

LncRNA ASB16-AS1 促进胶质瘤细胞的增殖、侵袭和迁移

张德龙,周黄贵,刘俊,刘杰,毛捷

(皖南医学院第一附属医院/弋矶山医院神经外科,安徽 芜湖 241000)

摘要:目的 探讨 lncRNA ASB16-AS1 在不同 WHO 分级胶质瘤标本中的表达量变化,以及在胶质瘤细胞系 LN382 U87MG 中验证 lncRNA ASB16-AS1 对增殖、迁移、侵袭功能的影响。方法 使用 qRT-PCR 技术检测 lncRNA ASB16-AS1 在临床肿瘤样本中表达量,分析 lncRNA ASB16-AS1 是否存在差异表达以及与肿瘤分期分级有无相关性。在 LN382、U87MG 细胞系上使用 siRNA 抑制 lncRNA ASB16-AS1 的表达,检验 NC 组(转染 negative siRNA)和 silence 组(转染 lncRNA ASB16-AS1 siRNA)在实时细胞分析(Real-time cell analysis, RTCA)增殖实验、划痕试验和 Transwell 实验上是否有肿瘤功能改变。结果 肿瘤组织分期分级越高 lncRNA ASB16-AS1 表达量越高。在两个细胞系上进行的划痕试验结果显示, silence 组愈合速度慢于 NC 组($P < 0.01$)。RTCA 增殖曲线显示 silence 组增殖速度慢于 NC 组($P < 0.01$)。Transwell 侵袭、迁移试验接种 12 h 后穿透到底面的细胞 silence 组少于 NC 组($P < 0.01$)。结论 肿瘤组织分期分级越高 lncRNA ASB16-AS1 表达量越高。lncRNA ASB16-AS1 在胶质瘤中起到促进肿瘤增殖、侵袭、迁移作用。

关键词: 神经胶质瘤;长链非编码 RNA;ASB16-AS1

中图分类号: R730.264

文献标识码: A

文章编号: 1001-5817(2018)06-0520-06

doi:10.3969/j.issn.1001-5817.2018.06.003

LncRNA ASB16-AS1 promotes proliferation, migration and invasion of glioma cells

Zhang Delong, Zhou Huangui, Liu Jun, Liu Jie, Mao Jie

(Department of Neurosurgery, Yijishan Hospital of Wannan Medical College, Wuhu 241001, Anhui, China)

Abstract: **Objective** To investigate the expression changes of lncRNA ASB16-AS1 in different WHO graded glioma specimens and to verify the effects of lncRNA ASB16-AS1 on proliferation, invasion and migration of glioma LN382 and U87MG cell lines. **Methods** The qRT-PCR technique was used to detect the expression of lncRNA ASB16-AS1 in clinical glioma tissue samples, and it was analyzed whether lncRNA ASB16-AS1 was differentially expressed and whether it was associated with tumor staging and grading. siRNA was used to inhibit the expression of lncRNA ASB16-AS1 in LN382 and U87MG cell lines. The NC group (negative siRNA transfection) and the silence group (lncRNA ASB16-AS1 siRNA transfection) were examined to confirm whether tumor function changed or not in real-time cell analysis (RTCA) proliferation test, scratch test and Transwell test. **Results** The higher stage and grade glioma tissues had higher expression of ASB16-AS1. The scratch test performed for the two cell lines showed that the healing speed of the silence group was slower than that of the NC group ($P < 0.01$). The proliferation curve of RTCA showed that the proliferation rate of the silence group was slower than that of the NC group ($P < 0.01$). After 12-hour inoculation in Transwell invasion and migration test, the cells penetrating to the bottom surface were less in silence group than that in NC group ($P < 0.01$). **Conclusion** The glioma tissues with higher stage and grade have higher expression of lncRNA ASB16-AS1. lncRNA ASB16-AS1 in gliomas promotes tumor proliferation, invasion and migration.

Key words: glioma; long non-coding RNA; ASB16-AS1

脑胶质瘤是最常见的脑部肿瘤。根据 2016 年 WHO 标准^[1],胶质瘤被分为低级别胶质瘤(WHO I 和 II)和高级别胶质瘤(WHO III 和 IV)。约 90% 脑胶

质母细胞瘤患者无低级别胶质瘤病史被诊断为原发性胶母 WHO IV 级^[2]。当前除了手术治疗、放射治疗、化疗外无其他公认的治疗方法^[3-4],虽然手术治疗、放

基金项目:国家自然科学基金面上项目(81572486)

第一作者简介:张德龙(1989-),男,在读硕士研究生,研究方向:胶质瘤的基础和临床研究,E-mail:zdl361@126.com

通信作者简介:毛捷(1970-),男,博士,教授,研究方向:胶质瘤的基础和临床研究,E-mail:myw921@yahoo.com

射治疗、化疗的治疗方法取得了一些进展^[5],但胶质瘤整体预后并不乐观,尤其是胶母细胞瘤,中位生存期只有14个月^[6]。因此研究影响胶质瘤侵袭迁移等功能的分子机制有重要意义。

长链非编码RNA(long noncoding RNA, lncRNA)传统的定义是长度大于200碱基的RNA链,并且无蛋白质编码能力。现有的研究表明lncRNA可以参与调控转录^[7]、翻译^[8-10]、蛋白质细胞定位。本文试图找寻新的可能有重要功能的lncRNA,通过挖掘TCGA胶质瘤数据库发现lncRNA ASB16-AS1在胶质瘤组织中显著上调($P < 0.001$),且ROC曲线的曲线下面积 > 0.85 ,这证明了lncRNA ASB16-AS1有深入研究价值。在本实验中我们证实lncRNA ASB16-AS1能促进胶质瘤细胞的增殖、侵袭、迁移。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 TCGA数据库 使用R语言TCGAbiolinks包下载胶质瘤RNA测序的FPKM表达数据。该数据共计包含174例样本,其中5例正常,13例复发胶母细胞瘤,156例胶母细胞瘤。使用HGNC提供的Complete HGNC dataset文件对TCGA数据集的Ensembl gene ID进行注释。该数据的locus_type字段表示了基因是mRNA还是lncRNA,根据locus_type字段可以筛选出已鉴定为lncRNA的RNA表达值以供差异分析。使用limma包分析差异基因,差异标准

设定为 $|\log_2FC| > 1$,校正 P 值 < 0.001 。使用ROCR包分析ROC曲线和曲线下面积(AUC值),筛选出 $AUC > 0.85$ 的基因进一步研究。

1.1.2 胶质瘤样本 合计14例正常组织样本和29例低级别胶质瘤(WHO I和II),49例高级别胶质瘤(WHO III和IV)样本来自皖南医学院第一附属医院,时间范围2013年1月—2017年12月。入选标准年龄40~90岁,平均(58.32±10.47)岁,诊断为胶质瘤(WHO I~IV级),无严重慢性病,无其他肿瘤病史,无特殊污染物接触史(放射污染、致癌化工污染),入选采集部位:额叶、颞叶、岛叶、胼胝体区、顶后叶。14例正常组织来自外伤病人,所有入选病人手术前同意参与科研项目,本研究得到医院伦理委员会批准。样本采集后放于液氮中,Trizol法提取的RNA储存于-80℃冰箱。样本根据WHO病理分级进行分组。由于大部分样本采集自额叶和颞叶,其他区域样本量较少,根据采集区域进行分组后统计功效较差,因此本文并未讨论采集区域与表达水平的关系。

1.1.3 细胞系 人类胶质瘤细胞系(LN382, U87MG)从中科院上海细胞库购买[Chinese Academy of Science Cell Bank (Shanghai, P. R. China)]。所有细胞系都使用含10%血清的DMEM高糖培养基培养(HyClone)。培养液不含青霉素和链霉素。所有细胞系都在5%CO₂的37℃培养箱中培养。

1.1.4 试剂/试剂盒 见表1。

表1 试剂/试剂盒说明

用途	试剂/试剂盒	公司
总RNA提取	TRIzol reagent	Invitrogen™
lncRNA逆转录	RevertAid First Strand cDNA Synthesis Kit # K1622	Thermo
PCR荧光染料(SYBR)	QuantiNova™ SYBR®GreenPCRkit	QuantiNova
目的基因敲减	lncRNAASB16-AS1siRNA/NC	锐博公司
助转染试剂	riboFECT™CP	锐博公司

1.2 方法 本研究使用siRNA抑制lncRNA ASB16-AS1的表达量。对LN382和U87MG细胞系分别进行如下分组:NC组(转染negative siRNA)、silence组(转染lncRNA ASB16-AS1 siRNA)。用RTCA增殖实验、Transwell侵袭迁移实验、划痕试验检测细胞在沉默lncRNA ASB16-AS1后增殖、侵袭、迁移功能变化。具体实验方法如下。

1.2.1 Quantitative Real-Time PCR 总RNA使用Trizol法从组织或细胞中提取,取1 μg总RNA作为逆转录模板,按照K1622逆转录试剂盒说明书进行逆转录。逆转录成功后使用QuantiNova™ SYBR® Green PCR kit在QuantStudio3仪器上进行荧光定量

PCR,实验具体操作步骤遵循对应试剂盒说明书。引物:GAPDH(product length = 123) Forward 5'-GCCTGCTTCACCACCTTCT-3'; GAPDH Reverse 5'-GAACGGGAAGCTCACTGG-3'; lncRNA ASB16-AS1(product length = 130) Forward 5'-CGGCCCTGAGGCAAACATAC-3'; lncRNA ASB16-AS1 Reverse 5'-TGAAACACTGCGCCAACTTC-3'。

1.2.2 细胞转染 lncRNA ASB16-AS1 siRNA转染使用锐博公司提供的siRNA和NC(negative siRNA)。转染试剂使用锐博公司提供的riboFect™ CP。siRNA-ASB16-AS1序列5'-GGTTCTGAATCATTCAGTT-3'。按终浓度100 nM转染。转染具体步

骤遵循 riboFect™ CP 试剂盒说明书。

1.2.3 RTCA 增殖实验 RTCA(Real Time Cellular Analysis)中文名为实时细胞分析技术。可实现实时、动态的对细胞进行定量分析,可用于追踪细胞增殖、迁移和浸润。本实验采用 xCELLigence RTCA DP (model:3×16) 仪器,实验开始前 RTCA 机器整体置于 5%CO₂ 37℃ 细胞培养箱内,待 RTCA 机器温度与培养箱内一致方可开始实验。

实验使用 E-Plate16 板一共 16 个孔,以下描述的是单个细胞系的单次实验,每个孔加入含 10% 血清高糖 DMEM 培养基 50 μl 取得背景读数,随后按照 150 μl/孔加入对数期细胞悬液。设细胞浓度 5000 个/孔。接种细胞后将 E-Plate16 室温放置 20 min 后置入 xCELLigence RTCA DP 仪器开始记录数据,连续观察 120 h。本实验中细胞约在 24 h 增长加速,48 h 达到对数期,100 h 达到平台期。因此选择第 24 h 按 100nM siRNA 转染浓度进行转染。4 个孔转染 lncRNA ASB16-AS1 silence,4 个孔转染 NC。

1.2.4 划痕试验 实验在 6 孔板中进行,以下描述的是单个细胞系的单次实验。在 6 孔板每孔均匀接种 2×10^5 个细胞,接种 24 h 后(细胞密度约为 60%)取 3 个孔转染 NC,3 个孔转染 lncRNA ASB16-AS1 silence。转染 24 h 后(细胞密度约为 90%)取其中一个 NC 和一个 silence 孔提取 RNA 测定转染效率,剩下两个 NC 和两个 silence 孔进行划痕。并从划痕后实验孔更换无血清培养基并以此时为 0 h,依次记录 0 h、12 h、24 h 划痕生长照片,并测定距离。愈合率按照以下公式计算:

0 h 和第 n h 划痕距离分别记为: D_{0h} D_{nh}

$$\text{愈合率 } R = \frac{(D_{0h} - D_{nh})}{D_{0h}}$$

1.2.5 Transwell 迁移 本实验使用康宁 Transwell 小室,以下描述的是单个细胞系的单次实验。细胞在 6 孔板中转染完成后,用胰酶消化细胞,离心后使用无血清培养基悬浮细胞,并调整细胞浓度到 1.333×10^5 /ml 细胞。Transwell 迁移试验上室每孔加入 150 μl 转染后细胞其中 4 个 NC 4 个 silence,下室加入 600 μl 含 10% 血清培养基。接种完细胞放入细胞培养箱培养。以接种为 0 点,第 12 h 后结晶紫染色拍照,每次拍摄 4 个 NC 孔 4 个 silence 孔。用棉签擦去 Transwell 小室内侧面细胞后用 4% 多聚甲醛固定 10 min。固定后用 PBS 冲去多聚甲醛,用 0.1% 结晶紫溶液染色 10 min。PBS 冲洗后拍照。

1.2.6 Transwell 侵袭 本实验使用康宁 Transwell 小室,以下描述的是单个细胞系的单次实验。本实验流程和 Transwell 迁移实验一样。基质胶使用 BD

Matrigel™ 低浓度基质胶,1:5 稀释后备用。在种细胞前需要每个 Transwell 小室内铺上 30 μl 稀释后基质胶。放入细胞培养箱 4 h 后待基质胶凝固后按照 Transwell 迁移步骤接种细胞、培养,在接种后第 24 h 取出小室染色、拍照。

1.3 统计学方法 对正态分布的所有数据使用 ($\bar{x} \pm s$) 表示,实验组和对照组之间的比较采用非配对 Student's t-test 多组间采用 ANOVA,统计分析使用 R 语言完成。

2 结果

2.1 TCGA 数据库的差异表达分析和 ROC 曲线 lncRNA ASB16-AS1 在 TCGA FPKM 数据中分布(见图 1A),统计分析证明 lncRNA ASB16-AS1 在 Primary 组(原发组)相对 Normal 组(正常组)显著上调 ($P < 0.001$),并且检验功效 > 0.9 。lncRNA ASB16-AS1 在肿瘤组(Primary 组 + Recur 组)相对 Normal 组也显著上调 ($P < 0.001$)。在 Recur 组(复发组)和 Normal 组也有显著意义 ($P < 0.01$),但样本量较少检验功效不佳。lncRNA ASB16-AS1 在 Recur 组(复发组)和 Primary 组(原发组)之间差异无统计学意义。ROC 曲线(见图 1B)显示 lncRNA ASB16-AS1 的表达量与胶质母细胞瘤诊断有强相关性,曲线下面积(Area under curve, AUC)达到 0.969。TCGA 数据库提示 lncRNA ASB16-AS1 有深入研究意义。

2.2 lncRNA ASB16-AS1 在胶质瘤组织中明显上调且与分期分级显著相关 lncRNA ASB16-AS1 在 TCGA 数据库中已表现为明显上调。我们在临床胶质瘤标本中用 qRT-PCR 技术检测 lncRNA ASB16-AS1 的表达,结果显示 lncRNA ASB16-AS1 的表达量和 WHO 高低分级成显著相关(见图 1C),这显示了 lncRNA ASB16-AS1 增加趋势下患者 WHO 分期也呈递增趋势。在组织标本中的 ROC 曲线(见图 1D)曲线下面积达到 0.94,这与 TCGA 数据相符。

2.3 siRNA 能显著抑制 lncRNA ASB16-AS1 的表达 因为 lncRNA ASB16-AS1 在先前的研究中已经确定在肿瘤组高表达,并且与肿瘤分期分级显著相关。因此本研究选择使用 siRNA 抑制 lncRNA ASB16-AS1 的表达以观测细胞功能改变。LN382 细胞和 U87MG 细胞在转染 24~48 h 后用 qPCR 验证转染效率,结果显示应用抑制剂后 lncRNA ASB16-AS1 表达量明显降低(见图 2A)。这说明本实验中所使用的 siRNA 能有效抑制 lncRNA ASB16-AS1 的表达。

2.4 lncRNA ASB16-AS1 能促进胶质瘤细胞增殖、侵袭、迁移能力 在 LN382 和 U87MG 两个细胞系上 RTCA 增殖实验证实 NC 组增殖速度明显快于 silence 组(见图 2B、图 2C)。Transwell 侵袭迁移试验证实,

NC 组细胞侵袭、迁移能力明显高于 silence 组(见图 3A、图 3B)。划痕试验证实沉默 lncRNA ASB16-AS1 后划痕愈合速度明显慢于阴性对照组(见图 4)。结果

表明 lncRNA ASB16-AS1 能促进胶质瘤细胞增殖、侵袭和迁移能力。

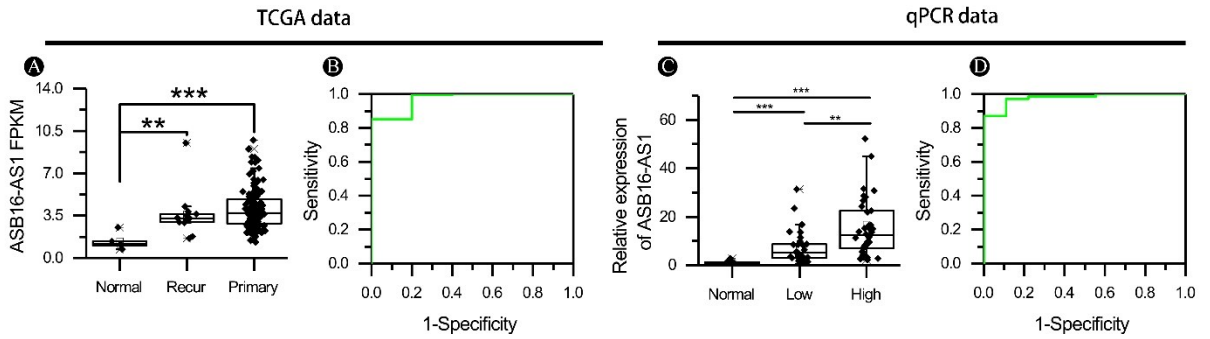


图 1 lncRNA ASB16-AS1 在组织中的表达量

注:图 1A:lncRNA ASB16-AS1 在 TCGA 数据中的表达量。图 1B:TCGA 数据的 ROC 曲线,曲线下面积达到 0.969。图 1C:lncRNA ASB16-AS1 在样本中的相对表达量(qPCR 数据)。图 1D:qPCR 数据的 ROC 曲线(AUC=0.94)。图形中显著性标示:* 表示 $P < 0.05$, ** 表示 $P < 0.01$, *** 表示 $P < 0.001$

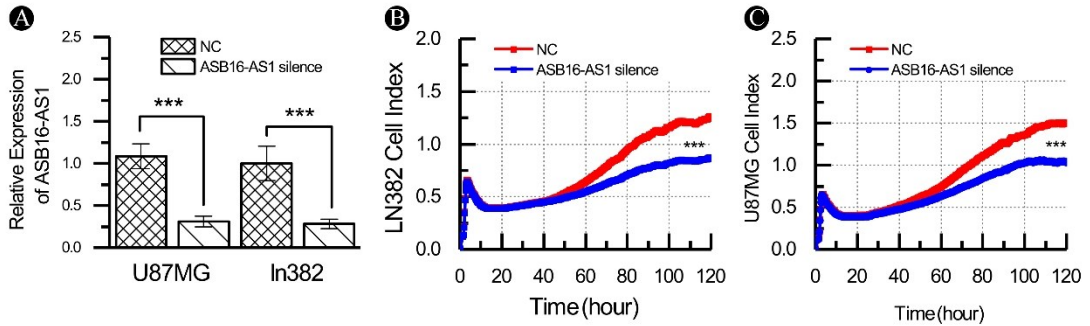


图 2 增殖实验

注:图 2A:两个细胞系的 lncRNA ASB16-AS1 的抑制效率。图 2B:LN382 细胞的 RTCA 增殖实验。图 2C: U87MG 细胞 RTCA 增殖实验。

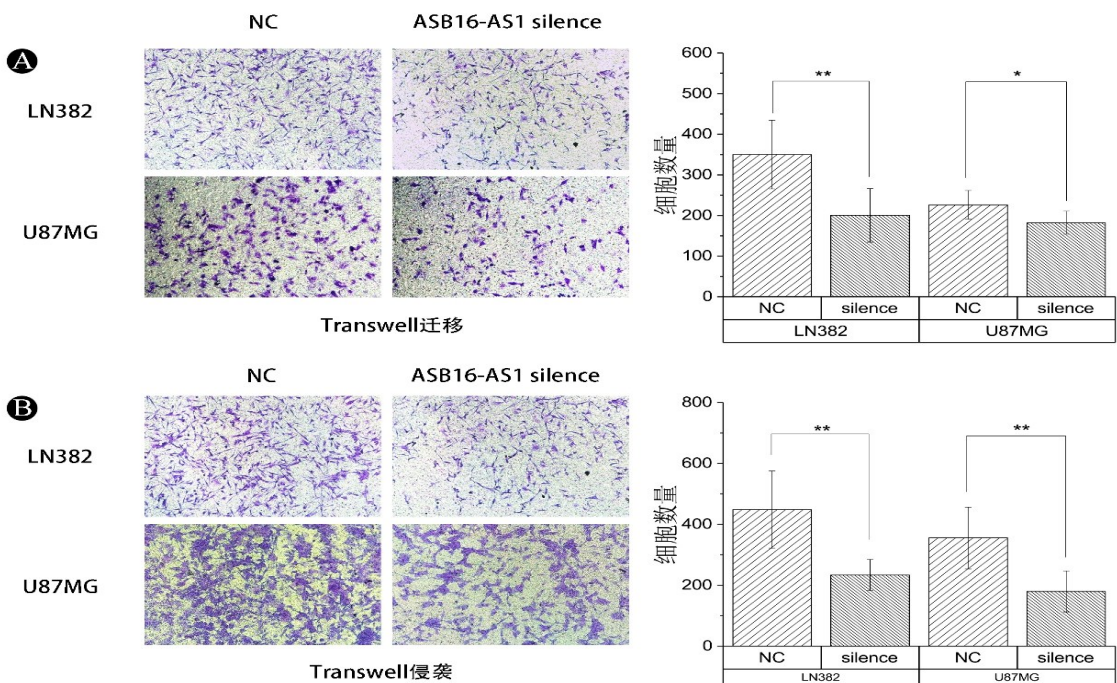


图 3 Transwell 侵袭迁移试验

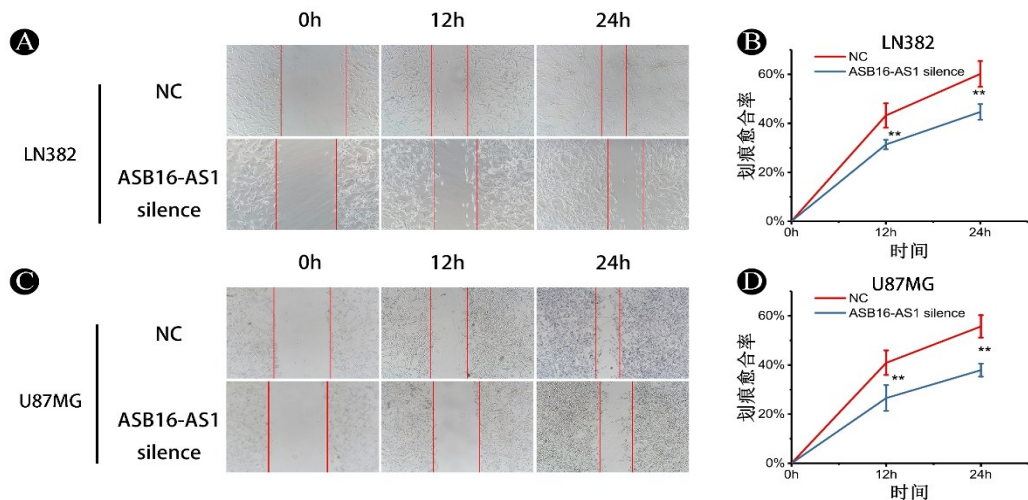


图 4 划痕试验

3 讨论

随着胶质瘤发病率的逐年增加,胶质瘤已威胁全球健康。现阶段手术治疗疗效明确,不同等级胶质瘤中以 WHO IV 级胶质母细胞瘤预后较差。是否复发仍无有效手段评估,故而对其发生发展的分子机制研究显得尤为重要。近年来人们发现 lncRNA 参与多种疾病的发生发展,如动脉粥样硬化^[11]、肿瘤、糖尿病^[12]。

为了寻找新的与胶质瘤发生发展相关的功能 lncRNA,本课题组研究人员挖掘了 TCGA 数据库,结合 HGNC 提供的基因注释文件,我们筛选出目前已鉴定为 lncRNA 的数据,并对其进行差异分析,使用 ROC 曲线的曲线下面积对差异基因进一步筛选,随后利用 qRT-PCR 在组织当中验证入选基因,发现 lncRNA ASB16-AS1 的表达量和胶质瘤细胞的分期分级的确存在显著相关性 ($P < 0.01$),并且 ROC 曲线下面积达到 0.94,该结果与 TCGA 数据库相符合。但这里 ROC 曲线的结论存在一定缺陷,脑组织正常样本量不够丰富,这也与脑组织正常样本不易获得有关。随后的功能试验中,研究人员利用 siRNA 技术敲减了 LN382 和 U87MG 细胞系中 lncRNA ASB16-AS1 的表达量,并检测其增殖、侵袭、迁移功能。结果证实 lncRNA ASB16-AS1 敲减后胶质瘤细胞的增殖、侵袭、迁移能力明显减弱。这证明了 lncRNA ASB16-AS1 能促进胶质瘤细胞的增殖、侵袭、迁移功能。

lncRNA ASB16-AS1 是一个较新颖的 lncRNA,国内外尚无肿瘤相关报道。仅有的报道指出 lncRNA ASB16-AS1 可能与低骨密度相关^[13]。

研究者利用 starBase 数据库预测 lncRNA ASB16-AS1 可能结合的 miRNA: hsa-miR-4306、hsa-miR-370-3p、hsa-miR-379-5p、hsa-miR-411-5p、hsa-miR-3529-5p、hsa-miR-122-5p、hsa-miR-185-5p、hsa-miR-4644。下一步实验拟探索 lncRNA ASB16-AS1

与这些 miRNA 有无相互作用以及对应下游机制。

参考文献:

- [1] Wen PY, Huse JT. 2016 World Health Organization Classification of Central Nervous System Tumors [J]. Continuum (Minneapolis, Minn), 2017, 23(6):1531-1547.
- [2] Ohgaki H, Kleihues P. The definition of primary and secondary glioblastoma [J]. Clin Cancer Research, 2013, 19(4):764-772.
- [3] Hegi ME, Diserens AC, Godard S, et al. Clinical trial substantiates the predictive value of O-6-methylguanine-DNA methyltransferase promoter methylation in glioblastoma patients treated with temozolomide [J]. Clinical Cancer Research, 2004, 10(6):1871-1874.
- [4] Stupp R, Mason WP, van Den Bent MJ, et al. Radiotherapy plus concomitant and adjuvant temozolomide for glioblastoma [J]. The New England Journal of Medicine, 2005, 352(10):987-996.
- [5] Mansouri A, Mansouri S, Hachem LD, et al. The role of 5-aminolevulinic acid in enhancing surgery for high-grade glioma, its current boundaries, and future perspectives: A systematic review [J]. Cancer, 2016, 122(16):2469-2478.
- [6] Delgado-Lopez PD, Corrales-Garcia EM. Survival in glioblastoma: a review on the impact of treatment modalities [J]. Clin Transl Oncol, 2016, 18(11):1062-1071.
- [7] Hung T, Wang Y, Lin MF, et al. Extensive and coordinated transcription of noncoding RNAs within cell-cycle promoters [J]. Nature genetics, 2011, 43(7):621-629.
- [8] Jolly C, Lakhotia SC. Human sat III and Drosophila hsr omega transcripts: a common paradigm for regulation of nuclear RNA processing in stressed cells [J]. Nucleic acids research, 2006, 34(19):5508-5514.
- [9] Faghihi MA, Modarresi F, Khalil AM, et al. Expression of a noncoding RNA is elevated in Alzheimer's disease and drives rapid feed-forward regulation of beta-secretase [J].

Nature Medicine, 2008, 14(7): 723-730.

- [10] Ging C, Maguat LE. lncRNAs transactivate STAU1-mediated mRNA decay by duplexing with 3' UTRs via Alu elements [J]. Nature, 2011, 470(7333): 284-288.
- [11] Liu Y, Zheng L, Wang Q, et al. Emerging roles and mechanisms of long noncoding RNAs in atherosclerosis [J]. International Journal of Cardiology, 2017, 228: 570-582.
- [12] Zhang B, Wang D, Ji TF, et al. Overexpression of lncRNA ANRIL up-regulates VEGF expression and pro-

motes angiogenesis of diabetes mellitus combined with cerebral infarction by activating NF- κ B signaling pathway in a rat model [J]. Oncotarget, 2017, 8(10): 17347-17359.

- [13] Meng X-H, Chen X-D, Greenbaum J, et al. Integration of summary data from GWAS and eQTL studies identified novel causal BMD genes with functional predictions [J]. Bone, 2018, 113: 41-48.

收稿日期: 2018-09-14; 修回日期: 2018-10-12

《右江民族医学院学报》诚聘青年编委的通知

为进一步提高《右江民族医学院学报》办刊质量, 加快审稿速度, 缩短稿件刊用周期, 提高审稿质量和效率, 进一步提升学报的学术影响力, 经本刊编委会研究决定, 拟组建一支充满活力的青年编委队伍, 诚邀在医学相关专业领域内有一定学术影响力和研究成果的青年专家、学者加入青年编委会团队, 凡符合以下条件的专家、学者均可报名。

一、申请条件

1. 年龄: 45周岁以下, 优秀者年龄可适当放宽。
2. 学科专业: 医学相关专业。
3. 具备以下基本条件之一: (1)博士学位; (2)副高及以上职称; (3)近3年以第一作者/通讯作者发表SCI论文1篇或中文核心期刊3篇以上; (4)申请者本人以第一负责人近3年内主持过省部级及以上科研项目。
4. 能熟练应用计算机, 能通过网络投稿、审稿, 能检索科研信息, 熟练使用国内外重要期刊和数据库。
5. 了解《右江民族医学院学报》杂志特色和动态, 愿意秉持客观、公正态度为本刊审稿, 能按期认真、严谨完成审稿任务。

二、青年编委权利

1. 青年编委任期3年。编辑部为获聘者颁发青年编委聘书, 定期邀请其参加本刊编委会、审稿专家培训活动和学术交流活动。
2. 在本刊开辟相关专题。
3. 每年可免费刊登青年编委本人撰写的省部级以上基金资助的优秀稿件1~2篇, 青年编委推荐的优秀稿件优先审稿、优先刊登。
4. 青年编委姓名将常年刊登在《右江民族医学院学报》期刊的显著位置。

三、青年编委义务

1. 积极为本刊发展献计献策; 及时向编委会、编辑部反映读者、作者对杂志的意见和建议。
2. 积极向本刊投稿或推荐投稿, 每年至少投稿1篇或推荐投稿2篇。
3. 积极参加审稿工作, 每年至少审稿3篇。

四、招聘范围

全国各医学院校、医院及科研单位。

欢迎满足条件的专家、作者申请加入我刊青年编委会! 申请者请登陆本刊网站(<http://www.yjmzyxyxb.cn/>)下载登记表, 填写好后发送至 yyxb1979@126.com, 邮件主题标明“青年编委”。联系人: 覃老师, 电话: 0776-2843414。

《右江民族医学院学报》编委会

《右江民族医学院学报》编辑部

2018年12月