

· 基础研究 ·

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2011.02.005

新城疫病毒 7793 株抑制人结肠癌 LoVo 细胞裸鼠移植瘤的生长及其机制

肖庆¹, 黄川², 樊晓晖¹, 宋德志¹, 梁莹¹, 宫金伶¹, 王立芳¹, 刘金颖¹, 赖振屏¹(1. 广西医科大学 微生物学教研室, 广西南宁 530021; 2. 中国科学院 上海生命科学研究院健康科学所, 上海 200025)

[摘要] 目的: 观察新城疫病毒 7793 株(Newcastle disease virus 7793 strain, NDV 7793)对人结肠癌 LoVo 细胞裸鼠移植瘤生长的作用, 并探讨其可能机制。方法: 建立 LoVo 细胞裸鼠移植瘤模型, 随机分成 3 组, 分别静脉注射 PBS、5-FU 以及 NDV 7793, 观察各组裸鼠肿瘤的生长情况, 流式细胞术检测移植瘤细胞的坏死率和凋亡率, 免疫组织化学法检测移植瘤组织中 Bax、Bcl-2 蛋白的表达, 细胞色素 C 试剂盒检测移植瘤组织中细胞色素 C 的含量, ELISA 法检测移植瘤组织中 TNF- α 含量。结果: NDV 7793 较 5-FU 更明显抑制 LoVo 细胞移植瘤的生长(抑制率 50.14% vs 37.14%, $P < 0.05$)。NDV 7793 组移植瘤 LoVo 细胞凋亡率显著高于 5-FU 对照组[(28.7 \pm 1.5)% vs (1.46 \pm 0.3)%], 且 NDV 7793 组诱导 LoVo 细胞的凋亡率和坏死率[(28.7 \pm 1.5)% vs (27.80 \pm 3.32)%]相当。NDV 7793 能促进移植瘤组织中 Bax 蛋白的表达, 对 Bcl-2 蛋白的表达无影响。NDV 7793 可提高移植瘤组织中的细胞色素 C 含量[(2.28 \pm 0.68) vs (0.68 \pm 0.13) $\mu\text{g}/\mu\text{l}$]和 TNF- α 的水平[(489.6 \pm 5.2) vs (167.9 \pm 3.9) pg/ml]。结论: NDV 7793 可抑制人结肠癌 LoVo 细胞移植瘤的生长, 其机制可能与其上调 Bax 蛋白、细胞色素 C 和 TNF- α 的表达, 以及促进肿瘤细胞凋亡有关。

[关键词] 新城疫病毒; 结肠癌; 移植瘤; 凋亡; 坏死

[中图分类号] R735.3⁺.5; R730.54

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-385X(2011)02-0144-05

Inhibitory effect of Newcastle disease virus 7793 strain on human colon carcinoma LoVo cell-transplanted tumors in nude mice and the possible mechanism

XIAO Qing¹, HUANG Chuan², FAN Xiao-hui¹, SONG De-zhi¹, LIANG Ying¹, GONG Jin-ling¹, WANG Li-fang¹, LIU Jin-ying¹, LAI Zhen-ping¹(1. Department of Microbiology, Guangxi Medical University, Nanning 530021, Guangxi, China; 2. Institute of Health Sciences, Shanghai Institute of Biological Sciences, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 200025, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the effects of Newcastle disease virus 7793 strain (NDV 7793) on the growth of human colon carcinoma LoVo cell-transplanted tumors in nude mice and the possible mechanism. **Methods:** Mouse models of LoVo cell-transplanted tumor were established and were randomly divided into 3 groups: intravenously injected with PBS, 5-FU and NDV 7793 groups. Tumor growth was observed in different groups, the apoptosis and necrosis rates of tumor cells were detected by FCM, expressions of Bax and Bcl-2 proteins were analyzed by immunohistochemical method, cyto-C level in tumor tissues was detected by cyto-C kit, and the concentration of TNF- α in tumor tissues was examined by ELISA. **Results:** NDV 7793 significantly inhibited the growth of LoVo-transplanted tumors compared with 5-FU (50.14% vs 37.14%, $P < 0.05$). The apoptosis rate of LoVo-transplanted tumor cells in NDV 7793 group was significantly higher than that in 5-FU group [(28.7 \pm 1.5)% vs (1.46 \pm 0.3)%], and LoVo-transplanted tumor cells had a similar apoptosis rate and necrosis rate in NDV 7793 group [(28.7 \pm 1.5)% vs (27.80 \pm 3.32)%]. NDV 7793 enhanced the expression of Bax, but not Bcl-2, in LoVo-transplanted tumor tissues, NDV 7793 also increased the cyto-C [(2.28 \pm 0.68) vs (0.68 \pm 0.13) $\mu\text{g}/\mu\text{l}$] and TNF- α levels [(489.6 \pm 5.2) vs (167.9 \pm 3.9) pg/ml] in LoVo-transplanted tumor tis-

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目(No. 30860328); 广西教育厅科研项目(No. 200810MS059)。Project supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 30860328), and the Scientific Research Program of Education Bureau of Guangxi Province (No. 200810MS059)

[作者简介] 肖庆(1969-), 女, 瑶族, 广西省平乐市人, 讲师, 主要从事分子免疫学与分子病毒学研究。E-mail: xiaoqinggx@163.com

[通信作者] 樊晓晖(FAN Xiao-hui, corresponding author), E-mail: fanxiaohui63@yahoo.com

[网络出版] <http://www.cnki.net/kcms/detail/31.1725.R.20110412.1821.008.html>

sues. **Conclusion:** NDV 7793 can inhibit the growth of human colon carcinoma LoVo cell-transplanted tumors, which may be related to the up-regulation of Bax, cyto-C and TNF- α and the subsequent apoptosis of tumor cells.

[**Key words**] Newcastle disease virus; human colon carcinoma; transplanted tumor; apoptosis; necrosis

[Chin J Cancer Biother, 2011, 18(2): 144-148]

新城疫病毒(Newcastle disease virus, NDV)主要感染禽类致病,在人免疫功能低下的情况下也能感染人^[1]。19世纪50年代初期,一名农场主因感染NDV而使其晚期胃癌的转移受到抑制,这一现象引起了众多学者的注意,特别是Csatory对NDV进行了系列的基础和临床研究^[2-6]。随后研究^[7-16]发现,NDV能选择性杀伤人类肿瘤细胞并诱导细胞凋亡。本研究观察新城疫病毒NDVWDK/JX/7793/2004株(简称NDV 7793)对人结肠癌LoVo细胞裸鼠移植瘤生长的抑制作用,并初步探讨其作用机制。

1 材料与方法

1.1 实验动物与主要试剂

BALB/c裸鼠,SPF级,鼠龄4~5周,体质量(20±1)g,雌雄各半,购于上海斯莱克实验动物有限责任公司(实验动物合格证号No.1011131)。人结肠癌细胞株LoVo购自中科院上海生命科学研究院细胞资源中心。NDV 7793分离自江西鄱阳湖的野鸭,由香港大学李嘉诚医学院微生物学系管轶教授馈赠。RPMI 1640培养基购自美国Gibco公司,胎牛血清购自杭州四季青生物工程材料有限公司,胰酶购自BBT公司,注射用5-FU购于南通精华制药有限公司(批准文号No.H32022246)。Bcl-2、Bax兔抗大鼠多克隆抗体购自Santa Cruz公司。Annexin V-FITC/PI凋亡检测试剂盒购自南京凯基生物公司,动物细胞/组织细胞色素C检测试剂盒和蛋白质浓度定量试剂盒购自美国Genmed Scientifics公司,PV6001即用型二步法(非生物素)检测试剂盒和DAB显色试剂盒购自北京中山生物试剂公司,TNF- α ELISA试剂盒购自奥地利Bender MedSystems GmbH公司。

1.2 LoVo细胞裸鼠移植瘤模型的建立及分组处理

RPMI 1640培养LoVo细胞至对数生长期,胰酶消化后RPMI-1640洗涤2次,180×g离心5 min收集细胞,调整细胞密度至5×10⁷/ml,备用。裸鼠右侧腋窝皮下接种0.2 ml/只,皮下接种7 d后明显成瘤。待肿瘤长径、宽径分别达到5 mm后,将荷瘤小鼠随机分为NDV 7793组(1×10⁷ PFU/L)、5-FU对照组(75 mg/kg)、PBS对照组。每组6只荷瘤小鼠,各组荷瘤小鼠分别在第0、1、2周注射NDV、5-FU和

PBS,共3次,每次尾静脉注射0.1 ml/只,停止注射后,继续观察4周。

1.3 LoVo细胞裸鼠移植瘤抑瘤率的测定

从注射之日起,每天观察小鼠的活动、精神状态、移植瘤的增长状况,以及移植瘤有无红肿、破溃。每3 d测量肿瘤长径(L)和宽径(W)1次,计算肿瘤体积(V),肿瘤体积(V)=(L×W²)/2,绘制肿瘤生长曲线。观察荷瘤小鼠肿瘤转移及腹水形成情况,观察结束后剥取肿瘤组织,计算肿瘤抑瘤率。抑瘤率(%)=(对照组平均瘤重-实验组平均瘤重)/对照组平均瘤重×100%

1.4 流式细胞术检测NDV 7793对LoVo细胞凋亡的影响

取新鲜移植瘤组织,PBS洗3次。机械-酶消化法处理瘤组织制备单细胞悬液,用凋亡试剂盒Annexin V-FITC/PI双染色法,采用流式细胞仪检测各组LoVo细胞的凋亡率、死亡率。肿瘤细胞凋亡率(%)=Count(D4)/Count(D1+D2+D3+D4)×100%,肿瘤细胞死亡率(%)=Count(D2)/Count(D1+D2+D3+D4)×100%。

1.5 免疫组织化学法检测肿瘤组织中Bax、Bcl-2凋亡蛋白的表达

应用免疫组织化学S-P两步法。移植瘤组织石蜡切片经脱蜡水化、高压法抗原修复、3%过氧化氢封闭内源性过氧化物酶后,滴加兔抗大鼠多克隆抗体(Bax或Bcl-2,分别1:50稀释)37℃孵育2 h,然后滴加大鼠抗兔多克隆抗体(1:50)37℃孵育1 h,DAB显色,苏木素复染30 s,封片。采用免疫组化评分H-score法计算免疫组化积分:显微镜下随机选择5个高倍镜视野(×400),记录阳性细胞百分率并记分:<5%记0分,5%~25%记1分,26%~50%记2分,51%~75%记3分,>75%记4分。细胞着色强度以多数阳性细胞呈现的染色来记分:淡黄色记1分,棕黄色记2分,棕褐色记3分。将阳性细胞百分率记分和细胞着色记分相乘即为免疫组化积分:0分为(-),1~4分为(+),5~8分为(++),9分为(+++)。

1.6 移植瘤组织细胞色素C的检测

裸鼠处死后取新鲜移植瘤组织,用无菌PBS清洗,组织匀浆后获得细胞裂解液。根据细胞色素C

试剂盒说明书步骤进行操作:在待测细胞液中加入适量的 GENMED 标准液和 GENMED 补充液,最后加入 50 μ l GENMED 反应液,混匀,暗室孵育 5 min, 595 nm 波长处测量光密度值(D),绘制出标准曲线。然后依次移取 20 μ l 待测细胞液、180 μ l GENMED 补充液和 50 μ l GENMED 反应液,操作步骤同上,根据标准曲线测出待测移植瘤组织细胞色素 C 含量。

1.7 ELISA 检测移植瘤组织中 TNF- α 的表达

匀浆器碾磨移植瘤组织,12 000 \times g 离心 10 min,取上清,按 ELISA 试剂盒说明书步骤操作,测定移植瘤组织中 TNF- α 含量。

1.8 统计学处理

各组数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 SPSS13.0 软件,多个样本均数的两两比较采用方差分析。P < 0.05 或 P < 0.01 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 NDV 7793 抑制 LoVo 细胞移植瘤的生长

LoVo 细胞荷瘤小鼠经不同处理后,定期测定肿瘤的长径和宽径,绘制肿瘤生长曲线。由图 1 可见,治疗期间 PBS 组、5-FU 阳性对照组和 NDV 7793 组的生长速度不同,其中 PBS 组肿瘤体积增长速度最快,5-FU 阳性对照组次之,NDV 7793 组最慢。从第 3 周开始,5-FU 组肿瘤体积迅速上升至(292. 48 \pm 75. 3) mm³,而 NDV 7793 组仅上升至(188. 8 \pm 46. 2) mm³(图 1)。治疗结束时 PBS 对照组平均肿瘤体积为(1910. 79 \pm 380. 1) mm³,5-FU 阳性对照组平均肿瘤体积为(1061. 02 \pm 130. 6) mm³,NDV 7793 组平均肿瘤体积为(705. 53 \pm 150. 4)mm³,由此可见,NDV 7793 比 5-FU 更能抑制 LoVo 细胞移植瘤的生长。

计算每组荷瘤小鼠的抑瘤率,结果发现,NDV 7793 组抑瘤率可高达 50. 14% ,显著高于 5-FU 阳性对照组和 PBS 对照组(37. 14% ,0,P < 0. 01)。说明 NDV 7793 可明显抑制 LoVo 细胞移植瘤的生长。

2.2 NDV 7793 促进 LoVo 移植瘤细胞的凋亡

将 LoVo 移植瘤组织消化成单细胞悬液,以 Annexin V-FITC/PI 双染色法检测各组 LoVo 移植瘤细胞的凋亡。结果(图 2)发现,5-FU 和 NDV 7793 引起肿瘤细胞的死亡方式不同,5-FU 组坏死率是(42. 20 \pm 2. 39)% ,凋亡率是(1. 46 \pm 0. 3)% ,可见 5-FU 主要通过坏死的方式引起细胞死亡。NDV 7793 组 LoVo 细胞凋亡率是(28. 7 \pm 1. 5)% ,显著高于 PBS 阴性对照组的(2. 85 \pm 0. 58)% 和 5-FU 阳性

对照组的(1. 46 \pm 0. 3)% ,且 NDV 7793 诱导 LoVo 细胞的凋亡率[(28. 7 \pm 1. 5)%]和坏死率[(27. 80 \pm 3. 32)%]相当。

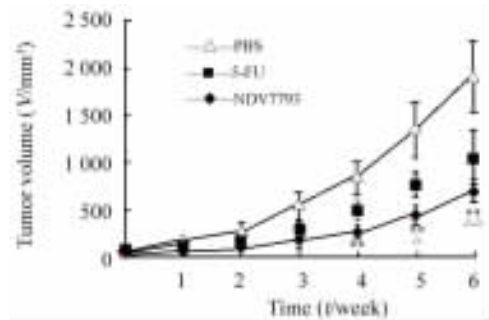


图 1 NDV 7793 抑制 LoVo 细胞移植瘤的生长
Fig.1 NDV 7793 inhibited growth of LoVo cell-transplanted tumors in nude mice

** P < 0.01 vs PBS; Δ P < 0.05, $\Delta\Delta$ P < 0.01 vs 5-FU

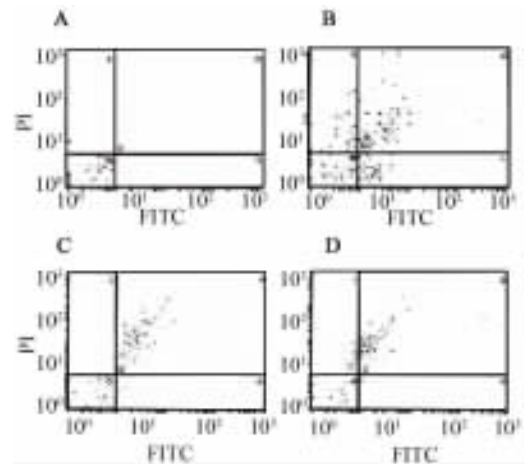


图 2 FCM 检测各组 LoVo 移植瘤细胞的坏死和凋亡
Fig. 2 Apoptosis and necrosis of LoVo-transplanted tumor cells in different groups as detected by FCM

A: FCM control; B: NDV 7793; C: PBS negative control; D: 5-FU positive control

2.3 LoVo 移植瘤组织中 Bax、Bcl-2 蛋白的表达

免疫组化结果(图 3)显示,NDV 7793 组移植瘤组织中 Bax 蛋白表达呈强阳性(卅),5-FU 组、PBS 阴性对照组的 Bax 蛋白表达呈弱阳性(+)。各组移植瘤组织中 Bcl-2 蛋白表达,PBS 阴性对照组呈弱阳性(+),NDV 7793 组、5-FU 组都为阴性(-)。由此提示,NDV 7793 通过上调 Bax 蛋白促进肿瘤细胞凋亡。

2.4 NDV 7793 促进 LoVo 移植瘤组织细胞色素 C 的表达

LoVo 移植瘤组织中细胞色素 C 浓度的测定结

果显示,NDV 7793 组移植瘤组织细胞的细胞色素 C 浓度为(2.28 ± 0.68) $\mu\text{g}/\mu\text{l}$,明显高于 5-FU 组的(0.68 ± 0.13) $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ 和 PBS 组的(0.76 ± 0.38) $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ ($P < 0.01$),提示 NDV 7793 可促进 LoVo 移植瘤组织细胞色素 C 的表达。

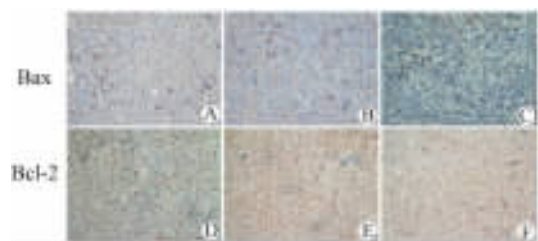


图3 各组 LoVo 移植瘤组织中 Bax、Bcl-2 蛋白的表达($\times 400$)

Fig. 3 Expressions of Bax and Bcl-2 proteins in LoVo-transplanted tumor tissues of different groups($\times 400$)

A,D: PBS negative control (+); B,E: 5-FU positive control (+); C,F: NDV 7793 (###);

2.5 NDV 7793 增加 LoVo 移植瘤组织中 TNF- α 的含量

ELISA 法检测各组 LoVo 移植瘤组织中 TNF- α 的含量,结果显示,NDV 7793 组 LoVo 移植瘤组织中的 TNF- α 含量为(489.6 ± 5.22) pg/ml ,明显高于 5-FU 组的(167.9 ± 3.9) pg/ml 和 PBS 组的(47.3 ± 2.7) pg/ml ($P < 0.01$),提示 NDV 7793 可增加 LoVo 移植瘤组织中 TNF- α 的含量。

3 讨论

结肠癌不仅是增生和分化异常的疾病,同时也是凋亡异常的疾病,凋亡状态及其调控基因的异常,可致细胞平衡紊乱,导致结肠癌的发生。因此,在选择结肠癌生物治疗的方法上,通过诱导结肠癌细胞凋亡是一种较为理想的治疗策略。2005 年以来,本实验室选用多株在自然界分离得到的野生型 NDV 进行抗肿瘤的研究,体外实验结果表明,分离得到的野生型 NDV 能杀伤多种肿瘤细胞^[17-19]。

本实验选用其中的 NDV 7793 株,采用 LoVo 细胞裸鼠移植瘤模型,通过尾静脉注射纯化的 NDV 7793,观察其对裸鼠移植瘤生长的作用。结果表明,静脉注射 NDV 7793 后,移植瘤的生长受到明显抑制,与 5-FU 相比,单独使用 NDV 7793 的抑瘤率达到 50.14%,明显高于 5-FU 的 37.14%($P < 0.01$)。

引起肿瘤细胞死亡机制有坏死和凋亡两种方式。细胞死亡表现为细胞壁破裂、细胞核碎裂、细胞内含物外泄,多数有大量炎性细胞。凋亡又称程序

性死亡,是基因编码的细胞主动死亡过程。凋亡的特征变化是细胞核染色质固缩和裂解,染色质密度增高,并聚集在核膜周边呈半月形,核仁裂解,进而胞膜内陷,形成凋亡小体。本实验结果显示,5-FU 组 LoVo 细胞裸鼠移植瘤凋亡率很低,且主要是通过细胞坏死抑制 LoVo 细胞移植瘤生长;而 NDV 7793 可明显诱导肿瘤细胞的凋亡,主要通过诱导 LoVo 细胞凋亡抑制移植瘤生长。

细胞通过两条信号途径启动细胞凋亡,即外源性途径(死亡受体途径)和内源性途径(线粒体途径和内质网途径)^[20]。自从发现调控凋亡的 Bcl-2 蛋白家族定位于线粒体膜上之后,线粒体途径便成为凋亡研究的焦点。线粒体呼吸链细胞色素 C 既参与线粒体能量代谢,又参与细胞凋亡的调节^[21]。本实验结果显示,NDV 7793 组 LoVo 细胞移植瘤的细胞色素 C 含量高达(2.28 ± 0.68) $\mu\text{g}/\mu\text{l}$,明显高于 PBS 组,而 5-FU 组的细胞色素 C 含量最低,提示 NDV 7793 可以促使细胞色素 C 从线粒体释放到细胞质,激活细胞凋亡的线粒体途径,此结果和流式细胞术检测凋亡的结果一致。

细胞凋亡是细胞内发生的一系列有序的连锁反应,有多种蛋白参与了细胞凋亡过程,包括抗凋亡基因 Bcl-2 家族。已知 Bcl-2 家族至少包括 10 个成员,通过组成同二聚体、异二聚体而促进或抑制凋亡,与肿瘤消长关系密切^[22]。Bax 和 Bcl-xl 基因都是 Bcl-2 家族的重要成员。Bcl-2 为凋亡抑制基因, Bax 能加速细胞凋亡,与 Bcl-2 的作用相反^[23]。研究^[24-25]证实,Bax 和 Bcl-2 蛋白与肿瘤发生、发展高度相关。本实验应用免疫组化方法,检测了不同组裸鼠 LoVo 移植瘤中 Bax 和 Bcl-2 蛋白的表达情况。结果发现,NDV 7793 组的 Bax 蛋白表达呈强阳性, PBS 组和 5-FU 组均弱表达 Bax 蛋白;而各组 Bcl-2 蛋白表达均为阴性。此结果与流式细胞术检测细胞死亡方式和细胞色素 C 的检测结果一致。

由于裸鼠缺乏 T 细胞,对移植瘤生长的抑制可能与 NDV 7793 激活 NK 细胞、吞噬细胞等有关。为此,本研究还检测移植瘤组织中 TNF- α 的含量,结果提示 NDV 7793 还可通过提高 TNF- α 含量,活化外源性凋亡途径引起移植瘤细胞凋亡或坏死,这与本实验得到的 NDV 7793 所致移植瘤细胞坏死率和凋亡率各占约 28% 的结果一致。对于 NDV 7793 如何上调 TNF- α 的产生,尚待进一步研究。

综上所述,本研究初步证实了 NDV 7793 可诱导小鼠结肠癌移植瘤细胞凋亡,为今后 NDV 7793 应用于人类结肠癌的治疗提供了实验依据。

[参考文献]

- [1] Sinkovics JG, Horvath JC. Newcastle disease virus (NDV): Brief history of its oncolytic strains [J]. Mol Ther, 2000, 16(1): 1-15.
- [2] Csatory LK, Bakács T. Use of newcastle disease virus vaccine (MTH-68/H) in a patient with high-grade glioblastoma [J]. JAMA, 1999, 281 (17): 1588-1589.
- [3] Csatory LK, Csatory E, Moss RW. Scientific interest in Newcastle disease virus is reviving [J]. Natl Cancer Inst, 2000, 92(6): 493-494.
- [4] Fábíán Z, Csatory CM, Szeberényi J, et al. p53-independent endoplasmic reticulum stress-mediated cytotoxicity of a newcastle disease virus strain in tumor cell lines [J]. Virol, 2007, 81 (6): 2817-2830.
- [5] Wagner S, Csatory CM, Gosztonyi CM, et al. Combined treatment of high-grade glioma with the viral strain MTH-68/H and oral valproic acid [J]. Apmis, 2006, 114(10): 731-734.
- [6] Bar-Eli N, Giloh H, Schlesinger M, et al. Preferential cytotoxic effect of Newcastle disease virus on lymphoma cells [J]. Cancer Res Clin Oncol, 1996, 122(7): 409-415.
- [7] Lam KM. Apoptosis in chicken embryo fibroblasts caused by Newcastle disease virus [J]. Vet Microbiol, 1995, 47(3): 357-363.
- [8] 孙迎春, 金宁一, 米志强, 等. 新城疫病毒 HN 基因诱导肝癌细胞 SMMC7721 凋亡的作用机制 [J]. 中华肿瘤杂志, 2005, 27(5): 279-282.
- [9] Reechard KW, Lorence RM, Cascino CJ, et al. Newcastle disease virus selectively kills human tumor cells [J]. Sury Res, 1992, 52 (5): 448-453.
- [10] Ravindra PV, Tiwari AK, Sharma B, et al. Newcastle disease virus as an oncolytic agent [J]. India Med Res, 2009, 130(5): 507-513.
- [11] Keshelava VV, Dobrovol'skaia Nlu, Chazova NL, et al. Neoadjuvant therapy of breast cancer using Newcastle disease virus [J]. Vopr Onkol, 2009, 55(4): 433-435.
- [12] Lazar I, Yaacov B, Shiloach T, et al. The oncolytic activity of Newcastle disease virus NDV-HUJ on chemoresistant primary melanoma cells is dependent on the proapoptotic activity of the inhibitor of apoptosis protein Livin [J]. Virol, 2010, 84(1): 639-646.
- [13] Zulkifli MM, Ibrahim R, Ali AM, et al. Newcastle diseases virus strain V4UPM displayed oncolytic ability against experimental human malignant glioma [J]. Neurol Res, 2009, 31(1): 3-10.
- [14] 刘一尘, 张春杰, 程相朝, 等. 新城疫病毒 HN 融合蛋白对马立克肿瘤细胞凋亡的影响 [J]. 中国兽医科学, 2009, 39(7): 651-654.
- [15] Ravindra PV, Tiwari AK, Ratta B, et al. Induction of apoptosis in Vero cells by Newcastle disease virus requires viral replication, de novo protein synthesis and caspase activation [J]. Virus Res, 2008, 133(2): 285-290.
- [16] Ravindra PV, Tiwari AK, Ratta B, et al. Time course of Newcastle disease virus-induced apoptotic pathways [J]. Virus Res, 2009, 144(1): 350-354.
- [17] 杨建林, 宋德志, 唐深, 等. 6 株 NDV 鄱阳株对肝癌细胞杀伤作用的初步研究 [J]. 现代肿瘤医学, 2007, 15(12): 1738-1741.
- [18] 黄川, 樊晓晖, 姜艳华, 等. 新城疫病毒 D817 对裸小鼠结肠癌移植瘤的抑制作用 [J]. 中华肿瘤杂志, 2009, 31(7): 490-494.
- [19] 宋德志, 樊晓晖, 黄川, 等. 新城疫病毒对小细胞肺癌裸鼠移植瘤生长的抑制作用 [J]. 肿瘤, 2009, 29(6): 544-549.
- [20] Kaufmann SH, Eamshaw WC. Induction of apoptosis by cancer chemotherapy [J]. Exp Cell Res, 2000, 256(1): 42-49.
- [21] 丛义梅, 李鑫, 贾红玲, 等. 线粒体膜通透性变化与细胞凋亡的关系 [J]. 中国畜牧兽医, 2008, 35(10): 35-38.
- [22] 王瑞敏, 李俊. 细胞凋亡与 Bcl-2 基因 [J]. 滨州医学院学报, 2001, 24(3): 234-236.
- [23] Wyllie AH. Apoptosis, death gets a brake [J]. Nature, 1994, 369(6478): 272-273.
- [24] Griffiths GJ, Koh MY, Brunton V, et al. Expression of kinase-defective mutants of c-Src in human metastatic colon cancer cells decreases Bcl-x(L) and increases oxaliplatin and Fas-induced apoptosis [J]. J Biol Chem, 2004, 279(44): 46113-46121.
- [25] 刘阳云, 刘庚勋, 李正贤, 等. PTEN 与 Bcl-2 在鼻咽癌中的表达及意义 [J]. 肿瘤防治研究, 2009, 36(20): 115-118
- [收稿日期] 2010-12-28 [修回日期] 2011-03-05
- [本文编辑] 王莹

· 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)