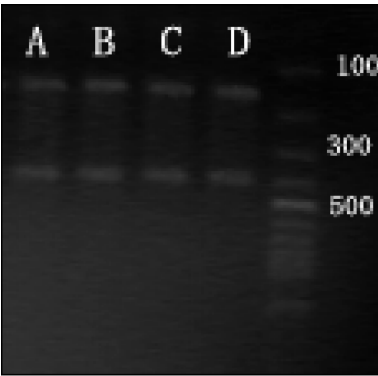


图 7 Smad7 mRNA RT-PCR 产物电泳图

表 2 各组 ASMC Smad6/7 mRNA 的表达

组别	重复次数	平均吸光度 (MOD)	
		Smad6	Smad7
A 组	10	1.46 ± 0.08	1.95 ± 0.10
B 组	10	1.45 ± 0.11 [△]	2.02 ± 0.11 [△]
C 组	10	1.40 ± 0.10 [△]	1.98 ± 0.11 [△]
D 组	10	1.42 ± 0.09 [△]	2.01 ± 0.08 [△]
<i>F</i>		1.262	1.865
<i>P</i>		>0.05	>0.05

与 A 组比较, [△]*P* > 0.05

讨 论

ERK 信号转导通路广泛存在于多种细胞内,是

MAPK 信号通路的 3 个家族成员之一,已发现它在气道平滑肌上广泛分布,主要以 ERK1、ERK2 两种亚型存在^[9]。ERK 主要介导生长因子如:血小板源性生长因子 (platelet - derived growth factor ,PDGF)、碱性成纤维细胞生长因子 (basic fibroblastgrowth factor, bFGF)、胰岛素样生长因子 (insulin - like growth factors, IGFs) 等的细胞内信号转导,调节细胞的增殖、分化、迁移等生物学行为。I - Smad (Smad6 和 Smad7) 蛋白是转化生长因子 - β (TGF - β) 细胞内信号转导的负调控蛋白,其功能是抑制受体激动的 Smads 蛋白介导的信号转导,阻断 TGF - β 介导的转录反应。研究发现 Smad7 较 Smad6 的抑制作用更为显著,Smad7 由 TGF - β 诱导产生,是 TGF - β 信号转导途径的主要抑制性调控蛋白。Nakao 等^[10] 免疫组化法观察发现哮喘组和正常组 Smad7 蛋白均主要表达于支气管上皮细胞,哮喘组较正常组低表达,Western blotting 法检测亦显示正常组 Smad7 抗体较哮喘组高表达。哮喘患者支气管上皮细胞 Smad7 表达水平与基膜厚度及 AHR 呈负相关,Smad7 抑制气道重塑部分通过抑制 TGF - β 介导的转录反应,支气管上皮细胞 Smad7 的表达调控与哮喘气道重塑和 AHR 密切相关。抑制 TGF - β 和 BMP 的信号转导的 Smad6 也是 TGF 超家族中骨形态发生蛋白信号的抑制因子,是 TGF 信号和 BMP 信号的负性调节交叉点,Smad6 由 BMPs 诱导产生,其编码基因位于 15q21 ~ 22 染色体上。研究发现 TGF - β 超家族成员可以有效地诱导 Smad6 的 mRNA 的产生,Smad6 可以通过自分泌负反馈环来控制 TGF - β 信号的强度和持续时间^[11]。但其调节机制与 Smad7 不同,它不是作用于受体蛋白激酶,而是与 Smad4 竞争并结合被受体激活的 R - Smad (如 Smad1),形成无活性的 Smad 聚合物,起到干扰该信号系统的转导的效目前 Smad6 作为 I - Smad 在哮喘气道重塑中的报道在国内外尚少。

本实验在哮喘大鼠 ASMC 中,用 PDGF 刺激致 ASMC 增殖,免疫组化法测得 Smad6 和 Smad7 蛋白表达减少;U0126 阻断 PDGF 对 ERK 蛋白活化作用后,Smad6 和 Smad7 蛋白表达却增加。本实验结果和上述研究结果以及本课题前期在动物模型中研究结果得出的结论基本一致;Smad6 和 Smad7 蛋白是 TGF - β 细胞内信号转导的负调控蛋白,另外 ERK 通路可能对 Smad 通路在胞质内 (蛋白水平) 发生调节。

由于各实验的研究目的不同,研究对象、细胞类

型以及所用的刺激因子也各不相同,因而对于 ERK 通路 与 TGF/Smad 通路在细胞核内(基因水平)是否存在交联,目前尚无定论。在人肾小球系膜细胞中 Ox - LDL 能通过 TGF - β /Smad 信号通路促进纤溶酶原活化因子抑制剂 - 1 (PAI - 1) 表达, TGF - β /Smad 信号通路激活 ERK 信号通路, ERK 信号通路则与 Smad2/3 的激活有关。用 ERK 抑制剂 PD98059 或 U0126 处理后,则显著抑制了 Ox - LDL 介导的 PAI - 1 mRNA 增加和 Smad3 的核表达以及蛋白复合物的形成,说明 ERK 活化后参与了 Ox - LDL 介导的 Smad3 核内激活。而 Guo 等^[12]发现,在肾小球系膜细胞内, TGF - β 促使 Smad 蛋白核转导以及 Smad 与 SBE 结合的效应不受 ERK 的调节。在成骨系 MC3T3 - E1 细胞内, Ras - ERK 通路不影响由 TGF 受体激活的 Smad3 的转录活性,提示 ERK 通路 与 TGF/Smad 通路在细胞核内也许不发生交互调节作用。Hong 等研究了在人肾小球系膜细胞中氧化修饰低密度脂蛋白 (Ox - LDL) 介导的 TGF - β 信号通路和 ERK 激活的 PAI - 1 转录呈正相关。本课题探讨哮喘大鼠 ASMC 中 ERK 信号通路对 Smad6/7 基因表达是否起调控作用。我们用 RT - PCR 技术检测了哮喘大鼠 ASMC 内 Smad6/7 mRNA 的表达,结果发现用 PDGF 激活 ERK 通路或用 U0126 阻断 ERK 通路后对 Smad6/7 mRNA 的表达没有影响。

总之,本研究发现哮喘大鼠 ASMC 中 ERK 信号通路调控 Smad6/7 的作用发生在蛋白水平,不发生于基因水平。

参考文献

- 1 Zhang WX, Li CC. Airway remodeling: a potential therapeutic target in asthma[J]. World J Pediatr, 2011, 7(2): 124 - 128

- 2 Cokugras H, Akcakaya N, Seckin, *et al.* Ultrastructural examination of bronchial biopsy specimens from children with moderate asthma [J]. Thorax, 2001, 56(1): 25 - 29
- 3 Corbel M, Caulet - Maugendre S, Germain N, *et al.* Enhancement of gelatinase activity during development of subepithelial fibrosis in a murine model of asthma [J]. Clin Exp Allergy, 2003, 33(5): 696 - 704
- 4 管小俊, 张维溪, 李昌崇, 等. 细胞外信号调节激酶和转换生长因子 β 1 在哮喘气道重塑中的作用以及糖皮质激素的调控[J]. 中华医学杂志, 2007, 87(25): 1767 - 1772
- 5 李昌崇, 管小俊, 张维溪, 等. 细胞外信号调节激酶信号转导途径在哮喘大鼠气道重塑中作用及糖皮质激素的调控[J]. 中华儿科学杂志, 2007, 45(4): 288 - 292
- 6 Drummond AE, Dyson M, Le M, *et al.* Ovarian follicle populations of the rat express TGF β signaling pathways [J]. Mol Cell Endocrinol, 2003, 202(1 - 2): 53 - 57
- 7 张维溪, 戴欢, 贺孝良, 等. 糖皮质激素调控哮喘大鼠气道重塑中 TGF - β 1/Smad 信号通路的研究[J]. 中国药理学通报, 2009, (09): 1142 - 1146
- 8 卢虹蓓, 张维溪, 李昌崇. 哮喘大鼠气道平滑肌细胞培养方法探讨[J]. 温州医学院学报, 2009, 39(3): 264 - 266
- 9 Masuda T, Tanaka H, Komai M, *et al.* Mast cells play a partial role in allergen - induced subepithelial fibrosis in a murine model of allergic asthma [J]. Clin Exp Allergy, 2003, 33(5): 705 - 713
- 10 Nakao A, Sagara H, Setoguchi Y, *et al.* Expression of Smad7 in bronchial epithelial cells is inversely correlated to basement membrane thickness and airway hyperresponsiveness in patients with asthma [J]. J Allergy Clin Immunol, 2002, 110(6): 873 - 878
- 11 Whitman M. Signal transduction, feedback from inhibitory SMADs [J]. Nature, 1997(389): 549 - 551
- 12 Guo B, Inoki K, Isono M, *et al.* MAPK/AP - 1 - dependent regulation of PAI - 1 gene expression by TGF - β in rat mesangial cells [J]. Kidney Int, 2005, 68(3): 972 - 984

(收稿: 2011 - 07 - 16)

(修回: 2011 - 08 - 23)

《临床肝胆病杂志》2013 年征稿、征订启事

《临床肝胆病杂志》于 1985 年 2 月创刊,是教育部主管、吉林大学主办的我国首个肝胆胰疾病专业杂志。刊载内容实行临床与基础并重,中西医并重,内外科并重,肝胆胰并重。本刊为“中国科技论文统计源期刊”(中国科技核心期刊),被美国《乌利希期刊指南》(UPD)、《化学文摘》(CA)、波兰《哥白尼索引》(IC)和英国国际农业与生物科学研究中心(CABI)等国际数据库收录。

热忱欢迎广大同仁登录本刊官网的采编系统,或通过邮箱为本刊投稿。本刊为月刊,全年 12 期,16 开本,每月 20 日发行,每期定价 10 元。杂志国内外公开发行,可从全国各地邮局订购(邮发代号 12 - 80),也可直接从本刊编辑部订购(通过邮局汇款)。地址:吉林省长春市东民主大街 519 号《临床肝胆病杂志》编辑部。邮编:130061。电话:0431 - 88782542/3542。邮箱:lcgdbzz@163.com。官方网站:lcgdbzz.org。官方微博: <http://weibo.com/lcgdbzz>