

• 实验研究 •

[文章编号] 1007-3949(2005)13-03-00254-05

一个新的家兔高脂血症相关基因的筛选、克隆和序列分析

李晓宇, 白小明, 郭冬平, 潘超, 孙屏, 何龙, 范乐明, 陈琪

(南京医科大学动脉粥样硬化研究中心, 江苏省南京市 210029)

[关键词] 病理学与病理生理学; 高脂血症; 抑制消减杂交; 动脉粥样硬化; 基因

[摘要] 目的 寻找新的高脂血症相关基因, 探讨其分子机理。方法 用高脂饲料复制家兔高胆固醇血症模型, 采用抑制性消减杂交技术克隆高脂血症相关基因, 快速扩增 cDNA 末端技术扩增全长, 用基因芯片和荧光半定量聚合酶链反应技术检测其表达, 并用逆转录-聚合酶链反应法观察该基因的组织分布。结果 获得一个新的家兔高脂血症相关基因, GenBank 登录号为 AY248719, 长 1 386 bp, 编码 321 个氨基酸, 与人类 G 蛋白 α 亚基同源性达 92%。该基因在家兔心、肝、骨骼肌等组织中广泛表达, 其中以胰腺的表达最强。结论 对 AY248719 基因的研究有助于进一步揭示高脂血症的分子机理。

[中图分类号] R363

[文献标识码] A

Screening, Cloning and Analyzing of a Novel Hyperlipidemia Related Gene from Rabbits Liver

LI Xiao Yu, BAI Xiao Ming, GUO Dong Ping, PAN Chao, SUN Ping, HE Long, FAN Le Ming, and CHEN Qi

(Atherosclerosis Research Center, Nanjing Medical University, Nanjing 210029, China)

[KEY WORDS] Hyperlipidemia; Suppression Subtractive Hybridization; Atherosclerosis; Gene

[ABSTRACT] Aim To clone a novel rabbit's gene involved in hyperlipidemia. Methods The hypercholesterolemic rabbits were obtained after feeding atherogenic diet for 150 days. The differentially expressed gene was obtained by suppression subtractive hybridization and rapid amplification of cDNA end. After identified by cDNA microarray and fluorescent semi-quantitative PCR, its tissue distributing was analyzed. Results A novel rabbits gene involved in hypercholesterolemia had been cloned. GenBank Accession No. is AY248719. The full length of cDNA is 1 386 bp and encodes 321 amino acids, which has a 92% identity with that of human GANS1 gene. Conclusions These results will contribute to reveal the molecular mechanism of the hyperlipidemia

动脉粥样硬化发病过程十分复杂, 其确切病因尚未完全阐明, 一般认为由多个遗传和环境因素相互作用所致^[1]。流行病学和临床资料表明, 高胆固醇血症是引起动脉粥样硬化的一个必要条件^[2]。在脂代谢中, 肝脏作为外源性和内源性途径的交汇点及调节中心, 发挥特别重要的作用。本研究利用抑制消减杂交 (suppression subtractive hybridization, SSH) 和快速扩增 cDNA 末端 (rapid amplification of cDNA end, RACE) 技术, 从家兔肝脏克隆到一个参与脂代谢调节的新基因, GenBank 收录号 AY248719, 并对其同源性及其组织定位进行了分析, 现予报告。

1 材料与方法

1.1 高脂血症模型制备与实验分组

新西兰兔 15 只, 雄性, 体重 2.0 ± 0.5 kg, 由江苏省农业科学院实验动物中心提供。喂饲 1% 高胆固醇饮食 150 d, 每 4 周耳缘静脉采血测血清总胆固醇 (TC)。处死后分别取肝脏和胸主动脉, 液氮速冻, 一部分 -80°C 保存, 一部分福尔马林固定后 HE 染色。根据处死前血清 TC 值分为两组: 敏感组 6 只, TC 为 31.92 ± 5.61 mmol/L; 非敏感组 3 只, TC 为 13.31 ± 3.87 mmol/L。

1.2 抑制消减杂交

先采用 Qiagen 公司的 RNA easy maxi kit 分别提取两组肝脏组织总 RNA, 经变性胶电泳、 A_{260}/A_{280} 紫外分光光度分析及 A_{260} 定量后, 再用 Qiagen 公司的 Oligotex mRNA mini kit 纯化 mRNA。以敏感组为检测方, 非敏感组为驱赶方进行正向抑制消减杂交; 按照 PCR-SelectTM cDNA Subtraction Kit (Clontech 公司) 说明书操作并略加改进, 简述如下: 两组 mRNA 反转录合成双链 cDNA, Rsa I 酶切成平末端片段; 分别与

[收稿日期] 2005-01-11

[修回日期] 2005-04-23

[基金项目] 国家重大基础研究资金 (TG2000056910); 江苏省高校自然科学基金 (03KJB310078)

[作者简介] 李晓宇, 医学博士, 讲师, 主要从事动脉粥样硬化性疾病的分子机制的研究, E-mail 为 uyoaixil@yahoo.com.cn。白小明, 硕士研究生, 主要从事脂代谢及动脉粥样硬化性疾病的分子机制的研究, E-mail 为 bxm207@sohu.com。郭冬平, 博士研究生, 主要从事动脉粥样硬化性疾病的基因治疗研究, E-mail 为 guodongping@163.com。通讯作者陈琪, 医学博士, 教授, 博士研究生导师, 主要从事脂代谢及动脉粥样硬化性疾病的分子机制的研究。联系电话 025-86862610, E-mail 为 qichen@njmu.edu.cn。

接头 1 和接头 2R 连接, 分析连接效率; 用连有接头的检测方与未连接头的驱赶方进行双轮消减杂交; 以杂交产物为模板与接头外侧序列进行第一轮 PCR 扩增, 反应条件为 94℃ 预变性 3 min → 94℃ 10 s → 66℃ 30 s → 72℃ 1.5 min, 30 个循环, 将反应产物稀释后再以接头内侧序列进行第二轮 PCR 扩增, 反应条件为 94℃ 预变性 5.0 min → 94℃ 10 s → 68℃ 30 s → 72℃ 1.5 min, 17 个循环, 72℃ 延伸 10 min。同理以非敏感组为检测方, 敏感组为驱赶方进行反向 SSH 反应。

1.3 消减 cDNA 文库的构建

用 High pure PCR product purification kit (Roche 公司) 分别纯化正反向消减杂交第二轮 PCR 产物, 按摩尔比 4.5:1 与 Pinpoint™ T/A 载体 (Promega 公司) 连接, TSS 法转化感受态大肠杆菌 DH5α 将菌液涂在氨苄青霉素/X-gal/IPTG 琼脂平板上, 过夜培养, 蓝白斑显色。

1.4 基因芯片杂交

随机挑取 800 个白色克隆点种于含氨苄青霉素的 LB 培养基中过夜培养。提取质粒 DNA, 以 Pinpoint™ 载体两侧序列引物进行 PCR 扩增, 循环参数为 94℃ 预变性 5.0 min → 94℃ 30 s → 58℃ 30 s → 72℃ 30 s, 扩增 30 个循环, 72℃ 延伸 10 min。PCR 产物点于尼龙膜上, 制成 cDNA 芯片 (与上海中科开瑞生物芯片科技股份有限公司合作)。提取敏感组和非敏感组兔肝 mRNA, 反转录后经同位素³³P 标记, 分别与两张相同的芯片杂交。使用 ELA-300 Plate/Fluorescent Image Analyzer 扫描仪扫描杂交信号, 采用 ArrayGauge v1.0 软件 (日本 Fujifilm 公司) 作定量分析, 分析阵列中的基因在同一组织两个不同状态中表达强度的比值, 找出差异表达基因。

1.5 阳性克隆的测序和同源性分析

用碱裂解法提取阳性克隆的质粒, 纯化后采用 PCR、四色荧光、双脱氧终止方法, 应用 PE 公司的 PCR377 全自动 DNA 测序仪进行测序, 引物为 SP6, 由上海基康生物技术有限公司协助完成。使用 BLAST 程序将测序结果与网上公共序列数据库 (GenBank 及 dbEST, 位于 <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>) 进行比较, 根据与已知基因的同源性进行结果分析。

1.6 荧光实时定量逆转录聚合酶链反应验证

用 Roche 公司 LightCycler-RNA Master SYBR Green I 试剂盒, 反应体系: RNA 1 μL (约 500 ng), Mn (OAc)₂ (50 mmol/L) 1.3 μL, Primer Mix (0.3 μmol/L each) 1.2 μL, RNA Master SYBR Green I 7.5 μL, H₂O

9.0 μL。扩增条件: 61℃ 逆转录 20 min, 95℃ 预变性 2 min; 然后进入循环, 95℃ 变性 5 s → 58℃ 退火 5 s → 72℃ 延伸 13 s, 45 个循环。在每个循环末进行实时荧光检测。

1.7 快速扩增 cDNA 末端技术克隆全长基因

设计特异引物, 使用 Clontech 公司 SMART RACE cDNA Amplification Kit, 分别扩增全长 cDNA 5' 和 3' 端。GSP1: CTGCAGAAGGACAAGCAGGTCTACCG, NGSP1: GTGAGAAGGCAACCAAGTGCAGGAC, NGSP2: CAGGCACGTTCATCACACTCAGGAT, GSP2: GTAGCAGGCACGCACTCCTTCATCCT。PCR 产物纯化后插入 T 载体, 分别测序, 将 5' 和 3' 端 PCR 产物拼接。

1.8 组织定位分析

四只新西兰白兔 (约 2 kg) 购于江苏省农科院。20% 乌拉坦、5 mL/kg 耳缘静脉注射麻醉, 无菌条件下迅速取出心脏、肺、胃、肝、肾、脾、胰、十二指肠、肾上腺、卵巢、子宫、胸腺、淋巴结、骨骼肌、脑、小脑、垂体、腹主动脉、胸主动脉等器官, 于 RNase-free 的 PBS 溶液中漂洗, 去除血污及周围结缔组织, 立即投入液氮速冻, 日后移入 -80℃ 冰箱保存。用 Tripure (美国 Promega 公司) 抽提总 RNA, 经紫外分光光度计定量, 每种组织取 1 μg 总 RNA 用 Advantage (tm) RT-for-PCR kit (美国 Clontech 公司) 进行 RT-PCR 反应。目的基因的特异性引物序列为: 上游引物 5'-GTG AGA AGG CAA CCA AAG TGC AGG AG-3', 下游引物 5'-TCA GGC ACG TTC ATC ACA CTC AGG AT-3'。PCR 反应体系为 20 μL, 反应的变性、退火、延伸条件分别为 94℃ 30 s → 65℃ 30 s → 72℃ 30 s, 共 35 个循环; 同时每组扩增时以 β-actin 为内参, 反应的变性、退火、延伸条件分别为 94℃ 30 s → 58℃ 30 s → 72℃ 30 s, 共 35 个循环。

2 结果

2.1 杂交效率验证

杂交效率检测以 G3PDH 为参照进行, 经电泳结果证实, 未差减对照中的看家基因 G3PDH 于 18 个循环时便可见到明显的特异性扩增带, 而差减后在 33 个循环后才扩增出来 (图 1, Figure 1)。说明经过 2 轮差减杂交及 2 次抑制 PCR, 已经成功地将 2 种组织中都存在的看家基因 G3PDH 大幅度抑制。

2.2 消减 cDNA 文库的扩增及筛选结果

正、反向抑制消减杂交分别获得 463 个和反向 275 个阳性克隆。用载体序列为引物扩增后发现 100~600 bp 的插入片段, 说明质粒插入片段大小各

不相同。经 cDNA 芯片杂交发现克隆 F68 敏感组表达比非敏感组强 2.16 倍(图 2, Figure 2)。

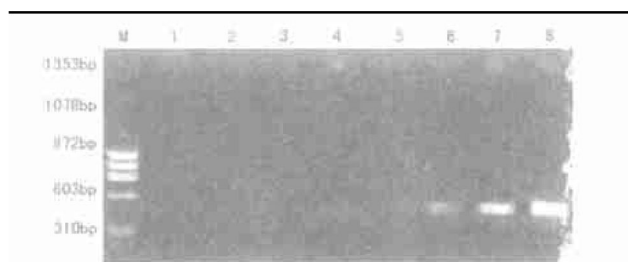


图 1. 消减杂交效率分析 M 为 ϕ 174-Hae III DNA 标准品, 1~4 分别为两轮消减后样品 PCR 扩增 18、23、28 和 33 个循环; 5~8 分别为未消减对照样品的 PCR 扩增 18、23、28 和 33 个循环。

Figure 1. Analysis of efficiency of suppression subtractive hybridization

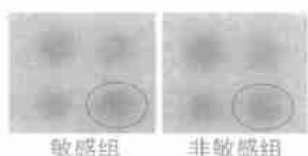


图 2. 克隆 F68 的 cDNA 芯片杂交结果

Figure 2. The cDNA microarray hybridization of F68 between hypercholesterolemia sensitive group and hypercholesterolemia insensitive group

2.3 荧光半定量 RT-PCR 验证

荧光半定量 PCR 的结果与 cDNA 芯片结果吻合, 进一步验证了芯片结果(图 3, Figure 3)。

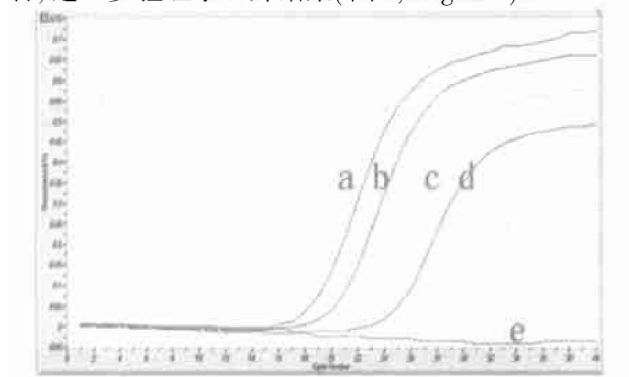


图 3. 荧光半定量 PCR 曲线图 a 为敏感组 F68 扩增曲线; b 为非敏感组 F68 扩增曲线; c 为敏感组 β -actin 扩增曲线; d 为非敏感组 β -actin 扩增曲线; e 为阴性对照。CT_a= 16.30; CT_b= 18.66; CT_c= 22.54; CT_d= 23.42。敏感组比率= 22.54/16.30= 1.38; 非敏感组比率= 23.42/18.66= 1.26。敏感组比率> 非敏感组比率, mRNA 表达水平上, 敏感组高于非敏感组。

Figure 3. The results of Fluorescent semi-quantitative RT-PCR

2.4 RACE 克隆全长基因

5' 和 3'-RACE 产物拼接得到 1386 bp 的 cDNA 序列, GenBank 登录号为 AY248719 (图 4, Figure 4)。

```

1  ccacgcacgcctgctgctgctgggtgctggagagctcgtgtaaaagcaccatcgtgaagc
61  aggtgagagatcctgcacgttaatgggtttaatggagatgagaaagcaacaaagtcgagc
   M R I L H V N G E N G D E K A T K V Q D
121  acatcaaaacacactgaaaggagccatcgaaacccatcgtggccgcatgagcaacatgg
   I K N N L K E A I E T I V A A M S N L V
181  tgcctccgtggagctggcaacccctgagaaacagttcagagtggaactacatcttgagcg
   P V E L A N P E N Q F R V D Y I L S V
241  tgatgaacgtgcccactttgattccctccgagttctacgagcagccaaagctcgt
   M N V P D F D F P P E F Y E H A K A L W
301  ggagagcagaaagagtcgagccctgctacgagcgtccaaacagatccaaagctgattgact
   E D E G V Q A C Y E R S N E Y Q L I D C
361  gcgcccagtagttcctggacaaagattgatgcatcaagcagccagctacgtgccagcg
   A Q Y F L D K I D V I K Q A D Y V P S D
421  accagacactgctgctgctggcgtgctcctgacccctggaaatcttgagaccagttccagg
   Q D L L R C R V L T S G I F E T K F Q V
481  tggcacaagtcaacttccacatgttcgtgtggcgccagcgccagcgccgcaagt
   G K V N F H M F D V G G Q R D E R R K W
541  ggatccagtgttcaacgacgtgactgtcatcattctgtggtggccagcagcagctaca
   I Q C F N D V I V I I F V V A S S S Y N
601  acatgtctatccgagagcaaacagacccacccctcgtgagagcgactgaactcttca
   M V I R E D N Q T N R L Q E A L N L F K
661  agagcatctggacacacagatggctggcaccatctcgtgattctgttctcaccacagc
   S I V N N R W L R T I S V I L F L N K Q
721  aagacctgctggctgagaaggtgctgctgggaatccaagattgagactactttccag
   D L L A E K V L A G K S K I E D Y F P E
781  aattgctcgtcactactcctgagagtgctgctccgagccggagaggaacccagcg
   F A R Y T T P E D A A P E P G E D P R V
841  tgacccgggccaagtacttcatcccgacaggttctgagaaatcagcaccgctagtggag
   T R A K Y F I R D E F L R I S T A S G D
901  ctggcgccactactgctacccctcaattcactgctgctggcagcaggaacgtccgc
   G R H Y C Y P H F T C A V D T E N I R R
961  gcgtgttcaacgactgcccgtgacatcatccagcgcatgcaactgctcagtagagctgc
   V F N D C R D I I Q R M H L R Q Y E L L
1021  tctaaagagggaacccagatttaacacagccttaagcacaattattaaaaattaatgta
   *
1081  gtgtgacagcagtttaacacacacacagcagcagcagcagcagcagcagcagcagcagc
1141  cccagatgattctgaaaccccttcccttcccttctgctcagatattccaaatttagaaa
1201  ccttaagcggcctgcagaaaaaaggcccaaaagttccctcttttcataaaaaat
1261  taatagcagcagaataaagaattaaatgagcaaatgagcaaatgaaatgaattgtt
1321  atcgtgcagcattaaaaaatcaaataaaaattaaattgagcaagaaaaaanaaaaaa
1381  aaaaaa

```

图 4. 基因 AY248719 的核苷酸序列和推导的氨基酸序列

Figure 4. Nucleotide and deduced amino acid sequence of gene AY248719

用 ORF Finder 对 AY248719 基因的编码框进行预测, 得到一个 963 bp 长的编码区序列, 位于 AY248719 cDNA 的 63~1025 核苷酸位置, 含有起始密码子 ATG 和终止密码子 TAA, 是 1 个完整的编码框, 并且在终止密码子后面找到了 poly A 的信号。用 Compute pFmw 软件根据氨基酸序列计算的等电点和相对分子质量分别为 5.51 和 39514.93。此序列与人类 GNAS1 基因同源性的 92%, 由该序列翻译而成的氨基酸序列与人类及小鼠 Gs α 蛋白序列的同源性为 95%, 与果蝇、线虫 Gs α 蛋白序列的同源性分别为 73%、68%。

2.5 组织定位分析

在心脏、肝、肾、骨骼肌、脾、肺、胃、十二指肠、脑、小脑、垂体、肾上腺、胰腺、胸腺、子宫、卵巢、淋巴结、腹主动脉、胸主动脉等组织中均有 AY248719 基

因表达(图 5, Figure 5)。AY248719 基因在家兔体内不同组织表达强度并不完全相同,在胰腺组织中表达较强,在腹主动脉中表达较弱(表 1, Table 1)。

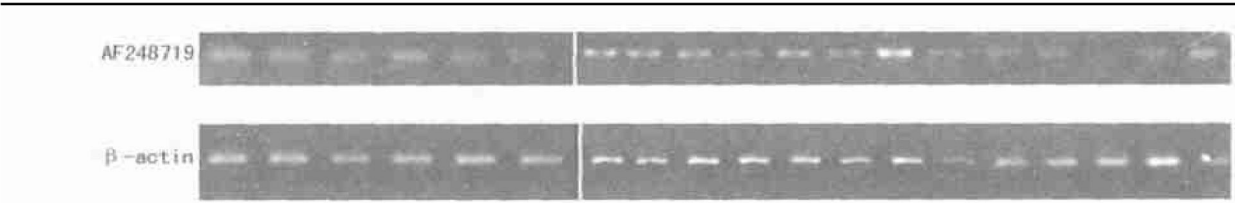


图 5. RT-PCR 检测 AY248719 组织分布 从左至右依次为肝、骨骼肌、脾、肺、胃、小脑、心、脑、胸腺、淋巴结、子宫、卵巢、胰、肾、垂体、肾上腺、腹主动脉、胸主动脉、十二指肠。

Figure 5. Multiple tissue RT-PCR of AY248719 gene expression

表 1. AY248719 基因的组织分布

Table 1. Distribution on multiple tissue of Ay248719 gene expression

部 位	光密度比值
肝	0.78
骨骼肌	0.76
脾	0.83
肺	0.841
胃	0.54
小脑	0.54
心	0.85
脑	0.91
胸腺	0.70
淋巴结	0.59
子宫	0.82
卵巢	0.77
胰	1.38
肾	0.91
垂体	0.51
肾上腺	0.51
腹主动脉	0.17
胸主动脉	0.41
十二指肠	1.12

3 讨论

原发性高脂血症是脂质和脂蛋白代谢先天性缺陷以及某些环境因素,通过各种机制所引起的,但其发病的分子机制仍然不是很清楚。本实验室曾经比较了不同胎龄的人胚肝 mRNA 表达谱,为了解胚胎发育过程中的脂代谢特征提供了依据^[3]。在此基础上,本研究选用遗传背景一致的新西兰白兔作为研究对象,通过给予高脂饮食,观察了血脂谱的改变,结果发现同样的造模兔,血脂升高的程度不一,两者

差别达 2.40 倍。由于两组动物的基因组水平基本一致,这种血脂谱的不同变化可能系高脂血症易感基因表达水平的差异所致。找出这种表达基因,将有助于深入探讨高脂血症及动脉粥样硬化发生发展中的分子机制。

利用 SSH^[4] 对高胆固醇血症造模敏感组和非敏感组家兔肝脏差异表达基因进行了研究,发现编号 F68 的 EST 在造模敏感组高表达。利用 RACE 法克隆其全长序列,被 GenBank 收录接受号为 AY248719,经同源性比较,与人 G 蛋白 α 亚基同源。

人类、小鼠以及果蝇等一些低等模式生物的 Gs α 亚基的 cDNA 序列已经知晓,本实验室克隆出的家兔 Gs α 基因 cDNA 序列与人类 GNAS1 基因同源性达 92%,由该序列翻译而成的氨基酸序列与人类及小鼠 Gs α 蛋白序列的同源性为 95%,与果蝇、线虫的相应蛋白序列的同源性分别为 73%、68%。在不同种系的动物中有如此高的同源性,提示 Gs α 基因在生物进化过程中可能是一种极其保守的基因。

人类的 Gs α 亚基由 GNAS1 基因编码,此基因位于人类 20q13.2-13.3,广泛表达于人体内大部分组织中^[5]。这与 AY248719 基因在家兔体内广泛表达相一致,提示 Gs α 亚基可能在不同组织细胞的生长、代谢过程中发挥基础作用。AY248719 基因在家兔胰腺中表达较强,而在腹主动脉中表达较弱。然而这种差异只是表明家兔 Gs α 亚基转录水平上的表达差异,并不能说明翻译及翻译后水平的蛋白表达差异,其蛋白质表达情况尚待进一步研究。

人类 Gs α 基因具有控制细胞生长的管家基因的许多特点,如启动子区不含 TATA 盒及 CAAT 盒,而包含 4 个 GC 盒,5' 侧翼区存在三段原癌基因 c-Ki-ras2 相似序列等^[6,7],但这些尚不足以说明 Gs α 基因

是管家基因。研究发现人类的 GNAS1 基因至少有四个可供选择的启动子,这四个启动子与第一个外显子的不同搭配产生了包括 Gs α 、XL alphas 和 NE-SP55 等不同的蛋白质。其中 XL alphas 呈父系表达, NESP55 为母系表达^[8,9]。甲基化修饰是人类和小鼠 GNAS 基因印迹的重要方式^[10,11],而这一点与管家基因的一般特征不符^[12]。因此 Gs α 亚基基因虽然在家兔体内绝大多数组织中能同时广泛表达,但此基因与管家基因的关系尚待进一步探讨。

在饮食所引起的高胆固醇血症家兔的肝脏中, Gs α 基因表达水平与血胆固醇水平增高相一致,其详细机制尚不清楚。Gs 蛋白腺苷酸环化酶信号转导系统是发现最早、研究最多的由 G 蛋白调节的系统之一,很可能在高胆固醇血症的形成过程中,肝脏中该系统活性明显增强。但这种增强反应具体作用于何种环节引起血浆胆固醇增高,还需深入探索。

[参考文献]

[1] Lusis AJ, Mar R, Pajukanta P. Genetics of atherosclerosis. *Annu Rev Ge-*

nomics Hum Genet, 2004, **5**: 189-218

[2] 史若飞, 陈运贞. 降低血清胆固醇防治冠心病的现代概念. *中国动脉硬化杂志*, 2000, **8** (1): 87-90

[3] 唐震, 李晓宇, 何龙, 陈秀英, 范乐明, 陈琪. 人胚肝脂代谢相关基因的表达谱. *中国动脉硬化杂志*, 2003, **11** (3): 203-206

[4] 杨向东, 王抒, 唐蔚青, 易光辉, 何淑雅, 唐朝枢, 杨永宗. 人单核细胞泡沫化敏感候选基因的筛选. *中国动脉硬化杂志*, 2002, **10** (3): 195-198

[5] Harris BA. Complete cDNA sequence of a human stimulatory GTP-binding protein alpha subunit. *Nucleic Acids Res*, 1988, **16** (8): 3 585

[6] Kozasa T, Itoh H, Tsukamoto T, Kaziro Y. Isolation and characterization of the human Gs alpha gene. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1988, **85** (7): 2 081-085

[7] Yang X, Lee FY, Wand GS. Increased expression of Gs (alpha) enhances activation of the adenylyl cyclase signal transduction cascade. *Mol Endocrinol*, 1997, **11**: 1 053-061

[8] Hamm HE. The Many Faces of G Protein Signaling. *J Biol Chem*, 1998, **273** (2): 669-672

[9] Hayward BE, Moran V, Strain L, Bonthron DT. Bidirectional imprinting of a single gene: GNAS1 encodes maternally, paternally, and biallelically derived proteins. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1998, **95** (26): 15 475-480

[10] Weinstein LS, Chen M, Liu J. Gs(alpha) mutations and imprinting defects in human disease. *Ann NY Acad Sci*, 2002, **968** (1): 173-197

[11] Liu J, Yu S, Litman D, Chen W, Weinstein LS. Identification of a methylation imprint mark within the mouse Gnas locus. *Mol Cell Biol*, 2000, **20** (16): 5 808-817

[12] Ariel M. A PCR-Based Method for Studying DNA Methylation. *Methods Mol Biol*, 2001, **181**: 205-216

(此文编辑 胡必利, 文玉珊)

读者•作者•编者

我刊进入“CA 千名表”

根据美国化学会出版的《Chemical Abstracts Service Source Index Quarterly No. 4》统计结果,2004 年度我国(包括台湾地区)有 94 种科技期刊进入“CA 千名表”。《中国动脉硬化杂志》位居其中,现将入选的医学期刊列出如下:

序号	刊名	CA 千名表名次	序号	刊名	CA 千名表名次
1	世界胃肠病学杂志(英文版)	191	15	生物医学工程学报	838
2	第四军医大学学报	205	16	第二军医大学学报	854
3	世界华人消化杂志	287	17	郑州大学学报(医学版)	877
4	中国药理学报(英文版)	420	18	药学报	898
5	中国病理生理杂志	467	19	中国生物化学与分子生物学报	909
6	中国生物工程杂志	480	20	第一军医大学学报	545
7	细胞与分子免疫学杂志	540	21	中华医学杂志(英文版)	576
8	中国医院药学杂志	693	22	中国药学杂志	580
9	中国新药杂志	701	23	中草药	618
10	应用生态学报	733	24	中国动脉硬化杂志	917
11	中国公共卫生	738	25	肿瘤防治杂志	918
12	中国药理学通报	822	26	山东大学学报(医学版)	942
13	中华医学遗传学杂志	823	27	中国生化药物杂志	990
14	中国医药工业杂志	830			