

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2012.05.005

· 基础研究 ·

## 重组腺病毒 Ad-CRT/MAGE-A3 联合表柔比星抑制乳腺癌细胞增殖及侵袭

刘新莉, 赵丹, 李晓曦, 李岩, 马萍(中国医科大学附属第一医院 肿瘤研究所, 辽宁 沈阳 110001)

**[摘要]** **目的:** 构建携带钙网蛋白(calreticulin, *CRT*)基因和黑素瘤抗原基因-A3(melanoma antigen gene-A3, *MAGE-A3*)的重组腺病毒载体 Ad-CRT/MAGE-A3, 观察其联合表柔比星对人乳腺癌细胞 MDA-MB-231 增殖及侵袭的抑制作用。**方法:** 构建 Ad-CRT/MAGE-A3 载体, 感染 MDA-MB-231 细胞后, 荧光显微镜观察其最适感染复数(multiplicity of infection, MOI)。分表柔比星、Ad-GFP、Ad-CRT/MAGE-A3、表柔比星 + Ad-GFP、表柔比星 + Ad-CRT/MAGE-A3 共 5 组, MTT 法检测各组 MDA-MB-231 细胞的增殖, Transwell 实验检测各组 MDA-MB-231 细胞的侵袭力。**结果:** 成功构建重组腺病毒载体 Ad-CRT/MAGE-A3, 其感染 MDA-MB-231 细胞的最适 MOI 为 100。与其他各组相比, 应用 Ad-CRT/MAGE-A3 联合表柔比星能明显抑制 MDA-MB-231 细胞的增殖 [ $83.27 \pm 1.04$ ] % vs [ $57.42 \pm 1.27$ ] % , [ $43.26 \pm 0.95$ ] % , [ $61.23 \pm 1.47$ ] % , [ $55.38 \pm 1.62$ ] % ;  $P < 0.05$ ] 和侵袭 [ $8.41 \pm 4.20$ ] vs [ $14.62 \pm 5.33$ ] , [ $107.66 \pm 3.35$ ] , [ $100.60 \pm 4.42$ ] , [ $104.20 \pm 2.60$ ] ;  $P < 0.05$ ]。**结论:** 腺病毒载体 Ad-CRT/MAGE-A3 能增强表柔比星抑制乳腺癌细胞 MDA-MB-231 增殖及侵袭的能力。

**[关键词]** 钙网蛋白基因; 黑素瘤抗原基因-A3; 重组腺病毒载体; 表柔比星; 乳腺癌; 增殖; 侵袭

**[中图分类号]** R737.9; R730.5

**[文献标志码]** A

**[文章编号]** 1007-385X(2012)05-0491-05

## Inhibitory effect of recombinant adenovirus Ad-CRT/MAGE-A3 combined with epirubicin on proliferation and invasion of breast cancer cells

LIU Xin-li, ZHAO Dan, LI Xiao-xin, LI Yan, MA Ping (Tumor Research Institute, First Affiliated Hospital, China Medical University, Shenyang 110001, Liaoning, China)

**[Abstract]** **Objective:** To construct a recombinant adenovirus for calreticulin (*CRT*)/melanoma antigen gene-A3 (*MAGE-A3*) and evaluate its inhibitory effect on breast cancer MDA-MB-231 cells. **Methods:** Ad-CRT/MAGE-A3 vector was constructed and infected into MDA-MB-231 cells. The optimal multiplicity of infection (MOI) was obtained by fluorescence microscope method. There were five groups: epirubicin, Ad-GFP, Ad-CRT/MAGE-A3, epirubicin + Ad-GFP and epirubicin + Ad-CRT/MAGE-A3. The proliferation and invasion of MDA-MB-231 cells in different groups were detected by MTT and Transwell assays. **Results:** Recombinant adenovirus vector Ad-CRT/MAGE-A3 was constructed successfully, and its optimal MOI in MDA-MB-231 cells was 100. Ad-CRT/MAGE-A3 combined with epirubicin decreased the proliferation ([ $83.27 \pm 1.04$ ] % vs [ $57.42 \pm 1.27$ ] % , [ $43.26 \pm 0.95$ ] % , [ $61.23 \pm 1.47$ ] % , [ $55.38 \pm 1.62$ ] % ,  $P < 0.05$ ) and the invasion ([ $8.41 \pm 4.20$ ] vs [ $14.62 \pm 5.33$ ] , [ $107.66 \pm 3.35$ ] , [ $100.60 \pm 4.42$ ] , [ $104.20 \pm 2.60$ ] ,  $P < 0.05$ ) of MDA-MB-231 cells significantly. **Conclusion:** Recombinant adenovirus vector Ad-CRT/MAGE-A3 can enhance epirubicin to inhibit the proliferation and invasion of breast cancer MDA-MB-231 cells.

**[Key words]** calreticulin gene; melanoma antigen gene-A3; recombinant adenovirus vector; epirubicin; breast cancer; proliferation; invasion

[Chin J Cancer Biother, 2012, 19(5): 491-495]

**[基金项目]** 辽宁省自然科学基金资助项目(No. 20042073); 辽宁省科技计划项目(No. 2009225008-1)。Project supported by the Natural Science Foundation of Liaoning Province (No. 20042073), and the Science and Technology Foundation of Liaoning Province (No. 2009225008-1)

**[作者简介]** 刘新莉(1982-), 女, 山东省滨州市人, 博士, 主要从事分子肿瘤学研究。E-mail: cinlylau@hotmail.com

**[通信作者]** 马萍(MA Ping, corresponding author), E-mail: pingm12@hotmail.com

**[网络出版]** <http://www.cnki.net/kcms/detail/31.1725.R.20120926.0850.003.html>

乳腺癌是女性常见的恶性肿瘤之一,在我国其发病率逐年上升。虽然手术、放疗、化疗、内分泌治疗取得很大的进展,但是对于治疗后复发、转移的乳腺癌疗效仍不理想<sup>[1]</sup>。随着分子生物学技术及免疫技术的迅猛发展和人类对乳腺癌发病机制认识的不断深入,基因治疗逐渐成为肿瘤生物治疗中的重要组成部分,其中转基因的重组腺病毒载体显示出较好的治疗效果,并且安全性获得一定的肯定<sup>[2,3]</sup>。近年来大量研究<sup>[4,6]</sup>显示,钙网蛋白(calreticulin, CRT)能够增强蒽环类药物对肿瘤的抑制作用。黑色素瘤抗原基因-A3(melanoma antigen gene-A3, MAGE-A3)是目前已知的肿瘤抗原中免疫原性最强、能被免疫细胞识别的肽表位最多的抗原之一,广泛表达于多种肿瘤细胞<sup>[7]</sup>。本研究构建携带 CRT/MAGE-A3 的腺病毒载体(Ad-CRT/MAGE-A3),研究其是否能增强表柔比星对乳腺癌 MDA-MB-231 细胞增殖及侵袭的抑制作用,为进一步评价 Ad-CRT/MAGE-A3 在乳腺癌治疗中的应用奠定基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 主要材料

MDA-MB-231 细胞及 293LP 细胞均购自中科院上海细胞库。DH5 $\alpha$  化学感受态菌株、真核表达质粒 PUC19、pAdxsi 腺病毒质粒及 pShuttle-CMV(-) 重组穿梭载体由本实验室提供,真核表达质粒 pcDNA3-CRT 由约翰霍普金斯医学研究院 Wu TC 博士惠赠。本实验所用人肺癌组织由中国医科大学附属第一医院肿瘤外科提供,引物合成于大连宝生物公司,所用限制性内切酶均购自 Biolab 公司,转染试剂 Lipofectamine 2000 为 Gibco BRL 产品,1 kb DNA marker 购自鼎国生物公司,MTT 购自 Sigma 公司,Transwell 小室购自美国 Corning 公司,Matrigel 胶购自美国 BD 公司。质粒小/中量提取纯化试剂盒、DNA 纯化试剂盒(柱离心型)、DNA 凝胶回收与纯化试剂盒(柱离心型)均购自威格拉斯生物技术(北京)有限公司。

### 1.2 重组腺病毒载体 Ad-CRT/MAGE-A3 的构建

Xba I/Pme I 酶切真核表达质粒 pcDNA3-CRT 获得 CRT,将其连接至 Nhe I/Pme I 酶切的穿梭载体 pShuttle-GFP-CMV。根据 MAGE-A3 序列信息设计合成引物(上游引物:5'-GGAAGATCTCCACCATGCCTCTTGAGCA-3',下游引物:5'-AACCTCTC-GAGCTCAGACTCACTCTTC-3')。从人肺癌组织中扩增 MAGE-A3, Bgl II/Xho I 酶切后连接至 Bgl II/Xho I 酶切的 pShuttle( $\Delta$ GFP)-CRT;I-Ceu I+I-Sce I

酶切 pShuttle-CRT/MAGE-A3 及腺病毒载体 pAdxsi,并将二者连接构建重组腺病毒载体 Ad-CRT/MAGE-A3。

### 1.3 重组腺病毒载体 Ad-CRT/MAGE-A3 的包装

293LP 细胞按常规培养于含 10% 胎牛血清的 MEM 培养基的 6 孔板中过夜,每孔  $5 \times 10^5$  个细胞。取线性化的 Ad-CRT/MAGE-A3 腺病毒载体  $5 \mu\text{l}$  稀释于  $300 \mu\text{l}$  MEM,室温放置 5 min,用 Lipofectamine<sup>TM</sup> 2000 脂质体按说明书感染细胞,感染后 6 h 换液。每天观察细胞,感染后第 13 天,出现明显噬斑,细胞大部分脱落,收集细胞及上清,反复冻融 3 次,  $700 \times g$  离心 5 min,收集上清作为第一代毒种。以后扩增时取 2 ml 第一代病毒感染 75 cm 细胞培养瓶的细胞,2 d 后所有细胞脱落转入 15 ml 离心管中,  $450 \times g$  离心 5 min,弃上清,加入 1 ml ST 缓冲液(MEM 培养基 + 10% 胎牛血清 + 2.5% 甘油),混匀,冻融 3 次后  $700 \times g$  离心 5 min,取上清,作为新的病毒冻存物进行下一轮扩增。采用 TCID<sub>50</sub> 方法测定病毒滴度。将 293LP 细胞接种至 96 孔板,将病毒上清从  $1 \times 10^{-8}$  稀释度开始进行 8 个稀释梯度的稀释并感染细胞,每个稀释度设 9 个复孔,并设 2 个只加培养基的阴性对照,感染后第 10 天进行结果判定。

### 1.4 细胞培养和病毒感染

MDA-MB-231 细胞用含 10% 胎牛血清的 L-15 培养基于 37  $^{\circ}\text{C}$ 、5% CO<sub>2</sub> 的培养箱中培养。取对数生长期细胞,以  $2 \times 10^6$  个/孔接种于 6 孔板中,分 3 组按 MOI 为 50、100、200 感染 Ad-CRT/MAGE-A3 腺病毒载体。感染 24 h 后于荧光显微镜下观察感染效率,并分析最适 MOI。

### 1.5 MTT 检测 MDA-MB-231 细胞的增殖

取对数期生长的 MDA-MB-231 细胞,0.25% 胰酶消化,调整细胞密度为  $5 \times 10^4$ /ml,每孔  $200 \mu\text{l}$  接种于 96 孔板,37  $^{\circ}\text{C}$ 、5% CO<sub>2</sub> 条件下培养 24 h,按表柔比星、Ad-GFP、Ad-CRT/MAGE-A3、表柔比星 + Ad-GFP、表柔比星 + Ad-CRT/MAGE-A3 共分 5 组(重组腺病毒载体 Ad-CRT/MAGE-A3 按 MOI = 100 感染细胞,表柔比星质量浓度为  $2 \mu\text{l}/\text{mg}$ ),每个分组设 4 个复孔。每孔反应体系总体积为  $200 \mu\text{l}$ ,分别于培养 24 h、48 h、72 h、7 d 和 14 d 时每孔加入新鲜配制的质量浓度为 5 mg/ml MTT  $20 \mu\text{l}$ ,继续培养 4 h。吸去培养液,每孔加入  $150 \mu\text{l}$  DMSO,微量振荡器上振荡 10 min,室温孵育 30 min 后放入酶标仪,检测  $D_{490}$  值。以不加载体的空白调零组作为对照,以平行孔的平均  $D$  值作为各质量浓度组的  $D$  值。细胞增殖抑制率(%) = (对照组  $D$  值 - 实验组  $D$  值) / (对照组  $D$  值 - 空

白组  $D$  值)  $\times 100\%$ 。相同条件下实验重复 3 次。

### 1.6 Transwell 法检测 MDA-MB-231 细胞的侵袭能力

将 Matrigel 用 RPMI 1640 培养基按 1:4 稀释,在 Transwell 上室中加入 40  $\mu\text{l}$  的 Matrigel 稀释液,37  $^{\circ}\text{C}$  中孵育 1 h,使胶凝固。各组 MDA-MB-231 细胞用含 0.1% BSA 的无血清培养基重新悬浮,调整细胞密度为  $2 \times 10^5/\text{ml}$ 。MDA-MB-231 细胞 100  $\mu\text{l}$  加入上室,500  $\mu\text{l}$  含血清培养基加入下室,置于细胞孵箱培养 48 h 后,取出小室,用棉签把上膜细胞擦掉,小室以甲醇固定 15 min,结晶紫染色 15 min 后镜检,每个滤膜取 5 个视野 ( $\times 100$ ) 拍照分析。

### 1.7 统计学处理

实验数据以  $\bar{x} \pm s$  表示,采用 SPSS13.0 统计软件,组间差异比较采用单因素方差分析 (ANOVA), $P < 0.05$  或  $P < 0.01$  表示差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 重组腺病毒载体 Ad-CRT/MAGE-A3 的鉴定结果

将重组腺病毒 Ad-CRT/MAGE-A3 以 *Xho* I 酶切鉴定。参照 CRT 及 MAGE-A3 序列信息判定阳性克隆酶切后将得到 14、11.8、4.1、2.66、2.47、1.45、0.6 kb 条带,鉴定结果与判定完全相符 (图 1)。

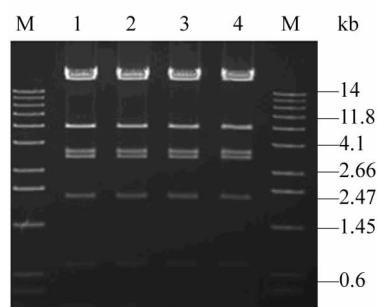


图 1 Ad-CRT/MAGE-A3 的酶切鉴定

Fig. 1 Digestion of Ad-CRT/MAGE-A3 by endonuclease

M: Marker; 1-4: Positive clone

### 2.2 Ad-CRT/MAGE-A3 感染 MDA-MB-231 细胞

分别取 MOI = 50、100、200 PFU/细胞,将载体 Ad-CRT/MAGE-A3 感染 MDA-MB-231 细胞,培养 24 h,光镜下观察细胞生长情况。因为不同细胞表面腺病毒受体不同,且腺病毒有一定的细胞毒性,观察感染后同一视野在普通光镜与荧光显微镜下图像叠加得到的图片 (图 2),判定感染效率最高的 MOI 为 100,过高则导致细胞坏死。

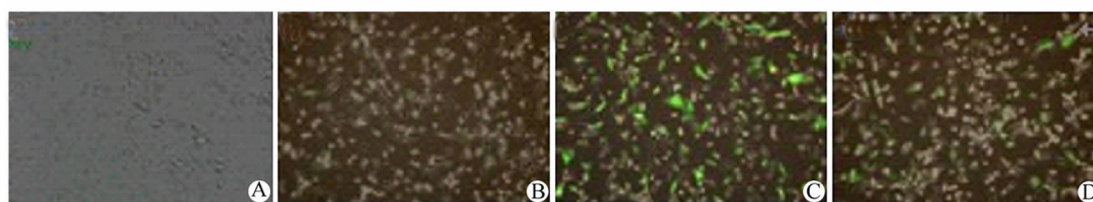


图 2 Ad-CRT/MAGE-A3 感染 24 h 时 MDA-MB-231 细胞中 GFP 的表达 ( $\times 100$ )

Fig. 2 Expression of GFP in MDA-MB-231 cells 24 h after Ad-CRT/MAGE-A3 infection ( $\times 100$ )

A: Uninfected; B: MOI = 50; C: MOI = 100; D: MOI = 200

### 2.3 Ad-CRT/MAGE-A3 联合表柔比星抑制 MDA-MB-231 细胞的增殖

MTT 法检测表柔比星、Ad-GFP、Ad-CRT/MAGE-A3、表柔比星 + Ad-GFP、表柔比星 + Ad-CRT/MAGE-A3 各组对 MDA-MB-231 细胞的增殖抑制率,结果 (图 3) 显示,与单纯表柔比星、感染 Ad-GFP、表柔比星 + Ad-GFP 和感染 Ad-CRT/MAGE-A3 组相比,感染 Ad-CRT/MAGE-A3 + 表柔比星组能够显著增强表柔比星对 MDA-MB-231 细胞增殖的抑制作用 [ $(83.27 \pm 1.04)\%$  vs  $(57.42 \pm 1.27)\%$ ,  $(43.26 \pm 0.95)\%$ ,  $(61.23 \pm 1.47)\%$ ,  $(55.38 \pm 1.62)\%$ ;  $P < 0.05$ ]。

### 2.4 Ad-CRT/MAGE-A3 联合表柔比星抑制 MDA-

### MB-231 细胞的侵袭

恶性肿瘤细胞侵袭时需要穿过两层主要的细胞外基层:基底膜和组织间隙基质。Transwell 实验结果 (图 4) 显示,与未感染、感染 Ad-GFP 和单纯表柔比星组相比,感染 Ad-CRT/MAGE-A3 组及其联合表柔比星组的 MDA-MB-231 细胞穿过基质胶的数量明显减少 [ $(14.62 \pm 5.33)$ 、 $(8.41 \pm 4.20)$  vs  $(107.66 \pm 3.35)$ 、 $(100.60 \pm 4.42)$ 、 $(104.20 \pm 2.60)$ ;  $P < 0.05$ ]。

## 3 讨论

乳腺癌在我国的发生率呈不断上升趋势。目前,乳腺癌的常规治疗手段主要是以传统的手术治

疗为主, 辅以放疗、化疗及内分泌治疗。这些手段虽然可使患者获得较高的生存率甚至临床治愈, 但术后复发及远处转移仍是临床的难题。病毒治疗恶性肿瘤是近年来兴起的肿瘤生物治疗方法之一, 通过病毒复制或携带特定治疗基因感染肿瘤细胞, 使其生物学行为改变或直接导致肿瘤细胞死亡<sup>[8]</sup>。随着肿瘤分子水平机制研究的深入, 既高效感染又安全可靠的病毒载体日益成为生物治疗的重要手段。目前已经有多项通过重组病毒进行恶性肿瘤的治疗进入临床研究。2003 年, Ahmad 等<sup>[9]</sup>利用表达 GM-CSF 的重组腺病毒治疗黑色素瘤, 显示出明显的抗癌效果及临床应用的安全性。但在重组腺病毒治疗人体恶性肿瘤的应用中, 根据细胞表面腺病毒受体的不同, 感染效率成为制约疗效的关键。本实验将腺病毒载体按不同 MOI 感染 MDA-MB-231 细胞, 通过荧光显微镜下观察感染效率得出最佳 MOI。

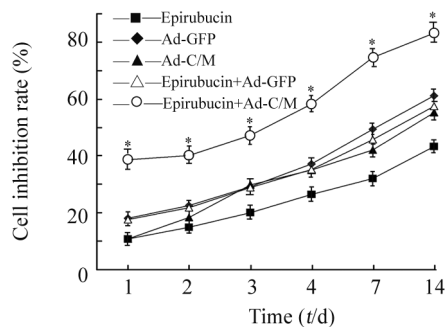


图3 表柔比星联合 Ad-CRT/MAGE-A3 抑制 MDA-MB-231 细胞的增殖

Fig. 3 Ad-CRT/MAGE-A3 combined with epirubicin inhibited proliferation of MDA-MB-23 cells

\*  $P < 0.05$  vs the other 4 groups, respectively; Ad-C/M: Ad-CRT/MAGE-A3

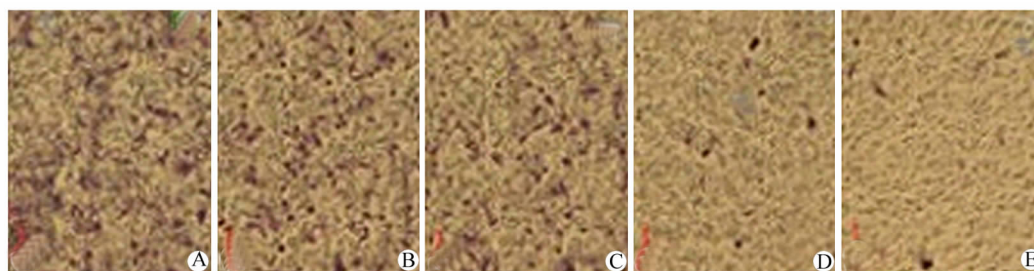


图4 Ad-CRT/MAGE-A3 感染抑制 MDA-MB-231 细胞的侵袭(×100)

Fig. 4 Infection of Ad-CRT/MAGE-A3 inhibited invasion of MDA-MB-231 cells(×100)

A: Uninfected; B: Ad-GFP; C: Epirubicin; D: Ad-CRT/MAGE-A3; E: Ad-CRT/MAGE-A3 + epirubicin

重组腺病毒载体对于不同肿瘤细胞的抑制作用往往不尽相同, 其中治疗基因的选择是核心问题, 也是困扰学者们的一大难题。MAGE-A3 是黑色素瘤抗原基因家族的成员之一。已有研究证实家族内成员, 如 MAGE-A4 能够启动非小细胞肺癌的凋亡<sup>[10]</sup>, MAGE-D1 是新型的内源性血管生成抑制剂<sup>[11]</sup>, 但 MAGE-A3 在肿瘤发生、发展中的作用尚未有报道。CRT 是多功能蛋白质, 在细胞凋亡、新生蛋白质的加工与折叠、抗原的提呈及血管的发生中发挥重要的作用。与其他蛋白质相互作用<sup>[12-13]</sup>。

肿瘤细胞的侵袭能力及新生血管的形成在肿瘤的发展过程中, 起着关键的作用。近年来, CRT 在前列腺癌组织侵袭中的作用成为热点, 前列腺癌组织同时也是 MAGE-A3 的高表达组织, Mahesh 等<sup>[14]</sup>证实, CRT 对前列腺癌的侵袭起抑制作用。本实验成功构建重组腺病毒载体 Ad-CRT/MAGE-A3, 并感染乳腺癌细胞 MDA-MB-231; Transwell 实验结果进一步证实, 感染 Ad-CRT/MAGE-A3 能明显抑制

MDA-MB-231 细胞的侵袭能力, 联合多柔比星后其抑制 MDA-MB-231 细胞侵袭能力更为显著。

已有研究<sup>[15-17]</sup>证实, CRT 能够增强蒽环类药物对肿瘤细胞增殖的抑制作用, 这一作用可能与 CRT 在细胞表面的表达有关。Obeid 等<sup>[18]</sup>用蒽环类药物处理结肠癌细胞 CT26 后, 发现细胞膜表面 CRT 呈高表达并团块状聚集。Panaretakis 等<sup>[5]</sup>证实, 细胞膜表面 CRT 可诱导蒽环类药物引发肿瘤细胞凋亡。本研究中 MTT 实验结果表明, 单纯以 Ad-CRT/MAGE-A3 作用于 MDA-MB-231 细胞后, 48 h 开始表现出对细胞增殖的抑制作用, 但在联合表柔比星组, 24 h 即表现明显的抑制增殖作用, 并且抑制率明显高于其他实验组。

综合本实验研究结果, 重组腺病毒载体 Ad-CRT/MAGE-A3 联合表柔比星能够显著抑制乳腺癌细胞的增殖活性及侵袭活性, 显示二者的联合应用在乳腺癌的治疗中具有重要的潜在价值。本研究为 Ad-CRT/MAGE-A3 在体内对 MDA-MB-231 细胞的

抑制作用提供实验依据,并对应用于临床肿瘤治疗有十分重要的意义。

### [ 参 考 文 献 ]

- [ 1 ] Zhang JJ, Wang M. Latent class joint model of ovarian function suppression and DFS for premenopausal breast cancer patients [ J ]. *Stat Med*, 2010, 29( 22 ): 2310-2324.
- [ 2 ] Alexandrova R. Experimental strategies in gene therapy of cancer [ J ]. *J BUON*, 2009, 14 ( Suppl 1 ): S23-S32.
- [ 3 ] Stratford-Perricaudet LD, Levrero M, Chasse JF, et al. Evaluation of the transfer and expression in mice of an enzyme-encoding gene using a human adenovirus vector [ J ]. *Hum Gene Ther*, 1990, 1 ( 3 ): 241-256.
- [ 4 ] Fucikova J, Kralikova P, Fialova A, et al. Human tumor cells killed by anthracyclines induce a tumor-specific immune response [ J ]. *Cancer Res*, 2011, 71( 14 ): 4821-4833.
- [ 5 ] Panaretakis T, Joza N, Mdjtahedi N, et al. The co-translocation of ERp57 and calreticulin determines the immunogenicity of cell death [ J ]. *Cell Death Differ*, 2008, 15( 9 ): 1499-1509.
- [ 6 ] Fredly H, Ersvaer E, Gjertsen BT, et al. Immunogenic apoptosis in human acute myeloid leukemia ( AML ): Primary human AML cells expose calreticulin and release heat shock protein ( HSP ) 70 and HSP90 during apoptosis [ J ]. *Oncol Rep*, 2011, 25( 6 ): 1549-1556.
- [ 7 ] Mathieu MG, Miles AK, Li G, et al. Cancer/testis antigens for therapeutic use [ J ]. *J BUON*, 14 ( Suppl 1 ): S97- S102.
- [ 8 ] Martuza RL, Malick A, Markert JM, et al. Experimental therapy of human glioma by means of a genetically engineered virus mutant [ J ]. *Science*, 1991, 252( 5007 ): 854-856.
- [ 9 ] Ahmad K. Vaccine hope for acute promyelocytic leukaemia [ J ]. *Lancet Oncol*, 2003, 4( 12 ): 712.
- [ 10 ] Peikert T, Specks U, Farver C, et al. Melanoma antigen A4 is expressed in non-small cell lung cancers and promotes apoptosis [ J ]. *Cancer Res*, 2006, 66( 9 ): 4693-4700.
- [ 11 ] Shen WG, Xue QY, Zhu J, et al. Inhibition of adenovirus-mediated human MAGE-D1 on angiogenesis *in vitro* and *in vivo* [ J ]. *Mol Cell Biochem*, 2007, 300( 1/2 ): 89-99.
- [ 12 ] Johnson S, Michalak M, Opas M, et al. The ins and outs of calreticulin: From the ER lumen to the extracellular space [ J ]. *Trends Cell Biol*, 2001, 11( 3 ): 122-129.
- [ 13 ] Roy L, Laboissiere S, Abdou E, et al. Proteomic analysis of the transitional endoplasmic reticulum in hepatocellular carcinoma: An organelle perspective on cancer [ J ]. *Biochim Biophys Acta*, 2010, 1804( 9 ): 1869-1881.
- [ 14 ] Alur M, Nguyen MM, Eggener SE, et al. Eggener: Suppressive roles of calreticulin in prostate cancer growth and metastasis [ J ]. *Am J Pathol*, 2009, 175( 2 ): 882-890.
- [ 15 ] Kepp O, Galluzzi L, Martins I, et al. Molecular determinants of immunogenic cell death elicited by anticancer chemotherapy [ J ]. *Cancer Metastasis Rev*, 2011, 30( 1 ): 61-69.
- [ 16 ] Prathyuman S, Sellappa S, Joseph S, et al. Enhanced calreticulin expression triggers apoptosis in the MCF-7 cell line [ J ]. *Asian Pac J Cancer Prev*, 2010, 11( 4 ): 1133-1136.
- [ 17 ] Zitvogel L, Kepp O, Senovilla L, et al. Immunogenic tumor cell death for optimal anticancer therapy: The calreticulin exposure pathway [ J ]. *Clin Cancer Res*, 2010, 16( 12 ): 3100-3104.
- [ 18 ] Obeid M, Tesniere A, Ghiringhelli F, et al. Calreticulin exposure dictates the immunogenicity of cancer cell death [ J ]. *Nat Med*, 2007, 13( 1 ): 54-61.

[ 收稿日期 ] 2012 - 05 - 13

[ 修回日期 ] 2012 - 08 - 09

[ 本文编辑 ] 韩丹,周玲琳

· 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 )