

一氧化氮在乳鼠心肌细胞缺氧—复氧预处理延迟保护效应中的作用

张 梅, 黄体钢, 周丽娟

(天津医科大学第二医院心脏科, 天津市 300211)

[关键词] 细胞生物学; 一氧化氮在缺氧—复氧预处理延迟保护效应中的作用; 硝酸还原酶法; 心肌细胞; 一氧化氮; 缺氧—复氧; 一氧化氮合酶

[摘要] 探讨缺氧—复氧损伤对乳鼠心肌细胞一氧化氮释放和一氧化氮合酶活性的影响以及一氧化氮在心肌细胞延迟缺氧预处理中的作用。在培养乳鼠心肌细胞缺氧预处理的模型上, 测定缺氧—复氧损伤对乳鼠心肌细胞一氧化氮释放和一氧化氮合酶活性, 观察延迟缺氧预处理以及 N-硝基-L-精氨酸、L-精氨酸、硝普钠对心肌细胞延迟缺氧预处理的影响。结果发现, 缺氧—复氧后乳鼠心肌细胞一氧化氮释放增加, 一氧化氮合酶活性升高。延迟缺氧预处理可以减少缺氧—复氧对心肌细胞的损伤。非选择性一氧化氮合酶抑制剂 N-硝基-L-精氨酸可以阻断延迟缺氧预处理的心肌保护作用, L-精氨酸不能模拟延迟缺氧预处理, 硝普钠可以模拟延迟缺氧预处理。结果提示, 一氧化氮可以诱导心肌细胞的延迟缺氧预处理。

[中图分类号] Q2

[文献标识码] A

Effects of Nitric Oxide on Delayed Protection of Cardiomyocyte Hypoxia/ Reoxygenation Pretreatment

ZHANG Mei, HUANG Ti-Gang, and ZHOU Li-Juan

(Department of Cardiology, Second Hospital, Tianjin Medical University, Tianjin 300211, China)

[KEY WORDS] Cardiomyocytes; Nitric Oxide; Hypoxia/ Reoxygenation; Nitric Oxide Synthase; Delayed Protection; NOS Inhibitor

[ABSTRACT] **Aim** To investigate the influence of nitric oxide (NO), nitric oxide synthase (NOS) on cardiomyocyte hypoxia/ reoxygenation and effects of NO on cardiomyocytes delayed protection (DP). **Methods** The content of NO, NOS were measured in the models of hypoxia/ reoxygenation (H/R) of cultured neonatal rat cardiomyocytes. The cell viability, lactate dehydrogenase (LDH) release, and the content of malondialdehyde (MDA) and superoxide dismutase (SOD) were measured in the models of DP of cultured neonatal rat cardiomyocytes, with pretreatment of L-NA, L-arginine, sodium nitroprusside (SNP).

Results NO and NOS increased significantly after transient hypoxia/ reoxygenation. Hypoxic DP attenuated cardiomyocyte injury induced by H/R. Pretreatment with nonselective NOS inhibitor L-NA abolished the protective effect of hypoxia DP, L-arginine can not mimicked DP, but SNP may mimicked DP. **Conclusion** NO may be involved in the protection mechanism of DP.

缺血预处理 (ischemic preconditioning, PC) 现象广泛存在于鼠、兔、狗、猪等动物和人, 可使其后缺血再灌注损伤的急性梗死面积减小, 这种有效的心肌内源性保护作用, 近来引起人们的极大的兴趣和研究。L-精氨酸—一氧化氮途径在 PC 效应中的作用引起了争论和重视。Yao 等^[1]应用一氧化氮 (nitric oxide, NO) 合成抑制剂 NG-硝基-L-精氨酸甲基酯 (NG-nitro-L-arginine methyl ester, L-NAME) 可以取消 PC 效应, 而 Patel 等^[2]则证实 L-NAME 本身即可达

到 PC 效应, 从而说明 NO 在心肌缺血再灌注中的双重作用。近年来, 有学者提出“NO 的延迟预处理 (delayed protection, DP) 学说”^[3,4]。本实验以培养的乳鼠心肌细胞缺氧—复氧 (hypoxia/ reoxygenation, H/R) 模型来探讨缺氧—复氧损伤对乳鼠心肌细胞 NO 释放和一氧化氮合酶 (nitric oxide synthase, NOS) 活性的影响以及 NO 在 DP 中的作用。

1 材料与方法

1.1 试剂与仪器

N-硝基-L-精氨酸 (L-NA) 为 Sigma 公司产品, L-精氨酸为 GIBCO BRL 公司产品, 硝普钠为市售药品, 余均为市售分析纯产品。测定 NO 的含量及 NOS 的活性均使用南京建成试剂盒。

[收稿日期] 2003-11-24

[修回日期] 2004-04-15

[作者简介] 张梅, 医学博士, 副教授, 硕士研究生导师, 主要从事冠心病动脉粥样硬化的基础及临床研究, E-mail 为 chyoyou@126.com。黄体钢, 医学博士, 教授, 博士研究生导师, 主要从事动脉粥样硬化不稳定性斑块机制的基础及临床研究, 本文通讯作者。周丽娟, 副主任技师, 从事分子生物学及生物化学基础研究。

1.2 培养的乳鼠心肌细胞缺氧—复氧后对一氧化氮和一氧化氮合酶的影响

按 Simposon 等^[5]的方法,取生后 1~3 天的乳鼠心室组织,胰酶消化分离,用含 20% 小牛血清的 MEM 培养基,95% 空气、5% CO₂ 培养箱内培养乳鼠心肌细胞。取第二代心肌细胞,按照 1×10^5 个细胞接种于 24 孔板,孵育 24 h 后,换无血清 MEM 培养基再培养 24 h。实验分 5 组,6 次实验。对照组为培养板置于 CO₂ 孵箱中持续孵育 24 h;缺氧—复氧 2 h 组为缺氧孵育 30 min,复氧 30 min 后 2 h;缺氧—复氧 6 h 组为缺氧孵育 30 min,复氧 30 min 后 6 h;缺氧—复氧 12 h 组为缺氧孵育 30 min,复氧 30 min 后 12 h;缺氧—复氧 24 h 组为缺氧孵育 30 min,复氧 30 min 后 24 h。实验结束后,取上清液测定 NO 含量及 NOS 活性。

1.3 一氧化氮在乳鼠心肌细胞缺氧延迟预处理中的作用

按上述方法培养乳鼠心肌细胞,传代并接种于 24 孔板。实验分 6 组,6 次实验。缺氧—复氧组为将接种有细胞的培养板在 CO₂ 孵箱中持续孵育 24 h 后,再置于密闭的缺氧孵育容器中,以 95% N₂、5% CO₂ 持续缺氧孵育 2 h,再持续以 95% O₂、5% CO₂ 复氧孵育 1 h;延迟缺氧预处理组为细胞经预缺氧 20 min,置培养箱恢复 20 min,24 h 后按缺氧—复氧组程序进行 H/R 操作;硝普钠+ 缺氧—复氧组为缺氧 24 h 前以硝普钠 (10^{-5} mol/L) 预孵育 20 min,再按缺氧—复氧组程序依次进行 H/R 操作;L-NA+ 延迟缺氧预处理组为第一次缺氧前以 L-NA (10^{-5} mol/L) 预孵育 20 min,再按延迟缺氧预处理组程序依次进行 PC 操作;L-精氨酸+ 缺氧—复氧组为缺氧 24 h 前以 L-精氨酸 (10^{-4} mol/L) 预孵育 20 min,再按缺氧—复氧组程序依次进行 H/R 操作;对照组为培养板置于 CO₂ 孵箱中持续孵育 28 h。

1.4 观察指标

以台盼兰排斥法计算细胞存活率,以半自动生物化学分析仪测定乳酸脱氢酶 (lactate dehydrogenase, LDH) 活性,以硫代巴比妥酸法测定丙二醛 (malondialdehyde, MDA) 含量,黄嘌呤氧化酶法测定超氧化物歧化酶 (superoxide dismutase, SOD) 含量,硝酸还原酶法测定 NO 含量,化学比色法测定 NOS 活性。

1.5 统计学处理

所有结果用 $\bar{x} \pm s$ 表示。多组均数比较用方差分析,多组之间两两比较用 q 检验。 $P < 0.05$ 为有统计学上的显著性差异。

2 结果

2.1 培养的乳鼠心肌细胞缺氧—复氧后对一氧化氮和一氧化氮合酶的影响

缺氧—复氧后乳鼠心肌细胞 NO 释放增加, NOS 活性升高。缺氧—复氧后 2 h NO 释放增加, NOS 活性升高,且 NO 水平和 NOS 活性升高持续至 24 h。24 h 时 NO 水平可达缺氧—复氧前的 2.17 倍, NOS 活性可达到对照组的 1.27 倍(表 1, Table 1)。

表 1. 乳鼠心肌细胞缺氧—复氧后一氧化氮和一氧化氮合酶的变化

Table 1. Changes of NO, NOS after hypoxia/reoxygenation in cultured neonatal rat cardiac

分 组	一氧化氮 ($\mu\text{mol/L}$)	一氧化氮合酶 (ku/L)
对照组	19.25 \pm 4.95	4.62 \pm 0.28
缺氧—复氧 2 h	29.79 \pm 6.87 ^a	5.19 \pm 0.42
缺氧—复氧 6 h	38.33 \pm 4.45 ^b	5.49 \pm 0.46 ^a
缺氧—复氧 12 h	40.67 \pm 2.84 ^b	5.86 \pm 0.47 ^a
缺氧—复氧 24 h	41.83 \pm 4.27 ^b	5.89 \pm 0.31 ^a

a: $P < 0.05$, 与对照组比较; b: $P < 0.05$, 与缺氧—复氧 2 h 组比较。

2.2 一氧化氮对乳鼠心肌细胞延迟缺氧预处理的作用

乳鼠心肌细胞延迟预处理组可以明显减轻缺氧—复氧对心肌细胞的损害,使细胞存活率较单纯缺氧—复氧组增高 51% ($P < 0.01$), LDH 漏出减少 35% ($P < 0.01$), 丙二醛含量减少 24% ($P < 0.05$), 而 SOD 升高 77% ($P < 0.01$)。DP 还可以减轻缺氧—复氧所致的 NO 含量和 NOS 活性的增加 ($P > 0.05$)。缺氧—复氧 24 h 前,硝普钠预孵育组可以模拟 DP,使随后的缺氧—复氧后细胞存活率较 H/R 组升高 36% ($P < 0.01$), LDH 释放减少 13% ($P > 0.05$), MDA 和 SOD 分别降低 21% ($P < 0.05$) 和升高 62% ($P < 0.01$)。也使 NO 水平和 NOS 活性较 H/R 组降低 ($P > 0.05$)。缺氧—复氧前 24 h L-精氨酸预孵育组细胞存活率、LDH 释放、丙二醛和 SOD 与 H/R 组比较均无显著性差异 ($P > 0.05$)。L-NA 组心肌细胞存活率较 DP 组降低 28% ($P < 0.01$), LDH 释放较 DP 组增高 52% ($P < 0.01$), 丙二醛和 SOD 分别较 DP 组增高 13% ($P > 0.05$) 和降低 23% ($P < 0.05$)。NO 含量和 NOS 活性较 DP 组略有降低 ($P > 0.05$), 但 NO 和 NOS 仍相应地较对照组增高 (P 均

0.01), 见表 2(Table 2)。

表 2. 硝普钠、L-精氨酸和 N-硝基-L-精氨酸在乳鼠心肌细胞缺氧延迟预处理中的影响($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

Table 2. Effect of biological agents on delayed preconditioning in cultured neonatal rat cardiac myocytes

分 组	NO ($\mu\text{mol/L}$)	NOS (ku/L)	存活率	LDH (u/L)	丙二醛 (nmol/L)	SOD (kNU/L)
对照组	19.3 \pm 4.9	4.62 \pm 0.28	84.08% \pm 6.93%	19.2 \pm 3.7	0.99 \pm 0.60	38.2 \pm 4.9
缺氧-复氧组	31.3 \pm 10.5	8.17 \pm 1.20 ^a	42.58% \pm 4.41% ^a	83.0 \pm 12.3 ^a	3.14 \pm 0.39 ^a	12.5 \pm 4.3 ^a
延迟缺氧预处理组	24.6 \pm 6.5	7.46 \pm 0.77 ^a	65.06% \pm 5.60% ^{ab}	54.2 \pm 8.3 ^{ab}	2.40 \pm 0.40 ^{ad}	22.2 \pm 2.2 ^{ab}
硝普钠+ 缺氧-复氧组	24.6 \pm 1.0	7.33 \pm 0.55 ^a	57.53% \pm 6.15% ^{ab}	71.7 \pm 6.7 ^{ac}	2.48 \pm 0.34 ^{ad}	21.2 \pm 2.8 ^{ab}
L-精氨酸+ 缺氧-复氧组	28.1 \pm 9.5	7.86 \pm 0.97 ^a	44.92% \pm 6.65% ^{ac}	85.7 \pm 8.5 ^{ac}	3.02 \pm 0.34 ^a	12.5 \pm 4.3 ^{ac}
L-NA+ 延迟缺氧预处理组	19.8 \pm 6.15	6.87 \pm 0.92 ^a	46.96% \pm 4.22% ^{ac}	81.8 \pm 4.7 ^{ac}	2.72 \pm 0.30 ^a	16.9 \pm 2.2 ^{ad}

a: $P < 0.01$, c: $P < 0.05$, 与对照组比较; b: $P < 0.01$, d: $P < 0.05$, 与缺氧-复氧组比较; e: $P < 0.01$, f: $P < 0.05$, 与延迟缺氧预处理组比较。

3 讨论

一氧化氮(NO)是L-精氨酸在NOS作用下氧化生成的一种极不稳定的气体,半衰期约5s。NOS在体内有三种异构体,即内皮型(eNOS)、神经型(nNOS)和巨噬细胞性(iNOS)。NOS在体内至少有两种存在方式:一种为原生型(eNOS),另一种为诱生型(iNOS)^[6]。

Liu等^[7]在大鼠的缺血再灌注模型中检测缺血区域的心肌组织中的NO、总NOS活性和iNOS均较非缺血区明显增高,提示参与缺血再灌注损伤。但是也有不同意见,Depre等^[8]实验表明缺血后5min NOS开始升高,并在整个缺血期持续升高,而再灌注15min后NOS活性下降至缺血前水平。本实验结果表明培养的乳鼠心肌细胞在缺氧复氧损伤后,NO含量和NOS活性较对照组增加,而且持续24h。缺血再灌注后NO的持续增加可能是由于NOS不同的同工酶先后起作用的原因^[3,9]。目前认为NO增加主要通过下列途径引起心肌细胞的损伤^[10]:过量的NO可与复氧时大量氧分子结合生成亚硝基盐阴离子(ONOO⁻),ONOO⁻进一步分解生成OH⁻,OH⁻产生增加可促使细胞膜性结构发生脂质过氧化,破坏膜结构的完整性。肌浆网脂质过氧化,可使膜中Ca²⁺-ATP酶活性下降,肌浆网中储存钙减少,在收缩期对钙的释放减少,导致收缩蛋白活性减弱。④NO产生增加使组织cGMP产生增加。cGMP增加可激活cGMP依赖性的蛋白酶,抑制L-型钙通道,减少细胞内钙内流,抑制心肌收缩功能。但也有认为NO本身对再灌注损伤提供保护^[11],其机制可能为:NO通过抑制白细胞的移动、粘附及白细胞依赖性的微血管渗透性的增加限制炎症性损害;④NO也使超氧化物阴离子失活,后者也是白细胞粘附的极强刺激剂;④NO通过NADPH氧化酶的直接作用,抑制中

性细胞生成超氧阴离子。

究竟NO对心肌缺血再灌注具有保护作用还是有害作用目前尚有争议。一方面,认为NO和NOS在心肌再灌注损伤中起着极其重要的作用^[10],Patel等^[2]则证实L-NAME可达到PC效应。另一方面,在离体灌注大鼠心脏模型中用NO前体L-精氨酸灌注可以观察到对心肌的保护作用,表现为改善心输出量和冠状动脉流量,降低氧消耗率和LDH的释放等,而且可以被NOS抑制剂L-NAME所抑制^[1,11]。

缺血预处理(PC)呈现两个时相,早期保护在PC后即刻出现,持续2~3h;DP或第二保护窗在PC后24h出现并持续3~4天^[12]。这种心肌预处理的发生机制目前尚未完全阐明。Bolli等^[13]首次在兔的延迟预处理保护心肌功能抑制心肌顿抑实验中提出NO具有重要的作用。在预处理前给予非选择性NOS抑制剂L-NA可以阻断随后第2、3天对缺血再灌注的心肌顿抑的保护作用,而给予选择性iNOS抑制剂AMG(aminoguanidine)却不能阻断其随后的延迟保护作用^[14]。在预处理后的第二天长时间缺血再灌注前给予L-NA或AMG,可以完全阻断延迟预处理对缺血再灌注的可逆性损伤和减小心肌不可逆的损伤^[15]的保护作用。提示NOS在延迟预处理中的双重作用,eNOS是延迟预处理的触发因素,而iNOS在DP中起调节作用。进一步的研究表明NO供体DETA/NO(diethylenetriamine/NO)或硝普钠可以模拟DP对心肌可逆与不可逆性损伤的保护作用^[16]。进一步证实了NO本身足以诱发心肌保护机制。而且ONOO⁻和OH⁻清除剂MPG(mercaptopyrionyl glycine)可以阻断DETA/NO的保护作用,提示NO诱导的DP可能与ONOO⁻和OH⁻等氧化物生成有关^[16]。本实验表明硝普钠可以模拟DP对心肌的保护作用,L-NA可以阻断DP的心肌保护作用。与上述结果一

致。而 NO 前体 L-精氨酸却不能模拟 DP, 其机制不明。

一氧化氮(NO) 诱导 DP 的具体机制尚不清楚, 目前有学者提出“NO 的延迟预处理”学说^[3]。其机制可能是由于短暂的缺血刺激使 NO (可能通过 eNOS 作用) 和 O₂²⁻ 的生成增加, 而后两者反应生成 ONOO⁻, ONOO⁻ 直接或通过反应附产物如 OH 激活 PKC-ε。PKC-ε 的激活可以触发一系列复杂的信号传导系统, 使 iNOS 基因转录增加, 从而使第 2 天的 iNOS 活性增高; 酪氨酸激酶还可以直接调节 iNOS 的活性。后者是抵御随后缺血刺激的保护因素^[3,9]。因此我们认为两种 NOS 同工酶先后参与了 DP 的心肌保护作用, eNOS 产生的 NO 诱发了第 1 天 PC 反应的开始; 而 iNOS 产生的 NO 则是第 2 天起着抵御再发缺血损害的保护作用。

综上所述, NO 诱导 DP 的具体机制仍有待于进一步的探讨。尽管如此, 仍为临床硝酸盐类药物应用于心肌的保护提供新的思路。

[参考文献]

- [1] Yao Z, Gross GJ. Role of nitric oxide, muscarinic receptors, and the ATP-sensitive K⁺ channel in mediating the preconditioning in dogs. *Circ Res*, 1993, **73** (6): 1 193-201
- [2] Patel VC, Yellon DM, Singh KJ, Neild GH, Woolfson RG. Inhibition of nitric oxide limits infarct size in the in situ rabbit heart. *Biochem Biophys Res Commun*, 1993, **194** (1): 234-240
- [3] Bolli R, Dawn B, Tang XL, Qiu Y, Ping P, Xuan YT, et al. The nitric oxide hypothesis of late preconditioning. *Basic Res Cardiol*, 1998, **93** (5): 325-338
- [4] Wang Y, Guo, Zhang SX, Wu WJ, Wang J, Bao W, Boll R. Ischemic pre-

conditioning upregulates inducible nitric oxide synthase in cardiac myocyte. *J Mol Cell Cardiol*, 2002, **34** (1): 5-15

- [5] Simposon P, Savion S. Differentiating of rat myocytes in single cell cultures with and without proliferating nonmyocardial cells. *Circ Res*, 1982, **50** (1): 101-116
- [6] 史树贵, 邵淑琴. 一氧化氮与细胞凋亡. 国外医学生理、病理科学与临床分册, 1997, **17** (3): 267-270
- [7] Liu P, Hock CE, Nagele R, Wong PY. Formation of nitric oxide, superoxide, and peroxynitrite in myocardial ischemia-reperfusion injury in rats. *Am J Physiol*, 1997, **272** (5Pt2): H2327-H2336
- [8] Depre C, Fierain L, Hue L. Activation of nitric oxide synthase by ischemia in perfused heart. *Cardiovas Res*, 1997, **33** (1): 82-87
- [9] Dawn B, Boll R. Role of nitric oxide in myocardial preconditioning. *Ann N Y Acad Sci*, 2002, **962** (5): 18-41
- [10] Shah AM, Lewis MJ, Henderson AH. Effects of 8-bromocyclin GMP on contraction and on inotropic response of ferret cardiac muscle. *J Mol Cell Cardiol*, 1991, **23** (1): 55-62
- [11] Izhar U, Schwall H, Borman JB, Merin G. Cardioprotective effect of L-arginine in myocardial ischemia and reperfusion in an isolated working rat heart model. *J Cardiovasc Surg*, 1998, **39** (3): 321-329
- [12] Yamashita N, Kuzuya T, Hoshida S. Relationship between time interval from preconditioning to sustained ischemic and its effect on limiting infarct size. *J Mol Cell Cardiol*, 1992, **24** (suppl 1): S150
- [13] Bolli R, Bhatti ZA, Tang XL, Qiu Y, Zhang Q, Guo Y, et al. Evidence that late preconditioning against myocardial stunning in conscious rabbits is triggered by the generation of nitric oxide. *Circ Res*, 1997, **81** (1): 42-52
- [14] Bolli R, Manchikalapudi S, Tang XL, Takano H, Qiu Y, Guo Y, et al. The protective effect of late preconditioning against myocardial stunning in conscious rabbit is mediated by nitric oxide synthase: evidence the nitric oxide acts both as a trigger and as a mediator of the late phase of ischemic preconditioning. *Circ Res*, 1997, **81** (6): 1 094-107
- [15] Takano H, Manchikalapudi S, Tang XL, Qiu Y, Rizvi A, Jadoon AK, et al. Nitric oxide synthase is the mediator of late preconditioning against myocardial infarction in conscious rabbits. *Circulation*, 1998, **98** (5): 441-449
- [16] Takano H, Tang XL, Qiu Y, Guo Y, French BA, Bolli R. Nitric oxide donors induce late preconditioning against myocardial stunning and infarction in conscious rabbit via an antioxidant-sensitive mechanism. *Circ Res*, 1998, **83** (1): 73-84

(此文编辑 文玉珊)

•读者•作者•编者•

关于汉字文稿中名词术语使用英文缩写词的规定

当一个多汉字的名词术语在汉字文稿中反复出现时, 作者往往喜欢用一个英文缩写词来代替; 这样做, 既节省篇幅, 又避免繁琐重复, 为多数期刊所称颂, 我刊亦不例外。然而在编辑工作中发现, 由于受作者层次和参考文献种类等因素的影响, 在使用名词术语的英文缩写时存在以下问题: 同一个英文名词术语, 译成的汉文不同, 如 derived 这个词, 有的译成源性, 有的译为衍化, 还有的译成衍生; ④缩写不规范, 英文字母的大小写不一致, 如载脂蛋白 (apolipoprotein), 缩写为 apo 已不规范, 而它却有 Apo 和 apo 两种写法; ⑤用法不当, 有的用在文题中, 有的用作关键词, 有的名词术语仅两三个汉字, 为图方便, 个别作者也用缩写词来代替; 而且, 第一次出现时, 没有汉英对照, 只有缩写, 这是极不应该的。有鉴于此, 为求统一, 我刊对汉字文稿中名词术语使用英文缩写词来代替作如下规定, 请遵照执行。

1 名词术语在 3 个 (含 3 个) 汉字内, 一律使用汉文; 多于 3 个汉字的, 才可使用英文缩写词; 如胆固醇、脂蛋白、内皮素、

高血压、糖尿病、再狭窄等, 都只能用汉字; 但冠心病、肺心病等例外。

2 文题、摘要、关键词、正文中的各层次标题、插图和表格标题中的名词术语, 不得使用英文缩写词来代替。

3 段首的名词术语可用缩写词时, 为了阅读方便, 可在缩写词左右加圆括号, 左半圆括号之前写出汉字名词术语全称。

4 第一次使用英文缩写词来代替名词术语时, 必须按照下列格式来写: 汉文全称 (英文全称, 缩写词)。如极低密度脂蛋白胆固醇 (very low density lipoprotein cholesterol, VLDLC)、动脉粥样硬化 (atherosclerosis, As) 等。

5 英文缩写词在汉字文稿中不用复数。

6 书写时缩写词字母之间不用连字符; 若词末有数字, 可在数字与左邻字母之间加连字符 (用半字线), 如 II-1。

7 名词术语的英文缩写词不移行。

8 汉字文稿中不宜过多使用英文缩写词, 我刊规定文献综述可用 4~6 个, 其它文稿限 4 个内。

以上规定请共同遵照执行。

(胡必利起草、修订)