

Survivin 和 MRP 表达的相关性及与鼻咽癌耐药的关系研究*

杨宁¹ 朱乐攀² 谭潭² 侯春燕¹

[摘要] 目的:探讨 Survivin、多药耐药蛋白(MRP)表达相关性及其与鼻咽癌耐药之间的关系。方法:本研究首先采用免疫组织化学法检测 Survivin 和 MRP 在 45 例鼻咽癌和 24 例正常鼻咽黏膜上皮组织中的表达,分析其表达与鼻咽癌临床病理特征之间的关系;其次,检测 Survivin 和 MRP 在 31 例鼻咽癌紫杉醇耐药患者与 20 例紫杉醇非耐药患者中的表达,分析它们的表达相关性及其与鼻咽癌耐药的关系;最后采用浓度递增法持续诱导建立鼻咽癌化疗耐药细胞株 5-8F-PTX(+),Western blot 检测 Survivin 和 MRP 在 5-8F-PTX(+)和 5-8F 中的表达情况。结果:Survivin 在鼻咽癌组织中的阳性率为 71.1%(32/45),明显高于正常鼻咽黏膜组织 8.33%(2/24)($P < 0.05$);Survivin 表达与鼻咽癌的分化程度、淋巴结和远处转移以及临床分期有关,与年龄、性别无关;低分化鼻咽癌中 Survivin 表达阳性率为 79.5%(31/39),明显高于中分化鼻咽癌的 16.7%(1/6),二者比较差异有统计学意义($P < 0.05$);Survivin 在鼻咽癌化疗耐药患者中表达阳性率为 83.9%(26/31),明显高于非耐药患者 45.0%(9/20),二者比较差异有统计学意义($P < 0.05$);MRP 在鼻咽癌化疗耐药患者中表达阳性率为 87.1%(27/31),明显高于非耐药患者 40.0%(8/20),二者比较差异有统计学意义($P < 0.05$);31 例鼻咽癌化疗耐药患者中 Survivin 和 MRP 的表达呈正相关;Survivin 和 MRP 在 5-8F-PTX(+)中表达水平明显高于非耐药的 5-8F;5-8F-PTX(+)耐药细胞株中,紫杉醇、顺铂、5-FU、长春新碱耐药的 IC₅₀ 值均明显高于亲本 5-8F 组。结论:Survivin 表达与鼻咽癌的分化、转移和临床分期有关,可作为鼻咽癌发生、发展的分子标记物;Survivin 和 MRP 高表达与鼻咽癌细胞的耐药性增加有关。

[关键词] 鼻咽肿瘤;抗药性;肿瘤;生存素;多药耐药相关蛋白

doi:10.13201/j.issn.1001-1781.2015.03.011

[中图分类号] R739 **[文献标志码]** A

Study of the relationship among expression of Survivin and MRP and the drug resistance in human nasopharyngeal carcinoma

YANG Ning¹ ZHU Le pan² TAN Tan² HOU Chun yan¹

(¹Department of Otorhinolaryngology, the First People's Hospital of Chenzhou, Chenzhou, 423000, China; ²Department of Inspection, the First People's Hospital of Chenzhou)

Corresponding author: HOU Chunyan, E-mail: tantan1413@126.com

Abstract Objective: This study aimed to explore the relationship among expression of Survivin and MRP and drug resistance in NPC. **Method:** Expression of Survivin were detected by immunohistochemistry method in 45 cases of NPC and 24 cases of normal mucous membrane of nasopharynx (NMMN). The relationship between expression of Survivin and pathological factors in NPC were analyzed. Expression of Survivin and MRP were detected in 31 patients of NPC with paclitaxel resistance and 20 patients of NPC without paclitaxel resistance. The relationship among the expression of Survivin or MRP and paclitaxel resistance in NPC were analyzed. The paclitaxel resistance cell line, 5-8F-PTX(+), was established by a step-increased method. The expression of Survivin and MRP were detected by western blot in 5-8F-PTX(+) and 5-8F. **Result:** The positive were 71.1% (32/45) in NPC and 8.33% (2/24) in NMMN. And there were significantly differences between them ($P < 0.05$). There were relationship among expression of Survivin and differentiation degree, lymph node metastasis, distant metastasis, and clinic stages of NPC. The positive were 75.9% (31/39) in moderately differentiated NPC and 16.7% (1/6) in lowly differentiated NPC, respectively. There were significantly differences between them ($P < 0.05$). The positive of Survivin were 83.9% (26/31) in NPC patients with paclitaxel resistance and 45.0% (9/20) in NPC patients without Paclitaxel resistance, respectively. There were significantly differences between them ($P < 0.05$). The positive of MRP were 87.1% (27/31) in NPC patients with paclitaxel resistance and 40.0% (8/20) in NPC patients without paclitaxel resistance, respectively. There were significantly differences between them ($P < 0.05$). There were positive correlation between the expression of Survivin and MRP in NPC patients with Paclitaxel re-

* 基金项目:湖南省卫生厅项目(No:B2010-27);郴州市科技局项目(No:2011-33)

¹郴州市第一人民医院耳鼻咽喉科(湖南郴州,423000)

²郴州市第一人民医院检验科

通信作者:侯春燕, E-mail: tantan1413@126.com

sistance. The expression of Survivin and MRP were higher in 5-8F-PTX(+) than in 5-8F. The IC_{50} of paclitaxel, cDDP, 5-FU and Vincristine were significantly higher in 5-8F-PTX(+) than in 5-8F. **Conclusion:** There were relationship among the expression of Survivin and difference, metastasis and TNM stages of NPC. Survivin may serves as a molecular marker for development and progress in NPC. There were relationship among the high expression of Survivin and MRP and increasing of drug resistance in NPC.

Key words nasopharyngeal neoplasms; drug resistance, neoplasm; Survivin; multidrug-associated protein

生存素(Survivin)是凋亡抑制蛋白家族的主要成员之一,是一种主要的凋亡抑制蛋白,同时可调节细胞的有丝分裂,是一种双功能蛋白^[1]。研究发现,许多恶性肿瘤组织中 Survivin 的表达增高;Survivin 所具备的强大的凋亡抑制作用与肿瘤细胞的多药耐药性(MDR)有关^[2];有研究发现,Survivin 和 MRP 在肺癌组织中共同表达,两者可能均与肺癌的耐药有关^[3]。通过研究 Survivin 和 MRP 之间及与鼻咽癌耐药之间的关系,有助于了解鼻咽癌化疗耐药产生的分子机制。

1 材料与方法

1.1 材料

45 例鼻咽癌石蜡标本(男 30 例,女 15 例;年龄 26~71 岁)、24 例正常鼻咽黏膜组织石蜡标本(男 16 例,女 8 例;年龄 24~72 岁),均来源于 2010—2012 年湖南省肿瘤医院和郴州市第一人民医院门诊或住院患者。45 例鼻咽癌患者中,呈中分化 6 例,低分化 39 例。

31 例鼻咽癌化疗耐药和 20 例非耐药患者均来源于郴州市第一人民医院耳鼻咽喉科 2010—2012 年收住的患者,临床化疗方案为:紫杉醇+顺铂联合治疗,即紫杉醇: 135 mg/m^2 , 第 1 天;顺铂 30 mg/m^2 , 第 1~3 天。临床化疗耐药判断标准:化疗前和化疗结束后第 3 天拍摄患者同一部位的 CT 片,在计算机上计算肿块大小,肿块体积无明显变小为耐药患者,体积变小则认为是治疗有效(非耐药)患者。鼻咽癌化疗患者共 41 例,其中男 29 例,女 22 例,28~61 岁,中位年龄 46 岁,均为晚期鼻咽癌患者。入组条件:①局部症状严重者;②临床 T_3 、 T_4 期患者;③颈部发生较大或较多的淋巴结转移者;④各种原因造成不能及时放疗者。

1.2 免疫组织化学

免疫组织化学染色采用 SP 法,具体步骤按照试剂说明书操作。结果判断:阳性表达物质一般分布于胞质中。根据染色强度一般分为四级:胞质不着色为阴性(-);淡黄色为弱阳性(+);棕黄色为阳性(++);棕褐色为强阳性(+++)。表达阳性率=(弱阳性+阳性+强阳性)/总例数 $\times 100\%$ 。

1.3 紫杉醇鼻咽癌耐药细胞株的建立

采用药物浓度递增法持续诱导人鼻咽癌 5-8F 对紫杉醇耐药。选用临床用的紫杉醇注射剂(四川

太极制药有限公司产品,规格:5 ml,30 mg/支),生理盐水稀释后,加入到 10 ml 的培养液中。按照初始浓度为 $0.1 \mu\text{mol/L}$,逐步将浓度增加到 0.25、0.5、1.0、2.0、4.0、8.0、16.0、32.0 $\mu\text{mol/L}$ 。 $1.0 \mu\text{mol/L}$ 浓度持续性筛选 1 个月,获得鼻咽癌紫杉醇耐药细胞株 5-8F-PTX(+)

1.4 Western blot 检测

步骤如下:①收集 108 个鼻咽癌细胞,裂解,离心收集总蛋白,测定蛋白浓度;②加入适量的上样缓冲液后,100℃左右的水浴变性 5 min;③凝胶电泳(SDS-PAGE):样品置于冰上冷却 5 min 后进行电泳,电压为 100 V,分离蛋白条带直至凝胶底部为止;④转膜:将含有蛋白的凝胶置于两层 PVDF 膜之间,用夹板加压固定后进行转膜,设置条件如下:电压 100 V,60 min;⑤丽春红染色 3~5 min;⑥配置新鲜的 5%脱脂牛奶,封闭约 2 h;⑦一次性杂交袋中加入适量的封闭液和一抗(浓度为 1:1000),室温摇晃 2 h;⑧杂交袋中先后加入适量封闭液和二抗,室温摇晃 2 h;⑨在暗室中,将 PVDF 膜压在医用 X 光片上,曝光 1 min,最后显影、定影、洗片、扫描。

1.5 IC_{50} 值的检测及计算方法

选取对数生长期的不同细胞株,调整细胞的密度为 $1 \times 10^5/\text{ml}$ 。在 96 孔培养板的每孔中均加入 100 μl 的待检测细胞。细胞贴壁后,每孔当中加入 100 μl 的培养基和不同浓度的抗肿瘤药物:紫杉醇、顺铂、长春新碱和 5-氟尿嘧啶(5-FU),总体积 200 μl 。每组药物均设 5 个浓度梯度和 1 个空白对照组。细胞培养 72 h 后,加入 10 mg/ml 的 MTT 15 μl ,继续培养 4 h,将上清吸弃。再加入 200 μl 的二甲基亚砜,轻微振荡使得结晶完全溶解。在 570 nm 波长在酶标仪上检测每孔的吸光度(OD 值)。 IC_{50} 的计算方法:以 Excell 软件对数据进行分析,药物的抑制率 = $1 - (\text{试验组的 OD 值} / \text{对照组的 OD 值})$,X 轴表示浓度,Y 轴代表药物的抑制率,绘制出不同药物的生长抑制曲线,通过计算即可分别得到各个药物的 IC_{50} 值。耐药指数(RI) = 实验组 IC_{50} 值/对照组 IC_{50} 值。

1.6 统计学处理

应用 SPSS 18.0 软件进行统计学分析,计数资料两两比较采用 χ^2 检验,相关性检测采用 Pearson's R 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 Survivin 在鼻咽癌和正常鼻咽黏膜组织中的表达

Survivin 表达阳性率在鼻咽癌中为 71.1% (32/45),明显高于正常鼻咽黏膜组织中 8.33% (2/24),两者之间的 Survivin 表达有显著性差异 (P<0.05),见图 1 和表 1。

2.2 Survivin 表达与鼻咽癌临床病理特征的关系

Survivin 表达与鼻咽癌的分化程度、淋巴结和远处转移、临床分期有关,与年龄、性别无关。低分化鼻咽癌中 Survivin 的表达阳性率为 79.5% (31/39),明显高于中分化鼻咽癌的 16.7% (1/6),两者比较差异有统计学意义 (P<0.05),见表 1 和图 1。

2.3 Survivin 在鼻咽癌化疗耐药患者与非耐药患者中的表达

Survivin 表达阳性率在鼻咽癌化疗耐药患者中为 83.9% (26/31),明显高于非耐药患者 45.0% (9/20),两者比较差异有统计学意义 (P<0.05)。见图 2。

2.4 MRP 在鼻咽癌化疗耐药患者与非耐药患者中的表达

MRP 表达阳性率在鼻咽癌化疗耐药患者中为 87.1% (27/31),明显高于非耐药患者 40.0% (8/20),两者比较差异有统计学意义 (P<0.05)。见图 3。

2.5 鼻咽癌耐药患者中 Survivin 和 MRP 表达的相关性

31 例鼻咽癌化疗耐药患者中 Survivin 和 MRP 表达均阳性为 25 例, Survivin 和 MRP 表达均阴性

为 3 例, Pearson 相关性检验发现 Survivin 和 MRP 的表达为正相关 (相关系数 R=0.616, P<0.05)。

2.6 Survivin 和 MRP 在鼻咽癌细胞株中的表达情况

Survivin 和 MRP 在耐药细胞株 5-8F-PTX(+) 中的表达明显高于其亲本细胞株 5-8F (图 4)。

表 1 Survivin 表达与鼻咽癌临床病理特征的关系 例 (%)

	例数	Survivin 表达	
		阴性	阳性
年龄/岁			
>60	25	7(28.0)	18(72.0)
≤60	20	6(30.0)	14(70.0)
性别			
男	30	9(30.0)	21(70.0)
女	15	4(26.7)	11(73.3)
分化程度			
中分化	6	5(83.3)	1(16.7) ¹⁾
低分化	39	8(20.5)	31(79.5)
淋巴结转移			
有	33	5(15.2)	28(84.8) ²⁾
无	12	8(66.7)	4(33.3)
远处转移			
有	24	3(12.5)	21(87.5) ³⁾
无	21	10(47.6)	11(52.4)
临床分期			
I+II	13	10(76.9)	3(23.1) ⁴⁾
III+IV	32	3(9.4)	29(90.6)

与低分化比较,¹⁾ P<0.05;与无淋巴结转移比较,²⁾ P<0.05;与无远处转移比较,³⁾ P<0.05;与 III+IV 期比较,⁴⁾ P<0.05。

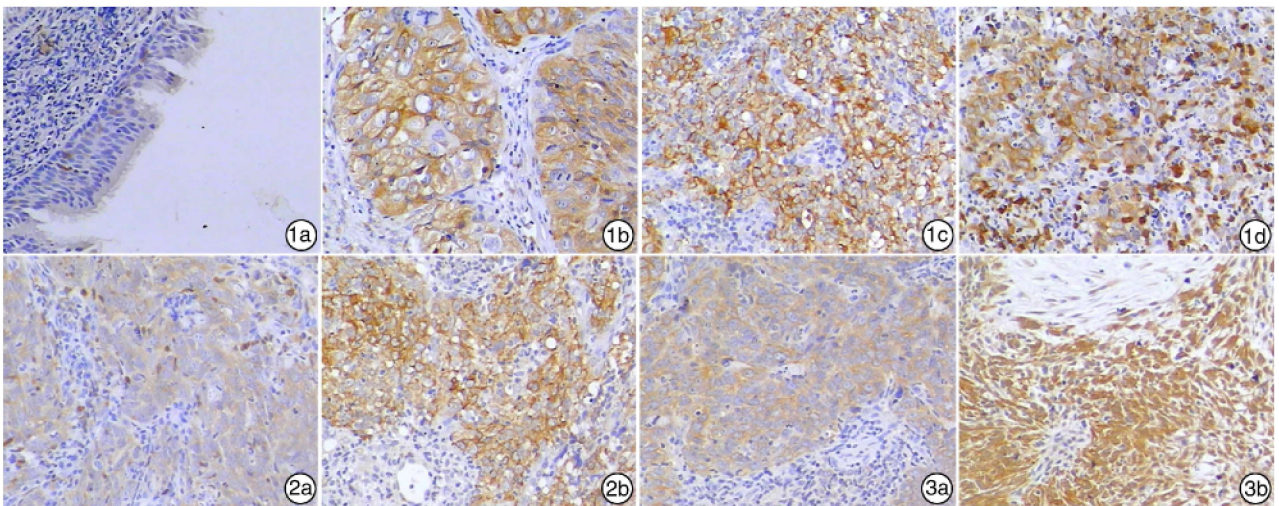


图 1 Survivin 在鼻咽癌和正常鼻咽黏膜组织中的表达 (×200) 1a:正常鼻咽黏膜 Survivin(-);1b:中分化鼻咽癌 Survivin(+~+++);1c:低分化鼻咽癌 Survivin(++);1d:低分化鼻咽癌 Survivin(+++); 图 2 Survivin 在鼻咽癌化疗耐药患者与非耐药患者中的表达 (×200) 2a:鼻咽癌化疗非耐药患者 Survivin(+);2b:鼻咽癌化疗耐药患者 Survivin(+++); 图 3 MRP 在鼻咽癌化疗耐药患者与非耐药患者中的表达 (×200); 3a:化疗非耐药鼻咽癌患者 MRP(+);3b:化疗耐药鼻咽癌患者 MRP(+++)。

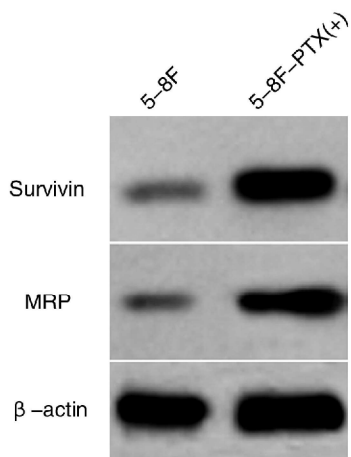


图 4 Survivin 和 MRP 在不同鼻咽癌细胞株中的表达

5-FU、长春新碱耐的 IC₅₀ 值均明显高于亲本 5-8F 组；其中鼻咽癌细胞对紫杉醇的耐药指数最高，增加到 92.7，对 5-FU 的耐药性最差，耐药指数增加到 2.7，说明所建立的 5-8F-PTX(+) 耐药细胞株具有多药耐药性(表 2)。

表 2 不同药物在 5-8F-PTX(+) 和 5-8F 中的 IC₅₀ 值及耐药指数

化疗药物	IC ₅₀ / (μmol · ml ⁻¹)		耐药指数
	5-8F	5-8F-PTX(+)	
紫杉醇	1.012 2 ± 0.065 4	93.906 1 ± 1.967 3	92.7
顺铂	1.532 6 ± 0.058 7	52.629 3 ± 1.012 5	34.3
长春新碱	1.958 7 ± 0.051 2	39.445 6 ± 0.958 5	20.1
5-FU	78.134 5 ± 5.563 0	212.102 2 ± 12.259 5	2.7

3 讨论

Survivin 是目前已发现的效果最强的凋亡抑制因子，具有高度的组织特异性和强大的细胞抗凋亡活性^[4]。Survivin 已知的主要功能是调节细胞周期和抗凋亡^[5]。Survivin 在人类的某些组织(如胚胎组织和已发育成熟的胎儿组织)中可以表达，而在正常成年人的胸腺、睾丸、分泌期子宫内膜等组织中表达下调^[6]；有人对人类肿瘤细胞库中的 60 种人类肿瘤细胞株检测 Survivin 的表达，结果发现均有 Survivin 的表达^[7]；有人检测了 Survivin 和凋亡相关蛋白在 50 例头颈部鳞状细胞癌(其中 38 例为喉癌，12 例为口腔癌)组织切片中的表达情况，发现 Survivin 在喉癌中过表达，与喉癌的发生发展存在密切关系^[8]。本研究发现：Survivin 表达在鼻咽癌中高于正常鼻咽黏膜组织；其表达与鼻咽癌的分化程度、淋巴结和远处转移以及临床分期有关；低分化鼻咽癌中 Survivin 的表达阳性率明显高于中分化鼻咽癌。鼻咽癌的分化越差，Survivin 表达水平反而越高，Survivin 有望作为临床上鼻咽癌

发生发展的分子标记物。

紫杉醇在临床上具有较好的疗效以及广谱的抗肿瘤活性，是目前临床上头颈肿瘤治疗的主要化疗药物之一，由于在不同肿瘤类型上均广泛使用紫杉醇进行化疗，导致临床上越来越多的患者出现了紫杉醇的 MDR 现象，MDR 往往是临床上肿瘤耐药的主要原因^[9]；由于 MDR 的出现，导致同一种肿瘤对于不同的化疗药物产生耐药性(即多药耐药性)是临床上联合化疗失败的重要原因^[10]。肿瘤耐药的产生与很多原因有关，其中起主要作用的蛋白有 MRP、LRP 等^[11]。MRP 介导的耐药分子机制主要与以下几个方面有关：首先，MRP 能介导多种抗肿瘤药物的转运，它能将抗肿瘤药物运输到胞外，使得胞内药物的有效浓度降低，从而导致肿瘤细胞耐药；其次，MRP 能导致细胞毒抗肿瘤药物在胞内重新分配，使抗肿瘤药物无法与药物靶点进行结合，限制了药物对细胞内靶点的作用，间接导致耐药；第三，MRP 还可通过影响细胞内的 pH 值及改变细胞膜通透性等方法导致耐药发生^[12-13]。

Survivin 与 MRP 的关系密切，有研究报道，MRP 可与 Survivin 共同存在于肺癌组织中，参与肿瘤耐药^[3]。本研究发现：Survivin 在鼻咽癌化疗耐药患者中表达阳性率明显高于非耐药患者；MRP 在鼻咽癌化疗耐药患者中表达阳性率明显高于非耐药患者，说明 Survivin 和 MRP 表达增加均与临床鼻咽癌化疗耐药有关。

同时，本研究还发现：鼻咽癌化疗耐药患者中 Survivin 和 MRP 的表达为正相关；且 Survivin 和 MRP 在鼻咽癌耐药细胞株 5-8F-PTX(+) 中的表达均明显高于 5-8F，说明 Survivin 和 MRP 高表达与鼻咽癌细胞对紫杉醇的耐药性增加存在一定的关系。

本研究获得的鼻咽癌紫杉醇耐药细胞株具有耐药性稳定、所需时间短等特点。间歇大剂量冲击法因细胞损伤大、剂量不易掌握、耗时长，因此，科研人员一般均选择浓度递增法持续诱导建立耐药细胞株。本研究发现：鼻咽癌紫杉醇耐药细胞株 5-8F-PTX(+) 中，紫杉醇、顺铂、5-FU、长春新碱的 IC₅₀ 值均明显高于亲本 5-8F 组，说明鼻咽癌紫杉醇耐药细胞株对其他抗肿瘤药物均产生耐药性，即具有 MDR，可用于鼻咽癌 MDR 分子机制的研究。

总之，本研究发现 Survivin 表达与鼻咽癌的分化、转移和临床分期有关，可作为鼻咽癌发生发展的分子标记物；Survivin 和 MRP 之间的表达具有相关性，Survivin 可能通过上调 MRP 表达，引起临床上鼻咽癌产生化疗耐药性。目前，对 Survivin 在鼻咽癌多药耐药分子机制中的作用尚处于初步阶段，值得进一步研究。

参考文献

- [1] CHEN C, YANG H L, CHEN K W, et al. High expression of survivin in sacral chordoma [J]. *Med Oncol*, 2013, 30:529-529.
- [2] GE Q X, LI Y Y, NIE Y Q, et al. Expression of survivin and its four splice variants in colorectal cancer and its clinical significances [J]. *Med Oncol*, 2013, 30:535-536.
- [3] 刘东华, 章霞芝, 陈兴无, 等. Survivin、MDR1、MRP 在非小细胞肺癌中的表达及意义 [J]. *实用肿瘤杂志*, 2008, 23(2):126-129.
- [4] WANG S J, WEI A L, ZHANG Y Q. Aitongxiao recipe regulated survivin and Bcl-2 in rats' transplanted hepatoma carcinoma cell [J]. *Zhongguo Zhong Xi Yi Jie He Za Zhi*, 2012, 32:1652-1657.
- [5] MA Q, WANG X, LI Z, et al. microRNA-16 represses colorectal cancer cell growth in vitro by regulating the p53/survivin signaling pathway [J]. *Oncol Rep*, 2013, 29:1652-1658.
- [6] OLSEN A L, DAVIES J M, MEDLEY L, et al. Quantitative analysis of survivin protein expression and its therapeutic depletion by an antisense oligonucleotide in human lung tumors [J]. *Mol Ther Nucleic Acids*, 2012, 1:e30.
- [7] POH Y W, GAN S Y, TAN E L. Effects of IL-6, IL-10 and TGF- β on the expression of survivin and apoptosis in nasopharyngeal carcinoma TW01 cells [J]. *Exp Oncol*, 2012, 34:85-89.
- [8] 郭强中, 李云英. 金喉片对喉癌裸鼠移植瘤中 Survivin 和 PTEN 的影响 [J]. *临床耳鼻咽喉头颈外科杂志*, 2012, 26(24):1134-1137, 1143.
- [9] JIANG D, SUI M, ZHONG W, et al. Different administration strategies with paclitaxel induce distinct phenotypes of multidrug resistance in breast cancer cells [J]. *Cancer Lett*, 2013, 335:404-411.
- [10] ZHOU J, ZHAO W Y, MA X, et al. The anticancer efficacy of paclitaxel liposomes modified with mitochondrial targeting conjugate in resistant lung cancer [J]. *Biomaterials*, 2013, 34:3626-3638.
- [11] BORSKA S, CHMIELEWSKA M, WYSOCKA T, et al. In vitro effect of quercetin on human gastric carcinoma: targeting cancer cells death and MDR [J]. *Food Chem Toxicol*, 2012, 50:3375-3383.
- [12] LIU D, LIU Y, LIU M, et al. Reversing resistance of multidrug-resistant hepatic carcinoma cells with parthenolide [J]. *Future Oncol*, 2013, 9:595-604.
- [13] WU Z, LI X, ZENG Y, et al. In vitro and in vivo inhibition of MRP gene expression and reversal of multidrug resistance by siRNA [J]. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*, 2011, 108:177-184.

(收稿日期:2014-07-01)

第 14 届中南六省耳鼻咽喉头颈外科学术会议 暨湖北省 2015 年耳鼻咽喉头颈外科学术年会征文及会议通知

湖北省医学会定于 2015 年 3 月 19 日-21 日在武汉市中南花园饭店召开“第 14 届中南六省耳鼻咽喉头颈外科学术会议暨 2015 年湖北省耳鼻喉科学术年会”。本次会议由湖北省医学会主办、湖北省医学会耳鼻咽喉-头颈外科分会承办,会议为 2015 年湖北省继续医学教育项目,参会代表均可授予省级 I 类继续教育学分(5 分)。本次大会将专题报告、大会发言、圆桌讨论等多种形式,将邀请国内相关领域著名专家就该领域的最新进展作专题报告,并安排了相关手术演示。诚邀广大耳鼻咽喉头颈外科同道踊跃投稿,共襄盛会,期待在届时樱花盛开的江城武汉与您相聚!

学术联系人:武汉大学人民医院耳鼻咽喉-头颈外科 陈始明:13971454493;华中科技大学协和医院耳鼻咽喉-头颈外科 陈雄:13995599373。**投稿内容:**①耳鼻咽喉-头颈外科的临床研究;②耳鼻咽喉-头颈外科的基础研究;③耳鼻咽喉-头颈外科临床经验总结、技术革新、个案报道;④耳鼻咽喉-头颈外科的护理。**投稿要求:**①凡未在公开学术刊物发表过的论文均可投稿;②摘要(500~800 字)一份,内容包括目的、方法、结果、结论及作者单位、通讯地址等内容;③请采用电子邮件方式投稿至:mazhelan@163.com。截稿日期:2015 年 2 月 15 日。**会议费用:**注册费 600 元/人,会务组统一安排食宿,费用自理(住宿标准每天 300~480 元/间)。**报名方式:**请填写报名回执卡并加盖公章,于 2015 年 3 月 1 日前以邮寄或 E-mail 的形式通知会务组,需要会议通知者请与马哲兰(手机 13317182054, E-mail:mazhelan@163.com, Fax:027-88043958)老师联系,邮寄地址:武汉市武昌解放路 238 号武汉大学人民医院耳鼻咽喉-头颈外科 马哲兰收,邮政编码:430060。**会议报到时间及地点:**2015 年 3 月 19 日全天报到。地址:武汉市武昌区中南花园饭店(市内乘坐各路公交车至丁字桥站下车即到,搭乘地铁可在宝通寺站下车后向丁字桥方向步行 300 米即到)。

湖北省医学会

湖北省医学会耳鼻咽喉-头颈外科学分会