

## · 实验研究 ·

# 视网膜色素上皮细胞中诱导型一氧化氮合酶、精氨酸代谢相关酶的表达及一氧化氮对细胞紧密连接的影响

张文一 白海青 王靖华

**【摘要】 目的** 研究在免疫活化的视网膜色素上皮(RPE)细胞中诱导型一氧化氮合酶(iNOS)被诱导、产生 NO 时,其底物精氨酸的来源;产生的 NO 对 RPE 细胞紧密连接的影响。**方法** 用干扰素  $\gamma$  (IFN $\gamma$ )、肿瘤坏死因子  $\alpha$ (TNF $\alpha$ )、脂多糖(LPS)刺激大鼠视网膜色素上皮细胞系(RPE-J)细胞,Northern blotting、Western blotting 方法研究 RPE-J 细胞内精氨酸再生系瓜氨酸 NO 循环的相关酶的表达及地塞米松和环磷酸腺苷(cAMP)对 iNOS 表达的影响。并通过免疫细胞化学和 Western blotting 方法,研究产生的 NO 对 RPE-J 细胞紧密连接功能的影响。**结果** 活化的 RPE-J 细胞中, iNOS 和精氨酸的再生系瓜氨酸-NO 循环相关酶精氨酸琥珀酸合成酶(AS)在 mRNA 和蛋白质水平同时被诱导,精氨酸琥珀酸裂解酶(AL)没有被诱导,同时产生 NO, cAMP 可以增加 NO 的产量。NO 不仅以精氨酸为底物产生,而且也可由瓜氨酸产生。产生的 NO 破坏 RPE-J 细胞的紧密连接功能,与紧密连接相关蛋白 ZO-1 的合成量减少。**结论** 在活化的 RPE-J 细胞中产生 NO 时,由瓜氨酸-NO 循环再生的精氨酸是 RPE-J 细胞中产生 NO 的底物精氨酸的主要来源;NO 对 RPE-J 细胞的紧密连接起破坏作用。

**【关键词】** 色素上皮,眼/代谢; 一氧化氮合酶; 精氨酸/代谢; 基因表达调控,酶学;  
瓜氨酸/代谢

中图分类号:R446-39 R770.43 R773

**Expression of inducible nitric oxide (NO) synthase and arginine-metabolic relative enzymes in retinal pigment epithelial (RPE) cells and the effect of NO on tight junction of RPE cells** ZHANG Wen-yi, BAI Hai-qing, MENG Yan, et al. The Affiliated Hospital of Medical College, Qingdao University, Qingdao 266003, China

Corresponding author: ZHANG Wen-yi, Email: wen\_yizhang@hotmail.com

**【Abstract】 Objective** To detect the induction of inducible nitric oxide synthase (iNOS) and nitric oxide (NO) production in immunostimulated retinal pigment epithelial (RPE) cells to seek for the supplying of the arginine, a substrate for NOS; as well as the effects of produced NO on the tight junction of RPE-J cells. **Methods** Rat's RPE-J cells were treated with interferon- $\gamma$ (INF- $\gamma$ ), tumor necrosis factor- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ ) and lipopolysaccharide (LPS), and Northern and Western blotting were applied to analyze the expression of the citrulline-NO cycle enzymes and related enzymes and the effect of dexamethasone and cyclic adenosine monophosphate (camp) on the expression of iNOS. Immunocytochemistry reaction and Western blotting were used to evaluate the effect of produced NO on the tight junctions of RPE-J cells. **Results** iNOS and argininosuccinate synthetase (AS) were highly induced at both mRNA and protein levels in immunostimulated RPE cells while argininosuccinate lyase (AL) was not induced. NO was produced by cells after stimulation with TNF $\alpha$ , IFN $\gamma$  and LPS. The induction of iNOS mRNA and the production of NO by these immunostimulated cells was further enhanced by cAMP. NO was produced from citrulline as well as from arginine. And the produced NO impaired the tight junction of RPE-J cells, decreased the production of tight junction related protein ZO-1. **Conclusion**

In activated RPE-J cells, citrulline-arginine recycling is important for NO production, and the produced NO weakened the function of tight junction of RPE-J cells.

**【Key words】** Pigment epithelium of eye/metabolism; Nitric-oxide synthase;  
Arginine/metabolism; Gene expression regulation,enzymologic;  
Citrulline/metabolism

许多眼科疾病的发生有关,包括青光眼<sup>[1]</sup>、葡萄膜炎<sup>[2]</sup>、缺血性视网膜病变<sup>[3]</sup>、白内障<sup>[4]</sup>和角膜感染<sup>[5]</sup>。细胞内以精氨酸为底物合成 NO,其合成依赖于 NOS 的活性,及底物精氨酸的浓度。细胞内精氨酸来源于精氨酸的再循环,参与该循环的酶有 NOS、精氨酸琥珀酸合成酶(AS)及精氨酸琥珀酸裂解酶(AL)<sup>[6,7]</sup>。我们利用体外培养的大鼠视网膜色素上皮细胞系(RPE-J)细胞,通过细胞免疫化学、Northern、Western blotting 方法研究 iNOS 被诱导、产生 NO 时,其底物精氨酸的来源;及产生的 NO 对 RPE-J 细胞紧密连接的影响。

## 1 材料和方法

### 1.1 细胞培养和药物处理

RPE-J 细胞购自美国组织培养收集中心。未分化细胞培养于 33℃ 下,95% 空气、5% CO<sub>2</sub> 培养箱中 6 d,培养液为含 4% 胎牛血清的 Dulbecco 改良 Eage 培养基(DMEM),其中含 3.3 nmol/L 全反视黄醛酸。将温度调节为 40℃,培养 36 h,使细胞分化为成熟的 RPE-J 细胞。分化后的细胞以肿瘤坏死因子 α(TNFα) (500 U/ml,美国 Genzyme 公司),干扰素 γ(IFNγ) (100 U/ml,美国 Genzyme 公司),脂多糖(LPS) (10 μg/ml,美国 Sigma 公司),地塞米松(1.0 μmol/L)和丁酰基环磷酸腺苷(cAMP,1.0 mol/L)处理。测量细胞产生的 NO 时,用 Eage 培养基(EMEM)(不含精氨酸和瓜氨酸)代替 DMEM 培养液,培养 12 h。向培养液中加入 L-精氨酸(0.5 mmol/L),L-瓜氨酸(0.5 mmol/L)和甲基-L-精氨酸(L-NMMA,2.0 mmol/L)。

### 1.2 分组设计

TNFα、IFNγ、LPS 分别或两两组合或三者共同组合,刺激 RPE-J 细胞,在 6 h 和 12 h 时回收细胞,用 Northern blotting 杂交分析 iNOS 和精氨酸代谢相关酶 iNOS、AS、AL mRNA 的表达;并观察地塞米松和 cAMP 对活化的 RPE-J 细胞 iNOS mRNA 表达和 NO 合成的影响。

### 1.3 Northern blotting 杂交分析

总 RNA 的提取采用鸟嘌呤硫氰酸-苯-氯仿的方法<sup>[8]</sup>。经琼脂糖凝胶电泳,将 RNA(2.0 μg)转移到尼龙膜上,用地高辛标记的反义 RNA 探针进行杂交。大鼠 iNOS<sup>[9]</sup>、AS<sup>[10]</sup>、AL<sup>[10]</sup> 的杂交探针采用已报道的反义 RNA 探针。杂交探针上化学发光信号的采集用地高辛发光检测试剂盒(德国 Boehringer Mannheim 公司),通过 MacBas 生物图象分析仪(日本富士公司)进行定量分析。

### 1.4 Western blotting 杂交分析

在含 20 mmol/L HEPES-KOH(pH 值 7.5),1% Triton X-100,20% 甘油和 1mmol/L 二硫苏糖醇的缓冲液中将 RPE-J 细胞制成匀浆。4℃ 下以离心半径 85 mm,3 500 r/min 离心 30 min,上清液用于 Western blotting 杂交分析。上清液经十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳,转移到硝酸纤维素滤膜上。采用 ECL 试剂盒(英国 Amersham 公司)进行免疫检测,抗小鼠 iNOS 单克隆抗体由美国 Lexington 实验室提供。大鼠 AS 抗血清采用本实验室制作的抗体<sup>[10]</sup>。

### 1.5 RPE-J 细胞产生 NO 浓度的测量

NO 的合成量是通过采用 NO<sub>2</sub><sup>-</sup>/NO<sub>3</sub><sup>-</sup> 分析试剂盒(日本同仁堂公司)间接测量培养液中 NO<sub>2</sub><sup>-</sup> 和 NO<sub>3</sub><sup>-</sup> 的含量实现的。

### 1.6 NO 的合成对 RPE-J 细胞紧密连接影响的评价

通过 Western blotting 方法检测紧密连接相关蛋白 ZO-1,并利用免疫细胞学方法观察细胞间隙的变化评价 NO 的合成对 RPE-J 细胞紧密连接影响。抗大鼠 ZO-1 单克隆抗体及 NO 的提供剂 SNAP 由美国国际化学试剂公司提供。

## 2 结果

### 2.1 活化的 RPE-J 细胞中 iNOS 和精氨酸代谢相关酶的 mRNA 的表达

在未受刺激的细胞中,未检测到 iNOS 的 mRNA;单独用 TNFα 或 TNFγ、IFNγ、LPS 两两组合刺激细胞时,iNOS 的 mRNA 均被诱导。3 种因子共同刺激 12 h 后,iNOS mRNA 的诱导量最高。在 TNFα 刺激下,AS 的 mRNA 也被诱导,而在 TNFα 和 IFNγ 联合刺激下,其诱导量最高。AL 的 mRNA 在各刺激前后均无明显改变。

### 2.2 活化的 RPE-J 细胞中 iNOS 和 AS 的表达

RPE-J 细胞中在 TNFα、IFNγ 和 LPS 刺激前未检测到 iNOS mRNA 的表达,刺激后 3 h 表达开始增高,6 h 达到最高峰,并保持高水平直到 12 h,24 h 后开始下降。刺激前仅检测到少量 AS mRNA,刺激 6 h 后表达开始增高,12 h 后达高峰(约增加 10 倍),24 h 后开始下降(图 1)。TNFα、IFNγ 和 LPS 共同刺激前未检测到 iNOS 蛋白质,刺激后 6 h 表达开始增高;持续增高直到 48 h。TNFα、IFNγ 和 LPS 共同刺激前可检测到 AS 蛋白质,刺激后 6 h 仍无明显变化,12 h 后开始增高,持续增高直到 48 h(图 2)。

### 2.3 地塞米松和 cAMP 对活化的 RPE-J 细胞 iNOS mRNA 表达和 NO 合成的影响

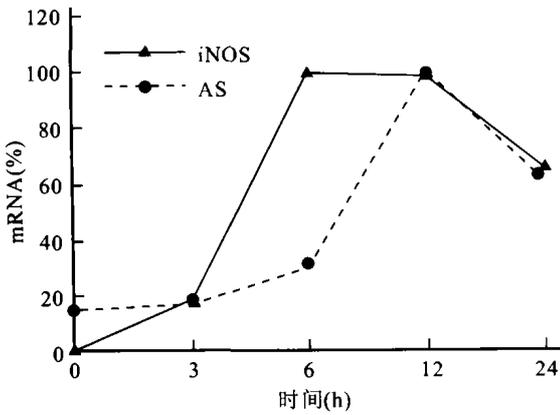


图 1 活化的 RPE-J 细胞中 iNOS 和 AS mRNA 的表达  
Fig. 1 Graph of expression of iNOS and AS mRNA in immunostimulated RPE-J cells

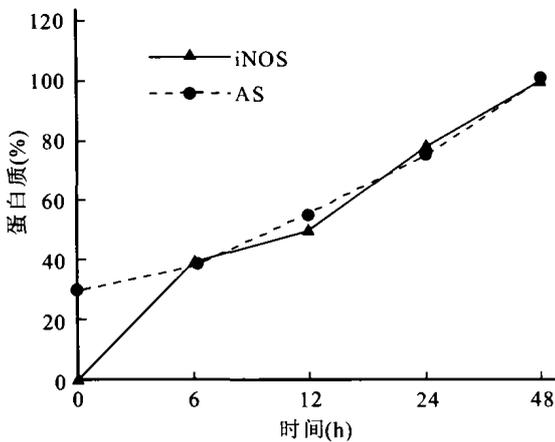


图 2 活化的 RPE-J 细胞中 iNOS 和 AS 蛋白质的表达  
Fig. 2 Graph of expression of iNOS and AS protein in immunostimulated RPE-J cells

TNF $\alpha$ 、IFN $\gamma$  和 LPS 共同刺激可诱导 iNOS mRNA 表达,增加 NO 的合成,这一诱导作用可被地塞米松削弱,而被 cAMP 显著增强,地塞米松能够抑制 cAMP 引起的 NO 合成增加(图 3)。

#### 2.4 RPE-J 细胞中以精氨酸和瓜氨酸为底物时 NO 的合成

当在 EMEM 培养液(不含精氨酸和瓜氨酸)中的 RPE-J 细胞被 TNF $\alpha$ 、IFN $\beta$ 、LPS 和 cAMP 共同刺激后,仅检测到少量 NO 的合成。当上述培养液中加入精氨酸后,NO 的合成增加到(2.7 $\pm$ 0.4) $\mu$ mol/L。这一合成量的增加可被 NOS 的阻断剂 L-NMMA 显著抑制。当用瓜氨酸代替精氨酸加入培养液中时,也可检测到 NO 的合成,但比以精氨酸为底物时 NO 的产量低,约(1.7 $\pm$ 0.5) $\mu$ mol/L(图 4)。

#### 2.5 NO 的合成对 RPE-J 细胞紧密连接的影响

用免疫细胞学方法对未活化的 RPE-J 细胞间隙的紧密连接相关 ZO-1 蛋白进行检测,其细胞间隙染

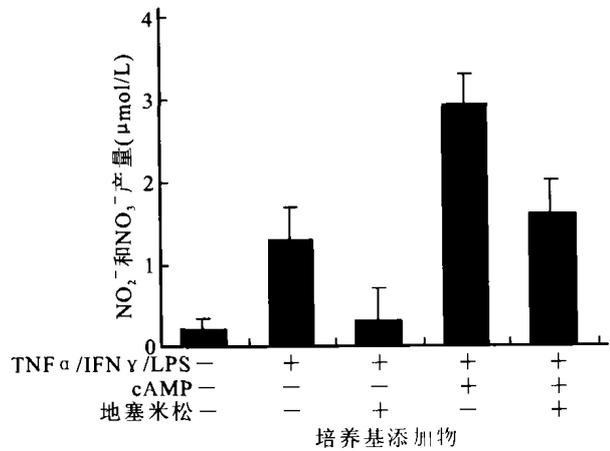


图 3 活化的 RPE-J 细胞中,cAMP 和地塞米松对 iNOS mRNA 表达和 NO 合成的影响  
Fig. 3 Bar graph of effect of cAMP and dexamethasone on expression of iNOS mRNA and combination of NO in immunostimulated RPE-J cells

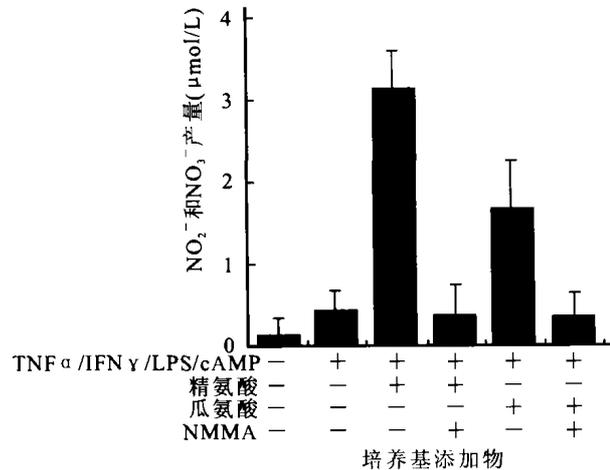


图 4 活化的 RPE-J 细胞中,精氨酸和瓜氨酸为底物时 NO<sub>2</sub><sup>-</sup>/NO<sub>3</sub><sup>-</sup> 产量  
Fig. 4 Bar graph of production of NO<sub>2</sub><sup>-</sup>/NO<sub>3</sub><sup>-</sup> from arginine and citrulline in immunostimulated RPE-J cells

色强烈(图 5);当用 TNF $\alpha$ 、IFN $\beta$ 、LPS 共同刺激(图 6)、或用 NO 的提供剂 SNAP 进行处理时(图 7),细胞间隙加大,染色减弱。

Western blotting 检测 RPE-J 细胞的 ZO-1 蛋白的合成结果显示,在未活化的 RPE-J 细胞中存在 ZO-1 蛋白,当用 TNF $\alpha$ 、IFN $\gamma$ 、LPS 组合刺激或用 SNAP 处理后,其合成量减少(图 8)。

### 3 讨论

RPE-J 细胞是大鼠来源的无限 RPE 细胞系,该细胞系是通过一种温度敏感性 SV40 病毒转染大鼠 RPE 细胞建立的<sup>[1]</sup>,被广泛应用于研究视杆细胞外节膜盘的吞噬作用,蛋白质的输送和定位及与凋亡有关的机制。本研究旨在阐明,活化的 RPE-J 细胞中 iNOS 和精氨酸代谢相关酶是否被诱导,及糖皮质激素和 cAMP

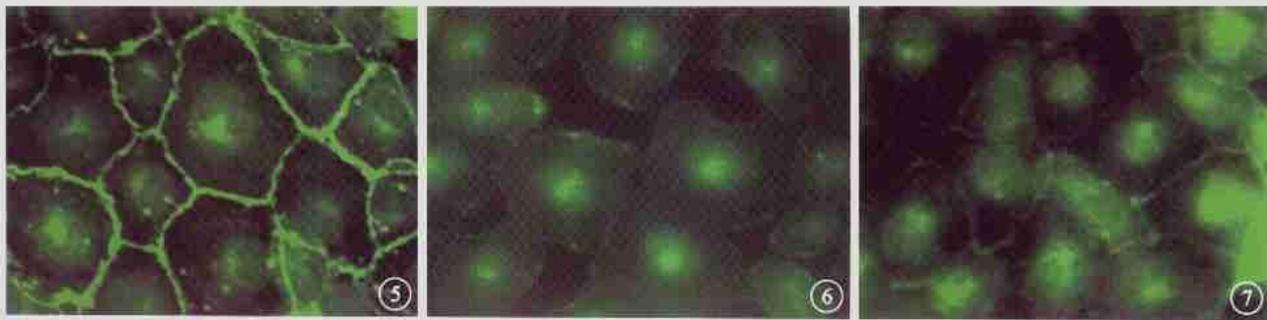


图 5 未活化的 RPE-J 细胞间隙紧密连接相关 ZO-1 蛋白免疫荧光染色像。阳性染色为亮绿色。免疫荧光染色  $\times 400$  图 6 TNF $\alpha$ , IFN $\gamma$  和 LPS 共同刺激 RPE-J 细胞时 ZO-1 蛋白免疫荧光染色像。阳性染色为亮绿色。免疫荧光染色  $\times 400$  图 7 SNAP 处理 RPE-J 细胞时 ZO-1 蛋白免疫荧光染色像。阳性染色为亮绿色。免疫荧光染色  $\times 400$

Fig. 5 Photograph of immunostain of tight junction related protein ZO-1 in untreated RPE-J cells. Green positive staining. Immunostaining  $\times 400$  Fig. 6 Photograph of immunostain of tight junction related protein ZO-1 in TNF $\alpha$ , IFN $\gamma$ , and LPS stimulated RPE-J cells. Green positive staining. Immunostaining  $\times 400$  Fig. 7 Photograph of immunostain of ZO-1 protein in SNAP treated RPE-J cells. Green positive staining. Immunostaining  $\times 400$

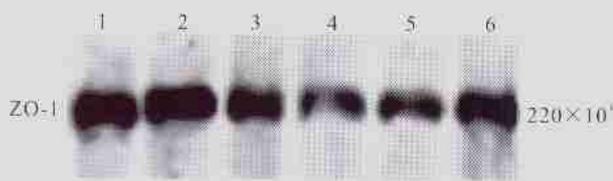


图 8 Western blotting 检测 RPE-J 细胞中 ZO-1 蛋白在不同刺激条件下的合成电泳图。1, 2; None; 3, 4; LPS/IFN $\gamma$ /TNF $\alpha$ ; 5, 6; SNAP

Fig. 8 Electrophoretogram of production of ZO-1 protein in RPE-J cells examined by Western blotting. 1, 2; None; 3, 4; LPS/IFN $\gamma$ /TNF $\alpha$ ; 5, 6; SNAP

能否调节 iNOS 的表达和 NO 的合成。

NO 与许多眼部疾病有关,在炎症时,RPE 细胞和眼组织表达 iNOS,并产生 NO。在 RPE 细胞中,NO 与紧密连接的形成有关<sup>[2]</sup>,与视杆细胞外节膜盘的吞噬有关<sup>[13]</sup>。NO 的合成量依赖于 NOS 的活性和细胞内精氨酸的浓度。细胞内精氨酸有三个来源,一是由细胞外转移到胞内;二是细胞内蛋白质降解产物;三是在 AS 和 AL 的作用下由瓜氨酸再生为精氨酸(瓜氨酸-NO 循环)。

在本实验中,用 TNF $\alpha$ 、IFN $\gamma$  和 LPS 共同刺激 RPE-J 细胞,iNOS 和 AS 在 mRNA 和蛋白质水平中均被诱导。在 iNOS 诱导的晚期,AS 被诱导,催化瓜氨酸再生为精氨酸,为 iNOS 提供更多的底物。在许多类型的细胞中均可见 iNOS 和 AS 被共同诱导,而 AL 不被诱导或仅少量被诱导<sup>[14]</sup>。这说明 AS 是瓜氨酸-精氨酸再生循环中的限速酶,在许多类型的细胞中,糖皮质激素均减弱 iNOS 的诱导<sup>[11]</sup>,在 RPE-J 细胞中也是如此。另一方面,某些类型的细胞中,cAMP 能增强 iNOS 的诱导<sup>[15]</sup>。在 RPE-J 细胞中,cAMP 能增强 iNOS 的诱导并增加 NO 的产量。

RPE 对视网膜生理功能的维持和病理改变的影响都很重要,RPE 细胞之间存在紧密连接,形成视网

膜的外屏障。ZO-1 蛋白是紧密连接相关蛋白<sup>[16]</sup>。本实验用 LPS 和细胞因子或 SNAP 刺激 RPE-J 细胞后,发现细胞间隙加大,ZO-1 蛋白的合成量明显减少。此结果表明,当眼内发生炎症时,产生的 NO 削弱 RPE 的外屏障作用,加重炎症反应。

以上结果表明,活化的 RPE-J 细胞中瓜氨酸-NO 循环对 NO 的合成提供底物至关重要。cAMP 可增加 NO 的合成量,而糖皮质激素可减少 NO 的产量,NO 可削弱 RPE 细胞的外屏障作用。我们认为,在炎症状态下的机体内,通过阻断 AS 和 iNOS 的作用可以阻止 RPE 细胞合成过多的 NO;糖皮质激素可能抑制 RPE 细胞产生过多的 NO,从而抑制 NO 介导的病理过程。

#### 4 参考文献

- Neufeld AH, Sawada A, Becker B. Inhibition of nitric oxide synthase 2 by aminoguanidine provides neuroprotection of retinal ganglion cells in a rat model of chronic glaucoma. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1999; 96: 9944-9948.
- Tilton RG, Chang K, Corbett JA, et al. Endotoxin induced uveitis in the rat is attenuated by inhibition of nitric oxide production. *Inv Ophthalmol Vis Sci*. 1994; 35: 3278-3288.
- Scintiaub F, Courtois Y, Goureau O. Inducible nitric oxide synthase mediates the change from retinal to vitreal neovascularization in ischemic retinopathy. *J Clin Invest*. 2001; 107: 717-725.
- Inomata M, Hayashi M, Shumiyama S, et al. Aminoguanidine treatment results in the inhibition of lens opacification and calpain-mediated proteolysis in Shumiyama cataract rats (SCR). *J Biochem*. 2000; 128: 771-776.
- Daheshia M, Kanangal S, Rouse BT. Production of key molecules by ocular neutrophils early after herpetic infection of the cornea. *Exp Eye Res*. 1998; 67: 619-624.
- Wu G, Morris SM. Arginine metabolism: nitric oxide and beyond. *Biochem J*. 1998; 336: 1-17.
- Mori M, Gotoh T. Regulation of nitric oxide production by arginine metabolic enzymes. *Biochem Biophys Res Commun*. 2000; 275: 715-719.
- Chomczynski P, Sacchi N. Single-step method of RNA isolation by acid guanidinium thiocyanate-phenol-chloroform extraction. *Anal Biochem*. 1987; 162: 156-159.
- Nagasaki A, Gotoh T, Takeya M, et al. Conduction of nitric oxide synthase, argininosuccinate synthetase, and argininosuccinate lyase in lipopolysaccharide-treated rats. RNA blot, immunoblot, and immunohistochemical analyses. *J Biol Chem*. 1996; 271: 2658-2662.

- 10 Yu Y, Terada K, Nagasaki A, et al. Preparation of recombinant argininosuccinate synthetase and argininosuccinate lyase; expression of the enzymes in rat tissues. *J Biochem.* 1995, 117: 952-957.
- 11 Nabi IR, Matherws AP, Cohen-Gould L, et al. Immortalization of polarized rat retinal pigment epithelium. *J Cell Sci.* 1993, 104: 37-49.
- 12 Zech JC, Pouvreau I, Cotinet A, et al. Effect of cytokines and nitric oxide on tight junctions in cultured rat retinal pigment epithelium. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 1998, 39: 1600-1608.
- 13 Becquet F, Courtois Y, Goureau O. Nitric oxide decreases in vitro phagocytosis of photoreceptor outer segments by bovine retinal pigmented epithelial cells. *J Cell Physiol.* 1994, 159: 256-262.
- 14 Zhang WY, Takiguchi M, Koshiyama Y, et al. Expression of citrulline-nitric oxide cycle in lipopolysaccharide and cytokine-stimulated rat astrogloma C6 cells. *Brain Res.* 1999, 849: 78-84.
- 15 Cetkovic-Cvrlje M, Sandler S, Eizirik DL. Nicotinamide and dexamethasone inhibit interleukin-1-induced nitric oxide production by RINm5F cells without decreasing messenger ribonucleic acid expression for nitric oxide synthase. *Endocrinology.* 1993, 133: 1739-1743.
- 16 Kunz D, Walker G, Pfeilschifter J. Dexamethasone differentially affects interleukin 1 $\beta$ - and cyclic AMP- induced nitric oxide synthase mRNA expression in renal mesangial cells. *Biochem J.* 1994, 304: 337-340.
- 17 Konari K, Sawada N, Zhong Y, et al. Development of the blood-retinal barrier in vitro; formation of tight junctions as revealed by occludin and ZO-1 correlates with the barrier function of chick retinal pigment epithelial cells. *Exp Eye Res.* 1995, 61: 99-108.

(收稿日期:2003-09-01)

(本文编辑:朱敏)

## 读者·作者·编者

### 警惕非法医学期刊的招摇撞骗

2004 年 11 月 19 日出版的《中国新闻出版报》公布了新闻出版总署、全国“扫黄”“打非”工作小组办公室第二次宣布取缔的 60 种非法报刊名单,加上 2004 年 7 月 13 日公布的首批取缔的 30 种利用境外刊号从事非法出版的期刊,被取缔的非法报刊已达 90 种。

非法报刊主要有以下几类:(1)利用境外注册刊号在境内非法出版、印刷、发行。包括未经批准使用境外刊号在境内非法出版、印刷和发行的报刊;假冒、盗用境外注册刊号在境内非法出版、印刷、发行的报刊;非国家指定出版物进口经营单位进口或没有合法进口手续的境外报刊;取得工商广告登记,但未经新闻出版行政部门批准,利用境外刊号在境内以广告宣传品、印刷品名义变相出版的报刊等。(2)假冒国内正式报刊名义进行非法出版。这类非法报刊有的是以“增刊”、“合订本”、“专刊”、“周刊”的名义出现的,有的是偷梁换柱,将正规报刊的内容换成非法组织采写的稿件或非法征集的文章,并盗用原正规报刊的名义非法出版。(3)公开出版属于内部交流的连续性内部资料性出版物。

非法报刊常常打着“某某研究会主办”、“某某学会主办”的旗号虚张声势,招摇撞骗,大肆收取版面费或广告费聚敛钱财。这些非法出版活动不仅破坏了出版管理制度,扰乱了出版物市场秩序,而且误导和欺骗社会公众,侵犯了广大读者的利益。

在 90 种被取缔的非法报刊中,医学期刊占了 11 种,其中 8 种是打着“中华”的牌子招摇撞骗。“中华牌”杂志是我国医学界广大读者对中华医学会主办的以“中华”字样命名的系列杂志的简称,这个杂志系列不仅是我国医药卫生工作者公认的著名品牌,而且被国家期刊管理部门誉为我国科技期刊的一面旗帜。中华医学会自 1915 年建会之初创办《中华医学杂志》,迄今拥有以“中华”字样命名的杂志 69 种。读者要辨别以“中华”字样命名的杂志是否为中华医学会主办,可以与中华医学会杂志社办公室取得联系,联系电话:010-65221454;也可以登陆中华医学会的网站(<http://www.cma.org.cn>)或中华医学网(<http://www.mol.org.cn>)查询。

下面列出 11 种非法医学刊物的刊名、连续出版物号、主办或出版单位名称,提请广大读者注意。

1. 中华现代医药,ISSN 1681-5572,CN 98-0072/HK,中华临床医药学会主办
2. 中华医学教育与实践,ISSN 1726-1899,CN(HK) 39-7818/R,世界医药出版社、世界科学教育出版社主办
3. 中华医学教学与临床,ISSN 1608-6716,CN 19-2216/HK,世界中医药学会等主办
4. 中华现代全科医学杂志,ISSN 1680-6344 CN 29-3227/R,世界医药出版社主办
5. 中华现代临床医药杂志,ISSN 1606-4666,CN 01-4097/R,国际健康科学研究会、中华国际经济文化交流协会主办
6. 中华医药研究与创新,ISSN 1680-9343,CN 31-3927/R,世界医药出版社、世界中医药学会等主办
7. 中国医药保健,ISSN 1810-363X,中国医药保健产业国际交流协会主办
8. 中国医药,ISSN 1608-3776,《中国医药》杂志社主办
9. 世界医学论坛,ISSN 1726-295X,中国环球国际集团有限公司主办
10. 中华医学论坛,ISSN 1684-8977,CN 42-0125/R,香港中华新闻出版集团有限公司出版
11. 美国中华护理,ISSN 1543-1479,美国中华护理杂志编辑部出版