



骨内单次注射辛伐他汀促进小鼠乳腺癌肿瘤血管正常化的研究

海宝¹, 刘灿¹, 张稳¹, 祝俊雄¹, 曹宝山³, 宋纯理^{1,2*}

(1. 北京大学第三医院骨科, 北京 100191; 2. 脊柱疾病研究北京市重点实验室, 北京 100191;
3. 北京大学第三医院肿瘤化疗与放射病科, 北京 100191)

【摘要】 目的 研究骨内单次注射辛伐他汀对小鼠乳腺癌肿瘤血管结构和功能的影响。方法 构建小鼠乳腺癌原位模型, 分别给予骨内单次注射辛伐他汀(50 μg)或空白载体。α-SMA/CD31 免疫荧光双染观察肿瘤血管的周细胞/血管内皮细胞覆盖率; 尾静脉注射伊文氏蓝染料观察肿瘤血管渗透性; 免疫组化检测肿瘤内部 HIF-1α 表达水平的变化。结果 免疫荧光双染发现与对照组相比辛伐他汀组肿瘤血管周细胞覆盖增多($P < 0.05$); 肿瘤组织内伊文氏蓝含量显著降低($P < 0.05$), 提示肿瘤血管渗透性减低, 肿瘤血管趋于成熟; 免疫组化显示肿瘤内部 HIF-1α 的表达水平降低, 乳腺癌肿瘤组织缺氧改善。结论 骨内单次注射辛伐他汀能够提高新生血管的周细胞覆盖, 促进乳腺癌肿瘤血管正常化。

【关键词】 辛伐他汀; 骨内注射; 血管正常化; 乳腺癌; 周细胞

【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856(2017)010-0001-06

doi: 10.3969.j.issn.1671-7856.2017.010.001

Study on the effect of single dose intraosseous injection of simvastatin on tumor vascular normalization in murine breast cancer

HAI Bao¹, LIU Can¹, ZHANG Wen¹, ZHU Jun-xiong¹, CAO Bao-shan³, SONG Chun-li^{1,2*}

(1. Department of Orthopedics, Peking University Third Hospital, Beijing 100191, China; 2. Beijing Key Laboratory of Spinal Diseases, Beijing 100191; 3. Department of Cancer Chemotherapy and Radiology, Peking University Third Hospital, Beijing 100191)

【Abstract】 Objective To investigate the effect of single dose intraosseous injection of simvastatin on tumor vascular structure and function in murine breast cancer. **Methods** BALB/c mice and 4T1 murine breast cancer cells were used to establish a subcutaneous xenograft model. The mouse model of orthotopic breast cancer received intraosseous injection of a single dose of simvastatin (50 μg) or vehicle only. Frozen tumor tissue sections were prepared for co-immunostained with CD31 and α-SMA. Evans blue dye was injected into the tail vein to observe the vascular permeability. The expression level of HIF-1α was detected by immunohistochemistry. **Results** Immunofluorescence dual staining showed that intraosseous injection of simvastatin increased the number of perivascular pericytes in the tumor vessel ($P < 0.05$), Evans blue dye content showed that in vivo vessel permeability in the tumor tissue was significantly decreased ($P < 0.05$), and the immunohistochemistry results showed that local hypoxic area was significantly improved. **Conclusions** Single dose

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81672133, 81641079); 国家高技术研究发展计划(2015A A020304)。

[作者简介] 海宝(1989-), 男, 硕士生, 专业: 外科学。E-mail: haibao@bjmu.edu.cn

[通讯作者] 宋纯理(1971-), 男, 研究员, 研究方向: 骨质疏松、骨折愈合。E-mail: schl@bjmu.edu.cn

intraosseous injection of simvastatin can promote the normalization of tumor vasculature by improving the coverage of pericytes.

【Key words】 Simvastatin; Intraosseous injection; Vasculature normalization; Breast cancer; Pericyte

肿瘤的生长和转移依赖新血管的形成^[1],而新生的肿瘤血管往往结构异常并且杂乱无章,大约有 50% 的肿瘤血管都是无功能的,形成组织间隙压升高、局部低氧的肿瘤微环境^[2]。有学者提出通过抗肿瘤血管新生以达到“饿死肿瘤”的目标,但目前此方面的研究并未取得应有的治疗效果,甚至因血管阻断药物造成局部缺氧,反而加速新血管生成和肿瘤生长^[3]。近年来,肿瘤“血管正常化”作为一种新的治疗理念,被广泛研究^[4,5],合理应用抗血管生成药物可以使异常的肿瘤新生血管趋于正常化,通过与化疗药物结合治疗能够增强药效,但其治疗时间窗口很窄,难以广泛应用^[6]。

近年来研究发现他汀类药物具有除降脂以外的“多效性”,如抗炎、抗氧化、抗肿瘤等^[7]。本课题组前期实验发现骨内单次注射辛伐他汀/泊洛沙姆 407 水凝胶具有动员内皮祖细胞(endothelial progenitor cells, EPCs)促进局部成骨及成血管的作用^[8]。新的观点认为,骨骼不仅是参与运动和支撑作用的惰性感官,而且是能够分泌多种活性物质的“内分泌器官”^[9],骨重建过程中,释放大量的促血管生成因子如 VEGF、bFGF 等影响系统血管新生^[10]。骨髓内还储存着丰富的 EPCs 和周细胞等^[11],研究表明骨髓源性的造血干细胞能够分化为 EPCs 被动员至肿瘤参与血管的新生,而骨髓来源的周细胞也能够被募集至肿瘤促进血管的成熟^[12]。

本实验通过骨内单次注射辛伐他汀水凝胶,观察其作用于骨髓内而产生的对远处肿瘤血管形态和功能的影响,为肿瘤的治疗提供新的策略。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物

SPF 级雌性 BALB/c 小鼠 40 只,6 周龄,体重 18~20 g,购买于北京大学医学部实验动物科学部 [SCXK(京)2016-0010],饲养于北京大学医学部实验动物科学部 [SYXK(京)2016-0041],实验动物单笼饲养,自由饮食,并按照实验动物使用的“3R”原则给予人道关怀,适应性喂养一周后开始实验。

1.1.2 细胞株

4T1 小鼠乳腺癌细胞株由德国伯托公司惠赠。

1.2 主要试剂与仪器

辛伐他汀原料药(中国药品生物制品检定所);泊洛沙姆(德国 BASF 公司);兔抗(hypoxia inducible factor-1, HIF-1 α)多克隆抗体(北京博奥森生物技术有限公司);抗 CD31 多克隆抗体(Abcam,美国);抗 α -SMA 单克隆抗体(Abcam,美国);DAB 显色试剂盒(北京中杉金桥生物技术有限公司);倒置荧光显微镜(Leica,德国)。

1.3 实验方法

1.3.1 建立 4T1 乳腺癌细胞株小鼠移植瘤模型

取对数生长期的 4T1 小鼠乳腺癌细胞接种于小鼠乳腺脂肪垫。监测小鼠的一般情况、体重、饮食及排便状况,使用游标卡尺隔日记录小鼠皮下肿块体积。以肿瘤最长直径(a)和垂直最短径(b)计算肿瘤体积分数:公式 $V(\text{mm}^3) = ab^2/2$ (V 为肿瘤近似体积)^[13]。

1.3.2 泊洛沙姆水凝胶配制

泊洛沙姆 407 的配制按照本实验室既往方法^[14],将辛伐他汀粉末加入配制好的泊洛沙姆溶液中,搅拌均匀,最终浓度为 2.5 mg/mL。

1.3.3 药物干预及分组

待肿瘤达到 100 mm³ 时开始进行药物干预,将荷瘤小鼠按完全随机数表随机分为两组:空白对照组(control)、辛伐他汀组(SIM),每组 20 只。异氟烷麻醉,使用微量注射器在小鼠胫骨上端穿刺,注射 50 μg 辛伐他汀水凝胶,观察肿瘤组织缺氧的变化与肿瘤血管形态的改变。

1.3.4 伊文氏蓝(Evans blue)染色检测肿瘤血管渗透性

小鼠采用戊巴比妥钠麻醉后,尾静脉注射 2% 的伊文氏蓝染料 100 μL ,循环 20 min。取材,瘤体置于 60 $^{\circ}\text{C}$ 条件下烤干 16 h。然后将瘤体放入含 1 mL 的甲酰胺溶液的 EP 管中,在室温下浸泡 72 h 以提取染料。采用酶标仪在 630 nm 波长下分别测定各瘤体染料含量。

1.3.5 免疫荧光双染观察血管周细胞

将小鼠组织标本取材后,分别放入 4% 多聚甲醛和液氮中保存,OCT 包埋,使用冰冻切片机将肿瘤组织切片,7 μm 厚,0.2% Triton-100 冰上破膜,1% 正常山羊血清封闭 1 h,切片上同时滴加两种一抗:兔抗 CD31 多克隆抗体(1:200)和 Cy3 标记的鼠抗 α -SMA 单克隆抗体(1:200),4 $^{\circ}\text{C}$ 孵育过夜,加

DyLight-488 羊抗兔二抗 (1:500) 室温避光孵育 1 h, 抗荧光淬灭剂封片, 荧光显微镜下观察拍照, Image J 软件统计分析, 计算 α -SMA⁺/CD31⁺ 周细胞覆盖率。

1.3.6 免疫组化检测 HIF-1 α 的表达

将甲醛固定的标本石蜡包埋, 切片, 5 μ m 厚, 二甲苯脱蜡, 梯度酒精脱水, 封闭, 加兔抗 HIF-1 α 多克隆抗体 (1:100) 4 $^{\circ}$ C 孵育过夜, 次日加羊抗兔二抗在室温下孵育 30 min, 加入 DAB 显色液, 中性树胶封片, 显微镜下观察拍照。

1.3.7 HE 染色观察肿瘤坏死面积

将石蜡切片, 经过二甲苯脱蜡, 梯度酒精脱水, 使用苏木素染色, 用含有 1% 盐酸的酒精进行分色, 脱去残余的染料, 加入 1% 的伊红染液, 梯度酒精分色及脱水, 二甲苯透明, 中性树胶封片, 显微镜下观察, Image J 软件统计分析, 计算肿瘤的坏死面积。

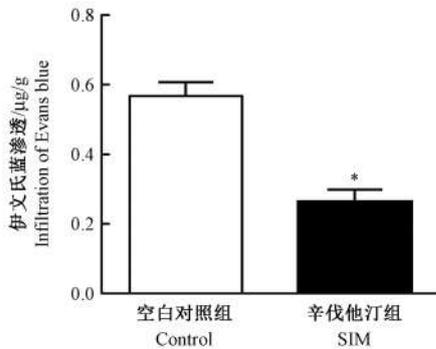
1.4 统计学方法

各组数据均采用 SPSS 21.0 软件进行统计学处理, 以平均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 组间差异比较采用单因素方差分析及非配对 *t* 检验, 以 $P < 0.05$ 表示为差异有显著性。

2 结果

2.1 骨内单次注射辛伐他汀降低乳腺癌肿瘤组织血管渗透性

伊文氏蓝灌注法检测血管渗透性, 结果显示空白对照组染料外渗至肿瘤间质的量为 (0.58 \pm 0.38) μ g/g, 而辛伐他汀组伊文氏蓝染料的外渗量为 (0.26 \pm 0.31) μ g/g, 肿瘤血管中染料的外渗量明显减少 (图 1), 差异有显著性 ($P < 0.05$), 说明骨内注射辛伐他汀能够降低肿瘤血管的渗透性。



注: 与 Control 组比较, * $P < 0.05$ 。

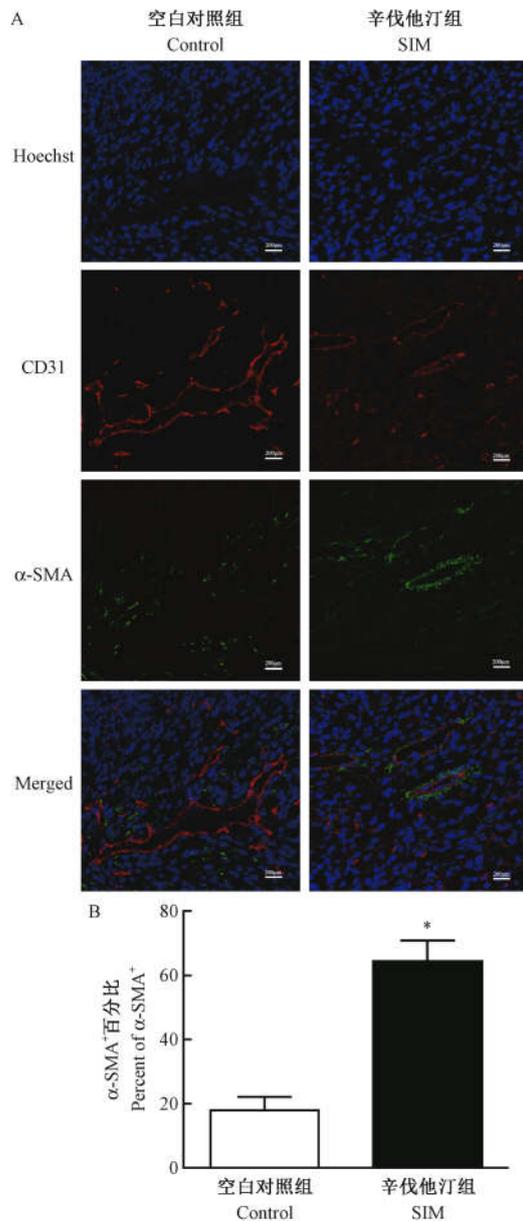
图 1 肿瘤间质的伊文氏蓝渗透量

Note. Compared with control group, * $P < 0.05$.

Fig. 1 Interstitial infiltration of Evans blue

2.2 骨内注射单次辛伐他汀促进乳腺癌血管结构成熟

免疫荧光染色分别标记代表血管内皮细胞的 CD31 和代表血管壁周细胞的 α -SMA, 观察骨内单次注射辛伐他汀后肿瘤血管周细胞的覆盖情况。血管周细胞覆盖率是指周细胞 (α -SMA⁺) 表达的血管占有血管 (CD31⁺) 的百分比。观察发现 α -SMA⁺ 在辛伐他汀组 (SIM) 与空白对照组 (control) 相比明显增多, 使用 Image J 软件分析发现 α -SMA⁺/CD31⁺ 比率明显上升 (图 2), 表明肿瘤血管的周细胞覆盖明显增多。



注: A: 免疫荧光图; B: 统计学分析。与 Control 比较, * $P < 0.05$ 。

图 2 肿瘤血管 α -SMA⁺/CD31⁺ 免疫荧光双染及统计结果

Note. A: Immunofluorescence staining; B: Quantifications of α -SMA⁺. Compared with control group, * $P < 0.05$.

Fig. 2 Co-immunofluorescence stain with CD31 and α -SMA of tumor vessels

2.3 骨内单次注射辛伐他汀改善乳腺癌肿瘤组织缺氧

采用免疫组化对小鼠乳腺癌组织切片进行 HIF-1 α 染色,用来评价肿瘤组织内部的缺氧程度,结果显示 HIF-1 α 阳性细胞数量在辛伐他汀组与对照组相比显著降低(图 3)。说明肿瘤内部的缺氧情况经过骨内注射辛伐他汀的作用得到改善,其作用机制可能与肿瘤新生血管的正常化有关。

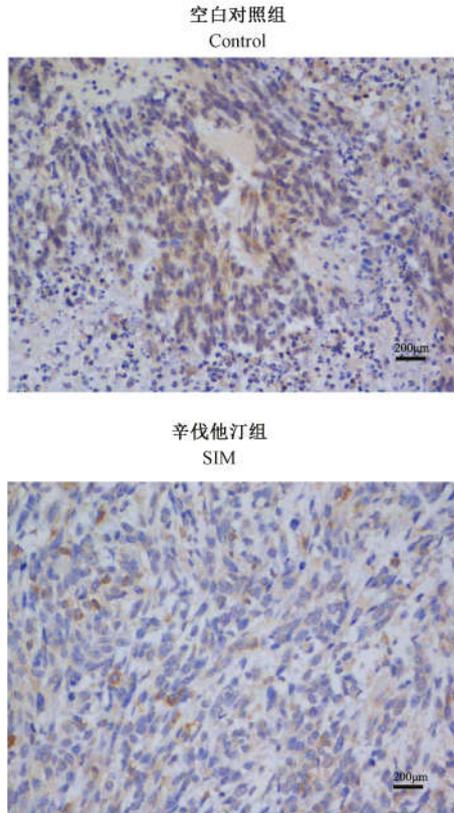


图 3 肿瘤组织 HIF-1 α 免疫组化染色

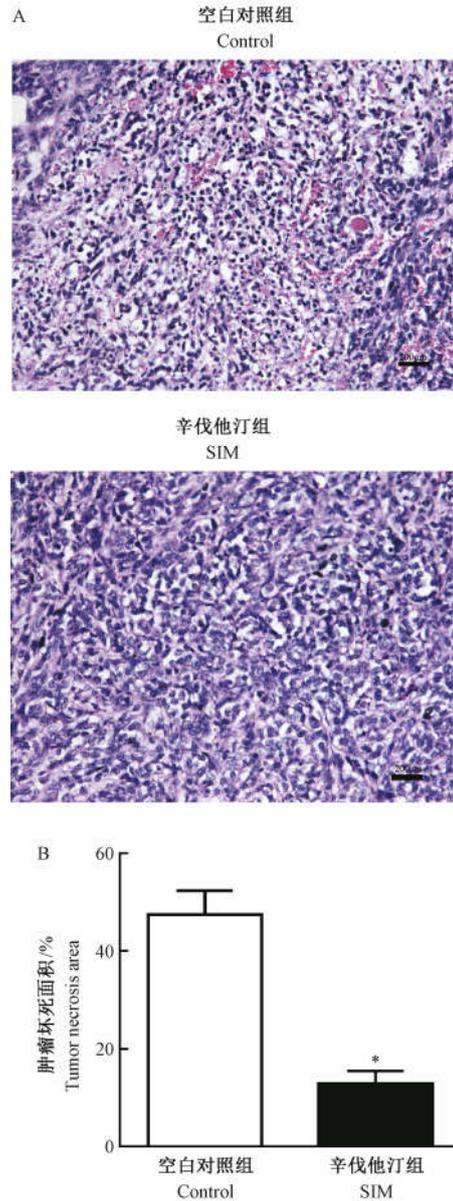
Fig. 3 Immunohistochemical staining of HIF-1 α in the tumor tissue

2.4 骨内单次注射辛伐他汀减少乳腺癌肿瘤坏死面积

通过对肿瘤组织做 HE 染色观察发现,辛伐他汀组的肿瘤坏死面积与对照组相比明显减少,差异有显著性(图 4)。

3 讨论

传统抗血管治疗方法旨在阻断肿瘤血管的生成,通过使用血管抑制剂破坏肿瘤血管的生长,期待能够减少肿瘤的血液供应,造成肿瘤组织的缺血缺氧从而“饿死”肿瘤细胞^[15]。然而,血管抑制剂的过度应用使肿瘤血管严重退化,阻碍药物和氧份



注:A:HE染色;B:统计学分析。与Control比较,* $P < 0.05$ 。

图 4 肿瘤组织坏死面积 HE 染色及分析

Note. A: HE staining; B: Quantifications of tumor necrosis area. Compared with the control group, * $P < 0.05$.

Fig. 4 HE staining and analysis of tumor necrosis area 的输送而拮抗化疗和放疗的效果,并导致肿瘤细胞对缺氧环境的耐受,促使肿瘤细胞分泌血管生长因子进入肿瘤微环境,导致肿瘤进一步恶化^[3]。近年来有研究发现,合理应用抗血管生成药物能够在短期内使肿瘤血管“正常化”,并且能够促进化疗药物的敏感性^[16]。Jain^[17]提出抗血管生成药物的合理应用,能够在血管消退之前修复“不正常”的肿瘤血管,使更有效的运输氧和药物到达肿瘤内部,从而提高放化疗的敏感性。尽管如此,目前用于促进

“血管正常化”研究的药物大多是抗血管生成剂^[18,19],而抗血管生成的药物很难精确控制其剂量,过多或过少都会影响其效果,并且伴随着许多副作用^[20,21]。

辛伐他汀作为 HMG-CoA 还原酶抑制剂,是甲羟戊酸通路中的一种限速酶。甲羟戊酸通路影响着体内合成多种生化分子的过程,包括合成胆固醇和类异戊二烯等,因此他汀类药物的体内应用显示出其降脂以外的“多效性作用”^[22]。

体外研究发现,辛伐他汀降低 MDA-MB231 和 BT-20 乳腺癌细胞的迁移能力^[23]。可通过甲羟戊酸途径诱导 PI3K/Akt 和 MAPK/ERK 信号传导的失活,从而诱导乳腺癌细胞死亡^[24]。不同剂量的他汀能够产生不同的疗效,低剂量促进血管生成,高剂量抑制血管生成^[25]。有研究表明,低剂量辛伐他汀能够上调 eNOS 表达,促进周细胞的募集;高剂量辛伐他汀通过抑制 ROS 介导的 VEGF 的表达,达到抑制血管生成、降低肿瘤血管渗透性的作用^[13]。但系统应用他汀类药物生物利用度低,口服后不到 5% 的药物能够进入血液循环^[26],想要发挥作用需要服用过高的剂量。本课题组前期研究发现,骨内单次注射辛伐他汀,能够通过上调 VEGF 和 BMP2 的表达促进骨和血管生成^[8]。作用机制主要是辛伐他汀能够动员骨髓内的 EPCs 进入外周血,达到组织缺血部位参与血管的形成。

本课题组通过建立 4T1 小鼠乳腺癌模型,研究发现骨内单次注射辛伐他汀促进代表肿瘤血管周细胞的 α -SMA 表达增多,提示肿瘤血管的完整性增加。血管的稳定主要依赖内皮细胞和周细胞,而有研究表明周细胞来源于骨髓^[11],因此我们推测骨内注射辛伐他汀是通过动员骨髓内的周细胞到达肿瘤血管,从而促进肿瘤血管正常化。

肿瘤血管正常化的另一项观察指标是血管的渗透性,成熟的血管渗透性降低^[27],我们使用伊文氏蓝灌注发现,辛伐他汀组的肿瘤渗透性明显降低。血管渗透的减少能够使得输送更多的氧气和化疗药物到达肿瘤中心,减轻肿瘤的缺血缺氧状况。HIF-1 α 在缺氧介导的细胞凋亡和肿瘤增殖中具有至关重要的作用,能够通过多种肿瘤靶基因的调控促进侵袭和转移能力^[28],它受细胞内部的氧分压精细调节,在缺氧条件下,HIF-1 α 的诱导速度加快,而其降解过程受阻,表达水平迅速升高,是反应肿瘤缺氧状况的重要标志^[29]。我们使用免疫组

化对肿瘤组织染色发现,通过骨内注射辛伐他汀,肿瘤组织中 HIF-1 α 的表达明显减少,差异有显著性 ($P < 0.05$),提示肿瘤内部缺氧得到改善。肿瘤血管正常化使得肿瘤间质液压降低,化疗药物更容易到达肿瘤组织发挥作用,从而与化疗药物产生协同作用。通过肿瘤内血流的改善,使更多的化疗药物进行有效的灌注^[30],或将为肿瘤的化疗提供新的治疗策略,这也是未来重点研究的方向。

总之,本研究发现,通过骨内单次注射小剂量辛伐他汀,促进小鼠乳腺癌肿瘤血管正常化,改善肿瘤局部缺氧。

参考文献:

- [1] Carmeliet P, Jain RK. Angiogenesis in cancer and other diseases [J]. *Nature*, 2000, 407(6801): 249–257.
- [2] Jain RK. Determinants of tumor blood flow: a review [J]. *Cancer Res*, 1988, 48(10): 2641–2658.
- [3] Thiery JP, Acloque H, Huang RY, et al. Epithelial-mesenchymal transitions in development and disease [J]. *Cell*, 2009, 139(5): 871–890.
- [4] Goel S, Duda DG, Xu L, et al. Normalization of the vasculature for treatment of cancer and other diseases [J]. *Physiol Rev*, 2011, 91(3): 1071–1121.
- [5] 汪思亮,盛晓波,韦忠红. 肿瘤血管正常化与肿瘤治疗 [J]. *肿瘤*, 2013, 33(7): 653–657.
- [6] Jain RK. Antiangiogenesis strategies revisited: from starving tumors to alleviating hypoxia [J]. *Cancer Cell*, 2014, 26(5): 605–622.
- [7] Landmesser U, Bahlmann F, Mueller M, et al. Simvastatin versus ezetimibe: pleiotropic and lipid-lowering effects on endothelial function in humans [J]. *Circulation*, 2005, 111(18): 2356–2363.
- [8] Tan J, Yang N, Fu X, et al. Single-dose local simvastatin injection improves implant fixation via increased angiogenesis and bone formation in an ovariectomized rat model [J]. *Med Sci Monit*, 2015, 21:1428–1439.
- [9] Streeten EA. Bone as a classic endocrine organ: Interactions with non-bone tissues [J]. *Rev Endocr Metab Disord*, 2015, 16(2): 77–78.
- [10] Chim SM, Tickner J, Chow ST, et al. Angiogenic factors in bone local environment [J]. *Cytokine Growth Factor Rev*, 2013, 24(3): 297–310.
- [11] Mangialardi G, Cordaro A, Madeddu P. The bone marrow pericyte: an orchestrator of vascular niche [J]. *Regen Med*, 2016, 11(8): 883–895.
- [12] Bababeygy SR, Cheshier SH, Hou LC, et al. Hematopoietic stem cell-derived pericytic cells in brain tumor angio-architecture [J]. *Stem Cells Dev*, 2008, 17(1):11–18.
- [13] Chen Y, Zhang S, Peng G, et al. Endothelial NO synthase and

- reactive oxygen species mediated effect of simvastatin on vessel structure and function; pleiotropic and dose-dependent effect on tumor vascular stabilization [J]. *Int J Oncol*, 2013, 42(4): 1325-1336.
- [14] 郭琦, 刘灿, 海宝, 等. 壳聚糖导管复合辛伐他汀/泊洛沙姆 407 水凝胶修复大鼠外周神经缺损的研究 [J]. *中国比较医学杂志*, 2016, 26(5): 1-9.
- [15] Teng LS, Jin KT, He KF, et al. Advances in combination of antiangiogenic agents targeting VEGF-binding and conventional chemotherapy and radiation for cancer treatment [J]. *J Chin Med Assoc*, 2010, 73(6): 281-288.
- [16] Lin MI, Sessa WC. Antiangiogenic therapy: creating a unique "window" of opportunity [J]. *Cancer Cell*, 2004, 6(6): 529-531.
- [17] Jain RK. Normalizing tumor vasculature with anti-angiogenic therapy: a new paradigm for combination therapy [J]. *Nat Med*, 2001, 7(9): 987-989.
- [18] Goel S, Wong AH, Jain RK. Vascular normalization as a therapeutic strategy for malignant and nonmalignant disease [J]. *Cold Spring Harb Perspect Med*, 2012, 2(3): a006486.
- [19] Shang B, Cao Z, Zhou Q. Progress in tumor vascular normalization for anticancer therapy: challenges and perspectives [J]. *Front Med*, 2012, 6(1): 67-78.
- [20] Otrock ZK, Hatoum HA, Awada AH, et al. Hypoxia-inducible factor in cancer angiogenesis: structure, regulation and clinical perspectives [J]. *Crit Rev Oncol Hematol*, 2009, 70(2): 93-102.
- [21] Rebucci M, Michiels C. Molecular aspects of cancer cell resistance to chemotherapy [J]. *Biochem Pharmacol*, 2013, 85(9): 1219-1226.
- [22] Bhandari S, Gupta P, Quinn P, et al. Pleiotropic effects of statins in hypercholesterolemia: a prospective observational study using a lipoproteomic based approach [J]. *Lancet*, 2015, 385(Suppl 1): S21.
- [23] Mandal CC, Ghosh-Choudhury N, Yoneda T, et al. Simvastatin prevents skeletal metastasis of breast cancer by an antagonistic interplay between p53 and CD44 [J]. *J Biol Chem*, 2011, 286(13): 11314-11327.
- [24] Wang T, Seah S, Loh X, et al. Simvastatin-induced breast cancer cell death and deactivation of PI3K/Akt and MAPK/ERK signalling are reversed by metabolic products of the mevalonate pathway [J]. *Oncotarget*, 2016, 7(3): 2532-2544.
- [25] Weis M, Heeschen C, Glassford AJ, et al. Statins have biphasic effects on angiogenesis [J]. *Circulation*, 2002, 105(6): 739-745.
- [26] Schachter M. Chemical, pharmacokinetic and pharmacodynamic properties of statins: an update [J]. *Fundam Clin Pharmacol*, 2005, 19(1): 117-125.
- [27] Kieda C, El Hafny-Rahbi B, Collet G, et al. Stable tumor vessel normalization with pO₂ increase and endothelial PTEN activation by inositol trispyrophosphate brings novel tumor treatment [J]. *J Mol Med (Berl)*, 2013, 91(7): 883-899.
- [28] Hanze J, Eul BG, Savai R, et al. RNA interference for HIF-1 α inhibits its downstream signaling and affects cellular proliferation [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2003, 312(3): 571-577.
- [29] Bae SH, Jeong JW, Park JA, et al. Sumoylation increases HIF-1 α stability and its transcriptional activity [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2004, 324(1): 394-400.
- [30] Carmeliet P, Jain RK. Principles and mechanisms of vessel normalization for cancer and other angiogenic diseases [J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2011, 10(6): 417-427.

[收稿日期] 2017-04-25

· 简讯 ·

《中国实验动物学报》《中国比较医学杂志》 入选《中国学术期刊(网络版)》网络首发首批示范期刊

为了更好地宣传学术期刊转型对促进国家“创新驱动发展”战略的重要意义,并积极推动学术评价机制改革,整体推进学术期刊数字化、网络化转型升级,根据国家新闻出版广电总局关于“首批连续型网络出版物规范化试点”与“国家数字复合出版系统工程试点”工作要求,基于前不久发布的《中国学术期刊(网络版)》(CAJ-N)的出版传播平台(CAJ-NP),本着试点先行、扎实推进的原则,《中国学术期刊(光盘版)》电子杂志社将启动“学术期刊网络版示范工程”,组织、支持一批数字出版工作基础较好的重要期刊率先以录用定稿网络首发方式在 CAJ-N 正式出版期刊网络版。以网络首发方式发表单篇论文是出版学术期刊网络版的实质意义所在,其对作者研究成果首发权、学术竞争力和影响力,以及读者获取科研情报与知识的及时性具有无可争议的重要性。CAJ-N 作为学术期刊网络版的正式出版平台,与以往没有正式刊号的优先数字出版不同,已经解决了论文网络首发的规范性问题,可以得到国家出版管理、科研与人事管理等相关部门的认可。