

[文章编号] 1007-385X(2006)04-0261-05

## CpG-ODN持续刺激对小鼠骨髓树突状细胞成熟的影响

陈杰<sup>1,2</sup>, 孙卫民<sup>1</sup>, 季海峰<sup>1</sup>, 田野苹<sup>1</sup> (1. 第二军医大学免疫研究所, 上海 200433; 2. 解放军第117医院眼科, 杭州 310013)

**[摘要]** **目的:**研究 CpG-ODN 持续刺激对小鼠骨髓树突状细胞(DC)成熟的影响。**方法:**小鼠骨髓细胞用 GM-CSF 培养 7 d, 持续刺激组全程加入 CpG-ODN, 短期刺激组在培养的最后 36 h 加入 CpG-ODN, 对照组不加 CpG-ODN。流式细胞仪检测细胞表型和细胞摄取抗原的能力, ELISA 检测细胞产生的细胞因子, 混合淋巴细胞培养检测细胞提呈抗原的能力。**结果:**用 CpG-ODN 持续刺激的小鼠骨髓 DC 表达 MHC II、CD86 和 CD40 等分子和分泌 IL-12 p70 的能力并未增加, 吞噬 FITC-OVA 的能力显著升高, 刺激同种异基因 T 细胞和刺激同种同基因 T 细胞增殖的能力显著低于 CpG-ODN 短期刺激组。**结论:**CpG-ODN 持续刺激可抑制 DC 的发育成熟, 可能是持续严重感染时免疫功能低下的原因。

**[关键词]** CpG 基序; 树突状细胞; 成熟

**[中图分类号]** R730 **[文献标识码]** A

## The impact of long-term stimulation by CpG-ODN on the maturation of dendritic cells in murine bone marrow

CHEN Jie, SUN Wei-min, Ji Hai-feng, TIAN Ye-ping (1. Institute of Immunology, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China; 2. Department of Ophthalmology, 117th Hospital of PLA, Hangzhou 310013, China)

**[Abstract]** **Objective:** To investigate the effect of a long-term CpG-ODN stimulation on the maturation of murine bone-marrow derived dendritic cells (BMDCs). **Methods:** Murine bone-marrow cells were cultured in GM-CSF alone or with CpG-ODN for 7 d or for last 36 h (days 6, 7). Cell phenotypes and antigens uptake by BMDCs were analyzed by flow cytometry. Cytokines released by BMDCs were detected by ELISA. The antigen presenting capability by BMDCs was evaluated by mixed lymphocyte responses. **Results:** Compared to those of the short-term CpG-ODN stimulation group, the expression of MHC II, CD86, CD40, and secretion of IL-12(p70) by BMDCs in long-term stimulation group were not increased. The phagocytosis of FITC-OVA by BMDCs in long-term CpG-ODN stimulation group was strengthened, but the activation of allogenic and homogenic lymphocyte cells proliferation was impaired. **Conclusion:** Long-term CpG-ODN stimulation can suppress the maturation of DCs, which may explain the low adaptive immunity in sepsis patients.

**[Key words]** CpG-ODN; dendritic cell; maturation

[Chin J Cancer Biother, 2006, 13(4): 261-265]

病原体相关分子模式(pathogen associated molecular patterns, PAMPs)是各种病原体表达(宿主细胞不表达)的一类结构保守的分子,是病原体代谢或生存所必需的<sup>[1]</sup>,有如 G<sup>-</sup>菌的胞壁成分脂多糖(LPS)、细菌病毒富含的 CpG 基序等。其中, CpG 基序广泛存在于细菌、病毒等病原体的 DNA 中,而在脊椎动物和人类 DNA 中,出现的频率较低,且 CpG 基序中胞嘧啶常出现甲基化修饰。CpG 基序的核心是以非甲基化的胞嘧啶-鸟嘌呤二核苷酸为中心,5'端为 2 个嘌呤,3'端为 2 个嘧啶的核苷酸序列,可被抗原提呈细胞的 TLR9 识

别<sup>[2]</sup>。抗原提呈细胞如巨噬细胞、树突状细胞(dendritic cell, DC)等在吞噬病原体的同时被激活,激活的 DC 可逐渐表达 MHC II 分子和共刺激分子,并在向淋巴组织迁移过程中,分化为摄取抗原能力较弱的成熟 DC。成熟 DC 通过 MHC II 分子和共刺激分子与 TCR 接触激活初始 T 细胞,将抗原信息提呈给 T 细胞,并分

**[基金项目]** 国家自然科学基金资助项目(30271232)

**[作者简介]** 陈杰(1968-),男,浙江临安人,主治医师,硕士生,主要从事感染免疫方面的研究

**[通讯作者]** 孙卫民, E-mail: sunwm@sh163.net

泌细胞因子使 Th 细胞定向分化为 Th1 细胞,启动特异性免疫应答<sup>[3]</sup>。CpG 基序具有强烈的免疫刺激活性,在机体抗感染免疫中发挥重要作用。体内实验表明,CpG-ODN 作为肿瘤疫苗的佐剂单独使用时,可显著延长动物的生存期,降低肿瘤的复发率;和单克隆抗体联合使用,可明显增强抗体依赖的细胞毒作用(ADCC)效果。因此,在肿瘤治疗方面具有广泛的应用前景<sup>[2]</sup>。

DC 是驻留在外周的、唯一能激活初始 T 细胞的抗原提呈细胞。在体外,CpG-ODN、LPS 等短期刺激可使 GM-CSF 诱导的小鼠骨髓细胞来源的 DC 成熟,表达高水平的 MHC II 和共刺激分子<sup>[2,4,5]</sup>,激发获得性免疫,常用于病原体对 DC 和免疫应答影响的体外研究。在持续严重感染时(如脓毒败血症或严重创伤,烧伤继发持续感染等),CpG-ODN、LPS 等 PAMP 持续刺激时,DC 的成熟状况及其对免疫反应的影响仍不清楚。鉴于上述持续严重感染时常伴有特异性免疫功能下降<sup>[6]</sup>,假定 PAMP 持续存在可能抑制 DC 的成熟,从而激活初始 T 细胞的能力下降,不能有效地激发特异性免疫应答,致使感染持续加重,甚至导致病人死亡。由于 CpG-ODN 广泛存在于各种病原体的 PAMP,因此本实验选择 CpG-ODN 为刺激剂持续刺激 DC,模拟持续感染来研究其对 DC 和免疫反应的影响。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验材料

C57BL/6 小鼠和 BALB/c 小鼠,4~6 周龄,购自必凯公司。胎牛血清(FCS)和 RPMI 1640 培养基(Hyclone),重组小鼠 GM-CSF(rmGM-CSF, R&D),CpG-ODN(5'-TCCATGACGTTTCCTGATGC T-3',上海申能博彩公司合成,内毒素测试 <0.03 EU/mg)。FITC-标记的抗小鼠 MHC II(Ia<sup>b</sup>)和 CD40 抗体、PE 标记的抗小鼠 CD86 抗体均购自 Santa Cruz 公司,FITC-OVA 购自 Molecular Probe 公司。小鼠细胞因子定量检测 ELISA 试剂盒(R&D)。

### 1.2 骨髓来源小鼠 DC 的分离和培养

在 Inaba<sup>[7]</sup>方法的基础上加以改进:无菌状态下分离 C57BL/6 小鼠的股骨和胫骨,用 5 ml RPMI 1640 培养基冲洗出骨髓细胞。离心、弃上清后向沉淀中加入无菌 Tris-NH<sub>4</sub>Cl 破碎红细胞。洗去 Tris-NH<sub>4</sub>Cl,沉淀细胞用含 10 ng/ml rmGM-CSF 和 10% FCS 的 RPMI 1640 培养基(完全培养基)悬浮后,分至 6 孔细胞培养板中,置 37℃、5% CO<sub>2</sub> 中培养,48 h 后换液,并将悬浮细胞弃去;5 d 时每孔中加入 2 ml 完全培养基;7 d 时 DC 纯度可达 80% 以上。此时收集细胞,用 PBS 洗涤后(以下简称 BMDC)。细胞分为 3 组:①培养的全过程维持 1

μg/ml 的 CpG-ODN 作为持续刺激的实验组;②培养至最后 36 h 时加入 1 μg/ml 的短期 CpG-ODN 刺激组;③培养过程中不加 CpG-ODN 的对照组。用 1 μg/ml CpG-ODN 作为刺激剂量是根据预实验和文献[5]选择的较佳剂量。

### 1.3 流式细胞仪(FACS)鉴定 DC 表面标志

调整 BMDC 密度为  $1 \times 10^6$ /ml。每个小离心管中加 50 μl 细胞悬液,再分别加入 1 μl 抗小鼠表面标志的荧光抗体,置 4℃ 45 min,用 PBS 洗涤 2 次,流式细胞仪(BD 公司)检测,Cell Quest 软件分析。

### 1.4 DC 产生细胞因子的检测

收集培养至 7 d 的各组 BMDC,按每孔  $2 \times 10^5$  个细胞加到平底 96 孔板中,按各组要求加入 CpG-ODN,然后加完全培养基至每孔 200 μl,继续培养 48 h。收集上清,用 ELISA 试剂盒检测细胞因子含量。

### 1.5 FACS 测定 DC 的吞噬功能

调整 BMDC 密度为  $1 \times 10^6$ /ml,置冰浴上 10 min,然后加入 FITC-OVA 至终浓度 10 μg/ml,37℃ 孵育 30 min,用预冷的 PBS 洗涤 2 次,在 FACS 仪上检测细胞的荧光强度,并以绿色荧光的平均强度代表 DC 吞噬 OVA 的量,从而反映 DC 吞噬外来抗原的能力。

### 1.6 混合淋巴细胞培养(MLR)

取 BALB/c 小鼠脾细胞作为反应细胞,Tris-NH<sub>4</sub>Cl 破碎红细胞后,用含 10% FCS 的 RPMI 1640 培养基悬浮细胞至  $2 \times 10^6$ /ml,置 37℃、5% CO<sub>2</sub> 孵箱中 4 h。以每孔 100 μl 加入 96 孔板,收集培养 7 d 的 BMDC,以 30 Gy γ 射线灭活后以每孔  $4 \times 10^4$ 、 $2 \times 10^4$ 、 $1 \times 10^4$  和  $5 \times 10^3$  细胞分别加入各孔中,总体积为 200 μl,每组设 3 个复孔。继续培养 96 h,于最后 18 h 加入 <sup>3</sup>H-TdR,37 kBq(1 μl Ci)/孔。收集细胞,液闪计数器检测 cpm 值,结果以 3 个复孔的平均 cpm 值表示。

### 1.7 抗原提呈功能实验

卵白蛋白(ovalbumin, OVA)与弗氏完全佐剂乳化混合后,以每只 200 μg OVA 的剂量皮下多点注射免疫 C57BL/6 小鼠,每 7 d 重复免疫,共免疫 3 次。末次免疫 3 d 后取脾细胞,向 BMDC 中加 OVA,终浓度为 150 μg/ml,再混合培养 4 h。按 MLR 法测定吞噬了 OVA 的 BMDC 刺激同基因脾细胞增殖的能力,反映 DC 的抗原提呈功能。

### 1.8 细胞凋亡的检测

取培养至第 7 天的各组 BMDC,用 PBS 重新悬浮;加入 Rhodamine(Rh123)至终浓度为 1 μg/ml,置 37℃、5% CO<sub>2</sub> 孵箱培养 20 min;冷 PBS 洗 1 遍,用流式细胞仪检测。

### 1.9 细胞周期的检测

取培养至第7天的各组 BMDC, 用 PBS 重新悬浮; 离心, 弃上清, 以 75% 的乙醇固定 24 h; 离心, 弃上清, 加入 100  $\mu$ l 0.1% Triton X-100, 静置 15 min; 加入 RNA 酶 100  $\mu$ l, 4 $^{\circ}$ C 静置 15 min; 加入 PI 50  $\mu$ l, 标记 5 min 后流式细胞仪检测。

#### 1.10 统计学处理

本实验所有定量检测均重复 3 次, 数据以  $\bar{x} \pm s$  表示, 使用 SAS 6.12 软件进行统计学处理, 采用方差分析。

## 2 结果

### 2.1 CpG-ODN 持续刺激对 BMDC 成熟标志的影响

用抗小鼠表面标志的荧光抗体标记培养 7d 的 BMDC, FACS 分析高表达 Ia<sup>b</sup>、CD86、CD40 的细胞百分比和荧光强度。从表 1 可以看出, 仅最后 36h 予以 CpG-ODN 短时间刺激的 DC, 上述分子的表达水平明显升高 ( $P < 0.01$ ), 而持续刺激组却没有明显升高。

表 1 CpG-ODN 持续刺激对 BMDC 成熟标志的影响

Tab. 1 Effects of long-time CpG-ODN stimulation on phenotypes of BMDC

Groups	Ia <sup>b</sup>	CD86	CD40
No CpG-ODN	121.81	153.88	121.17
Short-term CpG-ODN	190.18**	222.71**	214.94**
Sustained CpG-ODN	91.40	121.25	113.40

\*\*  $P < 0.01$  vs No CpG-ODN

### 2.2 CpG-ODN 持续刺激对 BMDC 产生细胞因子的影响

用 ELISA 方法检测培养至 7d 的各组 DC 分泌 IL-12p70 的能力。在 DC 培养的晚期以 CpG-ODN 短期刺激, IL-12p70 的分泌量为 107.38 pg/ml; 与未刺激组 (26.40 pg/ml) 相比明显增加 ( $P < 0.01$ ); 持续刺激的 DC 仅为 16.95 pg/ml, 显著低于短期刺激组和未刺激组 ( $P < 0.05$ )。

### 2.3 CpG-ODN 持续刺激对 BMDC 摄取抗原能力的影响

经不同的刺激方法培养至 7d 的 BMDC, 加入荧光标记的 OVA 孵育 30 min 后, 用流式细胞仪检测各组细胞吞噬 OVA 后细胞百分比。持续刺激组中的阳性细胞率 (22.27%) 明显高于未刺激组 (16.79%), 约为短期刺激组 (11.02%) 的 2 倍, 表明持续刺激组的 BMDC 吞噬 FITC-OVA 的能力高于短期刺激组, 保持不成熟 DC 的高吞噬能力的特性。

### 2.4 CpG-ODN 持续刺激对 BMDC 诱导异基因淋巴细胞增殖能力的影响

将持续刺激、短期刺激和对照组的 BMDC 与同种异基因淋巴细胞混合培养, 测定其刺激淋巴细胞增殖的能力 (图 1)。结果显示, 持续刺激组和短期刺激组在 DC:T 细胞为 1:10、1:30 和 1:100 时都有显著性差异, 持续刺激组和对对照组比较无显著性差异, 表明 CpG-ODN 持续刺激的 BMDC 诱导 T 细胞增殖的能力明显弱于短期刺激组。

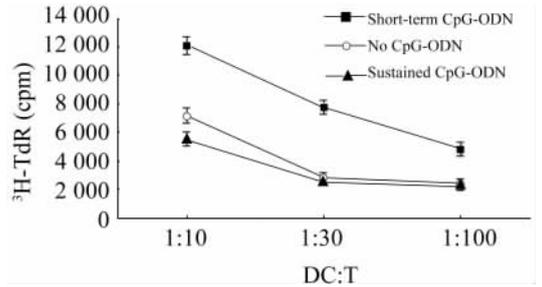


图 1 CpG-ODN 持续刺激对 BMDC 诱导同种异基因淋巴细胞增殖能力的影响

Fig. 1 Effects of long-term CpG-ODN stimulation on proliferation of allogenic lymphocytes induced by BMDCs

### 2.5 CpG-ODN 持续刺激对 BMDC 诱导同基因淋巴细胞增殖能力的影响

在持续刺激组和短期刺激组的 BMDC 摄取抗原 (OVA) 后, 再和同基因淋巴细胞混合培养, 检测其刺激淋巴细胞增殖的能力。结果 (图 2) 显示, 短期刺激组在不同的 DC:T 比例情况下, 刺激淋巴细胞增殖的能力都和持续刺激组有显著性差异; 持续刺激组在高比例 (1:10) 时也明显弱于未加刺激剂的对照组。

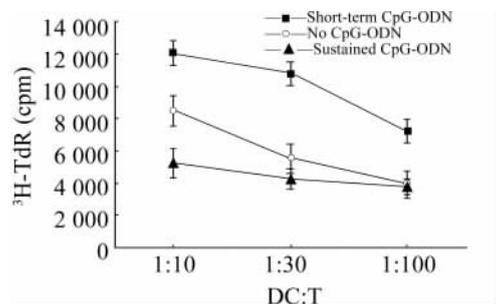


图 2 CpG-ODN 持续刺激对 BMDC 诱导同基因淋巴细胞增殖能力的影响

Fig. 2 Effects of long-term CpG-ODN stimulation on proliferation of homogenic lymphocytes induced by BMDCs

### 2.6 CpG-ODN 持续刺激对细胞凋亡的影响

在 CpG-ODN 持续刺激组中, BMDC 的数量明显减

少,约为  $(75 \pm 8.1) \times 10^4/\text{ml}$ ,而单次短期刺激组和未刺激组分别为  $(226 \pm 15.7) \times 10^4/\text{ml}$  和  $(157 \pm 8.9) \times 10^4/\text{ml}$ 。但在培养过程中,没有发现明显的细胞死亡。为此进一步检测了细胞凋亡,以分析 CpG-ODN 持续刺激是否可引起细胞凋亡而致细胞数减少。实验证明,线粒体膜电位的变化是凋亡的早期事件之一,主要表现为线粒体膜电势(MMR)的降低。因此,把线粒体探针 Rhodamine123(Rh123)低标记的细胞作为凋亡早期的细胞<sup>[8]</sup>。未刺激组、短期刺激组和持续刺激组的 Rh123 比例分别为 10.21%、11.80% 和 10.87%,无显著性差别。说明 CpG-ODN 持续刺激组细胞数减少的原因并不是由凋亡引起的。

### 2.7 CpG-ODN 持续刺激对细胞周期的影响

通过流式细胞仪检测了第 7 天的各组 BMDC 的细胞周期,未刺激组 BMDC 的  $G_2/M$  期细胞数占细胞总数的 2.19%,短期刺激组占 2.87%,而 CpG-ODN 持续刺激组 BMDC 的  $G_2/M$  期细胞数略有增加,达到了 3.91%,说明 CpG-ODN 持续刺激可能延长了 BMDC 的  $G_2/M$  期。

## 3 讨论

正常情况下,抗原提呈细胞如 DC 在吞噬自身的凋亡细胞后,由于缺乏共刺激信号,不能刺激 DC 的成熟而形成耐受状态,不产生自身免疫反应。而当病原体感染机体时,DC 可吞噬、加工外源性抗原,同时病原体的 PAMP 可通过 TLR 刺激 APC 成熟,其中成熟 DC 可激活初始 T 细胞,启动初次免疫反应<sup>[9]</sup>,并在 DC 产生的细胞因子的作用下,Th 细胞向 Th1 或 Th2 细胞定向分化,产生 Th1 或 Th2 反应<sup>[3,10-11]</sup>。因此,DC 的成熟与免疫反应的激发有极其重要的关系。在 DC 的成熟研究中,通常在 DC 的后期,予以 PAMP 的刺激可显著促进 DC 的成熟。但 CpG-ODN 持续刺激和 DC 成熟之间的关系仍不清楚。

在骨髓细胞分化的早期即用 CpG-ODN 刺激,以模拟 PAMP 持续存在的环境。结果发现培养早期予以 CpG-ODN 持续刺激组的 DC 中高表达 MHC II、CD86、CD40 的 DC 比例明显低于晚期短期刺激组和未刺激组。用 FITC 标记的 OVA 抗原。测试短期刺激和持续刺激的 DC 的吞噬功能,结果显示持续刺激的 DC 依然保持较高的吞噬能力。抗原提呈试验和混合淋巴细胞反应的结果也表明,在 CpG-ODN 持续存在的环境中生长的 DC 抗原提呈能力和刺激 T 细胞分化增殖的能力明显较弱。总之,在 CpG-ODN 持续刺激下的 DC 仍保存在不成熟状态,与 LPS 持续刺激的作用相似<sup>[12-13]</sup>。

DC 在成熟过程中,可产生多种细胞因子,其中 IL-

12p70 产生尤为重要。在局部淋巴结中,DC 产生的 IL-12p70 可激活并诱导初始 T 细胞向 Th1 方向分化;如果没有 IL-12p70 或量不足,则 Th 细胞可向 Th2 方向分化<sup>[3,9]</sup>。我们曾发现,LPS 持续刺激的 DC 分泌的 IL-12p70 明显减少<sup>[12-1]</sup>。CpG-ODN 持续刺激 DC,其分泌的 IL-12p70 也明显少于短期刺激组,说明 CpG-ODN 持续刺激下的 DC 可能难以激发 Th1 反应。

机体感染时,病原体可影响到 DC 从前体到成熟的各个阶段,减少 DC 的前体,干扰 DC 的分化、增殖<sup>[15]</sup>。CpG-ODN 持续刺激的 DC,不但处于不成熟状态,而且在数量上也明显少于未刺激组或短期刺激组。在 LPS 持续刺激下,也发现类似现象<sup>[6,14]</sup>。凋亡检测和细胞周期检测表明,这种数量上的减少,不是由 DC 凋亡引起,可能与细胞周期禁锢有关。

本实验显示了 LPS、CpG-ODN 在对 DC 的分化、增殖和成熟的影响上具有双重作用。一方面,CpG-ODN 可激活培养后期的 DC;另一方面,CpG-ODN 的持续存在又可抑制 DC 的成熟而且抑制骨髓细胞向 DC 方向的分化,即 DC 产生数量的减少。这种双重作用在生理和病理上可能都具有重要意义。在体内,DC 是一群处于不同分化阶段的群体,具有高度异质性。在感染时,LPS、CpG-ODN 可刺激分化后期的 DC 迅速上调 MHC 分子和共刺激分子,分泌一些促炎细胞因子,活化成为具有较强抗原提呈能力和初始 T 细胞激活能力的成熟 DC。然而 LPS、CpG-ODN 的持续存在,又可抑制新 DC 的产生,并抑制处于分化早期阶段 DC 的成熟和细胞因子的分泌<sup>[13]</sup>。机体对病原体的免疫反应强弱取决于这两种作用的平衡。如果抑制作用适度,可控制免疫反应强度,避免过强的反应损害正常的机体组织;在病原体数量较多、短期难以清除,或存在其他免疫抑制因素如严重创伤、烧伤、休克时,则 LPS、CpG-ODN 存在时间较长,抑制作用大于激活作用,可形成免疫抑制或免疫低下状态<sup>[6,14]</sup>。本实验中,DC 在受到 CpG-ODN 等长期刺激后,其成熟的抑制、细胞因子分泌的减少和分化数量的下降等现象,可能是导致持续的严重感染(SIRS)或长期迁延不愈的慢性感染的部分原因;同时,由于 CpG-ODN 持续刺激对 DC 分化、成熟和功能的抑制作用,在肿瘤治疗中可能也不宜长期持续应用。

在体外观察到的 CpG-ODN 持续刺激对 DC 的抑制现象,在体内的作用和机制以及这两种不同刺激方法对 DC 的胞内信号转导的差异仍有待于进一步研究和探讨。

### [参考文献]

[1] Janssens S, Beyaert R. Role of toll-like receptors in pathogen rec-

- ognition[J]. Clin Microbiol Rev, 2003, 16(4): 637-646.
- [2] Krieg AM. CpG motifs in bacterial DNA and their immune effects [J]. Annu Rev Immunol, 2002, 20: 709-60.
- [3] Mazzoni A, Segal DM. Controlling the Toll road to dendritic cell polarization[J]. J Leukoc Biol, 2004, 75(5): 721-730.
- [4] Winzler C, Rovere P, Rescigno M, et al. Maturation stages of mouse dendritic cells in growth factor - dependent long-term cultures [J]. J Exp Med, 1997, 185(2): 317-328.
- [5] Hartmann G, Weiner GJ, Krieg AM. CpG DNA: A potent signal for growth, activation, and maturation of human dendritic cells [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1999, 96(16): 9305-9310.
- [6] Wysocka M, Robertson S, Riemann H, et al. IL-12 suppression during experimental endotoxin tolerance: Dendritic cell loss and macrophage hyporesponsiveness [J]. J Immunol, 2001, 166(12): 7504-7513.
- [7] Inaba K, Inaba M, Romani N, et al. Generation of large numbers of dendritic cells from mouse bone marrow cultures supplemented with granulocyte/macrophage colony - stimulating factor [J]. J Exp Med, 1992, 176(6): 1693-1702.
- [8] Follstad BD, Wang DI, Stephanopoulos G. Mitochondrial membrane potential differentiates cells resistant to apoptosis in hybridoma cultures [J]. Eur J Biochem, 2000, 267(22): 6534-6540.
- [9] Tan JK, O'Neill HC. Maturation requirements for dendritic cells in T cell stimulation leading to tolerance versus immunity [J]. J Leukoc Biol, 2005, 78(2): 319-324.
- [10] Morelli AE, Zahorchak AF, Larregina AT, et al. Cytokine production by mouse myeloid dendritic cells in relation to differentiation and terminal maturation induced by lipopolysaccharide or CD40 ligation [J]. Blood, 2001, 98(5): 1512-1523.
- [11] Lanzavecchia A, Sallusto F. Regulation of T cell immunity by dendritic cells [J]. Cell, 2001, 106(3): 263-266.
- [12] 季海峰, 孙卫民, 陈杰, 等. LPS持续刺激对小鼠骨髓树突状细胞成熟的影响 [J]. 中华微生物学和免疫学杂志, 2004, 24(1): 1-4.
- [13] Xie J, Qian J, Wang S, et al. Novel and detrimental effects of lipopolysaccharide on *in vitro* generation of immature dendritic cells: Involvement of mitogen-activated protein kinase p38 [J]. J Immunol, 2003, 171(9): 4792-4800.
- [14] Karp CL, Wysocka M, Ma X, et al. Potent suppression of IL-12 production from monocytes and dendritic cells during endotoxin tolerance [J]. Eur J Immunol, 1998, 28(10): 3128-3136.
- [15] Rescigno M, Borrow P. The host-pathogen Interaction: New themes from dendritic cell biology [J]. Cell, 2001, 106(3): 267-270.
- [收稿日期] 2006-05-22 [修回日期] 2006-07-30
- [本文编辑] 王莹

· 简讯 ·

## 《实用肿瘤杂志》征订启事

《实用肿瘤杂志》是由中华人民共和国教育部主管,浙江大学主办的肿瘤专业学术性期刊。本刊为中国抗癌协会系列期刊、中国科技核心期刊、中国生物医学核心期刊、中国肿瘤学核心期刊,并被列为医学院校研究生教育 A 类期刊。本刊已入选中国学术期刊综合评价数据库统计源期刊,并被《中国科学引文数据库》、《中国期刊全文数据库》、《中国核心期刊(遴选)数据库》、《中文生物医学期刊文献数据库 - CMCC》、《中国生物医学期刊引文数据库 - CMCI》、《中文科技期刊数据库》等多家数据库收录。本刊突出实用性,主要栏目有专家论坛、专题讨论、基础与临床研究、技术与经验、药物与临床、流行病学调查、综述与讲座、误诊分析、短篇报道与个案等,适合于广大中、高级医务人员及从事肿瘤科研与动物学工作者阅读、参考。

《实用肿瘤杂志》为双月刊,大 16 开,92 页,每逢双月 10 日出版。每期定价 8.00 元,全年 48.00 元。本刊刊号 ISSN1001-1692 CN33-1074/R,邮发代号 32-87,国外发行代号 4816BM,全国各地邮局均可订阅。如邮局订阅延误,可汇款至浙江省杭州市解放路 88 号,浙江大学医学院附属第二医院《实用肿瘤杂志》编辑部补订。

电话(传真):(0571)87783654

邮编:310009

E-mail: shyzh1@zju.edu.cn

· 读者 · 作者 · 编者 ·

## 文稿中统计学符号规范化书写的要求

本刊严格遵守国家标准 GB3358-82《统计学名词及符号》的有关规定。为此,请作者书写统计学符号时注意以下要求:(1)样本的算术平均数用英文小写  $\bar{x}$ ,不用大写 X,也不用 Mean 或 M;(2)标准差用英文小写  $s$ ,不用 SD;(3)标准误用英文小写  $s_x$ ,不用 SE;(4) $t$  检验用英文小写  $t$ ;(5) $F$  检验用英文大写  $F$ ;(6)卡方检验用希腊文小写  $\chi^2$ ;(7)相关系数用英文小写  $r$ ;(8)自由度用希腊文小写  $\nu$ ;(9)样本数用英文小写  $n$ ;(10)概率用英文大写  $P$ ;(11)以上符号  $\bar{x}$ 、 $s$ 、 $s_x$ 、 $t$ 、 $F$ 、 $\chi^2$ 、 $r$ 、 $\nu$ 、 $n$ 、 $P$  均为斜体。请作者注意遵照执行。

(本刊编辑部)