

急性淋巴细胞白血病患者外周血CD4⁺CD25⁺T调节细胞与白细胞介素2、白细胞介素10、转化生长因子β的检测*

巫翠萍¹, 覃西¹, 巫翠云², 朱洪¹, 周海燕¹

Detection of interleukin 2, interleukin 10, transforming growth factor β and CD4⁺CD25⁺ regulatory T cells in peripheral blood of patients with acute lymphoblastic leukemia

Wu Cui-Ping¹, Qin Xi¹, Wu Cui-yun², Zhu Hong¹, Zhou Hai-yan¹

¹The Affiliated Hospital of Hainan Medical College, Haikou 570102, Hainan Province, China; ²People's Hospital of Haikou, Haikou 570208, Hainan Province, China

Wu Cui-Ping, Associate chief technician, the Affiliated Hospital of Hainan Medical College, Haikou 570102, Hainan Province, China wucuiqing2007@163.com

Corresponding author: Qin Xi, Professor, the Affiliated Hospital of Hainan Medical College, Haikou 570102, Hainan Province, China qinxixi99@21cn.com

Supported by: Research Project Topics of Healthy Department of Hainan Province, No. Qionghui2008-55*

Received: 2011-08-08
Accepted: 2011-10-30

Abstract

BACKGROUND: At present, the cause of acute lymphoblastic leukemia (ALL) has not yet entirely understood, CD4⁺CD25⁺ regulatory T cells (Treg) may have certain regulatory effect on immune response in pathogenic process of ALL.

OBJECTIVE: To study the levels of interleukin 2 (IL-2), interleukin 10 (IL-10), transforming growth factor (TGF-β) of CD4⁺CD25⁺ regulatory T cells (Treg) in peripheral blood of patients with ALL.

METHODS: The peripheral blood mononuclear cells (PBMC) were isolated with density gradient centrifugation from 22 B cell series ALL (B-ALL) patients, 13 T cell series ALL (T-ALL) patients and 18 normal people. Immunomagnetic bead separation was used to separate CD4⁺CD25⁺Treg cells, and the levels of IL-2, IL-10 and TGF-β in the cells culture supernatant were detected by using enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA).

RESULTS AND CONCLUSION: The levels of IL-10 and TGF-β in the cells culture supernatant of B-ALL patients and T-ALL patients were significantly higher than those in normal people, while the level of IL-2 was significantly lower than that in normal people ($P < 0.05$). There was no significant difference between B-ALL and T-ALL patients in the IL-2, IL-10 and TGF-β levels of the cells culture supernatant ($P > 0.05$). CD4⁺CD25⁺Treg cells might interfere the immunologic reaction of antitumor by increasing the IL-10 and TGF-β levels and decreasing the IL-2 level.

Wu CP, Qin X, Wu CY, Zhu H, Zhou HY. Detection of interleukin 2, interleukin 10, transforming growth factor β and CD4⁺CD25⁺ regulatory T cells in peripheral blood of patients with acute lymphoblastic leukemia. Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu. 2012;16(14): 2648-2651. [http://www.crter.cn http://en.zglckf.com]

摘要

背景: 目前急性淋巴细胞白血病的病因尚未完全清楚, 而 CD4⁺CD25⁺T 调节细胞对机体的免疫反应可能起着一定的调节作用。

目的: 观察急性淋巴细胞白血病患者外周血 CD4⁺CD25⁺T 调节细胞分泌白细胞介素 2、白细胞介素 10 及转化生长因子 β 的情况。

方法: 采用密度梯度离心法分离 22 例 B 细胞系列的急性淋巴细胞白血病(B-ALL)患者、13 例 T 细胞系列的急性淋巴细胞白血病(T-ALL)患者和 18 名正常人外周血单个核细胞。采用免疫磁珠法分离出 CD4⁺CD25⁺T 调节细胞进行培养, 同时用双抗体夹心酶联免疫吸附试验检测细胞培养上清中白细胞介素 2、白细胞介素 10 及转化生长因子 β 的水平。

结果与结论: B-ALL 患者和 T-ALL 患者外周血 CD4⁺CD25⁺T 调节细胞培养上清中白细胞介素 10 和转化生长因子 β 水平显著高于正常人水平, 而白细胞介素 2 水平显著低于正常人水平($P < 0.05$); B-ALL 和 T-ALL 患者的 CD4⁺CD25⁺T 调节细胞培养上清中 3 种因子表达差异无显著性意义($P > 0.05$)。提示 CD4⁺CD25⁺T 调节细胞可能通过增加分泌白细胞介素 10 和转化生长因子 β、减少分泌白细胞介素 2 等干扰抗肿瘤的免疫反应。

关键词: 急性淋巴细胞白血病; CD4⁺CD25⁺T 调节细胞; 白细胞介素 2; 白细胞介素 10; 转化生长因子 β

缩略语注释: ALL: acute lymphoblastic leukemia, 急性淋巴细胞白血病; Treg: regulatory T cell, T 调节细胞
doi:10.3969/j.issn.1673-8225.2012.14.037

巫翠萍, 覃西, 巫翠云, 朱洪, 周海燕. 急性淋巴细胞白血病患者外周血 CD4⁺CD25⁺T 调节细胞与白细胞介素 2、白细胞介素 10、转化生长因子 β 的检测[J]. 中国组织工程研究, 2012, 16(14):2648-2651.

[http://www.crter.org http://cn.zglckf.com]

0 引言

急性淋巴细胞白血病(acute lymphoblastic leukemia, ALL)是一种异质性疾病, 以原始和幼稚淋巴细胞恶性克隆为主, 细胞大量增殖、广泛浸润, 抑制正常造血, 是基于形态学、免疫表型、细胞遗传学和分子异常的白血病细胞^[1]。目前 ALL 的病因尚未完全清楚^[2]。CD4⁺CD25⁺T 调节

细胞(regulatory T cell, Treg)是近年来发现的一种新型免疫抑制性调节细胞, 1995年由 Sakaguchi等^[3]首次报道。CD4⁺CD25⁺Treg细胞具有低反应性和免疫抑制性两大功能特征^[4]。基于CD4⁺CD25⁺Treg细胞独特的免疫效应, 作者认为在ALL发病过程中, CD4⁺CD25⁺Treg对机体的免疫反应可能起着一定的调节作用。因此, 实验通过检测ALL患者CD4⁺CD25⁺Treg细胞分泌白细胞介素2、白细胞介素10及转化生长因子

β 的水平,旨在探讨CD4⁺CD25⁺Treg细胞在ALL发病机制中的作用。

1 对象和方法

设计: 同期病例-对照比较。

时间及地点: 病例来自2008-01/2011-06海南医学院附属医院、海口市人民医院和海南省人民医院。

对象: 选自2008-01/2011-06海南医学院附属医院、海口市人民医院和海南省人民医院就诊的初诊成人ALL患者35例,男19例,女16例;年龄16~56岁(中位年龄31岁)。入选的病例均经骨髓涂片、细胞组织化学染色及临床表现确诊,按照FAB分型标准进行分类。其中B细胞系列ALL(B-ALL)患者22例、T细胞系列ALL(T-ALL)患者13例。

诊断标准: 参照张之南主编的《血液病诊断及疗效标准(第3版)》^[5],符合急性淋巴细胞白血病的诊断标准。

纳入标准: ①未进行化疗治疗。②研究对象血液采集前均征得患者书面同意。

排除标准: 急性髓系白血病患者。

另选18名健康个体作为对照,均经临床体格检查和生化检查符合健康人判断标准,来自同期海南医学院附属医院健康体检中心,男10例,女8例;年龄22~50岁(中位年龄30岁)。

技术路线:

CD4⁺CD25⁺Treg细胞的分离: 所有研究对象化疗前抽取静脉血5 mL,采用肝素抗凝,用生理盐水将其等倍稀释,稀释后的白细胞悬液缓慢加入人淋巴细胞分离液液面上,比例为1:1,2 000 r/min离心20 min,吸取单个核细胞层,PBS洗涤2次,采用密度梯度离心法分离22例B细胞系列的ALL(B-ALL)患者、13例T细胞系列的ALL(T-ALL)患者和18名正常人外周血单个核细胞(PBMC)。取出一部分新鲜分离的PBMC用CD4⁺CD25⁺Treg细胞磁珠分选试剂盒(德国美天旌生物技术有限公司)分离出其中的CD4⁺CD25⁺Treg细胞,然后通过流式细胞仪(美国Becton-Dickson公司)分析细胞纯度。取24孔细胞培养板,每孔加入经免疫磁珠分选法分离、纯化得到的CD4⁺CD25⁺Treg细胞($1 \times 10^9 \text{ L}^{-1}$)悬液1 mL,设复孔,于37℃、体积分数为5%CO₂培养箱培养。

白细胞介素2、白细胞介素10及转化生长因子 β 的检测: CD4⁺CD25⁺Treg细胞培养48 h后,

1 000 r/min离心10 min,收集细胞培养上清,采用双抗体夹心ELISA法分别检测细胞培养上清中白细胞介素2、白细胞介素10及转化生长因子 β 的分泌水平,试剂盒购自上海森雄科技实业有限公司,操作步骤严格按说明书进行。

主要观察指标: 各组细胞培养上清中白细胞介素2、白细胞介素10及转化生长因子 β 的表达。

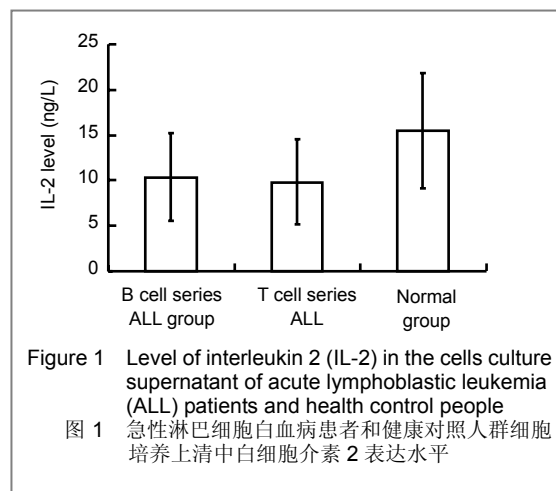
统计学分析: 由第一作者采用SPSS 11.5软件完成统计处理,实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用单因素的方差分析(ONE-WAY ANOVA)及基于此的最小显著差数法(LSD法)多重比较方法比较不同组间白细胞介素2、白细胞介素10及转化生长因子 β 的水平,上述分析均采用双侧检验, $P < 0.05$ 为差异有显著性意义。

2 结果

2.1 CD4⁺CD25⁺Treg细胞纯度 CD4⁺CD25⁺Treg细胞纯度大于90%,该纯度可以进行后续的实验。

2.2 细胞培养上清中白细胞介素2、白细胞介素10及转化生长因子 β 的分泌水平

白细胞介素2: B-ALL组、T-ALL组及对照组细胞培养上清中白细胞介素2水平分别为(10.36 ± 4.82), (9.85 ± 4.72), (15.49 ± 6.33) ng/L,见图1。3组患者白细胞介素2水平差异有显著性意义($F=5.880$, $P=0.005$),其中B-ALL组和T-ALL组白细胞介素2水平显著低于正常健康人群($P < 0.05$);而B-ALL组和T-ALL组白细胞介素2水平差异无显著性意义($P > 0.05$)。



白细胞介素10: B-ALL组、T-ALL组及对照组细胞培养上清中白细胞介素10水平分别为(29.50 ± 11.26), (28.37 ± 13.08), (20.01 ± 8.08) ng/L,见图2。3组患者白细胞介素10水平

¹海南医学院附属医院,海南省海口市 570102; ²海口市人民医院,海南省海口市 570208

巫翠萍,女,1962年生,海南省海口市人,汉族,2002年海南医学院毕业,副主任检验师,主要从事临床血液病学检验及流式细胞术的应用与研究。
wucui ping2007@163.com

通讯作者: 覃西,教授,海南医学院附属医院,海南省海口市 570102
qinxi99@21cn.com

中图分类号:R394.2
文献标识码:B
文章编号:1673-8225 (2012)14-02648-04

收稿日期: 2011-08-08
修回日期: 2011-10-30
(20110808004/WL·Q)

差异有显著性意义($F=4.240$, $P=0.020$), 其中B-ALL组和T-ALL组白细胞介素10水平显著高于正常健康人群($P < 0.05$); 而B-ALL组和T-ALL组白细胞介素10水平差异无显著性意义($P > 0.05$)。

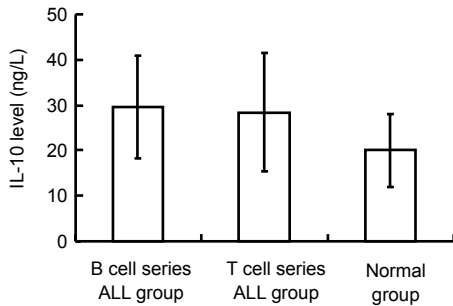


Figure 2 Level of interleukin 10 (IL-10) in the cells culture supernatant of acute lymphoblastic leukemia (ALL) patients and health control people

图 2 急性淋巴细胞白血病患者和健康对照人群细胞培养上清中白细胞介素 10 表达水平

转化生长因子 β : B-ALL 组、T-ALL 组及对照组细胞培养上清中转化生长因子 β 水平分别为(118.90 ± 42.23), (124.57 ± 53.53), (82.99 ± 31.50) ng/L, 见图 3。3 组患者 TGF- β 水平差异有显著性意义($F=4.917$, $P=0.011$), 其中 B-ALL 组和 T-ALL 组转化生长因子 β 水平显著高于正常健康人群($P < 0.05$); 而 B-ALL 组和 T-ALL 组转化生长因子 β 水平差异无显著性意义($P > 0.05$)。

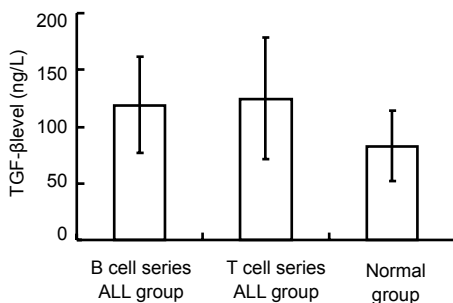


Figure 3 Level of transforming growth factor β (TGF- β) in the cells culture supernatant of acute lymphoblastic leukemia (ALL) patients and health control people

图 3 急性淋巴细胞白血病患者和健康对照人群细胞培养上清中转化生长因子 β 表达水平

3 讨论

Treg细胞是近年发现的一群具有低反应性和免疫抑制功能的细胞, 它们能将抗原特异性耐受转移给天然动物, 实现“主动”耐受的过程^[6]。Treg细胞在机体外周免疫耐受中起着重要作用, 与机体免疫稳态的维持^[7]、自身免疫性疾病^[8]、过敏性疾病^[9]、移植耐受等有关^[10]。自从科学家在人和鼠中发现T细胞抑制抗肿瘤免疫之后^[11-12],

证实体内可能存在肿瘤细胞免疫抑制功能, 肿瘤的发生、发展可能与Treg细胞有关。研究证实, 在乳腺癌^[13]、卵巢癌^[14]、肺癌^[15]、肝癌和胰腺癌等多种肿瘤患者外周血和肿瘤局部组织中Treg比例增高^[16-17], 且数量与患者肿瘤进展程度和预后呈负相关, 而去除Treg或封闭其抑制功能可使抗肿瘤免疫恢复^[18]。而Treg细胞如何发挥免疫抑制功能, 与细胞因子白细胞介素2、白细胞介素10及转化生长因子 β 水平之间可能存在关联。

白细胞介素2是由辅助性T淋巴细胞产生的一种重要免疫调节因子, 具有促进T细胞增殖, 诱生LAK细胞, 促进B细胞分泌抗体, 促进T细胞杀伤作用及增强NK细胞活性等作用^[19]。白细胞介素10是具有多向生物学活性的强免疫抑制因子, 能改变机体的免疫应答和主要组织相容性复合体II(MHC II)类抗原的表达, 并介导Th1和Th2两类细胞之间的相互调节^[20]。转化生长因子 β 也是免疫抑制因子, 能够抑制免疫活性细胞增殖, 抑制淋巴细胞分化, 抑制PBMC中干扰素 γ 和肿瘤坏死因子 α 的产生, 对细胞免疫功能有重要的调节作用^[21]。实验结果显示, B-ALL和T-ALL患者CD4⁺CD25⁺Treg细胞培养上清中白细胞介素10和转化生长因子 β 的水平显著高于正常人水平, 而白细胞介素2水平显著低于正常人水平($P < 0.05$)。B-ALL和T-ALL患者的CD4⁺CD25⁺Treg细胞培养上清中白细胞介素2、白细胞介素10及转化生长因子 β 表达差异无显著性意义($P > 0.05$)。表明CD4⁺CD25⁺Treg细胞可能通过下调白细胞介素2的分泌, 增加白细胞介素10及转化生长因子 β 的分泌来调节细胞免疫功能, 达到抑制细胞免疫功能的作用。

综上所述, CD4⁺CD25⁺Treg细胞是肿瘤细胞逃避肿瘤免疫的重要机制, 能够控制自身免疫反应, 抑制细胞的免疫功能, 导致对肿瘤的免疫耐受, 与肿瘤细胞生长密切相关。但是CD4⁺CD25⁺Treg细胞是通过何种途径进行调节自身细胞分泌细胞因子水平, 还需要进一步的研究。

4 参考文献

- [1] Shu WX, Chen Y. Linchuang Xueyexue Zazhi. 2004;18(2): 103-106.
舒文秀, 陈燕. 急性淋巴细胞白血病患者免疫分型的特点及其临床意义[J]. 临床血液学杂志, 2004, 18(2): 103-106.
- [2] Zhang Y, He MS. Dangdai Yixue. 2010;16(2):35-37.
张颜, 何明生. 急性淋巴细胞白血病患者靶向基因治疗的研究进展[J]. 当代医学, 2010, 16(2): 35-37.
- [3] Sakaguchi S, Sakaguchi N, Asano M, et al. Immunologic self-tolerance maintained by activated T cells expressing IL-2 receptor alpha-chains (CD25). Breakdown of a single mechanism of self-tolerance causes various autoimmune diseases. J Immunol. 1995;155(3):1151-1164.
- [4] Shevach EM. CD4+ CD25+ suppressor T cells: more questions than answers. Nat Rev Immunol. 2002;2(6):389-400.
- [5] Zhang ZN, Shen T. Beijing: Kexue Chubanshe. 2007:131-132.
张之南, 沈悌. 血液病诊断及疗效标准(第3版)[M]. 北京: 科学出版社, 2007: 131-132.
- [6] Ou Y, Zhu P. Zhongguo Shiyao Xueyexue Zazhi. 2005;13(6):1137-1140.
欧媛, 朱平. CD4+CD25+和CD8+调节性T细胞的作用机制[J]. 中国实验血液学杂志, 2005, 13(6): 1137-1140.

- [7] Zheng JS, Wu J, Yi SC, et al. Disan Junyi Daxue Xuebao. 2003; 25(21):1881-1884.
郑峻松, 吴军, 易绍查, 等. CD4⁺CD25⁺ Treg 细胞调节 T 细胞的作用机制分析[J]. 第三军医大学学报, 2003, 25(21): 1881-1884.
- [8] Zhao DT, Yan HP. Xibao yu Fenzi Mianyixue Zazhi. 2009; 25(3): 282-284.
赵丹彤, 闫惠平. CD4⁺CD25⁺ 调节性 T 细胞与自身免疫性肝病研究进展[J]. 细胞与分子免疫学杂志, 2009, 25(3): 282-284.
- [9] Shao L, Zou HB, Zhu LJ, et al. Mianyixue Zazhi. 2011; 28(7): 603-605.
邵莉, 邹寒冰, 朱丽君, 等. 支气管哮喘患者外周血 CD4⁺CD25⁺ 调节性 T 细胞变化及其尘螨过敏状态的测定[J]. 免疫学杂志, 2011, 28(7): 603-605.
- [10] Fu RX, Wu DP. Zhongguo Shiyang Xueyexue Zazhi. 2003; 11(3): 321-324.
伏瑞祥, 吴德沛. CD4⁺CD25⁺ 调控 T 细胞及其在移植耐受中的作用[J]. 中国实验血液学杂志, 2003, 11(3): 321-324.
- [11] Gershon RK, Kondo K. Infectious immunological tolerance. Immunology. 1971; 21(6): 903-914.
- [12] Berendt MJ, North RJ. T-cell-mediated suppression of anti-tumor immunity: an explanation for progressive growth of an immunogenic tumor. J Exp Med. 1980; 151(1): 69-80.
- [13] Liu JT, Yue J, Ren XB, et al. Zhonghua Zhongliu Zazhi. 2005; 27(7): 423-425.
刘俊田, 岳杰, 任秀宝, 等. 乳腺癌患者外周血 CD4⁺CD25⁺ 调节性 T 细胞的检测及意义[J]. 中华肿瘤杂志, 2005, 27(7): 423-425.
- [14] Wen Y, Sun XY, He J, et al. Zhongguo Shiyang Zhenduanxue. 2010; 14(9): 1402-1405.
温岩, 孙晓艳, 何津, 等. 卵巢癌患者外周血 CD4⁺CD25⁺ 调节性 T 细胞的检测及其临床意义[J]. 中国实验诊断学, 2010, 14(9): 1402-1405.
- [15] Liu SM, Wu CG. Disan Junyi Daxue Xuebao. 2006; 27(10): 930-932.
刘顺民, 吴昌归. 肺癌患者外周血 CD4⁺CD25⁺ 调节性 T 细胞的检测及其临床意义[J]. 第四军医大学学报, 2006, 27(10): 930-932.
- [16] Yang Z, Niu W, Shang XY, et al. Zhongguo Aizheng Zazhi. 2007; 17(1): 62-64.
杨翌, 牛微, 尚小云, 等. 肝癌患者 CD4⁺CD25⁺ 调节性 T 细胞的检测及其临床意义[J]. 中国癌症杂志, 2007, 17(1): 62-64.
- [17] Hu J, Huo ZH, Chu ZL, et al. Zhongguo Zhedai Yixue. 2009; 9(5): 843-844.
胡君, 霍中华, 储著凌, 等. 胰腺癌患者 IAP 与 CD4⁺CD25⁺ T 细胞的相关性[J]. 中国热带医学, 2009, 9(5): 843-844.
- [18] Lu XT, Liu JT. Zhongguo Zhongliu Linchuang. 2008; 35(11): 656-659.
卢晓婷, 刘俊田. CD4⁺CD25⁺ 调节性 T 细胞在肿瘤免疫及化疗方面的研究进展[J]. 中国肿瘤临床, 2008, 35(11): 656-659.
- [19] Zheng ST. Fangshe Mianyixue Zazhi. 2002; 15(3): 151-152.
郑绍同. 白血病患者外周血 T 淋巴细胞亚群和 IL-2, siL-2R, TNF- α 水平的观察[J]. 放射免疫学杂志, 2002, 15(3): 151-152.
- [20] Jing SR, Zou QM. Mianyixue Zazhi. 2006; 22(3): 26-29.
井申荣, 邹全明. 白细胞介素 10 的研究进展[J]. 免疫学杂志, 2006, 22(3): 26-29.
- [21] Hu HB, Jia AP, Liang XL, et al. Chongqing Yixue. 2010; 39(3): 265-267.
胡宏波, 贾安平, 梁秀兰, 等. 胃癌组织中 Treg 的分布数量及其与 IL-10、TGF- β 关系研究[J]. 重庆医学, 2010, 39(3): 265-267.

来自本文课题的更多信息--

基金声明: 海南省卫生厅科研立项课题(琼卫 2008-55)。

作者贡献: 通讯作者进行实验设计, 实验实施为第一、四作者, 实验评估为第四作者, 资料收集为第三、五作者, 第一作者成文, 通讯作者审核, 第一作者对文章负责。

利益冲突: 课题未涉及任何厂家及相关雇主或其他经济组织直接或间接的经济或利益的赞助。

伦理要求: 实验所纳入的研究对象已经签署知情同意书, 实验方案通过医学伦理委员会批准。

研究的创新之处: 以“急性淋巴细胞白血病, CD4⁺CD25⁺Treg, 白细胞介素 2, 白细胞介素 10, 转化生长因子 β ”为关键词检索 CNKI 数据库 2001/2011 文献, 未发现同类性质的文章, 证明实验具有先进性。

实验通过检测急性淋巴细胞白血病患者 CD4⁺CD25⁺T 调节细胞分泌白细胞介素 2、白细胞介素 10 及转化生长因子 β 的水平, 发现 CD4⁺CD25⁺T 调节细胞可能通过下调白细胞介素 2 的分泌, 增加白细胞介素 10 及转化生长因子 β 的分泌来调节细胞免疫功能, 达到抑制细胞免疫功能的作用。



ISSN 1673-8225 CN 21-1581/R 2012 年版权归《中国组织工程研究》杂志社所有

社长的话：向 SCI 收录杂志投稿：能够为您做些什么？②

(接目次页)

投稿后按编辑要求修改时润色？

投稿命中把握率大的文章可在此时进行，此时的关键是要快，在期刊规定的时间内完成→我们可提供高质量短时效的润色服务。

对向有 SCI 收录优秀杂志投稿经验，有优秀科研能力，有国家级多项基金资助项目的团队，可提供的服务项目有：

第二种层面的服务：

服务项目 1：可提供临床研究的“北美临床注册”服务：凡从事临床实验研究者，均应在课题进行前即认真注重和完成此项目，为临床稿

件发表奠定基础。

服务项目 2：可为优秀科研成果向国际影响力较高杂志投稿提供策划方案：及文章撰写设计合理性的咨询服务。

服务项目 3：可提供邀请国际一流期刊主编讲座并与其见面沟通交流了解国内优秀团队的服务：这是优秀团队融入国际化队列的必由之路，也是优秀团队熟悉国际化投稿规范，以及国际主编认识中国团队的必要的交流活动。

服务项目 4：可提供与国际优秀专家及国际优秀实验室进行学术交流与科研合作的服务：同时可提供优秀专家去国际一流实验室学习进

修的机会。

服务项目 5：可提供为科研和投稿选题服务的国际数据库检索和数据分析应用技能的培训服务：这是课题、文章具有国际创新性的前提保障。

第三种层面的服务：

服务项目 1：可免费为作者提供选刊服务

服务项目 2：可提供高质量的稿件语言翻译和润色服务。

服务项目 3：可提供按投稿期刊要求进行的文章格式调整及参考文献核准的服务。→如投稿前不认真进行此项规范，将增加稿件被拒的机率。

服务项目 4：可提供标准投稿信撰写及选择审稿人的服务。