

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2012.06.014

· 临床研究 ·

体外扩增肾癌患者自体 NK 细胞及其对人肾细胞癌 786-O 细胞的杀伤

邵阳^{1,3}, 杨丰强^{1△}, 郑军华¹, 施菊妹²(1. 同济大学附属第十人民医院 泌尿外科, 上海 200072; 2. 同济大学附属第十人民医院 血液科, 上海 200072; 3. 上海武警医院 泌尿外科, 上海 201103)

[摘要] **目的:**探究 *IL-15*、*4-1BBL* 基因修饰的人白血病 K562 细胞(modi-K562 细胞)联合 IL-2 体外高效扩增肾细胞癌患者自体自然杀伤(natural killer, NK)细胞的方法, 研究扩增前后 NK 细胞对肾癌细胞株 786-O 的杀伤作用。**方法:**10 例肾癌患者的外周血单个核细胞(peripheral blood mononuclear cell, PBMC)与 modi-K562 细胞在含不同浓度 IL-2 培养液中共育 14 d, 采用流式细胞术、Calcein-AM 释放实验检测 NK 细胞的扩增情况、免疫表型及对肾癌 786-O 细胞的杀伤作用。**结果:**modi-K562 细胞联合 IL-2 可有效扩增 NK 细胞, 300 U/ml IL-2 培养 14 d 时, NK 细胞扩增(202.4 ± 12.8)倍。在效靶比为 20:1 时, 扩增后 NK 细胞对 786-O 细胞的杀伤率为(72.0 ± 4.3)%, 显著高于扩增前 NK 细胞的杀伤率(34.2 ± 3.6)%($P < 0.01$)。**结论:***IL-15*、*4-1BBL* 基因修饰的 K562 细胞联合 IL-2 在体外能有效扩增肾细胞癌患者 NK 细胞, 扩增后 NK 细胞对肾癌 786-O 细胞的杀伤作用显著增强。

[关键词] 肾细胞癌; 自然杀伤细胞; 基因修饰的 K562 细胞; IL-2; 自体; 扩增

[中图分类号] R737.11; R730.51

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-385X(2012)06-0643-05

In vitro expansion of autologous NK cells from renal cell carcinoma patients and its cytotoxicity against human renal cell carcinoma 786-O cells

SHAO Yang^{1,3}, YANG Feng-qiang^{1△}, ZHENG Jun-hua¹, SHI Ju-mei²(1. Department of Urological Surgery, Shanghai Tenth People's Hospital, Tongji University, Shanghai 200072, China; 2. Department of Hematology, Shanghai Tenth People's Hospital; Tongji University, Shanghai 200072, China; 3. Department of Urological Surgery, Shanghai Armed Police Hospital; Shanghai 201103, China)

[Abstract] **Objective:** To explore the expansion method of autologous NK cells from renal cell carcinoma (RCC) patients based on *IL-15*- and *4-1BBL*-modified K562 cells (modi-K562 cells) combined with IL-2 and to investigate their cytotoxicity against RCC 786-O cell lines. **Methods:** Peripheral blood mononuclear cells (PBMCs) from 10 RCC patients were co-cultured with modi-K562 cells in medium containing various concentrations of IL-2 for 14 d. The expansion, immune phenotype and cytotoxicity against 786-O cells were analyzed by flow cytometry and Calcein-AM release assay. **Results:** modi-K562 combined with IL-2 effectively amplified NK cells *in vitro*. The number of NK cells from 300 IU/mL IL-2 co-culture system for 14 d had amplified on an average of (202.4 ± 12.8) fold. Moreover, the expanded NK cells significantly increased cytotoxicity against 786-O cells. At an effect/target (E:T) ratio of 20:1, (72.0 ± 4.3)% of the targets were killed by the expanded NK cells, whereas unexpanded ones killed only (34.2 ± 3.6)% of targets ($P < 0.01$). **Conclusion:** modi-K562 cells combined with IL-2 can effectively stimulate the expansion of RCC patients' NK cells *in vitro*, which significantly augment the cytotoxicity against RCC 786-O cells.

[基金项目] 国家自然科学基金资助(No. 81071856, No. 30973450);上海市浦江人才计划资助(No. 11PJ1407900);上海市第十人民医院基金资助(No. 10RD103, No. 11SC103)。Project supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 81071856, No. 30973450), the Shanghai Pujiang Program (No. 11PJ1407900), and the Shanghai Tenth People's Hospital Foundation (No. 10RD103, No. 11SC103)

[作者简介] 邵阳(1979 -), 男, 江苏省武进市人, 硕士, 主治医师, 主要从事肾癌生物治疗的基础及临床研究。E-mail: 09shaoyang@tongji.edu.cn。杨丰强(1987 -), 男, 新疆维吾尔自治区伊犁市人, 博士, 住院医师, 主要从事肾癌生物治疗的基础及临床研究。E-mail: yfq1232000@yahoo.com.cn。△为共同第一作者

[通信作者] 施菊妹(SHI Ju-mei, corresponding author), E-mail: shijumei@hotmail.com

[**Key words**] renal cell carcinoma; natural killer cell; gene-modified K562 cell; IL-2; autologous; expansion

[Chin J Cancer Biother, 2012, 19(6): 643-647]

肾细胞癌(renal cell carcinoma, RCC)在我国泌尿系统肿瘤中发生率占第2位,仅次于膀胱肿瘤^[1]。因早期肾癌无明显的临床症状,20%~30%的肾癌患者就诊时已出现不同程度的扩散或转移,根治术后也有20%~40%的患者会出现远处转移。肾癌患者一旦出现远处转移,5年生存率小于10%。目前,对晚期和转移性肾癌以及防止术后转移缺乏令人满意的治疗手段。由于肾癌细胞具有多药耐药基因1(multidrug resistance gene 1, *MDR1*),故一般的化疗效果不佳^[2];以IL-2为代表的免疫治疗曾给肾癌的生物治疗带来了希望,但因缓解率低,不能取得满意的疗效;以索拉非尼为代表的靶向药物治疗转移性肾癌取得了一定的成功,但客观上仍存在有效率低及改善生存期有限等问题^[3]。自然杀伤(natural killer, NK)细胞在天然免疫和获得性免疫中起着重要的作用,有研究^[4,5]发现, NK细胞在体外和体内都能有效地杀伤耐药的白血病、恶性黑素瘤和肾癌等肿瘤细胞,使部分患者治愈。但是NK细胞来源少,且自体NK细胞杀伤自体肿瘤细胞的作用极其低下等因素,限制了自体NK细胞在临床上的广泛应用。本课题以*IL-15*、*4-1BBL*基因修饰的人白血病K562细胞(modi-K562细胞)联合IL-2体外高效扩增肾癌患者自体NK细胞,研究扩增后的NK细胞对肾癌细胞的杀伤作用。

1 材料与方法

1.1 细胞、主要试剂及仪器

RPMI 1640 细胞培养液、胎牛血清为 Gibco 公司产品,重组人 IL-2 为北京四环制药厂产品。流式细胞仪检测用荧光标记抗体(CD3-FITC、CD56-PE、CD56-PerCP、CD33-FITC、CD14-PE、CD19-PE)为美国 BD 公司产品,活细胞荧光染料 Calcein-AM 和碘化丙啶购于 Sigma 公司。淋巴细胞分离液为 GE Healthcare 公司产品,磁珠细胞分选器及 CD3、CD56 磁珠为美天旎公司产品。786-O 肾癌细胞株购买于 ATCC 公司。*IL-15*、*4-1BBL* 基因修饰 modi-K562 细胞为本室留存^[6],其表面稳定表达膜结合型 IL-15 和 4-1BBL。

1.2 临床资料及标本采集

RCC 患者 10 例,均来自本院门诊及病房,其中男性 6 例、女性 4 例,中位年龄 61 岁。均为病理证实的肾细胞癌患者,其中 T1-2 期 4 人, T3-4 期 6 人。

10 例患者采集外周静脉血,肝素抗凝,用淋巴细胞分离液以密度梯度离心法分离出患者外周血单个核细胞(peripheral blood mononuclear cell, PBMC)。标本采集及其研究用途均告知患者并签署知情同意书,且经同济大学附属第十人民医院伦理委员会审查批准。

1.3 NK 细胞体外扩增培养

取患者 PBMC,与辐照后的 modi-K562 细胞(γ 射线辐照剂量为 100 Gy)混合共培养,其中后者为刺激细胞,两者的细胞密度之比为 1.5:1,培养液为含不同活性浓度 IL-2(50、200 或 300 U/ml)的 RPMI 1640(含 10% 胎牛血清)。细胞置 37℃、5% CO₂ 饱和湿度培养箱中培养,每 2~3 d 半量换液。在共培养的第 7 天,再以相同条件的 modi-K562 细胞刺激 NK 细胞扩增。对照设 2 组:不予刺激细胞组和仅予辐照后的 K562 细胞组(辐照剂量同前)。于培养前和培养第 7、14、15~20 天采用锥虫蓝染色法计算总活细胞数,并用流式细胞仪分析各细胞成分所占比例,求出 NK 细胞扩增倍数。

1.4 流式细胞术检测扩增前后 PBMC 各细胞成分比例

分别取扩增前后的 PBMC 5×10^5 个,分别加入 10 μ l 的 CD3-FITC、CD56-PE 抗体,或 CD33-FITC、CD14-PE 抗体,或 CD19-PE 抗体,4℃避光 20 min 后 PBS 洗涤 3 次,采用流式细胞术检测 PBMC 各细胞成分所占比例。

1.5 Calcein-AM 释放实验检测 NK 细胞的杀伤活性

用 Calcein-AM 标记 786-O 靶细胞 1 h,培养液洗涤靶细胞 3 次;分别取扩增前和扩增培养第 14 天的 PBMC,运用磁珠细胞分选器分选出 CD3⁻CD56⁺ NK 细胞。进行下一步功能实验前,要经流式细胞术鉴定 NK 细胞的纯度大于 95%。

将 NK 细胞与 786-O 细胞按效靶比(E:T)=20:1混合,接种于 96 孔细胞培养板培养,37℃、5% CO₂ 饱和湿度培养箱中孵育 4 h,每组均设 3 个平行孔,收集上清液,用荧光测量仪检测上清的荧光强度(fluorescence intensity, FI),激发光为 485 nm,发射光为 538 nm。杀伤率(%)=(样本 FI 值 - 自然释放 FI 值)/(最大释放 FI 值 - 自然释放 FI 值) × 100%。

1.6 统计学处理

应用 SPSS 11.0 统计软件,数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示,

两组间均数比较采用配对 *t* 检验或两样本均数比较 *t* 检验,多组间均数比较采用单因素方差分析, $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 Modi-K562 细胞刺激肾癌患者 NK 细胞扩增

实验中将肾癌患者的 PBMC 与 100 Gy 剂量 γ 射线照射后的 modi-K562 细胞在含 300 U/ml IL-2 的培养基中共培养,结果发现,modi-K562 细胞能刺

激肾癌患者自体 NK 细胞高效扩增(图 1),经 14 d 共培养,PBMC 总数扩增倍数为 $[(20.3 \pm 4.60), n = 10]$;其中 NK 细胞数扩增 (202.4 ± 12.8) 倍, $n = 10$ (图 2)。扩增后体系中刺激细胞 modi-K562 完全死亡,PBMC 中绝大部分细胞为 NK 细胞,体系中仅含有少量 T 细胞、NKT 细胞、B 细胞、单核细胞和髓系细胞(表 1);经 PI 染色后流式细胞术检测,NK 细胞存活率 $>95\%$ 。但培养 15 d 后,体系总细胞数急剧下降。

表 1 PBMC 扩增前后各细胞成分的比例 ($n = 10, \bar{x} \pm s, \%$)

Tab. 1 Percentage of different cell components in PBMC before and after expansion ($n = 10, \bar{x} \pm s, \%$)

Group	NK cell (CD3 ⁻ CD56 ⁺)	T cell (CD3 ⁺)	NKT cell (CD3 ⁺ CD56 ⁺)	B cell (CD19 ⁺)	Monocyte (CD33 ⁺ CD14 ⁺)	Myeloid cell (CD33 ⁺ CD14 ⁻)
Before expansion	10.3 ± 1.7	60.8 ± 2.9	8.9 ± 4.5	9.2 ± 1.1	13.7 ± 5.1	3.9 ± 1.7
After expansion	94.7 ± 2.9*	5.3 ± 2.1*	2.6 ± 1.6*	0.3 ± 0.1*	0.5 ± 0.3*	0.4 ± 0.1*

* $P < 0.01$ vs before expansion group

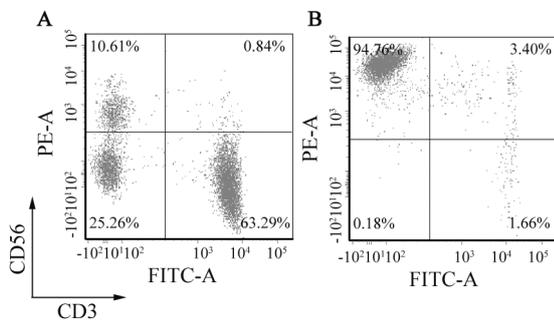


图 1 PBMC 扩增前后 NK 细胞的比例
Fig. 1 Proportion of NK cells in PBMC before and after expansion

A: 0 d; B: 14 d

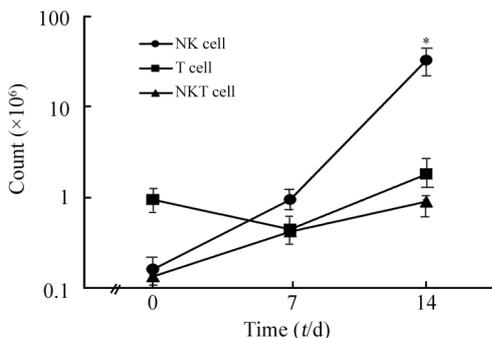


图 2 某患者 PBMC 扩增过程中 NK 细胞、T 细胞和 NKT 细胞的数量

Fig. 2 NK, T and NKT cell counts in PBMC during expansion of one donor

* $P < 0.01$ vs 0 d

2.2 不同浓度的 IL-2 对 NK 细胞扩增效果的影响

在不同浓度 IL-2 的培养体系中,50、200 和 300 U/mL IL-2 诱导刺激 NK 细胞扩增 14 d 时,NK 细胞占总体积的比例分别为 $(58.2 \pm 3.40)\%$ 、 $(74.6 \pm 4.10)\%$ 和 $(94.7 \pm 2.90)\%$ ($n = 10, P < 0.01$) (图 3)。结果提示,含 300 U/ml IL-2 的培养体系是三者中最优的。两对照组经培养 14 d 后,体系细胞总数扩增约 4 倍,但 NK 细胞扩增倍数 ≤ 2 倍。

2.3 NK 细胞体外扩增后对肾癌 786-O 细胞的杀伤作用

采用 Calcein-AM 释放实验检测患者扩增前后 NK 细胞对肾癌细胞 786-O 的杀伤作用,当 E:T 为 20:1 时,扩增前后 NK 细胞对 786-O 细胞平均杀伤率分别为 $(34.2 \pm 3.6)\%$ 和 $(72.0 \pm 4.3)\%$ ($n = 10, P < 0.01$) (图 4)。

3 讨论

NK 细胞是天然免疫和获得性免疫中一类重要的效应细胞。NK 细胞处于机体抗肿瘤的第一道防线,体内 NK 细胞不需致敏即可自发地杀伤 HLA I 类分子缺陷或低表达的肿瘤细胞^[7-9]。近来发现,NK 细胞能有效地杀伤多药耐药的肿瘤细胞,NK 细胞免疫治疗与化疗没有交叉耐药,对 NK 细胞的深入认识给肿瘤生物治疗带来了新的希望,NK 细胞在肿瘤治疗中有广泛应用前景。NK 细胞在体外和体内对肾癌细胞均有杀伤作用,采用健康供者异基

因 NK 细胞治疗肿瘤患者是安全和有效的, 但是, 由于异基因 NK 细胞排斥反应, 仅约 30% 的患者可以找到 HLA 匹配的供体, 限制了异基因 NK 细胞治疗

在临床上的广泛应用; 另一方面, 自体 NK 细胞的抗肿瘤活性低和来源少等因素, 又限制了自体 NK 细胞治疗在临床上的应用^[8]。

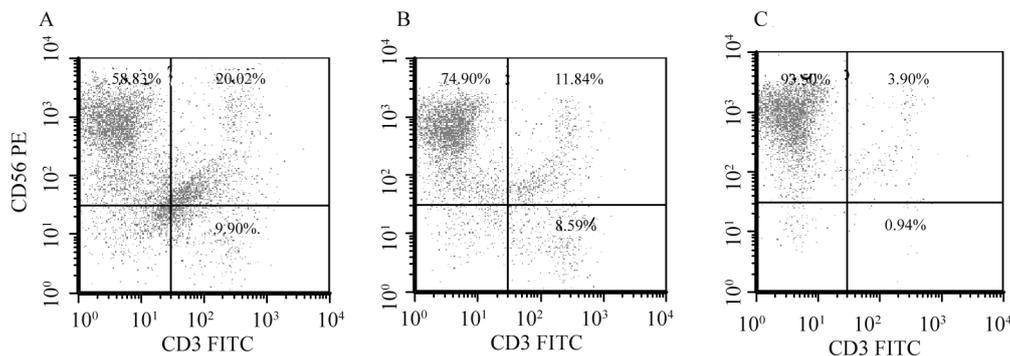


图 3 某患者培养第 14 天时不同 IL-2 浓度体系的 NK 细胞扩增情况

Fig. 3 Expanded NK cells of one donor at 14 d in different concentrations of IL-2

A: 50 IU/ml; B: 200 IU/ml; C: 300 IU/ml

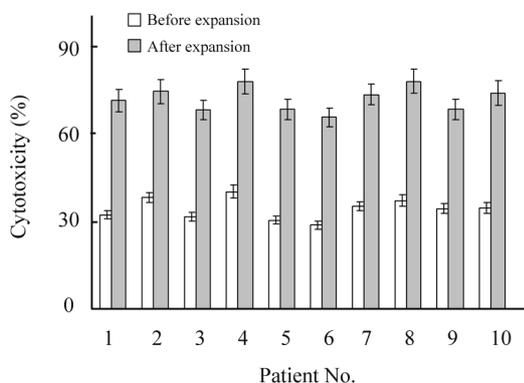


图 4 10 例患者扩增前后 NK 细胞对 786-O 细胞的杀伤作用 (n = 10)

Fig. 4 Cytotoxicity of NK cells against 786-O cells before and after expansion in 10 patients (n = 10)

采用体外扩增方法获得足够数量的 NK 细胞是近年来过继免疫治疗的热点^[10-16]。有研究者用 IL-2、IL-15 等共同刺激, 使 NK 细胞扩增数十倍^[17]。本课题组和其他研究者发现, 将缺乏 HLA I 类分子表达且转染了膜结合型 IL-15 和 4-1BBL 的 K562 转基因细胞株 (modi-K562 细胞株) 与健康人外周血 PBMC 共同培养, 能刺激 NK 细胞扩增超过 100 倍, 扩增后 NK 细胞具有良好的细胞毒活性, 杀伤骨髓瘤等肿瘤的作用比扩增前显著增强^[6, 18]。这种基因修饰后的细胞能表达膜表面结合型 IL-15 和 4-1BBL。IL-15 能激活并促进 NK 和 T 细胞增殖, 且膜结合 IL-15 比可溶性 IL-15 的上述作用更强^[19]。

4-1BB 是肿瘤坏死因子受体家族成员, 表达于活化的 T、NK 细胞表面^[20]; 4-1BBL 主要表达于 APC 及其他具有抗原提呈作用的细胞上, 是一个重要的共刺激分子, 与 4-1BB 结合能高效刺激 T、NK 细胞活化扩增。4-1BBL 与 IL-15 结合是 PBMC 中 NK 细胞得到特异性扩增的基础, 而以非可溶形式表达的这两种蛋白, 通过细胞间的接触刺激则使 NK 细胞大量扩增活化。本研究应用 modi-K562 细胞株联合 IL-2 刺激肾癌患者 NK 细胞扩增, 结果显示, 该共培养体系能诱导患者 NK 细胞扩增约 202 倍, 扩增后体系中 NK 细胞的含量大于 90%, 但 T 细胞没有明显扩增 (扩增倍数约 1.9 倍), 扩增后体系中其他细胞成分的比例均小于 5%。且扩增后存活 NK 细胞的含量 > 95%。

研究^[21]表明, NK 细胞表达杀伤细胞活化受体 (killer activatory receptor, KAR) 和杀伤细胞抑制受体 (killer inhibitory receptor, KIR), NK 细胞杀伤活性取决于上述两类受体的动态平衡。虽然每个 NK 细胞具有的受体数目不等, 但都至少表达一个特异识别自身 HLA I 类分子的抑制性 KIR, 因而 NK 细胞杀伤自体肿瘤细胞的活性低^[22]。本研究发现, 通过体外扩增, 不仅增加了 NK 细胞的数量, 而且扩增后 NK 细胞对肾癌细胞的杀伤能力显著提高, 提示本扩增体系可能上调 NK 细胞的 KAR 或者死亡受体的配体如 Fas 配体 (Fas ligand, FasL)、肿瘤坏死因子和肿瘤坏死因子相关凋亡诱导配体 (TNF-related apoptosis-inducing ligand, TRAIL), 从而通过与靶细胞上的受体结合, 引起靶细胞的凋亡, 相关机制有待进

一步研究。应用本扩增体系不仅可获得大量的高活性 NK 细胞,并可避免输注转基因 NK 细胞引发排斥反应,具有可行性和适用性,本研究也将对其他 NK 细胞敏感肿瘤的治疗提供新的思路。

[参 考 文 献]

- [1] 马建辉,李鸣,张思维,等. 中国部分市县肾癌及泌尿系其他恶性肿瘤发病趋势比较研究 [J]. 中华泌尿外科杂志, 2009, 30(8): 511-514.
- [2] 庄建平,周先举,卢建林等. 应用 RT-PCR 方法定量分析肾癌患者多药耐药基因表达水平及其临床意义 [J]. 苏州医学院学报, 2001, 21(1): 53-54, 61.
- [3] 郭军. 如何选择治疗晚期肾癌的靶向药物? [J]. 临床肿瘤学杂志, 2009, 14(7): 577-584.
- [4] Benjamin JE, Gill S, Negrin RS. Biology and clinical effects of natural killer cells in allogeneic transplantation [J]. Curr Opin Oncol, 2010, 22(2):130-137.
- [5] Igarashi T, Wynberg J, Srinivasan R, et al. Enhanced cytotoxicity of allogeneic NK cells with killer immunoglobulin-like receptor ligand incompatibility against melanoma and renal cell carcinoma cells [J]. Blood, 2004, 104(1):170-177.
- [6] 吴晓松,施菊妹,邵阳,等. 高效扩增和活化自然杀伤细胞并对多发性骨髓瘤细胞有特异性杀伤作用 [J]. 上海医学, 2010, 33(9): 834-836.
- [7] Shook DR, Campana D. Natural killer cell engineering for cellular therapy of cancer [J]. Tissue Antigens, 2011, 78(6): 409-415.
- [8] Geller MA, Miller JS. Use of allogeneic NK cells for cancer immunotherapy [J]. Immunotherapy, 2011, 3(12): 1445-1459.
- [9] Paust S, Senman B, von Andrian UH. Adaptive immune responses mediated by natural killer cells [J]. Immunol Rev, 2010, 235(1): 286-296.
- [10] 周虎,赵卫东. 人自然杀伤细胞体外活化扩增技术研究进展 [J]. 国际免疫学杂志, 2010, 33(4): 294-297.
- [11] 吴燕峰,林永潮,黎阳,等. 最优化细胞因子诱导杀伤细胞/自然杀伤细胞少因子培养体系的探索 [J]. 中山大学学报:

医学科学版, 2009, 30(4): 361-366.

- [12] 陈广华,吴德沛,孙爱宁,等. IL-2 和 IL-15 激活供者自然杀伤细胞在异基因造血干细胞移植应用的实验研究 [J]. 中华血液学杂志, 2008, 29(8): 526-530.
- [13] 彭宝岗,梁力建,何强,等. 选择性扩增人自然杀伤细胞的实验研究 [J]. 癌症, 2005, 24(10): 1287-1289.
- [14] 于丽梅,陈剑群,陈复兴,等. 经链球菌菌体制剂 OK-432 刺激的树突状细胞对自然杀伤细胞增殖及功能的影响 [J]. 中国免疫学杂志, 2012, 28(6): 517-521.
- [15] 邵鸿家. 自然杀伤细胞分子生物学特征及体外扩增技术研究进展 [J]. 医学综述, 2012, 18(12): 1802-1805.
- [16] 梅家转,刘桂举,冯睿婷,等. IL-2、IL-15 增强免疫编辑后 NK 细胞 NKG2D 的表达及其对鼻咽癌 CNE2 细胞的杀伤活性 [J]. 中国肿瘤生物治疗杂志, 2009, 16(4): 379-382.
- [17] 李晓红,马健,汪菲菲,等. 体外扩增高纯度的人外周血来源的 NK 细胞的研究 [J]. 中国实验血液学杂志, 2007, 15(2): 373-377.
- [18] Fujisaki H, Kakuda H, Shimasaki N, et al. Amplification of highly cytotoxic human natural killer cells for cancer cell therapy [J]. Cancer Res, 2009, 69(9): 4010-4017.
- [19] Mortier E, Woo T, Advincula R, et al. IL-15 R alpha chaperones IL-15 to stable dendritic cell membrane complexes that activate NK cells via trans presentation [J]. J Exp Med, 2008, 205(5): 1213-1225.
- [20] Melero I, Johnston JV, Shufford WW, et al. NK1.1 cells express 4-1BB (CDw137) costimulatory molecule and are required for tumor immunity elicited by anti-4-1BB monoclonal antibodies [J]. Cellular Immunology, 1998, 190(2): 167-172.
- [21] Pegram HJ, Andrews DM, Smyth MJ, et al. Activating and inhibitory receptors of natural killer cells [J]. Immunol Cell Biol, 2011, 89(2): 216-224.
- [22] Orr MT, Lanier LL. Natural killer cell education and tolerance [J]. Cell, 2010, 142(6): 847-856.

[收稿日期] 2012 - 07 - 11

[修回日期] 2012 - 09 - 19

[本文编辑] 周玲琳

· 读者 · 作者 · 编者 ·

文稿中数字用法的要求

本刊严格执行国家标准《出版物上数字用法的规定》,文稿中凡是可以使用阿拉伯数字且很得体的地方,均应使用阿拉伯数字。(1) 公历世纪、年代、年、月、日和时、时刻必须使用阿拉伯数字,如 20 世纪 90 年代、2006 - 02 - 15、5 h、30 min、30 s、14: 36: 08 等;年份不能用简称,“1998 年”不能写作“98 年”。(2) 物理量量值必须使用阿拉伯数字。(3) 非物理量量词前面数字一般也应使用阿拉伯数字,如 3 支、5 根等。(4) 数值范围的表达要求:5 万至 10 万应写成 5 万 ~ 10 万,不能写成 5 ~ 10 万; 3×10^9 至 5×10^9 应写成 $3 \times 10^9 \sim 5 \times 10^9$, 或 $(3 \sim 5) \times 10^9$, 不能写成 $3 \sim 5 \times 10^9$; 60% 至 70% 不能写成 60 ~ 70%, 应写成 60% ~ 70%; 25.5 ± 0.5 mg 应写成 (25.5 ± 0.5) mg。(5) 带单位的量值相乘时,每个数值后单位不能省略,如 4 mm × 2 mm × 3 mm, 不能写成 $4 \times 2 \times 3$ mm 或 $4 \times 2 \times 3$ mm³。

(本刊编辑部)