文章编号：1002－2694（2012）03－0284－05

重组病毒载体研究进展*

王培园[1,2]，李　结[1,2]，朱兴全[1]，杨桂连[3]，袁子国[1,2]

中图分类号：R373　文献标识码：A

重组病毒载体是当今病毒基因工程研究的热点之一。载体是供插入目的基因并将其导入宿主细胞内表达或复制的运载工具。近年来，重组病毒载体为由病毒介导的基因表达提供了更为安全可靠的载体渠道，研制能高效转移基因、表达高度组织特异性、精确控制表达的病毒载体迫在眉睫。利用病毒载体可治疗一些特殊疾病，同时探索病毒载体所面临的安全性和毒性问题[1]。目前研究最多的主要有腺病毒载体、伪狂犬病毒载体、慢病毒载体、鸡痘病毒载体、人5型腺病毒载体等。理想的病毒载体在基因治疗、疫苗研制、疫病防控等领域的贡献不可估量。本文对上述5种病毒载体的研究进展作一综述，旨在为开发出更安全、更有效的重组病毒载体提供参考。

1　腺病毒载体

腺病毒（Adenovirus，Adv）属于腺病毒科，线状、无包膜的双链DNA病毒，基因组大小约36kb，由240个六邻体和12个五邻体构成二十面体病毒壳体。Adv于1953年被病毒学家发现，此后不断进行深入研究，现已成为最有效的基因表达载体之一[2]。

腺病毒具有宿主范围广、不整合入宿主细胞内、插入外源基因大（37kb）、能同时表达多个基因且表达水平高等优点，因此成为表达和传递治疗基因的主要候选者。而腺病毒感染的广泛性，同时也决定了其缺乏靶向性，其介导的转基因表达时间短，并限制其反复应用。由此可见，Adv载体的免疫原性、安全性和靶向性已成为其构建策略中改造的重点。

构建新一代腺病毒载体有如下目标：（1）降低重组腺病毒载体产生的机体抗原特异性免疫反应，在WT/CS-GFP的衣壳蛋白中插入一个PyCS-B的抗原表位，衣壳修饰性腺病毒研制的多疫苗接种后，可大幅提高小鼠的抗疟疾水平，使得腺病毒介导的基因表达的时间明显延长[3]。Elizabeth等系统地探讨TLR信号的细胞免疫应答和替代型与普通肌肉注射免疫小鼠产生重组腺病毒载体，研究表明MyD88的依赖的信号通路能有效改变其免疫原性[4]。（2）增强腺病毒靶向性，可更换病毒外壳采用不同类型血清型获得；消除AD载体与CAR结合进入细胞内的通路；能与靶细胞表面特异性受体选现有的腺病毒大致可分为3代。第1代腺病毒载体主要通过去除E1、E3区而获得，可转染分择性结合。（3）采用脂质体作为转染介质构建人VEGF基因rAD载体，极大提高了转染效率[5]。分裂期细胞和静止期细胞。但外源基因表达水平低，易诱发机体产生免疫反应；第2代腺病毒载体进一步去除了部分或全部的E2基因或E4基因，消除了产生复制型腺病毒的可能性，比第一代具有更低的免疫原性和更大的载体容量；第3代腺病毒载体又称辅助病毒依赖型腺病毒载体（*Helper-dependent adenovirus*，*HD-Ad*）[6]，仅含有反向末端重复序列（ITRs）和包装信号（Ψ），载体容量达37kb，细胞毒性和免疫原性大幅减弱，而目的基因的表达时间则大大延长。然而，它需要有辅助病毒和互补细胞系才能够包装产生病毒粒子，即所谓的空壳载体，且辅助病毒产量很高，分离困难，与重组腺病毒产量比例为1∶1。因此，对第3代腺病毒进行改良研究，生产出安全高效，靶向性强，表达时间长并可调控的新一代腺病毒载体至关重要，其临床应用前景将更为广阔。

腺病毒载体在疾病的基因治疗、活载体疫苗、体外基因转导等领域发挥了重要作用。国内外对其治癌症、遗传性疾病、传染病等均有相关报道。Jeroen等总结了腺病毒载体在前列腺癌的治疗进展，经各种临床前研究证明了腺病毒介导的基因治疗和溶瘤病毒治疗可构成新的治疗策略[7]。Ad5F35表达载体的绿色荧光蛋白标记的CFTR能通过顶面有效转导囊性纤维化患者的重组呼吸道上皮细胞，在相

* 家畜疫病病原生物学国家重点实验室开放基金（SKLVEB2009KFKT014、SKLVEB2010KFKT010及SKLVEB2011KFKT004）、国家自然科学基金项目（30901067）、广东省科技计划项目（2010B020307006）、广东省高等学校自然科学基金（9451064201003715）联合资助

通讯作者：袁子国，Email：ziguoyuan@scau.edu.cn
作者单位：1.中国农业科学院兰州兽医研究所　家畜疫病病原生物学国家重点实验室，兰州　730046；
2.华南农业大学兽医学院，广州　510642；
3.吉林农业大学动物科技学院，长春　130052

对低载体剂量的状况下恢复氯离子通道功能，并可呈现相对稳定的绿色荧光蛋白-CFTR达到数周[8]。另有报道表明，DNA质粒和Ad5型腺病毒在诱导产生中和抗体的同时，亦可产生细胞毒性T细胞(CTL)免疫反应[9]。

Ad5型Adv已用于HIV-1型疫苗株的构建，为人类传染病的治疗提供基础。王长昇等[10]采用AdMax包装系统，将外源基因的穿梭质粒与携带了腺病毒大部分基因组的骨架质粒，利用Cre/loxP重组酶系统，脂质体介导共转染293细胞，产生重组腺病毒Ad5-hBDNF-EGFP，提高重组效率，具有一定的创新性。另外还可介导家族性高胆固醇血症、Ⅸ因子基因转移治疗血友病B等其他遗传病的治疗。人们对于在小鼠及犬模型中血友病A和B型出血素质的稳定校正进行研究，结论显示有良好的治疗效果[11]。研究发现HD-AD在血管内皮细胞内有持续高水平的表达，宿主的免疫炎症反应较低，治疗基因的表达水平比内源性表达高3倍，提示其可较好地应用于血管疾病的治疗[12]。

2　伪狂犬病病毒载体

伪狂犬病毒(Pseudorabies virus，PRV)属于疱疹病毒科A型疱疹病毒亚科，猪疱疹病毒Ⅰ型。PRV含有11种糖蛋白即gB、gC、gD、gE、gG、gH、gI、gK、gL、gM和gN。其中gB、gD、gH、gL、gK是PRV病毒体外增殖所必需的糖蛋白；gC、gE、gG、gI和gM是非必需的糖蛋白，决定毒力因素的因子，可以用作外源基因的插入位点。另外，与PRV毒力有关的基因如胸苷激酶(TK)基因、核苷酸还原酶(RR)基因、蛋白激酶(PK)基因、gE基因等。TK基因缺失不影响病毒的增殖，却能显著降低病毒毒力，是外源基因插入的首选位点，TK基因缺失的PRV毒株被广泛地应用到PRV基因缺失疫苗的研究中。因此，在PRV病毒复制的非必需区插入外源基因或缺失该区部分基因(gE、gI、gG、gC、TK等)，从而研制出安全性更高的基因缺失活疫苗。

伪狂犬病毒以其特殊的基因组结构、宿主的广泛性和生物安全性成为研制活载体疫苗的重要载体工具。PRV作载体有其独特的优势，如外源基因容量大、安全性好、免疫期长、宿主范围广、低成本、人类对PRV没有易感性等。且PRV载体可同时插入多个外源基因，因而能够一针多防、提高免疫效率[13]。然而，PRV载体亦存在一些问题，如外源基因表达水平较低需强启动子，重组病毒的筛选方法还不够成熟。

病毒复制非必需区的克隆与筛选是理想的重组病毒的构建的首要因素。由于外源基因只有插入到病毒的复制非必需区才有可能实现蛋白产物的表达，而且载体表达外源基因的量直接受其在载体中的插入位点的制约，因此非必需区的获得是构建重组病毒的先决条件。就伪狂犬病毒而言，复制非必需区TK、gG、gE基因是目前应用较多的同源序列[14]。袁子国等[15]构建以Prv Bartha-K61株为载体表达狂犬病病毒糖蛋白的重组活载体疫苗，结果表明重组病毒的滴度增高，外源基因在细胞内得到了有效的表达，并具有良好的免疫反应原性和遗传稳定性。Zhang等[16]构建了表达口蹄疫病毒衣壳前体肽P12A和非结构蛋白3C的伪狂犬病毒载体疫苗(PRV-P12A3C)，结构表明部分仔猪的临床症状减轻，囊泡出现延迟。

3　慢病毒载体

慢病毒(Lentivirus)属逆转录病毒科，为二倍体RNA病毒。作为逆转录病毒属的成员，不仅包含*gag*、*pol*、*env* 3个结构基因，而且有4个辅助基因*vif*、*vpr*、*nef*、*vpu*以及2个调控基因*tat*和*rev*。其中*gag*、*pol*、*env*分别编码病毒的核心蛋白、病毒复制所需的酶类及病毒包膜糖蛋白；Rev编码的蛋白调节*gag*、*pol*、*env*的表达水平，*tat*编码的蛋白参与RNA转录的控制。4个辅助基因编码的蛋白则作为毒力因子参与宿主细胞的识别和感染。

慢病毒载体以HIV-1为基础发展起来。其构建原理就是将HIV-1基因组中的顺式作用元件和编码反式作用蛋白的序列进行分离。载体系统包括包装成分和载体成分：包装成分由HIV-1基因组去除了包装、逆转录和整合所需的顺式作用序列而构建，能反式提供产生病毒颗粒所需的蛋白质；载体成分与包装成分互补，含有包装、逆转录和整合所需的HIV-1顺式作用序列，同时具有异源启动子控制下的多克隆位点及在此位点插入的目的基因。

慢病毒宿主范围广，转移基因片段容量大，不易诱发宿主免疫反应，且可感染分裂细胞及神经元、肌细胞等多种类型非分裂细胞，更为重要的是该载体可以将外源基因有效地整合到宿主染色体上，从而达到持久性表达。慢病毒载体通过去除慢病毒基因组中复制所需的基因，以治疗性基因和选择标记物取代构建而成，是逆转录病毒载体中备受关注的真核生物基因转移载体。

随着对慢病毒载体系统研究的不断深入，相关研究不仅仅集中在以HIV-1为基础的慢病毒载体

上,还包括猫免疫缺陷病毒、HIV-1 和 2 型(HIV-2/SIV)、复制缺陷型慢病毒载体、自体失活慢病毒载体以及选择增殖型载体等。慢病毒的改造主要包括最小辅助包装元件、去掉附加基因或调节基因等。第 1 代慢病毒载体(Naldini 等构建,1996)由载体质粒、包装质粒、包膜质粒组成,载体质粒负责装载外源基因,删除了 *gag*、*pol*、*env* 等基因,但保留有 5′和 3′LTR、Psi 位点、Rev 反应元件,载体容量增大,效率更高。第 2 代慢病毒载体(Zufferey 等构建,1997)在此基础上,去除包装质粒上的 *vif*、*vpr* 和 *nef* 3 个辅助基因而获得。三质粒系统极大程度降低了序列重叠的概率,使有复制能力的病毒产生受到抑制。而第 3 代慢病毒载体则在三质粒系统的基础上,通过减少 HIV-1 包装结构中的序列同源性构建四质粒系统获得,该系统中包装质粒只保留了 *gag*、*pol*、*rev* 3 个功能基因,删除了绝大多数致病基因,安全性显著提高[17]。

慢病毒载体以其独特的优势,日益成为各国学者研究的热点。尤其是在动物模型中,以慢病毒载体为基础的基因治疗已经在许多难治性疾病中取得了明显效果。目前慢病毒也被广泛的应用于自杀性胸苷激酶基因治疗、免疫治疗、疫苗开发和以及对骨髓抑制的保护研究[18]。áfrica González-Murillo 等[19]研究发现利用优化转录活性的慢病毒载体可有效治疗先天性骨髓发育不全患者。

4 鸡痘病毒载体

近年来,以禽痘病毒(fowlpox virus,FPV)为表达载体的研究取得了巨大进展,已有 NDV、IBDV、IBV、AIV、MDV 等病原的保护性抗原基因在 FPV 中得以成功表达。其基因组庞大,长度约为 VV 的 1.5 倍,含较多的复制非必需区,可构建 FPV 多价和多联疫苗;FPV 具有自身的酶系统和调控信号,其转录、翻译和装配均发生在胞浆中,可对外源基因的表达产物进行翻译加工修饰,并保留其相应的生物学活性,诱导机体产生体液免疫和细胞免疫;与 VV 相比,FPV 的宿主范围较窄,仅感染禽类不易散毒,对哺乳动物和人类尚无潜在的威胁。

构建重组 FPV 通常分为两步:第 1 步是构建插入质粒,该质粒通常含有一段来自 FPV 的复制非必需区 NER,NER 包括左侧末端区,WR 株内部 *Hin*dⅢF 片段以及胸腺嘧啶激酶 TK 基因,其中 TK 基因应用最普遍。FPV 基因对外源基因的表达量主要取决于启动子的强弱,通常选用强启动子,如 PE/L,为了方便筛选,还要插入带有启动子的标记基因如 LacZ。第 2 步是将插入质粒导入 FPV 感染的宿主细胞,质粒上的基因与野生 FPV 基因的同源部分在宿主细胞内发生重组,外源基因在同源重组的同时插入野生型病毒组中,经过复制、包装后形成一个具有感染能力的 rFPV[20]。

重组禽痘苗载体表达禽类多种病原的保护性抗原,成为最具潜力的禽源疫苗的载体工具。多项研究通过表达细胞因子来避免源抗体的干扰,提高安全性。由 MA 构建的 H5N1 型禽流感 HA 和白介素 18 共表达的重组 FPV 可有效增强商品鸡体的免疫效力[21]。韩松等[22]构建了 1 株表达猪殖与呼吸综合征病毒(PRRSV) RF5/ORF6 基因的重组鸡痘病毒,并进行了小鼠免疫实验,进行了免疫评价。结果表明,所构建 FPV 对小鼠起到良好的免疫效果,具有成为抗 PRRSV 感染新型疫苗的潜力。金明兰等[23]研究重组鸡痘病毒对妊娠母猪及新生仔猪的安全性,结果表明构建的重组鸡痘病毒生物安全性好,妊娠母猪及仔猪接种后无不良反应。胡建和等[24]总结了禽流感病毒新型疫苗的研究进展,对禽流感基因工程亚单位疫苗、活载体疫苗、DNA 疫苗等新型疫苗进行了综述。

重组鸡痘病毒载体在发展的同时,也受到一些因素的限制。如 FPV 在一定程度上一直了雏鸡的增重和免疫应答,该病毒可能在不断的繁殖过程中出现自身修复,发生"毒力恢复"即毒力返祖。因此,降低载体蛋白表达量,限制 PFV 本身组装形成的子代病毒,进一步探索 FPV 的免疫机制、接种途径、接种剂量等,是使 FPV 得以完善优化的关键[25]。

5 人 5 型腺病毒载体

人类腺病毒(Adenovirus,AD)包括 51 个血清型,分为 A、B、C、D、E、F 6 个亚群。C 亚群中的 Ad5 和 Ad2 型开发最早且研究最多,已被广泛地应用于基因治疗、疫苗研究等领域[26]。

作为最常用的基因表达载体,Had5 型基因结构及生物学特性研究得比较深入,具有良好的生物安全性,较广的宿主范围、不整合、无插入致突变以及能同时表达多个基因。但是这类以 CAR 为受体的腺病毒存在如下问题:靶细胞定向性不高;毒副作用较大;人体内广泛存在 5 型腺病毒的中和抗体,导致病毒在体内很快被免疫系统清除;细胞表面 CAR 受体在原代肿瘤细胞、造血系统细胞、骨骼肌细胞中表达量较低。

AD5 型在肿瘤基因治疗中疗效显著。肿瘤增殖腺病毒治疗是近年来兴起的一种新策略。国外研

究最为详细的 ONYX-015,经临床试验证明,ONYX-015 能有效治疗头颈部肿瘤、卵巢肿瘤、肝转移肿瘤以及结肠直肠的肿瘤等疾病,且与氟尿嘧啶、顺铂等化疗药物具协同作用。国内重组人 5 型腺病毒(H101)已被研制并成功应用于临床。H101 于 2005 年被批准为拥有中国专利及国际知识产权的抗肿瘤药物,是 AD5 型改造后的有效抗癌药物,能特异性裂解肿瘤细胞[27]。重组人 5 型腺病毒注射液对 9 例单侧鼻咽癌的患者的治疗也取得了较好的效果。不仅能够局部消除肿瘤,也能协助放疗及化疗患者的治疗,尤其是为放疗、化疗不敏感的患者提供了更佳选择。使用瘤体局部注射方法患者更易接受,全身毒副作用小且费用较低[28]。

6 结 语

病毒载体由病毒复制和包装元件、病毒基因、插入的外源基因或元件、病毒外壳、外膜 4 部分组成,可用于基因治疗、活载体疫苗、转基因动物、基因功能研究等领域[29]。理想的病毒载体应该具有以下特点:携带外源基因并能包装成感染性病毒颗粒;介导外源基因转移和表达;对机体不致病,容量为自身基因组大小的 105%～110%等。不同的病毒载体具有不同的表达特点。其安全性、靶向性和有效性是构建重组病毒载体过程中优化改造的主要方向。

综上所述,重组病毒载体在研究和实验上取得了很大的进展,而临床应用尚待加强,进一步提高病毒载体系统的安全性,对各种不同的病毒载体优化改造,获得简便、高效的包装系统、可调控表达外源基因或靶向性及无病毒基因的重组病毒载体是今后努力的目标。以病毒载体为基础构建的重组活载体疫苗成为疫苗研究领域的主要方向[30]。相信这些新型疫苗的研制成功,将为我国重大动物疫病的防控提供有效的技术支撑。

参考文献:

[1] Daniel S. Novel viral vector systems for gene therapy[J]. Viruses, 2010, 2(4):1002-1007.

[2] Majhen D, Ambriovic-Ristov A. Adenoviral vectors-How to use them in cancer gene therapy[J]. Virus Res, 2006, 119(2):121-133.

[3] Shiratsuchi T, Rai U, Krause A, et al. Replacing adenoviral vector HVR1 with a malaria B cell epitope improves immunogenicity and circumvents preexisting immunity to adenovirus in mice[J]. J Clin Invest, 2010, 120(10):3688-3701.

[4] Rhee E G, Blattman J N, Kasturi S P, et al. Multiple innate immune pathways contribute to the immunogenicity of recombinant adenoviral vaccine vectors[J]. J Virol, 2010, 85(1):315-323.

[5] Adachi Y, Yoshio-H N, Aoki C, et al. VEGF targeting in mesotheliomas using an interleukin-6 signal inhibitor based on adenovirus gene delivery[J]. Anticancer Res, 2010, 30(6):1947-1952.

[6] 陈琳,薛绪潮. 第三代腺病毒载体的改良与应用[J]. 第二军医大学学报, 2007, 28(7):722-725.

[7] Vrij J D, Willemsen R A, Lindholm L, et al. Adenovirus-derived vectors for prostate cancer gene therapy[J]. Hum Gene Ther, 2010, 21(7):795-805.

[8] Granio O, Ashbourne E K J, Henning P, et al. Adenovirus 5-Fiber 35 chimeric vector mediates efficient apical correction of the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator defect in cystic fibrosis primary airway epithelia[J]. Hum Gene Ther, 2010, 21(3):251-269.

[9] Shu Y, Winfrey S, Yang Z Y, et al. Efficient protein boostingafter plasmid DNA or recombinant adenovirus immunizationwith HIV-1 vaccine constructs[J]. Vaccine, 2007, 25(8):1398-1408.

[10] 王长昇, 林建华, 吴朝阳. 重组腺病毒载体 Ad5-hBDNF-EGFP 的构建与鉴定[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2009, 13(20):3947-3951.

[11] Petrus I, Chuah M, Vandendriessche T, et al. Gene therapy strategies for hemophilia: benefits versus risks[J]. J Gene Med, 2010, 12(10):797-809.

[12] Williams P D, Ranjzad P, Kakar S J, et al. Development of viral vectors for use in cardiovascular gene therapy[J]. Viruses, 2010, 2(2):334-371.

[13] Möhl B S, Böttcher S, Granzow H, et al. Intracellular localization of the pseudorabies virus large tegument protein pUL36[J]. J Virol, 2009, 83(19):9641-9651.

[14] Lyman M G, Curanovic D, Brideau A D, et al. Fusion of enhanced green fluorescent protein to the pseudorabies virus axonal sorting protein Us9 blocks anterograde spread of infection in mammalian neurons [J]. J Virol, 2008, 82(20):10308-10311.

[15] 袁子国,张秀香,徐慧娟,等. 以伪狂犬病病毒(Bartha-K61)为载体正向表达狂犬病病毒(8202 株)糖蛋白重组疫苗的构建[J]. 中国兽医学报, 2009, 29(10):1290-1293.

[16] Zhang K S, Huang J, Wang Q G, et al. Recombinant pseudorabies virus expressing P12A and 3C of FMDV can partially protect piglets against FMDV challenge[J]. Res Vet Sci, 2011, 91(1):90-94.

[17] 张蕊,龚道清. 慢病毒载体的研究进展及应用[J]. 中国畜牧兽医, 2010, 37(6):227-230.

[18] Roth J A. Gene-based therapies for cancer [M]. NewYork: Springer, 2010.

[19] áfrica G M, M L L, Lara á, et al. Development of lentiviral vectors with optimized transcriptional activity for the gene therapy of patients with fanconi anemia[J]. Hum Gene Ther, 2010, 21(5):623-630.

[20] 郗洪生, 王滨坤, 郑世民. 重组鸡痘病毒载体及其在禽流感疫苗中的应用[J]. 黑龙江畜牧兽医, 2006, (5):22-24.

[21] Ma M X, Jin N Y, Wang Z G, et al. Construction and immunogenicity of recombinant fowlpox vaccines coexpressing *HA* of AIV H5N1 and chicken IL 18[J]. Vaccine, 2006, 24(20):

4304-4311.
[22]韩松，金宁一，鲁会军，等. 表达猪繁殖与呼吸综合征病毒ORF5/ORF6基因重组鸡痘病毒的构建与小鼠免疫试验[J]. 中国兽医学报，2010，30(1):1-4.
[23]金明兰，金宁一，鲁会军，等. 重组口蹄疫鸡痘病毒vUTAL3CP1的构建及其遗传稳定性和免疫原性[J]. 中国生物制品学杂志，2008，21(5):360-366.
[24]胡建和，王青，杭柏林. 禽流感病毒新型疫苗的研究进展[J]. 生物技术通报，2010，(8):35-39.
[25]王彦红，陈素娟，刘武杰，等. 3株表达H5亚型AIV *HA*基因的重组鸡痘病毒的免疫效力比较[J]. 畜牧兽医学报，2010，41(1):60-64.
[26]Murakami M, Ugai H, Wang M H, et al. An adenoviral vector expressing human adenovirus 5 and 3 fiber proteins for targeting heterogeneous cell populations[J]. Virology, 2010, 407(2): 196-205.
[27]Song X, Zhou YX, Jia RB, et al. Inhibition of retinoblastoma in vitro and in vivo with conditionally replicating oncolytic adenovirus H101[J]. Invest Ophth Vis Sci, 2010, 51(2): 2626-2635.
[28]姜燕平，殷宁宁，白丽丽，等. 9例鼻咽癌患者局部注射重组人5型腺病毒效果观察[J]. 军事医学科学院院刊，2010，34(3):215.
[29]Scheller E L, Krebsbach P H. Gene therapy: design and prospects forcraniofacial regeneration[J]. J Dent Res, 2009, 88(7): 585-596.
[30]Rowe W J. Long space missions, gene therapy, and the vital role of magnesium: a three-pronged plan for the next 50 years[J]. Int J Nephrol Renovasc Dis, 2010, 3:123-127.

收稿日期:2011-07-04;**修回日期**:2011-10-29

《中国人兽共患病学报》在线投稿系统操作简介

一、投稿注册与登录

请在互联网上访问《中国人兽共患病学报》网站（www. rsghb. cn），进入本刊网页界面，点击主页左侧的“作者投稿”后进行投稿，如果还没有进行注册，请先点击“注册”进行新用户注册。在作者注册的对话框中真实详细的填写所有基本资料后，点击“确定”。系统将自动提示注册成功。返回作者投稿页面后，输入您注册的用户名和密码，点击“登录”进入作者中心进行投稿。

请注意：(1) 如果您是新作者（即第一次投稿），请先注册并记住您的用户名和密码。务必请您记住注册时填写的首选邮箱地址，本刊将通过此邮箱与您联系。(2) 如果您已经拥有用户名和密码，在主页面点击“作者投稿系统”后，直接登录即可。请不要重复注册，否则可能导致您信息查询不完整。

二、在线投稿

作者登录进入作者中心后，点击“向导式建议”投新稿件。按照如下步骤进行：投稿确认书—下载投稿版权转让协议（论文授权书）—稿件题目—作者信息—基金项目—上传稿件和附件（请以Word形式完整文章上传）—信息确认— 正式投稿。投稿完成后系统将自动提示投稿成功。投稿成功后编辑部将通过邮件发送稿件回执单，告知稿号。收到稿件回执单后，请务必将投稿介绍信邮寄至编辑部，如是基金项目请附证明复印件，本刊暂时不收取稿件审理费。投稿者需经常登录注册邮箱及本刊作者投稿系统，以了解稿件最新动态。

三、稿件审理查询与退修

作者登录进入作者中心后，可以查看到稿件的审理状态。需退修稿件状态为“需要修改稿件”，点击“审稿流程”可以查看具体的审稿流程、审理意见及下载退修稿。作者根据修改意见对稿件修改完成后，点击“上传修改稿”将修改好的稿件上传，系统将自动提示上传成功。并请同时将修改好的稿件发送至责任编辑的邮箱内，电子邮件主题务必注明稿号和“修改稿”字样。稿件退修可能重复多次，直至达到可以刊用要求为止。

四、专家稿件

如果您已经是我刊的审稿专家，可直接登录“专家审稿”页面进行审稿，同时，在您需要投稿时勿需重新注册，请在“专家审稿”页面点击“角色转化”即可进行投稿。

如有疑问请与管理员邮箱联系 zhangzf1981@163. com