

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2009.06.013

· 基础研究 ·

## 靶向 EGFR 的干扰 RNA 对卵巢癌耐药细胞凋亡的影响

张 娇<sup>1</sup>, 陈爱平<sup>1\*</sup>, 戚玉言<sup>1</sup>, 王 斌<sup>2</sup> (1. 青岛大学医学院附属医院妇科, 山东 青岛 266003; 2. 青岛大学医学院微生物学教研室, 山东 青岛 266003)

[摘要] 目的: 探讨 RNA 干扰表皮生长因子受体( epidermal growth factor receptor, EGFR )的表达对多药耐药卵巢癌细胞株 SKOV3/DDP 凋亡的影响。方法: 构建携带 EGFR 小发夹干扰 RNA( small hairpin RNA, shRNA )的重组表达载体( pEGFR-shRNA ), 脂质体法转染入 SKOV3/DDP 细胞, 同时设未转染对照组和非特异性干扰质粒 Ctrl-shRNA 对照组。RT-PCR 和免疫细胞化学法检测转染后 SKOV3/DDP 细胞内 EGFR mRNA 和蛋白的表达; 流式细胞仪分析 EGFR 沉默后 SKOV3/DDP 细胞周期和凋亡率的变化。结果: 与转染对照质粒组相比, 转染 pEGFR-shRNA 组细胞 EGFR mRNA 和蛋白的表达明显受抑制(  $P < 0.01$  )。流式细胞仪检测结果显示: 顺铂作用 24 h 后, pEGFR-shRNA 转染组细胞周期分布发生明显改变, 与对照组和 Ctrl-shRNA 组相比,  $G_0/G_1$  期细胞比例和凋亡率明显增加(  $P < 0.01$  ), 而 S 期细胞比例显著降低(  $P < 0.01$  ); 凋亡率显著升高。结论: 靶向 EGFR 的干扰 RNA 可抑制 SKOV3/DDP 细胞中 EGFR 的表达, 调节耐药细胞周期, 促进耐药细胞凋亡。

[关键词] 卵巢肿瘤; RNA 干扰; 表皮生长因子受体; 顺铂

[中图分类号] R737.31; R730.54

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-385X(2009)06-0619-05

## Effect of EGFR-targeted interference RNA on apoptosis of multidrug-resistant ovarian cancer cells

ZHANG Jiao<sup>1</sup>, CHEN Ai-ping<sup>1\*</sup>, QI Yu-yan<sup>1</sup>, WANG Bin<sup>2</sup> (1. Department of Gynecology, Affiliated Hospital of Qingdao Medical College, Qingdao University, Qingdao 266003, Shandong, China; 2. Department of Microbiology, Qingdao Medical College, Qingdao University, Qingdao 266003, Shandong, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the effect of RNA-mediated interference EGFR ( epidermal growth factor receptor ) expression on the apoptosis of multidrug-resistant ovarian cancer cell line SKOV3/DDP. **Methods:** Small hairpin RNA ( shRNA ) targeting EGFR was synthesized and recombinant plasmid containing pEGFR-shRNA was constructed. pEGFR-shRNA was transfected into SKOV3/DDP cells by liposome system, untransfected cells and SKOV3/DDP cells transfected with nonspecific-shRNA ( Ctrl-shRNA ) were used as control. Expression of EGFR mRNA and protein in SKOV3/DDP cells was examined by RT-PCR and immunocytochemistry after transfection, respectively. The apoptotic rates and cell cycles of SKOV3/DDP cells were detected by flow cytometry. **Results:** Compared with Ctrl-shRNA-transfected cells, the expression of EGFR mRNA and protein in pEGFR-shRNA-transfected SKOV3/DDP cells was significantly inhibited. Flow cytometry results showed that cell cycle distribution in pEGFR-shRNA-transfected SKOV3/DDP cells was dramatically changed, and the apoptosis rate was significantly increased after further treatment with cisplatin for 24 h. **Conclusion:** EGFR-targeted interference RNA can inhibit the expression of EGFR in SKOV3/DDP cells, thereby regulating the cell cycle and increasing apoptosis of multidrug-resistant SKOV3/DDP cells.

[Key words] ovarian neoplasms; RNA interference; epidermal growth factor receptor ( EGFR ); cisplatin

[ Chin J Cancer Biother, 2009, 16( 6 ): 619-623 ]

卵巢癌是严重威胁妇女健康的恶性肿瘤,其病死率在女性生殖器官恶性肿瘤中占首位<sup>[1]</sup>。肿瘤细胞减灭术和以铂类药物为主的化疗是当前治疗卵巢癌的主要手段,但其 5 年生存率却仍然徘徊在 30% 左右<sup>[2]</sup>,主要原因是耐药性的发生降低了治疗的成功率<sup>[3]</sup>。表皮生长因子受体( epidermal growth factor receptor, EGFR )是原癌基因 ErbB1 的表达产

物,与肿瘤的发生、发展密切相关。近年来 EGFR 与肿瘤的血管生成、侵袭及转移关系的研究越来越多<sup>[4]</sup>。小发夹干扰 RNA( small hairpin RNA, shR-

[作者简介] 张娇(1983-),女,内蒙古人,硕士,主要从事妇科肿瘤的临床与基础研究。E-mail: zhangjiao.2007@yahoo.com.cn

\* 通信作者( Corresponding author )。E-mail: chenaiping516@163.com

NA)是一种序列特异的双链RNA分子,在mRNA水平抑制靶标基因的表达或使其表达沉默。近几年RNA干扰成为肿瘤基因治疗研究中极有潜力的技术<sup>[5]</sup>。本研究对RNA干扰EGFR基因表达后能否促进卵巢癌耐药细胞SKOV3/DDP的凋亡进行了探讨,为卵巢癌新的临床治疗方案提供了新的思路。

## 1 材料与方法

### 1.1 细胞株与试剂

人卵巢癌耐药细胞株SKOV3/DDP购自广西医科大学附属肿瘤医院,用含10%胎牛血清、100 U/ml青霉素和100 μg/ml链霉素的RPMI 1640培养液,置于37℃、5%CO<sub>2</sub>培养箱中培养。大肠杆菌DH5α由青岛大学医学院微生物学教研室保存。顺铂为齐鲁制药冻干型制剂。胎牛血清购于中美合资兰州民海生物工程有限公司,逆转录试剂盒购自Promega公司;pSilencer2.1-U6 neo质粒购自Ambion公司;EZNA无内毒素大量抽提质粒试剂盒购于Omega公司;兔抗人EGFR一抗、HRP标记羊抗兔IgG二抗购自武汉博士德公司;dNTP购自上海生工公司。

### 1.2 针对EGFR基因的shRNA设计和合成

EGFR基因序列引自GenBank。利用Ambion公司在线设计软件,选取EGFR基因序列起始点280个核苷酸之后的连续19 nt作为RNA干扰的特异性序列,并经Blast同源性比较分析。根据此序列由上海生工公司合成一条正义链(sense)和一条反义链(antisense)。Sense: 5'-GATCCGCACAGTG-GAGCGAATTCCTTTCAAGAGAAGGAATTCGCTCCAC TGTGTTTTTTGGAAA-3'。Antisense: 5'-AGCTTTTC-CAAAAAACACAGTGGAGCGAATTCCTTCTCTTGA AAGGAATTCGCTCCACTGTGCG-3'。5'末端前加入一个BamH I酶切位点的黏性末端,3'端加入一个Hind III酶切位点的黏性末端。

### 1.3 pEGFR-shRNA表达质粒的构建

shRNA单链退火形成双链,与线性化质粒载体pSilencer 2.1-U6进行连接以构建重组质粒,转化大肠杆菌DH5α,挑取阳性克隆,按EZNA无内毒素大量抽提质粒试剂盒说明书的步骤提取质粒,用限制性内切酶BamH I和Hind III进行酶切鉴定,并委托上海英俊公司进行质粒的序列分析。最终构建靶向EGFR的shRNA真核表达载体,质粒定名为pEGFR-shRNA。

### 1.4 pEGFR-shRNA质粒转染细胞

实验分为空白对照组(Ctrl组,不进行转染)、

Ctrl-shRNA组(转染由Ambion公司提供的无关对照质粒)和pEGFR-shRNA组。将细胞接种至6孔板,每孔 $5 \times 10^5$ 个细胞,用无抗生素的RPMI 1640培养液常规培养。细胞生长至90%融汇时开始转染。转染方法参见脂质体2000说明书。将已用无血清RPMI 1640培养基稀释的pEGFR-shRNA和脂质体2000混合成转染复合物,室温放置20 min,再将混合物加入细胞中,轻轻混匀,置于37℃、5%CO<sub>2</sub>培养箱中培养,4 h后细胞用含血清的培养基继续培养。用400 μg/ml的G418筛选,3周后获抗G418的阳性克隆。

### 1.5 RT-PCR检测EGFR mRNA的表达

为检测转染前后SKOV3/DDP细胞中EGFR mRNA的表达,TRIzol一步法提取细胞总RNA,逆转录合成cDNA,产物进行PCR扩增。EGFR上游引物:5'-AACACAGTGGAGCGAATTCCTTT-3';EGFR下游引物:5'-GGAAGTCCATCGACATGTTGCT-3'。扩增条件:94℃变性1 min,55℃退火1 min,72℃延伸1 min,共25个循环后,72℃延伸10 min。15 g/L的琼脂糖凝胶电泳,紫外灯下观察结果,用蛋白凝胶电泳图像分析软件对结果进行分析。

### 1.6 免疫细胞化学法检测EGFR蛋白的表达

检测转染前后SKOV3/DDP细胞中EGFR蛋白的表达。常规消化细胞,将细胞悬液接种在铺有载玻片的6孔板中。24 h后收获细胞爬片,用丙酮在室温下固定10~15 min,3% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>封闭内源性过氧化物酶,室温下放置10 min,滴加1:60稀释的一抗(兔抗人EGFR),37℃孵育1 h,再滴加酶标二抗(PV-6000)工作液,37℃孵育30 min。DAB显色、苏木精复染后树脂封片,在显微镜下观察并照相,根据显色深浅判断EGFR蛋白表达的强弱。

### 1.7 流式细胞仪检测细胞周期和凋亡

细胞分组:Ctrl组(未转染SKOV3/DDP细胞)、顺铂处理组、Ctrl-shRNA+顺铂处理组以及pEGFR-shRNA+顺铂处理组。将SKOV3/DDP细胞接种于6孔板中,转染后48 h后,加入顺铂(终质量浓度为10 μg/ml)。24 h后收集细胞,用PBS洗涤2遍,再用-20℃预冷的75%乙醇固定18 h。检测前PBS洗1次,加入含RNase A(终质量浓度为0.25 μg/L)的碘化丙啶(PI)染色液(终质量浓度为50 μg/L),室温避光孵育30 min,流式细胞仪检测细胞凋亡率,重复检测3次。

### 1.8 统计学处理

实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 标准差表示,使用SPSS 10.0统计软件包,组间比较采用方差分析。

## 2 结 果

### 2.1 pEGFR-shRNA 质粒的测序结果

质粒的测序结果证明插入片段的序列完全正确(图1)。

### 2.2 pEGFR-shRNA 对 SKOV3/DDP 细胞 EGFR mRNA 表达的影响

应用 RT-PCR 法检测 RNA 干扰后 SKOV3/DDP 细胞中 EGFR mRNA 的转录水平(图2)。各组细胞

在相对于 262 bp 的位置均可见 EGFR 基因电泳条带存在,但其亮度存在明显差异。用 Band Scan 图像分析软件对结果进行分析。正常对照组为  $3.72 \pm 0.11$ , 非特异性转染组为  $3.84 \pm 0.21$ , EGFR shRNA 转染组为  $1.72 \pm 0.21$ 。其中正常对照组与非特异性转染组相比差异无统计学意义( $F = 86.83, q = 1.31, P > 0.05$ ), pEGFR-shRNA 转染组与前 2 组相比差异有统计学意义( $q = 15.45, 19.27, P < 0.01$ )。

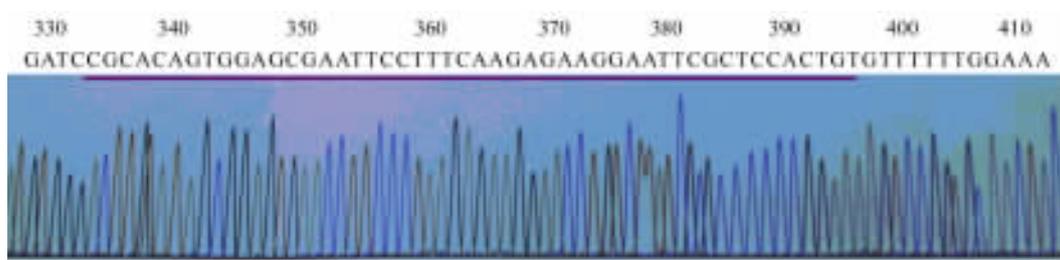


图1 重组 pEGFR-shRNA 质粒测序图谱

Fig. 1 Gene sequence map of pEGFR-shRNA recombinant plasmid

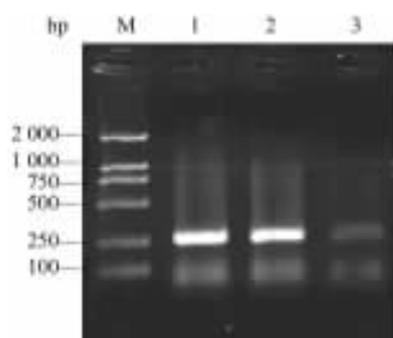


图2 RT-PCR 检测 SKOV3/DDP 细胞中 EGFR mRNA 的表达

Fig. 2 EGFR mRNA expression in SKOV3/DDP cells as detected by RT-PCR

M: DNA Marker; 1: SKOV3/DDP cells; 2: SKOV3/DDP cells transfected with Ctrl-shRNA; 3: SKOV3/DDP cells transfected with pEGFR-shRNA

### 2.3 pEGFR-shRNA 对 SKOV3/DDP 细胞 EGFR 蛋白表达的影响

用免疫细胞化学染色法检测 RNA 干扰前后 SKOV3/DDP 细胞中 EGFR 蛋白表达。EGFR 蛋白表达在胞膜和胞质中,光学显微镜下见胞膜和胞质有棕褐色颗粒沉着。转染 pEGFR-shRNA 组细胞中 EGFR 蛋白表达明显减少,利用 Image Plus 图像分析软件对结果进行分析。正常对照组、非特异性转染组和 pEGFR-shRNA 转染组光密度值分别为  $(0.34 \pm 0.005)$ 、 $(0.31 \pm 0.003)$ 、 $(0.13 \pm 0.013)$ , 结果显示:pEGFR-shRNA 转染组 SKOV3/DDP 细胞中 EGFR 蛋白表达显著下降,差异有统计学意义( $P < 0.01$ ),而正常对照组与非特异性转染组无统计学差异( $P > 0.05$ )。



图3 免疫细胞化学检测 SKOV3/DDP 细胞中 EGFR 蛋白的表达(×400)

Fig. 3 EGFR protein expression in SKOV3/DDP cells as detected by immunocytochemistry(×400)

A: SKOV3/DDP cells; B: SKOV3/DDP cells transfected with Ctrl-shRNA; C: SKOV3/DDP cells transfected with pEGFR-shRNA

### 2.4 pEGFR-shRNA 增强 SKOV3/DDP 细胞对顺铂的敏感性

经顺铂作用后, pEGFR-shRNA + 顺铂组的 SKOV3/DDP 细胞凋亡率、G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub> 期细胞比例都明显高于空白对照组、顺铂组、Ctrl-shRNA + 顺铂组(  $P <$

0.01 ), 而 S 期细胞所占比例显著低于后 3 组, 差异有统计学意义(  $P < 0.01$  )。对照组、未转染细胞组、Ctrl-shRNA + 顺铂组之间的细胞周期分布及凋亡率没有统计学差异(  $P > 0.05$  )。

表 1 pEGFR-shRNA 增加 SKOV3/DDP 细胞对顺铂的敏感性  
Tab. 1 pEGFR-shRNA enhanced sensitivity of SKOV3/DDP cells to Cisplatin

Group	G <sub>0</sub> /G <sub>1</sub> ( % )	S( % )	G <sub>2</sub> /M( % )	凋亡率( % )
Ctrl	30.5 ± 0.5	58.7 ± 0.4	10.7 ± 0.2	4.8 ± 0.7
Cisplatin	31.3 ± 0.6	49.5 ± 3.1	19.3 ± 1.7	5.3 ± 0.5
Ctrl-shRNA + Cisplatin	28.1 ± 2.3	59.6 ± 2.5	12.3 ± 2.5	4.2 ± 0.7
pEGFR-shRNA + Cisplatin	69.4 ± 3.1**	26.5 ± 2.7**	4.4 ± 1.8**	30.8 ± 1.2**

\*\*  $P < 0.01$  vs Ctrl, Cisplatin or Ctrl-shRNA + Cisplatin

### 3 讨论

卵巢癌是妇科 3 大恶性肿瘤之一, 由于缺乏特异的临床症状以及相应的早期诊断手段, 就诊时大部分卵巢恶性肿瘤患者已是晚期。肿瘤细胞减灭术后联合化疗是改善卵巢癌预后的关键。化疗方案通常是以铂类药物为主, 常联合紫杉醇, 但是肿瘤的耐药性严重影响了治疗效果。虽然卵巢癌耐药的机制是多重复杂的, 但是细胞凋亡可能是大多数化疗药物作用的最终途径, 也就是说化疗的疗效很大程度上依赖于肿瘤细胞发生药物诱导性凋亡的效应<sup>[6]</sup>。有学者认为耐药的过程中均有凋亡机制的参与<sup>[7]</sup>。

表皮生长因子受体( EGFR )是 ErbB( ErbB1-4 ) 家族的一员, 是原癌基因 ErbB1 的表达产物, 属受体型酪氨酸蛋白激酶<sup>[8]</sup>。EGFR 在表皮细胞、基质细胞、部分神经胶质细胞和平滑肌细胞表面高表达, 每个正常细胞的 EGFR 量约为 40 000 ~ 100 000 个。在多数实体瘤如乳腺癌、头颈癌、NSCLC、肾癌、和结肠癌细胞中 EGFR 存在高表达<sup>[9-10]</sup>, 已有研究<sup>[11]</sup>表明在卵巢癌组织中也有 EGFR 的过度表达。Psyri 等<sup>[12]</sup>和 Park 等<sup>[13]</sup>也证明了 EGFR 过度表达是上皮性卵巢癌耐药的重要影响因素。也有报道<sup>[14]</sup>将 EGFR 抑制剂应用于难治性和复发性卵巢癌患者的临床治疗, 显示了较好的效果。

目前, 基因功能研究成为重要的研究方向, 各种研究基因功能的新技术层出不穷。RNA 干扰作为一种新的强有力的研究工具, 在功能基因组学中具有重要地位。RNA 干扰是靶基因序列同源的双链 RNA( double-strand RNA, dsRNA ) 引发的序列特异

性基因转录后沉默过程, 广泛存在于生物体中<sup>[15]</sup>, 具有快速、有效、容易操作、特异性强等优点, 已成为肿瘤基因治疗研究中极有潜力的技术<sup>[16]</sup>。研究<sup>[17]</sup>表明 RNA 干扰有很强的抑制目的基因表达的作用, 比反义寡核苷酸抑制效果更强。在非小细胞肺癌、头颈部恶性肿瘤中利用此方法对 EGFR 基因的靶向研究比较成熟, 被干扰的肿瘤细胞出现生长抑制、细胞凋亡增加、侵袭性下降及对化疗药物敏感性增强的现象<sup>[18]</sup>。有学者<sup>[19]</sup>以 survivin 基因为靶点进行 RNA 干扰, 证明了重组 survivin 干扰质粒能明显抑制卵巢癌耐药细胞中 survivin 蛋白的表达, 介导卵巢癌细胞凋亡。用 EGFR 反义 RNA 转染人恶性胶质瘤细胞株 U87MG 后, EGFR 水平下降, 并导致 U87MG 细胞的致瘤性下降<sup>[20]</sup>。上述研究均为本研究将 EGFR 基因作为治疗靶基因, 特异性诱导耐药性卵巢癌细胞凋亡提供了有力的理论依据。

在本实验中, 将重组质粒 pEGFR-shRNA 以脂质体转染入 SKOV3/DDP 细胞, 在 mRNA 水平和蛋白水平对 RNA 干扰后 EGFR 基因的表达进行检测。结果表明在 SKOV3/DDP 细胞中 pEGFR-shRNA 显著抑制了 EGFR mRNA 的转录和蛋白的表达。流式细胞仪的定量结果证明 pEGFR-shRNA 和顺铂联合作用能使 SKOV3/DDP 细胞周期明显左移, G<sub>1</sub> 期增加, G<sub>2</sub>/M 期比例减少, 凋亡率明显高于对照组。表明 pEGFR-shRNA 具有阻滞细胞周期、促进耐药细胞凋亡的作用。通过本研究发现, 以 EGFR 为靶点的 RNA 干扰能明显抑制 SKOV3/DDP 细胞中 EGFR 基因的表达, 调控细胞周期, 促进细胞凋亡, 为卵巢癌的基因沉默疗法提供了新的思路, 更为以 EGFR

基因为靶基因的 RNA 干扰逆转卵巢癌的耐药性提供了可靠的实验依据。

## [ 参 考 文 献 ]

- [ 1 ] Mozzetti S, Ferlini C, Concolino P, *et al.* Class III beta-tubulin overexpression is a prominent mechanism of paclitaxel resistance in ovarian cancer patients [ J ]. *Clin Cancer Res*, 2005, 11( 1 ): 298-305.
- [ 2 ] Gordinier ME, Kudelka AP, Kavanagh JJ, *et al.* Thiotepa in combination with cisplatin for primary epithelial ovarian cancer: A phase I study [ J ]. *Cancer*, 2002, 12( 6 ): 710-714.
- [ 3 ] Eltabbakh GH, Awtrey CS. Current treatment for ovarian cancer [ J ]. *Expert Opin Pharmacother*, 2001, 2( 1 ): 109-124.
- [ 4 ] 陈爱平, 张 晶, 刘 辉, 等. EGFR、MVD 和 LRP 在上皮性卵巢癌中的表达及其临床意义 [ J ]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2008, 15( 3 ): 248-253.
- [ 5 ] Scherr M, Eder M. Gene silencing by small regulatory RNAs in mammalian cells [ J ]. *Cell Cycle*, 2007, 6( 4 ): 444-449.
- [ 6 ] Li J, Feng Q, Kim JM, *et al.* Human ovarian cancer and cisplatin resistance: possible role of inhibitor of apoptosis proteins [ J ]. *Endocrinology*, 2001, 142( 1 ): 370-380.
- [ 7 ] Mnatovnai I, Cappellini A, Tazzari PL, *et al.* Caspase-dependent cleavage of 170-kDa P-glycoprotein during apoptosis of human T-lymphoblastoid CEM cells [ J ]. *Cell Physiol*, 2006, 207( 3 ): 836-844.
- [ 8 ] Jorissen RN, Walker F, Pouliot N, *et al.* Epidermal growth factor receptor: mechanisms of activation and signalling [ J ]. *Exp Cell Res*, 2003, 284( 1 ): 31-53.
- [ 9 ] Mimori K, Nagahara H, Sudo T, *et al.* The epidermal growth factor receptor gene sequence is highly conserved in primary gastric cancers [ J ]. *J Surg Onco*, 2006, 93( 1 ): 44-46.
- [ 10 ] Wu X, Deng Y, Wang G, *et al.* Combining siRNAs at two different sites in the EGFR to suppress its expression, induce apoptosis, and enhance 5-fluorouracil sensitivity of colon cancer cells [ J ]. *J Surg Res*, 2007, 138( 1 ): 56-63.
- [ 11 ] Nielsen JS, Jakobsen E, Holund B, *et al.* Prognostic significance of p53, Her-2, and EGFR overexpression in borderline and epithelial ovarian cancer [ J ]. *Int J Gynecol Cancer*, 2004, 14( 6 ): 1086-1096.
- [ 12 ] Psyrri A, Kassar M, Yu Z, *et al.* Effect of epidermal growth factor receptor expression level on survival in patients with epithelial ovarian cancer [ J ]. *Clin Cancer Res*, 2005, 11( 12 ): 8637-8643.
- [ 13 ] Park SJ, Armstrong S, Kim CH, *et al.* Lack of EGF receptor contributes to drug sensitivity of human germline cell [ J ]. *Br J Cancer*, 2005, 92( 2 ): 334-345.
- [ 14 ] Posadas EM, Liel MS, Kwitkowski V, *et al.* A phase II and pharmacodynamic study of gefitinib in patients with refractory or recurrent epithelial ovarian cancer [ J ]. *Cancer*, 2007, 109( 7 ): 1323-1330.
- [ 15 ] Sijen T, Fleenor J, Simmer F, *et al.* On the role of RNA amplification in dsRNA-triggered gene silencing [ J ]. *Cell*, 2001, 107( 4 ): 465-476.
- [ 16 ] Kim DH, Rossi JJ. Strategies for silencing human disease using RNA interference [ J ]. *Nat Rev Genet*, 2007, 8( 3 ): 173-184.
- [ 17 ] Paul CP, Good PD, Winer I, *et al.* Effective expression of small interfering RNA in human cells [ J ]. *Nat Biotechnol*, 2002, 20( 5 ): 505-508.
- [ 18 ] Lo YM. Fetal DNA in maternal plasma: biology and diagnosis applications [ J ]. *Clin Chem*, 2000, 46( 12 ): 1903-1906.
- [ 19 ] 邓凯贤, 钟 玲. RNA 干扰 Survivin 基因沉默对卵巢癌 SKOV3 及 SKOV3/ADM 细胞凋亡的影响 [ J ]. *癌症*, 2005, 24( 8 ): 945-950.
- [ 20 ] Tian XX, Pang JC, Zheng J, *et al.* Antisense epidermal growth factor receptor RNA transfection in human glioblastoma cells down-regulates telomerase activity and telomere length [ J ]. *Br J Cancer*, 2002, 86( 8 ): 1328-1332.

[ 收稿日期 ] 2009 - 10 - 05 [ 修回日期 ] 2009 - 11 - 08

[ 本文编辑 ] 徐红梅

· 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量浓度或质量浓度时，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<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup> 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/mm<sup>3</sup>）；力的单位“牛顿”符号为 N（不是 dyn（达因）、kgf（千克力），换算 1 dyn = 10<sup>-5</sup> 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 × 10<sup>10</sup> Bq）。

（本刊编辑部）