

DOI:10.3969/j.issn.1673-5501.2009.04.010

染铅大鼠胎盘一氧化氮、基质金属蛋白酶-9 表达与胎盘组织超微结构的相关性

马海燕 李 红 王云英 李向红 张采欣

摘要 **目的** 观察 NO 和基质金属蛋白酶-9(MMP-9)在孕期铅暴露大鼠胎盘组织中的变化特征,及其与胎盘组织超微结构的相关性。**方法** 108 只大鼠分为4组(A、B、C组和对照组),对照组孕期饮服蒸馏水,A、B和C组分别于孕期不同阶段饮服0.025%醋酸铅溶液。原子吸收光谱法测定血铅水平。硝酸还原酶法测定胎盘组织 NO 含量。免疫组化法测定胎盘滋养层细胞 MMP-9 表达阳性率。电镜观察胎盘组织超微结构。**结果** ①A和B组孕鼠胎盘组织 NO 含量均高于对照组,差异有显著统计学意义($P < 0.01$);②MMP-9 评分4组间总体差异有显著统计学意义($H = 39.226, P < 0.01$),以B组的 MMP-9 阳性表达率最高,C组最低;③各组孕鼠胎盘组织超微结构示:对照组合体滋养层细胞微绒毛致密,胞质内细胞器丰富,内质网致密,有较多的线粒体,细胞间连接和基底膜清晰完整;A组胎盘微血管内皮细胞肿胀,基底膜增厚,微绒毛突起;B组滋养层巨细胞增生,空泡化细胞岛增多;C组滋养层细胞坏死,微绒毛稀疏,线粒体数目减少和粗面内质网池扩张。**结论** 铅暴露孕鼠胎盘组织中 NO 含量和 MMP-9 表达阳性率与胎盘组织超微结构的病理改变密切相关。

关键词 铅; 大鼠; 胎盘组织超微结构; 一氧化氮; 基质金属蛋白酶-9

The relationship between the expression of NO, MMP-9 and placenta cytoarchitecture in lead exposed rat

MA Hai-yan, LI Hong, WANG Yun-ying, LI Xiang-hong, ZHANG Cai-xin(Department of Paediatrics, Qingdao Municipal Hospital, Qingdao 266071, China)

Corresponding Author: MA Hai-yan, E-mail: mahy_cn@sohu.com

Abstract Objective To investigate the effect of lead exposure during various gestational periods on the expression of rat placental nitric oxide(NO) and matrix metalloproteinase-9(MMP-9), and their relationship with the placenta cytoarchitecture.
Methods 108 Wistar rats were randomly divided into four groups and fed with respective drinking solutions with or without 0.025% lead acetate during various gestational periods. Controls were given distilled water without lead; Group A was given distilled water containing 0.025% lead acetate throughout days 1 to 10 of gestation. Both group B and group C were fed with the same lead acetate water during days 11 to 20 or 1 to 20 of gestation, respectively. Blood lead levels were determined by atomic absorption spectrophotometry. The levels of NO were determined by nitrate reductase test. The expression of MMP-9 in placenta was determined by immunohistochemistry. Five microscopic fields ($\times 400$) in each placenta were randomly selected. The total cells positive for MMP-9 were counted by same observer for the entire study and verified by a second observer blinded to the study. Five random fields per placenta were scored. The immunoreactive intensity was determined according to immunoreactive cell scores and the immunoreactive chromatin scores. The immunoreactive cells were scored according to the number of positive cells in each field: 0($\leq 5\%$), 1(-25%), 2(-50%), 3(-75%) and 4($> 75\%$). The immunoreactive chromatin scores were classified into three grades: hadro-chromatin was scored 3, superficial- chromatin was scored 1 and that between 1 and 3 was scored 2. The immunoreactive intensity was classified into four grades: 0(-, negative), -2(+, weakly positive), -4(++, moderately positive) and >5(+++ ,strongly positive). Placenta cytoarchitecture was examined by an unmasked observer with a transmission electron microscope (TEM, Model JEM-1200EX, Jeol Jem, Tokyo). Pieces of placenta were fixed with 2.5% glutaraldehyde and 1% osmium tetroxide, dehydrated in ethanol of gradient concentrations, and permeated using EPON812 embedding solution.

基金项目 青岛市市南区科技发展计划项目:2008033

作者单位 青岛大学医学院附属青岛市立医院 青岛,266071

通讯作者 马海燕, E-mail: mahy_cn@sohu.com

Ultrathin sections were prepared and stained with uranyl acetate and lead citrate. **Results** ① The NO levels of the lead-exposed rat placenta were significantly higher compared to controls ($P < 0.01$). ② The expressions of MMP-9 were detected as yellow-brown pigment localizing in the langhans cells and zoarium trophoblastic cells of placental villus, mesenchymal fibroblasts, vascular endothelial cells and contractile fiber cells of vessel wall. The expression of MMP-9 in lead-exposed rats was significantly higher than that in controls ($H = 39.226, P < 0.01$). The expressions of NF-B between any two groups showed significant differences. The highest level of expression of MMP-9 was observed in group B, while group C showed the lowest level. ③ In group C, swollen placental microangium endotheliocytes, basal membrane thickening and microvilli evagination were observed under electronic microscopy. In group B, trophoblast giant corpuscles and vacuolization cells were increased in number. In group C, rat placental trophoblast showed cell necrosis, rough endoplasmic reticula appeared distended, mitochondria decreased in number and microvilli quantity decreased. **Conclusions** The expressions of rat placental NO and MMP-9 were associated with placenta cytoarchitectural changes.

Key words Lead; Rat; Placenta cytoarchitecture; Nitric oxide; Matrix metalloproteinase-9

胎盘是铅的敏感靶器官。铅在通过胎盘屏障和胎盘转运进入胎儿体内的过程中可直接造成胎盘组织的损伤,但其毒性机制目前尚不十分明确。由于胎盘组织的结构和功能变化密切相关着新生儿的出生状况及远期预后,因此孕期铅暴露所造成的胎盘组织损伤机制已日益受到关注。有研究证实,母体中的铅是胎儿铅暴露的唯一来源^[1]。本课题组前期研究发现,铅在通过胎盘屏障转运进入胎儿体内的过程中可直接造成胎盘组织结构的损伤。

NO和基质金属蛋白酶-9(MMP-9)是近年研究较多的参与女性孕期过程的重要生物学调节因子,在胎盘血管生成、组织生长、细胞外基质(ECM)的降解和重建等过程中发挥着重要作用^[2]。NO能调节妊娠期间血流动力学以适应妊娠需要,使胎盘有足够的血流供应以保证胎儿营养和氧气供给。体外实验也证明,适量的NO对维护孕早期胚胎发育及分化有重要作用。MMP-9是胚胎滋养层细胞侵入过程的限速酶,在滋养层细胞分泌的诸多基质金属蛋白酶(MMPs)中最为重要^[3],在滋养层细胞植入以及胎盘的形成功能等生殖过程中发挥重要作用。生理条件下,胎盘滋养层细胞能够产生一定量的NO,并通过调节MMP-9的表达和活性促进滋养层细胞侵入子宫。Hudicek-Martincic等^[4]研究发现,NO能诱导产生和分泌MMPs。本研究对不同孕期阶段铅暴露孕鼠的孕末期血铅水平、胎盘组织中NO含量、MMP-9阳性表达率与胎盘组织超微结构改变的相关性等进行了观察和分析。为早期评价孕妇和胎儿对铅的敏感性提供理论依据

1 方法

1.1 动物分组及模型制备 清洁级Wistar大鼠108只,雌性72只、雄性36只,体重200~250g(河南省医学实验动物中心提供,合格证号410116)。大鼠置于室内温度18~20℃、相对湿度40%~70%的屏障系统内饲养。适应性饲养10d。

将大鼠分为4组(A、B、C组和对照组),每组27只(雌

性18只,雄性9只,雌:雄以2:1合笼饲养)。根据大鼠孕期为3周的推算,将观察期设定为20d,发现阴栓当日为妊娠0d。醋酸铅溶液为0.025%,以蒸馏水配制。对照组:孕期全程(1~20d)饮服蒸馏水;A组:孕早期(1~10d)饮服醋酸铅溶液,孕后期(~20d)饮服蒸馏水;B组:孕早期(1~10d)饮服蒸馏水,孕后期(~20d)饮服醋酸铅溶液;C组:孕期全程(1~20d)饮服醋酸铅溶液。

1.2 血铅水平检测 各组孕鼠于妊娠第19~21天乙醚吸入麻醉后剖宫取胎,腹腔静脉取血,博辉原子吸收光谱仪测定血铅水平。标本的采集、保存和血铅测定均采用无铅化操作。

1.3 胎盘组织NO含量测定 各组孕鼠胎盘组织以冰盐水漂洗去除血液,以生理盐水为匀浆介质,匀浆机制备10%匀浆。匀浆以1000 r·min⁻¹离心5 min,取上清液,于-70℃保存待测。NO检测试剂盒购自南京建成生物工程研究所,按试剂盒说明书进行操作。

1.4 胎盘滋养层细胞MMP-9检测 MMP-9检测试剂盒购自武汉博士德公司,按照试剂盒说明书进行操作,以胎盘组织的细胞质内出现棕黄色细颗粒为MMP-9表达阳性。结果判定参照张明林等^[5]免疫组化积分标准,由2名观察者对切片进行盲式阅片,2名观察者结果不一致时取两者积分均值。任意选择5个高倍镜视野(×400),观察视野中所有滋养层细胞并计分:①按显色细胞所占百分比计分:0分:无阳性细胞;1分:阳性细胞数~25%;2分:阳性细胞数~50%;3分:阳性细胞数~75%;4分:阳性细胞数>75%。②按细胞有无显色及深浅计分:3分:强着色,着色和已知阳性片相同;1分:浅着色,但与阴性对照片有明显区别;2分:染色强度在浅着色和强着色间。将①②计分相加为免疫组化积分。根据总积分将表达等级分为:阴性(-):0分;弱阳性(+):~2分;中等阳性(++):~4分;强阳性(+++):>4分。

1.5 透射电镜检查 将孕鼠胎盘组织切成小块,2.5%戊二醛固定,锇酸后固定,树脂包埋,超薄切片机切片,醋酸双

氧铀硝酸铅染色。JEOL 公司 JEM-1200EX 透射电镜观察胎盘组织超微结构。

1.6 统计学方法 计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间均数比较采用单因素方差分析;计数资料以百分比表示,组间比较采用 χ^2 检验;等级资料采用 Kruskal-Wallis 法 H 检验,组间采用多重比较。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。采用 SPSS 13.0 软件进行统计分析。

2 结果

研究期间,对照组孕鼠自然分娩 1 例,A 组胎鼠吸收 2 例,B 组胎鼠吸收 2 例、未孕 1 例,C 组胎鼠吸收 2 例、水泡状胎块 1 例,未纳入分析。

2.1 各组孕鼠血铅水平比较 A、B 和 C 组孕鼠孕末期血铅水平均 $> 0.483 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ($100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$),与对照组差异有显著统计学意义 ($P < 0.01$),其中以 C 组的血铅水平最高(表 1)。

2.2 各组孕鼠胎盘组织 NO 水平比较 A 和 B 组孕鼠胎盘组织 NO 含量均高于对照组,差异有显著统计学意义 ($P < 0.01$),以 A 组的 NO 含量最高(表 1)。

2.3 各组孕鼠 MMP-9 免疫组化积分比较 对照组基带、海绵带细胞、滋养层细胞胞质及胞膜上 MMP-9 呈棕黄色细颗粒阳性表达,阳性细胞呈灶状分布(图 1A);A 组海绵带

表 1 各组孕鼠孕末期血铅及胎盘组织 NO 水平比较($\bar{x} \pm s$)

Tab 1 Comparisons of blood lead in the end of gravidity and placenta NO levels in different groups($\bar{x} \pm s$)

Group	n	Blood lead/ $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$	NO level/ $\mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1}$
Control	17	0.04 \pm 0.01	31.50 \pm 11.56
A	16	1.27 \pm 0.26	132.05 \pm 17.54
B	15	0.60 \pm 0.11	98.34 \pm 19.37
C	15	1.74 \pm 0.19	34.13 \pm 11.02
F		12.01	68.26
P		<0.01	<0.01

细胞、滋养层细胞胞质及胞膜上 MMP-9 呈棕黄色细颗粒阳性表达,阳性细胞呈散在、灶状分布,较对照组稀疏(图 1B);B 组海绵带细胞、滋养层细胞胞质及胞膜上 MMP-9 呈棕黄色细颗粒强阳性表达,阳性细胞呈较密集簇状分布(图 1C);C 组基带、滋养层细胞胞质及胞膜上 MMP-9 呈棕黄色细颗粒阳性表达,阳性细胞呈散在、点状分布(图 1D)。4 组间 MMP-9 免疫组化积分总体比较差异有显著统计学意义, $H = 39.226, P < 0.01$ (表 2),B 组的 MMP-9 阳性表达率最高,C 组最低;A、B 和 C 组间两两比较结果显示,B 组与 C 组免疫组化积分差异有统计学意义 ($U = 2.010; P < 0.05$),其他组间差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。

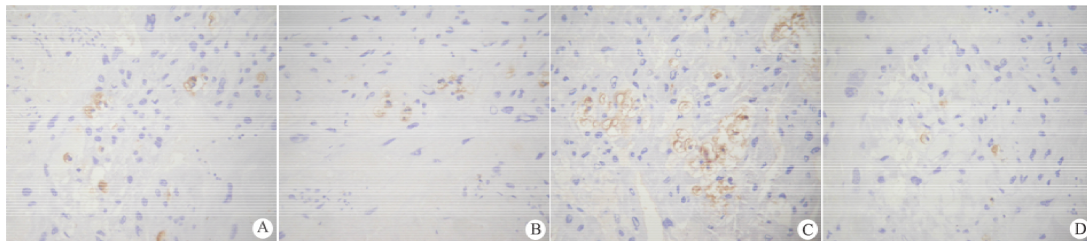


图 1 各组孕鼠胎盘滋养层细胞 MMP-9 免疫组化检测($\times 400$)

Fig 1 The immunohistochemistry of MMP-9 of placenta cytotrophoblast cells in different groups($\times 400$)

Notes A: The positive expression of MMP-9 in baseband and spongiosa areas cytotrophoblast cell kytoplasm and cell membrane, which showed focal buffy cells in control group; B: The positive expression of MMP-9 in langhans cell endochylema and cell membrane located in spongiosa areas, which showed dispersing and focal distribution in group A; C: The positive expression of MMP-9 in baseband cytotrophoblast cell kytoplasm and cell membrane, which showed close-up buffy cells in group B; D: The expression of MMP-9 was detected as yellow-brown pigment localizing in the cell kytoplasm and membrane of langhans trophoblastic cells, which showed punctiform and dispersing in group C

表 2 各组孕鼠胎盘滋养层细胞 MMP-9 免疫组化积分
Tab 2 The immunohistochemistry scores of MMP-9 in placenta cytotrophoblast cells in different groups

Group	n	Immunohistochemistry scores of MMP-9				Rate/%
		-	+	++	+++	
Control	17	4	1	6	6	76.47
A	16	7	3	4	2	56.25
B	15	1	1	1	12	93.33 ¹⁾
C	15	9	3	2	1	40.00

Notes 1) vs group C, $U = 2.010; P < 0.05$; -: negative; +: weak positive; ++: moderate positive; +++: strong positive

2.4 各组孕鼠胎盘组织超微结构 对照组合体滋养层细胞微绒毛致密,胞质内细胞器丰富,内质网致密,有较多的线粒体;绒毛毛细血管内皮细胞可见散在突起,血管壁排列整齐,间质内毛细血管腔大、壁薄,内含胎鼠红细胞,毛细血管基膜薄,其外可见周细胞,细胞间连接和基底膜清晰完整(图 2A)。A 组微血管内皮细胞肿胀,核增大,外形不规则,基底膜增厚且不规则,胞质有许多形态各异的微绒毛突起(图 2B)。B 组滋养层巨细胞增生,空泡化细胞岛增多(图 2C)。C 组间质内纤维断裂、溶解;细胞间连接不清晰,滋养

层细胞坏死,表面微绒毛肿胀或脱落、稀少;线粒体肿胀,数目减少,粗面内质网池扩张、数目增多,部分扩张呈小管状

或小泡状,膜上核糖体数量减少,有脱颗粒现象(图2D)。

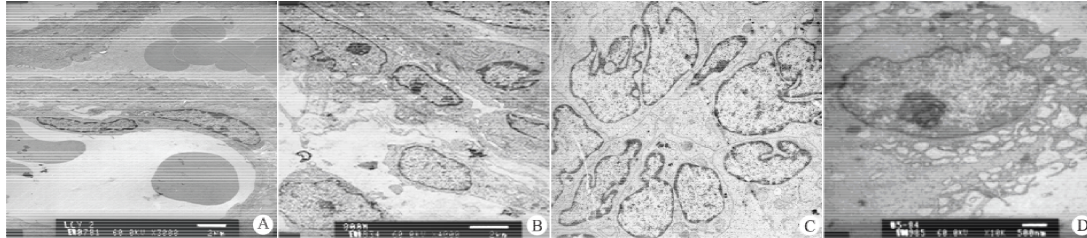


图2 各组孕鼠胎盘组织超微结构

Fig 2 Ultrastructure of placenta in different groups

Notes A:Control group: Vessel wall arranged regularly. Capillary lumens were dilated and parietes thinned. Micrangium basement layer became thinner. Fetal erythrocytes were seen in micrangium and perithelial cells surrounded were normal($\times 3\ 000$);B;Micrangium endothelial cells swelled, nucleus enlarged, outline irregular and basilemma thickened in group A($\times 4\ 000$); C:Trophoblast giant corpuscles and vacuolized corpuscle insulas increased in group B($\times 4\ 000$);D:Mitochondria were swollen. Rough endoplasmic reticula distended and increased in group C($\times 10\ 000$)

3 讨论

3.1 各组孕鼠孕末期血铅水平特点 各组孕鼠孕末期的血铅水平比较结果显示,A、B和C组孕末期血铅水平均高于对照组。血铅水平以孕期全程铅暴露的C组最高,孕早期铅暴露的A组次之,孕晚期铅暴露的B组最低。尽管A和B组铅暴露的时间均为10d,但由于暴露的时段不同,孕末期血铅水平差异有显著统计学意义($P < 0.01$),提示孕期铅暴露具有蓄积性以及铅蓄积后的组织再释放,因而升高了孕末期的血铅水平。同时,C组孕末期血铅水平显著高于A和B组,也说明了铅暴露具有血铅累积效应。

3.2 孕鼠胎盘组织NO含量与胎盘组织超微结构改变的相关性 NO是维持正常妊娠的重要调节因子。体内高水平NO可减弱胎盘血管对内皮素I、血栓素 A_2 的敏感度以降低血管张力,并可通过防止PLT黏附和聚集,抑制绒毛间隙的PLT聚集,以维持胎儿-胎盘循环的低阻力,保证胎儿的营养供应,有利胎儿发育。有学者比较足月及早产两组产妇产羊水NO含量,结果发现早产组羊水NO含量显著低于足月组,说明NO对维护正常妊娠过程有积极作用^[4]。

本研究结果显示,A和B组胎盘组织中NO含量均高于对照组($P < 0.01$),以A组NO的含量最高,为对照组的4.2倍,而C组NO含量与对照组差异无统计学意义($P > 0.05$)。尽管A和B组胎盘组织中NO含量较对照组明显升高,但胎盘组织超微结构仅表现为内质网轻度扩张及表面微绒毛致密,是细胞活跃的表现,说明此时病情较轻,尚可维持胎盘正常功能,其超微结构未发生器质性改变;当血铅水平进一步升高时(C组),NO含量显著降低,电镜下可见滋养层细胞坏死,表面微绒毛肿胀或脱落、稀少及间质内纤维断裂、溶解等改变。提示铅中毒在一定程度时,由于胎盘滋养层细胞代偿增生及绒毛血管内皮受损,使滋养层来

源的NO合成增加,以抵御有害因素入侵,保证组织器官的正常结构和功能。随着血铅水平的持续升高,机体可发生失代偿状态,使NO含量降低。NO的合成和分泌减少,可导致胎儿-胎盘循环阻力增高,胎盘灌注量下降,胎儿缺血缺氧,从而影响胎儿发育。而孕期胎盘毛细血管网的正常发育,才能减少胎儿-胎盘循环阻力,保证丰富的血流量。胎儿生长状况与胎盘周围的血流状态密切相关^[6]。

3.3 孕鼠胎盘MMP-9阳性表达率与胎盘组织超微结构改变的相关性 MMPs是一组锌依赖性蛋白水解酶,在人体内分布广泛,具有降解ECM成分的特性,参与新生血管的形成以及创伤的修复,并在肿瘤的侵袭和转移过程中起重要作用^[7]。研究发现,绒毛外滋养层细胞具有类似恶性肿瘤细胞的生物学特性,其侵蚀作用主要表现为能够分泌大量的MMP-9,选择性地水解子宫内层膜成分及基底膜^[7]。

本研究显示,A、B和C组在MMP-9表达定位上与对照组相同。MMP-9表达强度比较显示,MMP-9免疫组化积分4组间总体差异有统计学意义,以B组的MMP-9阳性表达率最高,C组最低。提示铅中毒在一定程度时,由于代偿机制可使MMP-9表达阳性率升高,从而维持滋养层细胞的浸润能力(B组)。当铅中毒持续加重后(C组),由于胎盘组织超微结构遭到破坏,出现滋养层细胞坏死,表面微绒毛肿胀或脱落、稀少;线粒体肿胀,数目减少,粗面内质网池扩张等,则失去代偿能力,使MMP-9表达阳性率降低。由于MMP-9在胎盘组织中的表达部位主要以基带、海绵带细胞和滋养层细胞为主,因此当铅导致胎盘组织滋养层细胞微绒毛和细胞器发生改变时,必然会对MMP-9的表达阳性率产生影响。胎盘MMP-9表达阳性率的降低可直接导致滋养层细胞浸润能力下降,胚胎着床过浅,胎盘螺旋动脉重铸

障碍,造成胎盘血流灌注不足,进而影响胎儿的生长发育。

本实验结果显示,铅暴露孕鼠胎盘组织中 NO 含量和 MMP-9 表达阳性率与胎盘绒毛结构的病理改变可能互为因果、互相影响,均与铅暴露致胎盘损伤的毒性作用密切相关。

本研究的局限性:由于孕鼠的孕期仅为 20 d,虽然通过动物模型的制备使得孕鼠孕末期血铅水平已达到了轻、中和重度铅中毒程度,但对研究人类孕期低水平铅暴露的毒性损伤尚有一定的局限性。

参考文献

[1] Manton WI, Angle CR, Stanek KL, et al. Release of lead from bone in pregnancy and lactation. *Environ Res*, 2003, 92(2): 139-151

[2] Li XH(李向红), Ma HY, Wang HY. 妊娠期基质金属酶的调控及其与胎盘发育的关系. *Chinese Medicinal Biotechnology*

(中国医药生物技术), 2007, 2(4): 310-312

[3] Cohen M, Meisser A, Bischof P. Metalloproteinases and human placental invasiveness. *Placenta*, 2006, 27(8): 783-793

[4] Hudicek-Martincic G, Kusan-Jukic M, Salihagic-Kadic. Nitric oxide——an important signalling molecule in normal and pathological pregnancy. *Lijec Vjesn*, 2004, 126(3-4): 80-85

[5] Zhang ML(张明林), Xu JM, Mei X, et al. Expression of matrix metalloproteinase-2 and matrix metalloproteinase-9 protein in colonic carcinoma. *World Chinese Journal of Digestology*(世界华人消化杂志), 2005, 13(20): 2494-2497

[6] Ma F(马方), Chen HX. 彩色多普勒测定胎儿脐、脑动脉加速时间的临床意义. *J Appl Clin Pediatr*(实用儿科临床杂志), 2004, 19(8): 687-688

[7] Gallegos NC, Smales C, Savage FJ, et al. The distribution of matrix metalloproteinases and tissue inhibitor of metalloproteinases in colorectal cancer. *Surg Oncol*, 1995, 4(2): 111-119

(收稿日期: 2009-01-16 修回日期: 2009-04-10)
(本文编辑: 丁俊杰)

《中国循证儿科杂志》2009 年第 4 卷第 4 期广告目录

封二	上海强生制药有限公司(美林, 布洛芬混悬液)
对封二	多美滋婴幼儿食品有限公司(多美滋婴儿配方粉)
对中文目次首页	雅培贸易(上海) 有限公司(喜康力)
对正文首页	清远华能制药有限公司(力欣奇速溶素片, 头孢羟氨苄)
封三	先声药业有限公司(安奇, 阿莫西林克拉维酸钾)
封四	上海强生制药有限公司(泰诺林, 对乙酰氨基酚混悬液/滴剂)

《胎儿和新生儿脑损伤》出版

复旦大学附属儿科医院在新生儿缺氧缺血性脑病和早产儿脑损伤的长期研究中, 积累了丰富的基础与临床研究的工作经验。邵肖梅教授和桂永浩教授组织了复旦大学附属儿科医院、妇产医院、华山医院的专家, 邀请了国内北京、广州、成都、长沙的新生儿专家, 还邀请了新西兰和英国的新生儿专家一同编写了《胎儿和新生儿脑损伤》这部专著。该书于 2008 年 1 月由上海科技教育出版社出版。本书的编写中以理论与实践相结合, 临床与科研相结合、治疗与康复相结合的原则, 全面系统地展示了国内、外胎儿和新生儿脑损伤的新理论、新技术、新方法和新经验。内容主要包括胎儿、新生儿的脑发育和解剖学; 胎儿、新生儿脑损伤的病因、发病机制; 晚近开展的应用于临床的影像学诊断及脑功能监测的新技术、新方法; 在新生儿缺氧缺血性脑病治疗方面, 对目前的常规治疗, 正在进行的亚低温多中心临床研究, 尚未取得共识的高压氧研究、神经干细胞移植的实验研究等均做了介绍, 同时对改善脑损伤的远期预后进行有效的康复也做了详细的介绍。本书的出版对提高我国新生儿脑损伤的诊断治疗水平, 减轻或减少脑损伤的远期不良预后将起到积极的作用。

本书大 16 开本, 99 万字, 文字流畅, 图文并茂, 证据翔实, 版式精美, 装帧考究, 定价 120 元/册。

更正

●本刊 2009 年第 4 卷第 3 期《手足口病临床分期及对策》一文, 第 242 页右栏第 2 行和图 2 图题中的脊柱“X 线检查”, 应为“MR 检查”。特此更正。