

脐带来源的华通氏胶间充质干细胞的分离、特性及应用前景

丁 赛, 张红霞, 朱海英*

(海军军医大学基础医学院细胞生物学教研室, 上海 200433)

【摘要】间充质干细胞(MSCs)的来源非常广泛。虽然各种组织来源的MSCs生物学特性不尽相同,但在标准培养条件下该类细胞均可以贴壁生长;细胞群体中有95%以上的细胞表达典型的间充质标记分子,如CD73、CD90和CD105,但缺乏造血标记分子CD14、CD19、CD34、CD45和CD79a的表达;特别是均具有分化为成脂细胞、成骨细胞和成软骨细胞的能力。这些性质是国际细胞治疗协会给出的定义该类细胞的最低标准。脐带间充质干细胞是指来源于新生儿脐带组织中的多能干细胞。目前来看,从脐带不同解剖学部位(区室)获得的MSCs的生物学性质也存在差异,其中从脐带华通氏胶中分离获得的华通氏胶间充质干细胞,在增殖能力、分化潜能、免疫调节能力等方面均明显优于其他区室来源的间充质干细胞,是用于组织器官损伤修复及免疫调节的一种理想的“种子”细胞,被认为具有更好的临床应用前景。本文围绕近年来华通氏胶间充质干细胞的分离建系、增殖特性、分化潜能以及临床应用方面的研究进展进行了综述,其中重点介绍了化学诱导分化方案的建立和优化,认为与通过遗传改变诱导重编程方法相比,化学诱导分化方法具有更好的临床应用潜力。

【关键词】脐带; 华通氏胶; 间充质干细胞; 分化潜能; 分离; 增殖特性

中图分类号: R329.2+8 文献标志码: A 文章编号: 1004-616X(2022)03-0233-04 doi: 10.3969/j.issn.1004-616x.2022.03.011

间充质干细胞最早在骨髓中被发现和鉴定,随后在人体胚胎及成体的多种组织中被陆续鉴定出来,这些组织主要包括成体骨髓、脂肪、滑膜、骨骼、肌肉、肺、肝、胰腺等组织以及羊水、脐带和脐带血等。研究表明,间充质干细胞的组织来源虽然不同,但是鉴于其共同的干细胞特性和免疫调节能力,其展现出的临床应用前景受到人们的格外关注。目前,临床应用方面研究较多的是骨髓来源的间充质干细胞,但其制备过程不容易进行质量控制,取材时对患者有损伤;其免疫原性强,不适用异体移植;还有,细胞数量、增殖能力以及分化潜能与供体的年龄均呈负相关,这都限制了骨髓间充质干细胞的临床应用。与之相比,胎盘和脐带组织中分离出的间充质干细胞不仅保持了间充质干细胞的生物学特性,而且分化潜力大、增殖能力强、免疫原性低、取材方便、无道德伦理问题的限制、易于工业化制备等特征,所以有可能成为更具临床应用前景的多能干细胞^[1]。

华通氏胶间充质干细胞(Wharton's jelly-derived mesenchymal stem cells, WJ-MSCs)是一种分离自脐带华通氏胶的间充质干细胞,其基因表达谱符合目前对MSCs的界定,也表达一定水平的*OCT-4*、*SOX-2*和*NANOG*等多能性基因,除了能分化为成骨、成脂、成软骨细胞外,还能分化成内胚层和外胚层衍生细胞。此外,WJ-MSCs不表达*MHC-II*,免疫原性很低,并在体内表现出免疫调节特性,这使得它们成为细胞疗法中同种异

体和异种移植的良好替代物。因此,WJ-MSCs是一种很有临床应用前景的间充质干细胞。

1 华通氏胶间充质干细胞的分离、建系和增殖特性

脐带间充质干细胞(umbilical cord mesenchymal stem cells, UC-MSCs)可以从整个脐带获得,但原代培养时可能会有血管内皮细胞等其他细胞混杂,造成细胞系不易纯化;也可以从脐带的不同区室分离建系,这些部位包括脐静脉的内膜下层、脐带内层、华通氏胶及其血管周围区^[2]。其中,WJ-MSCs含量最为丰富。华通氏胶位于血管之间、血管与外膜之间,是一种胶状物。

既往文献报道^[3],华通氏间充质干细胞的分离方法主要包括酶消化法和组织块培养法。

1.1 酶消化法分离华通氏胶间充质干细胞

无菌条件下取剖腹产新鲜脐带,用无菌PBS溶液洗去脐带残留血液,一直到整个组织块变白为止。选取其中部5~7.5 cm,剪成若干脐带小段(每段长2~3 cm),纵行剖开每段脐带,去除其中的动静脉、外层羊膜,留取华通氏胶组织(即血管之间以及血管与外膜之间的凝胶状物)。将其剪切成1 mm³以下的小块,再以平衡盐溶液冲洗后,浸于浓度为0.2%的I型胶原酶溶液中,置于37℃、CO₂体积分数为5%的培养箱中孵育45 min~2 h,消化后的混合液用含10%胎牛血清(FBS)、100

收稿日期: 2021-11-21; 修订日期: 2022-05-13

基金项目: 国家自然科学基金(32171387)

作者信息: 丁 赛, E-mail: 17369324575@163.com。*通信作者, 朱海英, E-mail: zinnia69@163.com

U/ml青霉素和100 μg/mL链霉素的DMEM培养基终止消化,反复吹打后将悬浮液移入离心管,离心收集细胞。用新培养液悬浮细胞,接种于细胞培养瓶或培养皿,置37℃、CO₂体积分数为5%、98%湿度的培养箱培养,待细胞贴壁后更换完全DMEM培养基溶液,以后每隔3 d换液1次,细胞贴壁融合后传代培养。

1.2 组织块贴壁法分离华通氏胶间充质干细胞

取出华通氏胶组织,剪成体积为3~5 mm³的小块,并用无菌解剖溶液再次清洗。后将组织块转移至细胞培养瓶中,平铺,并加入DMEM/F12培养液中(含10% FBS、100 μg/mL链霉素以及100 U/ml青霉素),静置于CO₂体积分数为5%、37℃的培养箱中培养。然后每天用倒置显微镜观察细胞生长情况(新生细胞具有贴壁生长的特性),待华通氏胶组织块附着后,每2~3 d更换培养基。大约7~10 d后,可以分离出具有间充质干细胞表型的细胞。显微镜下观察,细胞为典型的成纤维样细胞,为梭形或星状,呈平行或旋涡状排列。

比较两种方法,组织块贴壁法在分离WJ-MSCs时可以作为首选的方法。虽然其首次传代所用时间较长,但分离方法更易于保持人脐带间充质干细胞的活性,且获得的细胞纯度高、细胞活力好,同时费用低,生物污染的可能性低^[4]。酶消化法虽然首次传代所用时间较短,获得的细胞量更多,但费用高,细胞纯度不高,对细胞质量影响较大^[5]。另外,两种方法所获得的WJ-MSCs的免疫表型和多系分化能力无显著差异^[6]。

有研究小组将人脐带分为不同的区室,如羊膜上皮膜(amnion, AM)、脐带内膜(subamnion, SA)、华通氏胶(Wharton's jelly, WJ)和脐血管周围区域(perivascular, PV)。对比从脐带不同区室分离的细胞数量,华通氏胶中获得的MSCs是最高的,每厘米脐带的华通氏胶中可分离的活细胞数可达4.7×10⁶个^[7]。与其他区室相比,华通氏胶具有最大的表面积和体积,且细胞松散地位于华通氏胶内,所以无需酶处理就可快速分离细胞。由于其较短的群体倍增时间,因此仅需短期培养即可产生足够数量的细胞。

2 华通氏胶间充质干细胞的分化潜能

根据国际细胞治疗协会(International Society for Cellular Therapy, ISCT)的定义,WJ-MSCs符合目前定义间充质干细胞的最低标准,即在标准培养条件下贴壁生长,特异性表面抗原CD105、CD73和CD90阳性,且CD45、CD34、CD14、CD11b、CD79α、CD19和HLA-II阴性的细胞占群体的95%^[8],同时具有分化成脂肪细胞、骨细胞和软骨细胞谱系。已经有较多实验证明WJ-MSCs具有MSCs共同的三向分化潜能^[7,9]。但另一方面,与其他组织来源的MSCs相比,WJ-MSCs的三向分化潜能又有其特点,比如Karahuseyinoglu等^[10]所证明,与骨髓来源的间充质干细胞相比,WJ-MSCs具有更大的向软骨和成骨谱系分化的潜力,但向脂肪细胞分化的能力稍弱。与来自于脐带不同区室的MSCs相比,WJ-MSCs向脂肪分化的能力无差异,但是却显示出较强的骨和软骨分化能力。研究结果显示,与脐带PV、SA和AM来源的MSCs相比,暴露于骨细胞分化培养基的WJ-MSCs显示出最多数量的冯库萨(Von Kossa)染色细胞和

最大的结节染色强度。与脐带SA和AM来源的MSCs相比,暴露于软骨细胞分化培养基的WJ-MSCs和PV来源的MSCs显示出更多阿利新蓝(Alcian blue)染色阳性细胞。骨细胞标记基因骨钙素、骨桥蛋白、碱性磷酸酶和骨涎蛋白在WJ-MSCs中的表达水平显著高于PV、SA和AM来源的MSCs。类似地,与脐带PV、SA和AM来源的MSCs相比,WJ-MSCs中软骨细胞标记基因II型胶原、软骨寡聚基质蛋白、纤维调节蛋白和性别决定区Y框蛋白9的表达水平显著高于PV、SA和AM来源的MSCs(表1)^[7,11]。

表1 人脐带不同区室的MSCs的成脂、成骨和成软骨分化评分

	华通氏胶	脐血管周围	脐带内膜	羊膜上皮膜
成脂分化	++	++	++	++
成骨分化	+++++	+++	++	++
成软骨分化	+++++	+++	++	++

从胚胎发育上看,华通氏胶中的基质细胞来自胚外中胚层^[12],但目前的研究结果表明除了具有向中胚层衍生细胞分化外,WJ-MSCs还具有更广泛的分化潜能,能够向内、外胚层细胞及其衍生细胞分化。

2.1 WJ-MSCs向内胚层及衍生细胞分化

诱导WJ-MSCs向内胚层衍生细胞分化,是一种跨胚层的分化方向。到目前为止,已经有较多的报道证明WJ-MSCs具有肝向和胰腺细胞分化的潜能^[13]。其中Zhang等^[14]报道了使用肝细胞生长因子和成纤维细胞生长因子4诱导WJ-MSCs向肝分化,结果显示,诱导的细胞表达肝细胞特异性标志物,如白蛋白、人甲胎蛋白和细胞角蛋白18,同时糖原染色呈现阳性,表明这些细胞能够储存糖原。Zheng等^[15]报道了,通过肝源性分化方案将WJ-MSCs诱导分化为功能性肝样细胞,经检测,诱导后的细胞表达肝血清蛋白,如总蛋白、白蛋白、球蛋白和甲胎蛋白,同时糖原高碘酸-希夫染色阳性,而且细胞可摄取低密度脂蛋白。Bharti等^[9]还证明了向肝细胞分化后,获得的细胞具备了氮代谢和产生尿素的能力。

WJ-MSCs向胰腺细胞方向分化也获得了成功。WJ-MSCs细胞在神经元条件培养基和干细胞条件培养基培养后,细胞由长梭形逐渐变圆,并聚集成团。经检测,诱导后的细胞表达胰岛及胰腺β细胞相关基因,如PDX1、HLXB9、NKX2.2、NKX6.1和GLUT-2等,将这些分化的细胞移植入糖尿病大鼠模型,可明显降低血糖水平,有效改善体质量减轻症状,并且不会发生移植排斥反应,表明WJ-MSCs可分化成成熟的胰岛β样细胞,该细胞含有胰岛素原的C肽,能对血糖变化作出反应并释放胰岛素^[16]。

2.2 WJ-MSCs向中胚层及衍生细胞分化

由于WJ-MSCs来自于中胚层,所以体外诱导WJ-MSCs向中胚层谱系的细胞分化,到目前已经有了很多成功的例子。除了成骨细胞、成软骨细胞、脂肪细胞外,心肌细胞、骨骼肌细胞或内皮细胞也有较多成功的报道。

使用5-氮胞苷或心肌细胞条件培养基培养WJ-MSCs,检测到心肌肌钙蛋白I和N-钙黏蛋白的表达,可以观察到诱导分化后的细胞产生自律性搏动,由此证明了WJ-MSCs能分化成心肌细胞,并认为WJ-MSCs可作为心肌细胞的候选种子细胞^[17]。

Conconi等^[18]分选了CD105⁺/CD31⁻/KDR⁻ WJ-MSCs, 在培养基中添加马血清和鸡胚提取液, 证明了WJ-MSCs中的CD105⁺细胞能够在体外分化成表达肌源性因子5和成肌调节因子的骨骼肌细胞, 而且能在动物体内参与到骨骼肌修复当中。

Wu等^[19]进行的研究表明, 在血管内皮生长因子和碱性成纤维细胞生长因子存在下, WJ-MSCs分化为内皮细胞并表达成熟的内皮细胞标记物, 如CD31或CD34。分化后的细胞还获得了内皮细胞功能, 能够摄取乙酰化低密度脂蛋白。

2.3 WJ-MSCs向外胚层及衍生细胞分化

多项研究中均检测到了WJ-MSCs表达神经元特异性核蛋白, 这提示了WJ-MSCs具有神经方向分化的内在潜力^[20-21]。许多研究也证明了不同的诱导条件能成功诱导WJ-MSCs向神经方向分化。

Fu等^[20]通过使用神经元条件培养基培养WJ-MSC, 在诱导后第9天检测到神经元特异性标记物的高表达和随后的形态学变化, 表达神经纤维蛋白等神经元标志性蛋白的细胞比例达到87%。Mitchell等^[21]利用碱性成纤维生长因子、丁基化羟基茴香醚和二甲基亚砷进行多步骤神经方向诱导, 使WJ-MSCs转分化为具有神经元的形态, 并且表达 β -III微管蛋白、神经丝、神经元特异性烯醇化酶和酪氨酸羟化酶等儿茶酚胺能神经元的标志。

利用小分子化合物也能诱导WJ-MSCs的神经方向分化。Nan等^[22]利用优化浓度的川芎嗪在6 h内将WJ-MSCs诱导分化为表达神经特异性蛋白的神经元样细胞。这些神经特异性蛋白包括比如烯醇(化)酶, 神经纤维蛋白和胶质纤维酸性蛋白, 形态也有显著变化, 呈现神经细胞体外生长的典型特征。另一方面, Liang等^[23]报道了WJ-MSCs可以在体外快速分化为胆碱能样神经元。

另外, Hu等^[24]报道了WJ-MSCs能够在体外分化为视网膜祖细胞。视网膜祖细胞胚胎发育上起源于神经外胚层细胞。Hu等人在无血清神经干细胞条件培养基中添加了Dkk-1和LeftyA, 前者是Wnt/ β -catenin途径拮抗剂, 后者是Nodal信号通路拮抗剂。诱导后的WJ-MSCs由梭形转变为具有众多突起的球状细胞, 表达视网膜祖细胞标志物Pax6和Rx, 巢蛋白表达下调。

精子样细胞在胚胎发育中也属于外胚层衍生细胞。Huang等^[25]用全反式维甲酸、睾酮和睾丸细胞条件培养基将WJ-MSCs诱导分化为具有蝌蚪形态的精子样细胞, 该细胞表达生殖细胞特异性标记物Oct4、CD117(C-kit)、CD49f、Stella(DDPA3)或Vasa(DDX4)。

3 WJ-MSCs的应用展望

作为间充质干细胞家族的一个成员, 与骨髓间充质干细胞相比, WJ-MSCs的研究虽然仍处于起步阶段, 但已有的研究表明其具有独特的生物学特性。相信随着研究的深入, WJ-MSCs在将来会有更广泛的临床应用。另外, WJ-MSCs不表达MHC-II, 并具有独特的免疫调节特性^[26], 这使得它们非常适合同种异体和异种移植。不仅如此, 目前已经使用WJ-MSCs进行了许多临床前和临床研究^[27], 也已经有研究表明WJ-MSCs可以改善心血管疾病、免疫相关疾病或神经系统疾病患者的状况。动

物研究表明, WJ-MSCs可以改善帕金森氏病、组织纤维化、癌症和脊髓损伤等临床症状, 其机制可能在于其多向分化潜能, 能够分化成受损组织的细胞, 也可能是进入体内后, 其独特的旁分泌机制起到重要作用^[28]。再者, 对临床应用而言, 最重要的是其安全性。Gauthaman等^[29]的研究证明, WJ-MSCs在移植到体内后不诱导肿瘤发生或机体的炎症反应, 这说明在将来临床应用的安全性方面, WJ-MSCs比胚胎干细胞和诱导性多能干细胞更有优势。因此, WJ-MSCs是再生医学领域的又一个具有应用潜力的间充质干细胞。当然, Paladino等^[30]的研究结果也提出了一个值得关注的问题, WJ-MSCs的衰老会影响其在体内的免疫调节作用, Luo等^[31]的研究结果也提示衰老的人脐带间充质干细胞肝向分化效率也会下降, 所以应用到临床前仍要对细胞的生理状态进行全面评估。

参考文献

- [1] SRIRAMULU S, BANERJEE A, DI LIDDO R, et al. Concise review on clinical applications of conditioned medium derived from human umbilical cord-mesenchymal stem cells (UC-MSCs)[J]. *Int J Hematol Oncol Stem Cell Res*, 2018, 12(3): 230-234.
- [2] STEFAUO144SKA K, OVO17CEGOWSKA K, HUTCHINGS G, et al. Human wharton's jelly-cellular specificity, stemness potency, animal models, and current application in human clinical trials[J]. *J Clin Med*, 2020, 9(4): 1102.
- [3] 李艳琪, 王洪一, 姚尧, 等. 人脐带源间充质干细胞分离培养方法的改进[J]. *中国组织工程研究*, 2014, 18(10): 1609-1614.
- [4] HENDIJANI F. Explant culture: an advantageous method for isolation of mesenchymal stem cells from human tissues[J]. *Cell Prolif*, 2017, 50(2): e12334.
- [5] 马锡慧, 冯凯, 石炳毅. 人脐带间充质干细胞生物学特性及其研究进展[J]. *中国组织工程研究与临床康复*, 2011, 15(32): 6064-6067.
- [6] HUA J, GONG J, MENG H, et al. Comparison of different methods for the isolation of mesenchymal stem cells from umbilical cord matrix: proliferation and multilineage differentiation as compared to mesenchymal stem cells from umbilical cord blood and bone marrow[J]. *Cell Biol Int*, 2013, 38(2): 198-210.
- [7] SUBRAMANIAN A, FONG C Y, BISWAS A, et al. Comparative characterization of cells from the various compartments of the human umbilical cord shows that the wharton's jelly compartment provides the best source of clinically utilizable mesenchymal stem cells[J]. *PLoS One*, 2015, 10(6): e0127992.
- [8] DOMINICI M, LE BLANC K, MUELLER I, et al. Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells. The International Society for Cellular Therapy position statement[J]. *Cytotherapy*, 2006, 8(4): 315-317.
- [9] BHARTI D, SHIVAKUMAR S B, PARK J K, et al. Comparative analysis of human Wharton's jelly mesenchymal stem cells derived from different parts of the same umbilical cord[J]. *Cell Tissue Res*, 2018, 372(1): 51-65.
- [10] KARAHUSEYINOGLU S, CINAR O, KILIC E, et al. Biology of stem cells in human umbilical cord stroma: in situ and *in vitro* surveys[J].



- Stem Cells, 2007, 25(2): 319–331.
- [11] VANGSNESS C T Jr, STERNBERG H, HARRIS L. Umbilical cord tissue offers the greatest number of harvestable mesenchymal stem cells for research and clinical application: a literature review of different harvest sites[J]. Arthroscopy, 2015, 31(9): 1836–1843.
- [12] SOBOLEWSKI K, BAŃKOWSKI E, CHYCZEWSKI L, et al. Collagen and glycosaminoglycans of wharton's jelly[J]. Biol Neonate, 1997, 71(1): 11–21.
- [13] AFSHARI A, SHAMDANI S, UZAN G, et al. Different approaches for transformation of mesenchymal stem cells into hepatocyte-like cells[J]. Stem Cell Res Ther, 2020, 11(1): 54.
- [14] ZHANG Y N, LIE P C, WEI X. Differentiation of mesenchymal stromal cells derived from umbilical cord Wharton's jelly into hepatocyte-like cells[J]. Cytotherapy, 2009, 11(5): 548–558.
- [15] ZHENG G, LIU Y, JING Q, et al. Differentiation of human umbilical cord-derived mesenchymal stem cells into hepatocytes *in vitro*[J]. Biomed Mater Eng, 2015, 25(1 Suppl): 145–157.
- [16] CHAO K C, CHAO K F, FU Y S, et al. Islet-like clusters derived from mesenchymal stem cells in Wharton's Jelly of the human umbilical cord for transplantation to control type 1 diabetes[J]. PLoS One, 2008, 3(1): e1451.
- [17] WANG H S, HUNG S C, PENG S T, et al. Mesenchymal stem cells in the Wharton's jelly of the human umbilical cord[J]. Stem Cells, 2004, 22(7): 1330–1337.
- [18] CONCONI M T, BURRA P, DI LIDDO R, et al. CD105(+) cells from Wharton's jelly show *in vitro* and *in vivo* myogenic differentiative potential[J]. Int J Mol Med, 2006, 18(6): 1089–1096.
- [19] WU K H, ZHOU B, LU S H, et al. *In vitro* and *in vivo* differentiation of human umbilical cord derived stem cells into endothelial cells[J]. J Cell Biochem, 2007, 100(3): 608–616.
- [20] FU Y S, SHIH Y T, CHENG Y C, et al. Transformation of human umbilical mesenchymal cells into neurons *in vitro*[J]. J Biomed Sci, 2004, 11(5): 652–660.
- [21] MITCHELL K E, WEISS M L, MITCHELL B M, et al. Matrix cells from Wharton's jelly form neurons and Glia[J]. Stem Cells, 2003, 21(1): 50–60.
- [22] NAN C R, GUO L, ZHAO Z M, et al. Tetramethylpyrazine induces differentiation of human umbilical cord-derived mesenchymal stem cells into neuron-like cells *in vitro*[J]. Int J Oncol, 2016, 48(6): 2287–2294.
- [23] LIANG J, WU S, ZHAO H, et al. Human umbilical cord mesenchymal stem cells derived from Wharton's jelly differentiate into cholinergic-like neurons *in vitro*[J]. Neurosci Lett, 2013, 532: 59–63.
- [24] HU Y, LIANG J, CUI H P, et al. Wharton's jelly mesenchymal stem cells differentiate into retinal progenitor cells[J]. Neural Regen Res, 2013, 8(19): 1783–1792.
- [25] HUANG P, LIN L M, WU X Y, et al. Differentiation of human umbilical cord Wharton's jelly-derived mesenchymal stem cells into germ-like cells *in vitro*[J]. J Cell Biochem, 2010, 109(4): 747–754.
- [26] DENG Y N, YI S H, WANG G Y, et al. Umbilical cord-derived mesenchymal stem cells instruct dendritic cells to acquire tolerogenic phenotypes through the IL-6-mediated upregulation of SOCS1[J]. Stem Cells Dev, 2014, 23(17): 2080–2092.
- [27] 胡明智, 张晶莹, 杨国安, 等. miR-1-5p 修饰脐带间充质干细胞对系统性红斑狼疮 T 淋巴细胞亚群的免疫调节[J]. 中国组织工程研究, 2021, 25(31): 4928–4938.
- [28] SALEH M, FOTOOK KIAEI S Z, KAVIANPOUR M. Application of Wharton jelly-derived mesenchymal stem cells in patients with pulmonary fibrosis[J]. Stem Cell Res Ther, 2022, 13(1): 71.
- [29] GAUTHAMAN K, FONG C Y, SUGANYA C A, et al. Extra-embryonic human Wharton's jelly stem cells do not induce tumorigenesis, unlike human embryonic stem cells[J]. Reprod Biomed Online, 2012, 24(2): 235–246.
- [30] PALADINO F V, SARDINHA L R, PICCINATO C A, et al. Intrinsic variability present in wharton's jelly mesenchymal stem cells and T cell responses may impact cell therapy[J]. Stem Cells Int, 2017, 2017: 8492797.
- [31] LUO S, XIAO S, AI Y, et al. Changes in the hepatic differentiation potential of human mesenchymal stem cells aged *in vitro*[J]. Ann Transl Med, 2021, 9(21): 1628.

《癌变·畸变·突变》期刊订阅和购买渠道

2022年定价10元/册，全年刊期6期，全年定价60元。

①各地邮局订阅 邮发代号80-285

②科学出版社期刊发行部 联系电话010-64017032 / 64017539

③网上购买 搜淘宝店、微店，店铺名称：中科期刊（订阅及销售过刊）；或扫描右方二维码

