·论著·

Septin2在霍奇金淋巴瘤细胞株L428细胞中的表达及其在促进细胞再分化中的作用

孙清灿　钟琳　丘波　赵彤　周新华

【摘要】 **目的**　探索GTP结合蛋白氯苄乙胺2(Septin2)在霍奇金淋巴瘤细胞株L428细胞中的表达及其在H/RS(Hodgkin/Reed-Sternberg)细胞向B细胞再分化中的作用。**方法**　采用实时荧光定量PCR(RT-qPCR)、Western blot、激光共聚焦显微镜、免疫细胞化学法检测霍奇金淋巴瘤细胞株L428细胞过表达CD99前后Septin2在mRNA和蛋白水平的表达;采用RT-qPCR和Western blot检测L428细胞转染Septin2干扰片段(Septin2-siRNA)后Septin2的表达;采用激光共聚焦显微镜、CCK8法和流式细胞术检测干扰Septin2基因对L428细胞骨架蛋白、细胞增殖活性和免疫表型的影响。**结果**　与L428细胞空白对照组比较,L428细胞Septin2 mRNA表达水平在CD99过表达后(0.329±0.019对1.000,*P*=0.001)和转染Septin2-siRNA后(0.276±0.025对1.000,*P*=0.000)均下降,蛋白表达水平也下降。与转染空载体组比较,转染Septin2-siRNA后的L428细胞较前者胞体缩小,细胞增殖活性下降(*F*=204.927,*P*<0.001),细胞中的微丝骨架发生了重建,CD30和CD15表达下降,CD19、CD10、CD38表达增高。**结论**　Septin2在L428细胞中高表达,干扰Septin2可促进H/RS细胞向B细胞方向再分化。

【关键词】 霍奇金病;　氯苄乙胺;　L428细胞;　里德-斯特恩伯格细胞;　细胞分化

基金项目:国家自然科学基金(81302051);广东省自然科学基金(2014A030313284)

Expression of Septin2 in Hodgkin lymphoma cell line L428 and its role in promoting H/RS cells' redifferentiation to B lymphocytes

Sun Qingcan, Zhong Lin, Qiu Bo, Zhao Tong, Zhou Xinhua*. *Department of Pathology, Southern Medical University, Guangdong Province Key Laboratory of Molecular Tumor Pathology, Guangzhou 510515, China*

Corresponding author: Zhou Xinhua, Email: balbc@smu.edu.cn

【**Abstract**】 **Objective**　To explore the role of GTP binding protein 2 (Septin2) in the differentiation of Hodgkin's Lymphoma H/RS cells (Hodgkin/Reed- Sternberg) to B lymphocytes. **Methods**　The expressions of Septin2 mRNA and protein in Hodgkin's Lymphoma cell line L428 which CD99 was overexpressed were detected by RT- qPCR and Western blot,confocal laser microscopy and immunocytochemistry (ICC). RT- qPCR and Western blot were used to assay the expression of Septin2 after Septin2- siRNA transfected into L428 cells, and confocal laser microscopy, CCK8 assay and flow cytometry were used to analyze the changes of F- actin cytoskeleton,cell proliferation ability and immunophenotype. **Results**　The low expressions of Septin2 mRNA and protein were detected in L428 cell line after overexpresion of CD99 (0.329±0.019 *vs* 1.000, *P*=0.001) and Septin2 siRNA transfection (0.276±0.025 *vs* 1.000, *P*=0.000) compared to controls. Compared to vector group, Septin2 siRNA transfection could lead to decrease of cell size, decline of proliferation activity (*F*=204.927, *P*<0.001) and reconstruction of F-actin cytoskeleton, and the expression of specific antigen markers CD30 and CD15 of H/RS cell decreased, B cell antigen marker CD19 as well as germinal center marker CD10 and early plasma cell marker CD38 were up- regulated. **Conclusion**　Septin2 interference promotes H/RS cells' redifferentiation to B lymphocytes

【**Key words**】 Hodgkin disease;　Septins;　L428 cells;　Reed-Sternberg cells;　Cell differentiation

Fund program: National Natural Science Foundation of China (81302051); Guangdong Province Natural Science Foundation of China (2014A030313284)

DOI:10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2017.02.010

作者单位:510515　广州,南方医科大学病理学系,广东省分子肿瘤病理学重点实验室(孙清灿、丘波、赵彤、周新华);南方医科大学第三附属医院病理科(钟琳)

通信作者:周新华,Email:balbc@smu.edu.cn

霍奇金淋巴瘤(Hodgkin's lymphoma,HL)好发于20~30岁青年[1],其肿瘤细胞Hodgkin/Reed-Sternberg(H/RS)细胞起源于生发中心发生了突变的"残疾B细胞"[2-3],是B细胞分化阻滞的产物,其B细胞表面标志部分或全部消失,几乎所有的H/RS细胞都表达CD30,80%以上表达CD15[4]。由于H/RS细胞免疫表型及受体的改变,使其逃避免疫监视和细胞凋亡而得以生存及克隆性增殖。在前期的研究中我们构建了可稳定过表达CD99的HL细胞株L428-CD99细胞,并证实L428-CD99细胞可向B细胞方向再分化;利用荧光差异双向凝胶电泳和质谱分析技术分离出L428-CD99和L428两株细胞的差异蛋白氯苄乙胺2(Septin2)[5]。Septin2属于Septins基因家族的一员,为GTP结合的骨架蛋白,是构成微管的重要成分,参与细胞有丝分裂和囊泡运输等功能,参与GTP激酶的激活状态的形式改变[6]。在本研究中我们对Septin2的表达进行了验证,旨在探究Septin2在H/RS细胞向B细胞再分化中的作用。

材料与方法

1. 人HL细胞株L428细胞:由美国内布拉斯加州医学中心CHan教授赠送,南方医科大学广东省分子肿瘤病理重点实验室冻存。L428-CD99细胞及与CD99对应的空载L428细胞(L428-CTR细胞)由本课题组前期构建,本室冻存。

2. 主要试剂:RNAiso Reagent(D9108A)、PrimeScript™ RT Reagent Kit(DRRP37S)、Primix Taq PCR试剂盒(D331A)、SYBR® Premix Ex Taq™(DRR041A)实时荧光定量PCR(RT- qPCR)、Lipofectamine™ 2000试剂盒购自日本TaKaRa公司;Septin2鼠抗人多克隆抗体购自美国Abcam公司;β-actin鼠抗人单克隆抗体、抗鼠二抗和抗兔二抗购自北京中杉金桥生物技术有限公司;免疫组化试剂盒购自美国DAKO公司;CCK8检测试剂盒购自江苏凯基生物技术股份有限公司;FITC标记的鬼笔环肽购自美国Sigma公司;流式细胞术检测所用CD30、CD15 、CD10、CD19、CD45、CD38抗体购自美国BD公司。

3. 细胞转染:收集对数生长期的L428细胞,用RPMI1640培养基调整细胞密度为1×10^6/ml,每孔1.5 ml接种于6孔板中。实验分组:①空白对照组:加RPMI1640培养基的L428细胞组;②空载体组:转染空载体-siRNA的L428细胞组(L428-NC);③干扰组:转染Septin2-siRNA的L428细胞组(L428-siSeptin2)。每组设3个复孔,实验重复3次。引物由上海英骏生物技术有限公司合成。参照Lipofectamine™ 2000试剂盒说明书进行转染操作,36 h后转染细胞经RT-qPCR和Western blot法进行干扰效率鉴定。实验中所用基因序列见表1。

4. RT-qPCR检测过表达CD99及转染Septin2-siRNA对L428细胞Septin2 mRNA表达的影响:严格按照RNAiso™ Plus Total RNA提取试剂盒说明书进行RNA提取并逆转录合成cDNA。反应体系为20 μl,反应条件:95 ℃ 30 s,1个循环;95 ℃ 30 s,55 ℃ 34 s,40个循环;95 ℃ 15 s,60 ℃ 1 s,95 ℃ 30 s,1个循环。以GAPDH为内参,反应结束后计算机自动得出各个样品Septin2和GAPDH的Ct值(每个样品反应的荧光信号到达设定预值所经历的循环数),计算每个样品的ΔCt值,采用$2^{-\Delta\Delta Ct}$计算目的基因的表达水平。

表1 基因序列

基因名称	基因序列(5′-3′)
Septin2-siRNA	正义链:5′-GAAUGAGGACAUGAAUAAA-3′
	反义链:5′-UUUAUUCAUGUCCUCAUUC-3′
空载体-siRNA	正义链:5′-UUCUCCGAACGUGUCACGUTT-3′
	反义链:5′-ACGUGACACGUUCGGAGAATT-3′
Septin2基因引物	上游:5′-GCCCAGCAACAAGCAAA-GCACAT-3′
	下游:5′-CCCAACCACCCTAGTTCCTCCG-3′
GAPDH基因引物	上游:5′-GCTGAGTA -TGTCGTGGAGTCT-3′
	下游:5′-GTTCACACCCATCACAAACAT-3′

5. Western blot法检测过表达CD99及转染Septin2-siRNA对L428细胞Septin2蛋白表达的影响:收集细胞,提取总蛋白,采用BCA法测定总蛋白质浓度,每孔上样40 μg,进行SDS-PAGE电泳,转膜,5%脱脂牛奶液封闭1 h。以β-actin为内参,加入兔抗人Septin2多克隆抗体(1∶1 000)及小鼠抗人β-actin单克隆抗体(1∶1 000)Ⅰ抗孵育4 ℃过夜,PBS洗3次,每次15 min,分别加入羊抗鼠、羊抗兔Ⅱ抗(1∶5 000稀释),室温孵育1 h,化学发光液染色后进行观察。

6. 共聚焦显微镜下观察过表达CD99和转染Septin2-siRNA对L428细胞Septin2表达的影响:收集对数生长期的L428细胞,4%多聚甲醛室温固定20~30 min;0.2% Triton X-100破膜,室温孵育15 min;山羊血清封闭20 min;加入Ⅰ抗(抗Septin2抗体)4 ℃孵育过夜,次日室温孵育1 h;加入荧光鼠/兔Ⅱ抗(Tritc标记),室温孵育1 h;加入鬼笔环肽200

μl，室温避光孵育10 min；加入DAPI工作液200 μl，室温避光孵育5 min。PBS重悬细胞，共聚焦显微镜下观察。

7. 免疫细胞化学检测过表达CD99对L428细胞Septin2蛋白表达的影响：收集细胞制作蜡块，石蜡切片脱蜡，经过柠檬酸钠修复液高压抗原修复，3%H_2O_2消除内源性过氧化物酶的活性，正常山羊血清工作液封闭，Ⅰ、Ⅱ抗孵育，加入辣根酶标记的链霉卵白素，37 ℃孵育15 min，DAB显色，苏木素复染，盐酸乙醇分化，PBS洗涤，脱水后中性树胶封固，显微镜下观察。

8. CCK8法检测干扰Septin2基因表达对L428细胞增殖活性的影响：取生长状态良好的细胞计数，以每孔1×10^3个细胞接种于96孔板中，每孔100 μl。实验分组：①空白对照组：加RPMI1640培养基的L428细胞组；②干扰组：同上。每组设3个复孔，实验重复3次。分别培养7 d，每孔加入10 μl CCK8试剂，37 ℃孵育2 h，以空白对照孔（只加入10%FBS培基而无细胞）的吸光度（*A*）值调零校正，在酶标仪490 nm波长处检测各组的*A*值，每隔24 h测量1次，共测7次，绘制细胞增殖曲线。

9. 流式细胞术检测转染Septin2-siRNA对L428细胞CD抗原的表达：制备细胞悬液，分别加入荧光标记的CD单克隆抗体，采用五色直接免疫荧光标记法，以CD45/SSC双参数散点图设门，对淋巴细胞群进行设门设门，在FC 500 MPL型流式细胞仪（美国Beckman公司产品）上检测干扰组（L428-siSeptin2）和空载体组（L428- NC）细胞CD30、CD15、CD10、CD19、CD45、CD38的表达，应用FCS Express V3软件进行分析。

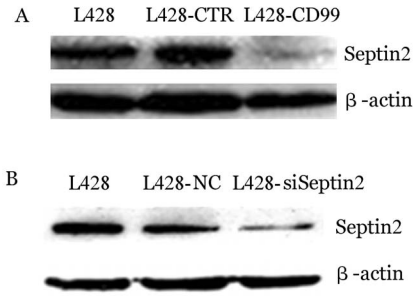
10. 统计学处理：采用SPSS19.0软件进行统计学分析，计量资料采用$\bar{x}\pm s$表示，多组间均数比较采用单因素方差分析，组间两两比较按照最小显著性差异进行，$P<0.05$为差异有统计学意义。

结　果

1. 过表达CD99及转染Septin2-siRNA对L428细胞Septin2 mRNA和蛋白表达的影响：RT-qPCR检测结果显示L428、L428-CD99、L428-siSeptin2细胞组的Septin2 mRNA水平分别为1.000、0.329±0.019、0.276±0.025，过表达CD99前后差异有统计学意义（$P=0.001$），转染Septin2-siRNA前后差异有统计学意义（$P=0.000$）。

Western blot法检测结果显示L428和L428-CTR细胞中Septin2蛋白的表达明显强于L428-CD99细胞（图1A），L428-siSeptin2细胞中Septin2蛋白的表达显著低于L428-NC组和空白对照组（图1B）。

2. 共聚焦显微镜下观察过表达CD99和转染Septin2-siRNA对L428细胞Septin2表达的影响：共聚焦显微镜下观察，示Septin2主要在L428-CTR细胞上表达，呈现红色荧光，定位于细胞质，近细胞膜的区域分布更为集中。而L428-CD99细胞仅在细胞胞膜上隐约可见红色荧光（图2）。与Western blot法检测结果类似，共聚焦显微镜下观察结果表明L428过表达CD99后Septin2表达下降。



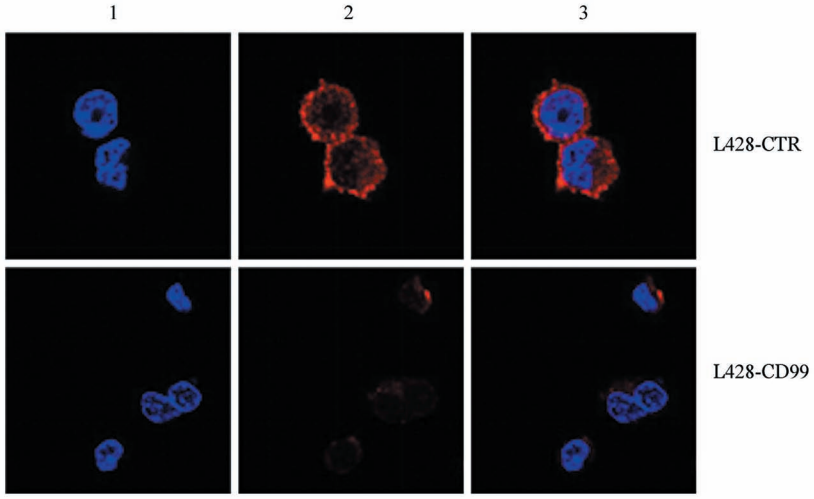
L428-CTR细胞：与CD99对应的空载L428细胞；L428-CD99细胞：过表达CD99的L428细胞；L428-NC细胞：转染空载体的L428细胞；L428-siSeptin2细胞：转染Septin2-siRNA的L428细胞

图1　Western blot法检测过表达CD99（A）及转染Septin2-siRNA（B）对L428细胞Septin2蛋白表达的影响

用荧光标记的鬼笔环肽检测干扰Septin2后对L428细胞骨架的影响。共聚焦显微镜下观察发现，在L428-NC组细胞中，肌动蛋白中的微丝蛋白（F-actin）和Septin2在细胞上定位一致，主要定位于细胞胞质，靠近细胞膜区域尤为集中，瞬时干扰L428细胞中Septin2的表达，F-actin和Septin2的表达均明显下调，同时观察到细胞表面丝状突起明显减少（图3）。

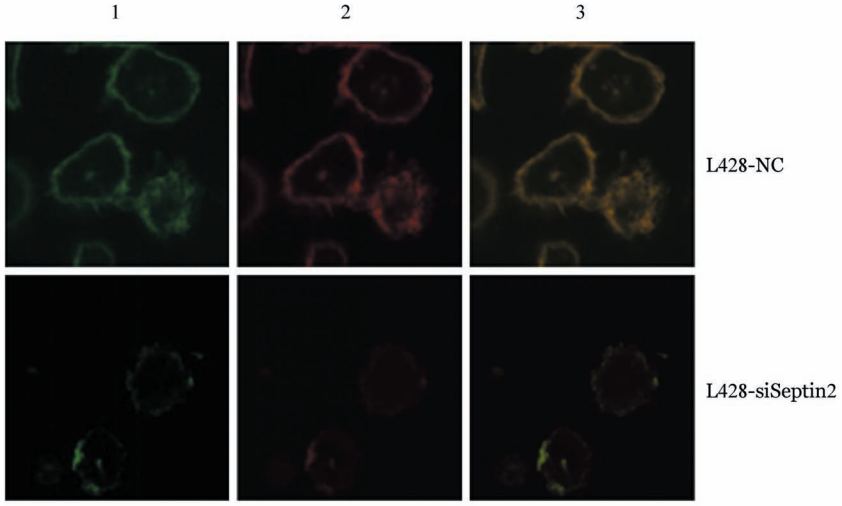
3.免疫细胞化学染色检测过表达CD99对L428细胞Septin2表达的影响：结果显示Septin2在L428-CTR细胞（图4A）中的表达高于L428-CD99细胞（图4B），主要表达于细胞胞质；Septin2在HL患者病理组织（图4C）中的表达明显高于在反应性淋巴结增生患者病理组织（图4D）中的表达水平。

4. CCK8法检测干扰Septin2基因表达对L428细胞增殖活性的影响：瞬时干扰Septin2基因后，在倒置显微镜下连续观察L428细胞形态，发现H/RS



1:Dapi衬染胞核,呈现蓝色荧光;2:Septin2定位于细胞质,呈现红色荧光;3:合并后图像

图2 共聚焦显微镜下观察与CD99对应的空载L428(L428-CTR)细胞和过表达CD99 L428(L428-CD99)细胞Septin-2蛋白的表达



1:Septin-2定位于细胞质,呈现绿色荧光;2:F-actin定位于细胞质,呈现红色荧光;3:合并后图像;L428-NC细胞:转染空载体的L428细胞;L428-siSeptin2细胞:转染Septin2-siRNA的L428细胞

图3 共聚焦显微镜下观察瞬时干扰Septin-2后L428细胞肌动蛋白中的微丝蛋白(F-actin)的表达

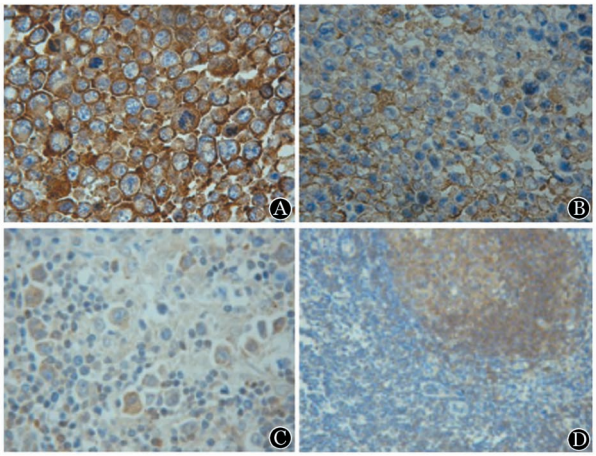
细胞周围伪足样突起现象逐渐不明显,细胞有缩小趋势(图5)。

CCK8法检测结果显示L428-NC和L428-siSeptin2组间差异有统计学意义(F=204.927,P<0.001);不同时间差异也有统计学意义(F=49.547,P<0.001);细胞组别和时间因素的交互作用显著(F=9.801,P<0.001),表明干扰Septin2基因表达对L428细胞增殖的抑制作用随时间发生变化。从第6天开始随时间的延长其增殖活性差异有统计学意义(P<0.05),与L428-NC组比较,L428-siSeptin2组细胞生长较缓慢(表2)。

5. 瞬时干扰Septin2基因表达对L428细胞免疫表型的影响:流式细胞术检测结果显示,与L428-NC组比较,L428-siSeptin2的H/RS细胞特征性抗原标志CD30、CD15所占比例略有下降,B细胞抗原标志CD19、早期浆细胞分化标志CD38和生发中心标志CD10有表达上升的趋势(表3)。

讨 论

研究表明Septin蛋白是继微管蛋白、F-actin和中间纤维蛋白之后的第4种细胞骨架成分,并在细胞内物质运输、细胞分裂、细胞周期调控与凋亡等生理过程中发挥着重要作用[7]。Septin2是其中一种GTP结合的骨架蛋白,其基因位于2号染色体上,可



A:空载L428细胞;B:过表达CD99的L428细胞;C:霍奇金淋巴瘤患者病理组织;D:反应性淋巴结增生患者病理组织

图4　免疫细胞化学染色示Septin-2的表达(×400)

表2　CCK8法检测干扰Septin2基因表达对L428细胞增殖活性的影响($\bar{x}\pm s$)

时间	L428-NC组	L428-siSeptin2组	总体	t值	P值
第1天	0.080±0.018	0.074±0.011	0.077±0.013	0.448	0.677
第2天	0.099±0.012	0.074±0.004	0.087±0.016	3.381	0.028
第3天	0.176±0.032	0.188±0.010	0.182±0.022	0.618	0.570
第4天	0.239±0.042	0.184±0.020	0.212±0.042	2.050	0.110
第5天	0.410±0.011	0.283±0.102	0.347±0.095	2.133	0.100
第6天	0.704±0.059	0.503±0.105	0.603±0.134	2.885	0.045
第7天	0.961±0.031	0.644±0.037	0.803±0.177	11.461	0.000
总体	0.381±0.319	0.278±0.212	0.330±0.273		
F值	302.086	118.432	204.927[a]	49.547[b]	9.801[c]
P值	0.000	0.000	0.000[a]	0.000[b]	0.000[c]

注:L428-NC细胞:转染空载体的L428细胞;L428-siSeptin2细胞:转染Septin2-siRNA的L428细胞;[a]组间主效应的F值和P值;[b]时间主效应的F值和P值;[c]交互效应的F值和P值。每组设3个复孔,实验重复3次

通过与其他septin蛋白形成核心复合体来发挥相应的功能[8]。细胞骨架的异常直接影响细胞的结构和功能,研究表明该蛋白在B细胞和造血细胞系细胞

表3　流式细胞术检测干扰Septin2表达对L428细胞分化相关抗原的影响(%)

组别	CD30	CD15	CD19	CD10	CD38
L428-NC组	97.68	6.34	0.19	6.99	1.87
L428-siSeptin2组	96.35	3.30	9.68	97.70	2.70

注:L428-NC细胞:转染空载体的L428细胞;L428-siSeptin2细胞:转染Septin2-siRNA的L428细胞

中呈现高表达,与骨髓肿瘤的发生有着密切的关系[9]。

在本研究中我们对课题组前期筛选出的差异蛋白Septin2进行了表达验证,证实其在L428细胞中高表达。瞬时干扰L428细胞中Septin2的表达,并通过RT-qPCR和Western blot法验证了干扰效率,CCK8法检测结果显示干扰Septin2表达后L428细胞增殖活性下降。Septin2作为保守的细胞骨架GTP结合蛋白,是纺锤体的基本构成骨架,参与细胞有丝分裂是其主要的功能。干扰L428细胞中Septin2表达,抑制细胞有丝分裂活动,从而抑制了细胞的增殖活性。最新研究发现Septin2的损耗影响线粒体的形态[10],这可能对细胞的增殖活性也造成一定的影响。

在本研究中我们发现瞬时干扰L428细胞中Septin2的表达,鬼笔环肽标记F-actin,在共聚焦显微镜下观察到Septin2和F-actin表达定位一致,主要位于细胞质,近细胞膜周围尤为集中,干扰Septin2后,Septin2和F-actin表达同时下降,且细胞周围伪足状的突起明显减少或消失,表明细胞中的微丝骨架发生了重建。Septin2在活细胞中能形成具有不同形态的动态结构,这些形态的发生依赖于肌动蛋白细胞骨架的功能状态,并且对肌动蛋白纤维压力的稳定有重要作用[11]。

我们通过流式细胞术检测发现瞬时干扰Septin2后L428细胞的部分抗原标志出现了变化,H/RS细胞特征性抗原标志CD30和CD15表达下降,B细胞抗原标志CD19表达上升,生发中心细胞

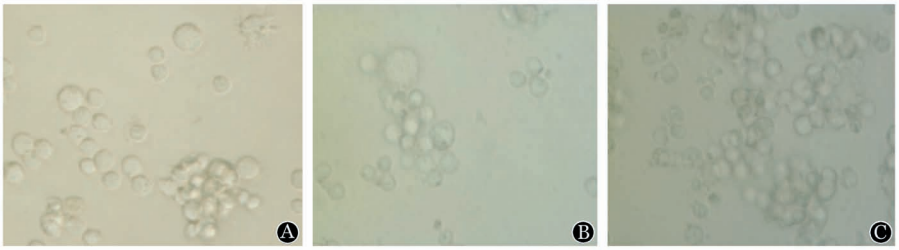


图5　倒置显微镜下观察瞬时干扰Septin2基因24(A)、48(B)、72(C)h后的L428细胞形态

抗原标志CD10和早期浆细胞抗原标志CD38表达也有上升，显示L428细胞出现了向B细胞方向分化的趋势。和本课题组前期研究得出的L428过表达CD99出现的抗原改变相比，虽然改变幅度较小，但趋势一致，表明Septin2在H/RS细胞向B细胞转化中参与了抗原分化[5]。但其中的机制还不是很清楚，需要进一步的研究证实。

Rezvani等[12]在实验中发现，将小鼠肝脏内导致肝病的细胞（即肌成纤维细胞）转化为健康的新的肝细胞，可降低小鼠肝脏损伤和改善肝脏功能。Zhou等[13]在体外成功地将成人胰腺外分泌细胞进行基因重编程后转变为分泌胰岛素的胰岛β细胞。靶向Septin2若可以将恶性度高的肿瘤细胞转变成恶性度低的肿瘤细胞或者正常细胞将为肿瘤治疗带来新的希望，即使只将机体功能提高几个百分点也有希望改善患者的预后。在精准医学、再生医学和转化医学的大背景下，我们希望通过对淋巴瘤细胞的再分化研究为将来肿瘤的治疗提供一种新思路和新方法，如果Septin2可以成为临床治疗HL或其他肿瘤的一个靶点，将为患者带来福音。

参考文献

[1] 周佳丽, 吴修进, 代阳, 等. 135例初治霍奇金淋巴瘤患者临床分析[J]. 中华血液学杂志, 2014, 35(4): 304-308. doi: 10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2014.04.012.

[2] Küppers R. Molecular biology of Hodgkin's lymphoma[J]. Adv Cancer Res, 2002, 84: 277-312.

[3] Kanzler H, Küppers R, Hansmann ML, et al. Hodgkin and Reed-Sternberg cells in Hodgkin's disease represent the outgrowth of a dominant tumor clone derived from (crippled) germinal center B cells[J]. J Exp Med, 1996, 184(4): 1495-1505.

[4] Taylor CR, Riley CR. Molecular morphology of Hodgkin lymphoma[J]. Appl Immunohistochem Mol Morphol, 2001, 9(3): 187-202.

[5] 周新华, 黄学平, 黄作平, 等. CD99调控经典霍奇金淋巴瘤细胞株L428向B细胞方向分化[J]. 南方医科大学学报, 2013, 33(2): 235-238. doi: 10.3969/j.issn.1673-4254.2013.02.16.

[6] Bowen JR, Hwang D, Bai X, et al. Septin GTPases spatially guide microtubule organization and plus end dynamics in polarizing epithelia[J]. J Cell Biol, 2011, 194(2): 187-197. doi: 10.1083/jcb.201102076.

[7] Mostowy S, Cossart P. Septins: the fourth component of the cytoskeleton[J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2012, 13(3): 183-194. doi: 10.1038/nrm3284.

[8] Weirich CS, Erzberger JP, Barral Y. The septin family of GTPases: architecture and dynamics[J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2008, 9(6): 478-489. doi: 10.1038/nrm2407.

[9] Cerveira N, Santos J, Bizarro S, et al. Both SEPT2 and MLL are down-regulated in MLL-SEPT2 therapy-related myeloid neoplasia[J]. BMC Cancer, 2009, 9: 147. doi: 10.1186/1471-2407-9-147.

[10] Pagliuso A, Tham TN, Stevens JK, et al. A role for septin 2 in Drp1-mediated mitochondrial fission[J]. EMBO Rep, 2016, 17(6): 858-873. doi: 10.15252/embr.201541612.

[11] Schmidt K, Nichols BJ. Functional interdependence between septin and actin cytoskeleton[J]. BMC Cell Biol, 2004, 5(1): 43. doi: 10.1186/1471-2121-5-43.

[12] Rezvani M, Español-Suñer R, Malato Y, et al. In Vivo Hepatic Reprogramming of Myofibroblasts with AAV Vectors as a Therapeutic Strategy for Liver Fibrosis[J]. Cell Stem Cell, 2016, 18(6): 809-816. doi: 10.1016/j.stem.2016.05.005.

[13] Zhou Q, Brown J, Kanarek A, et al. In vivo reprogramming of adult pancreatic exocrine cells to beta-cells[J]. Nature, 2008, 455(7213): 627-632. doi: 10.1038/nature07314.

（收稿日期：2016-07-19）
（本文编辑：刘志红）

·读者·作者·编者·

关于重视引用国内文献的意见

部分作者在撰写论文时，只引用国外文献（或非中文语种的文献）。诚然，在医学的许多领域，国内的研究水平确实有待提高，有引用国外文献的必要。但是，不引用国内相关文献，将存在以下问题：①作者没有阅读国内文献，这样作者阅读的文献就不全面，作者所撰写的论文、综述等的科学性、先进性就值得商榷。②不引用国内文献，就不能准确、全面地反映国内的研究水平和进展，毕竟本刊发表的文章主要的阅读对象是中国医师。③有的作者虽然阅读了国内文献，但未引用。不引用国内文献的想法可能更为复杂，如轻视或忽略国内同行，或暗示首创权。除非是专门的国外医学文摘或国外文献综述，均应有国内文献的复习、引用和注解。本刊倡导在论文的撰写中应维护参考文献的科学性，鼓励作者在引用国外文献的同时检索并引用国内相关的文献。

本刊编辑部