

[文章编号] 1007-385X(2007)05-0440-05

旋毛虫虫体蛋白对肝癌细胞 H7402 的抑制作用

王学林^{1,2}, 杨世杰², 吴秀萍¹, 于申业¹, 叶春艳¹, 邓洪宽¹, 魏征仁², 王卫芳¹, 王芯蕊¹, 刘明远^{1*} (1. 吉林大学人兽共患病研究所人兽共患病教育部重点实验室, 长春 130062; 2. 吉林大学白求恩基础医学院药理教研室, 长春 130021)

[摘 要] 目的: 研究旋毛虫虫体蛋白对肝癌 H7402 细胞的抑制作用, 确认其对肝癌细胞的抗肿瘤活性。方法: 通过体内、体外培养获得旋毛虫成虫与新生幼虫的混合物, 采用匀浆、离心方法制备旋毛虫虫体蛋白, 紫外分光光度计检测蛋白浓度。分别设 0.035、0.070、0.140 mg/ml 与 H7402 细胞作用为实验组, 并设虫体蛋白对正常肝细胞 HL-7702 细胞作用为对照组, 采用 MTT 检测细胞增殖能力, 划痕实验、侵袭实验检测旋毛虫虫体蛋白对 H7402 的迁移及侵袭能力的影响, 采用 TUNEL 法和流式细胞术分析肿瘤细胞凋亡和细胞周期。结果: 成功制备了旋毛虫虫体蛋白。0.035、0.070、0.140 mg/ml 旋毛虫虫体蛋白对 H7402 细胞增殖的抑制率分别为(22.40 ± 13.80)%、(29.45 ± 16.80)%、(39.38 ± 17.80)%。TUNEL 实验和流式细胞术可观察到旋毛虫虫体蛋白诱导 H7402 凋亡, 其凋亡率为(39.07 ± 0.90)%。细胞周期阻滞于 S 期。划痕和侵袭的实验表明旋毛虫虫体蛋白对 H7402 细胞迁徙能力有抑制作用, 对其侵袭的抑制率为(63.79 ± 13.71)%。结论: 旋毛虫虫体蛋白对肝癌 H7402 细胞的增殖、迁移和侵袭具有抑制作用, 可能是一个有潜在应用价值的抗肝癌生物制剂。

[关键词] 旋毛虫; 抗肿瘤; 抗侵袭; 抗增殖

[中图分类号] R730.54; R735.7 [文献标志码] A

Inhibitory effect of *Trichinella spiralis* polypide protein on hepatic cancer cells H7402

WANG Xue-lin^{1,2}, YANG Shi-jie², WU Xiu-ping¹, YU Sheng-ye¹, YE Chun-yan⁴, DENG Hong-kuan¹, WEI Zheng-ren², WANG Wei-fang¹, WANG Xin-rui¹, LIU Ming-yuan^{1*} (1. Key Laboratory of Zoonoses Research of Ministry of Education, Institute of Zoonoses Research, Jilin University, Changchun 130062, China; 2. Department of Pharmacology, Bethune Basic Medicine College, Jilin University, Changchun 130021, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the inhibitory effect of *Trichinella spiralis* polypide protein on H7402 cell line *in vitro* and to assess its anti-tumor effect against hepatocellular carcinoma (HCC). **Methods:** The *Trichinella spiralis* polypide protein was isolated from adult worms and newborn mixture. *Trichinella spiralis* polypide protein was prepared through homogenization and centrifugation, and its concentrations were determined by UV-visible spectrometers. H7402 cells treated with *Trichinella spiralis* polypide protein (at 0.035, 0.070, 0.140 mg/ml) served as treatment group, and normal hepatic cell line HL-7702 treated with *Trichinella spiralis* polypide protein served as control group. Cell proliferation was detected by MTT; the effect of *Trichinella spiralis* polypide protein on migration and invasion ability of H7402 cell line was assessed by scarification test and invasion test. Cell apoptosis was observed by TUNEL. Apoptosis and cell cycle were analyzed by FCM. **Results:** *Trichinella spiralis* polypide protein was successfully prepared. The protein at 0.035, 0.070, 0.140 mg/ml inhibited H7402 cells proliferation by (22.40 ± 13.80)%, (29.45 ± 16.80)%, and (39.38 ± 17.80)%, respectively. Apoptosis was observed by TUNEL and FCM, with an apoptosis rate of (39.07 ± 0.90)%; the cell cycle was blocked at S phase. Scarification test and invasion test suggested that *Trichinella spiralis* polypide protein inhibited the migration and invasion of H7402 cell line, with the inhibition rate being (63.79 ± 13.71)%. **Conclusion:** *Trichinella spiralis* polypide protein can inhibit the proliferation, migration, invasion of H7402 cell line, and it might be a potential

[基金项目] 国家高技术研究发展(863)计划资助项目(No. 2006AA02Z451)。Supported by the National High Technology Research and Development Program of China(No. 2006AA02Z451)

[作者简介] 王学林(1971-), 男, 回族, 宁夏贺兰人, 博士, 副教授, 硕士生导师, 主要从事抗肿瘤分子药理学研究, E-mail: wxlwqx@shou.com

* Corresponding author. E-mail: liumy36@163.com

anti-cancer agent.

[**Key words**] *Trichinella spiralis*; antitumor; anti-invasion; antiproliferation

[Chin J Cancer Biother, 2007, 14(5): 440-444]

肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)在所有癌症相关死亡率中位居第三,寻找新的 HCC 生物治疗药物将有助于提高 HCC 的防治水平^[1]。旋毛虫是一种感染人或动物后可引起严重疾病的人兽共患寄生虫。研究^[2]表明,长期感染低于致死剂量旋毛虫 Swiss 鼠的乳腺癌发生率明显低于正常 Swiss 鼠;如果实验小鼠感染旋毛虫的同时或感染旋毛虫的 7 d 后在其皮下接种乳腺癌细胞或移植肿瘤块,在荷瘤后的 30 d 内实验小鼠的肿瘤要么根本不生长,要么长得很慢。此外,旋毛虫感染对小鼠 S180 肿瘤、B16 黑素瘤的成瘤有抑制作用^[3-7]。目前报道的旋毛虫抗肿瘤作用主要以活虫为研究对象,但活虫存在一定的安全隐患。本研究通过旋毛虫虫体蛋白体外的抗肿瘤实验确认其抗肿瘤活性,为获得高质量旋毛虫抗肿瘤蛋白以及研发新的抗 HCC 生物治疗药物奠定基础。

1 材料与方法

1.1 实验对象及主要试剂

旋毛虫(ISS 534)由吉林大学人兽共患病研究所保存,人肝癌细胞系 H7402、人正常肝细胞系 HL-7702 由吉林大学白求恩基础医学院药理学教研室惠赠,GIBCO 的 RMI 1640 和 IMDM 培养液购自美国 Invitrogen 公司,3-(4,5-二甲基噻唑-2)-2,5-二苯基四氮唑嗅盐(MTT)、二甲基亚砷(DMSO)、4,6-二脒基-2-苯吡啶盐酸(DAPI)和碘化丙啶(PI)购自美国 Sigma 公司,末端脱氧核苷酸转移酶介导的缺口末端标记(TUNEL)检测试剂盒购自美国 Promega 公司,Transwell 小室购自美国 Costar 公司,Matrigel 胶购自美国 BD 公司。

1.2 旋毛虫虫体蛋白的制备^[8]

通过感染 35 d 后 ICR 鼠采用人工消化法获得旋毛虫(ISS 534)肌幼虫,该肌幼虫用于口服感染实体瘤模型鼠。旋毛虫成虫来自口服感染 5 d 的实验用 Wistar 大鼠的小肠,挑选有繁殖能力的成虫在 RMI 1640 培养液中培养 24 h,3 000 r/min 离心 1 min 获得旋毛虫成虫与新生幼虫的混合物,混合物被匀浆后 10 000 × g 离心 5 min,上清采用澳大利亚的 Cintra303 紫外分光光度计测定蛋白浓度,不同批次上清浓缩或稀释后获得含蛋白 1.40 mg/ml 的虫体蛋白,贮存在 -20 ℃ 供实验用。

1.3 肿瘤细胞的培养与传代

从液氮罐中取出 H7402、HL-7702 细胞,常规方法复苏后置于含 10% 小牛血清的 IMDM 培养液中。在超净台中用吸管将细胞吹打混匀,取 1 ml 置于新培养瓶中,依次加入 8 ml IMDM 培养液、1 ml 胎牛血清。将传代后细胞重新放回 37 ℃、5% CO₂ 孵箱中培养。将 H7402、HL-7702 细胞连续体外传代 20 次后,可获得相对纯净的肿瘤细胞用于后面实验。

1.4 MTT 法检测旋毛虫虫体蛋白对 H7402 和 HL-7702 细胞增殖的影响

1 × 10⁶/ml 细胞接种于 96 孔细胞培养板,每孔 100 μl,过夜;待细胞贴壁,弃去培养液,换含 0.035、0.070、0.140 mg/ml 虫体蛋白的培养液 100 μl,每组设 12 个复孔,并设无虫体蛋白空白对照组,培养 72 h 后每孔加入 MTT(5 g/L)10 μl,继续培养 2 h;弃去培养液,每孔加入 DMSO 150 μl,室温震荡 15 min;酶联免疫检测仪检测 570 nm 波长的 D 值,最后结果取 12 个复孔的均值,以未处理组做对照,重复 4 次。旋毛虫虫体蛋白对 H7402 和 HL-7702 增殖的影响采用抑制率来评价,抑制率(%) = (1 - 实验组 D₅₇₀/对照组 D₅₇₀) × 100%^[9]。

1.5 划痕实验检测旋毛虫虫体蛋白对 H7402 细胞迁移能力的影响

取合适增殖细胞,胰蛋白酶消化后以 1 × 10⁶/ml 细胞密度接种于 6 孔培养板上,贴壁 12 h 后换无血清培养液培养 24 h,细胞基本融合。用无菌的 P20-pipette tip 枪头垂直在培养板底划平行、垂直的“划痕”,用无血清培养液冲洗若干次,以洗去划痕处的细胞。加入含虫体蛋白 0.140 mg/ml 的培养液在无血清条件下培养 8 h,4% 甲醛液固定,4,6-二脒基-2-苯基吡啶(4'-6-diamidino-2-phenylindole, DAPI)染色观察细胞迁移情况。激光共聚焦显微镜(OLYMPUS, FV500, Japan)观察,每组设双复孔,进行 3 次独立实验^[10]。

1.6 基底膜侵袭实验检测旋毛虫虫体蛋白对 H7402 侵袭能力的影响

将 Transwell 小室放置 24 孔板内,将 Matrigel 胶 1:3 稀释,每孔加入 600 μl。放置 37 ℃ 培养箱内 30 min;在 24 孔板内加入 200 μl 3T3 细胞上清液,将 1 mg/ml 罗丹明 123 加入细胞(对数生长期)内,1 000 r/min 离心 5 min, PBS 冲洗,1 000 r/min 离心 5

min, 悬于含有 0.1% 小牛血清、含虫体蛋白 0.140 mg/ml IMDM 培养液中, 终细胞密度为 1×10^6 /ml; 细胞悬液加到 Transwell 小室中, 每小室 100 μ l, 37 $^{\circ}$ C、5% CO₂ 温箱中孵育 4 h。激光共聚焦显微镜于 400 倍视野下采集图像^[11], 计数穿过 Matrigel 胶的细胞数。侵袭抑制率 (IR) (%) = (对照组 - 给药组)/对照组 \times 100%^[12]。

1.7 TUNEL 实验检测旋毛虫虫体蛋白对 H7402 凋亡的诱导作用

取对数生长期(细胞密度为 1×10^6 /ml) H7402 细胞加入已置玻片的 24 孔培养板内, 用含虫体蛋白 0.140 mg/ml 的培养液培养 24 h, 同时设立空白对照组。取出玻片, 4% 多聚甲醛室温固定 30 min, PBS 洗 3 次, 然后按试剂盒说明操作, 激光共聚焦显微镜观察凋亡细胞为绿色荧光^[13]。

1.8 流式细胞术测定旋毛虫虫体蛋白对 H7402 细胞周期的影响

收集 0.140 mg/ml 虫体蛋白作用 24 h 后的 H7402 细胞和生理盐水处理的对照组细胞, 1 000 r/min 离心 5 min, 弃上清液, 用 PBS 洗涤 1 次, 用冰预冷的 70% 乙醇在 4 $^{\circ}$ C 固定 24 h。PBS 洗涤 2 次并悬浮之, 加入 RNase 37 $^{\circ}$ C 恒浴 1 h, 再加入 PI 染液, 摇匀后 4 $^{\circ}$ C 避光静置 1 h, 采用美国 BD 公司的流式细胞术进行细胞周期分析, 低于 G₁ 期 DNA 含量细胞为凋亡细胞^[14]。

1.9 统计学处理

采用 SPSS 10.0 (SPSS Inc, Chicago, IL) 软件处理, 数据表示为 $\bar{x} \pm s$, 采用配对 *t* 检验。

2 结果

2.1 虫体蛋白对 H7402 和 HL-7702 增殖的影响

HL-7702 和 H7402 细胞被用含总蛋白 0.035、0.070、0.140 mg/ml 的旋毛虫虫体蛋白分别处理 24 h 后, 其抑制率变化如图 1。各剂量组同对照组及组间两两比较结果表明, 不同蛋白含量的旋毛虫虫体蛋白均不同程度地抑制了 H7402 细胞的增殖, 而对正常肝细胞 HL-7702 的增殖抑制没有统计学意义。

2.2 虫体蛋白对 H7402 细胞迁移能力的影响

图 2 中对照组 (A) 培养 0 h 划痕区域宽度为 457.6 μ m, 虫体蛋白处理组 (C) 培养 0 h 划痕区域宽度为 528.0 μ m; 培养 8 h 后对照组 (B) 裸露区域宽度为 123.2 μ m, 0.140 mg/ml 虫体蛋白处理组 (D) 裸露区域宽度为 466.4 μ m, 结果表明旋毛虫虫体蛋白对 H7402 细胞迁移能力有抑制作用。

2.3 旋毛虫虫体蛋白对 H7402 侵袭能力的影响

同对照组比较, 培养 4 h 后 0.140 mg/ml 的旋毛虫虫体蛋白给药组穿过 Matrigel 胶的细胞数明显低于对照组, 且具备侵袭能力的细胞数明显低于对照组 [(101.67 \pm 67.21) vs (288 \pm 28.84)], 其抑制率为 (63.79 \pm 13.71)%。结果表明旋毛虫虫体蛋白可明显抑制 H7402 细胞的侵袭能力。

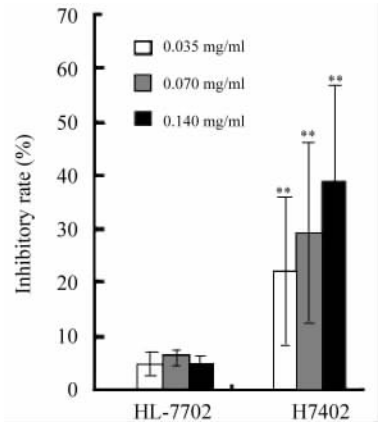


图 1 虫体蛋白对 HL-7702、H7402 细胞增殖的抑制作用

Fig. 1 Anti-proliferation effect of *Trichinella spiralis* polypide protein on HL-7702 and H7402 cells

** *P* < 0.01 vs HL-7702

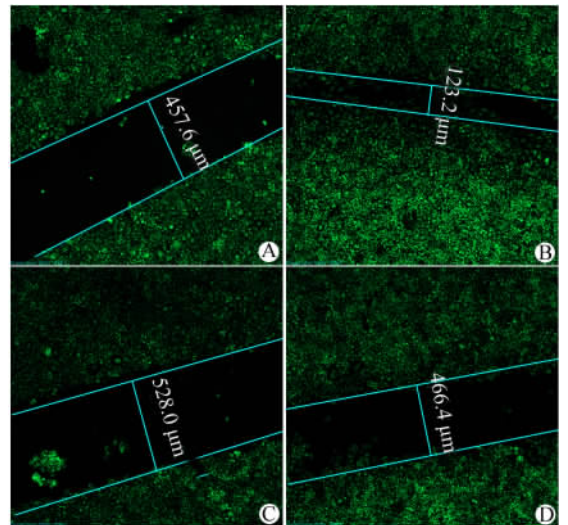


图 2 虫体蛋白对 H7402 细胞迁移能力的影响 (×100)

Fig. 2 Influence of *Trichinella spiralis* polypide protein on migration of H7402 cells (×100)

A: H7402 cells untreated for 0 h; B: H7402 cells untreated for 8 h; C: H7402 cells treated for 0 h; D: H7402 cells treated for 8 h

2.4 旋毛虫虫体蛋白对 H7402 凋亡的诱导作用

图 3 中绿色荧光为凋亡细胞, 红色荧光为正常细胞。细胞培养 24 h 后, 对照组 (A) 细胞没有明显观察到凋亡, 0.140 mg/ml 虫体蛋白处理组 (B) 细胞

发生明显凋亡。TUNEL 分析表明,旋毛虫虫体蛋白可诱导 H7402 细胞凋亡。

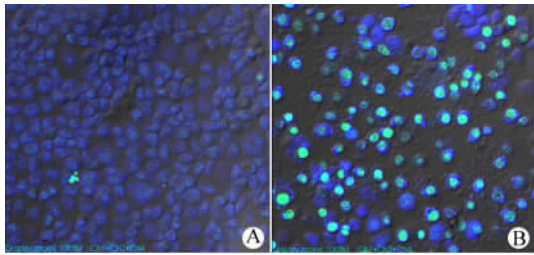


图3 旋毛虫虫体蛋白对 H7402 凋亡的诱导作用(×100)

Fig. 3 H7402 cell apoptosis induced by *Trichinella spiralis* polypide protein(×100)

A: H7402 cells untreated; B: H7402 cells treated

2.5 虫体蛋白对 H7402 细胞周期和凋亡的影响

细胞周期分析表明,0.140 mg/ml 的旋毛虫虫体蛋白可诱导 H7402 细胞凋亡,凋亡率为(39.07 ±

0.90)% ,明显高于对照组细胞($P < 0.05$);其诱导细胞周期阻滞在 S 期,具体结果如表 1。

3 讨论

旋毛虫肌幼虫感染小肠并产生新生幼虫,新生幼虫穿过小肠壁随血液进入骨骼肌并形成包囊。感染旋毛虫的肌细胞发生变形,最终形成保姆细胞^[15]。在保姆细胞形成期间,线粒体相关的凋亡因子调控肌细胞分化、增殖和凋亡^[16]。目前对旋毛虫抗肿瘤研究仅限于活虫对实体瘤的抑制,对其作用机制也仅限于虫体激活宿主免疫系统,而对于旋毛虫抗肿瘤活性物质的研究至今未见报道。资料表明,旋毛虫在完成其生活史期间可能产生某种生物活性物质,而该物质才有可能抑制癌细胞。故本实验采用离心浓缩获得的旋毛虫肌成虫和新生幼虫提取物中的虫体总蛋白应用于研究。

表 1 旋毛虫虫体蛋白对细胞周期的影响

Tab. 1 Effect of *Trichinella spiralis* polypide protein on cell cycle

| Groups | G ₁ (%) | G ₂ (%) | S(%) | G ₁ /G ₂ | Apoptosis(%) | Debris(%) |
|------------------|--------------------|--------------------|-----------------|--------------------------------|-----------------|----------------|
| Control | 78.11 ± 9.81 | 5.30 ± 4.77 | 16.58 ± 5.14 | 1.77 ± 0.25 | 0.74 ± 0.06 | 0.98 ± 0.92 |
| Polypide protein | 56.82 ± 0.01 ** | 0.85 ± 0.01 ** | 42.47 ± 2.64 ** | 1.79 ± 0.05 ** | 39.07 ± 0.90 ** | 0.10 ± 0.00 ** |

** $P < 0.01$ vs control group

每年全球 HCC 发病率大约在 50 万至 100 万。美国和欧洲发病率较低,但是在亚洲和非洲某些地区每年达每 10 万人中就有 500 人发病^[17]。而有许多肝癌的发生和病毒有关,旋毛虫在家兔对 Shope's 纤维瘤病毒以及由其引起的肿瘤产生抑制作用^[18]。H7402 细胞系为较成熟的肝癌研究用细胞系,因此通过研究旋毛虫虫体蛋白抗 H7402 作用,有助于研发抗肝癌药物。本研究结果表明,旋毛虫虫体蛋白可有效抑制 H7402 细胞系的增殖和侵袭,而这一作用可能来自旋毛虫虫体蛋白对 H7402 细胞系的凋亡诱导作用。资料显示,在旋毛虫保姆细胞形成期间参与了 TNF- α /TNFR-1 介导的细胞凋亡途径^[19]。Boonmars^[20]发现在旋毛虫包囊形成期间线粒体表达的相关凋亡基因 *bax*、*Apaf-1*、*Caspase9* 和丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶升高。在旋毛虫感染肌肉组织期间,c-Ski 通过 TGF- β 信号途径参与保姆细胞形成^[21]。基于以上研究推断,旋毛虫虫体蛋白调控凋亡可能的机制是通过有效蛋白,该蛋白可能通过调控凋亡相关基因激活线粒体或死亡受体凋亡途径促

进了 H7402 细胞凋亡。本研究中旋毛虫虫体蛋白对细胞周期分析表明,旋毛虫虫体蛋白可诱导 H7402 细胞凋亡在 S 期。资料^[22]显示旋毛虫感染肌细胞可使感染细胞的细胞周期长期停滞在 G₂/M 期。Boonmars^[20]研究表明在旋毛虫包囊形成期间循环素依赖激酶抑制因子 p21 表达上调,是否 p21 参与了 H7402 细胞周期的调控值得进一步研究。因此,研究旋毛虫生物活性蛋白和凋亡的相互关系,将有望获得理想的抗肿瘤效果。资料^[23]显示嗜酸性细胞在对抗旋毛虫感染的免疫反应中扮演积极角色,正常的嗜酸性细胞对凋亡是敏感的,而感染旋毛虫的嗜酸性细胞却能抵抗凋亡。本研究也表明旋毛虫虫体蛋白在体外对正常的肝细胞 HL-7702 增殖的影响无统计学意义,基于以上研究,旋毛虫可以被考虑作为抗肝癌生物制剂的来源。

致谢 感谢吉林大学白求恩基础医学院李红老师,感谢教育部重点实验室和人兽共患病研究所各位老师对本研究提供帮助。

[参 考 文 献]

- [1] Zhu AX. Systemic therapy of advanced hepatocellular carcinoma: how hopeful should we be[J]? *Oncologist*, 2006, 11(7): 790-800.
- [2] 吴 涛, 张西臣, 李建华, 等. 旋毛虫抗小鼠体内 SP2/0 肿瘤作用的研究[J]. *中国病原生物学杂志*, 2005, 18(6): 445-447.
- [3] Weatherly NF. Increased survival of Swiss mice given sublethal infections of *Trichinella spiralis*[J]. *J Parasitol*, 1970, 56(4): 748-752.
- [4] Ogilvie BM, Simpson E, Keller R. Tumour growth in nematode-infected animals[J]. *Lancet*, 1971, 1(7701): 678-680.
- [5] Lubiniecki AS, Cypess RH. Quantitative study of the effect of previous *Trichinella spiralis* infection on sarcoma 180 ascitic tumor formation in mice[J]. *Tropenmed Parasitol*, 1975, 26(3): 329-334.
- [6] Molinari JA, Ebersole JL. Antineoplastic effects of long-term *Trichinella spiralis* infection on B-16 melanoma[J]. *Int Arch Allergy Appl Immunol*, 1977, 55(1-6): 444-448.
- [7] Molinari JA, Carrick L Jr, Lubiniecki AS. Influence of *Trichinella spiralis* infection on development of sarcoma-180 ascites tumors [J]. *Tropenmed Parasitol*, 1979, 30(4): 429-433.
- [8] Fu BQ, Liu MY, Kapel CM, *et al.* Cloning and analysis of a novel cDNA from *Trichinella spiralis* encoding a protein with an FYVE zinc finger domain[J]. *Vet Parasitol*, 2005, 132(1-2): 27-30.
- [9] Fang HM, Mei Q, Xu JM, *et al.* 5-aminosalicylic acid in combination with nimesulide inhibits proliferation of colon carcinoma cells *in vitro*[J]. *World J Gastroenterol*, 2007, 13(20): 2872-2877.
- [10] Zhang R, Gong J, Wang H, *et al.* Bile salts inhibit growth and induce apoptosis of human esophageal cancer cell line [J]. *World J Gastroenterol*, 2005, 11(33): 5109-5116.
- [11] Gutova M, Najbauer J, Gevorgyan A, *et al.* Identification of uPAR-positive chemoresistant cells in small cell lung cancer[J]. *PLoS ONE*, 2007, 2(2): e243.
- [12] 何太平, 莫丽儿, 梁念慈. 半边旗提取物 5F 对高转移卵巢癌细胞 HO-8910PM 侵袭转移的影响[J]. *中国药理学通报*, 2005, 21(5): 540-544.
- [13] Chen D, Kennedy A, Wang JY, *et al.* Activation of EDTA-resistant gelatinases in malignant human tumors [J]. *Cancer Res*, 2006, 66(20): 9977-9985.
- [14] Yu FR, Lian XZ, Guo HY, *et al.* Isolation and characterization of methyl esters and derivatives from *Euphorbia kansui* (*Euphorbiaceae*) and their inhibitory effects on the human SGC-7901 cells[J]. *J Pharm Pharm Sci*, 2005, 8(3): 528-535.
- [15] Beiting DP, Park PW, Appleton JA. Synthesis of syndecan-1 by skeletal muscle cells is an early response to infection with *Trichinella spiralis* but is not essential for nurse cell development[J]. *Infect Immun*, 2006, 74(3): 1941-1913.
- [16] Boonmars T, Wu Z, Nagano I, *et al.* Differences and similarities of nurse cells in cysts of *Trichinella spiralis* and *T. pseudospiralis* [J]. *J Helminthol*, 2004, 78(1): 7-16.
- [17] Tward AD, Jones KD, Yant S, *et al.* Distinct pathways of genomic progression to benign and malignant tumors of the liver[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2007, 104(37): 14771-14776.
- [18] Furze RC, Hussell T, Selkirk ME. Amelioration of influenza-induced pathology in mice by coinfection with *Trichinella spiralis* [J]. *Infect Immun*, 2006, 74(3): 1924-1932.
- [19] Wu Z, Nagano I, Boonmars T, *et al.* Tumor necrosis factor receptor-mediated apoptosis in *Trichinella spiralis*-infected muscle cells [J]. *Parasitology*, 2005, 131(Pt 3): 373-381.
- [20] Boonmars T, Wu Z, Nagano I, *et al.* What is the role of p53 during the cyst formation of *Trichinella spiralis*? A comparable study between knockout mice and wild type mice [J]. *Parasitology*, 2005, 131(Pt 5): 705-712.
- [21] Wu Z, Nagano I, Boonmars T, *et al.* Involvement of the c-Ski oncoprotein in cell cycle arrest and transformation during nurse cell formation after *Trichinella spiralis* infection[J]. *Int J Parasitol*, 2006, 36(10-11): 1159-1166.
- [22] Frydas S, Papaioannou N, Papazahariadou M, *et al.* Inhibition of MCP-1 and MIP-2 chemokines in murine trichinellosis: effect of the anti-inflammatory compound L-mimosine[J]. *Int J Immunopathol Pharmacol*, 2005, 18(1): 85-94.
- [23] Dixon H, Blanchard C, Deschoolmeester ML, *et al.* The role of Th2 cytokines, chemokines and parasite products in eosinophil recruitment to the gastrointestinal mucosa during helminth infection [J]. *Eur J Immunol*, 2006, 36(7): 1753-1763.
- [收稿日期] 2007 - 07 - 12 [修回日期] 2007 - 08 - 20
- [本文编辑] 郁晓路

· 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 GB 3358 - 93《统计学术语》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)卡方检验用希文小写 χ^2 ;(7)相关系数用英文小写 r ;(8)自由度用希文小写 ν ;(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 、 χ^2 、 r 、 ν 、 n 、 P 均为斜体。请作者注意遵照执行。

(本刊编辑部)