

文章编号:1005-6947(2008)07-0682-05

· 基础研究 ·

HCV NS3 对人肝细胞磷酸化酪氨酸相关蛋白表达的影响

何琼琼¹, 肖旭贤², 冯德云¹, 程瑞雪¹, 郑晖¹, 李波¹

(1. 中南大学湘雅基础医学院 病理学系, 湖南 长沙 410078; 2. 中南大学 医学化学研究中心, 湖南 长沙 410078)

摘要:目的 研究 HCV NS3 对人肝细胞磷酸化酪氨酸相关蛋白表达的影响。方法 通过脂质体稳定转染分别建立表达 HCV NS3 蛋白的 pRcHCNS3/QSG 细胞, 空白质粒转染细胞 pRcCMV/QSG。用 Western Blot 和免疫细胞化学分别检测磷酸化 p44/42, 磷酸化 p38, 磷酸化 SAPK/JNK 在 pRcHCNS3/QSG 细胞和 pRcCMV/QSG 细胞及未转染的 QSG7701 细胞的表达差异及细胞内的定位; 免疫共沉淀实验检测 HCV NS3 对磷酸化酪氨酸蛋白表达水平的影响。结果 pRcHCNS3/QSG 细胞, pRcCMV/QSG 细胞, 未转染的 QSG7701 细胞抽提的总蛋白中均可检测出磷酸化 p44/42, 磷酸化 p38, 磷酸化 SAPK/JNK 的表达, 阳性信号定位于细胞核。上述 3 种蛋白在 pRcHCNS3/QSG 细胞的表达较 pRcCMV/QSG 细胞和未转染的 QSG7701 细胞表达增强, 其磷酸化酪氨酸蛋白的表达也较其他两对照组增强。结论 HCV NS3 可能通过影响酪氨酸蛋白激酶的表达及活性, 使一系列受酪氨酸蛋白激酶调节的蛋白质如 MAPK 分子异常磷酸化而活化, 激活下游信号转导通路, 导致肝细胞无限增殖和肿瘤形成。

[中国普通外科杂志, 2008, 17(7):682-686]

关键词: 肝炎病毒, 丙型; 病毒非结构蛋白质类; 蛋白磷酸化

中图分类号: R 362 文献标识码: A

The effect of hepatitis c virus NS3 gene on the expression of phosphorylate tyrosine protein in human hepatocyte

HE Qiongqiong¹, XIAO Xuxian², FENG Deyun¹, CHENG Ruixue¹, ZHENG Hui¹, LI Bo¹

(1. Department of Pathology, Basic Medical College, Central South University, Changsha 410078, China; 2. Research Center of Medical Chemistry, Central South University, Changsha 410078, China)

Abstract: Objective To investigate the effect of hepatitis c virus NS3 gene on the expression of phosphorylate tyrosine proteins in human hepatocyte. **Methods** HCV NS3 plasmids and pRcCMV plasmids were stably transfected into QSG7701 cells, which were named as pRcHCNS3/QSG cells and pRcCMV/QSG cells respectively. Western Blot and immunocytochemistry was used to detect the expression of phospho-p44/42, phospho-p38 and phospho-SAPK/JNK in the pRcHCNS3/QSG cells, pRcCMV/QSG cells and QSG7701 cells, respectively. Immunoprecipitation analysis was employed to investigate the effect of HCV NS3 on the phosphotyrosine protein expression. **Results** The expressions of phospho-p44/42, phospho-p38 and phospho-SAPK/JNK were found in pRcHCNS3/QSG cells, pRcCMV/QSG cells and QSG7701 cells. The positive signals of phospho-p44/42, phospho-p38 and phospho-SAPK/JNK protein were localized in the nucleus of cells. The signals intensity of the pRcHCNS3/QSG cells was stronger than the other the two

基金项目:国家自然科学基金资助项目(30671846);湖南省自然科学基金资助项目(07JJ4008)。

收稿日期:2008-04-28; **修订日期:**2008-06-11。

作者简介:何琼琼,女,中南大学湘雅基础医学院讲师,主要从事肝脏分子病理学方面的研究。

通讯作者:李波 E-mail:libo876678@yahoo.com.cn

cells. The expression of phosphotyrosine protein was also up-regulated in pRcHCNS3/QSG cells. **Conclusions**

HCV NS3 may affect cell signaling pathway through activating tyrosine kinase and followed with activation and abnormal phosphorylation of several cytoplasmic signaling molecules such as MAPKs, and induce unlimited hepatocyte transformation and tumor development.

[Chinese Journal of General Surgery, 2008, 17 (7) : 682 - 686]

Key words: Hepatitis C virus; Virus Nonstructural Proteins; Protein Phosphorylation

CLC number: R 362

Document code: A

NS3 基因位于丙型肝炎病毒 (HCV) 基因组 3420 ~ 5312 核苷酸区段, 编码 631 个氨基酸, NS3 蛋白在 HCV 多聚蛋白的加工成熟和病毒复制中起重要作用。本课题组前期研究建立了稳定转染 HCV NS3 的人源肝细胞系 pRcHCNS3/QSG, 证实 HCV NS3 能促进 QSG7701 细胞增殖, 导致其恶性转化^[1]。通过双向电泳和质谱分析发现参与 MAPK 信号通路调节的 Ras 相关蛋白、p38 和 HD53 蛋白在 pRcHCNS3/QSG 细胞中表达增强^[2]。提示 HCV NS3 转化肝细胞的机制可能是通过影响 MAPK 通路的信号分子表达, 使其活性异常所致。因此, 进一步分析 HCV NS3 转化细胞中 MAPK 通路相关信号分子的磷酸化水平十分必要。本实验拟利用表达 HCV NS3 蛋白的人源肝细胞系 pRcHCNS3/QSG 为对象, 研究 HCV NS3 对酪氨酸磷酸化相关蛋白表达的影响。

1 材料与方 法

1.1 材 料

1.1.1 细胞和质粒 人源性肝细胞株 QSG7701 购于中科院上海细胞生物研究所。真核表达质粒 pRcHCNS3 (氨基酸 Ile1020-Thr1295) 由日本 Kanazawa 医学院 Takegami 教授惠赠; 空白质粒 pRcCMV 购自 Sigma 公司。

1.1.2 试剂 Qiagene midi 试剂盒购于 Qiagen 公司; lipofectamineTM 试剂盒, G418 和 DMEM 高糖培养基为 Gibco 公司产品; 磷酸化 p44/42 MAPK, 磷酸化 p38 MAPK 及磷酸化 JNK 购于 Cell Signaling Technology 公司; protein G sepherose 4B beads 购于 Pharmacia 公司; α -tubulin 蛋白为 SantaCruz 公司产品; 辣根过氧化物酶标记的羊抗鼠免疫球蛋白 (IgG), 羊抗兔 IgG 和免疫组织化学 SP 试剂盒购于北京中山生物技术有限公司; 蛋白浓度测量试剂盒 (BCA) 和化学发光试剂盒 (ECL) 为 Pierce 公司产品; 硝酸纤维素膜为 Pharmacia 公司产品。

1.2 实验方 法

1.2.1 分 组 (1) 空白对照组为 QSG7701 细

胞; (2) 阴性对照组为空白质粒转染细胞组 (pRcCMV/QSG); (3) 实验组为 pRcHCNS3 质粒转染细胞组 (pRcHCNS3/QSG)。

1.2.2 细胞培养 DMEM 高糖培养基加 10% 灭活的新生小牛血清, 100 U/mL 青霉素及 100 U/mL 链霉素, 于 37 °C, 5% CO₂ 浓度的 CO₂ 培养箱中培养, 传代。

1.2.3 质粒转染 HCV NS3 稳定转染的细胞 pRcHCNS3/QSG 及空白质粒转染组细胞 pRcCMV/QSG 的建立和鉴定见参考文献^[1]。

1.2.4 免疫印迹 (Western blot) 分析 取生长状态良好的细胞, 加入细胞裂解液 [1 mmol/L EDTA, pH8.0, 50 mmol/L TrisHCl, pH6.8, 2% SDS, 100 mmol/L Na₃VO₄] 60 ~ 100 μ L, 抽提细胞总蛋白, BCA 测定蛋白浓度 (按试剂盒说明书操作); 调整蛋白上样量一致, 进行 SDS-PAGE 聚丙烯酰胺凝胶电泳。电泳结束后恒压电转移 150V, 45 min。5% 牛血清白蛋白 (BSA), 室温 1 h, 分别加入特异性抗体 (phospho-p44/42 MAPK 1:200; phospho-p38 MAPK 1:200; phospho-SAPK/JNK 1:1000; α -tubulin 1:2000), 37 °C 孵育 1 h, 4 °C 过夜, 再分别加入相应的二抗 (1:1000 稀释于 5% 脱脂牛奶中), 37 °C, 2 ~ 3 h。ECLA 液和 B 液混合后加至硝酸纤维素膜上, 暗室曝光 3 ~ 5 min, 显影, 定影。结果扫描入电脑。

1.2.5 免疫组化检测 采用 SP 法。待细胞依次经冷丙酮 4 °C, 10 min, 0.1% triton X-100, 20 min, 0.75% H₂O₂-PBS, 30 min, 正常兔血清 37 °C, 30 min, 特异性一抗 37 °C, 30 min, 4 °C 保存至次日, 顺次滴加二抗和三抗; DAB 工作液显色。

1.2.6 免疫共沉淀 收集细胞约 3 \times 10⁷, 加入细胞裂解液 [50 mmol/L Tris-HCl, pH 7.4, 100 mmol/L NaCl, 2.5 mmol/L EDTA, 1% Triton X-100, 1% NP-40, 2.5 mmol/L Na₃VO₄, 25 μ g/mL aprotinin 及 25 μ g/mL leupeptin], 冰浴 30 min; 4 °C, 2000 r/min \times 20 min, 取上清液。每管上清加 protein G sepherose 4B beads 30 μ L, 4 °C,

9 000 r/min × 5 min, 取上清液; 加入 1 μg 特异性抗酪氨酸磷酸化抗体 (4G10) 及 protein G sepharose 4B beads 40 μL, 4 °C, 混匀过夜; 4 °C, 9 000 r/min × 5 min, 收集 beads; 加入 TT Buffer (50 mmol/L Tris-HCl, pH7.4, 150 mmol/L NaCl, 0.5% Tween-20, 2.5 mmol/L Na₃VO₄) 洗涤 4 次, 4 °C, 3 500 r/min × 5 min, 去上清液, 收集 beads; 加入 2 × SDS 凝胶上样缓冲液, 100 °C × 3 min, 取上清液进行 SDS-PAGE 电泳; 电泳完毕后银染 (步骤参见试剂盒操作手册)。

2 结果

2.1 Western Blot 检测 HCV NS3 对磷酸化 P44/42 MAPK 表达的影响

3 组细胞在上样量一致的情况下, 实验组细胞磷酸化 p44/42 的表达较空白对照组和阴性对照组增强, 提示 HCV NS3 能促进磷酸化 P44/42 蛋白的表达 (图 1)。

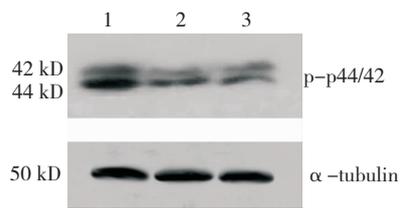


图 1 3 组细胞磷酸化 p44/42 的表达 (α-tubulin 为上样量对照)

1: pReHCNS3/QSG 细胞;
2: pReCMV/QSG 细胞;
3: QSG7701 细胞

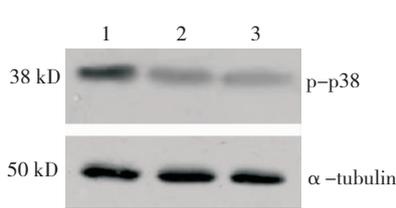


图 2 3 组细胞磷酸化 p38 的表达 (α-tubulin 为上样量对照)

1: pReHCNS3/QSG 细胞;
2: pReCMV/QSG 细胞;
3: QSG7701 细胞

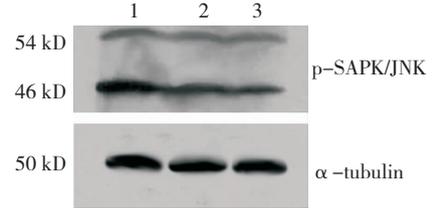


图 3 3 组细胞磷酸化 SAPK/JNK 的表达 (α-tubulin 为上样量对照)

1: pReHCNS3/QSG 细胞;
2: pReCMV/QSG 细胞;
3: QSG7701 细胞

2.2 Western Blot 检测 HCV NS3 对磷酸化 p38MAPK 表达的影响

3 组细胞在上样量一致的情况下, 实验组细胞磷酸化 p38 的表达较空白对照组和阴性对照组增强, 提示 HCV NS3 能促进磷酸化 p38 蛋白的表达 (图 2)。

2.3 Western Blot 检测 HCV NS3 对磷酸化 JNK 表达的影响

3 组细胞在上样量一致的情况下, 实验组细胞磷酸化 JNK 的表达较空白对照组和阴性对照组增强, 提示 HCV NS3 能促进磷酸化 JNK 蛋白的表达 (图 3)。

2.4 免疫组化检测 HCV NS3 对磷酸化 MAPK 表达的影响

3 组细胞分别采用特异性的磷酸化 p44/42, 磷酸化 p38 和磷酸化 SAPK/JNK 抗体孵育, DAB 显色系统检测上述蛋白的表达。3 种细胞磷酸化 p44/42、磷酸化 p38、磷酸化 SAPK/JNK 均表达阳性, 阳性信号定位于细胞核, 实验组细胞的阳性信号较两对照组细胞强 (图 4)。

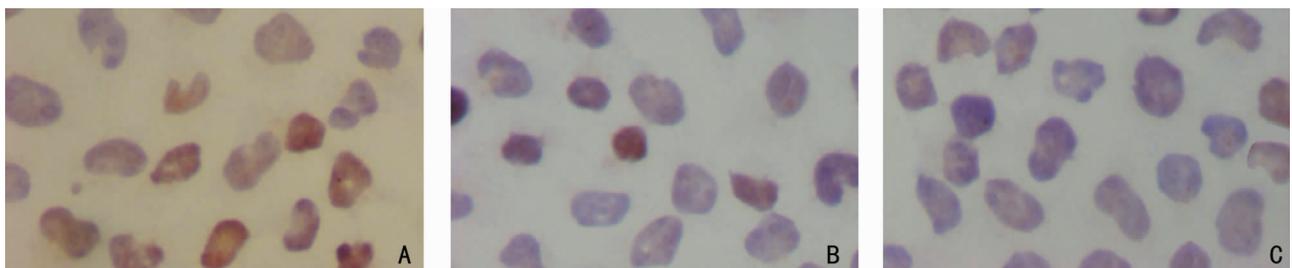


图 4 免疫细胞化学检测三组细胞磷酸化 p44/42 表达 A: pReHCNS3/QSG 细胞; B: pReCMV/QSG 细胞; C: QSG7701 细胞

2.5 HCV NS3 对磷酸化酪氨酸蛋白表达的影响

经与酪氨酸磷酸化抗体免疫共沉淀, SDS-PAGE 电泳、银染显影后, 实验组细胞与阴性对照

组细胞比较, 现较的条带深且明显。提示 HCV NS3 能促进磷酸化酪氨酸蛋白的表达 (图 5)。

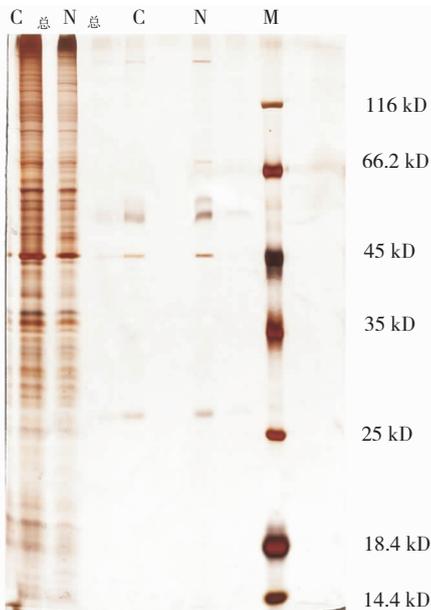


图5 HCV NS3 转染细胞的酪氨酸磷酸化水平。
C 总: pRcCMV/QSG 细胞总蛋白; N 总: pRcHcNS3/QSG 细胞总蛋白; C: pRcCMV/QSG 细胞总蛋白经免疫共沉淀后出现的蛋白条带; N: pRcHcNS3/QSG 细胞总蛋白经免疫共沉淀后出现的蛋白条带; M: 标准蛋白分子量

3 讨论

本实验结果表明,实验组细胞与空白质粒转染细胞和未转染细胞相比,HCV NS3 转染肝细胞中磷酸化 p44/42 和磷酸化 p38 以及磷酸化 JNK 蛋白表达均增加,免疫组化检测上述 3 种蛋白表达亦显示相同的变化。而 HCV NS3 在转染前后总的 p44/42, p38, JNK 蛋白表达并无显著差异(结果未显示)。提示 HCV NS3 能促进 p44/42, p38, JNK 蛋白磷酸化活化。免疫共沉淀检测也显示 HCV NS3 能促进磷酸化酪氨酸蛋白的表达。

蛋白磷酸化和去磷酸化这一可逆反应几乎调节着生命活动所有过程包括细胞的增殖、发育和分化,细胞骨架调控,细胞凋亡和肿瘤发生等^[3]。研究发现,原癌基因编码的生长因子受体是具有潜在酪氨酸激酶活性的跨膜糖蛋白,它可通过结合生长因子而活化,引起细胞内一系列蛋白质酪氨酸磷酸化和去磷酸化的级联反应,将生长因子信号传递到核内,调控细胞增殖^[4]。在此过程中,生长因子受体的过度表达可引起细胞信号转导系统的过度活化,使细胞无限增殖,诱发恶变。其中途径 MAPK 利用培养的可分裂/分化的细胞系对其家族的信号转导途径和功能进行了深入研究,是生命科学的研究热点之一。

MAPK 激活需要在其亚微区 VIII 特定的 TXY (Thr-X-Tyr) 顺序中 T 和 Y 残基同时磷酸化,是

目前已知唯一受酪氨酸蛋白激酶磷酸化调节的丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶,因而可能是这两类蛋白激酶信号转导通路之间的中介因子^[5]。MAPK 家族主要成员有 p44/42, p38, JNK。过表达 ERK1/2 见于多种肿瘤组织^[6-7]。本实验室曾证实人肝癌组织中 ERK1/2 磷酸化水平高于邻近非肿瘤组织^[8]。目前研究显示 HCV 核心蛋白 C, 包膜蛋白 E2 能激活多种细胞的 ERK1/2^[9-10]。Roberts 等^[11] 研究表明,肿瘤坏死因子激活了 p38/MAPK 和 ERK 通路,从而抑制转化生长因子诱导的肝细胞凋亡。Kim 等^[12] 发现, p38 介导了 H-ras 诱导的人乳腺癌上皮细胞的侵袭,但不导致 MCF10A 死亡,其作用机制可能是通过 ERK1/2 与 p38 协同作用,上调 MMP2 水平,从而增强细胞侵袭能力。近来的研究表明, JNK 在肿瘤的发生发展中起重要作用。JNK2 的缺失抑制了 Ras 诱导的鼠成纤维细胞体外克隆形成和体内裸鼠成瘤,表明 JNK2 是 Ras 转化细胞所必需^[13]。Has-san 等^[14] 发现, HCV NS3 能促进 HepG2 和 Hela 细胞增殖,且其生物学效应的产生依赖于 JNK 信号通路的激活。

本实验结果提示, HCV NS3 可能通过影响酪氨酸蛋白激酶的表达及活性,进而使一系列受酪氨酸蛋白激酶调节的蛋白如 MAPK 分子异常磷酸化而活化,激活下游信号转导通路,导致肝细胞无限增殖和肿瘤形成。进一步研究 HCV NS3 作用的信号转导通路蛋白之间的相互关系,可能为肝癌的诊断和治疗提供新的靶点。

参考文献:

- [1] 何琼琼,程瑞雪,陈主初,等. HCV NS3 基因对人肝细胞生物学特性的影响[J]. 生物技术通报,2007,4(2):135-140.
- [2] He Q, Cheng R, Chen Z, *et al.* Cell transformation and proteome alteration in QSG7701 cells transfected with hepatitis C virus non-structural protein 3[J]. Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai), 2007,39(10):751-762.
- [3] Delom F, Chevet E. Phosphoprotein analysis: from proteins to proteomes[J]. Proteome Sci,2006,4(1):15-26.
- [4] 茆勇军,李海泓,李剑峰,等. 蛋白酪氨酸激酶信号转导途径与抗肿瘤药物[J]. 药理学学报,2008,43(4):323-334.
- [5] Fecher LA, Amaravadi RK, Flaherty KT. The MAPK pathway in melanoma[J]. Curr Opin Oncol, 2008, 20(2):183-189.
- [6] Steelman LS, Abrams SL, Whelan J, *et al.* Contributions of the Raf/MEK/ERK, PI3K/PTEN/Akt/mTOR and Jak/STAT pathways to leukemia[J]. Leukemia, 2008, 22(4):686-707.
- [7] Fecher LA, Amaravadi RK, Flaherty KT. The MAPK pathway in melanoma[J]. Curr Opin Oncol, 2008,20(2):183-189.
- [8] Feng DY, Zheng H, Tan Y, *et al.* Effect of phosphorylation of MAPK and Stat3 and expression of c-fos and c-jun proteins on hepatocarcinogenesis and their clinical significance

- [J]. World J Gastroenterol, 2001, 7(1): 33 - 36.
- [9] Sato Y, Kato J, Takimoto R, *et al.* Hepatitis C virus core protein promotes proliferation of human hepatoma cells through enhancement of transforming growth factor alpha expression via activation of nuclear factor-kappaB [J]. Gut, 2006, 55(12): 1801 - 1808.
- [10] Zhao LJ, Zhang XL, Zhao P, *et al.* Up-regulation of ERK and p38 MAPK signaling pathways by hepatitis C virus E2 envelope protein in human T lymphoma cell line [J]. J Leukoc Biol, 2006, 80(2): 424 - 432.
- [11] Roberts RA, James NH, Cosulich SC. The role of protein kinase B and mitogen-activated protein kinase in epidermal growth factor and tumor necrosis factor alpha-mediated rat hepatocyte survival and apoptosis [J]. Hepatology, 2000, 31(2): 420 - 427.
- [12] Kim MS, Lee EJ, Kim HR, *et al.* p38 kinase is a key signaling molecule for H-Ras-induced cell motility and invasive phenotype in human breast epithelial cells [J]. Cancer Res, 2003, 63(17): 5454 - 5461.
- [13] Nielsen C, Thastrup J, Böttzauw T, *et al.* c-Jun NH2-terminal kinase 2 is required for Ras transformation independently of activator protein 1 [J]. Cancer Res, 2007, 67(1): 178 - 185.
- [14] Hassan M, Ghozlan H, Abdel-Kader O. Activation of c-Jun NH2-terminal kinase (JNK) signaling pathway is essential for the stimulation of hepatitis C virus (HCV) non-structural protein 3 (NS3)-mediated cell growth [J]. Virology, 2005, 333(2): 324 - 336.

文章编号:1005-6947(2008)07-0686-01

· 病案报告 ·

甲状腺黏膜相关淋巴瘤 1 例

成丕光, 巩本刚

(山东省滨州市人民医院 肝胆外科, 山东 滨州 256610)

关键词: 甲状腺肿瘤; 黏膜相关淋巴瘤; 病例报告

中图分类号: R 736.1 **文献标识码:** D

患者 女, 54 岁。因发现右侧甲状腺肿大 1 个月入院, 无烦躁多汗及情绪改变。体查: 颈软, 气管居中, 右侧甲状腺弥漫性肿大, 约 6 cm × 5 cm × 3 cm 大, 表面平坦, 质地硬, 无触痛, 随吞咽活动; 左侧甲状腺未及异常, 颈部未及肿大淋巴结。血 FT3 4.10 pmol/L, FT4 13.24 pmol/L, TSH 8.29 μIU/mL。甲状腺彩超示右侧甲状腺体积增大, 形态失常, 其内探及一大一小约 4.3 cm × 4.1 cm × 3.1 cm 的混合回声包块, 边界不清, 形态不规, 内回声不均质, 有少量斑点状血流信号。右颈部探及几个低回声结节, 大者约 1.1 cm × 0.5 cm, 边界清, 内回声均质, 彩超未见明显血流信号。超声检查拟诊: 右甲状腺实质性占位并右颈部淋巴结肿大。

入院后 2 d 在颈丛麻醉下手术, 术中见右侧甲状腺弥漫性肿大, 腺体与右侧舌骨下肌群粘连明显, 分离困难, 腺体质地硬, 约 6 cm × 4 cm × 4 cm 大, 与周围其他组织无明显粘

连, 右侧颈动脉鞘周围可见数枚肿大淋巴结, 质地软。术中快速病理证实为右侧甲状腺恶性肿瘤, 行右侧甲状腺癌改良根治术。术后病理证实为右侧甲状腺黏膜相关淋巴瘤; 免疫组化: LCA(+++), CD20(+++), EMA(-), CKLMW(-), CD3(-); 淋巴结未见肿瘤转移。术后予以外照射放疗。

讨论 原发性甲状腺淋巴瘤少见, 仅占有甲状腺恶性肿瘤的 5%, 占有淋巴瘤的 2%^[1], 多见于老年患者, 女性多于男性。其临床表现为生长较快的颈前肿块或颈前肿块短期内明显增大, 可出现 1 个或多个冷结节, 可伴有呼吸困难、声音嘶哑及局部疼痛。大多数患者都有前驱的自身免疫性甲状腺炎病史, 伴有或不伴有甲状腺功能及减退。其诊断标准: 组织学证实为甲状腺的淋巴瘤, 除颈部见区域淋巴结肿大受累外, 全身其他部位未见肿大淋巴结。根据 2004 年世界卫生组织 (WTO) 淋巴瘤分类, 黏膜相关淋巴瘤组织 (MALT) 淋巴瘤免疫组织化学呈弥漫性 B 细胞相关抗原 (CD20, CD79a) 阳性表达, 提示为 B 细胞性, 是一种特殊类型的低度恶性非霍奇金淋巴瘤, 最常累及胃肠道, 还可发生在肺、眼眶、皮肤和甲状腺等器官, 其

中发生在甲状腺的 MALT 淋巴瘤少见, 仅占结外 MALT 淋巴瘤的 4%, 常与自身免疫性甲状腺炎有关^[2]。

手术是治疗甲状腺 MALT 淋巴瘤的主要手段, 病变局限于甲状腺, 手术完全切除肿瘤, 即达根治目的, 不需进一步治疗。有报道病变局限于甲状腺者行单纯甲状腺全切术, 5 年生存率达 100%^[3]; 如肿瘤与周围组织粘连, 同时切除粘连组织后进行局部放疗; 有淋巴结转移、其他器官浸润或肿块与重要器官粘连无法彻底切除或无法手术治疗者可在放疗的基础加化疗。本例患者正在放疗中。

参考文献

- [1] Veag F, Lin P, Medeiros LT. Extranodal lymphomas of the head and neck [J]. Annals of Diagnostic Pathology, 2005, 9(6): 340 - 350.
- [2] Yusef M, Rajan C, Mohammed Y, *et al.* Thyroid Low-Grade B-Cell Lymphoma (MALT Type) With Extreme Plasmacytic Differentiation Report of a Case Diagnosed by Fine-Needle Aspiration and Flow Cytometric Study [J]. Diagnostic Cytopathology, 2004, 31(1): 152 - 56.
- [3] Thiebmont C, Mayer A, Dumontet C, *et al.* Primary thyroid lymphoma is a heterogeneous disease [J]. J Clin Endocrinol Metab, 2002, 87(1): 105 - 111.

收稿日期: 2008-05-09。

作者简介: 成丕光, 男, 山东省滨州市人民医院主治医师, 主要从事普通外科方面的研究。

通讯作者: 成丕光 E-mail: chpiguang@163.com