

[ 文章编号 ] 1007-385X( 2008 )02-0150-05

· 论 著 ·

**重组改构人 TNF 逆转卵巢癌耐药细胞株 SKOV3/DDP 的耐药性及其机制**

魏素菊\*, 刘海英, 史 健, 韩文峰( 河北医科大学 第四医院 肿瘤内科, 石家庄 050051 )

**[ 摘 要 ]** 目的: 探讨重组改构人肿瘤坏死因子( recombinant mutant human tumor necrosis factor, rmh-TNF )体外逆转人卵巢癌多药耐药细胞株 SKOV3/DDP 的耐顺铂( cisplatin, 又称 DDP )效应及其可能存在的作用机制。方法: 体外培养人卵巢癌多药耐药细胞株 SKOV3/DDP, 以 MTT 法检测 rmh-TNF 对此耐药株的细胞毒作用, 确定其对此细胞株的无毒剂量; 同法测定无毒剂量 rmh-TNF 干预后 SKOV3/DDP 对顺铂耐药性的变化, 通过流式细胞术检测 rmh-TNF 干预不同时间段 SKOV3/DDP 细胞株中 GST- $\pi$  蛋白的表达, RT-PCR 方法分析 rmh-TNF 处理 SKOV3/DDP 细胞前后 *MDR1* 基因的表达水平。结果: ( 1 ) 50 ~ 122.34 U/ml rmh-TNF 对 SKOV3/DDP 细胞增殖无明显抑制作用( 细胞存活率均 > 90% ), 因此选用 100 U/ml 作为逆转剂量( 无毒剂量 ); ( 2 ) 单用 DDP 24、48、72 h 的  $IC_{50}$  为( 23.29  $\pm$  0.43 )、( 8.97  $\pm$  0.69 )、( 6.43  $\pm$  0.79 )  $\mu$ g/ml, 联合 100 U/ml rmh-TNF 和 DDP 用药使 SKOV3/DDP 的  $IC_{50}$  分别降至( 19.50  $\pm$  0.50 )、( 4.34  $\pm$  0.43 )、( 2.44  $\pm$  0.02 )  $\mu$ g/ml, 逆转倍数分别为 1.19、2.06、2.64 倍; ( 3 ) 100 U/ml rmh-TNF 干预 0、24、48、72 h 后 SKOV3/DDP 细胞内 GST- $\pi$  蛋白的表达随作用时间延长降低, *MDR1* 基因的表达随作用时间延长降低。结论: rmh-TNF 对 SKOV3/DDP 有逆转耐药作用, 其机制可能与下调 GST- $\pi$  蛋白及 *MDR1* 基因表达有关。

**[ 关键词 ]** 重组改构人肿瘤坏死因子; 卵巢癌; 多药耐药; 逆转; GST- $\pi$ ; *MDR1***[ 中图分类号 ]** R737.31; R730.54**[ 文献标志码 ]** A**Recombinant mutant human-TNF in reversing drug-resistance in ovarian cancer cell line SKOV3/DDP and the related mechanism**

WEI Su-ju\*, LIU Hai-ying, SHI Jian, HAN Wen-feng ( Department of Oncology, The Fourth Hospital Affiliated to Hebei Medical University, Shijiazhuang 050011, China )

**[ Abstract ] Objective:** To investigate the reversing effect of recombinant mutant human tumor necrosis factor ( rmh-TNF ) on cisplatin ( DDP )-resistant human ovarian cancer cell line SKOV3/DDP *in vitro* and the related mechanism. **Methods:** DDP-resistant human ovarian cancer cell line SKOV3/DDP was cultured *in vitro*. The cytotoxic effect of rmh-TNF to SKOV3/DDP cells was examined by MTT assay and the nontoxic dose of rmh-TNF was identified. The changes of DDP resistance was observed after cells were treated with nontoxic dose of rmh-TNF by MTT assay. The expression of GST- $\pi$  protein was examined by flow cytometry at different periods after rmh-TNF intervention; RT-PCR was used to analyze the expression of *MDR1* gene in SKOV3/DDP cells before and after rmh-TNF treatment. **Results:** ( 1 ) rmh-TNF at 50-122.34 U/ml showed no evident inhibitory effect on the growth of SKOV3/DDP cells ( the cell survival rate higher than 90% ); and 100 U/ml was chosen for the reversing experiment ( nontoxic dose ). ( 2 )  $IC_{50}$  values of SKOV3/DDP cells were ( 23.29  $\pm$  0.43 ), ( 8.97  $\pm$  0.69 ) and ( 6.43  $\pm$  0.79 )  $\mu$ g/ml after treatment with DDP for 24, 48 and 72 h, respectively; and the values decreased to ( 19.50  $\pm$  0.50 ), ( 4.34  $\pm$  0.43 ) and ( 2.44  $\pm$  0.02 )  $\mu$ g/ml after combined treatment with 100 U/ml rmh-TNF, respectively. ( 3 ) Expression of GST- $\pi$  protein and *MDR1* gene decreased with the prolongation of rmh-TNF treatment. **Conclusion:** rmh-TNF has reversal effect on the DDP-resistant cell line SKOV3/DDP, and the mechanism may be associated with the down-regulation of GST- $\pi$  protein and *MDR1* gene expression.

**[ Key words ]** recombinant mutant human tumor necrosis factor; ovarian neoplasms; multi-drug resistant; reversal

[ Chin J Cancer Biother, 2008, 15( 2 ): 150-154 ]

**[ 基金项目 ]** 河北省科技攻关计划( No. 072761147 ). Supported by Science and Technology Research Program of Hebei Province( No. 072761147 )**[ 作者简介 ]** 魏素菊( 1963- )女, 河北省唐山市人, 硕士, 主任医师, 主要从事肿瘤化疗和免疫治疗的研究, E-mail: weisuju@126.com

\* Corresponding author. E-mail: weisuju@126.com

卵巢癌患者对化疗产生耐药性是影响其疗效的主要原因之一,如何解决这一问题是目前研究的热点。传统的逆转剂均因不良反应大使得临床应用受到限制,因此寻找高效、低毒的逆转剂是目前研究方向之一。重组改构人肿瘤坏死因子( recombinant mutant human tumor necrosis factor, rmh-TNF )是由国内学者通过蛋白质工程技术改造天然 TNF 的结构而研制出的一种高效、低毒的 TNF 突变体。已有研究发现<sup>[1-2]</sup> rmh-TNF 与顺铂( cisplatin, 又称 DDP )联合应用于非小细胞肺癌细胞、脑胶质瘤细胞, rmh-TNF 能增强 DDP 对细胞的杀伤效应,具有化疗增敏作用。临床研究<sup>[3-7]</sup>发现, rmh-TNF 治疗肺癌、消化道癌、胸腹腔积液、心包积液等有一定疗效,但 rmh-TNF 逆转肿瘤细胞耐药性的研究目前并不多。本研究将 rmh-TNF 作用于人卵巢癌细胞多药耐药细胞系 SKOV3/DDP, 观察其对该细胞耐药性的影响及其可能存在的机制,以期寻找一种新的药物帮助解决卵巢癌治疗中出现的多药耐药问题。

## 1 材料与方 法

### 1.1 主要试剂于仪器设备

3-(4,5)-二苯基溴化四氮唑蓝盐( MTT , 博海生物制品公司); rmh-TNF ( 上海赛达生物药业产品, 批号 20060403 ); DDP ( 山东齐鲁制药厂产品, 批号 5100222DC ), GST- $\pi$  单克隆抗体为北京中杉金桥生物技术有限公司产品, *MDR1* 与  $\beta$ -actin 引物购于北京赛百盛基因技术有限公司。 *MDR1* 引物序列: 上游引物为 5'-CCCATCATTGCAATAGCAGG-3'; 下游引物: 5'-GTTCAAACCTTCTGCTCCTCA-3'。  $\beta$ -actin 引物序列: 上游引物为 5'-ACCCCACT-GAAAAAGATGAA-3'; 下游引物: 5'-ATCTTCAAAC-CTCCATGATG-3', 余 PCR 各试剂均购于美国 Promega 公司。流式细胞仪( Epics-XL II 型 美国 BC 公司)、PCR 扩增仪( PE9600 美国 PE 公司)、凝胶成像分析系统( BIO-PROFIF 法国 VL 公司)。

### 1.2 细胞株和培养条件

人卵巢癌多药耐药细胞株 SKOV3/DDP 购自广西肿瘤防治研究所, 是以对 DDP 敏感的 SKOV3 为亲本应用顺铂连续作用并逐渐提高药量的递增压力选择法建株而成。2 种细胞均培养于 pH 7.2 ~ 7.4 的 RPMI 1640 完全培养液( 含 10% 新生小牛血清, 青、链霉素均为 100 U/mL )中, 于 37 °C、5% CO<sub>2</sub> 饱和温度下的恒温培养箱中培养, SKOV3/DDP 细胞传代培养时, 在培养液中加入顺铂 4  $\mu$ g/ml, 实验前用不含 DDP 的培养液传代至少 2 代。

### 1.3 MTT 法检测单用 rmh-TNF 对 SKOV3/DDP 的杀伤效应

取对数生长期细胞 SKOV3/DDP, 用 RPMI 1640 完全培养液调整细胞密度至  $1 \times 10^5$ /ml, 接种于 96 孔培养板内, 每孔含  $1 \times 10^5$  个细胞( 100  $\mu$ l/孔 ), 37 °C、5% CO<sub>2</sub> 孵育箱中培养 24 h 后, 分别加入 50、100、200、400、800、1 600、3 200 U/ml 的 rmh-TNF, 设 3 复孔, 继续培养 48 h, 每孔加入 MTT 20  $\mu$ l 培养 4 h 后, 弃上清, 每孔加入 150  $\mu$ l DMSO, 待蓝色完全溶解后, 酶标仪上测定 492 nm 的光密度值( *D* ), 实验重复 3 遍, 从而找出 rmh-TNF 对 SKOV3/DDP 的无毒剂量。按下列公式计算细胞抑制率: 细胞抑制率( % ) = ( 1 - 实验组 *D* / 对照组 *D* )  $\times$  100%。

### 1.4 无毒剂量的 rmh-TNF 对耐药细胞 SKOV3/DDP 的逆转作用

实验采用 MTT 法, 分组如下: ( 1 ) 单用 DDP 组: DDP + SKOV3/DDP + RPMI 1640 ( DDP 质量浓度为 0.5、1、2、4、8、16、32  $\mu$ g/ml ); ( 2 ) rmh-TNF 和 DDP 联合用药组: DDP + SKOV3/DDP + RPMI 1640 + rmh-TNF ( 无毒剂量 ); ( 3 ) 阴性对照组: SKOV3/DDP + RPMI 1640, ( 4 ) 空白对照组: RPMI 1640。按常规方法将 SKOV3/DDP 接种于 96 孔培养板内, 每孔含  $1 \times 10^5$  个细胞( 100  $\mu$ l/孔 ), 培养 24 h 后加入不同浓度的上述药物。置于 CO<sub>2</sub> 孵育箱中, 37 °C 培养 24、48、72 h 后, 每孔加入 MTT 20  $\mu$ l, 继续培养 4 h 后, 弃上清, 每孔加入 150  $\mu$ l DMSO, 待蓝色完全溶解后, 酶标仪上测定 492 nm 的光密度值( *D* ), 计算逆转倍数 RI,  $RI = IC_{50}$ ( 单用 DDP ) /  $IC_{50}$ ( DDP + rmh-TNF )。实验重复 3 次。

### 1.5 流式细胞术检测 rmh-TNF 对 SKOV3/DDP 细胞 GST- $\pi$ 蛋白表达的影响

按上述方法调整细胞密度, 接种于培养瓶内, 加入 rmh-TNF ( 100 U/ml ), 37 °C 培养 24、48、72 h 后, 以冷 PBS 洗 2 次, 收集细胞, 调整细胞密度至  $1 \times 10^5$  个/ml, 取 1 ml 细胞悬液, 加入 100  $\mu$ l 的鼠抗人单克隆抗体( GST- $\pi$  ), 室温孵育 30 min, 加入羊抗鼠 FITC-IgG 二抗工作液 100  $\mu$ l, 避光室温孵育 30 min, PBS 液洗 3 遍后上机检测。设 PBS 代替一抗和二抗的阴性对照, 以及只加二抗的本底对照。实验重复 3 次。以荧光指数( FI ) 表示蛋白表达的相对含量,  $FI = \text{实验样品均值} / \text{对照样品均值}$ 。  $FI > 1.0$  为阳性表达,  $FI \leq 1.0$  为阴性表达。

### 1.6 RT-PCR 法检测逆转前后 SKOV3/DDP 细胞 *MDR1* 基因的表达

按分子克隆常规步骤及试剂盒推荐方法逐步提

取 SKOV3/DDP 以及 rmh-TNF 处理后的 SKOV3/DDP 细胞 0、24、48、72 h 后的总 RNA, 经过纯度及完整性的鉴定后, RT 合成 cDNA, PCR 法检测 *MDR1* 基因的表达情况, 以  $\beta$ -actin 为内参照。反应体系: cDNA 2  $\mu$ l、上下游引物各 2.5  $\mu$ l、go-taq 酶 12.5  $\mu$ l、H<sub>2</sub>O 5.5  $\mu$ l、总体积 25  $\mu$ l。反应条件: 94  $^{\circ}$ C 4 min 变性, 90  $^{\circ}$ C 45 s、60  $^{\circ}$ C 45 s、72  $^{\circ}$ C 90 s、32 个循环, 延伸 72  $^{\circ}$ C 10 min。结果以 *MDR1*/ $\beta$ -actin 表示, 以表达强度  $\geq 0.10$  的值作为阳性表达。

1.7 统计学处理

检测数据以  $\bar{x} \pm s$  表示, 采用 SPSS 13.0 软件进行分析, 两个样本间均数比较用 *t* 检验, 多组间均数比较用方差分析。

2 结果

2.1 单用 rmh-TNF 对 SKOV3/DDP 的毒性效应

单用 rmh-TNF 在 50 ~ 3 200 U/ml 范围以内能抑制 SKOV3/DDP 细胞的体外增殖, 且随着活性浓度增加增殖抑制率相应上升(图 1)。由回归分析得出, 当 rmh-TNF 终活性浓度 < 122.34 U/ml 时, 对细胞生长无明显抑制作用(细胞存活率均 > 90%)。因此, 本实验选用无毒剂量 100 U/ml 作为逆转剂量。

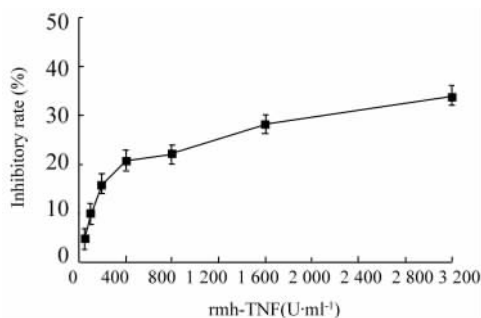


图 1 rmh-TNF 单用对 SKOV3/DDP 细胞的毒性效应

Fig.1 Toxicity of rmh-TNF alone to human ovarian cancer cell line SKOV3/DDP

2.2 无毒剂量的 rmh-TNF 对耐药细胞的逆转作用

单用 DDP 24、48、72 h 作用 SKOV3/DDP, DDP 的 IC<sub>50</sub> 分别为 (23.29 ± 0.43)、(8.97 ± 0.69)、(6.43 ± 0.79)  $\mu$ g/ml, 当与无毒剂量 (100 U/ml) 的 rmh-TNF 联合应用时, rmh-TNF 使 DDP 对 SKOV3/DDP 的 IC<sub>50</sub> 分别降至 (19.50 ± 0.50)、(4.34 ± 0.43)、(2.44 ± 0.02)  $\mu$ g/ml, 逆转倍数分别为 1.19、2.20、2.64 (表 1)。

表 1 单用或联合使用 DDP 和 rmh-TNF 对 SKOV3/DDP 的 IC<sub>50</sub> 的影响 ( $\bar{x} \pm s, \rho_B / \mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$ )

Tab.1 Effects of DDP or DDP combined with rmh-TNF on IC<sub>50</sub> to SKOV3/DDP cells ( $\bar{x} \pm s, \rho_B / \mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$ )

Group	24 h	48 h	72 h
DDP	23.29 ± 0.43	8.97 ± 0.69	6.43 ± 0.79
DDP + TNF	19.50 ± 0.50	4.34 ± 0.43	2.44 ± 0.02
RI <sup>#</sup>	1.19	2.20 <sup>▲▲</sup>	2.64 <sup>▲▲</sup>

<sup>#</sup> RI = IC<sub>50</sub>(DDP)/IC<sub>50</sub>(DDP + TNT). <sup>▲▲</sup> P < 0.01 vs 24 h

2.3 rmh-TNF 对 SKOV3、SKOV3/DDP 细胞 GST- $\pi$  蛋白的表达的影响

流式细胞术检测结果显示, 药物处理前 SKOV3、SKOV3/DDP 两组细胞 GST- $\pi$  蛋白的表达率分别是 1 和 (2.33 ± 0.30), 两株细胞 GST- $\pi$  蛋白的表达差异有统计学意义 (P < 0.01); 100 U/ml rmh-TNF 作用 SKOV3/DDP 细胞 24、48、72 h, GST- $\pi$  蛋白的表达相对值 FI 值随作用时间的延长而逐渐降低, FI 值分别为 (1.82 ± 0.13)、(1.73 ± 0.28)、(1.31 ± 0.17), 作用前后比较有统计学意义 (P < 0.05, 图 2)。

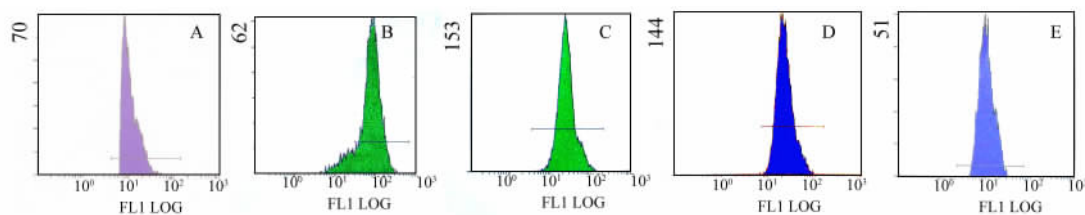


图 2 流式细胞仪检测各组细胞 GST- $\pi$  蛋白的表达

Fig.2 Analysis of GST- $\pi$  expression in different groups by flow cytometry

A: SKOV3; B: SKOV3/DDP; C: SKOV3/DDP + rmh-TNF at 24 h;

D: SKOV3/DDP + rmh-TNF at 48 h; E: SKOV3/DDP + rmh-TNF at 72 h

#### 2.4 rmh-TNF 作用对 SKOV3/DDP 细胞 *MDR1* 基因表达的影响

RT-PCR 法检测结果显示, rmh-TNF 处理前 SKOV3 细胞不表达 *MDR1* 基因、SKOV3/DDP 细胞 *MDR1* 基因的表达量为  $0.76 \pm 0.01$ 。100 U/ml rmh-TNF 作用细胞 SKOV3/DDP 24、48、72 h, *MDR1* 基因表达量的相对值随作用时间的延长而逐渐降低, *MDR1*/ $\beta$ -actin 值分别为  $0.66 \pm 0.05$ 、 $0.52 \pm 0.04$ 、 $0.45 \pm 0.03$ , rmh-TNF 对 *MDR1* 表达量有一定下调作用, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ , 图 3)。

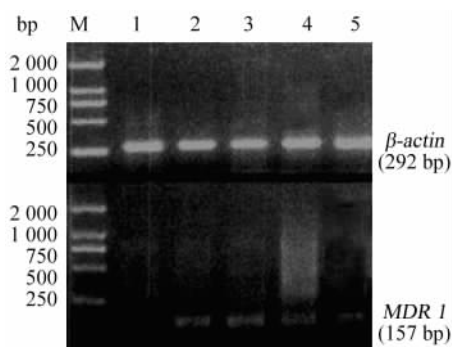


图 3 rmh-TNF 作用不同时间后 SKOV3/DDP 细胞 *MDR1* 基因的表达

Fig.3 Analysis of *MDR1* expression in SKOV3/DDP cells at different times after rmh-TNF treatment

M: DNA marker; 1: SKOV3 cells; 2: SKOV3/DDP cells; 3: SKOV3/DDP + rmh-TNF (24 h); 4: SKOV3/DDP + rmh-TNF (48 h); 5: SKOV3/DDP + rmh-TNF (72 h)

### 3 讨论

近年研究表明, 某些细胞因子(如 TNF- $\alpha$ 、IFN 等)具有逆转肿瘤多药耐药的作用, 并可提高肿瘤化疗疗效。1984 年 TNF- $\alpha$  基因工程产品开始用于临床。然而天然 TNF- $\alpha$  全身用药的不良作用严重, 使得临床应用受到极大的限制。为此, 国内外众多学者进行了优化 TNF- $\alpha$  的研究。rmh-TNF 是将野生型 TNF- $\alpha$  N 端去掉 7 个氨基酸的编码序列, 编码 ProSerAsp 的编码序列由 ArgLysArg 的编码序列取代, 157 位的 Leu 被 Phe 取代, 从而获得一个高效、低毒、具有自主知识产权的国家一类新药, 成为全世界第一家批准上市的重组 TNF 产品, 该药在明显提高抗肿瘤的疗效的同时减轻了不良反应, 提高了患者全身用药的耐受性<sup>[8-10]</sup>。

本实验显示无毒剂量(100 U/ml)的 rmh-TNF 能够部分逆转 SKOV3/DDP 的耐顺铂效应, 24 h 的逆转倍数为 1.19 倍, 48 h 的逆转倍数为 2.20 倍, 直

到 72 h 逆转倍数增加到 2.64 倍, 这种逆转作用存在时间-效应关系。

*MDR1* 基因是卵巢癌耐药中发现最早的基因。最近研究表明 *MDR1*、*MDR3* 与耐药有关<sup>[11-12]</sup>。*MDR1* 编码的蛋白产物 P-gP, 作为一种能量依赖性药物泵, 能主动将细胞内的化学药物泵出细胞, 降低细胞内药物浓度, 并对不同结构的疏水亲脂类药物产生交叉耐药。铂类等抗肿瘤药诱导细胞 *MDR1* 表达是导致卵巢癌治疗失败的主要原因<sup>[13]</sup>。本实验结果显示亲本细胞株 SKOV3 不表达 *MDR1* mRNA, 而 SKOV3/DDP *MDR1* mRNA 表达相对含量为  $0.76 \pm 0.01$ , 说明 *MDR1* 基因与卵巢癌 DDP 耐药有关。程国钧等<sup>[14]</sup>研究显示在正常卵巢组织、卵巢良性肿瘤和卵巢癌中 *MDR1* 表达阳性率分别为 0、0 和 29.3%, 与本实验结果一致。研究表明通过降低 *MDR1* 基因 mRNA 的表达或抑制 *MDR1* 的功能可以逆转耐药<sup>[15-16]</sup>。本实验结果显示无毒剂量的 rmh-TNF 使得 *MDR1*/ $\beta$ -actin 随着时间的延长由  $0.76 \pm 0.01$  逐渐降至  $0.45 \pm 0.03$ , 说明 rmh-TNF 体外逆转 SKOV3/DDP 细胞耐药的机制可能与下调耐药相关基因 *MDR1* 的表达有关。

GST 是一种多功能药物代谢二相酶, 可以催化谷胱甘肽( glutathione, GSH)与亲电子物质结合, 使细胞毒性药物代谢成无毒物质, 并可直接与代谢产物结合, 加强其外排从而造成细胞耐药。研究表明 GST- $\pi$  在 DDP 耐药中起主要作用。本实验结果显示, 药物处理前 SKOV3、SKOV3/DDP 两组细胞 GST- $\pi$  蛋白的表达率分别是 1 和  $2.33 \pm 0.30$ , 两株细胞 GST- $\pi$  蛋白的表达差异有统计学意义 ( $P < 0.01$ ), 说明 GST- $\pi$  在 SKOV3/DDP 耐 DDP 中起一定作用。有学者建立了耐 DDP 的细胞株 COC1/DDP、SKOV3/DDP, 发现当耐药细胞中引入靶向干扰 GST 表达的 RNA 时, GST 表达下降, 耐药细胞对药物的敏感性增加。Beeghly 等<sup>[17]</sup>发现, 通过抑制 GST 的功能可以提高卵巢癌患者术后化疗的敏感性及其生存率。本实验结果显示, 100 U/ml rmh-TNF 作用细胞 SKOV3/DDP 24、48、72 h, GST- $\pi$  蛋白的表达相对值(FI)随作用时间的延长而逐渐降低, 分别为  $1.82 \pm 0.13$ 、 $1.73 \pm 0.28$ 、 $1.31 \pm 0.17$ , 作用前后比较有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。因此, 下调 GST- $\pi$  表达是 rmh-TNF 逆转 DDP 耐药的可能机制之一。

总之, 本研究发现, rmh-TNF 体外可通过下调 *MDR1* mRNA、GST- $\pi$  蛋白表达, 部分地逆转耐顺铂人卵巢癌 SKOV3/DDP 的耐药性, 可望成为卵巢癌综合治疗的一种新的辅助治疗药物。

[ 参 考 文 献 ]

[ 1 ] 周 翔,张平智,冯建国,等. 重组改构 TNF- $\alpha$  与顺铂、吉西他滨联合对 H1299 细胞系杀伤作用[ J ]. 临床医学, 2005, 25 ( 12 ): 1-4.

[ 2 ] 周 伟,栗超越,张建国. 重组改构人 TNF- $\alpha$  联合顺铂对人胶质瘤 U251 细胞的生长抑制作用[ J ]. 郑州大学学报:医学版, 2006, 41( 5 ): 904-906.

[ 3 ] 金 阳,熊先智,陶晓南,等. 重组改构人肿瘤坏死因子对小细胞肺癌化疗的干预[ J ]. 中国医院药学杂志, 2006, 26( 3 ): 270-272.

[ 4 ] 刘 星,张祥福,卢辉山,等. 重组改构人肿瘤坏死因子治疗晚期胃癌的随机对照临床研究[ J ]. 中国医药生物技术, 2006, 1( 1 ): 46-50.

[ 5 ] 李永梅,王 梅,顾 军,等. 重组改构的人肿瘤坏死因子治疗恶性胸腔积液[ J ]. 中国癌症杂志, 2006, 16( 10 ): 870-871.

[ 6 ] 阿依夏木古丽,柳 江,韩忠诚. 重组改构人肿瘤坏死因子治疗恶性腹腔积液[ J ]. 现代肿瘤学, 2007, 15( 2 ): 224-224.

[ 7 ] 雷开键,贾钰铭,裴 玲,等. 置管注入重组改构人肿瘤坏死因子治疗恶性心包积液的临床观察[ J ]. 四川肿瘤防治, 2006, 19( 4 ): 276-277.

[ 8 ] 杨亚菁,袁志军,罗 以,等. 重组改构人肿瘤坏死因子治疗 47 例恶性胸腹腔积液[ J ]. 中国癌症杂志, 2004, 14( 4 ): 396-398.

[ 9 ] 周清华,鄢 希,任 莉,等. 注射用重组改构人肿瘤坏死因子联合化疗药物治疗非小细胞肺癌的多中心 III 期临床试验[ J ]. 中国肺癌杂志, 2003, 6( 4 ): 264-267.

[ 10 ] 彭宝岗,梁力键,何 强,等. 肿瘤坏死因子联合干扰素  $\gamma$  治疗原发性肝癌的实验研究[ J ]. 中华肝胆外科杂志, 2003, 9 ( 1 ): 25-25.

[ 11 ] Duan Z, Brakora KA, Seiden MV. Inhibition of ABCB1 ( MDR1 ) and ABCB4 ( MDR3 ) expression by small interfering RNA and reversal of paclitaxel resistance in human ovarian cancer cells[ J ]. Mol Cancer Ther, 2004, 3( 7 ): 833-838.

[ 12 ] 徐 珊,徐昌芬. 肿瘤多药耐药性发生机制及中药逆转作用的研究进展[ J ]. 中国肿瘤生物治疗杂志, 2007, 13( 6 ): 504-511.

[ 13 ] Krasznai ZT, Friedländer E, Nagy A, *et al.* Quantitative and functional assay of MDR1/P170-mediated MDR in ascites cells of patients with ovarian cancer[ J ]. Anticancer Res, 2005, 25( 2A ): 1187-1192.

[ 14 ] 程国钧,祝 华,孙丽亚,等. 耐药相关基因在卵巢癌组织中的表达及其临床意义[ J ]. 中华妇产科杂志, 2000, 35( 2 ): 87-90.

[ 15 ] Ludwig JA, Szakács G, Martin SE, *et al.* Selective toxicity of NSE73306 inmdr1-positive cells a new strategy to circumvent multidrug resistance in cancer[ J ]. Cancer Res, 2006, 66( 9 ): 4808-4815.

[ 16 ] 刘景丰,陈孝平. 肿瘤坏死因子  $\alpha$  逆转入肝癌多药耐药性的实验研究[ J ]. 中华实验外科杂志, 1999, 16( 3 ): 256-258.

[ 17 ] Beeghly A, Katsaros D, Chen H, *et al.* Glutathione S-transferase polymorphisms and ovarian cancer treatment and survival[ J ]. Gynecol Oncol, 2006, 100( 2 ): 330-337.

[ 收稿日期 ] 2007 - 12 - 12 [ 修回日期 ] 2008 - 02 - 15

[ 本文编辑 ] 郁晓路

• 读者 • 作者 • 编者 •

### 正确使用数的修约规则

在生物医学领域的各种研究中,对实验测定和计算所得的数据往往都要进行修约。过去习惯使用“四舍五入法”进行数的修约,该方法是不正确的,我们应将其废除。根据国家标准《出版物上数字用法的规定》,数的修约应遵照“四舍六入”的法则进行,具体介绍如下:

- ( 1 ) 数的修约规则的简明口诀: 4 舍 6 入 5 看后, 5 后有数便进 1, 5 后为 0 看左数, 左数奇进偶舍弃。
- ( 2 ) 数的修约操作示例见表 1。

表 1 数的修约操作示例

口 诀	示 例	
	已知数	修约数( 设保留 1 位小数 )
4 舍 6 入 5 看后	5. 741 8	5. 7
	5. 761 8	5. 8
5 后有数便进 1	5. 751 8	5. 8
	5 后为 0 看左数	
左为奇数要进 1	5. 750 0	5. 8
左为偶数则舍弃	5. 650 0	5. 6
	5. 050 0	5. 0( 0 为偶数 )
无论舍弃多少位	5. 745 46	5. 7( 不是由 5. 7455
均须一次修完毕		→5. 746→5. 75→5. 8 )

( 本刊编辑部 )