

· 论著 ·

rhIL - 3 和 GM - CSF 对 γ 线照射猴外周血
淋巴细胞损伤的防护作用研究

崔玉芳 杨红 罗庆良 董波 柳晓兰 徐蕊 毛秉智 王德文

【摘要】目的 观察重组人白细胞介素-3(rhIL-3)和粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子(GM-CSF)单用与伍用对 3.0 Gy γ 线照射猴外周血淋巴细胞损伤的防护作用,为造血生长因子用于急性放射病的治疗提供依据。**方法** 30 只恒河猴随机分为 rhIL-3 (20 和 60 $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$)、GM-CSF(10 $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$)、IL-3 + GM-CSF、照射对照及正常对照共 6 个组。 γ 线全身照射 3.0 Gy 连续给药 21 d 后,用碱磷酶免疫组织化学法检测 T 细胞亚群、Bax 和 Bcl-2 蛋白,用原位末端标记方法检测淋巴细胞凋亡率。**结果** ①照射后外周血淋巴细胞数、T 细胞及其亚群均显著低于正常组,照射对照组 T、 T_H 和 T_s 淋巴细胞分别下降至正常对照组的 42%、41% 和 57%。②单独给予 GM-CSF 和 GM-CSF + IL-3 后,外周血淋巴细胞数量及 T、 T_H 细胞的降低均受到明显抑制,两组的淋巴细胞数均相当于照射对照组的 1.48 倍,GM-CSF 组 T、 T_H 细胞分别为对照组的 1.57 和 1.76 倍,GM-CSF + IL-3 组 T、 T_H 淋巴细胞分别为对照组的 1.48 和 1.72 倍。③照射后淋巴细胞出现大量凋亡;用 GM-CSF 和 GM-CSF + IL-3 后能明显抑制照射引起的淋巴细胞凋亡,两组淋巴细胞凋亡率分别降低到照射对照组的 41% 和 48%。**结论** 一定剂量的 GM-CSF 或 GM-CSF + IL-3 能明显抑制照射引起的淋巴细胞以及 T 和 T_H 细胞的降低;上述造血因子抑制辐射引起的淋巴细胞下降和改善免疫功能的机制之一是通过抑制淋巴细胞凋亡途径实现。

【关键词】 细胞因子; 辐射; Bax 蛋白; Bcl-2 蛋白; T 细胞亚群; 细胞凋亡

中图分类号: R818; R965 **文献标识码:** A **文章编号:** 1003-0603(2004)01-0022-04

Radioprotection of recombinant human interleukin - 3 and granulocyte - macrophage colony - stimulating factor on peripheral lymphocytes of rhesus monkey irradiated by 3.0 Gy γ - rays CUI Yu - fang *, YANG Hong, LUO Qing - liang, DONG Bo, LIU Xiao - lan, XU Han, MAO Bing - zhi, WANG De - wen. *Beijing Institute of Radiation Medicine, Military Academy Medical Sciences, Beijing 100850, China

【Abstract】Objective To observe the radioprotection of recombinant human interleukin - 3(rhIL - 3), granulocyte - macrophage colony - stimulating factor(GM - CSF) and rhIL - 3 (rhIL - 3 + GM - CSF) on peripheral lymphocytes of rhesus monkey irradiated by 3.0 Gy γ - rays, and attempt to provide evidence of cytokines used effectively in the therapy of acute radiation sickness. **Methods** Thirty rhesus monkey used in the experiment were randomly divided into six groups of rhIL - 3 20 $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$, 60 $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$, GM - CSF 10 $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$, IL - 3 20 $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ + GM - CSF 10 $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$, radiation control and normal control. 21 d after whole body γ - irradiation and subcutaneous injection of cytokines, T lymphocyte and its subsets, Bax/Bcl - 2 proteins in lymphocytes were determined by immunohistochemical staining with alkaline phosphatase, and lymphocyte apoptosis was detected by TdT - mediated dUTP nick end labeling (TUNEL) technique. **Results** (1)After irradiation the quantities of peripheral lymphocyte, T cell and its subsets obviously decreased as compared with those of normal controls. For instance, the percentages of lymphocyte, T, T_H and T_s cells in radiation control group reduced to 44%, 42%, 41% and 57% of normal controls, respectively. (2)After radiation the reduction of lymphocyte, T, T_H and T_s cells were evidently improved by injection of GM - CSF and GM - CSF + IL - 3, The T, T_H cells in GM - CSF and GM - CSF + IL - 3 groups were respectively elevated by 1.57 and 1.76 fold, as well as 1.48 and 1.72 fold of radiation controls. (3)A large amount of lymphocyte apoptosis was found after radiation, GM - CSF and GM - CSF + IL - 3 treatment could distinctively inhibit abundant lymphocyte apoptosis induced by acute irradiation, the apoptotic rates of lymphocytes in GM - CSF and GM - CSF + IL - 3 groups reduced to 41% and 48% respectively when compared with that of radiation controls. **Conclusion** A definite dose of GM - CSF and GM - CSF + IL - 3 could suppress the reduction of lymphocyte, T and T_H cells and lymphocyte apoptosis induced by 3.0 Gy γ - irradiation. It confirms that inhibition of GM - CSF and GM - CSF + IL - 3 on lymphocyte reduction as well as apoptosis might be one of the major causes to alleviate radiation injury of lymphocytes and improve the immunological function.

【Key words】 cytokines; irradiation; Bax proteins; Bcl - 2 proteins; T lymphocyte subsets; apoptosis

CLC number: R818; R965 **Document code:** A **Article ID:** 1003-0603(2004)01-0022-04

近年来,造血生长因子用于急性放射病治疗的研究已经受到关注并且取得了较好的进展。目前已有将白细胞介素-3(IL-3)、粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子(GM-CSF)等细胞因子应用于治疗急性辐射事故患者的报道^[1,2]。本实验中观察了重组人IL-3(rhIL-3)和GM-CSF单独应用和联合应用时,对 γ 线照射猴外周血淋巴细胞损伤的防护作用,以期造血生长因子能有效应用于急性放射病的治疗提供直接依据。

1 材料与方法

1.1 动物分组与照射方法:30只恒河猴由本院实验动物中心提供,体质量3~5 kg。随机分为正常对照组(正常组),照射对照组(照射组),rhIL-3组(又分20和60 $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ 组),GM-CSF组(10 $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$),以及GM-CSF+IL-3共6个组,每组5只动物。除正常组外,其余各组均采用⁶⁰Co γ -射线全身照射,照射剂量为3.0 Gy,剂量率为3.257 Gy/min。

1.2 给药与制样:照后当天皮下连续给药21 d,对照组注射等量生理盐水。于给药后21 d,每只动物取外周血3~5 ml分离淋巴细胞,常规分离淋巴细胞后制成淋巴细胞离心涂片,固定后用于T淋巴细胞亚群、淋巴细胞凋亡等多种指标的检测。

1.3 T淋巴细胞亚群检测和计数:用碱磷酶免疫组织化学(组化)染色检测T细胞总数和T淋巴细胞亚群^[3]。CD₃(T淋巴细胞)、CD₄(T辅助细胞, T_H)、CD₈(T抑制细胞, T_S)单克隆抗体均购自北京邦定生物医学公司,生物素标记的羊抗鼠二抗和碱磷酶标记链霉卵白素(SP-AP)均为美国Santa Cruz生物技术公司产品。每个样品计数300~500个细胞,计算其均值。

1.4 淋巴细胞凋亡的检测:用原位末端标记法(TUNEL)细胞凋亡检测试剂盒(购自德国宝灵曼公司,含标记缓冲液、TdT、Bio-dUTP、Converter-POD工作液等)进行检测,实验步骤及检测标准均按说明书进行^[4]。

1.5 淋巴细胞Bax、Bcl-2蛋白检测:用碱磷酶免疫组化染色进行检测。Bax、Bcl-2单抗和生物素标

基金项目:全军“十五”医药卫生科研基金资助项目(01L018; 01MA075)

作者单位:100850 北京,军事医学科学院放射医学研究所

作者简介:崔玉芳(1953-),男(汉族),河南省南乐人,研究员,硕士生导师,主要从事放射病理、创伤病理和免疫病理学研究,获国家和军队科技进步二等奖以上成果5项,参编专著5部,发表论文100余篇。

记二抗、Avidin-HRP均为美国Santa Cruz生物技术公司产品^[5]。

1.6 统计学处理:采用 t 检验进行统计学分析。

2 结果

2.1 IL-3和GM-CSF对实验猴外周血淋巴细胞数量的影响:表1结果显示,①3.0 Gy γ 射线照射后21 d,各照射组外周血淋巴细胞均显著低于正常组,照射对照组仅为正常组的44%;②单独给予两种剂量IL-3后,与照射对照组比较,淋巴细胞百分数未见差别;③单独给予GM-CSF和GM-CSF联合应用IL-3后,外周血淋巴细胞的降低受到一定程度抑制,与照射对照组比较,两组的淋巴细胞数均相当于对照组的1.48倍。虽然两组淋巴细胞数仍明显低于正常组,然而只有GM-CSF+IL-3显示出明显差别($P<0.05$)。

表1 IL-3和GM-CSF对猴外周血淋巴细胞的影响($\bar{x} \pm s$)

Tab. 1 Effect of IL-3 and GM-CSF on peripheral lymphocyte of rhesus monkey ($\bar{x} \pm s$)

组别	动物数(只)	淋巴细胞(%)
正常组	4	52.00 \pm 7.19
照射对照组	4	23.00 \pm 5.66
IL-3 I组(20 $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$)	3	23.00 \pm 7.24
IL-3 II组(60 $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$)	3	22.00 \pm 7.01
GM-CSF组(10 $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$)	3	34.00 \pm 8.90
IL-3+GM-CSF组	4	34.00 \pm 6.32*

注:与照射对照组比较: * $P<0.05$

2.2 IL-3和GM-CSF对实验猴外周血T淋巴细胞亚群的影响:表2结果表明,①3.0 Gy γ 射线照射后21 d,照射对照组T淋巴细胞及其亚群均明显降低, T、T_H和T_S淋巴细胞分别下降至正常组的42%、41%和57%;②单独给予20 $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ 和60 $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ 的IL-3后,与照射对照组比较, T、T_H和T_S细胞亚群数量未见差别,甚至略低于照射对照组;③单独给予GM-CSF和GM-CSF联合应用IL-3后,与照射对照组比较, T和T_H淋巴细胞数量的降低受到明显抑制, GM-CSF组的T和T_H细胞分别为对照组的1.57和1.76倍, GM-CSF+IL-3组T和T_H淋巴细胞分别为对照组的1.48和1.72倍,而T_S细胞未见差别。

2.3 IL-3和GM-CSF对实验猴外周血淋巴细胞凋亡的影响:进一步分析上述两种造血因子单独(GM-CSF)和联合应用时抑制照射引起淋巴细胞下降的原因,发现二者均能明显抑制照射引起的淋巴细胞凋亡,3.0 Gy照后21 d, GM-CSF组和联合

应用组淋巴细胞凋亡率分别降低为照射对照组的 41% 和 48%，但仍然高于正常对照组。见表 3。

表 2 IL-3 和 GM-CSF 对猴外周血 T 细胞及其亚群的影响 ($\bar{x} \pm s$)

Tab. 2 Effect of IL-3 and GM-CSF on peripheral T cell and its subsets of rhesus monkey ($\bar{x} \pm s$)

组别	动物数(只)	T 细胞	T _H 细胞	T _S 细胞
正常组	4	49.50±4.43**	41.20±4.57	8.20±1.26
照射对照组	4	21.00±1.73	17.00±2.64	4.70±0.58
IL-3 组 (20 μg·kg ⁻¹ ·d ⁻¹)	4	19.30±4.93	16.00±3.21	3.00±1.73
IL-3 组 (60 μg·kg ⁻¹ ·d ⁻¹)	4	17.00±1.82	14.20±1.71	2.80±1.50
GM-CSF (10 μg·kg ⁻¹ ·d ⁻¹)	4	33.00±7.02**	30.00±4.51**	2.30±2.52
IL-3+GM-CSF 组	4	31.20±2.04**	29.30±2.34**	1.80±1.33

注:与照射对照组比较:**P<0.01

表 3 IL-3 和 GM-CSF 对实验猴外周血淋巴细胞凋亡率的影响 ($\bar{x} \pm s$)

Tab. 3 Effect of IL-3 and GM-CSF on peripheral T lymphocyte apoptosis of rhesus monkey ($\bar{x} \pm s$)

组别	动物数(只)	淋巴细胞凋亡率(%)
正常组	4	1.80±0.75
照射对照组	4	13.00±1.89
GM-CSF 组	3	5.30±1.15**
IL-3+GM-CSF 组	4	6.20±2.05**

注:与照射对照组比较:**P<0.01

2.4 3.0 Gy 照射实验猴外周血淋巴细胞 Bax 和 Bcl-2 蛋白的表达:观察外周血淋巴细胞 Bax 蛋白表达与细胞凋亡的关系,发现照射后 Bax 蛋白表达迅速升高,与淋巴细胞凋亡率的增加呈现较好的相应关系,二者在照射后 21 d 均明显高于照射对照组,分别为照射对照组的 7.2 倍和 1.4 倍;而 Bcl-2 蛋白表达与淋巴细胞凋亡呈现出相反的变化趋势,照射后迅速下降,相当于对照组的 65%。单独给予 GM-CSF 和 GM-CSF 联合应用 IL-3 时,在明显抑制照射引起的淋巴细胞凋亡的同时,也抑制了淋巴细胞 Bax 蛋白的升高和 Bcl-2 蛋白的降低,在 GM-CSF 组二者分别为照射对照组的 66% 和 1.31 倍(P<0.05);在 GM-CSF+IL-3 组二者分别为照射对照组的 66% 和 1.28 倍(P<0.05),但照射后 21 d 两组均未恢复到正常对照水平。见表 4。

3 结果

3.1 关于造血生长因子用于急性放射病治疗的研究,近年来已经倍受关注,并取得了令人瞩目的进展。本实验中观察了 rhIL-3 和 GM-CSF 单独应用和联合应用时,对 3.0 Gy γ 线照射猴外周血淋巴细胞损伤的防护作用,结果表明,单独应用 IL-3 后,两个剂量组与对照组相比均未见差别,而单独应用 GM-CSF 或 GM-CSF 联合应用 IL-3 后,能

表 4 3.0 Gy 照射猴外周血淋巴细胞 Bax 和 Bcl-2 蛋白表达与凋亡的关系 ($\bar{x} \pm s$)

Tab. 3 Relationship between the expression of Bax and Bcl-2 proteins and lymphocyte apoptosis in 3.0 Gy irradiated rhesus monkey ($\bar{x} \pm s$)

组别	动物数(只)	淋巴细胞凋亡率(%)	Bax 细胞(%)	Bcl-2 细胞(%)
正常组	4	1.8±0.75	10.3±1.15	38.2±2.43
照射对照组	4	1.3±1.89	30.3±3.51	24.8±3.67
GM-CSF 组	3	5.3±1.15**	20.0±1.89**	32.6±3.78*
IL-3+GM-CSF 组	4	6.2±2.05**	20.0±1.98**	31.8±3.18*

注:与照射对照组比较:*P<0.05,**P<0.01

明显抑制照射引起的淋巴细胞百分数的降低以及 T 细胞和 T_H 细胞的降低,证实上述造血生长因子不仅对粒系造血系统辐射损伤具有防护作用,而且对淋巴系统的损伤也有一定的防护作用。分析其防护作用的机制,作者认为,rhIL-3 和 GM-CSF 均为早期造血生长刺激因子。已有资料表明,IL-3 是一个多功能细胞因子,不仅能作用于粒系、单核-巨噬细胞系,对淋巴造血细胞系也具有一定作用,如调节 T 细胞的分化成熟、提高对 T 细胞依赖性抗原的免疫应答等;而有资料显示 GM-CSF 可能也具有类似的刺激作用和生物功能。本实验中从恒河猴整体照射模型证实了上述作用,从一个侧面为细胞因子用于急性放射病的治疗及其作用机制提供了新的依据。然而对于 IL-3 单独作用时未观察到其辐射防护作用的原因尚值得进一步探讨。

3.2 单独给予 GM-CSF 和 GM-CSF 联合应用 IL-3 后,与照射对照组比较,T 和 T_H 淋巴细胞数量降低受到明显抑制,GM-CSF 组 T 和 T_H 细胞分别为对照组的 1.57 和 1.76 倍,GM-CSF+IL-3 组 T 和 T_H 淋巴细胞分别为对照组的 1.48 倍和 1.72 倍。分析上述两种造血因子单独(GM-CSF)和联合应用时抑制淋巴细胞下降的原因,发现二者均能明显抑制照射引起的淋巴细胞凋亡,3.0 Gy 的 γ-射线照射后 21 d,GM-CSF 组和联合应用组淋巴细胞凋亡率分别降为照射对照组的 41% 和 48%,这一结果提示,GM-CSF 的辐射防护作用机制之一是通过抑制淋巴细胞凋亡的途径实现的。

3.3 现有资料表明,Bax 是 Bcl-2 家族中具有较强作用的促凋亡蛋白,本实验室以往的工作也证实 Bax 具有很强的促进淋巴细胞凋亡的作用^[5,6]。本实验结果表明,γ 射线照射后 Bax 表达迅速升高,与淋巴细胞凋亡率的增加呈现较好的相应关系(二者在照射后分别升高,为对照组的 7.2 倍和 1.4 倍)。而大多数学者认为 Bcl-2 是最强的抗凋亡蛋白之一,

本实验结果也证实,照射后 Bcl-2 蛋白迅速下降(相当于对照组的 65%),其表达与淋巴细胞凋亡呈现出相反的变化趋势。从上述结果不难看出,促凋亡蛋白 Bax 的迅速升高和抗凋亡蛋白 Bcl-2 的急剧降低的双重因素,无疑加剧了照射诱发的淋巴细胞凋亡。很显然,应用 GM-CSF 和 GM-CSF 联合应用 IL-3 抑制照射引起的淋巴细胞凋亡的实质,是抑制了淋巴细胞 Bax 蛋白的升高和 Bcl-2 蛋白的降低,在淋巴细胞凋亡率降低的同时,与照射对照组比较,GM-CSF 组 Bax 和 Bcl-2 蛋白分别为对照组的 66% 和 1.31 倍;GM-CSF+IL-3 组分别为对照组的 66% 和 1.28 倍。

结论:上述实验结果不仅首次从抑制淋巴细胞凋亡的侧面对造血生长因子的辐射防护作用机制提出了一些新的观点,而且也以后从细胞凋亡角度寻找改善和减轻辐射免疫损伤的措施提供了重要依据^[1,7-10]。

参考文献:

- 1 刘玉龙,周剑影,王国权.应用细胞因子治疗放射损伤的研究现状[J].国外医学放射医学核医学分册,1999,23(2):88-90.
- 2 吴莹,赵文正,刘强,等.rhGM-CSF、rhEPO 在 3 例急性放射病患者救治中的应用[J].中华放射医学与防护杂志,2001,21(3):

178-180.

- 3 崔玉芳,付小兵,夏国伟,等.单纯和放射复合伤伤口愈合中循环血 T 淋巴细胞亚群的变化及其与愈合延迟的关系[J].中国危重病急救医学,2002,14(11):675-677.
- 4 崔玉芳,夏国伟,付小兵,等.放射复合伤伤口愈合中外周血淋巴细胞凋亡及其与愈合延迟的关系[J].解放军医学杂志,2002,27(5):392-394.
- 5 崔玉芳,夏国伟,付小兵,等.放射复合伤口中 Bax 和 Bcl-2 蛋白表达与细胞凋亡的关系研究[J].中国危重病急救医学,2001,13(7):404-406.
- 6 Cui Yufang, Gao Yabing, Yang Hong, et al. Apoptosis of circulating lymphocytes induced by whole body γ -irradiation and its mechanism[J]. J Environ Pathol Toxicol Oncol, 1999, 18: 185-189.
- 7 Cui Yufang, Xia Guowei, Fu Xiaobing, et al. Relationship between expression of Bax and Bcl-2 proteins and apoptosis in radliation compound wound healing of rats [J]. Chin J Traumatol, 2003, 6(3): 135-138.
- 8 崔玉芳,夏国伟,付小兵,等.Bax 和 Bcl-2 基因在单纯和放射复合伤口中的表达及与细胞凋亡和愈合延迟的关系[J].中国危重病急救医学,2002,14(7):421-423.
- 9 Cui Yufang, Yang Hong, Wu Shuxia, et al. Molecular mechanism of damage and repair of mouse thymus lymphocytes induced by radiation[J]. Chin Med J, 2002, 115(7): 1070-1073.
- 10 崔玉芳,夏国伟,杨红,等.放射延迟伤口愈合机理的初步研究[J].中国危重病急救医学,2001,13(7):430-432.

(收稿日期:2003-08-30 修回日期:2003-12-22)

(本文编辑:李银平)

• 医学书籍导购 •

为解决您买书难的问题,本刊与天津科技翻译出版公司联合,为您代购医学书籍。

肺疾病临床手册(英文原版)

Richard A. Bordow 等著 定价:50 元

急症医学手册 Jon L. Jenkins 等著 定价:55 元

感染性疾病临床手册

Nelson M. Gantz 等著 定价:44 元

对症诊断学手册 H. Harold Friedman 著 定价:38 元

10 分钟诊断手册 Robert B. Taylor 著 定价:33 元

妇科学门诊手册 Carol S. Havens 等著 定价:30 元

心血管疾病诊断与治疗手册

Joseph S. Alpert 著 定价:33 元

凯氏内科学(上、下)(英文影印版)

H. David Humes 著 定价:572 元

袖珍诊疗彩色图谱系列——急症学(英)

Ferguson David I. Fodden 编著;王景明等译 定价:48 元

美国名医诊疗手册——心脏病学

(美)Joel W. Heger 等编著;

李振有,李玉明主译 定价:26 元

美国名医诊疗手册——危重病学

傅强等译 定价:51.80 元

美国名医诊疗手册——急症医学 傅强等译 定价:31 元

影像学诊断问答——呼吸道感染

(澳)Paul S. Thomas 等编著 定价:11 元

影像学诊断问答——慢性阻塞性肺部疾病

(澳)Paul S. Thomas 著 定价:12.8 元

通用危重病急救医学 王今达,王正国主编 定价:170 元

美国医学专家临床会诊

(美)丹布罗编著;王瑛主译 定价:180 元

临床诊断的经验与教训

(美)Paul Cutler 著;张勇等译 定价:45 元

肺癌的早期诊断与治疗

白学义,黄永宏,邱江编译 定价:12.80 元

普通急救医学行医指南

(美)罗伯茨编著;陈景惠,白萍译 定价:28 元

危重病医学 张文武,张铁良总编写 定价:138 元

急症药物治疗学 王今达,方楨,李振有主编 定价:79 元

呼吸系统疾病诊断与鉴别诊断

周学敏,王保法主编 定价:20 元

烧伤临床解析

葛绳德主编 定价:16.8 元

胆道外科学疑难危重症学

郭振武著 定价:98 元

冠状动脉疾病彩色图谱

(英)M. J. 戴维斯著;徐晓雷等译 定价:98 元

肾病分类诊断彩色图谱

(美)苏珊等著;吕宗舜等译 定价:198 元

心电图图解速成讲授 王建华等编译 定价:12.5 元

心电图的经验与教训

(美)马里奥特著;王谨译 定价:30 元

实验室数据的临床应用

(美)D. Robert Dufour 著,

李振有,陈礼明,郑海洲主译 定价:78 元

内科疾病诊断与治疗

戴锡孟主编 定价:100 元

医生英语

(美)帕金森著 定价:12.5 元

说明:①导购书按定价加 10% 费用(挂号、包装费等)汇款;②汇款时写明所购书名,书写工整;③汇款地点:天津市和平区睦南道 122 号天和医院《中国危重病急救医学》杂志社收,邮编:300050;④查询电话:022-23042150。