

血管紧张素Ⅰ对大鼠肺泡上皮钠通道表达的影响

邓嘉 王导新 邓旺

【摘要】 目的 探讨外源性血管紧张素Ⅰ(AngⅠ)对大鼠肺泡液体清除及肺泡上皮钠通道(ENaC)表达的影响。方法 按随机数字表法将 15 只 SD 大鼠分为对照组、AngⅠ组及 AngⅠ 1 型受体阻滞剂 ZD7155 干预组,每组 5 只。AngⅠ组和 ZD7155 干预组大鼠经左侧颈静脉置管后,微量泵持续泵入外源性 AngⅠ $10 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$;对照组泵入等量生理盐水。ZD7155 干预组于泵入 AngⅠ前 30 min 经腹腔注射 $10 \text{mg}/\text{kg}$ ZD7155。6 h 后观察肺组织病理学改变;用伊文思蓝标记 5% 白蛋白法测定离体肺组织肺泡液体清除率(AFC);用逆转录-聚合酶链反应(RT-PCR)测定 ENaC mRNA 表达,用蛋白质免疫印迹法(Western blotting)测定 ENaC 蛋白表达。结果 AngⅠ组 AFC 较对照组显著降低[(6.16 ± 3.01)%比(16.10 ± 3.46)%, $P < 0.01$],ZD7155 干预组 AFC 较 AngⅠ组显著升高[(10.60 ± 2.05)%比(6.16 ± 3.01)%, $P < 0.05$]。AngⅠ组 α -ENaC mRNA 表达较对照组显著升高(0.663 ± 0.068 比 0.236 ± 0.030 , $P < 0.01$),ZD7155 干预组 α -ENaC mRNA 表达较 AngⅠ组显著降低(0.386 ± 0.061 比 0.663 ± 0.068 , $P < 0.01$); β -ENaC 及 γ -ENaC 的 mRNA 表达无明显差异。与对照组比较,AngⅠ组 α -ENaC 蛋白表达显著增加(0.343 ± 0.053 比 0.145 ± 0.030 , $P < 0.01$), β -ENaC 和 γ -ENaC 的蛋白表达显著降低(0.286 ± 0.038 比 0.512 ± 0.055 , 0.144 ± 0.040 比 0.460 ± 0.066 , 均 $P < 0.01$);与 AngⅠ组比较,ZD7155 干预组 α -ENaC 蛋白表达显著降低(0.228 ± 0.045 比 0.343 ± 0.053 , $P < 0.01$), β -ENaC 和 γ -ENaC 的蛋白表达显著升高(0.358 ± 0.043 比 0.286 ± 0.038 , 0.220 ± 0.033 比 0.144 ± 0.040 , 均 $P < 0.05$)。结论 外源性 AngⅠ通过其 1 型受体途径调节 ENaC 基因及蛋白表达,减弱大鼠肺泡液体清除,加重肺水肿。

【关键词】 血管紧张素Ⅰ; 肺泡液体清除; 上皮钠通道

Effect of angiotensin I on expression of alveolar epithelial sodium channel in rat DENG Jia, WANG Dao-xin, DENG Wang. Department of Respiration, the Second Affiliated of Chongqing University of Medical Sciences, Chongqing 400016, China

Corresponding author: WANG Dao-xin, Email: wangdaoxin1@163.com

【Abstract】 Objective To research the effect of exogenous angiotensin I (Ang I) on alveolar fluid clearance (AFC) and alveolar epithelial sodium channel (ENaC) expression in rats. Methods Fifteen healthy Sprague-Dawley (SD) rats were randomly divided into control group, Ang I group and Ang I type 1 (AT1) receptor blocker ZD7155 pretreatment group, with 5 rats in each group. Exogenous Ang I $10 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ was administered by micro pump via catheter in left jugular vein in Ang I group and ZD7155 pretreatment group, whereas control group rats received only normal saline. ZD 7155 $10 \text{mg}/\text{kg}$ was injected intraperitoneally 30 minutes before administration of exogenous Ang I in ZD7155 pretreatment group. The pathological changes in lung were observed after 6 hours. AFC was estimated by Evans-blue labeled 5% albumin. The mRNA and protein expression of ENaC were determined by semi-quantitative reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR) and Western blotting. Results AFC in Ang I group was significantly lower than that of control group [(6.16 ± 3.01)% vs. (16.10 ± 3.46)%, $P < 0.01$], and AFC in ZD7155 pretreatment group was significantly higher than that of Ang I group [(10.60 ± 2.05)% vs. (6.16 ± 3.01)%, $P < 0.05$]. α -ENaC mRNA expression was significantly increased in Ang I group compared with control group (0.663 ± 0.068 vs. 0.236 ± 0.030 , $P < 0.01$), but significantly decreased in ZD7155 pretreatment group when compared with Ang I group (0.386 ± 0.061 vs. 0.663 ± 0.068 , $P < 0.01$). There was no significant difference in β -ENaC and γ -ENaC mRNA expression among three groups. Compared with control group, α -ENaC protein was significantly increased in Ang I group (0.343 ± 0.053 vs. 0.145 ± 0.030 , $P < 0.01$), but β -ENaC and γ -ENaC proteins were significantly decreased (β -ENaC: 0.286 ± 0.038 vs. 0.512 ± 0.055 , γ -ENaC: 0.144 ± 0.040 vs. 0.460 ± 0.066 , both $P < 0.01$). Compared with Ang I group, α -ENaC protein was significantly lower (0.228 ± 0.045 vs. 0.343 ± 0.053 , $P < 0.01$), whereas β -ENaC and γ -ENaC proteins were significantly higher (β -ENaC: 0.358 ± 0.043 vs. 0.286 ± 0.038 , γ -ENaC: 0.220 ± 0.033 vs. 0.144 ± 0.040 , both $P < 0.05$) in ZD7155 pretreatment group. Conclusion Exogenous Ang I modulates ENaC expression of gene and protein by AT1 receptor pathway, attenuates AFC, and aggravates lung edema.

【Key words】 Angiotensin I; Alveolar fluid clearance; Epithelial sodium channel

血管紧张素 I (Ang I) 是肾素-血管紧张素系统中最关键的效应物质。研究证实,在局部组织也存在 Ang I,并通过自分泌和旁分泌方式发挥调节器官生理功能的作用^[1]。在急性肺损伤(ALI)肺组织中,Ang I 能调控炎症,但对肺泡液体清除的作用尚不清楚。本研究中通过给予大鼠外源性 Ang I,观察 Ang I 对肺泡液体清除率(AFC)的影响,并测定肺泡上皮钠通道(ENaC)各亚基的表达情况,探讨 Ang I 对肺泡液体清除的作用机制。

1 材料与方

1.1 实验动物及主要试剂:清洁级健康成年雄性 SD 大鼠 15 只,体重(280±20) g,由重庆医科大学动物实验中心提供,动物合格证号:SYXK2002007。Ang I、阿米洛利、戊巴比妥、Ang I 1 型受体阻滞剂(AT1)ZD7155、酶联免疫吸附(ELISA)检测试剂盒、伊文思蓝均购自美国 Sigma 公司。聚合酶链反应(PCR)引物由上海生物工程技术服务有限公司合成。总 RNA 抽提试剂盒购自北京百泰克生物技术有限公司,第一链 cDNA 合成试剂盒和 PCR 试剂盒购自美国 Mbi Fermentas 公司,α、β、γ-ENaC 及 β-肌动蛋白(β-actin)单克隆抗体购自美国 Abcam 公司;免疫印迹化学发光(ECL)试剂盒购自南京凯基生物科技发展有限公司。

1.2 动物分组及模型制备:按随机数字表法将大鼠分为对照组、Ang I 组和 ZD7155 干预组,每组 5 只。腹腔注射戊巴比妥麻醉大鼠,左颈静脉置管;Ang I 组和 ZD7155 组从微量泵持续泵入外源性 Ang I 10 μg·kg⁻¹·min⁻¹,对照组泵入等量生理盐水。ZD7155 干预组在泵入 Ang I 前 30 min 腹腔注射 10 mg/kg ZD7155。各组药物作用时间均为 6 h。实验过程中动物处置方法符合动物伦理学标准。

1.3 病理形态学检查:给予 Ang I 6 h 后取右肺下叶组织,甲醛溶液固定,石蜡包埋,苏木素-伊红(HE)染色,光镜下观察肺间质及肺泡病理学改变。

1.4 离体肺组织 AFC 测定:将大鼠麻醉处死,气管切开后行气管插管,取出全部气管、肺脏及心脏,用保鲜膜包被后放入 38 ℃ 水浴箱中孵育。经气管导管将灌注液(每毫升溶液含 0.15 mg 伊文思蓝标记的 5% 白蛋白等渗生理盐水)4 ml/kg 灌入大鼠右肺下叶,并给予 2 ml 氧气确保灌注液到达肺脏。持续给予纯氧,使气道压力在 650~700 Pa,行机械通气 1 h;用采样管吸取右肺下叶内肺泡液体 0.2 ml,在分光光度仪 620 nm 处测定伊文思蓝标记的白蛋白浓度,并计算 AFC。

1.5 RT-PCR 法检测 ENaC mRNA 表达:取左下叶肺组织约 100 mg,提取总 RNA。以 2 μg 总 RNA 为模板,用 Oligo(dT)18 作为引物,按照试剂盒说明书介绍要求合成 cDNA 第 1 链。α-ENaC 引物:正义 5'-TACCCCTTCCAAGTATACACAGC-3',反义 5'-CAGAAGGAGACTCCGAATTAGT-3',扩增产物大小 406 bp;β-ENaC 引物:正义 5'-GCTAAAGAGCTAGCAGTAATGG-3',反义 5'-CTGGTGTGTGTTATGCCTAGAG-3',扩增产物大小 464 bp;γ-ENaC 引物:正义 5'-GGATCCTGAGAGAGAA TCATGC-3',反义 5'-GTGTCCAGCTATGCCCT TTAAC-3',扩增产物大小 363 bp;β-actin 引物:正义 5'-GTACAACCTTCTTGCGAGCTCCT-3',反义 5'-ACAGGATTCCATACCCAGGAAG-3',扩增产物大小 871 bp。PCR 反应体系:2 μl 反转录产物模板、PCR 反应所需混合物 25 μl、正反引物各 2 μl,超纯水补充至 50 μl。PCR 反应条件:94 ℃ 5 min,94 ℃ 30 s,53 ℃(α-ENaC)、53 ℃(β-ENaC)、55 ℃(γ-ENaC)、55 ℃(β-actin) 60 s,72 ℃ 60 s,35 个循环,最后 72 ℃ 延伸 10 min。PCR 产物 8 μl 与 5 倍浓度上样缓冲液 2 μl 混匀,1.2% 琼脂糖凝胶电泳约 30 min,应用凝胶成像系统摄影,用 Quantity One 软件对目的条带进行扫描,以目的条带与内参照 β-actin 的比值作为相对表达量。

1.6 蛋白质免疫印迹法(Westen blotting)检测 ENaC 蛋白表达:提取肺组织总蛋白,行十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE),然后转移至硝酸纤维素滤膜上,用脱脂奶粉封闭 1 h,分别加入兔抗人多克隆抗体 α-ENaC(1:300)、β-ENaC(1:1000)、γ-ENaC(1:1000)、β-actin(1:2000),4 ℃ 孵育过夜,洗膜后加入相应的辣根过氧化物酶标记的二抗(1:2000),ECL 显色,用凝胶成像分析系统进行扫描,以目标条带与内参照 β-actin 的吸光度(A)值比值作为相对表达量。

1.7 统计学分析:数据以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,运用 SPSS 13.0 软件进行资料分析处理,采用 ANOVA 检验, P<0.05 为差异有统计学意义。

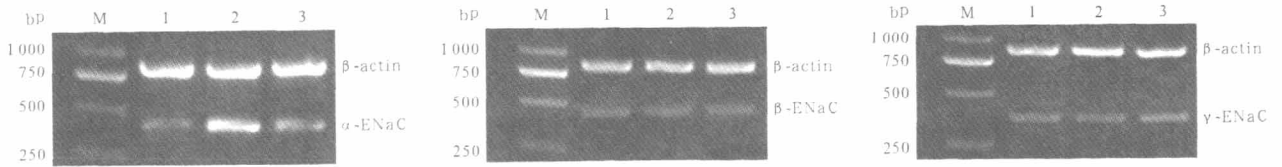
2 结果

2.1 肺组织病理变化:与对照组相比,给予外源性 Ang I 可显著增加肺泡及肺间质内的炎性细胞浸润,肺间质增厚、水肿明显,部分肺泡结构破坏塌陷。ZD7155 干预可显著减轻 Ang I 诱导的肺泡及肺间质内炎性细胞浸润,肺间质水肿明显减轻,肺泡结构基本完整。

表 1 给予外源性 Ang II 对大鼠 AFC 及肺组织 ENaC mRNA 和蛋白表达的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	动物数	AFC (%)	ENaC mRNA 表达			ENaC 蛋白表达		
			α -ENaC	β -ENaC	γ -ENaC	α -ENaC	β -ENaC	γ -ENaC
对照组	5	16.10 \pm 3.46	0.236 \pm 0.030	0.293 \pm 0.018	0.302 \pm 0.024	0.145 \pm 0.030	0.512 \pm 0.055	0.460 \pm 0.066
Ang II 组	5	6.16 \pm 3.01 ^a	0.663 \pm 0.068 ^a	0.321 \pm 0.021	0.288 \pm 0.025	0.343 \pm 0.053 ^a	0.286 \pm 0.038 ^a	0.144 \pm 0.040 ^a
ZD7155 干预组	5	10.60 \pm 2.05 ^b	0.386 \pm 0.061 ^c	0.315 \pm 0.032	0.317 \pm 0.023	0.228 \pm 0.045 ^c	0.358 \pm 0.043 ^b	0.220 \pm 0.033 ^b

注: Ang II: 血管紧张素 II, AFC: 肺泡液体清除率, ENaC: 肺泡上皮钠通道, ZD7155: Ang II 1 型受体阻滞剂; 与对照组比较, ^a $P < 0.01$; 与 Ang II 组比较, ^b $P < 0.05$, ^c $P < 0.01$



Ang II: 血管紧张素 II, ENaC: 肺泡上皮钠通道, M: DNA Marker, 1: 对照组, 2: Ang II 组, 3: ZD7155 干预组, β -actin: β -肌动蛋白

图 1 逆转录-聚合酶链反应检测外源性 Ang II 对大鼠肺组织 ENaC mRNA 表达的影响

2.2 AFC 变化(表 1): Ang II 组 AFC 显著低于对照组 ($P < 0.01$); 给予 ZD7155 干预后 AFC 较外源性 Ang II 组显著升高 ($P < 0.05$)。

2.3 肺组织内 ENaC mRNA 表达(表 1; 图 1): 与对照组比较, Ang II 组 α -ENaC mRNA 表达显著升高 ($P < 0.01$), β -ENaC 及 γ -ENaC mRNA 表达差异无统计学意义 (均 $P > 0.05$)。与 Ang II 组比较, 给予 ZD7155 干预后 α -ENaC mRNA 表达显著降低 ($P < 0.01$), β -ENaC 及 γ -ENaC mRNA 表达无明显变化 (均 $P > 0.05$)。

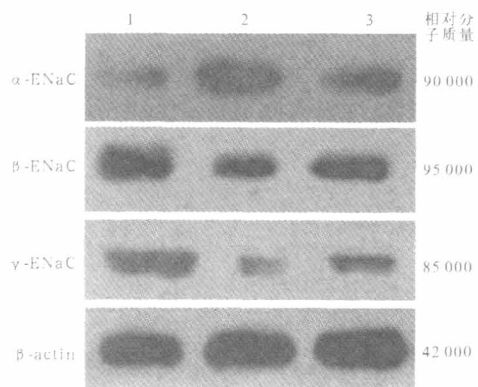
2.4 肺组织内 ENaC 蛋白表达(表 1; 图 2): 与对照组比较, Ang II 组 α -ENaC 蛋白表达显著增加, β -ENaC 及 γ -ENaC 蛋白表达显著降低 (均 $P < 0.01$)。与 Ang II 组比较, ZD7155 干预组 α -ENaC 蛋白表达显著降低, β -ENaC 及 γ -ENaC 蛋白表达显著升高 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。

3 讨论

ALI 是以肺泡内水肿液聚集以及肺泡内液体清除机制障碍为主的病理生理特征。临床研究表明, 肺泡液体的及时清除影响 ALI 患者的预后, 肺泡内水肿液越早吸收, 越有利于缓解呼吸衰竭, 从而降低 ALI 病死率^[2]。近年来 Ang II 在 ALI 中的作用逐渐得到重视。大量研究结果显示, 在 ALI 大鼠模型中 Ang II 促进白细胞介素-1 β (IL-1 β)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)等炎症介质以及多种黏附分子的表达, 加重 ALI 病理生理过程, 阻断 Ang II 作用途径则能逆转上述炎症过程^[3-5]。目前有关 Ang II 与 ALI 的相关研究都主要集中在 Ang II 对炎症的调控作用上, 但其对 ALI 肺泡液体清除影响的研究少见。有研究显示, Ang II 抑制肺泡上皮水通道表达而诱导肺水肿形成, 提示 Ang II 对肺泡液体清除有调节作用^[6]。

AFC 是评价肺泡内液体清除能力的主要指标, 放射性核素¹²⁵I 是常用标记物, 但是由于该法有放射性污染, 价格相对昂贵, 实验条件要求较高, 故本研究中采用伊文思蓝标记白蛋白法测定 AFC。结果显示, 给予外源性 Ang II 后可显著降低 AFC, 而给予特异性 AT1 受体阻滞剂后 AFC 升高。

ENaC 是肺泡内液体清除最主要的驱动力, 是肺泡内钠水重吸收的限速步骤^[7]。肺泡上主要有两种不同形式的 ENaC, 根据其对钠离子的选择性不同分为高选择性钠离子通道(HSC)和非选择性钠离子通道(NSC)。HSC 的分子基础由 α 、 β 和 γ 3 个亚基组成, NSC 则仅由 α 亚基组成^[8]。本研究结果显示 Ang II 能上调 α -ENaC 蛋白表达, 下调 β -ENaC、 γ -ENaC 蛋白表达。从钠通道构成上来看, 是使 HSC



Ang II: 血管紧张素 II, ENaC: 肺泡上皮钠通道, β -actin: β -肌动蛋白,

1: 对照组, 2: Ang II 组, 3: ZD7155 干预组

图 2 蛋白质免疫印迹法检测外源性 Ang II 对大鼠肺组织 ENaC 蛋白表达的影响

减少、NSC 有所增加。由于 HSC 对钠离子的选择性显著强于 NSC, 并且本研究观察的主要是急性期反应(6 h), NSC 的增加可能不能代偿 HSC 的减少所导致的肺水清除功能降低。在 β 亚基基因干扰小鼠中发现, β 亚基持续低表达的同时还引起 α 亚基的高表达, 但小鼠的 AFC 仍较正常小鼠降低^[9], 也提示 NSC 不能代偿 HSC 的减少。因而从 ENaC 分子表达上解释了 Ang I 使 AFC 减少的原因。同时, Ang I 在多种组织中与 AT1 受体结合后使细胞内的环磷酸腺苷(cAMP)含量减少^[10-11], 从而影响 ENaC 的全细胞电流, 减少对钠离子的通透活性^[12]。在肺组织中, Ang I 很可能通过相同的作用途径减弱了 ENaC 对水钠重吸收的功能, 使 AFC 下降。

综上所述, 本研究结果显示: 外源性 Ang I 能显著上调 α-ENaC mRNA 及蛋白表达, 对 β-ENaC、γ-ENaC 的 mRNA 表达无显著影响, 但能够抑制 β-ENaC、γ-ENaC 的蛋白表达; AT1 受体阻滞剂则能逆转 Ang I 在基因和蛋白水平上对 ENaC 各亚基表达的调节作用。Ang I 对 α-ENaC 调节途径与 β-ENaC、γ-ENaC 的调节途径有差别, 尽管 Ang I 对 β-ENaC、γ-ENaC mRNA 表达无明显作用, 但仍能调节 β-ENaC、γ-ENaC 蛋白表达水平, 提示 Ang I 对 β-ENaC、γ-ENaC 的调节作用是在转录后水平上实现的。

参考文献

[1] Paul M, Poyan MA, Kreutz R. Physiology of local renin-angiotensin systems. *Physiol Rev*, 2006, 86:747-803.
 [2] Sloniewsky DE, Ridge KM, Adir Y, et al. Leukotriene D4

activates alveolar epithelial Na, K-ATPase and increases alveolar fluid clearance. *Am J Respir Crit Care Med*, 2004, 169:407-412.
 [3] Wang F, Xia ZF, Chen XL, et al. Angiotensin I type-1 receptor antagonist attenuates LPS-induced acute lung injury. *Cytokine*, 2009, 48:246-253.
 [4] Hagiwara S, Iwasaka H, Matumoto S, et al. Effects of an angiotensin-converting enzyme inhibitor on the inflammatory response in in vivo and in vitro models. *Crit Care Med*, 2009, 37:626-633.
 [5] 朱英, 邱海波, 杨毅, 等. 血管紧张素 I 诱导急性肺损伤大鼠血管紧张素 II 2 型受体表达调控的研究. *中国危重病急救医学*, 2008, 20:585-587.
 [6] 曹春水, 殷勤, 黄亮, 等. 血管紧张素 I 对急性肺损伤大鼠肺水通道蛋白 1 表达的影响. *中国危重病急救医学*, 2010, 22:426-429.
 [7] Bhalla V, Hallows KR. Mechanisms of ENaC regulation and clinical implications. *J Am Soc Nephrol*, 2008, 19:1845-1854.
 [8] Hummler E, Planès C. Importance of ENaC-mediated sodium transport in alveolar fluid clearance using genetically-engineered mice. *Cell Physiol Biochem*, 2010, 25:63-70.
 [9] Randrianarison N, Escoubet B, Ferreira C, et al. β-Liddle mutation of the epithelial sodium channel increases alveolar fluid clearance and reduces the severity of hydrostatic pulmonary oedema in mice. *J Physiol*, 2007, 582:777-788.
 [10] Jensen AM, Bae EH, Fenton RA, et al. Angiotensin I regulates V2 receptor and pAQP2 during ureteral obstruction. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2009, 296:127-134.
 [11] Saha S, Li Y, Anand-Srivastava MB. Reduced levels of cyclic AMP contribute to the enhanced oxidative stress in vascular smooth muscle cells from spontaneously hypertensive rats. *Can J Physiol Pharmacol*, 2008, 86:190-198.
 [12] Mutlu GM, Factor P. Alveolar epithelial beta2-adrenergic receptors. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2008, 38:127-134.

(收稿日期: 2011-07-27)

(本文编辑: 李银平)

• 科研新闻速递 •

中性粒细胞 A3 受体表达与创伤患者损伤的严重程度有关

以往研究证明高渗盐水(HS)可以作为治疗失血性休克和脓毒症的免疫调节剂, 其机制可能是通过促使 ATP 转换成腺苷, 激活腺苷受体, 进而调节中性粒细胞。腺苷与 A3 受体结合形成腺苷 A3 受体, 能激活中性粒细胞, 影响 HS 复苏疗效。目前, 有关创伤患者中性粒细胞 A3 受体表达还缺乏研究报告。最近美国和加拿大研究人员对 10 例健康志愿者和 60 例 2 h 内受伤的伤员进行了研究。创伤纳入标准: 钝器或锐器打击造成的低血容量休克(收缩压 ≤ 90 mm Hg 并需要输血, 1 mm Hg = 0.133 kPa)的重型颅脑损伤(TBI), 包括初期格拉斯哥昏迷评分(GCS) ≤ 8 分或头颅 CT 扫描简明损伤分级标准(AIS) ≥ 3 者。在体外用甲酰三肽(fMLP)或失血性休克患者的血浆(20~40 mmol/L)处理中性粒细胞, 采用流式细胞计数法检测 A3 受体的表达。收集生理学指标、损伤严重程度评分(ISS)、多器官功能障碍程度及患者存活情况等临床资料并进行分析。结果表明: 在健康志愿者中, ≤ 1% 的中性粒细胞表面有 A3 受体表达, 且健康组 A3 受体表达水平显著低于创伤组。在创伤患者中, A3 受体表达水平与创伤严重程度和低血容量休克程度密切相关(表达 A3 受体的中性粒细胞比例在 ISS ≥ 25 分者和 < 25 分者分别为 36.6% 和 16.2%, P = 0.019; 在收缩压 ≤ 60 mm Hg 和 60~90 mm Hg 者分别为 43.8% 和 20.6%, P = 0.008)。fMLP 或 HS 可以刺激健康组以及创伤组中 ISS < 25 分或无低血容量休克患者出现 A3 表达增加。结论: 创伤会促使中性粒细胞表面 A3 受体表达增加, 损伤或低血容量休克程度越重, A3 受体表达水平则越高; HS 可以促进健康人和轻度损伤患者的中性粒细胞 A3 受体表达增加。

钟毓贤, 编译自《Med Sci Sports Exerc》, 2011-08-11(电子版); 胡森, 审校

血管紧张素 II 对大鼠肺泡上皮钠通道表达的影响

作者: [邓嘉](#), [王导新](#), [邓旺](#), [DENG Jia](#), [WANG Dao-xin](#), [DENG Wang](#)
作者单位: [400016, 重庆医科大学附属第二医院呼吸内科](#)
刊名: [中国危重病急救医学](#) 
英文刊名: [Chinese Critical Care Medicine](#)
年, 卷(期): 2011, 23 (9)

本文链接: http://d.g.wanfangdata.com.cn/Periodical_zgwbjyxx201109009.aspx