

doi: 10.3872/j.issn.1007-385X.2013.02.015

## 新城疫病毒 HBNU/LSRC/F3 株与 Mukteswar、LaSota 株抗肿瘤效果的比较

高翠<sup>1</sup>, 王静<sup>1</sup>, 马媛媛<sup>1</sup>, 张斌<sup>2</sup>, 邢立强<sup>1</sup>, 刘华<sup>1</sup>, 刘进军<sup>1</sup>, 刘开扬<sup>1</sup>(1. 河北北方学院 生命科学研究中心, 河北 张家口 075000; 2. 河北北方学院 附属第一医院 检验科, 河北 张家口 075000)

**[摘要]** **目的:**研究新城疫病毒(Newcastle disease virus, NDV)弱毒力株 HBNU/LSRC/F3 对人食管癌 ECA109 细胞凋亡的影响, 并与其他两株 NDV(弱毒力株 LaSota 株、中等毒力 Mukteswar 株)的抗肿瘤作用进行比较。**方法:**体外培养 ECA109 细胞, 不同 NDV 经扩增后分别感染 ECA109 细胞, CCK-8 法检测各 NDV 对 ECA109 细胞增殖的抑制作用, 激光共聚焦显微镜观察经各 NDV 感染后 ECA109 细胞的凋亡情况, 流式细胞术检测其早期细胞凋亡, DNA 琼脂糖凝胶电泳检测其晚期凋亡情况。**结果:**HBNU/LSRC/F3 株 NDV 能抑制 ECA109 细胞的增殖, 且强于 LaSota 株, 但稍弱于 Mukteswar 株( $P < 0.05$ )。ECA109 细胞感染  $5 \times 10^{-4}$  Hu/ml NDV 时, HBNU/LSRC/F3 株、Mukteswar 株、LaSota 株对 ECA109 细胞的增殖抑制率分别为  $(31.43 \pm 1.57)\%$ 、 $(39.87 \pm 1.99)\%$  和  $(19.89 \pm 0.99)\%$ 。流式细胞仪检测结果显示, HBNU/LSRC/F3 株感染后 ECA109 细胞的早期凋亡率为  $(21.32 \pm 0.44)\%$ , 而 Mukteswar 株和 LaSota 株的早期凋亡率为  $(22.27 \pm 0.23)\%$  和  $(14.32 \pm 0.61)\%$ ; 激光扫描共聚焦显微镜和 DNA 琼脂糖凝胶电泳检测结果显示, Mukteswar 株以诱导晚期凋亡为主, HBNU/LSRC/F3 株以诱导 ECA109 细胞早期凋亡为主, 且较 LaSota 株明显。**结论:**弱毒力 HBNU/LSRC/F3 株可有效抑制 ECA109 细胞增殖, 诱导 ECA109 细胞早期凋亡, 虽略低于中等毒力 Mukteswar 株, 但远高于弱毒力 LaSota 株, 因此 HBNU/LSRC/F3 株可能具有更高的抗肿瘤临床应用价值。

**[关键词]** 新城疫病毒; HBNU/LSRC/F3 株; ECA109 细胞; 凋亡

**[中图分类号]** R730.54; R735.1; R373

**[文献标志码]** A

**[文章编号]** 1007-385X(2013)02-0212-05

## Comparison of antitumor effect of Newcastle disease virus HBNU/LSRC/F3 strain to ECA109 cells with Mukeswar and LaSota strains

Gao Cui<sup>1</sup>, Wang Jing<sup>1</sup>, Ma Yuanyuan<sup>1</sup>, Zhang Bin<sup>2</sup>, Xing Liqiang<sup>1</sup>, Liu Hua<sup>1</sup>, Liu Jinjun<sup>1</sup>, Liu Kaiyang<sup>1</sup>(1. Life Science Research Center, Hebei North University, Zhangjiakou 075000, Hebei, China; 2. Laboratory Department, The First Affiliated Hospital of Hebei North University, Zhangjiakou 075000, Hebei, China)

**[Abstract]** **Objective:** To explore the impact of Newcastle disease virus (lentogenic HBNU/LSRC/F3) strain on apoptosis of esophageal cancer ECA109 cells, and to compare with the other two strains (lentogenic LaSota strain and mesogenic Mukteswar strain) of their anti-tumor effects. **Methods:** ECA109 cells were cultured *in vitro* and infected by three NDV strains respectively. The proliferation inhibiting effects of NDVs on ECA109 cells were detected by CCK-8. The apoptosis of ECA109 cells after NDV infection was detected by laser confocal microscopy. Flow cytometry and agarose gel electrophoresis were used to detect the early and late apoptosis of ECA109 cells, respectively. **Results:** HBNU/LSRC/F3 NDV strain suppressed the proliferation of ECA109 cells, which was stronger than LaSota strain and weaker than Mukteswar strain ( $P < 0.05$ ). The proliferation inhibition rates of HBNU/LSRC/F3 strain, Mukteswar strain and LaSota strains on ECA109 cells were  $(39.87 \pm 1.99)\%$ ,  $(31.43 \pm 1.57)\%$  and  $(19.89 \pm 0.99)\%$ , respectively, infected by  $5 \times 10^{-4}$  Hu/ml NDV. Flow cytometry showed that the early apoptosis rate of ECA109 cells infected by HBNU/LSRC/F3 strain was  $(21.32 \pm 0.44)\%$ , while Mukteswar strain was  $(22.27 \pm 0.23)\%$  and LaSota strain was  $(14.32 \pm 0.61)\%$ . Laser scanning confocal microscopy and DNA gel electrophoresis showed that Mukteswar strain primarily induced the late apop-

**[基金项目]** 河北省自然科学基金资助项目(No. C2010001450)。Project supported by the Natural Science Foundation of Hebei Province(No. C2010001450)

**[作者简介]** 高翠(1987-), 女, 安徽省安庆市人, 硕士生, 主要从事病毒抗肿瘤机制的研究。E-mail: gaocui\_belinda@163.com

**[通信作者]** 刘开扬(Liu Kaiyang, corresponding author), E-mail: kaiyang1999@yahoo.cn

sis. Whereas, HBNU/LSRC/F3 strain primarily induced the early apoptosis, which was more obvious than LaSota strain.

**Conclusion:** Lentogenic HBNU/LSRC/F3 strain can effectively inhibit ECA109 cell proliferation and induce early apoptosis of ECA109 cells, which was lower than Mukteswar strain and significantly higher than LaSota strain. Therefore, HBNU/LSRC/F3 strain may have a high clinical value for anti-tumor therapy.

[ **Key words** ] newcastle disease virus; HBNU/LSRC/F3 strain; ECA109 cell; apoptosis

[ Chin J Cancer Biother, 2013, 20(2): 211-216 ]

食管癌是常见的恶性肿瘤之一,发病率和病死率都很高,全世界每年大约有 20 万人死于食管癌<sup>[1]</sup>。食管癌起病隐匿,一般发现时已经是中晚期<sup>[2]</sup>。目前最主要的食管癌治疗方法是手术结合化疗、放疗,但是放疗化疗对人体的副作用大,并且影响患者日后的生活质量<sup>[3]</sup>。近年来肿瘤生物治疗越来越受到重视,溶瘤病毒是目前肿瘤生物治疗研究领域中的研究热点<sup>[4-6]</sup>。新城疫病毒(newcastle disease virus, NDV)是溶瘤病毒中的一种<sup>[7-9]</sup>,从 20 世纪 50 年代首次被发现具有抗肿瘤作用开始,其抗肿瘤作用越来越受到关注<sup>[10]</sup>。NDV 是副黏病毒,能够选择性杀伤肿瘤细胞<sup>[11]</sup>,对正常的人成纤维细胞系无杀伤作用<sup>[12-13]</sup>,其基因组是单股负链 RNA,只有一个血清型<sup>[14]</sup>。NDV 按其毒力不同可分为强、中等和弱毒力株,不同毒力 NDV 诱导肿瘤细胞凋亡的作用不同。本室保存一株 NDV HBNU/LSRC/F3 株<sup>[15]</sup>,本实验研究此 NDV 株对食管癌(esophageal cancer cell, ECA)ECA109 细胞具有的诱导凋亡作用,并与已知的中等毒力株 Mukteswar<sup>[16]</sup>和弱毒力株 LaSota<sup>[17-18]</sup>作比较,为应用 NDV 治疗食管癌提供新的线索。

## 1 材料与方法

### 1.1 主要试剂

HBNU/LSRC/F3 株由本课题组保存, Mukteswar 株、LaSota 株购于辽宁益康生物制品有限公司。人食管癌 ECA109 细胞购自中国医学科学院肿瘤医院研究所。胎牛血清购于杭州四季青生物工程有限公司, RPMI 1640 培养基、胰蛋白酶、EDTA 购于 Gibco 公司, SPF 鸡胚由河北北方学院农学院提供。CCK-8 试剂盒购于同仁化学研究所, 细胞凋亡试剂盒购于 BD 公司。Cl-si 型激光扫描共聚焦显微镜(laser scanning confocal microscopy, LSCM)购于日本尼康公司, 流式细胞仪购于美国 BD 公司。

### 1.2 ECA109 细胞的培养与 NDV 的制备

ECA109 细胞的培养: ECA109 细胞用含 10% 胎牛血清的 RPMI-1640 培养液在 37 °C、5% CO<sub>2</sub>、饱和湿度培养箱中传代培养, 取处于对数生长期的细胞

进行实验。NDV 病毒的制备: 将病毒接种于 9~10 日龄 SPF 鸡胚尿囊腔, 37 °C 恒温培养 48 h, 扩增病毒。再将鸡胚放入 4 °C 冰箱过夜, 收获尿囊液。用 0.5% 新鲜明鸡血球测定血凝单位(hemagglutination unit, Hu), 将收获的尿囊液 2 500 × g 离心 25 min, 取上清液后制成 50 Hu/ml 的病毒悬液, 置于 -80 °C 保存备用。

### 1.3 CCK-8 法检测 NDV 对 ECA109 细胞的增殖抑制作用

取对数生长期的 ECA109 细胞, 经胰蛋白酶消化, 细胞计数后制备 1 × 10<sup>6</sup>/ml 的细胞悬液, 接种于 96 孔板中, 每孔 100 μl。培养 24 h 后弃去原培养基, 实验组分别加入 3 株不同浓度的 NDV 20 μl (用含 2% 胎牛血清的 RPMI 1640 维持液稀释), 置 37 °C、饱和水蒸汽条件下吸附 1 h, 然后加入 180 μl 培养基; 阴性对照组加入 200 μl 稀释后的正常尿囊液; 空白对照组不加细胞仅加 RPMI 1640 维持液 200 μl。每组均设 3 个复孔。继续培养 24 h 后, 每孔加入 20 μl CCK-8, 置 37 °C、5% CO<sub>2</sub> 条件下孵育 4 h 后, 在酶标仪 490 nm 波长下测定各孔光密度值(D)。抑制率(%) = 1 - (实验组 D 值 - 空白对照组 D 值) / (对照组 D 值 - 空白对照组 D 值) × 100%。

### 1.4 流式细胞术检测 NDV 对 ECA109 细胞凋亡的影响

采用膜联蛋白 V(Annexin V)/碘化丙啶(propidium iodide, PI) 双染色法检测 ECA109 细胞的凋亡, Annexin-V 标记异硫氰酸荧光素(fluorescein isothiocyanate, FITC)。收集 3 株 NDV (NDV 浓度根据 CCK8 结果确定) 分别感染 24 h 的 ECA109 细胞, 同时设正常尿囊液组为阴性对照组。冷 PBS 洗 2 次, 用标记缓冲液重悬细胞, 调整细胞密度为 1 × 10<sup>6</sup>/ml, 吹打混匀后取 100 μl 细胞悬液加入 5 ml 培养管, 分别加入 5 μl PI 及 5 μl Annexin V-FITC, 混匀后避光染色 20 min, 加入 400 μl 标记缓冲液, 流式细胞仪检测细胞凋亡率。

### 1.5 激光扫描共聚焦显微镜观察 NDV 感染后 ECA109 细胞的凋亡

收集 3 株 NDV 感染 24 h 后的 ECA109 细胞。

用 PBS 洗 3 次后加 5  $\mu\text{l}$  AnnexinV-FITC 及 5  $\mu\text{l}$  PI, 室温避光反应 20 min 后, 置于激光扫描共聚焦显微镜下观察并拍照。双通道检测, 第一通道激发光波长 488 nm, 观察 Annexin-V-FITC; 第二通道激发光波长 543 nm, 观察 PI。早期凋亡细胞仅被 AnnexinV 染色, 凋亡晚期细胞或坏死细胞可被 AnnexinV-FITC 和 PI 同时染色。

### 1.6 DNA 琼脂糖凝胶电泳检测 NDV 对 ECA109 细胞晚期凋亡的作用

收集 3 株 NDV 感染 48 h 后的 ECA109 细胞, PBS 洗 3 次, 用细胞裂解液裂解 10 min, 离心取上清液加入 RNase 40 ng/ml, 于 37  $^{\circ}\text{C}$  孵育 1 h, 然后加入蛋白酶 K 40 ng/ml, 37  $^{\circ}\text{C}$  孵育 1 h, 加入 0.5 mol/L 氯化钠和 50% 异丙醇, 孵育过夜后高速离心 20 min, 用 Tris-EDTA 缓冲液溶解沉淀, 行 2% 琼脂糖凝胶电泳。Bio-Rad Gel Doc<sup>TM</sup> XR 凝胶成像系统观察并拍照。

### 1.7 统计学处理

采用 SPSS17.0 软件进行分析, 数据以  $\bar{x} \pm s$  表示, 以方差分析和两样本的  $t$  检验作比较,  $P < 0.05$  或  $P < 0.01$  表示差异具有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 HBNU/LSRC/F3 株 NDV 明显抑制 ECA109 细胞的增殖

采用不同浓度的 3 株 NDV 感染 ECA109 细胞, 24 h 后检测其增殖抑制率。结果(图 1)显示, 阴性对照组对 ECA109 细胞的抑制率为  $(4.87 \pm 0.26)\%$ , 当 NDV 浓度为  $5 \times 10^{-4}$  Hu/ml 时 HBNU/LSRC/F3 株 NDV 对 ECA109 细胞的抑制率为  $(39.87 \pm 1.99)\%$ , Mukteswar 株和 LaSota 株分别为  $(31.43 \pm 1.57)\%$  和  $(19.89 \pm 0.99)\%$ , 在 NDV 浓度为 0.5 Hu/ml 时, 抑制率分别增高到  $(60.33 \pm 2.99)\%$ 、 $(53.21 \pm 2.66)\%$  和  $(33.69 \pm 1.68)\%$  (均  $P < 0.01$ )。在一定浓度范围内, 抑制率随 NDV 浓度的升高而升高。由此可见, HBNU/LSRC/F3 抑制率强于 LaSota 株稍低于 Mukteswar 株, 对食管癌 ECA109 细胞抑制明显 ( $P < 0.05$ )。

### 2.2 HBNU/LSRC/F3 株 NDV 促进 ECA109 细胞早期凋亡

流式术检测显示, HBNU/LSRC/F3、Mukteswar、LaSota 株 NDV 感染 ECA109 细胞 24 h 后, 早期凋亡率分别为  $(21.32 \pm 0.44)\%$ 、 $(22.27 \pm 0.23)\%$  和  $(14.32 \pm 0.61)\%$ , 均显著高于阴性对照的  $(2.71 \pm 0.14)\%$  ( $P < 0.01$ ); 且 HBNU/LSRC/F3 株明显高

于 LaSota 株 ( $P < 0.01$ ), 但略低于 Mukteswar 株的诱导早期凋亡作用。

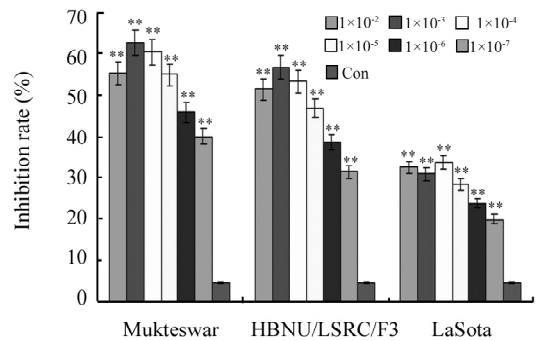


图 1 3 株 NDV 对 ECA109 细胞增殖的影响  
Fig. 1 Effect of 3 NDV strains on proliferation of ECA109 cells

\* \*  $P < 0.01$  vs Control

激光共聚焦显微镜下观察, Annexin-V/PI 荧光染色后, 早期凋亡细胞可见细胞膜单纯绿染, 中晚期凋亡细胞可见细胞膜绿染并细胞核红染(图 2)。HBNU/LSRC/F3 株感染后的 ECA109 细胞可见大量绿色荧光和少量红色荧光, 表明早期凋亡细胞较多, 中晚期凋亡细胞较少。Mukteswar 株感染后的 ECA109 细胞可见细胞膜大量绿色荧光和少量红色荧光, 提示既有早期凋亡 ECA109 细胞, 又有中晚期凋亡 ECA109 细胞。LaSota 株感染后的 ECA109 细胞也可见绿色荧光和少量红色荧光, 荧光强度和着色细胞数量明显少于 Mukteswar 株和 HBNU/LSRC/F3 株。由此可见, HBNU/LSRC/F3 株诱导早期凋亡作用明显, Mukteswar 株诱导早期凋亡和中晚期凋亡, 且 HBNU/LSRC/F3 株诱导细胞早期凋亡的作用较 LaSota 株明显。

### 2.3 HBNU/LSRC/F3 株 NDV 诱导 ECA109 细胞的晚期凋亡

细胞凋亡晚期时, 细胞的 DNA 会在核小体间断裂形成一些小片段, 琼脂糖凝胶电泳会显示出特征性的梯状条带, 这是判断细胞晚期凋亡的重要标准。本实验 DNA 琼脂糖凝胶电泳结果(图 3)显示, HBNU/LSRC/F3 株和另外两株 NDV 感染后的 ECA109 细胞 DNA 电泳均出现了特征性的梯状条带, 而对照组则没有梯状条带出现。而且 HBNU/LSRC/F3 株和 LaSota 株晚期凋亡条带较少, Mukteswar 株晚期凋亡条带较多, 进一步证实 HBNU/LSRC/F3 株主要是诱导 ECA109 细胞早期凋亡。

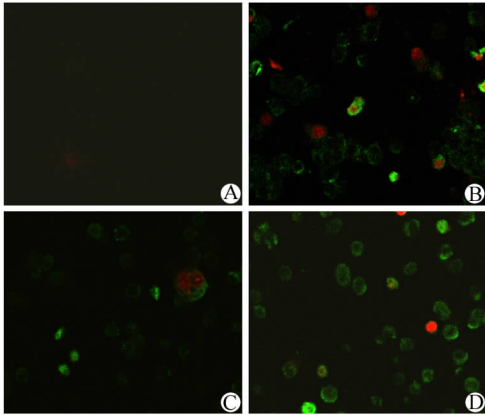


图2 LSCM 观察 3 株 NDV 诱导 ECA109 细胞的凋亡(×400)

Fig. 2 Three NDV strains induced apoptosis of ECA109 cells under LSCM(×400)

A: Control; B: Mukteswar strain;

C: LaSota strain; D: HBNU/LSRC/F3 strain

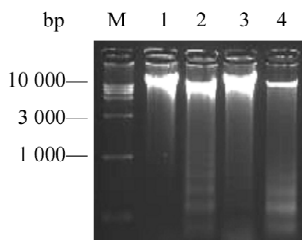


图3 DNA 凝胶电泳检测 3 株 NDV 对 ECA109 细胞晚期凋亡的影响

Fig. 3 Three NDV strains induced late apoptosis of ECA109 cells detected by DNA gel electrophoresis

M: DNA Maker; 1: Control; 2: Mukteswar strain;

3: LaSota strain; 4: HBNU/LSRC/F3 strain

### 3 讨论

传统的抗肿瘤药物在杀伤肿瘤细胞的同时也大量杀伤人体正常细胞,对机体的毒副作用明显。NDV 可在肿瘤体内选择性复制并杀死肿瘤细胞,产生非特异性免疫和特异性免疫等有效的抗肿瘤反应。NDV 能够介导细胞毒性 T 淋巴细胞杀伤肿瘤细胞;能够激活巨噬细胞,诱导干扰素(interferon, IFN)、肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF)、白细胞介素(interleukin, IL)、单核细胞集落刺激因子等细胞因子的产生;NDV 的 HN 蛋白有增加肿瘤细胞对淋巴细胞的黏附力、刺激淋巴细胞的分化和激活淋巴细胞的作用,可

使肿瘤细胞的抗原暴露出来,使免疫监视细胞容易识别和杀伤肿瘤细胞<sup>[20]</sup>。NDV 对肿瘤细胞选择性杀伤的特点,使它成为了一种有前景的抗肿瘤生物制剂。

肿瘤的发生、发展不仅与细胞增殖有关,亦与细胞凋亡有关。细胞凋亡是能量依赖的细胞内死亡程序活化而导致的细胞自杀,是基因控制的细胞自主有序的主动死亡过程。而肿瘤细胞无限生长是肿瘤细胞凋亡受抑制的结果<sup>[19]</sup>。通过诱导肿瘤细胞的凋亡,比直接杀伤肿瘤细胞或者切除肿瘤的治疗更具优势,故近年来抗肿瘤治疗研究的热点主要集中在诱导肿瘤细胞凋亡及寻找有效的诱导肿瘤细胞凋亡药物上。很多研究<sup>[21-23]</sup>表明,NDV 可以有效地诱导肿瘤细胞凋亡。比较本室保存的 HBNU/LSRC/F3 株 NDV 与其他两个株型的抗肿瘤效果,结果显示,三株 NDV 都可以诱导 ECA109 细胞发生早期凋亡,HBNU/LSRC/F3 株诱导早期凋亡率达(21.32 ± 0.44)%,与阴性对照组相比差异显著,说明其为一株有效的抗肿瘤毒株。

本研究发现,3 株 NDV 对 ECA109 细胞的增殖均具有抑制作用,且 HBNU/LSRC/F3 株和 Mukteswar 株对 ECA109 细胞增殖的抑制作用均强于 LaSota 株,且 Mukteswar 株对肿瘤细胞的直接杀伤作用更为突出。但 Mukteswar 株为中等毒力毒株,其致病性强于另两株,所以应用于抗肿瘤临床研究尚有局限。弱毒株 NDV 用于抗肿瘤治疗,可有效避免中等毒力株和强毒株给环境带来的安全隐患,具有更好的临床应用前景。本实验中,弱毒力的 NDV HBNU/LSRC/F3 株诱导肿瘤细胞凋亡的早期凋亡率仅比 Mukteswar 株略低,并且 HBNU/LSRC/F3 株抑制 ECA109 细胞增殖作用较 LaSota 株更为明显。在病毒效价、稀释浓度和作用时间都相同的情况下,HBNU/LSRC/F3 株所表现出来到抑制率远远强于 LaSota 株,说明了 HBNU/LSRC/F3 株有更好的应用前景。

造成 3 株 NDV 抗肿瘤作用的强弱差异是否与基因不同有关,尚需进一步研究。对 HBNU/LSRC/F3 的进一步研究将集中在以下几个方面:(1) 动物体内溶瘤实验;(2) 从基因角度分析该株 NDV 与其他株 NDV 的抗肿瘤特点;(3) 应用基因工程技术对该病毒进行基因修饰,构建重组 NDV 以增强其抗肿瘤能力和对肿瘤的靶向性;(4) 将 HBNU/LSRC/F3 的主要抗肿瘤基因插入到质粒上构建重组质粒;(5) 初步的临床试验。

## [ 参考文献 ]

- [ 1 ] Jemal A, Bray F, Center MM, et al. Global cancer statistics [ J ]. CA Cancer J Clin, 2011, 61( 2 ): 69-90.
- [ 2 ] Han J, Zhu W, Yu C, et al. Clinical study of concurrent chemoradiotherapy or radiotherapy alone for esophageal cancer patients with positive lymph node metastasis [ J ]. Tumori, 2012, 98( 1 ): 60-65.
- [ 3 ] Kim T, Grobmyer SR, Smith R, et al. Esophageal cancer: The five year survivors [ J ]. J Surg Oncol, 2011, 103( 2 ): 179-183.
- [ 4 ] Prestwich RJ, Harrington KJ, Pandha HS, et al. Oncolytic viruses: A novel form of immunotherapy [ J ]. Expert Rev Anticancer Ther, 2008, 8( 10 ): 1581-1588.
- [ 5 ] Thome SH. Oncolytic vaccinia virus: From bedside to benchtop and back [ J ]. Curr Opin Mol Ther, 2008, 10( 4 ): 387-392.
- [ 6 ] Kemeny N, Brown K, Covey A, et al. Phase I, open-label, dose-escalating study of a genetically engineered herpes simplex virus, NV1020, in subjects with metastatic colorectal carcinoma to the liver [ J ]. Hum Gene Ther, 2006, 17( 12 ): 1214-1224.
- [ 7 ] 肖庆, 黄川, 樊晓晖, 等. NDV7793 株抑制人结肠癌 LoVo 细胞裸鼠移植瘤的生长及其机制 [ J ]. 中国肿瘤生物治疗杂志, 2011, 18( 2 ): 144-148.
- [ 8 ] Chaudhry UI, Kingham TP, Plitas G, et al. Combined stimulation with interleukin-18 and CpG induces murine natural killer dendritic cells to produce IFN-gamma and inhibit tumor growth [ J ]. Cancer Res, 2006, 66( 21 ): 10497-10504.
- [ 9 ] Hotte SJ, Lorence RM, Hirte HW, et al. An optimized clinical regimen for the oncolytic virus PV701 [ J ]. Clin Cancer Res, 2007, 13( 3 ): 977-985.
- [ 10 ] Haas C, Lulei M, Fournier P, et al. A tumor vaccine containing anti-CD3 and anti-CD28 bispecific antibodies triggers strong and durable antitumor activity in human lymphocytes [ J ]. Int J Cancer, 2006, 118( 3 ): 658-667.
- [ 11 ] Reichard KW, Lorence RM, Cascino CJ, et al. Newcastle disease virus selectively kills human tumor cells [ J ]. Surg Res, 1992, 52( 5 ): 448-453.
- [ 12 ] Pecora AL, Rizvi N, Cohen GI, et al. Phase I trial of intravenous administration of PV701, an oncolytic virus, in patients with advanced solid cancers [ J ]. Clin Onco, 2002, 20( 9 ): 2251-2266.
- [ 13 ] Sinkovics JG, Horvath JC. Newcastle disease virus ( NDV ): Brief history of its oncolytic strains [ J ]. Clin Virol, 2000, 16( 1 ): 1-15.
- [ 14 ] Liu H, Chen F, Zhao Y, et al. Genomic characterization of the first class I Newcastle disease virus isolated from the mainland of China [ J ]. Virus Genes, 2010, 40( 3 ): 365-371.
- [ 15 ] 王静, 董尚林, 卢志红, 等. NDV 诱导人食管癌细胞 ECA109 凋亡的体外研究 [ J ]. 山东医药, 2011, 51( 21 ): 64-65.
- [ 16 ] Li BY, Li XR, Lan X, et al. Rescue of Newcastle disease virus from cloned cDNA using an RNA polymerase II promoter [ J ]. Arch Virol, 2011, 156( 6 ): 979-86.
- [ 17 ] Cornax I, Miller PJ, Afonso CL. Characterization of live LaSota vaccine strain-induced protection in chickens upon early challenge with a virulent Newcastle disease virus of heterologous genotype [ J ]. Avian Dis, 2012, 56( 3 ): 464-470.
- [ 18 ] Biswas M, Kumar SR, Allen A, et al. Cell-type-specific innate immune response to oncolytic Newcastle disease virus [ J ]. Viral Immunol, 2012, 25( 4 ): 268-276.
- [ 19 ] Abdul R O, Aini I, Abdul M A, et al. An overview on the development of Newcastle disease virus as an anti-cancer therapy [ J ]. Malaysian J Med Sci, 2002, 9( 2 ): 4-12.
- [ 20 ] 唐省三, 马亚珍. 新城疫病毒体内外抗肿瘤作用的研究 [ J ]. 陕西医学杂志, 2004, 12( 33 ): 1093-1095.
- [ 21 ] Wei D, Sun N, Nan G, et al. Construction of recombinant Newcastle disease virus Italian strain for oncolytic virotherapy of tumors [ J ]. Hum Gene Ther, 2012, 23( 7 ): 700-710.
- [ 22 ] Fournier P, Schirmacher V. Bispecific antibodies and trispecific immunocytokines for targeting the immune system against cancer: Preparing for the future [ J ]. Bio Drugs, 2013, 27( 1 ): 35-53.
- [ 23 ] Meng S, Zhou Z, Chen F, et al. Newcastle disease virus induces apoptosis in cisplatin-resistant human lung adenocarcinoma A549 cells *in vitro* and *in vivo* [ J ]. Cancer Lett, 2012, 317( 1 ): 56-64.

[ 收稿日期 ] 2012-12-20

[ 修回日期 ] 2013-03-12

[ 本文编辑 ] 王莹, 黄静怡

· 读者 · 作者 · 编者 ·

## 本刊对论文中实验动物描述的要求

根据国家科学技术部 1988 年颁布的《实验动物管理条例》和卫生部 1998 年颁布的《医学实验动物管理实施细则》, 本刊对论文中有关实验动物的描述, 要求请清楚以下事项: ( 1 ) 品种、品系及亚系的确切名称; ( 2 ) 遗传背景或其来源; ( 3 ) 微生物检测状况; ( 4 ) 性别、年龄、体重; ( 5 ) 质量等级及合格证书编号; ( 6 ) 饲养环境和实验环境; ( 7 ) 健康状况; ( 8 ) 对动物实验的处理方式。

医学实验动物分为四级: 一级为普通级; 二级为清洁级; 三级为无特定病原体 ( SPF ) 级; 四级为无菌级 ( 包括悉生动物 )。省部级课题及研究生毕业论文等科研实验必须应用二级以上的实验动物。

( 本刊编辑部 )