

SDF-1/CXCR4轴在肝脏干细胞移植中的应用

高福来, 韩明子, 金世柱, 胡宗晶

■背景资料

慢性重症肝病的治疗一直是全球性的难题, 骨髓干细胞(BMSCs)具有多种分化潜能, 在一定条件下, 可分化为有功能的肝细胞。但是目前诱导BMSCs向肝细胞分化的各种方法的分化率均较低, 还不能满意地应用于临床。以往本课题组实验研究表明, SDF-1能促进骨髓单个核细胞向肝脏迁移并分化为肝细胞。本综述探讨了SDF-1及其受体在肝脏干细胞移植中的作用, 及其可能的作用机制, 有望在肝病治疗方面取得突破。

■同行评议者

倪润洲, 教授, 南通大学附属医院消化内科; 仇毓东, 副教授, 南京大学医学院附属鼓楼医院肝胆外科

高福来, 韩明子, 胡宗晶, 哈尔滨医科大学附属二院消化内科, 黑龙江省哈尔滨市 150086

金世柱, 吉林大学第一医院胃肠内科, 吉林省长春市 130021
作者贡献分布: 本文由高福来撰写; 文章构思由韩明子完成; 金世柱与胡宗晶对文章进行审校。

通讯作者: 韩明子, 主任医师, 教授, 硕士生导师, 150086, 黑龙江哈尔滨市南岗区学府路246号, 哈尔滨医科大学附属二院消化内科. hanmingzi@medical.com.cn

电话: 0451-55969203

收稿日期: 2009-05-13 修回日期: 2009-06-24

接受日期: 2009-06-29 在线出版日期: 2009-08-28

Stromal cell-derived factor-1/CXC chemokine receptor-4 axis and hepatic stem cell transplantation

Fu-Lai Gao, Ming-Zi Han, Shi-Zhu Jin, Zong-Jing Hu

Fu-Lai Gao, Ming-Zi Han, Zong-Jing Hu, Department of Gastroenterology, the Second Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Harbin 150086, Heilongjiang Province, China

Shi-Zhu Jin, Department of Gastroenterology, the First Hospital of Jilin University, Changchun 130021, Jilin Province, China

Correspondence to: Professor Ming-Zi Han, Department of Gastroenterology, the Second Affiliated Hospital of Harbin Medical University, 246 Xuefu Road, Nangang District, Harbin 150086, Heilongjiang Province, China. hanmingzi@medical.com.cn

Received: 2009-05-13 Revised: 2009-06-24

Accepted: 2009-06-29 Published online: 2009-08-28

Abstract

The stromal cell-derived factor-1 (SDF-1)/CXC chemokine receptor-4 (CXCR4) axis consists of SDF-1 and its receptor CXCR4. In recent years, more and more studies suggest that the SDF-1/CXCR4 axis plays an important role in tissue repair after injury. In this review, we will focus on the biological characteristics of the SDF-1/CXCR4 axis and its relationship with hepatic stem cell transplantation.

Key Words: Stromal cell-derived factor-1; Stem cell; SDF-1/CXCR4 axis; Biological characteristics

Gao FL, Han MZ, Jin SZ, Hu ZJ. Stromal cell-derived factor-1/CXC chemokine receptor-4 axis and hepatic stem cell transplantation. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2009; 17(24): 2474-2477

摘要

基质细胞衍生因子-1(stromal cell-derived factor-1, SDF-1)及其受体CXCR4构成SDF-1/CXCR4轴体系统。近年来随着该领域科研的不断深入, 越来越多的研究发现SDF-1/CXCR4轴体系统在组织损伤及修复中起着重要的作用。本文主要对SDF-1/CXCR4轴体系统的生物学特性及其在肝脏干细胞移植中的作用进行综述。

关键词: 基质细胞衍生因子; 干细胞; SDF-1/CXCR4轴体系统; 生物学特性

高福来, 韩明子, 金世柱, 胡宗晶. SDF-1/CXCR4轴在肝脏干细胞移植中的应用. *世界华人消化杂志* 2009; 17(24): 2474-2477

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/17/2474.asp>

0 引言

基质细胞衍生因子-1(stromal cell-derived factor-1, SDF-1)主要由骨髓基质细胞和不成熟的成骨细胞分泌, 是一种对免疫细胞有趋化作用且相对分子质量较小的趋化因子蛋白。根据其氨基酸序列N端2个半胱氨酸被1个其他氨基酸隔开, 将其归为趋化因子CXC亚组, 系统命名CXCL12(CXC chemokine ligand-12), 他有2个异构体SDF-1 α 和SDF-1 β , 均来源于SDF-1基因的选择性片断并具备相似的生物学活性^[1]。Tashiro *et al*^[2]在1993年用信号序列追踪技术发现了骨髓基质细胞分泌SDF-1, 随后Nagasawa *et al*^[3]在PA6系小鼠骨髓基质细胞分泌的细胞因子中也发现了SDF-1, 由于SDF-1在前B细胞增生分化中发挥着重要作用, 故也被称为前B细胞生长刺激因子(Pre-B-cell growth stimulating factor, PBSF)。SDF-1基因位于10号染色体长臂, 其cDNA长1776 bp, 其非编码区富含A+T序列, 编码区仅含有1个核苷酸开放阅读框, 编码含有89个氨基酸碱基的多肽^[4]。

1 SDF-1/CXCR4轴体系统

SDF-1唯一的特异性受体是CXCR4, CXCR4

(CD184)是由352个氨基酸组成的保守的7次跨膜G蛋白偶联受体超家族的成员,他广泛表达在包括单核细胞、淋巴细胞及所有CD34⁺细胞表面,他与SDF-1之间有很高的亲和力和结合特异性,因此构成SDF-1/CXCR4生物轴,参与细胞间信息传递及细胞迁移,发挥多种生物学作用.表达CXCR4的骨髓干细胞能够沿着SDF-1的浓度梯度而定向迁移,在组织或器官损伤时,SDF-1能促进骨髓干细胞、炎症细胞募集到损伤部位,他既是调节组织或器官修复的关键细胞因子^[5],也是一个调节局部炎症的重要趋化因子^[6].因此,SDF-1在组织损伤中的修复中发挥着重要作用.近来研究证实^[7-11].SDF-1/CXCR4在肝损伤的修复中起重要作用.本文主要对SDF-1-CXCR4轴在肝脏干细胞移植中的应用作一综述.

2 SDF-1/CXCR4轴与肝损伤修复

成人肝细胞在正常时处于有丝分裂静止期,但是在肝损伤时却有较强的再生能力,当肝脏有慢性或者广泛损伤或者肝细胞增殖受到抑制时,肝脏干细胞-肝脏椭圆细胞(hepatic oval cell, HOCs)和造血干细胞(hematopoietic stem cells, HSCs)可参与损伤肝脏的修复^[12].在肝损伤时,SDF-1和基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinases, MMPs)能促进肝细胞动员;肝细胞生长因子(hepatocyte growth factor, HGF)通过增加人祖细胞的活力并协同干细胞因子(stem cell factor, SCF)促进SDF-1诱导的定向迁移^[13].Mavrier *et al*^[9]在2-乙酰氨基苄(2-acetylaminofluorene, AAF)处理后进行部分肝切除制成肝细胞再生动物模型发现,门静脉周围HOCs数目逐渐增加.在新形成的肝小管结构中,HOCs胞质大量表达SDF-1蛋白,在使用可结合并抑制SDF-1生物学作用的墨角藻聚糖后,大多数小鼠门静脉周围的HOCs数目明显减少,说明SDF-1与诱导HOCs参与损伤肝脏修复有关.干细胞通过自分泌或旁分泌途径,促进修复细胞迁移到损伤肝脏.最近对肝损伤动物模型的研究表明,SDF-1/CXCR4对调节骨髓干细胞进入损伤肝细胞起主要作用^[14].Jung *et al*^[15]将同种骨髓干细胞移植到CCl₄诱导的小鼠肝损伤模型内,观察发现移植后模型鼠的肝脾肿大及肝坏死均得到改善,肝酶降低,植入的骨髓干细胞特异地迁移到受损肝细胞,流式细胞计数仪及免疫组织化学法检测发现损伤肝组织内CXCR4和SDF-1的表达增加,从而验证了SDF-1/CXCR4的相互作用对移植的

干细胞定位到肝组织起到了关键作用,移植的骨髓干细胞在损伤肝组织中正性调节SDF-1的表达^[16].孙立影 *et al*^[17]研究证实SDF-1可以促进骨髓单个核细胞向肝脏迁移,并且迁移到肝脏的骨髓单个核细胞可以向干细胞分化.

2.1 SDF-1/CXCR4轴的信号传导途径 现已证实SDF-1-CXCR4轴调节CXCR4⁺造血干/祖细胞(hematopoietic stem and progenitor cells, HSPCs)^[1],SDF-1与CXCR4结合激活CXCR4受体偶联的G蛋白;激活下游信号途径主要包括:(1)磷酸肌醇-3激酶(phosphoinositide 3-kinase, PI3K)/蛋白激酶C(protein kinase C, PKC)/核因子-κB(nuclear factor-kappaB, NF-κB)途径;(2)p42/44促丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-associated protein kinase, MAPK)/EIk-1途径;(3)黏着斑激酶(focal adhesion kinase, FAK)、桩蛋白(paxillin)、富脯氨酸激酶-2(proline-rich kinase-2, Pyk-2)、p130Cas等;(4)Janus激酶(Janus kinase, JAK)/转录信号传导子与激活子(signal transducer and activator of transcription, STATs)途径;(5)酪氨酸磷酸酶 I (tyrosine phosphatase 1, SHP1)和SHP2^[18].

SDF-1-CXCR4轴的趋化作用的是通过几个互补的信号通路相互作用而不是激活某个单一的信号通路而实现的^[19].如SDF-1介导HSPCs的迁移与PI3K/PKC激活有关,而JAK2途径参与PI3K的激活和多种黏附斑蛋白酪氨酸磷酸化^[20-21].一系列黏附斑成分蛋白、细胞骨架蛋白的激活和肌动蛋白的聚合共同介导了HSPCs的迁移.

2.2 损伤部位SDF-1表达 急性肝损伤后,相关的损伤部位SDF-1的分泌会增加,组织损伤时产生许多因素调节SDF-1的表达,包括各种炎症介质、细胞外基质的变化和机械力量的改变,而组织缺血、缺氧往往总是伴随着组织损伤.缺氧诱导因子-1(hypoxia-inducible factor-1, HIF-1)是细胞缺氧反应的重要调节因子^[1].Ceradini *et al*^[22]发现,SDF-1的启动子中包含有2个HIF-1的连接位点,HIF-1连接这些位点后SDF-1的表达增加4倍.因为SDF-1对CXCR4⁺的肝卵圆细胞内皮细胞具有强大的趋化作用,吸引其参与组织的修复和重建^[23],这就意味着SDF-1是出生后组织修复的重要维持因子.

2.3 损伤部位CXCR4⁺干细胞的募集 组织损伤后修复和重建被认为与选择性募集组织中或者循环中的干细胞数量有关^[24],骨髓中存在着各种CXCR⁺的组织定向干细胞,他们的迁移受

■研发前沿

SDF-1能促进骨髓单个核细胞向肝脏迁移并分化为肝细胞,有望在肝病治疗方面取得突破.

■相关报道

Jung *et al*将同种骨髓干细胞移植到CCl₄诱导的小鼠肝损伤模型内,观察发现SDF-1/CXCR4的相互作用对移植的干细胞定位到肝组织起到了关键作用;孙立影 *et al*研究证实SDF-1可以促进骨髓单个核细胞向肝脏迁移,并且迁移到肝脏的骨髓单个核细胞可以向干细胞分化.

■创新盘点

本文主要对SDF-1/CXCR4轴体系统的生物学特性及在肝脏干细胞移植中的作用进行综述。在一定层面上阐释SDF-1/CXCR4轴体系统在肝损伤修复中可能的作用机制。

SDF-1、HGF等依赖的方式调控,在器官或组织损伤时,在SDF-1-CXCR4轴的作用下进入外周血,趋化迁移到损伤部位,参与组织的再生^[25]。

2.4 SDF-1/CXCR4轴与干细胞黏附 已知SDF-1可以通过激活在靶细胞表面的不同黏附分子调节细胞的黏附纤维蛋白原、粘连蛋白、基质和细胞^[26], Majka *et al*^[27]研究发现, SDF-1也激活巨核细胞表面 α II b/ β 3, 整合素(CD41), 使募集的干细胞黏附在损伤部位的内皮上。近来有人提出黏附分子可能也会引发信号加强CXCR4的表达和功能。激活CXCR4⁺细胞表面的L-选择素(L-selectin), CXCR4的表达和转导的信号得到上调, 据此推断出CXCR4和黏附分子相互作用可能是双向调节。CXCR4发出的信号调节细胞表面黏附分子的功能, 反过来某些黏附分子的激活可以加强CXCR4的信号或表达^[28]。

3 结论

现在随着对SDF-1-CXCR4轴系统研究的不断深入, SDF-1日趋成为研究的热点。本课题组用SDF-1诱导骨髓单个核细胞向肝脏细胞转化治疗肝损伤的小鼠模型研究, 已取得初步成效, 小鼠的转氨酶明显降低, 这更进一步证实SDF-1-CXCR4在肝脏干细胞移植中的重要作用。我们认为, 随着对SDF-1-CXCR4的研究的日趋成熟, 将来SDF-1会广泛的应用于临床, 并且有着广阔的前景。总之, 在生理或病理情况下, SDF-1-CXCR4轴与其他的许多信号转导通路相互交联, 共同有效的和特异的维持机体的平衡。在组织损伤时, SDF-1/CXCR4轴体系统在组织的损伤后修复起着重要的作用, 随着对SDF-1/CXCR4轴体研究的不断深入, 我们相信在不久的将来, SDF-1会更多的应用于临床, 挽救更多的肝病患者。

4 参考文献

- 1 江龙, 朱亚琴. SDF-1-CXCR4轴与组织损伤后修复. 上海交通大学学报(医学版) 2008; 11: 1467-1470
- 2 Tashiro K, Tada H, Heilker R, Shirozu M, Nakano T, Honjo T. Signal sequence trap: a cloning strategy for secreted proteins and type I membrane proteins. *Science* 1993; 261: 600-603
- 3 Nagasawa T, Kikutani H, Kishimoto T. Molecular cloning and structure of a pre-B-cell growth-stimulating factor. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1994; 91: 2305-2309
- 4 庞伟, 李玉明. 基质细胞衍生因子-1及其受体CXCR4对造血干细胞调控的研究进展. 武警医学院学报 2009; 11: 78-81
- 5 Kucia M, Ratajczak J, Reza R, Janowska-Wieczorek A, Ratajczak MZ. Tissue-specific muscle, neural

and liver stem/progenitor cells reside in the bone marrow, respond to an SDF-1 gradient and are mobilized into peripheral blood during stress and tissue injury. *Blood Cells Mol Dis* 2004; 32: 52-57

- 6 Nanki T, Lipsky PE. Cutting edge: stromal cell-derived factor-1 is a costimulator for CD4⁺ T cell activation. *J Immunol* 2000; 164: 5010-5014
- 7 Tang YL, Qian K, Zhang YC, Shen L, Phillips MI. Mobilizing of haematopoietic stem cells to ischemic myocardium by plasmid mediated stromal-cell-derived factor-1alpha (SDF-1alpha) treatment. *Regul Pept* 2005; 125: 1-8
- 8 Wojakowski W, Tendera M, Michałowska A, Majka M, Kucia M, Maślankiewicz K, Wyderka R, Ochała A, Ratajczak MZ. Mobilization of CD34/CXCR4⁺, CD34/CD117⁺, c-met⁺ stem cells, and mononuclear cells expressing early cardiac, muscle, and endothelial markers into peripheral blood in patients with acute myocardial infarction. *Circulation* 2004; 110: 3213-3220
- 9 Mavrier P, Martin N, Couchie D, Préaux AM, Laperche Y, Zafrani ES. Expression of stromal cell-derived factor-1 and of its receptor CXCR4 in liver regeneration from oval cells in rat. *Am J Pathol* 2004; 165: 1969-1977
- 10 Tögel F, Isaac J, Hu Z, Weiss K, Westenfelder C. Renal SDF-1 signals mobilization and homing of CXCR4-positive cells to the kidney after ischemic injury. *Kidney Int* 2005; 67: 1772-1784
- 11 Hill WD, Hess DC, Martin-Studdard A, Carothers JJ, Zheng J, Hale D, Maeda M, Fagan SC, Carroll JE, Conway SJ. SDF-1 (CXCL12) is upregulated in the ischemic penumbra following stroke: association with bone marrow cell homing to injury. *J Neuropathol Exp Neurol* 2004; 63: 84-96
- 12 Dalakas E, Newsome PN, Harrison DJ, Plevris JN. Hematopoietic stem cell trafficking in liver injury. *FASEB J* 2005; 19: 1225-1231
- 13 冯帅南, 黄宏. 基质细胞衍生因子-1/CXCR4轴的特性及其在损伤修复中的作用. 创伤外科杂志 2008; 10: 471-473
- 14 Armbrust T, Batusic D, Xia L, Ramadori G. Early gene expression of hepatocyte growth factor in mononuclear phagocytes of rat liver after administration of carbon tetrachloride. *Liver* 2002; 22: 486-494
- 15 Jung YJ, Ryu KH, Cho SJ, Woo SY, Seoh JY, Chun CH, Yoo K, Moon IH, Han HS. Syngenic bone marrow cells restore hepatic function in carbon tetrachloride-induced mouse liver injury. *Stem Cells Dev* 2006; 15: 687-695
- 16 金世柱, 孟祥伟, 韩明子. 促肝脏干细胞归巢的研究进展. 胃肠病学和肝病学杂志 2009; 18: 316-318
- 17 孙立影, 韩明子, 金世柱, 耿莹, 祁金锋, 穆丽雅. 基质细胞衍生因子1对骨髓单个核细胞向肝脏迁移分化的影响. 胃肠病学和肝病学杂志 2008; 17: 632-634
- 18 Kucia M, Reza R, Miekus K, Wanzeck J, Wojakowski W, Janowska-Wieczorek A, Ratajczak J, Ratajczak MZ. Trafficking of normal stem cells and metastasis of cancer stem cells involve similar mechanisms: pivotal role of the SDF-1-CXCR4 axis. *Stem Cells* 2005; 23: 879-894
- 19 Roland J, Murphy BJ, Ahr B, Robert-Hebmann V, Delauzun V, Nye KE, Devaux C, Biard-Piechaczyk M. Role of the intracellular domains of CXCR4 in SDF-1-mediated signaling. *Blood* 2003; 101: 399-406
- 20 Wang JF, Park IW, Groopman JE. Stromal cell-derived factor-1alpha stimulates tyrosine

■应用要点

本研究总结并探讨了SDF-1及其受体在肝脏干细胞移植中的作用, 及其作用的可能机制, 有望将这一理论应用于临床。

- phosphorylation of multiple focal adhesion proteins and induces migration of hematopoietic progenitor cells: roles of phosphoinositide-3 kinase and protein kinase C. *Blood* 2000; 95: 2505-2513
- 21 Zhang XF, Wang JF, Matczak E, Proper JA, Groopman JE. Janus kinase 2 is involved in stromal cell-derived factor-1 α -induced tyrosine phosphorylation of focal adhesion proteins and migration of hematopoietic progenitor cells. *Blood* 2001; 97: 3342-3348
- 22 Ceradini DJ, Kulkarni AR, Callaghan MJ, Tepper OM, Bastidas N, Kleinman ME, Capla JM, Galiano RD, Levine JP, Gurtner GC. Progenitor cell trafficking is regulated by hypoxic gradients through HIF-1 induction of SDF-1. *Nat Med* 2004; 10: 858-864
- 23 Kucia M, Ratajczak J, Ratajczak MZ. Are bone marrow stem cells plastic or heterogenous--that is the question. *Exp Hematol* 2005; 33: 613-623
- 24 Kollet O, Shvitiel S, Chen YQ, Suriawinata J, Thung SN, Dabeva MD, Kahn J, Spiegel A, Dar A, Samira S, Goichberg P, Kalinkovich A, Arenzana-Seisdedos F, Nagler A, Hardan I, Revel M, Shafritz DA, Lapidot T. HGF, SDF-1, and MMP-9 are involved in stress-induced human CD34⁺ stem cell recruitment to the liver. *J Clin Invest* 2003; 112: 160-169
- 25 Kucia M, Wojakowski W, Reza R, Machalinski B, Gozdzik J, Majka M, Baran J, Ratajczak J, Ratajczak MZ. The migration of bone marrow-derived non-hematopoietic tissue-committed stem cells is regulated in an SDF-1-, HGF-, and LIF-dependent manner. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz)* 2006; 54: 121-135
- 26 Yamaguchi J, Kusano KF, Masuo O, Kawamoto A, Silver M, Murasawa S, Bosch-Marce M, Masuda H, Losordo DW, Isner JM, Asahara T. Stromal cell-derived factor-1 effects on ex vivo expanded endothelial progenitor cell recruitment for ischemic neovascularization. *Circulation* 2003; 107: 1322-1328
- 27 Majka M, Janowska-Wieczorek A, Ratajczak J, Kowalska MA, Vaire G, Pan ZK, Honczarenko M, Marquez LA, Poncz M, Ratajczak MZ. Stromal-derived factor 1 and thrombopoietin regulate distinct aspects of human megakaryopoiesis. *Blood* 2000; 96: 4142-4151
- 28 Ding Z, Issekutz TB, Downey GP, Waddell TK. L-selectin stimulation enhances functional expression of surface CXCR4 in lymphocytes: implications for cellular activation during adhesion and migration. *Blood* 2003; 101: 4245-4252

■同行评价

本文对研究肝脏干细胞的发生、分化具有很重要的价值, 对未来细胞移植治疗肝脏疾病提供了很好的思路, 具有很好的学术价值。

编辑 李军亮 电编 何基才

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2009年版权归世界华人消化杂志

• 消息 •

《世界华人消化杂志》正文要求

本刊讯 本刊正文标题层次为 0 引言; 1 材料和方法, 1.1 材料, 1.2 方法; 2 结果; 3 讨论; 4 参考文献。序号一律左顶格写, 后空 1 格写标题; 2 级标题后空 1 格接正文。以下逐条陈述: (1) 引言 应包括该研究的目的和该研究与其他相关研究的关系。(2) 材料和方法 应尽量简短, 但应让其他有经验的研究者能够重复该实验。对新的方法应该详细描述, 以前发表过的方法引用参考文献即可, 有关文献中或试剂手册中的方法的改进仅描述改进之处即可。(3) 结果 实验结果应合理采用图表和文字表示, 在结果中应避免讨论。(4) 讨论 要简明, 应集中对所得的结果做出解释而不是重复叙述, 也不应是大量文献的回顾。图表的数量要精选。表应有表序和表题, 并有足够具有自明性的信息, 使读者不查阅正文即可理解该表的内容。表内每一栏均应有表头, 表内非公知通用缩写应在表注中说明, 表格一律使用三线表(不用竖线), 在正文中该出现的地方应注出。图应有图序、图题和图注, 以使其容易被读者理解, 所有的图应在正文中该出现的地方注出。同一个主题内容的彩色图、黑白图、线条图, 统一用一个注解分别叙述。如: 图 1 萎缩性胃炎治疗前后病理变化。A: …; B: …; C: …; D: …; E: …; F: …; G: …。曲线图可按 ●、○、■、□、▲、△ 顺序使用标准的符号。统计学显著性用: ^a $P < 0.05$, ^b $P < 0.01$ ($P > 0.05$ 不注)。如同一表中另有一套 P 值, 则 ¹ $P < 0.05$, ² $P < 0.01$; 第 3 套为 ³ $P < 0.05$, ⁴ $P < 0.01$ 。 P 值后注明何种检验及其具体数字, 如 $P < 0.01$, $t = 4.56$ vs 对照组等, 注在表的左下方。表内采用阿拉伯数字, 共同的计量单位符号应注在表的右上方, 表内个位数、小数点、±、- 应上下对齐。“空白”表示无此项或未测, “-”代表阴性未发现, 不能用同左、同上等。表图勿与正文内容重复。表图的标目尽量用 t/min , $c/(\text{mol/L})$, p/kPa , V/mL , $t/^\circ\text{C}$ 表达。黑白图请附黑白照片, 并拷入光盘内; 彩色图请提供冲洗的彩色照片, 请不要提供计算机打印的照片。彩色图片大小 $7.5\text{ cm} \times 4.5\text{ cm}$, 必须使用双面胶条黏贴在正文内, 不能使用浆糊黏贴。(5) 致谢 后加冒号, 排在讨论后及参考文献前, 左齐。(科学编辑: 李军亮 2009-08-28)