

卵巢癌腹腔微环境中肿瘤相关巨噬细胞表型特点及其TLR表达谱的研究

冯 慧 田 菁 孙和熙 张山岭 鞠宝辉 郝 权

摘要 目的:探讨卵巢癌腹水微环境中肿瘤相关巨噬细胞(TAM)浸润情况及其表型特征和TAM的Toll样受体表达情况。**方法:**应用免疫组织化学方法及流式细胞术检测卵巢癌及妇科良性病变腹水中CD68⁺TAM及其亚型的比例情况。应用Real-time PCR检测不同亚型TAM的Toll样受体的表达情况。**结果:**23例卵巢癌腹水细胞CD68⁺TAM平均值为73.6个/HP,20例良性病变平均计数为50.2个/HP。两组间CD68⁺TAM浸润差异无统计学意义($P>0.05$)。CD68⁺TAM在卵巢癌及对对照组腹水中所占比例无差异,分别为31.7%和18.8%($P>0.05$)。卵巢癌腹水中M2型TAM占全部巨噬细胞54.3%,明显高于对照组10.0%($P<0.05$);对照组M1型TAM占优势,为53.3%,明显高于卵巢癌组的30.5%($P<0.01$)。不同亚型巨噬细胞Toll样受体表达差异无统计学意义。**结论:**卵巢癌腹腔微环境中同时存在M1和M2型TAM,但M2型TAM在卵巢癌中占优势,而M1型TAM在良性病变中占优势。Toll样受体不能区分M1-TAM与M2-TAM。

关键词 卵巢癌 腹水 肿瘤相关巨噬细胞 Toll样受体

doi:10.3969/j.issn.1000-8179.2013.07.002

Mixed-phenotype of tumor-associated macrophages in the peritoneal environment of ovarian cancer and its TLR expression characteristics

Hui FENG, Jing TIAN, Hexi SUN, Shanling ZHANG, Baohui JU, Quan HAO

Correspondence to: Quan HAO; E-mail: haoquandoctor@gmail.com

Department of Gynecology, Tianjin Medical University Cancer Institute and Hospital, Key Laboratory of Cancer Prevention and Treatment of Tianjin City, Tianjin 300060, China

Abstract Objective: This study investigates the following: proportions of tumor-associated macrophage (TAM) and its subpopulations in the ascite of ovarian cancer (OC) patients and expression of mammalian homologs of the toll-like receptors (TLRs) in different TAM subpopulations. **Methods:** CD68⁺ TAM expression was detected by streptavidin-peroxidase immunohistochemical staining. Proportions of TAM and its subpopulations were identified by flow cytometry. RNA assessment of TLR was performed by real-time polymerase chain reaction. **Results:** Mean density of CD68⁺ TAM was similar between OC patients and those with benign tumor (73.6 vs. 50.2 per vision field, $P>0.05$). CD68⁺ TAM in the ascite exhibited no difference between OC patients and those with benign tumor ($P>0.05$). However, M1 macrophage in OC ascites was significantly less than those found in benign tumor (30.5% vs. 53.3%; $P<0.01$). M2 macrophage in OC ascites was significantly higher than those found in benign tumor (54.3% vs. 10.1%; $P<0.05$). TLR level was similar in M1 and M2 macrophages ($P>0.05$). **Conclusion:** A mixed-phenotype of tumor-associated macrophages was found in the peritoneal environment. M2 macrophages were dominant in the ascite of OC, whereas M1 macrophages were predominant in the benign tumor. TLRs were not the key factors that affected the polarization of macrophages.

Keywords: ovarian cancer, ascite, tumor-associated macrophages, Toll-like receptors

卵巢癌是常见妇科肿瘤之一,其死亡率位居妇科疾病之首,5年生存率为25%~30%^[1-2]。腹腔转移是卵巢癌的重要病理特点,也是影响卵巢癌疗效及预后的关键问题。先前有研究发现晚期卵巢癌患者的盆腹腔腹膜中,即使无肿瘤侵袭,也存在大量单核巨噬细胞浸润^[1]。腹水中,巨噬细胞可占整个单个核白细胞的50%甚至更多^[3]。肿瘤中的巨噬细胞称为

肿瘤相关巨噬细胞(tumor-associated macrophages, TAM),通常认为其表达M2型表型^[4-5],因而称为“M2-skewed”巨噬细胞。巨噬细胞具有高度特异性功能,依其不同的定居环境改变其表型以适应微环境。本研究旨在研究肿瘤相关巨噬细胞及其亚型在卵巢癌腹水中的浸润分布特点,并初步探讨可能影响巨噬细胞分化方向的可能机制。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 主要试剂及仪器 鼠抗人 CD68 单克隆抗体 (PG-M1) 购自美国 ZYMED 公司。BAD 显色剂, EDTA 修复液, 二抗, 山羊血清, 辣根酶标记链霉卵白素均购自北京达科为公。淋巴细胞分离液购自挪威 Fresenius Kabi Norge AS 公司; 红细胞裂解液 (150 mmol/L 氯化铵, 10 mmol/L NaHCO₃ 和 0.1 mmol/L EDTA) 购自上海麦约尔生物技术有限公司; TRIzol 试剂和 RPMI 1640 培养基购于美国 Invitrogen 公司; 免疫荧光标记用抗体均购自美国 BD Pharmingen 公司; 实时定量 PCR 试剂盒 TaKaRa SYBR Premix Ex Taq TM 购自日本 TaKaRa 公司。流式细胞分析采用 FACScan (BD Biosciences, USA), 并采用 FlowJo 软件进行数据分析; 定量 PCR 扩增, Applied Biosystems 公司的 7500 Fast 定量 PCR 系统。

1.1.2 标本采集 标本采集于天津医科大学附属肿瘤医院妇科行手术治疗的卵巢癌、子宫内膜癌或宫颈癌及妇科良性病变患者。恶性肿瘤患者按 FIGO 分期。术前临床及化验检查证实无感染性疾病存在。该研究通过天津医科大学附属肿瘤医院伦理委员会审核。用无菌离心管采集于手术时收集肝素化腹水或腹腔冲洗液, 置于冰中运送。4℃, 1 500 r/min 离心 10 min。将无细胞的上清液置于 -80℃ 冰箱中保存。用流式细胞仪从沉淀细胞分离巨噬细胞。舍弃被血严重污染样本。

1.2 方法

1.2.1 免疫组织化学方法检测腹水中 TAM 的浸润情况 用 PBS 洗涤细胞 (1 000 r/min, 离心 5 min), 并重悬于 PBS 中。调整浓度至 1~2×10⁶/mL。将载玻片固定于甩片机上, 加入 0.1 mL 细胞悬液; 离心 (2 000 r/min, 5~10 min)。空气中干燥 15~20 min。丙酮固定 15 min。采用 S-P 法检测腹水中 CD68⁺ TAM 的浸润情况, 按 S-P 及 DAB 显色剂盒说明进行操作。

1.2.2 巨噬细胞及其亚群的分离 Ficoll-Paque 密度

梯度法收集中间层单核细胞。将肿瘤浸润单个核细胞以 1×10⁶/mL 浓度加入 RPMI 1640, 37%, 5%CO₂, 在细胞瓶内培养 2 h, 弃去未贴壁细胞, 收集贴壁细胞为巨噬细胞。取 1×10⁶/mL 上述获得的巨噬细胞, PBS 洗涤 1 次, 100 μL PBS 重悬, 加入 1 μg FITC 标记的人 CD68 抗体、1 μg PE 标记的抗人 CD16/32 抗体、1 μg PE 标记的抗人 CD86 抗体, 或加入 1 μg FITC 标记的人 CD68 抗体和 1 μg APC 标记的抗人 CD206 抗体、1 μg APC 标记的抗人 CD163 抗体, 4℃ 共育 30 min, 用 PBS 洗去游离的抗体, 用 0.3 mL PBS 重悬后用流式细胞仪 FACScan 检测巨噬细胞表面 CD68、CD16/32、CD86、CD163 和 CD206 的表达。以 FITC 标记的抗小鼠 IgG2b, κ 同型抗体、APC 标记的抗小鼠 IgG1, κ 同型抗体、PE 标记的抗小鼠 IgG1, κ 同型抗体和 PE 标记的抗小鼠 IgG2b, κ 同型抗体作为阴性对照, 未与抗体作用的巨噬细胞作为空白对照。将标记好的细胞经 FACScan 流式细胞仪收集分离, 收集 1~2×10⁷/次个细胞, 采用 FACScan FlowJo 软件进行数据分析。

1.2.3 实时定量 PCR 检测不同亚型巨噬细胞 TLR 基因 mRNA 的表达 按 TRIzol 试剂盒说明书操作抽提总 RNA, 紫外分光光度计测定 A260/A280 比值, 计算 RNA 浓度。取 1~2 μg RNA, 以随机引物作为逆转录引物, 经 65℃ 变性 5 min, 置于冰中 2 min, 加入 5× 反应缓冲液 4 μL, RNase 抑制剂 1 μL, 10 mmol/L dNTPs 2 μL 和 MMuLV (200 U/μL) 1 μL, 逆转录反应体系为 20 μL。上述反应物混匀后置于 25℃ 孵育 5 min, 置于 42℃ 孵育 60 min, 进行 cDNA 的合成; 70℃ 加热 5 min 后停止反应。取 cDNA 模板 2 μL, 加入 TLR 上下游引物各 0.4 μL 至终浓度为 0.2 mmol/L, 2×SYBR Green 反应混合物 10 μL 和 Passive Reference Dye/Rox II 0.4 μL, 加水定容至 20 μL, 在 ABI Fast7500 荧光定量 PCR 仪 (ABI 公司) 上进行 PCR 扩增和检测, 反应条件为 95℃ 30 s, 95℃ 3 s, 60℃ 30 s, 40 个循环后进行结果分析。TLR 分子的相对表达量按照 2^{-(Ct.TLR-Ct.GAPDH)} 计算 (表 1)。

表 1 TLR 受体 RT-PCR 扩增引物序列

Table 1 RT-PCR primer sequences used for the detection of human TLRs

TLR	Forward	Reverse
TLR1	5'-ACCCATCGGCTGATTTCTTCCAGA-3'	5'-AATCAGGCCAGCCCTCTAACACTT-3'
TLR2	5'-GGCCAGCAAATTACCTGTGTG-3'	5'-AGGCGGACATCCTGAACCT-3'
TLR3	5'-AATTGGCAAGAACTCACAGGCCA-3'	5'-TTGAAGGCTTGGACCAAGGCAAA-3'
TLR4	5'-AGGGCATGCCTGTGCTGAGTTGAAT-3'	5'-TATGCAGCCAGCAAGAAGCATCAGGT-3'
TLR5	5'-AACGTGGCTTCTCCACAGTACCAAAA-3'	5'-AAGTCAATTGCCAGGAAAGCTGGGCA-3'
TLR6	5'-ACCCATCGGCTGATTTCTTCCAGA-3'	5'-AATCAGGCCAGCCCTCTAACACTT-3'
TLR7	5'-TATTCCCACGAACACCACGAACCT-3'	5'-GCAGCCTCTTGATGCACATGTTGT-3'

表1 TLR受体Reverse transcription-PCR(RT-PCR)扩增引物序列 (续表1)

Table 1 RT-PCR primer sequences used for the detection of human TLRs (Continued)

TLR	Forward	Reverse
TLR8	5'-GGAAAGCAAGTCCCTGGTAGAATT-3'	5'-ACCTGTTGTCATCATCATTCACAA-3'
TLR9	5'-ATCTGCACTTCTTCCAAGGCTGA-3'	5'-AAGGCCAGCTAATTGTCACGGAGA-3'
TLR10	5'-GGAGGCTGAGGCAGGAGAAT-3'	5'-GTGGCTCGATCTCAGCTCACT-3'

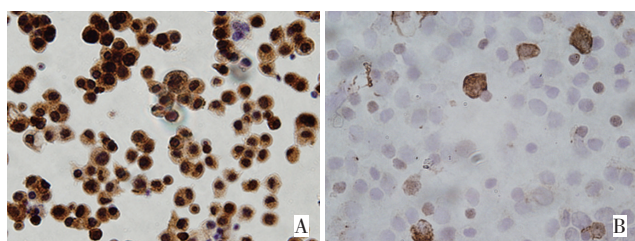
1.3 统计学方法

采用SPSS 17.0软件进行统计学分析。计数资料的比较采用 $\bar{x} \pm s$ 检验。肿瘤相关巨噬细胞亚型比例及其Toll样受体表达情况采用两独立样本秩和检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 卵巢癌组织及妇科良性病变对照组中卵巢相关巨噬细胞的浸润

本研究所有样本均可见特异性表达CD68抗体的TAM,在腹水细胞甩片上可见胞浆含棕褐色颗粒的细胞浸润。23例卵巢癌腹水细胞甩片中CD68⁺TAM为26~137个/HP,平均值为73.6个/HP(图1A)。20例妇科良性病变对照组腹水细胞甩片中CD68⁺TAM为3~96个/HP,平均值为50.2个/HP(图1B)。



A: CD68 expression in ascite cells in ovarian cancer patients; B: CD68 expression of ascite cells in individuals with benign tumor

图1 卵巢癌及妇科良性病变对照组腹水中CD68的表达情况(CD68×400)

Figure 1 CD68 expression in ascite cells in ovarian cancer patients and those with benign tumor

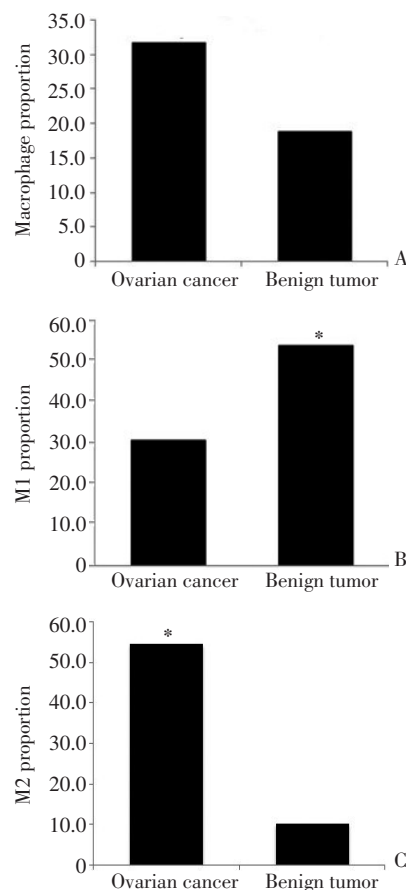
2.2 卵巢癌组与妇科良性病变腹水中肿瘤相关巨噬细胞浸润情况比较

本研究中妇科良性病变对照组中腹水细胞中CD68⁺TAM浸润平均值为(50.2±10.1)个/HP,而卵巢癌患者腹水中CD68⁺TAM浸润平均计数为(73.6±16.8)个/HP。卵巢癌组与良性病变对照组间差异无统计学意义($P > 0.05$)。流式细胞术检测也证实上述结果,即本组所有病例的腹水中均存在CD68⁺的肿瘤相关巨噬细胞。23例卵巢癌腹水中CD68⁺标志的TAM占全部有核细胞的(31.72±29.93)%,而20例妇科良性病变对照组腹水中CD68⁺TAM占全部有核细胞的(18.80±19.89)%。卵巢癌腹腔微环境中TAM比

例高于良性病变,但两者差异无统计学意义($P = 0.347$,图2A)。

2.3 卵巢癌及良性妇科病变腹水中肿瘤相关巨噬细胞的表型特点

进一步检测腹水中肿瘤相关巨噬细胞亚型分布情况发现(表2),特异性表达CD16/32及CD86的M1型TAM在良性病变组占优势,占腹水有核细胞的(53.43±23.79)%,远高于卵巢癌组的(30.54±26.33)%,差异有统计学意义($P = 0.001$,图2B);而特异性表达CD163及CD206的M2型肿瘤相关巨噬细胞在卵巢癌腹水中占优势,为有核细胞的(54.31±30.71)%,明显高于良性病变组的(10.12±15.12)%,差异有统计学意义($P = 0.03$,图2C)。



A: CD68⁺ macrophages in ascite; B: CD16⁺ CD32⁺ CD86⁺ M1 macrophages in ascite; C: CD163⁺ CD206⁺ M2 macrophages in ascite * : $P < 0.05$

图2 卵巢癌组与妇科良性病变腹水中CD68⁺巨噬细胞及其亚型浸润情况比较

Figure 2 Comparisons of CD68⁺ macrophages and their subpopulations

表2 腹水中巨噬细胞及其亚群M1型巨噬细胞、M2型巨噬细胞的检测 %

Type	Macrophages	M1-macrophages	M2-macrophages
Ovarian cancer	31.72±29.93	30.54±26.33 ^a	54.31±30.71 ^a
Control	18.80±19.89	53.43±23.79	10.12±15.12

^a: $P < 0.05$, experiment group vs. control group

2.4 不同亚型巨噬细胞TLR分子表达格局

流式细胞术分选巨噬细胞亚群,获得M1型肿瘤相关巨噬细胞及M2型肿瘤相关巨噬细胞,采用实时定量PCR方法分析不同亚型巨噬细胞中TLR1~TLR10分子的表达情况。结果显示:M1型肿瘤相关巨噬细胞及M2型肿瘤相关巨噬细胞不同程度的表达TLR1~TLR10分子,然而两种巨噬细胞亚型中Toll样受体的表达水平的差异无统计学意义(表3)。

表3 M1型与M2型巨噬细胞TLR分子表达特点

TLRs	M1-macrophages	M2-macrophages	P
TLR1	1.22±0.18	1.22±0.27	0.39
TLR2	0.98±0.02	0.98±0.01	0.31
TLR3	1.10±0.02	1.12±0.01	0.61
TLR4	0.59±0.19	1.00±0.07	0.30
TLR5	0.75±0.02	0.75±0.02	0.70
TLR6	1.15±0.02	1.16±0.02	0.61
TLR7	1.24±0.11	1.39±0.01	0.94
TLR8	0.88±0.03	0.88±0.59	0.81
TLR9	0.81±0.22	1.00±0.30	0.60
TLR10	0.64±0.13	0.97±0.05	0.10

mRNA expression is shown as the ratio of the number of transcripts for a given TLR to the number of transcripts for the housekeeping gene GAPDH. Data shown are representative of three experiments

3 讨论

巨噬细胞是腹水中最丰富的单个核细胞^[6-7]。正常女性腹腔中也存在巨噬细胞,但当发生盆腔炎或其他妇科疾病时,腹腔中的巨噬细胞往往会增加。巨噬细胞具有多种功能,其可吞噬微生物及细胞碎片,分泌多种免疫调节细胞因子,提呈抗原等。另外,大量证据也表明巨噬细胞能促进肿瘤发生及肿瘤进展。巨噬细胞可分为两类亚型,即经典激活巨噬细胞(M1型巨噬细胞)和替代激活巨噬细胞(M2型巨噬细胞)。M1型巨噬细胞由LPS、INF- γ 激活,其分泌抑菌素而促进TH1反应,因此表达促炎功能;而M2型巨噬细胞由IL-4、IL-6、IL-10及IL-13激活,表达免疫抑制表型并分泌细胞因子促发TH2反应^[8]。TAM为M2型巨噬细胞^[4-5]。然而,最近有研究认为

TAM的表型随肿瘤的进展而变化。在肿瘤发生时,TAM创造炎性环境,从而诱导突变和促进恶变细胞的生长;一旦肿瘤生成,TAM就会刺激血管生成,加强肿瘤细胞的迁移和浸润,并抑制抗肿瘤免疫。在癌转移病灶,TAM为转移的癌细胞提供靶组织,并促进肿瘤细胞从血管中侵出及其随后的存活和成长^[9]。也就是说,病变出现初期,TAM表现为M1型巨噬细胞特征,构筑局部炎性环境;一旦肿瘤形成,TAM则表现为M2型特点,发挥免疫抑制作用,促进肿瘤进展。本研究也证实,无论卵巢癌患者,还是妇科良性病变患者的腹腔微环境中,均存在一定数量的巨噬细胞,且两组无差异,说明巨噬细胞作为一种免疫细胞,其在腹腔微环境中的存在是非特异性的。然而,主要发挥促炎作用的M1型巨噬细胞在妇科良性病变中占优势,积极调动免疫机制,发挥着机体防御功能,保护机体免受损伤;相反,在卵巢癌患者腹水中,M2型巨噬细胞占绝对优势,其分泌或激活多种免疫抑制因子,抑制局部免疫反应,促使肿瘤免疫逃逸,促进血管和淋巴管生成,以利于肿瘤的进展和转移^[3,8,10-12]。

TAM具有促肿瘤活性,但究竟是何原因激活其不同表型的出现尚不得而知。先前研究认为肿瘤环境教育了TAM^[3],至少部分影响了TAM的表型。本文先前研究了卵巢癌腹水中多种细胞因子的表达情况,结果证实与妇科良性病变比较,卵巢癌腹水中IL-6,IL-10相对高表达,而INF- γ 相对较低表达。

Toll样受体(Toll-like Receptor, TLR)作为重要的模式识别受体(PRR),在机体固有免疫细胞识别各类病原体相关分子模式(PAMP)中发挥重要作用。其最早发现于免疫细胞。目前在人类已发现10种TLR分子。根据其细胞定位分为两类:一类定位于细胞内体表面,包括TLR3、TLR7、TLR8、TLR9,其配体主要为核酸类分子;另一类则是位于细胞膜上,包括TLR1、TLR2、TLR4、TLR5、TLR6、TLR10^[13]。研究表明巨噬细胞表达多种Toll样受体^[14-15]。

在巨噬细胞的极化的过程中,肿瘤微环境中生物信号的改变通过某些机制决定了巨噬细胞的分化方向。在这一过程中,TLR可能发挥重要作用。先前有研究证实,TLR4识别脂多糖(LPS),从而使巨噬细胞极化为M1型巨噬细胞^[16];TLR或IL-1受体识别免疫复合物,诱导M2b巨噬细胞的产生,后者是M2型巨噬细胞的一种亚型^[17];TLR依赖途径参与M1性巨噬细胞的极化^[18]。本研究探讨了M1型肿瘤巨噬细胞及M2型肿瘤巨噬细胞TLR1~TLR10的表达特点,结果显示两种亚型肿瘤相关巨噬细胞TLR表达差异无统计学意义。这一结果表明在M1型及M2型肿瘤

相关巨噬细胞的极化过程中,TLR并不是唯一的极化相关受体途径。

肿瘤细胞与TAMs之间的关系错综复杂,全面了解其中的机制,并进行相应的处理,如采取措施有效阻止M2型表型TAMs的募集,减少其多种生长因子的表达、释放和作用,和/或提高机体抗肿瘤作用等,部分或全面抑制M2型TAMs作用,必然可遏制肿瘤生长的帮凶,从而开拓出一条治疗肿瘤的新路。

参考文献

- 1 Freedman RS, Ma Q, Wang E, et al. Migration deficit in monocyte-macrophages in human ovarian cancer[J]. Cancer Immunol, Immunother, 2008, 57(5):635-645.
- 2 Takaishi K, Komohara Y, Tashiro H, et al. Involvement of M2-polarized macrophages in the ascites from advanced epithelial ovarian carcinoma in tumor progression via Stat3 activation[J]. Cancer Sci, 2010, 101(10):2128-2136.
- 3 Pollard JW. Tumour-educated macrophages promote tumour progression and metastasis[J]. Nat Rev Cancer, 2004, 4(1):71-78.
- 4 Biswas SK, Gangi L, Paul S, et al. A distinct and unique transcriptional program expressed by tumor-associated macrophages (defective NF-κB and enhanced IRF-3/STAT1 activation) [J]. Blood, 2006, 107(5):2112-2122.
- 5 Saccani A, Schioppa T, Porta C, et al. P50 nuclear factor-kappa B overexpression in tumor-associated macrophages inhibits M1 inflammatory responses and antitumor resistance[J]. Cancer Res, 2006, 66(23):11432-11440.
- 6 Eischen A, Duclos B, Schmitt-Goguel M, et al. Human resident peritoneal macrophages: phenotype and biology[J]. Br J Haematol, 1994, 88(4):712-722.
- 7 van Furth R, Raeburn JA, van Zwet TL. Characteristics of human mononuclear phagocytes[J]. Blood, 1979, 54(2):485-500.
- 8 Mantovani A, Sozzani S, Locati M, et al. Macrophage polarization:

tumor-associated macrophages as a paradigm for polarized M2 mononuclear phagocytes[J]. Trends Immunol, 2002, Nov23(11):549-555.

- 9 Qian BZ, Pollard JW. Macrophage Diversity Enhances Tumor Progression and Metastasis[J]. Cell, 2010, 141(1):39-51.
- 10 Brigati C, Noonan DM, Albini A, et al. Tumors and inflammatory infiltrates: friends or foes[J]? Clin Exp Metastasis, 2002, 19(3):247-258.
- 11 Lewis CE, Pollard JW. Distinct role of macrophages in different tumor microenvironments[J]. Cancer Res, 2006, 66(2):605-612.
- 12 Condeelis J, Pollard JW. Macrophages: Obligate Partners for Tumor Cell Migration, Invasion, and Metastasis[J]. Cell, 2006, 124(2):263-266.
- 13 Akira S, Takeda K. Toll-like receptor signaling[J]. Nat Rev Immunol, 2004, 4(7):499-511.
- 14 Joshi AD, Raymond T, Coelho AL, et al. A systemic granulomatous response to Schistosoma mansoni eggs alters responsiveness of bone marrow-derived macrophages to Toll-like receptor agonists [J]. J Leukoc Biol, 2007, 83(2):314-324.
- 15 O'Mahony DS, Pham U, Iyer R, et al. Differential Constitutive and Cytokine-Modulated Expression of Human Toll-like Receptors in Primary Neutrophils, Monocytes, and Macrophages[J]. Int J Med Sci, 2008, 5(1):1-8.
- 16 Poltorak A, He X, Smirnova I, et al. Defective LPS signaling in C3H/HeJ and C57BL/10ScCr mice: mutations in Tlr4 gene[J]. Science, 1998, 282(5396):2085-2088.
- 17 Benoit M, Desnues B, Mege JL. Macrophage Polarization in Bacterial Infections[J]. J Immunol, 2008, 181(6):3733-3739.
- 18 Kadioglu A, Andrew PW. The innate immune response to pneumococcal lung infection: the untold story[J]. Trends Immunol, 2004, 25(3):143-149.

(2012-10-20收稿)

(2013-02-20修回)

(本文编辑:周晓颖)

· 读者 · 作者 · 编者 ·

“临床病例讨论”栏目简介

临床病例讨论为本刊特色栏目之一,重点报道疑难与典型肿瘤病例的诊疗过程,旨在鼓励临床工作者相互交流易误诊、误治或少见、罕见肿瘤和并发症的处理经验,使肿瘤临床医师从中得到启示与借鉴,提高对疑难病例的辨别与治疗水平。

来稿将以论著形式刊登。稿件内容具体要求如下:1)应有完整的病历摘要和详细的检查结果;2)临床讨论部分要有参加讨论的医师发言,就所讨论病例提出各自的看法;3)能提供有说服力的图片或病理检查结果,并结合本例患者的特点进行讨论;4)最后的分析要能总结经验教训,为临床工作提供借鉴与参考。

质量优秀的稿件将优先刊登。欢迎踊跃投稿!