

Diagnosis and Progress in Biological Treatment of Osteosarcoma

Xinrong Xie, Tianchang Lin, Zhiping Liu, Haoyu Tang, Qingkai Zhong, Lijia Cheng*

Medical College, Chengdu University, Chengdu Sichuan
Email: *chenglijia@cdu.edu.cn

Received: Jun. 13th, 2019; accepted: Jun. 26th, 2019; published: Jul. 3rd, 2019

Abstract

Osteosarcoma is a primary malignant tumor that seriously threatens the health and life of patients. With the development of medical science and technology, treatment methods are becoming more and more diverse. In recent years, more comprehensive treatment schemes combining surgical treatment and chemotherapy are advocated, which can improve the five-year survival rate of patients to 60% - 70%. In order to improve the quality of life and prolong the survival time of patients, the key to the treatment of osteosarcoma lies in the early detection and treatment of osteosarcoma. This article reviews the current diagnostic methods of osteosarcoma and recent advances in immune signaling pathways, vascular targeting, modified T cells and other aspects of osteosarcoma.

Keywords

Osteosarcoma, Diagnosis, Immunotherapy, PD-1, CAR-T

骨肉瘤的诊断及生物学治疗进展

谢欣蓉, 林天昌, 刘志萍, 唐昊宇, 钟清凯, 程丽佳*

成都大学医学院, 四川 成都
Email: *chenglijia@cdu.edu.cn

收稿日期: 2019年6月13日; 录用日期: 2019年6月26日; 发布日期: 2019年7月3日

摘要

骨肉瘤是严重威胁患者健康和生命的一种原发性恶性肿瘤。随着医学科学技术的发展, 治疗方法日益多
*通讯作者。

样,近几年多提倡手术治疗与化疗结合的综合治疗方案,这能将患者五年生存率提高至60%~70%。为了提高患者生存质量,延长患者生存时间,骨肉瘤治疗的关键在于对骨肉瘤的早发现,早治疗。本文就目前骨肉瘤的诊断方式和近年来骨肉瘤在免疫信号通路、血管靶向、修饰T细胞、等方面取得的研究进展进行综述。

关键词

骨肉瘤, 诊断, 免疫治疗, PD-1, CAR-T

Copyright © 2019 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

骨肉瘤(osteosarcoma)是一种骨组织中最常见的原发性、恶性、成骨性肿瘤,因其具有增殖的肿瘤细胞直接形成骨或骨样组织而得名,又称为成骨肉瘤。该病好发于15~25岁青少年和60岁以上老年人[1]的股骨远端、胫骨近端等血运丰富的干骺端。有疼痛,肿胀和运动障碍三大主要症状,极大影响患者的生活。有研究[2]发现骨肉瘤容易发生早期转移,以肺转移最为多见,转移的病人80%~90%死于肺转移。因此疾病的早期发现和诊断,对于疾病的治疗具有重要意义。传统的治疗方式为手术截肢,但其效果并不理想,术后患者长期生存率(>5年)未超过20% [3],且对患者身体和心理都造成一定伤害,而目前骨肉瘤的主要治疗方法为保肢手术辅以新辅助化疗,个体化治疗和介入治疗等,将患者五年生存率提高至60%~70% [4],然而对于已发生转移或复发的患者,预后仍较差,五年生存率低[5]。因此,急需新的治疗手段来解决这一问题。而随着肿瘤免疫学的发展,免疫治疗逐渐成为肿瘤治疗相关领域的专家的新选择[6]。本文将从现代医学对骨肉瘤的诊断和近年来免疫治疗热点进行综述和总结。

2. 检验诊断

骨肉瘤的诊断主要从流行病学,影像学检查,实验室检查,组织活检四个方面来进行。

骨肉瘤首发症状为疼痛和肿胀,疼痛由间接性逐渐发展为持续性。局部出现包块是骨肉瘤的特征性表现[7]。青少年骨肉瘤患者多存在外伤诱因[8],因此,对于青少年外伤损伤后应注意继发性骨肉瘤的发生。

主要的影像学检查有X线平片,磁共振成像(Magnetic Resonance Imaging, MRI),电子计算机断层扫描(Computed Tomography, CT)等,详见表1。传统X检查因其操作简单、费用较低,且具有较高的空间分辨率的优点,在骨肉瘤的诊断上仍占据很重要的地位,目前仍为首选影像检查方法。对于骨肉瘤骨膜反应的检查,X线平片能直观反映骨膜反应的皮质旁弧线状,葱皮样致密影,Codman三角等,是初步诊断骨肉瘤最广泛的方式。但无法确定软组织肿块的情况和肿瘤的大小。而对于瘤骨的诊断,CT扫描可敏感的分辨成骨的周边部分,高密度分辨率能显示溶骨型分散瘤骨敏感性,和骨质遭破坏的程度。同时,CT对结构复杂,重叠较多的骨肉瘤的观察有明显优势。MRI能观察骨质破坏的范围,正常骨质与瘤骨的界限,软组织肿块,肿瘤浸润情况。同时,MRI对骨肉瘤软组织肿块的影像诊断,能仅通过平扫就确定软组织肿块的形态,大小,范围,甚至内部结构成分,通过多方位的扫描,判断肿块对邻近组织器官的压迫,对骨骺及关节的侵犯检测具有直观,准确的特点[9]。还能全方位成像,为后期治疗方案的制定和对

预后的预估提供科学依据。综上所述, X 线平片可用与骨肉瘤的早期诊断, CT 辅证 X 线平片结果, MRI 多应用于后期治疗的辅助性检查。

Table 1. Comparison of imaging findings
表 1. 影像学检查效果比较

| 检查方法 | 骨质破坏 | 骨膜反应 | 范围大小 | 软组织肿块 | 瘤骨 | Codman 三角 |
|------|------|------|------|-------|------|-----------|
| X 线 | ++ | ++++ | ++ | ++ | ++ | ++++ |
| CT | ++++ | + | ++++ | +++ | ++++ | ++ |
| MRI | ++++ | ++ | ++++ | ++++ | ++++ | ++ |

注: 从+到++++为正向评价。

常规检查为血清碱性磷酸酶(ALP)和乳酸脱氢酶(LDH)的检查和血常规。两种酶表达的结果若显示两种酶表达水平升高, 则提示骨肉瘤预后较差, 不能用于确诊, 可较多用于预后情况的检测指标。

组织活检是确诊骨肉瘤的金标准。在影像学检查无法确诊骨肉瘤的性质时, 可作为最后最准确的检查手段。外科治疗前一定要进行活检术, 并且在外科治疗单位进行, 活检位置选择对以后的保肢手术非常重要, 活检时应注意避免骨折。活检方式中, 切开活检的风险较大, 会导致肿瘤细胞周围组织污染, 患者住院时间较长, 因此通过影像学检查后无争议的病人, 慎选组织活检。

3. 免疫治疗

肿瘤的发展主要由于肿瘤细胞的免疫逃逸, 因此免疫治疗有望在骨肉瘤预防与治疗领域发挥一定的作用。免疫治疗可以激活机体的免疫细胞, 杀伤肿瘤, 或抑制肿瘤的继续繁殖与转移, 从而重建肿瘤患者的免疫微环境, 调动机体自身的免疫功能, 来发挥抑制肿瘤的作用[10]。在免疫治疗中, 近年来较受关注的是 PD-1 信号通路抑制治疗, CAR-T 靶向治疗, 血管靶向治疗等。

3.1. 信号传导抑制治疗

程序性死亡受体 1(programmed death-1, PD-1)是细胞毒性 T 淋巴细胞(cytotoxic T lymphocyte, CTL)表达的一种免疫抑制性受体, PD-1 高表达于肿瘤浸润性淋巴细胞, 而 PD-L1 在各种肿瘤细胞, 尤其是实体瘤细胞中有更高的表达, 成为 PD-1 介导肿瘤免疫抑制的主要配体。两者结合激活 PD-1/PD-L1 信号通路起免疫检查点的作用, 阻止 T 细胞活化和减少细胞因子产生, 以促进自身免疫的抑制, 导致肿瘤细胞免疫逃逸。另有研究表明, PD-L1 的高表达, 能够诱导肿瘤患者体内 T 淋巴细胞的凋亡, 增强癌细胞转移能力, 因此有学者提出可以作为患者预后的标志[11]。孙保国等研究[12]的裸鼠 Saos-2 骨肉瘤肺转移模型, PD-1 和 PD-L1 表达高于正常组织, 差异具有统计学意义。有研究显示[13], 对 56 例骨肉瘤患者与 42 例正常人外周 CD4+ T 细胞和 CD8+ T 细胞中的 PD-1 表达分析得出, 骨肉瘤患者 CD4+ T 细胞和 CD8+ T 细胞中 PD-1 表达与对照组相比明显有上调; 对 18 例已骨肉瘤转移与 38 例未转移患者进行对比分析, 结果显示已转移患者 PD-1 在 CD4+ T 细胞中的表达高于未转移患者。

因此, 通过阻断 PD-1/PD-L1 信号通路以恢复 T 细胞的免疫识别与杀伤能力, 对骨肉瘤的治疗能有良好的效果。早在 2012 年, 处于临床试验阶段的 PD-1/PD-L1 信号通路抗体已有 CT-011、MK-3475、AMP-224 和 BMS-936559 等 5 种[14]。而目前较为有效的是 PD-1/PD-L1 抑制剂, 在中国获准生产销售的有 Nivolumab, Pembrolizumab。但这两种药物主要适用于黑色素瘤, 高微卫星不稳定性癌症, 胃癌等, 对骨肉瘤的临床治疗效果目前还未有结论, 其药物试验相对滞后。但有动物研究[15]表示, 在转移性骨肉瘤中, PD-L1 单抗治疗下调了 PD-L1 的表达同时也上调了 CD80/CD86 的表达, 提示 PD-1/PD-L1 信号通

路抑制 CTL 杀伤作用的机制也是适用于骨肉瘤的,只是对其机制和给药剂量与途径仍需进一步研究验证。

3.2. 血管靶向治疗

骨肉瘤作为高度血管化的恶性肿瘤其发展和转移涉及肿瘤血管生成。血管内皮生长因子(VEGF)及其受体(VEGFR)在其中起重要作用。VEGFR 分为 VEGFR-1、VEGFR-2 和 VEGFR-3,分别受其配体(VEGF, A, B, C 和 D)活化。VEGF 主要通过自分泌和旁分泌的方式提高肿瘤血管化,促进肿瘤细胞的增殖和抑制肿瘤细胞的凋亡,从而促进肿瘤的生长。有多项研究表明[16][17][18][19]在骨肉瘤等多种肿瘤中 VEGF 均存在过表达的现象。Yu 等[20]报道 VEGFR-3 的表达水平与骨肉瘤转移患者的肺转移发展和总生存率相关。王东等[21]实验表明 VEGF 抗体能够抑制内皮细胞增殖,促进内皮细胞凋亡,显著抑制骨肉瘤 OS-732 血管形成,并可能通过抑制血管形成而促进肿瘤细胞凋亡,达到抑制瘤细胞生长的作用。其结果提示 VEGF 可以作为骨肉瘤抗血管生成治疗的潜在靶分子。有研究[22]证实抗 VEGFR 的药物治疗胃癌可改善总生存期和无进展生存期,提高治疗效率。同理,骨肉瘤与胃癌同样为实体瘤,抗 VEGFR 药物可作为有效治疗骨肉瘤的一种选择。目前针对 VEGF 及其受体的抗血管生成药物主要包括克隆抗体(单克隆抗体,多克隆抗体)、小分子抑制物、可溶性受体抑制剂、VEGFR 的酪氨酸激酶抑制剂等,但大多数需要联合使用,无法单独治疗,未来还需大力研究,最终实现骨肉瘤的个体化治疗。

3.3. CAR-T 细胞免疫治疗

嵌合抗原受体基因修饰的 T 细胞(chimeric antigen receptormodified T, CAR-T)疗法一种有效的治疗肿瘤的免疫治疗方式。其方法是提取人自身 T 细胞,通过基因工程(图 1),感染表达 CAR 分子的病毒得到

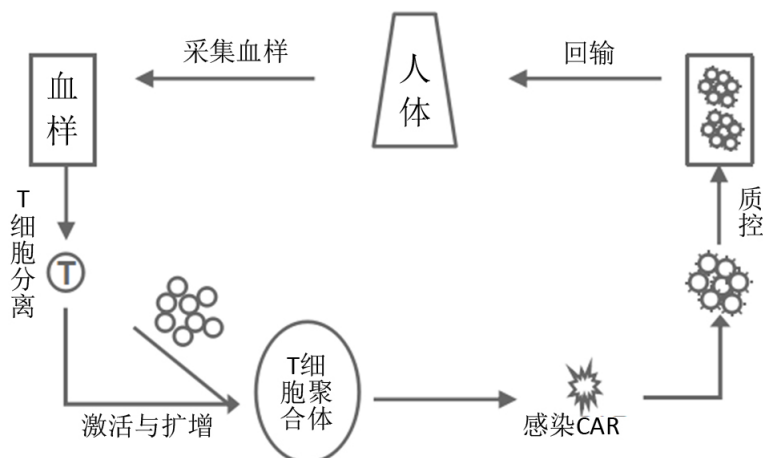


Figure 1. Genetic engineering
图 1. 基因工程

CAR-T 细胞,再将其输回人体后,能识别并结合肿瘤细胞,激活 T 细胞表达,从而识别肿瘤细胞靶向抗原,避免肿瘤细胞的免疫逃逸,并发挥对其的杀灭作用(如图 2)。CAR-T 细胞对肿瘤有强大的杀伤活性,且活化 T 细胞,同时不受 MHC 的限制。因此, CAR-T 细胞能克服肿瘤逃逸。有研究表明[23][24][25] CAR-T 技术在血液肿瘤治疗中有良好效果。这给了我们在应用 CAR-T 疗法治疗实体瘤方面的信心。目前 CAR 的设计已经到了第四代,2017 年 10 月 18 日又批准了全球第二个 CAR-T 疗法-Yescarta 上市[26]。

CAR-T 细胞在实体瘤应用中首先要选择合适的靶分子。在酪氨酸激酶样孤儿受体 1(ROR1)方面,包括尤文肉瘤、骨肉瘤、横纹肌肉瘤和纤维肉瘤的肉瘤细胞系中高度表达。有研究提示[27],靶向 ROR1-CAR-T

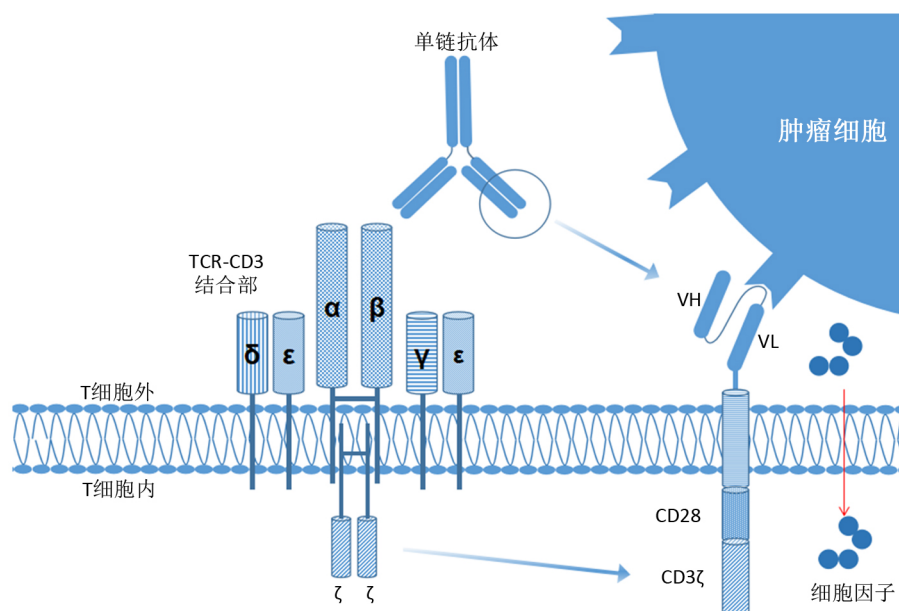


Figure 2. CAR-T mechanism diagram

图 2. CAR-T 机制图

细胞对骨肉瘤灵长类动物模型具有显著的抗肿瘤功效。在白细胞介素 11 受体 α 链(IL-11R α)方面,骨肉瘤细胞肺转移中 IL-11R α 高度表达,并且 IL-11R α 在正常器官组织中表达不明显,因此可看作是骨肉瘤肺转移的功能靶标[28]。在神经苷脂(GD)方面, GD2 在多种实体瘤中过表达,如神经母细胞瘤,神经胶质瘤,骨肉瘤等。GD2 通过介导细胞的增殖,迁移,侵袭,分化等途径在肿瘤发生发展过程中起重要作用,因此,可作为 CAR-T 疗法的一个具有前景的潜在靶点[29]。在血小板衍生生长因子/受体(PDGF/PDGFR)方面,PDGF 是成骨细胞和破骨细胞中对细胞增殖,分化起重要作用的信号分子。Bozzi [30]等认为 PDGFR 的过表达与疾病进展有密切关系。有研究[31]显示,血小板与肿瘤细胞接触时会导致 PDGFR 和 Akt 磷酸化,进而促进骨肉瘤细胞的增殖。并且骨肉瘤是一种高度血管化的恶性肿瘤,血小板分布较多,因此,将 PDGF 及其受体作为靶向配体,理论上来说能广泛的对抗骨肉瘤。

相对于传统免疫疗法, CAR-T 有靶向性好、杀伤力强、高效、广谱的优点,但其应用于血液肿瘤疗效更佳,在实体肿瘤方面还有一定的困难与挑战,也存在着一些问题:① 缺乏特异性的靶点;② CAR-T 细胞不能有效浸润入肿瘤组织;③ 肿瘤微环境对 CAR-T 细胞有抑制性作用;④ 不良反应:细胞因子风暴;⑤ 脱靶效应等都是临床应用 CAR-T 细胞免疫治疗骨肉瘤所不能忽视的问题。还需大力的研究,进一步提高 CAR-T 细胞在实体瘤中的治疗效果。

4. 结语

随着医学技术的发展,骨肉瘤诊断与治疗的水平都有较大较快的发展,但若只停留在目前的阶段,则无法进一步提高患者的生存质量,对于早期骨肉瘤的诊断预防还有很大的困难,免疫治疗方法有效但还不成熟,面临的问题还很严峻,因此骨肉瘤诊治的新方法,新途径还亟待寻求,以期为患者提供更有效,更合适的治疗方案。希望有更多临床试验为骨肉瘤的治疗提供更有利支持。科研人员也在骨肉瘤肿瘤机制研究中不断深入,帮助骨肉瘤治疗水平能有更长足的发展。

基金项目

四川省科技厅项目(2018JY0348)、国家级大学生创新创业训练计划项目(201811079019)和成都大学大学

生创新创业训练计划项目(CDU_CX_2019392, CDU_CX_2019393, CDU_CX_2019394, CDU_CX_2019395, CDU_CX_2019396)资助。

参考文献

- [1] Isakoff, M.S., Bielack, S.S., Meltzer, P., *et al.* (2015) Osteosarcoma: Current Treatment and a Collaborative Pathway to Success. *Journal of Clinical Oncology*, **33**, 3029-3035. <https://doi.org/10.1200/JCO.2014.59.4895>
- [2] 王显阳, 常君丽, 施杞, 等. 骨肉瘤相关信号通路的研究进展[J]. 中国癌症防治杂志, 2015, 7(1): 52-55.
- [3] Fidler, M.M., Frobisher, C., Guha, J., *et al.* (2015) Long-Term Adverse Outcomes in Survivors of Childhood Bone Sarcoma: The British Childhood Cancer Survivor Study. *British Journal of Cancer*, **112**, 1857-1865. <https://doi.org/10.1038/bjc.2015.159>
- [4] Allison, D.C., Carney, S.C., Ahlmann, E.R., *et al.* (2012) A Meta-Analysis of Osteosarcoma Outcomes in the Modern Medical Era. *Sarcoma*, **2012**, Article ID: 704872. <https://doi.org/10.1155/2012/704872>
- [5] Wu, P.K., Chen, W.M., Chen, C.F., *et al.* (2000) Primary Osteogenic Sarcoma with Pulmonary Metastasis: Clinical Results and Prognostic Factors in 91 Patients. *Japanese Journal of Clinical Oncology*, **30**, 514-522. <https://doi.org/10.1093/jjco/hyp057>
- [6] 李汉忠, 张玉石, 郑国洋. 肿瘤免疫治疗: 回顾与展望[J]. 协和医学杂志, 2018, 9(4): 289-294.
- [7] 黄志鹏, 宋科官. 骨肉瘤的诊断及治疗进展[J]. 国际骨科学杂志, 2018, 39(3): 150-153.
- [8] 严海林. 骨肉瘤流行病学研究及术前风险评分模型的构建[D]: [博士学位论文]. 杭州: 浙江大学, 2017.
- [9] 周四清, 毋凡, 王继峰, 等. 骨肉瘤的 X 线、CT、MRI 影像对比诊断[J]. 实用医学杂志, 2009, 25(20): 3467-3468.
- [10] 王玲, 王燕, 冯琛, 潘禹铮, 张英泽. 骨肉瘤免疫治疗的研究进展[J]. 中华老年骨科与康复电子杂志, 2017, 3(6): 381-384.
- [11] 郑冠群, 赵福友, 吴穷, 杨燕. PD-1 及其配体在骨肉瘤免疫治疗中的研究进展[J]. 中华全科医学, 2016, 14(9): 1560-1562.
- [12] 孙保国, 陈泽雄, 张诗军, 刘泳冬, 黄红中, 尹丽荣. 复方中药对裸鼠肝癌模型 PTEN 蛋白表达的影响[J]. 中国中药杂志, 2007(11): 1057-1060.
- [13] Zheng, W.J., Xiao, H., Liu, H., *et al.* (2014) Expression of Programmed Death 1 Is Correlated with Progression of Osteosarcoma. *APMIS*, **123**, 102-107. <https://doi.org/10.1111/apm.12311>
- [14] Simeone, E. and Ascierto, P.A. (2012) Immunomodulating Antibodies in the Treatment of Metastatic Melanoma: The Experience with Anti-CTLA-4, Anti-CD137 and Anti-PD1. *Journal of Immunotoxicology*, **9**, 241-247. <https://doi.org/10.3109/1547691X.2012.678021>
- [15] Lussier, D.M., Johnson, J.T., Hingorani, P., *et al.* (2015) Combination Immunotherapy with α -CTLA-4 and α -PD-L1 Antibody Blockade Prevents Immune Escape and Leads to Complete Control of Metastatic Osteosarcoma. *Journal for Immunotherapy of Cancer*, **3**, 21. <https://doi.org/10.1186/s40425-015-0067-z>
- [16] Gobin, B., Battaglia, S., Lanel, R., *et al.* (2014) NVPBEZ235, a Dual PI3K/mTOR Inhibitor, Inhibits Osteosarcoma Cell Proliferation and Tumor Development *in Vivo* with an Improved Survival Rate. *Cancer Letters*, **344**, 291-298. <https://doi.org/10.1016/j.canlet.2013.11.017>
- [17] 郑杰, 宋来君. 过表达 HIF-1 α 和 VEGF 蛋白与垂体腺瘤侵袭行为的关系[J]. 现代肿瘤医学, 2018, 26(12): 1845-1848.
- [18] 李桃英, 高珊珊, 刘鹏森, 朱宝菊. ER、VEGF、TGF- β 1 在增生期子宫内膜良恶性肿瘤中的表达及其相关性研究[J]. 实用癌症杂志, 2018, 33(3): 349-352.
- [19] 谭胜, 王国祥. 外周血内 VEGF 水平对食管癌患者放化疗效果分析[J]. 北华大学学报(自然科学版), 2018, 19(1): 56-59.
- [20] Yu, X.W., Wu, T.Y., Yi, X., *et al.* (2014) Prognostic Significance of VEGF Expression in Osteosarcoma: A Meta-Analysis. *Tumour Biology*, **35**, 155-160. <https://doi.org/10.1007/s13277-013-1019-1>
- [21] 王东, 仲召阳, 李增鹏, 张沁宏, 何怡, 卿毅. 骨肉瘤 VEGF 表达及 VEGF 抗体抑制血管生成的实验研究[J]. 重庆医学, 2006(15): 1369-1372.
- [22] 李龙. 抗血管内皮生长因子受体药物治疗晚期胃癌的 Meta 分析[D]: [硕士学位论文]. 兰州: 兰州大学, 2017.
- [23] Hu, Y., Wu, Z., Luo, Y., *et al.* (2017) Potent Anti-Leukemia Activities of Chimeric Antigen Receptor-Modified T Cells against CD19 in Chinese Patients with Relapsed/Refractory Acute Lymphocytic Leukemia. *Clinical Cancer Re-*

search, **23**, 3297-3306. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-16-1799>

- [24] Locke, F.L., Neelapu, S.S., Bartlett, N.L., *et al.* (2017) Phase 1 Results of ZUMA-1: A Multicenter Study of KTE-C19 Anti-CD19 CAR T Cell Therapy in Refractory Aggressive Lymphoma. *Molecular Therapy*, **25**, 285-295. <https://doi.org/10.1016/j.ymthe.2016.10.020>
- [25] Gardner, R.A., Finney, O., Annesley, C., *et al.* (2017) Intent-to-Treat Leukemia Remission by CD19 CAR T Cells of Defined Formulation and Dose in Children and Young Adults. *Blood*, **129**, 3322-3331.
- [26] FDA (2017) FDA Approves CAR-T Cell Therapy to Treat Adults with Certain Types of Large B-Cell Lymphoma. <https://www.fda.gov/NewsEvents/Newsroom/PressAnnouncements/ucm581216.htm>
- [27] Huang, X., Park, H., Greene, J., *et al.* (2015) IGF1R- and ROR1-Specific CAR T Cells as a Potential Therapy for High Risk Sarcomas. *PLoS ONE*, **10**, e0133152. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0133152>
- [28] Liu, T., Ma, Q., Zhang, Y., *et al.* (2015) Interleukin-11 Receptor α Is Overexpressed in Human Osteosarcoma, and Nearinfrared-Labeled IL-11R α Imaging Agent Could Detect Osteosarcoma in Mouse Tumor Xenografts. *Tumor Biology*, **36**, 2369-2375. <https://doi.org/10.1007/s13277-014-2844-6>
- [29] Suzuki, M. and Cheung, N.K. (2015) Disialoganglioside GD2 as a Therapeutic Target for Human Diseases. *Expert Opinion on Therapeutic Targets*, **19**, 349-362. <https://doi.org/10.1517/14728222.2014.986459>
- [30] Bozzi, F., Tamborini, E., Negri, T., *et al.* (2007) Evidence for Activation of KIT, PDGFR Alpha, and PDGFR Beta Receptors in the Ewing Sarcoma Family of Tumors. *Cancer*, **109**, 1638-1645. <https://doi.org/10.1002/cncr.22587>
- [31] Takagi, S., Takemoto, A., Takami, M., *et al.* (2014) Platelets Promote Osteosarcoma Cell Growth through Activation of the Platelet-Derived Growth Factor Receptor Akt Signaling Axis. *Cancer Science*, **105**, 983-998. <https://doi.org/10.1111/cas.12464>

知网检索的两种方式:

1. 打开知网首页: <http://cnki.net/>, 点击页面中“外文资源总库 CNKI SCHOLAR”, 跳转至: <http://scholar.cnki.net/new>, 搜索框内直接输入文章标题, 即可查询;
或点击“高级检索”, 下拉列表框选择: [ISSN], 输入期刊 ISSN: 2161-8976, 即可查询。
2. 通过知网首页 <http://cnki.net/>顶部“旧版入口”进入知网旧版: <http://www.cnki.net/old/>, 左侧选择“国际文献总库”进入, 搜索框直接输入文章标题, 即可查询。

投稿请点击: <http://www.hanspub.org/Submission.aspx>

期刊邮箱: hjbm@hanspub.org