

· 论 著 ·

[文章编号] 1007-385X(2007)03-0259-05

一种新的神经胶质瘤原位移植模型的建立

裘 玮¹, 黄 倩^{1*}, 李惠明¹, 王 丰¹, 伍 璘², 陈霞芳¹, 易苗英¹, (1. 上海交通大学 附属第一人民医院 中心实验室, 上海 200080; 2. 上海交通大学 附属第一人民医院 B 超室, 上海 200080)

[摘要] 目的: 建立一种新的可动态观察肿瘤细胞生长的大鼠神经胶质瘤原位移植瘤模型。 **方法:** 利用脂质体将含有强化绿色荧光蛋白(enhanced green fluorescence protein, EGFP)基因的真核表达质粒 pEGFP-N1 转染大鼠神经胶质瘤 C6 细胞, 经 G418 筛选及亚克隆, 获取稳定表达 EGFP 的细胞系 C6-gfp。采用 CCK-8 试剂盒检测 C6 及 C6-gfp 细胞增殖情况; 将 C6-gfp 细胞接种于 Wistar 大鼠颅内, 通过 B 超、大体标本、荧光体视镜、H-E 染色和免疫组化观察颅内成瘤情况及瘤组织中绿色荧光蛋白的表达。 **结果:** 流式细胞术分析体外培养的 C6-gfp 细胞 97.7% 产生绿色荧光; C6-gfp 细胞与亲代 C6 细胞相比, 生长曲线无明显不同($P > 0.05$)。C6-gfp 接种于颅内 3 周后成瘤率达 70%; 利用 B 超可动态观察肿瘤生长, 利用荧光体视镜可见肿瘤组织发出绿色荧光, 可与周围正常组织区别。H-E 染色可见肿瘤细胞核大, 染色深, 核分裂明显, 瘤内有很多新生血管。免疫组化可见 GFP 阳性细胞染色深浅不一。 **结论:** 成功构建了能稳定高水平表达 EGFP 的大鼠神经胶质瘤 C6-gfp 细胞株, 其生物学行为未发生改变, 能在同系大鼠颅内成瘤。该模型为神经胶质瘤防治研究提供了良好的基础。

[关键词] 神经胶质瘤; 移植瘤模型; C6-gfp 细胞系; 瞬时转染; 稳定转染; 绿色荧光蛋白

[中图分类号] R739.41 **[文献标志码]** A

Establishment of a novel neuroglioma transplantation model in rats

QIU Wei¹, HUANG Qian^{1*}, LI Hui-ming¹, WANG Feng¹, WU Ying², CHEN Xia-fang¹, YI Miao-ying¹ (1. Central Experimental Laboratory, Shanghai First People's Hospital, Shanghai Jiaotong University, Shanghai 200080, China; 2. Bultrasound Department, Shanghai First People's Hospital, Shanghai Jiaotong University, Shanghai 200080, China)

[Abstract] Objective: To establish a novel neuroglioma transplantation model in rats to demonstrate the dynamic growth of tumor. **Methods:** pEGFP-N1, a eukaryotic plasmid containing enhanced green fluorescent protein (EGFP) gene, was transfected into the rats glioma cell line C6 with the help of liposome lipofectamine. Then the cell clones (C6-gfp) stably expressing EGFP was obtained through neomycin G418 screening and subcloning. The growth of C6 and C6-gfp cells were observed using Cell Counting Kit-8 (CCK-8). Then the C6-gfp cells were transplanted into Wistar rat's cranium. The tumor formation was observed using B ultrasound and H-E staining. The EGFP expression in the tumor was detected using fluorescence stereomicroscope and anti-GFP immunohistochemistry. **Results:** Flow cytometry showed that 97.7% of the screened C6-gfp cells were positive of EGFP. There was no obvious difference in the growth curves of C6 and C6-gfp cells ($P > 0.05$). The tumor formation rate in the rat's cranium was 70% after C6-gfp transplantation. The dynamic growth of tumor could be observed using B ultrasound and the expression of green fluorescence could be observed under the fluorescence stereomicroscope. H-E staining showed large nuclei in glioma cells, deep dying with more nuclear divisions. New vessels could be seen in the tumor. Anti-GFP immunohistochemistry showed GFP-positive cells with distinct intensity. **Conclusion:** A C6-gfp cell line stably expressing GFP has been successfully established in the present study and it can readily form tumors in the cranium, which lays a foundation for further study of prevention and treatment of glioma.

[Key words] neuroglioma; transplantation model; C6-gfp cell line; transient transfection; stable transfection; green fluorescent protein

[Chin J Cancer Biother, 2007, 14(3): 259-263]

[基金项目] 国家重点基础研究发展计划(“973”计划)项目(2004GB518800); 国家自然科学基金杰出青年项目(30325043)。Supported by the Major State Basic Research Development Program of China(2004GB518800); National Natural Science Foundation of China(30325043)。

[作者简介] 裘 玮(1977-), 男, 浙江奉化人, 硕士研究生, 主要从事神经系统肿瘤基因治疗研究, E-mail: chiuweigreat@sina.com

* Corresponding author. Email: qhuang@sju.edu.cn

神经胶质瘤是中枢神经系统中最常见的恶性肿瘤之一,具有很强的侵袭及迁移能力,易引起术后复发^[1]。研究神经胶质瘤侵袭及迁移的特点,可促进对其致病机制的认识,开发新型有效的治疗手段,对降低术后复发、提高生存率具有重要的临床意义。绿色荧光蛋白(green fluorescence protein, GFP)作为一种报告基因^[2]可用于持久标记活的肿瘤细胞,对于正确识别肿瘤细胞以及动态观察肿瘤细胞在体内侵袭和迁移情况很有帮助。本实验构建了能稳定高水平表达 GFP 的大鼠神经胶质瘤细胞 C6-gfp,成功地建立了能用于研究神经胶质瘤侵袭及迁移的体内原位移植瘤模型。

1 材料与方 法

1.1 材 料

大鼠神经胶质瘤细胞系 C6 购自中国科学院上海细胞库。含新霉素抗性基因的绿色荧光蛋白表达载体 pEGFP-N1 购自 Clone Tech 公司。DMEM、G418 和转染用 Opti-MEM 培养液购自 GIBCO 公司,胎牛血清购自中美合资兰州民海生物有限公司,脂质体转染试剂 Lipofectamine 2000 购自 invitrogen 公司。细胞增殖分析试剂盒 [Cell Counting Kit-8 (CCK-8)] 购自日本同仁化学研究所。GFP 抗体购自 Chemicon 公司,二抗山羊抗小鼠抗体购自上海长岛生物技术有限公司。颅钻 (XL-30W) 为 OSADA ELECTRIC CO. LTD. 公司产品,立体定位仪为 ASI INSTRUMENT 公司产品, BAS 微量注射泵为 Bioanalytical Systems Inc. 公司产品,荧光相差倒置显微镜 (Axiovert S100) 为德国 KARL ZEISS 公司产品,流式细胞仪为 Coulter Epics XL 公司产品, Acuson Sequoia 512 超声仪、15L8w 探头均为德国 SIEMENS 公司产品,荧光体视镜 (Stemi SV11) 为德国 KARL ZEISS 公司产品。Wistar 大鼠 [10 只, (80 ± 2.3) g, 雄性] 购自中国科学院实验动物中心 [合格证号: SYXK(沪)2002-0002]。

1.2 C6 细胞的 EGFP 基因转染

C6 细胞在含 100 U/ml 链霉素、100 U/ml 青霉素、10% 胎牛血清的 DMEM 培养液内, 5% CO₂、37 °C 培养。铺 6 孔板, 每孔含 2 × 10⁵ 个细胞, 次日以脂质体转染法将质粒 pEGFP-N1 转入细胞。具体步骤如下: (1) 将各含 2 μg pEGFP-N1 及 2 μl 脂质体的 200 μl Opti-MEM 培养液混匀, 静置 30 min; (2) 吸去 6 孔板中的 DMEM 培养液, PBS 洗细胞后, 加入 800 μl Opti-MEM 培养液; (3) 于 6 孔板中继续加入步骤 (1) 所述的 400 μl 培养液, 37 °C、5% CO₂

孵育; (4) 5 h 后换液, 改用 DMEM 继续培养。

1.3 C6-EGFP 细胞筛选

转染后第 2 天, 荧光相差倒置显微镜下观察 C6 细胞的荧光强度, 取出部分细胞用流式细胞术进行检测。以含 600 μg/ml G418 的 DMEM 培养液继续培养, 每 3 d 换液 1 次, 3 周左右出现绿色荧光阳性克隆, 挑取若干个荧光较强的克隆, 转移至 24 孔板继续培养, 以 400 μg/ml 的 G418 继续培养。

1.4 单细胞克隆的分离

选取 24 孔板中绿色荧光最强的细胞, 以 0.25% 胰蛋白酶消化后制成细胞悬液, 采用逐步稀释法, 将细胞密度调整至 10 个/ml 及 20 个/ml, 并以每孔 100 μl 接种于 96 孔板中, 使每孔含细胞 0 ~ 2 个, 并另外再加 100 μl 培养液。3 ~ 4 d 后, 选出仅有单个细胞生长的孔, 并予以标记, 每周换 1 次培养液。荧光相差倒置显微镜下观察荧光强度。4 周左右部分孔的细胞长满, 选取若干个 96 孔板中荧光较强的细胞转移至 24 孔板继续培养, 直至移入培养瓶中传代。在上述过程中, 培养液中 G418 的质量浓度维持在 200 μg/ml。

1.5 C6-gfp 稳定细胞系的鉴定

荧光显微镜观察并筛选经亚克隆后高水平表达绿色荧光的细胞。流式细胞术检测 GFP 阳性细胞的百分率及荧光强度, 并以未经转染的 C6 细胞作为阴性对照。

1.6 C6-gfp 细胞增殖的观察

将获得的单克隆细胞株 C6-gfp 和未经转染的 C6 细胞分别以 2 000 个/孔接种入 96 孔板中, 每孔含培养液 100 μl。接种后, 每天均以 CCK-8 试剂盒检测细胞增殖情况, 连续 6 d; 2 种细胞每天各取 6 个孔的样本进行测定, 具体步骤如下: (1) 加 10 μl CCK-8 溶液于细胞培养液中; (2) 将细胞置于 37 °C、5% CO₂ 下孵育; (3) 4 h 后 450 nm 波长测定每孔的光密度值 (D)。计算出每天每种细胞的平均光密度值, 并绘制生长曲线。

1.7 Wistar 大鼠颅内 C6-gfp 细胞的接种

取 80 g Wistar 雄性大鼠 10 只, 颅内注入 C6-gfp 细胞 2 × 10⁵ 个, 细胞均溶于 10 μl PBS 内。具体操作步骤如下: 10% 水合氯醛麻醉大鼠 (36 mg/100 g)。大鼠头部用立体定位仪固定, 剪去头部毛发, 聚维酮碘消毒, 经矢正中切线切开皮肤, 剥离骨膜, 暴露颅骨, 于冠线后 3 mm、中线右侧旁开 3 mm 处钻骨窗, 直径约 1 mm, 用 10 μl 微量加样器 (针头直径 0.5 mm) 将 10 μl 细胞悬液通过微量注射泵以 1 μl/min 的速度注入大脑皮层内 (脑内 2 mm 深), 注

完后,针头继续留在颅内 10 min 后拔出,撒少量青霉素粉预防感染,缝合头皮。37 °C 热板复苏,术后正常进食饮水。

1.8 Wistar 大鼠颅内 C6-gfp 移植瘤的观察

自接种后第 1 周起,每周以 B 超探测肿瘤生长情况,连续观察 3 周。第 3 周麻醉处死动物,剪开头皮,剥离颅骨,观察肿瘤在颅内大体生长及在荧光显微镜下绿色荧光蛋白的表达情况。取出肿瘤,置于含 5% 冰醋酸的乙醇中固定,24 h 后转入 70% 乙醇保存。

1.9 C6-gfp 移植瘤组织学检查

取固定后的肿瘤组织块,常规石蜡包埋、切片,行 H-E 染色做常规病理检测,并以二步法行免疫组

织化学染色,检测 GFP 表达。GFP 抗体稀释度 1:500,加二抗后 DAB 显色。

1.10 统计学处理

用统计学软件 SAS 6.12 对生长曲线上每个时间点的 C6 和 C6-gfp 细胞的光密度值进行团体 t 检验,数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示。

2 结果

2.1 C6 细胞 EGFP 转染的效果

C6 细胞转染 EGFP 基因后 24 h,荧光显微镜下观察到少量细胞有绿色荧光蛋白表达(图 1A,B),并用流式细胞术测得 GFP 阳性率为 19.1%,平均荧光强度为 10.2(图 2)。

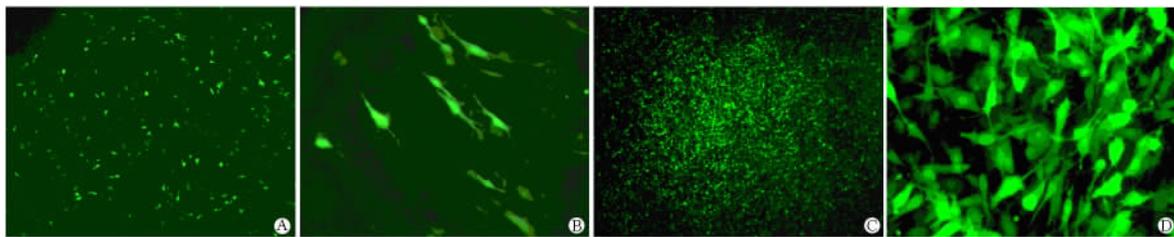


图 1 荧光显微镜检测 EGFP 转染 C6 细胞后绿色荧光蛋白的表达

Fig. 1 Expression of GFP in C6 cell transfected with EGFP by fluorescent microscopy

A, B: Only a small number of C6 cells expressed EGFP 24 h after transfection. The cells were sparsely distributed(A: $\times 50$; B: $\times 400$); C, D: Expression of GFP in positive-coloning C6-gfp screened by G418. Almost all cells expressed GFP(C: $\times 50$; D: $\times 400$)

2.2 C6-gfp 细胞 GFP 的表达

荧光显微镜下观察实验获得的单克隆细胞株 C6-gfp,几乎所有细胞都有绿色荧光蛋白表达(图 1C,D),流式细胞术测得 GFP 阳性率达 97.7%,平均荧光强度为 47.2(图 2)。

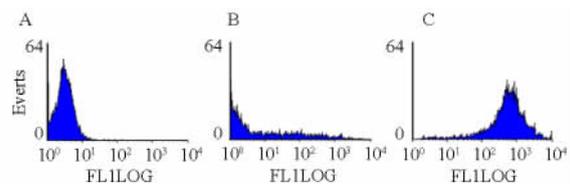


图 2 FACS 检测转染后 C6 细胞表达绿色荧光蛋白的变化

Fig. 2 Changes in EGFP expression in C6 cells after transfection by FACS detection

A: C6 cells were negative of EGFP before transfection (X-axis represents fluorescence intensity and Y-axis represents cell counts. Cells with the X value less than 10^1 are regarded as EGFP-negative); B: C6-cells transfected for 24 h, 19.1% cells were EGFP positive, with the mean fluorescence intensity being 10.2; C: Stably-transfected C6 cells after G418 screening, 97.7% of cells were EGFP positive, with the mean fluorescence intensity being 47.8. 5 000 cells are counted for each group

2.3 C6-gfp 细胞的生长曲线

稳定转染细胞系 C6-gfp 及其亲代 C6 细胞在观察期的 6 d 内均呈指数生长,生长曲线形态基本一致(图 3)。比较每个生长时间点 2 种细胞的光密度值,未发现显著性差异($P > 0.05$)。

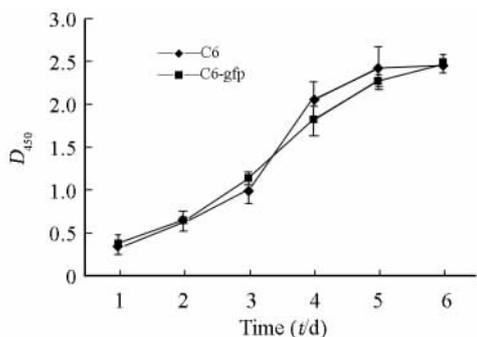


图 3 EGFP 转染对 C6 细胞增殖的影响

Fig. 3 Effect of EGFP transfection on C6 proliferation

2.4 C6-gfp 移植瘤的形态观察

接种的 10 只 Wistar 大鼠中,有 7 只在颅内成瘤,成瘤率达 70%。B 超显示,接种肿瘤 1 周后,颅

骨上见手术遗留的缺损痕迹,颅骨缺损处下方见一个低回声团块,边界清楚,有包膜;2周后观察,低回声团块向内压迫脑组织,向外突破颅骨缺损,长至头皮下,团块内见多处强回声光点为钙化点;3周后观察,低回声团块稍增大。此时大鼠精神不振,进食、觅水活动减少,反应迟钝。麻醉处死大鼠后,剪开头皮,见自颅骨缺损长出的肿瘤。剥离颅骨,可见颅内肿瘤呈椭圆形,与周围脑组织边界尚明显;荧光显微镜下可见较强的绿色荧光蛋白表达(图4)。

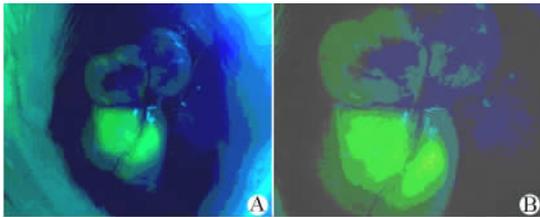


图4 荧光体视镜观察 C6-gfp 神经胶质移植瘤 EGFP 的表达

Fig. 4 Expression of EGFP in C6-gfp transplanted neuroglioma under fluorescent stereoscope

Green fluorescence emitted when the glioma is excited by blue light. Blood vessels can be seen on the surface of the glioma(A: ×6; B: ×10)

2.5 C6-gfp 移植瘤组织的常规病理及免疫组化观察

常规病理示肿瘤细胞核大,染色深,可见核分裂相,瘤内见较多新生血管。免疫组织化学染色见瘤中有 GFP 阳性细胞,染色深浅不一(图5)。

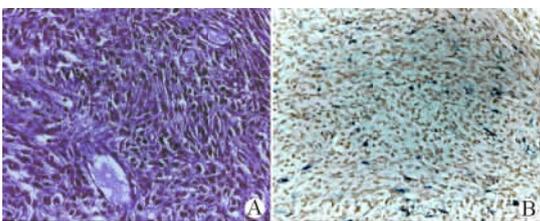


图5 H-E 染色及抗 GFP 免疫组化检测 C6-gfp 神经胶质移植瘤组织的病理改变(×400)

Fig. 5 Pathologic changes of C6-gfp transplanted neuroglioma detected by H-E staining and anti-GFP immunohistochemistry

A: H-E staining shows large nuclei in the glioma cells, deep dyed and more nuclear divisions. New vessels can be seen in the tumor; B: Anti-GFP immunohistochemistry shows GFP-positive cells with distinct intensity

3 讨论

神经胶质瘤细胞在颅内侵袭和迁移主要是由于

肿瘤细胞吸附胞外基质,并产生特殊的蛋白酶,将其降解,改变其成分,使得细胞向周围组织浸润生长。另外肿瘤细胞还可随脑脊液在颅内迁移到远处脑组织,发生颅内转移^[3,4]。因此肿瘤组织与周围正常脑组织无明显分界,手术不易切尽,术后易复发,患者病死率高^[5]。研究神经胶质瘤细胞的侵袭和转移的特性对于提高疾病治愈率有重要意义。Pedersen 等^[6]曾以 β-半乳糖苷酶(Lac-Z)报告基因标记人神经胶质瘤细胞,观察其在大鼠脑内侵袭和迁移的情况,但该项观察需要经过组织切片及细胞化学染色等处理,敏感性也低,不易捕捉到单个或少量细胞迁移的情况,很难进行动态肿瘤细胞生长及早期成瘤过程的研究。

GFP 基本无毒无害,是理想的活体细胞标记物^[7],可在蓝光的激发下产生绿光,因而能应用于肿瘤生长与转移的研究。Hoffman 等^[8]以 GFP 标记多种肿瘤细胞,实现了在表浅的新鲜组织内实时、动态观察肿瘤转移和血管生成的过程。随着活体成像技术的发展,研究者又相继建立了依赖于 GFP 观测的肺癌、肠癌、骨肉瘤等肿瘤转移的动物模型。绿色荧光标记比起传统的 H-E 染色及免疫组化染色方法有着显著的优越性^[9-11]。应用绿色荧光蛋白标记肿瘤细胞还可以活体示踪远处淋巴结的转移^[12-13],对于肿瘤治疗的研究具有重要意义。

C6 细胞是经 N-亚硝基甲脲诱发的大鼠神经胶质瘤细胞,大鼠脑内接种后生长较快、易存活、生长特点与人较接近,在神经胶质瘤治疗的实验研究中广泛应用^[14]。本实验利用含有 EGFP 基因的质粒 pEGFP-N1 转染大鼠神经胶质瘤细胞 C6,经过筛选,获得了稳定并高水平表达 GFP 的细胞株 C6-gfp,在体外能持续传代培养,并长久产生绿色荧光。经检验,C6-gfp 细胞和它的亲本 C6 细胞在形态、体外增殖及动物体内成瘤等方面基本一致。说明 GFP 标记对 C6 细胞不产生明显影响或改变其自然生长方式的细胞毒性作用。以 C6-gfp 建立的大鼠神经胶质瘤原位模型保留了 C6 细胞成瘤的所有特性,由于存在绿色荧光蛋白作为标记,为研究大鼠神经胶质瘤颅内侵袭和迁移提供了良好的标识信号。还有,尽管神经胶质瘤很少发生颅外转移,但临床上有过肿瘤转移至肝或脾的病例报道^[15-16]。利用 C6-gfp 肿瘤模型,则可以通过 GFP 简便、快速捕捉到其他方法很难发现的颅外微小转移灶。

另外,虽然传统观点认为 C6 来源于非纯种 Wistar 大鼠,但确切的来源背景实际并不清楚,其主要组织相容性基因复合体中存在着各种系大鼠的异

源性基因,故导致其颅内成瘤率有时会受到影响。另外立体定位仪的精确与否,细胞悬液体积大小,细胞数多少及注射技术的优劣等,均可对成瘤有较大影响^[17-18]。本实验 C6-gfp 的成瘤率达 70%,尚未达到完美,可能与上述因素有关系。若在今后实验中不断改进实验方法,进一步提高成瘤率,那么 C6-gfp 无疑是阐明肿瘤侵袭转移机制的理想的胶质瘤模型细胞株。

[参 考 文 献]

- [1] Annegers JF, Schoenberg BS, Okazaki H, *et al.* Epidemiologic study of primary intracranial neoplasms[J]. Arch Neurol, 1981, 38(4): 217-219.
- [2] Rosochacki SJ, Matejczyk M. Green fluorescent protein as a molecular marker in microbiology[J]. Acta Microbiol Pol, 2002, 51(3): 205-216.
- [3] Thorsen F, Tysnes BB. Brain tumor cell invasion, anatomical and biological considerations[J]. Anticancer Res, 1997, 17(6B): 4121-4126.
- [4] Tonn JC, Goldbrunner R. Mechanisms of glioma cell invasion [J]. Acta Neurochir Suppl, 2003, 88: 163-167.
- [5] Weber DC, Miller RC, Villa S, *et al.* Outcome and prognostic factors in cerebellar glioblastoma multiforme in adults: a retrospective study from the Rare Cancer Network[J]. Int J Radiat Oncol Biol Phys, 2006, 66(1): 179-186.
- [6] Pedersen PH, Edvardsen K, Garcia-Cabrera I, *et al.* Migratory patterns of lac-z transfected human glioma cells in the rat brain [J]. Int J Cancer, 1995, 62(6): 767-771.
- [7] Chalfie M, Tu Y, Euskirchen G, *et al.* Green fluorescent protein as a marker for gene expression[J]. Science, 1994, 263(5148): 802-805.
- [8] Hoffman RM. Visualization of GFP-expressing tumors and metastasis *in vivo* [J]. Biotechniques, 2001, 30(5): 1016-1022, 1024-1026.
- [9] Huang MS, Wang TJ, Liang CL, *et al.* Establishment of fluores-

cent lung carcinoma metastasis model and its real-time microscopic detection in SCID mice[J]. Clin Exp Metastasis, 2002, 19(4): 359-368.

- [10] Sturm JW, Keese MA, Petrich B, *et al.* Enhanced green fluorescent protein-transfection of murine colon carcinoma cells: key for early tumor detection and quantification[J]. Clin Exp Metastasis, 2003, 20(5): 395-405.
- [11] Thews O, Lambert C, Kelleher DK, *et al.* An *in vivo* tumor model expressing green fluorescent protein for the investigation of metastasis[J]. Int J Oncol, 2005, 27(3): 705-712.
- [12] Adusumilli PS, Eisenberg DP, Stiles BM, *et al.* Intraoperative localization of lymph node metastases with a replication-competent herpes simplex virus[J]. J Thorac Cardiovasc Surg, 2006, 132(5): 1179-1188.
- [13] Eisenberg DP, Adusumilli PS, Hendershott KJ, *et al.* Real-time intraoperative detection of breast cancer axillary lymph node metastases using a green fluorescent protein-expressing herpes virus[J]. Ann Surg, 2006, 243(6): 824-832.
- [14] 张华蓉, 陈飞兰, 陈剑鸿, 等. 立体定向接种胶质瘤细胞系 C6 形成大鼠脑内原位移植瘤的生长特性[J]. 第三军医大学学报, 2005, 27(10): 957-960.
- [15] Yasuhara T, Tamiya T, Meguro T, *et al.* Glioblastoma with metastasis to the spleen—case report[J]. Neurol Med Chir(Tokyo), 2003, 43(9): 452-456.
- [16] Shuto T, Fujino H, Inomori S, *et al.* Glioblastoma multiforme with liver metastasis—case report[J]. No To Shinkei, 1995, 47(8): 772-777.
- [17] 林 健, 王伟明, 徐如祥. C6 大鼠胶质瘤模型及其在脑胶质瘤治疗研究中应用的缺陷[J]. 中华神经医学杂志, 2003, 2(2): 154-156.
- [18] Morreale VM, Herman BH, Der-Minassian V, *et al.* A brain-tumor model utilizing stereotactic implantation of a permanent cannula [J]. J Neurosurg, 1993, 78(6): 959-965.

[收稿日期] 2006 - 11 - 17

[修回日期] 2007 - 03 - 21

[本文编辑] 郁晓路

· 读 者 · 作 者 · 编 者 ·

文稿中计量单位使用的要求

本刊严格执行国务院颁发的《中华人民共和国法定计量单位》,全面贯彻国家标准 GB3100-3102-1993《量和单位》的规定,正确使用量和单位的名称和符号。(1)量符号以斜体拉丁和希腊字母表示(pH 用正体除外),例如 m (质量)、 t (时间)、 c (浓度)、 V (体积)、 p (压力)、 F (力)等。(2)单位符号一律以正体拉丁或希腊字母表示,例如 kg(千克)、m(米)、h(小时)、mol/L(摩尔每升)等。(3)表示人体检验指标的浓度或质量浓度时,一般使用 L(升)作为检验组成含量单位的分母。(4)表示用药剂量单位时,不能写成 mg/kg/d 的形式,应写成 mg/(kg · d)或 mg · kg⁻¹ · d⁻¹ 的形式。(5)单位符号常见书写错误:长度单位符号 A°(埃)已不用,应写作 0.1 nm;时间单位“小时”符号为 h(不是 hr)、“秒”符号为 s(不是 sec);转速单位符号为 r/min(不是 rpm);量浓度单位符号为 mol/L(不是 M、N,也不是 mol/mm³);力的单位“牛顿”符号为 N(不是 dyn(达因)),kgf(千克力),换算 1 dyn = 10⁻⁵ N;热量单位“焦耳”符号为 J(不是 cal(卡)),kcal(千卡),换算 1 cal = 4.187 J;放射性活度单位符号为 Bq(不是 Ci(居里)),换算 1 Ci = 3.7 × 10¹⁰ Bq]。

(本刊编辑部)