

## 综述

## 脊髓损伤后神经细胞程序性死亡方式的研究进展

## Research progress of the programmed cell death after spinal cord injury

马 宁<sup>1</sup>, 杨 勇<sup>2</sup>

(1 北京大学医学部 1000191 北京市; 2 北京积水潭医院手外科 100035 北京市)

doi: 10.3969/j.issn.1004-406X.2017.01.15

中图分类号: R683.2 文献标识码: A 文章编号: 1004-406X(2017)-01-0082-04

脊髓损伤(spinal cord injury, SCI)是脊柱外伤中严重的并发症,可导致损伤节段以下严重的功能障碍,是青壮年致残的主要原因之一<sup>[1]</sup>。由于其致伤机制复杂,临床尚无有效干预手段。近年来的研究表明,神经细胞的死亡是SCI复杂的病理进程中的核心环节<sup>[2]</sup>。其中,各种程序性细胞死亡(programmed cell death, PCD)方式因其有可调控性而成为神经保护领域的研究热点<sup>[3]</sup>。笔者对SCI后神经细胞的PCD方式及关键分子机制进行综述,为探索更为有效的干预靶点提供参考。

## 1 凋亡

凋亡是发现最早且研究最为明确的PCD方式<sup>[4]</sup>。研究表明,凋亡广泛参与中枢神经系统(central nervous system, CNS)的缺血及外伤性疾病,包括脑卒中及SCI等<sup>[5]</sup>。损伤后出血、水肿等导致的组织灌注减少和随后发生的缺血是导致细胞凋亡的主要原因,神经元和少突胶质细胞对上述损伤均有较高的敏感性<sup>[6]</sup>。有研究表明,凋亡是外伤性SCI中导致损伤区域退行性改变和损伤远端神经组织脱髓鞘病变的主要原因<sup>[7]</sup>。在脊髓压迫性损伤模型中也可以观察到完全脱髓鞘轴突周围存在凋亡的少突胶质细胞<sup>[8]</sup>。凋亡在SCI时引起microRNAs的调节功能障碍,而miR-21对抑制SCI后继发性细胞死亡有重要的作用,其保护作用可能是通过其调节前凋亡基因所致,RNA结合移动蛋白5(RBM5)对SCI神经元损伤作用的研究显示,RBM5基因敲除可明显降低凋亡蛋白P53的表达及caspase-3的活性,通过调节P53信号通路促进神经元凋亡发生<sup>[9,10]</sup>。研究发现应用肿瘤坏死因子 $\alpha$ 拮抗剂、抑制钙激活蛋白酶、c-Jun N末端激酶和Fas介导的凋亡路径<sup>[11,12]</sup>,均可以减少神经元的丢失,起到神经保护作用,可见,凋亡在SCI的继发性损伤中起到很大的作用。

## 2 自噬

既往自噬(autophagy)被分类为一种程序性细胞死亡

的形式,称为自噬性细胞死亡,表现为与细胞内自噬小体积聚相关的不依赖半胱氨酸蛋白酶的坏死样细胞死亡,但现在这种分类受到广泛质疑,由于在死亡细胞中自噬的生物标记物和形态学表现常一致,因此,自噬和细胞死亡之间的关系被广泛研究和探讨<sup>[13,14]</sup>。在对急性SCI动物模型的研究中发现,损伤后2h神经元即出现自噬特异性生物标记物微管相关蛋白1轻链3(LC3)表达增加,损伤3d后星形胶质细胞上存在LC3的表达,1周后开始下降,最长可持续表达达到损伤后21d。透射电镜可见自噬小体,提示在SCI时发生了神经元和星形胶质细胞的自噬,因此,在神经元死亡中自噬细胞死亡可能起一定的作用<sup>[15,16]</sup>。自噬参与维持细胞内蛋白合成和降解平衡的调节机制,在不同疾病过程中其作用既可能是损伤,也有可能起到保护的作用<sup>[17]</sup>。在急性SCI中,自噬可能通过抑制细胞凋亡而起到神经保护作用<sup>[18]</sup>。有研究显示,SCI时神经元、星形胶质细胞和少突胶质细胞均有LC3表达,表明可能激活自噬性细胞死亡,进而导致神经组织损伤<sup>[19]</sup>。可见,SCI时自噬可导致非凋亡的程序性细胞死亡,也就是自噬性细胞死亡。

## 3 程序性坏死

坏死是一种被动的不可调控的细胞死亡类型,其特点是细胞水肿、细胞膜破裂,细胞内信号物质释放导致炎症<sup>[20,21]</sup>。程序性坏死(necroptosis)是一种新命名的PCD方式,是由内在死亡程序调节的坏死性细胞死亡形式,因而不同于凋亡,是一种Fas依赖但不依赖半胱氨酸蛋白酶的非凋亡细胞死亡,具有坏死的形态学特点<sup>[21]</sup>。受体相互作用蛋白家族是主要的程序性坏死调节因子,如受体相互作用蛋白3(receptor interacting protein 3, RIP3),它不但定位在细胞浆,还可出现于细胞核,是一种核浆穿梭蛋白,当细胞受到各种刺激诱导形成坏死复合物,死亡受体与配体结合,如肿瘤坏死因子受体1(TNFR1)能促进高分子复合物形成,即坏死小体<sup>[22,23]</sup>。有研究<sup>[22,23]</sup>发现,坏死复合物中RIP3和RIP1相互作用是启动程序性坏死所必需的重要环节,而此后研究<sup>[22,24]</sup>发现RIP3可单独启动程序性坏死,RIP1可能只参与某种刺激诱导的细胞程序性坏死<sup>[21,24]</sup>。越来越多的证据表明,多种疾病的病理过程中都存在这种死

第一作者简介:男(1995-),学士在读,研究方向:骨科

电话:13261786263 E-mail:maning654@163.com

通讯作者:杨勇 E-mail:0414yang@sina.com

亡形式,如肝损伤、肾损伤、皮肤炎症、急性缺血损伤的视网膜神经元和脑缺血后海马神经元等,均出现 RIP3 表达增加,诱导程序性坏死的细胞死亡<sup>[22,25]</sup>。在 SCI 动物模型中发现,损伤区域 RIP3 蛋白表达明显增高,24h 即可观察到,3d 后达到高峰,直至损伤后 21d,在神经元、星形胶质细胞和少突胶质细胞中均有表达,提示程序性坏死可能发生在 SCI 后的各种神经细胞中,参与神经组织损伤<sup>[26]</sup>。

#### 4 焦亡

焦亡是新发现的一种 PCD 形式,1992 年首先被 Zychlinsky 等提出,2001 年正式命名为 pyroptosis(焦亡)<sup>[27,28]</sup>。焦亡是由前炎症信号触发,与炎症相关的一种细胞死亡形式,它是炎症性半胱氨酸蛋白酶引起的程序性死亡,该半胱氨酸蛋白酶具有蛋白裂解的活性<sup>[28]</sup>。焦亡过程中一个主要的特点是激活 caspase-1, caspase-1 通过炎症小体依赖路径诱导前炎症细胞因子白细胞介素(IL)-1 $\beta$  和 IL-18 成熟<sup>[29]</sup>。炎症性半胱氨酸蛋白酶活化将导致细胞浆膜孔形成,细胞膜通透性增加,离子和水进入细胞内,引起细胞水肿和溶解,细胞内容物释放<sup>[29]</sup>。半胱氨酸蛋白酶(caspase)可引发两种不同类型的程序性细胞死亡,即凋亡和焦亡,但是引起这两种细胞死亡方式的半胱氨酸蛋白酶和诱发过程是不同的,引发凋亡的 caspase 包括对体内、外凋亡信号起反应的启动半胱氨酸蛋白酶(caspase-2、-8、-9、-10)和裂解靶蛋白引起凋亡细胞死亡的效应半胱氨酸蛋白酶(caspase-3、-6、-7)<sup>[30]</sup>。然而,在引起焦亡的过程中,启动和效应半胱氨酸蛋白酶包含在一个炎症焦亡蛋白酶中,参与的半胱氨酸蛋白酶为 caspase-1、-4、-5、-11<sup>[29,31]</sup>。焦亡也可以引起 DNA 损伤,产生 DNA 片段和核浓缩, TUNEL 染色阳性,但比凋亡的染色强度相对弱,焦亡细胞由于细胞膜的小孔形成,可透过正常时不能透过细胞膜的小分子量染料,如 7-aminoactinomycin(7-AAD)或碘化丙啶(PI),导致细胞染色;而凋亡细胞细胞膜完整,有凋亡小体形成,不能被 7-AAD 或 PI 染色<sup>[32,33]</sup>。

SCI 导致的神经元损伤是原发性损伤和继发性损伤的结果,包括炎症损伤和凋亡等。继发性损伤的特点是神经元和胶质细胞进一步损伤导致损伤范围明显扩大,累及更高节段。有多种分子生物学过程参与其中,包括细胞周期相关基因表达的变化、内质网应激、谷氨酸毒性作用、氧自由基产生和炎症细胞因子释放等<sup>[34-36]</sup>。在不同的神经系统疾病中存在炎症小体诱导的焦亡,炎症小体形成激活 caspase-1,随后引起浆膜孔形成,染色体 DNA 断裂,同时, caspase-1 裂解 pro-IL-1 $\beta$  为成熟的前炎症因子 IL-1 $\beta$ <sup>[29,31,37]</sup>。中枢神经系统损伤后,中枢神经细胞均存在炎症小体激活和形成<sup>[31,37,38]</sup>。SCI 时可引起脊髓运动神经元和皮层神经元富含亮氨酸重复的核苷酸结合域的蛋白(nucleotide-binding domain, leucine-rich repeat containing proteins, NOD)样受体蛋白-1(NLRP1)、凋亡相关的包含一个 caspase 募集域的斑点样蛋白(apoptosis-associated speck-like pro-

tein containing a caspase recruitment domain, ASC) 和 caspase-1 的表达。在多种神经系统疾病中存在神经元 NLRP1 炎症小体的形成<sup>[37,39]</sup>。损伤的脊髓中 NLRP1 表达增加,同时 ASC、caspase-1 表达也升高,以便形成 NLRP1 炎症小体,SCI 后触发炎症小体形成的危险因素包括高血糖、 $\beta$ -淀粉样蛋白(amyloid  $\beta$ -protein, A $\beta$ )、Toll 样受体配体、尿酸和三磷酸腺苷(adenosine triphosphate, ATP)诱导的炎症小体激活<sup>[40]</sup>。这些危险因素激活炎症小体可能的机制是脊髓神经元表达嘌呤能受体 4 (purinergic receptors 4, P2X4)、嘌呤能受体 7 (purinergic receptors 7, P2X7), ATP 与其结合可引起不可逆的细胞内钙增高和细胞死亡,也可能是 Toll 样受体(Toll-like receptors, TLRs)诱导 SCI 后 NLRP1 炎症小体形成。P2X7 受体抑制剂可促进 SCI 恢复<sup>[36,37]</sup>。研究发现,SCI 后神经元 NLRP1 炎症小体形成并激活,血红素加氧酶-1(HO-1)的表达与 NLRP1 炎症小体形成有关,HO-1 通过抑制激活转录因子 4 (activating transcription factor 4, ATF4)表达下调 NLRP1 的表达,因此, HO-1 对 SCI 神经元有神经保护作用<sup>[41,42]</sup>。由于对焦亡的认识相对较晚,目前尚缺乏更深入而广泛的研究。

#### 5 四种神经细胞程序性死亡方式之间的相关性

同一个细胞经历不同刺激、在不同的环境条件下可能发生不同形式的死亡,有时可能几种同时存在,四种死亡方式之间存在相关性,分子调节上有交互作用。在轻度应激状态下自噬表现为防止细胞死亡,然而当自噬过度激活时可能促进凋亡的发生, B 淋巴细胞瘤-2 (B-cell lymphoma-2, Bcl-2) 家族蛋白可能同时调节自噬和凋亡,凋亡效应子一旦激活可以抑制自噬,而自噬 Atg 蛋白在自噬/凋亡调节中也起重要的作用<sup>[43,44]</sup>。自噬可调节程序性坏死,另一方面程序性坏死也可诱导自噬,特异的程序性坏死抑制剂 necrostatin-1 (Nec-1) 不仅可抑制程序性坏死,也能抑制自噬发生<sup>[45,46]</sup>。在同一个细胞内可发现凋亡和程序性坏死相互转变,当 caspase-8 被阻断, RIP1 和 RIP3 磷酸化时,激活坏死因子导致程序性坏死,而激活 caspase-8 则导致复合物裂解,减弱 RIP3 作用,导致细胞凋亡,刺激种类不同、细胞株种类不同以及 caspase 活性差异,均可决定细胞发生凋亡还是程序性坏死<sup>[43]</sup>。自噬通过炎症小体激活与焦亡有交互调节作用,一方面自噬蛋白通过稳定线粒体和/或通过自噬调控维持线粒体质量抑制炎症小体激活;另一方面,自噬可促进 caspase-1 激活和 IL-18 和 IL-1 $\beta$  分泌增加<sup>[47]</sup>。

#### 6 总结与展望

在 SCI 病理进程中,神经细胞死亡种类繁多。现有的数据表明,尽管神经细胞以多种方式发生死亡,且每种死亡方式都经由自己特有的信号通路执行,但它们并非各自独立,而是组成了错综复杂的网络。尽管针对不同的环节采取阻断均可减少神经元的丢失,减轻组织的破坏程度,

但是所取得的效果都不甚理想。由此可见,鉴于 SCI 病变机制错综复杂,不能采用单一的手段来对 SCI 患者进行干预。可以预见,随着对其发病机制认识的不断深入,未来的一段时间里,寻求更为安全有效的联合治疗手段将是 SCI 治疗领域的研究重点之一。

## 7 参考文献

1. Lenehan B, Street J, Kwon BK, et al. The epidemiology of traumatic spinal cord injury in british columbia, canada [J]. *Spine*, 2012, 37(4): 321-329.
2. Oyinbo CA. Secondary injury mechanisms in traumatic spinal cord injury: a nugget of this multiply cascade[J]. *Acta Neurobiol Exp(Wars)*, 2011, 71(2): 281-299.
3. Cox A, Varma A, Banik N. Recent advances in the pharmacologic treatment of spinal cord injury [J]. *Metab Brain Dis*, 2015, 30(2): 473-482.
4. Thornberry NA, Lazebnik Y. Caspases: enemies within[J]. *Science*, 1998, 281(5381): 1312-1316.
5. Liu D, Huang Y, Jia C, et al. Administration of antagomir-223 inhibits apoptosis, promotes angiogenesis and functional recovery in rats with spinal cord injury[J]. *Cell Mol Neurobiol*, 2015, 35(4): 483-491.
6. Long Y, Liang F, Gao CJ, et al. Hyperbaric oxygen therapy reduces apoptosis after spinal cord injury in rats [J]. *Int J Clin Exp Med*, 2014, 7(11): 4073-4081.
7. Kato H, Kanellopoulos GK, Matsuo S, et al. Neuronal apoptosis and necrosis following spinal cord ischemia in the rat [J]. *Exp Neurol*, 1997, 148(2): 464-474.
8. Bunge RP, Puckett WR, Bessler JL, et al. Observations on the pathology of human spinal cord injury: a review and classification of 22 new cases with details from a case of chronic cord compression with extensive focal demyelination[J]. *Adv Neurol*, 1993, 59: 75-89.
9. Hu JZ, Huang JH, Zeng L, et al. Anti-apoptotic effect of microRNA-21 after contusion spinal cord injury in rats [J]. *J Neurotrauma*, 2013, 30(15): 1349-1360.
10. Zhang J, Cui Z, Feng G, et al. Rbm5 and p53 expression after rat spinal cord injury: implications for neuronal apoptosis[J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2015, 60: 43-52.
11. Chen KB, Uchida K, Nakajima H, et al. Tumor necrosis factor- $\alpha$  antagonist reduces apoptosis of neurons and oligodendroglia in rat spinal cord injury[J]. *Spine*, 2011, 36(17): 1350-1358.
12. Yu WR, Liu T, Kiehl TR, et al. Human neuropathological and animal model evidence supporting a role for fas-mediated apoptosis and inflammation in cervical spondylotic myelopathy[J]. *Brain*, 2011, 134(Pt5): 1277-1292.
13. Shen HM, Codogno P. Autophagic cell death: Loch Ness monster or endangered species[J]. *Autophagy*, 2011, 7(5): 457-465.
14. Galluzzi L, Vicencio JM, Kepp O, et al. To die or not to die: that is the autophagic question[J]. *Cur Mol Med*, 2008, 8(2): 78-91.
15. Hou H, Zhang L, Zhang L, et al. Acute spinal cord injury in rats should target activated autophagy [J]. *J Neurosurg Spine*, 2014, 20(5): 568-577.
16. Chen HC, Fong TH, Lee AW, et al. Autophagy is activated in injured neurons and inhibited by methylprednisolone after experimental spinal cord injury[J]. *Spine*, 2012, 37(6): 470-475.
17. Choi AM, Ryter SW, Levine B. Autophagy in human health and disease[J]. *New Engl J of Med*, 2013, 368(7): 651-662.
18. Tang P, Hou H, Zhang L, et al. Autophagy reduces neuronal damage and promotes locomotor recovery via inhibition of apoptosis after spinal cord injury in rats [J]. *Mol Neurobiol*, 2014, 49(1): 276-287.
19. Kanno H, Ozawa H, Sekiguchi A, et al. Induction of autophagy and autophagic cell death in damaged neural tissue after acute spinal cord injury in mice[J]. *Spine*, 2011, 36(22): E1427-1434.
20. Puyal J, Ginot V, Clarke P. Multiple interacting cell death mechanisms in the mediation of excitotoxicity and ischemic brain damage: a challenge for neuroprotection[J]. *Prog Neurobiol*, 2013, 105: 24-48.
21. Vandenabeele P, Galluzzi L, Vanden B, et al. Molecular mechanisms of necroptosis: an ordered cellular explosion[J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2010, 11(10): 700-714.
22. Galluzzi L, Vitale I, Abrams J, et al. Molecular definitions of cell death subroutines: recommendations of the Nomenclature Committee on Cell Death 2012 [J]. *Cell Death Differ*, 2012, 19(1): 107-120.
23. Han J, Zhong C, Zhang D. Programmed necrosis: backup to and competitor with apoptosis in the immune system[J]. *Nat Immunol*, 2011, 12(12): 1143-1149.
24. Sun L, Wang H, Wang Z. Mixed lineage kinase domain-like protein mediates necrosis signaling downstream of RIP3 kinase[J]. *Cell*, 2012, 148(1-2): 213-227.
25. Vieira M, Fernandes J, Carreto L, et al. Ischemic insults induce necroptotic cell death in hippocampal neurons through the up-regulation of endogenous RIP3 [J]. *Neurobiol Dis*, 2014, 68: 26-36.
26. Kanno H, Ozawa H, Tateda S, et al. Upregulation of the receptor-interacting protein 3 expression and involvement in neural tissue damage after spinal cord injury in mice [J]. *BMC Neurosci*, 2015, 16: 62.
27. Zychlinsky A, Prevost MC, Sansonetti PJ. Shigella flexneri induces apoptosis in infected macrophages[J]. *Nature*, 1992, 358(6382): 167-169.
28. Cookson BT, Brennan MA. Pro-inflammatory programmed cell death [J]. *Trends Microbiol*, 2001, 9(3): 113-114.
29. Adamczak SE, de Rivero Vaccari JP, Dale G, et al. Pyroptotic neuronal cell death mediated by the AIM2 inflam-

- some[J]. J Cereb Blood Flow Metab, 2014, 34(4): 621-629.
30. Jorgensen I, Miao EA. Pyroptotic cell death defends against intracellular pathogens[J]. Immunol Rev, 2015, 265(1): 130-142.
  31. Kaushal V, Dye R, Pakavathkumar P, et al. Neuronal NLRP1 inflammasome activation of Caspase-1 coordinately regulates inflammatory interleukin-1-beta production and axonal degeneration-associated Caspase-6 activation [J]. Cell Death Differ, 2015, 22(10): 1676-1686.
  32. Bergsbaken T, Fink SL, Cookson BT. Pyroptosis: host cell death and inflammation[J]. Nat Rev Microbiol, 2009, 7(2): 99-109.
  33. Fink SL, Cookson BT. Caspase-1-dependent pore formation during pyroptosis leads to osmotic lysis of infected host macrophages[J]. Cell Microbiol, 2006, 8(11): 1812-1825.
  34. Zhang N, Yin Y, Xu SJ, et al. Inflammation & apoptosis in spinal cord injury[J]. Indian J Med Res, 2012, 135: 287-296.
  35. Ren Y, Young W. Managing inflammation after spinal cord injury through manipulation of macrophage function [J]. Neural Plast, 2013, 2013: 945034.
  36. Liu S, Sarkar C, Dinizo M, et al. Disrupted autophagy after spinal cord injury is associated with ER stress and neuronal cell death[J]. Cell Death Dis, 2015, 6: e1582.
  37. de Rivero Vaccari JP, Brand F 3rd, Adamczak S, et al. Exosome-mediated inflammasome signaling after central nervous system injury[J]. J Neurochem, 2015, 21(Suppl 1): 39-48.
  38. de Rivero Vaccari JP, Bastien D, Yurcisin G, et al. P2X4 receptors influence inflammasome activation after spinal cord injury[J]. J Neurosci, 2012, 32(9): 3058-3066.
  39. Tan CC, Zhang JG, Tan MS, et al. NLRP1 inflammasome is activated in patients with medial temporal lobe epilepsy and contributes to neuronal pyroptosis in amygdala kindling-induced rat model[J]. J Neuroinflammation, 2015, 12: 18.
  40. Hanamsagar R, Hanke ML, Kielian T. Toll-like receptor (TLR) and inflammasome actions in the central nervous system[J]. Trends Immunol, 2012, 33(7): 333-342.
  41. Lin WP, Xiong GP, Lin Q, et al. Heme oxygenase-1 promotes neuron survival through down-regulation of neuronal NLRP1 expression after spinal cord injury[J]. J Neuroinflammation, 2016, 13(1): 52.
  42. D'Oswaldo A, Anania VG, Yu K, et al. Transcription factor ATF4 induces NLRP1 inflammasome expression during endoplasmic reticulum stress [J]. PLoS One, 2015, 10(6): e0130635.
  43. Wu W, Liu P, Li J. Nec: an emerging form of programmed cell death[J]. CritRev Oncol Hematol, 2012, 82(3): 249-258.
  44. Luo S, Rubinsztein DC. Apoptosis blocks Beclin 1-dependent autophagosome synthesis: an effect rescued by Bcl-xl [J]. Cell Death Differ, 2010, 17(2): 268-277.
  45. Wang YQ, Wang L, Zhang MY, et al. Necrostatin-1 suppresses autophagy and apoptosis in mice traumatic brain injury model[J]. Neurochem Res, 2012, 37(9): 1849-1858.
  46. Lu JV, Walsh CM. Programmed necrosis and autophagy in immune function[J]. Immunol Rev, 2012, 249(1): 205-217.
  47. Dupont N, Jiang S, Pilli W, et al. Autophagy-based unconventional secretory pathway for extracellular delivery of IL-1β[J]. EMBO J, 2011, 30(23): 4701-4711.

(收稿日期:2016-08-05 修回日期:2016-09-21)

(本文编辑 李伟霞)

## 消息

## 第十七届全国经椎弓根内固定暨精准脊柱外科新技术学习班通知

近年来,随着脊柱外科技术的进步,椎弓根内固定技术已得到普及,脊柱退行性疾病治疗方式日趋多样化。减压、融合、内固定成为脊柱退行性疾病治疗的基础。如何精准选择减压、融合和内固定的节段,使手术创伤更小、治疗效果更好,是每个脊柱外科医生必须面对的问题。为了加强对脊柱退行性疾病治疗技术的正确认识,中华医学会骨科分会脊柱学组、《中华骨科杂志》、《中国脊柱脊髓杂志》、《脊柱外科杂志》和海军总医院骨科拟定 2017 年 4 月中旬在北京联合举办第十七届全国(军)经椎弓根内固定暨精准脊柱外科新技术学习班,届时将邀请国内著名脊柱外科专家就颈胸腰椎椎弓根应用解剖学研究、颈胸椎经椎弓根内固定及侧块螺钉内固定技术、经椎弓根内固定的并发症与预防措施、脊柱融合方式的选择、多节段脊柱退变减压融合节段的选择、O-arm 数字导航系统如何提高术中椎弓根螺钉置钉的精准性及在复杂疑难脊柱外科病例中的应用、脊柱微创技术的应用等方面进行详细讲解,同时安排学员进行尸体标本(或模型)操作训练。现将有关事宜通知如下。

时间:2017 年 4 月 14~16 日;地点:北京。

报名及征文:北京阜成路 6 号海军总医院骨科何勃主任收,邮编 100048。截止日期:2017 年 3 月 31 日,有意大会发言者请寄 500-800 字摘要。联系电话:010-68780323,010-66958486。E-mail:nghortho@163.com。

费用:参加学习班及研讨会的学员每人交会务费资料费 1000 元,同时参加标本操作者每人另交材料费 500 元(标本数量有限,按报名顺序先后优先安排)。统一安排食宿,费用自理。本学习班属国家级继续医学教育一类项目,学习结束颁发结业证书,记 6 学分。