

论著·基础研究 doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2016.17.006

siRNA 抑制 HMGA1 基因表达对 LX-2 细胞生物学功能的影响*

胡蕾,刘莉,张霜,杜芳腾[△],张吉翔

(南昌大学第二附属医院消化内科/江西省分子医学重点实验室,南昌 330006)

[摘要] **目的** 探讨高迁移率蛋白 A1(HMGA1)siRNA 对人肝星状细胞 HMGA1、 α -SMA、E-钙黏素(E-cadherin)基因的表达调控作用及增殖活性的影响,并探讨其可能的机制。**方法** 将有效的人工合成的 HMGA1 siRNA 转染人肝星状细胞 LX-2(LX-2)后沉默 HMGA1 基因的表达。通过实时荧光定量 PCR(RT-PCR)及蛋白免疫印迹法(Western blot)检测 LX-2 细胞中 HMGA1、 α -SMA 和 E-cadherin 的 mRNA 及蛋白表达水平。采用四甲基偶氮唑盐(MTT)法检测 LX-2 细胞增殖水平。**结果** 以 HMGA1-siRNA 序列 1 组沉默效果最好。TGF- β 1 刺激组与 TGF- β 1+NC-siRNA 组之间细胞增殖水平、HMGA1、 α -SMA、E-cadherin 的基因及蛋白表达水平差异无统计学意义($P>0.05$),细胞增殖水平、HMGA1、 α -SMA 表达均明显高于正常对照组($P<0.05$),E-cadherin 表达显著低于正常对照组($P<0.05$);TGF- β 1+HMGA1 siRNA 组细胞增殖水平及 HMGA1、 α -SMA 的 mRNA 及蛋白表达水平较另外 3 组均显著下降($P<0.05$),E-cadherin 表达水平显著增高($P<0.05$)。**结论** 靶向 HMGA1 的 siRNA 能够沉默 LX-2 中 HMGA1 的表达;抑制 TGF- β 1 诱导的 LX-2 增殖水平,提示 HMGA1 参与了 TGF- β 1 诱导的肝星状细胞活化。

[关键词] 高迁移率蛋白 A1;RNA 干扰;肝星状细胞;肝纤维化**[中图分类号]** R575.2**[文献标识码]** A**[文章编号]** 1671-8348(2016)17-2323-04**Effects of siRNA inhibit HMGA1 gene expression on LX-2 cell biological functions***Hu Lei, Liu Li, Zhang Shuang, Du Fangteng[△], Zhang Jixiang

(Department of Gastroenterology, the Second Affiliated Hospital of Nanchang University/Key Laboratory of Molecular Medicine of Jiangxi Provincial, Nanchang, Jiangxi 330006, China)

[Abstract] **Objective** To investigate the effects of siRNA mediated HMGA1 silence on proliferation and the gene expression of HMGA1, α -SMA and E-cadherin in activated hepatic stellate cells and its mechanisms. **Methods** Synthetic HMGA1 siRNA was transfected into LX-2 cells to silence the HMGA1 gene. The expression level of HMGA1, α -SMA and E-cadherin was determined by RT-PCR and Western blot experiments. LX-2 cell proliferation was assessed by MTT assay. **Results** The best inhibited effect was HMGA1-siRNA-1. Compared with control group, the cell proliferation and the mRNA and protein expression of HMGA1, α -SMA in TGF- β 1 group and TGF- β 1+NC-siRNA group were significantly increased ($P<0.05$), without significant differences between the two groups ($P>0.05$), while the expression of E-cadherin in TGF- β 1 group and TGF- β 1+NC-siRNA group were significantly decreased compared with control group ($P<0.05$). Meanwhile, the cells in TGF- β 1+HMGA1 siRNA group showed significantly decreased proliferation level, down-regulated mRNA and protein expression of HMGA1, α -SMA but up-regulated expression of E-cadherin compared with TGF- β 1 group and TGF- β 1+NC-siRNA group ($P<0.05$). **Conclusion** HMGA1 interference could significantly down-regulate the expression of HMGA1 in LX-2 cells cultured with TGF- β 1, thus inhibiting the proliferation and activation of the cells.

[Key words] high mobility group AT-hook 1; RNAi; hepatic stellate cell LX-2; liver fibrosis

肝纤维化是在各种致病因素作用下肝脏内纤维结缔组织异常增生的代偿反应,其本质是肝脏组织内细胞外基质合成大于降解^[1]。研究表明某些干预措施如促进细胞外基质降解可促使肝纤维化进程逆转^[2]。肝损伤过程中,肝星状细胞被激活发生表型转化后能够获得肌成纤维细胞特性,进而增加细胞收缩性和胶原合成,这种过程受多种细胞因子调控。Shimada 等^[3]用纤维化过程中的重要转化刺激因子(transforming growth factor- β 1, TGF- β 1)诱导 24 h 来激活人肝星状细胞 LX-2(hepatic stellate cell LX-2, LX-2)来构建体外肝纤维化实验模型。高迁移率族蛋白 A1(high mobility group AT-hook 1, HMGA1)是高迁移率族蛋白中一员,作为转录因子的辅助因子参与真核生物的转录过程^[4]。文献报道 HMGA1 基因在不同胚胎起源的肿瘤相关基因的转录调控过程中发挥着重要的

作用^[5]。但 HMGA1 在肝纤维化中的表达研究报道尚罕见。本研究旨在通过干扰人 LX-2 细胞中 HMGA1 基因的表达,研究其对 LX-2 生物学功能的影响,初步探讨 HMGA1 在肝纤维化形成过程中的作用。

1 材料与方

1.1 材料 人肝星状细胞 LX-2 购自湘雅中心实验室细胞库。试剂:重组人 TGF- β 1(美国 PeproTech 公司);胎牛血清(FBS,美国 Hyclone 公司);DMEM 培养基、0.25%胰酶、溴化乙锭(EB,上海索来宝生物科技有限公司);FuGENE6(美国罗氏公司)。实时荧光定量 PCR(RT-PCR)所需的 Trizol(美国 Invitrogen 公司);Taq PCR Super Mix、DNA Markr I(北京天根生化科技有限公司);逆转录试剂盒(加拿大 Fermenters 公司)。总蛋白提取试剂盒(北京普利莱基因技术有限公司)。各

目的基因引物由上海捷瑞公司合成。兔抗人 HMGA1、 α -SMA 及 E-钙黏素(E-cadherin)单克隆抗体均购自英国 Abcam 公司,山羊抗鼠 IgG、鼠抗人 β -actin 单克隆抗体和山羊抗兔 IgG 购自北京中杉金桥生物技术有限公司。四甲基偶氮唑蓝(MTT,上海普飞生物科技有限公司)。DEPC(Diethyl pyrocarbonate)、二甲亚砜(DMSO,美国 Ameresco 公司)。

1.2 方法

1.2.1 siRNA 的设计与合成 Negative siRNA control(NC-siRNA)作为阴性对照由广州市锐博生物科技有限公司设计与合成,另设计与合成含 3 对 HMGA1-siRNA 序列(BC004924)的 siRNA,分别是 HMGA1-siRNA-1, HMGA1-siRNA-2 和 HMGA1-siRNA-3,见表 1、2。

表 1 各引物序列

基因	引物序列	产物长度(bp)	退火温度(°C)
HMGA1	正义链 5'-AAAAGGACGGCACTGAGAA-3'	229	57
	反义链 5'-GGAGCTGGGAAGTGAAGGC-3'		
α -SMA	正义链 5'-TTACGAGTTGCCTGATGG-3'	128	52
	反义链 5'-TGCTGTTGTAGTGGTTTC-3'		
E-cadherin	正义链 5'-AGTGAAACAACGATGGCAATT-3'	412	54
	反义链 5'-CTCAGCCCGAGTGGAAAT-3'		
β -actin	正义链 5'-CGGGAATTCGTGCGTGAC-3'	434	56
	反义链 5'-TGGAAGGTGGACAGCGAGG-3'		

表 2 3 组特异性 HMGA1 siRNA 序列

名称	序列
HMGA1-siRNA-1	正义链 5'-UGGAGAAGGAGGAAGAGGA dTdT-3'
	反义链 3'-dTdT ACCUCUCCUCCUCCUCCU-5'
HMGA1-siRNA-2	正义链 5'-UGGCCUCAAGCAGAAAA dTdT-3'
	反义链 3'-dTdT ACCGAGGUUCGUCCUUUU-5'
HMGA1-siRNA-3	正义链 5'-CACAAUCCAGGAAGGAAA dTdT-3'
	反义链 3'-dTdT GUGUUGAGGUCCUCCUUU-5'

1.2.2 人肝星状细胞株 LX-2 的培养及传代 用混合培养基 DMEM[含 10% 胎牛血清(Hyclone)、100 U/mL 青霉素及 100 U/mL 链霉素]于 37 °C、含 5% CO₂ 的孵箱中培养,细胞贴壁生长,用 0.25% 胰蛋白酶消化,2~3 d 传代 1 次。

1.2.3 细胞转染及有效 HMGA1 siRNA 筛查 将细胞分为以下 6 组:空白对照组(只转染脂质体,无特异性 siRNA)、正常对照组(正常培养的 LX-2 细胞)、阴性对照组(HMGA1 NC-siRNA)、HMGA1-siRNA-1 组、HMGA1-siRNA-2 组及 HMGA1-siRNA-3 组。将处于对数生长期的 LX-2 以 2×10^5 个/孔的密度铺于 6 孔板中,常规培养,待细胞贴壁达 30%~50% 融合率时进行转染。转染前,换用不含血清和抗生素的 DMEM 培养基 2 mL 培养。按 FuGENE6 试剂盒说明书操作。转染后 6 h,换成常规含 5% FBS 的 DMEM 培养液继续培养 48 h。分别提取 RNA 及总蛋白,采用半定量实时荧光定量 PCR(RT-PCR)及蛋白免疫印迹法(Western blot)检测 HMGA1 基因和蛋白的表达,重复 3 次。筛选出对 HMGA1 干扰效果最佳的一组序列用于实验。

1.2.4 HMGA1-siRNA 对经过 TGF- β 1 刺激后的 LX-2 细胞中 HMGA1、 α -SMA、E-cadherin 表达的影响 将细胞分为 4 组:TGF- β 1 刺激组(经 TGF- β 1 处理,未转染)、TGF- β 1 + NC-siRNA 组(经 TGF- β 1 处理,转染加入 NC siRNA)、TGF- β 1 + HMGA1-siRNA 组(经 TGF- β 1 处理,转染加入 HMGA1-siRNA)、对照组(无 TGF- β 1 刺激,未转染),其中培养液中 TGF- β 1 终浓度为 10 ng/mL。转染步骤同前,转染 24 h 后,再加入 TGF- β 1 孵育 24 h,提取各组总 RNA 及总蛋白,采用 Western blot 和半定量 RT-PCR 检测 HMGA1、 α -SMA、E-cadherin 蛋

白和基因的表达。

1.2.5 半定量 RT-PCR 检测 按 Trizol 试剂盒操作说明提取细胞总 RNA,取光密度(OD)_{260/280} 比值接近 2.0 的 RNA 进行试验。应用 Fermentas 逆转录试剂盒,取 6 μ L RNA 反转录成 cDNA,以此为模板进行 PCR 扩增。参照 Two-Step RT-PCR 试剂盒操作说明书进行 RT-PCR,取 2 μ L cDNA,总反应体积为 25 μ L,进行 PCR 反应。扩增条件,HMGA1:94 °C 5 min;94 °C 45 s;57 °C 45 s,72 °C 45 s,35 个循环;72 °C 10 min。 α -SMA:94 °C 5 min;94 °C 45 s;52 °C 45 s,72 °C 45 s,35 个循环;72 °C 10 min。E-cadherin:94 °C 5 min;94 °C 45 s;54 °C 45 s,72 °C 45 s,35 个循环;72 °C 10 min。 β -actin:94 °C 5 min;94 °C 45 s;56 °C 45 s,72 °C 45 s,35 个循环;72 °C 10 min。PCR 产物经 1.5% 琼脂糖凝胶电泳(含 5 mg/L 溴化乙锭)后,紫外灯下观察结果。通过 Quantity One 图像分析软件(Bio-Rad 公司),获得相应组的 HMGA1、 α -SMA、E-cadherin mRNA 的相对表达量(均以 β -actin 来标化)。

1.2.6 Western blot 检测 按蛋白提取试剂盒说明进行 Western blot 检测,提取各组细胞的总蛋白,BCA 法测定蛋白浓度。取 30 μ g 的蛋白调至等体积上样,经不同浓度(HMGA1、 α -SMA、E-cadherin 分别用 15%、12% 及 6%)的十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE),继而把蛋白转移至 PVDF 膜上,将膜用含 5% 脱脂奶粉的 TBST 液室温封闭 2 h,分别加封闭液稀释的 I 抗:HMGA1(1:1 000)、 α -SMA(1:800)、E-cadherin(1:1 000)和 β -actin(1:1 000)置于 4 °C 孵育过夜,洗涤后加入用封闭液稀释辣根过氧化物酶(HRP)标记的 II 抗室温孵育 2 h,洗涤后经显色、曝光、显影、定影后拍照并观察结果,用 β -actin 标化,经 Quantity One 图像分析软件获得各组蛋白相对表达量。

1.2.7 MTT 比色法检测细胞增殖 转染前 1 d 收集对数生长期的 LX-2 细胞并接种于 96 孔板中。依 1.2.3 的分组及转染方式操作。分别在每孔加入含有 10% MTT 溶液 20 μ L,常规培养 4 h 后加入 DMSO。酶标仪测定 4 组细胞各孔吸光度(A)值(492 nm),计算各组均值。

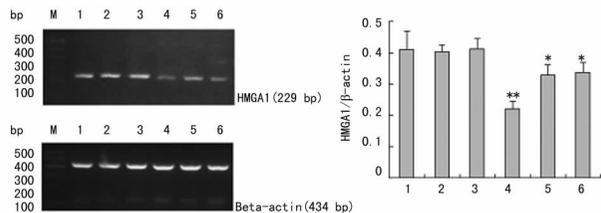
1.3 统计学处理 采用 SPSS 18.8 统计软件进行分析,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用单因素方差分析,并用 SNK-*q* 检验行组间两两比较,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 HMGA1 基因沉默对 LX-2 细胞中 HMGA1 mRNA、蛋白表达的影响 用脂质体转染法将 siRNA 转染 LX-2 细胞后,3 个干扰组的细胞内 HMGA1 mRNA 表达水平均较其他对照组降低($P < 0.05$)。其中 HMGA1-siRNA-1 组干扰效果最好,mRNA 表达最少($P < 0.05$)。Western blot 检测结果与半定量 RT-PCR 检测一致,HMGA1 的蛋白表达量显著下降($P < 0.05$),见图 1、2。

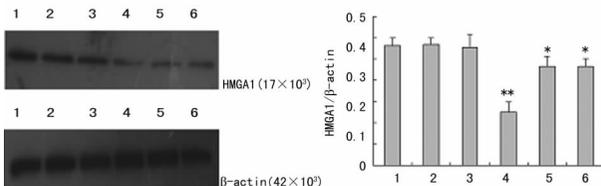
2.2 HMGA1-siRNA 对经过 TGF- β 1 刺激后的 LX-2 细胞中 HMGA1、 α -SMA、E-cadherin mRNA 和蛋白表达的影响 半定量 RT-PCR 结果显示,TGF- β 1 + NC-siRNA 组与 TGF- β 1 刺激组之间 E-cadherin、HMGA1、 α -SMA 的 mRNA 及蛋白表达水平差异无统计学意义($P > 0.05$),HMGA1、 α -SMA 表达均显著高于对照组($P < 0.05$),E-cadherin 表达显著低于对照组($P < 0.05$)。与 TGF- β 1 刺激组及 TGF- β 1 + NC-siRNA 组相比较,TGF- β 1 + HMGA1 siRNA 组中 HMGA1、 α -SMA 的 mRNA 及蛋白表达水平均显著下降($P < 0.05$),E-cadherin 表达水平显著增高($P < 0.05$)。Western blot 检测结果与半定量

RT-PCR 检测一致,见图 3、4。



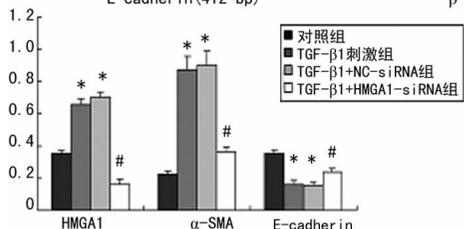
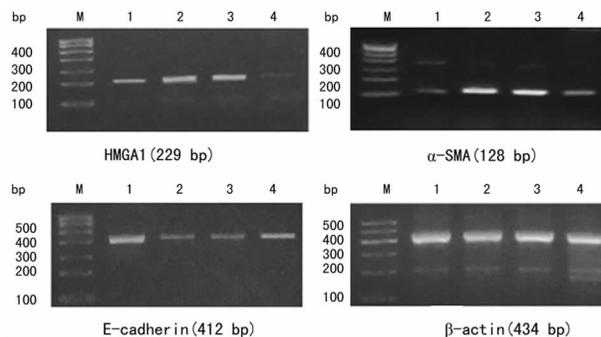
M: Marker; 1: 正常对照组; 2: 空白对照组; 3: 阴性对照组; 4: HMGA1-siRNA-1 组; 5: HMGA1-siRNA-2 组; 6: HMGA1-siRNA-3 组; *: $P < 0.05$; **: $P < 0.01$, 与正常对照组、空白对照组、阴性对照组比较。

图 1 半定量 RT-PCR 检测 HMGA1 siRNA 转染 LX-2 细胞 48 h 后 HMGA1 的 mRNA 表达



1: 正常对照组; 2: 空白对照组; 3: 阴性对照组; 4: HMGA1-siRNA-1 组; 5: HMGA1-siRNA-2 组; 6: HMGA1-siRNA-3 组; *: $P < 0.05$; **: $P < 0.01$, 与正常对照组、空白对照组、阴性对照组比较。

图 2 Western blot 检测 HMGA1 siRNA 转染 LX-2 细胞 48 h 后 HMGA1 的蛋白表达情况



M: Marker; 1: 对照组; 2: TGF-β1 刺激组; 3: TGF-β1 + NC-siRNA 组; 4: TGF-β1 + HMGA1-siRNA 组; *: $P < 0.05$, 与对照组比较; #: $P < 0.05$, 与 TGF-β1 刺激组和 TGF-β1 + NC-siRNA 组比较。

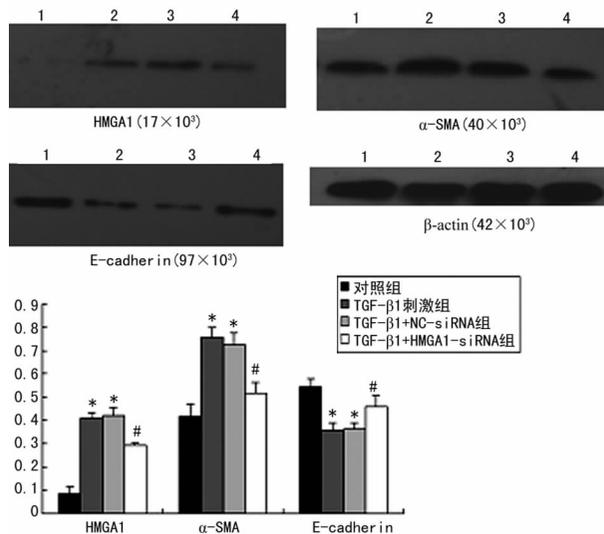
图 3 HMGA1 siRNA 对经过 TGF-β1 刺激后的 LX-2 细胞中 HMGA1、α-SMA、E-cadherin 的 mRNA 表达

表 3 转染 HMGA1-siRNA 后 LX-2 细胞增殖活力的变化

组别	$\bar{x} \pm s$
对照组	0.352 ± 0.029
TGF-β1 刺激组	0.793 ± 0.059*
TGF-β1 + NC-siRNA 组	0.752 ± 0.042*
TGF-β1 + HMGA1-siRNA 组	0.482 ± 0.05#

*: $P < 0.05$, 与对照组比较; #: $P < 0.05$, 与 TGF-β1 刺激组和 TGF-β1 + NC-siRNA 组比较。

2.3 转染 HMGA1-siRNA 后 LX-2 细胞增殖活力的变化 TGF-β1 刺激组和 TGF-β1 + NC-siRNA 组所测得 A 值与对照组相比显著升高, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$); TGF-β1 刺激组和 TGF-β1 + NC-siRNA 组间差异无统计学意义 ($P > 0.05$); TGF-β1 + HMGA1-siRNA 组的 A 值与 TGF-β1 刺激组和 TGF-β1 + NC-siRNA 组相比显著下降, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 见表 3。



1: 对照组; 2: TGF-β1 刺激组; 3: TGF-β1 + NC-siRNA 组; 4: TGF-β1 + HMGA1-siRNA 组; *: $P < 0.05$, 与对照组比较; #: $P < 0.05$, 与 TGF-β1 刺激组和 TGF-β1 + NC-siRNA 组比较。

图 4 HMGA1-siRNA 对经过 TGF-β1 刺激后的 LX-2 细胞中 HMGA1、α-SMA、E-cadherin mRNA 和蛋白表达

3 讨论

上皮间质转化 (epithelial-mesenchymal transitions, EMT) 是指成熟的上皮细胞经历了短暂结构改变, 同时细胞表型发生改变, 失去部分上皮细胞用以维持细胞极性及形态, 同时表达间充质细胞标记蛋白如波形蛋白、α-SMA、成纤维细胞特异性蛋白-1 等, 细胞迁移与侵袭能力增强, 而细胞间黏附力减弱, 同时可获得抗凋亡和降解细胞外基质的潜能^[6-7]。EMT 在促进癌细胞转移、创伤愈合及器官纤维化^[8-9]的过程中担当重要角色。上皮组织来源的肿瘤细胞可经 EMT 过程实现其在体内的侵袭和转移行为, 使细胞获得更加适合于在细胞外环境中运动和迁移的表型。早期阻断某些诱导 2 型 EMT 的配体可以逆转上皮细胞表型转化。研究发现静息性 HSC、肝细胞和胆管上皮细胞都能经 EMT 转化为肌成纤维细胞, 这表明肝实质上皮细胞也参与了肝纤维化进程^[10-11]。因此, EMT 过程在肝纤维化的发生、发展中可能起一定作用。

资料表明, 染色质的核骨架结合序列 (MARs/SARs) 处, HMGA1 可取代组蛋白 H1, 进而活化染色质的转录^[12]。HMGA1 并不直接参与转录, 而是促使其他转录因子结合、聚集, 调节转录起始过程^[13]。正常情况下, HMGA1 在分化成熟的组织中几乎不表达, 而主要存在于胚胎发育期及快速增殖的细胞内^[14]。HMGA1 基因生物学行为类似癌基因, 位于许多肿瘤细胞染色体断裂点簇集区, 在转录水平抑制许多基因的表达。许永华等^[15]研究发现, HMGA1 基因和肿瘤的肝内转移相关, 其在肝细胞癌中的表达显著高于正常肝组织。笔者探讨 HMGA1 通过 EMT 参与了肝纤维化发展。

本课题实验结果表明, TGF-β1 作用于 LX-2 对 HMGA1

基因表达有上调作用,且靶向 HMGA1 的 siRNA 能沉默 LX-2 细胞中 HMGA1 的表达,且以 HMGA1-siRNA-1 组的沉默效果最佳。干扰 HMGA1 基因可显著抑制 TGF- β 1 对 HMGA1、 α -SMA 基因和蛋白表达的诱导作用;同时也可抑制 TGF- β 1 诱导 LX-2 增殖水平的升高,减轻对 E-cadherin 表达的抑制作用,提示其参与了 TGF- β 1 诱导的肝星状细胞活化。

综上所述, HMGA1 基因在以星状细胞活化为中心的肝纤维化进程中发挥了重要作用。本课题为 HMGA1 在肝纤维化中的重要作用提供了直接的理论依据。未来研究重点将转向动物实验,如何将其导入体内并确保其有效性、安全性等诸多方面的问题有待进一步的探索。抑制 HMGA1 的表达有望成为临床防治肝纤维化的一个新靶点。

参考文献

- [1] Hernandez-Gea V, Friedman SL. Pathogenesis of liver fibrosis[J]. Annu Rev Pathol, 2011(6):425-456.
- [2] Friedman SL. Liver fibrosis: from mechanisms to treatment[J]. Gastroenterol Clin Biol, 2007, 31(10):812-814.
- [3] Shimada H, Staten NR, Rajagopalan LE. TGF- β 1 mediated activation of Rho kinase induces TGF- β 2 and endothelin-1 expression in human hepatic stellate cells[J]. Hepatol, 2011, 54(3):521-528.
- [4] Reeves R. Molecular biology of HMGA proteins: hubs of nuclear function[J]. Gene, 2001, 277(1/2):63-81.
- [5] Liau SS, Rocha F, Matros E, et al. High mobility group AT-hook 1 (HMGA1) is an independent prognostic factor and novel therapeutic target in pancreatic adenocarcinoma[J]. Cancer, 2008, 113(2):302-314.
- [6] Firrincieli D, Boissan M, Chignard N. Epithelial-mesenchymal transition in the liver[J]. Gastroenterol Clin Biol, 2010(34):523-528.
- [7] Kalluri R, Weinberg RA. The basics of epithelial-mesenchymal transition[J]. J Clin Invest, 2009 (119): 1420-

1428.

- [8] Zeisberg EM, Tarnavski O, Zeisberg M, et al. Endothelial-to-mesenchymal transition contributes to cardiac fibrosis[J]. Nat Med, 2007(13):952-961.
- [9] Ward C, Forrest IA, Murphy DM, et al. Phenotype of airway epithelial cells suggests epithelial to mesenchymal cell transition in clinically stable lung transplant recipients[J]. Thorax, 2005, 60(1):865-871.
- [10] Zeisberg M, Yang C, Martino M, et al. Fibroblasts derive from hepatocytes in liver fibrosis via epithelial to mesenchymal transition[J]. Biol Chem, 2007, 282(32):23337-23347.
- [11] Choi SS, Omenetti A, Witek RP, et al. Hedgehog pathway activation and epithelial-to-mesenchymal transitions during myofibroblastic transformation of rat hepatic cells in culture and cirrhosis[J]. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol, 2009, 297(6):G1093-1106.
- [12] Cleynen I, Van de Ven WJ. The HMGA proteins: a myriad of functions (Review) [J]. Int J Oncol, 2008, 32(2):289-305.
- [13] Bustin M. Revised nomenclature for high mobility group (HMG) chromosomal proteins[J]. Trends Biochem Sci, 2001(26):152-153.
- [14] Wang EL, Qian ZR, Rahman MM, et al. Increased expression of HMGA1 correlates with tumour invasiveness and proliferation in human pituitary adenomas [J]. Histopathology, 2010(56):501-509.
- [15] 许永华, 李长贤, 陈杰, 等. 高迁移率族蛋白 A1(HMGA1) 在肝细胞癌中的表达及临床意义[J]. 南京医科大学学报(自然科学版), 2010(3):304-308, 365.

(收稿日期:2015-11-18 修回日期:2016-02-22)

《中文核心期刊要目总览(2014 年版)》综合性医药卫生类核心期刊

序号	刊名	序号	刊名	序号	刊名
1	中华医学杂志	15	复旦学报·医学版	28	郑州大学学报·医学版
2	第三军医大学学报	16	重庆医科大学学报	29	中国比较医学杂志
3	南方医科大学学报	17	上海交通大学学报·医学版	30	安徽医科大学学报
4	中国医学科学院学报	18	中国全科医学	31	山东大学学报·医学版
5	北京大学学报·医学版	19	吉林大学学报·医学版	32	上海医学
6	中山大学学报·医学科学版	20	华中科技大学学报·医学版	33	军事医学
7	第二军医大学学报	21	首都医科大学学报	34	东南大学学报·医学版
8	解放军医学杂志	22	中国医科大学学报	35	福建医科大学学报
9	四川大学学报·医学版	23	重庆医学	36	山东医药
10	中南大学学报·医学版	24	医学研究生学报	37	医学与哲学·人文社会医学版(与: 医学与哲学·临床决策论坛版 合并改名为:医学与哲学)
11	西安交通大学学报·医学版	25	实用医学杂志		
12	浙江大学学报·医学版	26	广东医学		
13	中国现代医学杂志	27	南京医科大学学报·自然科学版		
14	医学争鸣				