

# Rap1GAP基因表达上调对HL-60细胞体内及体外侵袭能力的影响

邱婷婷 李德鹏 李振宇 徐开林 祁小飞 岑建农 陈子兴

**【摘要】** 目的 探讨上调Rap1GAP基因表达对白血病细胞株HL-60细胞体外侵袭能力的影响,并构建白血病动物模型验证体外实验的结果。方法 采用实时定量PCR及Western blot法检测已构建的Venus/HL-60细胞(空载体对照组)及Rap1GAP过表达单克隆细胞株Rap1GAP/HL-60(R1、R2)细胞的Rap1GAP表达水平,Transwell方法检测空载体对照组、R1、R2细胞的体外侵袭能力,实时定量PCR检测各组细胞MMP-9 mRNA表达,并通过明胶酶谱法检测MMP-2及MMP-9活性;将4周龄BALB/c裸鼠进行预处理后接种白血病细胞,观察各组裸鼠生存时间及白血病细胞在其脏器中的浸润情况。结果 R1、R2细胞的Rap1GAP表达水平分别为空载体对照组的16.2、17.3倍,侵袭率分别为(55±5)%、(59±4)%,显著高于空载体对照组的(14±4)%( $P$ 值均 $<0.001$ )。R1和R2细胞的MMP-9 mRNA表达水平增加,约为空载体对照组的12.0倍。动物模型实验结果显示接种R1细胞裸鼠(R1组)生存时间为(32.00±1.85)d,R2组为(33.37±2.50)d,空载体对照组为(43.62±2.32)d,R1组和R2组裸鼠生存时间较空载体对照组缩短( $P<0.05$ )。R1组和R2组共有3只裸鼠出现脑膜组织浸润,脑膜组织扩增出Rap1GAP和MMP-9基因,空载体对照组裸鼠各脏器白血病细胞浸润不明显。结论 Rap1GAP增强HL-60细胞侵袭能力,同时伴随MMP-9 mRNA表达水平升高,裸鼠体内实验亦证实Rap1GAP提高了HL-60细胞体内侵袭力。

**【关键词】** HL-60细胞; 基因,Rap1GAP; 白血病浸润; 基质金属蛋白酶类

**The effect of up-regulated expression of Rap1GAP on the invasion ability of HL-60 cells in vitro and in vivo** Qiu Tingting\*, Li Depeng, Li Zhenyu, Xu Kailin, Qi Xiaofei, Cen Jiannong, Chen Zixing\*. *Jiangsu Institute of Hematology, 1st Affiliated Hospital, Soochow University, Suzhou 215006, China*  
Corresponding author: Chen Zixing, Email: szchenzx@263.net

**【Abstract】 Objective** To investigate the effect of up-regulation of Rap1GAP on the invasion ability of leukemic HL-60 cells in vitro, and to establish leukemia mouse model to verify the effects in vivo. **Methods** Quantitative RT-PCR and Western blot methods were used to detect the expression of Rap1GAP in Venus/HL-60 (vehicle control) and Rap1GAP/HL-60 cells (R1 and R2). Transwell method was used to examine the invasion ability in vitro. Quantitative RT-PCR and gelatin zymograph were used to study the expression of MMP-2 and MMP-9. Four-week-old BALB/c nu/nu mice were pre-treated and inoculated with leukemic cells from different groups, several index including survival time were then monitored. **Results** Rap1GAP mRNA level of R1 and R2 increased about 16–17 folds as compared to the control cells. The invasion rate of R1 and R2 are (55±5)% and (59±4)%, which are significantly higher than (14±4)% of the control cells. The mRNA level of MMP-9 was up-regulated about 12.0 folds in R1 and R2 cells compared to the corresponding control cells. The median survival times of R1 and R2 mice are (32.00±1.85) d and (33.37±2.50) d, respectively, which are shorter than (43.62±2.32) d of the control group. Three mice of R1 and R2 groups showed leukemic cells infiltration in meninges tissue, and the genes of Rap1GAP and MMP-9 were amplified by PCR method. **Conclusion** Up-regulated expression of

DOI: 10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2015.07.009

基金项目:国家重点基础研究发展计划(973)(2011CB933501);国家自然科学基金面上项目(81070402,81170468);江苏省高校重点学科建设项目;江苏省科教兴卫工程-临床医学中心(ZX201102);江苏省科技厅生命健康专项(BL2012005)

作者单位:215006 苏州大学附属第一医院、江苏省血液研究所[邱婷婷(现在徐州医学院附属医院血液科 221002)、祁小飞、岑建农、陈子兴];徐州医学院附属医院血液科(李德鹏、李振宇、徐开林)

通信作者:陈子兴, Email:szchenzx@263.net

Rap1GAP increased the invasion ability of HL-60 cells accompanied with enhancement of MMP-9 expression in vitro, and the experiment in mouse model also confirmed that Rap1GAP enhanced the invasion of HL-60 cells in vivo.

**【Key words】** HL-60 cells; Gene, Rap1GAP; Leukemic infiltration; Matrix metalloproteinases

Rap1GAP 属于 GTP 酶激活蛋白 (GTPase-activating proteins, GAP) 家族, 使 Rap1 由结合 GTP 的活性状态转化为结合 GDP 的非活性状态, 进而调节下游信号通路的活化。许多研究表明 Rap1GAP 能够影响肿瘤细胞的增殖、分化、凋亡及侵袭, 可能参与恶性肿瘤的发生、发展<sup>[1-3]</sup>。Rap1GAP 对不同的肿瘤细胞转移侵袭能力的影响存在不同的报道。有研究报道 Rap1GAP 抑制黑色素瘤细胞、胰腺癌细胞体外跨膜能力; 而在鳞状细胞癌的研究中却发现 Rap1GAP 可促进鳞状细胞癌的侵袭能力, 和鳞状细胞癌患者的预后密切相关; 另外还有报道 Rap1GAP 并不影响卵巢癌细胞穿过基质胶的能力。在本实验中, 我们拟通过体外及体内实验研究上调 Rap1GAP 表达对白血病细胞株 HL-60 细胞侵袭能力的影响, 进而探讨 Rap1GAP 在白血病发病过程中的作用。

## 材料和方法

1. 细胞株及试剂: 空载体转染的 Venus/HL-60 细胞(空载体对照组)、Rap1GAP 过表达单克隆细胞株 Rap1GAP/HL-60 (R1、R2) 细胞分别用含 10% 胎牛血清(FBS)的 IMDM 培养基于 37 °C、5% CO<sub>2</sub>、饱和湿度的培养箱中培养。Matrigel 及 Transwell 小室为美国 BD Biosciences 公司产品。Taq 酶、M-MLV 逆转录酶均购自美国 IBM 公司。抗 Rap1GAP 兔抗人单克隆抗体购自美国 Santa Cruz 公司。4 周龄 BALB/c 雄性裸鼠购自上海斯莱克实验动物有限责任公司[合格证号: SCXK(沪) 2007-0005]。

2. 引物: Rap1GAP、MMP-9 及内对照 β-actin 基因引物由上海生工生物工程技术有限公司合成, 并经聚丙烯酰胺凝胶电泳 (PAGE) 纯化。Rap1GAP 正义链 5'-CAGAGGAGGACTACATTC-CATACCCG-3', 反义链 5'-CCAACCTTGCCATCTGGACAACATTA-3', 产物大小为 411 bp。β-actin 正义链 5'-AGGCCGGCTTCGCGGGCGAC-3', 反义链 5'-CTCGGGAGCCACACGCAGCTC-3', 产物大小为 245 bp。MMP-9 正义链 5'-GCTGGGCTTAGAT-CATTCCTCA-3', 反义链 5'-AGGGCGAGGAC-CATAGAGGT-3', 探针序列 5'-CCCGGCCTTCT-

GTTTCCTGATAAACCC-3'。

3. 采用实时定量 PCR 检测 Rap1GAP 及 MMP-9 mRNA 表达水平: TRIzol 一步法提取总 RNA, 逆转 mRNA 为 cDNA, 采用美国 MJ Research 公司 OpticonTM2 荧光定量 PCR 仪检测。25 μl 的反应体系包括 cDNA 3 μl、10 μmol/L 引物各 0.5 μl、探针 0.3 μl、TaqMan 通用 PCR Mastermix 12.5 μl 及灭菌水 8.2 μl。反应条件为 95 °C 10 min, 95 °C 20 s、56 °C 30 s、72 °C 40 s, 40 个循环。以 β-actin 基因作为内参照, 结果以 2<sup>-ΔCT</sup> 表示。实验重复 3 次。

4. Western blot 法检测 Rap1GAP 蛋白表达水平: 收集空载体转染细胞、Rap1GAP 过表达单克隆细胞 (R1、R2 细胞) 1×10<sup>7</sup> 个, 加入细胞裂解液 (PBS 中含 10 g/L NP40、5 g/L 脱氧胆酸钠、1 g/L SDS、1 mg/L 抑肽酶、100 mg/L 苯甲基磺酰氟、0.5 mg/L 亮抑肽酶), 提取细胞总蛋白, 加入上样缓冲液煮沸后, 进行 Western blot 检测, 兔抗人 Rap1GAP 单克隆抗体浓度为 1:1500。

5. Transwell 实验: 用 IMDM 培养液将 Matrigel 按 1:10 稀释, 取 60 μl 加入 8 μm 孔径的 Transwell 小室, 37 °C 无菌条件下过夜风干成胶。将小室放入 24 孔板中, 每孔下室加入 0.5 ml 含 10% FBS 的 IMDM 培养液。空载体对照组细胞、Rap1GAP 过表达单克隆细胞 (R1、R2 细胞) 分别以终密度 2×10<sup>5</sup>/孔重悬于 0.2 ml 含 10% FBS 的 IMDM 培养液后加入上室, 小室系统放入培养箱中培养 24 h 后, 计数跨 Matrigel 移行到下层培养基中的细胞总数。细胞侵袭率 (%) = 下室的白血病细胞数/上层白血病细胞接种数×100%。实验重复 3 次。

6. 明胶酶谱法检测 MMP-2、MMP-9 活性: 将空载体对照组细胞及 R1、R2 细胞分别以每孔 2.0×10<sup>5</sup> 个 (重悬于无血清的 IMDM 培养液 0.1 ml) 接种于 96 孔板中, 培养 24 h 后收获上清。将上清液移入离心管中 2 000 r/min 离心 10 min (离心机半径 5 cm), 根据细胞计数调整细胞培养上清液中的蛋白浓度, 与 6×上样缓冲液混合。配制 100 g/L 分离胶和 50 g/L 浓缩胶, 每孔 15 μl 上样, 进行 SDS-PAGE, 将凝胶置于洗脱液中振荡洗脱 3 次, 每次 20 min, 后置于孵育液中 37 °C 孵育过夜, 放入染色液中摇胶 1 h, 摇床脱

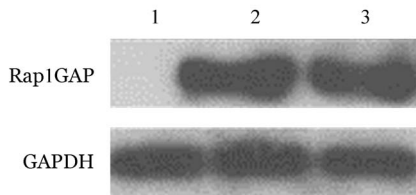
色1 h,明胶酶活性可通过在蓝色背景下溶解空白带显示,在凝胶成像仪上拍摄成灰色背景的白色条带。

7. BALB/c 裸鼠白血病模型的构建:将4周龄雄性裸鼠于无菌条件下进行脾切除术,术后予青霉素腹腔注射,每只0.8万U/d,第7天给予环磷酰胺腹腔注射,每只2.0 mg/d,连续3 d后接受全身亚致死剂量照射(立式体位,照射源为<sup>60</sup>Co γ射线,总剂量4.0 Gy,剂量率为2.0 Gy/min)。将照射后的BALB/c裸鼠随机分为5组:空白对照组(5只,每只裸鼠由尾静脉注射0.2 ml注射IMDM液),未转染组、空载体对照组、R1组、R2组(各8只,在4 h内每只裸鼠由尾静脉注射0.2 ml含1.2×10<sup>7</sup>个不同细胞的IMDM液)。在层流柜中无菌饲养观察至接种后60 d。每天观察裸鼠的进食以及精神情况,记录每只小鼠的存活时间;在受鼠濒死时或60 d处死时获取胃、肝脏、肺、肾脏、脑、小肠标本进行病理学检查,RT-PCR检测裸鼠各脏器中白血病细胞Rap1GAP和MMP-9 mRNA表达水平。

8. 统计学处理:采用SPSS15.0软件进行统计学分析,两组间比较采用独立样本的t检验。P<0.05为差异有统计学意义。

### 结 果

1. 外源性Rap1GAP在HL-60细胞中的表达:实时定量RT-PCR检测显示,Rap1GAP/HL-60单克隆细胞株R1和R2细胞的Rap1GAP mRNA表达水平为空载体对照组的16.2、17.3倍,同时两者的Rap1GAP蛋白表达水平也较空载体对照组增高(图1)。

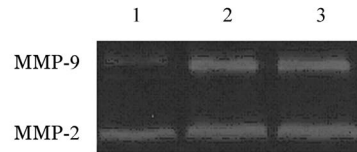


1: Venus/HL-60细胞(空载体对照组);2、3分别为Rap1GAP过表达单克隆细胞株R1、R2细胞

图1 Western blot法检测外源性Rap1GAP在HL-60细胞中的表达

2. 上调Rap1GAP表达对HL-60细胞体外侵袭能力的影响:体外迁移实验检测显示,Rap1GAP高表达单克隆细胞株R1和R2细胞的侵袭率分别为

(55±5)%、(59±4)%、和空载体对照组[(14±4)%]比较,差异均有统计学意义(P值均<0.001)。明胶酶谱法检测金属基质蛋白酶MMP-2和MMP-9的分泌,R1和R2细胞较空载体对照组细胞分泌更多的MMP-9,而MMP-2在两者之间差异不明显(图2)。实时定量RT-PCR结果显示R1和R2细胞MMP-9 mRNA表达水平增加,约为空载体对照组细胞的12.0倍。



1: Venus/HL-60细胞(空载体对照组);2、3分别为Rap1GAP过表达单克隆细胞株R1、R2细胞

图2 明胶酶谱法检测Rap1GAP过表达对HL-60细胞MMP-9和MMP-2分泌的影响

3. R1和R2组裸鼠生存情况:空白对照组裸鼠注射培养液后1~2周进食减少,体重下降,消瘦,2周后逐渐恢复进食,一般状态良好,60 d内无死亡。未转染组、空载体对照组裸鼠经尾静脉接种细胞后,同样出现1~2周后进食减少,体重下降,消瘦,2周后渐渐恢复,但6周左右再次出现萎靡少动、进食减少、消瘦,逐渐衰竭死亡。未转染组存活时间为(44.25±2.12)d,空载体对照组存活时间为(43.62±2.32)d,两组差异无统计学意义(P>0.05)。R1和R2组裸鼠发病时间提前,接种细胞后4周左右即再次出现萎靡少动、消瘦,逐渐衰竭死亡,部分裸鼠出现双下肢瘫痪。R1组存活时间为(32.00±1.85)d,R2组为(33.37±2.50)d。R1和R2组裸鼠存活时间较未转染组、空载体对照组缩短(P<0.05)。

4. R1和R2组裸鼠中枢神经系统侵犯情况:空白对照组裸鼠60 d时颈椎脱臼处死后留取的各脏器组织无异常病理改变。R1和R2组裸鼠大体解剖未见胸腹腔、躯体、脏器等部门有明显肿块生长,但其中3只裸鼠出现中枢神经系统浸润,表现为双下肢瘫痪(图3),脑膜和部分脑组织出现明显白血病细胞浸润(图4),而其他脏器浸润不明显。未转染组和空载体对照组裸鼠未见胸腹腔、躯体等部门有明显肿块生长,胃、肝脏、肺、肾等脏器和组织白血病细胞浸润病理学改变不明显。R1和R2组瘫痪裸鼠脑膜组织中均检测到Rap1GAP和MMP-9基因表达,其他脏器未扩增出Rap1GAP和MMP-9基因。未转染组和空载体对照组各脏器组织均未扩增出

Rap1GAP和MMP-9基因(图5)。



图3 白血病细胞浸润裸鼠临床表现  
A: 接种 Rap1GAP/HL-60 细胞组裸鼠发病时消瘦, 脊背隆起, 部分小鼠颅顶隆起(箭头所示); B: 接种 Rap1GAP/HL-60 细胞组中部分裸鼠出现双下肢瘫痪(箭头所示)

图3 白血病细胞浸润裸鼠临床表现

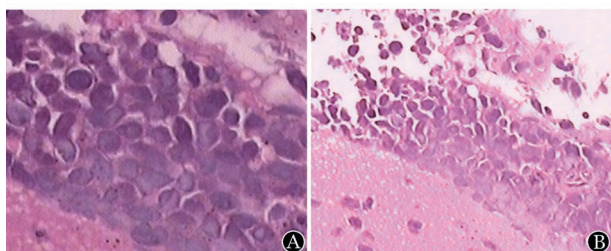


图4 裸鼠软脑膜及脑实质的白血病细胞浸润(HE染色, A:  $\times 400$ ; B:  $\times 100$ )

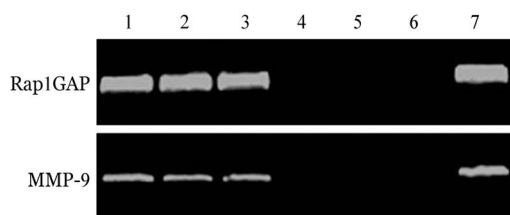


图5 RT-PCR扩增不同裸鼠组织中Rap1GAP及MMP-9基因  
1~3分别为接种 Rap1GAP/HL-60 细胞组中发生白血病细胞脑膜浸润裸鼠脑膜组织; 4~6分别为空载体对照组裸鼠脑、肝、肠组织; 7: Rap1GAP/HL-60 细胞

图5 RT-PCR扩增不同裸鼠组织中Rap1GAP及MMP-9基因

## 讨 论

Rap1 是属于 Ras 家族的一种小 G 蛋白, 许多研究表明 Rap1 是拮抗还是协同 Ras 的作用可能取决于细胞种类。Rap1GAP 是 Rap1 上游负性调节分子, 最近许多文献报道 Rap1GAP 和肿瘤的发生、发展有关, 能够影响肿瘤细胞的侵袭能力, 既往的研究得出一些不同的结果<sup>[4]</sup>。在本研究中我们拟通过体内及体外试验研究 Rap1GAP 对白血病细胞株 HL-60 细胞侵袭能力的影响。

肿瘤细胞的侵袭和转移是一复杂过程, 涉及到肿瘤细胞黏附、细胞外基质降解和细胞运动。Zheng 等<sup>[3]</sup>报道 Rap1GAP 通过抑制 integrins 依赖的黏着斑形成和丝状肌动蛋白聚合来抑制黑色素瘤细胞侵袭。而 Mitra 等<sup>[5]</sup>发现 Rap1GAP 促进鳞状细

胞癌的侵袭, 侵袭能力的增强与 MMP-9 表达和分泌增加相关, 另外高水平 Rap1GAP 和鳞状细胞癌预后相关, 提示预后不良。基质金属蛋白酶尤其是 MMP-9 和 MMP-2 在降解细胞外基质中起到非常重要的作用<sup>[6-7]</sup>。在本研究中, 我们发现 Rap1GAP 增加 HL-60 细胞体外迁移能力, 我们进而通过明胶酶法检测到 Rap1GAP 高表达细胞株表现出高水平的 MMP-9 酶活性, 而 MMP-2 酶活性变化不明显。我们又通过实时定量 RT-PCR 方法证实 MMP-9 酶活性的增加是由于 MMP-9 mRNA 表达水平的增加所致。

动物模型是研究肿瘤侵袭力的良好工具。本试验中我们对 4 周龄 BALB/c 裸鼠进行预处理, 随机分组, 通过尾静脉分别注射  $1.2 \times 10^7$  个白血病细胞, 观察各组裸鼠生存状况和白血病浸润情况。我们发现 R1 和 R2 组裸鼠发病较未转染组和空载体对照组提前, 生存期显著缩短。R1 和 R2 组共有 3 只裸鼠出现中枢神经系统浸润, 表现为双下肢瘫痪, 颅顶隆起, 但裸鼠外周器官浸润并不明显。而未转染组和空载体对照组裸鼠发病时只表现为消瘦、脊背拱起、逐渐衰竭死亡, 各器官、组织浸润现象均不明显。R1 和 R2 组部分裸鼠出现中枢神经系统浸润而外周脏器浸润不明显的原因尚不清楚, Rap1GAP 影响白血病细胞侵袭能力的具体机制有待进一步研究。

肿瘤细胞的侵袭转移包括肿瘤细胞通过表面受体和细胞外基质发生黏附, 随后肿瘤细胞分泌蛋白水解酶降解周围细胞外基质, 进而肿瘤细胞在趋化因子诱导下定向运动, 上述步骤密切配合、不断重复, 使肿瘤细胞发生远处转移。Rap1GAP 可以通过 Rap1-integrin 影响肿瘤细胞的黏附和运动。Rap1 影响细胞黏附能力的作用是双向的, 基础的 Rap1 活性对于细胞间的紧密连接非常重要, 抑制肿瘤的转移, 而外源性表达 SPA-1 减弱 Rap1 活性致使细胞脱离细胞外基质<sup>[8-9]</sup>, 利于肿瘤细胞的转移, 因此 Rap1GAP 对肿瘤细胞侵袭力的影响也是双向复杂的。肿瘤细胞降解细胞外基质的蛋白水解酶中基质金属蛋白酶类和肿瘤侵袭转移能力密切相关<sup>[10]</sup>, 本试验结果显示 Rap1GAP 可提高 HL-60 细胞侵袭能力, 同时伴随 MMP-9 mRNA 表达水平增高, 裸鼠体内试验亦证实 Rap1GAP 提高了 HL-60 细胞体内侵袭力, 但是目前并不能确定 Rap1GAP 是否通过促进 MMP-9 表达而增加了 HL-60 细胞的侵袭力; 另外 Rap1GAP 促进 MMP-9 表达的意义也不清楚, 如是

否涉及造血细胞向髓外释放,是否和急性白血病患者预后相关等;因此Rap1GAP对急性白血病细胞的功能及作用还需要进一步研究。

综上所述,我们通过体内及体外实验证实上调Rap1GAP表达可增强HL-60细胞的侵袭能力,动物模型显示裸鼠发病时间提前,生存期缩短,甚至出现中枢神经系统浸润。Rap1GAP能够通过Rap1-integrin影响肿瘤细胞的黏附和迁移,Rap1GAP也可能通过基质金属蛋白酶类影响肿瘤细胞对细胞外基质的降解,我们认为Rap1GAP对肿瘤细胞的作用是细胞种类特异性的,具体的机制值得进一步研究。

参考文献

[1] Zhang L, Chenwei L, Mahmood R, et al. Identification of a putative tumor suppressor gene Rap1GAP in pancreatic cancer [J]. *Cancer Res*, 2006, 66(2): 898-906.

[2] Nellore A, Paziana K, Ma C, et al. Loss of Rap1GAP in papillary thyroid cancer [J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2009, 94(3): 1026-1032.

[3] Zheng H, Gao L, Feng Y, et al. Down-regulation of Rap1GAP via promoter hypermethylation promotes melanoma cell proliferation, survival, and migration [J]. *Cancer Res*, 2009, 69(2):449-457.

[4] Ho SM, Lau KM, Mok SC, et al. Profiling follicle stimulating

hormone-induced gene expression changes in normal and malignant human ovarian surface epithelial cells [J]. *Oncogene*, 2003, 22(27):4243-4256.

[5] Mitra RS, Goto M, Lee JS, et al. Rap1GAP promotes invasion via induction of matrix metalloproteinase 9 secretion, which is associated with poor survival in low N-stage squamous cell carcinoma [J]. *Cancer Res*, 2008, 68(10): 3959-3969.

[6] Kondratiev S, Gnepp DR, Yakirevich E, et al. Expression and prognostic role of MMP2, MMP9, MMP13, and MMP14 matrix metalloproteinases in sinonasal and oral malignant melanomas [J]. *Hum Pathol*, 2008, 39(3):337-343.

[7] Damodharan U, Ganesan R, Radhakrishnan UC. Expression of MMP2 and MMP9 (gelatinases A and B) in human colon cancer cells [J]. *Appl Biochem Biotechnol*, 2011, 165(5/6): 1245-1252.

[8] Balzac F, Avolio M, Degani S, et al. E-cadherin endocytosis regulates the activity of Rap1: a traffic light GTPase at the crossroads between cadherin and integrin function [J]. *J Cell Sci*, 2005, 118(Pt20):4765-4783.

[9] Hogan C, Serpente N, Cogran P, et al. Rap1 regulates the formation of E-cadherin-based cell-cell contacts [J]. *Mol Cell Biol*, 2004, 24(15):6690-6700.

[10] Kerkela E, Saarialho-Kere U. Matrix metalloproteinases in tumor progression: focus on basal and squamous cell skin cancer [J]. *Exp Dermatol*, 2003, 12(2):109-125.

(收稿日期:2014-12-01)

(本文编辑:王叶青)

中华医学会第十五次全国红细胞疾病(贫血)学术会议征文通知

由中华医学会、中华医学会血液学分会主办,华中科技大学同济医学院附属同济医院协办的“中华医学会第十五次全国红细胞疾病(贫血)学术会议”定于2015年10月23日至25日在湖北省武汉市召开。

会议将举办国家继续教育学习班,讨论本学科前沿问题,重点突出国内外近年来在红细胞疾病领域中临床和科研方面的工作。届时将邀请国内外著名血液病专家进行专题报告,并通过论文交流、病例讨论等形式进行学术讨论。

征文内容:①全血细胞减少症、造血功能衰竭症的鉴别诊断;②再生障碍性贫血的发病机制、病理生理及治疗;③骨髓增生异常综合征的病理本质、诊断及治疗;④阵发性睡眠性血红蛋白尿症的诊断及治疗;⑤自身免疫性溶血性贫血/Evans综合征、免疫相关性血细胞减少症的诊治;⑥难治性血细胞减少症的治疗;⑦遗传性红细胞疾病的诊断与治疗;⑧造血干细胞移植治疗重型再生障碍性贫血、骨髓增生异常综合征及地中海贫血等;⑨铁代谢及铁过载的病理生理机制及治疗;⑩其他疾病相关的血细胞减少症的诊断与治疗。

征文要求:①未在国内公开刊物上发表的论文(不接受综述性文章);②1000字以内中文摘要1份。编排顺序:题目,单位,邮编,姓名,摘要(包括目的、方法、结果和结论)。截稿日期:2015年8月31日。投稿地址:www.cmacsh.org。联系人:孙汉英(13807165617),李杨(13871238946),黄丽芳(15307158733)。

中华医学会学术会务部  
中华医学会血液学分会