

姜黄素下调 mTOR 诱导人肺癌 A549 细胞自噬的研究

何 聪¹, 陈清勇², 王 剑¹, 唐夏莉², 焦德敏²

(1. 浙江中医药大学第二临床医学院, 浙江 杭州 310053;

2. 中国人民解放军第 117 医院, 浙江 杭州 310004)

摘 要: [目的] 研究姜黄素诱导人肺癌 A549 细胞自噬现象及与哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mTOR)的关系。[方法] 采用 CCK-8 法检测姜黄素对 A549 细胞增殖的抑制作用; 采用吖啶橙染色(AO)及转染 GFP-LC3 质粒荧光显微镜下观察姜黄素处理后 A549 细胞的自噬现象; 采用 Western blot 法检测微管相关蛋白轻链 II (LC3 II)、微管相关蛋白轻链 I (LC3 I)、mTOR 表达的变化。[结果] 姜黄素对人肺癌 A549 细胞增殖有明显抑制作用, 且成明显的剂量—时间依赖关系。AO 染色结果显示, 与对照组相比, 姜黄素 40 μmol/L 组及 Rapa 组细胞内酸性滤泡染成亮红色荧光比例增多; 与姜黄素 40 μmol/L 组相比, 姜黄素 40 μmol/L+自噬抑制剂 3-甲基腺嘌呤(3-MA)组及 3-MA 组亮红色荧光比例下降。细胞转染 GFP-LC3 后姜黄素 40 μmol/L 组和 Rapa 组细胞浆内点状的绿色荧光斑点明显; 与姜黄素 40 μmol/L 组相比, 姜黄素 40 μmol/L+3-MA 组及 3-MA 组细胞浆内点状的绿色荧光斑点明显比例有所下降。Western blot 法检测结果显示, 与对照组相比, 姜黄素 40 μmol/L 组作用 24h 后, LC3-II/LC3-I 表达显著升高($P<0.05$), 姜黄素 40 μmol/L + 3-MA 组 LC3 II/LC3-I 表达低于姜黄素 40 μmol/L 组($P<0.05$)。姜黄素 40 μmol/L 组 mTOR 表达显著下降($P<0.01$), 姜黄素 40 μmol/L+3-MA 组 mTOR 表达高于姜黄素 40 μmol/L 组($P<0.05$)。[结论] 姜黄素能够明显抑制 A549 细胞增殖并诱导 A549 细胞发生自噬, 同时还能够明显抑制 mTOR 蛋白的表达水平, 其机理可能与 mTOR 的信号通路有关。

关键词: 姜黄素; 自噬; 微管相关蛋白轻链; 哺乳动物雷帕霉素靶蛋白; 肺肿瘤

中图分类号: R734.2 **文献标识码:** A **文章编号:** 1671-170X(2014)05-0363-06

doi: 10.11735/j.issn.1671-170X.2014.05.B003

Curcumin Inducing Autophagy in Lung Cancer A549 Cells Through Down-regulation of mTOR

HE Cong¹, CHEN Qing-yong², WANG Jian¹, et al.

(1. The 2nd Clinical Medical College of Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou 310053, China; 2. PLA 117th Hospital, Hangzhou 310004, China)

Abstract: [Purpose] To study the effect of curcumin inducing autophagy in human lung cancer A549 cells and the association with mTOR. [Methods] The inhibition of curcumin on A549 cells were detected by CCK-8 method. Autophagy was observed by the fluorescence microscope through acridine orange staining and the GFP-LC3 plasmid transfecting. Expression of microtubule associated protein light chain II (LC3 II), microtubule associated protein light chain I (LC3 I), mammals rapamycin target protein (mTOR) changes were evaluated by Western blot method. [Results] The proliferation of A549 lung cancer cells were significantly inhibited by curcumin in a dose-time dependent manner. AO staining showed that, compared with control group, the intracellular acid dye follicular bright red fluorescence ratio were increased in the curcumin 40 μmol/L group and Rapa group. Compared with curcumin 40 μmol/L group, red fluorescence ratio were decreased in curcumin 40 μmol/L combined with autophagy inhibitor 3-methyl adenine (3-MA) group and 3-MA group. Intracytoplasmic GFP-LC3 dotted green fluorescence spots were significantly increased in the curcumin 40 μmol/L and Rapa group, and decreased in curcumin 40 μmol/L+3-MA group and 3-MA group compared with 40 μmol/L curcumin group. Compared with control group, LC3-II/LC3-I expression significantly increased in curcumin 40 μmol/L group ($P<0.05$). LC3-II/LC3-I expression decreased in curcumin 40 μmol/L+3-MA group compared with curcumin 40 μmol/L group ($P<0.05$). mTOR expression was significantly decreased in curcumin 40 μmol/L group ($P<0.01$), while it was higher in curcumin 40 μmol/L + 3-MA group ($P<0.05$). [Conclusion] The proliferation of A549 cells could be significantly inhibited by curcumin, that may involve in cell autophagy, and mTOR may play an important role in this process.

Subject words: curcumin; autophagy; microtubule associated protein light chain (LC3); mammals rapamycin target protein(mTOR); lung neoplasms

基金项目: 浙江省中医药科学研究基金计划(2011ZA093)

通讯作者: 陈清勇, 主任, 硕士生导师, 博士; 中国人民解放军 117 医院呼吸内科,

浙江省杭州市江干区机场路 40 号(310004), E-mail: cqy117@163.com

收稿日期: 2014-01-15; **修回日期:** 2014-03-11

自噬是细胞对内外环境压力变化的一种反应,是蛋白降解和细胞器循环的一种途径,指双层膜包裹部分的胞浆和细胞内需降解的细胞器、蛋白质等成分形成自噬小体后,与溶酶体融合形成自噬溶酶体并降解其内容物的过程^[1]。自噬可以导致细胞死亡,被认为是区别于凋亡的另一种细胞程序性死亡^[2]。姜黄是传统的中药,是姜科植物的根茎,姜黄素是从姜黄中提取的酚类色素,为姜黄的主要有效成分,大量研究表明,姜黄素具有确切的抗肿瘤活性,以及抑制肿瘤侵袭和转移的作用。目前国内外对姜黄素抗肿瘤作用的研究主要集中在抗肿瘤细胞增殖、诱导细胞凋亡、抑制肿瘤血管生成和抑制黏附分子表达等方面,对于姜黄素是否能诱导肺癌 A549 细胞产生自噬现象以及相关机制国内外文献报道较少,其作用机制也不清楚。在前期研究中我们发现姜黄素能诱导 A549 细胞凋亡^[3]。在此基础上,我们进一步探讨姜黄素诱导人肺癌 A549 细胞自噬的相关现象及机制。

1 材料与方法

1.1 材料

人肺癌 A549 细胞购于中科院上海细胞库;胎牛血清、RM-1640 培养液,杭州吉诺生物技术有限公司;姜黄素、自噬抑制剂 3-甲基腺嘌呤(3-MA)、自噬诱导剂雷帕霉素(rapamycin, Rapa)、吖啶橙溶液购自美国 Sigma 公司;pcDNA3.1-GFP-LC3 真核表达载体,上海吉玛;鼠抗人 β -actin 抗体、LC3 抗体、哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mTOR)抗体,美国 Santa Cruz 公司。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养

A549 细胞培养于含 10%胎牛血清的 RM-1640 培养液中,置于 37℃、5%CO₂、饱和湿度培养箱内,每天换液 1 次,每 2~3d 传代 1 次,取对数生长期的细胞进行后续试验。

1.2.2 CCK-8 法检测不同浓度的姜黄素不同时间对细胞增殖的影响

收集对数期细胞,调整细胞悬液浓度,每孔加入 200 μ l,铺板使待测细胞密度调至 5 000 个/孔,边缘孔用无菌 PBS 填充,5%CO₂,37℃孵育培养过夜。加

入浓度梯度 0、5、10、20、40、60、80 μ mol/L 的姜黄素,每梯度 6 个复孔,每孔保证体积为 200 μ l,5%CO₂,37℃孵育。分别在 24h、48h 时每孔加入 20 μ l CCK-8 溶液,继续培养 2h 后终止培养。用酶标仪测定在 450nm 处的吸光值,实验重复 3 次。

1.2.3 吖啶橙染色法观察姜黄素处理后肺癌 A549 细胞中的自噬囊泡

收集对数期细胞,调整细胞悬液浓度,将 A549 细胞接种于 24 孔板(5 $\times$ 10⁶ 个/孔),5%CO₂,37℃孵育培养。分别加入姜黄素 0 μ mol/L、40 μ mol/L、3-MA、Rapa、姜黄素 40 μ mol/L+3-MA。各组药物作用于肺癌 A549 细胞 24h 后,吸尽旧培养液,用 PBS 缓冲液清洗 1 遍,加入终浓度为 1 μ g/ml 的吖啶橙溶液,避光染色 15min。弃去吖啶橙溶液,用 PBS 缓冲液清洗 3 遍,在倒置荧光显微镜下观察细胞形态,实验重复 3 次。

1.2.4 GFP-LC3 转染

收集对数期细胞,调整细胞悬液浓度 5.0 $\times$ 10⁴ 个/ml,接种于 24 孔板,每孔加入 500 μ l 培养液,5% CO₂,37℃孵育培养过夜。构建 pcDNA3.1-GFP-LC3 真核表达载体,将该质粒导入肺癌 A549 细胞,转染 24h 后,分别加入姜黄素 0 μ mol/L、40 μ mol/L、3-MA、Rapa、姜黄素 40 μ mol/L+3-MA,药物作用 24h 后,在倒置荧光显微镜下观察 GFP-LC3 的分布。

1.2.5 Western blot 检测

取对数生长期的 A549 细胞,分成空白对照组、姜黄素 40 μ mol/L 组、Rapa10 μ mol/L 组、姜黄素 40 μ mol/L+3-MA500 μ mol/L 组、3-MA500 μ mol/L 组,5 组细胞同时在 37℃、5% CO₂ 环境中培养 24h 后。利用 RAPI 裂解液(20mmol/L Tris, 2.5mmol/L EDTA, 1% Triton X-100, 1% deoxycholate, 0.1% SDS, 40mmol/L NaF, 10mmol/L Na₄P₂O₇ and 1mmol/L PMSF) 每个泳道上蛋白样品 20 μ g,经 10%聚丙烯酰胺凝胶 SDS-PAGE 电泳后,利用湿转法将蛋白转移至 PVDF 膜上,用含 5%BSA 的 PBST 封闭 1h,分别加入对应一抗 4℃孵育过夜,PBST 洗涤 3 次;加入 HRP 标记的二抗孵育 2h。在膜上加入化学发光剂,通过凝胶成像系统获得条带。

1.3 统计学处理

所有实验均独立重复 3 次,计量资料数据结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示。使用 SPSS12.0 统计分析软件进行统计学处理。组间比较采用 ANOVA 统计分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 姜黄素对肺癌 A549 细胞增殖的影响

CCK-8 检测结果显示,与对照组相比,姜黄素作用于肺癌 A549 细胞 24h 或 48h 后,20、40、60、80 $\mu\text{mol/L}$ 各剂量组吸光度显著降低 (Figure 1, Table 1, $P<0.05$),且成剂量—时间依赖关系。

2.2 吖啶橙染色观察姜黄素处理后肺癌 A549 细胞中的自噬囊泡变化

与对照组相比,姜黄素 40 $\mu\text{mol/L}$ 作用于肺癌 A549 细胞 24h 后,细胞内酸性滤泡染成亮红色荧光比例增多;联合使用自噬抑制剂 3-MA 后,亮红色荧

光比例下降 (Figure 2);Rapa 组亮红色荧光比例最大,3-MA 组最少,且少于对照组 (Figure 2)。

Table 1 The effect of curcumin on cell viabilities rate in different group after 24h or 48h

Concentration of curcumin ($\mu\text{mol/L}$)	N	24h		48h	
		Cell viability	P	Cell viability	P
0	5	1.00 $\pm$ 0.13	—	1.00 $\pm$ 0.10	—
5	5	0.95 $\pm$ 0.08	0.25	0.91 $\pm$ 0.06	0.05
10	5	1.05 $\pm$ 0.22	0.33	0.84 $\pm$ 0.13	0.03
20	5	0.77 $\pm$ 0.08	0.01	0.65 $\pm$ 0.09	0.00
40	5	0.53 $\pm$ 0.10	0.00	0.46 $\pm$ 0.09	0.00
60	5	0.38 $\pm$ 0.06	0.00	0.17 $\pm$ 0.05	0.00
80	5	0.35 $\pm$ 0.08	0.00	0.05 $\pm$ 0.03	0.00

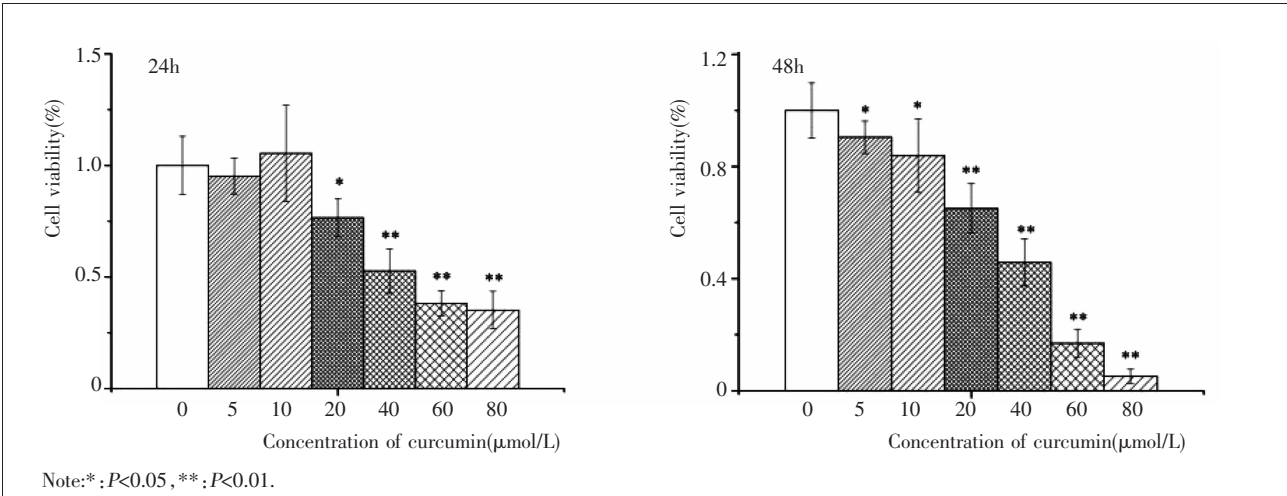


Figure 1 Proliferation of A549 cells after treated with curcumin 24h or 48h

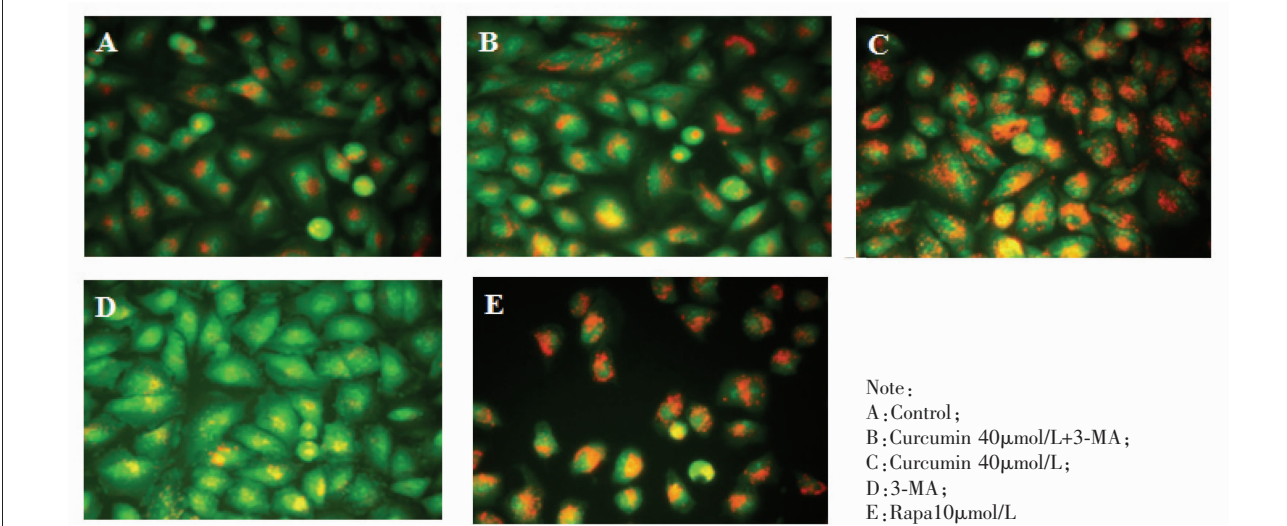
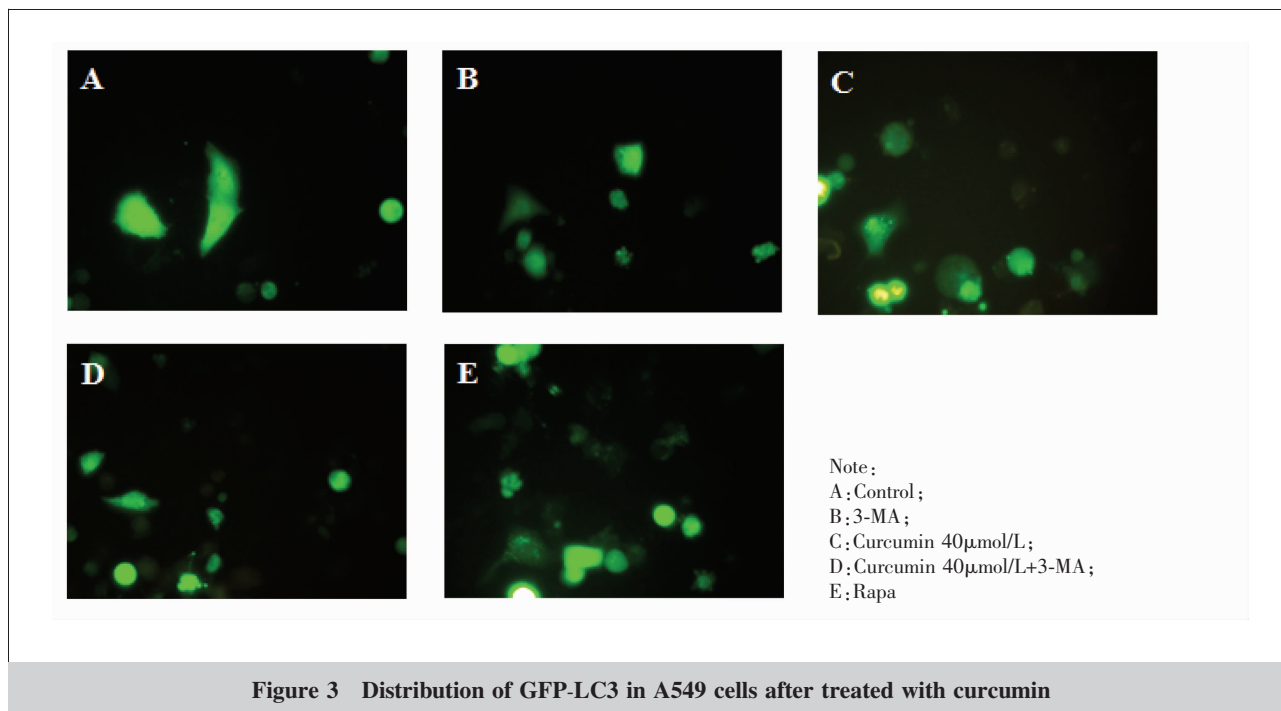


Figure 2 The change of autophagy vesicles in A549 cells after treated with curcumin



2.3 姜黄素对肺癌 A549 细胞 GFP-LC3 质粒分布的影响

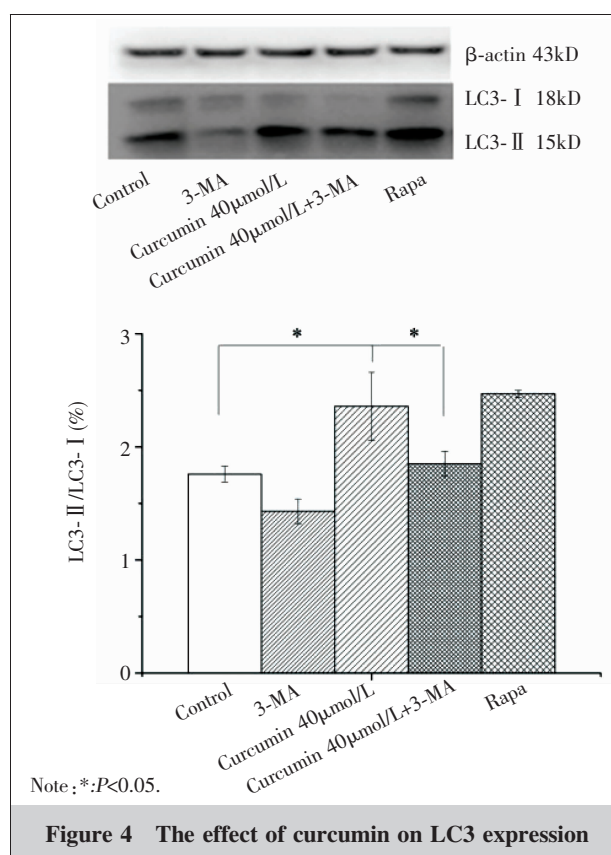
GFP-LC3 质粒转染肺癌 A549 细胞并用药物处理 24h 后,与对照组相比,姜黄素 40 μmol/L 和 Rapa 组胞浆内点状的绿色荧光斑点明显;与姜黄素 40 μmol/L 组相比,姜黄素 40 μmol/L + 3-MA 组胞浆内点状的绿色荧光斑点明显比例有所下降,提示姜黄素 40 μmol/L 能诱导细胞发生自噬(Figure 3)。

2.4 姜黄素作用肺癌 A549 细胞后对 LC3 蛋白表达变化的影响

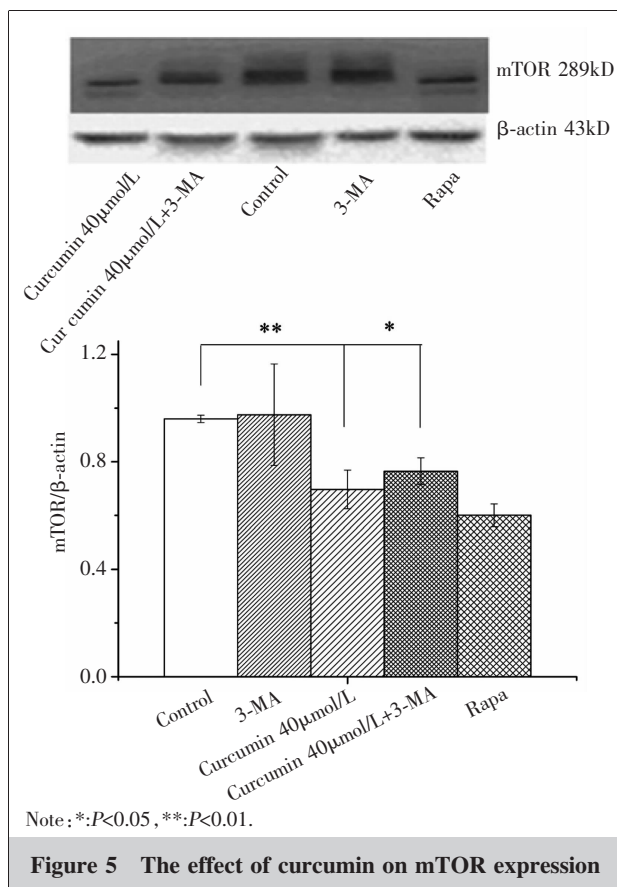
Western blot 法检测结果显示,药物作用于肺癌 A549 细胞 24h 后,与对照组相比,姜黄素 40 μmol/L 组 LC3- II / LC3- I 显著升高 ($P < 0.05$),但未高于自噬的诱导剂 Rapa 组;与姜黄素 40 μmol/L 组相比,姜黄素 40 μmol/L + 3-MA 组 LC3- II / LC3- I 低于姜黄素 40 μmol/L 组 ($P < 0.05$) (Figure 4)。说明姜黄素 40 μmol/L 组能诱导自噬相关蛋白 LC3 表达的变化,提示姜黄素能诱导 A549 细胞发生自噬。

2.5 姜黄素作用肺癌 A549 细胞后对 mTOR 表达变化的影响

mTOR 是哺乳动物 PI3K/Akt 通路的下游效应物,其活性是自噬体形成、成熟的关键。Western blot 法检测结果显示,药物作用于肺癌 A549 细胞 24h 后,与对照组相比,姜黄素 40 μmol/L 组 mTOR 表达



显著下降 ($P < 0.01$),但未低于自噬的诱导剂 Rapa 组;与姜黄素 40 μmol/L 组相比,姜黄素 40 μmol/L + 3-MA 组 mTOR 表达显著升高 ($P < 0.05$) (Figure 5)。



3 讨论

姜黄素是从姜科姜黄属植物姜黄根茎中提取的一种酚性色素,已有研究表明其具有抗肿瘤、抗氧化、抗炎、调节多药耐药基因的作用^[4,5],目前研究主要集中在诱导细胞凋亡等方面。近年来研究表明不同细胞自噬能力不同,但是在癌变之后其自噬能力有所减弱,即在一些药物作用下,自噬可以在肿瘤细胞中被激活^[6,7],表明自噬在肿瘤的发生、发展及治疗过程中有一定的作用。最近的研究表明姜黄素能够诱导肿瘤细胞自噬的发生,张绪明等^[8]认为姜黄素通过诱导自噬抑制脑胶质瘤 U87 细胞增殖。潘红宁等^[9]认为姜黄素抑制白血病 K562 细胞的增殖通过诱导自噬和凋亡。孙焰等^[10]的研究表明,姜黄素联合雷帕霉素可共同诱导 Pten-CaP8 细胞自噬及凋亡且效果显著,两者协同抗癌机制与其拮抗 PI3K/Akt/mTOR 信号通路相关。有关姜黄素类似物 EF24 诱导 A549 细胞自噬的研究文献已见少数报道^[11],但姜黄素是否诱导 A549 细胞自噬及其相关机制,目前尚

不清楚。在前期研究中我们发现姜黄素能诱导 A549 细胞凋亡^[3],发现姜黄素作用 A549 细胞后细胞凋亡率呈剂量—时间依赖性,而且预实验研究发现姜黄素 40μmol/L 浓度作用 A549 细胞 24h 后细胞凋亡较明显。因此,我们选择姜黄素 40μmol/L 用于后续实验进一步探讨姜黄素是否能诱导人肺癌 A549 细胞发生自噬现象。

LC3 是酵母自噬基因 Apg8/Aut7p 的哺乳动物同源物,目前认为细胞中 LC3 II 的含量和细胞内自噬泡的数量成正相关,可以反映细胞的自噬现象和细胞内自噬泡的多少,是研究自噬现象的标志分子。细胞发生自噬时,细胞内的 LC3 含量明显增高,LC3- I 向 LC3- II 的转化也明显增多,可以通过检测细胞内 LC3- II/LC3- I 来判断细胞是否发生了自噬现象^[12]。转染 pcDNA3.1-GFP-LC3 细胞发生自噬时,LC3 就会从胞质转移到自噬体膜上。GFP-LC3 融合蛋白就会聚在自噬泡上,因此在会形成点状或呈环的荧光,而没有发生自噬的细胞,GFP-LC3 融合蛋白就会弥散在细胞质中^[13]。本研究结果表明姜黄素能够抑制 A549 细胞增殖并诱导 A549 细胞发生自噬。本研究结果发现 40μmol/L 姜黄素给药 24h 后 LC3- II/LC3- I 比值升高。由于自噬的特点,药物诱导肿瘤细胞产生自噬会出现两种不同的结果,一种是保护细胞防止周围环境带来的损害,另一种是启动细胞主动性的 II 型细胞死亡程序^[13]。3-MA 是一种常用的自噬抑制剂,使用 3-MA 抑制自噬后发现 3-MA 减弱了姜黄素对 A549 细胞自噬水平的抑制作用,表明自噬是姜黄素的抗肿瘤作用机制而不是细胞自身的一种保护性机制。

mTOR 是哺乳动物 PI3K/Akt 通路的下游效应物,它可以调节翻译的启动和延长、核糖体的生物合成、氨基酸的转运、与代谢途径有关的酶的转录,而且 mTOR 是氨基酸和 ATP 的感受器,其活性是自噬体形成、成熟的关键^[13]。本研究还发现姜黄素抑制 A549 细胞增殖并诱导 A549 细胞发生自噬的同时还能够明显抑制 mTOR 蛋白的表达水平,提示姜黄素可能通过下调 mTOR 蛋白表达水平从而抑制细胞增殖,促进自噬体的形成。目前关于姜黄素如何通过 mTOR 调节肺癌细胞自噬的研究文献较少,本研究推测 PI3K/Akt/mTOR 信号通路可能参与姜黄素诱导的自噬,具体的机制有待于进一步研究。

参考文献:

- [1] Lee HM, Shin DM, Yuk JM, et al. Autophagy negatively regulates keratinocyte inflammatory responses via scaffolding protein p62/SQSTM1 [J]. Immunol, 2011, 186(2): 1248-1258.
- [2] Ding WX, Manley S, Ni HM. The emerging role of autophagy in alcoholic liver disease[J]. Exper Biol Med, 2011, 236(5): 546-556.
- [3] Chen QY, Lu GH, Wu YQ, et al. Curcumin induces mitochondria pathway mediated cell apoptosis in A549 lung adenocarcinoma cells[J]. Oncol Rep, 2010, 23(5): 1285-1292.
- [4] Antosiewicz J, Ziolkowski W, Kar S, et al. Role of reactive oxygen intermediates in cellular responses to dietary cancer chemopreventive agents[J]. Planta Med, 2008, 74(13): 1570-1579.
- [5] Choi BH, Kim CG, Lim Y, et al. Curcumin down-regulates the multidrug-resistance mdr1b gene by inhibiting the PI3K/Akt/NFκB pathway [J]. Cancer Lett, 2008, 259(1): 111-118.
- [6] Kanzawa T, Germano I M, Komata T, et al. Role of autophagy in temozolomide-induced cytotoxicity for malignant glioma cells[J]. Cell Death Differ, 2004, 11(4): 448-457.
- [7] Edinger AL, Thompson CB. Death by design: apoptosis, necrosis and autophagy [J]. Curt Opin Cell Biol, 2004, 16(6): 663-669.
- [8] Zhang XM, Lan Q. Inhibitory effect of curcumin on the proliferation of malignant glioma cells U87 by inducing autophagy [J]. Chinese Journal of Minimally Invasive Neurosurgery, 2010, 15(5): 231-233. [张绪明, 兰青. 姜黄素诱导自噬抑制脑胶质瘤 U87 细胞增殖的研究[J]. 中国微侵袭神经外科杂志, 2010, 15(5): 231-233.]
- [9] Pan HN, Liang ZQ, Jia YL, et al. The research of inhibition of leukemia K562 cell proliferation induced by curcumin [J]. Chinese Traditional Patent Medicine, 2010, 32(2): 202-205. [潘红宁, 梁中琴, 贾艳丽, 等. 姜黄素对白血病 K562 细胞增殖抑制作用的研究[J]. 中成药, 2010, 32(2): 202-205.]
- [10] Sun ZY, Niu JZ. Autophagy and apoptosis of Pten-CaP8 cells in castration refractory prostate cancer induced by curcumin combined with Rapamycin [J]. Chinese Traditional and Herbal Drugs, 2012, 43(3): 520-523. [孙焰瑛, 牛建昭. 姜黄素联合雷帕霉素诱导去势难治性前列腺癌 Pten-CaP8 细胞自噬及凋亡研究 [J]. 中草药, 2012, 43(3): 520-523.]
- [11] Wang Y, Zhou T, Sun HY, et al. The relationship between autophagy and apoptosis of A549 cells induced by Curcumin analogues EF24 [J]. Chinese Journal of Cell Biology, 2012, 34(6): 590-596. [汪宇, 周桃, 孙韩艳, 等. 姜黄素类似物 EF24 诱导 A549 细胞自噬及凋亡关系的研究[J]. 中国细胞生物学学报, 2012, 34(6): 590-596.]
- [12] Kabeya Y, Mizushima N, Ueno T, et al. LC3, a mammalian homologue of yeast Apg8p, is localized in autophagosome membranes after processing [J]. EMBO J, 2000, 19(21): 5720-5728.
- [13] Yu YX, Gu ZL, Qin ZH, et al. The role of autophagy in pharmacological actions of anticancer drugs [J]. Chinese Pharmacological Bulletin, 2006, 22(2): 137-141. [虞燕霞, 顾振纶, 秦正红, 等. 自噬激活与抗肿瘤药物的作用[J]. 中国药理学通报, 2006, 22(2): 137-141.]

《肿瘤学杂志》投稿须知

1. 文稿务必材料可靠, 数据准确, 论点清楚, 论据充足, 结论明确。
2. 文字通顺、准确和简练, 重点突出, 层次清楚。论著需附结构式摘要, 包括目的、方法、结果、结论四部分。中文摘要 200~300 字; 英文摘要务必与中文摘要一一对应翻译。英文摘要前加英文文题、作者姓名汉语拼音、单位英文全称、所在城市名及邮政编码。
3. 图表请附中英文各一份, 包括图表的题目、内容及注释。
4. 所列参考文献限作者亲自阅读的已发表的近 3 年文献为主, 按文内引用先后顺序列于文末, 并在正文内引文处右上角以 [] 号注明序号。具体格式举例如下:
期刊: [序号] 作者 (3 位以下全部写出, 不同作者姓名中间加逗号, 英文文献作者为姓全称, 加名缩写; 3 位以上时只写前 3 位, 于后加 “, 等.” 或 “, et al.) 文题 [J]. 刊名 (英文为缩写), 年, 卷 (期): 起页-止页。
书籍: [序号] 作者. 书名 [M]. 版本. 出版地 (即城市名): 出版者, 出版年. 起页-止页。
学位论文: [序号] 作者. 学位论文名 [D]. 城市: 培养单位, 年。
电子文献: [序号] 作者. 题名 [电子文献类型]. 可获得的网址, 发表或更新的日期。
其中, 电子文献类型, 是网上期刊时, 用 [J/OL]; 是网上电子公告时, 用 [EB/OL]; 是网上联机数据库时, 用 [DB/OL]。
特别注意的是, 所有中文文献, 需同时附原刊物中的英文翻译。
5. 有通讯作者的文稿, 请在文章首页左下角注明通讯作者职务、职称、学位、工作单位 (详细到科室)、详细通讯地址 (邮编) 和 E-mail。
6. 本刊启用稿件远程处理系统, 只接受网上投稿, 网址 <http://www.chinaoncology.cn>。不再接收电子邮件投稿和纸质稿。
网上投稿成功 1 周内, 请将稿件处理费 20 元通过邮局汇款至编辑部 (务必注明第一作者姓名、稿号和详细地址); 并将单位介绍信邮寄至编辑部。若文稿内容受国家或省、校级项目资助, 请附上基金项目批文的复印件, 并在正文首页脚注中说明。
7. 编辑部对来稿有文字修改权, 凡涉及内容的修改, 则提请作者考虑, 文责自负。文稿一般不退, 请作者自留底稿。来稿一经录用, 收取一定版面费, 发表后寄赠当期杂志 2 册并酌付稿酬。