

结核分枝杆菌感染人源树突状细胞的蛋白质表达谱

包佳玲¹ 乐 军² 田野苹³ 杨燕萍¹ 王洪海^{1*}

(¹复旦大学生命科学院遗传学研究所 遗传工程国家重点实验室 上海 200433)

(²上海市肺科医院检验科 上海 200433)

(³第二军医大学免疫教研室 上海 200433)

摘 要 在结核分枝杆菌(*Mycobacterium tuberculosis*, MTB)的感染中,树突状细胞(Dendritic cells, DCs)的应答反应是机体起始免疫应答的关键。因此,利用双向电泳技术(Two-dimensional electrophoresis, 2-DE)对人源树突状细胞受结核分枝杆菌 H37Rv ATCC 27294 菌株感染前后的全细胞蛋白表达图谱进行差异比较和分析,发现其中产生差异的有 45 个蛋白质斑点,利用基质辅助激光解析/电离串联飞行时间质谱技术对其中 4 个表达明显上调的蛋白质斑点进行分析鉴定,获得 4 个明确的肽指纹图谱,通过在数据库中检索分析,确定这 4 个蛋白质分别为人亚砷酸诱导 ATP 酶【Human Arsenite-stimulated ATPase hASNA-1】、膜联蛋白 IV(Annexin IV)、 γ -肌动蛋白(γ -actin)、热休克蛋白 27(Heat shock protein27, HSP27)。上述发现有助于了解结核分枝杆菌入侵早期导致的树突状细胞蛋白质组表达变化,为深入研究结核分枝杆菌-宿主相互作用提供了探索方向。

关键词 树突状细胞, 结核分枝杆菌, 蛋白质组, 差异表达, 双向电泳

中图分类号 Q93, Q51 **文献标识码** A **文章编号** 0001-6209(2005)03-0415-05

结核病仍然是目前严重威胁人类健康的传染病之一。每年结核病死亡人数超过二百万,新发病例八百万^[1]。结核病的致病菌——结核分枝杆菌(*Mycobacterium tuberculosis*, MTB)在感染宿主机体的过程中,宿主的抗原递呈细胞,树突状细胞(Dendritic cells, DCs)与结核分枝杆菌的相互作用对机体的免疫应答起始起到了决定性的作用。

DCs 是最有力的抗原呈递细胞,在起始免疫中起到核心作用^[2]。抗原提呈细胞(Antigen presenting cells, APCs)有树突状细胞和巨噬细胞^[3]。

DCs 的主要功能是摄取病原体,迁移到淋巴结,递呈处理过的抗原。未成熟的 DCs 受到外源刺激后向淋巴结迁移的过程还伴随着它功能和表型的成熟(1)细胞表面分子表达增加,这些分子对 DCs 有效的刺激 T 细胞起着关键性的作用,其中最明显的就是 MHC II 和协同刺激分子 CD40 (2)细胞因子的改变,如白细胞介素 IL-12,肿瘤坏死因子 TNF α 等表达的增加^[4],都是使 DCs 与 T 细胞作用的能力增强的重要因素。因此当 DCs 到达淋巴结的时候,已具有了刺激初生 T 淋巴细胞的能力。

但是,越来越多的证据证实,许多病原体能破坏

DCs 的功能来逃避免疫监视。例如, HIV-1 利用 DCs 来进行病毒的扩散。MTB 和 DCs 的相互作用,能够抑制细胞的免疫刺激功能,使病菌在细胞内存活。推测 MTB 通过作用于 DCs 上的特异性受体——DC-SIGN(DC-specific intercellular-adhesion-molecule-3-grabbing nonintegrin)来抑制 DCs 的功能^[5]。实际上,结核分枝杆菌特异的细胞壁成分酯阿拉伯甘露聚糖(lipoarabinomannan, ManLAM)同 DCs 的接合,阻碍了脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)-介导的细胞成熟和 IL-12 的分泌^[6]。DCs 受诱导后分泌的 IL-10 能下调 IL-12 的分泌来抑制针对分枝杆菌的细胞反应^[4]。这样,对抗 MTB 的有效的细胞免疫反应就被阻止了。DCs 杀灭病原体的能力被破坏,不仅为细菌提供了潜伏的场所,而且被利用来为细菌的进一步入侵做贡献^[7]。

研究 MTB 和树突状细胞间感染初期的相互作用,有利于从根本上了解细菌-宿主相互作用的机理,阐明结核分枝杆菌逃避免疫的机制,为抗结核新型疫苗的开发及免疫治疗方案的设计提供了依据。本研究利用双向电泳技术接合基质辅助激光解析/电离串联飞行时间质谱技术,直接从差异表达的蛋

基金项目 国家自然科学基金(30270072)

* 通讯作者。Tel 86-21-65643777; Fax 86-21-65648376; E-mail: hhwang@fudan.edu.cn

作者简介 包佳玲(1980-),女,重庆人,硕士研究生,主要从事分子免疫学方面的研究。E-mail: zqbjl@163.com

其他作者 刘丽蓉¹, 闵彦³

收稿日期 2004-09-30, 修回日期 2004-12-29

白质,来探讨 MTB-宿主相互作用的机理,弥补了从基因水平研究差异蛋白表达时,会忽略的一些重要因素,例如 mRNA 的剪切、修饰,蛋白质的糖基化、磷酸化和翻译调控等的影响,从蛋白质组学的水平,探索了一条研究新路。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 菌株和培养:结核分枝杆菌(MTB) H37Rv ATCC 27294 菌株由上海市肺科医院检验科分枝杆菌检验室提供。细菌在 Middlebrook 7H9(Difco)添加 OADC(0.5% 牛血清白蛋白,0.2% 葡萄糖,0.06% 油酸甘油酯,140mmol/L 氯化钠)的液体培养基中 37℃ 培养。培养容器为三角烧瓶。200mL Middlebrook 7H9 培养基内接种 2mL 菌数为 2×10^8 的 H37Rv 菌液,终浓度为 1×10^6 个/mL,37℃ 培养 6~8d,至细菌浓度为 1×10^8 个/mL 或吸光值 A_{600} 为 0.8~1.0 之间后,4000r/min,4℃ 离心 15min 沉淀细菌,用 pH7.4 的 PBS 缓冲液洗涤沉淀细菌 2 次,加入 RPMI Meddium1640 细胞液体培养基,超声处理 2min,重复 3 次,去除菌块,血球计数板记细菌数,以确保实验中每次细胞感染的细菌数量相同。

1.1.2 细胞株和培养:人源树突状细胞由第二军医大学田野莘教授赠送。细胞在 GM-CSF、IL-4 终浓度分别为 500U/mL、10ng/mL 的 RPMI 1640 完全培养基中 37℃ 培养,培养箱中 CO₂ 的浓度是 5%。在第 3、5、7 天 吸出 150 μ L 培养基,补充包含 GM-CSF 及 IL-4 的培养基 170 μ L。终浓度为 1×10^7 cells/mL。

1.1.3 主要仪器:PROTEAN IEF Cell 等电聚焦电泳仪、PROTEAN II Xi Cell 垂直板电泳仪、Molecular Image Fx 凝胶图像扫描仪和 PDQuest6.0 图像分析软件均为 Bio-Rad 公司产品;U-3000 分光光度计为 HITA-CHI 公司产品;质谱分析系统为美国 Applied Biosystems 公司的 ABI 4700 TOF-TOF 质谱仪。

1.2 细菌感染树突状细胞

感染试验时,按照树突状细胞:细菌 = 1:10 的比例混合^[8]。5% CO₂ 的培养箱中 37℃ 培养 16h^[9]。对照为未感染细菌的树突状细胞。

1.3 双向凝胶电泳

1.3.1 细胞蛋白样品的制备:感染及未感染 MTB 的树突状细胞以 2000r/min、4℃、离心 10min,分别收集沉淀,用 PBS 吹打洗涤,重复 3 次。按每 4×10^6 个细胞加入 400 μ L 裂解液(7mol/L 尿素,2mol/L 硫脲,4% CHAPS,40mmol/L DTT,5g/L Bio-Lyte,0.001% 溴

酚蓝),反复吹打至粘度降低。反复冻融至上清变清澈,以 14000r/min、4℃、25min 离心去沉淀^[10]。Bradford 法测细胞蛋白质浓度。

1.3.2 电泳:第一向——固相 PH 梯度等电聚焦凝胶电泳,采用低电压胶内泡胀法。将 30 μ L 细胞蛋白样品与 340 μ L 上样缓冲液(7mol/L 尿素,2mol/L 硫脲,4% CHAPS,65mmol/L DTT,2g/L Bio-Lyte,0.001% 溴酚蓝)混合,加入水化盘中,放入 17cm, pH3~10 的 IPG 胶条,加盖 1~2 μ L 石蜡油。水化和等电聚焦按设置的程序进行,即水化 50V 12h,除盐 250V 30min、1000V 1h,聚焦 8000V 5h、8000V、80000Vhs。等电聚焦后的 IPG 胶条在平衡缓冲液(6mol/L 尿素,2% SDS,1.5mol/L Tris-HCl pH8.8,20% 甘油)中平衡 30min,转移至 12% SDS-聚丙烯酰胺凝胶的上端。第二向——SDS-PAGE,以每一胶条 20mA 恒流电泳 30min,再加大电流至 60mA 直至溴酚蓝达到胶的底线。按照文献方法进行高灵敏度的银氨染色^[11]。

1.4 凝胶图像的分析

凝胶用 Molecular Image Fx 激光图像扫描仪扫描,选择未感染细菌的树突状细胞全蛋白凝胶图像作为参考胶,感染了 MTB 的树突状细胞全蛋白凝胶图像与之进行配比,配比分析采用 PDQuest 6.0 软件完成。

1.5 MALDI-MS/MS 肽指纹图谱分析

选择 MTB 感染后的树突状细胞全蛋白质组中新出现的蛋白质斑点,切下放入样品管中。加入 0.8 μ L 50% 乙腈和 0.1% 的含 5mg/mL CHCA(Sigma)的三氟乙酸中重新溶解。再将溶液加到 192 孔板上(Applied Biosystems)。MS 和 MS/MS 进行分析。

1.6 蛋白质序列数据库检索

根据 MALDI-MS/MS 肽指纹图谱的结果搜索 MASCOT 数据库。搜索条件限定为人源树突状细胞,蛋白质分子质量范围 10~100kD,等电点 pI 值为 3~10,胰蛋白酶消化。

2 结果

2.1 MTB 感染后的树突状细胞全蛋白 2-DE 图谱产生差异

与对照(未感染的树突状细胞全蛋白 2-DE 图谱)比较,用 PDQuest 对两张 2-DE 图谱进行比对分析。发现未感染的树突状细胞和 MTB 感染后的树突状细胞两者差异的斑点为 45 个,蛋白质分子质量处于 10~100kD, pI 值分布于 3~10 之间,对其中表达明显上调的 4 个蛋白斑点进行切割,做 MALDI-

MS/MS 肽指纹图谱分析 , 如图所示。

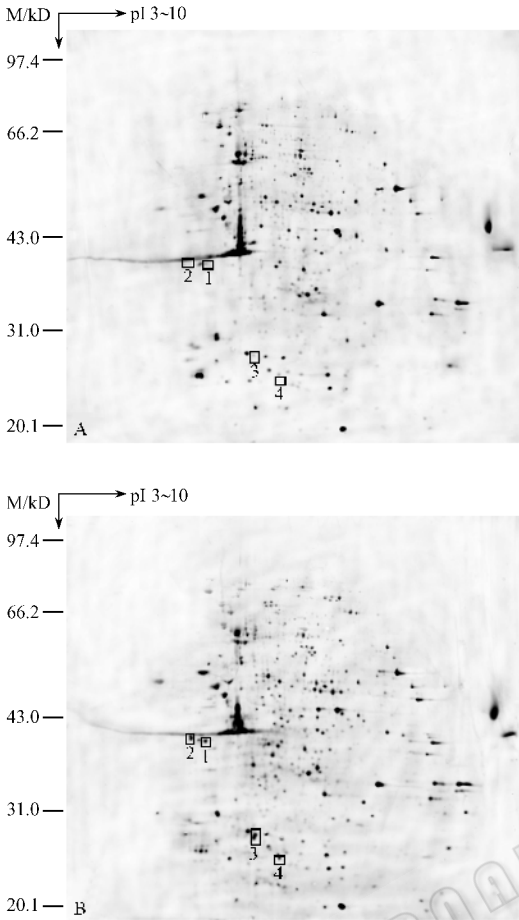


图 1 未受 MTB 感染的树突状细胞 (A) 和受 MTB 感染后的树突状细胞 (B) 的双向电泳图

Fig.1 Two dimensional electrophoretic (2-DE) maps of dendritic cells uninfected(A) and infected(B) with MTB

Four protein spots remarkably increased in dendritic cells with MTB H37Rv ATCC were identified as 1(Human Arsenite-stimulated ATPase , hASNA-I) , 2(Annexin IV) , 3(γ -actin) and 4(Heat shock protein27 , HSP27) respectively .

2.2 MALDI-MS/MS 肽指纹图谱分析和蛋白质数据库同源性分析

对 2-DE 凝胶上表达明显上调的 4 个蛋白斑点进行切割 , 进行 MALDI-MS/MS 检测 , 得到肽质量指纹图谱。通过数据库搜索 , 结合 2-DE 图谱上相应蛋白质的分子质量、pI 值 , 确定这 4 个蛋白质分别为人型亚砷酸诱导 ATP 酶(hASNA-I)、膜联蛋白(Annexins)、 γ -肌动蛋白(γ -actin)和热休克蛋白 27(Heat shock protein27) , 如表 1 所示。

3 讨论

树突状细胞不仅是重要的吞噬细胞 , 而且是主要的抗原呈递细胞 , 参与抗原的处理和呈递^[12]。

表 1 双向电泳和 MALDI-MS/MS 分析鉴定 MTB 感染与未感染的人源树突状细胞差异表达蛋白

Table 1 Differentially expressed human dendritic cell proteins between uninfected and MTB infected , isolated identified by 2-DE and MALDI-MS/MS analysis			
Spot No.	Protein name	Mr/pI	Intensity Matched/ %
1	Human Arsenite-stimulated ATPase (hASNA-I)	37205/5.0	33
2	Annexin IV	35883/5.8	47
3	γ -actin	25862/5.65	77
4	Heat Shock Protein27(HSP27)	22783/6.0	63

DCs 可有效的刺激 T 淋巴细胞产生细胞免疫反应 , 维持 T 淋巴细胞和 B 淋巴细胞的免疫记忆。因此 , DCs 在抗感染免疫中起关键作用。活化的 DCs 可抑制分枝杆菌的繁殖 , 但是无法杀灭细菌^[13]。分枝杆菌在 DCs 内的滞留/或繁殖 , 可以刺激 T 细胞活化 , 最终促进肉芽肿的形成和持续感染。DCs 为分枝杆菌提供了一个潜伏的场所^[14]。

DC 细胞从外围经由输入淋巴管到淋巴结的迁移过程 , 伴随着它功能和表型的成熟等一系列变化 , 包括细胞的迁移、RNA 表达调节、细胞骨架的重构、细胞表面协同刺激因子和趋化因子受体表达的上调以及细胞因子分泌的增加等^[13]。蛋白质组学的研究提供了这样一个高效的分析全局性蛋白质表达变化的策略。本研究运用的方法 , 使细菌蛋白质的影响降到很小或几乎没有。因为结核分枝杆菌细胞壁富含脂质 , 非常难以破碎 , 本实验中采用的破细胞方法并没有将细菌细胞壁破碎。另外 , 在细菌感染 DCs 细胞过程中 , 严格控制了感染比例 , 细菌量与细胞量相比是很少的 , 因此即使有少量细菌蛋白质 , 也是及其微量几乎无法检测的。因此 , 本实验应用蛋白质组学的技术解码出了 4 个与结核分枝杆菌感染人源树突状细胞相关的重要蛋白 , 分别为人型亚砷酸诱导 ATP 酶(hASNA-I)、膜联蛋白(Annexins)、 γ -肌动蛋白(γ -actin)和热休克蛋白 27(HSP27)。

人型亚砷酸诱导 ATP 酶(hASNA-I)具有 ATP 酶的活性。它是一个 37kD 的 ATP 酶 , 具有一个 ATP 的结合位点^[15]。在人类细胞中 , 它除了以可溶蛋白形式存在于细胞质中 , 还同核膜接合分布在细胞核内 , 并且在细胞质和细胞核之间往返^[16]。它的这种特性使它能够许多物质 , 如核糖体成分的核质运输中起到重要的作用。从而影响细胞质和细胞核活性的调节。由于 hASNA-I 在许多物质的核质运输中

起到重要的作用,推测它表达的上调可能就是为了使细胞核质运输变得更活跃,从而提供更多的物质和能量,以应对细菌的入侵。

膜联蛋白(Annexins)是一组钙离子依赖的磷脂结合蛋白。能与多种激酶及结构蛋白相互作用,参与磷脂化与膜受体的功能调节、信号传导、细胞骨架活动和细胞新陈代谢,影响疾病的发展和维持^[17]。Annexin IV 是钙离子依赖的磷脂结合蛋白 Annexins 家庭成员之一,具有多种生理功能,能促进膜融合并且参与胞外分泌,膜-细胞骨架相互作用,调控钙离子依赖的阴离子流活性等。另外,磷脂酰丝氨酸(PS)外露是早期凋亡细胞的重要特征之一,依赖 Ca^{2+} 的磷脂结合蛋白 Annexin V 能够和 PS 高亲和结合,抑制细胞的凋亡。受到细菌刺激的 DCs 在向淋巴结迁移的过程中,细胞表面分子和细胞因子的表达提高,包括 MHC II、CD40、IL-12、 $\text{TNF}\alpha$ 以及 IL-10 等^[14]。DCs 还能和 T 淋巴细胞作用形成免疫突触以激起免疫反应。推测 Annexins 的高表达有利于上述分子的产生和分泌并协助免疫突触膜融合的形成。

肌动蛋白是单一多肽链的球状蛋白质,分为 α -、 β -和 γ -肌动蛋白。肌动蛋白可与不同的肌动蛋白结合蛋白质结合,以完成多种细胞功能。肌动蛋白是真核细胞中主要的细胞骨架和运动系统的重要成分,负责细胞的运动,传递张力和维持细胞形状,促成胞质分裂和胞质流动,当细胞接受外界信号的时候,肌动蛋白还可发生聚合和解聚,传递生理信息。推测 γ -actin 的表达上调与它能参与细胞运动和细胞骨架构建有关。Hope JC 等发现,DCs 受到外界刺激后细胞骨架发生重构,迁移到淋巴器官,刺激 T 细胞启动免疫反应^[14]。这与我们观察到的 γ -actin 的表达上调的现象相一致。另外,徐永忠等也发现 MTB 感染巨噬细胞后,肌动蛋白发生重排。进一步说明肌动蛋白在调控结核分枝杆菌和宿主细胞相互作用过程中扮演的重要角色。

热休克蛋白(HSP)具有分子伴侣的活性和应激蛋白的活性。Hsp27 是在人体中广泛存在的一种热休克蛋白。对细胞创伤、凋亡以及细胞骨架损伤等都有抵抗作用。HSP27 能够通过与细胞色素 c 相互作用,抑制细胞中依赖于细胞色素 c 的 caspase-2, caspase-3, caspase-8, caspase-9 的活性,从而抑制细胞凋亡^[18]。有实验证实,HSP27 还可以作为 Actin 的加帽-去帽蛋白,来起到稳定细胞骨架的作用。因此,HSP27 和 Annexins IV 都有抑制凋亡的能力。这两种蛋白的上调提示,MTB 入侵 DCs 后,可能采用

抑制细胞凋亡的策略,来达到逃避免疫,长期潜伏的目的。

研究表明,树突状细胞在机体抵抗外源性病原体的感染中发挥着核心作用。但是,DCs 并不能完全将 MTB 杀灭,而是为分枝杆菌提供了一个潜伏的场所。这是通过抑制受感染细胞的凋亡、抑制细胞的成熟等来实现的。最近有研究显示,细菌和 DC 细胞上 DC-SIGN 的接合还可能通过影响细胞信号串扰,特别是和 Toll 样受体(Toll-like receptors, TLR)诱导细胞成熟信号通路的串扰来影响免疫反应^[6]。

深入了解 DCs-病原体的相互作用以及它们对 DCs 功能的影响,有助于了解机体对抗细菌感染免疫的免疫机制和细菌逃避机体免疫的机理,为我们发展有效的免疫治疗,如拮抗型免疫治疗,和开发新型的抗结核疫苗提供了有力的证据。

参考文献

- [1] Dye C, Scheel S, Dolin P, et al. Consensus statement. Global burden of tuberculosis: estimated incidence, prevalence, and mortality by country. WHO Global Surveillance and Monitoring Project. *JAMA*, 1999, **282**(7): 677-686.
- [2] Banchereau J, Steinman R M. Dendritic cells and the control of immunity. *Nature*, 1998, **392**: 245-252.
- [3] Guernonprez P, Valladeau J, Zitvogel L, et al. Antigen presentation and T cell stimulation by dendritic cells. *Annu Rev Immunol*, 2002, **20**: 621-667.
- [4] Hickman S P, Chan J, Salgame P. Mycobacterium tuberculosis induces differential cytokine production from dendritic cells and macrophages with divergent effects on naive T cell polarization. *J Immunol*, 2002, **168**(9): 4636-4642.
- [5] van Kooyk Y, Appelmelk B, Geijtenbeek T B. A fatal attraction: Mycobacterium tuberculosis and HIV-1 target DC-SIGN to escape immune surveillance. *Trends Mol Med*, 2003, **9**(4): 153-159.
- [6] Nigou J, Zelle-Rieser C, Gilleron M, et al. Mannosylated lipopolysaccharides inhibit IL-12 production by human dendritic cells: evidence for a negative signal delivered through the mannose receptor. *J Immunol*, 2001, **166**(12): 7477-7485.
- [7] Chatterjee D, Khoo K H. Mycobacterial lipopolysaccharide: an extraordinary lipoheteroglycan with profound physiological effects. *Glycobiology*, 1998, **8**(2): 113-120.
- [8] Giacomini E, Iona E, Ferroni L, et al. Infection of human macrophages and dendritic cells with Mycobacterium tuberculosis induces a differential cytokine gene expression that modulates T cell response. *J Immunol*, 2001, **166**(12): 7033-7041.
- [9] Demangel C, Palendira U, Feng C G, et al. Stimulation of dendritic cells via CD40 enhances immune responses to Mycobacterium tuberculosis infection. *Infect Immun*, 2001 Apr, **69**(4): 2456-2461.
- [10] Enmert-Buck M R, Gillespie J W, Pawletz C P, et al. An approach to proteomic analysis of human tumors. *Mol Carcinog*, 2000 Mar, **27**(3): 158-165.
- [11] 郭尧君. 蛋白质电泳实验技术. 北京: 科学出版社, 2001, 142-144.

- [12] Gogolak P , Rethi B , Hajas G , *et al.* Targeting dendritic cells for priming cellular immune responses. *J Mol Recognit* ,2003 ,**16** (5) : 299 – 317 .
- [13] Tailieux L , Neyrolles O , Honore-Bouakline S , *et al.* Constrained intracellular survival of *Mycobacterium tuberculosis* in human dendritic cells. *J Immunol* , 2003 , **170** (4) :1939 – 1948 .
- [14] Hope J C , Thom M L , McCormick P A , *et al.* Interaction of antigen presenting cells with mycobacteria. *Vet Immunol Immunopathol* , 2004 ,**100** (3 – 4) :187 – 195 .
- [15] Kurdi-Haidar B , Aebi S , Heath D , *et al.* Isolation of the ATP-binding human homolog of the *arsA* component of the bacterial arsenite transporter. *Genomics* ,1996 ,**36** (3) :486 – 491 .
- [16] Kurdi-Haidar B , Hom D K , Flittner D E , *et al.* Dual cytoplasmic and nuclear distribution of the novel arsenite-stimulated human ATPase (hASNA-I) . *J Cell Biochem* ,1998 ,**71** (1) :1 – 10 .
- [17] Bandorowicz-Pikula J , Buchet R , Pikula S . Annexins as nucleotide-binding proteins : facts and speculations. *BioEssays* ,2001 ,**23** (2) : 170 – 178 .
- [18] Nau G J , Richmond J F , Schlesinger A , *et al.* Human macrophage activation programs induced by bacterial pathogens. *Proc Natl Acad Sci USA* ,2002 ,**99** (3) :1503 – 1508 .

Protein profiling of human dendritic cells infected with *mycobacterium tuberculosis*

BAO Jia-ling¹ LE Jun² TIAN Ye-ping³ YANG Yan-ping WANG Hong-hai^{1*}

(¹ State Key Laboratory of Genetic Engineering , Institute of Genetics , School of Life Science , Fudan University , Shanghai 200433 , China)

(² Department of Clinical Laboratory , Shanghai Pulmonary Hospital , Shanghai 200433 , China)

(³ Institute of Immunology , Second Military Medical University , Shanghai 200433 , China)

Abstract : The response of dendritic cells (DCs) plays an essential role in the initiation of immune responses following *Mycobacterium tuberculosis* (MTB) challenge. Two-dimensional electrophoresis (2-DE) was employed to compare the global protein patterns between human DCs infected and that uninfected with MTB H37Rv ATCC 27294 strains , and 45 protein spots were found to express differentially. Four protein spots which remarkably changed in DCs infected with MTB H37Rv ATCC 27294 strains were measured by matrix assisted laser desorption/ionization tandem time-of-flight (TOF/TOF) mass spectrometry. The data obtained from peptide mass fingerprinting were used in protein database search. Four protein spots in gel were identified as Human Arsenite-stimulated ATPase (hASNA-I) , Annexin IV , γ -actin and Heat shock protein27 (HSP27). These data provide insight into the changed global protein patterns of the DCs after infection and may prove useful for further study in the interaction between MTB and host.

Key words : Dendritic cells , *Mycobacterium tuberculosis* , Proteome , Differentially express , two-dimensional electrophoresis

Foundation item : National Natural Science Foundation of China (30270072)

* Corresponding author. Tel 86-21-65643777 ; Fax 86-21-65648376 ; E-mail : hhwang@fudan.edu.cn

Received date : 09-30-2004

© 中国科学院微生物研究所期刊联合编辑部 <http://journals.im.ac.cn>