

## 环境响应型荧光探针在手术导航中的应用

朱靖 楚成超 刘刚

厦门大学公共卫生学院分子影像与转化医学研究中心 361102

通信作者:刘刚, Email: gangliu.cmim@xmu.edu.cn

**【摘要】** 与传统成像技术相比,荧光成像因具有更高的安全性、更好的空间分辨率和实时性等优点而被广泛应用于临床肿瘤检测和术中导航。目前应用较多的荧光探针主要包括持续发光型和环境响应型,其中环境响应型探针的灵敏度与特异性更好,且可产生较高的信噪比,因而作为应用首选。环境响应型探针主要分为 3 种,酶激活的探针、pH 敏感型探针和乏氧响应型探针。该文总结了环境响应型荧光探针最新的研究进展,并探讨其在肿瘤检测和肿瘤术中导航应用中的潜在价值。

**【关键词】** 分子探针;荧光;肿瘤微环境;酶类;氢离子浓度;细胞低氧;发展趋势

**基金项目:**国家重点研发计划(2017YFA0205201)

DOI:10.3760/cma.j.issn.2095-2848.2019.11.014

### Environment-responsive fluorescence probes in image-guided surgery

Zhu Jing, Chu Chengchao, Liu Gang

Center for Molecular Imaging and Translational Medicine, School of Public Health, Xiamen University, Xiamen 361102, China

Corresponding author: Liu Gang, Email: gangliu.cmim@xmu.edu.cn

**【Abstract】** Unlike conventional imaging technologies, fluorescent imaging benefits from its safety, high-spatial resolution and real-time capability, which make it a highly adoptable imaging method for tumor detection and image-guided surgery in clinics. There are two types of fluorescent probes, including always-on type and environment-responsive type, wherein environment-responsive probes are preferred due to higher target-to-background ratios, which can improve sensitivity and specificity. The environment-responsive probes include enzyme-reactive probes, pH-sensitive probes and hypoxia responsive probes. This review summarizes recent progress in environment-responsive probes, and discusses their potentials in tumor detection and image-guided surgery.

**【Key words】** Molecular probes; Fluorescence; Tumor microenvironment; Enzymes; Hydrogen-ion concentration; Cell hypoxia; Trends

**Fund program:** National Key Research and Development Program of China (2017YFA0205201)

DOI:10.3760/cma.j.issn.2095-2848.2019.11.014

随着成像设备和成像探针的更新迭代,医学成像技术也得到了快速发展。光学成像是一种体内成像技术,其利用特定的短波长光激发探针,发射出特定的长波长荧光。其成像背景信号较低以及非侵入性的特点<sup>[1]</sup>,引起了研究者的关注,并在肿瘤检测、生物标志物检测以及血管/淋巴管显像等方面有着巨大的临床应用潜能。荧光成像成本低、设备简单且易操作,探针安全性好、检测灵敏度高(检测限为 pmol 级)<sup>[2-4]</sup>,但其组织散射和光吸收造成的组织穿透深度较低,限制了其用于全身显像。然而,在手术中肿瘤是可视化的,在术中应用荧光成像可最大限度地扬长避短,充分发挥其优势。因此,术中荧光成像是光学成像中非常有前景的应用方向,已经成为应用快速发展的光学成像方法之一。

手术切除肿瘤主要依赖于医师的经验以及在手术室白光条件下辨别不同组织解剖特征的能力<sup>[5]</sup>。但是肿瘤组织和正常组织之间的对比度往往较低,肉眼很难准确识别两者之间的边界<sup>[6]</sup>,也很难发现肿瘤微小病灶(<3 mm)<sup>[4,7]</sup>。目前,鉴定肿瘤边缘的“金标准”是术中冰冻切片分析(intraoperative frozen section analysis, IFSA)。IFSA 依赖于技术熟练的

人员,这在一定程度上导致手术成本增加;另一方面,IFSA 会增加 30~53 min 的手术时间,从而也增加了麻醉相关风险;此外,IFSA 只能部分组织取样,可能导致假阳性或假阴性结果的出现,增加了术后早期复发率<sup>[8-10]</sup>。传统成像方式操作复杂且需要较大空间,会影响正常的手术,因此不适合实时成像指导手术;而荧光成像由于操作简单,实时成像等优点,在手术导航领域应用越来越广泛<sup>[11-15]</sup>。

吲哚菁绿(indocyanine green, ICG)是常用的近红外(near infrared, NIR)荧光探针之一,具有很高的安全性。ICG 在肿瘤中代谢速度略低于正常组织,使其可用于肿瘤边界判定<sup>[14]</sup>。在临床研究中,ICG 被用于许多实体瘤检测,包括肝癌、乳腺癌和胃癌<sup>[16-18]</sup>。另一种常用的荧光染料是 5-氨基酮戊酸(5-aminolevulinic acid, 5-ALA)。有研究表明,在手术中应用 5-ALA 进行荧光导航可使恶性胶质瘤患者生存期延长 6 个月<sup>[19]</sup>。虽然 ICG 和 5-ALA 在上述的临床研究中显示出一定优势,但其均属于无靶向性的小分子造影剂,有很高的背景信号,严重影响了手术导航效果<sup>[20]</sup>。因此,发展新型探针对于手术荧光导航至关重要<sup>[21]</sup>。

目前用于荧光成像的探针可分为 2 类:持续发光型和环境影响型。持续发光型探针无论在靶细胞附近还是在与靶细胞结合的情况下,都会持续发出荧光信号<sup>[22-23]</sup>。因此,使用持续发光探针会导致成像信噪比相对较低,分辨不同组织之间的差异较困难。相反,利用荧光共振能量转移 (fluorescence resonance energy transfer, FRET)、光诱导电子转移 (photoinduced electron transfer, PeT)、分子内电荷转移 (intramolecular charge transfer, ICT) 等策略淬灭荧光分子形成的环境影响型探针在正常环境中无荧光,但在特殊的肿瘤微环境中 (低 pH、特异性酶、乏氧等) 探针会被释放而发出荧光,从而有较高的成像对比度。本综述探讨了不同种类环境影响型荧光探针的性能及其临床转化潜能。

1. 酶激活的探针。此类探针利用酶响应的化学键在探针一端连接荧光淬灭基团,在正常组织中由于 FRET、PeT 或 ICT 等作用荧光呈淬灭状态,当被金属蛋白酶、溶酶体水解酶、 $\beta$  半乳糖苷酶、 $\gamma$ -谷氨酰转酶 (gamma-glutamyl transpeptidase, GGT) 和组织蛋白酶等特异性酶剪切时,探针释放从而产生荧光。Weissleder 等<sup>[24]</sup> 构建了一种由聚-L-赖氨酸和递送载体,并在其表面修饰荧光染料 Cy5.5 形成纳米共聚物,该纳米共聚物在体外处于荧光淬灭状态,当进入肿瘤细胞后在特定酶的激活作用下淬灭的荧光会恢复 95%,可检测到最小 300  $\mu\text{m}$  的肿瘤。基于酶激活策略的一个重大缺陷是需要的激活时间很长,有时甚至长达数天。为了解决这个问题,Urano 等<sup>[25]</sup> 设计了一种以 GGT 为底物的前染料 GGT-谷酰基 (Glu)-羟甲基罗丹明 (hydroxymethyl rhodamine green, HMRG),其处于螺环状态时的荧光是淬灭的,经肿瘤细胞表面 GGT 剪切后,荧光恢复,且能持续 1 h。之后,Asanuma 等<sup>[4]</sup> 利用半乳糖苷酶设计了类似的结构。虽然酶激活的造影剂在小鼠异种移植模型中取得了显著效果,但患者之间酶表达量以及酶活性的高度差异性,会导致最佳手术时间窗的差异,这可能会阻碍其临床应用。

2. pH 敏感型探针。与正常细胞相比,肿瘤细胞糖酵解速度更快,故肿瘤区域 pH 较低 (pH<6.5)。目前,针对这种正常细胞和癌细胞之间的代谢差异,研究者已经设计了许多 pH 敏感型探针用于肿瘤检测和手术导航。理想的 pH 敏感型探针应该有以下特点:(1) 在正常组织周围的血液和间质液体中几乎无荧光;(2) 在酸性肿瘤环境中 (pH<6.5) 呈高荧光;(3) 发射光为 NIR,使其具有更高的体内成像信噪比<sup>[26]</sup>。

典型的 pH 敏感基团由具有明显的质子化和去质子化状态的叔胺、羧酸和磺酰胺组成。一系列超灵敏 pH 响应 (ultra pH-sensitive, UPS) 纳米探针已经在生物医学成像方面得到应用,包括溶酶体定量成像、肿瘤检测和手术导航<sup>[27-31]</sup>。UPS 纳米探针可以在非常小的 pH 变化范围 (<0.25 pH 单位) 下产生荧光,因此可以反映微小的 pH 改变。UPS 纳米探针的主要成分是一系列嵌段共聚物 [poly (ethylene oxide)-b-hydrophobic block, PEO-bPR, 其中 PEO 是聚环氧乙烷,PR 是可以精确控制的疏水可离子化的嵌段]。当 PR 达到疏水的临界阈值时,胶束/纳米相互驱动带电聚合物去质子化,在水溶液中发生快速且超灵敏的 pH 响应。PR 区段上的缀合荧光染料由于 FRET 效应而在较高 pH 下荧光淬灭。低于转变 pH 值会导致胶束分解成各个聚合物使得染料的荧光强度成

倍增加。许多已报道的 pH 敏感纳米系统在生理 pH 范围内响应温和且缓慢 (需 24 h),而 UPS 系统中的质子传递和非共价自组装响应强烈、快速 (<5 ms) 且可控<sup>[32]</sup>。于 pH 6.9 处转变的 UPS 与 ICG 结合形成的纳米探针 (ICG-UPS),可在多种肿瘤模型中实现肿瘤组织信号增强 (比正常组织高 20 倍)。在小鼠的手术导航切除术中,ICG-UPS 有高达 100% 的灵敏度和特异性 (95% CI: 72% ~ 100%),与白光手术以及对照组相比,小鼠生存率也得到了明显提升<sup>[27]</sup>。

3. 乏氧响应型探针。肿瘤常常伴有血管生成,但新生成的血管普遍不能满足肿瘤细胞代谢的需求,从而导致肿瘤微环境氧含量相对较低,活性氧簇 (reactive oxygen species, ROS) 相对较高。因此,缺氧和高 ROS 成像可用于反映肿瘤特异性的代谢变化。Lee 等<sup>[33]</sup> 在 2007 年首次报道了可检测动物体内 ROS 水平的荧光探针。近期,有研究合成了能够实时检测活体内 ROS 的 NIR/光声纳米探针<sup>[34]</sup>。该纳米探针由 2 种 NIR 半导体聚合物 (semiconducting polymers, SP) 和 ROS-敏感的花青染料衍生物 (IR775S) 组成,当在 700 nm 和 820 nm 处激发时,SP 纳米探针和 IR775S 产生明显的光声峰;在 ROS 存在的情况下,来自 IR775S 的信号大大减少,但 SP 纳米探针的信号保持不变。因此,700 ~ 820 nm 的信号比值可以反映体内 ROS 水平。虽然以上纳米探针没有在肿瘤模型中验证,但是鉴于 ROS 在肿瘤发生和发展中的作用,这些纳米探针在肿瘤成像特别是术中导航中仍有很好的应用前景。

传统的乏氧成像探针多基于硝基咪唑化合物,常用于 PET 和 MRI 研究。Zheng 等<sup>[35]</sup> 合成了一种聚乙烯吡咯烷酮 (polyvinyl pyrrolidone, PVP)-共轭铈 (III) 的 NIR 染料,氧含量小幅下降即可导致探针荧光强度急剧增加,探针在正常组织中显示出最小的背景信号,而在肿瘤处有较高信号,并且可以检测到较小的转移性肿瘤,在 9 mm 的深度可以检测到至少  $10^3$  数量级的肿瘤细胞。Zhou 等<sup>[36]</sup> 研发了一种喜树碱的偶氮衍生物,也可用于肿瘤乏氧特异性治疗及成像。

4. 总结与展望。荧光成像为判定肿瘤边界提供了一种安全、实时、无创的方法。然而,美国食品药品监督管理局 (Food and Drug Administration, FDA) 批准的 NIR 探针的实用性仍然有限,也尚未有效果较好的响应型探针应用于临床。因此,荧光手术导航的进一步发展需要 FDA 批准更多具有良好的生物相容性和特异性的 NIR 探针。虽然新的 NIR 探针在临床应用中的需求很大,但是开发成本高和转化困难阻碍了进一步的研发。将临床批准的治疗性抗体与现有的亲水性 NIR 染料整合,能有效缩短肿瘤特异性荧光探针研发及审批时间,但这种方法普适性差,且可能有较高背景信号,不能实现肿瘤的精确检测。研发在正常组织淬灭而在肿瘤组织中发光的响应型纳米探针,是提高肿瘤检测灵敏度和特异性的有效策略。大量研究者利用肿瘤特异性生物标志物 (包括肿瘤组织高 ROS、乏氧、蛋白水解酶的过表达等) 来设计响应型纳米探针,然而存在稳定性和普适性较差的不足,难以临床转化。肿瘤组织的酸性 pH 值是一个稳定的生物标志,可用于荧光成像探针的设计,但目前适用于临床的 pH 响应型探针面临转化困难的窘境,其阻碍主要包括安全性评估和临床验证。因此,需要多学科研究者深度合作,以加速肿瘤术中导航荧光探针的研发和转化。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

## 参 考 文 献

- [1] Liu HW, Chen L, Xu C, et al. Recent progresses in small-molecule enzymatic fluorescent probes for cancer imaging [J]. Chem Soc Rev, 2018, 47(18): 7140-7180. DOI:10.1039/c7cs00862g.
- [2] He S, Song J, Qu J, et al. Crucial breakthrough of second near-infrared biological window fluorophores; design and synthesis toward multimodal imaging and theranostics [J]. Chem Soc Rev, 2018, 47(12): 4258-4278. DOI:10.1039/c8cs00234g.
- [3] Huang X, Song J, Yung BC, et al. Ratiometric optical nanoprobe enable accurate molecular detection and imaging [J]. Chem Soc Rev, 2018, 47(8): 2873-2920. DOI:10.1039/C7CS00612H.
- [4] Asanuma D, Sakabe M, Kamiya M, et al. Sensitive  $\beta$ -galactosidase-targeting fluorescence probe for visualizing small peritoneal metastatic tumours *in vivo* [J]. Nat Commun, 2015, 6: 6463. DOI: 10.1038/ncomms7463.
- [5] Matsuzaki H, Kamiya M, Iwatate RJ, et al. Novel hexosaminidase-targeting fluorescence probe for visualizing human colorectal cancer [J]. Bioconjug Chem, 2016, 27(4): 973-981. DOI:10.1021/acs.bioconjchem.6b00037.
- [6] Owens EA, Hyun H, Dost TL, et al. Near-infrared illumination of native tissues for image-guided surgery [J]. J Med Chem, 2016, 59(11): 5311-5323. DOI:10.1021/acs.jmedchem.6b00038.
- [7] Nguyen QT, Tsien RY. Fluorescence-guided surgery with live molecular navigation—a new cutting edge [J]. Nat Rev Cancer, 2013, 13(9): 653-662. DOI:10.1038/nrc3566.
- [8] Esbona K, Li Z, Wilke LG. Intraoperative imprint cytology and frozen section pathology for margin assessment in breast conservation surgery: a systematic review [J]. Ann Surg Oncol, 2012, 19(10): 3236-3245. DOI:10.1245/s10434-012-2492-2.
- [9] Shen Z, Prasai B, Nakamura Y, et al. A near-infrared, wavelength-shiftable, turn-on fluorescent probe for the detection and imaging of cancer tumor cells [J]. ACS Chem Biol, 2017, 12(4): 1121-1132. DOI: 10.1021/acscchembio.6b01094.
- [10] Ueo H, Shinden Y, Tobo T, et al. Rapid intraoperative visualization of breast lesions with  $\gamma$ -glutamyl hydroxymethyl rhodamine green [J]. Sci Rep, 2015, 5: 12080. DOI:10.1038/srep12080.
- [11] Kubben PL, ter Meulen KJ, Schijns OE, et al. Intraoperative MRI-guided resection of glioblastoma multiforme: a systematic review [J]. Lancet Oncol, 2011, 12(11): 1062-1070. DOI: 10.1016/S1470-2045(11)70130-9.
- [12] Singh H, Rote S, Jada A, et al. Endoscopic endonasal odontoid resection with real-time intraoperative image-guided computed tomography: report of 4 cases [J]. J Neurosurg, 2018, 128(5): 1486-1491. DOI:10.3171/2017.1.JNS162601.
- [13] 杨卫东, 田捷, 汪静. 光学成像与核素显像手术导航的研究进展 [J]. 中华核医学与分子影像杂志, 2014, 34(2): 153-156. DOI:10.3760/cma.j.issn.2095-2848.2014.02.021.  
Yang WD, Tian J, Wang J. The progress of research on optical imaging and radionuclide imaging as intra-operative navigators [J]. Chin J Nucl Med Mol Imaging, 2014, 34(2): 153-156. DOI:10.3760/cma.j.issn.2095-2848.2014.02.021.
- [14] 曾超挺, 尚文婷, 迟崇巍, 等. 光动力治疗及荧光成像诊断裸鼠胰腺癌的实验研究 [J]. 中华核医学与分子影像杂志, 2016, 36(1): 12-18. DOI:10.3760/cma.j.issn.2095-2848.2016.01.005.  
Zeng CT, Shang WT, Chi CW, et al. *In vivo* experimental research of photodynamic therapy and the fluorescence imaging in the diagnosis of pancreatic cancer [J]. Chin J Nucl Med Mol Imaging, 2016, 36(1): 12-18. DOI:10.3760/cma.j.issn.2095-2848.2016.01.005.
- [15] 郭明明, 肖华龙, 周剑波, 等. 时间分辨荧光免疫层析法联合检测血清肿瘤标志物 [J]. 中华核医学与分子影像杂志, 2018, 38(4): 266-270. DOI:10.3760/cma.j.issn.2095-2848.2018.04.009.  
Guo MM, Xiao HL, Zhou JB, et al. Simultaneous detection of tumor markers in human serum using time-resolved fluorescence microspheres immunochromatographic assay [J]. Chin J Nucl Med Mol Imaging, 2018, 38(4): 266-270. DOI:10.3760/cma.j.issn.2095-2848.2018.04.009.
- [16] Ogawa M, Kosaka N, Choyke PL, et al. *In vivo* molecular imaging of cancer with a quenching near-infrared fluorescent probe using conjugates of monoclonal antibodies and indocyanine green [J]. Cancer Res, 2009, 69(4): 1268-1272. DOI:10.1158/0008-5472.CAN-08-3116.
- [17] Ogata F, Azuma R, Kikuchi M, et al. Novel lymphography using indocyanine green dye for near-infrared fluorescence labeling [J]. Ann Plast Surg, 2007, 58(6): 652-655. DOI:10.1097/01.sap.0000250896.42800.a2.
- [18] Ishizawa T, Fukushima N, Shibahara J, et al. Real-time identification of liver cancers by using indocyanine green fluorescent imaging [J]. Cancer, 2009, 115(11): 2491-2504. DOI:10.1002/cncr.24291.
- [19] Stummer W, Pichlmeier U, Meinel T, et al. Fluorescence-guided surgery with 5-aminolevulinic acid for resection of malignant glioma: a randomised controlled multicentre phase III trial [J]. Lancet Oncol, 2006, 7(5): 392-401. DOI:10.1016/S1470-2045(06)70665-9.
- [20] Li Y, Rey-Dios R, Roberts DW, et al. Intraoperative fluorescence-guided resection of high-grade gliomas: a comparison of the present techniques and evolution of future strategies [J]. World Neurosurg, 2014, 82(1-2): 175-185. DOI:10.1016/j.wneu.2013.06.014.
- [21] Cutter JL, Cohen NT, Wang J, et al. Topical application of activity-based probes for visualization of brain tumor tissue [J]. PLoS One, 2012, 7(3): e33060. DOI:10.1371/journal.pone.0033060.
- [22] Kobayashi H, Choyke PL. Target-cancer-cell-specific activatable fluorescence imaging probes: rational design and *in vivo* applications [J]. Acc Chem Res, 2011, 44(2): 83-90. DOI:10.1021/ar100633.
- [23] Kobayashi H, Longmire MR, Ogawa M, et al. Rational chemical design of the next generation of molecular imaging probes based on physics and biology: mixing modalities, colors and signals [J]. Chem Soc Rev, 2011, 40(9): 4626-4648. DOI: 10.1039/c1cs15077d.
- [24] Weissleder R, Tung CH, Mahmood U, et al. *In vivo* imaging of tumors with protease-activated near-infrared fluorescent probes [J]. Nat Biotechnol, 1999, 17(4): 375-378. DOI:10.1038/7933.
- [25] Urano Y, Sakabe M, Kosaka N, et al. Rapid cancer detection by topically spraying a  $\gamma$ -glutamyltranspeptidase-activated fluorescent probe [J]. Sci Transl Med, 2011, 3(110): 110ra119. DOI:10.1126/scitranslmed.3002823.
- [26] Voegtlin C, Kahler H. The estimation of the hydrogen-ion concentration of the tissues in living animals [J]. Science, 1932, 75(1944): 362-364. DOI:10.1126/science.75.1944.362.
- [27] Zhao T, Huang G1, Li Y, et al. A transistor-like pH nanoprobe for tumor detection and image-guided surgery [J]. Nat Biomed Eng, 2016, 1. pii: 0006. DOI:10.1038/s41551-016-0006.



- [28] Ma X, Wang Y, Zhao T, et al. Ultra-pH-sensitive nanoprobe library with broad pH tunability and fluorescence emissions[J]. J Am Chem Soc, 2014, 136 ( 31 ): 11085-11092. DOI: 10.1021/ja5053158.
- [29] Wang Y, Zhou K, Huang G, et al. A nanoparticle-based strategy for the imaging of a broad range of tumours by nonlinear amplification of microenvironment signals[J]. Nat Mater, 2014, 13 ( 2 ): 204-212. DOI:10.1038/nmat3819.
- [30] Wang C, Wang Y, Li Y, et al. A nanobuffer reporter library for fine-scale imaging and perturbation of endocytic organelles[J]. Nat Commun, 2015, 6: 8524. DOI:10.1038/ncomms9524.
- [31] Wang C, Zhao T, Li Y, et al. Investigation of endosome and lysosome biology by ultra pH-sensitive nanoprobe[J]. Adv Drug Deliv Rev, 2016, 113: 87-96. DOI:10.1016/j.addr.2016.08.014.
- [32] Li Y, Zhao T, Wang C, et al. Molecular basis of cooperativity in pH-triggered supramolecular self-assembly [ J ]. Nat Commun, 2016, 7: 13214. DOI:10.1038/ncomms13214.
- [33] Lee D, Khaja S, Velasquez-Castano JC, et al. *In vivo* imaging of hydrogen peroxide with chemiluminescent nanoparticles [ J ]. Nat Mater, 2007, 6(10): 765-769. DOI:10.1038/nmat1983.
- [34] Pu K, Shuhendler AJ, Jokerst JV, et al. Semiconducting polymer nanoparticles as photoacoustic molecular imaging probes in living mice[J]. Nat Nanotechnol, 2014, 9(3): 233-239. DOI:10.1038/nnano.2013.302.
- [35] Zheng X, Wang X, Mao H, et al. Hypoxia-specific ultrasensitive detection of tumours and cancer cells *in vivo* [ J ]. Nat Commun, 2015, 6: 5834. DOI:10.1038/ncomms6834.
- [36] Zhou Y, Maiti M, Sharma A, et al. Azo-based small molecular hypoxia responsive theranostic for tumor-specific imaging and therapy [ J ]. J Control Release, 2018, 288: 14-22. DOI:10.1016/j.jconrel.2018.08.036.

(收稿日期:2019-04-26)

· 读者 · 作者 · 编者 ·

## 关于论文作者单位名称的书写要求

目前,仍有一些作者在投稿时,对所在单位的中、英文名称的书写不够规范,不少单位在开具推荐信(即介绍信)时,使用的公章与文稿中所书写的不一致。单位名称书写不规范,将影响读者与作者之间的联系,及文稿发表后文献计量学的统计等工作。为此,本刊就作者单位名称的书写要求如下:(1)作者在投稿时,首先应列出单位名称的全称,如已归属于综合大学的单位,应先列出大学名称,之后列出医学院名称或医院名称、科室名称。(2)单位的英文名称应根据所在单位统一的英文名称书写。(3)作者在向本刊投稿时,单位科研部门开具文稿推荐信上的公章内容,须与文稿中所书写的单位名称一致。这一点,特别请目前已完成院校合并、调整的单位注意。(4)由不同单位共同撰写的一篇文章,各个单位的名称均须分别列出,由论文的资料提供单位(一般为第一作者所在单位)开具文稿推荐信。(5)如文稿作者为集体作者,英文摘要的作者项中,应列出本文稿第一整理者(即第一执笔者)的姓名及工作单位。(6)如文稿第一作者在投稿后工作单位有变动,英文摘要的作者项中,应同时列出第一作者的原单位及现在单位。

本刊编辑部