

mGM-CSF/ β hCG 融合蛋白的制备及其致敏树突状细胞疫苗 抗小鼠 RM-1 前列腺癌的作用

曹荣月^{1*}, 常娜¹, 李曼曼¹, 王云康¹, 吴迪¹, 时宝莹¹, 袁玉婷¹, 龙军^{2**}

(¹中国药科大学微基因药理学实验室, 南京 210009; ²南京中医药大学食品药毒理学教研室, 南京 210023)

摘要 利用分子生物学方法设计并构建含有 β hCG 基因和 mGM-CSF 基因的表达载体 pET-28a-mGM-CSF-X₁₀- β hCGCTP37 质粒。乳糖诱导表达该融合蛋白, 通过硫酸铵分级沉淀和阴离子交换柱 DEAE-cellulose 进行纯化, 并以此融合蛋白致敏从 C57BL/6J 小鼠体内提取的树突状细胞 (DC) 从而获得 DC 疫苗。将 DC 疫苗回输至接种前列腺癌 RM-1 的 C57BL/6J 小鼠体内, 分组检测。结果显示, DC 组和 DC 与紫杉醇 (Pac) 联用 (DP) 组与 Pac 组相比抗肿瘤效果具有极显著性差异 ($P < 0.01$); 且 DP 组的抗肿瘤效果优于 DC 组。可见构建的新型 DC 疫苗可抑制前列腺癌的生长, 且与紫杉醇联合使用具有协同抗肿瘤作用。

关键词 β hCG; mGM-CSF; 抗肿瘤; 前列腺癌; 融合蛋白; 免疫治疗; 树突状细胞

中图分类号 Q78; R965 **文献标志码** A **文章编号** 1000-5048(2015)01-0111-06

doi:10.11665/j.issn.1000-5048.20150117

Preparation of mGM-CSF/ β hCG fusion protein and the effect of its sensitized DC vaccine on RM-1 prostate tumor in mice

CAO Rongyue^{1*}, CHANG Na¹, LI Manman¹, WANG Yunkang¹, WU Di¹, SHI Baoying¹, YUAN Yuting¹, LONG Jun^{2**}

¹Laboratory of Minigene Pharmacy, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009;

²Department of Food and Drug Toxicology, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210023, China

Abstract An expression vector pET-28a-mGM-CSF-X₁₀- β hCGCTP37 plasmid containing the β hCG and mGM-CSF gene was designed and constructed. The fusion protein was induced by lactose and purified by ammonium sulfate precipitation and DEAE-cellulose anion exchange column. Then dendritic cells (DC) in C57BL/6J mice were extracted and sensitized by the fusion protein to obtain DC vaccine. The DC vaccine was inoculated to C57BL/6J mice with prostate cancer RM-1. The results indicated that the anti-tumor effects of DC group and DC combined with paclitaxel (DP) group were superior to that of paclitaxel (Pac) group ($P < 0.01$), and the anti-tumor effect of DP group was better than that of DC group. Thus, the constructed DC vaccine can inhibit the growth of prostate cancer, and have synergistic anti-tumor when used with paclitaxel.

Key words β hCG; mGM-CSF; antitumor; prostate cancer; fusion protein; immunotherapy; dendritic cells

This study was supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 81373232 and 81172973); the Priority Academic Program Development of Jiangsu Higher Education Institutions; and the National Training Programs of Innovation and Entrepreneurship for Undergraduates (No. J1030830)

前列腺癌是最常见的恶性肿瘤之一^[1], 在我国的发病率也呈上升趋势。近年来, 免疫治疗作为

一种通过激活机体免疫系统来特异性清除肿瘤细胞的新方法正逐步应用到前列腺癌的治疗中。

* 收稿日期 2014-09-15 通信作者 * Tel: 025-83271242 E-mail: caorongyue@nanjing126.com

** Tel: 13851850016 E-mail: long_ydp@aliyun.com

基金项目 国家自然科学基金资助项目 (No. 81172973, 81373232); 江苏高校优势学科建设工程资助项目; 国家大学生创新创业训练计划资助项目 (No. J1030830)

2010年4月, Dendreon公司开发的基于树突状细胞的前列腺癌疫苗 Sipuleucel-T(商品名 Provenge)获美国FDA批准^[2]。该疫苗以前列腺磷酸酶(PAP)和粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子(GM-CSF)融合蛋白致敏自体抗原递呈细胞(APC),用于治疗雄性激素难治性的转移性前列腺癌,可以使病人生存期延长大约4.1个月^[3]。但是每个疗程需花费9.3万美元,费用高昂。本实验依据 Sipuleucel-T的设计原理,将人绒毛膜促性腺激素(human chorionic gonadotropin, hCG)抗原表位替代 PAP 同 GM-CSF 重组,构建一种新型的融合蛋白来致敏树突状细胞(dendritic cell, DC)获取相应疫苗,期望其能够降低成本,并具有相应的抑瘤效果。

hCG在肿瘤细胞表面的异位表达是肿瘤细胞的特征性标志之一。正常情况下人组织细胞不表达或仅表达极微量的hCG,但肿瘤一旦形成就会表达异位hCG(ectopic hCG, ehCG)^[4],且分化程度越低的肿瘤表达越高,恶性程度也越高^[5]。hCG有 α 、 β 两个亚基,其中 β hCG与肿瘤的转移、免疫耐受等特性关系密切,在肿瘤细胞中有特异性表达,可诱导特异性的免疫应答,避免交叉反应的发生。裸鼠试验证明,抗hCG抗体可有效抑制肿瘤细胞的增殖^[6]。如今 β hCG疫苗已有生产^[7]。

鼠源GM-CSF(mGM-CSF)可以诱导髓样细胞分化为DC,并促进DC的增殖和成熟,同时mGM-CSF可通过诱导粒细胞、单核细胞以及NK细胞的抗体依赖的细胞毒作用(ADCC)^[8],促进Th1型细胞因子的分泌来发挥抗肿瘤作用。此外,GM-CSF具有很多免疫调节性能,在增强体内外抗原免疫应答时有很好记录能力^[9],临床上常用来辅助化疗或作为免疫治疗的佐剂。

DC是目前公认的最强的专职抗原递呈细胞,在抗肿瘤免疫反应中起着至关重要的作用^[10],且负载抗原的成熟DC对抑制肿瘤生长起着关键的作用^[11]。然而,在肿瘤患者体内,DC往往是未成熟的,而且数量稀少,因此如何获得大量成熟的DC,成为肿瘤免疫治疗的突破点。

由于肿瘤细胞的免疫原性差,肿瘤疫苗诱导抗肿瘤免疫的期望值很低^[12]。本实验利用分子克隆技术构建了融合蛋白,以期结合了mGM-CSF的融合蛋白能促使APC具有较高的装载和处理抗原的能力,从而提高机体对肿瘤细胞的免疫应答,达到

识别和杀灭肿瘤细胞的目的。

1 材料

1.1 菌种和质粒

载体pET-28a-X₁₀- β hCGCTP37、菌种*Escherichia coli* BL21(DE3)、pET-28a-mGM-CSF和pET-28a-X₁₀- β hCGCTP37质粒均为中国药科大学微基因药理学实验室保存。

1.2 试剂

引物(上海捷瑞生物工程有限公司);限制性内切酶Nco I、EcoR I、DNA连接酶(Fermentas公司);质粒抽提试剂盒、PCR胶回收试剂盒、兔抗鼠mGM-CSF单抗(上海生工生物技术有限公司);DAB显色试剂盒(北京鼎国昌盛生物技术有限公司);ELISA测定试剂盒(南京奥青生物技术有限公司);兔抗人 β hCG单克隆抗体(北京博奥森生物技术有限公司);羊抗兔二抗(武汉博士德生物工程有限公司);胎牛血清(杭州四季青工程研究所产品);RPMI-1640(美国Gibco公司);紫杉醇(批号1304262,北京华素制药股份有限公司)。

1.3 动物和细胞株

RM-1前列腺癌细胞由微基因药理学实验室保存,清洁级C57BL/6J雄性小鼠(5周龄)购自扬州大学SCXK(苏)2012-0004。

2 方法

2.1 mGM-CSF/ β hCG融合蛋白表达载体的构建

2.1.1 mGM-CSF DNA的获得 根据GenBank NM_009969.4中mGM-CSF的序列信息设计特异性,利用引物设计软件Oligo分别设计一对引物P1和P2: P1: 5'-CATGCCATGGCACCCACCCGCTCACCCATCAC-3'; P2: 5'-GGAATTCGCCACCAGTCGGATCTTTTGGCTTGTTT-3'。上游引物P1中引入Nco I酶切位点,下游引物P2中引入DPTGG连接肽序列和EcoR I酶切位点。采用PCR技术,从pET-28a-mGM-CSF质粒中克隆得到mGM-CSF的DNA。扩增条件为94℃预变性5 min;94℃变性30 s,58℃退火30 s,72℃延伸30 s,共35个循环;72℃延伸10 min。

2.1.2 重组表达载体的构建与鉴定 将“2.1.1”项中获得的mGM-CSF DNA和pET-28a-X₁₀- β hCGCTP37载体质粒分别经Nco I、EcoR I双酶

切,纯化后加 DNA 连接酶 4 ℃ 连接过夜,将过夜产物转化至 *E. coli* BL21 感受态细胞,抽提质粒,PCR 方法方法进行验证,并进行核酸序列由上海生工生物科技有限公司测定。

2.2 融合蛋白的诱导表达

将鉴定成功的重组菌培养 4 h 后,加入乳糖(终浓度 5 mmol/L)进行诱导,37 ℃ 继续培养,每小时取样 2 mL,测 A_{600} ,共检测 8 h,离心收取菌体沉淀,进行 12% SDS-PAGE 分析,观察目的蛋白条带位置和表达量,确定最佳诱导时间。

2.3 融合蛋白的分离纯化

大规模培养重组菌,在融合蛋白表达量达最大值时离心收集菌体,超声裂解菌体,离心收集上清液,弃沉淀。加入硫酸铵粉末进行粗提,每一级饱和度各取上清液和沉淀制备样品,进行 12% SDS-PAGE 电泳检测。对含目的蛋白组分最多的一级蛋白沉淀过阴离子交换柱 DEAE-cellulose 做进一步纯化,用浓度梯度为 0 ~ 1 mol/L NaCl 色谱缓冲液梯度洗脱,收集洗脱峰,检测合并含目的蛋白组分,对蒸馏水充分透析后冻干保存。

2.4 融合蛋白的 Western-blot 鉴定

分别用兔抗人 β hCG 单克隆抗体和兔抗鼠 mGM-CSF 单克隆抗体对融合蛋白进行 Western-blot 鉴定分析。

2.5 DC 疫苗的制备

参考 Inaba 等^[13]的方法,提取 6 周龄雄性 C57BL/6J 小鼠股骨和胫骨髓中的 DC,调整细胞数为每毫升 5×10^6 个,分装于细胞瓶中,置于 37 ℃、5% CO₂ 细胞培养箱中培养。12 h 后除去未贴壁细胞,加入 RPMI-1640 完全培养,隔日半量换液。在培养第 5 天加入已纯化的 mGM-CSF/ β hCG 融合蛋白,以 10 μ g/mL 的质量浓度致敏 DC,继续培养 16 h 后收集细胞,用无菌生理盐水调整细胞数为每毫升 5×10^6 个细胞,即得 DC 疫苗。

2.6 DC 疫苗对小鼠 RM-1 前列腺癌的免疫治疗

2.6.1 分组 将皮下接种 RM-1 细胞(5×10^5 个细胞,100 μ L)的 C57BL/6J 小鼠随机分为 5 组,每组 10 只,分别为 PBS 组、融合蛋白组(Pro)、紫杉醇组(Pac)、DC 疫苗组(DC)和 DC 疫苗 + 紫杉醇组(DP)。

2.6.2 免疫 实验期间共免疫 3 次,分别于接种后的第 3、10、17 天免疫。PBS 组皮下注射 PBS 溶

液 100 μ L;Pro 组注射融合蛋白疫苗(融合蛋白用无菌生理盐水配成 2 mg/mL 的溶液,等体积混合弗氏不完全佐剂)100 μ L;紫杉醇组以 15 mg/kg 剂量给药;DC 组注射 DC 疫苗(含 5×10^5 个细胞)100 μ L;DP 组同时注射等量 DC 疫苗和紫杉醇。待瘤块长到可触程度开始测量肿瘤大小,每隔 3 天测量 1 次,计算肿瘤体积 = 长 \times 宽 \times 宽 \times 0.5。最后 1 次免疫后 3 d 将各组小鼠处死,剥取肿瘤,拍照并称重,计算各组抑瘤率(IR)。IR = (对照组平均瘤重 - 实验组平均瘤重)/对照组平均瘤重 \times 100%。将数据进行统计和绘图。

2.6.3 细胞因子检测 完成免疫后第 3 天,处死各组小鼠。无菌条件下解剖小鼠,腹腔取脾,研磨获取脾细胞,用 RPMI-1640 完全培养调整细胞数为每毫升 5×10^5 个。加入 96 孔的细胞培养板中,每孔 100 μ L。每组 T 淋巴细胞分别加入空白培养基、100 μ g/mL RM-1 肿瘤抗原、5 μ g/mL ConA。每个样品重复 3 次。培养 72 h 后,收集上清液,用 ELISA 试剂盒测定 IFN- γ 、IL-10 细胞因子的含量。

3 结果

3.1 mGM-CSF 与重组表达载体的鉴定

琼脂糖凝胶电泳显示,mGM-CSF 基因 PCR 产物在 500 bp 附近出现较亮的核酸条带(图 1-A),与 mGM-CSF 基因片段大小(403 bp)一致。重组质粒进行 PCR。结果(图 1-B)显示,mGM-CSF 基因片段正确插入到 pET-28a-X₁₀- β hCGCTP37 质粒中。

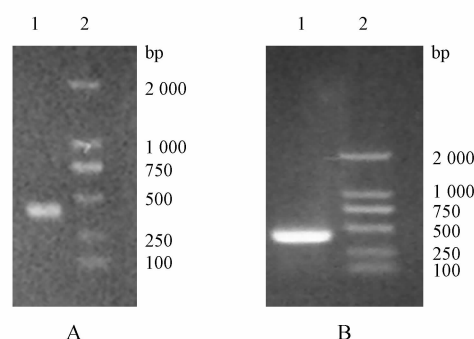


Figure 1 1.5% Agarose gel electrophoresis analysis of PCR product mGM-CSF from pET-28a-mGM-CSF (A) and PET-28a-mGM-CSF-X₁₀- β hCGCTP37 (B)

Lane 1: PCR product mGM-CSF; Lane 2: DNA marker

3.2 mGM-CSF/ β hCG 融合蛋白的诱导表达

乳糖诱导表达融合蛋白,经 12% SDS-PAGE 分析,在 40 kD 附近出现目的蛋白条带,与预测相对

分子质量(33 kD)相符;且在诱导3 h时表达量最高,通过 Bandscan 软件分析融合蛋白的表达量可达菌体总蛋白量的47.7%(图2)。

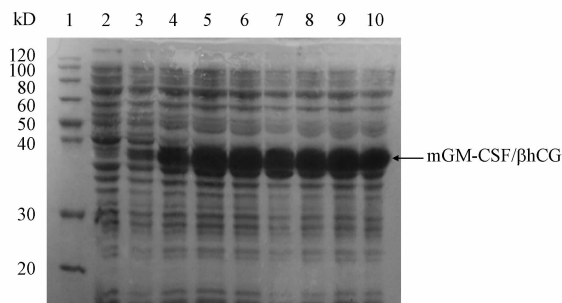


Figure 2 12% SDS-PAGE analysis of bacteria induced curve

Lane 1: Protein marker; Lane 2: Total cell proteins of the reorganized strains before induction; Lane 3-10: Total cell proteins of the reorganized strains collected at 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 h after induction, respectively

3.3 融合蛋白的分离纯化

经乳糖诱导3 h后,收集菌体并超声破碎,离心后对上清液和沉淀取样,12% SDS-PAGE 分析发现目的蛋白存在于菌体裂解液上清液中为可溶性表达。采用硫酸铵分级沉淀法进行蛋白的初步分离,每一级饱和度各取上清液和沉淀制备样品,进行 SDS-PAGE 电泳检测,结果显示目的蛋白主要在硫酸铵溶液20%~25%饱和度时集中沉淀(图3)。

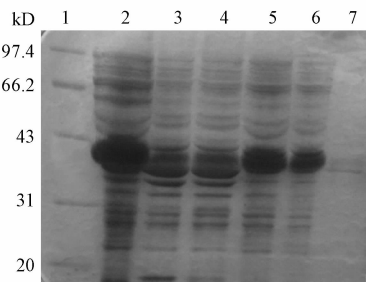


Figure 3 12% SDS-PAGE analysis of mGM-CSF/βhCG fusion protein purified by sedimentation of saturation ammonium sulfate

Lane 1: Protein marker; Lane 2: Supernate of bacterium spallation after centrifugation; Lane 3: Precipitate of bacterium spallation after centrifugation; Lane 4-7: Protein precipitated by 0%-10%, 10%-20%, 20%-25%, and 25%-30% saturation of ammonium sulfate, respectively

应用离子交换色谱对蛋白沉淀复溶物进行进一步纯化。洗脱时色谱液中 NaCl 浓度达到100 mmol/L时,目的蛋白被洗脱(图4),将含目的蛋白组分最多的洗脱样品除盐、冻干、复溶后 SDS-PAGE 检测其纯度,可近似达到电泳纯,软件分析显示目的蛋白纯度可达到85%(图5)。

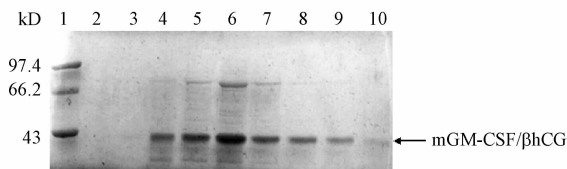


Figure 4 12% SDS-PAGE analysis of mGM-CSF/βhCG fusion protein purified by exchange chromatography

Lane 1: Protein marker; Lane 2-10: Protein eluted by NaCl in the density of 80, 90, 100, 110, 120, 130, 140, 150, 160 mmol/L, respectively

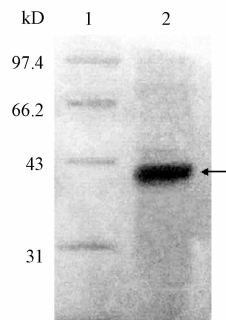


Figure 5 12% SDS-PAGE analysis of the target protein purification
Lane 1: Protein marker; Lane 2: Purified target protein powder redissolved under reduced condition

3.4 融合蛋白的 Western-blot 鉴定

融合蛋白冻干粉用色谱缓冲液复溶,先进行 SDS-PAGE 电泳,再分别用兔抗鼠 mGM-CSF 单抗和兔抗人 βhCG 单抗对融合蛋白进行 Western-blot 分析,DAB 显色。实验结果显示,融合蛋白能够分别与 βhCG 单抗和 mGM-CSF 单抗结合并在38 kD附近显示棕色条带,说明融合蛋白可特异性识别 mGM-CSF 单抗和 βhCG 单抗(图6)。

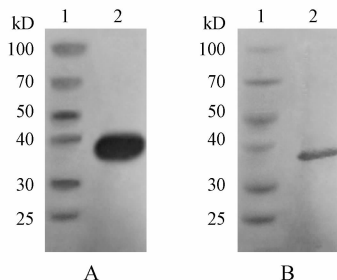


Figure 6 Western-blot analysis of the mGM-CSF/βhCG fusion protein by rabbit anti human βhCG monoclonal antibody (A); and rabbit anti mice mGM-CSF monoclonal antibody (B)

Lane 1: Protein marker; Lane 2: Fusion protein powder dissolved under reduced condition

3.5 成熟 DC 的制备

提取 C57BL/6J 6 周龄雄性小鼠 DC,在培养第5天加入已纯化 mGM-CSF/βhCG 融合蛋白以

10 μg/mL 的质量浓度致敏 DC, 继续培养 16 h 后收集细胞。显微镜下观察细胞状态可以发现: DC 致敏前细胞呈圆形, 致敏后普遍呈树突状 (图 7), 为典型的成熟 DC 的形态, 由此可判断融合蛋白致敏后所得细胞为成熟 DC。

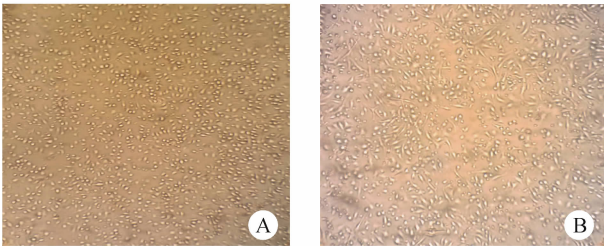


Figure 7 Morphology of DC under a microscope (×100)
A: DC before sensitization; B: Sensitized DC

3.6 DC 疫苗对肿瘤生长的影响

最后 1 次免疫后 3 d 将各组小鼠处死, 剥取肿瘤拍照 (图 8-A) 称重, 比较各组抑瘤率 (IR) 的差异。同 PBS 组相比, Pro、Pac、DC 和 DP 组的抑瘤率 (%) 分别为 19, 30, 48 和 68, 可见 DP 组抑制肿瘤生长的效果最好。肿瘤拍照显示 DP 组的肿瘤最小, 紫杉醇组的存活率最高。

将各组的平均瘤重作纵坐标作图 (图 8-B), 差异显著。其中 DC 组和 Pac 组与 DP 组呈极显著性差异 (t 检验, $P < 0.01$), 且 DP 组的平均瘤重小于 DC 组。免疫期间共测瘤 5 次, 绘制肿瘤生长曲线 (图 8-C), 结果显示 DP、DC、Pac、Pro 组的肿瘤体积均小于 PBS 组, 且 DP 组的肿瘤体积最小。以上统计数据均表明该融合蛋白致敏的 DC 疫苗在小鼠体内有一定的抗肿瘤效果, 且将 DC 疫苗同紫杉醇联合作用时具有协同抗肿瘤作用。

3.7 细胞因子检测

使用 ELISA 测定试剂盒测定免疫后 3 d 各组小鼠淋巴细胞经 RM-1 细胞裂解物进行刺激后 IFN-γ、IL-10 细胞因子的含量。图 9 显示, 和 PBS 组对比, DC 组和 Pro 组中 IL-10、IFN-γ 的含量都有显著性提高 (t 检验, $P < 0.05$), 由此表明该融合蛋白致敏的 DC 疫苗回输体内可进一步促进免疫反应中 IFN-γ、IL-10 等细胞因子的分泌, 从而大大增加抗肿瘤的力度。

4 讨论

对提高 DC 疫苗抗肿瘤免疫反应来说, 获得大

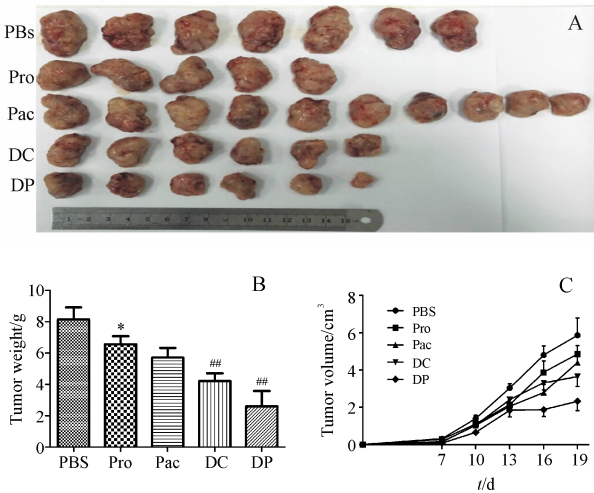


Figure 8 RM-1 prostate tumor growth in mice immunized by phosphate buffered saline (PBS), mGM-CSF/βhCG fusion protein (Pro), paclitaxel (Pac), dendritic cell vaccine (DC) and DC plus paclitaxel (DP), respectively ($\bar{x} \pm s, n = 10$)
A: Tumor tissue; B: Tumor weight; C: Tumor volume
* $P < 0.05$ vs PBS group; ## $P < 0.01$ vs Pac group

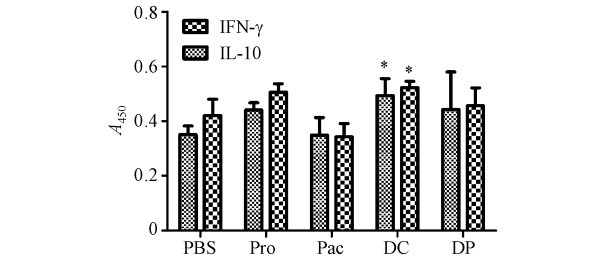


Figure 9 Levels of cytokines of spleen cells from vaccinated mice stimulated by RM-1 tumor cell lysate ($\bar{x} \pm s, n = 6$)
* $P < 0.05$ vs PBS group

量成熟的 DC 和选择合适的成熟刺激剂至关重要。研究表明, DC 体外培养时, 若加入外来刺激可诱导其成熟。mGM-CSF/βhCG 融合蛋白正是作为成熟刺激剂来获得大量成熟 DC。由于 mGM-CSF/βhCG 融合蛋白既具有 βhCG 特异性抗原表位, 使得该免疫治疗具有靶向性, 又将 mGM-CSF 融合在一起, 由此致敏的 DC 疫苗回输体内可进一步促进免疫反应中 IFN-γ、IL-10 等细胞因子的分泌, 使得抗肿瘤的效力大大增加。

正如本实验结果所示, DC 组的肿瘤体积小于紫杉醇组, 且 DP 组的肿瘤体积最小, 由此可见, 该融合蛋白致敏的 DC 疫苗在小鼠体内的抑瘤效果可与阳性药紫杉醇相当。当 DC 疫苗与紫杉醇联合给药时, 具有协同抗肿瘤作用。但是结果中 DC 组和 DP 组的后期存活率比较低, 初步推测该融合

蛋白致敏的 DC 疫苗在体内抗肿瘤的过程中可能存在对机体的伤害,其相关机制有待进一步研究。

参考文献

- [1] Small EJ, Fratesi P, Reese DM, *et al.* Immunotherapy of hormone-refractory prostate cancer with antigen-loaded dendritic cells[J]. *J Clin Oncol*, 2000, **18**(23):3894-3903.
- [2] Abdulla A, Kappoor A. Emerging novel therapies in the treatment of castrate-resistant prostate cancer[J]. *Can Urol Assoc J*, 2011, **5**(2):120-133.
- [3] Sims RB. Development of sipuleucel-T: autologous cellular immunotherapy for the treatment of metastatic castrate resistant prostate cancer[J]. *Vaccine*, 2012, **30**(29):4394-4397.
- [4] Iles RK, Delves PJ, Butler SA. Does hCG or hCG β play a role in cancer cell biology[J]. *Mol Cell Endocrinol*, 2010, **329**(1/2):62-70.
- [5] Cole LA. hCG, five independent molecules[J]. *Clin Chim Acta*, 2012, **413**(1/2):48-65.
- [6] Cole LA. Hyperglycosylated hCG, a review[J]. *Placenta*, 2010, **31**(8):653-664.
- [7] Cole LA, Butler S. Hyperglycosylated hCG, hCG β and hyperglycosylated hCG β ; interchangeable cancer promoters[J]. *Mol Cell*

Endocrinol, 2012, **349**(2):232-238.

- [8] Cheng YC, Valero V, Davis ML, *et al.* Addition of GM-CSF to trastuzumab stabilises disease in trastuzumab-resistant HER2 + metastatic breast cancer patients[J]. *Br J Cancer*, 2010, **103**(9):1331-1334.
- [9] Somani J, Lonial S, Rosenthal H, *et al.* A randomized, placebo-controlled trial of subcutaneous administration of GM-CSF as a vaccine adjuvant: effect on cellular and humoral immune responses[J]. *Vaccine*, 2002, **21**(3/4):221-230.
- [10] Garcia F, Climent N, Assoumou L, *et al.* A therapeutic dendritic cell-based vaccine for HIV-1 infection[J]. *J Infect Dis*, 2011, **203**(4):473-478.
- [11] Skalova K, Mollova K, Michalek J. Human myeloid dendritic cells for cancer therapy: does maturation matter[J]? *Vaccine*, 2010, **28**(32):5153-5160.
- [12] Yin W, He Q, Hu Z, *et al.* A novel therapeutic vaccine of GM-CSF/TNF α surface-modified RM-1 cells against the orthotopic prostatic cancer[J]. *Vaccine*, 2010, **28**(31):4937-4944.
- [13] Inaba K, Inaba M, Romani N, *et al.* Generation of large numbers of dendritic cells from mouse bone marrow cultures supplemented with granulocyte/macrophage colony-stimulating factor[J]. *J Exp Med*, 1992, **176**(6):1693-1702.

· 征订启事 ·

欢迎订阅 2015 年《中国药科大学学报》

《中国药科大学学报》是由国家教育部主管、中国药科大学主办的药学中文核心期刊,主要刊登合成药物化学、天然药物化学、生药学、中药学、药剂学、药物分析、药物生物技术、药理学、药代动力学等学科的原创新研究论著。

《中国药科大学学报》在药学界享有较高的学术声誉,目前已被国际上多家著名权威数据库(CA, IPA, SCOPUS, JST, IC, EMBASE/Excerpta Medica, CAS)等所收录,被国内权威数据库:《中文核心期刊要目总览》、中国科技论文统计源数据库、中国科学引文数据库等列为药学类核心期刊,屡获国家新闻出版总署、教育部、科技部等各种优秀期刊奖。

2008 年,《中国药科大学学报》被评为中国精品科技期刊,2006、2008、2010 年连续 3 次被教育部评为中国高校精品科技期刊。据中国知网,中国学术期刊(光盘版)电子杂志社《中国学术期刊影响因子年报(2010 版)》公布的最新数据,《中国药科大学学报》复合影响因子为 1.171,位居中国药学期刊第 4 位。学术影响力极高,在高等院校、科研机构、制药企业、医院等单位拥有众多读者。

本刊为双月刊,128 页。国际标准开本,国内外公开发行。欢迎到当地邮局订阅,漏订者可直接与编辑部联系。

国内刊号:CN 32-1157/R

ISSN:1000-5048

国内邮发代号:28-115

定价:30 元/期,全年 180 元

地址:南京童家巷 24 号

邮政编码:210009

电话:025-83271566

传真:025-83271279

E-mail:xuebao@cpu.edu.cn

http://www.zgykdxxb.cn