

· 论 著 ·

[文章编号] 1007-385X(2007)05-0411-06

树形分子递送 survivin 反义寡核苷酸对 HepG2 细胞的抑制效应

徐 萍, 崔大祥*, 潘碧峰, 李 清, 黄 拓, 刘凤涛, 陈 浩, 鲍晨晨, 贺 蓉, 高 峰(上海交通大学微纳科学技术研究院 纳米生物科学与工程实验室, 微米/纳米加工技术国家重点实验室, 薄膜与微细技术教育部重点实验室, 上海市华山路 1954 号 200030)

[摘 要] 目的: 研究利用聚酰胺(polyamidoamine, PAMAM)树形分子递送 survivin 基因反义寡核苷酸(antisense oligodeoxynucleotide, asODN)抑制人肝癌细胞株 HepG2 细胞增殖的效应。方法: 采用第 1 至第 5 代的聚酰胺树形分子室温下与反义 survivin 寡核苷酸混合制备树形分子与反义寡核苷酸的复合物(PAMAM-asODN), 应用琼脂糖凝胶电泳及原子力学显微镜观察复合物的形态结构。PAMAM-asODN 复合物转染 HepG2 细胞, 同时设 survivin 反义寡核苷酸转染细胞作对照。共聚焦荧光显微镜检测复合物细胞转染效果; RT-PCR 分析转染后细胞 survivin mRNA 的表达水平; MTT 法检测复合物对 HepG2 细胞增殖的抑制效应。结果: 琼脂糖凝胶电泳分析表明, 树形分子与 survivin 反义寡核苷酸具有高效络合作用, 形成了大小为 25 nm 左右的复合物; 共聚焦荧光显微镜检测显示, 与对照相比, PAMAM-asODN 复合物转染细胞的效率显著提高; RT-PCR 的结果表明, 转染 PAMAM-asODN 复合物的肿瘤细胞中 survivin mRNA 表达显著降低; MTT 结果表明, 树形分子递送 survivin 反义寡核苷酸进入细胞后, HepG2 细胞增殖明显受抑制, 增殖抑制率随培养时间、复合物浓度、树形分子代数的增加而增加, 6.0 $\mu\text{mol/L}$ G4.0 PAMAM-asODN 与细胞培养 96 h 可使抑制率达 55% 以上。结论: PAMAM 树形分子能高效递送 survivin asODN 进入细胞, 并抑制 HepG2 肿瘤细胞的增殖。树形分子可能是一种高效基因药物递送载体, 在肿瘤治疗中具有潜在应用价值。

[关键词] 纳米材料; 树形分子; survivin 基因; 反义寡核苷酸; 肝癌细胞; 基因治疗

[中国分类号] R730.54 [文献标志码] A

Inhibitory effect of survivin antisense oligodeoxynucleotides on HepG2 cells by using polyamidoamine dendrimer as gene delivery system

XU Ping, CUI Da-xiang*, PAN Bi-feng, LI Qing, HUANG Tuo, LIU Feng-tao, CHEN Hao, BAO Chen-chen, HE Rong, GAO Feng (Department of Bio-nano-Science and Engineering, National Key Laboratory of Nano/Micro Fabrication Technology, Key Laboratory for Thin Film and Microfabrication of Ministry of Education, Institute of Micro-Nano Science and Technology, Shanghai Jiaotong University, Shanghai 200030, China)

[Abstract] **Objective:** To use polyamidoamine (PAMAM) dendrimer as gene delivery system for survivin gene antisense oligodeoxynucleotide (asODN) transfection for inhibition of HepG2 cancer cell growth. **Methods:** The first to the fifth generation of PAMAM and asODN were used to prepare a complex: PAMAM-asODN. The morphology of PAMAM-asODN was observed using agrose electrophoresis and atomic force microscope (AFM). PAMAM-asODN was then used to transfect HepG2 cells and cells transfected with asODN served as control. The transfection efficacy of PAMAM-asODN into HepG2 cells was observed under confocol microscope, the surviving mRNA expression was analyzed by RT-PCR, and the inhibition of HepG2 cell growth was determined by MTT assay. **Results:** Agrose electrophoresis showed strong complexing action between PAMAM and asODN and they formed a complex with a diameter of 25 nm. Confocol microscope showed the transfection efficacy of PAMAM-asODN was higher than that of asODN. RT-PCR showed a decreased expression of survivin mRNA in PAMAM-asODN transfected cells. MTT results demonstrated that the growth of HepG2 cell was obviously inhibited after transfection of PAMAM-asODN and the inhibition rate increased with culture time, concentration of complex, the generation of PAMAM. PAMAM-asODN at 6.0 $\mu\text{mol/L}$ G4.0 resulted in a 55% inhibition of HepG2 cells 96 h

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目(No. 30471599); 国家重点基础研究发展(973)计划资助项目(No. 2005CB724300-G); 上海科技发展基金(No. 03ZR14057). Supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 30471599); the Major State Basic Research Development (973) Program of China (No. 2005CB724300-G) (03DZ14025); the Science and Technology Development Program of Shanghai(No. 03ZR14057)

[作者简介] 徐 萍(1983-), 女, 江苏省无锡市人, 硕士研究生, 主要从事纳米生物医学方面的研究。

* Corresponding author. Tel & Fax: 0086 - 21 - 62933291; E-mail: dxcai@sjtu.edu.cn

after culture. **Conclusion:** PAMAM dendrimers can efficiently mediate the entry of survivin asODN into HepG2 cells, resulting in inhibition of HepG2 cells. PAMAM might be a promising gene carrier for potential molecular therapy of cancer.

[**Keywords**] nanomaterial; polyamidoamine dendrimer; survivin gene; antisense oligodeoxynucleotide; hepatoma cell; gene therapy

[Chin J Cancer Biother, 2007, 14(5): 411-416]

随着肿瘤基因治疗技术的发展,开发无毒而高效的基因载体越来越受到广泛关注。深入研究无毒高效的基因载体,并同时提高细胞转染效率,是当前基因治疗领域面临的重大挑战^[1-3]。纳米材料树形分子是一种新型的树枝形聚合物,是一种单分散性的高分子材料,具有球状立体结构,而且结构参数如尺寸、外形、表面化学都可以在合成的过程中获得完全控制^[4-5]。因为树形分子具有这些优异的物理化学特性,因此它常常被设计为基因载体^[6]、生物材料^[7]、主客体分子^[8]、药物^[9]以及成像表征物^[10]。虽然树形分子作为基因载体的研究还处于起步阶段,但比较脂质体等大分子聚合物,树形分子显示了很大的优势,比如其表面经过修饰后可以递送大量的生物分子^[11-13]、配合基^[14]、抗体^[15]等,从而使树形分子成为基因治疗领域中性能优良的载体之一。

应用反义寡核苷酸^[16-18]技术进行肿瘤基因治疗已成为一个新的研究热点。survivin 基因是新的凋亡抑制基因,是迄今为止发现的最强的凋亡抑制因子^[19-20]。survivin 基因的发现为肿瘤基因治疗提供了相应靶目标, survivin 靶向反义寡核苷酸可抑制肿瘤细胞生长或导致凋亡^[21-23]。本研究将聚酰胺胺(polyamidoamine, PAMAM)树形分子与 survivin 反义寡核苷酸结合成复合体,然后转染进肝癌细胞 HepG2,观察树形分子作为反义寡核苷酸载体的转染高效性和复合体对 HepG2 细胞增殖的抑制效应。

1 材料与方法

1.1 主要实验材料

1.0~7.0 代 PAMAM 树形分子由本实验室提供,其结构如图 1 所示,它们的直径从 1.4 至 5.3 nm。肝癌 HepG2 细胞株购于午立生物技术有限公司, RPMI 1640 培养液购于 Gibco, MTT(噻唑蓝)购自 MBI 公司。反义寡核苷酸序列与 survivin mRNA 的前 5 个密码子互补(5'-CCCAGCCTTCCAGCTCCT-TG-3'),购于上海生工生物技术有限公司。

1.2 树形分子与 survivin 反义寡核苷酸复合物的制备

pH 7.4 条件下,质量浓度为 0.025 mg/ml 的不同代数(G1.0-G5.0)树形分子在室温下与反义寡核苷酸(2 $\mu\text{mol/L}$)混合 30 min,反义寡核苷酸可以通

过静电作用结合到树形分子表面,得到树形分子与反义寡核苷酸的复合物(PAMAM-asODN)。

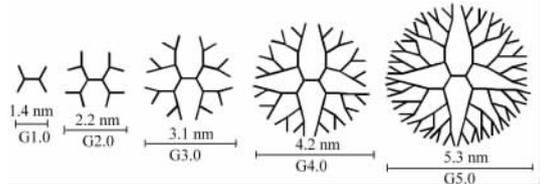


图 1 1.0~5.0 代 PAMAM 树形分子的化学结构示意图

Fig. 1 Chemical structures of polyamidoamine dendrimers generations 1.0 to 5.0 (G1.0-G5.0)

1.3 原子力显微镜(AFM)和电泳观察复合物的形态结构特征

把制备好的复合物悬液滴到云母载玻片上,自然晾干后 AFM(Multimode III, 美国 DI 公司)进行扫描成像。

不同代数(G1.0-G5.0)的树形分子与 2 $\mu\text{mol/L}$ 反义寡核苷酸结合,以 2 $\mu\text{mol/L}$ 反义寡核苷酸为对照,然后以加有溴化乙锭的 1% 琼脂糖电泳,采用凝胶成像系统检测电泳条带。

1.4 细胞培养及转染

以含 10 % 小牛血清的 RPMI 1640 培养液将 HepG2 制成细胞悬液,镜下计数,调节细胞密度至约 $1 \times 10^3/\text{ml}$,分别接种于 30 ml 培养瓶、96 孔培养板及铺有盖玻片的 6 孔培养板, 37 $^{\circ}\text{C}$ 、5 % CO_2 常规培养,加入 2.0 $\mu\text{mol/L}$ asODN + 0.025 mg/ml PAMAM 的 PAMAM-asODN 复合物,取不同转染时间段的细胞进行分析。

1.5 共聚焦荧光显微镜观察 PAMAM-asODN 复合物对 HepG2 细胞的转染效果

用 RPMI 1640 培养液在 6 孔板里培养 HepG2 细胞 24 h,再加入 100 μl 荧光标记的 PAMAM-asODN,在 37 $^{\circ}\text{C}$ 、5% 的 CO_2 温箱中培养 5 h,然后把细胞悬液滴到载玻片上,盖上盖玻片,用滤纸吸去多余的水,自然晾干后用共聚焦荧光显微镜(Zeiss LSM 510)进行扫描成像,观察其转染效果。

1.6 RT-PCR 检测转染 HepG2 细胞 survivin mRNA 的表达

Trizol/反转录试剂盒、内参照 GAPDH 的 RT-

PCR 特异引物序列购自上海生物工程有限公司。按照试剂盒说明书提供的方法提取细胞总 RNA, 紫外分光光度仪检测其纯度, 电泳测其完整性。Survivin 上游引物为 5'-CTTTCT-CAAGGACCACCG-3', 下游引物为 5'-CACGACGACCAT-TGTCACC-3'; GAPDH 的上游引物为 5'-ACGGATTTGGTCGTATTGGG-3', 下游引物为 5'-TGATTTGGAGGGATCTCCTC-3'。按照试剂盒的要求取 2 μ l 的反转录产物, 在 ABI Prism 7000 上进行 PCR, 循环条件为 94 $^{\circ}$ C 预变性 2 min, 95 $^{\circ}$ C 15 s, 55 $^{\circ}$ C 30 s, 70 $^{\circ}$ C 1 min, 循环 40 次, 最后 70 $^{\circ}$ C 10 min。产物用 2% 琼脂糖凝胶电泳(含 EB)观察扩增条带, 利用凝胶成像系统分析获取光密度值。

1.7 MTT 法检测 PAMAM-asODN 对 HepG2 细胞增殖的抑制

实验分两组。第 1 组: PAMAM-asODN 的浓度为 2.0 μ mol/L asODN + 0.025 mg/ml PAMAM, 37 $^{\circ}$ C, 5% CO₂ 条件下在 6 孔板中分别培养 24、48、72、96 h(设 3 复孔), 离心收集上述各组 1×10^6 个细胞。第 2 组: 设置不同浓度的 PAMAM-asODN 为 $0.2 \times [D]$ 、 $0.5 \times [D]$ 、 $1.0 \times [D]$ 、 $2.0 \times [D]$ 、 $3.0 \times [D]$ ($[D] = 2.0 \mu\text{mol/L asODN} + 0.025 \text{ mg/ml PAMAM}$), 在 6 孔板中分别与细胞培养 48 h(设 3 复孔), 离心收集上述各组 1×10^6 细胞。应用 MTT 法, 在多功能酶标检测仪上测定各孔光密度(D_{570})值, 计算肿瘤细胞抑制率(%) = $(1 - \text{实验孔 } D_{570} \text{ 值} / \text{对照孔 } D_{570} \text{ 值}) \times 100\%$ 。

2 结果

2.1 PAMAM-asODN 复合物的形态特征

PAMAM-asODN 的 AFM 照片见图 2A、B。结果显示, PAMAM 与 asODN 连接之后形成了尺寸大约为 25 nm 大小的复合物。

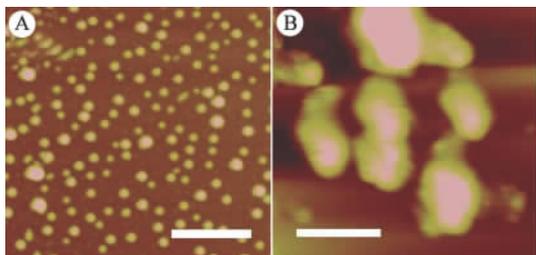


图 2 PAMAM-asODN 复合物的 AFM 分析(标尺:25 nm)

Fig. 2 Analyses of AFM on PAMAM-asODN complexes

A: G5.0 PAMAM dendrimers (AFM, bar 25nm); B: G5.0 PAMAM-asODN complexes (AFM, bar 25nm)

复合物凝胶电泳分析见图 3, 结果显示了 PAMAM 树形分子与 asODN 结合前后的特征: 不存在树形分子的情况下 asODN 显示出强的荧光条带; 而形成 PAMAM-asODN 复合物之后, 电泳荧光强度明显减弱, G1.0 ~ G5.0 代 PAMAM-asODN 之间条带区别不大(带 2 ~ 6), 几乎都看不到荧光条带, 这是因为树形分子质子化的氨基末端跟反义寡核苷酸的负电荷相结合, 从而电荷抵消; 而且形成的复合物分子量变大, 所以在原来的位置上看不到条带。

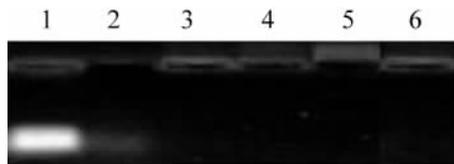


图 3 PAMAM-asODN 复合物的电泳分析

Fig. 3 Analyses of agarose gel electrophoresis on PAMAM-asODN complexes

1: asODN; 2: G1.0 PAMAM-asODN; 3: G2.0 PAMAM-asODN; 4: G3.0 PAMAM-asODN; 5: G4.0 PAMAM-asODN; 6: G5.0 PAMAM-asODN

2.2 荧光显微镜观察树形分子反义寡核苷酸复合物对细胞的转染效果

用 FITC(吸收峰在 488 nm, 发散峰在 510 nm) 标记反义寡核苷酸, 通过荧光显微镜来研究 PAMAM-asODN 复合物进入细胞的转染效果。用 FITC 标记的 2 μ mol/L 的反义寡核苷酸与 0.025 mg/ml 的树形分子转染进细胞, 在显微镜观察下可见该复合物只进入了细胞质(图 4)。HepG2 细胞里 G3.0-G5.0 PAMAM-asODN 复合物转染的量较多(图 4D-F); 然而, G1.0-G2.0 PAMAM-asODN 复合体转染进细胞的量较少(图 4B、C)。作为对照, 把不加树形分子的仅用 FITC 标记的反义寡核苷酸转染进细胞, 细胞内的荧光物含量较少(图 4A)。结果表明, 单个反义寡核苷酸转染进细胞的数量较少, 而树形分子的运载能明显提高反义寡核苷酸对 HepG2 细胞的转染效果。

2.3 PAMAM-asODN 复合物转染后 HepG2 细胞 survivin mRNA 的表达

RT-PCR 扩增产物电泳(图 5)显示, 如果不用树形分子作为载体, 而单独转染反义寡核苷酸, 则对 HepG2 细胞 survivin 基因的抑制不明显, 对 survivin 基因的表达抑制也不明显; 转染 PAMAM-asODN 复合物后, HepG2 细胞 survivin mRNA 表达受到明显的抑制; 但高代数的 PAMAM-asODN 复合物能更强地

抑制 survivin 基因的表达,也即意味着为抑制肿瘤的生长提供了可能性。

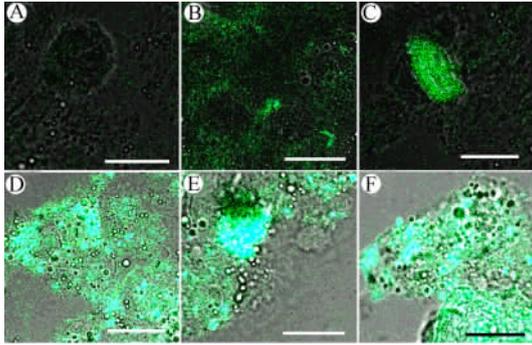


图4 共聚焦荧光显微镜观察 PAMAM-asODN 复合物对 HepG2 细胞的转染效果(标尺:10 μm)

Fig.4 Transfection of PAMAM-asODN complexes into HepG2 cell observed by confocal fluorescent microscope(scale bar :10 μm)

A: FITC labeled asODN; B: G1.0 dendrimer/FITC-asODN complexes; C: G2.0 dendrimer/FITC-asODN complexes; D: G3.0 dendrimer/FITC-asODN complexes; E: G4.0 dendrimer/FITC-asODN complex; F: G5.0 dendrimer/FITC-asODN complexes. The HepG2 cells were seeded into 6 well chambered cover slides for 24 h in RPMI 1640 cell growth medium. 100 μl of 5 μmol/L FITC labeled dendrimer/asODN complexes solution was added at 37 °C for 5 h in 5% CO₂ atmosphere

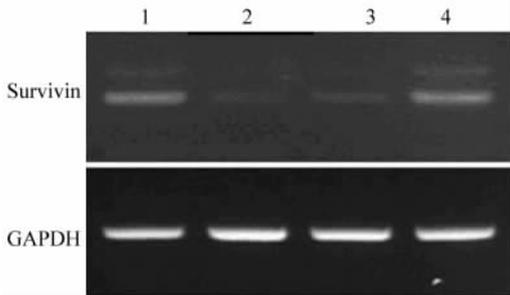


图5 RT-PCR 检测 PAMAM-asODN 转染后 HepG2 细胞 survivin mRNA 的表达

Fig.5 Expression of survivin mRNA in HepG2 cells transfected with PAMAM-asODN complexes by RT-PCR
1: asODN; 2: G7.0 PAMAM-asODN; 3: G3.0 PAMAM-asODN; 4: G1.0 PAMAM-asODN

2.4 PAMAM-asODN 转染 HepG2 细胞后对细胞增殖的抑制

图6 显示 PAMAM-asODN 复合物转染后对 HepG2 细胞增殖的抑制率,结果表明 G1.0 ~ G4.0 PAMAM 树形分子对 HepG2 细胞增殖无

明显抑制,说明树形分子可以被考虑作为一个无毒的载体。G1.0 ~ G4.0 PAMAM-asODN 复合物对 HepG2 细胞生长都有抑制效应,而且随着树形分子代数的增加,其细胞的生长抑制率也随之增加;其中 G4.0 PAMAM 递送 asODN 的转染率最高, HepG2 细胞的生长抑制率达到 55%。在不同的孵育时间下(0 ~ 96 h), PAMAM-asODN 复合物对细胞的抑制率随时间延长而有所增加。

图7 显示了在 5 种不同浓度下, PAMAM-asODN 对细胞生长抑制率的影响。结果表明,细胞生长的抑制率随复合物浓度的增加而增加, PAMAM-asODN 的浓度在抑制细胞生长中起了重要作用。

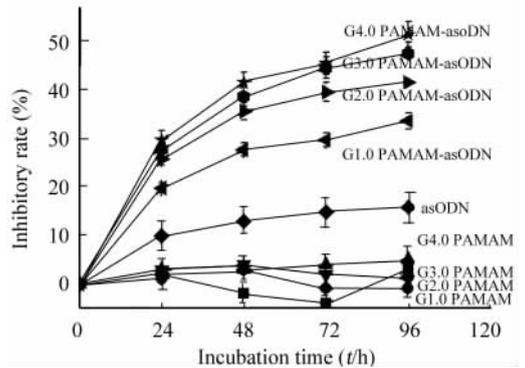


图6 PAMAM-asODN 复合物对 HepG2 细胞生长的抑制

Fig.6 Inhibitory effect of PAMAM-asODN complexes on growth of HepG2 cells

A function of time for 96 h incubation at a concentration of 2.0 μmol/L asODN and 0.025 mg/ml dendrimer

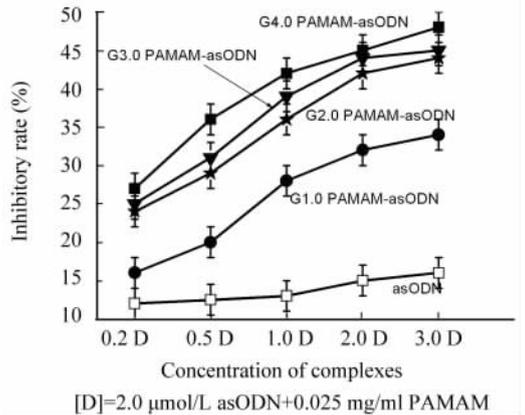


图7 不同浓度的 PAMAM-asODN 复合物对 HepG2 细胞生长的影响

Fig.7 Effects of different concentrations of PAMAM-asODN complexes on HepG2 cell growth

3 讨论

目前研究的高分子基因载体有聚合物、抗体、脂质体等等,这些基因载体与外源基因结合后进行细胞转染,达到基因治疗的目的^[24]。递送基因的载体能否被细胞吞噬并保护外源基因不被细胞内各种核酸酶降解,取决于基因载体的物理化学性质,而树形分子具有这种优良的物理化学特征,是个理想的基因载体。

纳米材料的树形分子家族中,在基因及药物载体中应用得最多的是 PAMAM 树形分子^[14-15]。它是通过扩散的方法在有机溶剂中合成,即在甲醇溶剂中,将乙二胺加入到过量的丙烯酸甲酯中进行 Michael 加成反应,经提纯得到 4 个末端基的半代数 PAMAM 产物 ($G = 0.5$);然后将 0.5 G PAMAM 与过量的乙二胺发生酰胺化反应生成末端为胺基的四元酰胺化合物 ($G = 1.0$);重复 Michael 加成反应和酰胺化反应的过程可得到 2.0 G、3.0 G...10.0 G PAMAM。聚酰胺树形分子 (PAMAM) 能够在细胞表面形成纳米孔,是高效的基因递送载体,具有良好的生物相容性、无免疫原性、水溶性,并且大量的末端胺基可以结合药物分子;高代数的树形分子在空间呈球状分布,内部存在空腔,可以包埋药物分子,这些结构特性大大提高了树形大分子的载药量。虽然树形分子作为基因及药物载体的研究才刚刚起步,但是它作为药物载体已显示出了很多优势,为药物的传输提供了平台,通过不同的运输机制,达到连接与释放药物的目的。

本研究把 survivin 反义寡核苷酸连接在树形分子上,制备了 PAMAM-asODN 复合物;采用凝胶电泳分析、AFM 图像分析表明,PAMAM 树形分子与 survivin 反义寡核苷酸之间形成复合物。共聚焦荧光显微镜检测了 PAMAM-asODN 复合物进入细胞的转染效果,结果表明,HepG2 细胞里 3~5 代 PAMAM-asODN 复合物具有较强转染效果,而 1~2 代 PAMAM-asODN 复合物转染进细胞的量较少;作为对照的不加树形分子的反义寡核苷酸,其转染进细胞含量更少。结果说明,单个反义寡核苷酸转染进细胞的概率很小,而树形分子能明显提高反义寡核苷酸的转染效果,其转染效果高低与其代数成正比。RT-PCR 结果显示,转染 PAMAM-asODN 复合物的细胞的 survivin 基因表达比只转染 asODN 的表达明显减弱,而且随着复合物中树形分子代数越高,其抑制作用越明显,进一步说明高代数的 PAMAM-asODN 复合物能起到抑制 survivin 基因表达的作

用。MTT 法检测了 PAMAM-asODN 复合物对肿瘤细胞生长的抑制作用。结果表明,与 asODN 对照组相比,树形分子递送 survivin 反义核酸进入细胞后 HepG2 细胞增殖明显受抑制,增殖抑制率随培养时间、复合物浓度、树形分子代数的增加而增加。6.0 $\mu\text{mol/L}$ G4.0 PAMAM-asODN 与细胞培养 96 h 时抑制率最高,可达 55% 以上。因此认为,PAMAM-asODN 复合物可能是一种安全、高效的基因递送系统。PAMAM-asODN 复合物能高效抑制 HepG2 细胞的增殖。进一步的研究工作将集中在增强 PAMAM-asODN 复合物的转染效率上。本实验结果也表明 survivin 基因可能是一个与肝癌发生发展密切相关的关键靶基因,抑制此基因的表达有可能显著增强肝癌的治疗效果。纳米载体,不仅不影响 asODN 抑制作用的发挥,而且还起到增强作用,这可能与纳米载体的尺寸效应有关。本实验为树形分子作为基因载体治疗肿瘤展示了良好的应用前景,也为基因载体的开发提供了实验数据。

[参考文献]

- [1] Cai D, Mataraza JM, Qin ZH, *et al.* Highly efficient molecular delivery into mammalian cells using carbon nanotube spearing[J]. *Nat Methods*. 2005, 2(6): 449-454.
- [2] Kong HJ, Liu J, Riddle K, *et al.* Non-viral gene delivery regulated by stiffness of cell adhesion substrates[J]. *Nat Mater*, 2005, 4(6): 460-464.
- [3] 崔大祥. 纳米材料在肿瘤生物治疗中的潜在应用[J]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2006, 13(2): 79-82.
- [4] Tomalia DA. Birth of a new macromolecular architecture: dendrimers as quantized building blocks for nanoscale synthetic polymer chemistry[J]. *Prog Polym Sci*, 2005, 30(3-4): 294-324.
- [5] Sampathkumar SG, Yarema KJ. Targeting cancer cells with dendrimers[J]. *Chem Biol*, 2005, 12(1): 5-13.
- [6] Liu YC, Chen HL, Su CJ, *et al.* Mesomorphic complexes of poly(amidoamine) dendrimer with DNA[J]. *Macromol*, 2005, 38(23): 9434-9440.
- [7] Radu DR, Lai CY, Jeftinija K, *et al.* A polyamidoamine dendrimer-capped mesoporous silica nanosphere-based gene transfection reagent[J]. *J Am Chem Soc*, 2004, 126(41): 13216-13217.
- [8] Majoros IJ, Thomas TP, Mehta CB, *et al.* Poly(amidoamine) dendrimer-based multifunctional engineered nanodevice for cancer therapy[J]. *J Med Chem*, 2005, 48(19): 5892-5899.
- [9] Esfand R, Tomalia DA. Poly(amidoamine) (PAMAM) dendrimers: from biomimicry to drug delivery and biomedical applications[J]. *Drug Discov Today*, 2001, 6(8): 427-436.
- [10] Patri AK, Majoros IJ, Baker JR. Dendritic polymer macromolecular carriers for drug delivery[J]. *Curr Opin Chem Biol*, 2002, 6(4): 466-471.
- [11] Guo CQ, Gemeinhart RA. Assessment of a modular transfection system based upon cellular localization of DNA[J]. *Mol Pharm*, 2004, 1(4): 309-316.
- [12] 徐茏,益敏,徐宇虹,等. 纳米树突状多聚物颗粒在基因治疗中的应用[J]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2003, 10(1): 1-4.

- [13] 潘碧峰, 崔大祥, 徐 萍, 等. 碳纳米管-树形分子载体递送 Survivin 反义寡核苷酸对肝癌细胞增殖的作用[J]. 中国肿瘤生物治疗杂志, 2006, 13 (3): 177-180.
- [14] Chang AC, Gillespie JB, Tabacco MB, *et al.* Enhanced detection of live bacteria using a dendrimer thin film in an optical biosensor [J]. *Anal Chem*, 2001, 73 (3): 467-470.
- [15] Roy R, Baek MG, Rittenhouse-Olson K. Synthesis of N,N'-bis (acrylamido) acetic acid-based T-antigen glycodendrimers and their mouse monoclonal IgG antibody binding properties[J]. *J Am Chem Soc*, 2001, 123 (9):1809-1816.
- [16] Nguyen QN., Chavli RV, Marques JT, *et al.* Light controllable siRNAs regulate gene suppression and phenotypes in cells[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2006, 1758 (3):394-403.
- [17] Tarnawski A, Pai R, Chiou SK, *et al.* Rebamipide inhibits gastric cancer growth by targeting survivin and aurora-B[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2005, 334 (1):207-212.
- [18] Uchida H, Tanaka T, Sasaki K, *et al.* Adenovirus-mediated transfer of siRNA against survivin induced apoptosis and attenuated tumor cell growth *in vitro* and *in vivo*[J]. *Mol Ther*, 2004, 10 (1):162-171.
- [19] Fuessela S, Herrmann J, Ninga S, *et al.* Chemosensitization of bladder cancer cells by survivin-directed antisense oligodeoxynucleotides and siRNA[J]. *Cancer Lett*, 2006, 232 (2):243-254.
- [20] Faitar SL, Sossey-Alaoui K, Ranalli TA, *et al.* EVI5 protein associates with the INCENP-aurora B kinase-survivin chromosomal passenger complex and is involved in the completion of cytokinesis [J]. *Exp Cell Res*, 2006, 312 (12): 2325-2335.
- [21] Yamamoto T, Manome Y, Nakamura M, *et al.* Downregulation of survivin expression by induction of the effector cell protease receptor-1 reduces tumor growth potential and results in an increased sensitivity to anticancer agents in human colon cancer[J]. *Eur J Cancer*, 2002, 38 (17):2316-2324.
- [22] Fuessel S, Kueppers B, Shuangli N, *et al.* Systematic *in vitro* evaluation of survivin directed antisense oligodeoxynucleotides in bladder cancer cells[J]. *J Urol*, 2004, 171 (6):2471-2476.
- [23] Mollinari C, Reynaud C, Martineau-Thuillier S, *et al.* The mammalian passenger protein TD-60 is an RCC1 family member with an essential role in prometaphase to metaphase progression[J]. *Dev Cell*, 2003, 5 (2):295-307.
- [24] Sengupta S, Eavarone D, Capila I, *et al.* Temporal targeting of tumour cells and neovasculature with a nanoscale delivery system [J]. *Nature*, 2005, 436 (7050):568-572.
- [收稿日期] 2007 - 06 - 20 [修回日期] 2007 - 08 - 26
[本文编辑] 王 莹

· 简 讯 ·

肿瘤免疫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和中国抗癌协会生物治疗专业委员会联合主办的“肿瘤免疫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2008年4月23-26日在上海市召开。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包括美国科学院院士、美国免疫学会主席、抗体药物研发权威等介绍本领域新理论、新技术和应用现状以及发展趋势。诚邀国内各位专家与同行踊跃投稿与参加会议交流。

请关注本次会议的主页 www.immunol.org, 主页上将提供本次会议的主要信息。主办方目前正在为本次会议申请国家 I 类学分 (8 分)。征文要求: 凡未在国内外公开刊物发表过的研究论文均可向会议投稿; 本次会议采用网络投稿, 请到本次会议的主页下载投稿模板, 在模板内填写 150~200 字英文摘要发送至会务组, 务请注明投送国际会议。会务组将通过 e-mail 给您发送收稿回执, 请您务必关注, 如投稿后没有收到收稿回执, 表明会务组尚未收到您的来稿。来稿经专家评审后选择优秀论文作大会或分会发言, 所接受的论文摘要将录入会议论文集。会务组也将联系部分专家协助会议代表将中文摘要翻译为英文摘要, 费用为 200 元/篇 (作为翻译专家的劳务费, 只能提供收据而非发票), 需要此方面帮助的代表请在论文投稿模板内撰写中文摘要, 发送给会务组, 会务组在收到翻译费后将尽快联系专家翻译。

征文主题:

1、肿瘤免疫学 (特别是肿瘤抗原的发现与肿瘤免疫逃逸) 的新理论和新技术; 2、肿瘤生物治疗的新理论和新技术; 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。

会 务 组: 第二军医大学免疫学研究所《中国肿瘤生物治疗杂志》编辑部

会务组地址: 上海翔殷路 800 号免疫楼《中国肿瘤生物治疗杂志》编辑部

邮 编: 200433

电 子 信 箱: biotherapy2007@126.com

联 系 电 话: 021 - 55620605, 021 - 25074547

传 真: 021 - 65382502, 021 - 25074547

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

2007 - 10 - 15