

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2009.03.08

· 基础研究 ·

Smad4 过表达对人胃癌细胞增殖和 NF- κ B 通路的影响

姚 军¹, 钱翠娟^{2*} (1. 台州学院医学院, 浙江 台州 318000; 2. 台州市立医院消化内科, 浙江 台州 318000)

[摘要] 目的: 构建 pEGFP-C1-Smad4 表达载体, 观察 Smad4 过表达对人胃癌 SGC7901 细胞增殖的影响, 探讨其与 NF- κ B 的相关性。方法: 构建增强绿色荧光蛋白(EGFP)与 Smad4 的融合表达载体, 转染人胃癌 SGC7901 细胞, 荧光显微镜观察转染后细胞 EGFP 的表达, Western blotting 检测 SGC7901-Smad4 细胞中 Smad4 和 NF- κ B 的表达, 电泳迁移率变异分析(electrophoretic mobility shift assay, EMSA)检测过表达 Smad4 对胃癌 SGC7901 细胞 NF- κ B 活化的影响, MTT 法检测过表达 Smad4 对 SGC7901 细胞增殖的影响。结果: 在转染 pEGFP-C1-Smad4 的人胃癌 SGC7901 细胞(SGC7901-Smad4)中观察到 EGFP 的表达; Western blotting 检测显示, SGC7901-Smad4 细胞中 Smad4 过表达, 并伴随核转录因子 NF- κ B p65 的表达水平下调; EMSA 检测显示 Smad4 过表达可下调 NF- κ B 活化; MTT 法显示过表达 Smad4 显著抑制 SGC7901 细胞增殖 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。结论: Smad4 过表达显著抑制人胃癌细胞增殖, 其机制可能与下调 NF- κ B 信号通路有关。

[关键词] 胃癌; SGC7901 细胞株; Smad4; NF- κ B

[中图分类号] R735.2; R730.2

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-385X(2009)03-0248-05

Effects of Smad4 over-expression on proliferation of human gastric cancer cells and activation of NF- κ B pathway

YAO Jun¹, QIAN Cui-juan^{2*} (1. Medical School of Taizhou College, Taizhou 318000, Zhejiang, China; 2. Department of Gastroenterology, Taizhou Municipal Hospital, Taizhou 318000, Zhejiang, China)

[Abstract] **Objective:** To construct pEGFP-C1-Smad4 expression vector and to observe the influence of Smad4 over-expression on the proliferation of human gastric cancer SGC7901 cells and its relationship with nuclear factor kappa B (NF- κ B). **Methods:** Recombinant expression vector pEGFP-C1-Smad4 was constructed and was used to transfect human gastric cancer SGC7901 cells. EGFP expression in transfected cells was detected by fluoroscopy. Smad4 and NF- κ B expression in transfectant was examined by Western blotting. Effect of Smad4 over-expression on activation of NF- κ B and proliferation of transfected SGC7901 cells were examined by electrophoretic mobility shift assay (EMSA) and MTT assay, respectively. **Results:** Expression of EGFP in transfected SGC7901 cells was observed under fluorescence microscope. Smad4 was over-expressed in transfected SGC7901 cells, accompanied by down-regulation of NF- κ B p65 expression in the transfectants. EMSA and MTT demonstrated that Smad4 over-expression significantly inhibited the activation of NF- κ B and the proliferation of SGC7901 cells ($P < 0.05$, $P < 0.01$). **Conclusion:** Smad4 over-expression can greatly inhibit the proliferation of human gastric cancer cells, probably through down-regulation of NF- κ B pathway.

[Key words] gastric neoplasms; SGC7901 cell line; Smad4; NF- κ B

[Chin J Cancer Biother, 2009, 16(3): 248-252]

胃癌是源自胃黏膜上皮细胞的一种恶性肿瘤, 它在我国的发病率和病死率均位列恶性肿瘤的前列。在肿瘤发生发展的多因素、多步骤、多阶段和多基因改变的过程中, 癌基因的激活和抑癌基因的失活被认为是人类肿瘤形成和发展的基础。抑癌基因 *DPC4* 的产物 Smad4 蛋白是 Smad4/TGF- β 信号转导通路的细胞内信号分子, 对恶性肿瘤的发生发展及转移有重要影响^[1], 几乎所有生物学效应均是 Smad4 与其他 Smads 蛋白相互作用的结果^[2]。

研究^[3]表明, 小鼠抑癌基因 *Smad4* 基因上单倍体的缺失可以促进胃息肉和胃癌的形成。核因子- κ B (NF- κ B) 是一种广泛存在于体内多种细胞的核

[基金项目] 浙江省医药卫生科学研究基金立项资助项目(No. 2008B204)。Supported by the Medicine and Health Scientific Research Program of Zhejiang Province (No. 2008B204)

[作者简介] 姚 军(1976-), 男, 湖南湘潭人, 博士研究生, 讲师, 主要从事细胞信号转导的基础研究, E-mail: yaojuntzu@yeah.net

* 通讯作者(Corresponding author). E-mail: cuijuanqian@yeah.net

转录因子,对细胞增殖及凋亡发挥重要的调控作用^[4,5];其在胃癌的发生、发展过程中起着重要的作用^[6]。但目前尚未有 Smad4 信号通路与 NF- κ B 信号通路在胃癌发生、发展中串话作用(cross-talk)的报道。为了进一步探讨 Smad4 在胃癌发生、发展中的作用,本研究构建 pEGFP-C1-Smad4 表达载体,观察 Smad4 蛋白分子在胃癌细胞中的作用,探讨其与 NF- κ B 信号通路是否具有串话作用,为胃癌的基因治疗提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 主要材料与试剂

人胃癌 SGC7901 细胞由武汉大学人民医院消化病研究所提供。含抑癌基因 *DPC4* 的蛋白产物 Smad4 的真核重组质粒 pcDNA3.1(-)-Smad4、含增强绿色荧光蛋白的 pEGFP-C1 由本室保存。DH5 α 菌株为 pEGFP-C1 宿主菌,由本室保存。限制性内切酶(Toyobo, Japan)、RNA 酶、DNA Marker、TaqDNA 聚合酶(Toyobo, Japan)、T4DNA 连接酶(Toyobo, Japan)以及 RPMI 1640 培养基(Gibco)、小牛血清(杭州四季青公司)、脂质体(LipofectamineTM 2000)购自美国 Grand Island 公司。Smad4、NF- κ Bp65 和 β -actin 抗体购自 Santa Cruz 公司。蛋白质分子量 marker、M-Per Mammalian 总蛋白抽提试剂盒购自美国 Pierce 公司。

1.2 pEGFP-C1-Smad4 表达载体的构建

用限制性内切酶 *EcoR* I 和 *Bam*H I 切质粒 pcDNA3.1(-)-Smad4,将所得的 *Smad4* 基因片段插入 pEGFP-C1 的 *EcoR* I 和 *Bam*H I 之间,以 3:1 的摩尔比用 T4 DNA 连接酶 16 $^{\circ}$ C 进行连接,构建重组质粒 pEGFP-C1-Smad4。重组质粒转化感受态 DH5 α ,卡那霉素平板筛选阳性克隆,提取阳性克隆菌质粒,以 *EcoR* I 和 *Bam*H I 酶切及测序鉴定。

1.3 脂质体介导 pEGFP-C1-Smad4 转染人胃癌 SGC7901 细胞

将培养细胞铺板,生长至 75% 面积时,以无血清培养基清洗 3 次。实验孔(SGC7901-Smad4 组)加入转染混合物:低血清培养液 500 μ l,脂质体(LipofectamineTM 2000) 4 μ l,pEGFP-C1-Smad4 2 μ l;对照孔 1(SGC7901-EGFP 组)加入低血清培养液 500 μ l,脂质体 4 μ l,pEGFP-C1 2 μ l 混合液;对照孔 2(空白对照组)加等量 PBS 缓冲液。每组 6 孔,培养 48 h。

1.4 荧光显微镜观察转染后胃癌细胞 EGFP 表达

瞬时转染胃癌 SGC7901 细胞 48 h 后,荧光显微镜观察转染后融合蛋白(增强绿色荧光)表达。将

上述培养的细胞用 PBS 洗 2 次,丙酮室温固定 30 min,PBS 振洗后在荧光显微镜 488 nm 激发波长下观察绿色荧光蛋白的表达情况。

1.5 Western blotting 检测 SGC7901-Smad4 细胞中 Smad4 和 NF- κ B p65 的表达

按试剂盒说明书操作。提取对照组和实验组肿瘤细胞的总蛋白和核蛋白质,抽提物 -80 $^{\circ}$ C 保存备用。分别以 30 μ l 胞质、胞核提取物与 6 \times 上样缓冲液 10 μ l 混合,在沸水浴中变性 7 min,取样进行 SDS-PAGE 电泳;电泳完成后将相关的蛋白质条带转印到 PVDF 膜上,经一抗(抗 Smad4 或 NF- κ B p65 抗体)和酶标 II 抗作用后,用 DAB 底物溶液显色。

1.6 电泳迁移率变异分析检测过表达 Smad4 对胃癌 SGC7901 细胞 NF- κ B 活化的影响

采用电泳迁移率变异分析(electrophoretic mobility shift assay, EMSA)法检测过表达 Smad4 对 SGC7901 细胞 NF- κ B 活化的影响。参照 Promega 公司 Gel Shift Assay Systems 试剂盒说明方法略加改进,依次加入无核酶水、连接缓冲液、核蛋白(10 μ g),至总体积为 9 μ l,室温放置 10 min;加 γ -[³²P] ATP 标记的 NF- κ B 特异性探针,30 min 后 4% 非变性聚丙烯酰胺电泳,暗室内压片, -20 $^{\circ}$ C 放射自显影。应用凝胶分析软件对自显影照片特异条带进行光密度数据分析,以相对密度单位表示 NF- κ B DNA 结合活性。

1.7 MTT 法检测过表达 Smad4 对胃癌细胞增殖的影响

取各个实验组对数生长期细胞,以 5×10^7 /L 接种于 96 孔板,每孔 200 μ l,每组 6 个重复孔,常规条件下分别培养至 84 h。培养结束时,每孔加入 MTT 溶液(5 g/L)20 μ l,37 $^{\circ}$ C 继续孵育 4 h 后终止培养,弃上清,每孔加入 200 μ l DMSO,振荡 10 min,以无细胞的完全培养基作为空白对照,分光光度计测各孔 *D* 值。

1.8 统计学处理

采用 SPSS 16.0 统计软件分析,常规进行方差齐性检验、正态性检验;计量数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,单变量两组资料之间的比较采用 *t* 检验,多组资料之间的比较采用单因素方差分析。

2 结果

2.1 转染 pEGFP-C1-Smad4 后 SGC7901 细胞 EGFP 的表达

在荧光显微镜下观察发现,转染 pEGFP-C1-Smad4 的 SGC7901 细胞(SGC7901-Smad4)和空载体

pEGFP-C1 的 SGC7901 细胞(SGC7901-EGFP)均表达 EGFP,表现为细胞发出明亮的绿色荧光,未转染

的 SGC7901 细胞(Control SGC7901)未见绿色荧光(图 1)。

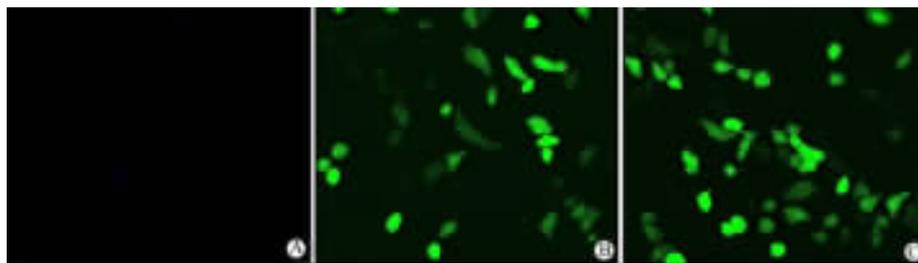


图 1 转染 pEGFP-C1-Smad4 的 SGC7901 细胞中绿色荧光蛋白的表达(×200)
 Fig.1 EGFP expression in SGC7901 cells transfected with pEGFP-C1-Smad4(×200)
 A: Control SGC7901 cells; B: SGC7901-EGFP cells; C: SGC7901-Smad4 cells

2.2 SGC7901-Smad4 细胞中 Smad4 蛋白的过表达

胃癌 SGC7901 细胞在 pEGFP-C1-Smad4 转染后,Western blotting 检测各组细胞总蛋白中 Smad4 的表达水平,结果显示,SGC7901-Smad4 组细胞中 Smad4 的表达明显高于对照组($P < 0.05$,图 2)。

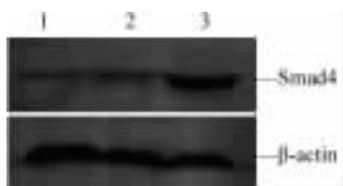


图 2 SGC7901-Smad4 细胞中 Smad4 的过表达
 Fig.2 Over-expression of Smad4 in SGC7901-Smad4 cells
 1: Control SGC7901 cells; 2: SGC7901-EGFP cells;
 3: SGC7901-Smad4 cells

2.3 过表达 Smad4 对胃癌 SGC7901 细胞体外增殖能力的抑制

胃癌 SGC7901 细胞转染后,与空白对照 SGC7901 细胞和 SGC7901-EGFP 细胞相比较,表达外源性 Smad4 的 SGC7901-Smad4 细胞生长缓慢、胞体变长,成为梭状,细胞表面出现丝状突起,且细胞从培养瓶瓶壁脱落,导致悬浮细胞增多。细胞生长曲线分析结果(图 3)显示,表达外源性 Smad4 可明显抑制胃癌 SGC7901 细胞的生长,而空白对照细胞和 SGC7901-EGFP 细胞生长相对稳定($P < 0.05$)。

2.4 过表达 Smad4 致胃癌 SGC7901 细胞 NF-κB p65 表达下调

胃癌 SGC7901 细胞转染后,Western blotting 检测各组细胞核蛋白中 NF-κB p65 的表达水平。结果显示,与对照组比较,转染 pEGFP-C1-Smad4 后 SGC7901 细胞 NF-κB p65 蛋白表达明显降低($P <$

0.05,图 4)。

2.5 过表达 Smad4 致胃癌 SGC7901 细胞 NF-κB 活化下调

胃癌 SGC7901 细胞转染后,EMSA 检测各组 SGC7901 细胞核蛋白中 NF-κB 活化水平,与对照组比较,转染 pEGFP-C1-Smad4 后 SGC7901 细胞 NF-κB 活化水平明显降低($P < 0.05$,图 5)。

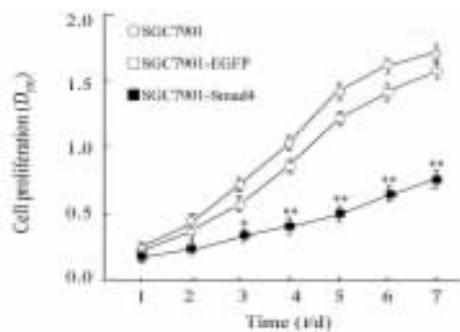


图 3 过表达 Smad4 对 SGC7901 细胞增殖能力的影响
 Fig.3 Effect of Smad4 over-expression on the proliferation of SGC7901 cells
 * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs SGC7901 or SGC7901-EGFP($n = 6$)

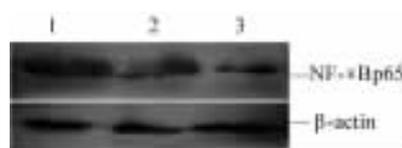


图 4 转染 pEGFP-C1-Smad4 后 SGC7901 细胞 NF-κB p65 蛋白的表达
 Fig. 4 Expression of NF-κB p65 protein in SGC7901 cells transfected with pEGFP-C1-Smad4
 1: Control SGC7901 cells; 2: SGC7901-EGFP cells;
 3: SGC7901-Smad4 cells

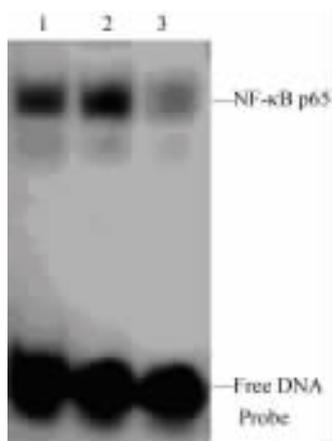


图5 过表达 Smad4 对 SGC7901 细胞 NF- κ B 活化的影响

Fig.5 Effect of Smad4 over-expression on the NF- κ B activation in SGC7901 cells

1: Control SGC7901 cells; 2: SGC7901-EGFP cells;
3: SGC7901-Smad4 cells

3 讨论

TGF- β /Smad 信号转导通路与肿瘤的发生发展密切相关,Smad4 蛋白是 TGF- β 信号细胞内转导的枢纽^[7]。Smad4 在大肠癌的早期诊断中起着重要作用,Smad4 表达的缺少提示大肠癌预后不良^[8]。Smad4 mRNA、TGF- β 1 和 TGF- β R1 三者的表达可能与胃癌发生发展、生物学行为和预后有关,可作为重要的生物学标记物^[9]。而且 TGF- β 1 能抑制胃癌细胞株的增殖,病理学观察到癌细胞出现染色体浓缩和细胞核 DNA 断裂等细胞凋亡现象^[10]。然而,Smad4 表达上调对胃癌细胞的影响目前尚未有报道。因此,进一步探讨其 Smad4 在基因治疗中的作用,具有重要的临床意义。

本实验采用 pEGFP-C1 真核表达载体,构建了表达 EGFP-Smad4 融合蛋白的重组质粒,进而再构建了 pEGFP-Smad4,用其转染 SGC7901 胃癌细胞,可极大缩短细胞的体外筛选时间及减少其他方法筛选对细胞的毒性作用。同时通过转染效率较高的脂质体转染法将 pEGFP-Smad4 转染肿瘤细胞,荧光显微镜下观察到绿色荧光的转染细胞,提示细胞中表达出 EGFP-Smad4 融合蛋白。

NF- κ B 蛋白是近年来研究异常活跃的与肿瘤发生发展密切相关的信号转导及转录活化因子^[11-12]。NF- κ B 是一类能特异性地识别结合 DNA 的蛋白质二聚体转录因子,当细胞受到各种胞内外刺激时,IKBs 被迅速地降解,NF- κ B 得以释放并进入细胞

核,从而发挥其转录调节功能^[13]。研究^[14-16]显示,NF- κ B 活性的抑制不仅可以抑制细胞增殖,而且还可以诱导增殖细胞的凋亡,消除这些细胞的致癌潜能。国内外关于信号通路的研究^[15-16]表明,NF- κ B 信号通路是癌症治疗中很有研究价值的干预靶点。

本实验中,通过基因转染提高 Smad4 蛋白水平水平,恢复或增强了 TGF- β 信号转导途径,可降低核转录因子 NF- κ B 表达水平,减弱 NF- κ B 活化水平,从而抑制了胃癌细胞株 SGC7901 的生长。本实验证实了 Smad4 与 NF- κ B 在胃癌细胞中存在一定程度的串话作用,但 Smad4 与 NF- κ B 在胃癌中信号串话的确切机制仍有待进一步研究。

[参考文献]

- [1] Hahn SA, Schutte M, Hoque AT, *et al.* DPC4, a candidate tumor suppressor gene at human chromosome 18q21.1 [J]. *Science*, 1996, 271(5247): 350-353.
- [2] Millet C, Zhang YE. Roles of Smad3 in TGF-beta signaling during carcinogenesis [J]. *Crit Rev Eukaryot Gene Expr*, 2007, 17(4): 281-293.
- [3] Xu X, Brodie SG, Yang X, *et al.* Haploid loss of the tumor suppressor Smad4/DPC4 initiates gastric polyposis and cancer in mice [J]. *Oncogene*, 2000, 19(15): 1868-1874.
- [4] Sarkar FH, Li Y, Wang Z, *et al.* NF-kappaB signaling pathway and its therapeutic implications in human diseases [J]. *Int Rev Immunol*, 2008, 27(5): 293-319.
- [5] Naugler WE, Karin M. NF-kappaB and cancer-identifying targets and mechanisms [J]. *Curr Opin Genet Dev*, 2008, 18(1): 19-26.
- [6] Maeda S, Omata M. Inflammation and cancer: role of nuclear factor-kappaB activation [J]. *Cancer Sci*, 2008, 99(5): 836-842.
- [7] Lönn P, Morén A, Raja E, *et al.* Regulating the stability of TGF-beta receptors and Smads [J]. *Cell Res*, 2009, 19(1): 21-35.
- [8] Isaksson-Mettävainio M, Palmqvist R, Forssell J, *et al.* SMAD4/DPC4 expression and prognosis in human colorectal cancer [J]. *Anticancer Res*, 2006, 26(1B): 507-510.
- [9] Kim JY, Park DY, Kim GH, *et al.* Smad4 expression in gastric adenoma and adenocarcinoma: frequent loss of expression in diffuse type of gastric adenocarcinoma [J]. *Histol Histopathol*, 2005, 20(2): 543-549.
- [10] Li X, Zhang YY, Wang Q, *et al.* Association between endogenous gene expression and growth regulation induced by TGF-beta1 in human gastric cancer cells [J]. *World J Gastroenterol*, 2005, 11(1): 61-68.
- [11] Baud V, Karin M. Is NF-kappaB a good target for cancer therapy? Hopes and pitfalls [J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2009, 8(1): 33-40.
- [12] Middleton G, Ghaneh P, Costello E, *et al.* New treatment options

- for advanced pancreatic cancer[J]. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol*, 2008, 2(5): 673-696.
- [13] Rangan G, Wang Y, Harris D. NF-kappaB signalling in chronic kidney disease[J]. *Front Biosci*, 2009, 14: 3496-3522.
- [14] Baud V, Jacque E. The alternative NF-kB activation pathway and cancer: friend or foe[J]? *Med Sci (Paris)*, 2008, 24(12): 1083-1088.
- [15] Royuela M, Rodríguez-Berriguete G, Fraile B, *et al.* TNF-alpha/IL-1/NF-kappaB transduction pathway in human cancer prostate [J]. *Histol Histopathol*, 2008, 23(10): 1279-1290.
- [16] 刘国红, 王波. NF-κB 抑制剂二硫代氨基甲酸吡咯烷提高卵巢癌细胞顺铂化疗的敏感性[J]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2008, 15(4): 356-360.
- [收稿日期] 2009-02-23 [修回日期] 2009-04-11
- [本文编辑] 韩丹

· 科技动态 ·

表达共刺激配体 CD70 的稳态 DC 能打破 CD8⁺ T 细胞耐受并维持免疫应答

CD70 和 CD27 是一对共刺激分子,受体 CD27 组成性表达在 T 细胞表面,促进 T 细胞存活并协同 CD28 决定了免疫效应的强度以及免疫记忆的形成。大部分静息状态细胞都不表达 CD70,它只在活化的 DCs、B 细胞和 T 细胞有表达。

该研究在 CD11c 启动子下插入了含有全长小鼠 CD70 的 DNA 构建了 CD11c⁻CD70tg 转基因小鼠,经过验证该小鼠仅在高表达 CD11c 的 DC 上过表达 CD70。进一步观察发现,随着年龄的增长 CD11c⁻CD70tg;CD27^{+/-} 小鼠淋巴结和脾脏的 T 细胞会自发的从 CD44^{lo}CD62L^{hi} 的初始 T 细胞转变为 CD44^{hi}CD62L^{lo} 的效应性记忆性 T 细胞,并高表达 T 细胞效应性标志 CD43,小鼠脾脏和淋巴结肿大,随后出现进行性 T、B 细胞减少,最终由于 T、B 细胞联合免疫缺陷致死,但 CD11c⁻CD70tg;CD27^{-/-} 小鼠并没有观察到上述表现,表明组成性的 CD27-CD70 相互作用会导致体内 T 细胞进行性活化增值。接下来该研究用 MHC I 类分子限制性 OVA(257-264)肽免疫动物,该模型能避免 DC 成熟从而诱导针对 OVA(257-264)肽的免疫耐受,将 OT-I T 细胞少量回输至野生型或 CD11c⁻CD70tg 转基因小鼠,然后用肽进行冲击,研究发现在对照小鼠 OVA 特异性 CD8⁺ T 细胞到第 6 天达到高峰,约占总 CD8T 的 7%,但在 CD70 转基因受者小鼠特异性 T 细胞达到了 51%,后者高分泌 IFN-γ 具有杀伤功能,能完全排斥 B16-OVA 肿瘤生长并且再次应答后后者能诱导 70% 的特异性 T 细胞。说明 CD70 在 DCs 表面高表达不仅打破了针对外源性 OVA 肽的免疫耐受,还形成了一定程度的免疫记忆。那它是否能打破机体对内源性抗原的耐受呢? 引入了 DIETER 耐受小鼠:用三苯氧氨(TAM)诱导针对内源性抗原 gp-100 和 β-Gal 的免疫耐受,在 TAM 处理后的第 8 天用 LCMV 作用小鼠,发现 CD11c⁻CD70tg; DIETER 小鼠来源的 DCs 在体外能诱导特异性 CD8⁺ T 细胞分泌 IFN-γ,并且在病毒感染的第 5 天该小鼠体内病毒滴度较对照明显减少。因此该研究认为,CD70 在稳态 DCs 上的表达能有效的将 CD8⁺ T 细胞耐受转化为具有保护作用的抗病毒免疫应答。应用以上两个耐受模型证明了表达共刺激配体 CD70 的稳态树突状细胞能打破 CD8⁺ T 细胞耐受并能维持有效免疫应答。

[张 婷 摘译, 刘书逊 审阅. Keller AM, Schildknecht A, Xiao YL, *et al.* *Immunity*, 2008, 29(6): 934-946.]

· 简讯 ·

本刊已被英国《公共健康研究数据库》(GH)收录

2009年4月28日,本刊收到中国科学技术期刊国际交流委员会通知,《中国肿瘤生物治疗杂志》已被英国《公共健康研究数据库》(Global Health, GH)收录。该数据库是由英国国际农业和生物科学研究中心主办的国际权威的公共健康数据库,收集来自全球158个国家、50种语言、5000余种文献、最终译为英语的文献内容。到目前为止,本刊已先后进入了8个国际著名检索系统:美国《化学文摘》(CA)、美国《剑桥科学文摘》(CSA)、美国《乌利希国际期刊指南》(Ulrich IPD)、荷兰《医学文摘》(EMBASE)、俄罗斯《文摘杂志》(AJ)、英国《农业与生物科学研究文摘》(CABA)、英国《公共健康研究数据库》(GH)、波兰《哥白尼索引》(IC)。《中国肿瘤生物治疗杂志》的国际显示度和学术影响又得到进一步的提升。