

[文章编号] 1007-385X(2004)03-0161-05

## 嵌合轻链为模板导向筛选人源性抗肝癌抗体重链 Fd 片段

包国强<sup>1</sup>, 马庆久<sup>1</sup>, 邢金良<sup>2</sup>, 杨向民<sup>2</sup>, 陈志南<sup>2</sup> (1. 第四军医大学唐都医院普通外科, 西安 710038; 2. 第四军医大学基础部细胞工程研究中心, 西安 710032)

[摘要] 目的: 利用噬菌体抗体库和导向选择技术, 以抗 HAb18G 嵌合抗体轻链为模板, 筛选人源性抗肝癌抗体 Fd 片段。方法: 利用 RT-PCR 自肝癌患者外周血淋巴细胞中扩增全套人抗体重链 Fd 基因片段, 克隆入含嵌合 L 链的展示载体 pComb3X, 建立人-鼠杂合 Fab 噬菌体抗体库。然后, 利用大肠杆菌表达的非融合 HAb18GE 为抗原进行亲和筛选, 利用 pIII 融合抗体的形式进行克隆鉴定, 并对筛选出的杂合抗体进行初步的功能检测。结果: 构建成功库容量为  $2 \times 10^7$  PFU 的杂合人-鼠噬菌体抗体库, 利用非融合表达的 HAb18GE 进行 6 轮筛选。ELISA 及流式细胞仪检测, 其中 7 个克隆呈特异性阳性反应。其中克隆 AP6-2 和 AP6-7 亲和力较高, 测序显示其基因序列相同, 且与亲本抗体恒定区序列相同, 属 IgG2 亚类, 可变区属 VH3 家族。结论: 通过本实验, 利用嵌合轻链为模板, 进行 Fd 片段替换, 成功筛选到人源性抗体 Fd 片段。

[关键词] 噬菌体抗体库; 肝癌; 导向筛选

[中图分类号] R392.11 [文献标识码] A

## The Screening of Human Anti-Hepatoma Fd Fragments Guided with the Chimeric Light Chain of HAb18

BAO Guo-qiang<sup>1</sup>, MA Qing-jiu<sup>1</sup>, XING Jin-liang<sup>2</sup>, YANG Xiang-min<sup>2</sup>, CHEN Zhi-nan<sup>2</sup> (1. Tangdu Hospital of Fourth Military Medical University, Xi'an 710038, China; 2. Cell Engineering Center of Fourth Military Medical University, Xi'an 710032, China)

[Abstract] Objective: To select anti-HAb18G (hepatoma associated antigen) human Fd fragments with guided selection of L chain of chimeric Fab-HAb18. Methods: The human Fd repertoires genes were amplified by RT-PCR from PBMC of hepatoma patients, and cloned into the vector pComb3X with chimeric L chain to construct the human-mouse hybrid Fab phage library. HAb18GE, extracellular region of HAb18G, was used as antigen to screen. The positive clones was obtained by ELISA and FCM with pIII-fusion Fab antibody. The DNA sequences were analyzed. Results: A human-mouse Fab antibody library were constructed with  $2 \times 10^7$  PFU. After 6 rounds panning, 7 positive clones were obtained with ELISA and FCM. And sequences of 2 clones with better affinity were same. The CHI belonged to the IgG2 class as the parent Fd, and the variable region belonged to VH3 family. Conclusions: Through the construction of the HuM Fab phage antibody library and chimeric L chain-guided selection, we get the available human Fd fragments for subsequent research.

[Key words] phage antibody library; hepatoma; guided-selection

\* 单克隆抗体作为一种新型生物制剂在人类疾病的预防、诊断及治疗方面已显示出重要作用。然而, 鼠源性单抗属于异种蛋白而具免疫原性, 故在人体内应用时可产生不同程度的人抗鼠抗体反应 (human anti-mouse antibody response, HAMA), 从而削弱其治疗的有效性, 并对清除抗体的器官产生损害, 因此其应用受到较大限制。

基于肝癌特异性抗体 HAb18 肝癌诊断和治疗剂已经完成 II 期临床试验<sup>[1]</sup>, 研究证实其识别抗原为

CD147/HAb18G。本实验通过构建人-鼠杂合 Fab 噬菌体抗体库, 同时利用非融合形式表达的 HAb18GE (肝癌相关抗原 HAb18G 胞外区片段) 进行筛选, 以期得到特异性的人源化的抗肝癌相关抗原 HAb18G 抗体

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目(编号 30070842)

[作者简介] 包国强 (1974-), 男, 河北衡水人, 博士研究生, 医师, 主要从事肝脏肿瘤临床和基础研究

[通讯作者] 陈志南, E-Mail: Cherc2@fmmu.edu.cn

Fd 片段。

## 1 材料与方法

### 1.1 人重链 Fd 片段基因的扩增

取 25 例原发性肝癌患者的新鲜外周血约 100 ml, 提取 PMBC( 淋巴细胞分离液, 上海华舜生物高科技公司), Trizol 裂解细胞, 氯仿-异丙醇-无水乙醇法提取总 RNA。应用反转录试剂盒( Invitrogen )进行反转录, 得到第一链 cDNA( 具体步骤参见试剂盒说明书)。以第一链 cDNA 为模板, 人抗体 Fd 片段 5' 和 3' 端引物两两配对( 根据文献报道进行优化设计), 分别建立 PCR 反应体系, 扩增人抗体重链 Fd 全套基因。PCR 反应条件为 95℃ 1 min, 56℃ 1 min, 72℃ 1 min, 共 30 个循环后, 72℃ 再延伸 10 min( PTC-200 热循环仪, MJ RESEARCH)。

### 1.2 抗体库的制备<sup>[2]</sup>

pComb3/cFab-gⅢ载体( 本室构建 )Sac I /Xba I 双酶切得到嵌合轻链片段, 克隆入 pComb3X, 作为抗体库构建载体。将 Xho I /Spe I 双酶切后的载体和 PCR 产物混合( 摩尔比约 1:7 ), 16℃ 条件下过夜连接, 糖原沉淀, 最后用微量无离子水重悬。电转 40 μl XLI-Blue 感受态, 涂 SOB-GAT( 终浓度: 葡萄糖 10 μg/L, 氨苄青霉素 100 μg/ml, 四环素 10 μg/ml )平板, 过夜培养。将细菌用 2YT-GAT 液体培养基刮下, 加入 150 ml/L 的甘油, -70℃ 保存。

### 1.3 抗体库的扩增和筛选

#### 1.3.1 抗体库的扩增和挽救

取适量抗体库细菌( 约 4 ml )接种于 2YT-GAT 培养基, OD<sub>600</sub> = 0.5 时, 加入 M13K07 挽救, 离心去糖, 转接入 2YT-AKT 培养基, 37℃ 过夜培养, PEG8000、氯化钠沉淀, 制备噬菌体抗体库。

#### 1.3.2 抗体库的筛选

分子筛纯化原核表达非融合 HAb18G 胞外区片段, 用碳酸盐缓冲液( pH 9.0 )稀释终浓度 10 μg/ml ( 第一、二轮筛选 )和 5 μg/ml ( 第三、四轮筛选 )和 2.5 μg/ml ( 第五、六轮筛选 ), 每轮包被 ELISA 板 24 孔进行筛选。每轮筛选前抗体库加入 1/3 体积的 50 g/L 脱脂奶粉封闭 30 min, 然后加入 ELISA 板( 总体积 150 μl/孔 )。在筛选中, 依次用 TBS( 含 500 μl/L 的 Tween-20 )洗 6~20 遍。然后, 每孔加入 50 μl 的甘氨酸-盐酸溶液( pH 2.1 )洗脱 10 min, 2 mol/L Tris 中和后加入新摇对数生长早中期的 XLI-Blu 菌( 100 μl/孔 ), 37℃ 缓慢振荡 1 h, 涂 SOB-GAT 平板, 37℃ 过夜培养。刮菌进行下一轮筛选。

#### 1.3.3 阳性克隆的鉴定

#### 1.3.3.1 pⅢ蛋白融合抗体制备

自培养板中随机选取克隆, 接种于 2YT-GAT 培养基中, 37℃, 280 r/min 条件下振荡培养。OD<sub>600</sub> = 0.7 时, 4 000 r/min 离心 10 min, 细菌沉淀重悬于 2YT-AT 培养基中, 加入 IPTG( 终浓度 1 mmol/L ), 30℃, 280 r/min 条件下过夜振荡培养。4 000 r/min 离心 10 min, 细菌沉淀加入细菌沉淀加入 1/10 原始体积 PBS 重悬, 4 000 r/min 离心 10 min, 弃上清, 反复冻融 4~5 次。10 000 r/min 离心 10 min, 上清即为融合表达抗体。同时对鼠源 Fab/pComb3X、嵌合 cFab/pComb3X 和空白 pComb3X 进行诱导表达。

#### 1.3.3.2 ELISA 检测

原核表达的非融合 HAb18GE 包被 ELISA 板( 浓度 10 μg/ml )进行鉴定, 一抗为 pⅢ蛋白融合表达抗体, 以 HRP 标记羊抗人 IgG( H+L )( Southern Bio )为二抗。GST、BSA 等无关蛋白为阴性对照, PBS 为空白对照。结合抑制实验: 以原核表达的非融合 HAb18G 包被( 浓度 10 μg/ml ), 然后分 3 组进行 ELISA 抑制实验: 第 1 组用梯度稀释原核表达的 HAb18GE; 第 2 组用梯度稀释原核表达 GST; 第 3 组用梯度稀释的鼠源 Fab-HAb18。分别与阳性克隆诱导表达上清等体积混合, 作为一抗, 进行检测。以诱导表达上清与 PBS 等体积混合液作为对照, 计算结合率。

#### 1.3.3.3 流式细胞仪检测

消化对数生长期的 HHCC 肝癌细胞分装于新的 1.5 ml 离心管(  $2 \times 10^8 L^{-1}$  ), 1 000 r/min 离心 10 min, 弃上清。每管加入 2.5 μl 灭活正常羊血清, 同时分别加入 50 μl 诱导表达的 pⅢ蛋白融合 Fab 抗体, 设立 PBS 为空白对照, 乙脑单抗为阴性对照。4℃ 放置 50 min 后, 洗涤液( 1 × DPBS, 5% 胎牛血清, 0.2% NaN<sub>3</sub> )洗涤 3 次。1 000 r/min 离心 10 min, 弃上清后, 分别加 50 μl 工作浓度的二抗( FITC-羊抗人 IgG, 华美公司 )混匀, 4℃ 放置 40 min。洗涤液洗涤 3 次后, 分别用 200 μl 固定液( 葡萄糖 2 g, 甲醛 1 ml, NaN<sub>3</sub> 0.02 g 用 1 × DPBS 稀释至 100 ml )固定。ELITE ESP 型流式细胞仪( 美国 Coulter 公司 )检测。

### 1.4 阳性克隆的基因序列分析

选择 ELISA 检测阳性信号较强的克隆, Xho I /Spe I 双酶切得到目的 Fd 片段, 克隆入 pBluescripts KS ( Promega 公司 )载体, 以 T3 和 T7 启动序列为引物进行 DNA 序列测定( 上海华大)。对测得的序列应用 BLAST( [www.ncbi.nih.gov](http://www.ncbi.nih.gov) )进行初步的分析。

## 2 结果

2.1 抗体库的构建和筛选 在本实验中, 利用图 1 所

示策略构建库容量约为  $2 \times 10^7$  PFU 的人 Fd 杂合抗体库。利用载体特异性引物(根据目的片段插入位点两端的序列设计)PCR 鉴定,10 个克隆中,有 9 个克隆可以扩增出大小约为 740 bp 大小的目的片段(Fd 基因 + 部分载体序列)。目的 Fd 片段的插入重组率约为 90%(图 2)。

图 1 人-鼠杂合噬菌体 Fab 抗体库构建模式图

**Fig. 1 Construction of recombinant HuM Fab displaying vector**

图 2 PCR 法鉴定 Fd 基因插入率

**Fig. 2 Insert percentage of Fd genes characterized with PCR**

1: Marker DL2000( TaKaRa ); 2-11: Clone1-10; 12: Negative control

2.2 阳性克隆的梯度 ELISA 结果

原核表达非融合 HAb18GE 筛选 6 轮后,随机挑选 20 个克隆进行诱导表达,ELISA 结果显示在鉴定的 20 个克隆中,7 个与原核表达的 HAb18G 呈特异性阳性反应。7 个克隆与无关蛋白有交叉反应。对阳性信号较强的 2 个克隆 AP6-2 和 AP6-7,其阳性信号强度约为亲本鼠源抗体的 1/4。结合抑制(图 3)实验表明其可与肝癌抗原特异性结合。

2.3 阳性克隆的流式细胞仪检测

应用阳性克隆 AP6-2 和 AP6-7 的诱导表达产物(p III 融合 Fab 抗体),进行流式细胞仪检测,发现可与肝癌细胞 HCC 特异性结合,检测阳性细胞率分别为 36% 和 50%(图 4),低于同时表达的亲本嵌合 Fab 抗体的标记率,提示筛选抗体的亲和力较低,同时不能排除诱导表达水平不同造成的影响。

2.4 阳性克隆的基因测序结果

对筛选出的阳性克隆 ELISA 检测阳性信号较强的 AP6-2 和 AP6-7 克隆进行测序,结果显示两个克隆恒定区序列与亲本嵌和 Fd 片段恒定区序列相同,属于 IgG2 亚类。可变区基因属于 VH3 家族,其 DNA 和氨

基酸序列如(表 1)所示。

图 3 阳性克隆的结合抑制实验(p III 融合蛋白)

**Fig. 3 Binding characteristics of the selected Fab-p III fusion antibody with inhibition ELISA**

A: Clone AP6-2; B: Clone AP6-7

3 讨论

TCSF/EMMPRIN(肿瘤细胞来源的胶原酶刺激因子/细胞外基质金属蛋白酶诱导因子),是最早得以克隆的 CD147 分子,存在于人肺癌细胞株 LX-1 的细胞膜上,分子量为 59 kD,因可刺激人成纤维细胞分泌 MMPs 而得名。EMMPRIN 分子可能通过胞膜外结构域与成纤维细胞上的未知受体结合,刺激胶原酶及其它的细胞外 MMPs 的产生从而加强肺癌细胞的浸润与转移<sup>[3]</sup>。

我们实验室在长期从事肝癌单克隆抗体的研究中,利用自己制备的抗人肝癌单克隆抗体 HAb18,从肝癌 cDNA 文库中筛选得到了其结合的抗原 HAb18G 的 cDNA 序列,查询 Genebank 证实与 CD147 分子的 cDNA 序列开放读框完全一致<sup>[4]</sup>,实验表明该蛋白具有刺激成纤维细胞产生 MMPs 的作用,近期实验结果证实了在肿瘤组织中 MMPs 的产生主要来源于其周围的成纤维细胞<sup>[3]</sup>,而 HAb18G 分子具有刺激肿瘤组织中的成纤维细胞产生 MMPs 的功能,可能在肿瘤的浸润转

移过程中扮演了极其重要的角色。EMMPRIN 亦存在于表皮和胚胎的早期,表明 EMMPRIN 可能参与上皮和间充质之间的相互作用,导致伤口愈合和发育中组织构造的变化<sup>[5]</sup>。

用鼠源性抗人肝癌单克隆抗体 HAb18 研制的导向诊断及治疗剂获国家两项发明专利。目前,用肝癌单抗片段制备的第二代免疫导向诊断及导向治疗剂也已进入 I, II, III 期临床试验,初步结果显示效果良好,具有广阔的应用前景。不幸的是,鼠源性抗体用于人类癌症的免疫治疗时,单克隆抗体重复应用后会产生人抗鼠抗体(HAMA)反应。HAMA 反应会迅速清除血液中的单克隆抗体,因而减弱了疗效<sup>[6]</sup>。鼠源抗体可通过 CDR 移植的方法进行人源化,保留了结合表位和特异性。然而,CDR 移植后的抗体保留了大量的包括 CDR 序列和框架残基的非人源序列,因为这些序列在抗原结合中起作用<sup>[7]</sup>。总之,人源化的抗体还包含鼠源的序列,这些单抗可能诱导免疫反应。

基于 V 区基因的链替换和抗原选择,应用噬菌体展示技术将鼠源抗体转变为完全人源抗体的方法学发展起来<sup>[8]</sup>。这种所谓“导向选择”的方法首先将起始鼠源抗体重链或轻链的一个 V 结构域与人类自然产生的对侧链相应结构域库相配对,这个结构域库可通过例如人类外周血淋巴细胞(PBL)的 mRNA 等产生。配对后产生的库应用原来的抗原进行选择,鼠源的结构域会引导使抗体结合于起始鼠源抗体相同表位的人类抗体链的选择;然后,这些筛选的“半人源”抗体可以

提出经过选择的人类抗体 V 基因,用于与人类的另一

图 4 阳性克隆的免疫荧光检测( pIII 融合蛋白 )

Fig. 4 Cell fluorescence intensity of positive clones with the pIII-fusion Fab antibody

A( AP6-2 ): Positive rate 36% ; B( AP6-7 ): Positive rate 50%

表 1 人抗体 Fd 片段可变区 DNA 和氨基酸序列

Tab. 1 Amino acid and DNA sequence of selected human variable Fd fragments

DNA sequence:		
CTCGAGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTCAGGCCGGGGGGTCCCTTAGACTCTCCTGTACAGCCGCTGGATTCACATTCAGT AAC		
CDR1		CDR2
ACTTGGATGGGC	TGGGTCCGCCAGGTTCCGGCGAGGGGGCTGGAGTGGGTTGCC	CGGATTAAGACCAGTAAGGAAGGTGGGA
CAAGAGACTACGGGGC	ACCCGTGCAAGGCAGATTCAGCATCTCAAGAGAAGACTCAAAAAACATGGTGTCTTCTGGTAATGGACA	
GCCT		
	CDR3	
GAAACCGAGGACACAGGCCCTTTATTATTGTACC	ACAAACAGATGGAGCTGG	GGCCGGGAACCAAGTCACCGTCTCCTCAGC
Amino acid sequence:		
CDR1		CDR2
LEQSGGGLVPRGSLRLSCTAAGFTFS	NTWVG	WVRQVPARGLEWVA
		RIKTSKEGGTRDYG
APVQGRFSISREDSKNMVFLVMD		
CDR3		
SLKTEDTGLYYCT	TNRWSW	GRGTQVTVSSA

条链相应结构域库配对并进行再一轮的抗原选择,这个链替换过程的最终产物是与起始鼠源抗体具有相同的抗原亲和性和抗原结合表位的完全人源的抗体。从 1994 年开始,这种方法应用逐渐普通,3 个小组通过顺

序替换法分别得到了叶酸结合蛋白( 卵巢癌细胞的一种表面抗原)<sup>[9]</sup>,TNF-α 和人类干扰素 γ 受体-1<sup>[10]</sup>的人源抗体。所以,导向选择为我们提供了不同物种间抗体转拘的有力工具,V 基因的替换重组的抗原选择成

为从众多与起始抗体有相似结合特性的 V 基因对中分离出人类 V 基因的方法。

本实验利用“导向选择”的方法,对抗肝癌嵌合 Fab 抗体 cFab-HAb18G 进行人源化改造。首先利用嵌合轻链为模板,将嵌合 Fd 片段替换为人源 Fd 片段,得到杂合的抗 HAb18G 的 Fab 抗体。使嵌合 Fab 抗体的人源化水平进一步提高。另外,可以对筛选出的人源抗体重链进行改造,如制备单域抗体。单域抗体分子量大,易于穿透组织,在疾病的诊断和治疗应用具有相应的优势<sup>[11]</sup>。

在抗体库的筛选过程中,一般通过噬菌体展示的方式(噬菌体 ELISA)对筛选抗体的多样性、特异性和亲和力进行分析鉴定,但结果可靠性差。在 M13 载体构建的抗体库筛选中,应用 IPTG 进行诱导,可以使目的抗体以 pⅢ-ScFv 融合蛋白的形式可溶性表达,培养上清可以通过 ELISA 鉴定阳性克隆<sup>[12]</sup>。本实验应用 Fab-pⅢ融合蛋白的形式,进行 ELISA 和流式细胞仪等检测,对筛选克隆的进行初步的鉴定。

实验发现得到的杂合抗体亲和力低于亲本抗体,可能与人体内抗体基因库的正常分布有关,有待于通过其它途径进一步提高其亲和力。通过本实验成功筛选到抗 HAb18G 抗体 Fd 片段,为后续实验打下基础。

## [ 参 考 文 献 ]

[ 1 ] 陈志南. 肝癌单克隆抗体 HAb 18 在人体肝癌导向诊断中的意义和作用[ J ]. 中华肿瘤杂志, 1992, 14( 1 ): 9-12.  
[ 2 ] Rader C, Steinberger P, Barbas CF. Preparation of electrocompe-

tent *E. coli*[ M ]. In: Barbas CF III, Burton DR, Scott JK, Silverman GJ. Phage display: A laboratory manual. 10. 2.  
[ 3 ] Biswas C, Zhang Y, DeCastro R, *et al.* The human tumor cell-derived collagenase stimulatory factor ( Renamed EMMPRIN ) is a member of the immunoglobulin superfamily[ J ]. *Cancer Res*, 1995, 55: 434-439.  
[ 4 ] 陈志南, 杨志, 米力, 等. 肝癌相关因子 HAb18G 结构及功能的分析[ J ]. 细胞与分子免疫学杂志, 1999, 15( 1 ): 34.  
[ 5 ] Decastro R, Zhang Y, Guo H, *et al.* Human keratinocytes Express EMMPRIN, an Extracellular Matrix Metalloproteinase Inducer[ J ]. *J Invest Dermatol*, 1996, 106( 6 ): 1260-1265.  
[ 6 ] Khazaeli MB, Conry RM, LoBuglio AF. Human immune response to monoclonal antibodies[ J ]. *J Immunother*, 1994, 15( 1 ): 42-52.  
[ 7 ] Foote J, Winter G. Antibody framework residues affecting the conformation of the hypervariable loops[ J ]. *J Mol Biol*, 1992, 224( 2 ): 487-499.  
[ 8 ] Jespers LS, Roberts A, Mahler SM, *et al.* Guiding the selection of human antibodies from phage display repertoires to a single epitope of an antigen[ J ]. *Biotechnol*, 1994, 12( 9 ): 899-903.  
[ 9 ] Figini M, Marks JD, Winter G, *et al.* *in vitro* assembly of repertoires of antibody chains on the surface of phage by renaturation[ J ]. *J Mol Biol*, 1994, 239( 1 ): 68-78.  
[ 10 ] Watzka H, Pfizenmaier K, Moosmayer D. Guided selection of antibody fragments specific for human interferon gamma receptor 1 from a human VH- and VL-gene repertoire[ J ]. *Immunotechnology*, 1998, 3( 4 ): 279-291.  
[ 11 ] Tanha J, Dubuc G, Hiram T, *et al.* Selection by phage display of llama conventional VH fragments with heavy chain antibody VH properties[ J ]. *J Immunol Meth*, 2002, 263( 1-2 ): 97-109.  
[ 12 ] Peneff C, Lefranc MP, Dariavach P. Characterisation and specificity of two single-chain Fv antibodies directed to the protein tyrosine kinase syk[ J ]. *J Immunol Meth*, 2000, 236( 1-2 ): 105-115

[ 收稿日期 ] 2003 - 09 - 15

[ 修回日期 ] 2003 - 12 - 25

## · 简 讯 ·

### 第二届《中国肿瘤生物治疗杂志》编委会成立会议 及其首次编委会会议在银川召开

第二届《中国肿瘤生物治疗杂志》编委会成立会议以及首次编委会会议于 2004 年 6 月 25 日在银川召开, 23 位新老编委参加了会议。会议由第二军医大学曹雪涛教授主持。《中国肿瘤生物治疗杂志》编辑部主任于益芝副教授汇报了第一届编委会成立以来《中国肿瘤生物治疗杂志》的发展过程以及杂志的现状。张友会教授代表第一届编委会对 10 年来的工作做了简要小结并对新一届提出了殷切的希望。杂志新任主编曹雪涛教授介绍了编委会改选的概况以及中国免疫学会和中国抗癌协会的批示, 宣布了第二届《中国肿瘤生物治疗杂志》编委会成立并代表第二届编委会对于第一届《中国肿瘤生物治疗杂志》编委会的出色工作尤其是张友会、钱振超、何球藻及崔正言教授等老一辈专家在《中国肿瘤生物治疗杂志》的创办和发展方面所做出的无私奉献表示了衷心的感谢, 他还介绍了第二届编委会未来工作的思路、设想和目标。第二届编委会由国内肿瘤生物治疗领域内的 57 名著名学者组成, 其中, 中科院院士 4 名、工程院院士 3 名、国家杰出青年基金获得者 20 名, 而且, 中青年医师的比例显著增加。为了扩大杂志的学术影响, 特聘请了 8 位在国际学术界具有一定影响的外国专家作为国际编委。各位与会的编委均为杂志的发展献计献策, 提出了许多宝贵的意见和建议。相信在新一届编委会的领导下, 《中国肿瘤生物治疗杂志》的发展将进入一个新的时代。