

# 热休克转录因子 1 蛋白在人肝细胞癌组织中的表达及临床意义

卢鹏 李霄 窦科峰 党政 胡延忠 马远方 宋振顺

**【摘要】** 目的 探讨热休克转录因子 1 (HSF1) 蛋白在人肝细胞癌组织中的表达及临床意义,并推测 HSF1 在肝细胞癌发生、发展中的可能分子机制。方法 收集 2006 年 3 月至 2007 年 3 月第四军医大学西京医院 67 例行手术切除的肝细胞癌组织,以及 21 例因肝血管瘤行手术切除的部分正常肝脏组织,采用免疫组织化学法检测肝细胞癌及正常肝脏组织中 HSF1 蛋白及热休克蛋白 70 (HSP70) 的表达,分析 HSF1 蛋白与患者临床病理特征及预后之间的关系,并根据 HSF1 蛋白与 HSP70 表达情况的相关性分析推测 HSF1 在肝细胞癌发生、发展中的可能分子机制。不同组织中 HSF1 蛋白阳性率的分析以及肝细胞癌中 HSF1 蛋白阳性表达率与各临床病理资料的关系采用  $\chi^2$  检验及 Fisher 确切概率法,HSF1 蛋白与 HSP70 在肝细胞癌中表达的相关性采用 Spearman 相关性分析。采用 Kaplan-Meier 法绘制生存曲线,生存情况比较采用 Log-rank 检验。结果 HSF1 蛋白在肝细胞癌组织中的阳性率为 69% (46/67),在正常肝脏组织中的阳性率为 29% (6/21),两者比较,差异有统计学意义 ( $\chi^2 = 10.628, P < 0.05$ )。HSP70 在肝细胞癌组织中的阳性率为 57% (38/67),在正常肝脏组织中的阳性率为 24% (5/21),两者比较,差异有统计学意义 ( $\chi^2 = 6.929, P < 0.05$ )。HSF1 蛋白与 HSP70 在肝细胞癌组织中的表达呈正相关 ( $r = 0.319, P < 0.05$ )。HSF1 蛋白的高表达与肝细胞癌的包膜完整与否、分化程度以及 TNM 分期有关 ( $\chi^2 = 5.935, 9.762, 5.159, 11.267, P < 0.05$ ); 而与患者性别、年龄、HBsAg 水平、AFP 水平以及是否存在门静脉癌栓无关 ( $\chi^2 = 0.822, 0.172, 2.059, P > 0.05$ )。HSF1 蛋白阳性和阴性表达者的生存时间分别为 (21.4 ± 1.9) 个月和 (29.8 ± 2.7) 个月,两者生存率比较,差异有统计学意义 ( $\chi^2 = 4.276, P < 0.05$ )。结论 HSF1 与肝细胞癌的发生、发展、侵袭转移以及不良预后相关,其可能通过调控 HSP70 的表达而发挥作用,在肝细胞癌的诊断和治疗中有良好应用前景。

**【关键词】** 肝肿瘤; 热休克转录因子 1; 热休克蛋白 70; 免疫组织化学

**Expression and clinical significance of heat shock transcription factor 1 protein in human hepatocellular carcinoma tissues** LU Peng\*, LI Xiao, DOU Ke-feng, DANG Zheng, HU Yan-zhong, MA Yuan-fang, SONG Zhen-shun. \* Department of Hepatobiliary and Pancreatospenic Surgery, Xijing Hospital, Fourth Military Medical University, Xi'an 710032, China

Corresponding author: SONG Zhen-shun, Department of Hepatopancreatobiliary Surgery, No. 10 People's Hospital, Tongji University, Shanghai 200072, China, Email: songzs@fmmu.edu.cn

**【Abstract】 Objective** To investigate the expression and clinical significance of heat shock transcription factor 1 (HSF1) protein in human hepatocellular carcinoma (HCC) tissues, and deduce the probable molecular mechanism of HSF1 in the development and advancement of HCC. **Methods** Sixty-seven samples of HCC tissue and 21 samples of normal liver tissue were obtained from March 2006 to March 2007 at the Xijing Hospital. The expressions of HSF1 protein and heat shock protein 70 (HSP70) were detected by using immunohistochemistry. The probable molecular mechanism of HSF1 in the development and advancement of HCC was deduced according to the relationship between the expressions of HSF1 protein and HSP70. Positive rates of HSF1 protein in different tissues and the relationship between HSF1 protein expression in the HCC tissues and clinical pathological factors were analyzed by the chi-square test and by calculating Fisher exact probability, respectively. The correlation between the expressions of HSF1 protein and HSP70 in the HCC tissue was analyzed by the Spearman correlation coefficient. The survival curve was drawn by the Kaplan-Meier method, and the survival rate was analyzed by the Log-rank test. **Results** The positive rates of HSF1 protein expression was 69% (46/67) in the HCC tissue, which was significantly higher than 29% (6/21) in the normal liver tissue ( $\chi^2 = 10.628, P < 0.05$ ). The positive rates

DOI: 10.3760/cma.j.issn.1673-9752.2012.03.023

基金项目: 国家自然科学基金(30971508)

作者单位: 710032 西安,第四军医大学附属西京医院肝胆胰脾外科(卢鹏、李霄、窦科峰、党政); 475001 开封,河南大学医学院免疫学教研室(胡延忠、马远方); 200072 上海,同济大学附属上海市第十人民医院肝胆胰外科(宋振顺)

通信作者: 宋振顺, Email: songzs@fmmu.edu.cn

of HSP70 expression in the HCC tissue was 57% (38/67), which was significantly higher than 24% (5/21) in the normal liver tissue ( $\chi^2 = 6.929$ ,  $P < 0.05$ ). The expression of HSF1 protein in the HCC tissue was positively correlated with that of HSP70 ( $r = 0.319$ ,  $P < 0.05$ ). The high expression of HSF1 protein was correlated with the integrity of capsule of HCC, tumor differentiation and TNM stage ( $\chi^2 = 5.935, 9.762, 5.159, 11.267$ ,  $P < 0.05$ ), while the high expression of HSF1 protein was not correlated with the gender, age, levels of hepatitis B surface antigen and alpha fetoprotein, and portal vein tumor thrombus ( $\chi^2 = 0.822, 0.172, 2.059$ ,  $P > 0.05$ ). The survival time was (21.4 ± 1.9) months for patients with positive HSF1 protein expression and (29.8 ± 2.7) months for patients with negative HSF1 protein expression. There was a significant difference in the survival time between patients with positive and negative HSF1 protein expression ( $\chi^2 = 4.276$ ,  $P < 0.05$ ). **Conclusions** HSF1 is correlated with the development, advancement, invasion, metastasis and malignant prognosis of HCC. HSF1 takes effects by regulating the expression of HSP70, and it has a good perspective of clinical application for the diagnosis and treatment of HCC.

**【Key words】** Liver neoplasms; Heat shock transcription factor 1; Heat shock protein 70; Immunohistochemistry

肝细胞癌在全球肿瘤致死原因中居第 3 位,是我国仅次于肺癌的第二大肿瘤死因<sup>[1-2]</sup>。绝大多数肝细胞癌对常用细胞化疗药物有很强的耐受作用,因此,肝细胞癌患者生存率较低<sup>[3]</sup>。寻找与肝细胞癌发生相关的敏感靶蛋白对探索分子靶向治疗及判断预后有着重要意义。多种热休克蛋白(heat shock protein, HSP)尤其是 HSP70 已被证实在肝细胞癌中高表达,而且是肿瘤发展、恶化的重要标志<sup>[4]</sup>。热休克转录因子 1(heat shock transcription factor 1, HSF1)在炎症反应和细胞凋亡中发挥重要作用,HSF1 的高表达与前列腺癌、宫颈癌等多种肿瘤的发生有密切关联<sup>[5-8]</sup>。HSF1 主要调控 HSP 的表达。本研究通过收集 2006 年 3 月至 2007 年 3 月第四军医大学西京医院手术切除的 67 例肝细胞癌和 21 例因肝血管瘤手术切除的正常肝脏组织标本,比较肝细胞癌组织和正常肝脏组织中 HSF1 蛋白和 HSP70 表达的差异及两者的相关性,分析 HSF1 蛋白表达与肝细胞癌临床病理特征以及预后之间的关系。

## 1 资料与方法

### 1.1 一般资料

本组肝细胞癌患者 67 例,男 55 例,女 12 例;年龄 25 ~ 77 岁,中位年龄 49 岁。所有患者术前未行放、化疗,术后病理检查结果证实为肝细胞癌。分化程度:高分化 10 例,中分化 31 例,低分化 26 例。TNM 分期(2002 版 UICC): I 期 3 例, II 期 22 例, III 期 38 例, IV 期 4 例。收集同期 21 例因肝血管瘤行手术切除的正常肝脏组织作为对照,男 9 例,女 12 例;年龄 37 ~ 61 岁,中位年龄 48 岁。63 例患者术后通过门诊和电话随访 2 ~ 49 个月,平均 22.9 个月;4 例患者失访。

### 1.2 主要试剂

兔抗人 HSF1 单克隆抗体购自美国 Bioworld 公

司,抗体工作浓度为 1:100;鼠抗人 HSP70 单克隆抗体购自美国 Santa Cruz 公司,抗体工作浓度为 1:50;羊抗兔二抗、羊抗鼠二抗及 DAB 试剂盒购自北京中衫金桥生物技术有限公司。

### 1.3 实验方法

新鲜组织标本经 10% 甲醛溶液固定后,常规脱水、浸蜡、包埋,切成厚约 4  $\mu\text{m}$  的切片。以已知阳性的乳腺癌切片为阳性对照,以 PBS 代替一抗做阴性对照。采用 SP 两步法进行染色,具体步骤如下:(1)二甲苯脱蜡后下行浓度梯度乙醇水化,自来水洗净;(2)加热 0.01 mol/L 的枸橼酸钠缓冲溶液(pH 6.0)至沸腾后热修复抗原 3 次;(3)3%  $\text{H}_2\text{O}_2$ -甲醇液消除内源性过氧化氢酶作用,山羊血清封闭,加一抗工作液 4  $^{\circ}\text{C}$  过夜;(4)37  $^{\circ}\text{C}$  复温 45 min 加二抗,37  $^{\circ}\text{C}$  孵育 30 min;(5)DAB 显色,苏木精衬染,盐酸酒精分化,自来水洗净;(6)上行浓度梯度酒精脱水,二甲苯透明,中性树胶封片。

### 1.4 结果判定

由 2 名长期从事免疫组织化学工作的病理医师在不知任何临床和病理资料的条件下进行结果判读及半定量评分。HSF1 蛋白的阳性效应产物为定位于胞核的棕黄色颗粒,HSP70 的阳性效应产物为主要定位于胞质的棕黄色染色,亦有少量定位于胞核<sup>[7,9]</sup>。每张切片任意选择 5 个高倍镜视野,各计数 100 个细胞。观察细胞着色程度,未染色计为 0 分,淡黄色为 1 分,棕黄色为 2 分,棕褐色为 3 分。计算阳性细胞的百分比,阴性为 0 分,1% ~ 10% 为 1 分,11% ~ 50% 为 2 分,51% ~ 75% 为 3 分,76% ~ 100% 为 4 分。取两者评分之和进行结果判定,0 ~ 1 分为阴性,2 ~ 3 分为弱阳性,4 ~ 5 分为阳性,6 ~ 7 分为强阳性。

### 1.5 统计学分析

应用 SPSS 17.0 统计软件进行分析,不同组织中 HSF1 蛋白阳性率的分析以及肝细胞癌中 HSF1 蛋白阳性表达率与各临床病理资料的关系采用  $\chi^2$  检验及 Fisher 确切概率法,HSF1 蛋白与 HSP70 在肝细胞癌中表达的相关性采用 Spearman 相关性分析。采用 Kaplan-Meier 法绘制生存曲线,生存率比较采用 Log-rank 检验。 $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 HSF1 蛋白在肝细胞癌及正常肝脏组织中的表达

HSF1 蛋白在肝细胞癌组织中可见散在分布的阳性染色,亦有部分呈巢状分布,阳性率为 69% (46/67);在正常肝脏组织中可见少量散在分布的阳性染色,但明显少于肝细胞癌组织,阳性率为 29% (6/21)。两者比较,差异有统计学意义( $\chi^2 = 10.628, P < 0.05$ )。见图 1。

### 2.2 HSP70 在肝细胞癌及正常肝脏组织中的表达

HSP70 在肝细胞癌组织中可见团状分布的阳性染色,阳性率为 57% (38/67);在正常肝脏组织中可见少量散在分布的阳性染色,明显少于肝细胞癌组织,阳性率为 24% (5/21)。两者比较,差异有统计学意义( $\chi^2 = 6.929, P < 0.05$ )。见图 2。

### 2.3 肝细胞癌组织中 HSF1 蛋白与 HSP70 表达的相关性

67 例肝细胞癌组织中 HSF1 蛋白和 HSP70 均

为阳性者 31 例,均为阴性者 14 例,HSF1 蛋白阳性、HSP70 阴性者 15 例,HSF1 蛋白阴性、HSP70 阳性者 7 例。HSF1 蛋白与 HSP70 在肝细胞癌组织中的表达呈正相关( $r = 0.319, P < 0.05$ )。

### 2.4 HSF1 蛋白与肝细胞癌临床病理因素之间的关系

HSF1 蛋白在包膜完整的肝细胞癌组织中阳性表达率为 52% (14/27),而在包膜不完整的肝细胞癌组织中阳性表达率为 80% (32/40),两者比较,差异有统计学意义( $\chi^2 = 5.935, P < 0.05$ )。HSF1 蛋白在低分化、中分化、高分化的肝细胞癌组织中阳性表达率分别为 96% (25/26)、61% (19/31)和 2/10,HSF1 蛋白在中分化肝细胞癌组织中的阳性表达同其在低、高分化肝细胞癌组织中的阳性表达率比较,差异有统计学意义( $\chi^2 = 9.762, 5.159, P < 0.05$ )。HSF1 蛋白在早中期(I、II期)的肝细胞癌组织中阳性表达率为 44% (11/25),在晚期(III、IV期)的肝细胞癌组织中阳性表达率为 83% (35/42),两者比较,差异有统计学意义( $\chi^2 = 11.267, P < 0.05$ )。HSF1 蛋白的表达与患者的性别、年龄、HBsAg 水平、AFP 水平以及是否存在门静脉癌栓等无关。见表 1。

### 2.5 HSF1 蛋白与肝细胞癌患者生存率之间的关系

HSF1 蛋白阳性表达者的平均生存时间为(21.4 ± 1.9)个月,阴性表达者为(29.8 ± 2.7)个月。HSF1 蛋白阳性表达者和阴性表达者的平均生存时间比较,差异有统计学意义( $\chi^2 = 4.276, P < 0.05$ )。见图 3。

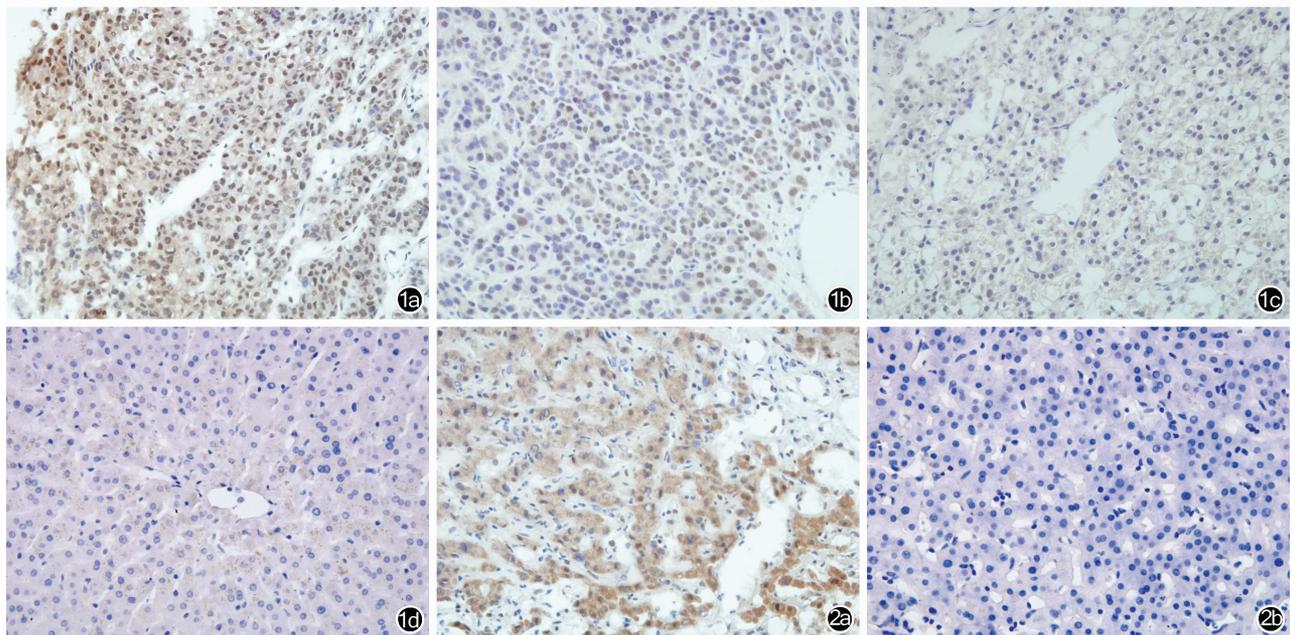
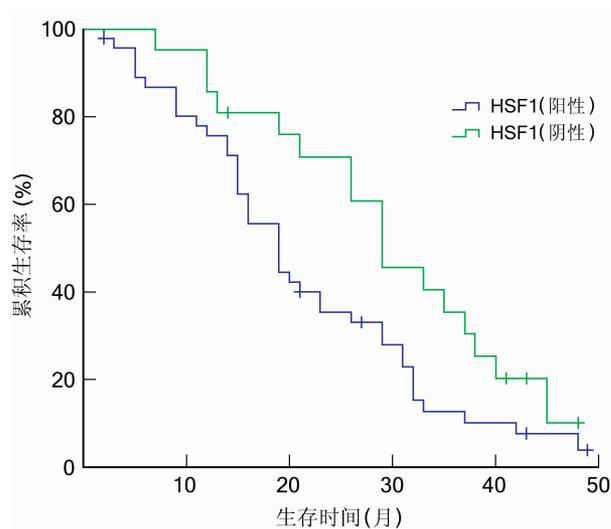


图 1 HSF1 蛋白在肝细胞癌组织及正常肝脏组织中的表达 HE × 400 1a: HSF1 蛋白在低分化肝细胞癌组织中的表达; 1b: HSF1 蛋白在中分化肝细胞癌组织中的表达; 1c: HSF1 蛋白在高分化肝细胞癌组织中的表达; 1d: HSF1 蛋白在正常肝脏组织中的表达 图 2 HSP70 在肝细胞癌组织及正常肝脏组织中的表达 HE × 400 2a: HSP70 在肝细胞癌组织中的表达; 2b: HSP70 在正常肝脏组织中的表达

**表 1** 67 例肝细胞癌患者肝癌组织中 HSF1 蛋白的表达与临床病理因素之间的关系(例)

临床病理因素	例数	HSF1 蛋白表达情况		阳性率 (%)	$\chi^2$ 值	P 值
		阳性	阴性			
<b>性别</b>						
男	55	37	18	67		>0.05 <sup>a</sup>
女	12	9	3	75		
<b>年龄(岁)</b>						
<55	36	23	13	64	0.822	>0.05
≥55	31	23	8	74		
<b>HBsAg</b>						
阳性	53	39	14	74		>0.05 <sup>a</sup>
阴性	14	7	7	50		
<b>AFP</b>						
阳性	39	26	13	67	0.172	>0.05
阴性	28	20	8	71		
<b>包膜</b>						
完整	27	14	13	52	5.935	<0.05
不完整	40	32	8	80		
<b>门静脉癌栓</b>						
有	31	24	7	77	2.059	>0.05
无	36	22	14	61		
<b>分化程度</b>						
低	26	25	1	96	9.762	<0.05
中	31	19	12	61		
高	10	2	8	20		
<b>TNM 分期</b>						
I、II 期	25	11	14	44	11.267	<0.05
III、IV 期	42	35	7	83		

注:HSF1:热休克转录因子 1; <sup>a</sup> 采用 Fisher 确切概率法



注:HSF1:热休克转录因子 1

**图 3** 肝细胞癌组织中 HSF1 蛋白表达情况与患者生存时间的关系

### 3 讨论

HSF1 蛋白含有 529 个氨基酸,主要包括 4 个功能结构域:DNA 结合域、三聚化结构域、调节域以及转录活化域。在非应激状态下,HSF1 蛋白以无活性

的单体形态存在于胞质中,而在热休克或其他病理、生理性刺激(如重金属、细菌或病毒感染、中风等引起的组织细胞缺血、缺氧等)存在的情况下,HSF1 蛋白被激活,形成三聚体并转移定位至胞核,通过识别、结合热休克蛋白基因启动子的热休克反应序列而调控 HSP 的表达。HSP 不仅能维持正常细胞内稳态,而且还参与调控多种肿瘤组织的发生、转移和药物耐受<sup>[10]</sup>。动物实验研究结果表明,从 P53 缺失小鼠中敲除 HSF1 基因可抑制 P53 缺失小鼠自发性恶性淋巴瘤。缺失 HSF1 基因可抑制二甲基二苯蒽诱发的皮肤癌<sup>[11-12]</sup>。这些都说明 HSF1 基因的完整性对肿瘤的发生起着重要作用。

HSF1 蛋白的过表达与前列腺癌、胃肠癌、乳腺癌和子宫颈癌等的发生、发展密切相关<sup>[7,13-15]</sup>。在高侵袭性前列腺癌细胞系 PC-3M 中 HSF1 蛋白的表达明显高于低侵袭性前列腺癌细胞系 PC-3,而且 HSF1 蛋白的表达程度与前列腺癌组织的恶性程度呈正相关<sup>[7]</sup>。因此,HSF1 蛋白不仅与肿瘤的发生、发展关系密切,而且很可能在肿瘤的侵袭、转移中发挥了关键作用。

李祎和王葵<sup>[16]</sup>用半定量 PCR 的方法证明肝细胞癌组织中 HSF1 mRNA 表达显著高于癌旁组织。但是关于肝细胞癌组织中 HSF1 蛋白的表达情况及可能分子机制尚不清楚。我们的研究表明,虽然 HSF1 蛋白在肝细胞癌组织及正常肝脏组织中均有表达,但是 HSF1 蛋白在肝细胞癌组织中的表达强度显著高于正常肝脏组织。此外,HSF1 蛋白与 HSP70 在肝细胞癌组织中的高表达呈明显的正相关。HSP70 在肝细胞癌的发生、发展中所起的作用已被广泛证实,因为 HSF1 是多种 HSP 表达的主要调控因子,故推测 HSF1 可能是通过调控 HSP70 甚至更多其他 HSP 的表达从而参与肝细胞癌的发生与发展。我们还发现,HSF1 蛋白的表达水平在肿瘤包膜完整与否、分化程度和 TNM 分期方面的差异有统计学意义,而在患者性别、年龄、HBsAg 水平、AFP 水平以及是否存在门静脉癌栓方面的比较,差异无统计学意义。这些都提示 HSF1 蛋白的表达与肝细胞癌的侵袭转移能力以及生物学进程有着密切关系。生存分析结果表明,HSF1 蛋白表达阳性的肝细胞癌患者生存率较阴性患者生存率明显降低,提示 HSF1 蛋白表达阳性患者的预后不良。

随着对肝细胞癌的自然病程和生物学特性认识的不断深入,以及各种治疗方法的优化及联合应用,肝细胞癌的治疗理念和策略正在发生深刻的转变,

针对异常改变的基因进行分子靶向治疗有着良好的应用前景<sup>[17-18]</sup>。进一步深入探讨 HSF1 在肝细胞癌发生、发展中的作用机制,可能为肝细胞癌的诊断、治疗和预后提供新的方法和依据。

#### 参考文献

- [1] Venook AP, Papandreou C, Furuse J, et al. The incidence and epidemiology of hepatocellular carcinoma: a global and regional perspective. *Oncologist*, 2010, 15 Suppl 4:5-13.
- [2] 陈建国,张思维,陈万青. 中国 2004—2005 年全国死因回顾抽样调查肝癌死亡率分析. *中华预防医学杂志*, 2010, 44(5): 383-389.
- [3] Voiculescu M, Winkler RE, Moscovici M, et al. Chemotherapies and targeted therapies in advanced hepatocellular carcinoma: from laboratory to clinic. *J Gastrointest Liver Dis*, 2008, 17(3):315-322.
- [4] Shin E, Ryu HS, Kim SH, et al. The clinicopathological significance of heat shock protein 70 and glutamine synthetase expression in hepatocellular carcinoma. *J Hepatobiliary Pancreat Sci*, 2011, 18(4):544-550.
- [5] Xie Y, Chen C, Stevenson MA, et al. Heat shock factor 1 represses transcription of the IL-1beta gene through physical interaction with the nuclear factor of interleukin 6. *J Biol Chem*, 2002, 277(14):11802-11810.
- [6] Ahn S G, Kim S A, Yoon J H, et al. Heat-shock cognate 70 is required for the activation of heat-shock factor 1 in mammalian cells. *Biochem J*, 2005, 392 (Pt 1):145-152.
- [7] Hoang AT, Huang J, Rudra-Ganguly N, et al. A novel association between the human heat shock transcription factor 1 (HSF1) and prostate adenocarcinoma. *Am J Pathol*, 2000, 156(3):857-864.
- [8] Zhou JD, Luo CQ, XIE HQ, et al. Increased expression of heat shock protein 70 and heat shock factor 1 in chronic dermal ulcer tissues treated with laser-aided therapy. *Chin Med J (Engl)*, 2008, 121(14):1269-1273.
- [9] Serrano C, Bolea R, Lyahyai J, et al. Changes in HSP gene and protein expression in natural scrapie with brain damage. *Vet Res*, 2011, 42(1):13.
- [10] Calderwood SK. Heat shock proteins in breast cancer progression—a suitable case for treatment? *Int J Hyperthermia*, 2010, 26(7):681-685.
- [11] Dai C, Whitesell L, Rogers AB, et al. Heat shock factor 1 is a powerful multifaceted modifier of carcinogenesis. *Cell*, 2007, 130(6):1005-1018.
- [12] Min, JN, Huang L, Zimonjic DB, et al. Selective suppression of lymphomas by functional loss of Hsf1 in a p53-deficient mouse model for spontaneous tumors. *Oncogene*, 2007, 26(35):5086-5097.
- [13] Wang J, He H, Yu L, et al. HSF1 down-regulates XAF1 through transcriptional regulation. *J Biol Chem*, 2006, 281(5):2451-2459.
- [14] Khaleque MA, Bharti A, Gong J, et al. Heat shock factor 1 represses estrogen-dependent transcription through association with MTA1. *Oncogene*, 2008, 27(13):1886-1893.
- [15] Rossi A, Ciafrè S, Balsamo M, et al. Targeting the heat shock factor 1 by RNA interference: a potent tool to enhance hyperthermochemotherapy efficacy in cervical cancer. *Cancer Res*, 2006, 66(15):7678-7685.
- [16] 李祎,王葵. 热休克转录因子 1 在肝细胞癌中的表达和意义. *临床医药实践*, 2009, 18(7):490-493.
- [17] 董家鸿. 肝细胞癌治疗理念与策略的转变. *中华消化外科杂志*, 2009, 8(2):85-87.
- [18] 钱程,沈俊杰,单娟娟,等. 肝癌基因治疗的机遇和挑战. *中华消化外科杂志*, 2010, 9(1):12-14.

(收稿日期: 2011-11-07)

(本文编辑: 张昊)

## 中华医学会第十二届全国胃肠外科学术会议征文通知

由中华医学会外科学分会胃肠外科学组主办的“第十二届全国胃肠外科学术会议”定于 2012 年 9 月 21 日在湖北省武汉市召开。

本次大会将重点围绕胃肠外科疾病规范化治疗及其最新研究进展,广泛邀请国内外知名专家作专题报告,并采用精品手术录像演示等多媒体展播形式,结合典型病例和临床外科医师所关注的核心问题,邀请知名专家和与会者深入研讨。参会代表将获得国家级继续教育 I 类学分。

征文内容: 1. 胃肠外科领域最新临床研究进展和研究成果; 2. 胃肠外科临床新技术、新方法的应用经验以及相关研究; 3. 胃肠外科疾病的其他诊疗经验; 4. 胃肠外科领域相关的实验研究。

征文要求: 论文全文 5000 字以内,包括 600 字以内的中文摘要。请采用 Word 软件格式,文题请用 3 号黑体字,正文请用小 4 号宋体字,1.5 倍行距。文内请务必注明通信作者的姓名、工作单位、联系地址、邮政编码、Email 地址及联系电话。凡在国内外公开发行人物上发表过的论文一律不予受理。征文恕不退稿,请自留底稿。征文截止日期: 2012 年 8 月 15 日。会议论文推荐以电子邮件形式投稿,投稿请发到会议征文专用邮箱: 12th.GIcongress@zs-hospital.sh.cn。若采用邮寄投稿,请用 A4 纸打印,并附上含有电子版内容的软盘。

邮寄地址: 上海市枫林路 180 号复旦大学附属中山医院普外科 程健 收

邮政编码: 200032。信封右上角请注明“征文”字样。