

[文章编号] 1007-385X(2004)02-0084-05

BXD 纯系小鼠树突状细胞抗肿瘤免疫功能的基因定位分析

杨新文¹, Hui-Chen Hsu², William E. Grizzle², PingAr Yang², Huang-Ge Zhang²(1. 中南大学湘雅公共卫生学院, 长沙 410078; 2. 美国阿拉巴马大学伯明翰分校医学院, 美国, 阿拉巴马州, 伯明翰市, 35294)

[摘要] 目的: 探讨 DC 的抗肿瘤免疫功能是否与其基因位点有关。方法: 选择 19 株基因型明确的 BXD 纯系小鼠的树突状细胞(DC), MTT 法和 ELISA 分析对 DC 吞噬肿瘤细胞的作用; 肿瘤细胞诱导 DC 产生 IL-12 的能力; 经肿瘤细胞刺激后的 DC 对 T 细胞增殖和 IFN- γ 分泌的影响进行测定。用流式细胞仪检测 DC 表面抗原标志 CD80 和 CD54。有关数据用 MapManagerQTX and WebQTL 软件对 DC 抗肿瘤免疫的基因位点进行分析。结果: DC 刺激 T 细胞增殖的作用很大程度上取决于 BXD 各系的遗传差异。DC 吞噬肿瘤细胞及诱导 IL-12 产生的能力都与 DC 刺激 T 细胞的增殖相一致 ($P < 0.01$)。基因位点定量分析(QTL)分析在第 6 和第 13 号染色体上有 2 个位点可能与 DC 的肿瘤抗原提呈加工功能和 T 细胞毒作用有关。结论: 不同系的 BXD 小鼠, 其 DC 的抗原提呈、加工能力不同。DC 对肿瘤细胞生长的抑制与 IL-12 的诱导产生和 DC 表面共刺激分子的表达呈平行。其有关基因位点分别于第 6 和第 13 号染色体上。

[关键词] 树突状细胞; 抗肿瘤免疫; CTL; 基因位图

[中图分类号] R730.51 **[文献标识码]** A

Genetic Mapping of Cytotoxicity of Dendritic Cells Against Tumor Cells Using C57BL/6 X DBA/2 (BXD) BXD Recombinant Inbred (RI) Strains of Mice

YANG Xin-wen¹, Hui-Chen Hsu², William E. Grizzle², PingAr Yang², ZHANG Huang-Ge²(1. School of Public Health of Xiangya Medical College, Central South University, Changsha Hunan 410078, China; 2. The University of Alabama at Birmingham, Department of Medicine, Birmingham, Alabama 35294, U. S. A)

[Abstract] **Objective:** We utilized genotype well-defined 17 strains of BXD RI strains mice to determine if genetic loci underlie the dendritic cell response to the breast tumor cell line TS/A. Dendritic cells were assayed for tumor antigen processing, presenting function and IL-12 induction. **Methods:** T cells isolated from BXD strain 9 (BXD9, H-2d) or BXD strain 2 (H-2b) of mice previously immunized with breast tumor TS/A cells were stimulated *in vitro* with dendritic cells isolated from MHC matched BXD RI mice fed with TS/A tumor antigens for 3 days. Analysis of Dendritic phagocytosis apoptotic tumor cells. IL-12 induction of Dendritic cells isolated from BXD mice. Dendritic cells inhibit tumor cell growth and induce IFN- γ produced by T cells. Flow Cytometric Analysis of DC surface antigen expression. Dendritic cells Quantitative genetic mapping with MapManagerQTX and WebQTL. **Results:** Proliferation determined by MTT indicated that the ability of dendritic cells to stimulate T-cell proliferation greatly depended on BXD RI strain that was used as a stimulator. Furthermore, the phagocytosis capability of dendritic cells to tumor cells and induction of IL-12 *in vitro* were correlated ($P < 0.01$) with the T-cell proliferative response stimulated by dendritic cells. Quantitative genetic mapping identified two loci that were associated with the processing of tumor antigens by dendritic cells and the cytotoxicity response to the tumor cells. **Conclusions:** Processing and presenting of tumor Ag of Dendritic cells is variable and BXD strain dependent. Induction of the CD80 and CD54 Co-stimulation molecular is greatly affected by co-cultured tumor cells and BXD strain dependent. IL-12 induction and stimulation of tumor primed T cells are also BXD strain dependent. Inhibition of tumor growth by co-cultured DC were co-related with the induction of IL-12 and co-stimulation molecular induction and QTL mapped to Chromosome 6 and 13, respectively.

[Key words] dendritic cell; anti-tumor immunity; cytotoxic T cells; gene mapping

* 树突状细胞(dendritic cell, DC)是目前所知的抗原呈递能力最强专职抗原呈递细胞(antigen presenting

[作者简介] 杨新文(1954-), 女, 湖南长沙人, 副教授, 主要从事免疫毒理和细胞凋亡研究

[通讯作者] Huang-Ge Zhang, Email: Huang-ge.zhang@ccc.uab.edu

cells, APC), 由于它具有提呈加工肿瘤特异性抗原, 诱导有效的抗肿瘤免疫应答的能力。近年来已成为肿瘤生物学治疗研究中的热点^[1-4]。BXD 小鼠是由 C57BL/6 鼠和 DBA/2 鼠 F₂ 交配(前者对植入性肿瘤具有抵抗力而后者却具有易感性), 传代 20 代后获得的纯合子动物, 这种纯合子品系表现出广谱特性, 包括不同个体的免疫反应在强度和类型上的差异^[5-6], 因此是研究机体抗肿瘤免疫反应机制的理想动物模型。亦被广泛用于疾病易感性的基因定位分析^[7-8]。

Grizzle^[9] 等的实验研究发现, 同种 BXD 动物在接受同源性乳腺癌肿瘤细胞 TS/A 刺激后所诱导的宿主抗肿瘤免疫应答存在有个体差异, 在 14 个系的 BXD 小鼠体内接种 TS/A 后, 其肿瘤的发展呈现 4 种不同的模式, 表明同种异体的抗肿瘤免疫功能存在差异。但这种差异产生的机制还不太清楚。基于 DC 在宿主抗肿瘤免疫反应中具有非常重要的作用, 这种差异是否与 DC 诱导宿主产生抗肿瘤免疫能力的基因背景有关? 我们用同源性乳腺癌细胞株 TS/A 对 19 个系的 BXD 小鼠 DC 细胞的抗原加工提呈功能和诱导 IL-12 的作用进行分析。现将结果报告于下。

1 材料与方法

1.1 实验对象

雌性 BXD 纯系小鼠, 24~25 周龄; 是由 DBA/2 小鼠 F2 和 C57BL/6 小鼠杂交, 传代 20 代, 获得的纯合子动物。购自 Jackson 实验室 (Bar Harbor, ME)。饲养在无菌和人工控温, 控光照的环境。本次试验采用 BXD1, BXD2, BXD6, BXD8, BXD9, BXD11, BXD12, BXD14, BXD16, BXD19, BXD22, BXD24, BXD25, BXD27, BXD28, BXD29, BXD30, BXD31 和 BXD32 共 19 株。

乳腺癌细胞株 TS/A 来源于 BALB/c 雌性小鼠的自发性乳腺癌, 由 Dr. T. SchüLER (Berlin University, Berlin, Germany) 惠赠。细胞在含 10% 胎牛血清的 1640 培养基中, 于 37°C, 5% CO₂ 及具有一定湿度的培养箱中生长, 常规传代培养。

1.2 主要试剂

重组的可溶性小鼠粒-巨噬细胞集落因子 GM-CSF (PeproTech Inc., Rocky Hill, New Jersey, USA); 分泌相应单克隆抗体的杂交瘤细胞株 B220 (clone RA3-3A1/6.1), CD4 (clone GK1.5), CD8 (clone 53-6.72), and Ia (B21-2) (ATCC, Manassas, VA, USA); LPS (Sigma); 微小磁珠标记的羊抗鼠 IgG (Biosource International, Camarillo, California, USA); AdGFP 由 Dr. Moutz 实验室构建 (University of Alabama at Birmingham

USA)。IL-12 ELISA 试剂盒和 IFN- γ ELISA 试剂盒 (BioSource International, Inc., Camarillo, CA); MTT 试剂盒 (Boehringer Mannheim, Mannheim, Germany); 单克隆抗体 CD80 (clone 16-10A1) 和 CD54 (clone 3E2) 购自 BD PharMingen。完全培养基包括 RPMI-1640 及 10% 胎牛血清 (Gibico), 2 mmol/L 谷氨酰胺, 0.05 mmol/L 巯基乙醇, 20 mmol/L Hepes, 100 U/ml 青霉素, 100 μ g/ml 链霉素。多孔扫描分光光度计 (EI 900; Bio-Tec Instruments, Winooski, VT)

1.3 小鼠骨髓 DC 分离及体外诱导扩增

参照 Inaba^[10] 等的方法并加以改良: 无菌取 BXD 小鼠股骨骨髓细胞; RPMI-1640 洗 3 遍; 离心后细胞沉淀与 4 种等量单克隆抗体混合 B220 (clone RA3-3A1/6.1), CD4 (clone GK1.5), CD8 (clone 53-6.72), and Ia (B21-2), 于冰上孵育 30 min。然后加入羊抗鼠 IgG 标记的磁珠以消除 T 淋巴细胞、B 细胞、NK 细胞及粒细胞; 再用 RPMI-1640 洗 2 遍, 离心后, 细胞稀释成 1.25×10^6 /ml 置于含 10 ng/ml GM-CSF 的 RPMI-1640 完全培养基培养; 隔日换液, 6 d 后用于实验。

1.4 TS/A 细胞灭活及 DC 对 TS/A 细胞的吞噬

首先用 AdGFP 腺病毒转染 TS/A 细胞 (100 pfu/cell, 24 h 后, 用 16 000 cGy 剂量钴 60 照射灭活。通过形态学, DNA 特异染色剂 7-ADD 和台盼蓝染色来判定细胞死亡情况。

灭活的 TS/A 细胞用 PBS 洗 2 遍后, 与未成熟的 DC 按 5:1 比例于 37°C 混合培养 24 h。用流式细胞仪测定 CD1a⁺GFP⁺ 双重阳性的细胞来评价 DC 的吞噬作用。

1.5 肿瘤细胞诱导 BXD 小鼠 DC 分泌 IL-12 的测定

1×10^5 DC 与 2.5×10^5 灭活的 TS/A 细胞混合培养加或不加 1 ng/ml LPS; 18 h 后, 收获上清用 ELISA 试剂盒, 按所示方法测定 IL-12。

1.6 体外 DC 抑制肿瘤细胞生长

$1 \times 10^1 \sim 1 \times 10^4$ TS/A 细胞分别与 1×10^4 DC 在平底 96 孔细胞培养板混合培养 24 h。然后每孔加 MTT 10 μ l, 于 37°C, 潮湿, 含 5% CO₂ 的环境孵育 1 h 后, 每孔加 10% SDS/0.01 mol, HCl 100 μ l 以溶解 MTT 结晶, 用多孔扫描分光光度计在 570 nm 波长下测定各孔的 OD 值, 计算细胞存活率和生长抑制百分比。

1.7 DC 诱导 CTL 细胞毒作用

首先用灭活的 TS/A 免疫 BXD9 (H-2d) 和 BXD2 (H-2b), 15 d 后处死动物, 无菌取脾, 按常规方法分离 T 淋巴细胞; 然后按 T 细胞数为 0, 1×10^1 , $1 \times 10^{2.5}$, 1×10^5 分别加入 DC 与 TS/A 混合培养 3 d; 收获上清用 ELISA 试剂盒, 按所示方法测定 IFN- γ 和 IL-12。

1.8 DC 表面抗原表达

选择对肿瘤细胞吞噬能力较强的 7 个系 BXD 小鼠(BXD1,2,8,9,12,22,31)的 DC。按上述方法体外培养,于染色前先用含单克隆抗体(anti-CD16/CD32 , clone 2.4G2) 2.5 μg/ml/10⁶ DCs 的 1% FCS (staining buffer)封闭 FC 受体,45 min 后,分别用直接标记法和间接标记法进行荧光抗体标记, PBS 洗 2 次,用流式细胞仪检查 DC 表面抗原标志 CD80 (16 - 10A1), 和 CD54 (clone 3E2)。所有步骤均在冰上进行。

1.9 QTL 分析

使用 MapManager QTX (K. F. Manley, mapmgr@mcmbio.med.buffalo.edu, Buffalo, NY)。按 Manly 等的方法进行基因 mapping 分析^[11-12]对 DC 进行基因定位分析。

1.10 统计学处理

实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组均数比较采用完全随机设计资料的方差分析,均数间两两比较采用 *t* 检验。

2 结果

2.1 各系 BXD 小鼠的 DC 对肿瘤细胞的吞噬作用

通过流式细胞分析仪对 CD1a⁺ GFP⁺ 双重阳性细胞的检测,结果表明:各组 BXD 小鼠的 DC 在体外对肿瘤细胞 TS/A 的吞噬率有明显差异(*P* < 0.01; 图 1)。

图 1 各系 BXD 小鼠的 DC 对肿瘤细胞的吞噬作用(*P* < 0.01)

Fig.1 DC phagocytosis of apoptotic tumor cells

1:BXD1; 2: BXD9; 3: BXD12; 4: BXD22; 5: BXD24; 6: BXD25; 7: BXD27; 8: BSD28; 9:BXD31; 10:BXD32; 11: BXD6; 12: BXD6; 13:BXD11; 14: BXD16; 15: BXD2; 16: BXD14;17: BXD19; 18: BXD29; 19: BXD30 and BXD8

2.2 肿瘤细胞诱导 BXD 小鼠 DC 产生 IL-12

DC 与 TS/A 细胞混合培养,于 18 h 后收集上清, ELISA 检查结果表明用肿瘤细胞刺激后,各系小鼠 DC 产生 IL-12 能力亦有明显差异(*P* < 0.01, 图 2)。

2.3 DC 抑制肿瘤细胞生长

MTT 分析发现;DC 能明显抑制肿瘤细胞增殖,各组肿瘤细胞增殖均呈负值。但各系间抑制强度有所差别。

图 2 肿瘤细胞诱导各系 BXD 小鼠 DC 产生 IL-12 能力不同(*P* < 0.01)

Fig.2 IL-12 induction is BXD strain dependent

1:BXD1; 2: BXD9; 3: BXD12; 4: BXD22; 5: BXD24; 6: BXD25; 7: BXD27; 8: BSD28; 9:BXD31; 10:BXD32; 11: BXD6; 12: BXD6; 13:BXD11; 14: BXD16; 15: BXD2; 16: BXD14;17: BXD19; 18: BXD29; 19: BXD30 and BXD8

2.4 DC 诱导 T 淋巴细胞产生 INF-γ

DC 与灭活肿瘤细胞混合培养后,刺激经 TS/A 致敏的 T 淋巴细胞,以检测 T 细胞产生 INF-γ 的能力。ELISA 分析结果如(图 3)所示:各系产生 IFN-γ 能力有明显差异(*P* < 0.01),其中以 BXD32, BXD31 和 BXD6 最高。

图 3 各系 DC 诱导 T 淋巴细胞产生 INF-γ 能力(*P* < 0.01)

Fig.3 INF-γ induction is BXD strain dependent

1:BXD1; 2: BXD9; 3: BXD12; 4: BXD22; 5: BXD24; 6: BXD25; 7: BXD27; 8: BSD28; 9:BXD31; 10:BXD32; 11: BXD6; 12: BXD6; 13:BXD11; 14: BXD16; 15: BXD2; 16: BXD14;17: BXD19; 18: BXD29; 19: BXD30 and BXD8

2.5 不同系 DC 表面标志

FACS 检测结果提示;在吞噬肿瘤细胞能力较强的 7 株 DC 中, CD54⁺ 和 CD80⁺/ CD54⁺ 的表达率各组无明显差异,而 CD80⁺ 在 BXD32, BXD31, BXD6 的表达明显高于其他组(*P* < 0.01, 图 4)。

2.6 与肿瘤细胞诱导 DC 产生 IL-12 有关的基因位点

使用 MapManager QTX 软件,对 DC 产生 IL-12 基因位点及与 CD80 表达的基因位点进行分析。结果发现第 6 和第 13 号染色体上有 2 个位点可能与这些功能有关(图 5,图 6)。

生的 CD4⁺ T 细胞发育成熟为 Th1 细胞,分泌 IFN- γ , IL-12, IL-2, TNF 等,而 IFN- γ 又能反馈作用于 DC,促进其 IL-12 的分泌。这种正反馈机制可以使机体在短时间内就形成强大的细胞性免疫应答。对外源性抗原迅速响应^[13-14]。Zitvogel^[15]等也发现,用肿瘤抗原多肽刺激的 DC 免疫小鼠,所诱导的抗肿瘤免疫应答可被抗 IFN- γ 和 TNF- α 抗体完全阻断,而 IL-12 在体内可诱导 NK 细胞和 T 细胞产生 IFN- γ 和 TNF- α ,提示 IL-12 在 DC 诱导的抗肿瘤免疫应答中的重要性。很多实验研究结果也都表明,利用肿瘤相关肽、肿瘤蛋白或肿瘤溶解物体外冲击致敏 DC,或用编码肿瘤相关抗原的 CDNA 和 MRNA 转染 DC,能诱导产生特异的 CTL 反应,保护实验动物免受致命肿瘤攻击或使已建立的肿瘤消失^[16]。基于这样一些特性,DC 在机体的抗肿瘤免疫反应中具有非常重要的作用^[17-18]。

图 4 肿瘤细胞对 DC 表面共刺激分子受体 CD80 的影响

Fig.4 Tumor cells have effects on induction of Co-stimulation receptors of DC

图 5 DC 产生 IL-12 的基因定位分析

Fig.5 Genetic mapping loci control IL-12 production

图 6 DC 与 T 细胞激活有关的基因定位分析

Fig.6 Genetic mapping loci control the DC stimulation of T cell activation

3 讨论

宿主的抗肿瘤免疫以细胞免疫为主,而触发该反应需有效的抗原提呈过程。树突状细胞(dendritic cell, DC)是目前所知抗原呈递能力最强专职抗原呈递细胞(antigen presenting cells, APC)。其细胞表面高水平表达的 MHC-I 和 MHC-II 类分子可与其捕获加工的肿瘤抗原结合,形成肽-MHC 分子复合物并提呈给 T 细胞,从而启动 MHC-I 类限制性 CTL 反应和 MHC-II 类限制性的 CD4⁺ Th1 反应。同时,DC 还通过其高表达的共刺激分子(CD80/B7-1, CD86/B7-2, CD40 等)和黏附分子 CD54 等提供 T 细胞活化所必须的第二信号,充分激活 T 细胞。此外,细胞因子在 T 细胞活化中也起重要作用。有研究表明:DC 能产生 IL-12,促使新

Grizzle^[9]等人在研究中发现不同系的 BXD 小鼠在接受相同肿瘤抗原刺激后所诱导的抗肿瘤免疫反应存在明显个体差异。这种差异是否与决定 DC 抗肿瘤免疫功能和促使 IL-12 分泌的基因背景有关?我们在本实验中对此进行了探讨。结果表明:(1)成熟的 DC 在体外能明显抑制肿瘤细胞生长,但其加工提呈肿瘤抗原的能力存在个体差异。(2)与肿瘤细胞共同培养后,各系 DC 的共刺激分子 CD80 表达有明显差异而粘附分子 CD54 未见明显变化。(3) IL-12 的产生及 DC 对原始 T 细胞的激活作用亦具有个体差异,且与基因位点分析的结果基本一致。(4)各系 DC 对肿瘤细胞生长抑制作用与 IL-12 产生和共刺激分子 CD80 的表达有关。其有关的基因位点分别位于第 6 和第 13 号

染色体上。

肿瘤的发生及机体对肿瘤的免疫反应是十分复杂的过程,虽然目前已有许多令人鼓舞的结果,但仍存在许多尚未十分明了的具体病理生理过程,有待于进一步研究。

致谢:非常感谢 Dr M John D. Mountz 提供实验室以完成本实验。

[参考文献]

[1] Wang J, saffold S, Cao X, et al. Eliciting T cell immunity against poorly immunogenic tumors by immunization with dendritic cell-tumor fusion vaccines[J]. Immunol, 1998, 161(10): 5516-5524.

[2] 曹雪涛. 树突状细胞的基础与临床研究进展[J]. 中国免疫学杂志, 1998, 14(3): 161-168.

[3] Steinman RM. The dendritic cell system and its role in immunogenicity [J]. Annu Rev Immunol, 1991, 9: 271-296.

[4] Grabbe S, Beissert S, Schwarz T, et al. Dendritic cells as initiators of tumor immune responses: A possible strategy for tumor immunotherapy? [J]. Immunol Today, 1995, 16(3): 117-121.

[5] Hardy CL, Lu L, Nguyen P, et al. Identification of quantitative trait loci controlling activation of TRBV4 CD8⁺ T cells during murine gamma-herpesvirus-induced infectious mononucleosis [J]. Immunogenetics, 2001, 53(5): 395-400.

[6] Demarest K, Koyner J, McCaughan J Jr, et al. Urther characterization and high-resolution mapping of quantitative trait loci for ethanol-induced locomotor activity [J]. Behav Genet, 2001, 31(1): 79-91.

[7] Lee SH, Girard S, Macina D, et al. Susceptibility to mouse cytomegalovirus is associated with deletion of an activating natural killer cell receptor of the C-type lectin superfamily [J]. Nat Genet, 2001, 28(1): 42-45.

[8] Wakana S, Sugaya E, Naramoto F, et al. Gene mapping of SEZ group genes and determination of pentyletetrazol susceptible quantitative trait loci in the mouse chromosome[J]. Brain Res,

2000, 857(1-2): 286-290.

[9] Grizzle WE, Mountz JD, Yang PA, et al. BXD recombinant inbred mice represent a novel T cell-mediated immune response tumor model [J]. Inter J Cancer, 2002, 101(3): 270-279.

[10] Inaba K, Inaba M, Roman N, et al. Generation of large numbers of dendritic cell from mouse bone marrow culture supplemented with granulocyte/macrophage colony stimulating factor[J]. J Exp Med, 1992, 176(6): 1693-1700.

[11] Manly KF, Olson JM. Overview of QTL mapping software and introduction to map manager QT [J]. Mamm Genome, 1999, 10(4): 327-34.

[12] Manly KF, Cudmore RH Jr, Meer JM. Map Manager QTX, cross-platform software for genetic mapping [J]. Mamm Genome, 2001, 12(12): 930-932.

[13] Schuler G, Steinman RM. Dendritic cell as adjuvants for immune-mediated resistance to tumor [J]. J Exp Med, 1997, 186(8): 1183-1187.

[14] Goodlad JR, Krajewski AS, Batstone PJ, et al. Primary cutaneous follicular lymphoma: A clinicopathologic and molecular study of 16 cases in support of a distinct entity [J]. Am J Surg Pathol, 2002, 26(6): 733-741.

[15] Zitvogel L, Mayordomo JI, Tjandrawan T, et al. Therapy of murine tumors with tumor peptide-pulsed dendritic cells: Dependence on T cells, B7 costimulation, and T helper cell 1-associated cytokines [J]. J Exp Med, 1996, 183(1): 87-97.

[18] Massard G, Tongio MM, Wihlm JM, et al. The dendritic cell lineage: A ubiquitous antigen-presenting organization [J]. Ann Thorac Surg, 1996, 61(1): 252-258.

[16] Macatonia SE, Hosken NA, Litton M, et al. Dendritic cells produce IL-12 and direct the development of Th1 cells from naive CD4⁺ T cells [J]. J Immunol, 1995, 154(10): 5071-5079.

[17] Taki S, Sato T, Ogasawara K, et al. Multistage regulation of Th1-type immune responses by the transcription factor IRF-1 [J]. Immunity, 1997, 6(6): 673-679.

[收稿日期] 2003-11-18

[修回日期] 2004-02-24

“全国软组织和骨肿瘤病理诊断学术研讨会”征文通知

软组织和骨肿瘤是病理诊断工作中的难点,WHO软组织和骨肿瘤的新分类标准已于2002年颁布。为了交流诊断经验、加深对WHO新分类的认识、提高对此类疾病的诊断和鉴别诊断水平,中华医学会病理学分会和《临床与实验病理学杂志》编辑部拟于2004年10月中旬在张家界市召开“全国软组织和骨肿瘤病理诊断学术研讨会”。会期5天,邀请有关病理学专家进行专题学术讲座,组织疑难病理读片讨论,颁布国家I类继续教育学分。会议形式:(1)专题讲座,(2)大会发言,(3)病理读片会。参会代表为全国各医学院校和医疗机构的病理学工作者。

本次学术研讨会征文内容如下:(1)少见的软组织和骨组织肿瘤病理学诊断;(2)软组织和骨肿瘤的组化、免疫组化研究;(3)病理学新技术在软组织和骨肿瘤诊断中的应用;(4)软组织和骨肿瘤新旧分类的差异;(5)其他相关研究。请参阅《临床与实验病理学杂志》论文格式撰写。征文一律用电脑打字并附上软盘,也可用E-mail发来。

咨询电话:(0551)5161102; 电子信箱: JCEPW@sohu.com

《临床与实验病理学杂志》编辑部
中华医学会病理学分会