

· 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<sup>1</sup>, 黄川<sup>2</sup>, 樊晓晖<sup>1</sup>, 宋德志<sup>1</sup>, 梁莹<sup>1</sup>, 宫金伶<sup>1</sup>, 王立芳<sup>1</sup>, 刘金颖<sup>1</sup>, 赖振屏<sup>1</sup>(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- $\alpha$  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- $\alpha$  的水平[(489.6  $\pm$  5.2) vs (167.9  $\pm$  3.9)  $\text{pg}/\text{ml}$ ]。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- $\alpha$  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<sup>+</sup>.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 Qing<sup>1</sup>, HUANG Chuan<sup>2</sup>, FAN Xiao-hui<sup>1</sup>, SONG De-zhi<sup>1</sup>, LIANG Ying<sup>1</sup>, GONG Jin-ling<sup>1</sup>, WANG Li-fang<sup>1</sup>, LIU Jin-ying<sup>1</sup>, LAI Zhen-ping<sup>1</sup>(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- $\alpha$  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- $\alpha$  levels [(489.6  $\pm$  5.2) vs (167.9  $\pm$  3.9)  $\text{pg}/\text{ml}$ ] 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- $\alpha$  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<sup>[1]</sup>。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<sup>[2-6]</sup>。随后研究<sup>[7-16]</sup>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- $\alpha$  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5×10<sup>7</sup>/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(1×10<sup>7</sup> 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×W<sup>2</sup>)/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  $\mu$ 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  $\mu$ l 待测细胞液、180  $\mu$ l GENMED 补充液和 50  $\mu$ 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- $\alpha$  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- $\alpha$  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)  $\text{mm}^3$ ,而 NDV 7793 组仅上升至(188.8  $\pm$  46.2)  $\text{mm}^3$ (图 1)。治疗结束时 PBS 对照组平均肿瘤体积为(1910.79  $\pm$  380.1)  $\text{mm}^3$ ,5-FU 阳性对照组平均肿瘤体积为(1061.02  $\pm$  130.6)  $\text{mm}^3$ ,NDV 7793 组平均肿瘤体积为(705.53  $\pm$  150.4)  $\text{mm}^3$ ,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%, $P < 0.01$ )。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。

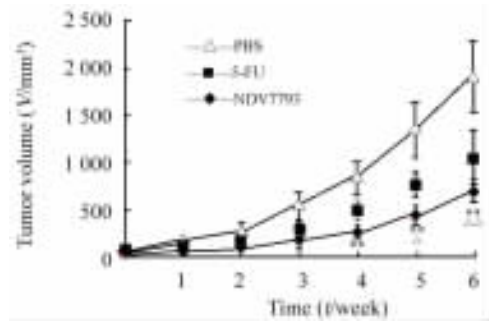


图 1 NDV 7793 抑制 LoVo 细胞移植瘤的生长  
Fig.1 NDV 7793 inhibited growth of LoVo cell-transplanted tumors in nude mice

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

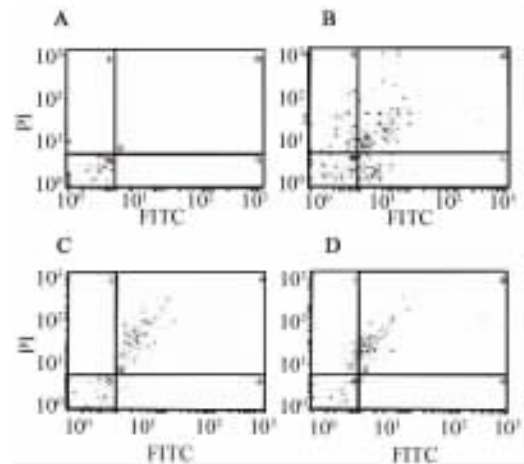


图 2 FCM 检测各组 LoVo 移植瘤细胞的坏死和凋亡  
Fig. 2 Apoptosis and necrosis of LoVo-transplanted tumor cells in different groups as detected by FCM

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

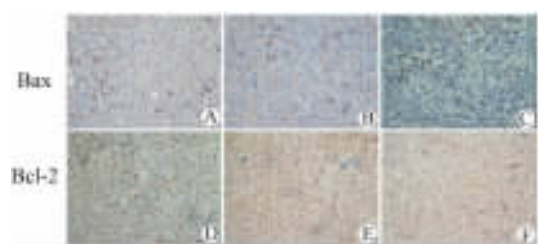


图3 各组 LoVo 移植瘤组织中 Bax、Bcl-2 蛋白的表达(  $\times 400$  )

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- $\alpha$ 的含量

ELISA 法检测各组 LoVo 移植瘤组织中 TNF- $\alpha$  的含量,结果显示,NDV 7793 组 LoVo 移植瘤组织中的 TNF- $\alpha$  含量为(  $489.6 \pm 5.22$  )  $\text{pg}/\text{ml}$ ,明显高于 5-FU 组的(  $167.9 \pm 3.9$  )  $\text{pg}/\text{ml}$  和 PBS 组的(  $47.3 \pm 2.7$  )  $\text{pg}/\text{ml}$ (  $P < 0.01$  ),提示 NDV 7793 可增加 LoVo 移植瘤组织中 TNF- $\alpha$  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<sup>[17-19]</sup>。

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)<sup>[20]</sup>。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<sup>[21]</sup>。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(  $2.28 \pm 0.68$  )  $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ ,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<sup>[22]</sup>。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<sup>[23]</sup>。研究<sup>[24-25]</sup>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- $\alpha$  的含量,结果提示 NDV 7793 还可通过提高 TNF- $\alpha$  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- $\alpha$  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  $\chi^2$ ; (7)相关系数用英文小写  $r$ ; (8)自由度用希文小写  $\nu$ ; (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)