

DOI:10.3971/j.issn.1000-8578.2012.01.004

# TIP30 基因对大肠癌细胞 HCT116 生物学特性的影响

吕慧芳<sup>1</sup>, 刘红亮<sup>2</sup>, 陈小兵<sup>1</sup>, 陈贝贝<sup>1</sup>, 李 宁<sup>1</sup>, 邓文英<sup>1</sup>, 马 磊<sup>1</sup>, 罗素霞<sup>1</sup>

## Effect of TIP30 on Biological Characters of HCT116 Cells

Lv Huifang<sup>1</sup>, Liu Hongliang<sup>2</sup>, Chen Xiaobing<sup>1</sup>, Chen Beibei<sup>1</sup>, Li Ning<sup>1</sup>, Deng Wenyong<sup>1</sup>, Ma Lei<sup>1</sup>, Luo Suxia<sup>1</sup>

1. Department of Medical Oncology He'nan Cancer Hospital, The Affiliated Cancer Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou 450008, China; 2. The First Affiliated Hospital of He'nan University of TCM

Corresponding Author: Chen Xiaobing, E-mail: cxb6332060@yahoo.com.cn; Luo Suxia, E-mail: luosxrm@163.com

**Abstract: Objective** To study the association of TIP30 and biological characters of HCT116 colorectal cancer cells. **Methods** The eukaryotic expression vector of TIP30 gene was established and transfected into HCT116 cells by liposome-mediated transfection. The expressions of TIP30 gene mRNA and protein were detected by RT-PCR and Western blot. The invasive ability was analyzed by Matrigel invasion assay. The colony formation assay was used to detect cell growth inhibition. **Results** The stable transfectant of HCT116/pCMV4-flag-TIP30 cell was established successfully, the proliferation of HCT116/pCMV4-flag-TIP30 cell was inhibited, the invasive ability and colony formation ability were also decreased compared to control cell. **Conclusion** The overexpression of TIP30 gene in HCT116 cells not only results in inhibiting cell growth and cell apoptosis, but also reducing cell migration and invasion, which provides evidence for TIP30 gene therapy.

**Key words:** TIP30 gene; DNA methylation; Colorectal cancer; Tumor suppressor gene

**摘 要:目的** 通过构建基因真核表达载体分析 TIP30 对大肠癌细胞 HCT116 生物学特性的影响,为 TIP30 在大肠癌基因治疗中的应用提供依据。**方法** 构建 pCMV4-flag-TIP30 真核表达载体并转染 HCT116 细胞,RT-PCR 和 Western blot 检测 TIP30 基因表达,体外侵袭实验检测细胞侵袭能力,软琼脂实验检测细胞成瘤性。**结果** 成功构建稳定表达 TIP30 的 HCT116 细胞模型,转染 TIP30 的 HCT116 细胞增殖受抑,侵袭能力及克隆形成能力均减弱。**结论** 大肠癌 HCT116 细胞 TIP30 过表达不仅能抑制其生长、诱导其凋亡,并能降低其侵袭、迁移能力,为 TIP30 基因治疗提供依据。

**关键词:** TIP30 基因;DNA 甲基化;大肠癌;抑癌基因

**中图分类号:** R735.3<sup>+</sup>4 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-8578(2012)01-0013-05

## 0 引言

近年来,大肠癌(Colorectal cancer, CRC)的发病率在世界范围内呈逐年上升趋势,男女发病率分别列第 4 和第 3 位,病死率分别列第 4 和第 5 位,严重威胁着人类健康<sup>[1]</sup>。我国大肠癌的发病率和病死

率也呈明显上升趋势,研究其发生发展和复发转移机制,有重要临床意义<sup>[2-3]</sup>。

TIP30 是一个新发现的抑癌基因,与肿瘤转移抑制相关,可促进肿瘤细胞凋亡、抑制肿瘤血管生成,调节细胞凋亡和转移相关基因的表达,从而抑制肿瘤生长和转移等<sup>[4-5]</sup>。TIP30 低表达在大肠癌组织中得到了验证,TIP30 低表达与大肠癌转移、预后的关系也得到了初步探讨<sup>[6]</sup>。为进一步研究 TIP30 对大肠癌细胞生长、凋亡、侵袭转移等生物学行为的影响,现将 pCMV4-flag-TIP30 质粒转染入大肠癌细胞株 HCT116,构建 TIP30 过表达细胞模型,观察 TIP30 对人大肠癌 HCT116 细胞生物学行为的影响,为 TIP30 在大肠癌基因治疗中的应用提供依据。

收稿日期:2011-05-04;修回日期:2011-06-17

基金项目:河南省医药卫生重大攻关项目及卫生部科研基金资助项目(WKJ2007-2-026)

作者单位:1. 450008 郑州,郑州大学附属肿瘤医院 河南省肿瘤医院内科;2. 河南中医学院第一附属医院

通信作者:陈小兵, E-mail: cxb6332060@yahoo.com.cn; 罗素霞, E-mail: luosxrm@163.com

作者简介:吕慧芳(1980-),女,博士,主治医师,主要从事消化道肿瘤的个体化化疗和生物治疗研究

## 1 材料与方 法

### 1.1 主要试剂和仪器

RPMI 1640 培养液购于美国 Gibco 公司,小牛血清、G418 及 PI 购于 Sigma 公司,RT-PCR 反转录试剂盒购于美国 Invitrogen 公司,pCMV4-flag 质粒(pFLAG-CMV4)购于 Invitrogen 公司,pMD18-T-Simple 载体、EcoR I 限制性内切酶、BamH I 限制性内切酶及 DNA marker 购于大连 TakaRa 公司,SuperFect 脂质体购于德国 Qiagen 公司,Reverse Transcription system Kit 购于美国 Promega 公司,鼠抗人一抗购于 Sigma 公司,HRP 标记的山羊抗鼠 IgG(二抗)购于北京中杉金桥生物技术有限公司,细胞培养小室购自 Becton Dickinson 公司,Annexin V/PI 凋亡试剂盒购于美国 BD 公司。

### 1.2 细胞株和细胞培养

大肠癌细胞株 HCT116 由中国医学科学院细胞中心提供,在含 10% 胎牛血清的 RPMI1640 培养液、37℃、5% CO<sub>2</sub> 条件下培养,用 0.25% 胰蛋白酶消化传代。

### 1.3 靶基因和载体构建

以 Genbank 上提供的 TIP30 mRNA 序列设计包含 TIP30 全长和 EcoR I / BamH I 双酶切位点引物,上游引物:5' GGATCCTCATGGCTT-GAGAGAGCCATGC 3',下游引物:5' GAATTCATGGCCGAAACAGAAGCCCT 3',产物长度为 731 bp。用健康体检者外周血 5 ml,提取总 RNA 后行两步 RT-PCR 反应,具体步骤严格按照说明书,扩增产物 2% 琼脂糖凝胶电泳,EB 染色,回收目的基因。

将目的基因正向插入到 pMD18-T-Simple 载体的 EcoR I 和 BamH I 克隆位点,构建 TIP30/pMD18-T-Simple,并与 pCMV4-flag 连接,所得产物为真核表达载体 pCMV4-flag-TIP30,并经内切酶和测序证实。

### 1.4 质粒转染和筛选克隆的 PCR 鉴定

Superfect 脂质体转染法和 pCMV4-flag-TIP30 重组质粒转染 HCT116 细胞。对照组为转染空白质粒组和空白对照组。转染前 1 d 换取无抗生素培养液培养,调整细胞数为  $1 \times 10^5$  /ml,以每孔 2 ml 接种于 6 孔培养板中培养。待细胞增至 90% ~ 95% 时,将质粒-脂质体复合物转染至细胞中(质粒:脂质体 = 1:10),继续在 37℃、5% CO<sub>2</sub> 无血清无抗生素的培养液中培养,3 h 后加入新鲜培养液,继续培养 48 h。然后按照 1:10 的比例接种到 12 孔板中,并加入 G418 200 μg/ml 继续培养,直至获得稳定表达克隆。克隆扩增时用 G418 100 μg/ml 维持培养。

分别收集实验组与对照组细胞,提取总 RNA

后进行两步 RT-PCR 反应(具体步骤详见说明书)。TIP30 上游引物 5' GTCTTTATTT TGGGCGCCAG 3',下游:5' CCCAGCTTTCCTCTGGTGG 3',扩增产物大小 254 bp。内参由 TaKaRa 公司合成,上游引物 5' GCCTCCGGCAGGACCACCGG3',下游引物 5'CGGTGAGATCGCGGCCCGCC3',产物大小 104 bp。

### 1.5 Western blot 检测 TIP30 蛋白水平的表达

分别收集实验组与对照组细胞提取总蛋白,通过聚丙烯酰胺凝胶电泳分离蛋白样本。将蛋白样本转移至 PVDF 膜上,蛋白封闭液 37℃ 封闭 1 h,PBST 洗涤,一抗(TIP30 1:5000)4℃ 振荡孵育过夜,TBST 洗涤 3 次,加二抗孵育 1 h,TBST 洗涤 3 次,每次 5 min。DAB 室温显影,记录结果。

### 1.6 细胞计数及细胞生长曲线绘制

实验分组:转染重组质粒组、转染空质粒组、空白细胞组。分别取 3 组对数生长期的细胞,0.25% 胰酶消化,0.4% 锥虫蓝染色,活细胞率 > 95%。用含 10% 胎牛血清 RPMI1640 培养液悬浮细胞,接种至 6 个 24 孔板(每组设 3 个复孔),每孔细胞数为  $1 \times 10^4$  个,置 37℃、5% CO<sub>2</sub> 培养箱中培养,每隔 24 h 进行细胞计数。以培养时间为横坐标,细胞数为纵坐标,绘制细胞生长曲线。

### 1.7 流式细胞术检测细胞凋亡

实验分组:转染重组质粒组、转染空质粒组、空白细胞组。用 0.9% 氯化钠溶液重悬 3 组对数生长期的细胞,调整细胞浓度至  $1 \times 10^6$  /ml,1 000 r/min 离心 10 min,收集细胞,PBS 洗涤 2 次,加入 Annexin V-FITC 5 μl,避光条件下孵育 15 min,PBS 洗涤 2 次,再加入 PI 10 μl,室温避光条件下孵育 5 min,流式细胞仪检测细胞凋亡情况。

### 1.8 克隆形成实验

实验分组:转染重组质粒组、转染空质粒组。实验在 6 孔板中进行,首先制备含 0.6% 琼脂的底层凝胶,然后取对数生长期的细胞制备成单细胞悬液,取  $1 \times 10^3$  个细胞配成 0.3% 琼脂培养液作为上层胶。然后将培养板移入培养箱,37℃、5% CO<sub>2</sub> 培养液中培养 21 天。相差显微镜下计数克隆形成数(含有 50 个以上细胞的集落计为 1 个克隆),每组细胞设立 3 个复孔,上述实验重复 3 次。

### 1.9 体外细胞侵袭实验

用无血清 RPMI1640 调整转染重组质粒组及转染空白质粒组细胞浓度为  $5 \times 10^5$  /ml,吸取 200 μl(含细胞  $1 \times 10^5$  个)加入侵袭小室内,置于 24 孔板中,下室内加入含 10% 小牛血清的 RPMI1640 培养液,培养 48 h。用棉签擦尽上室面的 Matrigel 和细胞,甲醇固定后用结晶紫染色,计数滤膜下室面的细胞数为侵袭指数(每孔计数高倍镜下 10 视野,然后取平均值)。

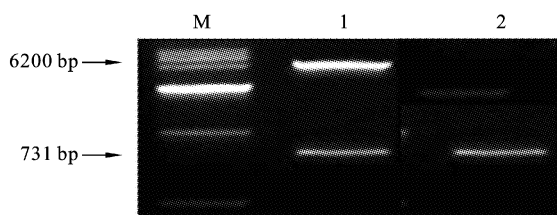
1.10 统计学方法

应用 SPSS 13.0 统计学软件,采用单因素方差分析,进行统计学处理, $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 载体 pCMV4-flag-TIP30 鉴定及转染重组质粒后细胞 PCR 及 Western blot 鉴定

测序鉴定结果表明,TIP30 已成功连接到载体上,无突变,完全符合 Genbank 相应序列(图略)。重组质粒 pCMV4-flag-TIP30 经 *EcoR* I 和 *Bam*H I 双酶切后得到 6200 bp 的载体片段和 731 bp 的 TIP30 基因片段,初步证明 TIP30 基因被插入到 pCMV4-flag 质粒中,见图 1。

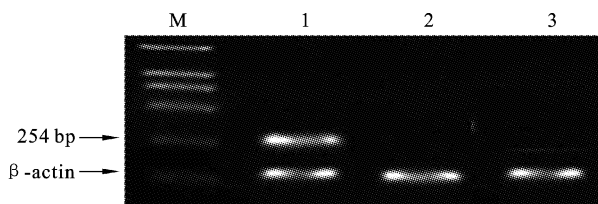


M: marker; 1: pCMV4-flag-TIP30; 2: pMD18-T-Simple

图 1 pCMV4-TIP30 酶切鉴定

Figure 1 Restrictive enzyme digestion analysis of pCMV4-flag-TIP30

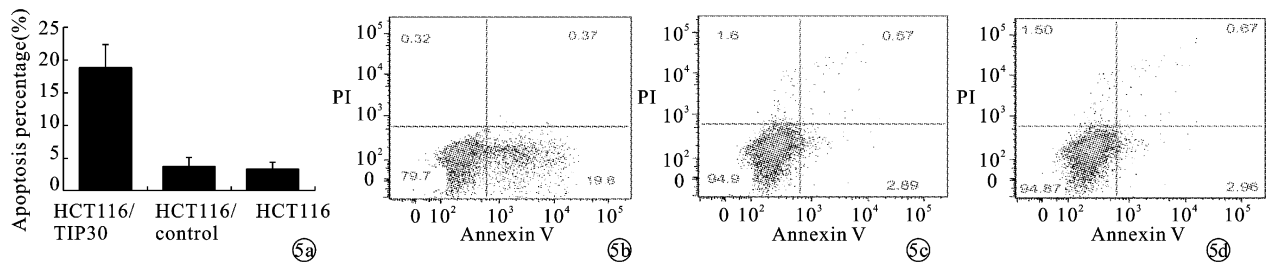
对已转染 pCMV4-flag-TIP30 的人大肠癌细胞,通过 PCR 扩增,得到 254 bp 的扩增产物,见图 2,说明转染质粒 DNA 已经整合到 HCT116 细胞染色体上。



M: marker; 1: HCT116/TIP30; 2: HCT116/Control; 3: HCT116

图 2 RT-PCR 检测 TIP30 mRNA 表达

Figure 2 Expression of TIP30 mRNA detected by RT-PCR

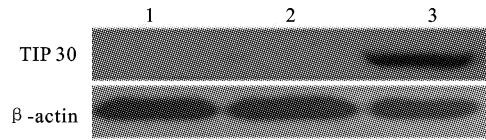


5a: the apoptosis percentage of three HCT116 cells; 5b~5d: the apoptosis of three HCT116 cells detected by FCM; 5b: HCT116/TIP30; 5c: HCT116/Control; 5d: HCT116

图 5 流式细胞仪检测 HCT116-TIP30、HCT116-Control 和 HCT116 细胞凋亡

Figure 5 Apoptosis of HCT116-TIP30, HCT116-control and HCT116 cells detected by FCM

Western blot 检测结果以条带的灰度来判断 TIP30 的蛋白表达高低。结果显示:在转染组细胞中,TIP30 蛋白表达强,而在未转染组及转染空质粒组细胞中未见 TIP30 蛋白表达。表明稳定表达 TIP30 蛋白的 HCT116/TIP30 细胞株成功建立,见图 3。



1: HCT116; 2: HCT116/Control; 3: HCT116/TIP30

图 3 Western blot 方法检测 TIP30 蛋白表达

Figure 3 Expression of TIP30 protein detected by Western blot

2.2 转染 TIP30 后细胞增殖情况

为了研究 TIP30 蛋白对大肠癌细胞生长曲线的影响,我们对处于对数生长期的 HCT116/TIP30、HCT116/Control 和 HCT116 三组细胞进行细胞计数,绘制其生长曲线。HCT116/TIP30 细胞细胞增殖速度明显低于 HCT116/Control 和 HCT116 细胞,差异具有统计学意义( $P < 0.05$ ),HCT116/Control 和 HCT116 细胞增殖速度差异无统计学意义( $P > 0.05$ ),见图 4。

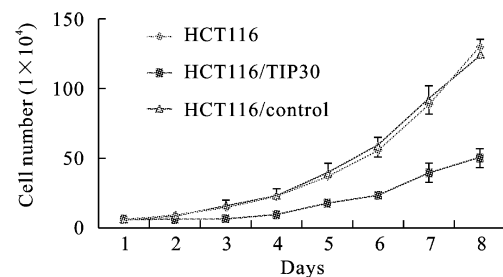


图 4 HCT116 细胞的体外生长曲线

Figure 4 Growth curve of three HCT116 cells groups

2.3 TIP30 蛋白对大肠癌细胞凋亡率的影响

流式结果显示,HCT116/TIP30、HCT116/Control 和 HCT116 细胞自然凋亡率分别为  $(18.9 \pm 3.5)\%$ 、 $(3.7 \pm 1.4)\%$  和  $(3.3 \pm 1.1)\%$ ,两者比较差异有统计学意义( $P < 0.001$ ),见图 5。

### 2.4 转染 TIP30 后细胞的克隆形成能力

含细胞的软琼脂按常规条件培养 14 d 后,在相差显微镜下观察,计数 10 个高倍镜视野,取平均值,发现 HCT116/TIP30 细胞克隆形成能力显著低于 HCT116/Control 细胞,两者比较差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ),见图 6。

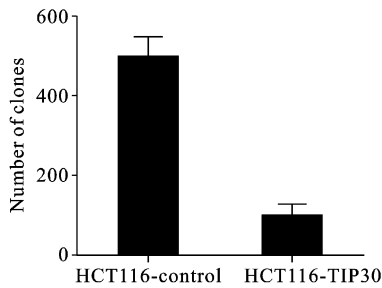
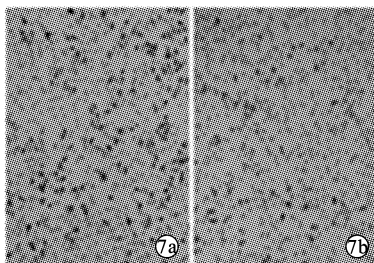


图 6 TIP30 的再表达抑制 HCT116 细胞生长  
Figure 6 Re-expression of TIP30 inhibits HCT116 cell growth

### 2.5 TIP30 对 HCT116 细胞侵袭能力的影响

HCT116/TIP30、HCT116/Control 细胞组穿膜细胞的数目分别是 (348 ± 52) 和 (127 ± 33),两者相比差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ),表明提高 TIP30 表达后,HCT116 细胞侵袭能力降低,见图 7。



7a: HCT116/TIP30; 7b: HCT116/Control  
图 7 TIP30 高表达抑制 HCT116 细胞侵袭性  
Figure 7 Overexpression of TIP30 reduces HCT116 cell invasion

## 3 讨论

TIP30 是近年新发现的一种与肿瘤转移抑制相关的基因,定位于人染色体 11p15.1,由 6 个外显子组成,编码 242 个氨基酸残基组成的蛋白质,相对分子质量为 30 000。TIP30 在多数大肠癌组织中表达缺失,且 TIP30 表达缺失与大肠癌患者的临床指标,如肿瘤细胞分化程度、临床分期、CEA 水平、是否转移等有关。既往研究结果表明,TIP30 在大肠癌高转移性细胞株 HCT116 中表达缺失,而在大肠癌低转移性细胞株 HT29 中表达,表明 TIP30 在大肠癌中可能具有抑癌作用。

目前研究认为,TIP30 可促进细胞凋亡、抑制肿

瘤血管生成,还可调节细胞凋亡相关基因和转移相关基因的表达,抑制肿瘤浸润和转移,影响肿瘤治疗效果和预后<sup>[7-10]</sup>。TIP30 在 v-SCLC 和其他肿瘤细胞系的过表达,可上调部分凋亡前基因和血管生成抑制剂的表达,同时下调血管生成刺激剂的表达。TIP30<sup>-/-</sup>型小鼠自然发生肝细胞癌,且其他肿瘤的发生率也高于野生型小鼠。研究还发现,TIP30 在肝癌细胞中表达下降且出现 TIP30 变异,再次证实了 TIP30 在肿瘤发生中的作用。此外,TIP30 下调可促进肺癌的转移和进展。King 等<sup>[11]</sup>在研究 TIP30 的促凋亡机制时,发现细胞内过量表达的 TIP30 增加了细胞对死亡信号的敏感度,促进了细胞凋亡。最近,Shi 等<sup>[12]</sup>还发现 TIP30 诱导细胞凋亡与线粒体事件也存在相关性。Tong 等<sup>[13]</sup>发现 TIP30 能够抑制血管生成刺激因子 1 而上调血管生成刺激因子 2(血管生成刺激因子 1 的抑制因子)的表达,同时还能够诱导脑特异性血管生成抑制因子 1(Ball)和富半胱氨酸的酸性蛋白(SPARC)的表达,从而抑制肿瘤新生血管形成。TIP30 基因还可以通过抑制血管内皮细胞生长因子来抑制肿瘤新生血管形成。

为了进一步研究 TIP30 基因在大肠癌中的具体功能,明确其与大肠癌细胞生长、凋亡、侵袭转移等的关系,我们将 pCMV4-flag-TIP30 质粒转染入 HCT116 细胞,观察 TIP30 对其生长、凋亡、迁移和侵袭等生物学行为的影响。在体外研究中,我们发现 HCT116/TIP30 细胞的生长速度明显比 HCT116/Control 细胞慢,HCT116/TIP30 细胞自然凋亡率较 HCT116/Control 和 HCT116 细胞高,表明 TIP30 可抑制肿瘤的生长。克隆形成结果显示,HCT116/TIP30 细胞锚定非依赖生长能力较 HCT116/Control 细胞明显减弱,表明 TIP30 抑制了 HCT116 细胞锚定非依赖性生长。

肿瘤细胞侵袭通过基底膜是侵袭和转移过程中的关键事件。因此,我们应用体外 Matrigel 侵袭试验测定 TIP30 过表达对 HCT116 细胞侵入基底膜的影响。Matrigel 侵袭实验结果显示,HCT116/TIP30 细胞侵袭能力较 HCT116/Control 细胞明显减弱,表明 TIP30 抑制了 HCT116 细胞的侵袭能力。上述体外研究结果证实,TIP30 在大肠癌细胞株中同样发挥抑癌基因的功能,关于其体内抑癌实验,仍需进一步研究结果证实。

### 参考文献:

[1] Center MM, Jemal A, Smith RA, et al. Worldwide Variations in Colorectal Cancer[J]. CA Cancer J Clin, 2009, 59(6), 366-378.  
 [2] Dong ZW, Qiao YL, Li LD, et al. Report of Chinese Cancer Control Strategy[J]. Bulletin of Chinese Cancer, 2002, 11(5): 250-260. [董志伟, 乔友林, 李连弟, 等. 中国癌症控制策略研究

- 报告[J]. 中国肿瘤, 2002, 11(5): 250-260. ]
- [3] 2008 China health statistics yearbook; Ministry of Health of the People's Republic of China[M]. Beijing: China Union Medical University Press, 2008; 52-53. [2008 中国卫生统计年鉴. 中华人民共和国卫生部[M]. 北京: 中国协和医科大学出版社, 2008; 52-53. ]
- [4] Jiang C, Pecha J, Hoshino I, et al. TIP30 mutant derived from hepatocellular carcinoma specimens promotes growth of HepG2 cells through up-regulation of N-cadherin[J]. Cancer Res, 2007, 67(8): 3574-3582.
- [5] Shi M, Yan SG, Xie ST, et al. Tip30-induced apoptosis requires translocation of Bax and involves mitochondrial release of cytochrome c and Smac/DIABLO in hepatocellular carcinoma cells [J]. Biochim Biophys Acta, 2008, 1783 (2): 263-274.
- [6] Zhang X, Ouyang XN, Li XD, et al. Relationship between TIP30 expression and colon cancer metastasis and prognosis[J]. Acad J Second Mil Med Univ, 2005, 26(5): 488-491. [张霞, 欧阳学农, 李晓冬, 等. 肠癌组织中 TIP30 基因的表达与转移、预后间的关系及机制[J]. 第二军医大学学报, 2005, 26(5): 488-491. ]
- [7] Xiao H, Tao Y, Greenblatt J, et al. A cofactor, TIP30, specifically enhances HIV21 Tat-activated transcription[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1998, 95(5): 2146-2151.
- [8] Ito M, Jiang C, Kristy-Krum MM, et al. TIP30 deficiency increases susceptibility to tumorigenesis[J]. Cancer Res, 2003, 63(24): 8763-8767.
- [9] Zhang X, Zhan J, Li XD, et al. Construction of adenovirus vector expressing TIP30 gene and its tumor suppressing effects in vitro and in vivo[J]. Chin J Oncol, 2004, 26(2): 85-88. [张霞, 赵健, 李晓冬, 等. TIP30 基因腺病毒载体的构建及体内外抑癌作用[J]. 中华肿瘤杂志, 2004, 26(2): 85-88. ]
- [10] NicAmhlaioibh R, Shtivelman E. Metastasis suppressor CC3 inhibits angiogenic properties of tumor cells in vitro[J]. Oncogene, 2001, 20(2): 270-275.
- [11] King FW, Shtivelman E. Inhibition of nuclear import by the proapoptotic protein CC3[J]. Mol Cell Biol, 2004, 24(16): 7091-7101.
- [12] Shi M, Yan SG, Xie ST, et al. TIP30-induced apoptosis requires translocation of Bax and involves mitochondrial release of cytochrome C and Smac/DIABLO in hepatocellular carcinoma cells [J]. Biochim Biophys Acta, 2008, 1783(2): 263-274.
- [13] Tong X, Li K, Luo Z, et al. Decreased TIP30 expression promotes tumor metastasis in lung cancer[J]. Am J Pathol, 2009, 174(5): 1931-1939.

[编辑: 安 凤; 校对: 杨 卉]

• 简讯 •

《肿瘤防治研究》杂志征订征稿启事

《肿瘤防治研究》杂志创刊于 1973 年, 是我国第一本独立的全国性肿瘤专业高级学术刊物。中华人民共和国卫生主管, 中国抗癌协会、湖北省肿瘤医院主办。杂志是中文核心期刊、中国科技论文统计源期刊、湖北省优秀医学期刊、中国抗癌协会系列刊物。被美国 CA、CSA、Ul-rich PD、波兰 IC、英国 CABI、Global Health、日本 JST 及国内所有大型数据库收录。

主要栏目有: 专题论坛、基础研究、临床研究、临床诊断、临床应用、流行病学、研究简报、技术交流、论著摘要、综述、短篇个案、简讯等。它是我国肿瘤防治研究领域的一面镜子和窗口。

希望广大朋友们一如既往地给予本刊以热忱的关注: 将优秀稿件投往《肿瘤防治研究》以支持我国学术期刊的发展; 订阅《肿瘤防治研究》以关注我国肿瘤防治研究事业取得的进步。同时, 编辑部将进一步加强自身的建设, 努力提升自己的办刊能力, 紧紧围绕内容为王、快速反应的要旨, 竭尽全力打造精品期刊, 以回报朋友们的支持与厚爱。

邮发代号: 38-70; 国外代号: MO6482; 订价: 15.00 元/册; 出版周期: 月刊

中国标准连续出版物号: ISSN 1000-8578 CN 42-1241/R

投稿网站: <http://www.zlfzyj.com> E-mail: [zlfzyj@263.net.cn](mailto:zlfzyj@263.net.cn)

电话/传真: 0086-27-87670126

通信地址: 武汉市武昌卓刀泉南路 116 号《肿瘤防治研究》编辑部 邮政编码: 430079