学校编码：10384　　分类号_____密级_____

学号：　　UDC_____

厦门大学

硕　士　学　位　论　文

# TGF-β1 诱导大鼠肝星状细胞-T6 细胞系活化及上皮间质转化的研究

## TGF-β1-induces activation of HSC-T6 and epithelial-mesenchymal transition in rats

指导教师姓名：

专　业　名　称：内科学

论文提交日期：2017 年 4 月

论文答辩时间：2017 年 5 月

学位授予日期：

答辩委员会主席：_____

评　　阅　　人：_____

2017 年 4 月

厦门大学博硕士论文摘要库

# 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（　　）课题（组）的研究成果，获得（　　）课题（组）经费或实验室的资助，在（　　）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）：

年　　月　　日

厦门大学博硕士论文摘要库

# 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）：

年　月　日

厦门大学博硕士论文摘要库

# 目 录

中文目录 ..... I

Content ..... IV

中文摘要 ..... VII

Abstract ..... IX

第一章 TGF-β1 诱导大鼠肝星状细胞-T6 细胞系活化及上皮间质转化 ..... 1

1 前 言 ..... 1

1.1 肝硬化疾病的现状 ..... 1

1.2 肝纤维化与肝硬化的关系 ..... 2

1.3 肝星状细胞的起源与主要功能 ..... 2

1.3.1 肝星状细胞起源 ..... 2

1.3.2 肝星状细胞的主要功能 ..... 3

1.3.2.1 肝星状细胞和肝脏发育 ..... 3

1.3.2.2 肝星状细胞与肝纤维化发生 ..... 3

1.4 上皮-间质转化的特征 ..... 4

1.5 本研究的意义 ..... 6

2 材料与方法 ..... 7

2.1 主要仪器与材料 ..... 7

2.1.1 主要实验仪器 ..... 8

2.1.2 主要实验试剂及耗材 ..... 10

2.2 细胞培养 ..... 11

2.2.1 细胞复苏 ..... 11

2.2.2 细胞增殖及传代 ..... 12

厦门大学博硕士论文摘要库

2.2.3 细胞冻存.....12
**2.3 主要实验方法**.....12
2.3.1 MTT 法筛选 TGF-β1 的最适干预浓度.....12
2.3.2 倒置相差显微镜观察细胞形态改变.....13
2.3.3 免疫荧光染色法鉴定 F-actin 的表达.....14
2.3.4 RT-qRCR 检测 α-SMA,N-cadherin,vimentin,E-cadherin, Smad4 基因表达.....15
2.3.5 Western blot 检测 α-SMA,N-cadherin,vimentin,E-cadherin,Smad4 蛋白表达.....18
2.3.6 统计学分析方法.....20
**3 主要实验结果**.....21
3.1 不同浓度 TGF-β1 对 HSC-T6 存活率的影响.....21
3.2 TGF-β1 对细胞形态的影响.....22
3.3 TGF-β1 对细胞内 F-actin 的影响.....23
3.4 RNA 的完整性.....24
3.5 TGF-β1 对 α-SMA 和 N-cadherin、vimentin、E-cadherin mRNA 表达影响.....25
3.6 TGF-β1 对 HSC-T6 中 Smad4 mRNA 表达影响.....25
3.7 TGF-β1 对 α-SMA 和 N-cadherin、vimentin、E-cadherin 蛋白表达影响.....27
3.8 TGF-β1 对 HSC-T6 中 Smad4 蛋白表达影响.....28
**4 讨论**.....30
**5 结论**.....37
**第二章 microRNA-122 对 TGF-β1 诱导大鼠肝星状细胞-T6 细胞系上皮间质转化的调控作用研究**.....38
**1 前 言**.....38
**2 材料与方法**.....38
**2.1 主要试剂与材料**.....38
2.1.1 主要试剂.....38

厦门大学博硕士论文摘要库

2.1.2 主要材料.....39
**2.2 主要实验方法**.....39
2.2.1 MicroRNA-122 慢病毒载体的转染.....39
2.2.2 荧光相差显微镜观察 microRNA-122 慢病毒载体的转染.....40
2.2.3 RT-qRCR 检测 microRNA-122 在细胞内转染后的表达.....40
2.2.4 RT-qRCR 检测转染后细胞中 E-cadherin、Smad4 基因表达.....41
2.2.5 Western Blot 法检测转染后细胞中 N-cadherin 蛋白表达.....41
**3 主要实验结果**.....42
3.1 MicroRNA-122 慢病毒载体在细胞内的转染结果.....42
3.2 转染后 microRNA-122 mRNA 在肝星状细胞内的表达.....43
3.3 转染 microRNA-122 后，E-cadherin 基因表达上调和 Smad4 基因表达下调.....43
3.4 转染 microRNA-122 后，N-cadherin 蛋白表达下调.....44
**4 讨论**.....46
**5 结论**.....48
**6 不足与展望**.....49
**参 考 文 献**.....50
**附 录**.....58

厦门大学博硕士论文摘要库

# Content

**Content in Chinese** ..... I

**Content in English** ..... IV

**Chinese Abstract** ..... VII

**English Abstract** ..... IX

**Chapter 1 TGF-β1-induces activation of HSC-T6 and epithelial-mesenchymal transition in rats** ..... 1

**1 Introduction** ..... 1

**1.1 Current situation of hepatic cirrhosis** ..... 1

**1.2 Relationship between hepatic fibrosis and liver cirrhosis** ..... 2

**1.3 Origin and function of hepatic stellate cells** ..... 2

1.3.1 Origin of hepatic stellate cells ..... 2

1.3.2 Main function of hepatic stellate cells ..... 3

1.3.2.1 Hepatic stellate cells with liver development ..... 3

1.3.2.2 Hepatic stellate cells and liver fibrosis ..... 3

**1.4 Characteristics of epithelial mesenchymal transition** ..... 4

**1.5 Significance of this study** ..... 6

**2 Materials and Methods** ..... 7

**2.1 Materials and Instruments** ..... 7

2.1.1 Main experimental instruments ..... 7

2.1.2 Main reagent and supplies ..... 8

厦门大学博硕士论文摘要库

**2.2 Cell culture** ..... **10**
2.2.1 Cell recovery ..... **11**
2.2.2 Cell proliferation and passage ..... **11**
2.2.3 Cell cryopreservation ..... **12**
**2.3 Methods** ..... **12**
2.3.1 Screen the optimal concentration of TGF-β1 by MTT ..... **12**
2.3.2 Observe the morphology change of cell by inverted phase contrast microscope ..... **13**
2.3.3 Identify F-actin expression by immunofluorescence staining ..... **14**
2.3.4 Measure expression of α-SMA,N-cadherin,vimentin,E-cadherin, Smad4 mRNA . **15**
2.3.5 Measure expression of α-SMA,N-cadherin,vimentin,E-cadherin, Smad4 protein . **18**
2.3.6 Statistical analysis methods ..... **20**
**3 Main results** ..... **21**
3.1 Different concentrations of TGF-β1 affect HSC survival rate ..... **21**
3.2 Morphologic changes of HSC-T6 induced by TGF-β1 ..... **22**
3.3 F-actin changes of HSC induced by TGF-β1 ..... **23**
3.4 The integrity of RNA ..... **24**
3.5 TGF-β1 influence the impression of α-SMA and N-cadherin,vimentin,E-cadherin mRNA ..... **25**
3.6 TGF-β1 influence the impression of Smad4 mRNA in HSC-T6 ..... **25**
3.7 TGF-β1 influence the impression of α-SMA and N-cadherin,vimentin,E-cadherin protein ..... **27**
3.8 TGF-β1 influence the impression of Smad4 protein in HSC-T6 ..... **28**
**4 Discussion** ..... **30**
**5 Conclusion** ..... **37**
**Chapter 2 Research of microRNA-122 on TGF-β1-induces epithelial-mesenchymal transition of HSC-T6 in rats** ..... **38**

厦门大学博硕士论文摘要库

**1 Introduction** ..... **38**

**2 Materials and Methods** ..... **38**

**2.1 Materials and Instruments** ..... **38**

2.1.1 Main reagent ..... **38**

2.1.2 Main material ..... **39**

**2.2 Major methods** ..... **39**

2.2.1 Transfection of lentiviral vector miRNA-122 ..... **39**

2.2.2 Transfection of lentiviral vector of miRNA-122 by fluorescence microscopy ..... **40**

2.2.3 Expression of miRNA-122 mRNA in the transfected cells by RT-qRCR ..... **40**

2.2.4 Expression N-cadherin,Smad4 mRNA in the transfected cells by RT-qRCR ..... **41**

2.2.5 Expression E-cadherin protein in the transfected cells by Western Blot ..... **41**

**3 Main results** ..... **42**

3.1 Transfection of miRNA-122 lentiviral vector in cells ..... **42**

3.2 Expression of miRNA-122 mRNA in HSC-T6 after transfection ..... **43**

3.3 After transfected with microRNA-122,the mRNA expression of E-cadherin up-regulated whereas Smad4 down-regulated ..... **43**

3.4 After transfected with microRNA-122,the protein expression of N-cadherin down-regulated ..... **44**

**4 Discussion** ..... **46**

**5 Conclusion** ..... **48**

**6 Deficiency and prospect** ..... **49**

**References** ..... **50**

**Appendix** ..... **58**

厦门大学博硕士论文摘要库

# 摘 要

**目的**：研究转化生长因子-β1(TGF-β1)在大鼠肝星状细胞-T6细胞系(HSC-T6)活化及上皮间质转化(EMT)中的作用及其对TGF-β1/Smads信号通路的影响，揭示肝纤维化的发生与发展的分子病理机制，为肝纤维化的逆转治疗及肝硬化的防治提供新靶点。

**方法**：体外培养大鼠肝星状细胞-T6 细胞系，用四甲基偶氮唑盐(MTT)法筛选TGF-β1 对肝星状细胞-T6 细胞系的最适作用浓度；用 MTT 法筛选出的最适作用浓度(10 μg/L)的 TGF-β1 处理肝星状细胞 24 小时，倒置相差显微镜下观察细胞形态学的改变，免疫荧光染色法检测细胞内纤维形肌动蛋白(fibrous actin,F-actin)的表达，RT-qPCR 技术检测 10 μg/L TGF-β1 干预的实验组和未加 TGF-β1 干预的对照组中代表细胞活化的 α-平滑肌肌动蛋白(α-SMA)及代表上皮-间质转化的神经黏附素(N-cadherin)、波形蛋白(vimentin)、上皮黏附素(E-cadherin)基因的表达情况和 TGF-β1/Smads 信号通路中 Smad4 基因的表达水平；用不同浓度(0 μg/L、5 μg/L 和 10 μg/L)TGF-β1 处理肝星状细胞-T6 细胞系 24 小时，Western blot 技术检测 α-SMA、N-cadherin、vimentin、E-cadherin 和 Smad4 蛋白的表达情况。

**结果**：用10 μg/L TGF-β1干预肝星状细胞-T6细胞系24小时有最适的细胞存活率；TGF-β1刺激肝星状细胞-T6细胞系后，倒置相差显微镜下观察到细胞呈现拉伸状态，伪足增多使细胞呈星形样改变，细胞间连接变得疏松，呈现显著活化状态；免疫荧光结果显示10 μg/L TGF-β1实验组细胞内F-actin荧光聚集形成粗大的应力纤维丝，沿细胞长轴成束状样分布；10 μg/L TGF-β1实验组中α-SMA mRNA、vimentin mRNA和Smad4 mRNA的相对表达量明显高于对照组，E-cadherin mRNA的相对表达量明显减少($P<0.05$)；10 μg/L TGF-β1实验组细胞中N-cadherin mRNA的相对表达量稍高于对照组，但差异不具有统计学意义；与未加TGF-β1干预的对照组相比较，实验组中不同浓度(5 μg/L、10 μg/L)的TGF-β1呈剂量依赖性致α-SMA、N-cadherin、vimentin和Smad4蛋白的相对表达量上调，E-cadherin蛋白的相对表达量明显下调($P<0.05$)。

**结论**：1.TGF-β1 具有可诱导大鼠肝星状细胞-T6 细胞活化和发生上皮间质转化的作用，这种作用存在一定浓度依赖性。2. 经过 TGF-β1 刺激后，大鼠肝星状细胞-T6 细胞系中 Smad4 表达上调，TGF-β1/Smads 信号通路可能参与肝星状细胞-T6 细胞活化

厦门大学博硕士论文摘要库

与上皮间质转化的过程。

**关键词：**肝纤维化 肝星状细胞 TGF-β1 活化 上皮间质转化 Smad4

厦门大学博硕士论文摘要库

# Abstract

**Objective:** To observe the effect of TGF-β1 on activation and epithelial-mesenchymal transition, to investigate the effects of TGF-β1 on TGF-β1/Smads signaling pathway in rat hepatic stellate cells-T6,reveal the pathogenesis of hepatic fibrosis, and provide new target for the treatment of hepatic fibrosis and liver circosis.

**Methods:** Adopt the MTT method to screening the optimum working concentration of TGF-β1 in vitro HSC-T6 cultured. After the hepatic stellate cells were stimulated by TGF-β1 of 10 μg/L for 24 hours, the morphology of the cells was observed under inverted phase contrast microscope, the expression of F-actin which on behalf of cotoskeletal structure was detected by Immunofluorescence staining, the expression of α-SMA and N-cadherin mRNA, vimentin mRNA, E-cadherin mRNA as well as Smad4 mRNA werre measured by RT-qPCR; The protein changes of α-SMA and EMT relative marker protein of N-cadherin, vimentin, E-cadherin and Smad4 were assessed by Western blot after different concentrations (0 μg/L,5 μg/L,10 μg/L) of TGF-β1 interventing HSC-T6 for 24 hours.

**Results:** In our study, the MTT data showed that it had optimal cell survival rate when 10μg/L TGF-β1 dealt with cells for 24 hours. After HSC-T6 were treated with TGF-β1, cells stretched, pseudopodia increased and turn into stellate, cells connections were looser, so that represented a significantly activated state under inverted phase contrast microscope; Immunofluorescence results revealed there were F-actin filaments gathered to form stress and distributed along the long axis of the cells; RealTime-qPCR results showed that the expression of α-SMA mRNA, vimentin mRNA and Smad4 mRNA in experimental group were significantly higher than the control group($P<0.05$), while E-cadherin mRNA was obviously lower than the control group($P<0.05$), the expression of Smad4 mRNA was a little bit higher whereas no significantly than the control group. Western blot demonstrated that the protein expression of α-SMA, N-cadherin, vimentin and Smad4 were in dose-dependent increased while E-cadherin was in dose-dependent decreased comparing with the control group under the effect of different concentration of TGF-β1($P<0.05$).

厦门大学博硕士论文摘要库

**Conclusion:** 1. TGF-β1 might induce activation and epithelial-mesenchymal transition of HSC-T6 of rats, and its effect was concentration dependent. 2. Up regulation of Smad4 expression in HSC-T6 cells after stimulation with TGF-β1, TGF-β1/Smads signaling pathway may be involved in cell activation and epithelial mesenchymal transition of HSC-T6 cells.

**Key words:** hepatic fibrosis; hepatic stellate cells; TGF-β1; activation; epithelial-mesenchymal transition; Smad4

厦门大学博硕士论文摘要库

# 1 前 言

## 1.1 肝硬化疾病的现状

中国是全世界肝硬化发病率及其并发症死亡率极高的国家，肝硬化晚期常常引发多脏器损害，主要表现为两大结局：肝功能功严重受损和门静脉高压症状，如消化道出血、腹水、黄疸、肝性脑病、继发感染等严重的并发症，目前肝硬化并发症的死亡率在全世界最常见的死亡病因中位列第 14 位，在欧美国家已列为第 4 位。酒精性肝炎是欧美国家肝硬化的首要来源，而病毒性肝炎则是中国肝硬化的主要病因，其中最常见的为乙型病毒性肝炎，占 76.68%左右[1]。2006 年，Farrell 等研究学者提出由非酒精性脂肪性肝炎引起的隐源性肝硬化患者发生糖尿病、高脂血症和重度肥胖等代谢综合征的几率明显高于正常人[2]。同时据统计我国 40-65 岁肝硬化患者年诊疗费用占家庭年平均收入的 90-150%，这种直接的医疗开支和相关并发症治疗的高额费用使得我国目前针对肝硬化的防治面临非常严峻的挑战。2014 年英国的 Tsochatzis 带领的团队根据肝硬化疾病患者的愈后情况将其归纳总结成一个动态演变过程的综述发表于《The Lancet》[3]杂志，他们指出：第一期为肝功能代偿期，患者无胃底食管静脉曲张，1 年内死亡率约为 1%；第二期为肝功能代偿期，患者已伴有胃底食管静脉曲张，1 年内死亡率约为 3%-4%；第三期为肝功能失代偿期，患者出现腹水，1 年内死亡率上升至 20%；第四期为肝功能失代偿期，患者出现食管胃底静脉曲张并破裂出血症状，1 年内死亡率为 57%左右；第五期为肝功能严重失代偿期，患者出现继发感染和肾功能障碍，1 年内死亡率高达 67%。肝硬化的治疗无特异性药物，对于临床分期三期以上伴有腹水及由肝硬化演变而来的单个肿瘤直径不大于 5cm 或肿瘤数目少于三个，其中单个直径不大于 3cm 的肝细胞癌的患者，肝移植的手术治疗是其唯一的选择，而目前肝脏供体的短缺 和高额的移植手术费用往往使这部分患者失去生存的希望。因此，对于肝硬化患者提倡早期预防并早期干预，防止和阻止疾病进展过程，尽量避免或延缓临床失代偿性并发症的出现，特别是对于肝硬化临床分期达三期以上的患者而言，在二十一世纪面临的严峻挑战在于尽可能避免进行肝移植。

厦门大学博硕士论文摘要库

## 1.2 肝纤维化与肝硬化的关系

肝硬化(hepatic cirrhosis)是以广泛的肝细胞坏死、残存肝细胞发生再生、结缔组织增生与纤维隔形成，导致肝小叶结构破坏和假小叶形成的常见慢性进行性肝病，肉眼可见肝脏表面存在数量及大小不等的结节样改变。其中，肝星状细胞(HSC)活化并转化为肌成纤维细胞(myofibroblast,MFB)分泌大量沉积于 Disse 间隙中的细胞外基质，这一点早在 2010 年就被 Friedman SL 认为是肝纤维化发生的始动环节，是肝硬化中假小叶形成的关键因素[4]。肝纤维化(liver fibrosis)是在各种致病因素诸如乙肝病毒引起免疫反应和某些药物毒物直接损害及转化生长因子-β1、TNF-α 等细胞因子过度表达的作用下，细胞外基质合成多于降解，导致肝脏内纤维组织过度增生而引发肝脏自我保护性修复的病理过程[5]。

## 1.3 肝星状细胞的起源与主要功能

### 1.3.1 肝星状细胞的起源

19 世纪末由德国学者 von Kupffer 在肝脏研究中意外发现肝血窦旁存在一种星形样细胞，首次将其命名为“sternzellen”；随后 1898 年，Kupffer 将实验中发现的同为星形样状态的肝巨噬细胞误认为“sternzellen”；而这种观点持续了约半个世纪后，1951 年日本的 ToshioIto[6]在采用光学显微镜观察肝脏脂肪染色后的星形细胞形态的研究中，发现了这是一种含丰富脂质的细胞，并将这种细胞命名为伊东细胞(ItoCel1s)；直到 1971 年 Wake[7]采用 Kupffer 曾用过的氯化金染色法和苏丹红染色法相结合证实了 Kupffer 所命名的“sternzellen”和伊东细胞是同源型细胞，但两者均区别于肝巨噬细胞，推翻了 Kupffer 最初的观点，也揭开了这种星形样细胞的神秘面纱。1995 年，肝星状细胞才得到国际上公认的一致命名，20 世纪初以 Knook 为首[8]的研究者发现了从大鼠肝脏组织中分离和纯化的肝星状细胞的培养方法，为深入研究这种细胞的结构和功能做出了里程碑式的新突破。随后 2004 年，Suskind 和 Muench[9]报道人肝组织中 $CD34^{+}$cytokeratin $7/8^{+}$细胞表达内胚层标记成分，可能是肝星状细胞的前体细胞；2009 年 Asahina 和 Tsai[10]在研究小鼠的肝星状细胞和间充质细胞时发现 HSC 表达转录因子 Foxfl 和波形蛋白，推测 HSC 的前体细胞可能是来源于胚胎起源中胚层的间皮下细

厦门大学博硕士论文摘要库

胞。而肝星状细胞在表达神经生长因子、神经胶质原纤维酸性蛋白质等的神经外胚层来源假说和表达细胞角蛋-8、细胞角蛋-18 的内胚层来源假说也获得研究证据，至此对于肝星状细胞明确的胚胎起源仍具有异议。

### 1.3.2 肝星状细胞的主要功能

#### 1.3.2.1 肝星状细胞和肝脏发育

在哺乳动物肝脏发育过程中，肝星状细胞在终末小胆管的前体细胞微环境中通过细胞与细胞间的作用调控肝内皮细胞、造血细胞和肝上皮细胞的生长与增殖。而这种 HSC 与细胞间的作用被 Kubota 和 Yao 等[11]认为可能是 HSC 通过合成表皮生长因子(epithelial growth factor,EGF)、肝细胞生长因子(hepatic growth factor,HGF)等肝细胞丝裂原实现的；有证据支持 HSC 与造血细胞联合作用促进肝血管再生密切相关，HSC 通过上调造血干细胞诱导因子基质细胞衍生因子-1α 的表达，从而可以趋化表达基质细胞衍生因子-1α 受体 CXCR4 的造血干细胞参与肝血管形成。2007 年以 Kamo 为首[12]研究学者采用 Knook 等人研发的肝细胞分离及体外培养方法发现幼龄小鼠肝脏中 $Thy1^{+}$间质细胞可调节肝前体细胞的发育过程，而 $Thy1^{+}$细胞明显高表达肝星状细胞的标记蛋白如波形蛋白(vimentin)和平滑肌肌动蛋白(SMA)。当肝脏受炎症刺激时，肝星状细胞可合成细胞因子白介素-6 募集如 C 反应蛋白等急性时相分子促进肝细胞再生应对损伤，还可诱导 TGF-β1 分泌参与组织修复，同时 TGF-β1 还可通过自分泌途径进一步促进肝纤维化发展。综上，肝星状细胞可通过诱导不同的细胞因子分泌参与调控肝脏内多种细胞参与其发育和再生过程。

#### 1.3.2.2 肝星状细胞与肝纤维化的发生

静止型 HSC 约占肝细胞总数目的 5%-8%，既自身合成细胞外基质成分，又释放基质金属蛋白酶及抑制剂降解细胞外基质使细胞外基质的合成和降解达到平衡，通过自分泌和旁分泌趋化因子等方式参与维持肝血窦内微环境的稳态[13]。当肝脏受到炎症或机械刺激等损伤时，细胞表型由静止状态转变为活化状态，而活化型的肝星状细胞以表达 α-平滑肌肌动蛋白(α-SMA)和大量细胞外基质日益成为人们研究肝纤维化形成机制的重点关注对象。肝星状细胞被认为通过促使纤维原始细胞向肌成纤维细胞转化进一步促成胶原蛋白形成而参与了肝纤维化启动、进展和修复的全过程[14]。活化的肝星

厦门大学博硕士论文摘要库

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