

· 基础研究 ·

大鼠马尾压迫后 p75 神经营养因子受体 mRNA 时序性表达及意义

李浩鹏¹, 刘宇², 贺西京¹, 徐思越¹, 陈杰¹, 冯东旭¹

(1. 西安交通大学医学院第二附属医院骨二科, 陕西 西安 710004; 2. 包头医学院第一附属医院)

【摘要】 目的: 观察和探讨 Sprague Dawley (SD) 大鼠马尾急性压迫后腰骶部脊髓 p75 神经营养因子受体 (p75NTR) 的 mRNA 表达和腰骶髓神经元细胞凋亡数量时间分布及关系, 为马尾综合征 (cauda equina syndrome, CES) 发病机制提供一定理论依据。方法: 成年雌性 SD 大鼠 60 只, 按时间点随机分为正常对照组及压迫 1、3、5、7、14、28 d 组, 共计 12 组 ($n=5$), 造模采用 L_{3,4} 节段椎管放置硅胶棒压迫 70%~80% 椎管面积造成马尾急性压迫症状, 于术后 1、3、5、7、14、28 d 处置, 在 L_{1,2} 椎体位置脊髓取材。分别采用 Tunel 方法检测神经元细胞凋亡, RT-PCR 方法观察 p75NTR 的 mRNA 表达。结果: 压迫组从术后 1~28 d, p75 mRNA 表达增加及腰骶髓神经元细胞凋亡明显, p75 mRNA 表达和凋亡数目变化趋势存在先升高后降低同步趋势, 均在 7 d 达到峰值, 压迫组术后各时间点与对照组比较差异有统计学意义 ($P<0.05$), 压迫组与对照组总体差异有统计学意义 ($P<0.05$), p75NTR 的 mRNA 表达与腰骶部神经元的凋亡呈正相关。结论: 马尾急性压迫后, p75NTR 的 mRNA 与神经元细胞凋亡密切相关, 在 CES 的分子发病机制中发挥重要作用。

【关键词】 腰椎; 神经元; 脊髓; 细胞凋亡; RNA, 信使

DOI: 10.3969/j.issn.1003-0034.2011.06.021

p75 neurotrophin receptor mRNA sequential expression and significance after Cauda equina compression in rats LI Hao-peng*, LIU Yu, HE Xi-jing, XU Si-yue, CHEN Jie, FENG Dong-xu. *The Second Department of Orthopaedics, the Second Hospital Affiliated to Medical College of Jiaotong University of Xi'an, Xi'an 710004, Shaanxi, China

ABSTRACT Objective: To observe the mRNA expression of p75NTR (p75 neurotrophin receptor) and the amount of neuronal cells apoptosis in lumbar-sacral spinal cord at different time points after the acute cauda equina compression in rats and to explore their correlation. **Methods:** Sixty adult female Sprague Dawley (SD) rats were randomly divided into the normal control group and the compression groups. The acute cauda equine compression model was established as placing a silicon gel rubber at L_{3,4} level of the vertebral canal which represented about 70% to 80% compression to the cross section. The whole L_{1,2} level of spinal cords were harvested at 1, 3, 5, 7, 14, 28 d after operation in compression group. Tunel method was applied to observe cell apoptosis and RT-PCR was used to detect the p75NTR mRNA expression. SPSS 13.0 statistical software was adopted to help analysis. **Results:** In the compression group, both the nerve cells apoptosis and the p75 mRNA expression existed the trend of low-high-low synchronally compared with the control group, there was a significant difference ($P<0.05$) among compression groups at different time points, there was a significant difference in changes ($P<0.05$). p75NTR of mRNA expression and lumbosacral nerve cells apoptosis was in a positive correlation. **Conclusion:** After acute cauda equina compression, p75NTR mRNA expression is closely related to the neuronal apoptosis, which plays an important role in the molecular mechanism of the CES.

KEYWORDS Lumbar vertebrae; Neurons; Spinal cord; Apoptosis; RNA, messenger

Zhongguo Gu Shang/China J Orthop Trauma, 2011, 24(6): 509-513 www.zggszz.com

马尾综合征 (cauda equina syndrome, CES) 是由于各种因素导致腰椎管狭窄, 直接或间接压迫马尾神经, 产生腰痛、下肢放射痛、鞍区麻木、大小便功能失常以及性功能障碍等症状为主的一组临床证候

群, 它在临床诊疗中并不少见, 其治疗效果并不十分理想^[1-2]。研究者在动物实验中发现腰骶脊髓存在较多神经元细胞凋亡, 判断 CES 与神经元细胞凋亡有关^[3-5]。近年来发现, p75 神经营养因子受体结合神经营养因子前体诱导了神经元细胞凋亡^[6-8], 并已成为各类神经系统疾病分子发病机制的研究热点^[9]。本研究通过对 CES 模型动物腰骶髓中 p75NTR 基因表达和神经元细胞凋亡时序性关系进行观察, 探讨

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (编号: 30672136)

Fund program: Supported by National Natural Science Foundation of China (No. 30672136)

通讯作者: 李浩鹏 E-mail: lhp-3993@163.com

p75 凋亡通路在 CES 中的作用,为 CES 发病机制提供一定理论依据。

1 材料与方法

1.1 主要试剂和仪器

Tunel 试剂盒购自美国 Promega 公司, OCT 冰冻切片包埋剂购自日本樱花公司, 荧光显微镜为德国 Leica 公司产品, mRNA 提取试剂盒购于 Invitrogen 公司。Trizol、DEPC 购于美国 Invitrogen 公司, RT-PCR 试剂盒购于大连宝生物 TAKARA 公司, 琼脂糖、溴化已锭为美国 Sigma 公司产品。硅胶棒购于上海硅胶厂, 并按大鼠椎管解剖裁制。p75NTR、 β -actin 引物由北京奥科生物工程公司合成。p75 引物: ① AGGGCTGGTCCATTGGTC-TATTC, ② ATTAAGGCCCGTGTGGCTTC, 预期扩增产物长度 133 bp; 内参 β -actin 引物: ① CTAAGGC-CAACCGTGAAG; ② CAGACATACAGGGA-CAAC, 预期扩增产物长度 103 bp。

1.2 CES 动物模型制作

成年雌性大鼠 60 只(西安交通大学动物实验中心提供), 200~250 g, 随机分为正常对照组和压迫组, 再分别按 1、3、5、7、14、28 d 分为 6 小组, 每组 5 只。压迫组参考 Sekiguchi 等^[3] CES 动物造模方法并加以改良, 手术方式: 用 4% 水合氯醛(0.5 ml/100 g)腹腔注射麻醉大鼠, 沿 L₄-S₁ 棘突行后正中切口, 打开 L₅ 椎板, 将长方体形硅胶棒置入 L_{3,4} 椎管内, 硅胶棒占椎管截面积 70%~80%。动物苏醒后, 均出现下肢活动障碍、大小便功能失常, 按改良 Torlov 法^[10-11](Salzman 等^[10]评分标准)测定神经功能, 均在 2 级以下, 达到马尾综合征模型要求。压迫组动物术后单笼饲养, 注射抗生素, 每日辅助排尿 2 次, 术后动物死亡随时更新。

1.3 取材方式

实验动物按压迫时间组分别取材, 一部分经多聚甲醛灌注后脊髓取材。具体方法: 打开胸腔, 心脏灌注生理盐水, 直至清亮后再灌注 4% 多聚甲醛 0.5 h, 打开椎板, 切取 L_{1,2} 脊髓, 后固定 6 h, 在冰冻切片机-26℃制成 10 μ m 组织冠状面切片, 每只动物制作 5 张切片。另一部分新鲜脊髓取材, 麻醉后处死, 剖开椎管, 切取 L_{1,2} 脊髓, 放置液氮内后存放于-80℃冰箱。

1.4 观察指标及方法

1.4.1 一般观察

观察压迫组和对照组动物的活动及大小便功能等。

1.4.2 凋亡神经元细胞观察

采用 Tunel 染色方法, 按照 Promega 公司说明书操作。凋亡细胞核被绿色荧光标记, 荧光显微镜下观察组织切片, 辨出凋亡神经元细胞, 随机选取 5 等面积视野, 记录每个视野凋亡细胞数, 算出平均凋亡细胞数。

1.4.3 p75 营养因子受体 mRNA 表达

采用 RT-

PCR 方法。取出冻存脊髓标本, 组织匀浆, 加入 1 ml Trizol 充分研磨, 抽提匀浆后移入 1.5 ml Eppendorf 管中, 冰上静置 5 min。每管加入 0.2 ml 氯仿, 剧烈震荡 15 s, 冰上静置 5 min, 12 000 r/min, 4℃离心 5 min。吸取上层水相, 置于另一新 Eppendorf 管中, 加入 0.5 ml 异丙醇, 轻摇混匀, 冰上静置 10 min, 12 000 r/min, 4℃离心 5 min。弃上清, 每管加入 1 ml 75%乙醇(DEPC 水配制), 8 000 r/min, 4℃离心 5 min。弃乙醇, 加入 20 μ l DEPC 水, 溶解 RNA。cDNA 逆转录合成步骤按试剂盒说明操作, 反应结束后取逆转录产物 2 μ l, 含 Taq 酶混合液 12.5 μ l, p75 上下游引物各 1 μ l, 内参照上下游引物各 1 μ l, 灭菌水 8.5 μ l。离心混匀后, 按如下条件扩增: 94℃ 3 min; 94℃ 30 s; 57℃ 30 s; 72℃ 1 min, 30 个循环后 72℃ 10 min。结束后, 取 PCR 产物 5 μ l, 加 2 μ l 上样缓冲液, 在 90 V 电压下于 1.5% 的琼脂糖凝胶电泳, 电泳缓冲液为 0.5×TBE。电泳完毕后, 用 UVP GDS-8000 型凝胶成像系统成像并用密度扫描分析 PCR 产物带。为消除系统及定量误差, p75 mRNA 的表达水平以相对光密度表达量, 即以 p75NTR/ β -actin 的相对亮度表示比率计算。

1.5 统计分析

实验数据以($\bar{x}\pm s$)表示, 采用 SPSS 13.0 统计软件对数据进行析因方差分析, p75NTR mRNA 表达和凋亡神经元数关系采用 Spearman 法进行相关性分析。

2 结果

2.1 一般情况观察

压迫组动物术后伤口愈合良好, 没有感染, 观察至术后 28 d 时后肢活动及大小便功能恢复不良。

2.2 p75 营养因子受体 mRNA 表达

通过光密度比值记录结果见表 1 及图 1-2。压迫组腰骶髓内 p75 mRNA 表达明显增强, 随着时间推移, 表达在术后 1~7 d 升高, 在 14、28 d 呈现下降趋势。结果经过统计学析因设计资料的方差分析, 发现: 压迫组和正常组间差别有统计学意义($F=476.494, P<0.001$), 压迫组高于正常组; 各时间点组间差别也有统计学意义($F=43.177, P<0.001$); 采用 LSD 法进行两两比较, 1 d 组和 3 d 组差异有统计学意义($P=0.015$), 7 d 组和其他 5 组间差别均有统计学意义($P<0.001$), 14 d 组和其他 5 组间差别均有统计学意义($P<0.001$)。另外, 两个因素间存在交互作用($F=38.228, P<0.001$), 认为随着时间的延长, 压迫组的光密度比值在 7 d 时增加的幅度最大。

2.3 神经元细胞凋亡变化

Tunel 凋亡细胞核染色法结果见表 1 和图 3-4。马尾压迫组术后 1 d, 腰骶脊髓内存在明显神经元细胞凋亡, 脊髓灰质前角区

表 1 各组腰骶髓 p75NTR mRNA 表达光密度值和神经元凋亡数 (n=5, $\bar{x}\pm s$)

Tab.1 Measurement of lumbosacral p75NTR mRNA optical density and the number of apoptotic neurons in each group (n=5, $\bar{x}\pm s$)

组别	p75NTR mRNA 表达光密度比值			凋亡神经元细胞数		
	压迫组	正常组	合计	压迫组	正常组	合计
1 d 组	0.16±0.01	0.07±0.02	0.11±0.05	18.20±2.17	2.00±1.00	10.10±8.69
3 d 组	0.11±0.02	0.06±0.02	0.09±0.03	24.40±1.52	1.80±0.84	13.10±11.97
5 d 组	0.13±0.02	0.06±0.02	0.10±0.04	32.60±2.51	1.60±0.89	17.10±16.43
7 d 组	0.34±0.04	0.07±0.02	0.21±0.14	48.80±2.17	1.80±0.84	25.30±24.82
14 d 组	0.24±0.03	0.07±0.02	0.15±0.10	41.00±1.22	1.40±0.55	21.20±20.89
28 d 组	0.12±0.08	0.07±0.01	0.10±0.04	35.00±2.45	1.20±0.84	18.10±17.90
合计	0.19±0.08	0.07±0.02	0.13±0.08	33.33±10.43	1.63±0.81	17.48±17.59

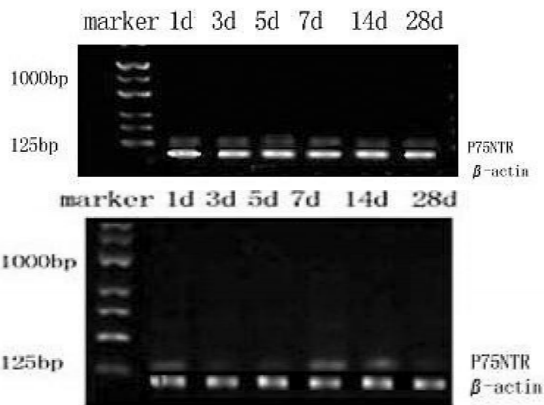


图 1 对照组 1、3、5、7、14、28 d 腰骶髓 p75NTR 和 β -actin 的基因表达电泳结果(上图),以及压迫组腰骶髓 p75 NTR 和 β -actin 的电泳结果(下图)

Fig.1 The up - figure showed that the electrophoretic results of 1, 3, 5, 7, 14, 28 days lumbar-sacral spinal cord p75NTR and β -actin gene expression in the normal control group, the down-picture showed the electrophoretic results of p75 NTR and β -actin expression in the lumbar-sacral spinal cord compression group

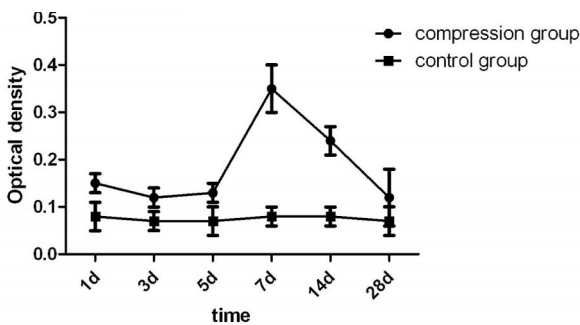


图 2 p75NTR mRNA 表达

Fig.2 p75NTR mRNA expression

域突出, 凋亡在 1~7 d 逐渐发展到高峰, 14~28 d 凋亡逐渐减轻, 但没有恢复正常水平。凋亡结果采用析因设计资料的方差分析, 结果显示: 压迫组和对照组间差别有统计学意义 ($F=6.090.242, P<0.001$), 压迫组高于正常组; 各时间点组间差别也有统计学意义 ($F=120.540, P<0.001$), 采用 LSD 法两两比较, 5 d 组与 28 d 组间差别无统计学意义 ($P=0.162$), 其他各组间差异有统计学意义 ($P<0.001$)。另外, 两个因素间

存在交互作用 ($F=126.154, P<0.001$), 随着时间的延长, 压迫组的凋亡神经元细胞数在 7 d 时达到最大。

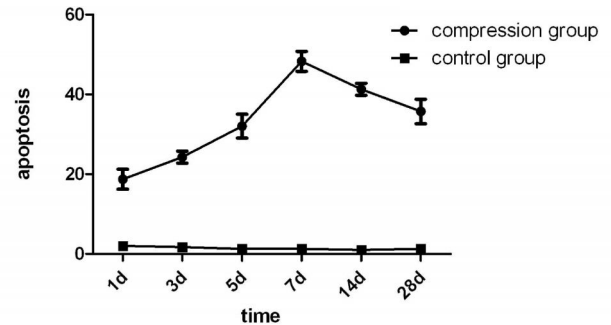


图 3 腰骶髓神经元细胞凋亡数

Fig.3 Lumbar-sacral spinal cord nerve cell apoptosis

2.4 p75 mRNA 表达与腰骶髓神经元细胞凋亡的关系 p75 mRNA 表达变化趋势与 Tunel 染色的神经元细胞凋亡变化曲线基本一致 (见图 2-4)。经正态性检验, 压迫组的 p75 mRNA 不服从正态 (Kolmogorov-Smirnov 值为 0.249, $P<0.001$), 同时正常组中 p75 mRNA 值和腰骶髓神经元细胞凋亡值也均不服从正态分布。因此, 采用 Spearman 法进行相关分析后, 认为压迫组中的 mRNA 光密度值和 Tunel 凋亡染色结果存在正相关关系 ($r=0.66, P<0.001$), 见图 5; 而正常组中的 mRNA 光密度值和 Tunel 凋亡染色结果不存在相关关系 ($P>0.05$)。

3 讨论

目前, 马尾综合征发病的分子机制不是十分清楚, Sekiguchi 等^[3]通过动物模型发现马尾神经压迫可引起马尾神经华勒氏变性和腰骶脊髓前角运动神经元的凋亡, 而且压迫的程度越重, 变性和凋亡也就越明显, 功能障碍和难恢复程度越重。Kobayashi 等^[12]也发现马尾神经压迫引起的华勒氏变性发生在前角运动神经元轴突压迫区及其周围端和脊神经节中枢轴突压迫区及其中枢端, 马尾神经轻度和中度压迫 (占椎管截面的 25% 和 50%) 并不引起脊髓背根神经节 (DRG) 的明显凋亡, 只有重度压迫 (75%) 才出现 DRG 的凋亡。本实验采用压迫椎

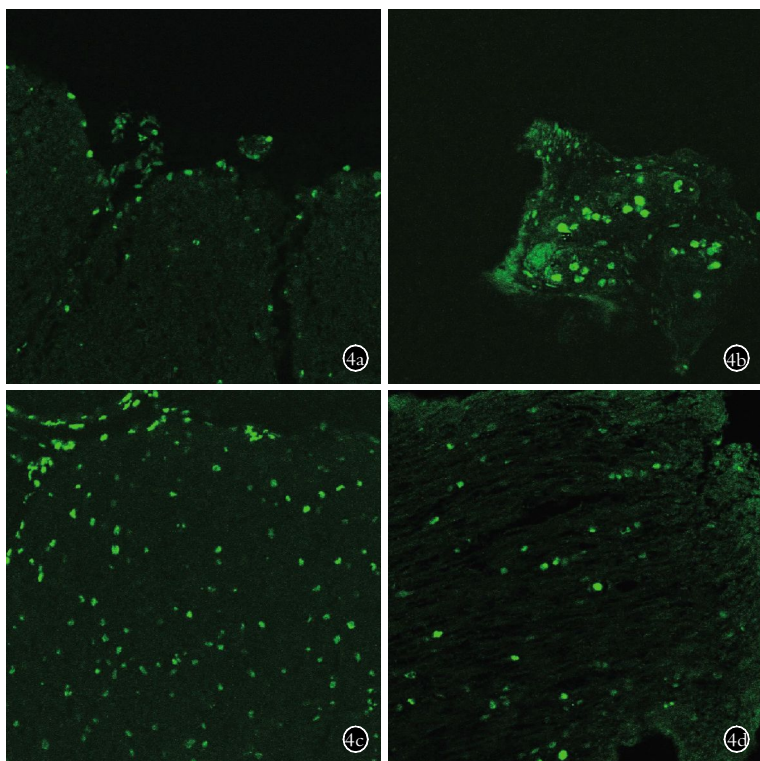


图 4 大鼠 L₂ 脊髓 TUNEL 染色检测凋亡细胞 (TUNEL, ×200) 4a. 正常组 4b, 4c, 4d. 分别为压迫 1、7、28 d 组。绿色荧光为凋亡细胞核染色, 1~7 d 凋亡细胞明显增多, 7 d 后凋亡细胞比例呈下降趋势

Fig. 4 TUNEL staining of apoptotic cells in L₂ spinal cord of rats (TUNEL, ×200) 4a. Normal group 4b, 4c, 4d. 1, 7, 28 d in the compression group respectively. Green fluorescent staining of apoptotic nuclei, 1 d to 7 d apoptotic cells increased significantly, a downward trend in the proportion of apoptotic cells after 7 d

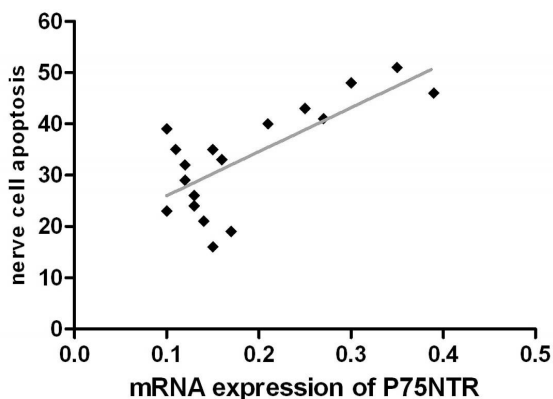


图 5 压迫组 p75NTR mRNA 表达和腰骶髓神经元细胞凋亡关系散点图

Fig. 5 The scatterplot of p75NTR mRNA expression and lumbar-sacral spinal cord neuronal apoptosis

管面积 70%~80% 的重度压迫模型来进行研究。

p75 神经营养因子受体是一种分子量为 75KDa 的细胞膜蛋白, 是神经营养因子低亲和力受体, 属于肿瘤坏死因子超家族一员, 它可以协助神经营养因子高亲和力受体 Trk, 结合神经营养因子发挥促进神经元存活作用^[13]。正常情况下成年神经组织里表达较少, 近年发现在胚胎发育过程中和病理条件下, 它

大量表达, 结合神经营养因子前体, 并诱导神经细胞死亡^[14-18]。研究显示, 小鼠胚胎视神经发育过程中呈现高表达, 而敲除 p75 基因的胚胎小鼠能减少神经元的丧失, 表明它参与发育过程神经元凋亡的过程^[19]。另有报道发现, 大鼠坐骨神经轴突切断后, L_{4,5} 神经节 p75 表达增高, 同时伴有脊髓背根神经节神经元细胞的凋亡增加^[20]。近年研究发现脊髓急性损伤后损伤脊髓 p75NTR 表达明显增高, 并诱导损伤脊髓神经细胞死亡^[21], 在脊髓二次损伤中发挥重要作用, 由此可见 p75NTR 对神经元凋亡作用及其在神经疾病中的发病机制研究越来越受到学者们的关注。本实验结果显示, 正常脊髓 p75NTR 的 mRNA 呈现弱表达, 马尾重度压迫 1 d 后, 马尾发出段脊髓内 p75NTR 表达明显增加, 腰骶髓神经元也出现明显凋亡, 压迫 7 d 后 p75NTR 的 mRNA 表达达到峰值, 凋亡数量也同时达到最大值, 此后 14、28 d p75 mRNA 表达和细胞凋亡有所降低, 仍高于对照组。对照 1~28 d 两者变化趋势, p75NTR 基因表达变化与腰骶髓灰质中神经元细胞凋亡变化过程呈现平行关系, 两者存在

正相关, 这提示 p75NTR 基因表达参与了马尾综合征中神经元凋亡过程, p75NTR 凋亡通路在此发挥重要作用。

目前, 国内外对马尾综合征在压力与病理关系研究取得显著进步, CES 分子发病机制研究还处于探索之中, 本研究从分子机制角度对马尾综合征进行了初步探讨, 发现 p75NTR 基因在 CES 中发挥重要作用, 为 CES 的分子发病机制研究提供一定基础理论依据。p75NTR 介导的凋亡通路是否发挥了核心作用, 阻断这条凋亡通路是否能减少神经元凋亡, 能否成为未来 CES 治疗新启示, 这些疑问将需要进一步的研究和探讨。

参考文献

[1] 史建刚, 贾连顺, 李家顺, 等. 马尾神经综合征发病机制的临床研究[J]. 中国矫形外科杂志, 2002, 10(13): 1283.
Shi JG, Jia LS, Li JS, et al. Clinical study of the mechanism of cauda equina syndrome[J]. Zhongguo Jiao Xing Wai Ke Za Zhi, 2002, 10(13): 1283. Chinese.
[2] 顾晓民, 贾连顺. 急性马尾综合征临床研究进展[J]. 国际骨科学杂志, 2007, 28: 281-282.
Gu XM, Jia LS. Progress in acute cauda equina syndrome[J]. Guo Ji Gu Ke Xue Za Zhi, 2007, 28: 281-282. Chinese.
[3] Sekiguchi M, Kikuchi S, Myers RR. Experimental spinal stenosis:

- relationship between degree of cauda equina compression, neuropathology and pain[J]. Spine, 2004, 29(10): 1105-1111.
- [4] Sun JH, Yang B, Donnelly DF, et al. MCP-1 enhances excitability of nociceptive neurons in chronically compressed dorsal root ganglia [J]. J Neurophysiol, 2006, 96(5): 2189-2199.
- [5] Ito T, Ohtori S, Hata K, et al. Rho kinase inhibitor improves motor dysfunction and hypoalgesia in a rat model of lumbar spinal canal stenosis[J]. Spine, 2007, 32(19): 2070-2075.
- [6] Nykjaer A, Lee R, Teng KK, et al. Sortilin is essential for proNGF-induced neuronal cell death[J]. Nature, 2004, 427(6977): 843-848.
- [7] Reichardt LF. Neurotrophin-regulated signalling pathways[J]. Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci, 2006, 361(1473): 1545-1564.
- [8] Noga O, Peiser M, Altenähr M, et al. Differential activation of dendritic cells by nerve growth factor and brain-derived neurotrophic factor[J]. Clin Exp Allergy, 2007, 37(11): 1701-1708.
- [9] Chen Y, Zeng J, Cen Y, et al. Multiple roles of the p75 neurotrophin receptor in the nervous system[J]. J Int Med Res, 2009, 37(2): 281-288.
- [10] Salzman SK, Puniak MA, Liu ZJ, et al. The serotonin antagonist mianserin improves functional recovery following experimental spinal trauma[J]. Ann Neurol, 1991, 30(4): 533-541.
- [11] Dumont RJ, Verma S, Okonkwo DO, et al. Acute spinal cord injury. Part II: contemporary pharmacotherapy[J]. Clin Neuropharmacol, 2001, 24(5): 265-279.
- [12] Kobayashi S, Yoshizawa H, Yamada S. Pathology of lumbar nerve root compression. Part 1: intradiscal inflammatory changes induced by mechanical compression [J]. J Orthop Res, 2004, 22(1): 170-179.
- [13] Wehrman T, He X, Raab B, et al. Structural and mechanistic insights into nerve growth factor interactions with the TrkA and p75 receptors[J]. Neuron, 2007, 53(1): 25-38.
- [14] Park JA, Lee JY, Sato TA, et al. Co-induction of p75NTR and p75NTR-associated death executor in neurons after zinc exposure in cortical culture or transient ischemia in the rat[J]. J Neurosci, 2000, 20(24): 9096-9103.
- [15] Roux PP, Colicos MA, Barker PA, et al. p75 neurotrophin receptor expression is induced in apoptotic neurons after seizure[J]. J Neurosci, 1999, 19(16): 6887-6896.
- [16] Oh JD, Chartisathian K, Chase TN, et al. Overexpression of neurotrophin receptor p75 contributes to the excitotoxin-induced cholinergic neuronal death in rat basal forebrain[J]. Brain Res, 2000, 853(2): 174-185.
- [17] Giehl KM, Röhrig S, Bonatz H, et al. Endogenous brain-derived neurotrophic factor and neurotrophin-3 antagonistically regulate survival of axotomized corticospinal neurons in vivo[J]. J Neurosci, 2001, 21(10): 3492-3502.
- [18] Chang A, Nishiyama A, Peterson J, et al. NG2-positive oligodendrocyte progenitor cells in adult human brain and multiple sclerosis lesions[J]. J Neurosci, 2000, 20(17): 6404-6412.
- [19] Harada C, Harada T, Nakamura K, et al. Effect of p75NTR on the regulation of naturally occurring cell death and retinal ganglion cell number in the mouse eye[J]. Dev Biol, 2006, 290(1): 57-65.
- [20] Groves MJ, Schänzer A, Simpson AJ, et al. Profile of adult rat sensory neuron loss, apoptosis and replacement after sciatic nerve crush[J]. J Neurocytol, 2003, 32(2): 113-122.
- [21] Hagg T, Oudega M. Degenerative and spontaneous regenerative processes after spinal cord injury[J]. J Neurotrauma, 2006, 23: 264-280.

(收稿日期: 2011-01-07 本文编辑: 连智华)

在线浏览《中国骨伤》杂志全文的通知

《中国骨伤》杂志社自 2010 年正式启用稿件远程处理系统以来, 读者、作者和编者即可在线 <http://www.zggszz.com> 浏览《中国骨伤》杂志全文。

读者、作者和编者可通过 <http://www.zggszz.com> 注册的 E-mail 和密码登录, 在线浏览《中国骨伤》杂志全文。读者需在线充值方可浏览; 作者是指自 2011 年第 1 期刊登文章的所有通讯作者可免费在线浏览; 编委和特约审稿人可免费在线浏览。

欢迎广大的读者、作者和编者在在线浏览《中国骨伤》杂志全文。

《中国骨伤》杂志社