

氯化三丁基锡对大鼠睾丸支持细胞的影响

袁玲燕, 詹平

摘要: [目的] 探讨氯化三丁基锡对雄性SD大鼠睾丸支持细胞活力和增殖的影响。[方法] 无菌制备20~23天龄SD大鼠的睾丸支持细胞,用HE染色、FAS-L免疫组化染色进行细胞鉴定。设空白对照组、溶剂对照组和 20×10^{-9} 、 40×10^{-9} 、 80×10^{-9} 、 120×10^{-9} mol/L氯化三丁基锡染毒组,用四唑盐比色法(MTT)、免疫细胞化学法观察细胞增殖及增殖细胞核抗原(PCNA)的表达情况,流式细胞仪分析细胞周期分布。[结果] 各染毒组睾丸支持细胞的存活率明显低于对照组($P < 0.05$), G_0/G_1 期细胞构成比增加,细胞增殖指数下降, 80×10^{-9} 、 120×10^{-9} mol/L染毒组PCNA表达量下降。[结论] 氯化三丁基锡可通过抑制睾丸支持细胞增殖,影响细胞周期分布和PCNA表达而表现出对雄性大鼠的生殖毒性。

关键词: 氯化三丁基锡; 睾丸支持细胞; 免疫细胞化学法; 流式细胞术

Effects of Tributyltin Chloride on Rat Sertoli Cell Function YUAN Ling-yan, ZHAN Ping (School of Public Health, Chongqing Medical University, Chongqing 400016, China). Address correspondence to ZHAN Ping, E-mail: zanpingcqums@163.com

Abstract: [Objective] To detect the toxic effects of tributyltin chloride (TBT) on cultured rat Sertoli cells and its injury mechanism. [Methods] Sertoli cells were isolated from the testes of 20-23 day-old male SD rats and identified with hematoxylin-eosin staining (HE) and fas ligand immunohistochemical staining (FAS-L). To obtain more Sertoli cells, cultures were hypotonically treated with Tris-HCl. One blank control group, one solvent control group and four tributyltin chloride groups (20×10^{-9} , 40×10^{-9} , 80×10^{-9} , and 120×10^{-9} mol/L, respectively) were set. Cell viability were determined by methyl thiazolyl tetrazolium (MTT), expression of proliferating cell nuclear antigen (PCNA) were determined by streptavidin-peroxidase (SP), and the distribution of the cell cycles were analyzed by flow cytometry (FCM). [Results] TBT can decrease the survival rate of Sertoli cells and interfere with the distribution of cell cycles. The result of immunocytochemistry showed that the expression of PCNA was significantly inhibited in the 80×10^{-9} mol/L and 120×10^{-9} mol/L dose groups. [Conclusion] TBT can inhibit the proliferation and affect the cell distribution and PCNA expression of Sertoli cells.

Key Words: tributyltin chloride; Sertoli cells; immunocytochemistry; flow cytometry

三丁基锡(tributyltin, TBT)是一种重要的有机锡类化合物,占有机锡产量的25%~30%,因其具有雄激素样作用而被列为环境内分泌干扰物^[1]。三丁基锡被广泛应用于木材防腐,工业冷凝水灭菌,作为杀虫剂添加到涂料中涂于船体和海洋建筑的表面防止软体海洋生物附着是它最重要的用途^[2]。研究发现,三丁基锡的雄激素样作用可使雄性哺乳动物生殖器官重量下降,精子数减少,激素水平改变,影响性成熟及生殖功能^[3],但其在细胞水平上对哺乳动物生殖毒性的研究甚少。朱欣等^[4]研究发现,三丁基锡可引起人羊膜细胞氧化损伤及DNA损伤。睾丸支持细胞已被证明是多种有害物质作用的靶细胞,是体内、体外实验中评价男性生殖系统毒性损伤的良好模型^[5]。氯化三丁基锡(tributyltin chloride, TBTCl)是TBT在水中的主要存在形式,本实验拟以TBTCl为研究对象,探讨TBT对雄性动物的生殖毒性作用。

1 材料与方法

1.1 实验动物

20~23天龄SPF级SD雄性大鼠(睾丸未下降至阴囊,睾丸支持细胞已成熟,精子数<5%),由重庆医科大学动物实验中心提供。

1.2 主要仪器与试剂

流式细胞仪(美国Becton Dickinson公司);CO₂培养箱(美国Forma Scientific公司);E2550型自动酶标读数仪(美国Bio-Rad公司);光学显微镜及摄像系统(日本Olympus公司);LXJ-II型台式高速离心机(上海医用分析仪器厂);SHZ-22型恒温振荡器(太仓市医疗器械厂);微量加样器(芬兰Labsystems公司)。

TBTCl(纯度≥98%,南通虹鼎国际化工公司);四甲基偶氮唑盐(MTT,北京中杉金桥生物技术有限公司);V型胶原酶(北京鼎国生物技术有限公司);胎牛血清(FBS,杭州四季青生物工程材料有限公司);增殖细胞核抗原抗体(PCNA,美国NEOMARKERS有限公司);PBS液(美国HyClone公司)。

1.3 实验方法

1.3.1 睾丸支持细胞的分离和培养^[6] 颈椎脱臼法处死SD大

[作者简介] 袁玲燕(1987—),女,硕士生;研究方向:环境毒理学;

E-mail: yuanlingyan1987@126.com

[通信作者] 詹平教授, E-mail: zanpingcqums@163.com

[作者单位] 重庆医科大学公共卫生学院,重庆 400016

鼠, 碘伏消毒, 取大鼠睾丸, 用 PBS 液反复冲洗以去除血细胞, 在含 DMEM/F12 培养液的培养皿中剥离睾丸被膜, 挤出实质部, 剔除血管后用达尔伯克改良伊格尔培养基 (DMEM)/F12 培养液反复冲洗; 将曲精小管小心剥离后 800 r/min 离心 3 min (离心半径 13.5 cm, 下同), 加入 0.25% 的胰蛋白酶后于 37℃, 5% CO₂ 孵箱中消化 20~60 min 不等 (以组织消化为粘液状为准), 加含小牛血清的培养液终止消化, 1 000 r/min 离心 5 min 2 次去除胰酶, 再加入 0.1% V 型胶原酶, 于孵箱中消化 30~60 min, 加入含小牛血清的培养液终止消化, 200 目细胞筛过滤含酶悬液, 1 000 r/min 离心 5 min 共 3 次去除胶原酶, 收集细胞。加入培养液后用 Pasteur 管轻吹打 (勿起气泡), 将细胞稀释成 $3\sim 3.5 \times 10^6$ 个/mL 的细胞悬液后接种于培养板中, 孵箱中培养 24 h 后加入少量 20 mmol/L 三羟甲基氨基甲烷-盐酸缓冲液 (Tris-HCl) 溶解生精细胞, 再用 PBS 液冲洗 3 次, 加入无血清 DMEM/F12 培养基 15 mL/瓶, 备用。细胞分离结束, 培养 24、48 h 后用台盼蓝染色计数活细胞产量。

1.3.2 睾丸支持细胞的生物学鉴定^[7] 用显微镜定期观察支持细胞的形态、生长贴壁情况; 将原代细胞悬液接种到内置盖玻片的 24 孔培养板内, 于孵箱内培养, 当细胞生长至 50% 时取出盖玻片, 用预冷 (4℃) 的 0.01 mol/L 的 PBS 漂洗 2 次, 晾干后用 70% 冷丙酮固定 20 min, 吹干后进行 HE 染色及免疫组化染色, 分别观察细胞形态和 FAS-L 的表达。

1.3.3 实验分组 实验共设 6 个组, 即溶剂对照组 (DMSO+ 无血清 DMEM/F12)、空白对照组 (无血清 DMEM/F12) 和 TBTCI 染毒组。根据预实验结果, TBTCI 染毒浓度大于 200×10^{-9} mol/L 时, 72 h 后睾丸支持细胞活力下降, 明显低于对照组, 因此本研究选取 20×10^{-9} 、 40×10^{-9} 、 80×10^{-9} 、 120×10^{-9} mol/L 作为染毒浓度。实验重复 2 次。

1.3.4 MTT 法测定细胞增殖 培养于 96 孔板的细胞, 48 h 后见细胞贴壁生长牢固, 弃去培养液后加处理因素, 每个处理因素 8 个平行孔, 置孵箱内培养 72 h 后弃去培养液, 每孔加入 180 μ L 培养液 (不含血清) 和 20 μ L MTT (5 mg/mL), 继续培养 24 h, 弃上清, 每孔加 150 μ L DMSO, 待结晶物充分溶解后, 用自动酶联免疫检测仪以 570 nm 波长测定各孔光密度值 (D)。计算各处理组的细胞存活率 [细胞存活率 = $(D_{\text{实验}}/D_{\text{空白}}) \times 100\%$]。

1.3.5 流式细胞术分析细胞周期分布 支持细胞培养 48 h 后, 分别加入各浓度的 TBTCI, 培养 4 d, 去上清, 加少量 PBS 液, 制成单细胞悬液, 溶于装有 70% 冷乙醇的 EP 管, 固定 1 h。将 EP 管离心后去除乙醇, PBS 液洗 1 次, 加 20 μ g/mL 的 RNA 酶, 37℃ 水浴 30 min, 流式细胞仪分析样本, 每组测定 6 个样本, 每个样本采集 1×10^4 个细胞, ModFit LT 软件分析出细胞周期各时相细胞数比例和凋亡率, 并计算细胞增殖指数 [PI = $(S+G_2/M)/(G_0/G_1+S+G_2/M) \times 100\%$]。

1.3.6 免疫细胞化学法 制备细胞爬片, 按试剂盒说明书进行 SP 操作。利用特异性单克隆抗体识别 PCNA 可鉴定出处于增殖期的细胞^[8], 采用图象分析系统对免疫组化结果进行半定量分析。在各染毒组中, 用高倍镜随机选取 5 个细胞分布均匀视野, 系统测定每个视野的阳性细胞数和总细胞数, 计算阳性细胞率, 测定阳性积分光密度 (反映免疫产物颜色的深浅, 颜色

越深, 值越高) 和阳性面积, 并计算阳性平均光密度 (阳性积分光密度/阳性面积)。

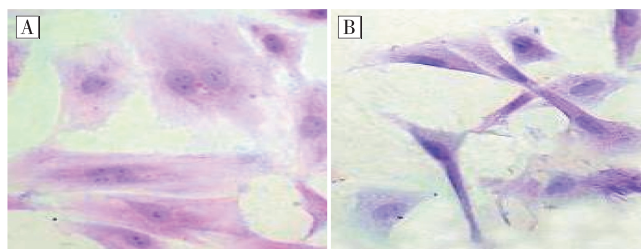
1.4 统计学分析

应用统计软件包 SAS8.02 版本对数据进行分析。计数资料采用行 $\times$ 列表的 χ^2 检验、趋势检验; 计量资料结果采用方差分析、直线相关分析。

2 结果

2.1 细胞生物学鉴定

光镜下观察 HE 染色, 对照组支持细胞胞体呈宽大的柱状或不规则状, 细胞质丰富, 可见小吞噬物及小空泡, 有一个或者多个粗大的突起, 细胞核饱满, 呈卵圆形或不规则形, 位于胞体的一侧, 核仁清晰可见; 染毒组细胞体积变小, 细胞质稀薄, 细胞长梭形开始明显 (图 1)。有功能的支持细胞天然、稳定、高表达 FAS-L, 而成纤维细胞及生精细胞均无 FAS-L 表达, 因此, 只要 FAS-L 表达阳性即可认定为支持细胞^[9]。经免疫组化染色后光镜下观察到: 支持细胞胞浆及胞膜呈棕黄色染色, 为 FAS-L 阳性表达, 经计数, 阳性着色的细胞数量占细胞总数的 90% 以上 (图 2)。



[注] A. 空白对照组 (Control of blank); B. 染毒组 (TBTCI-treated group)。

图 1 原代 SD 大鼠睾丸支持细胞 (HE 染色, $\times 400$)

Figure 1 Rat testis Sertoli cells in primary culture (HE $\times 400$)

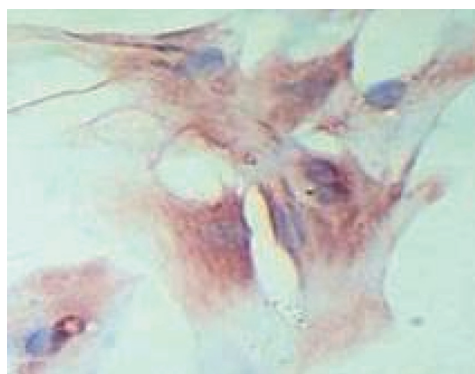


图 2 SD 大鼠睾丸支持细胞 FAS-L 表达 (免疫组化染色, $\times 400$)

Figure 2 FAS-L expression of Sertoli cells (SP, $\times 400$)

2.2 MTT 法测定细胞增殖

表 1 可见, 与空白对照组相比, 各 TBTCI 染毒组测得的支持细胞 D 值和细胞存活率均降低 ($P < 0.05$)。与溶剂对照组相比, 各 TBTCI 染毒组支持细胞 D 值和细胞存活率也均降低 ($P < 0.05$)。支持细胞 D 值随着染毒剂量的升高而明显降低, 经直线相关分析呈现出明显的剂量反应关系 ($P < 0.01$)。

表 1 MTT 法测 TBTCI 对大鼠睾丸支持细胞增殖的影响 ($n=8, \bar{x} \pm s$)
Table 1 The proliferation of TBTCI on rat testis Sertoli cells by MTT assay

分组 (Group, mol/L)	D	细胞存活率 (The rat of cells survival, %)
空白对照 (Control of blank)	0.751 ± 0.050	100.00
溶剂对照 (Control of solvent)	0.706 ± 0.051	91.34
20 × 10 ⁻⁹	0.632 ± 0.036 ^{##}	84.10 ^{##}
40 × 10 ⁻⁹	0.562 ± 0.049 ^{##}	74.80 ^{##}
80 × 10 ⁻⁹	0.521 ± 0.065 ^{##}	69.37 ^{##}
120 × 10 ⁻⁹	0.348 ± 0.053 ^{##}	46.34 ^{##}

[注]*: 与空白对照组比较 (Compared with control of blank), $P<0.05$;
#: 与溶剂对照组比较 (Compared with control of solvent), $P<0.05$ 。

2.3 细胞周期分布的改变

表 2 可见, 与空白对照组相比, 40 × 10⁻⁹、80 × 10⁻⁹、120 × 10⁻⁹ mol/L TBTCI 染毒组的 G₀/G₁ 期细胞比例均升高 ($P<0.05$)。与溶剂对照组相比, 各染毒组的 G₀/G₁ 期细胞比例均升高 ($P<0.05$)。各染毒组的 PI 值均低于空白对照组 ($P<0.05$)。

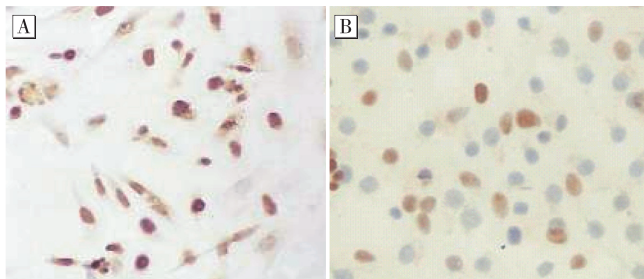
表 2 流式细胞仪测 TBTCI 对细胞周期分布的影响 ($n=6, \bar{x} \pm s, \%$)
Table 2 Cell cycle distribution of TBTCI in rat anterior pituitary cells by FCM

分组 (Group, mol/L)	细胞周期分布 (Distribution of cells cycle, %)			
	G ₀ /G ₁	S	G ₂ /M	PI
空白对照 (Control of blank)	81.57 ± 0.26	12.48	5.84	18.34
溶剂对照 (Control of solvent)	86.55 ± 0.38	8.03	9.55	16.88
20 × 10 ⁻⁹	91.53 ± 2.95 [#]	7.65 ± 0.26	5.23 ± 1.19	12.33 ± 2.63 [*]
40 × 10 ⁻⁹	92.14 ± 3.14 ^{##}	7.17 ± 0.64	5.20 ± 1.77	11.83 ± 1.99 [*]
80 × 10 ⁻⁹	93.32 ± 3.21 ^{##}	5.50 ± 2.10	4.72 ± 0.84	9.89 ± 2.03 [*]
120 × 10 ⁻⁹	94.94 ± 2.89 ^{##}	4.19 ± 1.02	5.08 ± 1.98	8.89 ± 1.01 [*]

[注]*: 与空白对照组比较 (Compared with control of blank), $P<0.05$;
#: 与溶剂对照组比较 (Compared with control of solvent), $P<0.05$ 。

2.4 免疫细胞化学分析结果

免疫细胞化学显色结果 (图 3) 显示, 空白对照组中的阳性支持细胞数较多, 细胞核着色明显, PCNA 的表达较强; 染毒组 PCNA 的表达显色明显较弱, 阳性细胞数较少, 且颜色较浅, 说明表达较弱。



[注]A. 空白对照组 (Control of blank); B. 染毒组 (TBTCI-treated group)。

图 3 TBTCI 对大鼠睾丸支持细胞 PCNA 表达的影响 (SP 染色, ×400)
Figure 3 PCNA expression in Sertoli cells

表 3 可见, 与空白对照组相比, 40 × 10⁻⁹、80 × 10⁻⁹、120 × 10⁻⁹ mol/L 染毒组阳性细胞率显著降低 ($P<0.05$), 80 × 10⁻⁹、120 × 10⁻⁹ mol/L 染毒组的阳性平均光密度也明显降低 ($P<0.05$); 与溶剂对照组相比, 80 × 10⁻⁹、120 × 10⁻⁹ mol/L TBTCI

染毒组阳性细胞率和阳性平均光密度降低 ($P<0.05$)。随着 TBTCI 作用剂量的升高, 其细胞 PCNA 阳性细胞率、阳性平均光密度均下降, 经分析均呈现出剂量-反应关系 ($P<0.01$)。

表 3 TBTCI 对大鼠睾丸支持细胞 PCNA 的影响 ($n=6, \bar{x} \pm s$)
Table 3 Immunohistochemical analysis of PCNA expression in Sertoli cells

分组 (mol/L) Groups	阳性细胞率 (%) Positive cells rate	阳性平均光密度 Positive average density of light
空白对照 (Control of blank)	41.87 ± 6.05	0.42 ± 0.08
溶剂对照 (Control of solvent)	37.20 ± 3.12	0.44 ± 0.02
20 × 10 ⁻⁹	36.14 ± 6.01	0.35 ± 0.06
40 × 10 ⁻⁹	32.18 ± 4.35 [*]	0.33 ± 0.04
80 × 10 ⁻⁹	26.98 ± 3.54 ^{##}	0.29 ± 0.05 ^{##}
120 × 10 ⁻⁹	17.69 ± 4.15 ^{##}	0.23 ± 0.01 ^{##}

[注]*: 与空白对照组比较 (Compared with control of blank), $P<0.05$;
#: 与溶剂对照组比较 (Compared with control of solvent), $P<0.05$ 。

3 讨论

睾丸支持细胞是生精上皮中唯一的非生殖细胞, 研究发现它可通过支持、粘附、信号转导和基因位点表达等对血脑屏障的结构和功能起维持和促进作用^[10], 除对生精细胞起支持和营养作用外^[11], 还能以分泌多种物质的方式调节睾丸间质细胞和局部免疫的功能^[12], 鉴于支持细胞体内外毒性实验具有简便、省时、毒性检测明确、重复性好等优点, 有学者提出它可以作为生殖毒物的初筛替代系统^[13], 另外在细胞水平和分子水平鉴别毒物的作用位点和作用机理研究中也有重要的价值。

本实验结果显示, 不同染毒剂量的 TBTCI 均使睾丸支持细胞的存活率和 D 值下降, 且随着 TBTCI 浓度的增加, 支持细胞存活率下降的趋势逐渐明显, 且呈现出剂量-反应关系。提示 TBTCI 对大鼠睾丸支持细胞增殖有明显的抑制作用。根据目前对 TBTCI 的研究进展, 我们分析 TBTCI 对睾丸支持细胞增殖的抑制作用可能跟其对细胞凋亡的促进作用有关。关于 TBTCI 诱导细胞凋亡的途径, 根据文献报道是通过破坏线粒体活性, 导致细胞内 Ca²⁺ 浓度升高, 引起线粒体水平活性氧的升高和细胞色素 C 从线粒体的释放, 然后 Caspase 被激活, 最终导致凋亡^[14]。支持细胞通过细胞凋亡和增殖维持着一个相对稳定的状态, 凋亡和增殖之间的平衡一旦破坏, 将发生组织形态学改变^[15]。

流式细胞仪分析结果显示 TBTCI 干扰了大鼠睾丸支持细胞的周期分布: 随着 TBTCI 作用剂量的提高, PI 逐渐下降, 两者呈现出剂量-反应关系, 进一步提示 TBTCI 可抑制支持细胞的增殖。且随着染毒剂量的加大, G₀/G₁ 期细胞比例增加, 提示导致抑制细胞增殖的机制是由于细胞阻滞于 G₀/G₁ 期, 在静止期细胞比例增加, 而 DNA 复制期和分裂期细胞比例减少, 阻滞细胞分裂进程, 进而达到抑制细胞增殖的作用。

PCNA 在启动细胞增殖上起重要作用, 检测 PCNA 在细胞内的表达, 可作为评价细胞增殖状态的一个指标^[16]。本实验分析结果显示, PCNA 表达量随着 TBTCI 处理剂量的加大, 逐渐下降, 处理组与对照组相比呈剂量依赖性下降, 这与 PCNA 表达细胞计数结果一致。高剂量染毒组可导致细胞 PCNA 表达减少, 提示可能使细胞阻滞在 G₁/G₀ 期, 进一步说明 TBTCI 能抑

制睾丸支持细胞增殖,与流式细胞术检测结果相吻合。有研究发现 TBTCI 是蛋白合成抑制剂,很可能是通过诱导一系列逆境胁迫基因的表达导致 PCNA 表达量下降^[17]。

综上所述, TBTCI 可抑制雄性大鼠睾丸支持细胞的增殖,影响细胞周期分布,降低 PCNA 表达量。而这将直接破坏生精细胞的微环境,阻断能量供应,影响生精细胞的质量和数量并最终影响整个生精过程,从而表现出对雄性大鼠的生殖毒性。

参考文献:

- [1] HUGGETT R J, UNGER M A, SELIGMAN P F, et al. The marine biocide tributyltin. Assessing and managing the environmental risks[J]. Environ Sci Technol, 1992, 26(2): 232-237.
- [2] KONSTANTINOOU I K, ALBANIS T A. Worldwide occurrence and effects of antifouling paint booster biocides in the aquatic environment: a review[J]. Environ Int, 2004, 30(2): 235-248.
- [3] TITLEY O, CASSANDER P, MACDONALD. The relationship between imposex and tributyltin (TBT) concentration in strombus gigas from the British Virgin Islands[J]. B Mar Sci, 2011, 87(3): 421-435.
- [4] 朱欣, 徐立红. 三丁基锡引起人羊膜细胞氧化损伤及 DNA 损伤的研究[J]. 癌变 · 畸变 · 突变, 2008, 20(4): 299-302.
- [5] RAYEHOUDHURY S S, FLOWERS A F, MILLETTE C F, et al. Toxic effects of polychlorinated biphenyls on cultured rat sertoli cells[J]. J Androl, 2000, 21(6): 964-973.
- [6] 邱志群, 舒为群, 付文娟, 等. 大鼠睾丸支持细胞的分离、鉴定与培养[J]. 癌变 · 畸变 · 突变, 2008, 20(4): 318-321.
- [7] 曹博, 郑俊波, 郭筠秋. 大鼠睾丸支持细胞的分离纯化与鉴定[J]. 解剖科学进展, 2004, 10(1): 34-36.
- [8] 福克斯 J B. 实验动物学[M]. 北京: 北京人民出版社, 1991: 114-148.
- [9] NANDI S, BANERJEE P P, ZIRKIN B R. Germ cell apoptosis in the testes of Sprague Dawley rats following testosterone withdrawal by ethane 1, 2-dimethanesulfonate administration: relationship to Fas? [J]. Biol Reprod, 1999, 61(1): 70-75.
- [10] 成令忠. 组织学[M]. 2 版. 北京: 人民卫生出版社, 1993: 1345-1396.
- [11] 余晓晖, 胡云飞. 睾丸支持细胞的生物学特性及研究进展[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2010, 14(44): 8311-8314.
- [12] PINEAU C, DUPAIX A, JÉGOU B. The co-culture of sertoli cells and germ cells: applications in toxicology[J]. Toxicol In Vitro, 1999, 13(4-5): 513-520.
- [13] SYNG-AI C, BASU-BAUL T S, CHATTERJEE A. Antiproliferative and cytotoxic effect of a novel organotin compound on mammalian cells both in vitro and in vivo[J]. Mutat Res, 2002, 513(1-2): 49-59.
- [14] 朱欣, 徐立红. 三丁基锡诱导细胞凋亡的机制[J]. 环境与健康杂志, 2005, 22(2): 155-157.
- [15] BERNAL-MAÑAS C M, MORALES E, PASTOR L M, et al. Proliferation and apoptosis of spermatogonia in postpubertal boar (Sus domesticus) testes with spontaneous unilateral and bilateral abdominal cryptorchidism[J]. Acta Histochem, 2005, 107(5): 365-372.
- [16] ZHIGANG GUO, LI ZHENG, HONG XU, et al. Methylation of FEN1 suppresses nearby phosphorylation and facilitates PCNA binding[J]. Nat Chem Biol, 2010, 6(10): 766-773.
- [17] KISHTA O, ADEEKO A, LI D, et al. In utero exposure to tributyltin chloride differentially alters male and female fetal gonad morphology and gene expression profiles in the Sprague-Dawley rat[J]. Reprod Toxicol, 2007, 23(1): 1-11.
- [18] 米兆娟, 李杰. 三丁基氯化锡对哺乳动物生殖毒性及作用机制[J]. 中国公共卫生, 2001, 23(3): 364-366.

(收稿日期: 2011-04-03)

(英文编审: 黄建权; 编辑: 洪琪; 校对: 丁瑾瑜)

【告知栏】

《中国职业医学》杂志 2012 年征订启事

《中国职业医学》杂志系中华人民共和国卫生部主管,由中华预防医学会和华南区域劳动卫生职业病防治中心联合主办,国内外公开发行的中国科技核心期刊、中国生物医学核心期刊、中文核心期刊预防医学卫生学类核心期刊,为卫生部首届医药卫生优秀期刊、中华预防医学会优秀期刊、广东省优秀科技期刊、中国学术期刊(光盘版)执行规范优秀杂志。本刊属中国科技论文统计源期刊、中国核心期刊(遴选)数据库来源期刊、中国学术期刊综合评价数据库来源期刊,是从事职业病防治科研、教学、监督、管理、技术服务等专业人员的良师益友。本刊为标准大 16 开本, 88 页, 双月刊(逢双月 20 日出版)。统一刊号: ISSN 1000-6486/CN44-1484/R。

本刊 2012 年每本定价 6.00 元, 全年 36.00 元。欲订者可到当地邮局办理手续, 如漏订可直接汇款到本刊编辑部购买。热诚欢迎征订、来稿、刊登广告。邮发代号: 46-103; 国际代号: 4903BM; 电话(传真): 020-84197595; 34063079; E-mail: zgzyyx@gdoh.org; zgzyyx@21cn.com

《中国职业医学》编辑部