



doi:10.7659/j.issn.1005-6947.2014.10.014
http://www.zpwz.net/CN/abstract/abstract4071.shtml

· 基础研究 ·

整合素受体拮抗剂西仑吉肽对大鼠肠纤维化的治疗作用

陶庆松, 陈尧, 王宝偲, 郑宇

(东南大学附属中大医院 普外二科, 江苏 南京 210089)

摘要

目的: 探讨整合素受体拮抗剂西仑吉肽对大鼠肠纤维化的治疗作用。

方法: 将21只SD大鼠随机均分为对照组、模型组、西仑吉肽治疗组,后两组采用三硝基苯磺酸(TNBS)+45%乙醇持续6周逐渐增量灌肠法诱导肠纤维化模型;西仑吉肽治疗组大鼠同时每日腹腔注射西仑吉肽,而其余两组则以同样的方式给予同体积的生理盐水。期间观察各组大鼠的一般情况,记录体质量的变化,6周后收集结肠标本,检测结肠炎症与胶原沉积情况、结肠组织中TGF- β 1水平、以及I型胶原 α 1 mRNA与I型胶原蛋白水平。

结果: 除对照组外,另两组大鼠均出现一般情况不佳与体质量先减后增,但西仑吉肽治疗组大鼠一般情况好于模型组,且后期体质量增幅明显大于模型组($P<0.05$);且两组大鼠结肠均有明显的慢性炎性病变与胶原纤维沉淀,但西仑吉肽治疗组组织病理学评分与胶原纤维含量均明显低于模型组(均 $P<0.05$)。与对照组比较,另两组大鼠结肠组织总TGF- β 1水平与活化型TGF- β 1水平、以及I型胶原 α 1 mRNA与I型胶原蛋白水平均明显增加(均 $P>0.05$),但西仑吉肽治疗组活化型TGF- β 1水平、I型胶原 α 1 mRNA与I型胶原蛋白水平均明显低于模型组(均 $P<0.05$)。

结论: 西仑吉肽能通过拮抗整合素受体抑制TGF- β 1的活化,从而产生抗肠纤维化作用。

[中国普通外科杂志, 2014, 23(10):1379-1384]

关键词

结肠炎; 纤维化; 西仑吉肽; 转化生长因子 β 1
中图分类号: R656.9

Therapeutic effect of integrin receptor antagonist cilengitide on intestinal fibrosis in rats

TAO Qingsong, CHEN Yao, WANG Baochai, ZHENG Yu

(Department of General Surgery, Affiliated Zhongda Hospital, Southeast University, Nanjing 210089, China)

Corresponding author: TAO Qingsong, Email: tqz@seu.edu.cn

ABSTRACT

Objective: To investigate the therapeutic effect of integrin receptor antagonist cilengitide on intestinal fibrosis in rats.

Methods: Twenty-one SD rats were equally randomized into control group, model group and cilengitide treatment group, Intestinal fibrosis model was induced in rats in the latter two groups by continuous

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(81000153); 江苏省自然科学基金资助项目(BK2010415)。

收稿日期: 2014-06-12; 修订日期: 2014-09-18。

作者简介: 陶庆松, 东南大学附属中大医院主治医师, 主要从事炎性肠病外科并发症临床方面的研究。

通信作者: 陶庆松, Email: tqz@seu.edu.cn

intracolonic injection with increasing doses of trinitrobenzene sulfonic acid (TNBS) in 45% ethanol solution for 6 weeks, and rats in cilengitide treatment group simultaneously received daily intraperitoneal injection of cilengitide, while those in the other two groups were given normal saline of the same volume in the same administration manner. During the experimental period, the general conditions were observed and the changes in body weight were recorded in each group of rats. The rat colonic tissue specimens were harvested after 6 weeks, the intestinal inflammation and collagen deposition were examined and the levels of TGF- β 1, collagen type Ia1 mRNA and collagen type I protein in colonic tissues were measured.

Results: Except for control group, rats in the other two groups showed poor general conditions and an initial decrease and subsequent increase in body weight, but the general conditions in rats in cilengitide treatment group were better than those in model group, and the amplitude of later body weight gain in rats in cilengitide treatment group was significantly greater than that in model group ($P < 0.05$); rats in these two groups had evident chronic inflammation and deposition of collagen fibers in the colonic tissues, but the histopathological score and collagen fiber content in cilengitide treatment group were significantly lower than those in model group (both $P < 0.05$). Compared with control group, the colonic levels of total TGF- β 1 and activated TGF- β 1, and levels of collagen type Ia1 mRNA and collagen type I protein were significantly increased in rats in the other two groups, but the levels of activated TGF- β 1, collagen type Ia1 mRNA and collagen type I protein in cilengitide treatment group were significantly lower than those in model group (all $P < 0.05$).

Conclusion: Cilengitide can attenuate intestinal fibrosis through inhibiting TGF- β 1 activation resulting from its integrin receptor antagonizing effect. [Chinese Journal of General Surgery, 2014, 23(10):1379-1384]

KEYWORDS

Colitis; Fibrosis; Cilengitide; Transforming Growth Factor β 1

CLC number: R656.9

肠纤维化是克罗恩病 (Crohn disease, CD) 常见并发症。CD 以肠道透壁性病变为特征, 肠壁各层均发生纤维化而产生肠道纤维性缩窄^[1]。尽管目前有大量针对 CD 的治疗药物, 但大多数药物均不可逆转或改善肠纤维化, 致使大部分患者需要外科手术或者内镜治疗, 但手术及内镜干预治疗后有较高的复发率 (30%~80%) 与再手术率 (30%~60%), 并非最好的治疗手段^[2-3]。肠壁纤维化的特异性靶向治疗有赖于对肠道狭窄机制更好的了解^[4]。转化生长因子 β 1 (transforming growth factor β 1, TGF- β 1) 激活后对 CD 肠纤维化发挥重要作用^[5-6]。西仑吉肽 (cilengitide) 是一个含 RGD (精氨酸-甘氨酸-天冬氨酸) 三肽序列的生物活性环肽, 研究^[7]表明西仑吉肽对整合素受体 $\alpha v \beta 3$ 、 $\alpha v \beta 5$ 具有较高的选择亲和性, 可抑制 TGF- β 1 的激活, 并且可能对慢性结肠炎的纤维化发展具有抑制作用^[8]。目前国内尚无对西仑吉肽在肠纤维化中的作用相关研究。本实验通过构建大鼠肠纤维化模型, 评价西仑吉肽的抗肠纤维化作用, 寻求通过抑制 TGF- β 1 活化以改善 CD 肠纤维化的治疗新思路。

1 材料与方法

1.1 实验动物、试剂及仪器

雌性 SD 大鼠, 体质量 200~220 g, 购自中科院上海实验动物中心。2, 4, 6-三硝基苯磺酸 (TNBS) 购自 Sigma-Aldrich 公司; ELISA 试剂盒 R&D 公司生产; I 型胶原蛋白抗体购自 Santa Cruz 公司。西仑吉肽冻干粉购自上海吉尔生化。

1.2 实验方法

1.2.1 动物分组及处理 将 21 只大鼠随机分为对照组、模型组、西仑吉肽模型治疗组, 每组分别有 7 只大鼠。按文献^[9]描述的 TNBS+45% 乙醇持续 6 周逐渐增量灌肠法制备肠纤维化模型, 每周给予 2 mL 45% 乙醇溶液中 TNBS 量为 60、60、67.5、67.5、75、75 mg/kg。从造模开始, 西仑吉肽治疗组大鼠每天腹腔注射西仑吉肽溶液 (18 mg/kg) 2 mL, 对照组、模型组每天分别予同体积的生理盐水, 持续 6 周至造模结束。

1.2.2 大鼠结肠炎症及胶原纤维沉积评估 观察大鼠精神状态、进食情况、大便性状等, 每天定时称重记录体质量变化。于造模后第 6 周处死大鼠

并取材距肛门 3~10 cm 处结肠, 行 HE 与 Masson 染色分别评估组织炎症和胶原沉积情况。根据文献^[10-11]的评分标准行组织病理评分, 积分越高表明黏膜炎症的严重程度越重。Masson 染色后通过日本奥林帕斯图像采集软件将各颜色波长量化后按比例计算出胶原纤维成分的相对含量^[12]。

1.2.3 ELISA 检测活化型与总 TGF- β 1 水平 未经酸化处理与酸化处理的同一结肠匀浆样本通过 ELISA 试剂盒分别检测活化型 TGF- β 1 与总 TGF- β 1 水平。吸光度校正值通过 450 nm 吸光度值减去 570 nm 背景吸光度值自动获取。考马斯亮蓝染料法读取 595 nm 吸光度值测定总蛋白浓度。样本中 TGF- β 1 相对浓度水平为 TGF- β 1 浓度 / 总蛋白浓度。

1.2.4 real-time PCR 检测 采用 Taqman 探针, 探针 5' 端的荧光基团为 6- 羧基荧光素 FAM, 3' 端的淬灭剂为 6- 羧基 4 甲基吞丹明 TAMRA。引物和探针根据 Primer Express 软件 (美国 Applied Biosystems 公司) 设计。提取的结肠匀浆样品处理做 3 个重复, 每瓶中 RNA 分为 2 份, 1 份用来分析目的基因 I 型胶原 α 1, 另 1 份用来分析管家基因 β -actin。扩增条件为 50 $^{\circ}$ C 2 min, 95 $^{\circ}$ C 10 min, 然后是 45 循环: 95 $^{\circ}$ C 30 s, 60 $^{\circ}$ C 30 s。各样品的目的基因和管家基因分别进行 real time PCR 反应。以标准品梯度的测量结果绘制标准曲线, 以计算各样品所测基因含量, 各样品目的基因的含量除以其管家基因的含量, 即得到样品校正后的基因相对含量。

1.2.5 Western blot 检测 十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶 (SDS-PAGE) 电泳后, 将硝酸纤维素膜及 3 mm 滤纸浸于转移缓冲液中 5 min, 再与凝

胶按顺序置于 Bio-Rad 电转移装置 20 V 稳压转移 1.5 h。取出硝酸纤维素膜加封闭液室温封闭 4 h。弃去封闭液后加入 1:1 000 多抗, 4 $^{\circ}$ C 反应过夜, TBST 缓冲液漂洗 3 次, 每次 15 min。加入羊抗兔 IgG-HRP, 室温作用 2 h, TBST 缓冲液充分漂洗 3 次, 每次 15 min。加入增强化学发光 (ECL) 显色液, 置于柯达活体显像仪中观察结果。相应蛋白表达值为条带的灰度值除以 β -actin 内参。

1.3 统计学处理

采用 SPSS 13.0 统计学软件进行统计分析。计量资料结果采用均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示; 两组间比较采用团体 t 检验或 Wilcoxon 秩和检验; 多组间比较采用单因素方差分析 (ANOVA)。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 各组大鼠一般情况及体质量变化

对照组的大鼠一般情况正常; 模型组第 2 周开始出现活动减少、毛发竖立与不成形稀便, 现象持续出现至第 6 周, 但未见明显加重或减轻趋势; 西仑吉肽治疗组大鼠也存在精神状态不佳与大便性状改变, 但肉眼观情况好于模型组。对照组大鼠体质量持续稳定增长, 模型组大鼠体质量前 2 周呈现下降趋势, 后逐渐增加。模型组的体质量下降平均值最大幅度出现在第 12 天, 为 (11.1 ± 8.1)%, 西仑吉肽治疗组体质量下降平均值最大幅度出现在第 9 天, 为 (9.5 ± 6.3)%, 组间差异无统计学意义 ($P=0.177$); 两组第 6 周时体质量变化平均值分别为增加 (2.3 ± 0.4)% 与 (5.2 ± 1.3)%, 组间差异有统计学意义 ($P=0.014$) (表 1)。

表 1 各组大鼠各项观察指标的比较

Table 1 Comparison of the observed parameters among the three groups of rats

组别	体质量变化 (%)		组织病理 评分	胶原纤维含量 (%)	TGF- β 1		
	下降峰值	升高峰值			活化型 (ng/mg)	总水平 (ng/mg)	活化型比例
对照组	—	14.1 ± 3.2	0	4.7 ± 1.2	10.6 ± 3.5	84.3 ± 25.2	0.13 ± 0.05
模型组	11.1 ± 8.1	$2.3 \pm 0.4^{1)}$	$3.47 \pm 0.79^{1)}$	$21.0 \pm 7.3^{1)}$	$57.1 \pm 14.2^{1)}$	$114.4 \pm 47.3^{1)}$	$0.53 \pm 0.11^{1)}$
西仑吉肽治疗组	9.5 ± 6.3	$5.2 \pm 1.3^{1), 2)}$	$2.12 \pm 0.25^{1), 2)}$	$10.3 \pm 3.2^{1), 2)}$	$23.2 \pm 9.8^{1), 2)}$	$109.1 \pm 43.5^{1)}$	$0.23 \pm 0.08^{1), 2)}$

注: 1) 与对照组比较, $P < 0.05$; 2) 与模型组比较, $P < 0.05$

Note: 1) $P < 0.05$ vs. control group; 2) $P < 0.05$ vs. model group

2.2 结肠组织病理评分

对照组大鼠结肠组织未见病理学改变; 模型组大鼠结肠标本切片在光镜下可见肠道增厚、黏

膜充血, 部分上皮细胞脱落, 局部溃疡灶形成, 部分腺体结构紊乱, 黏膜下层炎症细胞浸润; 西仑吉肽治疗组大鼠结肠同样出现黏膜充血、水肿, 固有

层增厚及炎症细胞浸润等病理改变,但病变程度轻于模型组,溃疡边缘腺体破坏程度较轻,愈合较好。西仑吉肽治疗组组织病理评分明显低于模型组($P=0.023$) (图1) (表1)。

2.3 结肠内胶原纤维 Masson 染色结果

Masson 染色结果显示,与对照组比较,后两组大鼠结肠黏膜下和浆膜层的区域显现出大量胶原纤维沉淀,固有肌层明显增厚(图1)。像素定量分析显示,模型组相对胶原纤维含量为

(21.0 ± 7.3)%,西仑吉肽治疗组为(10.3 ± 3.2)%,两组间差异有统计学意义($P=0.003$) (表1)。

2.4 各组大鼠结肠内 TGF- β 1 水平

与对照组比较,模型组与西仑吉肽治疗组结肠组织匀浆中总 TGF- β 1 水平与活化型 TGF- β 1 水平均明显升高(均 $P<0.05$),后两组总 TGF- β 1 水平差异无统计学意义($P=0.451$),但西仑吉肽治疗组活化型 TGF- β 1 水平及比例均明显低于模型组(均 $P<0.05$) (表1)。

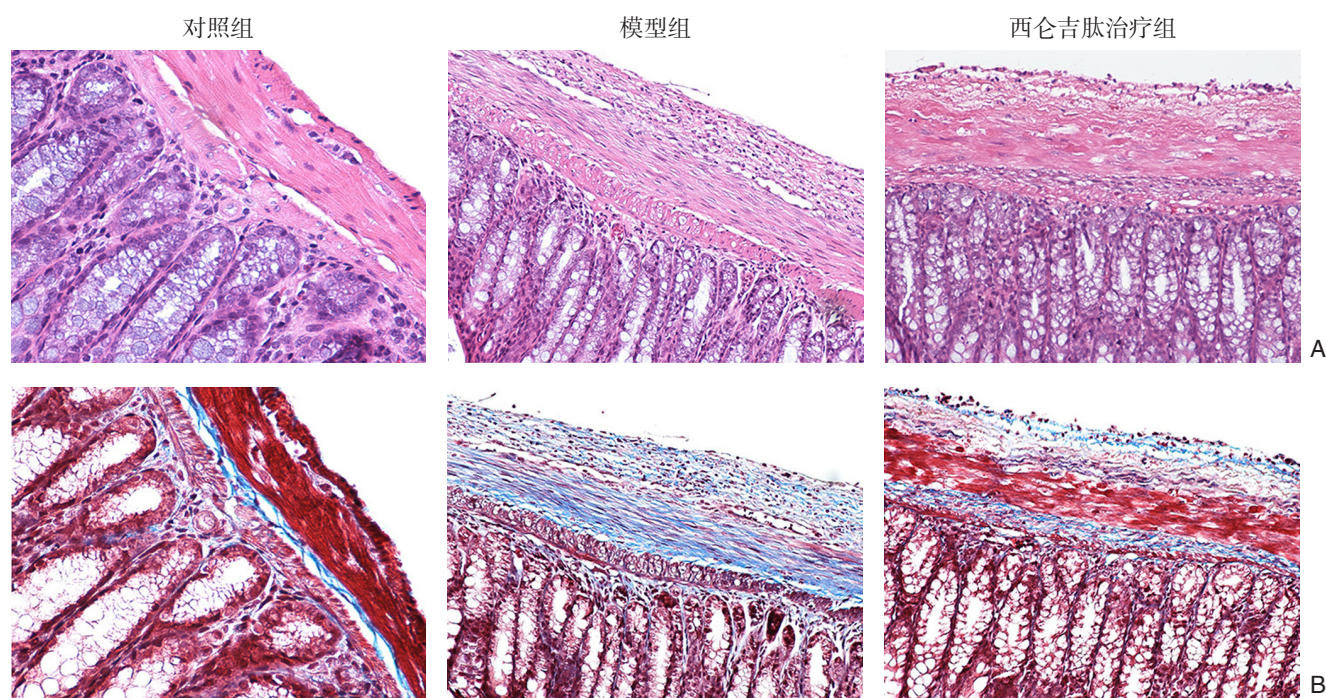


图1 各组大鼠结肠组织标本切片观察($\times 200$) A: HE 染色; B: Masson 染色

Figure 1 Examination of the colonic tissue sections from each group of rats ($\times 200$) A: H&E staining; B: Masson staining

2.5 各组大鼠结肠内 I 型胶原 α 1 mRNA 与 I 型胶原蛋白水平

结肠内 I 型胶原 α 1 mRNA 与 I 型胶原蛋白表达水平在模型组与西仑吉肽治疗组均较对照组明显增加(均 $P<0.05$),但西仑吉肽治疗组两者水平均明显低于模型组(均 $P<0.05$) (图2-3)。

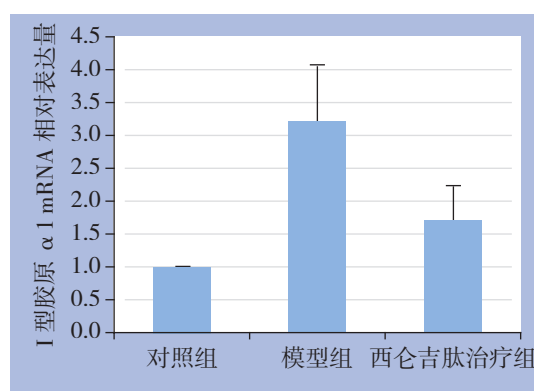


图2 各组 I 型胶原 α 1 mRNA 相对表达量

Figure 2 Relative expression levels of collagen type Ia1 mRNA in each group

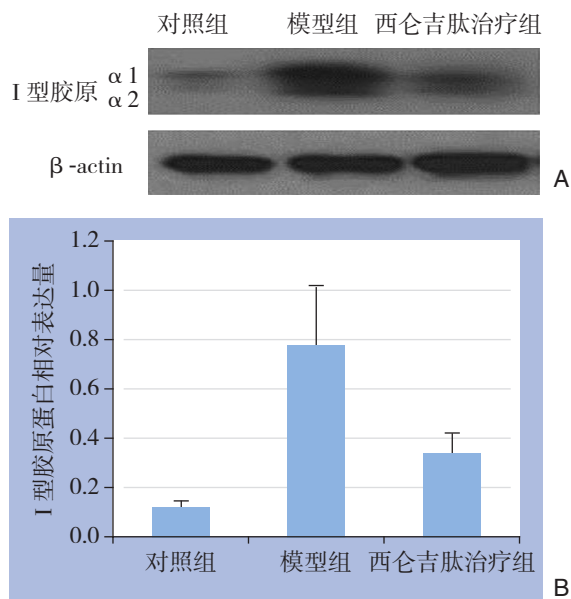


图 3 Western blot 结果 A: 电泳条带; B: I 型胶原蛋白相对表达量

Figure 3 Results of Western blot analysis A: Electrophoretic bands; B: Relative expression levels of collagen type I protein in each group

3 讨论

整合素受体属于细胞黏附分子家族, 主要介导细胞之间、细胞与细胞外基质之间的相互作用^[13]。其在细胞迁移、伤口愈合、免疫和非免疫防御机制、凝血和血管生成、细胞癌变中起着非常重要的作用^[14]。整合素受体与机体病理反应有很大关系, 是疾病发生过程中非常重要的靶点^[15-16]。整合素受体亚型均可识别并结合含 RGD 三肽序列的蛋白, 如整合素 $\alpha v \beta 3$ 可与很多含 RGD 序列的蛋白如纤维黏结蛋白、纤维蛋白原等结合^[17]。西仑吉肽是德国默克公司历经 6 年于 1995 年研制的由 5 个氨基酸组成的整合素受体阻断剂, 它可与整合素受体 $\alpha v \beta 3$ 和 $\alpha v \beta 5$ 结合。围绕西仑吉肽的研发目前都是围绕其抗肿瘤作用展开^[18], 而对肠道纤维化的研究尚缺乏。

活化型 TGF- $\beta 1$ 可引起肠道细胞外基质沉积, 包括 I 型胶原表达增高, 引起肠道纤维化发生^[19]。TGF- β 基因 N 端序列编码的 90 kD 同型二聚体潜在相关蛋白 (LAP) 与 C 端序列编码的 25 kD 同型二聚体 TGF- β 蛋白结合后形成非活化型 TGF- $\beta 1$, 又称 LAP- $\beta 1$ ^[20]。理论上 LAP- $\beta 1$ 可以通过识别 RGD 与所有亚型的整合素受体结

合, 但不是所有结合都可将其激活成为活化型 TGF- $\beta 1$ ^[21]。本研究的意义是阐明了在大鼠肠纤维化模型中整合素受体 $\alpha v \beta 3$ 和 $\alpha v \beta 5$ 拮抗药西仑吉肽可以抑制活化型 TGF- $\beta 1$ 表达, 从而进一步抑制肠道细胞外基质、肠道 I 型胶原基因和蛋白的表达。但仍需要进一步的细胞水平的机制研究来充分证实。

通过对 TGF- $\beta 1$ 活化途径中整合素受体的竞争性拮抗, 达到改善肠道纤维化是一个新的研究领域, 目前国内外研究仍在起步阶段, 国内尚无相关研究。除西仑吉肽外, 针对整合素受体其它亚型阻断剂的开发研制会给 CD 肠纤维化的治疗带来更广阔的前景。

参考文献

- [1] Burke JP, Mulsow JJ, O'Keane C, et al. Fibrogenesis in Crohn's disease[J]. *Am J Gastroenterol*, 2007, 102(2):439-448.
- [2] Lu KC, Hunt SR. Surgical management of Crohn's disease[J]. *Surg Clin North Am*, 2013, 93(1):167-185.
- [3] Buda A, Okolo PI 3rd. Endoscopic treatment of Crohn's complications[J]. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol*, 2014, [Epub ahead of print].
- [4] 郑宇, 陶庆松, 嵇振岭. 肠肌纤维母细胞在克罗恩病发病机制中的作用[J]. *中国普通外科杂志*, 2011, 20(10):1116-1119.
- [5] Wengrower D, Zanninelli G, Pappo O, et al. Prevention of fibrosis in experimental colitis by captopril: the role of tgf-beta 1[J]. *Inflamm Bowel Dis*, 2004, 10(5):536-545.
- [6] Li C, Kueimmerle JF. Mechanisms that mediate the development of fibrosis in patients with Crohn's disease[J]. *Inflamm Bowel Dis*, 2014, 20(7):1250-1258.
- [7] Reardon DA, Neyns B, Weller M, et al. Cilengitide: an RGD pentapeptide $\alpha v \beta 3$ and $\alpha v \beta 5$ integrin inhibitor in development for glioblastoma and other malignancies[J]. *Future Oncol*, 2011, 7(3):339-354.
- [8] Li C, Flynn RS, Grider JR, et al. Increased activation of latent TGF- $\beta 1$ by $\alpha v \beta 3$ in human Crohn's disease and fibrosis in TNBS colitis can be prevented by cilengitide[J]. *Inflamm Bowel Dis*, 2013, 19(13):2829-2839.
- [9] Yamada Y, Marshall S, Specian RD, et al. A comparative analysis of two models of colitis in rats[J]. *Gastroenterology*, 1992, 102(5):1524-1534.
- [10] Neurath MF, Fuss I, Kelsall BL, et al. Antibodies to interleukin 12 abrogate established experimental colitis in mice[J]. *J Exp Med*, 1995, 182(5):1281-1290.
- [11] 郑宇, 陶庆松, 嵇振岭, 等. 雷公藤多甙对克罗恩病大鼠模型治疗作用的机制研究[J]. *中国普通外科杂志*, 2013, 22(12): 1650-1654.

- [12] 何平平, 李杰平, 张书杰, 等. 阻断肾素-血管紧张素-醛固酮系统对大鼠肺纤维化的干预作用及对 MCP-1 表达的影响 [J]. 中南医学科学杂志, 2007, (2):186-188.
- [13] Millard M, Odde S, Neamati N. Integrin targeted therapeutics[J]. Theranostics, 2011, 1:154-188.
- [14] Hynes RO. Integrins: bidirectional, allosteric signaling machines[J]. Cell, 2002, 110(6):673-687.
- [15] Cox D, Brennan M, Moran N. Integrins as therapeutic targets: lessons and opportunities[J]. Nat Rev Drug Discov, 2010, 9(10):804-820.
- [16] Flynn RS, Murthy KS, Grider JR, et al. Endogenous IGF-I and alphaVbeta3 integrin ligands regulate increased smooth muscle hyperplasia in stricturing Crohn's disease[J]. Gastroenterology, 2010, 138(1):285-293.
- [17] Semissi L, Petrović M, Scarpi D, et al. Cyclopropane Pipecolic Acids as Templates for Linear and Cyclic Peptidomimetics: Application in the Synthesis of an Arg-Gly-Asp (RGD)-Containing Peptide as an α v β 3 Integrin Ligand[J]. Chemistry, 2014, 20(35):11187-11203.
- [18] Stupp R, Hegi ME, Gorlia T, et al. Cilengitide combined with standard treatment for patients with newly diagnosed glioblastoma with methylated MGMT promoter (CENTRIC EORTC 26071-22072 study): a multicentre, randomised, open-label, phase 3 trial[J]. Lancet Oncol, 2014, 15(10):1100-1108.
- [19] Flynn RS, Mahavadi S, Murthy KS, et al. Endogenous IGFBP-3 regulates excess collagen expression in intestinal smooth muscle cells of Crohn's disease strictures[J]. Inflamm Bowel Dis, 2011, 17(1):193-201.
- [20] Munger JS, Harpel JG, Gleizes PE, et al. Latent transforming growth factor-beta: structural features and mechanisms of activation[J]. Kidney Int, 1997, 51(5):1376-1382.
- [21] Wipff PJ, Hinz B. Integrins and the activation of latent transforming growth factor beta1 - an intimate relationship [J]. Eur J Cell Biol, 2008, 87(8/9):601-615.

(本文编辑 姜晖)

本文引用格式: 陶庆松, 陈尧, 王宝恩, 等. 整合素受体拮抗剂西仑吉肽对大鼠肠纤维化的治疗作用 [J]. 中国普通外科杂志, 2014, 23(10):1379-1384. doi: 10.7659/j.issn.1005-6947.2014.10.014
 Cite this article as: TAO QS, CHEN Y, WANG BC, et al. Therapeutic effect of integrin receptor antagonist cilengitide on intestinal fibrosis in rats[J]. Chin J Gen Surg, 2014, 23(10):1379-1384. doi: 10.7659/j.issn.1005-6947.2014.10.014

关于一稿两投和一稿两用问题处理的声明

本刊编辑部发现仍有个别作者一稿两投和一稿两用, 为了维护本刊的声誉和广大读者的利益, 本刊就一稿两投和一稿两用问题的处理声明如下。

1. 一稿两投和一稿两用的认定: 凡属原始研究的报告, 同语种一式两份投寄不同的杂志, 或主要数据和图表相同、只是文字表达可能存在某些不同之处的两篇文稿, 分别投寄不同的杂志, 属一稿两投; 一经为两杂志刊用, 则为一稿两用。会议纪要、疾病的诊断标准和防治指南、有关组织达成的共识性文件、新闻报道类文稿分别投寄不同的杂志, 以及在一种杂志发表过摘要而将全文投向另一杂志, 不属一稿两投。但作者若要重复投稿, 应向有关杂志编辑部作出说明。

2. 作者在接收到稿回执后满 3 个月未接到退稿通知, 表明稿件仍在处理中, 若欲投他刊, 应先与本刊编辑部联系。

3. 编辑部认为文稿有一稿两投或两用嫌疑时, 应认真收集有关资料并仔细核对后再通知作者, 在作出处理决定前请作者就此问题作出解释。编辑部与作者双方意见发生分歧时, 由上级主管部门或有关权威机构进行最后仲裁。

4. 一稿两投一经证实, 则立即退稿, 对该作者作为第一作者所撰写的论文, 2 年内将拒绝在本刊发表; 一稿两用一经证实, 将择期在杂志中刊出作者姓名、单位以及该论文系重复发表的通告, 对该作者作为第一作者所撰写的论文, 2 年内拒绝在本刊杂志发表。本刊将就此事向作者所在单位和该领域内的其他科技期刊进行通报。

中国普通外科杂志编辑部