

抑制 PPAR γ 表达对 BMSCs 成骨分化的影响

蒲龙^{1,2)}, 周旋然¹⁾, 江陈榕¹⁾, 李云轩¹⁾, 袁勇¹⁾
(1)昆明医科大学第二附属医院创伤外科, 云南昆明 650032;
(2)蒙自市人民医院关节运动创伤骨科, 云南蒙自 661100)

[摘要] **目的** 探究抑制过氧化物酶增殖物激活受体 γ (peroxisome proliferator-activated receptor γ , PPAR γ) 表达对 BMSCs 成骨分化的影响, 为原发性骨质疏松症 (primary osteoporosis, POP) 的治疗提供理论基础。**方法** 将骨密度正常患者提取的 BMSCs 分为正常对照组 (CON 组), POP 患者提取的 BMSCs 分为原发性骨质疏松组 (POP 组), 取 POP 组细胞加入 PPAR γ 抑制剂, 分为抑制剂组 (INR 组), 经成骨诱导分化后, 检测各组细胞中骨桥蛋白 (osteopontin, OPN)、骨钙素 (osteocalcin, OCN)、Osterix、Runx 相关转录因子 2 (runt-related transcription factor 2, Runx2) 的表达情况; 碱性磷酸酶 (alkaline phosphatase, ALP) 染色观察各组 BMSCs 成骨分化情况。**结果** POP 组 ALP 阳性细胞数低于 CON 组和 INR 组 ($P < 0.05$); 与 CON 组相比, POP 组中 OCN、OPN、Osterix、Runx2 表达量降低, 差异具有统计学意义 ($P < 0.05$); 与 POP 组相比, INR 组中 OCN、OPN、Osterix、Runx2 表达量升高, 差异具有统计学意义 ($P < 0.05$)。**结论** 抑制 PPAR γ 表达后, BMSCs 成骨分化特异性基因 (ALP、OCN、OPN、Osterix、Runx2) 表达增加。

[关键词] 原发性骨质疏松症; PPAR γ ; BMSCs; 成骨分化

[中图分类号] R68 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 2095-610X(2024)09-0017-07

Effect of Inhibiting PPAR γ Expression on Osteogenic Differentiation of BMSCs

PU Long^{1,2)}, ZHOU Xuanran¹⁾, JIANG Chenrong¹⁾, LI Yunxuan¹⁾, YUAN Yong¹⁾
(1) Dept. of Trauma Surgery, The 2nd Affiliated Hospital of Kunming Medical University, Kunming Yunnan 650032; 2) Dept. of Orthopedic Joint Sports Trauma, Mengzi City People's Hospital, Mengzi Yunnan 661100, China)

[Abstract] **Objective** To investigate the impact of inhibiting peroxisome proliferator-activated receptor γ (PPAR γ) expression on osteogenic differentiation of BMSCs, so as to provide a theoretical basis for the treatment of primary osteoporosis (POP). **Methods** BMSCs were extracted from patients with normal bone density and categorized into the normal control group (CON group). BMSCs extracted from patients with primary osteoporosis were categorized into the primary osteoporosis group (POP group). The cells from the POP group were treated with a PPAR γ inhibitor and divided into the inhibitor group (INR group). Following osteogenic differentiation, the expression of osteopontin (OPN), osteocalcin (OCN), Osterix, and runt-related transcription factor 2 (Runx2) was evaluated in the cells of each group. The alkaline phosphatase (ALP) staining was employed to assess the osteogenic differentiation of BMSCs in each group. **Results** The quantity of ALP-positive cells in the POP group was lower than that in the CON and INR groups ($P < 0.05$). The expression of OCN, OPN, Osterix, and Runx2 was found to be decreased in the POP group when compared to the CON group, with statistically significant differences ($P < 0.05$). Conversely, the expression of OCN, OPN, Osterix, and Runx2 was elevated in the INR

[收稿日期] 2024-03-20

[基金项目] 云南省科技厅-昆明医科大学应用基础研究联合专项基金资助项目(202201AY070001-128); 昆明医科大学第二附属医院院内科技计划项目(2022yk13); 昆明医科大学研究生教育创新基金项目(2023S297)

[作者简介] 蒲龙(1996~), 男, 云南麻栗坡人, 在读硕士研究生, 主要从事骨与关节疾病研究工作。

[通信作者] 袁勇, E-mail: yuanyongdoc@163.com

group when compared to the POP group, with statistically significant differences ($P < 0.05$). **Conclusion** Increased expression of osteogenic differentiation-specific genes (ALP, OCN, OPN, Osterix, Runx2) in BMSCs after inhibition of PPAR γ expression.

[**Key words**] POP; PPAR γ ; BMSCs; Osteogenic differentiation

原发性骨质疏松症(primary osteoporosis, POP)是一种全身骨矿含量低下、骨折风险增加、严重危害中老年人健康的常见病,但迄今为止,POP的分子发病机制仍不明确。随着我国社会人口老龄化的到来,POP的发病率也在逐年上升,并且在老年女性中发病率尤为显著^[1]。老年POP患者易发生骨折进而致畸、致残、甚至直接死亡,其生理健康及生活质量受到严重影响。因此,探寻骨质疏松发病机制中可干预的分子靶点,对于骨质疏松的预防和治疗具有重要的意义。

骨髓间充质干细胞(bone mesenchymal stem cells, BMSCs)成骨分化障碍与POP的发生密切相关。人体中成骨细胞、骨细胞、破骨细胞共同维持骨形成与吸收的稳态平衡,成骨细胞、脂肪细胞均来源于BMSCs,成脂和成骨分化程序是竞争性平衡关系,促进脂肪生成的机制会抑制成骨细胞分化程序^[2]。PPAR γ 信号途径的改变与BMSCs分化方向密切相关。PPAR γ 是脂肪细胞增殖和分化的主要调节因子^[3],并且可以抑制BMSCs成骨分化程序^[4]。T0070907是PPAR γ 的抑制剂,当浓度在0.6 μM 时能明显抑制破骨细胞功能及分化,当浓度小于3 μM 时,对成骨细胞没有明显的细胞毒性^[5]。既往研究表明PPAR γ 在POP发病机制中具有重要作用,但抑制PPAR γ 对BMSCs成骨分化的影响研究较少,因此本研究希望使用PPAR γ 抑制剂干预BMSCs诱导分化,观察成骨特异性标志物(Runx2, Osterix)、成骨分化相关基因(OPN、OCN)表达情况,探究抑制PPAR γ 表达对BMSCs成骨分化的影响,为POP的治疗提供理论基础。

1 材料与方法

1.1 BMSCs的来源、分组和鉴定

收集昆明医科大学第二附属医院10名单侧股骨颈骨折患者的股骨骨髓,其中骨量正常患者5名,POP患者5名,分别进行BMSCs的分离提取,并进行原代培养,将来自骨密度正常患者的BMSCs分为CON组,来自POP患者的BMSCs分为POP组,2组各随机取1株BMSCs进行后续实

验。经昆明医科大学第二附属医院伦理委员会批准(伦理审批号:审-PJ-科-2023-245),患者同意并签署知情同意书,在行单侧人工股骨头置换术中扩髓时,取约5 mL股骨骨髓,制成单细胞悬液,采用全骨髓贴壁法分离BMSCs。本研究采用高表达CD90,不表达CD45定义BMSCs^[6]。

1.2 细胞成骨诱导分化

对CON组及POP组进行成骨诱导分化,同时选取POP组细胞加入PPAR γ 抑制剂T0070907(MCE)诱导干预,作为抑制剂组(INR组)。参考相关文献^[5],本研究INR组使用的T0070907浓度为1.2 μM ,诱导分化后进行免疫荧光实验检测各组细胞中PPAR γ 的表达情况。

成骨诱导分化:在细胞传代至第3代时,细胞融合度为80%~90%,换掉BMSCs生长培养基(Gibco),加入BMSCs成骨诱导分化培养基(普诺赛),以后每3 d更换一次诱导分化培养基,培养21 d后,进行后续实验。

1.3 免疫荧光检测各组细胞中目标蛋白PPAR γ 的活性

加入抑制剂处理细胞,每孔加入1 mL 4%多聚甲醛固定30 min,0.5% TritonX-100(biosharp)通透细胞30 min,5% BSA摇床上室温孵育1 h,每孔加入500 μL (1:200)一抗4 $^{\circ}\text{C}$ 孵育过夜,每孔加入500 μL (1:200)对应二抗37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育2 h,每孔加入1 mL含DAPI的抗荧光淬灭剂(UE)孵育5 min,随后在倒置荧光显微镜下观察和拍照,使用ImageJ软件进行半定量分析。

1.4 ALP染色观察BMSCs成骨细胞分化情况

细胞铺板贴壁后4%多聚甲醛固定,使用BCIP/NBT碱性磷酸酯酶显色试剂盒(Beyotime)进行ALP染色,在显微镜下观察ALP阳性细胞数和拍照记录。

1.5 qRT-PCR检测BMSCs细胞中成骨分化相关转录因子Runx2、Osterix和成骨分化相关基因OPN、OCN的表达

用TRIGene(GenStar)提取总RNA,使用SPARKScript II First-strand cDNA synthesis Mix With gDNA Remover试剂盒(GenStar)将RNA纯化、逆转录为cDNA。PCR反应条件如下:93 $^{\circ}\text{C}$ 预变

性 2 min, 93 $^{\circ}$ C 1 min, 55 $^{\circ}$ C 1 min, 72 $^{\circ}$ C 1 min 循环 40 次, 72 $^{\circ}$ C 7 min 进行基因扩增。反应结束后用 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 法计算基因相对表达量。

1.6 WB 检测 BMSCs 细胞中成骨分化相关转录因子 Runx2、Osterix 和成骨分化相关基因 OPN、OCN 的蛋白表达

裂解细胞后, 提取总蛋白, 使用蛋白定量试剂盒(BCA 法)(Abbkine)检测蛋白浓度, 根据所测浓度加入适量样本进行电泳、转膜。将 PVDF 膜放入 5% 的 BSA 封闭液中室温封闭 1 h, 加入一抗(Runx2, Osterix, OPN, OCN, β -actin)(Abcam), 于 4 $^{\circ}$ C 冰箱中孵育过夜, 加入二抗。ECL 法显影曝光, 化学发光成像仪拍照, 采集图像数据后使用 Imagj 软件测量灰度值。

1.7 统计学处理

以上数据均来自 3 次独立实验所得到的均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$), 采用 SPSS 25.0 统计学软件对数据进行统计分析, 3 组间差异采用单因素方差分析及 LSD 检验进行比较, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 细胞鉴定

使用 WB 实验检测分离提取的细胞, 细胞不表达 CD45, 高表达 CD90, 所鉴定细胞为 BMSCs。见图 1。

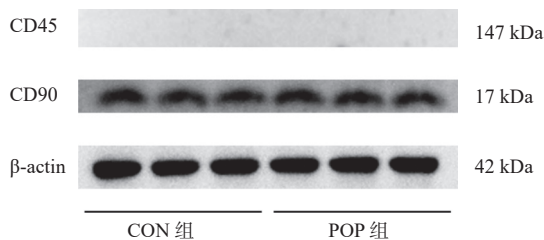


图 1 CD45、CD90 蛋白条带
Fig. 1 CD45, CD90 protein bands

2.2 PPAR γ 抑制剂对 BMSCs 中 PPAR γ 表达的抑制效率

POP 组中 PPAR γ 的表达明显高于 CON 组, 差异具有统计学意义($P < 0.05$); 使用 T0070907 抑制 BMSCs 后, INR 组中 PPAR γ 的表达比 POP 组明显降低, 差异具有统计学意义($P < 0.05$), 见表 1、图 2、图 3。

2.3 ALP 染色观察成骨细胞分化情况

BMSCs 诱导分化后第 21 天, POP 组 ALP 阳性细胞数少于 CON 组和 INR 组; POP 组中分化的成

表 1 免疫荧光半定量方差分析($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Tab. 1 The ANOVA for semi-quantification of immunofluorescence ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

组别	平均荧光强度
CON组	27.65 \pm 3.93
POP组	105.98 \pm 13.95
INR组	40.72 \pm 13.20
F	41.229
P	<0.001*

* $P < 0.05$ 。

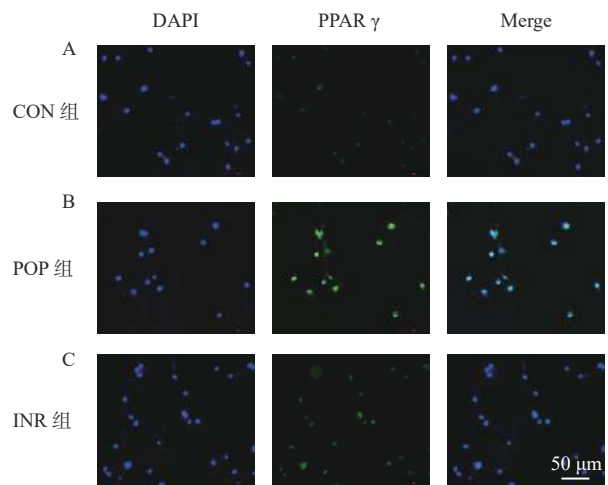


图 2 各组 PPAR γ 免疫荧光染色(标尺为 50 μ m)

Fig. 2 Immunofluorescence staining for PPAR γ in each group (scale bar: 50 μ m)

A: CON 组 PPAR γ 表达的免疫荧光图; B: POP 组 PPAR γ 表达的免疫荧光图; C: INR 组 PPAR γ 表达的免疫荧光图。

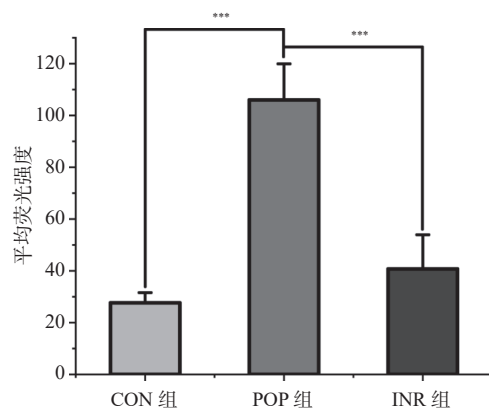


图 3 PPAR γ 表达情况

Fig. 3 PPAR γ expression

与 POP 组比较, *** $P < 0.001$ 。

骨细胞数少于 CON 组和 INR 组, 表明抑制 PPAR γ 表达可增强 BMSCs 的成骨细胞分化, 见图 4。

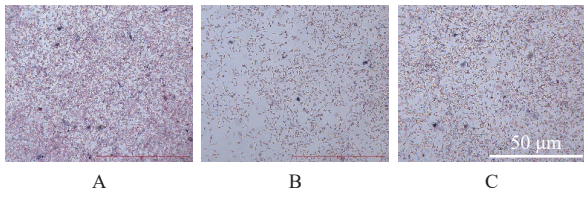


图4 各组ALP染色(中性红染色, 标尺为50 μm)

Fig. 4 ALP staining for each group (Neutral red staining, scale bar: 50 μm)

A: CON组ALP染色; B: POP组ALP染色; C: INR组ALP染色。

2.4 PPAR γ 抑制剂对BMSCs中成骨相关基因表达的影响

POP组OCN、OPN、Osterix、Runx2基因表达量均低于CON组和INR组, 差异具有统计学意义($P < 0.05$), 见表2、图5。

2.5 PPAR γ 抑制剂对BMSCs中成骨相关蛋白表达的影响

POP组OCN、OPN、Osterix、Runx2蛋白表达量均低于CON组和INR组, $P < 0.05$, 差异具有统计学意义, 见表3、图6。

表2 各组基因相对表达量($\bar{x} \pm s$, $n = 3$)

Tab. 2 Relative expression of genes in each group ($\bar{x} \pm s$, $n = 3$)

组别	OCN	OPN	Osterix	Runx2
CON组	0.95±0.07	1.21±0.20	1.20±0.17	1.23±0.20
POP组	0.40±0.07	0.46±0.03	0.58±0.11	0.48±0.04
INR组	0.66±0.05	0.80±0.03	0.85±0.12	0.86±0.16
<i>F</i>	59.832	31.647	15.947	19.007
<i>P</i>	<0.001*	0.001*	0.004*	0.003*

* $P < 0.05$ 。

3 讨论

POP已经成为一个重要的公共健康问题, 其发病机制复杂, 多种因素参与其中, 与年龄、雌激素缺乏等密切相关。随着中国人口结构的改变, 老龄化加剧, POP的患病率正在迅速增加, 但诊断率和治疗率极低, 诊疗水平城乡差异明显, 因此, POP的预防和治疗是一个巨大的挑战。近些年来已有研究表明氧化应激在骨质疏松发病中起

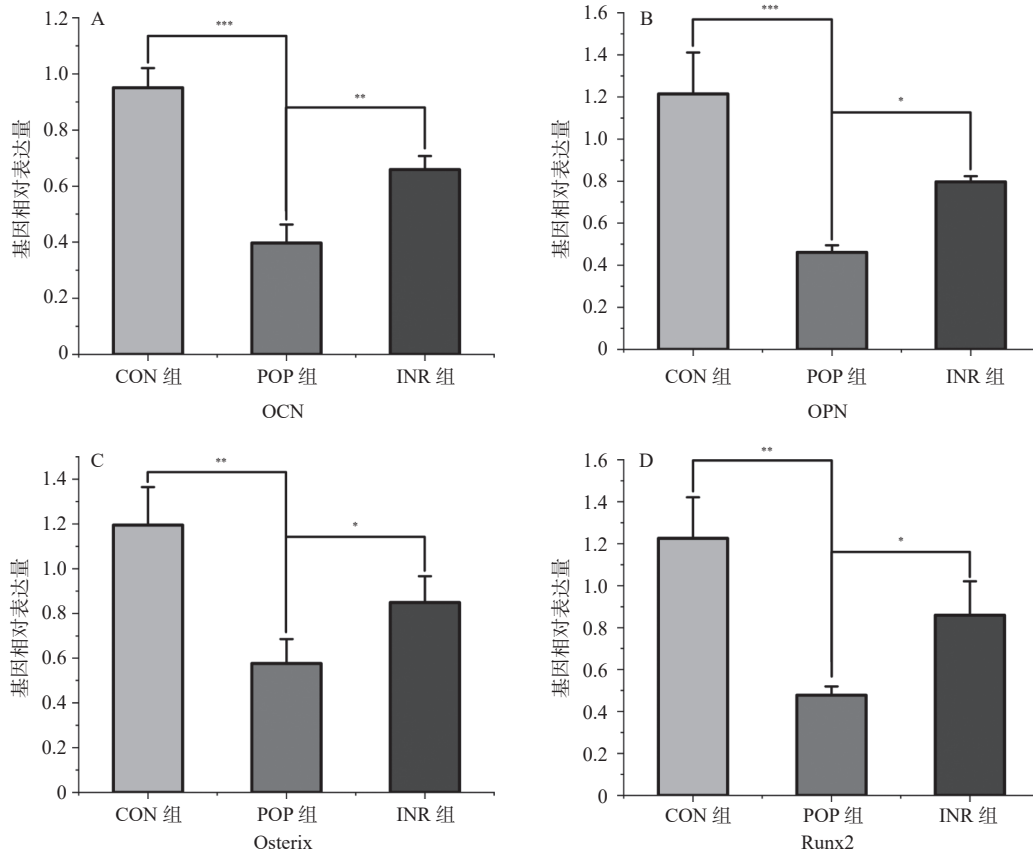


图5 基因相对表达量

Fig. 5 Relative mRNA expression

A: BMSCs中OCN基因相对表达量; B: BMSCs中OPN基因相对表达量; C: BMSCs中Osterix基因相对表达量; D: BMSCs中Runx2基因相对表达量。* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$ 。

表 3 各组蛋白相对表达量($\bar{x} \pm s, n = 3$)
Tab. 3 Expression levels of each group of proteins($\bar{x} \pm s, n = 3$)

组别	OCN	OPN	Osterix	Runx2
CON组	0.74 \pm 0.07	0.44 \pm 0.06	0.55 \pm 0.02	0.54 \pm 0.16
POP组	0.51 \pm 0.11	0.3 \pm 0.03	0.22 \pm 0.03	0.31 \pm 0.08
INR组	0.89 \pm 0.28	0.51 \pm 0.03	0.38 \pm 0.06	0.52 \pm 0.02
<i>F</i>	7.189	37.672	93.211	9.690
<i>P</i>	0.006*	<0.001*	<0.001*	0.002*

**P* < 0.05。

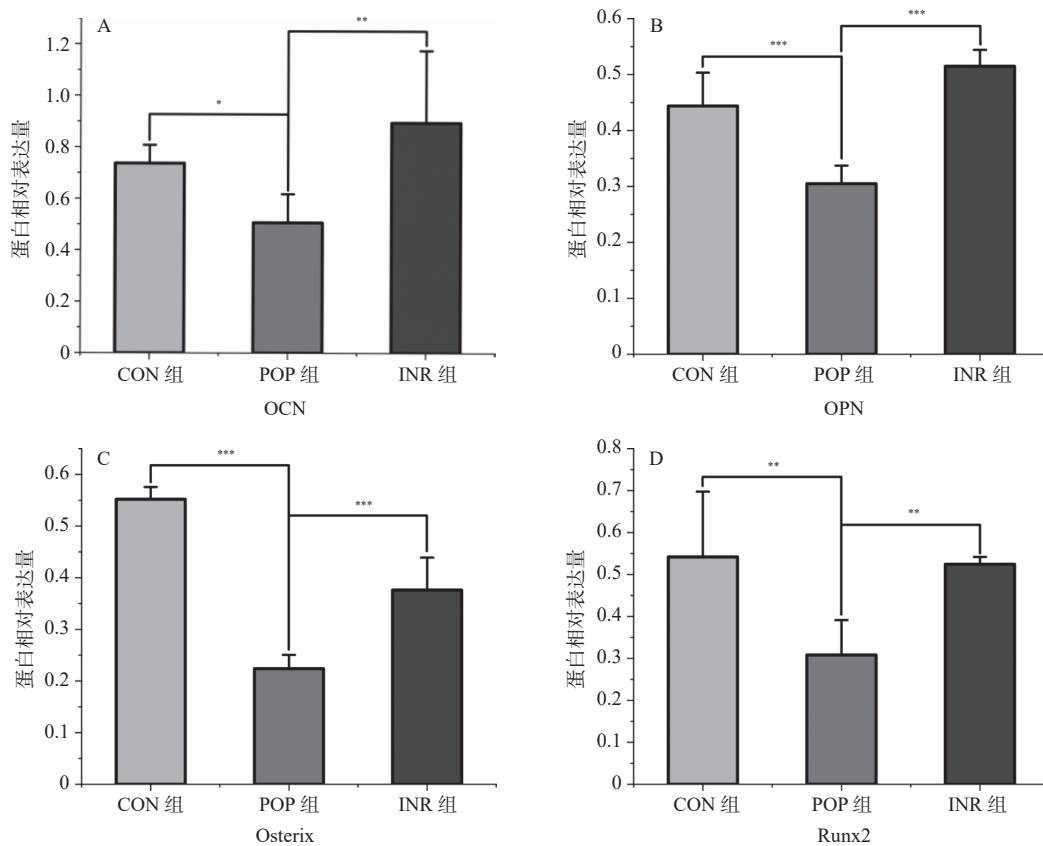


图 6 蛋白相对表达量

Fig. 6 Relative protein expression

A: BMSCs 中 OCN 蛋白相对表达量; B: BMSCs 中 OPN 蛋白相对表达量; C: BMSCs 中 Osterix 蛋白相对表达量; D: BMSCs 中 Runx2 蛋白相对表达量。**P* < 0.05, ***P* < 0.01, ****P* < 0.001。

到重要作用, 其中 PPAR γ 在 POP 的发病机制研究中也引起广泛的关注。

3.1 POP 患者 BMSCs 的成骨分化与正常人相比较弱

随着年龄的增长, 氧化应激和细胞衰老导致骨质疏松症的进展^[7]。活性氧(reactive oxygen species, ROS)和自由基对细胞信号的传递和其他生理功能至关重要。然而, 过量的 ROS 会导致细胞内氧化还原反应失衡, 破坏正常的生物功能, 从而导致氧化应激, 而氧化应激是导致多种疾病的

原因之一^[8]。当雌激素减少和机体衰老时, 机体对氧自由基的清除能力减弱, ROS 在体内积聚, 低水平的 ROS 可以维持骨稳态以及成骨细胞和破骨细胞之间的平衡^[9], 异常水平的 ROS 已被证明会导致成骨细胞和骨细胞死亡以及骨量的减少^[8]。人体研究发现, ROS 的增加和抗氧化剂水平的降低导致破骨细胞活性升高和细胞成骨潜能降低, 从而导致骨质疏松^[9-10]。

本研究中 POP 组成骨特异性标志物 OCN、OPN、Osterix、Runx2 在蛋白和 mRNA 水平表达

量均低于 CON 组, BMSCs 诱导分化后第 21 天 ALP 染色显示 ALP 阳性细胞数少于 CON 组, 差异皆有统计学意义($P < 0.05$), 结果表明 POP 患者 BMSCs 的成骨分化弱于正常人, 这可能与老年骨质疏松症患者骨髓中细胞氧化应激和衰老有关。在老年性骨质疏松症患者和小鼠骨质疏松模型中, 研究者发现不仅有骨密度的降低, 还有骨髓脂肪化^[11], 这可能与细胞凋亡增加、增殖减少、成骨细胞分化受损、成骨细胞衰老增加和成骨细胞功能失调, 年龄相关的成骨细胞功能下降, 导致骨髓更多的脂肪生成成为首选途径^[12]有关。机体中骨髓脂肪细胞的增加影响 BMSCs 成骨分化程序和导致骨髓中破骨细胞不成比例的增加, 减少骨形成, 增加骨吸收, 打破骨转换的平衡, 导致骨质疏松。

3.2 抑制 PPAR γ 表达能增强 BMSCs 成骨分化

关于 PPAR γ 在 POP 发病机制中的作用, 国内外学者进行了诸多的研究与实验。在敲低 PPAR γ 表达的小鼠模型中, 脂肪细胞的生成减少, 成骨细胞生成增加^[13]。Cao J^[14] 的研究发现在原代骨髓培养物和从 PPAR γ 条件性敲除小鼠中分离的 BMSCs 中, 脂肪生成完全消除, 成骨细胞生成显著增加。PPAR γ 可以抑制 BMSCs 的成骨分化程序。经典 Wnt 信号通路正向调节成骨细胞的增殖和分化, 抑制破骨细胞的功能^[15], PPAR γ 在 Axin2 基因启动子上有结合位点, 结合后能上调 Axin2 的表达, 从而负性调节经典 Wnt 信号通路^[16]。另外, Runx2 对成骨细胞分化和成熟至关重要, Runx2 诱导 BMSCs 向未成熟成骨细胞分化, 指导未成熟骨的形成, PPAR γ 的活性能抑制 Runx2 启动子转录, 下调 Runx2 表达^[17]。在本研究中, BMSCs 经过 T0070907 处理后, 免疫荧光实验结果显示 INR 组 PPAR γ 的表达量低于 POP 组; INR 组 OCN、OPN、Osterix、Runx2 基因和蛋白相对表达水平、ALP 阳性细胞数均高于 POP 组, 差异有统计学意义($P < 0.05$), 证明了 T0070907 通过抑制 PPAR γ 的表达增强 BMSCs 的成骨细胞分化, 这与上述研究结果是一致的。

综上所述, 既往研究探讨了 PPAR γ 对 BMSCs 成脂、成骨分化的影响, 本研究使用 PPAR γ 抑制剂 T0070907 抑制 BMSCs 后, BMSCs 成骨分化增强, 但是对于 PPAR γ 在 POP 中细胞分子水平的具体作用位点以及作用机制尚不明确。后续将研究 PPAR γ 表达改变对 BMSCs 成骨分化的关键位点的生物学功能及信号途径的影响, 进一步

探索新的基因位点及靶点, 明确 PPAR γ 介导的信号途径及对 BMSCs 双向分化的调控机制, 从 BMSCs 成脂及成骨分化的角度探讨 PPAR γ 信号通路在 POP 中潜在的分子机制及特异性治疗靶点, 为临床上预防及治疗 POP 提供新的思路, 为发展新的治疗干预措施提供理论基础。

[参考文献]

- [1] 中华医学会骨质疏松和骨矿盐疾病分会. 原发性骨质疏松症诊疗指南(2022)[J]. 中国全科医学, 2023, 26(14): 1671-1691.
- [2] Muruganandan S, Ionescu A M, Sinal C J. At the crossroads of the adipocyte and osteoclast differentiation programs: Future therapeutic perspectives[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2020, 21(7): 2277.
- [3] Wu H, Li X, Shen C. Peroxisome proliferator-activated receptor gamma in white and brown adipocyte regulation and differentiation[J]. *Physiological Research*, 2020, 69(5): 759-773.
- [4] Vita F, Gangemi S, Pioggia G, et al. Physical activity and post-transcriptional regulation of aging decay: Modulation of pathways in postmenopausal osteoporosis[J]. *Medicina-Lithuania*, 2022, 58(6): 767.
- [5] Li X, Ning L, Ma J, et al. The PPAR- γ antagonist T007 inhibits RANKL-induced osteoclastogenesis and counteracts OVX-induced bone loss in mice[J]. *Cell Communication and Signaling: CCS*, 2019, 17(1): 136.
- [6] Lee M J. Hormonal regulation of adipogenesis[J]. *Comprehensive Physiology*, 2017, 7(4): 1151-1195.
- [7] Yu B, Wang CY. Osteoporosis and periodontal diseases - an update on their association and mechanistic links[J]. *Periodontology*, 2000, 2022, 89(1): 99-113.
- [8] Agidigbi T S, Kim C. Reactive oxygen species in osteoclast differentiation and possible pharmaceutical targets of ros-mediated osteoclast diseases[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2019, 20(14): 3576.
- [9] Domazetovic V, Marcucci G, Iantomasi T, et al. Oxidative stress in bone remodeling: role of antioxidants[J]. *Clinical Cases in Mineral and Bone Metabolism*, 2017, 14(2): 209-

- 216.
- [10] Zhou Q, Zhu L, Zhang D, et al. Oxidative stress-related biomarkers in postmenopausal osteoporosis: A systematic review and meta-analyses[J]. *Disease Markers*, 2016, 2016: 7067984.
- [11] Abdallah B M. Marrow adipocytes inhibit the differentiation of mesenchymal stem cells into osteoblasts via suppressing bmp-signaling[J]. *Journal of Biomedical Science*, 2017, 24(1): 11-11.
- [12] Chandra A, Rajawat J. Skeletal aging and osteoporosis: Mechanisms and therapeutics[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2021, 22(7): 3553.
- [13] Ahmadian M, Suh J M, Hah N, et al. PPAR γ signaling and metabolism: the good, the bad and the future[J]. *Nature Medicine*, 2013, 19(5): 557-566.
- [14] Cao J, Ou G, Yang N, et al. Impact of targeted PPAR γ disruption on bone remodeling[J]. *Mol Cell Endocrinol*, 2015, 410: 27-34.
- [15] Albers J, Keller J, Baranowsky A, et al. Canonical wnt signaling inhibits osteoclastogenesis independent of osteoprotegerin[J]. *The Journal of Cell Biology*, 2013, 200(4): 537-549.
- [16] Li Y, Yao L, Lu J. IL-35 inhibits adipogenesis via PPAR γ -wnt/ β -catenin signaling pathway by targeting axin2[J]. *Int Immunopharmacol*, 2023, 122: 110615.
- [17] Komori T. Regulation of proliferation, differentiation and functions of osteoblasts by runx2[J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(7): 1694.

征稿启事

为积极支持和推动昆明医科大学学科建设和发展,进一步提升《昆明医科大学学报》的办刊质量,不断扩大本刊的学术影响力,特对高质量稿源进行广泛征集。(1)国家自然科学基金资助课题的综述类论文可以在学报正刊发表;(2)对国家自然科学基金资助课题、云南省自然科学基金资助课题及昆明医科大学“十三五”省级、校级重点学科立项建设的研究论文,给予优先刊登。另外,投稿时需同时附:投稿单位证明、论文诚信承诺书以及基金项目证明。欢迎广大临床科研教学人员、硕士及博士研究生踊跃投稿。

网上投稿 <http://kmykdx.cnjournals.cn>, 电话: 0871-65936489, 65393133, 65922951, 65922874。

昆明医科大学学报编辑部

2024年1月1日