

DOI: 10. 13288/j. 11-2166/r. 2016. 04. 016

实验研究

胃康宁对人胃黏膜上皮细胞电压依赖性阴离子通道沉默与过表达后细胞能量代谢的作用

刘燕君¹，佟丽²，鲁思凡²，刘亭亭²，常玉娟¹，张平¹，刘涛¹，
史海霞¹，周 Aimin³，魏茹涵³，陈建德⁴，李搏灵¹，魏玮^{*}

(1. 中国中医科学院望京医院，北京市朝阳区花家地街 1 号，100102; 2. 北京师范大学生命科学学院; 3. 克利夫兰大学化学系; 4. 约翰·霍普金斯大学医学院)

【摘要】 目的 从能量代谢方面探讨胃康宁治疗功能性消化不良的可能作用机制。方法 人胃黏膜上皮细胞 GES-1 采用 3 条靶向电压依赖性阴离子通道蛋白 1 (VDAC1) 的 siRNA 转染细胞后检测其沉默效率; 转染 DDK-Myc 质粒、VDAC1-DDK-Myc 质粒检测 VDAC1 的过表达效率。GES-1 细胞以 1×10^4 个细胞铺 96 板，分为空白对照组、阳性对照组和胃康宁低、中、高剂量组，每组 5 个平行孔。空白对照组不加任何药物，阳性对照组细胞沉默或过表达后加多潘立酮片 2.5 μmol ，胃康宁低、中、高剂量组细胞沉默或过表达后分别加 0.025、0.100、0.300 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ 。24 h 后利用生物发光法检测各组沉默或过表达前后细胞 ATP 的含量。结果 siRNA1 转染能降低 VDAC1 基因和蛋白水平，DDK-Myc 质粒、VDAC1-DDK-Myc 质粒转染能均能升高 VDAC1 蛋白水平，与对照组比较差异有统计学意义 ($P < 0.01$)。各组细胞沉默 VDAC1 后 ATP 含量均较本组沉默前降低 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。各组细胞过表达 VDAC1 后 ATP 含量较本组转染前明显升高 ($P < 0.05$)；与空白对照组 VDAC1-DDK-Myc 转染后比较，胃康宁中剂量 VDAC1-DDK-Myc 转染后细胞中 ATP 含量明显升高 ($P < 0.05$)。结论 胃康宁可能通过促进胃上皮细胞能量代谢治疗功能性消化不良。

【关键词】 功能性消化不良; 胃康宁; 辛开苦降法; 能量代谢; 基因沉默; 基因过表达

功能性消化不良 (functional dyspepsia, FD) 是临床上最常见的一种功能性胃肠病。胃康宁是我们临床治疗 FD 的经验方，可通过调整脾胃气机升降而改善胃肠动力，其作用机制可能与调节能量代谢有关^[1]。本实验通过沉默和过表达胃上皮细胞中电压依赖性阴离子通道蛋白 1 (VDAC1)，再将胃康宁分别作用于细胞，检测其对 ATP 含量的影响，以期胃康宁在调控机体能量代谢和治疗 FD 方面提供参考。

1 材料

1.1 细胞及试剂

人胃黏膜上皮细胞 GES-1 购自中国科学院培养物保藏委员会细胞库。DMEM 培养基 (Gibco 公

司，批号: 11995-065); 胎牛血清 (杭州四季青生物技术有限公司，批号: 111005); 胰蛋白酶 (Gibco 公司，批号: R-001-100); VDAC1 抗体 [CST 公司，货号: EPR10852 (B)]。Trizol 总 RNA 抽提试剂 (批号: czfw006)、Taq DNA 聚合酶 (批号: R500ZM)、OligodT (批号: 639528)、 $5 \times \text{M-MLV Buffer}$ (批号: 2641A)、dNTPMixture (批号: 4035)、RNase Inhibitor (批号: 2313Q)、RNase M-MLV (批号: 2641A) 均购自日本 TaKaRa 公司; Lipofectamine 2000 Reagent 转染试剂 (批号: 11668-019) 和 Opti-MEM 无血清培养基 (批号: 31985062) 均购自美国 Invitrogen 公司; VDAC1-DDK-Myc 质粒 (批号: RC209949) 由美国 OriGene 公司提供，VDAC1 三条 siRNA (批号: 14328173238) 由广州锐博设计合成; ATP 试剂盒 (批号: G750) 为普罗瑞林公司产品; 大肠杆菌 DH5 α (批号: C1100) 购自北京索莱宝科技有限公司。

基金项目: 国家自然科学基金(81273746 81072800); 北京市科学技术委员会首都市民健康项目(Z13110200400000)

* 通讯作者: sxxyy@sina.com (010) 84739761

1.2 仪器

THS-15 数控超级恒温槽 (宁波天恒仪器厂); 微型旋涡混合仪 (上海沪西分仪器厂); POLAR star Omega 多功能酶标仪 (德国 BMG 公司); Coic 倒置显微镜 (重庆光电仪器有限公司); 医用 X 射线胶片 [型号 XBT-1, 锐珂 (厦门) 医疗器材有限公司]; DHG-9203A 型电热恒温鼓风干燥箱 (上海精宏实验设备有限公司); DYY-7B 型转移电泳仪 (北京市六一仪器厂); SIM-F124 型制冰机 (日本 Sanyo 公司); MLS-3780 型高压蒸汽灭菌器 (日本 Sanyo 公司); Milli-Q 超纯水器 (美国 Millipore 公司); ABI 7500 荧光定量 PCR 仪 (美国 ABI 公司); 台式低温离心机 (德国 Eppendorf 公司); 恒温 CO₂ 培养箱 (德国 HERA 公司)。

1.3 药物

胃康宁由姜半夏 9g、黄芩 9g、黄连 5g、干姜 9g、砂仁 6g 等组成, 由中国中医学科学院望京医院药剂科提供, 按传统方法煎煮, 浓缩至 400 ml, 真空冷冻干燥获得干粉, 使用前用 PBS 溶解至 10 mg/ml 储液, 经 ⁶⁰Co 辐射灭菌, 并离心 (12000 r/min, 20 min) 以去除不溶性成分, 为细胞用药前稀释成所需浓度。多潘立酮片 (Sigma 公司, 批号: D122-25 mg) 用 PBS 配置成 2.5 μmol/L 溶液贮存待用。

1.4 细胞培养及 VDAC1 沉默、过表达

GES-1 用含 10% 胎牛血清 DMEM 培养基在 37℃、5% CO₂ 培养箱中培养, 传代 3 次后进行细胞实验。在 6 孔培养板的每一孔内接种 1 × 10⁶ 个细胞, 总体积 2 ml, 37℃、5% CO₂ 培养箱培养约 12 h, 至 75% ~ 85% 融合时, 用无血 1640 培养基漂洗细胞 2 次, 按 Lipofectamine 2000 说明书转染细胞, 转染后 6 h 将培养液更换为无抗生素 10% 胎牛血清的 1640 培养基, 转染后 24 h 常规换液继续培养, 48 h 后用胰酶消化下来, 进行后续实验。

VDAC1 沉默: siRNA 转染分为对照组和 siRNA 1、2、3 组, siRNA 浓度为 50 nM, 每孔为 5 μl。VDAC1 过表达: 质粒转染分为对照组 (培养基)、空载组 (DDK-Myc 质粒)、VDAC1-DDK-Myc 组 (VDAC1-DDK-Myc 质粒), 质粒用量为 7.5 μl/孔。

1.5 Western blot 法检测 VDAC1 蛋白含量

收获瞬时转染的细胞, 细胞裂解, 收集蛋白, BCA 法测定细胞蛋白质含量。蛋白变性后每孔上样 50 ng, 经 10% SDS 聚丙烯酰胺凝胶电泳后转移至 PVDF 膜上, 用含 5% 封闭奶粉的 TBST 封闭 2 h, VDAC1 (1 : 2500), β-actin (1 : 10000),

一抗 4℃ 孵育过夜, TBST 洗 3 次, 5 min/次, 相应的二抗孵育 1 h, TBST 洗 3 次, 5 min/次, ECL 化学发光检测蛋白质印迹。

1.6 RT-PCR 检测 VDAC1 基因表达

收获瞬时转染的细胞, 用 Trizol 法提取细胞的总 RNA, 逆转录合成 cDNA。以 cDNA 为模板 PCR 扩增 VDAC1。荧光定量 PCR 主要采用 Takara 公司生产的 SYBR Premix, 在 ABI 7500 Real Time PCR system (Applied Biosystems) 上完成, 内参为 β-actin。引物由上海生工生物技术有限公司合成, VDAC1: 上游引物 5'-AGGGCTATGGATTTGGCTTA-3', 下游引物 5'-CCGTCACCTTTGGTGCTCTC-3'; β-actin: 上游引物 5'-CGGGAAATCGTGCCTGAC-3', 下游引物 5'-GAAGGAAGGCTGGAAGACTG-3'。siVDAC1-001: 靶序列 AGTGACGGGCAGTCTGGAA, 上游引物 5'-AGUGACGGGCAGUCUGAAAdTdT3', 下游引物 3'-dTdTUCACUGCCCGUCAGACCUU5'; siVDAC1-002: 靶序列 GCCTGATAGTTTAGGATA, 上游引物 5'-GCCUGAUAGGUUUAGGAUAdTdT3', 下游引物 3'-dTdTTCGGACUAUCCAAAUCCUAU5'; siVDAC1-003: 靶序列 CGACATGGATTTTCGACATT, 上游引物 5'-CGACAUGGAUUUCGACAUUdTdT3', 下游引物 3'-dTdTGCUGUACCUAAGCUGUAA5'。

1.7 细胞能量代谢检测

GES-1 细胞以 1 × 10⁴ 个细胞铺 96 板, 待细胞贴壁之后分为空白对照组、阳性对照组和胃康宁低、中、高剂量组, 每组 5 个平行孔。1) 检测 GES-1 细胞给药后细胞 ATP 含量: 空白对照组不加任何药物, 阳性对照组加 2.5 μl 多潘立酮 (1 μmol/μl), 胃康宁低、中、高剂量组分别加胃康宁溶液 0.025、0.100、0.300 μg/μl。向板中加入对应药物继续培养 24 h 后, 再向每孔中加入 100 μl 检测液 (含荧光素酶), 置于摇床上慢摇 2 min 使检测液与细胞充分接触, 室温放置 10 min 稳定荧光信号; 将孔中液体对应转移到黑色聚苯乙烯 96 孔板中, 放入酶标仪, 检测化学发光强度, 检测时间 0.5 s。2) 检测沉默 VDAC1 成功后的 GES-1 细胞给药后 ATP 含量: VDAC1 沉默用 siRNA1 进行转染, 24 h 后分为 5 组, 之后各组给药处理、检测时间同上。3) 检测过表达 VDAC1 成功后的 GES-1 细胞给药后 ATP 含量: 空载质粒用 DDK-Myc 质粒, 过表达 VDAC1 用 VDAC1-DDK-Myc 质粒分别转染。24 h 后分为 5 组, 之后各组处理、检测方法同上。

1.8 统计学方法

采用 SPSS 19.0 统计软件进行数据分析, 计量数据以均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 用 *t* 检验, $P < 0.05$ 认为具有统计学意义。

2 结果

2.1 VDAC1 基因沉默检测结果

表 1 示, siRNA1 组在基因和蛋白的水平均能显著性降低 VDAC1 的表达, 与对照组比较差异有统计学意义 ($P < 0.01$)。siRNA3 组 VDAC1 蛋白表达水平明显低于对照组 ($P < 0.05$)。

表 1 GES-1 细胞 3 条 siRNA 沉默后 VDAC1 基因与蛋白表达比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	样本数	VDAC1 基因	VDAC1 蛋白
对照组	3	0.721 ± 0.034	1
siRNA1 组	3	0.254 ± 0.128**	0.203 ± 0.038**
siRNA2 组	3	0.743 ± 0.019	0.793 ± 0.087
siRNA3 组	3	0.745 ± 0.043	0.408 ± 0.015*

注: 与对照组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

2.2 VDAC1 基因过表达检测结果

表 2 示, 与对照组比较, 空载组和 VDAC1-DDK-Myc 组 DDK 蛋白表达均明显升高 ($P < 0.01$), 说明 VDAC1-DDK-Myc 重组质粒中的 VDAC1 也被同时转染进 GES-1。

表 2 GES-1 细胞质粒转染后 DDK 蛋白表达 ($\bar{x} \pm s$)

组别	样本数	DDK 蛋白表达
对照组	3	0
空载组	3	1.488 ± 0.198*
VDAC1-DDK-Myc 组	3	1.508 ± 0.236*

注: DDK, 一种标签蛋白; 与对照组比较, * $P < 0.01$

2.3 各组正常 GES-1 细胞和沉默 VDAC1 后 GES-1 细胞中 ATP 含量比较

表 3 示, 各组细胞沉默 VDAC1 后 ATP 含量均较本组正常 GES-1 细胞降低 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$), 说明 GES-1 细胞中转染 siRNA1 后, 对细胞中的 VDAC1 造成有效的沉默, 导致 ATP 含量降低。

2.4 各组正常 GES-1 细胞和过表达 VDAC1 后 GES-1 细胞中 ATP 含量比较

表 4 示, 各组细胞转染 VDAC1-DDK-Myc 重组质粒后, 与本组正常 GES-1 细胞比较, ATP 含量均明显升高 ($P < 0.05$)。与空白对照组 VDAC1-DDK-Myc 转染后比较, 胃康宁中剂量 VDAC1-DDK-Myc 转染后细胞中 ATP 含量明显升高 ($P < 0.05$)。

表 3 正常 GES-1 细胞和沉默 VDAC1 后 GES-1 细胞中 ATP 含量比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	样本数	荧光强度
空白对照组	正常 GES-1 细胞	5 42739.2 ± 1250.1
	沉默 VDAC1 后	5 34407.3 ± 2810.7*
阳性对照组	正常 GES-1 细胞	5 40921.1 ± 4018.3
	沉默 VDAC1 后	5 36876.9 ± 4617.1*
胃康宁低剂量组	正常 GES-1 细胞	5 43501.8 ± 4068.7
	沉默 VDAC1 后	5 33723.4 ± 2393.2*
胃康宁中剂量组	正常 GES-1 细胞	5 47674.2 ± 1134.8
	沉默 VDAC1 后	5 35815.0 ± 6320.3**
胃康宁高剂量组	正常 GES-1 细胞	5 41750.1 ± 2330.9
	沉默 VDAC1 后	5 30692.1 ± 3020.8*

注: 与本组正常 GES-1 细胞比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

表 4 各组正常 GES-1 细胞和过表达 VDAC1 后 GES-1 细胞中 ATP 含量比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	样本数	荧光强度
空白对照组	正常 GES-1 细胞	5 3041.25 ± 199.6
	DDK-Myc 质粒转染后	5 3232.50 ± 125.4
	VDAC1-DDK-Myc 转染后	5 3662.20 ± 367.6*
阳性对照组	正常 GES-1 细胞	5 2633.25 ± 264.3
	DDK-Myc 质粒转染后	5 3050.20 ± 158.6
	VDAC1-DDK-Myc 转染后	5 3362.70 ± 190.8*
胃康宁低剂量组	正常 GES-1 细胞	5 3270.50 ± 261.9
	DDK-Myc 质粒转染后	5 3584.50 ± 99.2
	VDAC1-DDK-Myc 转染后	5 3885.50 ± 139.2*
胃康宁中剂量组	正常 GES-1 细胞	5 3542.00 ± 133.8
	DDK-Myc 质粒转染后	5 3281.70 ± 338.6
	VDAC1-DDK-Myc 转染后	5 4040.50 ± 504.0* [△]
胃康宁高剂量组	正常 GES-1 细胞	5 2903.75 ± 94.5
	DDK-Myc 质粒转染后	5 3058.20 ± 220.0
	VDAC1-DDK-Myc 转染后	5 3713.00 ± 682.7*

注: 与本组正常 GES-1 细胞比较, * $P < 0.05$; 与空白对照组 VDAC1-DDK-Myc 转染后比较, $\Delta P < 0.05$

3 讨论

中医学认为, FD 属“痞满”“胃痛”“嘈杂”等范畴, 发病机理为邪陷中焦。中焦虚弱, 心下痞满, 气机升降失常而表现出一系列证候。本病病位在胃, 涉及肝脾两脏, 为本虚标实之证, 所以临床多用辛开苦降、理气开郁等中药方剂来调理气机, 改善胃肠动力^[2]。胃康宁具有寒热互用以和阴阳, 苦辛并进以调其升降, 补泻兼施以固其虚实的配伍特点^[3]。目前已有研究表明, 胃康宁中主要成分党参、白芍等有促进细胞中能量代谢的作用, 对人体消化系统起到一定的保护作用^[4-5]。电压依赖性阴离子通道 (VDAC) 是一类存在于线粒体外膜上的孔状蛋白, 通过其通道的开放或关闭, 参与线粒体和细胞质间的 ATP、代谢物和离子的交换^[6]。

1976 年 Schein 首先报道了 VDAC，分别由 3 个不同基因编码即 VDAC1、VDAC2 和 VDAC3，人类机体主要表达的是 VDAC1 和 VDAC2，其中 VDAC1 是了解最为清楚的亚型^[7]，与各种代谢产物如 ATP、ADP 以及阴离子、阳离子的跨线粒体外膜转运有关^[8]。线粒体的主要功能是氧化各种呼吸作用底物，合成 ATP 供能。研究发现，VDAC 是线粒体与细胞质之间各种代谢物质流通的重要通道，当其结构或功能发生异常时，将导致线粒体能量代谢紊乱^[9]。已有研究者证明，沉默 VDAC，细胞内 ATP 合成显著减少、细胞生长阻滞；而恢复 VDAC 表达后，线粒体和细胞功能恢复，提示 VDAC 是维持线粒体与胞质之间能量代谢的重要通道^[10]。

本研究利用脂质体瞬转法将 VDAC1 在胃黏膜上皮细胞 GES-1 中进行沉默和过表达，结果显示，用 siRNA1 转染后 GES-1 细胞中 VDAC1 蛋白和基因表达减少，与对照组比较差异有统计学意义，说明 GES-1 细胞中的 VDAC1 得到有效沉默。用 VDAC1-DDK-Myc 重组质粒进行转染，以 DDK-Myc 质粒作为阴性对照，因为 DDK 是外源性蛋白，通过检测转染后 GES-1 细胞中的 DDK 可以说明 VDAC1-DDK-Myc 和 DDK-Myc 重组质粒是否被转染进 GES-1 细胞中。与对照组比较，VDAC1-DDK-Myc 和 DDK-Myc 组中 DDK 含量明显增加且具有统计学意义，说明 VDAC1 在 GES-1 细胞中被过表达。ATP 检测结果显示，与正常胃黏膜上皮细胞 GES-1 相比，沉默 VDAC1 后 GES-1 中 ATP 含量显著降低，过表达 VDAC1 后 GES-1 中 ATP 含量显著升高 ($P < 0.05$)。后又分别观察沉默和过表达 VDAC1 的 GES-1 细胞，在给予胃康宁及多潘立酮片后对细胞中 ATP 含量的影响。结果发现，对于沉默 VDAC1 后的 GES-1 细胞，胃康宁中剂量组的细胞中 ATP 含量下降更明显，而 VDAC1 过表达后的 GES-1 细胞中，同样是胃康宁中剂量组的细胞中 ATP 含量增加明显，说明胃康宁可以通过调节

VDAC1 的表达而影响细胞中 ATP 产生的生物学功能。

参考文献

- [1] WEI W, LI X, HAO J, et al. Proteomic analysis of functional dyspepsia in stressed rats treated with traditional Chinese medicine "Wei Kangning" [J]. J Gastroenterol Hepatol, 2011, 26(9): 1425-1433.
- [2] 梁雪, 何慧, 李保良, 等. 柴枳半夏泻心汤对功能性消化不良胃动力的影响[J]. 陕西中医, 2008, 40(12): 42-43.
- [3] 魏玮, 郝建军, 杜武成, 等. 胃康宁胶囊治疗功能性消化不良临床观察[J]. 山西职工医学院学报, 2004, 14(1): 36-39.
- [4] 马琰岩, 张萌, 马淑骅, 等. 补气中药治疗心衰新机制的研究: 调节心肌能量代谢[J]. 中国中药杂志, 2011, 36(22): 3210-3212.
- [5] 陈象青, 王钦茂, 方华武, 等. 白芍总苷与当归提取物合用对实验性肝炎的保护作用[J]. 安徽中医药大学学报, 2002, 21(3): 44-47.
- [6] YUAN S, FU Y, WANG X, et al. Voltage-dependent anion channel 1 is involved in endostatin-induced endothelial cell apoptosis [J]. FASEB J, 2008, 22(8): 2809-2820.
- [7] MANNELLA CA. Conformational changes in the mitochondrial channel protein, VDAC, and their functional implications [J]. J Struct Biol, 1998, 121(2): 207-218.
- [8] MANNELLA CA. Minireview: on the structure and gating mechanism of the mitochondrial channel, VDAC [J]. J Bioenerg Biomembr, 1997, 29(6): 525-531.
- [9] MASSA R, MARLIER LN, Martorana A, et al. Intracellular localization and isoform expression of the voltage-dependent anion channel (VDAC) in normal and dystrophic skeletal muscle [J]. J Muscle Res Cell Motil, 2000, 21(5): 433-442.
- [10] SHOSHAN-BARMALZ V, DE PINTO V, ZWECKSTETER M, et al. Vdac, a multi-functional mitochondrial protein regulating cell life and death [J]. Mol Aspects Med, 2010, 31(3): 227-285.

Effect of *Weikangning* (胃康宁) on Cell Energy Metabolism after Silence and Over-expression of Voltage-independent Ion Channels in Human Gastric Epithelial Cells

LIU Yanjun¹, TONG Li², LU Sifan², LIU Tingting², CHANG Yujuan¹, ZHANG Ping¹, LIU Tao¹, SHI Haixia¹, Aimin ZHOU³, WEI Ruhan³, CHEN Jiande⁴, LI Boling¹, WEI Wei¹

(1. Wangjing Hospital, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100102; 2. Life Science School, Beijing Normal University; 3. Chemistry Department, Cleveland State University; 4. Johns Hopkins University School of Medicine)

ABSTRACT Objective To study the possible functional mechanism of *Weikangning* in treating functional dyspepsia from aspect of energy metabolism. **Methods** After siRNA of 3 target voltage-independent negative ion channels

proteins (VDAC1) were transferred to human gastric epithelial cells GES-1 , the possible silence efficiency of VDAC1 was examined. DDK-Myc plasmid and VDAC1-DDK-Myc plasmid were transferred , and the over-expression efficiency of VDAC1 was examined. GES-1 cells (1 × 10⁴ cells/well) were put into a 96 well plate , and divided into the blank control group , the positive control group , and the *Weikangning* low , middle and high dose groups , using 5 parallel holes in each. No medicine was added into the blank control group. After cells silencing or over-expressing , 2. 5 μmol of Domperidone Tablets were added into the positive control group , while 0. 025 μg/μl , 0. 100 μg/μl , or 0. 300 μg/μl of *Weikangning* were added into the *Weikangning* low , middle and high dose groups , respectively. The ATP levels in cells of each group were examined using bioluminescence method before and after cells silencing and expressing.

Results Transferring using siRNA1 could decrease the level of VDAC1 gene and protein. Transferring DDK-Myc plasmid and VDAC1-DDK-Myc plasmid could both increase the level of VDAC1 protein. There were statistically significant differences in those decreases and increases between the *Weikangning* groups and the control groups (*P* < 0. 01) . The ATP levels in cells of each group decreased after VDAC1 silencing compared with that before silencing (*P* < 0. 05 or *P* < 0. 01) , increased remarkably after VDAC1 over-expressing compared with that before over-expressing (*P* < 0. 05) . The ATP levels in cells of *Weikangning* middle dose group remarkably increased after VDAC1-DDK-Myc transferred compared with that of the blank control group (*P* < 0. 05) . **Conclusion** *Weikangning* may treat functional dyspepsia through promoting the energy metabolism of gastric epithelial cells.

Keywords *Weikangning*; acrid-opening and bitter-descending method (辛开苦降); functional dyspepsia; energy metabolism; gene silencing; gene over-expression

(收稿日期: 2015 - 03 - 24; 修回日期: 2015 - 06 - 15)

[编辑: 邓 媛]

中医杂志社医海林音像书店邮购图书目录

- 国医大师临床丛书
- 李济仁医论医选集 98
- 中医古籍文献学 (第 2 版) 228
- 张琪学术思想探赜 78
- 名老中医方药心得丛书
- 祁宝玉眼科方药心得 50
- 晁恩祥临证方药心得 58
- 姜良铎内科方药心得 68
- 段富津方剂学讲课实录 78
- 周文泉老年病临证经验集 79
- 徐福松男科纲目 88
- 白兆芝临证经验集萃 88
- 名医讲学荟萃
- 裘沛然讲《内经》 38
- 张琪讲临床 42
- 孟庆云讲中医经典 58
- 农村卫生适宜技术推广丛书
- 地方性疾病中西医结合诊疗技术 27
- 中药炮制实用技术 29. 8
- 农村实用针灸技术 34
- 农村实用液体疗法 37
- 灾害医学救治技术 39. 8
- 社区医师中西医诊疗规范丛书
- 心血管疾病 22
- 社区康复 22
- 肿瘤 24
- 呼吸疾病 24
- 骨伤病 24
- 神经精神疾病 24
- 儿科疾病 25
- 老年疾病 25
- 风湿免疫及内分泌疾病 28
- 社区常见疾病预防与保健 29
- 社区急症 29
- 流行病与传染病 29
- 社区医学检查诊断技术 29. 8
- 肾脏及血液疾病 29. 9
- 泌尿生殖疾病 30
- 外科疾病 30
- 眼科疾病 35
- 消化疾病 35
- 社区护理 35
- 中医药科学方法学研究系列丛书
- 中医学科学方法特征与沿革 69
- 当代中医药学家谈科学思维与方法 88
- 古代中医药名家学术思想与认识论 98
- 中医药理论技术发展的方法学思考 118
- 中医临床基础医学研究 128
- 重读中医经典丛书
- 金匱要略临床运用 48
- 金匱要略临床精要 58
- 伤寒论临床精要 59
- 伤寒论临床运用 59
- 内经临床精要 59
- 内经临床运用 79
- 其它图书
- 抗微生物药物合理应用手册 39
- 中药药对表解 (修订版) 39
- 章次公《药理学》点校 48
- 病毒感染性疾病中医治疗学概要 54
- 全国名老中医柴瑞霭临床经验集萃 78
- 病毒性传染病中医治疗概要 58
- 黄德彰医文精华 68
- 中医学概论 (英文版) 68
- 常见肿瘤的非手术治疗 79
- 张灿理医论医案纂要 79
- 中医学名词内科学妇科学儿科学 88
- 脊髓损伤的中西医康复治疗 98
- 中国的藏医(汉文、藏文、英文) 98
- 现代中成药的药材炮制 98
- 刘炳凡医论医案 118
- 华廷芳学术经验集 128
- 临床常见疾病影像诊断及治疗原则 128
- 伤寒论方剂当代研究 128
- 柴浩然医论医案集 128
- 林沛湘学术经验集 138
- 康复评定学 148
- 现代脉诊学 148
- 岭南本草集锦 148
- 中药血清药物化学 188
- 天然产物化学研究 198
- 广西特色中草药资源选编 498
- 千金翼方译注 110
- 中医百年百名中医临床家丛书 340
- 冯氏绵囊秘录 94
- 医宗金鉴 86
- 伤寒论现代研究与临床应用 38
- 国医大师验案精粹 (内科篇) 58
- 经方化裁—伤寒论现代研究丛刊 36

以上书均免费邮寄 , 欲购者请汇款至北京市东直门内南小街 16 号中医杂志社医海林音像书店图书部收, 邮政编码: 100700. 电话: (010) 64035632. 请在汇款单附言栏写清所购书名、册数及邮编。