

年龄和性别对 正常人外周血淋巴 细胞核质桥自发率 的影响

赵 骅, 陆 雪, 蔡恬静,

田 梅, 刘青杰*

(中国疾病预防控制中心辐射防护与核安全医学
所, 辐射防护与核应急中国疾病预防控制中心
重点实验室, 北京 100088)

Effects of age and gender on formation of nucleoplasmic bridges in peripheral blood lymphocytes

ZHAO Hua, LU Xue, CAI Tianjing, TIAN Mei, LIU Qingjie*

(National Institute for Radiological Protection, Chinese Center for Disease
Control and Prevention, China CDC Key Laboratory of Radiological
Protection and Nuclear Emergency, Beijing 100088, China)

【摘要】目的:探索年龄、性别因素对我国健康人群外周血淋巴细胞核质桥自发率的影响,为核质桥的影响因素研究提供科学依据。**方法:**选取98例健康成人,其中男性52例,女性46例,年龄范围为20~68岁,平均年龄为(40.7±12.6)岁。按年龄分为20~29岁组(22人)、30~39岁组(23人)、40~49岁组(25人)和50岁以上组(28人)。抽取研究对象外周血2 mL,采用胞质分裂阻滞法培养细胞40 h后,加入松胞素B(终浓度为10 μg/mL),继续培养至68 h收获细胞。每个受试者观察1 000个双核细胞,分析核质桥、微核及核芽的数量。**结果:**核质桥总体自发率为每个细胞0.56‰,男性略高于女性,但差异无统计学意义($P>0.05$)。男性在不同年龄组间,核质桥自发率差异无统计学意义($P>0.05$)。女性40~49岁年龄组核质桥自发率最高,显著高于20~29岁组($U=2.31$, $P<0.05$)。微核自发率女性高于男性($U=4.40$, $P<0.05$),男性和女性受试者40~49岁组微核自发率均为最高。核芽自发率在不同性别间的差异无统计学意义($P>0.05$),在不同年龄组间无明显变化规律。**结论:**健康人群中的核质桥自发率较低,不受性别因素影响,在20~49岁范围内具有随年龄增加而升高的趋势。

【关键词】核质桥;微核;核芽;自发率;年龄;性别

中图分类号: R394.6

文献标志码: A

文章编号: 1004-616X(2021)01-0048-05 doi: 10.3969/j.issn.1004-616x.2021.01.010

【ABSTRACT】 OBJECTIVE: To investigate influence of age and gender on spontaneous formation of nucleoplasmic bridges (NPB) in peripheral blood lymphocyte from in healthy Chinese subjects. **METHODS:** A total of 98 healthy adults (52 male and 46 female) aged 20–68 years (40.7±12.6 years) were enrolled. The subjects were divided into different age groups: 20–29 (22 subjects), 30–39 (23 subjects), 40–49 (25 subjects) and over 50 (28 subjects). At 40 h of their lymphocyte cultures in the cytokinesis-block cytome assay, cytochalasin-B (10 μg/mL) was added and cultures were harvested at 68 h. The presence of NPB, micronucleus (MN) and nuclear bud (NBD) in their peripheral blood lymphocytes were determined by analyzing 1 000 binucleated cells in each sample. **RESULTS:** The overall NPB spontaneous rate was 0.56‰, but the rates were non-significantly higher in males than in females. In addition, there was no statistically significant difference in male subjects among different age groups. However, the highest NPB spontaneous rate in females was found in 40–49 age group which was significantly higher than that in the 20–29 age group ($U=2.31$, $P<0.05$). The MN spontaneous rates in females were higher than that in males ($U=4.40$, $P<0.05$) and the highest rates in both male and female subjects were found in the 40–49 age groups. There was no statistical difference of NBD spontaneous rates between genders and among different age groups. **CONCLUSION:** NPB spontaneous rate in healthy population was very low which was not affected by gender but had increased trend within the 40–49 age group.

【KEY WORDS】 nucleoplasmic bridge; micronucleus; nuclear bud; spontaneous rate; age; gender

收稿日期: 2020-08-12; 修订日期: 2020-10-19

基金项目: 国家自然科学基金(81573081)

作者信息: 赵 骅, E-mail: zhaohua@nirp.chinacdc.cn. *通信作者, 刘青杰,
E-mail: liuqingjie@nirp.chinacdc.cn

人外周血胞质分裂阻滞(cytokinesis-block, CB)分析由 Fenech 等^[1]于 1985 年提出,可通过分析双核细胞中的微核(micronucleus, MN)、核质桥(nucleoplasmic bridge, NPB)及核芽(nuclear bud, NBD)检测染色体损伤,已逐渐应用于遗传毒性检测和职业人群的健康监测等领域^[2-3]。

核质桥是双核细胞两个主核间的桥状核质,是 DNA 错误修复、染色体重排和端粒融合的标志物^[4]。核质桥具有良好的剂量-效应关系^[5-7],并有可能实现自动化分析^[8-9],具有成为新的辐射生物剂量计的潜能。过往研究发现不同国家健康人群间核质桥自发率差异较大,且年龄和性别因素对其影响尚不明确^[10-15]。本研究选取了我国健康人群,采用胞质分裂阻滞法,分析了核质桥的自发率及年龄、性别对其的影响,为核质桥的影响因素研究提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 研究对象

供血者为 98 位健康成人,无重大急慢性疾病史、无化学毒物接触史,采样前 6 个月内未受到过电离辐射,其中男性 52 例,女性 46 例,年龄范围为 20~68 岁,平均年龄为(40.7±12.6)岁。按年龄分为 20~29 岁组(22 人)、30~39 岁组(23 人)、40~49 岁组(25 人)和 50 岁以上组(28 人)。签署知情同意书后,抽取每名受试者外周血 2 mL,注入肝素抗凝管。本研究通过中国疾病预防控制中心辐射防护与核安全医学所伦理委员会审查。

1.2 胞质分裂阻滞分析

将 400 μL 外周血加入到含有 20% 胎牛血清及 0.2% 植物凝血素(phytohemagglutinin, PHA)的 RPMI 1640 培养基(2 mL)中,置于 37 ℃温箱培养 40 h 后,

加入终浓度为 10 μg/mL 的细胞松弛素 B(cytochalasin-B, Cyt-B),混匀后继续避光培养至 68 h 收获细胞。采用胞质分裂阻滞法进行低渗(0.075 mol/L KCl)、固定两次($V_{\text{甲醇}}:V_{\text{冰乙酸}}=3:1$)、滴片、染色(Giemsa 染液)^[4-6]。每名受试者外周血样本设 2 个平行样。

1.3 计数标准

光学显微镜放大 400 倍或 1 000 倍下,每个受试者观察 1 000 个双核细胞,计算核质桥、微核及核芽的发生率。计数标准参照 Fenech 等^[4]报道,其中双核细胞应具有两个独立且核膜完整的细胞核、两主核大小接近、与相邻细胞不可重叠;核质桥位于双核细胞中两个主核之间,宽度小于主核直径的 1/4;微核是圆形或椭圆形且核膜完整的小核,直径为主核直径的 1/16~1/3;核芽是与主核由核质连接的小核,连接宽度小于核芽直径。

1.4 统计学处理

用 SPSS 26.0 软件进行统计学处理,不同组间核质桥率、微核率、核芽率的比较采用 Mann-Whitney *U* 检验,年龄、性别与核质桥、微核、核芽的相关性采用 Spearman 相关检验,年龄与微核的关系采用线性回归分析,以 $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结 果

2.1 正常人群的核质桥自发率

本研究选取了 98 例正常个体,每位受试者分析 1 000 个双核细胞,其中 54 例(55.1%)未观察到核质桥,33 例(33.7%)观察到 1 个核质桥,11 例(11.2%)观察到 2 个核质桥。核质桥总体的自发率为(0.56±0.69)%。男性核质桥自发率为(0.65±0.74)%。女性核质桥自发率为(0.46±0.62)%。核质桥自发率男性略高于女性,但差异并无统计学意义($U=1.32, P>0.05$, 表 1)。

表 1 不同性别间核质桥、微核及核芽的自发率($\bar{x}\pm s$)

性别	细胞数/个	核质桥		微核		核芽	
		范围/个	自发率/%	范围/个	自发率/%	范围/个	自发率/%
男	52 000	0~2	0.65±0.74	2~50	11.57±8.10	0~9	2.19±2.09
女	46 000	0~2	0.46±0.62	1~52	14.82±12.82 ^a	0~9	1.82±2.08
合计	98 000	0~2	0.56±0.69	1~52	13.10±10.65	0~9	2.02±2.08

a: 与男性微核率相比, $P<0.01$ 。

男性和女性受试者不同年龄组的核质桥自发率见表 2。结果表明,男性受试者在不同年龄组间,核质桥自发率差异无统计学意义($U<1.49, P>0.05$)。女性受试者 40~49 岁组核质桥自发率最高,显著高于 20~29 岁组($U=2.31, P<0.05$)。相同年龄组的男性和女性核质桥自发率差异均无统计学意义($U<1.41, P>0.05$)。

2.2 正常人群的微核及核芽自发率

98 例样本中均观察到了微核,其中最少的观察到 1 个,最多的观察到 52 个,微核总体自发率为(13.10±10.65)%。男性微核自发率为(11.57±8.10)%。女性微核自发率为(14.82±12.82)%。微核自发率女性高于男性,且差异具有统计学意义($U=4.40, P<0.05$, 表 1)。



表2 不同年龄组核质桥、微核及核芽的自发率($\bar{x}\pm s$)

性别	年龄/岁	人数	细胞数	核质桥		微核		核芽	
				范围/个	自发率/‰	范围/个	自发率/‰	范围/个	自发率/‰
男	20~29	11	11 000	0~2	0.55±0.82	2~23	9.18±6.82	0~7	2.73±2.76
	30~39	10	10 000	0~2	0.70±0.82	2~22	10.20±5.94	0~3	1.60±1.43
	40~49	14	14 000	0~2	0.93±0.83	5~26	13.14±6.01 ^{a, b}	0~9	2.14±2.45
	≥50	17	17 000	0~1	0.47±0.51	3~50	12.65±11.06 ^a	0~6	2.23±1.64
女	20~29	11	11 000	0~1	0.18±0.40	1~12	4.45±3.47 ^d	0~3	0.73±1.01 ^d
	30~39	13	13 000	0~1	0.38±0.51	1~32	10.23±9.34 ^a	0~5	1.77±1.83 ^a
	40~49	11	11 000	0~2	0.91±0.70 ^a	8~52	25.00±13.27 ^{a, b, e}	0~9	3.36±2.77 ^{a, b}
	≥50	11	11 000	0~2	0.36±0.67	5~39	20.45±12.32 ^{a, b, e, f}	0~5	1.45±1.63 ^c

a: 与同性别20~29岁组相比, 差异具有统计学意义($U>2.30$, $P<0.05$); b: 与同性别30~39岁组相比, 差异具有统计学意义($U>2.10$, $P<0.05$); c: 与同性别40~49岁组相比, 差异具有统计学意义($U>2.23$, $P<0.05$); d: 与男性20~29岁组相比, 差异具有统计学意义($U>3.57$, $P<0.01$); e: 与男性40~49岁组相比, 差异具有统计学意义($U=6.62$, $P<0.01$); f: 与男性50岁以上组相比, 差异具有统计学意义($U=4.84$, $P<0.01$).

男性和女性受试者不同年龄组的微核自发率见表2。男性和女性受试者在20~29岁组至40~49岁组微核自发率呈上升趋势, 男性50岁以上组稍有降低($P>0.05$), 女性50岁以上组显著低于40~49组($U>2.23$, $P<0.05$)。男性20~29岁组微核率高于女性($U=4.25$, $P<0.05$), 而40~49岁组和50岁以上组微核率低于女性, 差异具有统计学意义($U>4.84$, $P<0.05$)。

98例样本中, 有26例(26.5%)未观察到核芽, 其余样本中观察到1~9个核芽, 核芽总体自发率为(2.02±2.08)‰。男性、女性核芽自发率分别为(2.19±2.09)‰和(1.82±2.08)‰, 差异无统计学意义($U=1.28$, $P>0.05$)。男性和女性受试者不同年龄组的核芽自发率见表2。男性受试者在不同年龄组间, 核芽自发率差异无统计学意义($U<1.76$, $P>0.05$)。女性受试者40~49岁组核芽自发率最高, 为3.36‰, 显著高于其余3组($U>2.40$, $P<0.05$)。男性20~29岁组核芽自发率高于女性($U=3.57$, $P<0.05$), 其余3个年龄组, 男性和女性核芽自发率差异均无统计学意义($U<1.80$, $P>0.05$)。

2.3 年龄、性别与核质桥、微核及核芽自发率的相关性

为探索年龄、性别与核质桥、微核、核芽自发率的相关性, 对其进行了Spearman相关检验。结果表明, 核质桥、核芽自发率与年龄、性别无明显的相关性, 微核自发率与年龄、核质桥及核芽自发率具有一定的正相关性(表3)。进一步对年龄与微核自发率进行了线性回归分析, 发现微核自发率具有随年龄增加而

上升的趋势, 在20~68岁间, 年龄每增加1岁, 微核自发率上升约为0.31‰。

3 讨 论

理想的生物剂量计, 在具有良好剂量-效应关系和较强辐射敏感性的同时, 还应在正常人群中具有较低的自发率, 不受性别和年龄的影响, 或与其具有明确的变化规律。染色体畸变分析是目前辐射生物剂量估算的金标准, 主要分析指标是双着丝粒染色体, 已在国内外多次应用^[16-17]。研究表明, 核质桥源于双着丝粒染色体, 因此, 核质桥也有可能成为新的辐射生物剂量计。在相同的培养条件下, 核质桥与双着丝粒的发生率具有正相关性^[6, 18]。双着丝粒染色体的本底自发率很低, 而受到电离辐射后则会出现较高的发生率。因此, 探索核质桥的自发率及其在不同性别、年龄人群中的变化规律, 对其成为辐射生物剂量计具有重要意义。

本研究发现核质桥在正常人群的自发率很低(0.56‰), 与双着丝粒染色体接近(0.58‰)^[6], 远低于微核自发率(13.10‰)和核芽自发率(2.02‰)。本研究核质桥自发率与Coskun等^[19]对土耳其人群(0.61‰)及Zijno等^[10]对意大利人群(0.61‰)的研究结果相近; 高于Lope等^[11]对西班牙人群的报道, 低于Cho等^[12]对韩国人群、Donmez-Altuntas等^[13]对土耳其人群、Nefic等^[14]对波黑人群及Garaj-Vrhovac等^[15]对克罗地亚人群的研究结果。不同报道中核质桥自发率差异较大, 可能是由于不同种族之间的差异, 也可能是年龄、性别不同或核质桥的判定标准不同所致。因此, 应明确不同人群的核质桥自发率, 确定核质桥在人群中的正常值区间, 降低遗传因素导致的本底水平的不稳定性, 从而有效应对个体辐射暴露的筛查和生物剂量的评估。

过往研究表明, 年龄、性别是影响核质桥自发率的重要因素, 但在对不同国家健康人群的报道中结果

表3 年龄、性别与核质桥、微核及核芽自发率的相关系数

	核质桥自发率	微核自发率	核芽自发率
年龄	0.146	0.417 ^a	0.167
性别	-0.132	0.050	-0.112
核质桥自发率	-	0.292 ^a	0.224
微核自发率	-	-	0.414 ^a

a: $P<0.05$.

不尽相同。本研究中,男性总体核质桥自发率略高于女性,但差异并无统计学意义($P>0.05$);相同年龄组男性与女性的核质桥自发率差异也无统计学意义($P>0.05$),与过往报道结果一致^[14, 20]。但也有研究表明,男性核质桥自发率显著高于女性^[13, 19, 21],或者显著低于女性^[12]。本研究中相关性检验结果表明,核质桥与年龄并无明显相关关系。按不同年龄分组后,男性和女性核质桥自发率在20~29岁组至40~49岁组随年龄的增加而增加,而50岁及以上组反而降低。可能与总体样本量较少有关,下一步还将扩大样本量,进一步证实本研究结果。有研究结果表明,年龄与核质桥自发率具有相关性^[12, 14]。因此,性别、年龄因素对核质桥自发率的影响尚需更多的研究。此外,还有研究报道了吸烟、不良生活方式^[22]也可影响核质桥的自发率,因此今后的研究还将关注这些因素。

本研究还分析了微核及核芽的自发率。微核总体自发率为13.10‰,属于健康人群正常的自发率水平,但高于部分报道的健康人群微核率的自发率,可能是与本研究受试者的平均年龄较大(40.7岁)有关。微核自发率女性高于男性,核芽自发率在男性和女性之间差异无统计学意义($P>0.05$)。微核在男性和女性的不同年龄组中,差异均有统计学意义($P<0.05$),而核芽仅在女性的不同年龄组中差异具有统计学意义($P<0.05$)。微核自发率存在性别差异在过往研究中已有报道, Mateuca等^[23]研究表明,微核自发率在健康人群中随年龄增长有所升高,女性微核自发率高于男性,可能与X染色体形成的微核或X染色体缺失有关。年龄增长可导致DNA修复效率下降以及基因突变增多,从而引起DNA损伤增加,进而导致染色体损伤的频率升高^[24]。

综上所述,本研究采用胞质分裂阻滞法,发现我国健康人群中的核质桥自发率较低,不受性别因素影响,在20~49岁范围内具有随年龄增加而升高的趋势,为核质桥的影响因素研究提供了科学依据。

参考文献

- [1] FENECH M, MORLEY A A. Measurement of micronuclei in lymphocytes[J]. *Mutat Res*, 1985, 147(1/2): 29-36.
- [2] NAIRY R K, BHAT N N, SANJEEV G, et al. Dose-response study using micronucleus cytome assay: a tool for biodosimetry application[J]. *Radiat Prot Dosim*, 2017, 174(1): 79-87.
- [3] CARADONNA F. Nucleoplasmic bridges and acrocentric chromosome associations as early markers of exposure to low levels of ionising radiation in occupationally exposed hospital workers[J]. *Mutagenesis*, 2015, 30(2): 269-275.
- [4] FENECH M. Cytokinesis-block micronucleus cytome assay[J]. *Nat Protoc*, 2007, 2(5): 1084-1104.
- [5] TIAN X L, ZHAO H, CAI T J, et al. Dose-effect relationships of nucleoplasmic bridges and complex nuclear anomalies in human peripheral lymphocytes exposed to ^{60}Co γ -rays at a relatively low dose[J]. *Mutagenesis*, 2016, 31(4): 425-431.
- [6] ZHAO H, LU X, LI S, et al. Characteristics of nucleoplasmic bridges induced by ^{60}Co γ -rays in human peripheral blood lymphocytes[J]. *Mutagenesis*, 2014, 29(1): 49-54.
- [7] NAIRY R K, BHAT N N, SANJEEV G, et al. Dose-response study using micronucleus cytome assay: a tool for biodosimetry application[J]. *Radiat Prot Dosimetry*, 2017, 174(1): 79-87.
- [8] NARJES Z, ERIC L, BRUNO C, et al. A new tool for genotoxic risk assessment: Reevaluation of the cytokinesis-block micronucleus assay using semi-automated scoring following telomere and centromere staining[J]. *Mutat Res*, 2020, 850-851: 503143.
- [9] RODRIGUES M A, BEATON-GREEN L A, WILKINS R C, et al. The potential for complete automated scoring of the cytokinesis block micronucleus cytome assay using imaging flow cytometry[J]. *Mutat Res*, 2018, 836(A): 53-64.
- [10] ZIJNO A, SAINI F, CREBELLI R. Suitability of cryopreserved isolated lymphocytes for the analysis of micronuclei with the cytokinesis-block method[J]. *Mutagenesis*, 2007, 22(5): 311-315.
- [11] LOPE V, POLLÁN M, FERNÁNDEZ M, et al. Cytogenetic status in newborns and their parents in Madrid: the BioMadrid study[J]. *Environ Mol Mutagen*, 2010, 51(4): 267-277.
- [12] CHO N Y, KIM K W, KIM K K. Genomic health status assessed by a cytokinesis-block micronucleus cytome assay in a healthy middle-aged Korean population[J]. *Mutat Res*, 2017, 814: 7-13.
- [13] DONMEZ-ALTUNTAS H, BITGEN N. Evaluation of the genotoxicity and cytotoxicity in the general population in Turkey by use of the cytokinesis-block micronucleus cytome assay[J]. *Mutat Res*, 2012, 748(1/2): 1-7.
- [14] NEFIC H, HANDZIC I. The effect of age, sex, and lifestyle factors on micronucleus frequency in peripheral blood lymphocytes of the Bosnian population[J]. *Mutat Res*, 2013, 753(1): 1-11.
- [15] GARAJ-VRHOVAC V, DURINEC M, KOPJAR N, et al. A survey on the cytogenetic status of the Croatian general population by use of the cytokinesis-block micronucleus assay [J]. *Mutat Res*, 2008, 649(1-2): 91-100.
- [16] LI Y, SHIRLEY B C, WILKINS R C, et al. Radiation dose estimation by completely automated interpretation of the dicentric chromosome assay[J]. *Radiat Prot Dosim*, 2019, 186(1): 42-47.
- [17] MENDES M E, MENDONCA J C G, BARQUINERO J F, et al.



- Comparative study of micronucleus assays and dicentric plus ring chromosomes for dose assessment in particular cases of partial-body exposure[J]. *Int J Radiat Biol*, 2019, 95(8): 1058–1071.
- [18] MEENAKSHI C, VENKATRAMAN B. Correlation between cytogenetic biomarkers obtained from DC and CBMN assays caused by low dose radon exposure in smokers[J]. *Int J Radiat Biol*, 2019, 95(9): 1268–1275.
- [19] COSKUN M, COSKUN M, CAYIR A, et al. Frequencies of micronuclei (MNi), nucleoplasmic bridges (NPBs), and nuclear buds (NBUDs) in farmers exposed to pesticides in Çanakkale, Turkey[J]. *Environ Int*, 2011, 37(1): 93–96.
- [20] VRAL A, FENECH M, THIERENS H. The micronucleus assay as a biological dosimeter of in vivo ionising radiation exposure [J]. *Mutagenesis*, 2011, 26(1): 11–17.
- [21] GAJSKI G, GERIC M, ORESCANIN V, et al. Cytokinesis-block micronucleus cyto assay parameters in peripheral blood lymphocytes of the general population: Contribution of age, sex, seasonal variations and lifestyle factors[J]. *Ecotox Environ Safe*, 2018, 148: 561–570.
- [22] MEENAKSHI C, SIVASUBRAMANIAN K, VENKATRAMAN B. Nucleoplasmic bridges as a biomarker of DNA damage exposed to radon[J]. *Mutat Res*, 2017, 814: 22–28.
- [23] MATEUCA R, LOMBAERT N, AKA P V, et al. Chromosomal changes: induction, detection methods and applicability in human biomonitoring[J]. *Biochimie*, 2006, 88(11): 1515–1531.
- [24] WOJDA A, ZIETKIEWICZ E, WITT M. Effects of age and gender on micronucleus and chromosome nondisjunction frequencies in centenarians and younger subjects[J]. *Mutagenesis*, 2007, 22(3): 195–200.

《癌变·畸变·突变》杂志稿约

- 1 《癌变·畸变·突变》杂志是中国环境诱变剂学会（国家一级学会）主办的学术刊物，国内外公开发行人。本刊宗旨是通过介绍环境因子致癌、致畸变和致突变领域的新理论、新技术、新方法以及国内外研究动态，进行学术交流，促进本学科的繁荣与发展。本刊设有“专家述评”、“专题研究”、“论著”、“肿瘤防治”、“检测研究”、“相关医学基础与临床”、“技术与方法”及“综述”等栏目。
- 2 稿件内容：①药物、农药、食品添加剂、化妆品、营养保健品、其他化学物质、放射线，以及水体、空气、土壤中存在的环境污染物与肿瘤发生、胎儿发育畸形、遗传基因突变的关系；②癌变机制；③抗突变物与抗癌物的开发利用；④环境风险因子评价；⑤相关医学基础与临床研究等。凡获省、部级以上科研基金资助的稿件将优先录用。
- 3 来稿要求及注意事项
 - 3.1 文稿应具有科学性、逻辑性、先进性与可读性，论点明确，数据可靠，文字简练，结构清晰合理；论著及综述一般不超过5 000字（包括图、表及参考文献），短篇报道一般不超过3 000字。文稿应注明中图分类号和文献标识码，置于中文关键词之下。论文应附与内容一致的中英文结构式摘要及4~6个关键词。中文摘要约300字，英文摘要约200个实词。文题中第1个字母、缩略词、专用名词需大写；国内作者名用汉语拼音，姓的字母均大写，名的第1个字母大写（例如：LI Taiming）；国外作者依国外习惯。正文标题层次采用阿拉伯数字分级编号。插图、附表避免与正文重复。照片应清晰，对比度好，特指部位用箭头标示。显微和电镜照片应注明放大倍数或附有长度标尺。论文中图、表的标题同时使用中、英文，附表一律用三线表格式。图、表内文字及注释尽量用中文。
 - 3.2 文中须使用规范的、经过审定的名词术语。计量单位及符号以2001年中华医学会杂志社编辑的《法定计量单位在医学上的应用》(第3版)为准。蛋白质符号排正体，基因符号排斜体。
 - 3.3 实验数据须经统计学分析处理，并说明统计学处理方法，其统计学符号按国家标准《GB/T 3358.1—2009 统计学词汇及符号》的规定书写：样本的算术平均数用 $\bar{x}$ ，标准差用 s ，标准误用 $\bar{S}_x$ ， t 检验用 t ， F 检验用 F ，卡方检验用希腊文 χ^2 ，相关系数用 r ，自由度用希腊文 ν ，样本数用 n ，概率用 P ，统计学符号一律用斜体。

(下转第57页)