DOI:10.16016/j.1000-5404.2004.20.010
第26卷第20期 第三军医大学学报 Vol. 26, No. 20
2004年10月 ACTA ACADEMIAE MEDICINAE MILITARIS TERTIAE Oct. 2004

文章编号:1000-5404(2004)20-1819-04

论著

血管紧张素Ⅱ诱导乳鼠心肌细胞凋亡的研究

赵榆华,迟路湘,陈 一茂 (第三军医大学西南医院心血管内科,重庆 400038)

提 要:目的 观察血管紧张素Ⅱ(angiotensinⅡ,AngⅡ)/1型受体拮抗剂(AT1R antagonist)对心肌细胞凋亡的影响及其机制。方法 体外培养的Wistar乳鼠心肌细胞,培养96 h后随机分为3组,对照组:无血清培养2、6、12、24 h;AngⅡ组:以10^{-7} mol/LAngⅡ刺激2、6、12、24 h,用TUNEL方法检测凋亡细胞数,免疫组化观察Bcl-2蛋白染色,荧光法检测caspase-3活性;AngⅡ+AT1R拮抗剂伊贝沙坦(Irbesartan)组:以10^{-7} mol/LAngⅡ与10^{-5} mol/L伊贝沙坦共同孵育,观察其对心肌细胞凋亡的影响。结果 随着时间的延长AngⅡ组TUNEL染色凋亡心肌细胞数量显著增高;同时伴有Bcl-2蛋白表达下降,caspase-3活性增高;加入伊贝沙坦后,TUNEL染色凋亡细胞数下降,caspase-3活性下降。结论 血管紧张素Ⅱ可以诱导乳鼠心肌细胞凋亡,伊贝沙坦抑制AngⅡ诱导的心肌细胞凋亡,其作用可能通过1型受体介导,AngⅡ诱导心肌细胞凋亡是以caspase依赖方式,Bcl-2蛋白参与调节。

关键词:心肌细胞;凋亡;血管紧张素Ⅱ/Ⅰ型受体拮抗剂;Bcl-2;Caspase-3
中图法分类号:R322.11;R329.28;R341.43 文献标识码:A

Angiotensin Ⅱ induces apoptosis of neonatal rat cardiomyocytes

ZHAO Yu-hua, CHI Lu-xiang, CHEN Yi-mao (Department of Cardiology, Southwest Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400038, China)

Abstract: Objective To explore the mechanisms of angiotensin Ⅱ (Ang Ⅱ) induced apoptosis of cultured cardiomyocytes of neonatal rats. Methods Cultured neonatal rat cardiomyocytes were divided into three groups. Cells in the control group were incubated in serum-free medium for 2, 6, 12, and 24 h. Cells in Ang Ⅱ group were incubated with Ang Ⅱ at the dose of 10^{-7} mol/L for 2, 6, 12, and 24 h. Cells in Ang Ⅱ and Ang Ⅱ type 1 receptor antagonist group were incubated in medium containing 10^{-7} mol/L Ang Ⅱ plus 10^{-5} mol/L irbesartan. The apoptotic cells were detected by TUNEL assay. The Bcl-2 protein expression was assessed by immunohistochemistry. Caspase-3 activity was measured by a fluorescent assay kit. Results The number of apoptotic cells in Ang Ⅱ group increased significantly in a time-dependent manner, accompanied by decreased Bcl-2 protein expression but increased activity of caspase-3. Treatment with irbesartan resulted in decreased number of apoptotic cells and decreased activity of caspase-3. Conclusion Angiotensin Ⅱ could induce the apoptosis of neonatal rat cardiomyocytes through the caspase-dependent pathway, which might be mediated by Ang Ⅱ type 1 receptor. Bcl-2 may participate in the regulation.

Key words: cardiomyocyte; apoptosis; angiotensin Ⅱ/AT1R antagonist; Bcl-2; caspase-3

心肌细胞凋亡(apoptosis)是心肌细胞的一种程序性死亡方式,它在心脏的发育及心力衰竭、原发性高血压、心律失常等许多心脏疾病的病理生理中起重要作用[1]。血管紧张素Ⅱ是重要的细胞生长因子,可以促进血管平滑肌细胞和成纤维细胞增殖及心肌肥大,在心肌梗塞过程中循环及心肌局部Ang Ⅱ增高,心肌Ang Ⅱ受体表达增加,参与心室重构过程[2]。血管紧张素Ⅱ作用在特殊的G-蛋白偶联受体。基于这些受体对肽类和非肽类配体的选择亲和性,血管紧张素受体分为两类,称为1型、2型受体[3]。已有文献[4]报道血管紧张素Ⅱ在心脏调节凋亡具有细胞特异性,在体外血管紧张素Ⅱ增加心肌细胞凋亡依赖于AT1R活化。但对于结合后的下游事件国内研究报道很少。本实验将从细胞水平观察不同时相点,血管紧张素Ⅱ/1型受体拮抗剂与心肌细胞凋亡,Bcl-2蛋白表达及caspase-3活性变化的关系。

1 材料与方法

1.1 实验动物与主要试剂

出生48 h以内的Wistar乳鼠196只,雌雄不限,由第三军医大学大坪医院野战外科研究所动物室提供。胎牛血清购自德国PPA公司,高糖DMEM,胰蛋白酶(1∶250),血管紧张素Ⅱ购自Sigma公司,伊贝沙坦由法国Sanofi公司提供,溴脱氧尿苷

作者简介:赵榆华(1964-),女,陕西省华县人,硕士研究生,主治医师,主要从事心血管内科疾病的基础和临床方面的研究。电话:(023)68754000-73050

收稿日期:2004-05-17;修回日期:2004-09-14

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

(Brdu 5 Bromo-2′-deoxyuridine)购自华美公司,原位程序性细胞死亡检测试剂盒购自德国 Roche 公司。0.01 mol/L PBS, Bcl-2 小鼠抗大鼠单克隆抗体,购自北京中山生物公司,caspase-3 荧光检测试剂盒购自 BD Biosciences 公司。

1.2 实验方法

1.2.1 体外乳鼠心肌细胞培养 出生 48 h 以内的 Wistar 乳鼠,碘酒、酒精消毒皮肤,剑突下剪开十字切口,搏动状态下取出心脏,剪碎后用 0.1%(质量分数)胰蛋白酶 37 ℃轻微搅拌下分次消化,分离细胞,加含 10%(体积分数)胎牛血清的高糖 DMEM 制成细胞悬液,1 000 r/min 离心 6 min,弃上清,以含 0.1 mmol/L Brdu(质量分数)、10%(体积分数)胎牛血清的高糖 DMEM 悬浮,细胞悬液经 200 目孔径不锈钢网过滤,去除未消化的组织块,再次离心,以含青霉素 100 U/ml、链霉素 100 μg/ml、0.1 mmol/L Brdu、10%(体积分数)胎牛血清的高糖 DMEM 悬浮,细胞悬液接种于 50 ml 培养瓶。在 37 ℃ 5% CO_2、95% 空气孵箱中差速贴壁 45 min,去除成纤维细胞,,将心肌细胞悬液以每片 10^5 个接种于 12 mm× 12 mm 的盖玻片上(盖波片置于 24 孔培养板中),让其贴壁生长,用于免疫组化及原位细胞凋亡染色。同时将另一部分以 1× 10^6 生长密度接种于 50 ml 培养瓶中,用于细胞裂解提取蛋白,检测 caspase-3 活性。Brdu 可抑制非心肌细胞的增殖,胎牛血清可促进心肌细胞生长,此法培养的心肌细胞于 2 h 即有部分贴壁变形成为短棒状,12 h 可见部分搏动。24 h 后换液,换用含 10%胎牛血清的高糖 DMEM 培养,心肌细胞约 90%都在收缩,取生长 96 h 的心肌细胞进行试验。

1.2.2 凋亡模型建立及分组 将培养 96 h 的心肌细胞按处理条件不同分为 3 组,每组 5 个样本。对照组:无血清高糖 DMEM 培养 2、6、12、24 h;AngⅡ组:以 10^{-7} mol/L AngⅡ与无血清的高糖 DMEM 培养 2、6、12、24 h 诱导心肌细胞凋亡;AngⅡ+伊贝沙坦组以 10^{-7} mol/L AngⅡ中加入 10^{-5} mol/L 伊贝沙坦与无血清的高糖 DMEM 培养 2、6、12、24 h。

1.3 培养心肌细胞 caspase-3 活性的测定

1.3.1 培养心肌细胞蛋白提取(按照 BD ApoAlert™caspase 荧光检测试剂盒操作手册) 以 1× 10^6 密度取各组心肌细胞,1 100 r/min 离心 5 min,弃上清,加入 50 μl 预冷的细胞裂解液,溶解心肌细胞,冰上孵育 10 min 后,4 ℃ 13 500 r/min 离心 10 min 后取上清。

1.3.2 Caspase-3 检测活性测定及计算 每个样品中加入 50 μl 的 2× Reaction Buffer/DTT,5 μl 1 mmol/L caspase-3 底物,37 ℃、水浴 1 h,将样本移入 96 孔板,使用 400 nm-EX/505 nm-EM 读取数据。公式为:$y = 28x + 15$ $R^2 = 0.9807$,y 为荧光读数值,单位为 pmol·μg^{-1}·min^{-1}。同时制定标准曲线,并以此为参照计算细胞提取液 caspase-3 活性。

1.4 培养心肌细胞 Bcl-2 蛋白免疫组化观察

取各组培养心肌细胞爬片,Bcl-2 小鼠抗大鼠单克隆抗体,二步法进行免疫组化染色,0.01 mol/L PBS 轻柔洗涤 2 次,去除杂质,加入 4%的多聚甲醛室温固定 30 min。3% H_2O_2 室温孵育 10 min。蒸馏水冲洗,0.01 mol/L PBS 浸泡 5 min,以 1∶100 稀释浓度加入 1 抗,4 ℃湿盒中孵育过夜。0.01 mol/L PBS 冲洗,2 min× 3 次。滴加试剂(labelledl Polymer)室温孵育 37 ℃ 30 min,0.01 mol/L PBS 冲洗,2 min× 3 次。显色剂显色,复染。光学显微镜下观察后封片。在显微镜视野下,随机观察并计数 10 个相邻视野(0.16 mm^2/视野)的 Bcl-2 蛋白染色阳性和阴性心肌细胞数。染色结果用 Image-Pro Plu 4.5 软件处理,对 Bcl-2 蛋白染色阳性面积进行评估分析。

1.5 TUNEL 染色

取上述各组心肌细胞爬片,0.01 mmol/L PBS 轻柔洗涤 2 次,去除杂质。经空气干燥后用新配制的 4%(质量百分比)多聚甲醛室温固定 30 min,0.01 mol/L PBS 洗片后与 0.3% H_2O_2 甲醇溶液室温孵育 30 min,0.01 mol/L PBS 洗片,与 0.1% Trition-X100,冰上孵育 2 min。0.01 mmol/L PBS 洗片 2 次,滴加 50 μl 的 TUNEL 反应混合液,湿盒中 37 ℃孵育 60 min,荧光镜下检测结果(阴性对照用 50 μl 标记溶液代替反应混合液)后封片。在荧光显微镜 1× 40 视野下,随机观察并计数 10 个相邻视野的 TUNEL 染色阳性和阴性心肌细胞数,计算它们各自的免疫阳性心肌细胞所占百分率。

1.6 统计学处理

数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 SPSS10.0 统计软件进行多因素方差分析。

2 结果

2.1 心肌细胞 caspase-3 活性的观察

从表 1 可见,随着 AngⅡ刺激时间的延长,caspase-3 活性在刺激 2 h 时开始升高,之后呈进行性升高,直到 24 h 仍高居未降。其中各相邻组间比较相差非常显著($P < 0.01$),AngⅡ刺激 2 h caspase-3 活性约为对照组 2 倍,随刺激时间延长 caspase-3 显著升高。加入 AT1R 拮抗剂后,2 h 无显著性差异,但随着时间延长 caspase-3 活性与 AngⅡ刺激组相比下降显著。表明 caspase-3 活性受到明显抑制。同时也观察到加入 AT1R 拮抗剂后 caspase-3 活性与对照组间存在显著性差异。

表 1 **AngⅡ及 AngⅡ+伊贝沙坦对培养心肌细胞 caspase-3 活性影响(pmol·μg^{-1}· min^{-1}, $\bar{x} \pm s$)**

Tab 1 Effects of AngⅡ and AngⅡ plus irbesartan on the activity of caspase-3 of cultured cardiomyocytes (pmol·μg^{-1}·min^{-1}, $\bar{x} \pm s$)

Time of stimulation (h)	Control	AngⅡ	AngⅡ+irbesartan
2	14.44±0.44	27.86±0.35 **	27.86±0.57
6	16.64±0.90	40.76±0.84 **★★	33.98±0.37 **##★★
12	20.10±0.41★★	60.48±1.25 **★★	39.86±0.42 **##★★
24	21.74±0.04★★	61.72±1.12 **★★	40.05±0.34 **##

$F_t = 38.970$, $P = 0.000$; $F_G = 159.931$, $P = 0.000$; **: $P < 0.01$, *vs* control; ##: $P < 0.01$, *vs* AngⅡ group; ★★: $P < 0.01$, *vs* 2 h

2.2 心肌细胞 Bcl-2 免疫组化图像分析半定量观察

从表 2 所见,在 AngⅡ刺激 2 h,Bcl-2 蛋白表达面积值无明显改变,但随着时间的延长,Bcl-2 蛋白染色阳性面积值表达下降明显($P < 0.01$),加入 AT1R 拮抗剂伊贝沙坦后,与刺激组比较,面积值有所回升($P < 0.05$),见表 2。

2.3 培养心肌细胞凋亡阳性率观察

从表 3 可见,使用 AngⅡ与心肌细胞共同孵育后,于 2 h 心肌细胞凋亡数开始上升,随着时间延长凋亡细胞数明显升高,伊贝沙坦抑制其作用(图 1~3)。

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

表 2　AngⅡ及 AngⅡ＋Irbesartan 对培养心肌细胞 Bcl-2 阳性 面积值的影响($\bar{x}\pm s$)

Tab 2　Effects of AngⅡ and Ang Ⅱ plus irbesartan on the positive area of Bcl-2 of cultured cardiomyocytes ($\bar{x}\pm s$)

Time of stimulation (h)	Control	Ang Ⅱ	Ang Ⅱ＋irbesartan
2	49 577±6 267	32 311±11 906	33 422±11 361
6	57 773±5 596	23 479±4 028 **★★	36 703±6 315 **##
12	41 787±5 596	16 385±6 960 **★★	32 743±5 049 **##★★
24	34 740±14 124	10 093±1 404 **★★	22 199±1 478 **##★★

F_t= 13.18, P= 0.000; F_G= 45.83, P= 0.000; **: P< 0.01, *vs* control; ##: P< 0.05, *vs* AngⅡ group; ★★: P< 0.01, *vs* 2 h

表 3　AngⅡ及 Irbesartan 对培养心肌细胞 TUNEL 反应阳性率的影响观察[($\bar{x}\pm s$)%]

Tab 3　Effects of Ang Ⅱ and Ang Ⅱ plus irbesartan on positive rate of apoptotic bodies of cultured cardiomyocytes [($\bar{x}\pm s$)%]

Time of stimulation (h)	Control	Ang Ⅱ	Ang Ⅱ＋irbesartan
2	3.58±1.43	4.65±0.63	4.46±0.50
6	5±0.80	10.4±1.14 **★★	7.52±0.46 **★★
12	5±0.16	14.8±0.83★★	11.41±0.89 **★★
24	5.02±0.6★★	17.8±0.84 **★★	13.51±1.0 **★★

F_t= 43.02, P= 0.000; F_G= 80.42, P= 0.000; **: P< 0.01, *vs* Control; ##: P< 0.01, *vs* control group and AngⅡ group; ★★: P< 0.01, *vs* 2 h

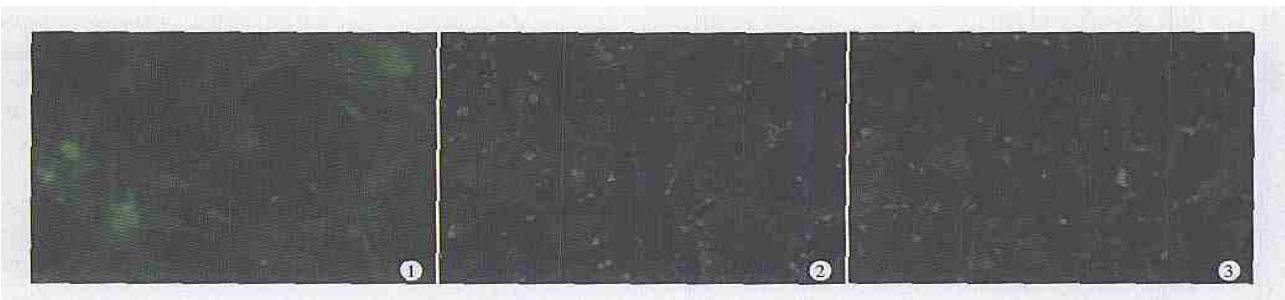


图 1　荧光显微镜下显示无血清培养 24 h 心肌细胞 TUNEL 染色结果, 亮点为凋亡小体 (TUNEL× 40)

Fig 1　Apoptotic bodies found after serum-free incubation for 24 h by fluorescent microscopy (TUNEL× 40)

图 2　荧光显微镜下显示 AngⅡ刺激 24 h 心肌细胞 TUNEL 染色结果, 亮点为凋亡小体 (TUNEL× 20)

Fig 2　Apoptotic bodies found after incubation with Ang Ⅱ for 24 h by fluorescent microscopy (TUNEL× 20)

图 3　荧光显微镜下显示 AngⅡ和 AT1R 拮抗剂伊贝沙坦共同孵育 24 h 心肌细胞 TUNEL 染色结果, 亮点为凋亡小体 (TUNEL× 40)

Fig 3　Apoptotic bodies found after incubation with Ang Ⅱ and AT1R antagonist irbesartan for 24 h by fluorescent microscopy (TUNEL× 40)

3　讨论

本实验观察到随着时间的延长, Ang Ⅱ刺激的心肌细胞 caspase-3 活性显著增高, Bcl-2 蛋白表达在刺激 2 h 后, 随刺激时间延长显著性降低, 同时 TUNEL 染色结果显示细胞凋亡逐步加重。通过实验还表明, 心肌细胞凋亡率与 caspase-3 活性呈正相关, Bcl-2 蛋白表达呈负相关关系。表明 Ang Ⅱ诱导心肌细胞凋亡是依赖 caspase 途径来完成, Bcl-2 家族蛋白参与凋亡调节。加入 AT1R 拮抗剂伊贝沙坦后削弱了 Ang Ⅱ诱导心肌细胞凋亡作用, 表明其作用可能通过 1 型受体介导。通过复习文献, 提出 Ang Ⅱ诱导心肌细胞凋亡可能与下列机制相关。①Ang Ⅱ通过 AT1R 介导诱导心肌细胞凋亡。本实验用 AT1R 拮抗剂伊贝沙坦与血管紧张素Ⅱ共同孵育心肌细胞, 削弱了 Ang Ⅱ诱导心肌细胞凋亡作用。该结果表明血管紧张素Ⅱ诱导心肌细胞凋亡与 AT1 受体介导有关。有文献[5] 报道活体心肌细胞在持续给于血管紧张素Ⅱ灌注时可诱导产生快速的细胞凋亡, 其作用可被缬沙坦 (valsartan AT1R antagonist) 阻断。本实验结果与其相同。但是, 目前也有文献[6] 报道 Ang Ⅱ在体外培养小鼠心肌细胞不仅没有诱导凋亡的作用, 相反具有防止凋亡的作用。文献[7] 报道 AT1 和 AT2R 的交联调节着胚胎大鼠平滑肌细胞的凋亡, 并且酪氨酸蛋白磷酸酶 SPH-1 是 AT2R 信号通路的关键分子。造成矛盾的结果, 使我们认识到凋亡本身的复杂性, 同时对 Ang Ⅱ诱导凋亡的机制的研究有待进一步深入。②Ang Ⅱ诱导心肌细胞凋亡与 caspase 激活有关。实验观察到经 Ang Ⅱ干预后心肌细胞 caspase-3 活性显著升高。通过复习文献提出 Ang Ⅱ通过 AT1R 介导诱导炎性因子表达增强, Fu 等[8] 的实验证明, 去甲肾上腺素诱导体外培养心肌细胞凋亡, 是通过心肌细胞表达 TNF-α 增高, TNF-α 诱导 caspase-2, -3, -6, 和-9 激活完成。Caspase-3 作为下游分子, 通常以 32× 10^3 的无活性半胱氨酸酶前体存在, 无论哪种上游分子被激活, 它都跟随激活转为 20× 10^3 的活性片段[9], 使细胞凋亡进入执行阶段。本实验未观察上游事件, 但观察到下游 caspase-3 活性显著增高现象。③Bcl-2 家组蛋白参加调节作用。本实验观察到 Ang Ⅱ诱导心肌细胞凋亡的同时, 导致心肌细胞内 Bcl-2 蛋白表达下降。抗凋亡蛋白 Bcl-2 在控制细胞死亡中扮演重要角色, 但对其作用环节却有不同的报道, 文献[10] 报道认为 Bcl-2 作用于 caspase 级联反应的下游。文献[11] 报

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

道认为 Bcl-2 作用于 caspase 级联反应的上游。因本实验没有监测细胞浆内细胞色素 C 的水平，无法明确指出 Ang Ⅱ诱导心肌细胞凋亡作用于上游还是下游。另有文献[13]报道 NO 诱导大鼠平滑肌细胞凋亡的作用是通过增加 Bax/Bcl-2 基因表达的比例，导致细胞色素 C 从线粒体释放到胞浆，最终激活 caspase-3 导致凋亡。本实验使我们进一步认识到 Ang Ⅱ除了调节血压方面以外的作用，实验结果表明 Ang Ⅱ可能成为心肌细胞的损伤因素，其机制可能与诱导凋亡有关。AT1R 拮抗剂不仅具有血液动力学效应，还可能通过抑制 Ang Ⅱ诱导的心肌细胞凋亡而产生心肌保护作用。

参考文献：

[1] 范作文，王均志，黄从新，等. 线粒体与心肌细胞凋亡的研究进展[J]. 中华心血管病杂志，2002，30(5)：317－318.

[2] Yamagishi H，Kim S，Nishikimi T，*et al*. Contribution of cardiac rennin-angiotensin system to ventricular remodelling in myocardial-infarcted rats[J]. J Mol Cell Cardiol，1993，25(11)：1369－1380.

[3] de Gasparo M，Catt K J，Inagami T，*et al*. International union of pharmacology. ⅩⅩⅢ. The angiotensin Ⅱ receptors[J]. Pharmacol Rev，2000，52(3)：415－472.

[4] Der Sarkissian S，Marchand E L，Duguay D，*et al*. Reversal of interstitial fibroblast hyperplasia via apoptosis in hypertensive rat heart with valsartan or enalapril[J]. Cardiovasc Res，2003，57(3)：775－783.

[5] De Angelis N，Fiodaliso F，Latini R，*et al*. Appraisal of the role of angiotensinⅡ and aldosterone in ventricular myocyte apoptosis in adult normotensive rat[J]. J Mol Cell Cardiol，2002，34(12)：1655－1665.

[6] Kong J Y，Rabkin S W. Angiotensin Ⅱ does not induce apoptosis but rather prevents apoptosis in cardiomyocytes[J]. Peptides，2000，21(8)：1237－1247.

[7] Cui T，Nakagami H，Iwai M，*et al*. Pivotal role of tyrosine phosphatase SHP-1 in AT2 receptor-mediated apoptosis in rat fetal vascular smooth muscle cell[J]. Cardiovasc Res，2001，49(4)：863－871.

[8] Fu Y C，Chi C S，Yin S C，*et al*. Norepinephrine induces apoptosis in neonatal rat cardiomyocytes through a reactive oxygen species-TNF alpha-caspase signaling pathway[J]. Cardiovasc Res，2004，62(3)：558－567.

[9] Braun M U，Szalai P，Strasser R H，*et al*. Right ventricular hypertrophy and apoptosis after pulmonary artery banding：regulation of PKC isozymes[J]. Cardiovasc Res，2003，59(3)：658－667.

[10] Heinke M Y，Yao M，Chang D，*et al*. Apoptosis of ventricular and atrial myocytes from pacing-induced canine heart failure[J]. Cardiovasc Res，2001，49(1)：127－134.

[11] Fua Y C，Chia C S，Yinc S C，*et al*. Norepinephrine induces apoptosis in neonatal rat endothelial cells via down-regulation of Bcl-2 and activation of beta-adrenergic and caspase-2 pathways[J]. Cardiovasc Res，2004，61(1)：143－151.

[12] Chae I H，Park K W，Kim H S，*et al*. Nitric Oxide-induced apoptosis is mediated by Bax/Bcl-2 gene expression，transition of cytochrome c，and activation of caspase-3 in rat vascular smooth muscular cells[J]. Clin Chim Acta，2004，341(1-2)：83－91.

（编辑 陈聪连）

关于计量单位的使用

在医学领域中几乎时时处处都离不开计量单位。国务院于 1984-02-27 公布了《关于在我国统一实行法定计量单位的命令》和《中华人民共和国法定计量单位》。1993-12-27 国家技术监督局发布了《量和单位》国家强制标准，全国必须统一采用的计量单位。

我国的法定计量单位包括：①国际单位制的基本单位，如长度(m)、质量(kg)、时间(s)等；②国际单位制的辅助单位；③国际单位制中具有专门名称的导出单位，如频率(Hz)、压力(Pa)、能量(J)；④国家选定的非国际单位制单位，如时间(min、h、d)、转速(r/min)；⑤由以上单位构成的组合形式单位，如速度(m/s)、浓度(mol/L)；⑥由词头和以上单位所构成的倍数和分数单位，如 μm、kPa、ml 等。在医学写作时必须严格执行国务院的命令和有关的国家标准。

各种单位除在无数值的叙述性文字中和科普读物中可使用中文名称或中文符号外，均应使用符号。单位符号都是正体拉丁和希腊字母，无复数形式，符号后不附加圆点(正常语法名字尾标点符号除外)。来源于人名的单位，例如：Pa、Gy、W 等和 10^6 以上的词头，例如：M、G、T 等的首字母大写以外均为小写，“升”的符号可用大写(L)也可用小写(l)，一般在单独使用不加词头时用大写。数值与单位符号之间、单位符号与相邻的其他符号(例如：化学元素符号)之间应留半个阿伯数字空隙，词头与其所组合的单位符号之间不需空隙。词头不能单独使用，也不能重叠使用(例如：“mμm”应为“nm”)。

本刊编辑部

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net