

学校编码: 10384

分类号 _____ 密级 _____

学号: 32620141150546

UDC _____

廈門大學

碩 士 學 位 論 文

产前有机氯农药暴露对胎儿基因组甲基化
调控的影响

Genome-wide DNA Methylation status in Neonates affected
by Maternal Organochlorine Pesticides Exposure during
Pregnancy

陈江慧

指导教师姓名: 赵本华 副教授

专业名称: 流行病学与卫生统计学

论文提交日期: 2017年04月

论文答辩时间: 2017年05月

学位授予日期: 2017年06月

答辩委员会主席: _____

评 阅 人: _____

2017年05月

厦门大学学位论文原创性声明

本人呈交的学位论文是本人在导师指导下,独立完成的研究成果。本人在论文写作中参考其他个人或集体已经发表的研究成果,均在文中以适当方式明确标明,并符合法律规范和《厦门大学研究生学术活动规范(试行)》。

另外,该学位论文为(厦门大学公共卫生学院卫生流行病学赵本华副教授)课题(组)的研究成果,获得(赵本华副教授)课题(组)经费或实验室的资助,在(深圳华大基因研究院)实验室完成。(请在以上括号内填写课题或课题组负责人或实验室名称,未有此项声明内容的,可以不作特别声明。)

声明人(签名): 陈江慧

2017年05月22日

厦门大学学位论文著作权使用声明

本人同意厦门大学根据《中华人民共和国学位条例暂行实施办法》等规定保留和使用此学位论文，并向主管部门或其指定机构送交学位论文（包括纸质版和电子版），允许学位论文进入厦门大学图书馆及其数据库被查阅、借阅。本人同意厦门大学将学位论文加入全国博士、硕士学位论文共建单位数据库进行检索，将学位论文的标题和摘要汇编出版，采用影印、缩印或者其它方式合理复制学位论文。

本学位论文属于：

1. 经厦门大学保密委员会审查核定的保密学位论文，于 年 月 日解密，解密后适用上述授权。

2. 不保密，适用上述授权。

（请在以上相应括号内打“√”或填上相应内容。保密学位论文应是已经厦门大学保密委员会审定过的学位论文，未经厦门大学保密委员会审定的学位论文均为公开学位论文。此声明栏不填写的，默认为公开学位论文，均适用上述授权。）

声明人（签名）：陈江慧

2017年05月22日

中文摘要

研究背景

双对氯苯基三氯乙烷 (2,2-bis(chlorophenyl)-1,1,1-trichloroethane, DDTs) 是在生产生活中最常见的有机氯农药之一 (Organochlorine pesticides, OCPs), 其半衰期较长, 是一类可以通过食物链传递从而蓄积在脂肪组织、而且具有生物放大效应的有机化合物。而产前母亲与胎儿时刻承受着环境污染物暴露的风险。有的感染, 特别是早期感染, 可能直接导致怀孕失败与流产, 或者造成胎儿畸形。关键问题是, 对于大部分没有导致流产与畸形的感染, 它们对孩子出生后的一生的疾病 (比如免疫疾病) 风险会产生重要的影响, 而这些影响可能会通过表观遗传学 (比如甲基化) 而记录下来, 但是到目前为止, 这一方面的知识还十分缺乏, 尚未有系统研究与报道。

研究目的

为验证产前 DDTs 暴露与个体生命历程中疾病发生风险这一可能的因果关系, 我们综合利用流行病学、生物信息学以及表观遗传学的研究方法, 有针对性地对产前 DDTs 暴露与新生儿脐血全基因组甲基化变化的关联性进行了研究。

研究方法

1、研究人群及样本收集: 选择厦门莲花医院作为我们研究的现场。根据纳入和排除标准, 对在该医院产检的孕妇进行相关信息的收集。在孕早期 (孕周 \leq 16 周) 收集孕妇外周静脉血样本 (5ml) 并进行问卷调查, 在产妇分娩时采集其新生儿的脐带血 (5ml)。

2、外周血和脐带血 DDTs 暴露水平检测: 采用气相色谱联用电子捕获器技术 (GC-MS-ECD) 检测孕妇外周血及新生儿脐血中 DDTs 六种同系物的含量。

3、DNA 甲基化水平分析: 根据 DDTs 检测结果选择最高浓度暴露的 12 对母子作为 DDTs 高暴露组 (病例组), 并选出低浓度 DDTs 暴露的 12 对母子作为 DDTs 低暴露组 (对照组)。提取样本的 DNA, 采用全基因组芯片对新生儿脐血基因组甲基化分布状态进行检测; 然后采用 R 软件对甲基化数据进行分析, 评估产前 DDTs 暴露水平与脐血基因组 DNA 甲基化变化的关联性。

研究结果

1、孕妇及新生儿体内 DDTs 暴露水平：（1）150 名孕妇外周血中 DDTs 的六种同系物 op' -DDT、 pp' -DDT、 op' -DDD、 pp' -DDD、 op' -DDE 及 pp' -DDE 的检出率分别是 29.3%、83.3%、24.0%、58.0%、34.7%及 82.0%。 pp' -DDT、 pp' -DDE、 pp' -DDD 的浓度中位数分别是 1.555ug/ml、0.932ug/ml 及 0.072 ug/ml；

（2）150 名新生儿脐带血中 DDTs 的六种同系物 op' -DDT、 pp' -DDT、 op' -DDD、 pp' -DDD、 op' -DDE 及 pp' -DDE 的检出率分别是 10.7%、69.3%、20.7%、29.3%、45.3%及 81.3%。 pp' -DDT、 pp' -DDE 的浓度中位数分别是 0.406ug/ml 及 0.417ug/ml。

2、甲基化差异位点分析：我们一共发现 1131 个甲基化差异位点（ P 值 <0.05 且 $|\beta|$ 值 ≥ 0.05 ），其中包含了 689 个高甲基化位点和 442 个低甲基化位点；这些差异位点分别分布于 538 个基因上，其中有 12%的免疫相关基因。基因本体论

（GO）分析结果发现差异性甲基化位点共参与了 7 条生物学过程、10 条分子功能和 8 条的细胞组分构成通路。Pathway 通路分析结果显示共有 5 个细胞通路与 DDTs 产前暴露有关（ P 值 <0.05 ），分别为真核生物核糖体生成通路、嗅觉传导通路、细胞色素 P450 对外来物质的代谢通路、神经营养蛋白信号传导通路和碱基切除修复通路。

研究结论

我们的研究结果显示产前高浓度 DDTs 暴露组与低浓度暴露组之间存在广泛的 DNA 甲基化状态的差异，说明 DDTs 暴露确实会导致胎儿基因组 DNA 的表观遗传学重组。这些甲基化差异的基因主要集中在固有免疫、自身免疫疾病、胰岛素抵抗、嗅觉细胞信号通路、细胞周期和癌症相关基因。

关键词：双对氯苯基三氯乙烷 孕妇 全基因组 DNA 甲基化

Abstract

Background

2, 2 bis chlorophenyl-1,1,1-trichloroethane(DDTs) is a kind of common Organochlorine pesticides(OCPs) around environment, and it has a long half-life, which can accumulate in adipose tissue and has biological amplification effect.

It is a critical period for the development of fetus during pregnancy, and the epigenome is particularly vulnerable to environmental pollutants in early stages of pregnancy, chemical pollutants exposure may be have adverse impact on the development of fetal immune, nervous, reproductive systems, and so on. However, whether DDTs exposure during pregnancy is one of the earliest etiology of these complex diseases, and whether epigenetic mechanisms can serve as one of the key pathways through exposure to DDTs, whether it will have long-term health consequences for the offspring, the current knowledge of this aspect is still very lack.

Objectives

In the current study, for the combination of epidemiology, epigenetics and bioinformatics methods, we investigate if different patterns of genome-wide DNA methylation can be detected in the umbilical cord blood of neonates exposed to maternal high level DDTs.

Methods

1. Participants in this study were selected from Lianhua Hospital, in Xiamen city, China. Pregnant women were asked to complete a questionnaire and be collected samples from umbilical cord and placenta after delivery.
2. Capillary gas chromatography (GC) with electron capture detection (ECD) was employed to determine the serum concentrations of DDTs residues concentration in the pregnant women's peripheral blood and umbilical cord blood.
3. According to the detecting results of DDTs levels, we chose 12 mother-child pairs of the highest exposure concentration as case group, and then chose another 12 mother-child pairs who have lowest level DDTs exposure as control group. Then DNA was isolated and the DNA methylation status were analyzed by BeadChip. Differential methylation gene analysis was conducted by R software to rasearch the

relationship between DDTs exposure during pregnancy and neonates' health outcome.

Results

1. The DDTs exposure levels of pregnant women and neonates: (1)150 pregnant women venous serum were detected for the six kind of DDTs. The detection rate of op' -DDT, pp' -DDT, op' -DDE, pp' -DDE, op' -DDD and pp' -DDD, were 29.3%, 83.3%, 34.7%, 82.0%, 24.0% and 58.0%. The venous serum median concentration of pp' -DDT, pp' -DDE and pp' -DDD were 1.555ug/ml, 0.932ug/ml and 0.072ug/ml; (2)150 umbilical cord serum were detected for the six DDTs. The detection rate of p' -DDT, pp' -DDT, op' -DDE, pp' -DDE, op' -DDD and pp' -DDD were 10.7%, 69.3%, 45.3%, 81.3%, 20.7% and 29.3%. The umbilical cord serum median concentration of pp' -DDT and pp' -DDE were 0.406ug/ml and 0.417ug/ml.

2. Differential DNA methylation between case group and control group: We identified 1131 CpG sites with significantly different DNA methylation levels in case group relative to control group. The identified sites represented 538 unique genes, 12% of these sites were immune-associated genes, which included 689 hypermethylation sites and 442 hypomethylation sites. Gene ontology analysis showed that these differential methylated CpG sites were participated in 7 kind of biological process passages, 10 kind of cellular function passages and 8 kind of cellular component passages. Pathway analysis showed a total of five cell pathways related to DDTs prenatal exposure (P value < 0.05), including Ribosome biogenesis in eukaryotes, Olfactory transduction, Metabolism of xenobiotics by cytochrome P450, Neurotrophin signaling pathway and Base excision repair.

Conclusions

Our study demonstrates a extensive methylation change associated with prenatal DDTs exposure. This DDTs exposure-related methylome exhibits a potential epigenetic regulation involved in the immune regulation, insulin resistance, Olfactory cell signaling pathways, cell cycle and tumorigenesis related gene, ect. It may predict to various complex diseases of these children delivered by mothers who exposed to DDTs during pregnancy. Further research on account of the results obtained from this study will provide more information for identifying specific epigenetic biomarkers in the exploration of these prenatal DDTs exposure-induced diseases.

Keywords: DDTs; Pregnancy; Genome-wide DNA Methylation.

缩略语

缩写	英文名称	中文名称
DDTs	2,2-bis(chlorophenyl)-1,1,1-trichloroethane	双对氯苯基三氯乙烷
OCPs	Organochlorine pesticides	有机氯农药
POPs	Persistent organic pollutants	持久性有机污染物
DDD	Dichlorodiphenyldichloroethane	二氯二苯二氯乙烷
DDE	Dichlorodiphenyldichloroethylene	二氯苯基二氯乙烯
GC-MS-E	Gas Chromatography-Mass Spectrometer-	气相色谱-质谱联用仪-电子捕
CD	Electron capture detector	获器检测仪
OR	Odds Ratio	比值比
95% CI	95% Confidence Interval	95%可信区间
PCR	Polymerase chain reaction	聚合酶链式反应
TNF- α	Tumor necrosis factor - α	肿瘤坏死因子- α
COX-2	Cyclooxygenase-2	环氧化酶-2
Dnmt	DNA methyltransferase	DNA 甲基化转移酶家族
SAM	S -adenosylmethionine	S-腺苷甲硫氨酸
PAH	Polycyclic Aromatic Hydrocarbons	多环芳烃
ACSL3	Long-chain acyl coenzyme A synthetase family - 3	长链酰基辅酶 A 合成酶家族-3
Tris 碱	Tri - hydroxymethyl aminomethane	三羟甲基氨基甲烷
EDTA	Ethylenediaminetetraacetic acid	乙二胺四乙酸
TAE	Tris/Acetate/EDTA	三羟甲基氨基甲烷+乙酸+乙二 胺四乙酸
UTR	Untranslated regions	非翻译区
DAG	Directed acyclic graph	有向无环图
GO	Gene Ontology	基因本体论
DNP	Deoxyribonucleoprotein	脱氧核糖核蛋白
OD	Optical density	吸光值
DMCpGs	Differentially methylated CpG sites	甲基化差异位点
MHC	Major histocompatibility complex	组织相容性复合体

目 录

中文摘要.....	I
英文摘要.....	III
缩略语.....	V
前言.....	1
1. 有机氯农药的介绍.....	1
2. 表观遗传学的概念.....	4
3. 本课题的基本假设和研究目的.....	6
技术路线图.....	8
第一章 孕妇及新生儿 DDTs 暴露水平研究.....	9
1.1 研究方法.....	9
1.1.1 研究对象.....	9
1.1.2 孕妇基本信息收集.....	10
1.1.3 样本的采集以及 DDTs 暴露水平的检测.....	11
1.1.3.1 样品采集.....	11
1.1.3.2 实验材料与仪器.....	11
1.1.3.3 样品的分离和提取.....	12
1.1.3.4 气相色谱联用电子捕获器分析技术.....	12
1.1.4 数据整理与统计分析.....	14
1.1.5 质量控制.....	14
1.1.5.1 流行病学调查中的质量控制.....	14
1.1.5.2 DDTs 检测的实验室质量控制.....	14
1.2 结果.....	15
1.2.1 孕妇基本特征资料.....	15
1.2.2 孕妇外周血与新生儿脐带血中 DDTs 的检测水平.....	15
1.2.2.1 标准曲线方程.....	15
1.2.2.2 外周血与脐带血六种 DDTs 同系物浓度.....	16
1.3 讨论.....	16
1.3.1 孕妇和新生儿 DDTs 暴露水平分析.....	17
1.4 小结.....	19
第二章 产前 DDTs 暴露对胎儿基因组甲基化调控的影响.....	21

2.1 研究方法	22
2.1.1 研究对象.....	22
2.1.2 外周血和脐带血 DDTs 暴露水平检测.....	22
2.1.3 新生儿脐带血全基因组 DNA 甲基化分析.....	23
2.1.3.1 甲基化样品选择.....	23
2.1.3.2 实验试剂与耗材.....	23
2.1.3.3 基因组 DNA 的提取步骤.....	24
2.1.3.4 DNA 的电泳凝胶.....	25
2.1.3.5 DNA 的浓度测定.....	25
2.1.3.6 DNA 的亚硫酸转化和扩增.....	26
2.1.3.7 DNA 的酶切、沉淀和悬浮.....	27
2.1.3.8 芯片杂交.....	27
2.1.3.9 芯片检测及分析.....	29
2.1.3.10 聚类分析.....	30
2.1.3.11 基因本体论分析.....	30
2.1.3.12 Pathway 分析.....	31
2.1.4 质量控制.....	31
2.1.4.1 流行病学调查中的质量控制.....	31
2.1.4.2 DDTs 检测的实验室质量控制.....	31
2.1.4.3 DNA 甲基化芯片分析过程的质量控制.....	32
2.2 结果	33
2.2.1 DNA 浓度和纯度检测结果.....	33
2.2.2 DDTs 高浓度暴露组和低浓度暴露组的基本信息比较.....	34
2.2.3 DNA 甲基化分析结果.....	34
2.2.3.1 数据过滤.....	34
2.2.3.2 归一化处理.....	35
2.2.3.3 甲基化水平的分布.....	35
2.2.3.4 差异性甲基化位点分析.....	36
2.2.3.5 甲基化程度差异显著位点.....	37
2.2.3.6 高甲基化和低甲基化位点的聚类分析.....	39
2.2.3.7 GO 分析结果.....	44
2.2.3.8 Pathway 分析结果.....	46
2.3 讨论	46

2.4 小结.....	51
总结.....	52
创新与不足.....	54
参 考 文 献.....	56
在学期间的研究成果.....	64
致 谢.....	66

厦门大学博硕士论文摘要库

Table of Contents

Abstract in Chinese	I
Abstract in English	III
Abbreviation	V
Intrduction	1
1. Introduction of Organochlorine pesticides	1
2. Conception of Epigenetics	4
3. Basic hypothesis and research purpose	6
Technical Route	8
Chapter 1 DDTs exposure levels of pregnant women and newborns	9
1.1 Methods	9
1.1.1 Objective.....	9
1.1.2 Basic information collection of pregnant women.....	10
1.1.3 Biological samples collection and DDTs exposure level detection.....	11
1.1.3.1 Biological sample collection.....	11
1.1.3.2 Experimental materials and equipment.....	11
1.1.3.3 Sample separation and abstraction.....	12
1.1.3.4 GC - ECD detection.....	12
1.1.4 Statistical analysis.....	14
1.1.5 Quality control.....	14
1.1.5.1 Quality control in epidemiological survey.....	14
1.1.5.2 Quality control in experimental detection.....	14
1.2 Results	15
1.2.1 Basic information of pregnant women.....	15
1.2.2 DDTs exposure levels in venous blood and umbilical cord blood.....	15
1.2.2.1 Standard curve equation.....	15
1.2.2.2 Six DDTs levels in venous blood and umbilical cord blood.....	16
1.3 Discussion	17
1.3.1 Analysis of DDTs exposure level in pregnant women and neonates.....	17
1.4 Brief summary	19
Chapter 2 Genome-wide DNA methylation in neonates and DDTs	

exposure during Pregnancy.....	21
2.1 Methods.....	22
2.1.1 Objective.....	22
2.1.2 Biological samples collection and DDTs exposure level detection.....	22
2.1.3 DNA methylation level analysis in neonates' umbilical cord blood.....	23
2.1.3.1 DNA Methylation sample selection.....	23
2.1.3.2 Experimental materials and equipment.....	23
2.1.3.3 DNA abstraction.....	24
2.1.3.4 DNA electrophoresis gelatin.....	25
2.1.3.5 DNA level detection	25
2.1.3.6 DNA sulphurous acid transformation and amplification.....	26
2.1.3.7 DNA restriction enzyme digestion, sediment and suspension	27
2.1.3.8 Chip hybridization.....	27
2.1.3.9 Chip detection and analysis.....	29
2.1.3.10 Cluster analysis.....	30
2.1.3.11 Gene ontology analysis.....	30
2.1.3.12 Pathway analysis.....	31
2.1.4 Quality control.....	31
2.1.4.1 Quality control in epidemiological survey.....	31
2.1.4.2 Quality control in DDTs experimental detection.....	31
2.1.4.3 Quality control in DNA methylation analysis.....	32
2.2 Results.....	33
2.2.1 Detection levels and purity of DNA.....	33
2.2.2 Basic information comparison between case group and control group.....	34
2.2.3 DNA methylation analysis results.....	34
2.2.3.1 Statistical filtration.....	34
2.2.3.2 Normalization	35
2.2.3.3 Distribution of DNA methylation levels.....	35
2.2.3.4 Differential methylation CpG sites analysis.....	36
2.2.3.5 Significant differential methylation sites.....	37
2.2.3.6 Cluster analysis of high methylation sites and low methylation sites	39
2.2.3.7 Gene ontology analysis results	44
2.2.3.8 Pathway analysis results.....	46
2.3 Discussion.....	46
2.4 Brief summary.....	51

Summary.....	52
Innovation and shortcoming.....	54
References.....	56
Research achievement at school.....	64
Appreciation.....	66

厦门大学博硕士论文摘要库

前言

1. 有机氯农药的介绍

在现代社会生活的各行各业中，各种合成有机化学物质随处可见，根据美国环境保护署（US Environmental Protection Agency）最新的报告表明，至今已有超过80,000种的合成化学物投入生产和使用^[1]。其中约有3,000种化学物每年的生产使用量超过100,000吨，且广泛应用于个人护肤产品、建筑涂料、家庭装修材料、电子产品、食品包装袋、药品外包装、杀虫剂等领域，与人体有密切接触，使得人群暴露率居高不下^[2,3]。

有机氯农药（Organochlorine pesticides, OCPs）是最常见的持久性有机污染物（Persistent organic pollutants, POPs）之一，其中主要有两种：含苯的OCPs和含环戊二烯的OCPs。含苯的OCPs主要有双对氯苯基三乙烷（2,2-bis(chlorophenyl)-1,1,1-trichloroethane, DDTs）和六氯环己烷（hexachlorocyclohexane, HCH）等；含环戊二烯的OCPs主要有狄氏剂、异狄氏剂、艾氏剂、硫丹、氯丹和七氯等。由于这类物质的化学性质稳定且具有较长的半衰期和生物放大效应，长期低浓度暴露对人体有潜在的健康影响，因此受到了社会各界广泛的关注，近年来关于OCPs暴露与人体健康和疾病关系的研究也逐渐增多。2001年由127个国家共同签署的《关于持久性有机污染物斯德哥尔摩公约》中被首先选入需要严格限制的12种POPs中，有9种都是OCPs，其中就包括DDTs^[4]。DDTs主要的代谢产物包括op'-DDT、pp'-DDT、op'-DDE、pp'-DDE、op'-DDD和pp'-DDD。DDTs是在1874年由德国化学家欧特马-勤德勒最先合成的，但是它作为杀虫剂的特性是直到第二次世界大战爆发后才被发现的，DDTs可以根绝由害虫传染的疾病，在短时间内就可消灭庄稼虫害，因此被广泛应用；但是在20世纪60年代科学家们发现DDTs在环境中难以降解，其半衰期约为10~15年，在各种动物中基本都能检测出DDTs的残留，甚至在南极企鹅体内也可以检测出^[5]。DDTs具有脂溶性，它一旦进入人体内，主要存储于脂肪组织、肾上腺、睾丸、甲状腺等，还有部分会富存在肝、肾以及包裹大肠的肠系膜脂肪里；DDTs

的这种贮存过程具有生物学放大作用，即DDTs浓度会随着食物链逐渐增加，小到千万分之一量级的摄入量就可以在体内蓄积到约10~15/百万的量级，其浓度可以增加近一百倍^[6]。而且动物研究表明鸟类体内含DDTs会导致蛋壳变软而不能孵化，尤其是处于食物链顶级的食肉鸟，好比鹰、隼等^[5]；孕妇长期暴露于低浓度DDTs可能会使流产率、早产率、低出生体重率等不良出生结局的危险性增加^[7]，因此自19世纪70年代起全球就陆续禁止生产和使用DDTs。

尽管在发达国家已经不使用DDTs作为农药了，但是由于DDTs的物理性质稳定、半衰期长以及容易通过食物链富集的特点，目前仍能检测出DDTs的低浓度残留。而且目前在一些发展中国家仍然还在使用DDTs，主要是用来预防疟疾^[8]。我国也于1983年起禁止生产使用DDTs，但是迄今为止，中国共使用了超过40万吨的DDTs，占世界总使用量的20%以上^[9, 10]，因为少许的DDTs仍被保存并用于控制蚊子的繁衍，还有预防疟疾、登革热、黄热病等^[11]。除此之外，DDTs还作为三氯杀螨醇的原料而被生产和使用，这也成为目前我国DDTs的主要污染源之一^[12]。还有在东南沿海地区，DDTs被用作轮船外壳的防污涂料，成为了近年来沿海地区DDTs的重要污染源^[13]。而且因为沿海居民具有特殊的膳食结构特点，例如特别喜欢食用对DDTs具有生物放大效应的海产品，会使DDTs在体内累积，导致沿海城市人群体内检出的DDTs浓度普遍较高^[14]。

国内外研究已证明DDTs具有类雌激素效应，进入人体后能和内源性雌二醇竞争与雌激素受体结合，介导基因转录，并呈剂量-效应关系，而且它们与雌激素有协同作用，并能刺激孕酮基因的表达，DDTs与雌激素受体结合后可以加强原有激素的生物学作用；其中p,p'-DDE还可以竞争性结合雄激素受体，使雄激素无法发挥其正常作用，从而降低了其生物学作用^[15]。因为DDTs各个成分与雌激素有着类似的化学构象，因此可与激素受体直接结合，激活受体并形成新的复合物，此复合物再与DNA结合区的DNA反应元件相结合，可以诱导/抑制靶基因的转录和翻译，产生类似天然雌激素的效应^[16]，从而影响人体正常的雌激素代谢和功能，导致相关疾病的发生。

此外，DDTs也是神经和实质脏器毒性物质，对人或动物都具有中等强度的急性或亚急性毒性。DDTs可以通过皮肤被吸收，是接触中毒的常见类型。实验室研究发现DDTs可以改变多种人/动物体内微粒体酶的活性，包括参与外源性化合物代谢过程的I相酶和II相酶等，即通过降低代谢酶活性使DDTs的降解和排出

Degree papers are in the "[Xiamen University Electronic Theses and Dissertations Database](#)". Full texts are available in the following ways:

1. If your library is a CALIS member libraries, please log on <http://etd.calis.edu.cn/> and submit requests online, or consult the interlibrary loan department in your library.
2. For users of non-CALIS member libraries, please mail to etd@xmu.edu.cn for delivery details.

厦门大学博硕士论文摘要库