

[文章编号] 1007-385X(2005)04-0266-06

野生型 p53 基因对人胆囊癌细胞生长及致瘤性的抑制作用

乌新林¹, 王占民², 杨凤辉², 李明颖², 马道新³(1. 内蒙古医学院第一附属医院普外科, 呼和浩特 010050; 2. 山东大学齐鲁医院普外科, 济南 250012; 3. 山东大学齐鲁医院血液学研究室, 济南 250012)

[摘要] **目的:** 研究野生型 p53(wtp53)基因对人胆囊癌细胞生长及致瘤性的影响。**方法:** 应用免疫细胞化学染色、PCR 产物直接测序方法分析细胞系遗传背景, 在脂质体介导下将含有 wtp53 的真核表达质粒 pCMV-p53, 导入 GBC-SD 细胞中。用 G418 筛选, 建立转染克隆细胞系。以 PCR, RT-PCR 和蛋白印迹证实外源 p53 基因的整合与表达; 以细胞生长曲线和集落形成实验反映细胞增殖状况; 以裸鼠移植瘤试验检测体内致瘤性的影响。**结果:** GBC-SD 细胞 P53 蛋白过表达; 直接测序发现第 5 外显子 126 位密码子存在 TAC→AAC 的碱基突变。外源 p53 基因已整合入转染后的 GBC-SD 细胞并获稳定表达。表达外源 wtp53 的 GBC-SD-wtp53 细胞生长速率减慢、集落形成能力下降及裸鼠致瘤性受到显著抑制。**结论:** 野生型 p53 基因可有效抑制人胆囊癌 GBC-SD 细胞的体内、外生长。

[关键词] p53 基因; 胆囊肿瘤; 转染; 细胞增殖; 致瘤性

[中图分类号] R735.8 [文献标识码] A

The Inhibitory Effect of Exogenous Wild-Type p53 Gene on the Cell Growth and Tumorigenicity of Human Gallbladder Cancer Cell Lines

WU Xin-lin¹, WANG Zhan-min², Yang Feng-hui², LI Ming-ying², MA Dao-xin³(1. Department of General Surgery, First Affiliated Hospital, Inner Mongolia Medical College, Hohhot 010050, China; 2. Department of General Surgery, Qilu Hospital, Shandong University, Ji'nan 250012, China; 3. Institute of Hematology, Qilu Hospital, Shandong University, Ji'nan 250012, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate effect of exogenous wild-type p53 gene on the cell growth and tumorigenicity of human gallbladder cancer cell lines. **Methods:** After identification of the genetic status of p53 gene of GBC-SD cell lines with the immunocytochemistry staining and the direct sequencing technique of PCR products, eukaryotic expressing plasmid pCMV-p53 was introduced by lipofectamine-mediated into GBC-SD cell lines. Growing transfected cells were selected by G418. The presence and expression of exogenous p53 gene was detected by PCR, RT-PCR and Western blot. The cellular proliferating ability was assessed using the cell growth curve and cloning assay. The xenograft in nude mice was performed to examine the effect of tumorigenicity. **Results:** P53 protein overexpression was showed in GBC-SD cell lines. A transversion of TAC→AAC at codon 126 of exon 5 was confirmed. PCR, RT-PCR and Western blot showed exogenous p53 gene had successfully transfected into GBC-SD cells and obtained high expression. The growth and proliferation of the cells were greatly decreased, and the tumorigenicity was significantly inhibited after transfection wtp53. **Conclusion:** The expression of exogenous wild-type p53 gene could effectively inhibit the growth of gallbladder cancer GBC-SD cells *in vitro* and *in vivo*.

[Key words] gene p53; gallbladder neoplasms; transfection; cell growth; tumorigenicity

p53 基因是重要的肿瘤抑制基因, 在体内做为转录因子, 通过活化下游多种基因的表达, 参与 DNA 损伤修复, 诱导细胞凋亡和分化, 调控细胞周期和阻止细

[基金项目] 山东省科技厅发展计划项目(2001BBICJA10)

[作者简介] 乌新林(1970-), 男, 内蒙呼和浩特市人, 医学博士, 主要从事肝胆肿瘤方面的研究

E-mail: wuxinlin@126.com

胞异常增殖^[1]。人类约 50% 以上的恶性肿瘤均有 p53 基因的异常改变。研究表明胆囊癌中有较高频率 p53 基因缺失和突变^[2,3]。为探索胆囊癌的基因治疗,我们利用脂质体将野生型 p53 基因导入有 p53 基因突变的人胆囊癌 GBC-SD 细胞中,观察其对肿瘤细胞生长和致瘤性的影响。

1 材料与方法

1.1 材料来源

胆囊癌细胞系 GBC-SD 由山东大学齐鲁医院王占民教授惠赠。质粒 pCMV-p53&pCMV-p53mt135 为 Clontech 公司产品。pCMV-p53 含有人野生型 p53 基因(614-1792),pCMV-p53mt135 含有突变型 p53 基因(在 1 017 有一个点突变:G→A)。鼠抗人 P53 蛋白单克隆抗体(D0-1)及免疫组化 SP 试剂盒购自北京中山生物技术公司。质粒高纯小提试剂盒 EZNA[®]为 Omega 公司产品。脂质体 Lipofectamine[™]2 000 为 GIBRO 公司产品。4~6 周龄裸鼠 12 只购自中科院上海实验动物中心。PCR 引物均由上海 Sangon 合成。

1.2 免疫细胞化学 SP 法检测 P53 蛋白的表达

将对数生长期的 GBC-SD 细胞爬片于 6 孔板中灭菌盖玻片上,待细胞生长汇合达 75% 时,弃去培养液,用 95% 乙醇固定 30 min,空气干燥后,按照 SP 试剂盒说明操作。

1.3 PCR 扩增及测序分析

采用 PCR 扩增 p53 基因 5,6,7,8 外显子;4 对引物序列如下: Exon5 P₁ 5'-TGTTTCTTTGCTGCCGTGTTC-3', P₂ 5'-CCAGACCTAAGAGCAATCAGTG-3'; Exon6 P₁ 5'-ACGACAGGGCTGGTTGCCCA-3', P₂ 5'-CTC-CCAGAGACCCAGTTGC-3'; Exon7 P₁ 5'-GGCCTCATCTTGGCCCTGTG-3', P₂ 5'-CAGTGTGCAGGGTGGCAAGT-3'; Exon8 P₁ 5'-CTGCCTCTTGCTTCTTTTT-3', P₂ 5'-TCTCCTCCACCGCTTCTTGT-3'; 扩增片段长度分别为 355 bp,201 bp,171 bp,204 bp。按苯酚-氯仿-异戊醇法提取 GBC-SD 细胞基因组 DNA,PCR 反应为常规 50 μl 体系,退火温度为 58℃ 45 s(7,8 外显子)或 56℃ 45 s(5,6 外显子)。对 PCR 扩增产物经 2% 琼脂糖凝胶电泳鉴定后,送上海 Sangon 进行正、反向测序,并对所得结果应用 Blast 软件进行同源性比较。

1.4 质粒的扩增及酶切鉴定

将质粒 pCMV-p53&pCMV-p53mt135 分别转化 DH_{5α} 感受态细菌,然后按试剂盒说明提取及纯化。经 Hind III 和 EcoR I 双酶切后鉴定。

1.5 基因转染和克隆筛选

胆囊癌 GBC-SD 细胞培养于含体积分数为 10% 灭

活胎牛血清的 RPMI-1640 培养液中。参照脂质体 Lipofectamine[™]2000 说明书方法,取对数期生长的 GBC-SD 细胞,于转染前一天按 2×10^5 个接种于直径为 3.5 cm 的细胞培养皿中。转染时更换 Opti-MEM,按 1~2 μg 质粒 DNA/培养皿的量进行基因转染。6h 后换用常规 RPMI-1640 培养液。24 h 后加入 G418(400 mg/L)筛选,同时用未转染的 GBC-SD 细胞做对照。待抗性克隆形成后,混合阳性克隆,用 G418(200 mg/L)进行维持传代培养。质粒 pCMV-p53 和 pCMV-p53mt135 转染后建立的克隆细胞系分别命名为 GBC-SD-wtp53 和 GBC-SD-mutp53。

1.6 外源 p53 基因在细胞内的整合与表达

PCR 鉴定外源 p53 基因的整合:为了检测筛选出的细胞克隆中是否有外源 p53 基因 cDNA 的存在,设计了 2 对特异性引物。上游引物位于质粒载体 CMV 启动子上,下游引物位于 p53 基因 cDNA 片段读码框架内,序列如下: P₁ 5'-TAGGCGTGTACGGTGGGAG-3', P₂ 5'-GCAAGAAGCCAGACGGAAAC-3'。PCR 反应为常规 50 μl 扩增体系,退火温度为 56℃。

转染前、后细胞 p53 mRNA 的表达:按试剂盒说明分别提取转染前、后细胞总 RNA,行 RT-PCR 反应。p53 扩增产物全长 326 bp,引物序列如下: P₁ 5'-GCG-CACAGAGGAAGAGAATC-3', P₂ 5'-CAGGCCCTTCTGTCTTGAAC-3'; 同时以 β-actin 作为内对照,扩增产物全长 539 bp。PCR 扩增体系中含 5 μl 10 × PCR 缓冲液、0.25 μg 模板、2U TaqDNA 聚合酶、200 μmol/L dNTP、1.5 mmol/L MgCl₂ 及浓度均为 200 pmol/L 的上、下游引物。反应条件为:94℃ 变性 5 min; 94℃ C 60 s; 58℃ 55 s; 72℃ 60 s; 循环 30 次。再于 72℃ 延伸 7 min。

蛋白印迹(Western blot)杂交:分别收集 GBC-SD, GBC-SD-wtp53 和 GBC-SD-mutp53 细胞。用常规裂解液裂解细胞,离心后收集上清,定量蛋白质浓度。样品经过 SDS-PAGE 后转移到硝酸纤维素膜上,用含有 5% 脱脂奶粉的缓冲液封闭,洗膜后依次经一抗(D0-1)、二抗(过氧化物酶标记的羊抗鼠 IgG)孵育及显色观察、扫描结果。

1.7 细胞生长曲线

以 1.0×10^4 细胞/孔的浓度接种 24 孔培养板,常规条件培养,每天计数 1 次,每组计数 3 孔,每孔 4 次,取平均值,共计 6 d。以时间为横坐标,细胞数为纵坐标,绘制细胞生长曲线。

1.8 集落形成试验

取对数期生长的细胞,按每孔 500 个细胞接种于 6 孔板中。37℃, 5% CO₂ 培养箱内培养 14 d, Giemsa 染

色,计数细胞集落(≥ 50 个),计算集落形成率(集落形成率 = 平均集落数/500 \times 100%)。

1.9 裸鼠移植试验

将对数期生长的 GBC-SD, GBC-SD-wtp53 和 GBC-SD-mutp53 细胞以胰酶消化,经无血清培养液洗涤 2 次后,制备成 10^7 /ml 细胞悬液。于每只裸鼠后腿两侧皮下注射 0.2 ml (200 万)。每种细胞各接种 8 个部位,连续观察 1 个月后,处死裸鼠并剥离瘤体,计算肿瘤的体积。

1.10 统计学方法

肿瘤体积采用下列公式计算: $V = 1/2 ab^2$, a 为肿瘤长径, b 为肿瘤短径,体外数据比较采用方差分析,体内数据比较采用 *t* 检验 ($P < 0.05$)。

2 结果

2.1 GBC-SD 细胞 P53 蛋白的表达

镜下可见绝大多数 GBC-SD 细胞胞核呈弥漫棕黄色强阳性染色,提示 P53 蛋白过表达(图 1)。

2.2 PCR 产物直接测序分析

对 p53 基因 5, 6, 7, 8 外显子测序结果,与 Genebank 中人类 p53 基因序列比较后发现,第 5 外显子 126 位密码子发生 TAC \rightarrow AAC 的纯合性碱基突变,致使其编码的氨基酸从酪氨酸 \rightarrow 天冬酰胺(图 2)。

图 1 免疫细胞化学 P53 蛋白染色结果($\times 200$)

Fig. 1 The result of p53 immunocytochemistry staining in GBC-SD cell lines($\times 200$)

2.3 质粒的酶切鉴定

pCMV-p53 和 pCMV-p53mt135 质粒全长 4 700 bp,经 EcoR I 及 Hind III 双酶切后可见有 1 179 bp 的目的基因片段产生。证实为野生型和突变型 p53 基因 cDNA(图 3)。

2.4 外源 p53 基因在细胞内的整合与表达

2.4.1 PCR 鉴定外源性 p53 基因

在稳定转染获得的 GBC-SD-wtp53 和 GBC-SD-mutp53 细胞中均可扩增出 426 bp 的产物,与对照的质粒扩增的片段相一致。而未转染的 GBC-SD 细胞中无相应片段扩增。说明外源野生型和突变型 p53 基因已整合入胆囊癌细胞中(图 4)。

图 2 p53 基因第 5 外显子测序结果

Fig. 2 The sequence results of exon 5 of p53 gene

A: Forward sequence; B: Reverse sequence

2.4.2 RT-PCR 检测 p53 基因 mRNA 的表达

结果经 Gel-Pro Analyrer 4.0 软件分析显示:GBC-SD-wtp53 和 GBC-SD-mutp53 细胞中, p53 基因 mRNA 的相对表达值分别为 0.65 和 0.75,明显高于未转染的 GBC-SD 细胞(相对表达值 0.36),提示在转染后的细胞中有外源 p53 基因 mRNA 水平的表达(图 5)。

2.4.3 Western blot 分析

蛋白印迹半定量结果显示, GBC-SD-wtp53 和 GBC-SD-mutp53 细胞 P53 蛋白的相对表达值分别为 0.85 和 0.91,显著高于 GBC-SD 细胞(相对表达值 0.42)。说明经野生型和突变型 p53 基因转染后的细胞中, p53 蛋白水平表达明显增强,提示存在外源 P53 蛋白的表达(图 6)。

2.5 细胞生长曲线

3 种细胞生长曲线显示 GBC-SD-wtp53 生长速度明显减慢,而对照 GBC-SD-mutp53 和未转染的 GBC-SD 细胞相比无明显差异(图 7)。

2.6 集落形成能力的比较

培养 2 周后, GBC-SD 细胞每孔形成集落数为($\bar{x} \pm s$): 145 ± 13.2 个, GBC-SD-mutp53 细胞为 140 ± 10.8 个; 而 GBC-SD-wtp53 细胞为 16 ± 2.5 个, 显著少于前二者($P < 0.01$)。未转染的 GBC-SD 细胞与 GBC-SD-mutp53 细胞集落数间差异无显著性。

图 3 pCMV-p53 和 pCMV-p53mt135 的双酶切鉴定

Fig. 3 Double enzyme digestion analysis of plasmid pCMV-p53 and pCMV-p53mt135

1: pCMV-p53; 2: pCMV-p53/ Hind III + EcoR I ;
3: DL-2000 marker; 4: pCMV-p53mt135/ Hind III +
EcoR I ; 5: pCMV-p53mt135

图 4 PCR 鉴定外源 p53 基因

Fig. 4 Identification of exogenous p53 gene by PCR

1: DL-2000 marker; 2: pCMV-p53; 3: pCMV-p53mt135
4: GBC-SD cell; 5: GBC-SD-wtp53 cell; 6: GBC-SD-mutp53 cell

图 5 RT-PCR 技术检测 p53mRNA 的表达

Fig. 5 The expression of p53mRNA tested by RT-PCR

1: SM0311 1 kb marker; 2: GBC-SD cell; 3: GBC-SD-wtp53 cell; 4: GBC-SD-mutp53 cell

图 6 P53 蛋白 Western blot 分析

Fig. 6 The analysis of P53 protein by Western blot

1: GBC-SD cell; 2: GBC-SD-wtp53 cell;
3: GBC-SD-mutp53 cell

图 7 GBC-SD, GBC-SD-mutp53 和 GBC-SD-wtp53 细胞的生长曲线

Fig. 7 Growth curves of GBC-SD, GBC-SD-mutp53 and GBC-SD-wtp53

2.7 裸鼠移植瘤试验

结果显示注射 GBC-SD-wtp53 细胞的 8 只裸鼠中有 2 只不形成肿瘤, 其他肿瘤出现的时间也比对照组延迟, 并且在 1 个月后形成肿瘤的体积与 GBC-SD 和 GBC-SD-mutp53 细胞相比, 差异有显著性($P < 0.01$), 而后二者之间差异无显著性(表 1)。

表 1 GBC-SD, GBC-SD-mutp53 和 GBC-SD-wtp53 裸鼠移植试验结果

Tab. 1 The results of transplantation tumor test in node mice of GBC-SD, GBC-SD-mutp53 and GBC-SD-wtp53 cell lines

Cell lines	Numbers of inoculation	Occurrence	Volume of the tumors(mm ³)
GBC-SD	8	100%	726.8 ± 112.4
GBC-SD-mutp53	8	100%	698.4 ± 106.6
GBC-SD-wtp53	8	75%	196.2 ± 38.5 [△]

△ Compared respectively to GBC-SD, GBC-SD-mutp53 ($P < 0.01$)

3 讨论

本实验应用的 GBC-SD 细胞是国内建立的首株人胆囊癌细胞系,对其 p53 基因状况的研究有助于揭示细胞恶变的分子机制。经免疫细胞化学检测发现该细胞系存在突变型 P53 蛋白过表达,进一步的测序结果证实其 p53 基因第 5 外显子 126 位密码子存在 TAC→AAC 的碱基颠换,因而使其编码的氨基酸从酪氨酸→天冬酰胺,产生错义突变。文献有报道^[4,5]肿瘤组织中 p53 基因 126 位密码子发生 TAC→TAG 的无义突变,而本例 GBC-SD 细胞 TAC→AAC 的突变方式属首次报道。但这提示 p53 基因异常可能在这株细胞癌变过程中起重要作用。

野生型 p53 基因是肿瘤研究中较为引人注目的抑瘤基因,在对头颈部癌、乳腺癌、胃癌、肝癌、宫颈癌等^[6,9]肿瘤的基因治疗中,取得了令人满意的效果。但目前有关胆囊癌方面的研究尚未见国内、外文献报道。为此我们通过脂质体,将野生型和突变型 p53 基因转入 GBC-SD 细胞中,经 G418 筛选获得了阳性转化细胞克隆,其中 GBC-SD-wtp53 细胞筛选形成的克隆数明显低于 GBC-SD-mutp53 细胞。在挑取 GBC-SD-wtp53 单克隆细胞进行扩大培养时,发现其对血清的依赖性明显增加,需在含较高浓度(20%)胎牛血清的培养液中生长,并且每次克隆传代后的单细胞增殖能力很差,再次形成克隆率低及时间长。为防止污染及长期传代引起的质粒丢失,后期实验时混合阳性克隆扩大培养。国内孙梅等^[10]曾实验报道,混合扩增 G418 阳性克隆细胞,同样可获得高表达外源 p53 基因的转化细胞。

通过 G418 加压筛选建立了转化细胞系 GBC-SD-wtp53 和 GBC-SD-mtp53。经与严格设定的对照组培养细胞相比较,初步可以推断在 GBC-SD-wtp53 和 GBC-SD-mtp53 细胞中,neo^R基因已整合至细胞基因组中并获稳定表达。为了验证转染后的肿瘤细胞中是否存在外源目的基因的整合与表达,我们进一步做了 DNA、mRNA 及蛋白质 3 个水平上的检测。结果经 PCR 分析证实转染后的细胞中有外源 p53 基因的整合,RT-PCR 技术检测,虽然不能区分是外源性还是内源性 p53 mRNA,但通过半定量分析可间接提示,外源 p53 基因在转染后的细胞中获得表达。由于目前国内可用的 P53 蛋白抗体,均能同时与野生型和突变性 P53 蛋白反应,故在蛋白质水平上不能做精确的定性分析。但我们蛋白印迹的定量结果证实,在转化的克隆细胞中 P53 蛋白的表达量明显增强。

细胞生长曲线和集落形成实验表明,转染野生型 p53 基因后的 GBC-SD-wtp53 细胞,其生长速率和集落

形成能力均明显低于对照组细胞,提示外源野生型 p53 基因的表达对人胆囊癌细胞体外生长有显著的抑制作用。裸鼠致瘤性是反映肿瘤细胞恶性增殖能力的一个重要方面。体内实验结果显示:GBC-SD-wtp53 细胞在裸鼠体内成瘤率为 75%,且所形成肿瘤的平均体积显著低于 GBC-SD 和 GBC-SD-mutp53 细胞。说明野生型 p53 基因的表达可抑制 GBC-SD 细胞在裸鼠中的致瘤性。

目前文献报道的野生型 p53 基因转染肿瘤细胞后,对其在裸鼠体内致瘤性的结果不尽相同。Ohashi 等^[11]报道腺病毒介导的野生型 p53 基因转染,使胃癌 MKN1 细胞在裸鼠体内生长抑制高达 90%,而汪惠等^[12]实验证实脂质体介导的外源野生型 p53 基因转染人肺癌 801D 细胞后,导致转化细胞丧失了裸鼠体内的致瘤性。而本研究结果表明,虽然外源野生型 p53 基因对人胆囊癌 GBC-SD 细胞生长有显著的抑制作用,但仍不能完全抑制肿瘤细胞的体内生长。这可能由于体内治疗的环境条件相对要复杂得多,抑瘤作用会受到影响。说明肿瘤细胞基因调控的复杂性,也体现了单基因治疗的局限性,这为今后多基因协同作用及野生型 p53 基因联合放、化疗的临床应用奠定了基础。

将外源 p53 基因转入癌细胞,研究其对癌细胞恶性生长的影响,不仅可提示 p53 基因的抑瘤功能,而且为 p53 基因治疗肿瘤提供了实验依据。本研究采用真核表达质粒为载体,将外源野生型 p53 基因转染人胆囊癌 GBC-SD 细胞,导致转染后的细胞生长及裸鼠致瘤性发生显著抑制。说明恢复肿瘤细胞中野生型 p53 基因的表达,在胆囊癌的基因治疗中有实际的应用价值。

[参考文献]

- [1] Fisher DE. The p53 tumor suppressor: Critical regulator of life & death in cancer[J]. *Apoptosis*, 2001, 6(1): 7-15.
- [2] Parwani AV, Geradts J, Caspers E, et al. Immunohistochemical and genetic analysis of non-small cell and small cell gallbladder carcinoma and their precursor lesions[J]. *Mod Pathol*, 2003, 16(4): 299-308.
- [3] Rashid A, Ueki T, Gao YT, et al. K-ras mutation, p53 overexpression, and microsatellite instability in biliary tract cancers: A population-based study in China[J]. *Clin Cancer Res*, 2002, 8(10): 3156-3163.
- [4] Isaacs WB, Carter BS, Ewing CM. Wild-type p53 suppresses growth of human prostate cancer cells containing mutant p53 alleles[J]. *Cancer Res*, 1991, 51(17): 4716-4720.
- [5] Ralhan R, Agarwal S, Nath N, et al. Correlation between p53 gene mutations and circulating antibodies in betel- and tobacco-

- consuming North Indian population [J]. *Oral Oncol*, 2001, 37 (3): 243-250.
- [6] Nielsen LL, Lipari P, Dell J, *et al.* Adenovirus-mediated p53 gene therapy and paclitaxel have synergistic efficacy in models of human head and neck, ovarian, prostate and breast cancer [J]. *Clin Cancer Res*, 1998, 4(4): 835-846.
- [7] Mikata K, Uemura H, Ohuchi H, *et al.* Inhibition of growth of human prostate cancer xenograft by transfection of p53 gene: gene transfer by electroporation [J]. *Mol Cancer Ther*, 2002, 1(4): 247-252.
- [8] Mitry RR, Sarraf CE, Havlik R, *et al.* Detection of adenovirus and initiation of apoptosis in hepatocellular carcinoma cells after Ad-p53 treatment [J]. *Hepatology*, 2000, 31(4): 885-889.
- [9] Ahn WS, Bae SM, Lee JM, *et al.* Anti-cancer effect of adenovirus p53 on human cervical cancer cell growth *in vitro* and *in vivo* [J]. *Int J Gynecol Cancer*, 2004, 14(2): 322-332.
- [10] 孙梅, 吕有勇. p53 基因对人胃癌细胞生长及致瘤性的抑制作用 [J]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 1996, 3(1): 11-16.
- [11] Ohashi M, Kanai F, Ueno H, *et al.* Adenovirus mediated p53 tumour suppressor gene therapy for human gastric cancer cells *in vitro* and *in vivo* [J]. *Gut*, 1999, 44(3): 366-371.
- [12] 汪蕙, 李金照, 赖百塘, 等. p53 C 末端 356 ~ 393 氨基酸对人肺癌细胞恶性表型的影响 [J]. *中华肿瘤杂志*, 2003, 25 (6): 527-530.
- [收稿日期] 2005 - 04 - 13 [修回日期] 2005 - 08 - 09
- [本文编辑] 韩丹

第九届全国肿瘤生物治疗学术会议征稿启事

肿瘤的生物治疗是肿瘤治疗研究的热点,为了更广泛深入地交流该领域的研究进展和临床应用经验,讨论存在的问题和展望未来的发展趋势,由中国免疫学会肿瘤免疫与生物治疗分会和中国抗癌协会肿瘤生物治疗专业委员会联合主办的第九届全国肿瘤生物治疗学术会议于 2006 年 7 月在青岛市举行。诚邀国内外专家与同行踊跃投稿、参加会议交流。会议期间将邀请著名专家报告肿瘤防治新进展。

一、征文主题:

1. 肿瘤生物治疗的新理论与新策略; 2. 肿瘤免疫与生物治疗和诊断的新技术; 3. 肿瘤免疫机制研究; 4. 细胞治疗; 5. 细胞因子治疗; 6. 抗体治疗; 7. 肿瘤疫苗; 8. 基因治疗; 9. 中药及免疫调节剂的应用等; 10. 与常规治疗相结合而组成的新疗法

二、征文要求

凡未在国内外公开刊物发表过的研究成果,请撰写为 800 ~ 1 000 字的中文摘要,并加盖公章(请附软盘或发 E-mail)。所接受的论文摘要将录入会议论文集。

三、截稿日期

2006 年 4 月 15 日

四、征文请寄: 青岛市四方区四流南路 127 号 青岛市中心医院(青岛大学医学院第二附院)肿瘤中心,来稿请在信封左下角注明“会议投稿”。

邮政编码: 266042

联系人: 马学真

电话: 0532 - 84961896, 84961696; 13963931026

传真: 0532 - 84961729

E-mail: maxuezhen@163.com