

绿茶对小鼠 Lewis 肺癌生长的抑制及免疫调节

朱茂祥¹ 龚诒芬¹ 葛桂秀¹ 杨陟华¹ 韩 驰² 陈君石²

摘要 为了研究茶叶防癌作用,以接种 Lewis 肺癌细胞的 C₅₇/BL₆J 小鼠为实验模型,研究绿茶对带瘤小鼠肿瘤生长的抑制及免疫调节作用。结果表明,接种 Lewis 肺癌细胞后,C₅₇/BL₆J 小鼠胸腺重量及其指数减轻,T 淋巴细胞 CD₄ 亚群阳性百分数及 CD₄⁺/CD₈⁺ 比值下降,外周血白细胞本底化学发光降低,受酵母多糖刺激产生的化学发光增高以及脾 IgM 抗体生成细胞数减少。绿茶对小鼠体内 Lewis 肺癌的生长有明显抑制作用,并对上述各项指标的不良改变有不同程度的保护效果。

关键词 茶 肿瘤移植 免疫学试验

Effects of Green Tea on Growth Inhibition and Immune Regulation of Lewis Lung Cancer in Mice

Zhu M aoxiang, Gong Yifen, Ge Guixiu, et al. Institute of Radiation Medicine, Academy of Military Medical Sciences, Beijing 100850

Abstract C₅₇/BL₆J mice were inoculated with Lewis lung cancer cells as an experimental model to study the effects of green tea on cancer prevention, inhibition of tumor growth and immune regulation in mice with tumor. Results showed that weight of thymus in C₅₇/BL₆J mice and its index declined, proportion of positive CD₄ subgroup of T lymphocyte and ratio of CD₄⁺ to CD₈⁺ reduced, baseline chemiluminescence decreased in peripheral white blood cells, yeast zymosan stimulated chemiluminescence increased, and number of immunoglobulin M formation cells decreased. It indicated that green tea had obvious inhibition in Lewis lung cancer and protective effects, to various extent, on adverse changes of above indices.

Key words Tea Neoplasm transplantation Immunologic tests

饮茶与人体健康的关系极为密切,已证明茶叶及其提取物具有抗氧化、抗衰老、抗突变、降血脂及抗癌防癌等多种生物学活性^[1]。国内外大量的研究报道表明,茶及其提取物对黄曲霉毒素 B₁、亚硝胺等多种化学致癌物诱发的动物肿瘤有显著的抑制效果^[2-5],并可抑制肉瘤 S₁₈₀、艾氏腹水癌、肝癌等移植性肿瘤在小鼠体内的生长^[6]。临床和实验研究表明,肿瘤的发生发展与免疫功能失调有很大关系^[6-10],茶及其有效成分的防癌抑癌作用可能与其对机体免疫

功能的调节有关。本研究用 Lewis 肺癌细胞致 C₅₇/BL₆J 小鼠肺转移癌,以外周血白细胞化学发光(WBC-CL)、抗体生成细胞数(PFC)、胸腺 T 淋巴细胞 CD₄ 和 CD₈ 亚群阳性细胞百分数及其比值等非特异、体液和细胞免疫的代表性指标,观察绿茶及其组分对肿瘤生长的影响及免疫调节作用,为阐明茶叶防癌与免疫调节的关系提供实验依据。

材料与方法

1. 材料: C₅₇/BL₆J 小鼠(雌性,体重 14~16 g)购自军事医学科学院实验动物中心;绿茶(杭州炒青)由中国农业科学院茶叶科学研究所提

本研究为国家自然科学基金资助课题

作者单位: 1 军事医学科学院放射医学研究所 北京市

100850, 2 中国预防医学科学院营养与食品卫生研究所

供; 荷 Lewis 肺癌种鼠购自中国医学科学院药物研究所; 发光增强剂鲁米诺为 Sigma 公司产品; 酵母多糖购自上海第二军医大学放射医学教研室; T 淋巴细胞 CD₄ 和 CD₈ 亚群检测试剂购自北京医科大学免疫教研室; 绵羊红细胞 (SRBC) 采自健康成年绵羊, 豚鼠血清由北京药物毒物研究所免疫室提供, 1640 培养粉为 Gibco 公司产品; 其余为市售分析纯或优级纯试剂。

2. 仪器: 荧光显微镜 (Olympus); SHG-1 生物化学发光测量仪 (上海)。

3. 动物分组: 实验动物随机分为正常对照 (C)、茶对照 [1.0% (T_{1.0}), 1.5% (T_{1.5}) 和 2.0% (T_{2.0}) 三个剂量]、荷 Lewis 肺癌 (L)、以及 Lewis 肺癌 + 绿茶 [1.0% (LT_{1.0}), 1.5% (LT_{1.5}) 和 2.0% (LT_{2.0}) 三个剂量] 共 8 组, 每组 6~14 只动物。

4. 茶水泡制及剂量: 将绿茶用沸水浸泡两次 (每次 20~30 min), 合并两次浸出液, 用凉开水配成浓度分别为 1.0 (LT_{1.0}), 1.5 (LT_{1.5}) 和 2.0% (LT_{2.0}) 的茶水供小鼠自由饮用, 每日更换新鲜茶水, 并记录动物饮水量。茶对照 (T) 和 Lewis 肺癌 + 绿茶 (LT) 组从接种 Lewis 肺癌细胞前 15 天起饮用茶水, 直至活杀; C (阴性对照) 和 L (阳性对照) 组喂饮凉开水。

5. Lewis 肺癌细胞接种与抑瘤效果观察: 取荷 Lewis 肺癌小鼠中生长良好的瘤块, 制成 1×10^6 /ml 悬液, 于小鼠一侧后腿肌注 Lewis 肺癌细胞 0.2 ml, 9 天后活杀动物, 取 L 组肺组织, 用常规切片和 HE 染色法观察肺转移瘤灶; 分离双侧后腿称重, 以带瘤腿与无瘤腿重差值表示瘤重, 以瘤重占体重百分数表示肿瘤指数。

6. 外周血白细胞化学发光 (WBC-CL) 测量: 用鲁米诺依赖的酵母多糖刺激法测定 WBC-CL^[11], 每份样品分别测量基础化学发光 (bCL) 和激活化学发光 (aCL), 用 PBS 缓冲体系, 测量体积 1 ml, bCL 测量管含 0.1 ml 血和 0.1 mmol/L 鲁米诺, aCL 测量管含 0.1 ml 血、0.1 mmol/L 鲁米诺和 0.1 mg/ml 酵母多糖, 于 37 测量 10 秒的发光计数, 间隔 180 秒测

量一次, 连续测量 1 小时, 绘制化学发光曲线, 最后结果以 10^3 个 WBC 的发光峰值 (cps/ 10^3 WBC) 表示。

7. IgM 抗体生成细胞的检测: 用溶血空斑法 (小室法)^[12] 测定 IgM 抗体生成细胞数。小鼠经 SRBC 免疫 5 天后, 取脾脏制成单个脾细胞悬液, 计数细胞数, 取一定量的脾细胞与补体 (豚鼠血清) 一起于 37 孵育 1 小时后, 计数溶血空斑数, 结果用 IgM / 10^6 脾细胞表示。

8. 胸腺重量及其 T 淋巴细胞亚群测定: 取胸腺称重, 并计算胸腺指数 (占体重百分数)。制备胸腺单细胞悬液, 用间接免疫荧光法^[13] 测定 T 淋巴细胞 CD₄ 和 CD₈ 亚群阳性百分数 (CD₄⁺% 和 CD₈⁺%)。

9. 数据处理: 实验数据表示为 $\bar{x} \pm s$, 用 *t* 检验进行统计分析。

结 果

1. Lewis 肺癌细胞致小鼠肺转移瘤的实验模型: 小鼠肌注 Lewis 肺癌细胞 9 天后, 肺组织切片的观察结果表明, 血管内有大量的瘤细胞、坏死瘤细胞及多形核白细胞, 并可见瘤细胞内出现多核、胞浆空泡和突起, 说明肺内有转移瘤灶。而 C 对照组小鼠均为正常肺组织结构。

2. 茶浓度对动物饮水量及体重的影响: C₅₇/BL_{6J} 小鼠饮不同浓度茶水的饮水量及其体重增长情况如表 1 所示。结果表明, 茶越浓, 动

表 1 C₅₇/BL_{6J} 小鼠饮茶量及体重增长的影响

茶浓度 (%)	动物数 (只)	观察时间 (d)	饮水量 (ml/d)	体重增长率 (%)
0	14	15	5.3 ± 0.9	11.8 ± 2.5
1.0	14	15	4.4 ± 0.8*	10.6 ± 6.7
1.5	14	15	4.0 ± 1.0**	10.5 ± 5.0
2.0	14	15	3.6 ± 1.2***	1.2 ± 1.6***

与饮水动物比较, * *P* < 0.05, ** *P* < 0.01, *** *P* < 0.001

物饮茶 (水) 量越少, 两者呈明显的负相关; 1.0% 和 1.5% 的茶水对动物的体重增长无不良影响, 但 2.0% 的茶水对动物体重增长有显著不良影响。

3. 绿茶对接种 Lewis 肺癌细胞的小鼠肿

瘤生长的影响: 不同浓度的绿茶对接种 Lew is 肺癌细胞的 C₅₇/BL₆J 小鼠肿瘤生长的抑制效果如表 2 示。结果表明, 饮绿茶小鼠的肿瘤较小, 其中以 1.5% 和 1.0% 绿茶效果较好, 抑瘤率达 20% 以上。

表 2 绿茶对接种 Lew is 肺癌细胞的 C₅₇/BL₆J 小鼠肿瘤生长的抑制效果

组别	动物数	瘤重 (g)	体重 (g)	瘤体比	抑瘤率 (%)
L	14	0.64 ± 0.26	19.9 ± 1.7	0.032 ± 0.011	
LT _{1.0}	14	0.46 ± 0.26	19.9 ± 0.9	0.023 ± 0.010*	28.1
LT _{1.5}	14	0.51 ± 0.38	20.3 ± 1.1	0.025 ± 0.012*	20.3
LT _{2.0}	14	0.58 ± 0.23	18.5 ± 1.4	0.031 ± 0.008	9.4

与 L 组比: *P < 0.05

4. 绿茶对接种 Lew is 肺癌细胞的小鼠 WBC-CL 的影响: C₅₇/BL₆J 小鼠外周血 WBC-CL 的测定结果如表 3 示。可以看出, 单纯饮茶 (T 组三个剂量) 对 C₅₇/BL₆J 小鼠外周血 WBC-CL 无明显影响 (P > 0.05); 接种 Lew is 肺癌细胞的 C₅₇/BL₆J 小鼠 (L 组), bCL 明显降低, aCL 显著增高; 对接种 Lew is 肺癌细胞的 C₅₇/BL₆J 小鼠喂茶 (LT 三个剂量) 后, bCL 上升到正常对照组 (C) 水平 (P > 0.05), aCL 与荷瘤对照 (L) 组差异有显著性, 但未完全恢复到未荷瘤的对照组水平。说明绿茶对接种 Lew is 肺癌细胞所致 C₅₇/BL₆J 小鼠外周血 WBC-CL 的异常改变有较好的保护作用。

表 3 绿茶对接种 Lew is 肺癌细胞的 C₅₇/BL₆J 小鼠 WBC-CL 的影响

组别	动物数	WBC (10 ⁹ /L)	bCL (cps/10 ³ WBC)	aCL (cps/10 ³ WBC)
C	6	8.0 ± 1.9	558 ± 154	548 ± 120
T _{1.0}	5	4.6 ± 0.9	760 ± 88	923 ± 229
T _{1.5}	6	7.5 ± 2.3	677 ± 144	663 ± 82
T _{2.0}	6	9.5 ± 1.6	583 ± 117	554 ± 118
L	9	7.9 ± 2.5	368 ± 63**	1874 ± 312***
LT _{1.0}	9	9.6 ± 4.7	588 ± 151###	1263 ± 242###
LT _{1.5}	10	9.4 ± 1.4	556 ± 87###	1138 ± 285###
LT _{2.0}	9	8.9 ± 2.4	537 ± 56###	1526 ± 363***

与 C 组比: *P < 0.05, **P < 0.01, ***P < 0.001; 与 L 组比: ###P < 0.001

5. 绿茶对接种 Lew is 肺癌细胞的小鼠抗

体生成细胞影响: C₅₇/BL₆J 小鼠脾脏中抗体生成细胞数的测定结果如表 4 示。可以看出, 单纯饮茶 (T 组三个剂量) 对 C₅₇/BL₆J 小鼠脾脏中抗体生成细胞数无明显影响 (P > 0.05); 接种 Lew is 肺癌细胞的 C₅₇/BL₆J 小鼠 (L 组), 脾脏中抗体生成细胞数明显降低。绿茶对接种 Lew is 肺癌细胞所致 C₅₇/BL₆J 小鼠抗体生成细胞数的降低有明显的保护效果, 表现在 LT 三个剂量组的脾脏中抗体生成细胞数均恢复到未荷瘤的对照组 (C) 水平 (P > 0.05), 其中 1.5% 和 1.0% 茶组的结果与 L 组比有显著增高。

表 4 绿茶对接种 Lew is 肺癌细胞的 C₅₇/BL₆J 小鼠抗体生成细胞数影响

组别	鼠数	IgM / 10 ⁶ 脾细胞
C	6	1 862 ± 690
T _{1.0}	6	1 597 ± 374
T _{1.5}	6	1 429 ± 202
T _{2.0}	6	1 558 ± 305
L	6	1 083 ± 296*
LT _{1.0}	6	1 671 ± 168###
LT _{1.5}	6	1 757 ± 482###
LT _{2.0}	6	1 480 ± 613

与 C 组比, *P < 0.05; 与 L 组比较, ##P < 0.05, ###P < 0.005

6. 绿茶对接种 Lew is 肺癌细胞的小鼠胸腺重量及其指数的影响: C₅₇/BL₆J 小鼠的胸腺重量及其所占体重百分数 (胸腺指数) 的结果如表 5 示。可以看出, 与 C 组比较, 接种 Lew is 肺癌细胞的 C₅₇/BL₆J 小鼠 (L 组), 胸腺重量及其指数明显降低, 但饮茶对接种 Lew is 肺癌细胞的 C₅₇/BL₆J 小鼠胸腺重量及其指数改变无明显保护效果 (P > 0.05)。

7. 绿茶对接种 Lew is 肺癌细胞的小鼠胸腺 T 淋巴细胞亚群的影响: C₅₇/BL₆J 小鼠胸腺 T 淋巴细胞亚群的测定结果如表 6 示。可以看出, 单纯饮茶 (T 组三个剂量) 对 C₅₇/BL₆J 小鼠胸腺 T 淋巴细胞亚群 CD₄⁺%、CD₈⁺% 及 CD₄⁺/CD₈⁺ 比值均无明显影响 (P > 0.05); 接种 Lew is 肺癌细胞的 C₅₇/BL₆J 小鼠 (L 组), CD₄⁺% 明显减少, 而 CD₈⁺% 无变化, CD₄⁺/CD₈⁺

比值降低; 饮茶对接种Lew is 肺癌细胞的C₅₇/BL₆J 小鼠CD₄⁺% 的降低有保护效果, 其中1.5% 和1.0% 茶水的效果明显, 达到未荷瘤对照组水平(P > 0.05)。

表5 绿茶对接种Lew is 肺癌细胞的C₅₇/BL₆J 小鼠胸腺重量及其指数的影响

组别	鼠数	胸腺重量(g)	胸腺指数(%)
C	10	61.7 ± 15.3	0.31 ± 0.09
T _{1.0}	9	47.6 ± 7.1 [#]	0.25 ± 0.02
T _{1.5}	10	61.4 ± 9.7	0.32 ± 0.04
T _{2.0}	10	51.2 ± 14.3	0.26 ± 0.08
L	14	39.9 ± 9.9 ^{***}	0.20 ± 0.04 ^{***}
LT _{1.0}	14	39.4 ± 8.7 [*]	0.20 ± 0.04 ^{**}
LT _{1.5}	14	38.0 ± 10.0 ^{***}	0.18 ± 0.04 ^{***}
LT _{2.0}	14	33.8 ± 8.6 ^{***}	0.17 ± 0.05 ^{**}

与C 组比, *P < 0.05, **P < 0.01, ***P < 0.001; 与C 组比, #P < 0.05

表6 绿茶对接种Lew is 肺癌细胞的C₅₇/BL₆J 小鼠胸腺T 淋巴细胞亚群的影响

组别	鼠数	CD ₄ ⁺ %	CD ₈ ⁺ %	CD ₄ ⁺ /CD ₈ ⁺
C	8	68.6 ± 5.0	63.6 ± 11.1	1.11 ± 0.22
T _{1.0}	8	75.6 ± 3.9	58.9 ± 6.2	1.29 ± 0.10
T _{1.5}	8	65.7 ± 10.5	60.3 ± 6.9	1.10 ± 0.21
T _{2.0}	8	62.0 ± 12.5	55.4 ± 4.8	1.13 ± 0.17
L	8	54.6 ± 9.2 [*]	65.0 ± 7.5	0.84 ± 0.16 [*]
LT _{1.0}	8	64.7 ± 9.8 [#]	57.4 ± 8.0	1.14 ± 0.21 [#]
LT _{1.5}	8	65.6 ± 10.2 [#]	63.6 ± 5.7	1.05 ± 0.13 [#]
LT _{2.0}	8	57.8 ± 14.9	61.2 ± 8.7	0.96 ± 0.29

与C 组比, *P < 0.05; 与L 组比, #P < 0.05

讨 论

绿茶抗癌防癌的实验研究, 国内外已有大量报道^[2-8], 但有关其抗癌防癌的免疫机理方面的研究还不多见。我们用Lew is 肺癌细胞致C₅₇/BL₆J 小鼠肿瘤的实验模型, 研究绿茶对肿瘤的抑制作用及其免疫调节。结果表明, 接种Lew is 肺癌细胞后, C₅₇/BL₆J 小鼠的细胞、体液和非特异等多项免疫指标均有显著改变, 特别表现在胸腺重量及其指数减轻、胸腺T 淋巴细胞CD₄ 亚群阳性百分数及CD₄⁺/CD₈⁺ 比值降低、抗体生成细胞数减少、外周血白细胞化学发光的本底下降以及酵母多糖刺激诱发的化学发光增高, 说明接种Lew is 肺癌细胞对C₅₇/BL₆J

小鼠的免疫功能有不良影响。绿茶能抑制接种Lew is 肺癌细胞的C₅₇/BL₆J 小鼠体内的肺肿瘤生长, 并对由于荷瘤而造成的免疫功能改变有调节作用。除胸腺及其指数外, 对其他几项免疫指标均有明显保护作用; 其中, 外周血化学发光的本底值, 抗体生成细胞数和胸腺T 淋巴细胞亚群CD₄ 亚群阳性百分数及CD₄⁺/CD₈⁺ 比值完全恢复到未荷瘤的对照组水平, 提示绿茶对接种Lew is 肺癌细胞致C₅₇/BL₆J 小鼠肿瘤造成机体免疫的损伤有较好的保护作用。

在与肿瘤发生关系较为密切的多项免疫指标中, 体液免疫首推抗体生成细胞数, 细胞免疫则首推T 淋巴细胞亚群和迟发性过敏反应^[14]。我们选择脾脏抗体生成细胞数和胸腺T 淋巴细胞亚群分别作为评价体液免疫和细胞免疫的指标, 结果表明接种Lew is 肺癌细胞的C₅₇/BL₆J 小鼠这两项指标均明显低于正常对照组, 而饮茶后, 小鼠接种Lew is 肺癌细胞所致的这两项指标的异常改变均得到明显的保护, 效果显著。这不仅进一步证实了这两项免疫指标在评价肿瘤发生中的意义, 而且从免疫调节方面提示绿茶的防癌作用可能与其对免疫功能的调节作用有关。在本研究中, 我们还测定了脾NK 活性和外周血T 淋巴细胞百分数, 结果发现这两项免疫指标在接种Lew is 肺癌细胞的C₅₇/BL₆J 小鼠中均无变化, 说明在该实验模型中, 这两项指标在肿瘤发生的免疫调节方面无评价意义。

化学发光是评价机体非特异免疫功能的一项指标^[15], 吞噬细胞的基础化学发光可能反映了体内吞噬细胞的生理功能, 即其吞噬和防御外源异物侵入所致机体损伤的能力; 而激活的化学发光模拟了体内吞噬细胞受炎性等因子刺激后释放氧自由基的情况, 同时反映了机体内过量自由基的水平。本研究表明, 接种Lew is 肺癌细胞的C₅₇/BL₆J 小鼠, 其外周血白细胞化学发光的本底值明显低于正常对照组水平, 而受酵母多糖刺激产生的化学发光则显著增高, 而饮绿茶则对这些异常改变均有明显的保护作用, 说明该指标在评价肿瘤发生中的免疫调节

方面有一定意义。

本研究结果中, 2.0% 的茶对 Lewis 肺癌细胞致 C₅₇/BL₆J 小鼠肿瘤的抑制率不到 10%, 效果不明显, 其免疫调节作用也不明显, 原因可能是 2.0% 的茶水太浓, 不适于实验动物饮用, 导致动物饮水量过少, 不足以满足正常生理代谢的需要, 从而影响了动物的一般身体状况(如体重增长情况等), 而并非是茶叶所致的不良反应。从动物所摄入有效成分(茶水浓度 × 饮水量)分析, 饮 2.0% 茶水与饮 1.5% 茶水所摄入的有效成分差不多, 而 1.5% 的茶水抑瘤效果和免疫调节作用都比较显著, 也可说明这一点。

此外, 本研究结果还表明, 饮茶对正常 C₅₇/BL₆J 小鼠的免疫功能并无增强作用, 而对接种 Lewis 肺癌细胞所致免疫功能损伤性的不良改变却显示出较强的保护效果。在另一方面, 饮茶尽管可使接种 Lewis 肺癌的小鼠的多项免疫功能得到完全的保护, 达到与正常对照动物的同等水平, 但对肺肿瘤生长的抑制作用却只有约 20% ~ 30%。这提示肿瘤的发生发展, 除免疫功能受损外, 还存在其他一些机制。绿茶除对肿瘤发生发展过程中所致免疫功能的损伤有保护效果外, 其他防癌机制正有待进一步研究。

参 考 文 献

- 董小麟. 儿茶素的理化性质、生物学作用及其开发应用研究进展. 茶叶通讯, 1989, 4: 37.
- 覃国忠, 严瑞琪, 李 瑗, 等. 不同浓度绿茶及茶叶渣对黄曲霉毒素 B₁ 致大鼠肝癌作用的影响. 肿瘤, 1990, 3: 121.
- 林培中, 程书钧, 张金生. 绿茶抑制致癌物诱发小鼠前胃、食道肿瘤的研究. 中国医学科学院学报, 1990, 2: 156.
- 韩 驰, 徐 勇. 茶叶对 N-甲基苄基亚硝酸胺诱发大鼠食道肿瘤的影响. 中华预防医学杂志, 1989, 23: 67.
- Wang ZY, Khan WA, Bichers DR, et al. Protection against polycyclic aromatic hydrocarbon induced skin tumor initiation in mice by green tea polyphenols. Carcinogenesis, 1989, 10: 411.
- 阎玉森, 王球达, 邹玉珍, 等. 绿茶对荷瘤小鼠细胞免疫功能的影响及其抑瘤作用. 中华预防医学杂志, 1992, 26: 5.
- Kadish AS, Doyle AT, Steinhauer EH, et al. Natural cytotoxicity and interferon production in human cancer: deficient natural killer activity and normal interferon production in patients with advanced disease. J Immunol, 1981, 127: 1817.
- 宁耀瑜, 杨志平, 张明安, 等. 绿茶在 AFB₁ 致大鼠肝癌作用中对免疫功能的影响. 广西医学院学报, 1990, 7: 27.
- Zhang YH, Zhang SR, Chen LP, et al. Immunodeficiency acquired during carcinogenesis: A mechanism facilitating cancer development. Chin Med J, 1987, 2: 100.
- Pross HF, Bonines MG. Spontaneous human lymphocyte-mediated cytotoxicity against tumor target cells. I. The effect of malignant disease. Int J Cancer, 1976, 18: 593.
- 朱茂祥, 龚谄芬, 葛桂秀, 等. 大鼠吞噬细胞释放的自由基在放射性肺炎发展中的作用. 中华放射医学与防护杂志, 1996, 16: 96.
- Jene NK, Nordin AA. Plaque formation in agar by single antibody-producing cells. Science, 1963, 140: 405.
- Pearse M. Molecular characterization of T-cell antigen receptor expression by subsets CD4, CD8 murine thymocytes. Proc Natl Acad Sci USA, 1988, 85: 6082.
- Luster M I, Portier C, Pairt DG, et al. Risk assessment in immunotoxicology. I. Sensitivity and predictability of immune tests. Fundam Appl Toxicol, 1992, 18: 200.
- International Programme on Chemical Safety Environmental Health Criteria. Principles and methods for assessing direct immunotoxicity associated with exposure to chemicals. Geneva, 1994: 188.

(收稿: 1997-04-22 修回: 1997-10-22)

(本文编辑: 刘 群)

关于论文署名的说明

论文署名不宜过多, 应是能对研究成果负责者。文章随单位介绍信寄到本刊编辑部后, 作者姓名及顺序不宜轻易变动或增减, 必须变动或增减时要出示单位证明。无证明或已经在稿件排版后提出改动者不予办理。

(本刊编辑部)