

## 骨髓间充质干细胞与骨髓瘤细胞共培养时 EphB4/ephrinB2 表达异常

王欢<sup>1</sup>, 李皎<sup>1</sup>, 朱彦<sup>1</sup>, 陆化<sup>2</sup>, 童珊珊<sup>3</sup>, 余先球<sup>1</sup>, 王丽霞<sup>1</sup>, 汤郁<sup>1</sup>, 费小明<sup>1\*</sup>

(<sup>1</sup> 江苏大学附属医院血液科, 江苏 镇江 212001; <sup>2</sup> 南京医科大学第一附属医院血液科, 江苏 南京 210029; <sup>3</sup> 江苏大学药学院, 江苏 镇江 212001)

**[摘要]** 目的: 研究正常骨髓间充质干细胞(mesenchymal stem cell, MSC)在与骨髓瘤细胞株 U266、RPMI8226 共培养过程中, 骨髓瘤细胞对 MSC EphB4/ephrinB2 表达的影响。方法: 应用 Transwell 培养体系, 将正常骨髓 MSC 分别与骨髓瘤细胞株 U266、RPMI8226 细胞共培养 7、12 d 后分别应用实时定量 RT-PCR 和细胞免疫化学方法检测骨髓 MSC 的 EphB4/ephrinB2 mRNA 和蛋白表达水平。结果: 骨髓 MSC 与 U266、RPMI8226 共培养后, 与对照组 MSC 相比, 生长和形态未见明显改变, 应用实时定量 RT-PCR 方法检测骨髓 MSC EphB4/ephrinB2 的 mRNA 水平较对照组均降低, 在共培养 7 d 的时间点上除 EphB4 在 RPMI8226 共培养组与对照组差异无统计学意义, 其余组间差异均有统计学意义( $P < 0.05$ ), 在 12 d 上差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。细胞免疫化学结果显示共培养组 MSC 胞膜胞浆 EphB4/ephrinB2 表达下降。结论: 骨髓瘤细胞株 U266、RPMI8226 在与正常骨髓 MSC 共培养后, 诱导骨髓 MSC EphB4/ephrinB2 表达的下调, 可能通过 MSC 成骨-破骨活动的脱耦合, 参与骨髓瘤骨病的发生。

**[关键词]** 骨髓瘤骨病; 间充质干细胞; EphB4; ephrinB2

**[中图分类号]** Q786, R738.1

**[文献标识码]** A

**[文章编号]** 1007-4368(2012)02-177-06

### The EphB4/ephrinB2 axis is dysregulated in bone marrow derived mesenchymal stem cells (MSCs) after communication with myeloma cell lines

WANG Huan<sup>1</sup>, LI Jiao<sup>1</sup>, ZHU Yan<sup>1</sup>, LU Hua<sup>2</sup>, TONG Shan-shan<sup>3</sup>, YU Xian-qiu<sup>1</sup>, WANG Li-xia<sup>1</sup>, TANG Yu<sup>1</sup>, FEI Xiao-ming<sup>1\*</sup>

(<sup>1</sup>Department of Hematology, the Affiliated Hospital of Jiangsu University, Zhenjiang 212001; <sup>2</sup>Department of Hematology, the First Affiliated Hospital of NJMU, Nanjing 210029; <sup>3</sup>The Pharmaceutical College of Jiangsu University, Zhenjiang 212001, China)

**[Abstract]** **Objective:** To investigate the expression changes of EphB4/ephrinB2 in normal bone marrow derived mesenchymal stem cells (MSCs) co-cultured with myeloma cell lines U266 or RPMI8226. **Methods:** Bone marrow MSCs from normal subjects were co-cultured with U266 or RPMI8226 by transwell for 7 days to 12 days. The mRNA expression levels of EphB4/ephrinB2 in MSCs were detected by real time quantitative PCR (RT-PCR) at point times and the protein levels of EphB4/ephrinB2 were analyzed by immunocytochemistry. **Results:** No evident morphologic and proliferative alterations could be observed in MSCs after co-culture with U266 or RPMI8226. The mean mRNA expression levels of EphB4/ephrinB2 were down-regulated in MSCs after co-culture with U266 or RPMI8226 as compared with controls. There was a significant difference on the point time of the 7th day' point ( $P < 0.05$ ) except EphB4 of MSCs co-cultured with RPMI8226 and no significant difference on the 12 day' point ( $P > 0.05$ ) between co-cultured MSCs and the controls. The protein levels of EphB4/ephrinB2 were also reduced in co-cultured MSCs. **Conclusion:** The communication between bone marrow MSCs and myeloma cells induced dysregulation of EphB4/ephrinB2, which may contribute to uncoupling of bone remodeling in myeloma bone disease.

**[Key words]** myeloma bone disease; mesenchymal stem cells; EphB4; ephrinB2

[Acta Univ Med Nanjing, 2012, 32(2): 177-182]

**[基金项目]** 江苏省自然科学基金(BK2008236); 镇江市社会发展项目(SH2010030, SH2011021)

\*通讯作者, E-mail: cattlemouse@sohu.com

多发性骨髓瘤(multiple myeloma, MM)是一种恶性克隆性浆细胞疾病, 肿瘤本身或其产生的免

疫球蛋白可以引起多器官的功能损害,其中骨髓瘤骨病是 MM 的一个明显症状,包括严重的骨痛、病理性骨折、骨质疏松和高钙血症等。骨髓间充质干细胞(mesenchymal stem cell, MSC)作为骨髓微环境中的重要一员,具有向成骨、脂肪、软骨等多种细胞分化的潜能,还可以吸引 MM 细胞并直接或间接地与 MM 细胞发生相互作用,参与骨髓瘤骨病的发生<sup>[1]</sup>。很多报道证实骨髓瘤骨病的病理机制是破骨活动增强伴成骨活动减弱,即成骨与破骨的脱耦合<sup>[2-3]</sup>。MSC 表达的耦合因子 EphB4 及其配体 ephrinB2 在 MM 细胞的影响下发生了异常改变,不但影响了 MSC 的成骨能力,而且参与破骨细胞破骨活性的调节。本研究中采用 Transwell 方法体外共培养骨髓 MSC 与骨髓瘤细胞株 U266 或 RPMI8226 后,应用实时定量 RT-PCR、细胞免疫化学方法检测 MSC 表面 EphB4、ephrinB2 的表达,探讨两者在骨髓瘤骨病发生、发展中的作用。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

实时定量 PCR 扩增仪 (Mx3000P, Stratagene 公司, 美国), 核酸蛋白检测仪 (Eppendorf 公司, 美国), 光学显微镜 (BX50, Olympus 公司, 日本), 孔径 0.4 μm Transwell 小室 (Millipore 公司, 美国), 6 孔板及培养皿 (Corning 公司, 美国)。低糖 DMEM 及 RPMI1640 培养液 (Hyclone 公司, 美国), 胎牛血清 (FBS) 与胰酶 (Gibco 公司, 美国), 人淋巴细胞分离液 (天津灏洋公司), TRIzol 试剂 (Invitrogen 公司, 美国), 逆转录试剂盒 (Fermentas 公司, 加拿大), SYBR Premix *Ex Taq*<sup>TM</sup>

(TaKaRa 公司, 日本), 鼠抗人 EphB4 抗体 (Invitrogen 公司, 美国), 兔抗人 ephrinB2 抗体 (Santa Cruz 公司, 美国), 正常鼠抗人 IgG 抗体 (Millipore 公司, 美国), DAB 显色试剂盒 (泉晖国际公司, 中国珠海)。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 骨髓 MSC 的分离和培养

骨髓来源于正常志愿者, 采集前均经其书面同意。骨髓先用人淋巴细胞分离液 FicolI 分离骨髓单个核细胞后, 按  $2 \times 10^6$  个/ml 密度接种于含 10% 胎牛血清的低糖 DMEM 中。24 h 后细胞贴壁全换液, 以后每 3~4 d 半量换液, 待细胞生长至 80%~90% 融合, 用 0.25% 胰蛋白酶消化, 按  $2 \times 10^4$  个/ml 传代培养, 收集第 3~5 代细胞用于实验。

#### 1.2.2 实验分组

骨髓 MSC 分为单独培养的对照组、与 U266 非接触的共培养组、与 RPMI8226 非接触的共培养组 ( $n = 9$ )。骨髓 MSC 取传代第 3~5 代的细胞, 经胰酶消化后, 分别按  $2 \times 10^4$  个/ml 和  $1 \times 10^4$  个/ml 的密度接种至 6 孔板中, 贴壁过夜后, 共培养组在小孔上方加入 Transwell 小室, 每个小室内移入  $2.5 \times 10^5$  个 U266 或 RPMI8226 细胞, 对照组 MSC 单独培养, 培养液均为 10% FBS 的 DMEM。各组分别在第 7、12 天经胰酶消化后收集、检测。

#### 1.2.3 实时定量 RT-PCR

引物设计: 参照 GenBank 提供的 EphB4 (NM\_004444.4)、ephrinB2 (NM\_004093.2) mRNA 的完整序列, 用 Primer Premier 5.0 引物设计软件设计 EphB4、ephrinB2、GAPDH 基因上下游引物, 由上海生物工程技术公司合成 (表 1)。

表 1 PCR 检测基因的引物序列  
Table 1 The primer sequences of PCR

引物名称	引物序列(5'→3')	扩增长度(bp)	退火温度(°C)
EphB4	For: TCCTTCCTGCGGCTAAAC	324	61
	Rev: CATCACAATCCCGTAACTCC		
ephrinB2	For: AGACAGTGGTTTGTGGACGAG	200	62
	Rev: CTGGGTAACAGAACGAGTGAGA		
GAPDH	For: TCAACGGATTGCTCGTATTG	136	62
	Rev: TGGGTGGAATCATATTGGAAC		

总 RNA 提取: 按 TRIzol 试剂操作说明提取收集的 MSC 总 RNA, 核酸蛋白仪测定浓度及纯度, 所有用于 RT-PCR 的 RNA 样本的  $D(260 \text{ nm})/D(280 \text{ nm})$  均在 1.8~2.0。

cDNA 合成: 按逆转录试剂盒说明书操作, 65°C 反应 5 min, 42°C 放置 1 h。

实时定量 PCR 反应: 采用 20 μl 反应体系, 包括 2xSYBR Premix *Ex Taq*<sup>TM</sup> 10 μl, cDNA 0.8 μl, 上下游引物各 0.4 μl, ROX Reference Dye II (50x) 0.4 μl, 灭菌 ddH<sub>2</sub>O 8 μl。PCR 循环参数为: 95°C 预变性 30 s, 95°C 30 s, 61°C (EphB4)/62°C (ephrinB2、GAPDH) 30 s, 72°C 30 s, 共 35 个循环, 检测荧光。每个样本重

复测定 3 次。实时定量 PCR 扩增后的 Ct 值分别代入标准曲线方程进行计算,以目的基因/GAPDH 比值代表相应基因的相对表达水平。PCR 产物于 2%琼脂糖凝胶中电泳,凝胶成像仪观察结果。

标准曲线建立:将所合成的 cDNA(单独培养组 MSC)作为标准品,按 4 倍稀释,人为设定最高稀释倍数的标准品的拷贝数为 1,每个样本做 3 管重复,进行上述实时定量 PCR 扩增,同时设立无模板空白对照。

### 1.2.4 细胞免疫化学

制备爬片:裁剪合适于 6 孔板大小的载玻片,经泡酸过夜、清水及蒸馏水冲洗、高压消毒并烘干,置于 6 孔板中。

细胞爬片:骨髓 MSC 与 U266 及 RPMI8226 的共培养方法同 1.2.2 中所述;收集爬片的时间均为单独培养、共培养的第 7 天。

细胞免疫化学:细胞爬片经 4%多聚甲醛室温固定 30 min;PBS 洗涤 2 次,每次 3 min;3% $H_2O_2$  抑制内源性过氧化物,室温 10 min;胎牛血清白蛋白(1:10)孵育,室温 20 min,勿洗,弃液;滴加一抗:鼠抗人 EphB4 抗体(25  $\mu\text{g/ml}$ )、兔抗人 ephrinB2 抗体(10  $\mu\text{g/ml}$ )、正常鼠抗人 IgG 抗体,4 $^{\circ}\text{C}$ 过夜;PBS 洗涤 2 次,每次 3 min;滴加二抗的步骤按照 DAB 试剂盒操作;爬片经苏木素复染、盐酸分化、温水蓝

化、酒精梯度脱水、树胶封片,在光学显微镜下观察并获得图片。

### 1.3 统计学方法

实时定量 RT-PCR 结果以均数  $\pm$  标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示,采用 SPSS17.0 统计软件包处理。组间(各共培养组与相应对照组)比较用 Dunnett- $t$  检验, $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结 果

### 2.1 骨髓 MSC 及 U266、RPMI8226 的形态

体外培养的骨髓 MSC 呈梭形生长,大小较均一,第 1~6 代形态上无明显差异。与 U266、RPMI8226 共培养组的 MSC 与对照组在形态及生长特性上未观察到有明显的差异。U266、RPMI8226 细胞滴片经瑞氏染色后,形态上类似浆细胞。

### 2.2 与骨髓瘤细胞株 U266、RPMI8226 共培养对骨髓 MSC EphB4/ephrinB2 基因表达的影响

根据溶解曲线及电泳结果,EphB4、ephrinB2 的基因扩增产物的溶解曲线呈单一峰(图 1),电泳条带单一清晰且符合目的产物大小(结果未示)。根据标准曲线显示(图 1),EphB4、ephrinB2 的 DNA 拷贝数的对数与 DNA 的 Ct 值存在良好的线性关系, $R^2$  均  $> 0.99$ ,扩增效率均在 100%左右。

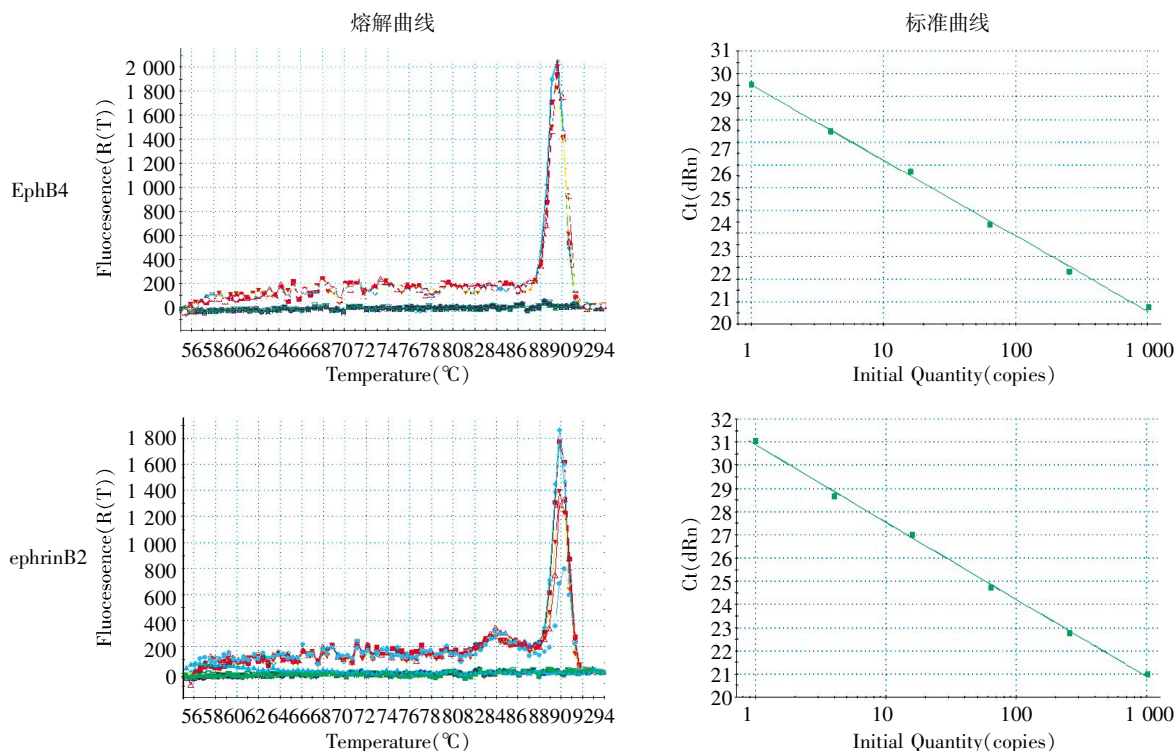


图 1 Real-time PCR 扩增 EphB4 和 ephrinB2 基因产物的溶解曲线及根据标准品所作的标准曲线  
Figure 1 Dissociation curve and standard curve for EphB4 and ephrinB2 in the real-time PCR assay

本实验结果提示骨髓 MSC 在与骨髓瘤细胞株 U266、RPMI8226 共培养后, MSC 的 EphB4、ephrinB2 mRNA 表达量均下调。经 Dunnett-*t* 检验, 7 d 时间点上: 与 U266、RPMI8226 共培养的 2 个组同对照组相比, EphB4、ephrinB2 均表达下降, 除 RPMI8226

共培养组 EphB4 的下降未出现统计学差异外, 其余均有统计学差异 ( $P < 0.05$ , 表 2); 而 12 d 时间点上, EphB4、ephrinB2 在 2 个共培养组与对照组比较, 虽有下调趋势, 但均无统计学差异 ( $P > 0.05$ , 表 2)。

表 2 与 U266、RPMI8226 共培养 7、12 d 前后骨髓 MSC EphB4 和 ephrinB2 的相对拷贝数  
Table 2 Real-time PCR results for EphB4 and ephrinB2 of MSC pre- or post-coculture for 7 days

	7 d			12 d		
	对照组	U266	RPMI8226	对照组	U266	RPMI8226
EphB4	1.39 ± 0.52	0.79 ± 0.21 <sup>△</sup>	1.04 ± 0.39	1.38 ± 0.51	1.05 ± 0.66	0.94 ± 0.71
ephrinB2	4.18 ± 2.11	2.03 ± 1.34 <sup>△</sup>	2.44 ± 1.12 <sup>△</sup>	4.17 ± 2.11	3.52 ± 3.70	3.08 ± 2.58

( $n=9, \bar{x} \pm s$ )  
与相应对照组比较, <sup>△</sup> $P < 0.05$ 。

### 2.3 与骨髓瘤细胞株 U266、RPMI8226 共培养对骨髓 MSC 表达 EphB4/ephrinB2 蛋白的影响

MSC 胞膜或胞浆中表达 EphB4 或 ephrinB2 呈

棕色, 与骨髓瘤细胞株 U266、RPMI8226 共培养后, 骨髓 MSC 胞浆呈淡棕色, 即 EphB4、ephrinB2 表达水平下降(图 2)。

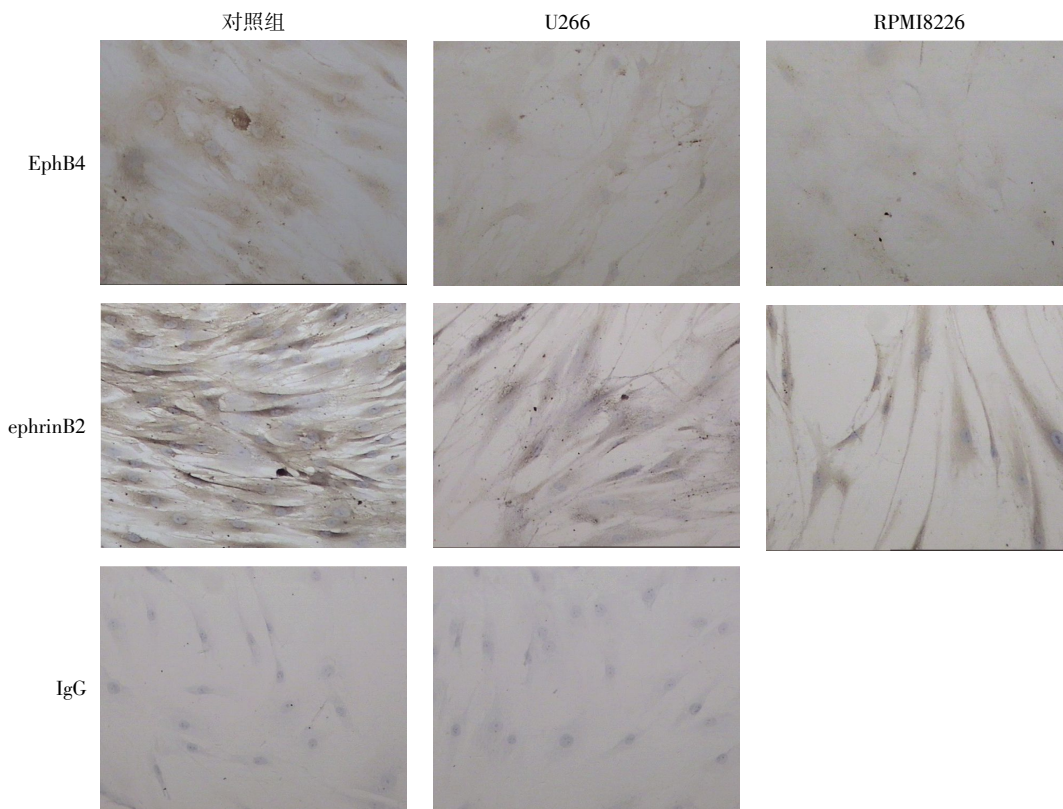


图 2 细胞免疫化学检测 EphB4 和 ephrinB2 在 MSC 的表达( $\times 300$ )

Figure 2 Representative immunocytochemical analysis of the levels of EphB4 and ephrinB2 in MSC( $\times 300$ )

### 3 讨论

近年研究提示, 在骨骼的重塑过程中, 成骨与破骨活动并不是孤立的, 这两者在生理条件下是相互耦合的。即在破骨活动的同时也激活成骨活动, 成骨的过程中也伴有破骨活动, 骨重塑过程是骨吸

收耦合骨形成的过程<sup>[4-5]</sup>, 此过程涉及到耦合因子酪氨酸受体家族成员 EphB4/ephrinB2, EphB4 表达于成骨细胞和 MSC 表面, 其配体 ephrinB2 表达于破骨细胞、成骨细胞和 MSC 表面, 两者以细胞-细胞相互接触的方式发生双向信号转导, 在生理情况下耦合成骨与破骨活动, 控制骨稳态; ephrinB2 激活

EphB4 为正向信号,促进成骨细胞的分化和骨形成; EphB4 激活破骨细胞表面的配体 ephrinB2 为反向信号,抑制破骨细胞前体的分化<sup>[6-7]</sup>。MSC 是骨髓微环境中的一种重要细胞,可以向成骨细胞系定向分化, MSC 异常是成骨细胞生成缺陷的根源<sup>[8]</sup>,在 MM 细胞的影响下,其发生质的异常如骨源性分化能力减弱,或分泌释放抑制成骨、促进破骨的因子,参与骨髓瘤骨病的发生<sup>[8-9]</sup>。

临床上确认的 MM 患者大多数伴有骨髓瘤骨病,这大大降低了患者的生活质量。有研究报道,与健康人相比,MM 患者的 MSC 表达 EphB4 和 ephrinB2 是下调的。在动物实验中发现,将 MM 细胞的培养上清注入 SCID-hu 小鼠体内,小鼠 MSC 低表达 EphB4 和 ephrinB2。用嵌合蛋白 ephrinB2-Fc 和 EphB4-Fc 激活 EphB4/ephrinB2 的双向信号途径,植入 MM 骨组织的小鼠骨密度增加、成骨参数提高, EphB4-Fc 降低了破骨细胞的数量,抑制破骨生成。EphB4/ephrinB2 在 MM 中的失调导致骨形成与骨吸收的脱耦合<sup>[10]</sup>。在本研究非直接接触的共培养实验中发现, MSC 表达 EphB4 的 mRNA 水平及蛋白水平均是降低的,提示 MM 细胞释放某些可溶性因子抑制了 MSC 表面 EphB4 的表达,减少了 ephrinB2 与之作用的几率,不利于 MSC 向成骨细胞分化;同时, MSC EphB4 的下降也减少了与破骨细胞表面 ephrinB2 的作用,势必减弱了对破骨的抑制作用,破骨活性异常增高,从而 EphB4 以脱耦合的方式参与骨髓瘤骨病的发生和进展。

虽然正常人和 MM 患者的 MSC 表面均表达 ephrinB2,但 EphB4 只能和破骨细胞表面的 ephrinB2 作用,抑制破骨细胞的分化,却不能与骨源性细胞表面的 ephrinB2 发生化学作用<sup>[10]</sup>, ephrinB2 本身在 MSC 中的生物学作用尚未阐明<sup>[11]</sup>。本实验发现,与正常 MSC 相比,与 MM 细胞共培养的 MSC 表面和胞浆中 ephrinB2 表达下降,这样也许减少了以自分泌方式与骨源性细胞表面 EphB4 相互作用的机会,使得 MSC 向成骨细胞的分化趋势减弱,有利于骨髓瘤骨病的发生。

骨骼的成骨与破骨是一个动态的过程。MM 出现骨骼病变是由于成骨受抑和破骨活性增强引起的。本实验结果提示, EphB4 和 ephrinB2 mRNA 水平在共培养期间 2 个时间点均是降低的,早期除 EphB4 在 RPMI8226 共培养组的降低未达到统计学差异外,其余均有统计学差异,但后期各共培养组各基因差异均无统计学意义。这也许提示骨髓瘤细

胞对骨骼影响是随时间和病程而变化的,有时是在“骨骼重塑”动态过程中,虽然从总体表现上是骨矿物质的丢失,但有时是以破骨活性增加为主,有时是以成骨活性减弱为主<sup>[12]</sup>。体外培养的 MSC 随时间的变化其增殖潜能等生物学特性会发生改变<sup>[13]</sup>,在 MM 细胞影响下其依然发生着动态变化,此外,骨髓瘤细胞株 RPMI8226 和 U266 在促进血管生成<sup>[14]</sup>、对化疗药物敏感性<sup>[15]</sup>等方面有显著不同,这也许不是不同时间点、不同骨髓瘤细胞株影响下观察到 EphB4/ephrinB2 表达不同的原因。综上所述,本研究提示在 Transwell 培养体系中, MM 细胞能够通过某些可溶性的因子,干扰调节正常 MSC 的 EphB4/ephrinB2 的表达,其结果可能不但减弱 MSC 的成骨能力,而且减少 MSC 对破骨活性的抑制,使成骨与破骨脱耦合,从而参与骨髓瘤骨病的形成。

#### [参考文献]

- [1] Bergfeld SA, DeClerck YA. Bone marrow-derived mesenchymal stem cells and the tumor microenvironment[J]. *Cancer Metastasis Rev*, 2010, 29(2): 249-261
- [2] Edwards CM, Zhuang J, Mundy GR. The pathogenesis of the bone disease of multiple myeloma[J]. *Bone*, 2008, 42(6): 1007-1013
- [3] Yaccoby S. Advances in the understanding of myeloma bone disease and tumour growth[J]. *Br J Haematol*, 2010, 149(3): 311-321
- [4] Martin T, Gooi JH, Sims NA. Molecular mechanisms in coupling of bone formation to resorption [J]. *Crit Rev Eukaryot Gene Expr*, 2009, 19(1): 73-88
- [5] Sims NA, Gooi JH. Bone remodeling: Multiple cellular interactions required for coupling of bone formation and resorption[J]. *Semin Cell Dev Biol*, 2008, 19(5): 444-451
- [6] Edwards CM, Mundy GR. Eph receptors and ephrin signaling pathways: a role in bone homeostasis [J]. *Int J Med Sci*, 2008, 5(5): 263-272
- [7] Zhao C, Irie N, Takada Y, et al. Bidirectional ephrinB2-EphB4 signaling controls bone homeostasis [J]. *Cell Metab*, 2006, 4(2): 111-121
- [8] Garderet L, Mazurier C, Chapel A, et al. Mesenchymal stem cell abnormalities in patients with multiple myeloma [J]. *Leuk Lymphoma*, 2007, 48(10): 2032-2041
- [9] Giuliani N, Mangoni M, Rizzoli V. Osteogenic differentiation of mesenchymal stem cells in multiple myeloma: identification of potential therapeutic targets [J]. *Exp Hematol*, 2009, 37(8): 879-886
- [10] Pennisi A, Ling W, Li X, et al. The ephrinB2/EphB4 axis is dysregulated in osteoprogenitors from myeloma patients



- and its activation affects myeloma bone disease and tumor growth[J]. *Blood*,2009,114(9):1803-1812
- [11] Suenobu S,Takakura N,Inada T,et al. A role of EphB4 receptor and its ligand, ephrin-B2, in erythropoiesis [J]. *Biochem Biophys Res Commun*,2002,293 (3):1124 - 1131
- [12] Giuliani N, Colla S, Morandi F, et al. Myeloma cells block RUNX2/CBFA1 activity in human bone marrow osteoblast progenitors and inhibit osteoblast formation and differentiation[J]. *Blood*,2005,106(7):2472-2483
- [13] Baksh D, Yao R, Tuan RS. Comparison of proliferative and multilineage differentiation potential of human mesenchymal stem cells derived from umbilical cord and bone marrow[J]. *Stem Cells*,2007,25(6):1384-1392
- [14] Shao J, Li Q, Wang H, et al. P-450-dependent epoxide-nase pathway of arachidonic acid is involved in myeloma-induced angiogenesis of endothelial cells[J]. *J Huazhong Univ Sci Technolog Med Sci*,2011,31(5):596-601
- [15] Feng X, Yan J, Wang Y, et al. The proteasome inhibitor bortezomib disrupts tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL) expression and natural killer (NK) cell killing of TRAIL receptor-positive multiple myeloma cells [J]. *Mol Immunol*,2010,47 (14): 2388-2396

[收稿日期] 2011-10-09



## Journal of Biomedical Research (生物医学研究杂志)简介

Journal of Biomedical Research (生物医学研究杂志), 是一本生物医学专业的英语杂志, 全球发行, 目前已经被 Scopus、哥白尼和荷兰文摘等数据库收录, 在中国南京和美国加州戴维斯市设有办事处。本刊是一本综合性期刊, 欢迎多学科尤其是交叉学科的来稿。本刊接受综述(以约稿为主)、论著和病例报道, 不收取版面费, 欢迎广大作者来稿。

地 址: 江苏省南京市汉中路 140 号 2 号楼 352 室

电 话: 025-86862036

邮 箱: jbr@njmu.edu.cn

主 页: <http://www.jbr-pub.org>

投稿网址: <http://mc03.manuscriptcentral.com/jbrint>