

[文章编号] 1007-385X(2007)02-0126-06

· 论 著 ·

shRNA 干扰 HERG 钾通道治疗裸鼠皮下人成神经细胞移植瘤

贾勇圣,赵 杰,魏晓莉,靳庆娥,郑建全,李 昕,闫海涛(军事医学科学院 毒物药物研究所,北京 100850)

[摘 要] **目的:** 探讨发卡结构小片段 RNA(small hairpin interfering RNA, shRNA)干扰人 ERG(human ether- α -go-go-related gene, HERG)钾通道治疗裸鼠皮下人成神经细胞移植瘤的疗效和作用机制。 **方法:** 用真核转录载体 mU6pro 构建针对 *herg* 基因的发卡状 RNA 干扰质粒(shRNA-herg)。18 只 BALB/c 裸小鼠皮下接种成神经细胞瘤 SH-SY5Y 细胞,建立裸鼠皮下人成神经细胞移植瘤模型,当瘤体积达到 100 mm³时随机分成 3 组,分别为生理盐水组(I)、对照质粒组(II)、干扰质粒组(III)。各组瘤内分别注射生理盐水、对照质粒、干扰质粒,以后每 7 d 注射 1 次,连续 15 d。观察各组肿瘤生长情况,RT-PCR 测定肿瘤组织 *herg* 基因 mRNA 含量变化,免疫组化检测肿瘤组织中 HERG 钾通道蛋白变化。 **结果:** 经治疗后,第 III 组肿瘤生长受到明显抑制,II、III 组抑瘤率分别为 3.04% 和 29.78%($P < 0.05$)。肿瘤组织内 *herg* 基因 mRNA 含量、HERG 钾通道蛋白,III 组较 I、II 组表达减弱。 **结论:** 构建的 shRNA 干扰质粒可通过靶向性抑制 *herg* 基因及其编码的 HERG 钾通道蛋白的表达,有效地抑制人成神经细胞瘤的生长。

[关键词] 发卡结构小片段 RNA; HERG 钾通道; 成神经细胞瘤; RNA 干扰

[中图分类号] R730.264 [文献标志码] A

shRNA interfering human ether- α -go-go-related potassium channel in treatment of subcutaneously implanted human neuroblastoma SH-SY5Y cells in nude mice

JIA Yong-sheng, ZHAO Jie, WEI Xiao-li, JIN Qing-e, ZHENG Jian-quan, LI Xin, YAN Hai-tao(Institute of Pharmacology and Toxicology, Academy of Military Medical Sciences, Beijing 100850, China)

[Abstract] **Objective:** To explore the therapeutic efficacy and mechanism of shRNA in treatment of subcutaneously implanted SH-SY5Y cells in nude mice by interfering human ether- α -go-go-related gene (HERG)potassium channel expression. **Methods:** Eukaryotic vector mU6pro was used to construct *herg* gene-targeting small hairpin interfering RNA plasmid: shRNA-herg. Eighteen BALB/c nude mice were inoculated with SH-SY5Y cells subcutaneously to establish neuroblastoma model. When the implanted tumors grew to about 100 mm³, the mice were divided into randomly 3 groups: Intra-tumor injection of normal saline (group I), shRNA-control plasmid (group II), and shRNA-herg plasmid (group III). The injections were given twice at an interval of 7 d after the first injection. The tumor growth was observed; the expression of mRNA and protein of HERG potassium was determined by RT-PCR and the immunohistochemical method, respectively. **Results:** The tumor growth was obviously inhibited in group III; the inhibitory rates in group II and group III were 3.04% and 29.78%, respectively ($P < 0.05$). Compared with group I and II, group III had lower levels of HERG mRNA and protein after treatment. **Conclusion:** The constructed shRNA can depress the growth of neuroblastoma by specifically silencing the expression of HERG potassium protein.

[Key words] small hairpin interfering RNA; human ether- α -go-go-related potassium channel; neuroblastoma; RNA interference

[Chin J Cancer Biother, 2007, 14(2): 126-131]

肿瘤基因治疗具有靶向性强、特异性高和安全性好等特点。其中通过 RNA 干扰(RNA interference, RNAi)技术治疗肿瘤正在得到广泛的研究和应用,有可能成为肿瘤基因治疗的理想方法之一^[1]。*erg* 基因(ether- α -go-go-related gene, *erg*)编码产物 ERG 钾离子通道(ether- α -go-go-related gene potassium channel, ERG potassium channel)是一种电

压门控型钾离子通道,人类 *erg* 基因(human ether- α -go-go-related gene, *herg*)编码 HERG 钾离子通道

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目(No. 3047209, 30500620)

[作者简介] 贾勇圣(1979-),男,河北省张家口市人,硕士研究生,主要从事肿瘤分子药理学方面的研究

[通讯作者] 郑建全, E-mail: zhengjq@nic.bmi.ac.cn

(human ether- α -go-go-related gene potassium channel, HERG potassium channel)在许多肿瘤细胞系中表达显著上调,并与肿瘤的形成、增殖、分化以及侵袭有关^[2-7]。以前的工作^[8]表明,使用 RNA 干扰技术在细胞水平沉默 *herg* 基因,可明显抑制成神经细胞瘤 SH-SY5Y 细胞的生长和增殖。为进一步观察 RNA 干扰技术对实体瘤的治疗效果,本实验通过建立裸鼠皮下人成神经细胞移植瘤模型,使用自行构建的靶向 *herg* 基因的发卡结构小片段 RNA (small hairpin interfering RNA, shRNA) 干扰质粒进行瘤内注射治疗,为验证和开发肿瘤治疗的新靶点提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 主要试剂、动物和细胞

HERG 干扰质粒、对照质粒及载体由本实验室构建和保存。T4 连接酶购自 Promega 公司, RPMI 1640 培养基干粉购自美国 Sigma 公司,胎牛血清购自杭州合资 Hyclone 公司,青霉素、链霉素购自华北制药股份有限公司。LipofectamineTM 2 000、Trizol 试剂盒购自美国 Invitrogen 公司,RT 试剂盒购自南京凯基公司,2 × Taq PCR Master Mix 购自北京天根公司。一抗为多克隆羊抗性的 anti-HERG(sc-15968) 抗体,购自美国 Santa Cruz 公司;二抗为辣根过氧化物酶标记的 IgG 抗体,购自北京天来生物技术公司。BALB/c 裸鼠,雄性,2~4 周龄,20~24 g,购自军事医学科学院实验动物中心(实验动物合格证号: Grade II, SCXK-2002-001)。成神经细胞瘤 SH-SY5Y 细胞购自协和医科大学细胞中心。

1.2 shRNA 表达质粒的设计与构建

herg 基因序列以 GenBank 中 NM000238 的序列为准, RNA 干扰的靶序列为 1 431~1 449 bp,同时设计一段阴性对照序列,其碱基组成与靶序列相同,但碱基排列顺序不同。干扰序列和阴性对照序列的 GC 含量均介于 45%~55% 之间,经 BLAST 软件分析,与人类其他基因无明显同源性。将干扰序列与阴性对照序列设计成发卡结构,两端分别加上 *Xba*I 和 *Bbs*I 酶切位点,中间为 9 bp 茎环序列分隔的反相重复靶序列,以 5 个 T 作为 RNA 聚合酶 III 的转录终止子。干扰序列:正义链 5'-TTTGCCACCTACGTCAATGCAATTCAAGAGATTGGCATTGAC GTAGGTGGTTTTT-3', 反义链 5'-CTAGAAAAACCACTACGTCAATGCAATCTCTTGAATTGGC ATTGACGTAGGTGG-3'。阴性对照序列:正义链 5'-TTTGGAGCTATTGTC GACGCTTCTTCAAGAGAGAAGCGTCCACAATAGCTC

TTTTT-3', 反义链 5'-CTAGAAAAAGAGCTATTGTC GACGCTTCTCTTGAAGAAGCGTCCACAATAGCTC-3'。以上序列由上海博亚公司合成。DNA 双链退火,正义链(125 nmol/ml) 6 μ l,反义链(125 nmol/L) 6 μ l,注射用水 1.5 μ l,10 × 退火 buffer(1 mol/L NaCl, 100 mol/L Tris, pH 7.4, ×10 倍) 1.5 μ l。将该体系加热至 95 $^{\circ}$ C, 10 min,冷却至室温放置过夜。质粒构建, *Xba*I、*Bbs*I 双酶切空质粒 mU6pro,将上述双链 DNA 插入其中, T4 连接酶连接。*herg* 基因干扰质粒和阴性对照质粒分别命名为 shRNA-*herg* 和 shRNA-control。

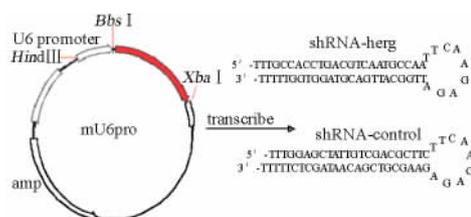


图1 干扰质粒模拟细胞内转录过程形成的发卡状结构

Fig. 1 Hairpin structure formed by interfering plasmid in cells

1.3 建立 BALB/c 裸小鼠皮下成神经细胞移植瘤模型

取处于对数生长期生长状态良好的 SH-SY5Y 细胞,0.25% 的胰酶消化,离心收集,重悬于无血清的 RPMI 1640 中,调整细胞密度至 $2 \times 10^6/250 \mu$ l,用无菌注射器(6 号针头)将细胞注入裸鼠左侧背部皮下。

1.4 实验分组治疗

当成神经细胞移植瘤结节长至 100 mm^3 时,随机分为生理盐水组(I)、对照质粒组(II)、干扰质粒组(III),每组 6 只。II、III 组分别为 shRNA-control 和 shRNA-*herg* 质粒 50 μ g 与 20 μ l 脂质体 2 000、20 μ l 无血清 RPMI 1640 混合后进行瘤内注射。每 7 d 注射 1 次,15 d 后处死,取出肿瘤测其长短径。瘤体体积(mm^3) = $ab^2/2$ (a、b 为瘤体垂直长、短径)。抑瘤率(%) = (对照组肿瘤体积 - 治疗组肿瘤体积)/对照组肿瘤体积 × 100%。

1.5 半定量 RT-PCR 法检测 shRNA 对裸鼠皮下移植瘤组织 *herg* 基因表达的影响

取裸鼠皮下移植瘤组织 10 mg,按 Trizol 试剂盒说明一步法提取瘤组织总 RNA。然后依照 RT 试剂盒操作说明进行逆转录,20 μ l 反应体系 65 $^{\circ}$ C 保温 5 min,冰浴 5 min,37 $^{\circ}$ C 保温 60 min,70 $^{\circ}$ C 保温 15 min 合成 cDNA 第 1 链。PCR 反应引物由上海 Sangon 公

司合成。herg 基因上游引物 5'-CAGCGGCTG-TACTCGGGCACAG-3', 下游引物 5'-CAGAAAGT-GTCGGAGAAGTC-3', 扩增片段为 569 bp^[3]。磷酸甘油醛脱氢酶基因(glycerinaldehyde phosphate dehydrogenase gene, GAPDH gene)上游引物 5'-GATTTG-GTCGTATTGGGGCGC-3', 下游引物 5'-CAGAGAT-GACCCTTTTGGCTCC-3', 扩增片段为 339 bp。取 2 μl 逆转录产物作为模板, 上下游引物各 1 μl, 2 × Taq PCR Master Mix 进行反应。反应条件为: 95 °C 预变性 5 min, 94 °C 变性 1 min, 62 °C 退火 1 min, 72 °C 延伸 1 min, 30 个循环后 72 °C 延伸 10 min, 以 GAPDH 基因为内参照, 各取 10 μl 产物, 1% 琼脂糖凝胶电泳进行鉴定, 然后用 Gel-Pro analyzer 软件(版本号 4.0.00.001)对凝胶图像灰度扫描分析。

1.6 免疫组织化学检测肿瘤组织 HERG 钾通道蛋白表达

肿瘤组织行常规 H-E 病理学检查, 同时以 anti-HERG 标记 HERG 钾通道蛋白, 观察治疗后瘤组织 HERG 钾通道蛋白表达情况。免疫组织化学染色采用 S-P 法, 石蜡切片常规法脱蜡至水后, 在 3% 的 H₂O₂ 溶液中室温育 10 min。蒸馏水冲洗并 PBS 浸泡 5 min 后, 将切片置于 1 mmol/L EDTA (pH 8.0) 和 0.01 mol/L 枸橼酸盐缓冲液中 92 °C ~ 98 °C 持续 10 ~ 15 min 进行抗原修复。普通兔血清封闭切片后在 HERG 抗体(anti-HERG)溶液中孵育, 4 °C 过夜。切片经 PBS 清洗 3 次后, 滴加兔抗羊的 IgG 抗体, 37 °C 温育 30 min。PBS 清洗后 DAB 显色剂显色, 室温 4 min 后苏木精复染, 封片。阴性对照由 PBS 代替 HERG 抗体。

1.7 统计学处理

实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 用 SARS8.0 软件进行 *t* 检验, 以 *P* < 0.05 为显著性差异。

2 结果

2.1 质粒鉴定

shRNA-herg 和 shRNA-control 质粒经 *Hind* III 和 *Xab* I 双酶切, 同时做 mU6pro 空载体双酶切对照。1% 琼脂糖凝胶电泳, mU6pro 空载体双酶切后呈两条带, 分别为 3 060 bp 和 1 084 bp; 而构建的质粒则为: 3 060 bp 和 331 bp(图 2)。将菌种送奥科生物公司测序, 结果均正确, 证实干扰载体构建成功。

2.2 shRNA 对皮下成神经细胞移植瘤的抑制

经过 3 次瘤内注射质粒治疗后, 第 II、III 组抑瘤率分别是 3.0% 和 29.8%, 两组相比有显著统计学意义(*P* < 0.05, 表 1)。

2.3 shRNA 对皮下成神经细胞移植瘤中 herg mRNA 表达的影响

半定量 RT-PCR 结果以琼脂糖凝胶电泳条带的亮度来判断 herg 基因 mRNA 含量的变化。Gel-Pro analyzer 软件对凝胶图像光密度分析。结果如图 3 所示, 与 I、II 组相比, III 组 herg 基因的 mRNA 含量明显降低。

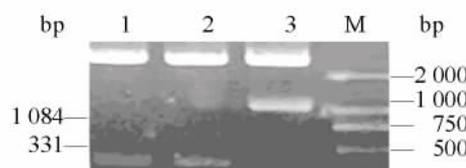


图 2 重组质粒 shRNA-herg 和 shRNA-control 双酶切鉴定结果

Fig. 2 Enzyme digestion analysis of recombinant plasmids shRNA-herg and shRNA-control

1: shRNA-herg- *Hind* III / *Xab* I; 2: shRNA-control- *Hind* III / *Xab* I; 3: mU6pro- *Hind* III / *Xab* I; M: Marker

表 1 shRNA 对皮下移植成神经细胞瘤的抑制

Tab. 1 Inhibition of subcutaneous neuroblastoma after shRNA treatment (*n* = 6)

Groups	Tumor volume ($\bar{x} \pm s, V / \text{mm}^3$)	Inhibitory rate(%)
NS(I)	2 247 ± 238	
shRNA-control(II)	2 179 ± 188	3.0
shRNA-herg(III)	1 577 ± 276	29.8*

* *P* < 0.05 vs shRNA-control group

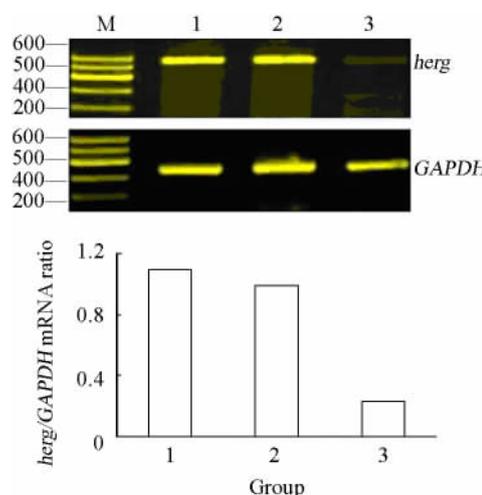


图 3 shRNA 对皮下移植成神经细胞瘤中 herg mRNA 表达的影响

Fig. 3 Effect of shRNA on herg expression in subcutaneous neuroblastoma

1: NS group; 2: shRNA-control group; 3: shRNA-herg group

2.4 shRNA 对皮下移植瘤组织学的影响

第 I、II 组肿瘤组织内瘤细胞丰富,核圆形或椭圆形,染色质丰富,核分裂易见,间质血管丰富,组织坏死少见。第 III 组肿瘤组织内出现不同程度坏死,出现模糊的无结构的颗粒状红染物质,伴随核固缩、核碎裂、核溶解,间质血管少见(图 4)。

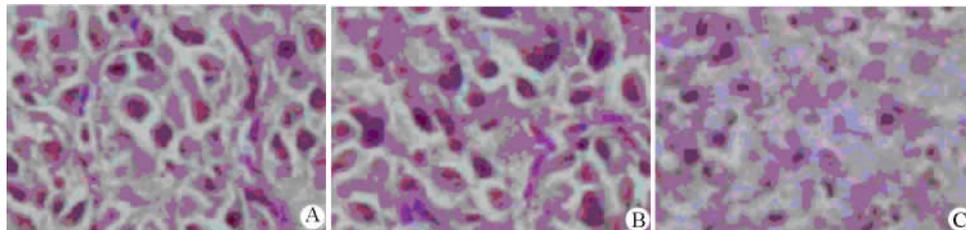


图 4 shRNA 对皮下移植人成神经细胞瘤组织学的影响(H-E, ×100)

Fig. 4 Effect of shRNA on histology of subcutaneous neuroblastoma(H-E, ×100)

1: NS group; 2: shRNA-control group; 3: shRNA-herg group

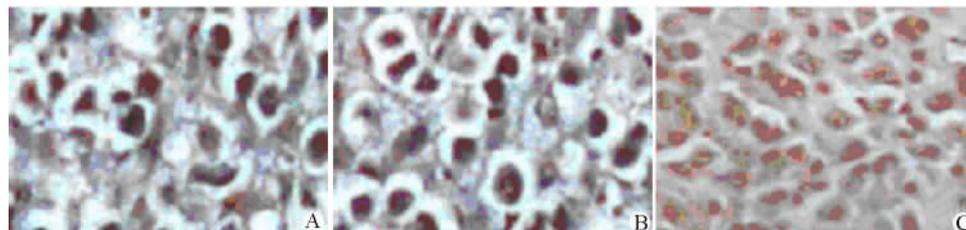


图 5 shRNA 对肿瘤组织 HERG 钾通道蛋白的抑制(S-P, ×100)

Fig. 5 Inhibition of HERG potassium protein in subcutaneous neuroblastoma by shRNA(S-P, ×100)

A: NS group; B: shRNA-control group; C: shRNA-herg group

3 讨论

Herg 基因是用小鼠 *eag* (ether- α -go-go gene, *eag*) 同源染色体筛选人类海马 cDNA 文库分离得到的,它编码延迟整流钾离子通道的快速激活成分 IKr 的 α 亚单位。在许多肿瘤细胞系中,*herg* 基因表达显著上调,特异性阻断 HERG 钾通道的药物可抑制表达 *herg* 基因的肿瘤细胞增殖。目前研究认为:(1)HERG 钾通道可使细胞膜电位处于去极化的状态,肿瘤细胞在分裂过程中容易通过 G₁ 期^[9]。(2)癌基因 *src* (蛋白酪氨酸激酶的持续激活形式)与 HERG 钾通道活性相关^[10]。(3)一些原发性肿瘤细胞中,存在一种 HERG 蛋白 N-端缺失的变体 HERG1B。HERG1B/HERG1 比例的上调可以使处于 S 期的细胞膜电位更加去极化,从而使细胞顺利通过 S 期,进行分裂增殖^[11]。也有报道^[12] HERG 结构变异可能与细胞缺氧耐受有关。(4)HERG 促进肿瘤细胞增殖与肿瘤坏死因子(tumor necrosis

2.5 shRNA 对肿瘤组织 HERG 钾通道蛋白表达的抑制

HERG 钾通道蛋白染色呈棕黄色,见于细胞质和细胞膜。第 I、II 组可见细胞质、细胞膜出现 HERG 钾通道蛋白染色阳性,第 III 组未见 HERG 钾通道蛋白染色阳性。

factor, TNF) 有关。HERG 与肿瘤坏死因子受体 1 (TNFR1) 在膜上共表达可增强细胞核转录因子 NF- κ B 的活性^[13]。(5)HERG 通道与整合素受体之间功能性的联系被认为与肿瘤的侵袭能力有关^[14]。(6)Pardo La 等^[15]通过在细胞水平、免疫缺陷小鼠荷瘤实验对 EAG 钾通道的系统研究,提出了 EAG 具有致癌潜能(oncogenic potential)。在临床实验中该观点也在不断得到验证:用 EAG 特异性单克隆抗体检测各种肿瘤,大约有 75% 的肿瘤高表达 EAG^[16]。在癌前病变组织中 HERG 高表达。Barret 食管被认为是食管腺癌的癌前病变,对患有 Barret 食管的病人进行免疫组化检测发现,大约有 69% 的患者 HERG 高表达^[17]。陈淑珍等^[18-19]报道 HERG 可影响肿瘤对化疗药物的敏感性,HERG 蛋白表达水平与肿瘤对长春新碱、紫杉醇、羟喜树碱的化疗敏感性呈正相关,与多柔比星负相关,HERG 通道阻断剂红霉素可提高肿瘤细胞对多柔比星化疗敏感性。不难看出,HERG 钾通道是一个很有前景的肿瘤治

疗靶点。

RNA 干扰技术是在 mRNA 水平导致基因沉默的生物技术, Kennerdell 等^[20]发现发夹样结构的 RNA 可以在果蝇体内诱导稳定遗传的 RNAi, 用转基因技术将反式重复的外源基因导入果蝇体内, 所表达的具有发夹样结构的转录产物也能实现基因沉默的稳定遗传。shRNA 可瞬时转染, 也可以稳定转染, 建立稳定株达到类似基因敲除的效果, 这就克服了体外合成的 siRNA 进入细胞后随着分裂增殖而逐渐稀释, 无法发挥长效干扰的缺点。与其他 RNA 干扰手段相比, shRNA 技术还具有经济、实用等优点^[21], 所以本实验采用 shRNA 技术来沉默 *herg* 基因, 观察在体水平 HERG 钾通道对人成神经细胞瘤生长的影响。本实验以 *herg* 基因为靶点设计了同时靶向 *herg1* 和 *herg1b* 基因的小干扰 RNA (small interfering RNA, siRNA), 将其改造和构建成 shRNA 表达质粒。以高表达 *herg* 基因的人成神经细胞瘤为研究对象, 观察 shRNA 质粒对人成神经细胞瘤的治疗作用。经过 3 次瘤内注射质粒治疗, 第 III 组生长明显抑制, 抑瘤率达 29.8%; 第 II 组抑瘤效果不明显 (3.0%), II、III 组抑瘤率相比具有显著统计学意义 ($P < 0.05$), 说明 shRNA 干扰 HERG 钾通道可抑制成神经细胞瘤生长。RT-PCR 和免疫组化检测显示, 与 I、II 组相比, III 组 HERG 钾通道的 mRNA 和蛋白含量明显降低, 更进一步证实了抑制肿瘤生长的原因是 HERG 钾通道表达减少。沉默 *herg* 基因抑制肿瘤生长的原因是什么呢? 组织学观察显示第 I、II 组肿瘤组织间质血管丰富, 少见组织坏死。第 III 组肿瘤组织内出现不同程度坏死, 间质血管少见。有学者报道^[22-23]表达 HERG 的细胞缺氧耐受性增强; 胶质细胞瘤中 HERG 可以促进血管内皮生长因子 (VEGF) 分泌。本实验沉默 *herg* 基因, 抑制 HERG 表达后出现组织坏死可能与肿瘤细胞缺氧耐受能力下降和间质血供减少有关, 而间质血管减少则可能是 VEGF 分泌减少的原因。这些推测还有待进一步实验去验证。本实验通过瘤内注射 shRNA 质粒抑制肿瘤生长, 由于瘤内注射并不能很好地体现 shRNA 的靶向性, 选用腺病毒做载体进行腹腔内注射或尾静脉注射将是以后实验的方向。未来通过 HERG 钾通道治疗肿瘤是否能够走进临床, 需要跨越的一个障碍是心脏毒性。虽然本研究在裸小鼠实验中没有发现猝死现象, 但有报道显示心肌组织中的 HERG 钾通道介导的外向钾电流是心肌细胞动作电位 3 期快速复极的主要电流, 基因突变或药物引起该通道的功能异常会导致心脏 QT 间期延长,

可引起尖端扭转型室性心动过速、心室纤颤甚至猝死^[24]。所以局部靶向性给药也将是研究的重点。但辩证地看, 以往一些由于抑制 HERG 钾通道而具有潜在心脏毒性的药物如红霉素 (erythromycin)、西沙必利 (cisapride) 等, 近来相继发现了它们的抗肿瘤活性^[18, 25-26], 为抗肿瘤药物研发拓展了方向。通过 HERG 钾通道治疗肿瘤正在开启一扇通过离子通道治疗肿瘤的大门, 等待着人们更多的探索与发现。

[参考文献]

- [1] Duxbury MS, Matros E, Ito H, *et al.* Systemic siRNA - mediated gene silencing: A new approach to targeted therapy of cancer [J]. *Ann Surg*, 2004, 240(4): 667-674.
- [2] Bianchi L, Wible B, Arcangeli A, *et al.* Herg encodes a K⁺ current highly conserved in tumor of different histogenesis: A selective advantage for cancer cells [J]? *Cancer Res*, 1998, 58(4): 815-822.
- [3] Arcangeli A. Expression and role of hERG channels in cancer cells [J]. *Novartis Found Symp*, 2005, 266: 225-232.
- [4] Smith GA, Tsui HW, Newell EW, *et al.* Functional up-regulation of HERG K⁺ channels in neoplastic hematopoietic cells [J]. *J Biol Chem*, 2002, 277(21): 18528-18534.
- [5] Cherubini A, Taddei GL, Crociani O, *et al.* HERG potassium channels are more frequently expressed in human endometrial cancer as compared to non-cancerous endometrium [J]. *Br J Cancer*, 2000, 83(12): 1722-1729.
- [6] Lastraioli E, Guasti L, Crociani O, *et al.* Herg1 gene and HERG1 protein are overexpressed in colorectal cancers and regulate cell invasion of tumor cells [J]. *Cancer Res*, 2004, 64(2): 606-611.
- [7] Pillozzi S, Brizzi MF, Balzi M, *et al.* HERG potassium channels are constitutively expressed in primary human acute myeloid leukemias and regulate cell proliferation of normal and leukemic [J]. *Leukemia*, 2002, 16(9): 1791-1798.
- [8] 赵杰, 魏晓莉, 马晓芸, 等. 干扰 HERG 钾通道表达可抑制成神经细胞瘤细胞增殖 [J]. *军事医学科学院院刊*, 2006, 30(6): 529-533.
- [9] Wonderlin WF, Strobl JS. Potassium channels, proliferation and G1 progression [J]. *J Membr Biol*, 1996, 154(2): 91-107.
- [10] Cayabyab FS, Schlichter LC. Regulation of an ERG K⁺ current by Src tyrosine kinase [J]. *J Biol Chem*, 2002, 277(16): 13673-13681.
- [11] Crociani O, Guasti L, Balzi M, *et al.* Cell cycle-dependent expression of HERG1 and HERG1B isoforms in tumor cells [J]. *J Biol Chem*, 2003, 278(5): 2947-2955.
- [12] Fontana L, D'Amico M, Crociani O, *et al.* Long-term modulation of HERG channel gating in hypoxia [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2001, 286(5): 857-862.
- [13] Wang H, Zhang Y, Cao L, *et al.* HERG K⁺ channel, a regulator of tumor cell apoptosis and proliferation [J]. *Cancer Res*, 2002, 62(17): 4843-4848.

- [14] Hofmann G, Bernabei PA, Crociani O, *et al.* HERG K⁺ channels activation during beta(1) integrin-mediated adhesion to fibronectin induces an up-regulation of alpha(v)beta(3) integrin in the preosteoclastic leukemia cell line FLG 29. 1[J]. J Biol Chem, 2001, 276(7): 4923-4931.
- [15] Pardo LA, Camino D, Sanchez A, *et al.* Oncogenic potential of ERG K⁺ channels[J]. EMBO J, 1999, 18:5540-5547.
- [16] Stuhmer W, Alves F, Hartung F, *et al.* Potassium channels as tumour markers[J]. FEBS Lett, 2006, 580(12): 2850-2852.
- [17] Lastraioli E, Taddei A, Messerini L, *et al.* hERG1 channels in human esophagus: Evidence for their aberrant expression in the malignant progression of Barrett's esophagus[J]. J Cell Physiol, 2006, 209(2): 398-404.
- [18] Chen S, Jiang M, Zhen YS. HERG K⁺ channel expression related chemosensitivity in cancer cells and its modulation by erythromycin [J]. Cancer Chemother Pharmacol, 2005, 56(2): 212- 220.
- [19] 陈淑珍,江敏,甄永苏. HERG 钾通道在肿瘤细胞的表达与阿霉素化疗敏感性的关系及红霉素的调节作用[J]. 癌症, 2005, 24(8): 924-929.
- [20] Kennerdell JR, Carthew RW. Heritable gene silencing in *Drosophila* using double-stranded RNA[J]. Nat Biotechnol, 2000, 18(8): 896-898.
- [21] Paddison PJ, Caudy AA, Bernstein E, *et al.* Short hairpin RNAs (shRNAs) induce sequence-specific silencing in mammalian cells [J]. Genes Dev, 2002, 16(8), 948-985.
- [22] Azarbayjani F, Danielsson BR. Embryonic arrhythmia by inhibition of HERG channels: A common hypoxia-related teratogenic mechanism for antiepileptic drugs[J]? Epilepsia, 2002, 43(15): 457-468.
- [23] Masi A, Becchetti A, Restano-Cassulini R, *et al.* HERG1 channels are overexpressed in glioblastoma multiforme and modulate VEGF secretion in glioblastoma cell lines[J]. Br J Cancer, 2005, 93(7): 781-792.
- [24] De Ponti F, Poluzzi E, Montanaro N. QT-interval prolongation by non-cardiac drugs: Lessons to be learned from recent experience [J]. Eur J Clin Pharmacol, 2000, 56(1): 1-18.
- [25] Volberg WA, Koci BJ, Su W, *et al.* Blockade of human cardiac potassium channel human ether-a-go-go-related gene (HERG) by macrolide antibiotics [J]. J Pharmacol Exp Ther, 2002, 302(1): 320-327.
- [25] Shao XD, Wu KC, Hao ZM, *et al.* The potent inhibitory effects of cisapride, a specific blocker for human ether-a-go-go-related gene (HERG) channel, on gastric cancer cells[J]. Cancer Biol Ther, 2005, 4(3): 295-301.

[收稿日期] 2006 - 11 - 14

[修回日期] 2007 - 02 - 10

[本文编辑] 郁晓路

· 简 讯 ·

肿瘤生物治疗国际研讨会暨第十届全国肿瘤生物治疗学术会议征文通知

由中国免疫学会肿瘤免疫和生物治疗分会及中国抗癌协会生物治疗专业委员会联合主办的“肿瘤生物治疗国际研讨会暨第十届全国肿瘤生物治疗学术会议”将于 2007 年 11 月在上海市召开。诚邀国内各位专家与同行投稿与参加会议交流,会议期间将邀请肿瘤免疫学、免疫治疗和生物治疗领域的国内外著名专家介绍各领域的新理论、新技术及其应用现状和发展趋势。

征文要求

凡未在国内外公开刊物发表过的研究资料均可向会议投稿

本次会议采用网络投稿,请将 800 ~ 1 000 字英文或中文摘要(小 4 字号、1.5 倍行间距, A4 纸 1 页)发送至会务联系人第二军医大学免疫学研究所内《中国肿瘤生物治疗杂志》编辑部 韩丹(biotherapy2007@126.com, 联系电话: 021 - 55620605, 传真: 021 - 25074547)。来稿经专家评审后选择优秀论文作大会发言。所接受的论文摘要将录入会议文集。

征文主题

(1) 肿瘤生物治疗(含肿瘤免疫学)新理论与新策略; (2) 肿瘤生物治疗的新技术; (3) 肿瘤生物治疗的临床应用与评价; (4) 细胞治疗(包括造血干细胞和骨髓移植); (5) 细胞因子治疗; (6) 抗体治疗; (7) 疫苗治疗; (8) 基因治疗; (9) 中药免疫调节治疗; (10) 与常规治疗相结合而组成的新疗法。

中国免疫学会肿瘤免疫和生物治疗分会
中国抗癌协会生物治疗专业委员会