DOI:10.16016/j.1000-5404.2001.08.007

文章编号:1000-5404(2001)08-0891-04

论著

基质细胞对小鼠骨髓单个核细胞体外扩增的促进作用

孔佩艳[1],郭朝华[2],罗成基[2],周燕虹[2],邹仲敏[2],施 炎[2] (第三军医大学:[1]附属新桥医院血液内科 400037;[2]预防医学系防原医学教研室、全军复合伤研究所,重庆 400038)

提 要:目的 阐明基质细胞在造血细胞体外扩增中的作用。**方法** 采用骨髓基质细胞培养、骨髓单个核细胞(BMMNC)体外液体培养和各种造血祖细胞集落培养技术,进行基质细胞支持条件下骨髓单个核细胞体外扩增的研究,并与单纯细胞因子支持下的细胞扩增进行比较。**结果** 在照射后基质细胞层存在的条件下,同时含有细胞因子组合的培养体系,对细胞总数和集落形成细胞数的扩增作用明显高于其它各组。**结论** 基质细胞对细胞因子作用下的造血细胞体外扩增有明显的促进作用。

关键词: 基质细胞;细胞因子;骨髓单个核细胞;体外扩增
中图法分类号: R329.28;R331.22 **文献标识码:** A

Effect of stromal cells on *ex vivo* expansion of BMMNC

KONG Pei-yan, GUO Chao-hua, LUO Cheng-ji, ZHOU Yan-hong, ZOU Zhong-min, SHI Yan (Department of Hematology, Xinqiao Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400037, China)

Abstract: Objective To study the effect of bong marrow stromal cells on *ex vivo* hematopoietic progenitor expansion. **Methods** Bone marrow stromal cells culture, *ex vivo* bone marrow mononuclear cells(BMMNC) expansion, semisolid culture of colony forming unit-progenitor cells techniques were used to study the expansion of BMMNC. **Results** When cytokines were added to the systems of bone marrow mononuclear cells co-cultured with irradiated stromal cells, the number of total cells, CFU-GM and CFU-Cs were increased notably than those of the uncultured control group, stimulated only with cytokines group or simple co-cultured group. **Conclusion** The expansion system contained both co-cultured stromal cells and cytokines can mostly expand the total cells and progenitors, and the bone marrow stromal cells have promoting effect on *ex vivo* hematopoietic cells expansion.

Key words: stromal cells; cytokines; bone marrow mononuclear cells; *ex vivo* expansion

以多种方法纯化造血干/祖细胞,然后进行在多种造血生长因子协同作用下的体外扩增,是近年来研究最多的一种造血细胞体外扩增的模式[1]。但后来的研究发现,将这些明显扩增的细胞输注至体内后,往往达不到理想的移植效果,尤其是难以获得长期造血重建,因此认为这种体外扩增的方式可能使造血干/祖细胞的功能受损[2~5]。造血基质细胞是造血微环境的重要组成部分,它通过与造血细胞密切接触、分泌细胞外基质和多种细胞因子来调节造血细胞的自我更新、增殖和分化过程,以保证机体造血功能的正常进行[6]。因此有理由认为基质细胞对造血干/祖细胞功能的维持可能是必需的条件。但也有报告认为与基质细胞直接接触的体外扩增培养可明显抑制造血干/祖细胞的增殖、生长和功能活性[7]。因此,进一步阐明基质细胞在造血干细胞体外扩增中的作用和意义是一重要的研究课题。在以往研究的基础上,本实验进行基质细胞支持条件下的小鼠骨髓单个核细胞体外扩增的研究,并与单纯细胞因子支持下的扩增进行比较,以阐明基质细胞在造血细胞体外扩增中的作用,为进一步研究基质细胞对维持体外扩增造血细胞移植活性的作用奠定理论和实验基础。

1 材料和方法

1.1 实验动物及来源

健康 BALB/c 雄性小鼠购自重庆医科大学实验动物所,共40只,体重在20~24 g之间,用于实验前在本室动物实验室喂养1周。

1.2 实验方法

1.2.1 小鼠骨髓细胞的制备 将小鼠脱颈椎处死后,放入75%酒精中浸泡5 min,然后无菌分离双侧股骨和胫骨并剪去骨端,用充满 IMDM(Gibco)培养液的注射器冲出骨髓,再以7号针头→5号针头反复抽吸吹打以制成单细胞悬液,用白细胞稀释液稀释作骨髓有核细胞计数后备用。

1.2.2 脾细胞条件培养液的制备 将健康雄性昆明种小鼠脱颈处死取脾脏,置于35 mm培养皿中,加入适量 IMDM 培养液,用无菌注射器芯轻轻碾磨挤压,去除膜块,然后经4号针头反复抽打,使成单细胞悬液,4 ℃ 1 500 r/min 离心 15 min 弃上清,再用培养液洗两次后加入培养体系中。培养体系含有1%的植物血凝素、20% FCS、100 U/ml 的青霉素和 0.1 mg/ml 链霉素,细胞浓度为 1×10^6/ml。以每瓶 10 ml 的量接种于培养瓶中,置于 37 ℃、5% CO_2 及饱和湿度的培养箱内,培养4 d或7 d,倒置显微镜下观察细胞生长良好,分布密集,吸取培养上清液,4 ℃ 1 500 r/min 离心 15 min 后收集并分装,-20 ℃冰箱保存备用。培养4 d和7 d所收集的脾条件培养液分别称为4 d SCM和7 d SCM。

1.2.3 骨髓单个核细胞的分离 文献报道小鼠骨髓单个核

基金项目:全军"九五"指令性课题(96L045)
作者简介:孔佩艳(1958-),女,河南省郑县人,博士,副主任医师,副教授,主要从事造血调控和各种血液病方面的研究,发表论文30余篇。电话:(023)68755000-74609
收稿日期:2000-08-18;修回日期:2001-01-10

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

细胞的比重在1.083～1.085之间，因此本实验以此作为分离小鼠骨髓单个核细胞的比重范围。

Percoll(Pharmacia)原液用灭菌的1.5 mol/L和0.15 mol/L的NaCl溶液配制成所需比重的分离液，加入刻度离心管中，然后将欲分离的骨髓细胞悬液以大约1∶1的比例加至分离液表面，形成清晰界面，用低温低速水平离心机4 ℃ 1 750 r/min离心25 min。离心后轻轻吸取悬于分层液面的膜状白细胞层，再用RPMI 1640培养液洗3次，重新悬浮即得到骨髓单个核细胞悬液。

1.2.4 骨髓基质细胞培养 培养体系为IMDM培养液，内含100 U/ml的青霉素和0.1 mg/ml链霉素、10%马血清、10%小牛血清、10^{-6} mol/L氢化考的松液。加入小鼠的骨髓细胞，有核细胞浓度为2×10^6/ml。以每瓶10 ml的量接种于培养瓶中，然后置于37 ℃、5% CO_2培养箱内孵育，每周半量换液，共培养4周。

基质细胞培养4周后，在倒置显微镜下观察可见基质细胞基本长满培养瓶底。选取生长状态良好并融合成单层的基质细胞，经^{60}Co γ射线一次性照射10 Gy(剂量率87.76 cGy/min，距离120 cm，照射时间12 min 5 s)，去除所有上清液并用1640培养液冲洗两次后备用。

1.2.5 骨髓粒-巨噬祖细胞克隆(CFU-GM)培养 培养体系为IMDM培养液，内含25%的马血清。加入小鼠的骨髓或培养后的有核细胞1×10^5/ml后，37 ℃水浴15 min，加入琼脂(终浓度为0.2%)，然后加入重组GM-CSF 100 ng，充分混匀后置于饱和湿度5% CO_2培养箱内，37 ℃孵育7 d，倒置显微镜下观察，计数≥50个细胞组成的细胞团为CFU-GM集落。

1.2.6 骨髓红系祖细胞(CFU-E)培养 每种培养体系配制2 ml，其中含10^{-4}巯基乙醇0.2 ml、3%谷氨酰胺0.03 ml、HS 0.70 ml、EPO 0.2 ml(2 U)、7 d SCM 0.1 ml、骨髓或经培养后的有核细胞2×10^5/ml、2.7%甲基纤维素0.6 ml，充分震荡混匀后加入96孔板，每孔0.2 ml。放入饱和湿度5% CO_2培养箱内，37 ℃孵育3 d(CFU-E)，倒置显微镜下观察结果，由8个以上的细胞组成的细胞团为CFU-E。

1.2.7 多系造血祖细胞集落培养 甲基纤维素培养体系中含马血清35%、L-谷氨酰胺3 mmol/L、2-巯基乙醇10^{-5} mol/L、EPO 1 U/ml、4 d SCM 5%、甲基纤维素0.9%和适量IMDM。加入的有核细胞浓度为2×10^5/ml。培养在24孔板(每孔1 ml)、37 ℃、5% CO_2及饱和湿度的培养箱内进行，培养12～14 d，倒置显微镜下观察，计数CFU-GM、CFU-E、BFU-E、多向祖细胞集落(CFU-GEMM)及其它两系或三系细胞组成的混合集落，其总数即为造血集落形成细胞(CFU-Cs)数。

1.2.8 骨髓单个核细胞的体外液体扩增体系 收集健康雄性BALB/c小鼠的骨髓细胞后，以前述的方法分离骨髓单个核细胞。基本扩增培养体系为IMDM培养基中含12.5% HS、12.5% FCS、10^{-6} mol/L氢化考的松、骨髓单个核细胞2×10^5/ml。上述体系接种于含有或不含照射后基质细胞层的50 ml体积培养瓶中，每瓶10 ml(即每个培养瓶中接种的细胞总数为2×10^6)，加或不加各种造血生长因子组合，置于37 ℃、5% CO_2及饱和湿度的培养箱内连续培养5 d后，取出观察、照相并收集。

按不同培养条件，分为以下实验组：①含有几种重组造血生长因子组合、不含有照射后基质细胞层的液体扩增组(简称F组)；②不含几种重组造血生长因子组合、只含有照射后基质细胞层的基质支持扩增组(简称S组)；③同时含有造血生长因子组合及照射后基质细胞层的体外扩增组(简称S+F组)。

培养体系中几种重组生长因子的来源及终浓度：干细胞因子(SCF，邦定)20 ng/ml；白细胞介素-3(IL-3，Kirin)20 ng/ml；白细胞介素-6(IL-6，邦定)20 ng/ml；红细胞生成素(EPO，Amegen)1 U/ml；粒-巨噬细胞集落刺激因子(GM-CSF，Kirin)50 ng/ml；粒细胞集落刺激因子(G-CSF，Kirin)50 ng/ml。

1.2.9 扩增后细胞的收集 分别收集每个培养瓶中的细胞。依培养条件不同收集细胞的方法也有差别。①不含照射后基质细胞层的扩增细胞的收集：倒置显微镜下观察可见在这种培养体系中有少量的贴壁细胞形成，收集时用细胞刮子(Sigma)温和地刮下此部分细胞后，与扩增后的悬浮细胞一同离心，然后将沉淀细胞用培养液洗2次，重新悬浮为0.3～0.5 ml的细胞悬液，计数有核细胞总数后备用。②含有照射后基质细胞层的扩增细胞的收集：先分别将每个培养瓶中的培养上清液吸至一刻度离心管中，再加入少量培养液后用细胞刮子将贴壁层细胞刮下，充分吹打后转移至新的培养瓶中，再度贴壁1 h，收集非贴壁细胞作为粘附于贴壁层中的非贴壁细胞，然后与上清液中的悬浮细胞一同在4 ℃条件下1 000 r/min离心10 min后弃上清，沉淀细胞洗两次，重新悬浮后计数有核细胞总数，并做各种祖细胞集落培养。

1.3 统计学分析

采用第四军医大学统计教研室研制的SPLM软件对实验结果进行t检验和单因素方差分析。

2 结果

骨髓细胞体外融合培养4周所形成的骨髓基质细胞单层经^{60}Co γ射线照射10 Gy并用培养液冲洗两遍后作为扩增培养底层，在仅加液体培养体系而不含骨髓单个核细胞的对照培养中继续培养5 d后未见到有明显的造血细胞及基质细胞表面集落形成，见图1。收集这些对照细胞作各种造血祖细胞培养时也未见到明显的造血细胞簇及集落形成。结果表明，上述处理后的BALB/c小鼠基质细胞层中基本不含有造血细胞。

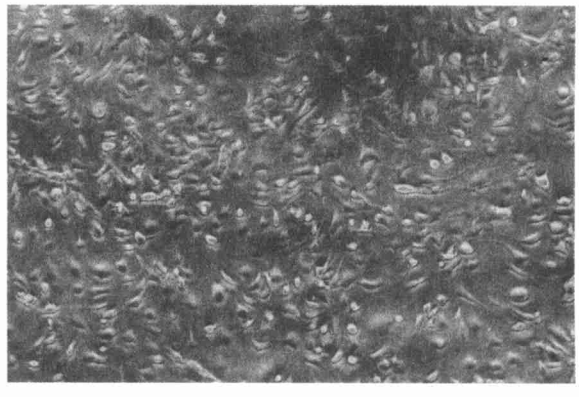


图1 照射后基质细胞粘附层在不含BMMNC扩增培养体系中继续培养5 d，未见明显造血细胞簇和集落形成(×150)

Fig 1 NO hematopoietic cell clusters and colonies were found 5 d after continued culture the irradiated stromal cells in the expansion culture systems in the absence of BMMNC(×150)

以照射后基质细胞作底层，分别加上含有或不含有几种细胞因子组合的液体扩增体系，体外扩增培养5 d，计数除去贴壁层细胞后的细胞总数，作几种造血祖细胞集落培养，并分别与未培养骨髓单个核细胞及单纯细胞因子介导的扩增后细胞相比较，见表1。

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

表 1　基质细胞对骨髓单个核细胞体外扩增的促进作用($\bar{x} \pm s$)

Tab 1　Effect of stroma cells on the expansion of the total cells and progenitor cells($\bar{x} \pm s$)

Group	Total cells($\times 10^5$)	Number of CFU($/2 \times 10^5$ starting cells)		
		CFU-E	CFU-GM	CFU-C
Uncultured	2	317.00 ± 54.58	74.00 ± 5.45	35.60 ± 5.18
F	2.72 ± 0.25$^{**\triangle\triangle}$	2151.42 ± 295.59**	131.04 ± 35.49$^{**\triangle\triangle}$	60.40 ± 11.55$^{**\triangle}$
S	2.82 ± 0.35$^{**\triangle\triangle}$	431.40 ± 66.01$^{*\triangle\triangle}$	87.00 ± 13.54$^{*\triangle\triangle}$	33.00 ± 6.52$^{\triangle\triangle}$
S + F	3.89 ± 0.71**	1977.50 ± 211.26**	223.75 ± 51.12**	84.00 ± 11.47**

F: Containing cytokines; S: Containing irradiated stroma cells; $*: P < 0.05$, $**: P < 0.01$ *vs* uncultured cells; $\triangle: P < 0.05$, $\triangle\triangle: P < 0.01$ *vs* group S + F

上述结果表明，各培养组有核细胞总数明显高于本组培养前细胞数，S + F 组细胞数可达扩增前的 2.3 倍，且也明显高于 S 组和 F 组($P < 0.01$)；各培养组的 CFU-E 集落数明显增高，但 S + F 组与 F 组间差别无显著性；S + F 组的 CFU-GM 集落数和 CFU-Cs 集落数也明显高于 F 组和 S 组。扩增后细胞的形态学观察发现，新鲜分离的骨髓单个核细胞在含有基质细胞的扩增体系中扩增培养 5 d 后，在倒置显微镜下观察，可见到造血细胞的增殖及明显的造血细胞集落形成，尤其在同时含有细胞因子组合的体系中，这种集落更大，见图 2。

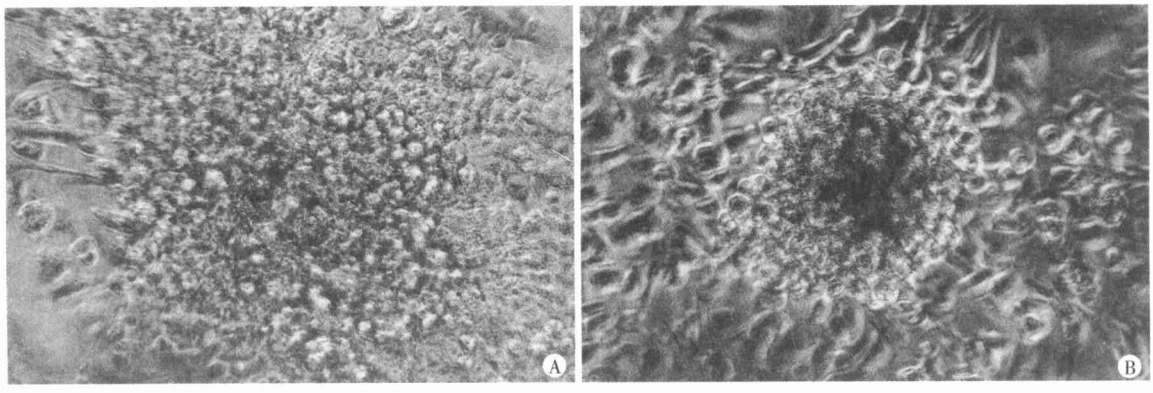


图 2　照射后基质细胞扩增培养 BMMNC 5 d 后，可见大的造血细胞集落形成($\times 300$)

A：加细胞因子；B：未加细胞因子

Fig 2　A huge hematopoietic cell colony was seen in the expansion culture systems containing BMMNC continued cultured for 5 days($\times 300$)

A: Cytokines were added; B: Cytokines were not added

3　讨论

许多研究表明在适当伍用多种重组造血生长因子的条件下，纯化的造血干/祖细胞具有很强的扩增效应，但输注后的移植效果却往往不能令人满意，这一点已逐渐引起广大研究者的重视。由于临床移植的目的是使由各种原因引起的造血功能障碍患者达到满意的短期和长期造血重建，而造血干细胞才是重建造血功能的主要细胞，因此在体外扩增的同时如何保留造血干/祖细胞的性能，则成为造血细胞体外扩增技术研究的关键。造血干细胞大部分处于 G_0 期，对造血因子刺激反应并不敏感，且经细胞生长因子作用进入细胞周期后，往往大量增殖和过度分化，难以维持造血干/祖细胞的性能，这样就使得造血细胞在体外大量扩增其数量的同时，失去或部分失去其造血重建的能力，进而使移植无法达到预期的目的。因此继续寻找更合理的扩增手段，以使这一技术更趋完善，最终达到既扩增细胞数量又保持干细胞性能的理想境地，才能使造血细胞体外扩增技术最终能在临床移植的实践中发挥其积极的作用。

本研究结果表明在照射后基质细胞存在的情况下，同时含有细胞因子组合的培养体系，对细胞总数及集落形成细胞数的扩增作用几乎均明显高于其它各组(仅 CFU-E 与单纯细胞因子扩增组间无差别)，表明基质细胞及其所产生的生长因子对造血细胞的体外扩增有一定的促进作用，其机制可能是基质细胞层与细胞因子组合之间有协同作用；而单纯基质细胞层存在的条件下，对成集落细胞的扩增作用与单纯细胞因子组比较差异不显著；进一步对其扩增细胞造血重建的功能活性进行研究，将会得到更多有益的启示。

体外克隆培养基质细胞系支持正常造血的研究发现，不同基质细胞系的支持造血功能有很大差异，其中无支持作用的细胞系占绝大多数。同时某些促进造血的基质细胞系又仅对某一类造血功能，如髓系或 B 淋巴细胞造血起作用[8]，且其支持造血的机制可能也不同[9~11]。因此，必须深入研究基质细胞对促进造血(包括体外扩增)的机制，特别是分子机制，使基质细胞领域的研究在促进造血细胞体外扩增中发挥更大的作用。

参考文献：

[1] Emerson S G. *Ex vivo* expansion of hematopoietic precursors, progenitors, and stem cells: The next generation of cellular therapeutics[J]. Blood, 1996, 87(8): 3 082 - 3 088.

[2] Peters S O, Kittler E L, Ramshaw H S, *et al*. *Ex vivo* expansion of murine marrow cells with interleukin-3 (IL-3), IL-6, IL-11, and stem cell factor leads to impaired engraftment in irradiated hosts[J]. Blood, 1996, 87(1): 30 - 37.

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

[3] Varas F, Bernard A, Bueren J A. Restrictions in the stem cell function of murine bone marrow grafts after *ex vivo* expansion of short-term repopulating progenitors[J]. Exp Hematol, 1998, 26(2): 100 - 109.
[4] Abkowitz J L, Laboada M R, Sabo K M, *et al*. The *ex vivo* expansion of feline marrow cells leads to increased numbers of BFU-E and CFU-GM but a loss of reconstituting ability[J]. Stem Cells, 1998, 16(4): 288 - 293.
[5] Tisdale J F, Hanazono Y, Sellers S E, *et al*. *Ex vivo* expansion of genetically marked rhesus peripheral blood progenitor cells results in diminished long-term repopulating ability[J]. Blood, 1998, 92(4): 1 131 - 1 141.
[6] 罗成基,郭朝华,王志文,等.骨髓基质细胞对粒系祖细胞增殖的影响[J].中国实验血液学杂志,1994,2(1):63 - 66.
[7] Verfaillie C M, Catanzaro P. Direct contact with stroma inhibits proliferation of human long-term culture initiating cells[J]. Leukemia, 1996, 10(3): 498 - 504.
[8] Tsuji T, Ogasawara H, Aoki Y, *et al*. Characterization of murine stromal cell clones established from bone marrow and spleen[J]. Leukemia, 1996, 10(5): 803 - 812.
[9] Maekawa T L, Takahashi T A, Fujihara M, *et al*. A novel gene (drad-1) expressed in hematopoiesis-supporting stromal cell lines, ST2, PA6 and A54 preadipocytes: use of mRNA differential display[J]. Stem Cells, 1997, 15(5): 334 - 339.
[10] Tsuji T, Waga I, Tezuka K, *et al*. Integrin beta2 (CD18)-mediated cell proliferation of HEL cells on a hematopoietic-supportive bone marrow stromal cell line, Hess-5 cells[J]. Blood, 1998, 91(4): 1 263 - 1 271.
[11] Bauer S R, Ruiz-Hidalgo M J, Rudikoff E K, *et al*. Modulated expression of the epidermal growth factor-like homeotic protein dlk influences stromal-cell-pre B-cell interactions, stromal cell adipogenesies, and pre-B cell interleukin-7 requirements[J]. Mol Cell Biol, 1998, 18(9): 5 247 - 5 255.

(编辑 潘式文)

个案与短篇

文章编号:1000-5404(2001)08-0894-01

成功抢救宫外孕失血性休克心跳骤停1例

A case report of successfully rescuing cardiac arrest induced by hemorrhagic shock in ectopic pregnancy

郑秀惠[1],李 力[1],郭建新[1],马永达[2],葛衡江[2],杨成明[3],陈竹钦[1] (第三军医大学附属大坪医院野战外科研究所:[1]妇产科;[2]麻醉科;[3]心血管内科;重庆 400042)

患者,女,32岁,因停经46 d,阴道不规则流血16 d于2000-01-30 T 0:10急诊入我科。查体:T 37.0 ℃,P 126次/min,R 25次/min,BP 8/6 kPa,急性病容,面色苍白,脉细弱,四肢冰冷,心肺未闻及异常,腹平软,无明显压痛、反跳痛,移动性浊音阳性,肠鸣音活跃8 ~ 10次/min。化验检查:血常规 WBC 23.6×10^9/g,中性93%,淋巴7%,RBC 2.03×10^{12}/g,Hb 65 g/L,生化 K^+ 2.65 mmol/L, Na^+ 133.0 mmol/L, Cl^- 100.2 mmol/L, Glu 23.04 mmol/L,尿糖++,尿酮体±,尿HCG阳性。心电图示窦性心动过速,腹腔穿刺抽出不凝血10 ml,诊断宫外孕,失血性休克,立即建双液路于0:35在全麻下行剖腹探查术。

术中见腹腔内大量积血和血凝块约3 000 ml,右输卵管峡部破裂,无齿卵圆钳钳夹峡部,回收自体血,快速输代血浆及全血,0:45血压突然下降到0,心电图示心室纤颤,立即心外按压,呼吸机正压给氧,重复静脉推注肾上腺素共8 mg,苯丙肾上腺素20 mg,气管内注射肾上腺素1 mg,同时加压输血输液,1:05行电除颤,心电图恢复呈窦性心律,血压波动在(105 ~ 75)/(60 ~ 40) mmHg之间,经多巴胺20 mg泵注维持血压,5%碳酸氢钠100 ml静推纠正酸中毒,颈部大动脉冰敷,甘露醇250 ml、地塞米松10 mg静推防止脑水肿,速尿40 mg、西地兰0.2 mg静推脱水、强心等治疗,2:30患者生命征平稳,继续手术,行右侧输卵管部分切除。3:05患者神志清醒,5:00脱离呼吸机,6:00拔除气管插管。抢救中共输全血1 200 ml,自体血1 700 ml,代血浆2 500 ml,林格氏液1 500 ml,生理盐水1 100 ml,术后8 d痊愈出院。

讨论

异位妊娠是最常见的妇科急症,90%以上为输卵管妊娠,其中壶腹部约占50% ~ 70%,峡部占25% ~ 30%,尤以峡部破裂最凶险[1]。近年来宫外孕发病率有逐步上升趋势[2],但并发心跳骤停报道甚少。心跳骤停的原因错综复杂,多发生于心肌缺氧、低血容量,各种原因的休克和中毒,低钾或高钾血症,体温过低的病人,而手术刺激,牵拉脏器,麻醉深浅不当等都可成为触发因素。本例患者可能因出血量达3 000 ml行紧急手术,打开腹腔、回收自体血使腹腔内压力骤降,加重回心血量减少而诱发心跳骤停。

心跳骤停与心室纤颤是麻醉和手术中最严重的意外事件,两者都使心脏失去排血功能致全身血液循环陷入停顿状态。此例病人心跳骤停复苏成功并痊愈,我们体会如下:①及时迅速的早期复苏是成功的关键,此例病人为全麻,有气管插管、正压给氧,加之有效的心外按压,从而维持有效的呼吸循环;②迅速恰当的给予静脉复苏药物;③电击及药物除颤;④头部、全身降温保护脑组织;⑤调整酸碱电解质失衡;⑥加强抗感染;⑦多科室协同提高了救治水准。重危病人急救是临床基本功,本例救治体会可供借鉴。

关键词:宫外孕;心跳骤停
中图法分类号:R714.22 **文献标识码**:B

参考文献:

[1] 曹泽毅.中华妇产科学[M].北京:人民卫生出版社,1999.1 314.
[2] Margareta D, Sandra A, John E. Ectpic pregnancy[J]. Lancet, 1998, 351(11): 1 115 - 1 120.

(编辑 陈聪连)

作者简介:郑秀惠(1972 -),女,山东省淄博市人,硕士研究生,医师,主要从事妇科肿瘤方面的研究 电话:(023)68757249

收稿日期:2000-07-18;修回日期:2001-03-20

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net