doi：10.3969/j.issn.1672-397X.2019.06.028

“痹痛方”对胶原诱导关节炎模型小鼠血清和关节组织中炎症因子表达的影响

苗正月[1,2]　张前德[1,2]　冯小可[1,2]　蒋金桃[1,2]　崔国良[1,2]　武晓艳[1,2]　丁　炜[1,2]

（1.南京医科大学第一附属医院中医科，江苏南京210029；2.南京医科大学中西医结合研究所，江苏南京210029）

摘　要　目的：观察痹痛方对胶原诱导关节炎（Collagen Induced Arthritis，CIA）模型小鼠血清和关节组织中炎症因子表达的影响，探讨痹痛方治疗类风湿关节炎的抗炎作用机制。方法：将50只DBA/1小鼠随机分为5组，每组10只，分别为空白对照组、模型组和痹痛方小、中、大剂量组。除空白对照组外，其余各组采用牛Ⅱ型胶原诱导关节炎小鼠模型。造模成功后，痹痛方小、中、大剂量组分别予痹痛方0.108、0.432、1.728g/kg灌胃，模型组和空白对照组灌胃等量生理盐水，每日1次，连续灌胃28d。末次灌胃后处死小鼠并取材，酶联免疫吸附试验（ELISA）检测小鼠血清中白介素-6（IL-6）、IL-10、IL-17、肿瘤坏死因子（TNF-α）的表达，实时荧光定量法（RT-PCR）检测小鼠关节组织中炎症因子IL-6、IL-10、IL-23和干扰素γ（IFN-γ）、干扰素γ受体1（IFN-γR1）、IFN-γR2 mRNA的表达，免疫印迹分析法（Western Blot）检测小鼠关节组织中IL-6和IL-10蛋白的表达，苏木精-伊红染色法（HE）观察关节组织形态变化，免疫组织化学法（IHC）检测小鼠关节中IL-6的表达。结果：干预结束后，模型组小鼠血清中IL-6、IL-17、TNF-α表达，关节组织中IL-6、IFN-γR1 mRNA和IL-6蛋白表达均较空白对照组明显升高（$P<0.001$，$P<0.01$）。HE染色和IHC显示模型组小鼠关节腔界限不清晰，腔内狭窄，大量炎性细胞浸润，可见大量的IL-6阳性细胞表达。痹痛方各剂量组小鼠血清中IL-6水平，关节组织中IL-6、IL-10、IFN-γR1 mRNA和IL-6蛋白表达均明显低于模型组（$P<0.05$，$P<0.01$，$P<0.001$）；痹痛方小剂量和大剂量组小鼠关节组织中IL-23 mRNA表达明显低于模型组（$P<0.05$）；痹痛方小剂量和中剂量组小鼠关节组织中IL-10蛋白表达明显低于模型组（$P<0.05$，$P<0.01$）。病理结果示，痹痛方各剂量组小鼠关节炎症减轻，IL-6表达减少。痹痛方各剂量组之间比较，血清中IL-17、TNF-α，关节组织中IL-6、IL-10、IL-23、IFN-γR1 mRNA和IL-6、IL-10蛋白的表达均有统计学差异（$P<0.05$，$P<0.01$，$P<0.001$）。结论：痹痛方可减轻胶原诱导关节炎模型小鼠关节炎症，其可能的作用机制为抑制IL-6为主的炎症因子的表达，同时升高抑炎因子IL-10的表达。

关键词　痹痛方；实验性关节炎；炎症因子；实验研究；小鼠

中图分类号　R289.51　　**文献标志码**　A　　**文章编号**　1672-397X（2019）06-0077-05

类风湿关节炎（Rheumatoid Arthritis，RA）是一种最常见的炎性关节病，主要累及手脚等小关节，呈对称性，以滑膜炎症和骨质的破坏为主要特征[1]，与遗传、环境因素和自身免疫关系密切，而这几个因素相互作用最终都是通过增加炎症导致RA发生。相关报道指出，在RA患者的滑膜组织以及滑膜液中发现大量的炎性细胞因子，在这些细胞因子的不断作用下，炎症又持续发生，导致病情加重[2]。目前常用的治疗RA的药物主要有甲氨蝶呤、来氟米特、糖皮质激素等，虽然这些药物可以早期消炎止痛，延缓发病速度，但是长期服用会产生消化系统、神经系统等不良反应，长期服用抗风湿（cDMARDs）药物还会增加间质性肺病和气道疾病的风险。近年来针对肿瘤坏死因子（TNF-α）、白介素-6（IL-6）等炎性因子或JAK等相关信号通路的单克隆抗体开始广泛使用，使RA患者的炎症症状得到了缓解[3]，但对单克隆抗体不敏感的人仍然很多。因此，寻找多靶点控制RA炎症的药物是当前的研究方向[4]。类风湿关节炎可归属于中医学“痹证”范畴，著名风湿病专家金实教授自拟“痹痛方”治疗寒湿阻络型痹证有明显的临床疗效[5]。丁炜教授作为金老的传承人，善用此方化裁治疗RA。本研究拟观察痹痛方对胶原诱导关节炎（Collagen Induced Arthritis，CIA）模型小鼠血清和关节组织中炎症因子表达的影响，探讨痹痛方治疗类风湿关节炎的抗炎作用机制。

1　实验材料

1.1　实验动物　4~8周龄健康DBA/1雄性小鼠50只，体重18~22g，购自上海斯莱克实验动物有限责任

公司，实验动物许可证号：SCXK（沪）0356440。动物饲养于南京医科大学五台山动物房，SPF级，室内温度保持在20℃左右，相对湿度（55+10）%，常规自由饮食。所有研究均遵循实验动物护理指南的原则，并经南京医科大学动物实验伦理审查委员会批准，审批号IACUC-1803012。

1.2 药物与试剂 痹痛方由防风15g、白芷12g、威灵仙20g、蜈蚣1g、甘草6g组成，采用颗粒剂，用量为草药等效量，购于江阴天江药业有限公司。细胞因子：甘油醛-3-磷酸脱氢酶（GAPDH）、IL-6、IL-10、IL-23、干扰素γ（IFN-γ），干扰素γ受体1（IFN-γR1）、IFN-γR2，均购于南京金斯瑞生物科技有限公司。抗体白介素6（IL-6 D5W4V）购于Cell Signaling Technolog，抗体白介素10（IL-10 ab189392）购于abcam（上海）贸易有限公司，Anti-GAPDH Mouse mAb（GB12002）购于武汉谷歌生物有限公司，鼠二抗（FMS-MS01）、ELISA试剂盒购于福麦斯生物技术有限公司，牛Ⅱ型胶原（20021）、弗式完全佐剂（F5881）购于赛默飞世尔科技公司。

1.3 主要仪器 细胞冻存管（美国Corning公司），384孔板、7900荧光定量PCR仪（美国ABI公司），MICROCL21R微量离心机（美国Thermo公司），NanoDrop2000微量核酸蛋白检测仪（美国基因公司），Millis-Qsynthesis超纯水仪（美国MILLIPORE公司），脱水机、包埋机（武汉俊杰电子有限公司），XW-80A微型漩涡混合仪（上海沪西分析仪器厂有限公司），正置光学显微镜、倒置光学显微镜、成像系统（日本尼康公司）。

2 实验方法

2.1 胶原制备 试剂配制：10mL灭菌双蒸水与30μL乙酸溶液混合配制成A液，称取牛Ⅱ型胶原溶于A液中，混合液浓度为3mg/mL，加入转子，锡纸避光封口。置于磁力搅拌器上4℃搅拌6~8h混匀制成胶原溶液。乳化胶原：加入与胶原溶液等体积的完全弗氏佐剂（CFA），用2支5mL注射器连接三通管反复抽吸乳化（冰上操作），乳化时间约45min。乳化结果检验：烧杯中加入一定量蒸馏水，将乳液滴入水中，观察其性状。乳化完全的乳液于水中性状稳定，呈饱满片状浮于水面且5min内不分散。

2.2 分组与造模 50只健康DBA/1雄性小鼠随机分为空白对照组、模型组和痹痛方小、中、大剂量组，每组10只。小鼠饲养1周后除空白对照组外，其余各组用CFA乳化剂在距小鼠尾根部1.5~2cm处皮下注射100μL，进行第一次免疫。21d后进行二次免疫，自二次免疫后每4d对各组小鼠进行关节炎评分，评分采用16分制。如发现小鼠关节发红、肿胀，甚至出现关节强直、活动障碍，则表明造模成功。本研究小鼠在造模过程中并没有出现死亡现象，且小鼠在二次免疫之后均发病，所以整个造模过程很顺利，为了防止造模过程中出现死亡或者构建模型失败现象，在设置小鼠分组时，可适当每组增加几只备用小鼠。

2.3 中药制备 按照与所需草药剂量等剂量的颗粒剂配制痹痛方，用10mL灭菌蒸馏水溶解并震荡均匀，定容成54g/10mL，过滤分装，4℃保存。根据正常人体重和服药剂量换算，痹痛方小剂量为等效剂量的1倍，中剂量为等效剂量的4倍，大剂量为等效剂量的16倍，即小、中、大剂量分别为0.108、0.432、1.728g/kg，灌胃前将定容的药物稀释为各组需要浓度。

2.4 干预方法 小鼠造模成功后，痹痛方各剂量组每日灌胃相应剂量痹痛方溶液，20μL/g，模型组与空白对照组灌胃等体积生理盐水，每天1次，连续灌胃28d。

2.5 指标检测 灌胃治疗结束后，所有小鼠麻醉后用抗凝管收集眼球血，分离血清放于-80℃保存用于酶联免疫吸附试验法（ELISA）检测。脱椎处死，取各关节组织关节，统一取小鼠左下肢放于液氮保存用于PCR和WB检测，右下肢保存于卡诺氏固定液（Carnoy，冰醋酸：无水乙醇=1∶3）中用于病理检测。

2.5.1 ELISA法检测小鼠血清IL-6、IL-10、IL-17和TNF-α表达 将小鼠全血置于离心机，1170×*g*离心10min，取血清按照各个试剂盒说明测定IL-6、IL-10、IL-17和TNF-α表达情况。

2.5.2 实时荧光定量法（RT-PCR）检测小鼠关节组织中IL-6、IL-10、IL-23、IFN-γ、IFN-γR1、IFN-γR2 mRNA表达 取各组小鼠左下肢关节，研磨钵将关节组织研碎，放入移液管中，加入Trizol，放入钢珠，在移液管外壁做好标记，置匀浆仪中匀浆，提取关节组织RNA，用逆转录试剂盒逆转录成cDNA，使用PCR仪检测小鼠关节组织中IL-6、IL-10、IL-23、IFN-γ、IFN-γR1、IFN-γR2 mRNA表达情况。引物由南京金斯瑞生物公司合成，序列见表1。

2.5.3 免疫蛋白印迹（WB）法检测小鼠关节组织中IL-6、IL-10蛋白表达 各组小鼠左下肢关节研磨后放至移液管，每20mg小鼠关节放入300μL蛋白裂解液，放入钢珠，匀浆后提取蛋白组织，蛋白质样品加到12%的十二烷基硫酸钠聚丙烯酰胺凝胶电泳，转

膜，用含5%脱脂牛奶的TBST室温封闭2h，抗体IL-6和IL-10 1∶1000稀释，4℃过夜孵育，TBST洗30min，每10min换液1次，敷兔二抗2h，TBST洗30min，每10min换液1次，曝光，检测小鼠关节组织中IL-6和IL-10蛋白表达情况。

表1 相关引物序列

Gene	primer sequence
GAPDH	sense 5′ CCACACTGTGCCCATCTACG 3′
	anti-sense 5′ AGGATCTTCATGAGGTAGTCAGTCAG 3′
IL-6	sense 5′ GGTGCCCTGCCAGTATTCTC 3′
	anti-sense 5′ TTGGTCCTTAGCCACTCCTTC 3
IL-10	sense 5′ GCTCTTACTGACTGGCATGAG 3′
	anti-sense 5′ CGCAGCTCTAGGAGCATGTG 3′′
IL-23	sense 5′ TTCAGATGGGCATGAATGTTTCT 3′
	anti-sense 5′ CCAAATCCGAGCTGTTGTTCTAT 3′
IFN-γ	sense 5′ ATGAACGCTACACACTGCATC 3′
	anti-sense 5′ CCATCCTTTTGCCAGTTCCTC 3′
IFN-γR1	sense 5′ CTGGCAGGATGATTCTGCTGG 3′
	anti-sense 5′ GCATACGACAGGGTTCAAGTTAT 3′
IFN-γR2	sense 5′ ATGAACGCTACACACTGCATC 3′
	anti-sense 5′ CCATCCTTTTGCCAGTTCCTC 3′

2.5.4 木精-伊红染色法（HE）观察小鼠关节病理变化 各组小鼠右下肢关节组织经固定液固定3d后，转移至含10% EDTA脱钙液中，慢摇床脱钙28~35d，石蜡包埋，切片，HE染色，制成载玻片。显微镜下观察滑膜增生、炎性变化和骨破坏情况。

2.5.5 免疫组化（IHC）检测小鼠关节组织中IL-6表达 将石蜡切片放入60℃恒温烤箱烘烤，冲洗，PBS浸泡，山羊血清封闭10min，抗体稀释液按照1∶50的比例稀释IL-6，4℃孵育过夜。PBS液冲洗5min 3次，滴加1∶200稀释过的辣根过氧化物酶标记的兔抗鼠二抗，湿盒室温孵育60min，PBS液冲洗5min 3次，滴加DAB显色液5min，双蒸水清洗，苏木素复染5min，双蒸水冲洗。梯度酒精脱水，风干，二甲苯透明，DPX封片，光镜下观察小鼠关节组织中IL-6表达。

2.6 统计学方法 所有数据均使用WPS Office2016软件录入，统计分析使用GraphPad Prism5，计量资料以（$\bar{x}\pm s$）表示，采用t检验，计数资料采用χ^2检验。$P<0.05$为差异有统计学意义。

3 实验结果

3.1 各组小鼠血清炎性因子表达水平比较 结果见表2。痹痛方各剂量组之间比较，血清中IL-17、TNF-α表达差异有统计学意义（$P<0.05$）。

3.2 各组小鼠关节组织中炎性因子mRNA表达比较 结果见表3。痹痛方各剂量组之间比较，关节组织中IL-23 mRNA表达（$P<0.05$），IL-6、IFN-γR1 mRNA表达（$P<0.01$），IL-10 mRNA表达（$P<0.001$），均有统计学差异。

3.3 各组小鼠关节组织中炎性因子蛋白表达比较 结果见图1、表4。痹痛方各剂量组之间比较，小鼠关节组织中IL-6、IL-10蛋白表达差异有统计学意义（$P<0.001$）。

3.4 各组小鼠关节组织病理形态比较 见图2。空白对照组小鼠关节组织可见关节腔清晰，无炎性细胞浸润。模型组小鼠关节腔界限不清晰，腔内狭窄，大量炎性细胞浸润。痹痛方各剂量组小鼠和空白对

表2 各组小鼠血清中IL-6、IL-10、IL-17、TNF-α表达比较（$\bar{x}\pm s$） %

组别	动物数（只）	剂量	IL-6	IL-10	IL-17	TNF-α
空白对照组	10		2.28±0.84***	12.06±7.68	18.06±10.34**	12.33±3.49**
模型组	10		314.95±155.37###	8.71±4.70	86.64±37.11##	28.05±5.73##
痹痛方小剂量组	10	0.108g/kg	78.84±26.77*	5.61±1.70	62.06±10.60	21.74±4.69
痹痛方中剂量组	10	0.432g/kg	64.68±65.61*	12.47±7.73	52.67±17.66	38.72±24.12#
痹痛方大剂量组	10	1.728g/kg	62.96±41.97*	10.95±8.84	77.15±39.42	29.10±4.96

注：与模型组比较，*$P<0.05$，**$P<0.01$，***$P<0.001$；与空白对照组比较，#$P<0.05$，##$P<0.01$，###$P<0.001$。

表3 各组小鼠关节组织中IL-6、IL-10、IFN-γ、IL-23、IFN-γR1、IFN-γR2 mRNA表达比较（$\bar{x}\pm s$） %

组别	动物数（只）	剂量	IL-6	IL-10	IL-23	IFN-γ	IFN-γR1	IFN-γR2
空白对照组	10		1.98±1.59***	6.96±5.87	3.69±3.96	10.01±7.17	12.80±3.37**	7.14±2.71
模型组	10		29.63±22.26###	5.85±2.50	6.27±4.72	28.90±47.10	29.03±11.31#	15.20±17.27
痹痛方小剂量组	10	0.108g/kg	9.19±7.07*	10.81±3.98*	4.48±3.27*	22.07±24.39	7.31±6.96**	10.00±9.83
痹痛方中剂量组	10	0.432g/kg	6.81±5.22*	15.12±9.62*	2.02±0.98	11.16±10.35	14.29±15.89**	7.23±5.85
痹痛方大剂量组	10	1.728g/kg	12.03±13.78*	40.29±12.82*###	2.21±1.09*	8.65±6.65	10.60±9.18**	6.58±4.56

注：与模型组比较，*$P<0.05$，**$P<0.01$，***$P<0.001$；与空白对照组比较，##$P<0.01$，###$P<0.001$。

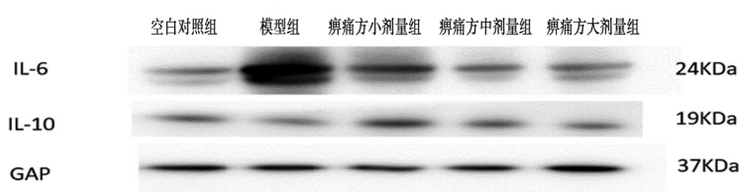

图1 各组小鼠关节组织中IL-6、IL-10蛋白表达比较

照组相比，关节腔狭窄，有炎性细胞浸润；与模型组相比，关节腔界限清晰。表明痹痛方可改善关节炎小鼠的关节炎性改变。

3.5　各组小鼠关节组织中IL-6表达比较　见图3。空白对照组小鼠关节组织可见少量IL-6阳性细胞，模型组小鼠关节腔及滑膜内均可见大量IL-6阳性细胞浸润，痹痛方各剂量组IL-6阳性细胞均较少。

表4　各组小鼠关节组织中IL-6、IL-10蛋白表达比较（$\bar{x}\pm s$）　%

组别	动物数（只）	剂量	IL-6	IL-10
空白对照组	10		$0.18\pm0.01^{***}$	0.18 ± 0.01
模型组	10		$0.17\pm0.01^{\#\#\#}$	0.17 ± 0.01
痹痛方小剂量组	10	0.108g/kg	$0.27\pm0.02^{***\#\#\#}$	$0.27\pm0.02^{*\#\#}$
痹痛方中剂量组	10	0.432g/kg	$0.20\pm0.01^{***\#\#\#}$	$0.19\pm0.02^{**\#}$
痹痛方大剂量组	10	1.728g/kg	$0.17\pm0.02^{***\#\#\#}$	0.20 ± 0.04

注：与模型组比较，*P<0.05，**P<0.01，***P<0.001；与空白对照组比较，#P<0.05，##P<0.01，###P<0.001。

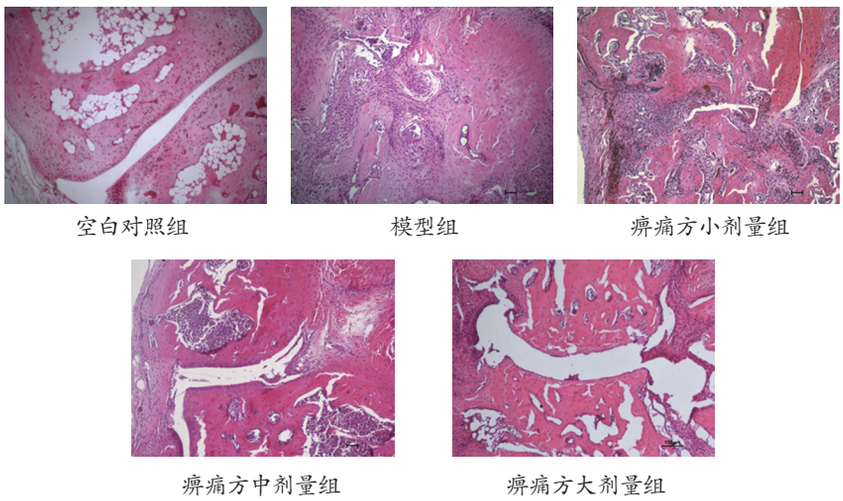

图2　各组小鼠关节组织形态比较（HE，×10）

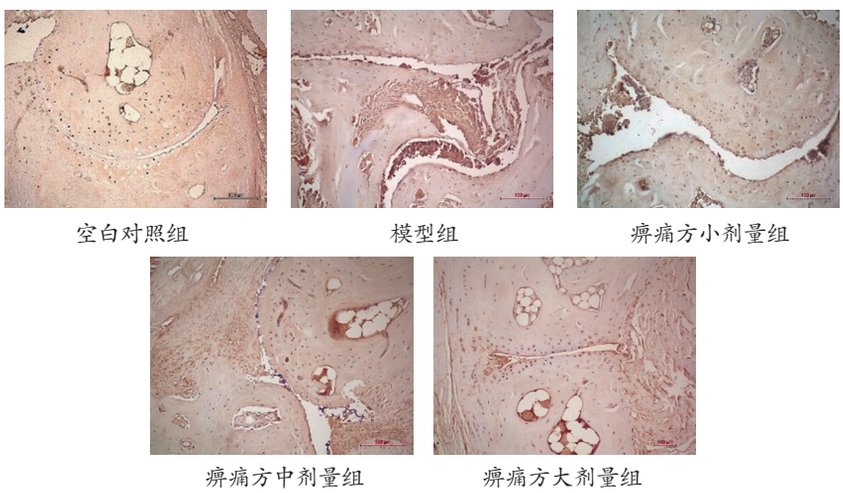

图3　各组小鼠关节组织中IL-6表达比较（免疫组化，×20）

4　讨论

类风湿关节炎是一种自身免疫性疾病，属中医学“痹证”范畴。欧洲抗风湿病联盟（EULAR）指出，类风湿关节炎的发展是一个复杂的多步骤的过程，与遗传、环境因素及自身免疫等都有关[6]。遗传因素中最强的风险因子是SE等位基因，能优先呈现瓜氨酸化抗原，导致炎症增加，其他的风险因子如IL-6、TRAF1、STAT4等，主要是通过加重炎症而导致风险增加[7]。有学者提出炎症是RA患者死亡的一个重要风险指标，IL-10可以从多种细胞中产生，如T调节细胞亚群、B细胞、树突状细胞、单核/巨噬细胞、$CD4^+$T、自然杀伤（NK）细胞和CD8+T细胞等[8-9]，同时还可以抑制IL-1和TNF-α等其他细胞因子的产生，并且可以通过$CD4^+$T细胞失活而实现抑制体外T细胞的增殖。而$CD4^+$T细胞失活的最大特点就是抑制促炎细胞因子的产生，缓解软骨降解。因此，控制炎症的发展可以缓解RA的症状，延缓疾病的发展，并降低死亡风险。

痹痛方以祛风散寒除湿、活血通络止痛为治疗原则。方中防风祛风解表、胜湿止痛、止痉，现代药理研究显示其具有解热、镇痛、抗炎、抗菌、抗过敏、抗肿瘤、抗凝血、抗血栓、调节机体免疫功能等药理作用[10]。白芷解表散寒、祛风止痛、散风排湿，其含有的东莨菪素的抗炎止痛作用与非甾体消炎药的作用类似[11]。威灵仙具有祛风除湿、止痛通络等功效，在治疗类风湿关节炎中具有抑制细胞因子（如IL-3、IL-6、IL-1β、TNF-α和IFN-γ等）信号转导通路的激活等作用，细胞内异常的氧化还原状态会诱发促炎因子的产生，威灵仙还具有抑制氧化，抑制纤维化，抑制NO和免疫抑制的作用[12]。蜈蚣可息风止痉、解毒散结、通络止痛，具有抗肿瘤、抗血栓、抗心肌缺血及镇痛作用[13]。甘草补气益脾、和中缓急、调和诸药、解毒，现代药理学发现其具有抗肿瘤、抗血栓、抗凝血、抗氧化、酶抑制等作用[14]。由此可见痹痛方的

选药都以抗炎镇痛为主。

本研究结果显示，痹痛方各剂量组小鼠在治疗后促炎因子的表达有不同程度的降低，尤其是IL-6的表达降低更为明显；血清学炎症指标中IL-10明显高于模型组。局部关节组织中抑炎因子IL-10的表达随中药剂量的增大明显升高。提示痹痛方中各药物的配伍使用可以通过抑制以IL-6为主的多个促炎因子的表达，同时促进抑炎因子IL-10的表达，从而缓解RA的炎症症状。在实验中痹痛方对促炎因子的抑制作用未呈现明显的剂量依赖性，这可能与小鼠数量较少及个体差异有关，但实验结果仍提示痹痛方具有抑炎和促炎的多靶点治疗RA炎症的作用。类风湿关节炎另一特征是“骨破坏”，下一步拟探索痹痛方防治骨破坏的作用及相关机制。

参考文献

[1] FIRESTEIN G S.Evolving concepts of rheumatoid arthritis[J]. Nature，2003，423（6937）：356.

[2] 陈思颖，龚国清.IKK/NF-κB通路在类风湿性关节炎中的作用及相关药物研究进展[J].药学研究，2016，35（6）：357.

[3] BIGGIOGGERO M，CROTTI C，BECCIOLINI A，et al. Tocilizumab in the treatment of rheumatoid arthritis：An evidence-based review and patient selection[J].Drug Des Devel Ther，2019，13：57.

[4] 曾小威，李世刚.类风湿性关节炎治疗及免疫分子机制研究进展[J].中华实用诊断与治疗杂志，2015，29（11）：1044.

[5] 张珊珊，陆燕.金实治疗类风湿关节炎经验[J].山东中医药大学学报，2018，42（5）：432.

[6] VAN STEENBERGEN H W，ALETAHA D，BEAART-VAN DE VOORDE L J，et al.EULAR definitionof arthralgia suspicious for progression to rheumatoid arthritis[J]. Ann Rheum Dis，2017，76（3）：491.

[7] GERLAG D M，SAFY M，MAIJER K I，et al.Effects of B-cell directed therapy on the preclinical stage of rheumatoid arthritis：The PRAIRI study[J].Ann Rheum Dis，2019，78（2）：179.

[8] WÅLLBERG-JONSSON S，JOHANSSON H，OHMAN M L，et al.Extent of inflammation predicts cardiovascular disease and overall mortality in seropositive rheumatoid arthritis. A retrospective cohort study from disease onset[J].J Rheumatol，1999，26（12）：2562.

[9] CONTI F，CECCARELLI F，MASSARO L，et al.Biological therapies in rheumatic diseases[J].Clin Ter，2013，164（5）：e413.

[10] 谢怡敏，高永翔.中药治疗类风湿性关节炎的实验研究进展[J].中药与临床，2016，7（2）：103.

[11] 辛国，李鑫，黄晓巍.防风化学成分及药理作用[J].吉林中医药，2018，38（11）：1323.

[12] 杨雪，赵福兰，王谦，等.白芷外敷联合常规药物治疗类风湿关节炎临床效果分析[J].北方药学，2018，15（8）：38.

[13] 张鲁，崔洁，王文全，等.甘草属植物地上部分化学成分和药理作用研究进展[J].中药材，2018，41（6）：1501.

[14] 郑佳逸，辛贵忠，刘丽芳.威灵仙中的三萜皂苷类成分及其抗关节炎作用机制的研究进展[J].中国野生植物资源，2018，37（5）：39.

第一作者：苗正月（1992—），女，硕士研究生，中西医结合临床专业。

通讯作者：丁炜，医学博士，主任医师，硕士研究生导师。Dr.wding@163.com

修回日期：2019-02-12

编辑：吴　宁

文末参考文献著录规则之页码的标注

根据国家标准GB/T 7714—2015《信息与文献 参考文献著录规则》的规定，本刊关于参考文献页码的著录做重要修订如下：（1）专著或期刊中析出文献的页码或引文页码，应采用阿拉伯数字著录，引自序言或扉页题词的页码，可按实际情况著录（例：钱学森.创建系统学[M].2版.太原：山西科学技术出版社，2001：序2.）；（2）阅读型参考文献的页码著录文章的起始页，引文参考文献的页码著录引用信息所在页。阅读型参考文献指著者为撰写或编辑论著而阅读过的信息资源；引文参考文献指著者为撰写或编辑论著而引用的信息资源。例如：将谈勇等发表在本刊2015年第1期第1—4页的文章《夏桂成国医大师调治复发性流产经验探赜》作为阅读型参考文献引用时，页码著录为“1”；作为引文文献引用“夏老提出心-肾-子宫轴功能失常是流产病机关键”这一观点或原文时，著录这些引用信息的所在页“3”。更多有关本刊参考文献著录规则见本刊网站（www.jstcm.cn）首页下载专区。