

沉默HIF-2 α 表达对低氧下乳腺癌干细胞微球体富集的影响

屈洪波^① 范原铭^① 韩明利^① 陈鑫^① 吴诚义^① 汤为学^②

摘要 目的:探讨沉默低氧诱导因子-2 α (hypoxia-inducible factor-2 α , HIF-2 α)表达对低氧下乳腺癌干细胞(breast cancer stem cells, BCSCs)微球体富集的影响。方法:构建HIF-2 α RNA干扰慢病毒载体,并转染至MCF-7细胞,RT-PCR和Western blot检测HIF-2 α mRNA及蛋白表达;MTT检测MCF-7细胞在不同氧浓度下增殖活性;显微镜下观察低氧下BCSCs微球体形成情况;有限稀释法检测微球体细胞单克隆形成能力;RT-PCR检测微球体细胞干细胞相关标志物ABCG2、CD44及OCT-4 mRNA表达。结果:成功构建了HIF-2 α 基因 siRNA慢病毒表达载体,RT-PCR和Western blot结果显示干扰组细胞HIF-2 α mRNA及蛋白表达均明显降低($P<0.05$)。与未转染组及空载体组比较,低氧下RNA干扰组细胞增殖活性及BCSCs单克隆形成能力明显降低($P<0.05$);RT-PCR结果亦显示RNA干扰组BCSCs相关标志物ABCG2、CD44及OCT-4 mRNA表达显著降低($P<0.05$)。结论:低氧能够诱导和强化MCF-7细胞乳腺癌干细胞样特性,而沉默HIF-2 α 表达可抑制低氧下BCSCs富集,提示HIF-2 α 有望成为乳腺癌治疗新的靶点。

关键词 低氧微环境 HIF-2 α MCF-7 乳腺癌干细胞微球体

doi:10.3969/j.issn.1000-8179.2013.02.002

Effect of silencing HIF-2 α expression on the enrichment of breast cancer stem cell microspheres under hypoxia

Hongbo QU¹, Yuanming FAN¹, Mingli HAN¹, Xin CHEN¹, Chengyi WU¹, Weixue TANG²

Correspondence to: Chengyi WU; E-mail: NFMWK1192@hospital.cqmu.cn

¹Department of Endocrine Surgery, The First Affiliated Hospital of Chongqing Medical University

²Chongqing Key Laboratory of Neurology, Chongqing 400016 China

Abstract Objective: This work aims to explore the effect of silencing hypoxia-inducible factor (HIF)-2 α expression on the enrichment of breast cancer stem cell (BCSC) microspheres under hypoxia. **Methods:** A lentiviral vector of the RNA interference (RNAi) of human HIF-2 α gene was constructed and transfected into Michigan Cancer Foundation (MCF)-7 cells. The mRNA and protein expressions of HIF-2 α were determined using real time-polymerase chain reaction (RT-PCR) and Western blot, respectively. The proliferation activity of the MCF-7 cells under different oxygen concentrations was measured using the methyl thiazolyl tetrazolium assay. The formation of the BCSC microspheres under hypoxia was observed by a fluorescence microscope. The monoclonal formation ability of the microsphere cells was detected by limiting dilution assay. The mRNA expressions of the BCSC markers, ABCG, CD44, and OCT-4, were tested by RT-PCR. **Results:** The siRNA expression vector targeting the HIF-2 α gene was successfully constructed. Both the HIF-2 α mRNA and protein levels noticeably decreased in the MCF-7 cells transfected with the RNAi expression vector ($P<0.05$). Compared with the groups with empty vectors or those that were not transfected, the proliferation activity of MCF-7 cells and the monoclonal formation ability of BCSCs in the RNAi group were markedly inhibited after silencing the HIF-2 α gene ($P<0.05$). RT-PCR results showed that the mRNA expressions of BCSC markers ABCG2, CD44, and OCT-4 in cells from the RNAi group decreased significantly under hypoxia ($P<0.05$). **Conclusion:** Hypoxia induced and enhanced cancer stem cell-like characteristics in MCF-7 cells. HIF-2 α silencing leads to the decreased enrichment of BCSC microspheres under hypoxia. HIF-2 α may be a new candidate gene for BCSC-targeting therapy.

Keywords: hypoxia microenvironment, HIF-2 α protein, MCF-7 cells, breast cancer stem cell microspheres

低氧微环境不仅参与肿瘤细胞增殖、凋亡、侵袭转移及血管生成等调控,而且亦抑制肿瘤干细胞及肿瘤相关间质干细胞分化^[1-2]。尽管目前尚未获得肿瘤干细胞特异性标志物,但特殊的肿瘤微环境,尤其

是低氧微环境可作为肿瘤干细胞治疗靶点。研究表明,HIF-2 α 在维持肿瘤干细胞未分化表型中发挥重要作用^[3]。下调HIF-2 α 介导的低氧信号通路将抑制肿瘤干细胞自我更新及增加对放、化疗敏感性。本

作者单位:①重庆医科大学附属第一医院内分泌外科(重庆市400016);②重庆市神经病学重点实验室

通信作者:吴诚义 NFMWK1192@hospital.cqmu.cn

研究拟探讨沉默 HIF-2 α 对低氧下 BCSCs 微球体富集的抑制作用及其机制。

1 材料与方法

1.1 材料

细胞株及主要试剂:乳腺癌 MCF-7 细胞(中科院上海细胞库);慢病毒质粒 pGC-LV、pHelper1.0 及 pHelper2.0(上海吉凯基因公司);Lipofectamine2000(美国 Invitrogen 公司);B27(1:50)、胎牛血清及 DMEM/F12(美国 Gibco 公司);碱性成纤维细胞生长因子(BFGF)及表皮生长因子(EGF)(以色列 ProSpec 公司);单克隆鼠抗人 HIF-2 α 及 β -actin(美国 Santa Cruz 公司);HRP 标记抗鼠二抗(北京中杉金桥公司);总蛋白提取试剂盒(上海碧云天生物公司);总 RNA 提取试剂盒、逆转录试剂盒及 Marker(大连宝生物公司);PCR 引物设计及合成(上海生工公司)。

1.2 方法

1.2.1 低氧下 BCSCs 微球体培养 取对数生长期 MCF-7 细胞,消化后重悬于添加生长因子的无血清培养基(serum-free medium, SFM)。SFM 按常规方法配制:DMEM/F12 中添加 5 U/L 胰岛素、L-谷氨酰胺 2 mmol/L、B27 为 1:50、EGF 20 μ g/L 及 BFGF 20 μ g/L。调整细胞密度至 3×10^4 /mL 后接种于低粘附 6 孔板,置于低氧培养箱中,每 3 天半量或全量换液 1 次,约 10 d 传代 1 次。低氧培养箱由 1% O₂、94% N₂、5% CO₂ 组成,通过控制 O₂ 或 N₂ 输入量,维持低氧微环境。

1.2.2 HIF-2 α 基因 RNA 干扰慢病毒载体构建及鉴定 设计及合成 HIF-2 α 基因 siRNA 寡核苷酸序列,构建干扰序列表达质粒,转染至 293T 细胞,根据 HIF-2 α 抑制率,确定最终有效靶序列为 5'-GTGA GAGTGAGTAAGGGTA-3',由上海吉凯基因公司合成。寡核苷酸经退火形成双链 DNA,经 T4 连接酶与 Age I 和 EcoR I 双酶切后的 pGC-LV-GFP 线性化载体连接,形成表达 siRNA 慢病毒载体,经酶切鉴定。转化至感受态大肠杆菌 DH5 α ,选取重组阳性克隆行 PCR 鉴定。

1.2.3 MCF-7 细胞转染 取对数生长期 MCF-7 细胞及第 1 代 BCSCs 微球体消化后计数, 2×10^5 /mL 细胞接种于 6 孔板中,低氧下培养至 30% ~ 50% 汇合时,按感染指数(MOI=20)加入 HIF-2 α 基因 RNA 干扰慢病毒液,以空载体作为对照,48 h 后于荧光显微镜下观察绿色荧光情况。2 周后采用流式细胞术分选绿色荧光蛋白(green fluorescent protein, GFP)阳性细胞。

1.2.4 RT-PCR 和 Western blot 检测 HIF-2 α mRNA 及蛋白表达 实验分为 RNA 干扰组(20% O₂)、RNA 干扰组(1% O₂)、空载体组(20% O₂) 及空载体组(1% O₂)。收集各组 GFP(+) 的 MCF-7 细胞,Trizol 试剂抽提总

RNA,逆转录反应得到 cDNA。以 β -actin 为内参,检测 HIF-2 α mRNA 表达。引物设计: β -actin 上游引物为 5'-AGCGAGCATCCCCCAAAGTT-3',下游引物为 5'-GGGCACGAAGGCTCATCATT-3'; HIF-2 α 上游引物为 5'-ATGGTAGCCCTCTCCAACAAG-3',下游引物为 5'-AGGTTCTTCATCCGTTTCCAC-3'。设置反应参数:95 $^{\circ}$ C 预变性 15 s,95 $^{\circ}$ C 变性 10 s,58 $^{\circ}$ C 退火 30 s,72 $^{\circ}$ C 延伸 5 min,共进行 35 个循环。实验重复 3 次,取平均值。收集各组细胞后,加入 RIPA 裂解液及 PMSF,冰上静置 30 min;12 000 r/min 离心 10 min,BCA 法测定蛋白浓度。取等量蛋白进行电泳,电转至 PVDF 膜上,5% 脱脂牛奶的 TBST 室温封闭 2 h,加一抗,4 $^{\circ}$ C 孵育过夜。HRP 标记的抗山羊或鼠二抗 37 $^{\circ}$ C 孵育 1.5 h, TBST 洗膜后以 ECL 发光试剂盒显影并曝光,实验重复 3 次,取平均值。

1.2.5 MTT 检测 MCF-7 细胞增殖活性 实验分组同前,取对数生长期 MCF-7 细胞以 5×10^3 /孔接种于 96 孔板,每组设置 5 个复孔,分别在常氧和低氧下培养,于 24、48、72、96 h 加入 20 μ L/孔 MTT(5 μ g/L),培养 4 h 后弃上清,加入 150 μ L DMSO,酶标仪 570 nm 测 OD 值,计算 5 个复孔平均值。细胞增殖抑制率(%)=(对照孔 OD 值-实验孔 OD 值)/对照孔 OD 值 \times 100%。

1.2.6 有限稀释法检测低氧下微球体细胞单克隆形成能力 实验分组同前,将空载体组及 RNA 干扰组慢病毒载体转染至第 1 代 BCSCs 微球体细胞。继续培养,收集第 2 代微球体细胞,用 Accutase 细胞消化液消化成单个细胞,应用 SFM 倍比稀释至 5 个/mL,接种至 96 孔板,置于低氧下培养,第 2 天在显微镜下挑选只含 1 个细胞的孔,做好标记并补加 100 μ L 添加生长因子的 SFM;隔天观察直径 $>75 \mu$ m 或 50 个细胞以上克隆微球体数量,由于 1 个微球体代表 1 个干细胞起源的克隆,以微球体形成率(%)=微球体数/接种细胞数 \times 100% 计算克隆形成率。

1.2.7 RT-PCR 检测微球体细胞干细胞相关标志物 ABCG2、CD44 及 OCT-4 mRNA 表达 实验分组同前,细胞悬液离心后收集微球体,Trizol 试剂常规抽提总 RNA,逆转录反应得到 cDNA。以 β -actin 为内参,检测 ABCG2、CD44 及 OCT-4 mRNA 表达。引物设计: β -actin 上游引物为 5'-AGCGAGCATCCCCCAAAGTT-3',下游引物为 5'-GGGCACGAAGGCTCATCATT-3'; ABCG2 上游引物为 5'-AGAGTGGCTTTCTACCTTGTGCG-3',下游引物为 5'-AATAACGAAGATTTGCCTCCAC-3'; CD44 上游引物为 5'-CATCTACCCAGCAACCCTA-3',下游引物为 5'-ACTGTCTTCGTCTGGGATGG-3'; OCT-4 上游引物为 5'-GTATTCAGCCAAACGACCATCT-3',下游引物为 5'-TACTGGTTTCGCTTTCTTTTC G-3'。余下步骤同前

(1.2.4所述),实验重复3次,取平均值。

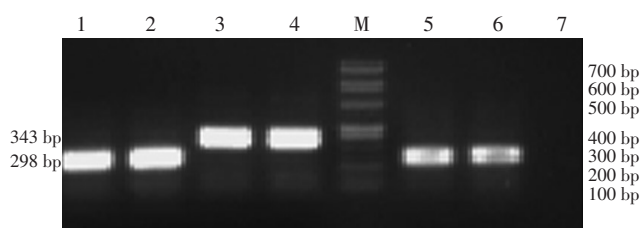
1.3 统计学分析

应用SPSS 19.0统计学软件分析,计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示,两样本均数比较应用t检验,多个样本均数比较应用单因素方差分析(ANOVA), $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 HIF-2 α 基因RNA干扰慢病毒载体PCR鉴定及转染

将HIF-2 α 基因RNA干扰载体转化至感受态大肠杆菌DH5 α ,选取重组阳性克隆行PCR鉴定。阳性重组细菌克隆PCR产物大小为343 bp,以双酶切后pGC空载体PCR产物大小289 bp为阴性对照,鉴定结果与预期相符(图1)。将RNA干扰慢病毒液加至培养的MCF-7细胞,12 h后更换为完全培养基,48 h后可见绿色荧光蛋白表达,且表达量随时间递增,72 h时达最大,转染效率>80%,可用于后续实验。



1 and 2: Negative clone group (289 bp); 3 and 4: Positive clone group (343 bp); 5 and 6: Empty vector group (289 bp); 7: Negative control group (ddH₂O); M: Marker

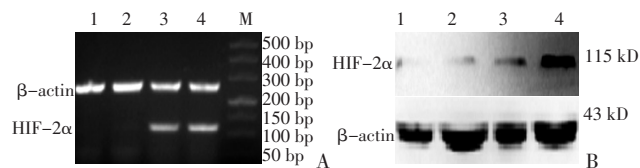
图1 PCR鉴定HIF-2 α 基因RNA干扰慢病毒载体的阳性克隆

Figure 1 Positive clones of lentivirus vector harboring RNAi targeting HIF-2 α gene identified by PCR

2.2 低氧及常氧下MCF-7细胞HIF-2 α mRNA及蛋白表达

RT-PCR结果显示:RNA干扰组(20%O₂)、RNA干扰组(1%O₂)、空载体组(20%O₂)及空载体组(1%O₂)细胞HIF-2 α mRNA表达量分别为0.005 \pm 0.001、0.008 \pm 0.001、0.785 \pm 0.137及0.831 \pm 0.232,与空载体组比较,低氧及常氧下RNA干扰组HIF-2 α mRNA表达均明显降低($P<0.05$,图2A)。

Western blot结果显示:RNA干扰组(20%O₂)、RNA干扰组(1%O₂)、空载体组(20%O₂)及空载体组(1%O₂)细胞HIF-2 α 蛋白表达量分别为0.062 \pm 0.012、0.065 \pm 0.021、0.175 \pm 0.131及0.376 \pm 0.236,与空载体组比较,低氧及常氧下RNA干扰组HIF-2 α 蛋白表达均显著降低($P<0.05$,图2B)。



1:RNA interference group (20% O₂);2:RNA interference group (1% O₂); 3:Empty vector group (20% O₂);4:Empty vector group (1% O₂);M:Marker
图2 RT-PCR和Western blot检测各组MCF-7细胞中HIF-2 α mRNA及蛋白表达

Figure 2 HIF-2 α mRNA and protein expressions in MCF-7 cells from different groups, as detected by RT-PCR and Western blot, respectively ($\bar{x}\pm s, n=3$)

2.3 沉默HIF-2 α 对低氧下MCF-7细胞增殖活性的影响

MTT结果显示:常氧下RNA干扰组与空载体组及未转染组之间细胞增殖抑制率差异无统计学意义($P>0.05$),说明RNA干扰HIF-2 α 基因对常氧下MCF-7细胞增殖活性无影响。而低氧下RNA干扰组较未转染组及空载体组,细胞增殖活性明显受到抑制($P<0.05$,图3)。

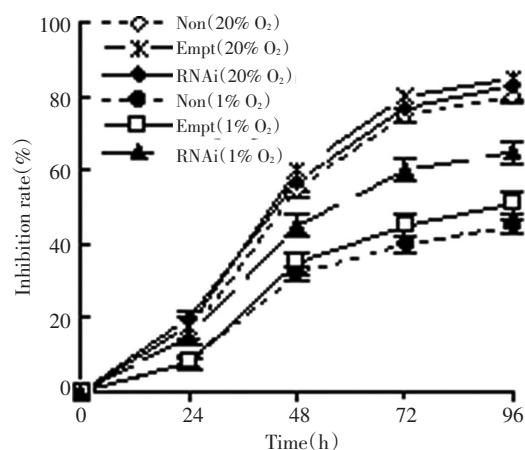
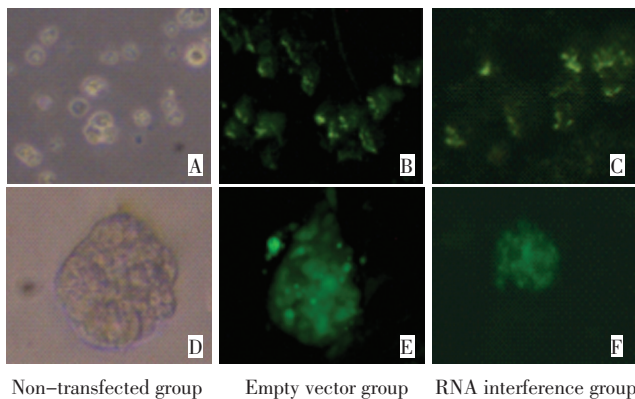


图3 MTT法检测各组MCF-7细胞增殖抑制率

Figure 3 Proliferation inhibition rate of MCF-7 cells in different groups as determined by the MTT assay

2.4 沉默HIF-2 α 对低氧下BCSCs微球体形成的影响

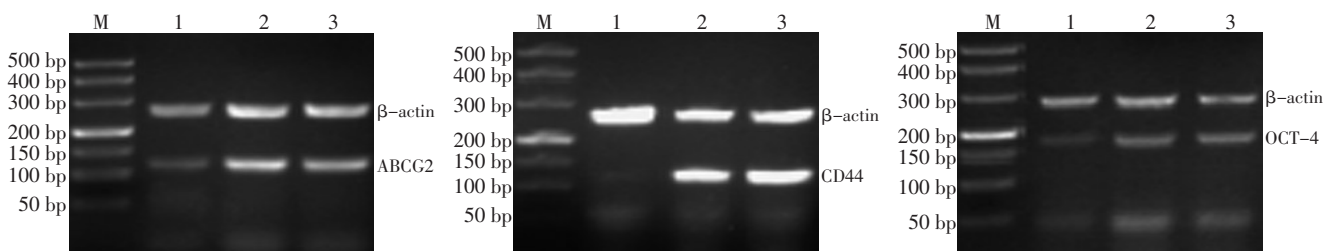
倒置荧光显微镜结果显示,未转染组,空载体组及RNA干扰组BCSCs微球体数量分别为(16 \pm 5)、(13 \pm 2)及(5 \pm 1)个,与未转染组及空载体组比较, RNA干扰组MCF-7细胞成球率降低60%($P<0.05$,图4A~C)。转染组和空载体组微球体平均直径为(225.6 \pm 3.2) μ m和(189.6 \pm 2.1) μ m,而RNA干扰组微球体平均直径为(84.4 \pm 1.2) μ m, RNA干扰组微球体平均直径明显降低($P<0.05$,图4D~F)。



Non-transfected group Empty vector group RNA interference group
A: Non-transfected group($\times 40$); B: Empty vector group($\times 40$); C: RNA interference group($\times 40$); D: Non-transfected group($\times 200$); E: Empty vector group($\times 200$); F: RNA interference group($\times 200$)

图4 荧光显微镜下观察低氧下各组MCF-7细胞微球体形成情况

Figure 4 Microsphere formation of MCF-7 cells for different groups under hypoxia, as observed by fluorescent microscopy



M: Marker; 1: RNA interference group; 2: Empty vector group; 3: Non-transfected group

图5 RT-PCR检测各组BCSCs相关标志物mRNA表达

Figure 5 mRNA expressions of the BCSC markers in different groups, as assayed by RT-PCR

3 讨论

低氧在肿瘤中普遍存在,肿瘤低氧抑制细胞分化、上调耐药基因表达、选择性抗凋亡、促进侵袭转移、下调DNA修复基因表达及增加基因不稳定性等^[4-5]。随着肿瘤干细胞及其肿瘤相关微环境研究深入^[6],研究表明,低氧不仅增强肿瘤干细胞致瘤性,同时在维持肿瘤干细胞处于未分化表型及表观遗传学修饰等发挥重要作用^[3,7-8]。

低氧诱导因子(hypoxia-inducible factor, HIFs)为近年来发现的一类介导哺乳动物细胞内低氧反应的核转录复合体,广泛表达于哺乳动物的各种组织细胞中,以促进有机体对低氧的适应过程,是细胞在基因转录水平协调缺氧变化的最主要调节因子^[9-10]。HIFs家族包括两个重要成员,即HIF-1 α 和HIF-2 α ,两者在功能上相似,但不完全相同^[3]。其组成均含有结构亚单位(HIF- β)和功能亚单位(HIF- α)两部分。常氧下,HIF- α 易受泛素-蛋白酶快速降解。低氧下

2.5 沉默HIF-2 α 对低氧下BCSCs相关标志物mRNA表达影响

RT-PCR结果显示:低氧下RNA干扰组、空载体组及未转染组细胞ABCG2 mRNA表达量分别为 0.446 ± 0.120 、 0.898 ± 0.211 及 0.865 ± 0.126 ; CD44 mRNA表达量分别为 0.325 ± 0.056 、 0.989 ± 0.316 及 0.956 ± 0.289 ; OCT-4 mRNA表达量分别为 0.517 ± 0.214 、 0.843 ± 0.231 及 0.817 ± 0.211 。与未转染组及空载体组比较, RNA干扰组BCSCs相关标志物ABCG2、CD44及OCT-4 mRNA表达均显著降低($P < 0.05$,图5),表明沉默HIF-2 α 表达能有效下调BCSCs相关标志物表达。

HIF- α 因无法羟基化而未被降解,与从胞浆转移到核内HIF- β 结合形成二聚体,启动靶基因表达产生多种生物学效应。本研究发现,常氧下存在HIF-2 α mRNA表达,但是在蛋白水平未见其表达,可能是常氧下HIF-2 α 蛋白被降解而丧失作用;而低氧可诱导HIF-2 α 蛋白表达,且泛素化降解途径受抑制;同时非氧依赖途径也可诱导HIF-2 α 蛋白合成^[11]。MTT结果也验证此结论,常氧下RNA干扰组与空载体组之间细胞增殖抑制率无明显差异,表明尽管常氧下存在HIF-2 α mRNA转录,但在翻译阶段出现降解。而沉默HIF-2 α 表达可明显抑制低氧下细胞增殖,且HIF-2 α 蛋白表达降低,表明HIF-2 α 具有抗凋亡作用。其抗凋亡的可能机制^[12]: 1)激活下游VEGF、NOS等促进肿瘤血管生成; 2)诱导p21和p27的活化,阻断细胞G₁/S期转换,使细胞停滞在G₁期; 3)诱导p53基因突变及抑制Bcl-2表达; 4)增加无氧代谢和葡萄糖摄取。

HIF-2 α 除具有与HIF-1 α 相似作用外,还在维持肿瘤干细胞未分化表型方面发挥重要作用。Li等^[13]发现胶质瘤干细胞高表达HIF-1 α 和或HIF-2 α ,沉默HIF-1 α 或HIF-2 α 可降低神经球形成及影响胶质瘤干细胞生存,与HIF-1 α 相比,HIF-2 α 在胶质瘤干细胞中表达更高。同样,Pietras等^[14]发现HIF-2 α 优先表达于未成熟神经脊样神经母细胞瘤中,并维持神经母细胞瘤未分化状态。Hochedlinger等^[15]在多西环素诱导转基因小鼠模型中,发现OCT-3或OCT-4高表达能抑制细胞分化,导致上皮组织发育不良,表明OCT-3或OCT-4参与诱导肿瘤生成;同时将HIF-2 α 敲入小鼠胚胎细胞后,结果显示HIF-2 α 与OCT-3或OCT-4在转录水平上直接相关,而OCT-3或OCT-4转录因子的丢失将使得鼠胚胎干细胞源性畸胎瘤生长减慢。

本研究通过RNA干扰沉默HIF-2 α 在BCSCs微球体细胞中表达,发现微球体形成率及大小均明显降低,同时BCSCs相关标志物表达也明显降低,表明HIF-2 α 可能是调控乳腺癌细胞“干性”的重要因子,低氧具有维持BCSCs未分化表型作用。

参考文献

- Nurwidya F, Takahashi F, Minakata K, et al. From tumor hypoxia to cancer progression: the implications of hypoxia-inducible factor-1 expression in cancers[J]. *Anat Cell Biol*, 2012, 45(2):73-78.
- 王秀超,苑占娜,李莎莎,等.低氧诱导因子-2 α 在肝细胞癌中的表达及其临床意义[J].*中国肿瘤临床*,2011,38(10):560-563.
- Loboda A, Jozkowicz A, Dulak J. HIF-1 and HIF-2 transcription factors—similar but not identical[J].*Mol Cells*, 2010, 29(5):435-442.
- Noman MZ, Messai Y, Carré T, et al. Microenvironmental hypoxia orchestrating the cell stroma cross talk, tumor progression and antitumor response[J]. *Crit Rev Immunol*, 2011, 31(5):357-377.
- Zhu P, Ning Y, Yao L, et al. The proliferation, apoptosis, invasion of endothelial-like epithelial ovarian cancer cells induced by hypoxia[J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2010, 29:124.
- 罗维远,黄正接,罗琪.乳腺癌干细胞研究的新进展[J].*中国肿瘤临床*,2011,38(23):1475-1478.
- Persano L, Rampazzo E, Basso G, et al. Glioblastoma cancer stem cells: Role of the microenvironment and therapeutic targeting[J]. *Biochem Pharmacol*, 2012[Epub ahead of print].
- Zeng W, Wan R, Zheng Y, et al. Hypoxia, stem cells and bone tumor[J]. *Cancer Lett*, 2011, 313(2):129-136.
- Majmudar AJ, Wong WJ, Simon MC. Hypoxia-inducible factors and the response to hypoxic stress[J]. *Mol Cell*, 2010, 40(2): 294-309.
- Keith B, Johnson RS, Simon MC. HIF1 α and HIF2 α : sibling rivalry in hypoxic tumor growth and progression[J]. *Nat Rev Cancer*, 2011, 12(1):9-22.
- Li M, Kim WY. Two sides to every story: the HIF-dependent and HIF-independent functions of pVHL[J]. *J Cell Mol Med*, 2011, 15(2):187-195.
- Semenza GL. Hypoxia-inducible factors: mediators of cancer progression and targets for cancer therapy[J]. *Trends Pharmacol Sci*, 2012, 33(4): 207-214.
- Li Z, Bao S, Wu Q, et al. Hypoxia-inducible factors regulate tumorigenic capacity of glioma stem cells[J]. *Cancer Cell*, 2009, 15(6): 501-513.
- Pietras A, Hansford LM, Johnsson AS, et al. HIF-2 α maintains an undifferentiated state in neural crest-like human neuroblastoma tumor-initiating cells[J].*Proc Natl Acad Sci U S A*, 2009, 106(39): 16805-16810.
- Hochedlinger K, Yamada Y, Beard C, et al. Ectopic expression of Oct-4 blocks progenitor-cell differentiation and causes dysplasia in epithelial tissues[J]. *Cell*, 2005, 121(3):465-477.

(2012-08-14收稿)

(2012-12-26修回)

(本文编辑:张佖)

· 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。欢迎踊跃来稿!