

重组蛋白rhTRAIL₅₅₋₂₈₁与GST-rhTRAIL₅₅₋₂₈₁有肝细胞毒性

刘洪波, 范学工, 黄建军, 李 宁, 应若素, 彭建平

刘洪波, 范学工, 李宁, 应若素, 彭建平, 中南大学湘雅医院感染病科 湖南省长沙市 410008
黄建军, 中南大学生物科学与技术学院生物化学系 湖南省长沙市 410008
刘洪波, 1992年湖南师大生物系学士, 讲师, 现在中南大学湘雅医院传染科攻读博士, 从事感染与免疫研究.
通讯作者: 范学工, 410008, 湖南省长沙市湘雅路87号, 中南大学湘雅医院感染病科. xgfan@hotmail.com
电话: 0731-4327392
收稿日期: 2006-02-16 接受日期: 2006-02-21

Toxicity assay for recombinant protein of rhTRAIL₅₅₋₂₈₁ and GST-rhTRAIL₅₅₋₂₈₁ to hepatic cells

Hong-Bo Liu, Xue-Gong Fan, Jian-Jun Huang, Ning Li, Ruo-Su Ying, Jian-Ping Peng

Hong-Bo Liu, Xue-Gong Fan, Ning Li, Ruo-Su Ying, Jian-Ping Peng, Department of Infectious Diseases, Xiangya Hospital, Central South University, Changsha 410008, Hunan Province, China
Jian-Jun Huang, Department of Biochemistry, School of Biology Science and Technology, Central South University, Changsha 410008, Hunan Province, China
Correspondence to: Professor Xue-Gong Fan, Department of Infectious Diseases, Xiangya Hospital, Central South University, 87 Xiangya Road, Changsha 410008, Hunan Province, China. xgfan@hotmail.com
Received: 2006-02-16 Accepted: 2006-02-21

Abstract

AIM: To investigate the toxicity of recombinant protein rhTRAIL₅₅₋₂₈₁ and GST-rhTRAIL₅₅₋₂₈₁ to human hepatic cells, and to provide the experiment evidence for development of anti-tumor drugs.

METHODS: Primary cultured human hepatic cells were obtained from adult and fetus by trypsin digestion and mechanical separation. GST tag was cut off by Factor-Xa from recombinant protein GST-rhTRAIL₅₅₋₂₈₁ to gain rhTRAIL₅₅₋₂₈₁. Human hepatic cell strain L-02, primary cultured human hepatic cells from adult and fetus and normal human peripheral blood mononuclear cells (PBMCs) were intervened by recombinant protein rhTRAIL₅₅₋₂₈₁ or GST-rhTRAIL₅₅₋₂₈₁, and finally the apoptosis of cells were detected by flow cytometry.

RESULTS: The viability of primary cultured human hepatic cells from adult and fetus exceed 95%, and the purity of rhTRAIL₅₅₋₂₈₁ without GST tag was 97%. Mass of apoptosis was detected in L-02, adult human hepatocytes and human fetal hepatocytes, and the apoptosis rates were 79.1%, 72.8%, and 42.2% or 80.3%, 74.7%, and 47.2%, respectively, 48 h after rhTRAIL₅₅₋₂₈₁ or GST-rhTRAIL₅₅₋₂₈₁ intervention at concentration of 10 mL/L. However, PBMCs showed little apoptosis.

CONCLUSION: Recombinant protein rhTRAIL₅₅₋₂₈₁ or GST-rhTRAIL₅₅₋₂₈₁ is limited in the development of antineoplastics due to its hepatocyte toxicity.

Key Words: Recombinant protein; rhTRAIL₅₅₋₂₈₁; GST-rhTRAIL₅₅₋₂₈₁; Antineoplastics; Toxicity; Human hepatic cells; Apoptosis

Liu HB, Fan XG, Huang JJ, Li N, Ying RS, Peng JP. Toxicity assay for recombinant protein of rhTRAIL₅₅₋₂₈₁ and GST-rhTRAIL₅₅₋₂₈₁ to hepatic cells. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2006;14(9):869-873

摘要

目的: 检测重组蛋白rhTRAIL₅₅₋₂₈₁与GST-rhTRAIL₅₅₋₂₈₁的对肝细胞的毒性, 以确定其是否可以开发为抗肿瘤药物.

方法: 采用胰酶消化与机械分离结合的方法, 获取原代成人肝细胞和胎肝细胞. 用Factor-Xa切除重组蛋白GST-rhTRAIL₅₅₋₂₈₁的GST标签获取rhTRAIL₅₅₋₂₈₁蛋白, 然后分别利用rhTRAIL₅₅₋₂₈₁与GST-rhTRAIL₅₅₋₂₈₁干预肝细胞株L-02、原代成人肝细胞、原代胎肝细胞及对照组正常人外周血单个核细胞(PBMC), 最后利用流式细胞仪检测细胞的凋亡率.

结果: 获得的原代成人肝细胞和胎肝细胞细胞活力达95%以上, 无GST标签的rhTRAIL₅₅₋₂₈₁蛋白纯度达到97%; rhTRAIL₅₅₋₂₈₁与GST-rhTRAIL₅₅₋₂₈₁使肝细胞株L-02及原代成人肝细胞、胎肝细胞大量凋亡. 在10 mL/L的浓度下, 48 h后凋亡率分别为79.1%, 72.8%, 42.2%与80.3%, 74.7%, 47.2%, 而对照组正常

■背景资料

TRAIL能强烈诱导转化细胞、肿瘤细胞和病毒感染细胞等凋亡, 而正常组织细胞却对其不敏感, 这种选择性细胞毒性使其在肿瘤治疗中有着潜在的广泛应用前景. Jo *et al*发现, 虽然人TRAIL-His对鼠肝细胞没有毒性, 对原代成人肝细胞却有强烈的细胞毒性. Nagata与Gura呼吁对于TRAIL药物的开发要十分谨慎.

■创新盘点

本文经过对肝细胞株、原代成人肝细胞、胎肝细胞进行测试,验证了自制的两种重组蛋白rhTRAIL₅₅₋₂₈₁与GST-rhTRAIL₅₅₋₂₈₁对人肝细胞的毒性。

人PBMC基本不凋亡。

结论: 重组蛋白rhTRAIL₅₅₋₂₈₁与GST-rhTRAIL₅₅₋₂₈₁有肝细胞毒性。

关键词: 重组蛋白; rhTRAIL₅₅₋₂₈₁; GST-rhTRAIL₅₅₋₂₈₁; 抗肿瘤药物; 肝细胞; 毒性; 细胞凋亡

刘洪波, 范学工, 黄建军, 李宁, 应若素, 彭建平. 重组蛋白rhTRAIL₅₅₋₂₈₁与GST-rhTRAIL₅₅₋₂₈₁有肝细胞毒性. 世界华人消化杂志 2006;14(9):869-873

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/14/869.asp>

0 引言

肿瘤坏死因子相关凋亡诱导配体(TNF related apoptosis inducing ligand, TRAIL)是TNF超家族成员中的一员。TRAIL能强烈诱导转化细胞、肿瘤细胞和病毒感染细胞等凋亡,而正常组织细胞却对其不敏感,这一特征使其在肿瘤治疗中有着潜在的广泛应用前景^[1-2]。但近来的研究表明,重组蛋白rhTRAIL有肝细胞毒性^[3],这制约着rhTRAIL作为抗肿瘤药物开发。本研究组已经克隆出非全长人TRAIL基因,随后对他进行了体外表达及纯化的深入研究,纯化出大量GST-rhTRAIL₅₅₋₂₈₁,并检测了GST-rhTRAIL₅₅₋₂₈₁的凋亡活性^[4-5]。本研究在此基础上,利用rhTRAIL₅₅₋₂₈₁与GST-rhTRAIL₅₅₋₂₈₁干预肝细胞株L-02及原代成人肝细胞、胎肝细胞,然后利用流式细胞仪进行凋亡检测,以确定rhTRAIL₅₅₋₂₈₁与GST-rhTRAIL₅₅₋₂₈₁肝细胞毒性的大小,为重组蛋白rhTRAIL₅₅₋₂₈₁与GST-rhTRAIL₅₅₋₂₈₁是否可以作为抗肿瘤药物开发提供实验依据。

1 材料和方法

1.1 材料 重组蛋白GST-rhTRAIL₅₅₋₂₈₁系本研究室纯化^[5]。Factor-Xa购自Pharmacia公司。超滤器Centricon YM-10, 30购自Millipore公司。Glutathione Sepharose 4B、胰酶购自Amersham公司。胎牛血清、DMEM等购自Gibco公司。细胞生长因子、铁硫蛋白、鼠尾胶系卢瑾硕士惠赠。人肝细胞株L-02系我室保存。成人肝组织系本院手术取得,人胎肝组织系本院水囊式人工流产约14 wk胎儿身上取得(以上均取得病患与医院伦理委员会批准)。凋亡检测试剂盒购自鼎国生物科技公司。

1.2 方法 用Factor-Xa切除重组蛋白GST-rhTRAIL₅₅₋₂₈₁的GST标签,重组蛋白GST-rhTRAIL₅₅₋₂₈₁溶于冰浴PBS中,加入Glutathione

Sepharose 4B琼脂糖珠,冰浴缓摇2 h后,4℃,500 r/min离心5 min,将琼脂糖珠重悬于冰浴20 mmol/L Tris-HCl (pH 7.4),0.1 mol/L NaCl缓冲液中。加入适量的Factor-Xa,4℃,24 h,500 r/min离心5 min,上清小心倒入超滤器Centricon YM-30,4℃,1 500 r/min离心15 min,滤液小心加入超滤器Centricon YM-10,4℃,1 500 r/min离心15 min,适量PBS溶解超滤器中截留的切除了GST的rhTRAIL₅₅₋₂₈₁蛋白,利用紫外分光光度仪检测其蛋白浓度。原代成人肝细胞与胎肝细胞的分离与培养采用胰酶消化与机械分离结合的方法,试剂准备同肝脏原位灌注消化法^[5]。收集细胞,在DMEM中加入10 mL/L胎牛血清,500 r/min离心5 min,如此洗涤细胞2-3次,最后用含100 mL/L胎牛血清、0.1 g/L细胞生长因子、1 g/L铁硫蛋白DMEM培养基、用鼠尾胶处理^[6]后的一次性塑料培养瓶,在37℃,50 mL/L CO₂的培养条件下培养。24 h贴壁后换液,用台盼蓝排斥法检测细胞活力,细胞活力达95%以上的就可用于重组蛋白rhTRAIL₅₅₋₂₈₁与GST-rhTRAIL₅₅₋₂₈₁的肝细胞毒性检测实验。人肝细胞株L-02的培养按照常规方法进行,培养基为DMEM+100 mL/L小牛血清,培养条件为37℃,50 mL/L CO₂。培养至细胞80%-85%时进行rhTRAIL₅₅₋₂₈₁与GST-rhTRAIL₅₅₋₂₈₁肝细胞毒性检测实验。以分离的正常人的外周血单个核细胞(PBMC)为对照组,在L-02细胞株、活力检测后的原代成人肝细胞与胎肝细胞中加入稀释度为100 mL/L的rhTRAIL₅₅₋₂₈₁与GST-rhTRAIL₅₅₋₂₈₁,及无关蛋白(白蛋白)干预24, 36及48 h。然后按流式细胞术检测的要求与方法分别收获细胞,碘化丙啶(PI)染色后,用流式细胞仪检测细胞凋亡率。

统计学处理 采用配对t检验和相关分析。

2 结果

GST-rhTRAIL₅₅₋₂₈₁的GST标签被Factor-Xa有效的切除,切除GST标签后, rhTRAIL₅₅₋₂₈₁的分子量大小约为 M_r 25 000,利用超滤器Centricon YM-10, 30,有效的去除了Factor-Xa(M_r 48 000),使rhTRAIL₅₅₋₂₈₁纯度达到97%,与GST-rhTRAIL₅₅₋₂₈₁相当(图1)。用胰酶消化与机械分离结合的方法获得了大量的原代成人肝细胞与胎肝细胞。这些原代细胞贴壁换液后,逐渐伸展为多边形(图2)。利用台盼蓝排斥法进行活力检测,发现其活力在95%以上。胎肝细胞还有很强的分裂能力,但成人肝细胞却基本不能分裂,原代成人肝细胞在

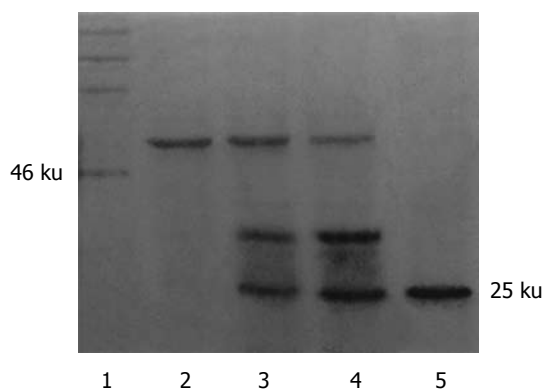


图 1 GST-rhTRAIL₅₅₋₂₈₁的GST标签的切除与纯化, 100 g/L SDS-PAGE胶电泳图. 1: 蛋白质分子量标准; 2: 纯化的GST-rhTRAIL₅₅₋₂₈₁蛋白; 3, 4: Factor-Xa消化后GST标签部分被切除; 5: 纯化的rhTRAIL₅₅₋₂₈₁蛋白.

■同行评价
文章有理论意义和实际应用价值, 是一篇具有较高价值的论文.

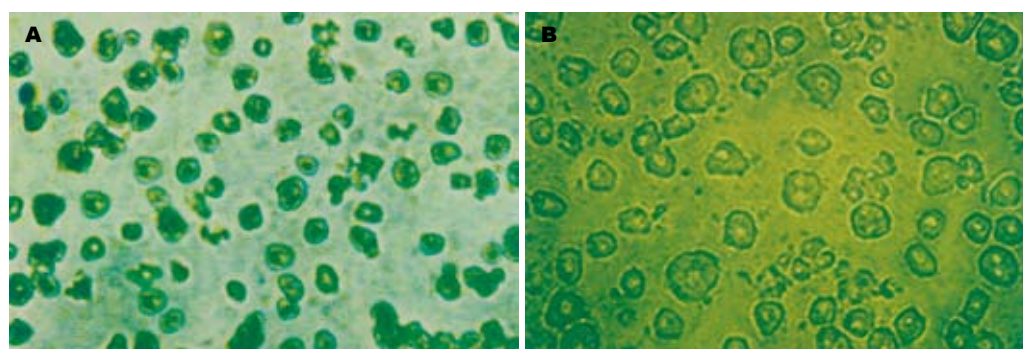


图 2 原代培养的人胎肝细胞与成人肝细胞 (绿色滤镜). A: 原代人胎肝细胞 ($\times 400$); B: 原代成人肝细胞 ($\times 500$).

表 1 重组蛋白rhTRAIL₅₅₋₂₈₁或GST-rhTRAIL₅₅₋₂₈₁干预下细胞凋亡率

分组	Th	PBMC	L-02	成人肝细胞	人胎肝细胞
白蛋白 (无关蛋白)	48	0.8 ± 0.15	0.6 ± 0.17	0.9 ± 0.20	0.7 ± 0.16
1 : 100 rhTRAIL ₅₅₋₂₈₁	12	0.8 ± 0.14	17.49 ± 1.21^{bcd}	16.22 ± 1.27^{bcd}	9.0 ± 1.79^{bc}
	24	1.2 ± 0.31	39.52 ± 3.11^{bcd}	33.17 ± 4.57^{bcd}	18.64 ± 3.06^{bc}
	48	2.3 ± 0.20	79.11 ± 4.79^{bcd}	72.83 ± 6.12^{bcd}	42.15 ± 3.93^{bc}
	12	0.9 ± 0.12	19.89 ± 2.03^{bcd}	16.63 ± 0.79^{bcd}	11.01 ± 1.29^{bc}
1 : 100 GST-rhTRAIL ₅₅₋₂₈₁	24	1.5 ± 0.17	41.47 ± 3.45^{bcd}	34.86 ± 2.19^{bcd}	19.67 ± 4.22^{bc}
	48	2.3 ± 0.23	80.31 ± 5.13^{bcd}	74.73 ± 5.03^{bcd}	47.15 ± 5.31^{bc}

^b $P < 0.05$ vs 白蛋白 (无关蛋白); ^c $P < 0.05$ vs PBMC; ^d $P < 0.05$ vs 人胎肝细胞.

培养10 d逐渐开始死亡. 他们都可以很好的满足重组蛋白rhTRAIL₅₅₋₂₈₁与GST-rhTRAIL₅₅₋₂₈₁的肝细胞毒性检测实验. 通过对L-02细胞株、检测后的原代成人肝细胞与胎肝细胞等细胞的干预, 发现rhTRAIL₅₅₋₂₈₁与GST-rhTRAIL₅₅₋₂₈₁对L-02细胞株、原代成人肝细胞与胎肝细胞均有较强的细胞毒性(表1), 且两者的毒性无统计学差异, 原代胎肝细胞的凋亡率明显低于L-02细胞株与原代成人肝细胞. 他们对正常人PBMC无细胞毒性.

3 讨论

TRAIL能强烈诱导转化细胞、肿瘤细胞和病毒

感染细胞等凋亡, 而正常组织细胞却对其不敏感, 这种选择性细胞毒性使其在肿瘤治疗中有着潜在的广泛应用前景. 通过多次小鼠的体内试验研究发现, 重组人TRAIL蛋白并没有毒副作用, 应该是安全的^[2,7-8]. 但是, 随后Jo *et al*^[3]发现, 虽然人TRAIL-His对鼠肝细胞没有毒性, 对原代成人肝细胞却有强烈的细胞毒性. Nagata与Gura呼吁对于TRAIL药物的开发要十分谨慎^[9-10]. 当然, 也有不同的声音: 认为通过去除标签, 加入锌离子使外源表达的TRAIL分子形成完整的三聚体后, 不会对肝细胞产生毒性^[11]; 天然的TRAIL蛋白对于人正常的角质化细胞与黑色素细胞几乎没有细胞毒性^[12]. 最近研究又发

现: DR4和DR5可诱导肝细胞凋亡^[13]; 在体的正常肝细胞可抵抗*TRAIL*诱导的凋亡, 而在体外则无法避免^[14]; 胆汁酸可对死亡受体的信号转导起调节作用, 他可以促进*TRAIL*诱导肝细胞凋亡^[15-17]; 正常人关节软骨细胞对*TRAIL*诱导的凋亡也很敏感^[18]; 也有人认为在体内与体外均对肝细胞无毒性^[19]。基于以上正反两方面的观点, *TRAIL*药物的开发还是要十分谨慎, 安全性亟待深入研究。然而, 我国有人在追捧*TRAIL*, 甚至某大型生物科技有限公司为*TRAIL*药物的开发投入资金达亿元。为了为*TRAIL*抗肿瘤药物开发的可行性提供实验依据, 我们利用rh*TRAIL*₅₅₋₂₈₁与GST-rh*TRAIL*₅₅₋₂₈₁干预肝细胞株L-02及原代成人肝细胞、胎肝细胞, 然后利用流式细胞仪进行凋亡检测, 以确定rh*TRAIL*₅₅₋₂₈₁与GST-rh*TRAIL*₅₅₋₂₈₁肝细胞毒性的。通过实验, 重组蛋白rh*TRAIL*₅₅₋₂₈₁与GST-rh*TRAIL*₅₅₋₂₈₁对正常人PBMC无细胞毒性, 这与本研究小组早前报道的结果是一致的^[20], 综合本研究小组对可溶性GST-rh*TRAIL*₅₅₋₂₈₁凋亡活性的检测实验^[4], 可以再次肯定: *TRAIL*重组蛋白对细胞有选择性毒性。重组蛋白rh*TRAIL*₅₅₋₂₈₁与GST-rh*TRAIL*₅₅₋₂₈₁对肝细胞有毒性, 这与Jom *et al*对His标签的重组蛋白*TRAIL*-His的研究结果一致。因此, 无论是全长还是非全长的, 无论是*TRAIL*-His还是GST-rh*TRAIL*₅₅₋₂₈₁与rh*TRAIL*₅₅₋₂₈₁都对肝细胞有较强的毒性, 重组蛋白rh*TRAIL*₅₅₋₂₈₁与GST-rh*TRAIL*₅₅₋₂₈₁作为抗肿瘤药物开发受到其肝细胞毒性的制约。至于原代胎肝细胞的凋亡率明显低于L-02细胞株与原代成人肝细胞的原因, 可能是胎儿尚处于免疫发育不完全时期, 胎肝细胞的*TRAIL*死亡受体表达不完整抑或诱骗受体*TRAIL*-R4高表达造成^[21-22], 有待我们进一步研究。

鉴于以上实验结果, 我们认为: 对于*TRAIL*药物的开发要把安全性放在首位, 在大量投入资金之前, 必须验证他对正常细胞可能的杀伤作用, 以免如同Fas药物开发一样^[23], 造成不必要的巨大浪费。

致谢: 宋惠萍教授及张卫社教授给予了热忱的帮助。

4 参考文献

- 1 范学工. 一个新的凋亡分子——Trail. 世界华人消化杂志 2000; 8: 84-85
- 2 Walczak H, Miller RE, Ariail K, Gliniak B, Griffith TS, Kubin M, Chin W, Jones J, Woodward A, Le

- T, Smith C, Smolak P, Goodwin RG, Rauch CT, Schuh JC, Lynch DH. Tumoricidal activity of tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand *in vivo*. *Nat Med* 1999; 5: 157-163
- 3 Jo M, Kim TH, Seol DW, Esplen JE, Dorko K, Billiar TR, Strom SC. Apoptosis induced in normal human hepatocytes by tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand. *Nat Med* 2000; 6: 564-567
- 4 李宁, 范学工. 人Trail分子的克隆、表达及鉴定. 中国现代医学杂志 2004; 14: 82-85
- 5 刘洪波, 范学工, 李宁, 黄建军, 朱才. 可溶性GST-rh*TRAIL*₅₅₋₂₈₁最佳表达条件及凋亡活性研究. 生命科学研究 2005; 9: 267-271
- 6 Lu J, Gu YP, Xu X, Liu ML, Xie P, Song HP. Adult islets cultured in collagen gel transdifferentiate into duct-like cells. *World J Gastroenterol* 2005; 11: 3426-3430
- 7 Ashkenazi A, Pai RC, Fong S, Leung S, Lawrence DA, Marsters SA, Blackie C, Chang L, McMurtry AE, Hebert A, DeForge L, Koumenis IL, Lewis D, Harris L, Bussiere J, Koeppen H, Shahrokh Z, Schwall RH. Safety and antitumor activity of recombinant soluble Apo2 ligand. *J Clin Invest* 1999; 104: 155-162
- 8 Chinnaiyan AM, Prasad U, Shankar S, Hamstra DA, Shanaiah M, Chenevert TL, Ross BD, Rehemtulla A. Combined effect of tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand and ionizing radiation in breast cancer therapy. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000; 97: 1754-1759
- 9 Nagata S. Steering anti-cancer drugs away from the TRAIL. *Nat Med* 2000; 6: 502-503
- 10 Gura T. Cancer research. Caution raised about possible new drug. *Science* 2000; 288: 786-787
- 11 Lawrence D, Shahrokh Z, Marsters S, Achilles K, Shih D, Mounho B, Hillan K, Totpal K, DeForge L, Schow P, Hooley J, Sherwood S, Pai R, Leung S, Khan L, Gliniak B, Bussiere J, Smith CA, Strom SS, Kelley S, Fox JA, Thomas D, Ashkenazi A. Differential hepatocyte toxicity of recombinant Apo2L/TRAIL versions. *Nat Med* 2001; 7: 383-385
- 12 Qin J, Chaturvedi V, Bonish B, Nickoloff BJ. Avoiding premature apoptosis of normal epidermal cells. *Nat Med* 2001; 7: 385-386
- 13 Armeanu S, Lauer UM, Smirnow I, Schenk M, Weiss TS, Gregor M, Bitzer M. Adenoviral gene transfer of tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand overcomes an impaired response of hepatoma cells but causes severe apoptosis in primary human hepatocytes. *Cancer Res* 2003; 63: 2369-2372
- 14 Mundt B, Kuhnel F, Zender L, Paul Y, Tillmann H, Trautwein C, Manns MP, Kubicka S. Involvement of TRAIL and its receptors in viral hepatitis. *FASEB J* 2003; 17: 94-96
- 15 Higuchi H, Bronk SF, Takikawa Y, Werneburg N, Takimoto R, El-Deiry W, Gores GJ. The bile acid glycochenodeoxycholate induces trail-receptor 2/DR5 expression and apoptosis. *J Biol Chem* 2001; 276: 38610-38618
- 16 Higuchi H, Bronk SF, Taniai M, Canbay A, Gores GJ. Cholestasis increases tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL)-R2/DR5 expression and sensitizes the liver to TRAIL-mediated cytotoxicity. *J Pharmacol Exp Ther* 2002; 303: 461-467
- 17 Higuchi H, Yoon JH, Grambihler A, Werneburg

- N, Bronk SF, Gores GJ. Bile acids stimulate cFLIP phosphorylation enhancing TRAIL-mediated apoptosis. *J Biol Chem* 2003; 278: 454-461
- 18 Pettersen I, Figenschau Y, Olsen E, Bakkelund W, Smedsrod B, Sveinbjornsson B. Tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand induces apoptosis in human articular chondrocytes *in vitro*. *Biochem Biophys Res Commun* 2002; 296: 671-676
- 19 Hao C, Song JH, Hsi B, Lewis J, Song DK, Petruk KC, Tyrrell DL, Kneteman NM. TRAIL inhibits tumor growth but is nontoxic to human hepatocytes in chimeric mice. *Cancer Res* 2004; 64: 8502-8506
- 20 范学工. T细胞Trail受体表达及Trail诱导的T细胞凋亡. *中国免疫学杂志* 2000; 16: 122-124
- 21 Ichikawa K, Liu W, Zhao L, Wang Z, Liu D, Ohtsuka T, Zhang H, Mountz JD, Koopman WJ, Kimberly RP, Zhou T. Tumoricidal activity of a novel anti-human DR5 monoclonal antibody without hepatocyte cytotoxicity. *Nat Med* 2001; 7: 954-960
- 22 刘智敏, 陈俊杰. 肝脏中死亡受体的生物学和病理生物学作用. *生物医学工程学杂志* 2002; 19: 510-513
- 23 Ogasawara J, Watanabe-Fukunaga R, Adachi M, Matsuzawa A, Kasugai T, Kitamura Y, Itoh N, Suda T, Nagata S. Lethal effect of the anti-Fas antibody in mice. *Nature* 1993; 364: 806-809

电编 张敏 编辑 潘伯荣

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2006年版权归世界胃肠病学杂志社

• 消息 •

第十届全国普通外科学术会议征文通知

本刊讯 由解放军普通外科专业委员会主办, 南京军区福州总医院承办的“第十届全国普通外科学术会议”拟定于2006-07在福州举行. 会议采用院士论坛、专题报告等形式, 对普通外科近年来的新技术、新方法及发展趋势进行介绍和讨论. 欢迎军内外普通外科医师参加会议.

1 征文内容

有关普通外科疾病的诊断、治疗的基础和临床研究及护理内容.

2 征稿要求

(1)要求中文全文(4 000字以内)及摘要(500字以内)各1份. 稿件请寄软盘(Word 格式), 欢迎用电子邮件方式投稿. (2)来稿请注明单位、作者姓名、邮编及联系电话(请自留底稿, 恕不退稿), 请在信封左下角注明“会议征文”字样.

来稿请寄: 邮编: 350025, 福建省福州市西二球路156号 南京军区福州总医院普通外科 王烈 收. 电子邮件地址: www.fzptwk@public.fz.fj.cn, 传真: 0591-83796855, 电话: 0591-24937077, 军线: 0611-97077, 959770.