

肝癌患者树突状细胞融合肝癌细胞体外诱导特异性抗肝癌免疫

王亮, 殷晓煜, 吕明德, 李宝金, 黄洁夫

王亮, 殷晓煜, 吕明德, 李宝金, 黄洁夫, 中山大学附属第一医院肝胆外科 广东省广州市 510080
国家自然科学基金资助课题, No. 30100180
项目负责人: 殷晓煜, 510080, 广东省广州市, 中山大学附属第一医院肝胆外科. yinxy@21cn.com
电话: 020-87765183 传真: 020-87765183
收稿日期: 2003-11-26 接受日期: 2003-12-16

Eliciting specific antitumor immunity against hepatocellular carcinoma *in vitro* by fusions of HCC patient-derived dendritic cells with HCC cells

Liang Wang, Xiao-Yu Yin, Ming-De Lu, Bao-Jin Li, Jie-Fu Huang

Liang Wang, Xiao-Yu Yin, Ming-De Lu, Bao-Jin Li, Jie-Fu Huang, Department of Hepatobiliary Surgery, the First Affiliated Hospital, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510080, Guangdong Province, China Supported by the National Natural Science Foundation of China, No. 30100180
Correspondence to: Dr. Xiao-Yu Yin, Department of Hepatobiliary Surgery, the First Affiliated Hospital, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510080, Guangdong Province, China. yinxy@21cn.com
Received: 2003-11-26 Accepted: 2003-12-16

Abstract

AIM: To investigate the ability of fusions of HCC patient-derived dendritic cells (DC) with HCC cells to induce autologous T lymphocytes to elicit specific immunity against HCC *in vitro*.

METHODS: Dendritic cells isolated from HCC patient peripheral blood were cultured and proliferated *in vitro* for one week by using recombinant human granulocyte/macrophage-colony stimulating factor (rhGM-CSF) and interleukin-4 (rhIL-4). Expression of DC surface markers was assessed by flow cytometry. Fusions of DC with HepG2 cells (HepG2/DC) were achieved by polyethyleneglycol (PEG). The ability of HepG2/DC to stimulate proliferation and differentiation of autologous T lymphocytes was assessed by MTT method, and the specific killing efficacy of HepG2/DC-induced cytotoxic T lymphocytes (CTL) to HepG2 was evaluated.

RESULTS: Following one week culture, DC presented a high-level expression of CD1a, HLA-DR, CD54, CD80 and CD86. Fusions had remarkably greater ability to stimulate proliferation of autologous T lymphocytes in comparison with HepG2, HepG2+DC, DC and PBS, with an A value of 0.816 ± 0.019 vs 0.541 ± 0.020 , 0.632 ± 0.018 , 0.564 ± 0.018 , 0.345 ± 0.013 , respectively ($P < 0.05$). The HepG2/DC-activated CTLs showed a potent specific killing efficacy to HepG2.

CONCLUSION: Fusions of HCC patient-derived DC with HCC cells can effectively stimulate autologous T lymphocytes

to elicit specific antitumor immunity against HCC, and may represent as a promising approach of immunotherapy for HCC.

Wang L, Yin XY, Lu MD, Li BJ, Huang JF. Eliciting specific antitumor immunity against hepatocellular carcinoma *in vitro* by fusions of HCC patient-derived dendritic cells with HCC cells. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2004;12(4):774-777

摘要

目的: 探讨肝癌(HCC)患者树突状细胞(DC)融合 HCC 细胞体外诱导同源 T 淋巴细胞产生特异性抗 HCC 免疫的效能。

方法: 应用人重组粒细胞/巨噬细胞集落刺激因子(rhGM-CSF)和白介素-4(rhIL-4)对肝癌患者外周血单个核细胞进行体外诱导产生树突状细胞, 流式细胞仪检测 DC 表面标志物表达水平, 聚乙二醇融合 DC 与肝癌细胞 HepG2, MTT 法测定融合细胞(HepG2/DC)刺激同源 T 淋巴细胞增生、分化能力, 细胞毒性试验检测 HepG2/DC 诱导的细胞毒 T 淋巴细胞(CTL)对 HepG2 的特异性杀伤作用。

结果: 体外培养 1 wk 后的 DC 高度表达 CD1a, HLA-DR, CD54, CD80 和 CD86, 融合细胞 HepG2/DC 刺激同源 T 淋巴细胞增值能力显著高于 HepG2, HepG2+DC, DC 及 PBS, A 值分别为 0.816 ± 0.019 , 0.541 ± 0.020 , 0.632 ± 0.018 , 0.564 ± 0.018 , 0.345 ± 0.013 ($P < 0.05$), HepG2/DC 活化的 CTL 对 HepG2 具有明显的特异性杀伤作用。

结论: HCC 患者外周血 DC 融合 HCC 细胞可有效诱导同源 T 淋巴细胞产生特异性抗 HCC 免疫, 可望成为一条 HCC 免疫治疗的有效途径。

王亮, 殷晓煜, 吕明德, 李宝金, 黄洁夫. 肝癌患者树突状细胞融合肝癌细胞体外诱导特异性抗肝癌免疫. *世界华人消化杂志* 2004;12(4):774-777
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/12/774.asp>

0 引言

树突状细胞(dendritic cell, DC)是人体内专职的抗原呈递细胞, 他能有效活化同源 T 淋巴细胞产生抗原特异性免疫应答^[1-2], 利用 DC 呈递肿瘤抗原进而诱导特异性抗肿瘤免疫是当今肿瘤免疫治疗领域的一个研究热点^[3-10], 其关键之处是如何使 DC 能有效呈递肿瘤抗原. DC 与肿

瘤细胞融合是最近发展起来的新技术^[11-12], 他能确保 DC 在获得肿瘤细胞全部基因的基础上表达并呈递多种肿瘤抗原. 我们通过体外实验探讨 DC 融合肝细胞性肝癌 (hepatocellular carcinoma, HCC) 细胞诱导同源 T 淋巴细胞产生特异性细胞毒性 T 淋巴细胞 (cytotoxic T lymphocyte, CTL) 及其对 HCC 细胞的杀伤效能.

1 材料和方法

1.1 材料 2.5 g/L 胰蛋白酶液 + 0.2 g/L EDTA, RPMI1640 培养基购自 Gibco 公司; 胎牛血清购自 Hyclone 公司; 20 mmol/L HEPES 为 Sigma 公司产品; 2 mmol/L 谷氨酰胺购自 Gibco 公司; 500 mL/L 聚乙二醇购自 Sigma 公司; 淋巴细胞分离液购自上海试剂二厂; 四甲基偶氮唑盐 (MTT) 为上海生工公司产品, 用 0.02 mol/L PBS 液配制 5 g/L 储存液; 重组人粒细胞 / 巨噬细胞集落刺激因子 (rhGM-CSF), 重组人白介素 - 4 (rhIL-4) 及重组人白介素 - 2 (rhIL-2) 购自 Sigma 公司; 鼠抗人 CD1a-FITC (异硫氰酸荧光素), HLA-DR-FITC, CD14-PE (藻红脲荧光素), CD54-PE, CD80-PE 和 CD86-FITC 为 Pharmingen 及 Caltag 公司产品; 细胞毒性分析试剂盒 (Cyto Tox 96® Non-Radiocative Cytotoxicity Assay Kit) 为 Promega 公司产品; HepG2 人肝癌细胞株, BEL-7402 人肝癌细胞株和 SMM-1990 人胰腺癌细胞株均由中山大学动物实验中心提供; 流式细胞仪为美国 Beckman-Coulter 产品.

1.2 方法 取 4 例 HCC 患者外周血肝素抗凝, 以淋巴细胞分离液分离外周血单个核细胞 (peripheral blood mononuclear cells, PBMC), 无钙镁 Hanks 液 (pH7.2) 洗涤 3 遍, 将细胞密度调节为 $10^9/L$ 后加入 6 孔板培养 2 h, 吸去悬浮细胞 (淋巴细胞) 另作培养, 留下贴壁细胞并加入含 GM-CSF (100 $\mu g/L$)、IL-4 (20 $\mu g/L$)、100 mL/L 胎牛血清的 RPMI1640 培养液, 在 37 °C、50 mL/L CO₂ 孵箱中培养, 2-3 d 半量更换培养液, 培养 7 d. 将收集的淋巴细胞用含人 IL-2 (20 kU/L) 的 RPMI1640 培养液培养, 备用. 采用流式细胞仪检测 DC 表面 CD1a, HLA-DR, CD14, CD54, CD80 和 CD86 的表达. 肝癌细胞株 HepG2 经 Co⁶⁰ 照射 (30Gy) 后, 将 DC 与 HepG2 按 3 : 1 的比例加入含 500 mL/L 聚乙二醇的 RPMI1640, 混合培养 5 min, 用 RPMI1640 缓慢稀释、洗涤, 以含 rhGM-CSF (50 $\mu g/L$) 的 RPMI1640 培养液培养融合细胞 (HepG2/DC) 2 d, 待用. 淋巴细胞增生试验设 5 组: A 组: HepG2/DC 与同源 T 淋巴细胞培养 (1 : 5); B 组: HepG2 与同源 T 淋巴细胞培养; C 组: HepG2+DC 与同源 T 淋巴细胞培养; D 组: DC 与同源 T 淋巴细胞培养; E 组: PBS 与同源 T 淋巴细胞培养. 各组置于 96 孔板混合培养 48 h 后, 加入 MTT (5 g/L) 10 μL 继续培养 8 h, 离心培养板 (2 000 r/min, 10 min), 弃上清, 加 DMSO 100 μL / 孔, 轻轻震荡, 待结晶完全溶解后再放置 10 min, 于 570 nm 测定 A 值. 每组设 3 个复孔, 取均值. 将融合细胞和淋巴细胞按 1 : 10 比例混合, 以含人 IL-2 (20 kU/L) 的

RPMI1640 培养液培养 1 wk, 收集淋巴细胞作为 CTL. 采用乳酸脱氢酶释放法测定细胞毒性, 96 孔培养板每孔加入 0.05 mL (细胞密度 $2 \times 10^5/mL$) HepG2、BEL-7402 和 SMM-1990 肿瘤细胞, 按效应细胞与靶细胞 10 : 1, 20 : 1, 40 : 1 的比例加入 CTL (体积为 0.05 mL), 每种条件设 3 个复孔, 并分别设立效应细胞和肿瘤细胞对照, 置于 37 °C, 50 mL/L CO₂ 孵育 6 h, 然后收集上清 0.05 mL, 加入底物 0.05 mL, 室温避光作用 30 min, 加入 0.05 mL 终止液, 用酶标仪于 490 nm 处测定 A 值. 细胞毒性 (%) = (效应细胞和靶细胞组 A - 效应细胞对照组 A - 自发释放组 A) / (最大释放组 A - 自发释放组 A) × 100%.

统计学处理 结果以 mean ± SD 表示, 采用 SPSS 10.0 作统计分析, 采用 t 检验.

2 结果

2.1 树突状细胞的获取及鉴定 HCC 患者 PBMC 中的贴壁细胞培养 2 d 后, 可见均匀散布的细胞聚体形成并有少量悬浮细胞, 悬浮细胞体积仍较小; 继续培养 3-4 d, 悬浮细胞明显增多并聚集成大小不一的细胞团; 至 6-7 d, 细胞分散悬浮, 体积变大, 毛刺多而密, 呈现典型的成熟 DC 形态. 流式细胞仪检测结果显示, 73.7% 以上的细胞表达 DC 标志分子 CD1a, 而单核细胞标志分子 CD14 小于 8.4%, 表明经 rhGM-CSF 与 rhIL-4 细胞因子诱导后大部分单核细胞转变成 DC. 此外, DC 尚高水平表达 HLA-DR (86.5%), CD54 (94.9%), CD80 (83.1%) 和 CD86 (75.3%) 多种共刺激因子.

2.2 淋巴细胞增生试验 各组混合淋巴细胞培养结果可见融合细胞 (HepG2/DC, A: $0.816 \pm 0.019^*$) 刺激同源淋巴细胞增生能力显著高于其他各组 (HepG2, A: 0.541 ± 0.020 ; HepG2+DC, A: 0.632 ± 0.018 ; DC, A: 0.564 ± 0.018 ; PBS, A: 0.345 ± 0.013 ; *P < 0.05).

2.3 CTL 特异性杀伤效能 在各种不同的效靶细胞比例条件下, HepG2/DC 诱导的 CTL 对 HepG2、BEL-7402 和 SMM-1990 的杀伤效能可见, 其对 HepG2 的杀伤率显著高于 BEL-7402 和 SMM-1990, 并随效靶细胞比例增高而升高, 以 40 : 1 时杀伤效能为最佳 (图 1).

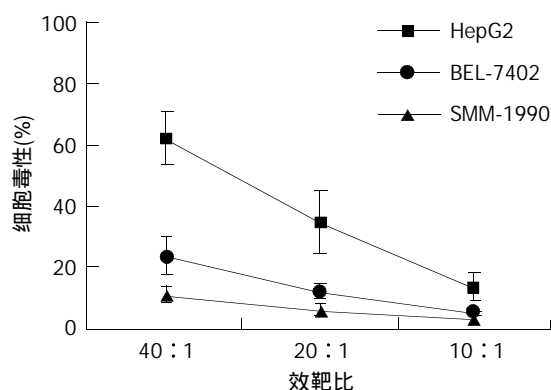


图 1 CTL 对不同靶细胞的细胞毒性.

3 讨论

DC 是人体内最重要的专职抗原呈递细胞,成熟的 DC 细胞表面表达有丰富的 MHC-I, II 类分子及 CD54, CD80, CD86 等多种共刺激分子,能直接活化原始 CD4⁺ 及 CD8⁺T 淋巴细胞,产生抗原特异性免疫应答反应^[1]. 近年来,随着应用 GM-CSF 和 IL-4 体外成功培养、扩增 DC 技术的出现,有关 DC 在诱导抗肿瘤免疫方面的作用受到了人们的极大关注. 已有研究^[6-8, 13-17]表明,应用 DC 呈递肿瘤抗原可以成功诱导特异性抗黑色素瘤、甲状旁腺癌、肾癌、前列腺癌、胰腺癌、淋巴瘤及白血病等免疫应答. 利用 DC 诱导特异性抗肿瘤免疫的关键之处是要确保 DC 能有效呈递肿瘤抗原.

目前通常采用以下 3 种途径使 DC 负载并呈递肿瘤抗原: (1)与肿瘤肽裂解产物混合培养^[16]. 该方法虽然简便,但由于肿瘤抗原需经 DC 吞噬、加工才得以呈递,而 DC 一旦成熟即散失吞噬功能,故难以保证 DC 能有效地呈递肿瘤抗原;此外,经此途径获取的肿瘤抗原属于外源性的,DC 呈递时主要活化 CD4⁺T 淋巴细胞而非诱导 CTL 的生成,而后者才是抗肿瘤的主导力量^[1]. (2)与肿瘤提取的 mRNA 混合培养^[17]. 由于体外 mRNA 极不稳定,在提取及被 DC 吞噬过程中容易遭受破坏,不能确保在 DC 内能有效合成肿瘤抗原. (3)直接转染编码特异性肿瘤抗原的基因^[19]. 该方法仅适用于已有确定特异性抗原的肿瘤,且这种针对单一抗原的免疫应答不利于杀灭所有的肿瘤细胞,因为肿瘤细胞可通过下调该基因的表达而发生“免疫逃逸”. 上述三种途径使 DC 负载肿瘤抗原的效力往往较差,尤其是对象 HCC 这样免疫原性较弱且缺乏确定特异性抗原的肿瘤,这可能是至今为止极少见有应用上述三种途径诱导特异性抗 HCC 免疫研究报道的原因.

最近, Gong et al^[20-21]采用细胞融合技术将人 DC 与人卵巢癌、乳腺癌肿瘤细胞融合,融合的 DC 能有效地诱导同源 T 淋巴细胞产生特异性抗肿瘤 CTL. 该方法的优点是融合的 DC 含有肿瘤细胞的全部 DNA/RNA,从而能确保 DC 有效地呈递各种已知及未知的肿瘤抗原,由此可激发针对多种肿瘤抗原的特异性细胞免疫应答,有利于杀灭更多的肿瘤细胞;此外,经此途径获得的肿瘤抗原为内源性抗原,DC 呈递时主要诱导 CD8⁺T 淋巴细胞产生 CTL 免疫应答^[1]. 该方法为以 DC 为基础的肿瘤免疫治疗提供了一条新途径. 已有研究显示^[22-23],将正常的鼠源 DC 与鼠肝癌细胞融合可以成功诱导同源鼠 T 淋巴细胞产生特异性抗肝癌免疫. HCC 患者外周血中 DC 低表达共刺激分子,存在一定的功能缺陷^[24]. 有关此类 DC 诱导同源 T 淋巴细胞产生特异性抗 HCC 免疫的效能目前尚不清楚. 我们发现, HCC 患者外周血 DC 经 rhGM-CSF, rhIL-4 体外共培养 1 wk 后不仅在形态学上趋于成熟,而且流式细胞仪检测结果表明 DC 表达高水平的 HLA-DR, CD54, CD80, CD86 各种共刺激分子,提示采用 rhGM-CSF, rhIL-4 体外培养可以

改善 HCC 患者外周血 DC 的功能状态. 淋巴细胞混合培养试验证明了 HepG2/DC 融合细胞能有效刺激同源 T 淋巴细胞增生,显著高于单纯 DC 和 / 或 HepG2 的刺激效能. 体外杀伤试验显示经 HepG2/DC 诱导产生的 CTL 对 HepG2 具有显著的特异性杀伤作用,杀伤能力随靶细胞比增高而增强. HCC 是我国常见的肿瘤之一^[25-27],恶性程度高,疗效差^[28-33],我们的结果表明, HCC 患者外周血来源的 DC 与肝癌细胞融合可以有效诱导特异性抗 HCC 免疫应答,从而为 HCC 的免疫治疗提供了一条新的可供选择途径.

4 参考文献

- van den Broeke LT, Daschbach E, Thomas EK, Andringa G, Berzofsky JA. Dendritic cell-induced activation of adaptive and innate antitumor immunity. *J Immunol* 2003;171:5842-5852
- Toes RE, van der Voort EI, Schoenberger SP, Drijfhout JW, van Bloois L, Storm G, Kast WM, Offringa R, Melief CJ. Enhancement of tumor outgrowth through CTL tolerization after peptide vaccination is avoided by peptide presentation on dendritic cells. *J Immunol* 1998;160:4449-4456
- Stift A, Friedl J, Dubsy P, Bachleitner-Hofmann T, Schueller G, Zontsich T, Benkoe T, Radelbauer K, Brostjan C, Jakesz R, Gnant M. Dendritic cell-based vaccination in solid cancer. *J Clin Oncol* 2003;21:135-142
- Grunebach F, Muller MR, Nencioni A, Brossart P. Delivery of tumor-derived RNA for the induction of cytotoxic T-lymphocytes. *Gene Ther* 2003;10:367-374
- Hiramoto JS, Tsung K, Bedolli M, Norton JA, Hirose R. Anti-tumor immunity induced by dendritic cell-based vaccination is dependent on interferon-gamma and interleukin-12. *J Surg Res* 2004;116:64-69
- Gatza E, Okada CY. Tumor cell lysate-pulsed dendritic cells are more effective than TCR Id protein vaccines for active immunotherapy of T cell lymphoma. *J Immunol* 2002;169:5227-5235
- Tang ZH, Qiu WH, Wu GS, Yang XP, Zou SQ, Qiu FZ. The immunotherapeutic effect of dendritic cells vaccine modified with interleukin-18 gene and tumor cell lysate on mice with pancreatic carcinoma. *World J Gastroenterol* 2002;8:908-912
- Schnurr M, Galambos P, Scholz C, Then F, Dauer M, Endres S, Eigler A. Tumor cell lysate-pulsed human dendritic cells induce a T-cell response against pancreatic carcinoma cells: an *in vitro* model for the assessment of tumor vaccines. *Cancer Res* 2001;61:6445-6450
- 李明松, 袁爱力, 张万岱, 陈学清, 谭晓华, 朴英杰. 树突状细胞诱导的抗肿瘤免疫诱导移植瘤细胞凋亡并抑制其增生. *世界华人消化杂志* 2000;8:56-58
- 李明松, 袁爱力, 张万岱, 刘思德, 吕爱民, 周殿元. 树突状细胞体外诱导抗肝癌免疫. *世界华人消化杂志* 1999;7:161-163
- Gong J, Chen D, Kashiwaba M, Li Y, Chen L, Takeuchi H, Qu H, Rowse GJ, Gendler SJ, Kufe D. Reversal of tolerance to human MUC1 antigen in MUC1 transgenic mice immunized with fusions of dendritic and carcinoma cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998;95:6279-6283
- Gong J, Chen D, Kashiwaba M, Kufe D. Induction of antitumor activity by immunization with fusions of dendritic and carcinoma cells. *Nat Med* 1997;3:558-561
- Bedrosian I, Mick R, Xu S, Nisenbaum H, Faries M, Zhang P, Cohen PA, Koski G, Czerniecki BJ. Intranodal administration of peptide-pulsed mature dendritic cell vaccines results in superior CD8⁺ T-cell function in melanoma patients. *J Clin Oncol* 2003;21:3826-3835
- Schott M, Feldkamp J, Schattenberg D, Seissler J, Scherbaum WA. Dendritic cell immuno-therapy in disseminated parathyroid carcinoma. *Lancet* 1999;353:1188-1189

- 15 Sievers E, Albers P, Schmidt-Wolf IG, Marten A. Telomerase pulsed dendritic cells for immunotherapy for renal cell carcinoma. *J Urol* 2004;171:114-119
- 16 Tourkova IL, Yamabe K, Chatta G, Shurin GV, Shurin MR. NK cells mediate Flt3 ligand-induced protection of dendritic cell precursors *in vivo* from the inhibition by prostate carcinoma in the murine bone marrow metastasis model. *J Immunother* 2003;26:468-472
- 17 Takahashi M, Narita M, Ayres F, Satoh N, Abe T, Yanao T, Furukawa T, Toba K, Hirohashi T, Aizawa Y. Cytoplasmic expression of EGFP in dendritic cells transfected with *in vitro* transcribed mRNA or cellular total RNA extracted from EGFP expressing leukemia cells. *Med Oncol* 2003;20:335-348
- 18 Livingstone AM, Kuhn M. Peptide-pulsed splenic dendritic cells prime long-lasting CD8(+) T cell memory in the absence of cross-priming by host APC. *Eur J Immunol* 2002;32:281-290
- 19 Broder H, Anderson A, Kremen TJ, Odesa SK, Liau LM. MART-1 adenovirus-transduced dendritic cell immunization in a murine model of metastatic central nervous system tumor. *J Neurooncol* 2003;64:21-30
- 20 Gong J, Avigan D, Chen D, Wu Z, Koido S, Kashiwaba M, Kufe D. Activation of antitumor cytotoxic T lymphocytes by fusions of human dendritic cells and breast carcinoma cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000;97:2715-2718
- 21 Gong J, Nikrui N, Chen D, Koido S, Wu Z, Tanaka Y, Cannistra S, Avigan D, Kufe D. Fusion of human ovarian carcinoma cells with autologous or allogeneic dendritic cells induce antitumor immunity. *J Immunol* 2000;165:1705-1711
- 22 Zhang J, Zhang JK, Zhuo SH, Chen HB. Effect of a cancer vaccine prepared by fusions of hepatocarcinoma cells with dendritic cells. *World J Gastroenterol* 2001;7:690-694
- 23 Homma S, Toda G, Gong J, Kufe D, Ohno T. Preventive antitumor activity against hepatocellular carcinoma (HCC) induced by immunization with fusions of dendritic cells and HCC cells in mice. *J Gastroenterol* 2001;36:764-771
- 24 Ninomiya T, Akbar SM, Masumoto T, Horiike N, Onji M. Dendritic cells with immature phenotype and defective function in the peripheral blood from patients with hepatocellular carcinoma. *J Hepatol* 1999;31:323-331
- 25 Cai RL, Meng W, Lu HY, Lin WY, Jiang F, Shen FM. Segregation analysis of hepatocellular carcinoma in a moderately high-incidence area of East China. *World J Gastroenterol* 2003;9:2428-2432
- 26 Qin LX, Tang ZY. Hepatocellular carcinoma with obstructive jaundice: diagnosis, treatment and prognosis. *World J Gastroenterol* 2003;9:385-391
- 27 Tang ZY. Hepatocellular carcinoma-cause, treatment and metastasis. *World J Gastroenterol* 2001;7:445-454
- 28 Xu KC, Niu LZ, He WB, Guo ZQ, Hu YZ, Zuo JS. Percutaneous cryoablation in combination with ethanol injection for unresectable hepatocellular carcinoma. *World J Gastroenterol* 2003;9:2686-2689
- 29 Yin ZY, Wang XM, Yu RX, Zhang BM, Yu KK, Li N, Li JS. Total vascular exclusion technique for resection of hepatocellular carcinoma. *World J Gastroenterol* 2003;9:2194-2197
- 30 Ikai I, Itai Y, Okita K, Omata M, Kojiro M, Kobayashi K, Nakanuma Y, Futagawa S, Makuuchi M, Yamaoka Y. Report of the 15th follow-up survey of primary liver cancer. *Hepatol Res* 2004;28:21-29
- 31 Jiang HC, Liu LX, Piao DX, Xu J, Zheng M, Zhu AL, Qi SY, Zhang WH, Wu LF. Clinical short-term results of radiofrequency ablation in liver cancers. *World J Gastroenterol* 2002;8:624-630
- 32 Lin SM, Lin CJ, Hsu CW, Tai DI, Sheen IS, Lin DY, Liaw YF. Prospective randomized controlled study of interferon-alpha in preventing hepatocellular carcinoma recurrence after medical ablation therapy for primary tumors. *Cancer* 2004;100:376-382
- 33 Chen MS, Li JQ, Zhang YQ, Lu LX, Zhang WZ, Yuan YF, Guo YP, Lin XJ, Li GH. High-dose iodized oil transcatheter arterial chemoembolization for patients with large hepatocellular carcinoma. *World J Gastroenterol* 2002;8:74-78

World Journal of Gastroenterology 审稿要点

《World Journal of Gastroenterology, WJG》根据编委的审稿意见, 来稿分为优先发表、可以发表、修改后发表、修改后再审等项处理. WJG 为了确保其出版的每篇论文的学术质量, 特制定了以下评审要点. (1)题名: 是否准确反映了研究工作的科学问题, 内容是否简明而有特色. 若不符, 请提出具体修改意见. (2)摘要: 是否明确指出了研究的背景与目的、材料和方法、结果(包括重要数据)和结论, 创新点和重点科学问题是否与目的、材料和方法、结果(包括重要数据)和结论相符. (3)引言: 是否包括该研究的目的和与其他相关研究的关系. (4)材料和方法: 有无特色, 如大样本、安全性和有效性的随机、双盲双模拟、多中心平行对照临床试验、特殊病例、细胞或组织样品; 研究方法和技术有无创新性、系统性或特色. 改进和创新方法的描述是否达到了他人可以重复或验证的要求, 实验对照的设计是否合理可靠, 统计学处理方法的使用是否恰当. (5)结果: 是否能得出较明确的科学结论, 实验证据是否充足. 临床研究重点应看其样本大小和统计学分析结果. (6)讨论: 是否条理分明, 有无系统的理论分析和有价值的科学结论. (7)参考文献: 文献引用是否恰当和充分, 特别是最新文献的引用情况. (8)综合评价: 论文的科学性、创新性和可读性是否能较好地反映我国或国际胃肠病学临床和基础研究的先进水平.