

## 基础研究

## 神经干细胞移植治疗大鼠脊髓损伤的体内示踪

张立峰<sup>1</sup>, 蒋赞利<sup>2</sup>, 茅祖斌<sup>2</sup>, 郑奇<sup>3</sup>, 沈素祥<sup>1</sup>, 张宇<sup>4</sup>

(1 东南大学临床医学院 210009 江苏省南京市; 2 东南大学附属中大医院骨科 210009 江苏省南京市;

3 江苏省人民医院眼科 210029 江苏省南京市; 4 东南大学生物科学与医学工程系 210009 江苏省南京市)

**【摘要】目的:**探讨观察神经干细胞(NSCs)移植到大鼠损伤脊髓(SCI)后迁徙情况的方法。**方法:**体外培养大鼠 NSCs,应用超顺磁性氧化铁(super paramagnetic iron oxide, SPIO)及多聚左旋赖氨酸(PLL)标记 NSCs,分别进行普鲁士蓝染色、电子显微镜观察 NSCs 在体外标记情况。66 只 SD 大鼠随机分为假损伤组(A 组)、脊髓损伤对照组(B 组)、脊髓损伤后 NSCs 移植治疗组(C 组),分别在细胞移植术后第 7d、14d、21d、28d 及 35d,按照改良 Tarlov 评分法和 Rivlin 斜板试验观察大鼠神经功能恢复情况,B、C 组术后第 7、21、35d 行 MRI 检查,扫描序列包括 T1WI、T2WI、T2\*WI。**结果:**(1)普鲁士蓝染色证实 SPIO 和 PLL 标记 NSCs 的有效率为 100%。(2)细胞移植后 7~35d,C 组与 B 组动物运动功能均有不同程度恢复,但 B 组恢复较慢,14d、21d、28d 和 35d 时 C 组 Tarlov 评分和斜板试验角度与 B 组相比差异有统计学意义( $P<0.05$ )。(3)1.5T MRI 检查,C 组移植处在 T2\*WI 序列呈低信号改变,第 21d 低信号向损伤区扩大,第 35d 损伤区见到低信号改变。B 组相同时间点无低信号改变。第 35 天时与 B 组相比,C 组 3 个扫描序列中信号强度分别下降 32.55%、54.14%、62.27%,T2\*WI 的信号强度变化最大,T1WI 变化最小。**结论:**磁共振技术可以追踪 SPIO 及 PLL 标记的移植在体内的 NSCs。

**【关键词】**脊髓损伤;神经干细胞移植;磁共振成像;大鼠

中图分类号:R683.2,Q813 文献标识码:A 文章编号:1004-406X(2008)-10-0780-05

Tracing of neural stem cells transplantation in the treatment of spinal cord injury in rats/ZHANG Lifeng,JIANG Zanli,MAO Zubin,et al//Chinese Journal of Spine and Spinal Cord,2008,18(10):780-784

**【Abstract】Objective:**To Study the feasibility of tracing of neural stem cells(NSCs) transplantation on spinal cord injury(SCI) in vivo.**Method:**NSCs were cultured in vitro,and coated by the marker of neural stem cells, poly-L-lysine(PLL) and super paramagnetic iron oxide(SPIO),Prussian blue staining was used to label the cells.In vitro the labeling was checked under electroscope.66 SD rats were randomly divided into sham injury group (group A),spinal cord injury without treatment as the control (group B),spinal cord injury with NSCs transplantation as the treatment group (group C),The neurofunction of spinal cord was evaluated by modified Tarlov score and Rivlin platform test at 7d,14d,21d,28d and 35d after transplantation.Group B and C were examined by MRI in sequences of T1WI,T2WI,T2\*WI at 7d,21d and 35d.**Result:**(1)Neural stem cells could be labeled with SPIO and PLL labeling efficiency was 100%.Prussian blue staining showed there were numerous blue stained iron particles in the cytoplasm.(2)7 to 35 days after cell transplantation,motor function of the animals in group C and group B recovered to some extent,but the recovery in group B was slower than that in group C,the difference was significant ( $P<0.05$ ).(3)On 1.5T MRI examination,transplantation area in group C in T2\*WI sequence showed low signal change,and the low signal area expanded to the injured region in 21days,furthermore,the low signal could be seen in the injured area after 35 days.Group B did not show any low signal.The signal intensity in three sequences in group C decreased 32.55%,54.14%,62.27% respectively the change of signal intensity in T2\*WI was most,T2WI was moderate,and T1WI was less.**Conclusion:**In vivo NSCs labeled with SPIO after transplantation in the treatment of spinal cord injury can be traced by MRI technology,NSCs transplantation for spinal cord injury in rats is conducive to the restoration of hind limb function.

**【Key words】**Spinal cord injury;Neural stem cell;Magnetic resonance imaging;Rat

**【Author's address】**School of Clinical Medical Science,Southeast University,Nanjing,210009,China

第一作者简介:男(1981-),医学硕士,研究方向:脊柱脊髓损伤

E-mail:zhangdoc4944@126.com

通讯作者:蒋赞利

脊髓损伤(spinal cord injury,SCI)后自身的修复能力非常有限,死亡的神经元不能由自身产

生的神经元或邻近的神经元代替。神经干细胞(neural stem cells, NSCs)是中枢神经系统中具有增殖和分化能力的一类细胞,是神经系统发育早期特定的细胞群体,它具备干细胞共有的特点,即能长久地保持增殖和分化能力<sup>[1]</sup>。随着分子影像学的发展,干细胞移植后的体内活体追踪是近期研究的一个热点<sup>[2]</sup>。本研究利用超顺磁性氧化铁(super paramagnetic iron oxide, SPIO)标记大鼠 NSCs,对脊髓损伤大鼠进行细胞移植后的活体追踪,探索利用磁共振技术追踪活体干细胞迁徙的可行性。

## 1 材料与方法

### 1.1 NSCs 的制备、培养与鉴定<sup>[3]</sup>

取孕 14d SD 大鼠胚胎,无菌条件下取出全脑,仔细剥离血管和脑膜。剪下双侧脑皮质组织, PBS 洗涤后剪成 0.1mm<sup>3</sup> 的碎块,置离心管中加 0.25% 的胰蛋白酶消化 15min。其间间断用吸管吹打组织悬液至无肉眼可见组织块,用含 10% FBS 的 DMEM/F12 培养基终止消化, 1000r/min 离心 10min, 去除上清,以 1×10<sup>5</sup> 个/ml 细胞接种于细胞培养瓶,用 DMEM/F12(1:1)无血清培养基(内含 bFGF20ng/ml、EGF20ng/ml、B27 20nl/ml)培养。每 6~7d 换液、传代 1 次。

将无菌盖玻片放入 6 孔板,加入 NSCs 悬液,培养 24h 后用 4% 多聚甲醛固定 30min。0.25% Triton-100 破膜 12min,然后用 5% 脱脂奶粉封闭特异性抗原,室温孵育 30min,吸干残液后滴加 1:500 小鼠抗大鼠 Nestin IgG1 (I 抗),4℃孵育过夜。第 2 天滴加 FITC 标记的羊抗小鼠 IgG1 (II 抗),室温孵育 1h,50% 缓冲甘油封片,荧光显微镜下观察并摄像。

### 1.2 NSCs 标记

细胞传至第 3 代,取适量已包被多聚左旋赖氨酸(poly-L-lysine, PLL)的 SPIO 加入 10ml DMEM/F12 培养基中,37℃振荡 60min,使 SPIO 终浓度为 25μg/ml,将消化的细胞沉淀加入含 SPIO 的培养基中孵育 12h 完成标记。

标记后的 NSCs 换成含 10% 血清的 DMEM/F12 的培养液置于 6 孔板中培养 7d,去掉培养液, PBS 洗涤 3 遍,4% 多聚甲醛固定 30min, PBS 洗涤 3 遍,用含 2% 亚铁氰化钾的 6% 盐酸溶液常温孵育 30min,显微镜下观察。

### 1.3 动物分组与脊髓损伤模型的制作

66 只成年雄性 SD 大鼠,体重 250~300 g,随机分为假损伤组(A 组,6 只)、脊髓损伤对照组(B 组,30 只)及细胞移植治疗组(C 组,30 只)。B、C 组参照改良的 Allen 重物打击法<sup>[4]</sup>制作大鼠脊髓背侧损伤模型:实验前大鼠禁食 8h,用戊巴比妥钠(30g/L)按 40mg/kg 腹腔注射麻醉,背部脱毛后俯卧位固定于动物手术台上,常规消毒,腰背部正中切口,逐层分开显露 T8~T10 椎板,行 T9 全椎板切除,显露硬脊膜,钳夹固定 T8 及 T10 棘突,用 10.0g 的不锈钢棒(直径为 2.5mm)沿带有刻度的玻璃导管从 25mm 高处垂直下落,打击在由塑料制成的底部呈凹面、直径为 3mm 的撞杆上,造成大鼠脊髓不完全损伤,致伤后迅速移开打击物,逐层缝合。打击后,大鼠出现摆尾反射,双下肢及躯体回缩样扑动,麻醉清醒后双下肢呈弛缓性瘫痪。A 组仅行 T9 全椎板切除术,不损伤脊髓。术后即刻腹腔注射 5% 葡萄糖盐水 2ml,予青霉素钠盐 5 万单位背外侧肌群肌注预防感染,每天 1 次,持续 3d。分笼饲养,自由取食,每天早 8 点及晚 8 点行膀胱按摩协助排尿,直至建立反射性排尿。

### 1.4 细胞移植

将第 3 代悬浮培养的 NSCs 悬液用台式离心机离心 5min(1000r/min),将细胞团以少量培养液吹匀,细胞计数为 10<sup>5</sup> 个/μl。C 组动物脊髓损伤后 9d 用戊巴比妥钠腹腔注射麻醉后俯卧位固定于动物手术台上,于损伤节段下位 0.5cm 处手术暴露硬脊膜,用 5μl 微量注射器以与脊髓水平面呈 30°角刺入脊髓组织中,注入 2μl NSCs 悬液,逐层缝合切口各层。B 组同法注入等量蒸馏水。

### 1.5 神经功能评分

所有动物均于术前及细胞移植术后 7d、14d、21d、28d 及 35d 或相应时间点时按改良 Tarlov 评分法及 Rivlin 斜板试验进行神经功能评价。所有观察均在晚间 8 点由不知本实验内情但熟悉评分标准的 2 人同时独立进行,各自观察 3 次,最后取平均值。评定前排空膀胱。先进行改良 Tarlov 评分,30min 后再进行 Rivlin 斜板实验<sup>[6]</sup>。

### 1.6 磁共振检查

C 组动物于细胞移植术后第 7、21、35d, B 组动物在相应时间点分别行磁共振检查,麻醉方法同前。扫描序列包括 T1WI、T2WI、T2\*WI。

### 1.7 统计学处理

所有数据以  $\bar{x} \pm s$  表示, 采用 SPSS 12.0 统计软件处理, 组间比较采用  $t$  检验,  $P < 0.05$  表示差异有统计学意义。

## 2 结果

实验过程中, B 组有 2 只动物死亡, C 组有 6 只动物死亡, 均随即按实验步骤补充。

NSCs 在无血清培养基中进行体外培养能保持其未分化的多潜能状态, 换液后细胞生长迅速, 培养 1 周左右, 随着 NSCs 的不断扩增, 形成悬浮生长的神经球(图 1, 后插页 I), Nestin 免疫荧光染色有明显的荧光(图 2, 后插页 I)。普鲁士蓝染色显示 100% 的 NSCs 胞质内出现细小的蓝色铁颗粒(图 3, 后插页 I)。

各组改良 Tarlov 评分和 Rivlin 斜板试验结果见表 1、2。C 组与 B 组动物运动功能均有不同程度恢复, 但 B 组恢复较慢, 两组移植术后和时间点的评分差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。

SPIO 标记的 NSCs 移植到 C 组 SCI 部位后第 7d, 损伤部位未见低信号改变; 第 21d 时损伤区可见到低信号改变; 第 35d 时低信号改变范围扩

大(图 4~6)。B 组同期则无低信号改变。第 35d 时两组损伤处不同序列信号强度见表 3。与 B 组相比, C 组 3 个扫描序列中信号强度分别下降 32.55%、54.14%、62.27%。

表 2 大鼠 SCI 前、后不同时间点 Rivlin 斜板试验 ( $\bar{x} \pm s$ ) (分)

|          | A 组        | B 组        | C 组                     |
|----------|------------|------------|-------------------------|
| 术前       | 75.00±0.00 | 75.00±0.00 | 75.00±0.00              |
| 移植术后 7d  | 75.00±0.00 | 22.58±2.12 | 28.33±2.23 <sup>①</sup> |
| 移植术后 14d | 75.00±0.00 | 24.87±2.51 | 37.46±2.42 <sup>①</sup> |
| 移植术后 21d | 75.00±0.00 | 27.36±2.75 | 43.67±2.44 <sup>①</sup> |
| 移植术后 28d | 75.00±0.00 | 30.83±2.04 | 49.37±2.16 <sup>①</sup> |
| 移植术后 35d | 75.00±0.00 | 33.81±2.34 | 54.83±3.04 <sup>①</sup> |

注: ①与 B 组比较  $P < 0.05$

表 3 细胞移植后 35d 时不同序列信号强度值 ( $\bar{x} \pm s$ , ms)

|     | T1WI          | T2WI          | T2*WI         |
|-----|---------------|---------------|---------------|
| 移植组 | 1625.02±47.31 | 964.27±9.88   | 701.06±3.94   |
| 对照组 | 2409.96±76.24 | 2102.04±46.71 | 1858.60±52.50 |

表 1 大鼠 SCI 前、后不同时间点的改良 Tarlov 评分 ( $\bar{x} \pm s$ ) (分)

|          | A 组       | B 组       | C 组                    |
|----------|-----------|-----------|------------------------|
| 术前       | 5.00±0.00 | 5.00±0.00 | 5.00±0.00              |
| 移植术后 7d  | 5.00±0.00 | 2.12±0.32 | 2.71±0.36 <sup>①</sup> |
| 移植术后 14d | 5.00±0.00 | 2.87±0.49 | 3.57±0.38 <sup>①</sup> |
| 移植术后 21d | 5.00±0.00 | 3.13±0.45 | 4.02±0.25 <sup>①</sup> |
| 移植术后 28d | 5.00±0.00 | 3.47±0.34 | 4.23±0.52 <sup>①</sup> |
| 移植术后 35d | 5.00±0.00 | 3.71±0.39 | 4.55±0.56 <sup>①</sup> |

注: ①与 B 组比较  $P < 0.05$

## 3 讨论

过去认为中枢神经组织损伤不可再生, 1992 年 Reyonlds 等<sup>[7]</sup>首次报道在体外成功分离 NSCs, 通过移植的 NSCs 大量增殖分化, 替代损伤的脊髓组织, 重建神经通路成为可能。提高 NSCs 移植后存活率并定向调控其向神经元分化是现今研究的重点。SCI 后的脊髓内环境不利于 NSCs 的存活及分化。Okano<sup>[8]</sup>认为 SCI 后存在一个“窗口期”, 在“窗口期”内进行 NSCs 移植治疗 SCI 可能会取得更好的效果, 窗口期大约在 SCI 后的 7~14d。延

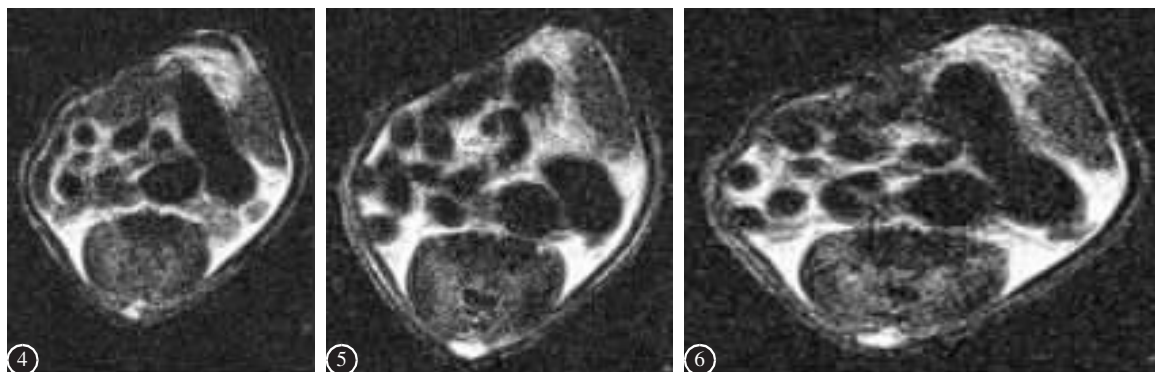


图 4 1.5T 磁共振 T2\*WI 序列扫描脊髓损伤处, NSCs 移植后第 7 天在 SCI 部位未见低信号改变 图 5 1.5T 磁共振 T2\*WI 序列扫描脊髓损伤处, 见 NSCs 移植后第 21 天在 SCI 部位有低信号改变 图 6 1.5T 磁共振 T2\*WI 序列扫描脊髓损伤处, 见 NSCs 移植后第 35 天在 SCI 部位有低信号改变



迟移植明显提高了 NSCs 的存活率,一定程度上促进了 NSCs 向神经元分化。但是时间过长损伤处形成瘢痕,细胞又难以修复。本研究在 SCI 后 9d 移植 NSCs,此时急性炎症已消退,微环境进入修复阶段,有神经生长因子和营养因子的表达及微血管的形成,有利于移植细胞的存活<sup>[9]</sup>。同时,NSCs 分泌的神经营养因子有利于轴突再生及突触形成。本研究结果表明,C 组神经功能恢复明显好于 B 组,差异有统计学意义。

干细胞移植后,如何无创伤性地在活体内动态监测移植细胞的迁移、生存状态一直是困扰医学科研工作者的难题,也是近几年研究工作的热点。随着超顺磁性 MR 对比剂的研制成功及 MR 成像设备及方法的快速发展,为这一领域的研究开拓了方向。

MRI 可以提供小至 25~50 $\mu\text{m}$  的分辨率,接近单一细胞的水平,使其理论上可以用来对移植的细胞进行活体示踪。应用新型的 MRI 对比剂——SPIO 标记 NSCs,以其独特的超顺磁性,利用 MRI 可以对 NSCs 移植后的迁徙、增殖情况进行动态观察。使用 SPIO 标记 NSCs 移植的各种中枢神经系统损伤的初期动物实验研究表明,标记的干细胞可以特异地向损伤区域迁移。Jendelova 等<sup>[10,11]</sup>使用 Endorem 和 5-溴脱氧尿核苷(BrdU)双重标记大鼠骨髓间充质细胞,实验动物为光化学损伤缺血大鼠模型和正常对照大鼠,细胞直接移植到正常大鼠脑实质内和缺血大鼠模型的对侧脑实质内,或通过股静脉途径移植。结果发现,在正常大鼠中移植的细胞未见迁移,只在注射部位存活;静脉移植的细胞在正常脑实质内未见,只在一些脑毛细血管中见到 BrdU 标记阳性细胞;对于损伤缺血模型,移植后 1 周在脑实质内病灶部位可发现低信号,2~3 周后渐清晰,在胼胝体也可发现弱的低信号影。普鲁士蓝染色和免疫组织化学检测发现病灶区和胼胝体有大量的标记细胞,证明细胞从对侧通过胼胝体迁移到病灶;静脉注入标记细胞后 6d 行 MRI 检查可在病灶区发现低信号,并可持续 7 周,MRI 检查结果被相同时间段的免疫组化结果所证实。Zhang 等<sup>[12]</sup>从成熟大鼠分离室管膜下区干细胞,SPIO 标记后移植入缺血模型大鼠的脑池系统内,发现移植干细胞特异地向缺血脑实质处迁移,MRI 示踪观察活体大鼠的迁移速度约为 65 $\mu\text{m}/\text{h}$ 。同时,移植后各种损伤模型的神

经功能有改善。Hoehn 等<sup>[13]</sup>将标记胚胎干细胞移植到缺血模型对侧皮层与胼胝体之间及纹状体处,移植后 3 周,MRI 检查发现标记干细胞顺着胼胝体迁移至室管膜壁及病灶的边缘。Bulte 等<sup>[14]</sup>将标记的神经前体细胞,移植入实验性变态反应性脑脊髓膜炎大鼠侧脑室内,MRI 检查也观察到细胞向病变处迁移。

众多实验室研究的结果<sup>[12,16,17]</sup>表明,超顺磁性物质转染后标记的干细胞不存在近期和远期毒副作用,包括细胞活性、功能、增殖能力、分化能力、凋亡率、氧自由基生成情况。作为超顺磁性 MR 对比剂,它可以影响局部磁场均匀性,同时产生磁化率效应(susceptibility effect),从而加速共振质子的失相位,使 T2 弛豫时间显著缩短,此类对比剂的 T1 效应相对较弱。本实验观察到在 NSCs 移植后 3~5 周行 MRI 检查时 SCI 部位可观察到低信号改变,表明 NSCs 可以定向向损伤区域迁移,此时神经功能评分显示细胞移植治疗组与损伤对照组有显著性差异,说明随着移植细胞向 SCI 区域迁移数量的增加,大鼠运动功能也得到明显改善。通过体内外两个方面对所标记细胞进行 MR 示踪,充分显示了磁共振技术的优越性以及应用于临床的可能性。利用这种非侵袭的方法,对移植入体内的 NSCs 进行动态监测,可以无创检测移植的细胞在体内存活和迁移的情况;与功能评分相结合,可以对研究和治疗对象进行实时、持续的观察。

但是这只是干细胞移植后 MRI 示踪成像的初步成功,还有许多问题需要深入研究。例如,由于细胞代谢和干细胞分裂分化,磁性标记物会逐渐消失,标记细胞的磁敏感效应逐渐消失,T2 时间逐渐延长,接近未标记细胞、正常或损伤组织,如何在临床监测干细胞的生存情况尚待进一步研究。

#### 4 参考文献

1. Gage FH. Mammalian neural stem cells[J]. Science, 2000, 287(5457): 1433-1438.
2. Arbab AS, Liu W, Frank JA. Cellular magnetic resonance imaging: current status and future prospects [J]. Exp Rev Med Dev, 2006, 3(4): 427-439.
3. 唐少锋, 汤逊, 蔡景霞, 等. 人胚胎神经干细胞的分离培养及鉴定研究[J]. 中国脊柱脊髓杂志, 2003, 13(9): 523-525.
4. Khan T, Havey RM, Sayers ST, et al. Animal models of spinal

- cord contusion injuries[J].Lab Anim Sci, 1999, 49(2):161-172.
5. Cheng H, Cao Y, Olson L. Spinal cord repair in adult paraplegic rats: partial restoration of hind limb function[J]. Science, 1996, 273(5274):510-513.
6. Rivlin AS, Tator CH. Objective clinical assessment of motor function after experimental spinal cord injury in the rat[J]. Neurosurg, 1977, 47(4):577-581.
7. Reynolds BA, Weiss S. Generation of neurons and astrocytes from isolated cells of the adult mammalian central nervous system[J]. Science, 1992, 255(5052):1707-1710.
8. Okano H, Ogawa Y, Nakamura M, et al. Transplantation of neural stem cells into the spinal cord after injury [J]. Semin Cell Dev Biol, 2003, 14(3):191-198.
9. 罗伟, 赵匡彦, 王廷华. 神经干细胞移植与脊髓损伤修复[J]. 中华创伤杂志, 2004, 20(9):571-573.
10. Jendelova P, Herynek V, Urdzikova L, et al. Magnetic resonance tracking of transplanted bone marrow and embryonic stem cells labeled by iron oxide nanoparticles in rat brain and spinal cord[J]. J Neurosci Res, 2004, 76(2):232-243.
11. Jendelova P, Herynek V, DeCros J, et al. Imaging the fate of implanted bone marrow stromal cells labeled with superparamagnetic nanoparticles[J]. Magn Reson Med, 2003, 50(4):767-776.
12. Zhang ZG, Jiang Q, Zhang R, et al. Magnetic resonance imaging and neurosphere therapy of stroke in rat [J]. Ann Neurol, 2003, 53(2):259-263.
13. Hoehn M, Kustermann E, Blunk J, et al. Monitoring of implanted stem cell migration in vivo: a highly resolved in vivo magnetic resonance imaging investigation of experimental stroke in rat [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2002, 99(25):16267-16272.
14. Bulte JW, Zhang S, van Gelderen P, et al. Neurotransplantation of magnetically labeled oligodendrocyte progenitors: magnetic resonance tracking of cell migration and myelination[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1999, 96(26):15256-15261.
15. Bulte JW, Ben-Hur T, Miller BR, et al. MR Microscopy of magnetically labeled neurospheres transplanted into the Lewis EAE rat brain[J]. Magn Reson Med, 2003, 50(1):201-205.
16. Frank JA, Miller BR, Arbab AS, et al. Clinically applicable labeling of mammalian and stem cells by combining superparamagnetic iron oxides and transfection agents[J]. Radiology, 2003, 228(2):480-487.
17. Yocum GT, Wilson LB, Ashari P, et al. Effect of human stem cells labeled with ferumoxides-poly-L-lysine on hematologic and biochemical measurements in rats[J]. Radiology, 2005, 235(2):547-552.

(收稿日期:2007-12-24 修回日期:2008-08-18)

(英文编审 郭万首)

(本文编辑 卢庆霞)

## 欢迎订阅 2009 年《中国脊柱脊髓杂志》

《中国脊柱脊髓杂志》是由卫生部主管,中国康复医学会与中日友好医院主办,目前国内唯一以脊柱脊髓为内容的国家级医学核心期刊。及时反映国内外脊柱脊髓领域的科研动态、发展方向、技术水平。

读者对象:从事脊柱外科、骨科、神经科、康复科、肿瘤科、泌尿科、放射科、基础研究及生物医学工程等及相关学科的专业人员。

本刊为中国科技信息中心“中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊)”,中科院中国科学计量评价研究中心“中国科学引文数据库(CSCD)来源期刊”,已分别入编 Chinainfo(中国信息)网络资源系统及以中国学术期刊光盘版为基础的中国期刊网,影响因子名列前茅。

月刊,大 16 开,正文 80 页,每月 10 日出版。全册铜版纸印刷,并附彩色插页。

2009 年每册定价仍为 15 元,全年 180 元。全国各地邮局均可订阅,邮发代号 82-457。国外读者订阅请与中国国际图书贸易总公司中文报刊科联系(100044,北京车公庄西路 35 号),代号:BM6688。

本刊经理部可随时为国内外读者代办邮购(免邮寄费)。地址:北京市朝阳区樱花园东街中日友好医院内,邮编:100029。电话及传真:(010)64284923,64206649;E-mail 地址:cspine@263.net.cn。

可为相关厂家、商家提供广告园地。广告经营许可证:京朝工商广字 0148 号。