

C 反应蛋白诱导外周血内皮祖细胞衰老及非诺贝特的保护作用

何 晋¹, 陈晓彬², 郑昭芬¹, 郭 莹¹, 杜 可³

(1. 湖南省人民医院心内科, 湖南省长沙市 410005; 2. 中南大学湘雅医院心内科, 湖南省长沙市 410008;

3. 湖南中医药大学药理教研室, 湖南省长沙市 410208)

[关键词] C 反应蛋白; 非诺贝特; 内皮祖细胞; 人端粒酶逆转录酶; 细胞衰老

[摘要] 目的 研究非诺贝特对 C 反应蛋白诱导的外周血内皮祖细胞衰老的影响及可能机制。方法 随机将分离培养的内皮祖细胞分为 4 组:①对照组;②C 反应蛋白各浓度组(1.0、2.5、5.0 mg/L);③C 反应蛋白(5.0 mg/L) + 非诺贝特(10.0 μ mol/L)组;④非诺贝特组(10.0 μ mol/L)。加入不同浓度的 C 反应蛋白干预,或预先加入非诺贝特作用 4 h,再加入 5 mg/L C 反应蛋白,培养 7 天后行 SA- β -半乳糖苷酶染色,检测细胞衰老并计数每组衰老细胞数。逆转录-聚合酶链反应检测人端粒酶逆转录酶 mRNA 表达。免疫印迹杂交法半定量测定内皮型一氧化氮合酶蛋白表达。结果 (1)不同浓度的 C 反应蛋白与内皮祖细胞培养后,C 反应蛋白促进内皮祖细胞的衰老,且 C 反应蛋白对内皮祖细胞衰老的影响随着 C 反应蛋白浓度的增加而增加,5 mg/L C 反应蛋白组对内皮祖细胞衰老的影响最显著($P < 0.01$)。加入 10 μ mol/L 非诺贝特后能减少 C 反应蛋白诱导的衰老细胞数量($P < 0.01$)。(2)C 反应蛋白作用内皮祖细胞后人端粒酶逆转录酶 mRNA 表达随着 C 反应蛋白作用浓度的增加而下降,加入非诺贝特 10 μ mol/L 后可以明显逆转 C 反应蛋白诱导的人端粒酶逆转录酶 mRNA 表达下调($P < 0.01$)。(3)C 反应蛋白抑制内皮型一氧化氮合酶蛋白表达,但在加入 10 μ mol/L 非诺贝特后能明显上调内皮型一氧化氮合酶蛋白表达($P < 0.01$)。结论 (1)C 反应蛋白削弱内皮祖细胞的内皮型一氧化氮合酶表达,引起人端粒酶逆转录酶的逆转录下降,从而使端粒酶活性下降,最后加速内皮祖细胞的衰老,从而影响内皮祖细胞的功能。(2)非诺贝特活化人端粒酶逆转录酶,抑制 C 反应蛋白诱导的细胞衰老,可能与内皮型一氧化氮合酶表达上调有关,从而起到保护内皮祖细胞的作用。

[中图分类号] R541.4

[文献标识码] A

C-reactive Protein Induces Endothelial Progenitor Cells Senescence and the Protection of Fenofibrate

HE Jin¹, CHEN Xiao-Bin², ZHENG Zhao-Fen¹, GUO Ying¹, and DU Ke³

(1. Department of Cardiology, Hunan Provincial People's Hospital, Changsha, Hunan 410005, China; 2. Department of Cardiology, Xiangya Hospital, Central South University, Changsha, Hunan 410008, China; 3. Department of Pharmacology, Hunan University of Chinese Medicine, Changsha, Hunan 410208, China)

[KEY WORDS] C-reactive Protein; Fenofibrate; Endothelial Progenitor Cells; Human Telomerase Reverse Transcriptase; Senescence

[ABSTRACT] **Aim** To investigate whether C-reactive protein (CRP) accelerated the onset of endothelial progenitor cell (EPC) senescence and whether fenofibrate can antagonize the effects of CRP. Furthermore, this study aims to explore the possible mechanisms responsible for CRP on EPCs. **Methods** EPCs were incubated with different concentration of CRP(1 mg/L, 2.5 mg/L, 5 mg/L) and 10 μ mol/L fenofibrate. After ex vivo cultured for 7 days, EPCs became senescent as determined by acidic β -galactosidase staining. To get further insights into the underlying mechanisms of these effects induced by CRP and fenofibrate, we measured human telomerase reverse transcriptase (hTERT) mRNA expression and determined the endothelial nitric oxide synthase (eNOS) by using western blotting. **Results** (1) CRP dose-dependently accelerated the onset of EPCs senescence in culture. Moreover, fenofibrate can inhibit CRP-induc se-

[收稿日期] 2011-04-19

[作者简介] 何晋,博士,主治医师,研究方向为冠心病的介入治疗,电话为 13317319460,E-mail 为 jinHarry@163.com。陈晓彬,博士,副主任医师,研究方向为心血管疾病介入治疗。通讯作者郑昭芬,博士,主任医师,研究方向为冠心病的介入治疗,电话为 13974829586,E-mail 为 xyxnzzf@126.com。

nescence. (2) CRP dose-dependently inhibited hTERT mRNA expression. However, fenofibrate can up-regulate the expression of hTERT mRNA in EPCs and up-regulate the expression of eNOS protein in EPCs. **Conclusions** (1) CRP accelerated the onset of EPCs senescence, leading to cellular dysfunction. The effect of CRP might be dependent on telomerase inactivation, and eNOS also appeared to play a major role. (2) Fenofibrate prevents effect against CRP-induced EPCs senescence.

非诺贝特(fenofibrate, FF)是第2代苯氧芳酸类药物,为人工合成的过氧化体增殖物激活型受体 α (peroxisome proliferate-activated receptor α , PPAR α)的配体,属于氯贝特类调脂药物,临床上广泛用于治疗高脂血症。临床研究证明非诺贝特对心血管的保护作用除了调脂作用外,还可能与其非调脂作用密切相关。非诺贝特能激活 PPAR α 起到抗氧化和抗炎症的作用,从而保护内皮功能^[1]。本实验旨在通过体外 C 反应蛋白(C-reactive protein, CRP)和非诺贝特干预外周血内皮祖细胞(endothelial progenitor cells, EPCs),观察其数量和功能的变化,并探讨其作用机制。

1 材料与方法

1.1 材料

非诺贝特及 C 反应蛋白购于美国 Sigma 公司;淋巴细胞分离液 Ficoll-paque 购于天津灏洋生物公司。RPMI-1640 培养液购于广州 Invitrogen 公司。胎牛血清购于 Hyclone 公司。血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)购于 R&D 公司。碱性成纤维细胞生长因子(basic fibroblast growth factor, bFGF)购于 Peprotech 公司。人纤维连接蛋白购于美国 Chemicon 公司。DiI 标记的乙酰化低密度脂蛋白(DiI-acetylated low density lipoprotein, DiI-acLDL)购于美国 Molecular Probes 公司。CRP、羟乙基淀粉(HES)、FITC 标记荆豆凝集素 I(FITC-UEA-I)、SA- β -半乳糖苷酶染色试剂盒购于上海碧云天公司, RevertAid™ First Strand cDNA Synthesis Kit 购于美国 Fermentas 公司, 2 \times 聚合酶链反应(polymerase chain reaction, PCR) Master Mix(由 Taq DNA 聚合酶、PCR buffer、MgCl₂、dNTP 组成)购于美国 Fermentas 公司, 100 bp DNA Marker 及 TRIZOL 购于晶美公司, 鼠抗人内皮型一氧化氮合酶(endothelial nitric oxide synthase, eNOS)单克隆抗体、免疫印迹杂交法(Western blotting)试剂盒(含有 HRP 标记的 II 抗)购自 R&D 公司, DAB 试剂盒购自博士德公司。

1.2 实验分组

随机将 6 孔板贴壁细胞分组,在 CRP 诱导后观

察非诺贝特对 EPCs 数量、增殖、趋化能力、细胞存活能力的作用及对 NO 水平的影响,分组如下:①对照组:含 10% 胎牛血清的 RPMI-1640 培养基;②CRP 组:1 mg/L、2.5 mg/L、5 mg/L CRP;③CRP + 非诺贝特组:加入 10 μ mol/L 非诺贝特培养 4 h 后,再加入 CRP 5 mg/L;④非诺贝特组:加入 10 μ mol/L 非诺贝特到含 10% 胎牛血清的 RPMI-1640 培养基中。非诺贝特溶于二甲基亚砜(dimethyl sulfoxide, DMSO)溶液中, DMSO 终浓度 $\leq 0.01\%$ 。每组设 3 个复孔($n=3$),实验重复 3 次。

1.3 SA- β -半乳糖苷酶染色^[2]

单个核细胞培养 4 天后,在 12 孔培养板加入不同浓度的 CRP 干预,或预先加入非诺贝特作用 4 h,再加入 5 mg/L CRP,继续培养 7 天后进行 SA- β -半乳糖苷酶染色。

1.4 逆转录多聚酶链反应

Trizol 试剂提取细胞总 RNA,氯仿抽提,异丙醇、乙醇沉淀洗涤后,用焦碳酸二乙酯(diethyl pyrocarbonate, DEPC)处理过的水溶解 RNA。使用核酸蛋白测定仪鉴定 RNA 纯度和量,所用 RNA 的 A260/A280 均在 1.8~2.0 之间,用 M-MLV 逆转录酶(MBI 公司)将提出的 RNA 逆转录为 cDNA,以 cDNA 为模板进行 PCR 扩增反应。引物通过斯坦福大学在线引物设计软件设计,人端粒酶逆转录酶(human telomerase reverse transcriptase, hTERT)引物序列上游 5'-CGAGACCAAGCACTTCCTCT-3',下游 5'-TTC-CCCAGGGAGATGAACTT-3',引物全长 523 bp;内参磷酸甘油醛脱氢酶(glyceraldehyde phosphate dehydrogenase, GAPDH)上游 5'-AATCCCATCACCATCTTCA-3',下游 5'-CCTGCTTCACCACCTTCTTG-3',产物全长 587 bp。PCR 反应条件:95 $^{\circ}$ C 预变性 1 min;95 $^{\circ}$ C 变性 30 s;60 $^{\circ}$ C 退火 30 s;68 $^{\circ}$ C 延伸 1.5 min;68 $^{\circ}$ C 终末延伸 10 min。实验分组同上。PCR 结果的琼脂糖凝胶电泳照片采用 TIPAS 98 图像分析仪进行灰度扫描,测定产物条带的积分光密度(integral optical density, IOD),目的片段的相对表达强度用目的片段(IOD)/GAPDH(IOD)的相对比值表示。

1.5 Western blotting 分析

按分组提取 30 μ g 的细胞蛋白抽提液,以体积分

数为 10% 的十二烷基硫酸钠 (sodium dodecyl sulfate, SDS) 聚丙烯酰胺凝胶电泳分离。待电泳完毕后用 Bio-Rad 公司的半干电转移槽转移至硝酸纤维素膜上,在室温下用封闭缓冲液[5 g/L 脱脂奶粉、0.3% Tween 20、磷酸盐缓冲液(phosphate buffered solution, PBS)]封闭 1 h。分别再依次与鼠抗人 eNOS 单克隆抗体、II 抗(酶标 HRP 抗体)反应后,增强化学发光法显色,X 线底片曝光显影。选择清晰的 X 片在 Image-tool 图像分析系统中进行吸光度分析。

1.6 统计学处理

采用 SPSS 13.0 统计软件进行分析,所有数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较用单因素方差分析, $P < 0.05$ 认为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 内皮祖细胞的鉴定

分离获得的单个核细胞培养 7 天的过程中,细胞由单个的小圆形变成一个个细胞集落,集落中心为圆形细胞,周围为呈放射状分布的梭形细胞(图 1)。用 DiI-acLDL 及 FITC-UEA-I 对细胞染色后,通过荧光显微镜对细胞进行观察,DiI-acLDL 摄取后细胞呈红色,FITC-UEA-I 染色后细胞呈绿色,双染色的细胞为正在分化的 EPCs,呈黄色,98% 以上的细胞为双染色阳性细胞(图 2)。

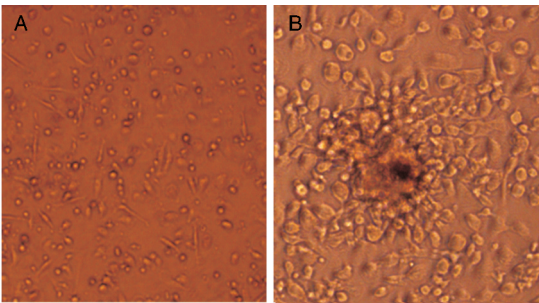


图 1. 培养的内皮祖细胞形态学变化 A 为第 3 天的细胞 (100 ×), B 为第 7 天的细胞 (200 ×)。

Figure 1. Morphology changes of cultured EPC

2.2 C 反应蛋白加速内皮祖细胞的衰老及加入非诺贝特后的变化

细胞内 β -半乳糖苷酶在酸性条件下稳定表达是细胞衰老的分子特征,我们采用识别和探测衰老细胞的通用技术方法 SA- β -半乳糖苷酶染色试剂盒检测衰老细胞(图 3)。随着 EPC 培养时间的延长,SA- β -半乳糖苷酶阳性细胞明显增加。不同浓度的 CRP 与 EPC 培养后,CRP 增加 SA- β -半乳糖苷酶阳性细胞数量,SA- β -半乳糖苷酶阳性细胞数量随着

CRP 浓度的增加而增加,5 mg/L CRP 能显著增加衰老细胞的数量,较对照组增加 2 倍 (60.4 ± 7.6 比 20.1 ± 9.2 , $P < 0.01$)。在加入非诺贝特 10 $\mu\text{mol/L}$ 后能减少 CRP 诱导的衰老细胞数量 (40.8 比 60.4 ± 7.6 , $P < 0.01$;图 4)。

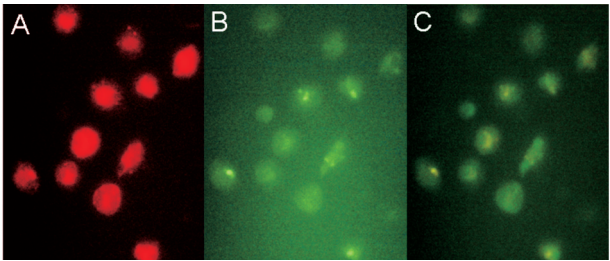


图 2. 内皮祖细胞的鉴定 (200 ×) A 为细胞摄取 DiI-acLDL, B 为 FITC-UEA-I 染色细胞, C 为荧光双染细胞。

Figure 2. Characterization of EPC (200 ×)

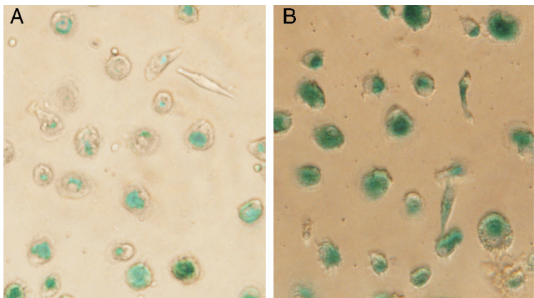


图 3. SA- β -半乳糖苷酶染色试剂盒检测衰老细胞 A 为对照组, B 为 CRP 5 mg/L 组。

Figure 3. EPCs senescence were investigated by senescence-associated [beta]-galactosidase (SA-[beta]-Gal) activity assay

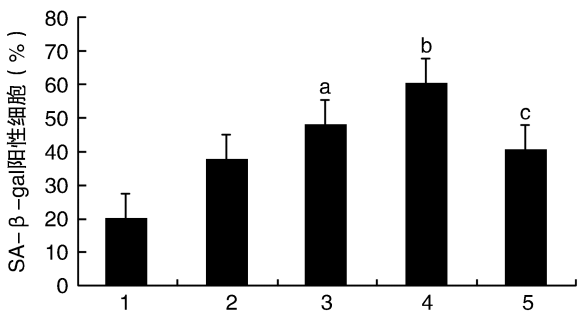


图 4. 非诺贝特对 CRP 作用后 EPCs 衰老的影响 1 为对照组, 2 为 CRP 1 mg/L 组, 3 为 CRP 2.5 mg/L 组, 4 为 CRP 5 mg/L 组, 5 为 CRP 5 mg/L + 非诺贝特 10 $\mu\text{mol/L}$ 组。a 为 $P < 0.05$, b 为 $P < 0.01$, 与对照组比较; c 为 $P < 0.05$, 与 CRP 5 mg/L 组比较。

Figure 4. The effect of fenofibrate on CRP-induced EPCs senescence

2.3 非诺贝特对 C 反应蛋白诱导的内皮祖细胞人端粒酶逆转录酶表达的影响

加入 1.0、2.5、5.0 mg/L CRP 刺激 EPCs 24 h,

RT-PCR 结果显示,CRP 作用 EPCs 后 hTERT mRNA 表达随着 CRP 作用浓度的增加而减弱,其灰度比值分别为 0.69 ± 0.05 、 0.54 ± 0.03 、 0.30 ± 0.04 ,与对照组比较,差异有显著性($P < 0.01$,图 5),加入非诺贝特 $10 \mu\text{mol/L}$ 后可以显著逆转 CRP 诱导的 hTERT mRNA 表达下调,其灰度比值为 0.62 ± 0.01 、 0.90 ± 0.03 ,与 CRP 5 mg/L 组比较,差异有显著性($P < 0.05$ 及 $P < 0.01$;图 6)。

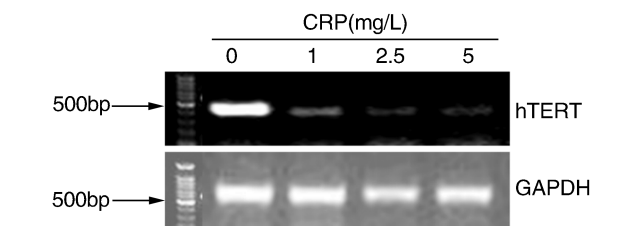


图 5. 不同浓度 CRP 作用后 EPCs hTERT mRNA 表达的变化
Figure 5. Different concentration of CRP induced the hTERT mRNA change of EPCs

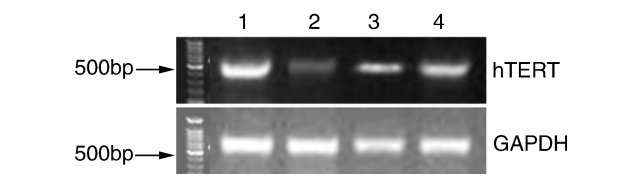


图 6. 非诺贝特对 CRP 作用后 EPCs hTERT mRNA 表达的影响
1 为对照组,2 为 CRP 5 mg/L 组,3 为 CRP 5 mg/L + 非诺贝特 $10 \mu\text{mol/L}$ 组,4 为非诺贝特 $10 \mu\text{mol/L}$ 组。

Figure 6. The effect of fenofibrate on CRP-induced hTERT mRNA expression change of EPCs

2.4 非诺贝特对 C 反应蛋白诱导的内皮祖细胞内皮型一氧化氮合酶表达的影响

Western blotting 结果显示,与对照组比较,CRP 5 mg/L 组能显著抑制 eNOS 蛋白表达,其灰度比值(0.29 ± 0.02)与对照组(0.86 ± 0.02)比较,差异有显著性($P < 0.01$),但在加入非诺贝特 $10 \mu\text{mol/L}$ 后能显著上调 eNOS 蛋白表达(0.62 ± 0.03 、 0.98 ± 0.031 比 CRP 组的 0.29 ± 0.02 , $P < 0.01$)(图 7)。

3 讨论

在前面的研究中,我们初步研究了 CRP 对体外培养的内皮祖细胞的数量及功能的影响^[3],在本实验中我们观察到 CRP 能加速 EPCs 的衰老,Assmus 等^[4]报道 EPCs 衰老跟 EPCs 数量减少和功能损害有关。近来的研究表明高血糖以及雷帕霉素通过加

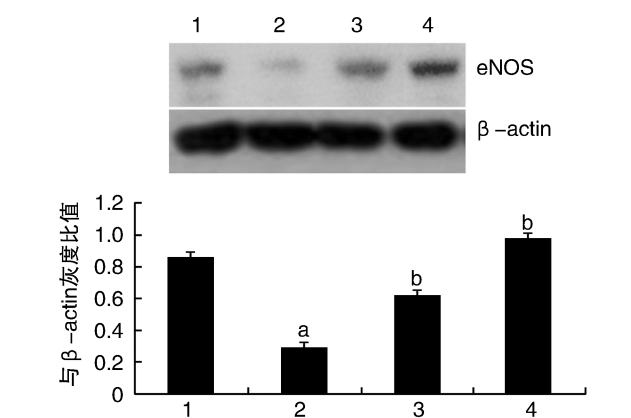


图 7. 非诺贝特对 CRP 作用后 EPCs eNOS 蛋白表达的影响
1 为对照组,2 为 CRP 5 mg/L 组,3 为 CRP 5 mg/L + 非诺贝特 $10 \mu\text{mol/L}$ 组,4 为非诺贝特 $10 \mu\text{mol/L}$ 组。a 为 $P < 0.01$,与对照组比较;b 为 $P < 0.01$,与 CRP 组比较。

Figure 7. The effect of fenofibrate on CRP-induced eNOS protein expression change of EPCs

速 EPCs 老化而导致 EPCs 功能损害^[5,6]。而雌激素则可以延缓 EPC 衰老并改善其功能^[7]。根据这些研究结果,我们推测细胞衰老与炎症因子 CRP 抑制 EPCs CFU 生成、减少 EPCs 数量、损害其功能有关。研究者认为高水平的 CRP 加速 EPCs 衰老可能跟端粒酶活性有关,在细胞分子水平上,染色体末端端粒的损耗是衰老的重要机制,染色体端粒丢失最终可造成细胞衰老直至凋亡^[8,9]。端粒的维持是通过端粒酶完成的。端粒酶是一种特殊的核糖核蛋白逆转录酶,能以自身 RNA 为模板合成端粒 DNA 并添加到染色体末端,延长真核细胞染色体端粒。端粒酶是一种依赖于 RNA 的 DNA 多聚酶,具有逆转录酶的活性,活化后能以自身 RNA 为模板,逆转录合成端粒重复序列,从而弥补细胞分裂中端粒片段的丢失^[10,11]。同样在本研究中观察到 CRP 能加速 EPCs 的衰老。

但是,CRP 降低 EPCs 抑制 hTERT 活性的机制有待进一步明确。在本研究中,我们观察到 CRP 显著抑制 EPCs 的 eNOS 蛋白表达。eNOS 是产生 NO 重要的酶,而 NO 被证实可激活端粒酶逆转录酶,从而活化端粒酶,延缓内皮细胞衰老^[12]。但是,NO 供体,S-nitrosopenicillamine (SNAP)并不能预防 EPCs 的衰老,提示 EPCs 衰老的调节跟 NO 无关。因此,我们推测 CRP 减少 EPCs 的 eNOS 表达,引起 hTERT 的逆转录下调,从而使端粒酶活性下降,最后导致 EPCs 衰老的加速。

非诺贝特是第 2 代苯氧芳酸类药物,在临床上广泛用于治疗高脂血症,近年来研究的热点主要围

绕在其非调脂作用。在我们的系列研究中发现非诺贝特能通过干预溶血卵磷脂诱导的内皮细胞凋亡,使内皮细胞增殖增强,减弱凋亡^[13]。我们发现非诺贝特能通过上调 eNOS 蛋白表达,激活 hTERT,预防 CRP 诱导的细胞衰老。

【参考文献】

- [1] Okopin B, Cwalina L, Haberka M, et al. Pleiotropic effects of micronized fenofibrate in patients with combined hyperlipidemia[J]. Pol Merkur Lekarski, 2002, 13(78): 465-469.
- [2] Chiu CP, Harley CB. Replicative senescence and cell immortality: the role of telomeres and telomerase[J]. Proc Soc Exp Biol Med, 1997, 214(2): 99-106.
- [3] 陈晓彬, 何晋, 谢秀梅, 等. C 反应蛋白对外周血内皮祖细胞数量及功能的影响[J]. 中国动脉硬化杂志, 2008, 16(8): 607-610.
- [4] Assmus B, Urbich C, Aicher A, et al. HMG-CoA reductase inhibitors reduce senescence and increase proliferation of endothelial progenitor cells via regulation of cell cycle regulatory genes[J]. Circ Res, 2003, 92(3): 1 049-055.
- [5] Imanishi T, Kobayashi K, Kuki S, et al. Sirolimus accelerates senescence of endothelial progenitor cells through telomerase in activation[J]. Atherosclerosis, 2006, 189(2): 288-296.
- [6] Kuki S, Imanishi T, Kobayashi K, et al. Hyperglycemia accelerated endothelial progenitor cells senescence via the activation of p38 mito-

gen-activated protein kinase[J]. Circ J, 2006, 70(8): 1 076-081.

- [7] Imanishi T, Hano T, Nishio I, et al. Estrogen reduces endothelial progenitor cell senescence through augmentation of telomerase activity[J]. J Hypertens, 2005, 23(9): 1 699-706.
- [8] Szmítko PE, Fedak PWM, Weisel RD, et al. Endothelial progenitor cells: New hope for a broken heart[J]. Circulation, 2003, 107(24): 3 093-100.
- [9] Verma S, Kuliszewski MA, Li SH, et al. C-reactive protein attenuates endothelial progenitor cell survival, differentiation, and function: further evidence of a mechanistic link between C-reactive protein and cardiovascular disease[J]. Circulation, 2004, 109(17): 2 058-067.
- [10] Vasa M, Fichtlscherer S, Aicher A, et al. Number and migratory activity of circulating endothelial progenitor cells inversely correlate with risk factors for coronary artery disease[J]. Circ Res, 2001, 89(1): E1-E7.
- [11] Verma S, Li SH, Badiwala MV, et al. Endothelin antagonism and interleukin-1 inhibition attenuate the proatherogenic effects of C-reactive protein[J]. Circulation, 2002, 105(16): 1 890-896.
- [12] Vasa M, Breitschopf K, Zeiher AM, et al. Nitric oxide activates telomerase and delays endothelial cell senescence[J]. Circ Res, 2000, 87(7): 540-542.
- [13] 孙国举, 谢秀梅, 邢莹, 等. 非诺贝特对 LPC 诱导脐静脉内皮细胞增殖、凋亡及 eNOS 基因表达的影响[J]. 中南大学学报(医学版), 2006, 31(3): 373-378.

(此文编辑 曾学清)

· 征稿征订 ·

2012 年《中国动脉硬化杂志》征稿征订启事

《中国动脉硬化杂志》(国内统一刊号 CN 43-1262/R, 国际标准刊号 ISSN 1007-3949)是中国科学技术协会主管、中国病理生理学会、南华大学主办的国家级专业性高级学术期刊。主要报道中医药学、预防医学、基础医学、临床医学、药学和特种医学中防治动脉硬化性疾病中的研究论文(含流行病学研究、实验研究、临床研究和方法学研究)、诊治经验、病例报道、知识讲座等。其办刊宗旨是:通过报道防治动脉硬化性疾病的新理论、新观点、新疗法、新药物;介绍防治的新经验和新知识;既引导和弘扬我国的学术研究,促进国内外学术交流,将中国这一领域的研究推向世界和未来;又普及防治知识,提高全民的健康水平。自创刊以来,以办刊严谨、内容丰富、编排新颖、对稿件处理快速及时、文章发表周期短、可读性强而深受广大作者和读者厚爱。《中国动脉硬化杂志》被多家权威部门收录为核心期刊【中文核心期刊、中国科学引文数据库(CSCD)收录期刊、中国科技核心期刊、中国科技论文统计源期刊、中国学术期刊光盘版、万方数据期刊群、中国学术期刊综合评价数据库核心期刊】。

《中国动脉硬化杂志》为月刊,每月 26 日出版, A4 大开本,进口双胶纸印刷。每期定价 12.00 元,全年 144.00 元。由湖南省报刊发行局发行,邮发代号 42-165,全国各级各地邮局均可订阅。编辑部可办理邮购,若错过邮局征订日期,可直接写信和邮汇订购费到编辑部补办订购手续。中国动脉硬化杂志编辑部热忱欢迎海内外同仁和社会各届朋友向《中国动脉硬化杂志》投稿,到当地邮局订阅。

编辑部地址:湖南省衡阳市南华大学内《中国动脉硬化杂志》编辑部;邮政编码:421001;

联系电话:0734-8160765;传真:0734-8160523

E-mail: dmzzbjb@163.net; 网址: http://www. dmzzbjb.net