

黄芪甲苷逆转血管紧张素 II 引起的主动脉平滑肌细胞线粒体功能障碍

路 遥¹,徐晋妣¹,卞智萍²,吴恒芳¹,顾春荣²,陈相健^{2*},杨 笛^{1*}

(¹南京医科大学第一附属医院心脏科,²心血管病研究所,江苏 南京 210029)

[摘要] 目的:研究黄芪甲苷(astragaloside IV,As-IV)对血管紧张素 II(angiotensin II,Ang II)引起的线粒体功能障碍的逆转作用。方法:培养大鼠主动脉血管平滑肌细胞(vascular smooth muscle cells,VSMCs),低血清培养液饥饿处理后分为 24 h 对照组、Ang II 24 h 处理组、48 h 对照组、Ang II 48 h 处理组、As-IV 治疗组。24 h 对照组和 Ang II 24 h 处理组使用线粒体呼吸功能检测仪进行线粒体呼吸功能检测,线粒体 ATP 含量检测;48 h 对照组、Ang II 48 h 处理组和 As-IV 治疗组进行线粒体呼吸功能检测、线粒体 ATP 含量检测、电镜观察线粒体结构变化,共聚焦显微镜检测线粒体内活性氧(reactive oxygen species,ROS)水平和 Mn-SOD 活性检测。结果:Ang II 24 h 处理组与 24 h 对照组相比,线粒体耗氧率(oxygen consumption rates,OCRs)出现下降,线粒体 ATP 含量减少($P \leq 0.05$);Ang II 48 h 处理组与 48 h 对照组相比,线粒体 OCRs 显著下降,线粒体 ATP 含量明显减少($P < 0.05$),线粒体出现嵴模糊、肿胀、空泡,线粒体内 ROS 水平升高($P < 0.05$),Mn-SOD 活性下降($P \leq 0.05$);As-IV 治疗组较 Ang II 48 h 处理组线粒体 OCRs 和线粒体 ATP 含量明显回升($P < 0.05$),线粒体形态结构损伤减轻,线粒体内 ROS 水平降低($P < 0.05$),Mn-SOD 活性升高($P \leq 0.05$)。结论:As-IV 可以通过增强线粒体 Mn-SOD 活性,降低线粒体内 ROS 水平,进一步减轻线粒体结构损伤并提高线粒体 OCRs 和 ATP 含量,从而逆转 Ang II 引起的线粒体功能障碍。

[关键词] 血管紧张素 II;黄芪甲苷;线粒体功能障碍;活性氧;平滑肌细胞

[中图分类号] R285.5

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-4368(2015)07-975-06

doi:10.7655/NYDXBNS20150715

Astragaloside IV ameliorates mitochondrial dysfunction of vascular smooth muscle cells induced by angiotensin II in rats

Lu Yao¹, Xu Jingdan¹, Bian Zhiping², Wu Hengfang¹, Gu Chunrong², Chen Xiangjian^{2*}, Yang Di^{1*}

(¹Department of Cardiology, ²Research Institute of Cardiovascular Disease, the First Affiliated Hospital of NJMU, Nanjing 210029, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the reverse effect of astragaloside IV(As-IV) on angiotensin II(Ang II)-induced mitochondrial dysfunction of vascular smooth muscle cells(VSMCs) in rats. **Methods:** Cultured VSMCs were divided into the 24 h control group, the Ang II treated for 24 h group, the 48 h control group, the Ang II treated for 48 h group, and the As-IV treated group. After treatment, the 24 h control group and the Ang II treated for 24 h group were tested for mitochondrial function by Extracellular Flux Analyzer and mitochondrial ATP production. The 48 h control group, the Ang II treated for 48 h group, and the As-IV treated group were tested for mitochondrial function, mitochondrial ATP production, mitochondrial morphology by transmission electron microscope, and reactive oxygen species(ROS) production by confocal microscopy and Mn-SOD activity. **Results:** Compared with the 24 h controls group, oxygen consumption rates(OCRs) and mitochondrial ATP production decreased in the Ang II treated for 24 h group($P \leq 0.05$); Compared with the 48 h controls group, the Ang II treated for 48 h group showed a decrease of OCRs and mitochondrial ATP production($P \leq 0.05$), swollen and vacuolization of mitochondrial morphology with almost wash-out cristae, a decrease of Mn-SOD activity($P \leq 0.05$) and a increase of mtROS level($P \leq 0.05$). The As-IV treatment group showed significantly increased OCRs, mitochondrial ATP production($P \leq 0.05$) and Mn-SOD activity($P \leq 0.05$), decreased mtROS level($P \leq 0.05$), and reduced damage of mitochondrial morphology compared with the Ang II treated for 24 h group. **Conclusion:** This study demonstrates that As-IV could reverse Ang II induced mitochondrial dysfunction of VSMCs by enhancing Mn-SOD activity to de-

[基金项目] 国家自然科学基金(81170220,81100156)

*通信作者(Corresponding author),E-mail:diyang@njmu.edu.cn

crease mtROS production, further alleviating the damage of mitochondrial morphology and increasing OCRs and mitochondrial ATP production.

[Key words] angiotensin II; astragaloside IV; mitochondrial dysfunction; ROS; smooth muscle cells

[Acta Univ Med Nanjing, 2015, 35(07): 975-980]

线粒体(mitochondrion)是一种存在于大多数细胞中的由两层膜包被的细胞器,拥有自身的遗传物质和遗传体系。线粒体是细胞进行有氧呼吸的主要场所^[1]。血管紧张素 II (Ang II)是体内肾素-血管紧张素系统的主要生理活性物质,现已明确 Ang II 是激活 NADPH 氧化酶的最主要刺激因子,Ang II 通过与血管紧张素 I 型受体(AT1-R)结合,通过蛋白激酶 C (protein kinase C, PKC) 和酪氨酸蛋白激酶 Src (tyrosine-protein kinase Src, c-Src) 途径,促进 NADPH 氧化酶亚单位 p47phox 的磷酸化和细胞膜上 NADPH 氧化酶的组装,从而激活 NADPH 氧化酶,促进活性氧(reactive oxygen species, ROS)的产生^[2]。细胞内大量 ROS 可通过氧化应激反应损伤线粒体的蛋白、核酸等成分,导致线粒体的功能紊乱。Ang II 引起的线粒体功能障碍广泛存在于高血压、动脉粥样硬化和心力衰竭等心血管疾病^[3-5]。因此寻找有效的抗氧化剂来清除病理状态下的活性氧和改善细胞的能量代谢,成为解决问题的关键。

黄芪是我国传统中药,为豆科植物蒙古黄芪 [*Astragalus membranaceus* (Fisch.) Bge.] 的干燥根,具有补气升阳、利尿消肿、脱毒生肌等功效^[6]。现代医学研究发现黄芪具有抗病毒、抗炎、抗氧化、抗衰老、利尿、调节机体免疫及改善心血管功能等作用,可被用于心肌炎、心绞痛、心力衰竭、白细胞减少症等疾病的治疗^[7]。黄芪甲苷(AS-IV)是黄芪具有心血管药理活性的主要有效成分之一,大量文献报道其具有心血管保护作用,机制可能与抗凋亡、抗脂质过氧化、清除氧自由基、改善能量代谢、减轻钙超载等有关^[8]。然而其是否能够逆转 Ang II 引起的平滑肌细胞线粒体功能障碍仍有待于进一步研究。

本研究通过体外培养大鼠主动脉平滑肌细胞,用 Ang II 干预 24 h 后再用 AS-IV 处理 24 h,检测线粒体功能、线粒体内 ROS 水平及锰-超氧化物歧化酶(Mn-SOD)活性,探索黄芪甲苷逆转 Ang II 引起平滑肌细胞线粒体功能障碍的作用。

1 材料和方法

1.1 材料

清洁级 SD(Sprague Dawley)大鼠(南京医科大

学实验动物中心),雄性,体重 180~220 g。所有动物实验都遵循南京医科大学实验动物伦理规章制度。

羟丙基-β-环糊精(hydroxypropyl-beta-cyclodextrin, HPBCD)和 Ang II (Sigma 公司,美国);As-IV (春秋生物工程公司,南京,纯度 TLC 单斑点, HPLC ≥98%,以 HPBCD 溶解为 6 mg/mL 储存液);DMEM 及胎牛血清(FBS)(Gibco 公司,美国);抗 α-平滑肌肌动蛋白一抗(Abcam 公司,美国);XF 细胞线粒体压力测试试剂盒 (Seahorse Bioscience 公司,美国);MitoSOX™ 线粒体内 ROS 指示剂 (Invitrogen 公司,美国);线粒体 ATP 检测试剂盒和 CuZn/Mn-SOD 活性检测试剂盒(碧云天生物技术有限公司,上海)。透射电镜(JEOL 公司,日本);激光共聚焦显微镜(OLYMPUS 公司,日本);XF96 线粒体呼吸功能检测仪和细胞检测板(Seahorse Bioscience 公司,美国)。

1.2 方法

1.2.1 VSMCs 的培养和鉴定

采用雄性 SD 大鼠主动脉外植体贴壁培养法进行平滑肌细胞的培养。第 4 代的细胞通过形态学观察结合抗 α-平滑肌肌动蛋白单克隆抗体免疫细胞化学方法进行平滑肌细胞的鉴定。具体分离和鉴定方法参见既往文献^[9]。本实验所用的细胞是第 4~6 代内的 SD 大鼠主动脉平滑肌细胞。

1.2.2 实验分组和细胞处理

VSMCs 细胞在含有 10% 的胎牛血清的 DMEM 培养基中,5% CO₂,37℃ 条件下培养,待生长至 70%~80% 时,用于后续试验。

首先为明确 Ang II 对线粒体的损伤效果,将 VSMCs 分为两组。24 h 对照组:用含 5% FBS 的培养基培养 24 h;Ang II 24 h 处理组:用含 Ang II (1 μmol/L)的培养基培养 24 h。以上两组进行线粒体呼吸功能及线粒体 ATP 含量的检测。

为明确 As-IV 对线粒体功能障碍的作用,将 VSMCs 分为 3 组。48 h 对照组:用含 5% FBS 的培养基培养 48 h;Ang II 48 h 处理组:用含 Ang II (1 μmol/L)的培养基培养 48 h;As-IV 治疗组:用含 Ang II (1 μmol/L)的培养基培养 24 h 后,再用含有 Ang II (1 μmol/L)+ As-IV (50 μg/mL)的培养

基培养 24 h。以上 3 组进行线粒体呼吸功能检测、线粒体 ATP 含量检测、电镜下观察线粒体结构变化,线粒体内活性氧水平和 Mn-SOD 活性检测。

1.2.3 线粒体呼吸功能检测

VSMCs 按 8.0×10^3 个/孔(0.32 cm^2)接种于线粒体功能检测板,待贴壁饥饿后,按上述方法分组处理。检测前换检测培养基,37°C 条件下培养 1 h 后使用 XF96 线粒体呼吸功能检测仪检测线粒体耗氧率(OCR)。先测定线粒体基础 OCR,之后按照检测程序依次加入寡霉素(oligomycin, $1 \mu\text{mol/L}$)、羰基-氰-对-三氟甲氧基苯肼(FCCP, $2 \mu\text{mol/L}$)和鱼藤酮(rotenone, $1 \mu\text{mol/L}$),分别测定 ATP 相关 OCR、最大 OCR 和储备 OCR。具体方法参见文献^[10]。所得数值根据检测后所测每孔细胞数目进行校正。

1.2.4 线粒体形态学观察

VSMCs 分组处理后,用 0.25% 的胰酶(含 0.01% 的 EDTA)常规消化细胞,PBS 洗涤 2~3 次后置于 1.5 mL EP 管中,离心至管底,弃上层液体。加入 2.5% 戊二醛 1 mL 固定样本 4 h 以上。然后用 1% 锇酸(OsO_4)固定 2 h 后,用系列乙醇及丙酮进行脱水,环氧树脂浸透、包埋,超薄切片,醋酸铀和枸橼酸铅电子染色。透射电镜($\times 80\,000$)观察线粒体形态及超微结构,并拍照。

1.2.5 线粒体 ATP 含量检测

VSMCs 分组处理后,收集细胞,用 PBS 洗涤 3 遍,加入细胞裂解液充分裂解细胞,4°C 12 000 g 离心 5 min,取上清,BCA 法测定蛋白浓度。按照线粒体 ATP 检测试剂盒步骤进行检测,所得数据依据说明书进行计算并根据蛋白含量进行校正。

1.2.6 线粒体来源的 ROS 检测

VSMCs 分组处理后,与 MitoSOX™ 线粒体内 ROS 指示剂在 37°C 条件下孵育 20 min,之后用 PBS 冲洗细胞 3 次后,放置激光共聚焦显微镜下观察($\times 50$)红色荧光的强度。

1.2.7 Mn-SOD 活性检测

VSMCs 分组处理后,收集细胞沉淀,用预冷的 PBS 洗涤 1~2 遍后,冰浴进行匀浆,随后匀浆液 4°C 离心,取上清液,测定蛋白浓度。然后按照 Mn-SOD 活性检测试剂盒操作说明进行检测。所得数值依据说明书计算并根据蛋白浓度校正。

1.3 统计学方法

计量数据表示为均数 \pm 标准误($\bar{x} \pm s_x$),用 SPSS18.0 软件对数据进行独立样本的 *t* 检验, $P \leq 0.05$ 为差异有统计学,所有实验至少重复 3 次。

2 结果

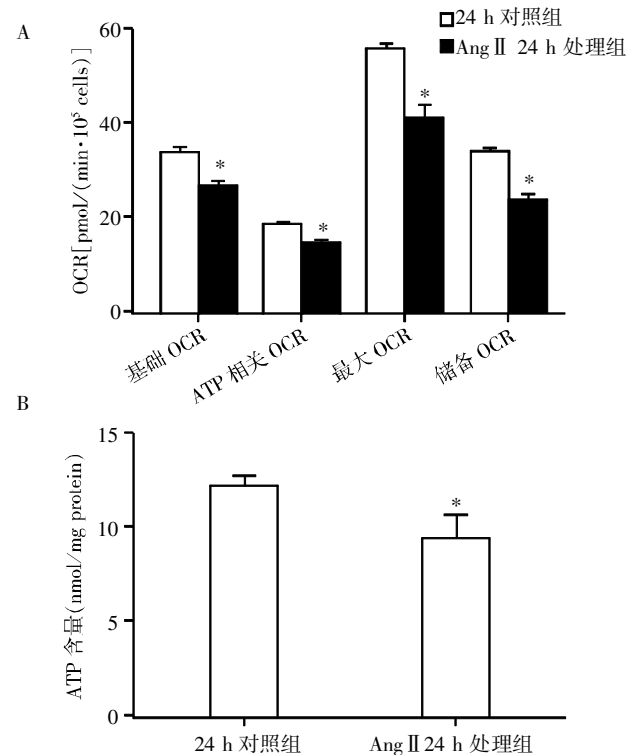
2.1 Ang II 对线粒体功能的损伤

线粒体呼吸功能检测表明:与 24 h 对照组相比,Ang II 24 h 处理组的基础 OCR、ATP 相关 OCRs、最大 OCRs 和储备 OCRs 分别下降了 19.6%、16.8%、24.1% 和 30.5%(图 1A);线粒体 ATP 含量检测显示:Ang II 24 h 处理组 ATP 含量明显低于 24 h 对照组(图 1B)。以上数据有统计学差异($P < 0.05$)。

2.2 As-IV 对线粒体形态学的影响

线粒体呼吸功能检测表明:Ang II 48 h 处理组的基础 OCRs、ATP 相关 OCRs、最大 OCRs 和储备 OCRs 相比于 48 h 对照组则相应明显下降了 40.6%、44.4%、41.2% 和 39.9%(图 2A)。而经过 As-IV 的治疗后,其各项指标较 Ang II 48 h 处理组明显回升;在线粒体 ATP 含量方面,Ang II 48 h 处理组较 48 h 对照组有明显的下降,而 As-IV 的治疗后,ATP 含量较 Ang II 48 h 处理组有显著的提高(图 2B)。以上数据有统计学差异($P \leq 0.05$)。

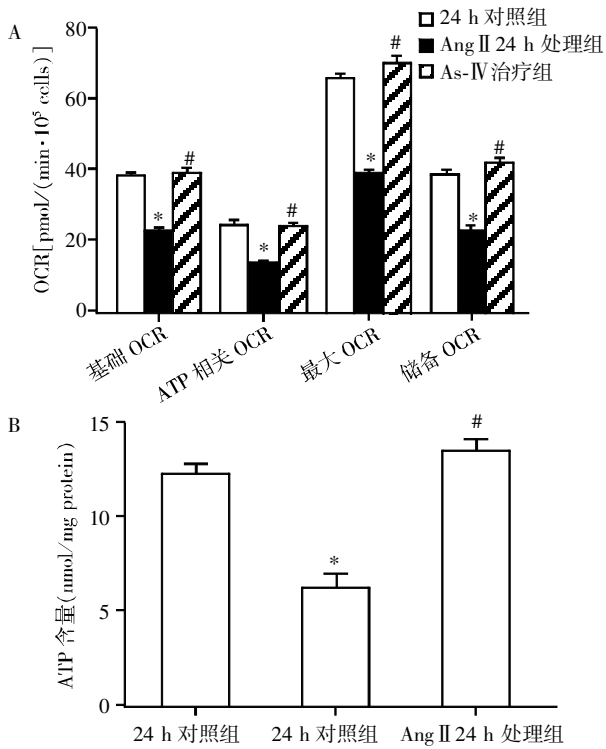
2.3 As-IV 对线粒体功能的影响



A: 线粒体呼吸功能数据统计; B: 线粒体 ATP 含量。与 24 h 对照组比较, * $P < 0.05$ ($n=6$)。

图 1 Ang II 处理 24 h 对线粒体功能的损伤

Figure 1 Mitochondrial dysfunction induced by Ang II treated for 24 h



A: 线粒体呼吸功能数据统计; B: 线粒体 ATP 含量。与 48 h 对照组比较, * $P < 0.05$, 与 Ang II 48 h 处理组比较, # $P < 0.05$ ($n=6$)。

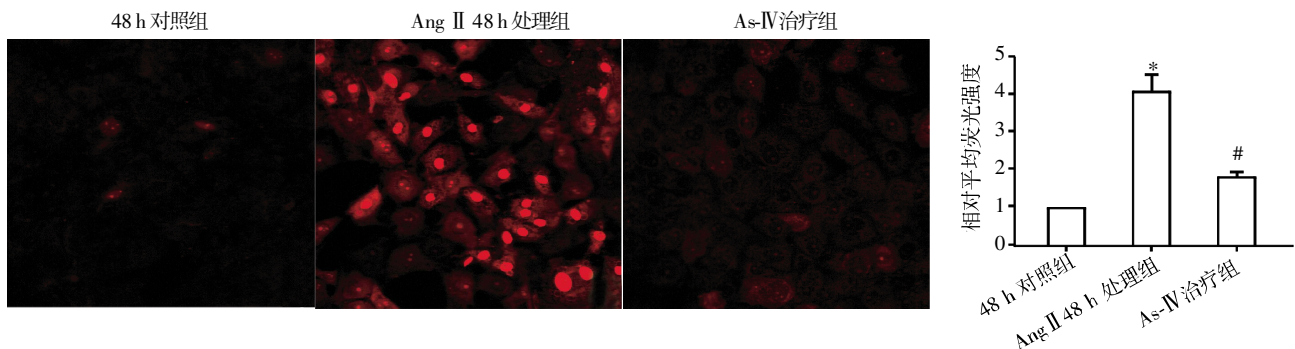
图 2 As-IV 对线粒体功能的影响

Figure 2 Effect of As-IV on mitochondrial function



图 3 As-IV 对线粒体形态学的影响($\times 80\ 000$)

Figure 3 Effect of As-IV on mitochondrial morphology($\times 80\ 000$)



与 48 h 对照组比较, * $P < 0.05$, 与 Ang II 48 h 处理组比较, # $P < 0.05$ ($n=4$)。

图 4 As-IV 对线粒体内 ROS 产生的影响

Figure 4 Effect of As-IV on mitochondrial ROS generation

采用透射电镜观察主动脉平滑肌细胞的线粒体形态,结果发现:与 48 h 对照组相比,Ang II 48 h 处理组线粒体出现嵴减少、模糊、消失,部分线粒体出现肿胀、空泡。而 As-IV 治疗组的线粒体形态学结构较 Ang II 48 h 处理组相比,线粒体形态结构损伤明显减轻(图 3)。

2.4 As-IV 对线粒体内 ROS 的影响

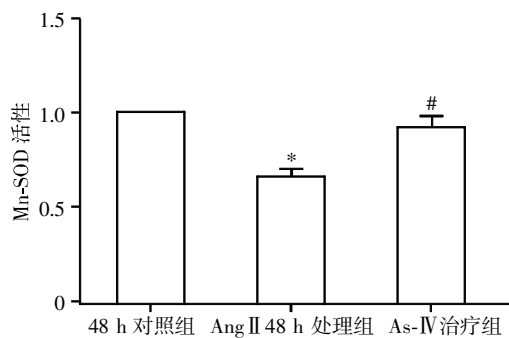
与 48 h 对照组相比,Ang II 48 h 处理组线粒体内 ROS 明显增多,而 As-IV 治疗组线粒体内 ROS 较 Ang II 48 h 处理组有显著下降(图 4, $P < 0.05$)。

2.5 As-IV 对 Mn-SOD 活性的影响

与 48 h 对照组相比,Ang II 48 h 处理组 Mn-SOD 活性显著下降,而 As-IV 治疗组的 Mn-SOD 活性较 Ang II 48 h 处理组有明显提高(图 5, $P < 0.05$)。

3 讨论

线粒体是细胞内氧化磷酸化和合成 ATP 的主要场所,为细胞的活动提供了能量。Ang II 通过激活 NADPH 氧化酶,成为线粒体活性氧触发的扳机点。目前大量研究表明,Ang II 引起的细胞内大量活性氧可导致线粒体的病理性损害和功能紊乱^[11-12],抑制能量代谢,导致 ATP 的合成下降,影响细胞的生理



与 48 h 对照组比较, * $P \leq 0.05$, 与 Ang II 48 h 处理组比较, # $P < 0.05$ ($n=5$)。

图 5 As-IV 对 Mn-SOD 活性的影响

Figure 5 Effect of As-IV on Mn-SOD activity

功能^[13-14]。此外,胞浆内 ROS 的升高会触发线粒体 ATP 敏感性 K^+ 通道(MitoKATP)的开放, K^+ 内流,引起线粒体肿胀、基质碱性化、呼吸链解耦联,继而通过线粒体呼吸链生成更多的 ROS,进一步前馈激活 NADPH 氧化酶,产生 ROS 的恶性循环,细胞内氧化应激加剧,引起线粒体的功能紊乱^[15-16]。

近年来发现,As-IV 可以通过抑制氧化应激和调节能量代谢抑制心肌缺血再灌注损伤^[17]。然而其是否能够逆转 Ang II 引起的平滑肌细胞线粒体功能障碍尚未见报道。

本研究中,Ang II 处理细胞 24 h 已经出现了线粒体功能的损伤(图 1),因此在 As-IV 治疗前,我们先通过 Ang II 处理细胞 24 h 来诱导线粒体生物能量功能损伤。

Ang II 处理 48 h 后,线粒体呼吸功能和 ATP 含量正常对照组下降更显著,而加用 As-IV 治疗 24 h 后,线粒体呼吸功能和 ATP 含量都出现了明显的回升(图 2),提示 As-IV 可以逆转 Ang II 导致的线粒体功能障碍。由电镜观察可知:Ang II 在造成线粒体功能障碍的同时,也使线粒体本身的形态出现了不同程度的嵴模糊、消失,甚至肿胀、空泡,而用 As-IV 治疗 24 h 后,线粒体形态学损伤较 Ang II 48 h 处理组明显减轻(图 3),提示 As-IV 可以改善 Ang II 导致的线粒体形态学损伤。本实验发现,Ang II 处理 VSMCs 48 h 后,线粒体内 ROS 的含量显著增多,在经过 As-IV 治疗后,线粒体内 ROS 的含量明显减少(图 4)。文献显示,线粒体功能障碍和形态学改变与血管紧张素 II 引起大量 ROS 的产生而诱发氧化应激损伤有关^[11-12]。据此本文推断 As-IV 可能通过减少 ROS 的产生,减轻线粒体形态损伤,从而逆转 Ang II 导致的线粒体功能障碍。

在正常的生理状态下,细胞内 ROS 水平受到

抗氧化剂超氧化物歧化酶 (superoxide dismutase, SOD)的调控。Mn-SOD 是 SOD 的一种,被认为是线粒体内重要的抗氧化物质^[18]。本实验发现,与 48 h 对照组相比,Ang II 48 h 处理组 Mn-SOD 活性显著下降,而 As-IV 治疗组的 Mn-SOD 活性较 Ang II 48 h 处理组有明显回升(图 5)。以往文献显示,As-IV 可以提高 Mn-SOD 的表达和活力,减少 MDA 的含量,提示 As-IV 可清除 ROS,减少脂质过氧化物^[19]。此外,在小鼠病毒性心肌炎等模型中,As-IV 还增加了心肌谷胱甘肽过氧化物酶 (glutathione peroxidase, GSH-Px)、过氧化氢酶(catalase, CAT)的活力,降低了髓过氧化物酶(myeloperoxidase, MPO)的含量^[20]。据此推断,As-IV 有可能通过提高 Mn-SOD 活性来减少线粒体内 ROS 的产生,从而逆转 Ang II 导致的线粒体功能障碍。

综上所述,本研究结果提示黄芪甲苷可以通过增强线粒体 Mn-SOD 活性,降低线粒体内 ROS 水平,进一步减轻线粒体结构损伤并提高线粒体 OCR 和 ATP 含量,从而逆转血管紧张素 II 引起的线粒体功能障碍。其具体机制有待进一步研究。

[参考文献]

- [1] Hoppins S. The regulation of mitochondrial dynamics[J]. *Curr Opin Cell Biol*, 2014, 29C:46-52
- [2] Lavoie JL, Sigmund CD. Minireview: overview of the renin-angiotensin system--an endocrine and paracrine system [J]. *Endocrinology*, 2003, 144(6):2179-2183
- [3] Sunggip C, Kitajima N, Nishida M. Redox control of cardiovascular homeostasis by angiotensin II [J]. *Curr Pharm Des*, 2013, 19(17):3022-3032
- [4] Whaley-Connell A, Sowers JR. Oxidative stress in the cardiorenal metabolic syndrome [J]. *Curr Hypertens Rep*, 2012, 14(4):360-365
- [5] Nguyen Dinh Cat A, Montezano AC, Burger D, et al. Angiotensin II, NADPH oxidase, and redox signaling in the vasculature [J]. *Antioxidants Redox Signaling*, 2013, 19(10):1110-1120
- [6] Yeh TS, Chuang HL, Huang WC, et al. Astragalus membranaceus improves exercise performance and ameliorates exercise-induced fatigue in trained mice [J]. *Molecules*, 2014, 19(3):2793-2807
- [7] Sinclair S. Chinese herbs: a clinical review of Astragalus, Ligusticum, and Schizandrae [J]. *Altern Med Rev*, 1998, 3(5):338-344
- [8] Ren S, Zhang H, Mu Y, et al. Pharmacological effects of Astragaloside IV: a literature review [J]. *J Tradit Chin Med*, 2013, 33(3):413-416

- [9] 马丽,刘苏健,邓勇志,等.大鼠胸主动脉平滑肌细胞的培养与鉴定[J].中国心血管病研究杂志,2007,5(5):363-365
- [10] Shen Y,Tian Y,Yang J,et al. Dual effects of carnosine on energy metabolism of cultured cortical astrocytes under normal and ischemic conditions[J]. Regul Pept,2014,192-193:45-52
- [11] Dikalov SI,Ungvari Z. Role of mitochondrial oxidative stress in hypertension[J]. Am J Physiol Heart Circ Physiol,2013,305(10):H1417-1427
- [12] Schrauwen P,Hesselink MK. Oxidative capacity, lipotoxicity, and mitochondrial damage in type 2 diabetes [J]. Diabetes,2004,53(6):1412-1417
- [13] Chen YR,Zweier JL. Cardiac mitochondria and reactive oxygen species generation[J]. Circulation Res,2014,114(3):524-537
- [14] Yoboue ED,Mougeolle A,Kaiser L,et al. The role of mitochondrial biogenesis and ROS in the control of energy supply in proliferating cells [J]. Biochim Biophys Acta,2014,1837(7):1093-1098
- [15] Nickel A,Kohlhaas M,Maack C. Mitochondrial reactive oxygen species production and elimination[J]. J Mol Cell Cardiol,2014,73:26-33
- [16] Zhang GX,Lu XM,Kimura S,et al. Role of mitochondria in angiotensin II-induced reactive oxygen species and mitogen-activated protein kinase activation[J]. Cardiovascular Res,2007,76(2):204-212
- [17] Tu L,Pan CS,Wei XH,et al. Astragaloside IV protects heart from ischemia and reperfusion injury via energy regulation mechanism[J]. Microcirculation,2013,20(8):736-747
- [18] Elahi MM,Kong YX,Matata BM. Oxidative stress as a mediator of cardiovascular disease [J]. Oxid Med Cell Longev,2009,2(5):259-269
- [19] Qi W,Niu J,Qin Q,et al. Astragaloside IV attenuates glycosylated albumin-induced epithelial-to-mesenchymal transition by inhibiting oxidative stress in renal proximal tubular cells[J]. Cell Stress Chaperones,2014,19(1):105-114
- [20] 汪明辉,李双杰. 黄芪甲苷抗氧化机制对病毒性心肌炎保护作用的研究 [J]. 临床儿科杂志,2007,25(10):825-827,834

[收稿日期] 2015-03-24

热烈祝贺《南京医科大学(自然科学版)》在第三届中国学术期刊评价中被评为“RCCSE 中国核心学术期刊(A)”! 本次共有 6448 种中文学术期刊参与评价, 经过综合评价后得到期刊相应的等级, 共计 1939 种学术期刊进入核心期刊区。