

# NOD2 和 Toll 样受体 1 在哮喘大鼠中的表达及布地奈德对其的影响

张志刚<sup>1</sup>, 叶斌<sup>1</sup>, 童夏生<sup>2</sup>, 亢晓冬<sup>3</sup>, 叶辉<sup>4</sup>, 王恩智<sup>5</sup>, 陈豪<sup>6</sup>, 陈琪<sup>7</sup>

<sup>1</sup> 台州市中心医院儿科, 台州 317000, 浙江;

<sup>2</sup> 台州市中西医结合医院儿科, 台州 317523, 浙江; <sup>3</sup> 杭州师范大学钱江学院实验动物中心, 杭州 310012, 浙江; <sup>4</sup> 台州市第一人民医院儿科, 台州 317000, 浙江;

<sup>5</sup> 台州市中西医结合医院检验科, 台州 317523, 浙江; <sup>6</sup> 台州市中西医结合医院病理科, 台州 317523, 浙江; <sup>7</sup> 台州市中心医院检验科, 台州 317000, 浙江

**摘要 目的:** 观察核苷酸结合寡聚化结构域 2 (NOD2) 和 Toll 样受体 1 (TLR1) 在哮喘大鼠中的表达及布地奈德对其的影响, 探讨模式识别受体在哮喘炎症过程中的可能作用机制。 **方法:** 采用大鼠哮喘模型, 随机分成哮喘组、对照组和布地奈德组, 免疫组织化学法检测肺组织 NOD2 的表达, 流式细胞术检测血中性粒细胞 (NEU) TLR1 的表达。 **结果:** 哮喘组 ( $0.148 \pm 0.009$ , OD 值) 肺组织 NOD2 的光密度值显著低于对照组 ( $0.157 \pm 0.006$ , OD 值) ( $P < 0.05$ ); 布地奈德组 ( $0.149 \pm 0.008$ , OD 值) 肺组织 NOD2 的光密度值分别与哮喘组、对照组相比差异无统计学意义 (均  $P > 0.05$ )。哮喘组和布地奈德组 (分别为  $74.07 \pm 6.26$  和  $78.54 \pm 4.65$ , OD 值) NEU TLR1 的平均荧光强度均显著性低于对照组 ( $84.37 \pm 4.96$ , OD 值) (分别为  $P < 0.01$ 、 $P < 0.05$ ); 布地奈德组 NEU TLR1 的平均荧光强度与哮喘组相比差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。TLR1 与 NOD2 的表达水平呈显著正相关 ( $n = 26$ ,  $r = 0.780$ ,  $P <$

$0.01$ )。 **结论:** 哮喘大鼠 NOD2 和 TLR1 的表达水平下降, 布地奈德可能对 NOD2 和 TLR1 的上调作用较弱, 模式识别受体可能参与了哮喘的炎症过程。

**关键词** 哮喘; 核苷酸结合寡聚化结构域; Toll 样受体; 模式识别受体; 大鼠

中图分类号: R965.2

文献标识码: A

文章编号: 1009-2501(2011)06-0637-06

近年来, 哮喘等过敏性疾病的发病率呈明显上升趋势, “卫生学假说”认为哮喘等过敏性疾病是在遗传的基础上由环境因素导致的 Th1/Th2 失衡所致<sup>[1]</sup>。由于大部分细菌和病毒都会诱发 Th1 细胞反应, 儿童生长发育期间如果暴露于细菌、病毒等病原体的机会少, 那么他们没有足够的刺激来激活 Th1 反应, 则 Th1/Th2 平衡倾向于 Th2, 从而增加了哮喘的发病率。Th1 细胞的数量较低或者 Th1 细胞的激活减弱, 以及 Th2 细胞数量增加或者 Th2 细胞功能的放大, 对于气道高反应性 (AHR) 和特应性体质 (atopy) 的形成都有非常重要的作用。而机体的天然免疫大多是由 Toll 样受体 (Toll-like receptor, TLR) 和核苷酸结合寡聚化结构域 (nucleotide-binding oligomerization domain, NOD) 等来介导的, 所以 TLR 和 NOD 介导的信号转导系统对于 Th1 反应非常重

2011-01-11 收稿 2011-04-12 修回

浙江省卫生厅基金资助项目 (2007-B238); 温岭市科技局基金资助项目 (2009-2-55)

张志刚, 男, 本科, 主治医师, 研究方向为儿科呼吸。

Tel: 0576-88526193 E-mail: zsgtz@sina.com

童夏生, 通信作者, 男, 硕士, 副主任医师, 研究方向: 儿童哮喘。

Tel: 0576-86440771 E-mail: xshtzg@163.com

要,从而影响着 Th1/Th2 平衡,可能与哮喘之间存在密切的关联性<sup>[2]</sup>。本实验通过复制哮喘大鼠模型,排除了病原体的影响,检测 TLR1 和 NOD2 的表达及布地奈德对其的影响,旨在探讨模式识别受体在哮喘炎症过程中的可能作用机制。

## 1 材料与方法

**1.1 主要试剂** 鸡卵白蛋白(OVA) V级购自美国 Sigma 公司,兔抗大鼠 TLR1-FITC 抗体和通用型二抗均购自上海研吉生物科技有限公司,一抗小鼠抗大鼠 NOD2 多克隆抗体购自美国 Millipore 公司。

**1.2 实验动物及分组** 清洁级健康雄性 SD 大鼠 27 只,4~5 周龄,体重  $(121 \pm 7)$  g,由上海斯莱克实验动物有限责任公司提供[许可证号:SCXK(沪)2007-0005],在杭州师范大学实验动物中心清洁级环境中饲养。随机分成 3 组,每组 9 只,分别为哮喘组、对照组、布地奈德组。

**1.3 动物模型的复制<sup>[3]</sup>** 方法为:第 1 天和第 8 天腹腔注射 OVA/ $\text{Al}(\text{OH})_3$  混合液 2 mL [含 OVA 1 mg 和  $\text{Al}(\text{OH})_3$  100 mg] 致敏,各 1 次。第 15 天开始每天向大鼠喷雾(空气压缩雾化器:PARI BOY -037G6000 GERMANY) 1% OVA 30 min,连续激发 7 d。表现为烦躁不安、搔痒、喘鸣、腹肌抽搐等症状。对照组致敏和激发均以生理盐水替代 OVA 和  $\text{Al}(\text{OH})_3$ ,布地奈德组处理基本同哮喘组,不同的是在抗原首次激发前 24 h 和每次激发前半小时给予雾化布地奈德溶液 1 mg/组(阿斯利康公司生产,生产批号:LOT 309973)。

**1.4 血和肺组织标本制备** 末次激发 24 h 后,10%水合氯醛(400 mg/kg)腹腔注射麻醉,心脏抽血 1 mL(EDTA 抗凝)待检 TLR1。取右肺门部位组织块,4%多聚甲醛-PBS 溶液固定,常规石蜡包埋切片。HE 染色后观察肺组织病理变化(OLYMPUS-CX40 JAPAN),免疫组化方法检测 NOD2 的表达。

**1.5 血中性粒细胞(NEU)TLR1 的表达** 采用流式细胞术检测。具体操作步骤:分别取 EDTA 抗凝全血 100  $\mu\text{L}$ ,加入 10  $\mu\text{L}$  TLR1-FITC 抗体,室温下避光孵育 20 min,加入红细胞裂解液 1 mL,室温避光放置 15~20 min,振荡混匀,

1500 r/min 离心 5 min,弃上清,加 2 mL PBS 洗涤 1 次,再加入 400  $\mu\text{L}$  PBS 重新悬浮细胞,上流式细胞仪检测(美国 Beckman Coulter 公司,型号 EPICS XL-MCL)。于多中性粒细胞(NEU)段开窗,测定 TLR1 平均荧光强度(mean fluorescence intensity, MFI),每个样本计数 10000 个细胞,同时设阴性对照。

**1.6 免疫组化方法** SP 法<sup>[4]</sup>。主要步骤包括:标本经 10%甲醛固定、酒精脱水、石蜡包埋、切片、抗原修复,3%过氧化氢灭活内源性过氧化物酶,兔血清封闭,滴加一抗、二抗及链霉素抗生物素蛋白-过氧化物酶复合物, DAB 显色、复染、封片。PBS 代替一抗作阴性对照。NOD2 的抗体稀释浓度为 1:25。

**1.7 结果判定** 光镜下观察细胞着色情况:阳性细胞胞浆呈棕黄色表达,结构清晰,着色明显高于背景。每张切片随机选择 5 个视野,Image-pro Plus 5.1 免疫组化图像分析系统对阳性细胞进行灰度扫描,取其平均值代表该片的光密度(optical density, OD)值<sup>[5]</sup>。

**1.8 统计学处理** 结果以均数 $\pm$ 标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示,应用 SPSS 11.0 统计软件,多组间均数比较采用单因素方差分析,方差齐性者采用 LSD 法,方差不齐者采用 Tamhane's  $T^2$  检验,两变量的相关分析用 Pearson 直线相关分析法,  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 布地奈德对肺组织 NOD2 表达的影响** 免疫组化结果显示阳性细胞的胞浆呈棕黄色表达,主要表达于气道上皮细胞等。哮喘组肺组织 NOD2 的光密度值显著低于对照组 ( $P < 0.01$ );布地奈德组肺组织 NOD2 的光密度值分别与哮喘组、对照组相比差异无统计学意义(均  $P > 0.05$ )(表 1、图 1)。

**2.2 布地奈德对肺组织病理学改变的影响** HE 染色显示:对照组肺组织结构完整,支气管腔规则,黏膜上皮完整,较少炎症细胞浸润。哮喘组肺内支气管及血管周围见大量炎性细胞浸润、黏液腺增生、气道上皮断裂和脱落、黏液栓形成等表现。布地奈德组上述改变较哮喘组明显减轻,但未完全消失(图 2)。

表 1 肺组织 NOD2 和血 NEU TLR1 的表达水平( $\bar{x}\pm s$ )

组别	<i>n</i>	NOD2(OD 值)	NEU TLR1(MFI)
对照组	9	0.157±0.006	84.37±4.96
哮喘组	9	0.148±0.009 <sup>b</sup>	74.07±6.26 <sup>c</sup>
布地奈德组	8	0.149±0.008	78.54±4.65 <sup>b</sup>
<i>F</i> 值		2.922	8.34
<i>P</i>		>0.05	<0.01

注: 布地奈德组大鼠死亡 1 只(下同); 与对照组比较 <sup>b</sup>*P*<0.05, <sup>c</sup>*P*<0.01

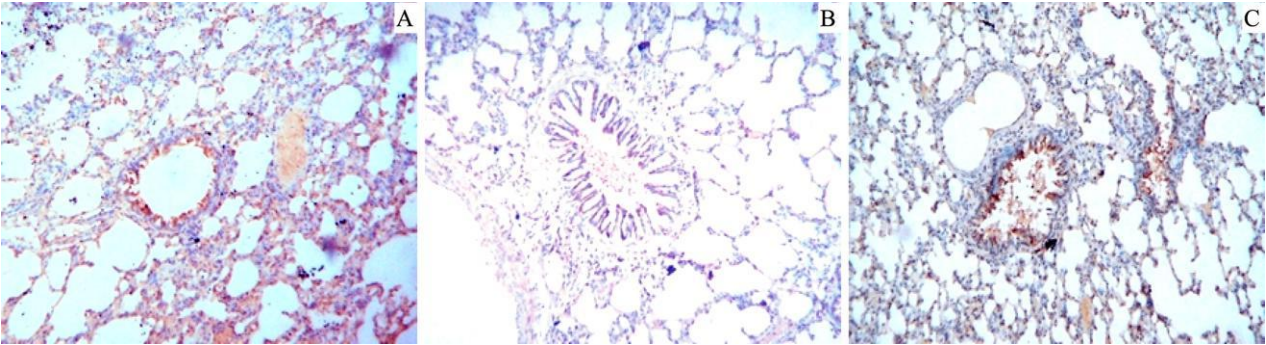


图 1 肺组织 NOD2 的表达(SP × 200)

注: 阳性细胞的胞浆呈棕黄色表达, 主要表达于气道上皮细胞等; A: 对照组; B: 哮喘组; C: 布地奈德组

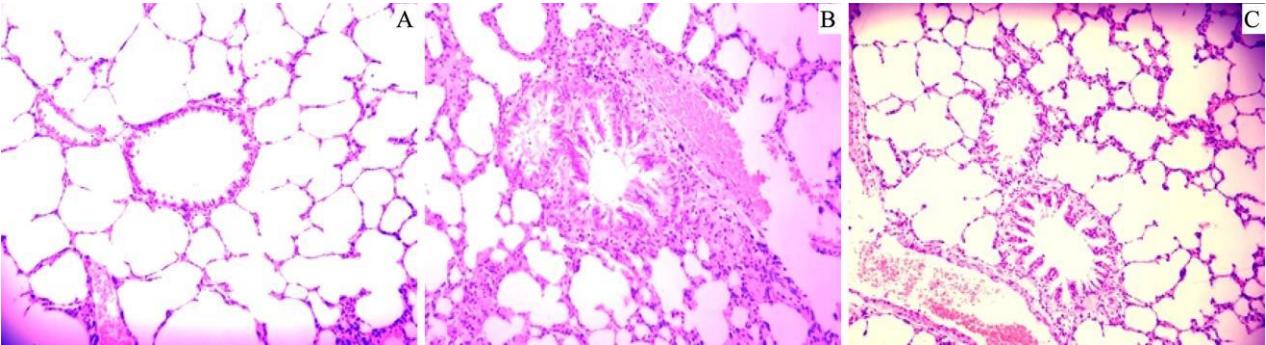


图 2 肺组织 HE 染色(HE × 200)

A: 对照组; B: 哮喘组肺组织炎症性改变; C: 布地奈德组炎症改变较哮喘组明显减轻

2.3 布地奈德对 NEU TLR1 表达的影响 流式细胞术结果显示哮喘组 NEU TLR1 的平均荧光强度显著性低于对照组(*P*<0.01); 布地奈德组

NEU TLR1 的平均荧光强度显著性低于对照组(*P*<0.05), 但与哮喘组相比差异无统计学意义(*P*>0.05)(表 1、图 3)。

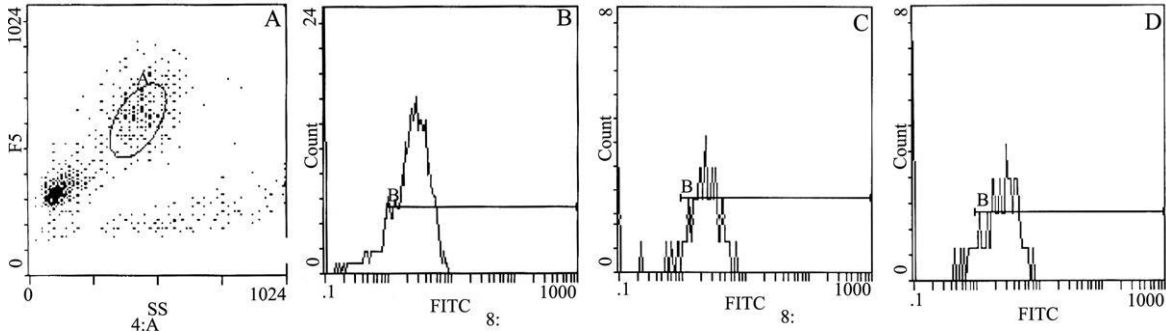


图 3 血 NEU TLR1 的流式细胞术图

A: NEU 细胞; B: 对照组; C: 哮喘组; D: 布地奈德组

**2.4 相关性分析** 血 NEU TLR1 与肺组织 NOD2 的表达水平呈显著正相关 ( $n = 26$ ,  $r = 0.780$ ,  $P < 0.01$ )。

### 3 讨论

哺乳动物具有两个微生物识别系统,一个系统是由 TLR 的膜结合受体家族组成;另一个系统是由位于胞浆的 NOD 蛋白家族组成。入侵机体的微生物可能通过不同抗原激活多个模式识别受体,导致免疫反应的产生。TLR 和 NOD 是一种介导天然免疫的跨膜信号转导受体家族,属于模式识别受体,在介导肺部感染性和非感染性疾病的天然免疫中可能起着非常重要的作用<sup>[6]</sup>。至今已发现 20 多个 NOD 成员,其中最具有代表性的是 NOD1 和 NOD2。大多数 NOD 家族成员含有 3 个不同的功能结构域:一个 N-末端的效应子结合区域,一个位于中央的 NOD,一个 C-末端配体识别区域。NOD1 和 NOD2 能识别细菌肽聚糖的降解产物。NOD1 和 NOD2 作用于共同的下游分子 Rip2(receptor interacting protein 2),然后激活 NF- $\kappa$ B<sup>[7]</sup>,从而促进促炎细胞因子的转录引起机体炎症反应<sup>[8]</sup>。目前认为 NOD2 不仅在巨噬细胞、树突状细胞的抗原递呈和吞噬中起了重要的作用<sup>[9]</sup>,还与自身炎症性疾病相关<sup>[10]</sup>。但 NOD2 能否如 TLR 一样参与哮喘的炎症过程,目前知之甚少。本研究发现,肺组织 NOD2 的表达水平显著低于对照组,提示 OVA 可能下调了肺组织的模式识别作用,其机制有待于进一步研究。推测气道上皮细胞可能由于模式识别作用减弱,降低了 Th1 细胞的活性,相应地促进炎症因子的释放,加重哮喘气道炎症。

哮喘是遗传因素和环境因素综合作用的结果,TLR 可能在其中发挥着重要的作用,因为遗传因素可以引起 TLR 基因的多态性,而环境因素又可以通过 TLR 调节 Th1/Th2 平衡<sup>[11]</sup>,从而影响哮喘的发作,故认为 TLR 可能在哮喘的发病机制中起了重要的作用<sup>[12]</sup>。但是,不同亚型的 TLR 的作用可能不尽相同。在 OVA 诱发的哮喘模型中发现,TLR2 的表达下降<sup>[13]</sup>,而 TLR4 的表达则不受影响<sup>[14]</sup>。所以,进一步研究 TLR 与哮喘之间的相关性,对于明确哮喘的发病机制以及开

发新的治疗策略具有非常重要的意义。目前认为,哮喘是一种气道炎症性疾病,涉及到多种炎症细胞和细胞组分,导致慢性的病理生理改变。NEU 的数目和分泌功能在哮喘急性发作时表达均增加<sup>[15]</sup>,但其机制至今尚未完全阐明。故研究哮喘大鼠 NEU 和 TLR1 的相关性,对哮喘的炎症机制和临床新的治疗方法有着非常重要的理论参考价值。

目前研究发现,TLR 对 PMN 的作用十分广泛。TLR 参与 MEU 的黏附、趋化、聚集,对 NEU 的呼吸爆发、核转录调节、吞噬作用、细胞因子表达、凋亡等均有重要的作用<sup>[16]</sup>。TLR 是 I 型跨膜蛋白,由胞外区、跨膜区和胞内区三部分组成,胞外段富含亮氨酸,主要作用是识别配体-病原相关分子模式。迄今为止,已在哺乳类动物中发现了 12 种 TLR 分子,分别是 TLR1-12。本研究发现,哮喘组血 NEU TLR1 的表达水平显著性低于对照组,提示 NEU 可能通过低表达 TLR1,促进了 Th1/Th2 失衡,诱导 Th2 占优势,进一步加重炎症细胞的浸润和炎症因子的产生,从而参与哮喘的炎症过程。相关性分析发现,NOD2 和 TLR1 呈显著正相关,提示大鼠体内的模式识别功能是通过共同起作用,而不是单纯以其中某一种为主。

吸入糖皮质激素是目前有效治疗哮喘的首选方法。本实验采用吸入糖皮质激素(布地奈德)的方法,深入探讨糖皮质激素对 NOD2 和 TLR1 表达的影响。本实验结果发现,布地奈德组与哮喘组的 NOD2 和 NEU TLR1 的表达水平相近,提示布地奈德可能不能完全提升气道上皮细胞和 NEU 的模式识别作用。推测布地奈德减少哮喘气道炎症的功能可能不是主要通过上调 NOD2 和 TLR1 的表达途径,但是否存在量-效关系有待于深入探讨。

上述结果表明,哮喘大鼠 NOD2 和 TLR1 的表达水平下降,布地奈德可能对 NOD2 和 TLR1 的上调作用较弱,模式识别受体可能参与了哮喘的炎症过程。

### 参考文献

- [1] Strachan DP. Family size, infection and atopy: the first decade of the "hygiene hypothesis"[J]. Thor-

- rax, 2000, 55(Suppl 1): S2—S10.
- [ 2 ] Suarez CJ, Parker NJ, Finn PW. Innate immune mechanism in allergic asthma[ J]. Curr Allergy Asthma Rep, 2008, 8(5): 451—459.
  - [ 3 ] 童夏生, 罗冬娇, 叶斌, 等. CXC 类趋化因子 GRO $\alpha$ 、ENA-78 及 NAP-2 在大鼠哮喘中的表达及意义[ J]. 中华微生物学与免疫学杂志, 2009, 29(9): 778—781.
  - [ 4 ] 叶辉, 应小明, 童夏生, 等. 布地奈德对哮喘大鼠中性粒细胞诱导型一氧化氮合酶表达的影响[ J]. 中国临床药理学与治疗学, 2009, 14(9): 1018—1021.
  - [ 5 ] 周华斐, 王昕昕, 童夏生, 等. 哮喘大鼠中性粒细胞基质金属蛋白酶 9 和血清基质金属蛋白酶抑制剂-1 的表达及地塞米松对其的影响[ J]. 中国临床药理学与治疗学, 2008, 13(8): 870—873.
  - [ 6 ] Opitz B, van Laak V, Eitel J, et al. Innate immune recognition in infectious and noninfectious diseases of the lung[ J]. Am J Respir Crit Care Med, 2010, 181(12): 1294—309.
  - [ 7 ] Hitotsutsumatsu O, Ahmad RC, Tavares R, et al. The ubiquitin-editing enzyme A20 restricts nucleotide-binding oligomerization domain containing 2-triggered signals[ J]. Immunity, 2008, 28(3): 381—390.
  - [ 8 ] 胡巢凤, 陆大祥. Toll 样受体与核苷酸结合寡聚化结构域蛋白在防御反应中的相互作用[ J]. 生理科学进展, 2006, 37(3): 233—235.
  - [ 9 ] Cooney R, Baker J, Brain O, et al. NOD2 stimulation induces autophagy in dendritic cells influencing bacterial handling and antigen presentation[ J]. Nat Med, 2010, 16(1): 90—97.
  - [ 10 ] 李成荣. 自身炎症性疾病[ J]. 中华儿科杂志, 2008, 46(11): 842—847.
  - [ 11 ] Dzopalic T, Dragicevic A, Vasiljic S, et al. Loxoribine, a selective Toll-like receptor 7 agonist, induces maturation of human monocyte-derived dendritic cells and stimulates their Th-1- and Th-17-polarizing capability[ J]. Int Immunopharmacol, 2010, 10(11): 1428—1433.
  - [ 12 ] 刘日明, 吴健民, 高岩, 等. 地塞米松对小鼠模型脾巨噬细胞 TLR2 mRNA 和 TLR4 mRNA 表达的影响[ J]. 中华微生物学和免疫学杂志, 2005, 25(9): 727—746.
  - [ 13 ] 朱蓉, 洪永清. 复方丹参注射液对变应性哮喘小鼠脾巨噬细胞 TLR2 和 TLR4 mRNA 表达的研究[ J]. 临床肺科杂志, 2009, 14(7): 895—897.
  - [ 14 ] 苏苗赏, 李昌崇, 林立, 等. 地塞米松对年幼哮喘大鼠 Toll 样受体 4 信号转导的调节机制[ J]. 中华儿科学杂志, 2006, 44(12): 937—940.
  - [ 15 ] 童夏生, 李昌崇. 中性粒细胞分泌功能与支气管哮喘[ J]. 国际呼吸杂志, 2006, 26(1): 45—48.
  - [ 16 ] 徐文飞. 中性粒细胞中 Toll 样受体的表达与功能[ J]. 现代免疫学, 2007, 27(5): 426—429.

## Expressions of nucleotide-binding oligomerization domain 2 and Toll-like receptor 1 in rat asthma model and the regulation of budesonide

ZHANG Zhi-gang<sup>1</sup>, YE Bin<sup>2</sup>, TONG Xia-sheng<sup>3</sup>, KANG Xiao-dong<sup>4</sup>, YE Hui<sup>5</sup>, WANG En-zhi<sup>6</sup>, CHEN Hao<sup>7</sup>, CHEN Qi<sup>8</sup>

<sup>1</sup>Department of Pediatrics, Taizhou Central Hospital, Taizhou 317000, Zhejiang, China;

<sup>2</sup>Department of Pediatrics, Taizhou Integrated Western and Traditional Chinese Medicine Hospital, Taizhou 317523, Zhejiang, China; <sup>3</sup>Department of Central Laboratory Animals, Qianjiang College, Hangzhou Normal University, Hangzhou 310012, Zhejiang, China; <sup>4</sup>Department of Pediatrics, Taizhou First Hospital, Taizhou 317000, Zhejiang, China; <sup>5</sup>Department of Clinical Laboratory, Taizhou Integrated Western and Traditional Chinese Medicine Hospital, Taizhou 317523, Zhejiang, China; <sup>6</sup>Department of Pathology, Taizhou Integrated Western and Traditional Chinese Medicine Hospital, Taizhou 317523 Zhejiang, China; <sup>7</sup>Department of Clinical Laboratory, Taizhou Central Hospital, Taizhou 317000, Zhejiang, China

**ABSTRACT AIM:** To investigate the potential roles of pattern recognition receptor in pathogen-

esis of asthma inflammation, the expressions of nucleotide-binding oligomerization domain 2

(NOD2) and Toll-like receptor 1 (TLR1) which affected by budesonide were determined in rat asthma model. **METHODS:** Rat models of asthma were randomly divided into three groups on average, including asthma group, control group and budesonide treated group. The expressions of NOD2 proteins were detected by immunohistochemical method, and levels of TLR1 were also measured by flow cytometry at blood neutrophil. **RESULTS:** The expressions of NOD2 proteins in asthma group ( $0.148 \pm 0.009$ , optical density) at lung tissue were significantly lower than those in control group ( $0.157 \pm 0.006$ , optical density) ( $P < 0.05$ ), but there were nonsignificance difference of NOD2 protein expressions neither between in budesonide treated group ( $0.149 \pm 0.008$  optical density) and asthma group, nor between in budesonide treated group and control group (all  $P > 0.05$ ). Dramatically,

levels of TLR1 in asthma group and in budesonide treated group ( $74.07 \pm 6.26$  and  $78.54 \pm 4.65$ , optical density, respectively) were significantly lower than those in control group ( $84.37 \pm 4.96$ , optical density) at blood neutrophil either ( $P < 0.01$  or  $P < 0.05$ , respectively). Moreover, there were a strong positive correlation between levels of NOD2 and TLR1 ( $n = 26$ ,  $r = 0.780$ ,  $P < 0.01$ ). **CONCLUSION:** Levels of NOD2 and TLR1 were decreased in asthmatic rats, the pattern recognition receptor may be a potential role in pathogenesis of asthma inflammation. Perhaps there is a mild effect on up-regulating NOD2 and TLR1 levels by budesonide.

**KEY WORDS** Asthma; Nucleotide-binding oligomerization domain; Toll-like receptor; Pattern recognition receptor; Rat

本文编辑:李娟

## 《药物临床试验方法学》已出版

化学工业出版社医药出版分社最近出版的“药物临床试验方法学”是一本介绍临床试验系统工程管理和操作的颇具参考价值的书籍。此书的作者们在国外从事新药临床试验管理工作十几年, 十分了解发达国家医药管理机构对药物临床研究的指导原则和各项具体要求。此书不仅涉及医药和药学的临床试验知识, 还介绍了与临床试验有关的药政、伦理、财务、法律和商务管理的实施程序和文件要求, 其中许多内容在国内是首次系统论述, 如药物供应、经费预算、医疗器械临床试验, 首次人体临床试验、药物相互作用临床试验、电子化数据管理、安全性监督和管理、临床试验的文档准备和建立、临床试验方案和试验报告的设计和管理、临床试验结果报告的格式和管理、受试者的招募和慰留策略和临床试验的设计策略等, 对于具体从事临床试验工作的人员非常具有重要且非常实用的参考。本书在拓宽临床试验全过程的管理和细节的同时, 还加深了操作规范上的要点和方法, 对临床试验各个环节规范要点、操作程序、监查对象等逐一展开论述, 以期尽量弥补相对国外临床试验管理和操作程序标准化, 国内临床试验表现出的在多个方面的薄弱和不足。本书对临床试验领域中各个方面的参与者, 包括申办者、监查员、研究者、合同研究组织、数据管理者、伦理委员会等都还有着重要的专业指导意义。此书定价为 158 元人民币(含光盘)。

购书咨询电话为 010-6451888, 传真为 010-64519686。

有关此书的信息还可以在化学工业出版社的网址 [www.cip.com.cn](http://www.cip.com.cn) 上查找到。