

调经助孕胶囊对着床障碍模型小鼠子宫内膜容受性的影响及其机制研究[△]

王瑞杰*(河南中医药大学第二临床医学院, 郑州 450002)

中图分类号 R285 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2016)25-3484-04
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2016.25.09

摘要 目的:研究调经助孕胶囊对着床障碍模型小鼠子宫内膜容受性的影响及其机制。方法:将妊娠小鼠随机分为正常组、模型组和调经助孕胶囊低、高剂量组[12、24 g/(kg·d)],每组10只。从妊娠第1天开始,各给药组小鼠ig相应药物,正常组和模型组小鼠ig生理盐水,连续3d;妊娠第4天,除正常组外,其余各组小鼠均ih米非司酮溶液复制着床障碍模型;妊娠第5天处死小鼠。观察子宫内膜组织形态变化,并对子宫内膜成熟度进行评分;检测子宫内膜白血病抑制因子(LIF)、同源框基因HOXA10、基质金属蛋白酶9(MMP-9)、基质金属蛋白酶抑制因子1(TIM-1)蛋白表达水平。结果:与正常组比较,模型组和各给药组小鼠子宫内膜发育均不完全,成熟度评分和子宫内膜LIF、HOXA10、MMP-9、TIM-1蛋白表达水平均明显降低($P<0.05$)。与模型组比较,给药组小鼠子宫内膜发育得到改善或趋向正常,各指标水平均明显升高($P<0.05$);且调经助孕胶囊高剂量组指标改善较较低剂量组更明显($P<0.05$)。结论:调经助孕胶囊可改善着床障碍小鼠的子宫内膜容受性;其机制可能与上调HOXA10、LIF基因的表达,维持MMP-9、TIM-1平衡有关。

关键词 调经助孕胶囊;着床障碍;子宫内膜容受性;成熟度评分;机制;小鼠

Study on the Effects of Tiaojingzhuyun Capsules on Endometrial Receptivity in Mice with Implantation Dysfunction and Its Mechanism

WANG Ruijie(Second Clinical Medical College, Henan University of TCM, Zhengzhou 450002, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To investigate the effects of Tiaojingzhuyun capsules on endometrial receptivity in mice with implantation dysfunction and corresponding mechanism. METHODS: Pregnant mice were randomized into normal group, model group and the groups of low and high-dose [12, 24 g/(kg·d)] Tiaojingzhuyun capsules, with 10 mice in each group. The mice in the drug administration groups were given corresponding drugs intragastrically, while those in the normal group and the model group were given normal saline intragastrically, for 3 consecutive days from the 1st day of pregnancy. On the 4th day of pregnancy, the mice in all groups except for the normal group were given mifepristone solution subcutaneously to establish model of implantation dysfunction. On the 5th day of pregnancy, the mice were sacrificed, and then the change in endometrial morphology was observed and endometrial maturity was scored; the protein expression levels of leukaemia inhibitory factor (LIF), homoeobox gene HOXA10, matrix metalloproteinase 9 (MMP-9) and matrix metalloproteinase inhibitory factor 1 (TIMP-1) expression in endometrial tissues were determined. RESULTS: Compared to the normal group, the mice in the model group and the drug administration groups had endometrial hypoplasia and obviously lower endometrial maturity score and protein expression levels of LIF, HOXA10, MMP-9 and TIMP-1 in endometrial tissues ($P<0.05$). Compared to the model group, the mice in the drug administration groups demonstrated endometrial development which improved or tended to be normal and had significantly higher indexes mentioned above ($P<0.05$); besides, the effect shown in the group of high-dose Tiaojingzhuyun capsules was stronger than that in the group of low-dose Tiaojingzhuyun capsules ($P<0.05$). CONCLUSIONS: Tiaojingzhuyun capsules can improve the endometrial receptivity in mice with implantation dysfunction by a mechanism which may be related to upregulating the gene expression of HOXA10 and LIF, and maintaining the balance of MMP-9 and TIMP-1.

KEYWORDS Tiaojingzhuyun capsules; Implantation dysfunction; Endometrial receptivity; Maturity score; Mechanism; Mice

- 规的影响[J].实验动物科学,2014,31(2):32.
- [11] 司徒绮仪,刘国栋,刘秋菊,等.复方甘草酸苷对溃疡性结肠炎大鼠结肠组织SOD、MDA、MPO酶的影响[J].今日药学,2012,22(5):274.
- [12] 孙芳美.溃疡性结肠炎的发病机制与治疗进展[J].中国医药指南,2012,10(12):445.
- [13] Myers JN, Schäffer MW, Korolkova OY, *et al.* Implications of the colonic deposition of free hemoglobin- α chain: a previously unknown tissue by-product in inflammatory bowel disease[J]. *Inflamm Bowel Dis*, 2014, 20(9):1 530.
- [14] Aleksandra PP, Jakub F. Review article: the role of oxidative stress in pathogenesis and treatment of inflammatory bowel diseases[J]. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmaco*, 2014, 387(7):605.

[△]基金项目:河南省教育厅科学技术研究重点项目(No.13A360579);河南中医学院博士启动基金(No.BSJJ2012-21);全国名老中医药专家传承工作室建设项目(No.[2014]-20号)

*讲师,博士。研究方向:生殖内分泌、不孕不育。电话:0371-60908726。E-mail:wangruijie021@163.com

(收稿时间:2015-12-07 修回日期:2016-05-26)
(编辑:林 静)

在体外受精-胚胎移植过程中,胚胎顺利着床是决定受精是否成功的关键。子宫内膜容受性指子宫内膜对胚胎的接受能力,受到多种因素的影响。在女性正常月经周期,卵巢雌、孕激素共同作用于子宫内膜,促进腺体、间质发育成熟,而子宫内膜与胚胎、卵泡发育的同步性是确保受精卵着床的前提条件。子宫内膜与胚泡发育同步,可提高子宫内膜容受性,促进胚胎着床。胚泡植入子宫内膜的过程涉及一系列细胞、分子信号的传递,同源框基因HOXA10和白血病抑制因子(LIF)则被认为是影响胚胎植入的关键调控因子。其中LIF可促进胚泡与子宫内膜黏附,调控母胎免疫耐受,促进子宫内膜成熟;HOXA10蛋白则为胚胎着床必需蛋白,是影响子宫内膜容受性的关键因素。研究显示,基质金属蛋白酶9(MMP-9)、基质金属蛋白酶抑制因子1(TIMP-1)的动态平衡同样会对胚胎植入、子宫内膜容受性产生影响^[1]。其中MMP-9与月经发生、子宫内膜重建、排卵、胚胎植入有密切关联;TIMP-1则可促进子宫内膜修复与生长,抑制MMP-9侵袭滋养细胞。虽然药物刺激超促排卵可提高体外受精的成功率,但同时也会导致激素平衡失调,影响卵泡细胞质量,降低子宫内膜容受性,从而导致受精率、妊娠率降低^[2];且较多促排卵化学药均对性激素分泌、卵子发育有不同程度的负面影响,会干扰子宫内膜正常发育,从而降低子宫内膜容受性及体外受精成功率^[3]。

调经助孕胶囊是在中医妇科专家褚玉霞教授(原河南中医学院妇科教研室主任)的经验方二紫赞育浓缩丸/二紫胶囊基础上研制而成,由紫石英、紫河车、菟丝子、仙灵脾、香附、砂仁、丹参、熟地黄、川牛膝等11味药材组成,具有滋肾补肾、理气活血、调经助孕之效。近年来其被证实可提高无排卵性不孕症患者的血清雌、孕激素水平,调节内分泌,促进卵泡发育,提高排卵率及妊娠率^[4],但其相关作用机制还尚未明确。基于此,本研究拟通过建立着床障碍小鼠模型,并给予调经助孕胶囊,旨在明确调经助孕胶囊对着床障碍小鼠子宫内膜容受性的影响及其相关的作用机制,为其临床应用提供一定的基础实验依据。

1 材料

1.1 仪器

CX23 光学显微镜(日本 Olympus 公司); Heraeus Biofue Primo R 台式低温高速离心机(德国 Siemens 公司); Ventana-ES 全自动免疫组化染色仪(美国 Ventana 公司); Q500MC 图像分析软件(德国 Leica 公司)。

1.2 药品与试剂

调经助孕胶囊(河南省中医学院第二附属医院制剂室自制,批号:002320,规格:每1g胶囊含生药1.5g);米非司酮片(北京紫竹药业有限公司,批号:020710,规格:25mg/片);兔抗鼠LIF、HOXA10多克隆抗体(美国 Santa Cruz 公司,批号:NBPI-85717、BA0918);兔抗鼠免疫球蛋白G(IgG)、MMP-9、TIMP-1多克隆抗体(武汉博士德生物工程有限公司,批号:10700-7、2844710、9G101);其余试剂均为分析纯。

1.3 动物

正常性成熟昆明种小鼠,♀(80只,未交配)、♂(40只),鼠龄5~6周,体质量18~22g,均由河南省动物实验中心提供[许可证号:SCXK(豫)2011-001]。将小鼠置于室温为23℃、

明暗时间比为12h:12h、湿度为80%的环境下,适应性饲养7d后用于实验,期间自由摄食、饮水。

2 方法

2.1 分组、造模与给药

将♀、♂小鼠分笼饲养3d,每天下午17:00将小鼠(♀、♂比例为2:1)合笼,次日上午8:00检查♀小鼠阴道后分笼,发现阴栓则标记为妊娠第1天。将妊娠小鼠按随机数字表法分为正常组、模型组和调经助孕胶囊低、高剂量组[12、24g/(kg·d),根据体表面积法换算分别为人临床用量的10、20倍],每组10只。妊娠第1天,各给药组小鼠ig相应药物,正常组和模型组小鼠ig生理盐水,连续3d;妊娠第4天,除正常组外,其余各组小鼠均于上午9:00ih米非司酮溶液(0.08mg/只)复制着床障碍模型^[5]。观察小鼠的精神状态、饮食等一般情况,并在光镜下观察阴道分泌物,若见分泌物明显增多且见大量核角化细胞则表明建模成功。

2.2 子宫内膜成熟度考察

妊娠第5天,各组小鼠尾iv溴胺天蓝溶液0.2ml,观察10min,小鼠眼球及口周见蓝色后处死。开腹,取子宫(有蓝染点子宫则取蓝染点处,无蓝染点则取对应部位),置于4%甲醛中固定20h。常规制备切片后,行苏木精-伊红(HE)染色,光镜下观察子宫内膜组织形态变化。参照文献[6]中方法对小鼠子宫内膜腺体发育、间质形态等进行评分,评价子宫内膜成熟度,评分总分为9分。若得分为8~9分则表示子宫内膜发育成熟;得分为6~7分表示子宫内膜发育延迟;若得分≤5分表示子宫内膜与卵泡发育不同步。

2.3 子宫内膜LIF、HOXA10、MMP-9、TIMP-1蛋白表达测定

采用免疫组化SP法。取小鼠子宫切片,脱蜡,滴50μl3%过氧化氢,37℃孵育20min,热抗原修复;PBS冲洗3次,滴兔抗鼠LIF、HOXA10、MMP-9、TIMP-1多克隆抗体,4℃孵育过夜,PBS冲洗3次;再滴加兔抗鼠IgG抗体,室温孵育0.5h,PBS冲洗3次;显色、贴片、脱水、透明、封片。光镜下观察,每组切片取5个高倍视野,阳性细胞定位于胞浆,为棕黄色颗粒。采用全自动图像分析系统进行分析,LIF、HOXA10蛋白表达情况以光密度(OD)值进行判定(OD值越高,表示蛋白表达越强,下同);MMP-9、TIMP-1蛋白表达情况以含棕黄色颗粒物质面积总和、积分光密度值及黑度均值进行判定。

2.4 统计学方法

用SPSS 19.0统计学软件处理数据。计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示。多组间比较采用方差分析,组间两两比较行LSD检验。 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

3 结果

3.1 一般情况观察结果

给药期间,各组小鼠精神状态均良好、活动敏捷、饮食正常、未见异常分泌物,眼、鼻、口腔均洁净,无明显异常反应。经观察,本实验用于造模的所有小鼠均造模成功。

3.2 各组小鼠子宫形态观察结果

正常组小鼠子宫内膜发育正常,腺体数量较多且分布均匀,腺上皮为单层柱状上皮,夹杂透亮细胞,少见顶浆分泌,腺腔增大,内可见分泌物;模型组小鼠子宫内膜发育差,腺体小,

细胞呈梭形,间质致密,螺旋动脉较少,呈增生期改变,部分间质水肿、疏松,部分间质致密,间质发育不同步;调经助孕胶囊低剂量组小鼠子宫内膜发育较模型组有所改善,腺体增多、分布趋向均匀,间质疏松水肿,可见螺旋小动脉增生,接近功能层;调经助孕胶囊高剂量组小鼠子宫内膜发育趋向正常,腺体明显增加、分布较均匀,腺腔增大,部分间质可见梭形细胞。各组小鼠子宫病理切片图见图1。

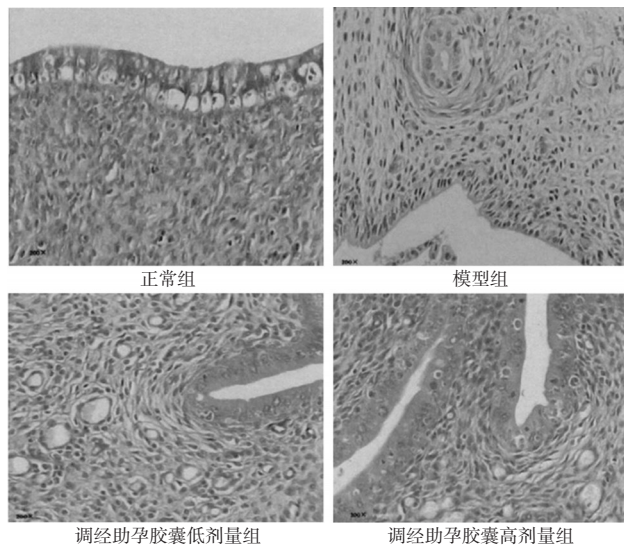


图1 各组小鼠子宫病理切片图(HE染色,×200)

Fig 1 The uterine pathological pictures of mice in all groups (HE staining, ×200)

3.3 各组小鼠子宫内膜成熟度评分结果

与正常组比较,模型组及调经助孕胶囊低、高剂量组小鼠

子宫内膜成熟度评分降低($P<0.05$);与模型组比较,调经助孕胶囊低、高剂量组小鼠子宫内膜成熟度评分升高($P<0.05$);与调经助孕胶囊低剂量组比较,调经助孕胶囊高剂量组小鼠子宫内膜成熟度评分升高($P<0.05$)。各组小鼠子宫内膜成熟度评分结果见表1。

表1 各组小鼠子宫内膜成熟度评分结果($\bar{x} \pm s, n=10$)

Tab 1 The endometrial maturity scores of mice in all groups ($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	剂量,g/(kg·d)	子宫内膜成熟度评分
正常组		8.66±0.28
模型组		4.56±0.97*
调经助孕胶囊低剂量组	12	7.22±0.26**
调经助孕胶囊高剂量组	24	7.91±0.11***

注:与正常组比较,* $P<0.05$;与模型组比较,** $P<0.05$;与调经助孕胶囊低剂量组比较,*** $P<0.05$

Note: vs. normal group, * $P<0.05$; vs. model group, ** $P<0.05$; vs. group of low-dose Tiaojingzhuyun capsules, *** $P<0.05$

3.4 各组小鼠子宫内膜LIF、HOXA10、MMP-9、TIMP-1蛋白表达测定结果

与正常组比较,模型组和调经助孕胶囊低、高剂量组小鼠子宫内膜LIF、HOXA10、MMP-9、TIMP-1蛋白表达均减弱($P<0.05$);与模型组比较,调经助孕胶囊低、高剂量组小鼠子宫内膜LIF、HOXA10、MMP-9、TIMP-1蛋白表达均增强($P<0.05$);与调经助孕胶囊低剂量组比较,调经助孕胶囊高剂量组小鼠子宫内膜LIF、HOXA10、MMP-9、TIMP-1蛋白表达均增强($P<0.05$)。各组小鼠子宫内膜LIF、HOXA10、MMP-9、TIMP-1蛋白表达测定结果见表2。

表2 各组小鼠子宫内膜LIF、HOXA10、MMP-9、TIMP-1蛋白表达测定结果($\bar{x} \pm s, n=10$)

Tab 2 The protein expression levels of LIF, HOXA10, MMP-9, TIMP-1 in endometria of mice in all groups ($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	剂量,g/(kg·d)	LIF(OD值)	HOXA10(OD值)	MMP-9			TIMP-1		
				面积总和, μm^2	积分光密度	黑度均值	面积总和, μm^2	积分光密度	黑度均值
正常组		0.41±0.06	140.26±8.06	178 628.26±11 432.33	58 543.19±1 532.25	103.76±1.84	169 284.52±6 682.56	54 397.58±1 452.66	107.32±1.62
模型组		0.17±0.01*	101.52±4.35*	96 697.52±22 635.15*	29 996.54±2 866.15*	86.12±2.67*	101 378.98±22 936.35*	31 168.74±3 602.25*	97.48±1.22*
调经助孕胶囊低剂量组	12	0.32±0.07**	121.26±7.64**	128 765.21±15 494.58**	47 612.43±2 810.55**	92.36±2.22**	126 754.42±18 944.52**	45 851.58±2 542.44**	101.74±1.98**
调经助孕胶囊高剂量组	24	0.39±0.05***	132.21±6.32***	163 438.85±13 155.28***	53 114.26±1 844.39***	98.24±1.89***	156 124.08±14 119.16***	51 479.08±2 543.05***	105.93±1.22***

注:与正常组比较,* $P<0.05$;与模型组比较,** $P<0.05$;与调经助孕胶囊低剂量组比较,*** $P<0.05$

Note: vs. normal group, * $P<0.05$; vs. model group, ** $P<0.05$; vs. group of low-dose Tiaojingzhuyun capsules, *** $P<0.05$

4 讨论

近年来,我国不孕症发病率呈逐渐上升趋势^[7]。降低不孕症患病率、提高妊娠率已成为生殖医学领域研究的重点课题。辅助生殖技术(ART)是临床治疗不孕症的主要手段,其中体外受精-胚胎移植为ART中最为成熟的技术。目前体外受精成功率已突破70%,但临床妊娠率仅为40%^[8]。胚胎着床障碍是导致受精率高、妊娠率低的主要原因。胚胎着床过程较复杂,其成功率与子宫内膜容受性有紧密联系。正常条件下,为确保胚胎在子宫内膜种植,多选择子宫内膜对胚胎接受能力最强的种植窗期^[9]。以米非司酮建立稳定性着床障碍小鼠模型的方法已被认可。一般妊娠4 d,小鼠发育正常胚胎已转移至子宫腔,此时给予米非司酮可通过影响输卵管运动及卵泡发育,阻止胚胎着床前子宫内膜由增生期向分泌期变化,降低子宫内膜容受性,引起着床障碍;且米非司酮给药起效速度

快,一般6~30 h即可见效,同时对其他系统无副作用,造模安全、简便^[10]。故在本文中采用此种方法复制着床障碍小鼠模型。

临床研究已证实,以LIF、HOXA10、整合素 $\beta 3$ 等为主的多类调控因子会影响胚胎着床^[11]。LIF为白细胞介素6家族成员,本质为糖蛋白,可诱导肝细胞发生急相反应、促进骨髓白血病细胞分化、控制胚胎肝细胞分化等,其参与了胚胎着床、分化、发育以及子宫内膜容受性调节等过程^[12]。子宫内膜中LIF经腔上皮、腺上皮细胞分泌后进入宫腔,作用于子宫内膜上皮,提高子宫内膜对胚胎的容受性,调控母胎免疫;同时LIF可通过调节胚胎植入能力以及植入深度来确保妊娠成功。HOX则为同源框基因,在胚胎形成过程中有重要作用。子宫内膜经历有序过程后形成胚胎容受状态,HOX基因则可介导胚胎形成、生长发育,促进子宫内膜容受状态的形成。HOXA10基因为HOX基因中的一种,其主要表达于子宫内,与

子宫发育及子宫内膜容受性联系密切,可调控多种靶基因,影响胚胎着床。HOXA10基因可与下游转录调控区结合,诱导靶基因转录,促进整合素 β 3、环氧合酶2、前列腺 E_2 受体的释放,参与子宫内膜细胞增殖、胚胎着床^[13]。

MMPs为依赖于锌离子、钙离子的蛋白水解酶家族中的一员,参与细胞外基质(ECM)的重塑与降解。研究发现,子宫内膜所分泌的MMPs与内膜重建、胚胎植入等有关^[14]。TIMPs则为MMPs抑制因子,两者在体内同步表达,并结合形成复合物,从而抑制MMPs活性。TIMPs不仅可调节ECM降解,同时可参与其更新与重塑,对子宫内膜修复及生长有其较好的辅助作用。MMP-9则为子宫内膜所分泌的MMPs酶中主要的蛋白水解酶;TIMP-1为MMP-9关键抑制因子,其可与活化的MMP-9结合成复合物,从而抑制MMP-9活性。MMP-9、TIMP-1表达失衡也是造成不孕不育的重要原因^[15]。

中医学认为,肾虚是着床障碍不孕症的病因,在治疗方面需重视调理肾脏、兼顾肝脾。调经助孕胶囊为中医妇科专家河南省中医院褚玉霞教授的经验方,为纯中药制剂,方中紫石英散寒暖宫、温阳补肾、填精益髓;紫河车益精血、补肝肾;菟丝子滋阴补阳;仙灵脾壮阳益精;丹参活血通络;香附疏肝解郁、通气降逆;熟地黄滋阴补血;砂仁理气安胎、温脾止泻;川牛膝逐瘀通经。方中诸药共用可同奏理气活血、滋阴补肾、调经助孕之效。本研究结果显示,模型组小鼠的子宫内膜成熟度评分低于5分,表明该组小鼠子宫内膜与卵泡发育不同步,子宫内膜容受性较差;给予调经助孕胶囊后成熟度评分升高,子宫内膜形态接近正常,提示子宫内膜的容受性得到改善;且给药后小鼠子宫内膜LIF、HOXA10、TIMP-1、MMP-9表达均明显上调,与模型组比较差异有统计学意义($P < 0.05$)。

综上,调经助孕胶囊可显著改善着床障碍小鼠子宫内膜容受性,其机制可能与上调子宫内膜容受指标LIF、HOXA10基因的表达,维持TIMP-1、MMP-9平衡有关。

参考文献

[1] 韩霞.补肾安胎中药对着床障碍小鼠子宫VEGF和MMP-9 mRNA表达的影响[J].陕西中医,2013,34(4):497.

[2] 闫文杰,杨菁,尹太郎,等.中药助孕方对促排卵和卵泡着床障碍小鼠子宫内膜容受性的影响[J].中国中西医结合杂志,2012,32(11):1554.

[3] 余楠,杨菁,徐望明,等.助孕方对着床障碍模型小鼠胞饮突及白血病抑制因子表达的影响[J].中华临床医师杂志:电子版,2013,7(11):4873.

[4] 李小妮,李雅璇,周吉海,等.补肾助孕汤对小鼠生殖能力影响的实验研究[J].中国中西医结合杂志,2013,33(3):

365.

[5] 田滢舟,朱静妍,朱秀君,等.肾虚胚胎着床障碍小鼠病理证结合模型的建立与评价[J].中国现代医学杂志,2014,24(11):14.

[6] 杨森,黄晓武,闵乐泉,等.基于形态学重构的宫腔镜下子宫内膜腺体开口标记算法[J].北京生物医学工程,2015,34(5):468.

[7] Blitek A, Kaczmarek MM, Kiewisz J, et al. Endometrial and conceptus expression of HoxA10, transforming growth factor β 1, leukemia inhibitory factor, and prostaglandin H synthase-2 in early pregnant pigs with gonadotropin-induced estrus[J]. *Domest Anim Endocrin*, 2010, 38(4):222.

[8] 朱秀君,朱静妍,徐珉,等.益肾填精助孕法对肾虚胚胎着床障碍小鼠子宫内膜表面胞饮突表达的影响[J].中医药导报,2013,19(7):4.

[9] 钟婷,宗滕,赖丽丹,等.不同胚胎移植的液体量对小鼠胚胎分布和妊娠的影响及其作用机制[J].广东医学,2014,35(1):43.

[10] 白玉涛,张玉玲,代娟,等. ICR小鼠着床障碍模型的建立[J].东北农业大学学报,2012,43(3):63.

[11] 叶虹,黄国宁,曹云霞,等.尿源性高纯度FSH在控制性促排卵中对IVF-ET结局的影响[J].中华妇产科杂志,2013,48(11):838.

[12] Sun X, Bartos A, Whitsett JA, et al. Uterine deletion of Gp130 or Stat3 shows implantation failure with increased estrogenic responses[J]. *Mol Endocrinol*, 2013, 27(9):1492.

[13] 邱卓琳,李红,毛向明,等.不同剂量促排卵激素对昆明小鼠卵子及胚胎发育潜能的影响[J].广东医学,2012,33(3):325.

[14] Dunlap KA, Filant J, Hayashi K, et al. Postnatal deletion of Wnt7a inhibits uterine gland morphogenesis and compromises adult fertility in mice[J]. *Biol Reprod*, 2011, 85(2):386.

[15] 孟艳岑,张明敏,崔丹丹,等.补肾、活血对超促排卵小鼠着床期间子宫内膜MMP-2、MMP-9、TIMP-3表达的影响[J].华中科技大学学报:医学版,2013,42(6):627.

(收稿日期:2016-01-30 修回日期:2016-07-08)

(编辑:林静)

《中国药房》杂志——中文核心期刊,欢迎投稿、订阅