

· 论 著 ·

[文章编号] 1007-385X(2007)05-0450-05

西妥昔单抗对耐多西他赛肺腺癌细胞株放化疗敏感性的调变作用

曹 斐, 孙 海, 陈龙邦* [南京大学医学院 临床学院(南京军区南京总医院) 肿瘤内科, 南京 210002]

[摘 要] 目的: 研究西妥昔单抗(Cetuximab, C225)对耐多西他赛(Docetaxel)肺腺癌细胞株 SPC-A-1/docetaxel 放化疗敏感性的调变作用。方法: 克隆形成实验观察 C225 对 SPC-A-1/docetaxel 细胞株放疗敏感性的影响; MTT 比色法观察 C225 单独应用以及不同次序联合多西他赛对 SPC-A-1/docetaxel 细胞株的生长抑制作用; 流式细胞术检测 C225 对 SPC-A-1/docetaxel 细胞凋亡及细胞生长周期的影响。结果: C225 联合放疗可以显著减少 SPC-A-1/docetaxel 细胞的克隆形成数目, 其 D_0 值以及单纯放疗的 D_0 值分别为 1.73 Gy 和 2.39 Gy, 增敏比为 1.38。C225 单药即使在高达 1 000 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 的质量浓度下作用 48 h 对 SPC-A-1/docetaxel 细胞无细胞毒和生长抑制作用; 在使用多西他赛之后使用 C225, 多西他赛的 IC_{50} 值为 85.2 $\mu\text{g}/\text{ml}$, 较单独使用多西他赛时的 IC_{50} 值 128.7 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 显著降低。C225 单独应用可以诱导 SPC-A-1/docetaxel 细胞凋亡, 并具有时间效应。C225 处理(24 h)前后 G_1 期细胞比例分别为(43.80 \pm 4.46)% 及(60.50 \pm 6.57)% ($P < 0.05$)。结论: C225 增加了 SPC-A-1/docetaxel 细胞株对放化疗的敏感性, 其机制可能与其诱导凋亡及 G_1 期细胞周期阻滞有关。

[关键词] 表皮生长因子受体; 西妥昔单抗; 放疗; 化疗; 敏感性; 肺癌

[中图分类号] R730.5; R734.2 **[文献标志码]** A

Epidermal growth factor receptor blocker C225 increases chemosensitivity and radiosensitivity of Docetaxel resistant human lung adenocarcinoma cell line SPC-A-1/docetaxel

CAO Fei, SUN Hai, CHEN Long-bang* (Department of Oncology, School of Clinical Medicine, Nanjing University [Nanjing General Hospital, PLA Nanjing Military Area Command], Nanjing 210002, China)

[Abstract] Objective: To investigate the modulating effects of anti-epidermal growth factor monoclonal antibody Cetuximab(C225) on the chemosensitivity and radiosensitivity in a Docetaxel-resistant human lung adenocarcinoma cell line SPC-A-1/docetaxel. **Methods:** Radiosensitivity of SPC-A-1/docetaxel was determined by clone formation experiment and quantified by calculating the enhancement ratio (ER). The growth inhibition of SPC-A-1/docetaxel cell line caused by C225 or combination of C225 and Docetaxel in different orders was detected by MTT assay. The effect of C225 on cell cycle distribution and apoptosis was determined by flow cytometry. **Results:** C225 combined with radiation significantly decreased the number of the cell clones than radiation alone; the D_0 values were 1.73 Gy for the former and 2.39 Gy for the latter, and the enhancement ratio was 1.38. C225 alone at concentration up to 1 000 $\mu\text{g}/\text{ml}$ for 48 h had neither cytotoxic nor cytostatic effect on SPC-A-1/docetaxel *in vitro*. C225 administration followed by Docetaxel significantly decreased the IC_{50} of Docetaxel (85.2 $\mu\text{g}/\text{ml}$ vs 128.7 $\mu\text{g}/\text{ml}$). Flow cytometry demonstrated that C225 exposure induced apoptosis of SPC-A-1/docetaxel cells in a time-dependent manner. The cell in the G_0/G_1 fraction increased from (43.80 \pm 4.46)% to (60.50 \pm 6.57)% ($P < 0.05$) after a 24 h C225 exposure. **Conclusion:** C225 can enhance the radiosensitivity and chemosensitivity of the Docetaxel-resistant lung adenocarcinoma cell line SPC-A-1/docetaxel, which may be associated with apoptosis induction and cell cycle arrest at G_1 phase.

[Key words] epidermal growth factor receptor; Cetuximab (C225); chemosensitivity; radiosensitivity; lung cancer

[Chin J Cancer Biother, 2007, 14(5): 450-454]

[基金项目] 江苏省博士后科研资助基金(No.0602031B). Supported by Postdoctoral Research Foundation of Jiangsu Province (No. 0602031B)

[作者简介] 曹 斐(1981-), 女, 江苏无锡人, 硕士研究生, 主要从事肿瘤内科临床工作

* Corresponding author. E-mail: chen.lb@hotmail.com

表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, EGFR)是细胞表面 erbB 受体家族中的一员,其胞外结构可与配体结合,使受体发生磷酸化,进一步形成同源或异源二聚体,引起下游一系列信号分子的活化,从而促进细胞增殖、抑制凋亡、促进细胞的侵袭和转移以及血管形成等^[1]。EGFR 在人类多种上皮来源的肿瘤中有异常激活,包括结肠癌、头颈部癌、NSCLC 等;有研究结果证实,EGFR 的高表达与肺癌的不良预后有关。西妥昔单抗(Cetuximab, C225)是人鼠嵌合型的 IgG1 单克隆抗体,可以特异性地与表皮生长因子受体结合,阻断其与配体的结合,从而阻断整个下游信号途径的传导而发挥抗肿瘤作用。研究表明, C225 能提高多种结肠癌、头颈部癌细胞株的放化疗敏感性。但是关于肺癌的研究较少,对耐药株的研究更未见相关报道。本实验研究了 C225 联合放化疗对耐多西他赛(Docetaxel, 商品名泰素帝)肺腺癌细胞株 SPC-A-1/docetaxel 的放化疗增敏作用,并初步探讨其作用机制。

1 材料与方法

1.1 主要材料

RPMI 1640 及 0.25% 胰蛋白酶为 Gibco BRL 公司产品,新生牛血清为杭州四季青公司产品,西妥昔单抗为 Merck KGaA 公司产品,多西他赛为法国罗纳普朗克乐安公司产品,Annexin V/PI 凋亡试剂盒及细胞周期试剂盒为 BD 公司产品。耐多西他赛肺腺癌细胞株 SPC-A-1/docetaxel^[2]由本实验室建立,现稳定生长于含有 5 $\mu\text{g}/\text{L}$ 多西他赛的培养环境中,多西他赛耐药指数为 13.20,实验室常规传代培养。

1.2 细胞培养

SPC-A-1/docetaxel 细胞在含 10% 小牛血清的 PRMI 1640 培养液中呈单层贴壁生长,在 37 $^{\circ}\text{C}$ 、5% CO_2 的恒温孵箱中培养。实验前常规脱离药物环境 2 周。

1.3 集落形成实验检测肿瘤细胞集落形成能力

取对数生长期的细胞,常规消化、离心后制成单细胞悬液,按照照射剂量不同以不同细胞数接种于直径 6 cm 的培养皿中,分为单纯放疗组及 C225 + 放疗组。单纯放疗组于接种后 48 h 分别给予 0、1、2、4、6 和 8 Gy 单剂量照射, C225 + 放疗组也同时接受单剂量照射,但在照射前给予 1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 的 C225 处理 24 h。照射时机架角 180 $^{\circ}$,培养皿下垫 1.5 cm 厚有机玻璃板,等中心照射,剂量率为 2.5 Gy/min。每种条件设 3 个平行样本。培养 14 d 后克隆形成,结晶紫染液染色 1 min,生理盐水充分冲洗后晾干。镜

下计数含 50 个细胞以上的克隆数。首先计算出未处理培养皿中接种细胞形成克隆的百分数,即为克隆形成率(PE), $\text{PE}(\%) = \text{克隆数}/\text{细胞接种数} \times 100\%$ 。然后计算出各种实验条件下细胞的存活分数(SF), $\text{SF} = \text{各种条件下计数所得的克隆数}/\text{相同条件下接种的细胞数} \times \text{PE}$ 。半对数坐标绘制出细胞生存曲线图。

1.4 MTT 比色法检测各种用药方案对细胞增殖的抑制作用

取对数生长期的细胞,常规消化、离心,调整细胞密度为 $1 \times 10^5/\text{ml}$,加入 96 孔板,每孔 100 μl ,培养 24 h 后分为 4 组:A 组为单用 C225 组, B 组为单用多西他赛组, C 组为先多西他赛后 C225 组, D 组为先 C225 后多西他赛组。A 组 C225 质量浓度选取 0、1、10、100、500、1 000 $\mu\text{g}/\text{ml}$,多西他赛质量浓度选取 0、1、5、10、50、100、150、200 $\mu\text{g}/\text{ml}$,联合应用组 C225 使用固定浓度,具体浓度参考 A 组得出的 IC_{50} 值或参考相关文献。单独用药组 C225 及多西他赛均作用 48 h,联合应用组多西他赛作用 48 h、C225 作用 24 h。加入第 2 种药物之前用无血清培养液洗涤 3 遍。每孔终体积为 200 μl ,每种条件设 3 个复孔。处理时加入 5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 的 MTT 液 20 μl ,培养 4 h 后弃去上清,每孔加入二甲基亚砷 100 μl ,震荡 5 min 后用酶联免疫测定仪在波长 570 nm 处测定各孔的光密度值(D_{570}),肿瘤抑制率 $\text{fa}(\%) = (1 - \text{实验孔 } D_{570}/\text{对照孔 } D_{570}) \times 100\%$,进而求出多西他赛在各种条件下作用 24 h 的 IC_{50} 值。

1.5 流式细胞术检测 C225 对 SPC-A-1/docetaxel 细胞凋亡的影响

取对数生长期细胞加入 5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 的 C225 培养 24 及 48 h,以单纯培养液培养为对照,收集悬浮及贴壁细胞,PBS 洗涤 2 遍后加入结合缓冲液 100 μl ,混匀后分别加入 Annexin V 和 PI 各 5 μl ,室温避光孵育 15 min 后加入结合缓冲液 300 μl ,流式细胞术(BD FACS Calibur)检测。

1.6 流式细胞术检测 C225 对 SPC-A-1/docetaxel 细胞周期的影响

取对数生长期细胞加入 5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ C225 培养 24 h,以单纯培养液培养为对照,收集悬浮及贴壁细胞,PBS 洗涤 2 遍后加入 75% 酒精 1 ml 固定过夜。将乙醇固定的细胞悬液以 2 000 r/min 离心 5 min,去上清后 PBS 洗涤 2 次,每管加入 PI(50 mg/ml)0.4 ml,室温避光 30 min,流式细胞术检测细胞周期。

1.7 统计方法

数据用统计软件 SPSS12.0 处理并进行 t 检验,

$P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 C225 对 SPC-A-1/docetaxel 细胞株放疗敏感性的影响

未处理组细胞克隆形成率为 67%。图 1 为不同条件处理后细胞的存活曲线。存活曲线中,最终斜率 D_0 定义为在剂量效应曲线上,存活率从 0.1 降至 0.037,或从 0.01 降至 0.0037 所需的剂量。 D_0 值越大,细胞的放射敏感性越低,细胞对放射越抗拒。利用单击多靶模型 $SF = 1 - (1 - e^{-D/D_0})^N$ 拟合后得出单纯放疗组及 C225 + 放疗组的 D_0 值分别为 2.39 Gy 和 1.73 Gy,两者之比即增敏比(ER),本实验结果得出 C225 联合放疗的增敏比为 1.38。

2.2 C225 对 SPC-A-1/docetaxel 细胞株化疗敏感性的影响

A 组 C225 质量浓度分别在 0、1、10、100、500、1 000 $\mu\text{g/ml}$ 作用 48 h,SPC-A-1/docetaxel 细胞株各剂量点的 D_{570} 值波动在 $(0.92 \pm 0.07) \sim (0.99 \pm 0.08)$ 间,显示 C225 对细胞株无明显生长抑制作用。

用。故在 B、C、D 组中,C225 浓度参考文献设定为 5 $\mu\text{g/ml}$ 。B 组结果提示多西他赛对细胞株有抑制作用,其肿瘤抑制率(fa)与药物浓度呈正相关。C225 的不同使用顺序对细胞的生长抑制作用不同,B、C、D 组多西他赛的 IC_{50} 值分别为 128.7、85.2 及 132.5 $\mu\text{g/ml}$ 。在多西他赛之后使用 C225 可以显著增加多西他赛对 SPC-A-1/docetaxel 细胞增殖的抑制作用($P < 0.05$,表 1 及图 2)。

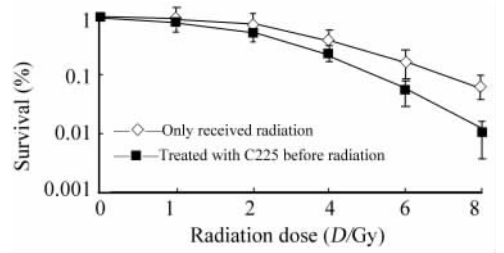


图 1 C225 对 SPC-A-1/docetaxel 细胞株放疗敏感性的影响

Fig. 1 Effect of C225 on radiation sensitivity of SPC-A-1/docetaxel cells

表 1 C225 不同次序联合多西他赛对 SPC-A-1/docetaxel 细胞增殖的抑制作用($n = 3, \bar{x} \pm s$)

Tab. 1 Inhibitory effect of C225 combined with Docetaxel in different orders on growth of SPC-A-1/docetaxel cells($n = 3, \bar{x} \pm s$)

Docetaxel ($\rho_B/\mu\text{g} \cdot \text{ml}$)	Docetaxel only		C225 followed by Docetaxel		Docetaxel followed by C225	
	D_{570}	fa(%)	D_{570}	fa(%)	D_{570}	fa(%)
0	0.95 \pm 0.03	0	0.88 \pm 0.02 *	0	0.96 \pm 0.04	0
1	0.93 \pm 0.02	2.1	0.84 \pm 0.01 *	4.5	0.95 \pm 0.02	1.0
5	0.89 \pm 0.01	6.3	0.82 \pm 0.02 *	6.8	0.91 \pm 0.03	5.2
10	0.85 \pm 0.01	10.5	0.75 \pm 0.03 *	14.7	0.86 \pm 0.01	10.4
50	0.68 \pm 0.01	28.4	0.55 \pm 0.02 *	37.5	0.67 \pm 0.01	30.2
100	0.51 \pm 0.03	46.3	0.38 \pm 0.02 *	56.8	0.52 \pm 0.00	45.8
150	0.39 \pm 0.01	58.9	0.26 \pm 0.02 *	70.5	0.41 \pm 0.02	57.3
200	0.32 \pm 0.01	66.3	0.18 \pm 0.01 *	79.5	0.36 \pm 0.01	62.5

* $P < 0.05$ vs docetaxel only. fa is inhibitory rate of several treatments on SPC-A-1/docetaxel

2.3 C225 对 SPC-A-1/docetaxel 细胞凋亡的影响

SPC-A-1/docetaxel 细胞株基础凋亡率为 $(4.30 \pm 0.57)\%$,用 5 $\mu\text{g/ml}$ 的 C225 处理 24 h 后的凋亡率为 $(6.91 \pm 0.73)\%$,处理 48 h 后的凋亡率为 $(13.03 \pm 1.18)\%$,三者间的差异具有统计学意义($P < 0.05$,图 3)。

2.4 C225 对 SPC-A-1/docetaxel 细胞周期的影响

用 5 $\mu\text{g/ml}$ C225 处理 SPC-A-1/docetaxel 细胞

24 h 后 G_1 期细胞的比例为 $(60.50 \pm 6.57)\%$,较对照组的 $(43.80 \pm 4.46)\%$ 明显增高($P < 0.05$);而 S 期细胞比例为 $(34.42 \pm 5.35)\%$,较对照组的 $(49.48 \pm 3.48)\%$ 显著降低($P < 0.05$); G_2/M 期细胞比例在两者分别为 $(5.07 \pm 1.25)\%$ 及 $(6.71 \pm 0.97)\%$,两者无显著差别($P > 0.05$)。结果提示 C225 使细胞周期发生了 G_1 期阻滞(图 4)。

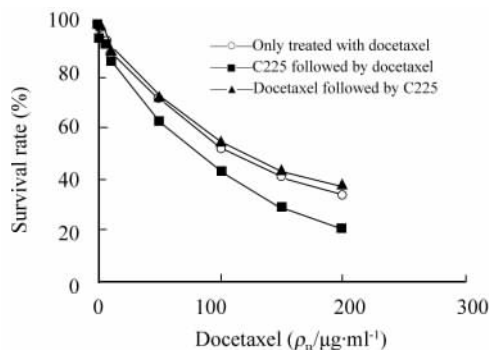


图2 C225 不同次序联合多西他赛对 SPC-A-1/docetaxel 细胞的影响

Fig. 2 The dose-response curve of C225 combined with Docetaxel in different orders on SPC-A-1/docetaxel

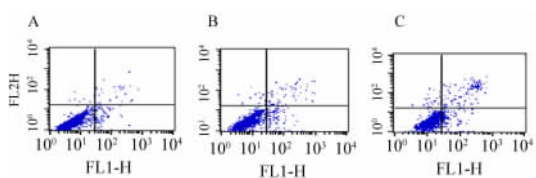


图3 C225 处理前后 SPC-A-1/docetaxel 细胞的凋亡比例

Fig. 3 Apoptosis of SPC-A-1/docetaxel cells before and after treatment with C225

A: Before treatment; B: 24 h after treatment;
C: 48 h after treatment

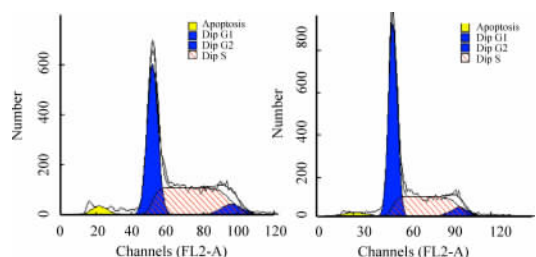


图4 C225 处理前后 SPC-A-1/docetaxel 细胞周期分布

Fig. 4 Effect of C225 on cell cycle distribution of SPC-A-1/docetaxel cells

A: Before treatment with C225; B: After treatment with C225

3 讨论

分子靶向治疗是近年肿瘤研究中的热点^[3],其中表皮生长因子受体(EGFR)被认为与肿瘤侵袭度高、进展迅速及预后不良有关,阻断EGFR有可能成为肿瘤治疗的新途径^[4]。EGFR单克隆抗体C225已被证实对多种肿瘤细胞有化疗、放疗增敏作用^[5-7]。本研究结果提示:C225联合放疗能显著减少SPC-A-1/docetaxel细胞的克隆形成数目。单纯

放疗及联合治疗时的 D_0 值分别为2.39Gy和1.73Gy,增敏比为1.38。提示在放疗之前使用C225可以增强该细胞株对放疗的敏感性。国外相关研究也得出了类似结论。David等^[8]研究了C225与放疗联合对多种非小细胞肺癌细胞株的影响,结果发现C225与放疗对细胞具有协同的生长抑制作用,并可以显著地抑制裸鼠移植瘤的生长,与单纯放疗比较差异显著。Shyh等^[9]的研究结果也证实C225与放疗联合可以显著降低头颈部鳞癌细胞的存活率。

细胞周期分析提示,C225作用24h后 G_1 期细胞为(60.50±6.57)%,较未处理组的(43.80±4.46)%显著增高,而S期细胞比例为(34.42±5.35)%,则较未处理组的(49.48±3.48)%明显降低。C225已在多项研究中被证实能使细胞周期停滞在对放疗相对敏感的 G_1 期,而使对放疗抗拒的S期细胞减少,从而增加细胞的放疗敏感性^[9-10]。而C225的细胞周期阻滞作用则被认为与上调p27^{KIP1}和p15^{INK4B}的表达有关^[11-12]。

研究结果发现,C225可与多种化疗药产生协同作用,降低化疗药的 IC_{50} 值。本研究结果提示在多西他赛之前使用C225作用48h的 IC_{50} 值较单独使用多西他赛无显著差异,分别为132.5µg/ml及128.7µg/ml。但是在多西他赛之后使用C225其 IC_{50} 值显著下降为85.2µg/ml,与其他两组数据比较具有显著差异。提示C225联合化疗药物时不同的用药顺序可能影响疗效发挥。Morelli等^[13]对食管鳞癌KYSE30细胞株研究了C225与紫杉醇及多西他赛的联合作用后发现,只有当C225在化疗药之后使用时才能看到协同的生长抑制作用,并伴随着死细胞的增多以及存活细胞在 G_2/M 期的停滞。Fortunato等^[14]分析了C225不同次序联合托泊替康对大肠癌、卵巢癌、乳腺癌细胞株的生长抑制作用,结果提示C225在托泊替康之后使用可以与其产生协同作用,而同时或之前使用则不同程度降低了托泊替康对肿瘤细胞的生长抑制作用。动物实验也证实了这一结论。在托泊替康之后使用C225可以显著缩小移植瘤的体积并延缓其生长,其生存期与对照组相比显著延长。考虑其原因与C225的细胞周期阻滞作用有关。托泊替康及多西他赛均为细胞周期特异性药物,分别作用于S- G_2 期及 G_2 -M期,C225使细胞周期阻滞在 G_1 期, G_2/M 期细胞相对减少,故在此种化疗药之前使用C225反而降低了细胞对化疗药物的敏感性,而在化疗药之后使用则可以产生较好的协同作用。

虽然C225的细胞周期阻滞作用使细胞对多西

他赛的敏感性降低,但是其 IC_{50} 值与单用多西他赛相比无显著差异,提示尚有其他机制参与。本实验结果提示,C225 可以诱导 SPC-A-1/docetaxel 细胞凋亡,并具有一定的时间效应。提示诱导凋亡可能是 C225 抗肿瘤机制之一。Shyh 等^[9]的研究与本实验结果一致,他们探讨了 C225 诱导凋亡的机制,发现其可以增加凋亡诱导蛋白 Bax 的表达,而降低凋亡抑制蛋白 Bcl-2 的表达,从而诱导细胞凋亡。Sclabas 等^[15]的实验结果则发现 C225 下调了 NF-kap-paB DNA 的结合活性,进一步降低了 bcl-xl 和 bfl-1 的表达,从而诱导胰腺癌细胞凋亡。

本研究证实,C225 在多西他赛之后使用可以在一定程度上逆转 SPC-A-1/docetaxel 细胞株对多西他赛的耐药,增加其化疗敏感性,而在放疗之前使用则可以更好地与放疗产生协同作用;其机制可能与 C225 诱导凋亡及 G_1 期细胞周期阻滞有关,为其在耐药肺癌患者中的应用提供了初步的实验依据。

[参 考 文 献]

- [1] Herbst RS. Review of epidermal growth factor biology[J]. Int J Radiat Oncol Biol Phys, 2004, 59(2 Suppl): 21-26.
- [2] 孙海,耿建,金洁,等. 人肺癌细胞系 SPC-A-1 多西他赛耐药细胞系的建立及其特性[J]. 中国癌症杂志, 2007, 17(4): 283-287.
- [3] Dy KG, Adjei AA. Novel targets for lung cancer therapy. Part I [J]. J Clin Oncol, 2002, 20(12): 2881-2894.
- [4] Mendelsohn J, Baselga J. Status of epidermal growth factor receptor antagonists in biology and treatment of cancer[J]. Clin Oncol, 2003, 21(14): 2787-2799.
- [5] Balin-Gauthier D, Delord JP, Rochoix P, et al. In vivo and in vitro antitumor activity of oxaliplatin in combination with cetuximab in human colorectal tumor cell lines expressing different level of EGFR[J]. Cancer Chem Pharmacol, 2006, 57(6): 709-718.
- [6] Liang K, Ang KK, Miles L, et al. The epidermal growth factor receptor mediates radiotherapy[J]. Int J Radiat Oncol Biol Phys,

2003, 57(1): 246-254.

- [7] Eller JL, Longo SL, Kyle MM, et al. Anti-epidermal growth factor receptor monoclonal antibody cetuximab augments radiation effects in glioblastoma multiforme in vitro and in vivo[J]. Neurosurgery, 2005, 56(1): 155-162.
- [8] Raben D, Helfrich B, Chan DC, et al. The effects of cetuximab alone and in combination with radiation and/or chemotherapy in lung cancer[J]. Clin Cancer Res, 2005, 11(2 Pt1): 795-805.
- [9] Huang SM, Bock JM, Harari PM, et al. Epidermal growth factor receptor blockade with C225 modulates proliferation, apoptosis, and radiosensitivity in squamous cell carcinomas of the head and neck[J]. Cancer Res, 1999, 59(8): 1935-1940.
- [10] Huang SM, Harari PM. Modulation of radiation response after epidermal growth factor receptor blockade in squamous cell carcinomas: inhibition of damage repair, cell cycle kinetics, and tumor angiogenesis[J]. Clin Cancer Res, 2000, 6(6): 2166-2174.
- [11] Kiyota A, Shintani S, Mihara M, et al. Anti-epidermal growth factor receptor monoclonal antibody 225 upregulates p27(KIP1) and p15(INK4B) and induces G1 arrest in oral squamous carcinoma cell lines[J]. Oncol, 2002, 63(1): 92-98.
- [12] Huether A, Hopfner M, Baradari V, et al. EGFR blockade by cetuximab alone or as combination therapy for growth control of hepatocellular cancer[J]. Biochem pharmacol, 2005, 70(11): 1568-1578.
- [13] Morelli MP, Cascone T, Troiani T, et al. Sequence-dependent antiproliferative effects of cytotoxic drugs and epidermal growth factor receptor inhibitors[J]. Ann Oncol, 2005, 16(Suppl) 4: 61-68.
- [14] Ciardiello F, Bianco R, Damiano V, et al. Antitumor activity of sequential treatment with topotecan and anti-epidermal growth factor receptor monoclonal antibody C225[J]. Clin Cancer Res, 1999, 5(4): 909-916.
- [15] Sclabas GM, Fujioka S, Schmidt C, et al. Restoring apoptosis in pancreatic cancer cells by targeting the nuclear factor-kappaB signaling pathway with the anti-epidermal growth factor antibody IMC-C225[J]. J Gastrointest Surg, 2003, 7(1): 37-43.

[收稿日期] 2007 - 07 - 17

[修回日期] 2007 - 08 - 16

[本文编辑] 王莹

· 读者 · 作者 · 编者 ·

本刊对论文中实验动物描述的要求

根据国家科学技术部 1988 年颁布的《实验动物管理条例》和卫生部 1998 年颁布的《医学实验动物管理实施细则》,本刊对论文中有关实验动物的描述,要求写清楚以下事项:(1) 品种、品系及亚系的确切名称;(2) 遗传背景或其来源;(3) 微生物检测状况;(4) 性别、年龄、体重;(5) 质量等级及合格证书编号;(6) 饲养环境和实验环境;(7) 健康状况;(8) 对动物实验的处理方式。

医学实验动物分为四级:一级为普通级;二级为清洁级;三级为无特定病原体(SPF)级;四级为无菌级(包括悉生动物)。省部级课题及研究生毕业论文等科研实验必须应用二级以上的实验动物。