

文章编号: 1000-7423(2011)-06-0425-06

【论著】

间质干细胞培养上清对日本血吸虫 SEA 诱导活化的巨噬细胞株 RAW264.7 的抑制作用

徐会娟, 钱晖, 朱伟, 张徐, 严永敏, 张蕾蕾, 毛飞, 许文荣*

【摘要】 目的 观察大鼠骨髓间质干细胞 (mesenchymal stem cell, MSC) 培养上清对日本血吸虫可溶性虫卵抗原 (soluble egg antigen, SEA) 诱导活化的巨噬细胞的抑制作用。方法 用 5、10、20 和 40 $\mu\text{g/ml}$ SEA 分别诱导巨噬细胞株 RAW264.7 12 h, 或用 20 $\mu\text{g/ml}$ SEA 分别诱导小鼠巨噬细胞株 (RAW264.7) 4、8、12 和 24 h 后, 用实时荧光定量 PCR 检测 α 肿瘤坏死因子 (TNF- α) 的 mRNA 水平, 选择 SEA 的最佳作用浓度和作用时间。将巨噬细胞分成 5 组, 分别为阴性对照组、SEA 组、SEA+MSC 上清组 (MSC 组)、SEA+大鼠肾小管上皮细胞株 (NRK-52E) 上清组 (NRK-52E 组) 和 SEA+DMEM 细胞培养基组 (DMEM 组)。除阴性对照组外, 其他各组给予 20 $\mu\text{g/ml}$ SEA 诱导巨噬细胞活化 12 h 后, MSC 组、NRK-52E 组和 DMEM 组换液撤 SEA, 分别给予 MSC 培养上清、NRK-52E 细胞培养上清和 DMEM 培养液, 继续培养。显微镜观察细胞上清培养 12 h 后各组细胞形态。实时荧光定量 PCR 检测细胞上清培养 12 h 和 24 h 后 TNF- α mRNA 水平。蛋白质印迹 (Western blotting) 分析检测细胞上清培养 12 h 后转化生长因子 β 1 (TGF- β 1) 的蛋白表达水平。噻唑蓝比色法 (MTT 法) 测定细胞上清培养 24 h 和 48 h 后巨噬细胞增殖情况。结果 SEA 活化巨噬细胞的最佳浓度和时间分别为 20 $\mu\text{g/ml}$ 和 12 h。镜下观察显示, MSC 上清培养 12 h 后, MSC 组与 SEA 组、NRK-52E 组和 DMEM 组相比, 细胞变圆, 体积明显较小, 伪足较少。MSC 上清作用 12 h 和 24 h 后, MSC 组 TNF- α mRNA 水平分别为阴性对照组的 (1.0 \pm 0.4) 和 (1.0 \pm 0.5) 倍, 显著低于 NRK-52E 组 [分别为 (10.4 \pm 3.9) 和 (16.5 \pm 5.0) 倍 (12 h; P <0.05; 24 h; P <0.01)] 和 DMEM 组 [分别为 (6.0 \pm 2.1) 和 (2.4 \pm 0.7) 倍 (均 P <0.05)]。MSC 上清作用 12 h 后, MSC 组蛋白 TGF- β 1/GAPDH 为 0.31 \pm 0.10, 显著低于 NRK-52E 组 (0.88 \pm 0.10, P <0.01) 和 DMEM 组 (0.58 \pm 0.06, P <0.05)。MSC 上清作用 48 h 后, MSC 组吸光度 (A_{490} 值) 为 0.22 \pm 0.05, 与 NRK-52E 组 (0.53 \pm 0.02) 和 DMEM 组 (0.31 \pm 0.03) 比较差异均有统计学意义 (均 P <0.05)。结论 MSC 培养上清能抑制 SEA 诱导的巨噬细胞株 RAW264.7 活化。

【关键词】 间质干细胞; 日本血吸虫; 巨噬细胞; 可溶性虫卵抗原

中图分类号: R383.24

文献标识码: A

Inhibition of Culture Supernatant of Mesenchymal Stem Cells on Macrophages RAW264.7 Activated by Soluble Egg Antigen of *Schistosoma japonicum*

XU Hui-juan, QIAN Hui, ZHU Wei, ZHANG Xu, YAN Yong-min, ZHANG Lei-lei, MAO Fei, XU Wen-rong*

(School of Medical Science and Laboratory Medicine, Jiangsu University, Zhenjiang 212013, China)

【Abstract】 **Objective** To observe the inhibitive effect of rat mesenchymal stem cells (MSC) culture supernatant on macrophages activated by soluble egg antigen (SEA) of *Schistosoma japonicum*. **Methods** To select optimal SEA effecting concentration and time, macrophages RAW264.7 were induced by 5, 10, 20 or 40 $\mu\text{g/ml}$ SEA for 12 h, or by 20 $\mu\text{g/ml}$ SEA for 4, 8, 12 or 24 h before examination of TNF- α mRNA by RT-PCR. Macrophages were divided into five groups, i.e. negative control group, SEA group, SEA+MSC supernatant group (MSC group), SEA+NRK-52E supernatant group (NRK-52E group) and SEA+DMEM group (DMEM group). Except negative control group, macrophages in other four groups were induced by 20 $\mu\text{g/ml}$ SEA for 12 h. SEA was then removed from MSC group, NRK-52E group and DMEM group and replaced with MSC supernatant, NRK-52E supernatant and DMEM, respectively. Morphology of macrophages in each group was observed by microscope after cultured with supernatant for 12 h. TNF- α mRNA in macrophages was detected by real-time quantitative PCR after cultured with supernatant for 12 h and 24 h. TGF- β 1 in

基金项目: 国家自然科学基金青年基金 (No. 81000181); 江苏省博士研究生创新基金 (No. CX10B_281Z)

作者单位: 江苏大学基础医学与医学技术学院, 镇江 212013

* 通讯作者, E-mail: icls@ujs.edu.cn

macrophages was observed by Western blotting analysis after cultured with supernatant for 12 h. Macrophage proliferation was tested by MTT method after cultured with supernatant for 24 h and 48 h. **Results** The optimal SEA concentration and time for macrophage activation was 20 $\mu\text{g/ml}$ and 12 h, respectively. Compared with SEA group, NRK-52E group, and DMEM group, macrophages in MSC group were round and small with less pseudopodia after cultured with supernatant for 12 h. TNF- α mRNA after cultured with MSC supernatant for 12 h and 24 h was (1.0 \pm 0.4) and (1.0 \pm 0.5) fold of negative control group, respectively, significantly less than NRK-52E group [(10.4 \pm 3.9) and (16.5 \pm 5.0) fold] (12 h: $P<0.05$; 24 h: $P<0.01$) and DMEM group [(6.0 \pm 2.1) and (2.4 \pm 0.7) fold] ($P<0.05$). The grey density image analysis of TGF- β 1/GAPDH was 0.31 \pm 0.10 in MSC group, much lower than 0.88 \pm 0.10 in NRK-52E group ($P<0.01$) and 0.58 \pm 0.06 in DMEM group ($P<0.05$) after cultured with supernatant for 12 h. After 48 h culture, A_{490} of macrophages in MSC group was 0.22 \pm 0.05, much lower than 0.53 \pm 0.02 in NRK-52E group and 0.31 \pm 0.03 in DMEM group ($P<0.05$). **Conclusion** MSC supernatant can inhibit activation and proliferation of macrophages which were induced by SEA of *S. japonicum*.

【Key words】 Mesenchymal stem cell; *Schistosoma japonicum*; Macrophage; Soluble egg antigen

Supported by National Natural Science Foundation of China (No. 81000181) and Jiangsu Province Doctoral Innovation Fund (No. CX10B_281Z)

* Corresponding author, E-mail: icls@ujs.edu.cn

日本血吸虫病最主要的病变是由于可溶性虫卵抗原(soluble egg antigen, SEA)诱导的IV型变态反应,引起虫卵肉芽肿和纤维化。巨噬细胞作为纤维化形成中的一种重要的效应细胞,在血吸虫性肝纤维化中起重要作用。间质干细胞(mesenchymal stem cells, MSCs)是具有高度自我更新和多向分化潜能的多能干细胞,是再生医学研究的热点。具有横向分化和“旁分泌”功能。在肝损伤^[1]、肺损伤^[2]和心肌梗塞^[3]等多种疾病修复中发挥重要作用;在体内外实验中可以经诱导分化为肝细胞样细胞,促进损伤肝脏的修复^[1]。小鼠体内实验发现,间质干细胞具有缓解血吸虫性肝纤维化的作用(待发表)。本研究旨在研究间质干细胞培养上清对SEA诱导的活化巨噬细胞的作用,从而进一步探讨间质干细胞抑制血吸虫性肝纤维化的机制,为间质干细胞在抗血吸虫性肝纤维化中的应用提供理论依据。

材料与amp;方法

1 材料

1.1 实验动物和日本血吸虫尾蚴 新西兰兔6只,约2.5 kg,购自江苏大学实验动物中心。日本血吸虫阳性钉螺购自江苏省血吸虫病防治研究所,以常规方法逸出尾蚴。

1.2 细胞株 大鼠肾小管上皮细胞株(NRK-52E)和小鼠巨噬细胞株(RAW264.7)均购自中国科学院细胞库。大鼠间质干细胞(MSCs)按照文献[4]的方法分离培养。

1.3 主要试剂及仪器 DMEM细胞培养基(高糖)和胎牛血清购自美国Gibco公司。总RNA提取试剂

(Trizol)购自美国Invitrogen公司。逆转录试剂盒购自美国MBI公司。实时荧光定量PCR试剂盒购自日本ToYoBo公司。甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH)抗体、转化生长因子 β 1(TGF- β 1)抗体和辣根过氧化物标记的羊抗鼠IgG(HRP-IgG)均购自上海康成生物工程有限公司。噻唑蓝比色法(MTT法)试剂盒购自美国Amresco公司。倒置显微镜(TE300)为日本Nikon公司产品。酶标仪(uQuant)为美国BIO-TEK仪器公司产品。

2 方法

2.1 血吸虫卵的分离、纯化和SEA的提取 每只家兔感染600条血吸虫尾蚴,于感染后第7周剖杀,按文献[5]的方法自肝脏虫卵肉芽肿中分离纯化血吸虫卵。取约50 μl 纯化的虫卵,加入200 μl 蛋白裂解液,冰上超声粉碎,12 921 \times g离心15 min,收集上清,测蛋白浓度,0.22 μm 滤膜除菌,-70 $^{\circ}\text{C}$ 保存备用。

2.2 SEA活化巨噬细胞的最佳浓度和时间 将巨噬细胞株RAW264.7接种于24孔板,2 \times 10⁵个/孔,培养8 h后加入SEA,分别使SEA终浓度为5、10、20和40 $\mu\text{g/ml}$,继续培养12 h,收集细胞,提取总RNA。同样方法,巨噬细胞经培养8 h后,加入SEA,使其终浓度为20 $\mu\text{g/ml}$,分别培养4、8、12和24 h后,收集细胞,提取总RNA。均设阴性对照。按照逆转录试剂盒说明书操作,将RNA逆转录为cDNA后,进行实时荧光定量PCR,将 β 肌动蛋白(β -actin)作为内参。根据小鼠 α 肿瘤坏死因子(TNF- α)和 β -actin基因片段序列(GenBank登录号分别为BC137720.1和NM_007393.3)自行设计引物,扩增TNF- α 的上、下游引物序列分别为5'-AACTCCAGGCGGTGCCTATG-3'

和 5'-TCCAGCTGCTCCTC CACTTG-3', 扩增片段为 242 bp; 扩增 β -actin 的上、下游引物序列分别为 5'-CACGAAACTACCTTCAACTCG-3' 和 5'-CATACTCCTGCTTGCTGATC-3', 扩增片段为 265 bp。引物由上海生工生物工程技术有限公司合成。反应体系为: 2 \times SYBR Green PCR Master Mix 10 μ l, 10 μ mol/L 上、下游引物各 0.5 μ l, Taq DNA 聚合酶 0.1 μ l 和 3 700 μ g/ μ l 模板 1 μ l。反应条件为: 94 $^{\circ}$ C 5 min; 94 $^{\circ}$ C 30 s, 60 $^{\circ}$ C 30 s, 72 $^{\circ}$ C 30 s, 85 $^{\circ}$ C 8 s 采集荧光信号, 共 30 个循环; 72 $^{\circ}$ C 10 min。计算 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 值来表示 TNF- α mRNA 的相对转录水平, 选择 SEA 活化巨噬细胞的最佳浓度和时间。实验重复 3 次。

2.3 大鼠间质干细胞和大鼠肾小管上皮细胞培养上清的收集 用含 10%胎牛血清的 DMEM 细胞培养基(高糖)培养间质干细胞和肾小管上皮细胞株 NRK-52E 细胞, 待细胞密度达 40%~50%时, 换液。继续培养 48 h, 此时细胞密度约为 80%~90%, 收集培养上清。

2.4 实验分组 实验分成 5 组, 分别为阴性对照组、SEA 组、SEA+MSC 上清组(MSC 组)、SEA+NRK-52E 上清组(NRK-52E 组)和 SEA+DMEM 组(DMEM 组)。将巨噬细胞接种于 24 孔板, 2 \times 10⁵ 个/孔, 培养 8 h 后, 除阴性对照组外分别加入 SEA, 终浓度均为 20 μ g/ml, 阴性对照组不作任何处理。继续培养 12 h 后, MSC 组、NRK-52E 组和 DMEM 组分别弃培养液, PBS 洗涤 2 次, 加入间质干细胞培养上清、肾小管上皮细胞培养上清和 DMEM 培养液, 阴性对照组和 SEA 组不作任何处理。继续培养 12 h 后, 镜下观察各组细胞形态。

2.5 实时荧光定量 PCR 检测 TNF- α mRNA 转录水平 分别于加入间质干细胞培养上清后 12 h 和 24 h 收集各组细胞, 提取总 RNA, 进行逆转录和实时荧光定量 PCR, 方法同 2.2。

2.6 蛋白质印迹 (Western blotting) 分析检测 TGF- β 1 蛋白表达水平 加入间质干细胞培养上清后 12 h 收集各组细胞, 提取蛋白并测定浓度。每孔加入总蛋白 150 μ g, 进行十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳 (SDS-PAGE), 转至聚偏氟乙烯 (PVDF) 膜, 用 5% 脱脂牛奶封闭 1 h。加入抗 GAPDH (1:5 000) 或抗 TGF- β 1 (1:500) IgG 抗体, 4 $^{\circ}$ C 过夜, 洗膜后, 加入羊抗鼠 HRP-IgG (1:5 000), 37 $^{\circ}$ C 1 h。用增强化学发光法 (ECL) 显色, 通过灰度扫描, 计算各组 TGF- β 1 与 GAPDH 比值, 来判断 TGF- β 1 蛋白的相对表达水平。实验重复 3 次。

2.7 MTT 比色法测定巨噬细胞增殖情况 于 96 孔板中接种 RAW264.7, 1 500 个/孔, 各组处理方法同 2.4, 分别于加入间质干细胞培养上清后 24 h 和 48 h, 加

入 MTT, 再培养 4 h 后吸出培养液, 再加入二甲基亚砷 (DMSO) 150 μ l/孔, 用酶标仪测吸光度 (A_{490} 值)。每组每次 4 个复孔, 重复 3 次。

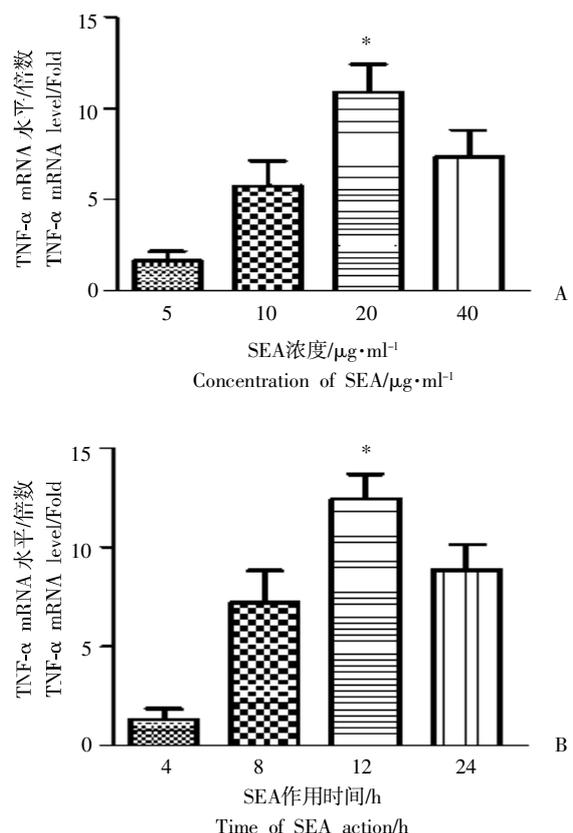
3 统计学分析

用 GraphPad Prism 5 软件进行方差分析和 *t* 检验, $P < 0.05$ 认为差异有统计学意义。

结 果

1 SEA 活化巨噬细胞的最佳浓度和时间

5、10、20 和 40 μ g/ml SEA 作用于 RAW264.7 巨噬细胞 12 h 后, TNF- α mRNA 的相对转录水平分别为阴性对照的 (1.6 \pm 0.5)、(5.7 \pm 1.4)、(10.9 \pm 1.5) 和 (7.3 \pm 1.5) 倍, 其中 20 μ g/ml 组显著高于其他各浓度组 ($P < 0.05$) (图 1A)。20 μ g/ml SEA 作用于 RAW264.7 细胞 4、8、12 和 24 h 后, TNF- α mRNA 的相对转录水平分别为阴性对照的 (1.3 \pm 0.5)、(7.2 \pm 1.5)、(12.4 \pm 1.3) 和 (8.8 \pm 1.3) 倍, 其中 12 h 组显著高于其他各时间组 ($P < 0.05$) (图 1B)。SEA 活化巨噬细胞的最佳浓度和时间分别为 20 μ g/ml 和 12 h。



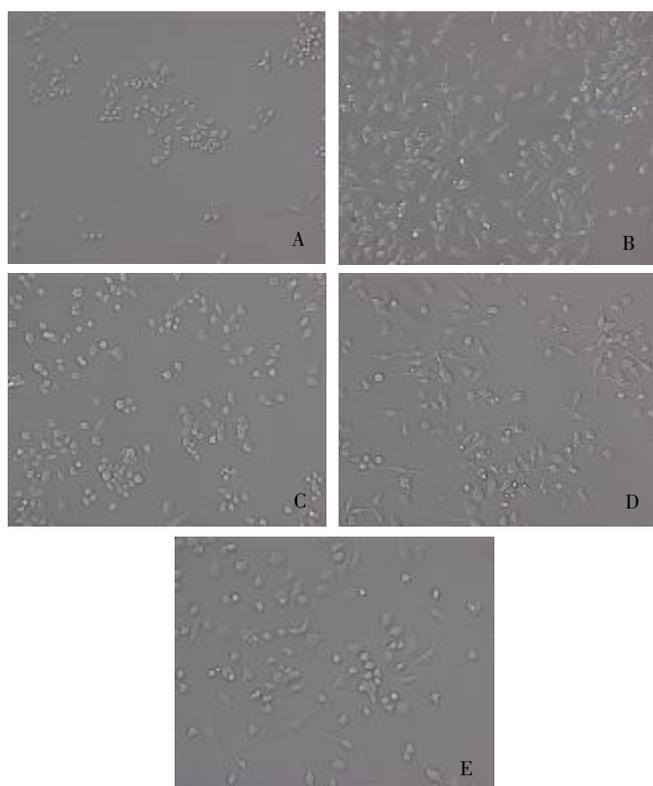
注: 与其他各组比较, * $P < 0.05$ 。 Note: vs other groups, * $P < 0.05$.

图 1 SEA 不同浓度和不同作用时间对巨噬细胞株 RAW264.7 TNF- α mRNA 水平的影响

Fig. 1 Effect of SEA with various concentrations or acting time on mRNA level of TNF- α in RAW264.7 macrophages

2 巨噬细胞形态的变化

镜下观察显示, SEA 组的 RAW264.7 细胞较阴性对照组体积明显增大, 有伪足形成。与 SEA 组、NRK-52E 组和 DMEM 组细胞比较, MSC 组的 RAW264.7 细胞体积较圆, 体积较小, 伪足较少。而 NRK-52E 组细胞形态与 SEA 组相似, 其伪足与 MSC 组和 DMEM 组比较, 明显细长且增多 (图 2)。



A: 阴性对照组; B: SEA 组; C: MSC 组; D: NRK-52E 组; E: DMEM 组。
A: Negative control group; B: SEA group; C: MSC group; D: NRK-52E group; E: DMEM group.

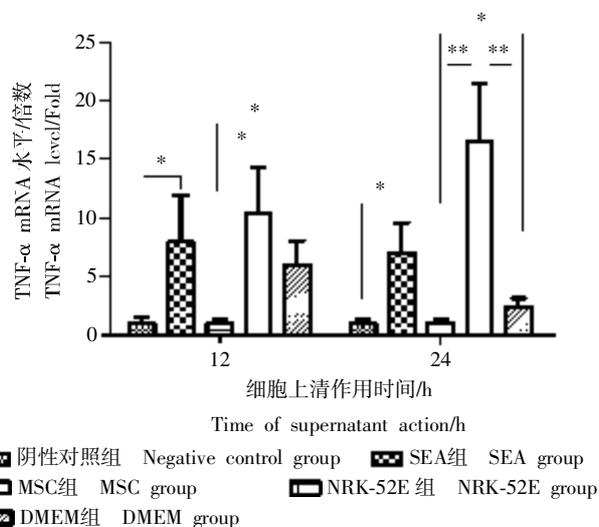
图 2 各组巨噬细胞 RAW264.7 的形态 (×200)

Fig. 2 The morphology of RAW264.7 macrophages in five groups (×200)

3 间质干细胞培养上清对巨噬细胞 TNF-α mRNA 水平的影响

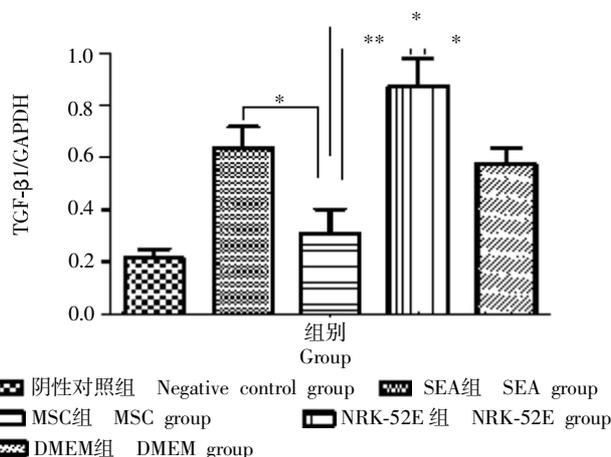
间质干细胞培养上清作用 12 h 和 24 h 后, MSC 组 TNF-α 的 mRNA 水平分别为阴性对照组的 (1.0±0.4) 和 (1.0±0.5) 倍, 显著低于 NRK-52E 组 [分别为 (10.4±3.9) 和 (16.5±5.0) 倍 (12 h: $P<0.05$; 24 h: $P<0.01$)] 和 DMEM 组 [分别为 (6.0±2.1) 和 (2.4±0.7) 倍 (均 $P<0.05$)]。肾小管上皮细胞培养上清作用 24 h 后, NRK-52E 组 TNF-α 的 mRNA 水平显著高于 DMEM 组 ($P<0.01$) (图 3)。

4 间质干细胞培养上清对巨噬细胞 TGF-β1 蛋白表达水平的影响



注: * $P<0.05$, ** $P<0.01$ 。Note: * $P<0.05$, ** $P<0.01$ 。

图 3 巨噬细胞 TNF-α mRNA 的转录水平
Fig. 3 mRNA levels of TNF-α in macrophages



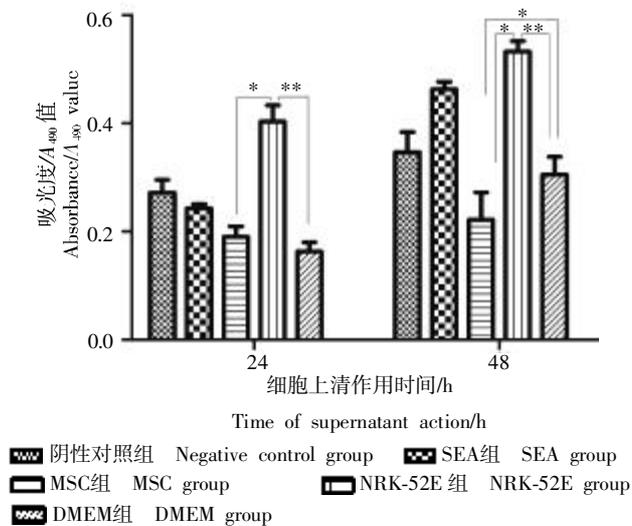
注: * $P<0.05$, ** $P<0.01$ 。Note: * $P<0.05$, ** $P<0.01$ 。

图 4 巨噬细胞 TGF-β1 的蛋白表达水平
Fig. 4 The expression of TGF-β1 in macrophages

间质干细胞培养上清作用 12 h 后, MSC 组蛋白灰度扫描 TGF-β1/GAPDH 为 0.31 ± 0.10 , 显著低于 NRK-52E 组 (0.89 ± 0.10 , $P<0.01$) 和 DMEM 组 (0.59 ± 0.06 , $P<0.05$) (图 4)。

5 间质干细胞培养上清对巨噬细胞增殖水平的影响

间质干细胞培养上清作用 24 h 后, MSC 组 A_{490} 值为 0.19 ± 0.02 , 显著低于 NRK-52E 组 (0.40 ± 0.03 , $P<0.05$), 与 DMEM 组 (0.16 ± 0.02) 比较差异无统计学意义 ($P>0.05$)。间质干细胞培养上清作用 48 h 后, MSC 组 A_{490} 值为 0.22 ± 0.05 , 与 NRK-52E 组 (0.53 ± 0.02) 和 DMEM 组 (0.31 ± 0.03) 比较差异均有统计学意义 (均 $P<0.05$)。肾小管上皮细胞培养上清作用 24 h 和 48 h 后, NRK-52E 组 A_{490} 值均显著高于 DMEM 组 (均 $P<0.01$) (图 5)。



注: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$. Note: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$.

图 5 巨噬细胞增殖情况
Fig. 5 Proliferation of macrophages

讨 论

在血吸虫卵形成的炎症肉芽肿周围,有包括巨噬细胞的大量炎症细胞浸润。朱虹等^[6]发现被 SEA 活化的巨噬细胞培养上清能诱导肝星状细胞活化使之产生胶原。SEA 可以诱导巨噬细胞高表达细胞因子 TNF- α , 活化核因子 κ B (NF- κ B) 信号通路,促进肝、肺等纤维化的形成^[7,8]。活化的巨噬细胞还可分泌 TGF- β 1^[9,10],促进肝纤维化形成。因此,巨噬细胞及其分泌的 TNF- α 和 TGF- β 1 在纤维化形成中发挥重要作用。

间质干细胞具有组织修复和免疫调节的作用,其可以通过抑制 T 细胞的增殖发挥免疫抑制作用^[11,12]。有文献报道,间质干细胞与巨噬细胞共培养可以促进白细胞介素 10 (IL-10) 的产生,抑制 TNF- α 的表达^[13]。Maggini 等^[14]报道了大鼠骨髓来源的间质干细胞可以将活化的炎症性巨噬细胞转化为调节性的巨噬细胞,抑制 TNF- α 的表达。杨义武等^[15]发现大鼠间质干细胞培养上清能显著抑制脂多糖(LPS)活化的巨噬细胞分泌 TNF- α 。

在本实验中,用 SEA 刺激巨噬细胞,细胞体积增大,有伪足生成, TNF- α 的转录水平和 TGF- β 1 的蛋白表达水平显著提高,细胞增殖水平升高,证实了 SEA 有活化巨噬细胞的作用。将间质干细胞培养上清作用于经 SEA 活化的巨噬细胞,实验结果从细胞形态、TNF- α 和 TGF- β 1 的转录和表达,以及细胞增殖水平多个方面都证实了间质干细胞培养上清能抑制巨噬细胞的活化。

间质干细胞培养上清中含有其分泌的多种细胞因子,如血管内皮生长因子(VEGF)、TGF- β 1、肝细胞生长因子(HGF)、胰岛素样生长因子-1(IGF-1)和 IL-10 等,而与巨噬细胞抑制相关的因子主要有 HGF 和 IL-10,这些因子可能共同作用于巨噬细胞,抑制 TNF- α 、IL-1 β 和 IL-6 等的表达,并促进 IL-10 的表达,从而诱导炎症性巨噬细胞向调节性巨噬细胞转化^[14,16]。本研究结果进一步证实,间质干细胞可以通过旁分泌作用在抗炎和抗纤维化中发挥重要作用。本研究还发现,肾小管上皮细胞 NRK-52E 培养上清能显著增加巨噬细胞 TNF- α 和 TGF- β 1 的表达,促进巨噬细胞增殖,可能是通过 NRK-52E 细胞分泌的某些因子或者代谢产物发挥作用,目前还未见相关报道,尚待进一步研究。

参 考 文 献

- [1] Yan Y, Xu W, Qian H, *et al.* Mesenchymal stem cells from human umbilical cords ameliorate mouse hepatic injury *in vivo* [J]. *Liver Int*, 2009, 29(3): 356-365.
- [2] Moodley Y, Atienza D, Manuelpillai U, *et al.* Human umbilical cord mesenchymal stem cells reduce fibrosis of bleomycin-induced lung injury [J]. *Am J Pathol*, 2009, 175(1): 303-313.
- [3] Hou M, Yang KM, Zhang H, *et al.* Transplantation of mesenchymal stem cells from human bone marrow improves damaged heart function in rats [J]. *Int J Cardiol*, 2007, 115(2): 220-228.
- [4] Tropel P, Noël D, Platet N, *et al.* Isolation and characterisation of mesenchymal stem cells from adult mouse bone marrow [J]. *Exp Cell Res*, 2004, 295(2): 395-406.
- [5] Wang YH, Peng HJ, Gu JB. Improved preparation of pure alive eggs of *Schistosoma japonicum* [J]. *Chin J Parasitol Parasit Dis*, 2008, 26(2): 160-161. (in Chinese)
(王衍海, 彭鸿娟, 顾金保. 日本血吸虫纯净活虫卵制备方法的改进 [J]. *中国寄生虫学与寄生虫病杂志*, 2008, 26(2): 160-161.)
- [6] Zhu H, Wu Q, Yang Y, *et al.* Effect of astragalosides on schistosomal hepatic fibrosis *in vitro* [J]. *Chin Pharmacol Bull*, 2006, 22(5): 555-558. (in Chinese)
(朱虹, 吴强, 杨雅, 等. 黄芪总苷对血吸虫卵抗原活化的肝星状细胞增殖与胶原合成的影响 [J]. *中国药理学通报*, 2006, 22(5): 555-558.)
- [7] Luedde T, Schwabe RF. NF- κ B in the liver-linking injury, fibrosis and hepatocellular carcinoma [J]. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 2011, 8(2): 108-118.
- [8] Bodas M, Vij N. The NF-kappaB signaling in cystic fibrosis lung disease: pathophysiology and therapeutic potential [J]. *Discov Med*, 2010, 9(47): 346-356.
- [9] Chu DY, Li CL, Li J, *et al.* Effect of paeoniflorin on secretion of TGF- β 1 from macrophages in mice [J]. *Chin J Parasitol Parasit Dis*, 2008, 26(2): 81-85. (in Chinese)
(储德勇, 李丛磊, 李静, 等. 芍药苷对小鼠巨噬细胞产生 TGF- β 1 的影响 [J]. *中国寄生虫学与寄生虫病杂志*, 2008, 26(2): 81-85.)
- [10] Fichtner-Feigl S, Strober W, Kawakami K, *et al.* IL-13 signaling through the IL-13alpha2 receptor is involved in induction of TGF-beta1 production and fibrosis [J]. *Nat Med*, 2006, 12(1): 99-106.
- [11] Shi Y, Hu G, Su J, *et al.* Mesenchymal stem cells: a new strategy for immunosuppression and tissue repair [J]. *Cell Res*, 2010, 20(5): 510-518.

- [12] Yang SH, Park MJ, Yoon IH, *et al.* Soluble mediators from mesenchymal stem cells suppress T cell proliferation by inducing IL-10 [J]. *Exp Mol Med*, 2009, 41(5): 315-324.
- [13] Kim J, Hematti P. Mesenchymal stem cell-educated macrophages; a novel type of alternatively activated macrophages [J]. *Exp Hematol*, 2009, 37(12): 1445-1453.
- [14] Maggini J, Mirkin G, Bognanni I, *et al.* Mouse bone marrow-derived mesenchymal stromal cells turn activated macrophages into a regulatory-like profile [J]. *PLoS ONE*, 2010, 5(2): e9252.
- [15] Yang YW, Bai H, Wang CB, *et al.* Effect of bone marrow mesenchymal stem cells from allogeneic rats on secretory factors released by mouse macrophages after activation with lipopolysaccharide [J]. *J Clin Rehabil Tissue Eng Res*, 2008, 12(34): 6683-6686. (in Chinese)
(杨文武, 白海, 王存邦, 等. 异基因大鼠骨髓间充质干细胞对脂多糖刺激活化后小鼠巨噬细胞分泌因子的影响 [J]. *中国组织工程研究与临床康复*, 2008, 12(34): 6683-6686.)
- [16] Ne'meth K, Leelahavanichkul A, Yuen PS, *et al.* Bone marrow stromal cells attenuate sepsis *via* prostaglandin E2-dependent reprogramming of host macrophages to increase their IL-10 production [J]. *Nat Med*, 2009, 15(1): 42-49.
(收稿日期: 2011-07-13 编辑: 张争艳, 瞿麟平)

文章编号: 1000-7423(2011)-06-0430-04

【教学研究】

医学寄生虫学实验教学改革与实践

赵金红, 唐小牛, 高锡银, 王少圣, 李朝品*

【摘要】为适应当前高校“以人为本, 融知识传授、能力培养和素质教育为一体”的实验教学新理念, 以培养高素质应用型人才为目标, 分析当前医学寄生虫学实验教学的现状, 探索与总结本医学寄生虫学教研室在实验教学改革中的新举措。

【关键词】医学寄生虫学; 实验教学; 教学改革

中图分类号: R38

文献标识码: A

Reform and Practice on the Experiment Teaching of Medical Parasitology

ZHAO Jin-hong, TANG Xiao-niu, GAO Xi-yin, WANG Shao-sheng, LI Chao-pin*

(Department of Medical Parasitology, Wannan Medical College, Wuhu 241000, China)

【Abstract】A new model of education is investigated to meet the new idea of experiment teaching in university. Therefore the establishment of experiment teaching model of medical parasitology needs to be correspondently reformed. A variety of new management measures are taken to raise the efficiency of experiment teaching in training the students in the College.

【Key words】Medical Parasitology; Experiment teaching; Teaching reform

Supported by the Key Teaching and Research Projects from Education Department of Anhui Province (No. 20100610)

* Corresponding author, E-mail: cpli001@126.com

医学寄生虫学课程的教学内容可分为理论教学和实验教学两部分, 实验教学是理论教学的重要补充, 是为了验证、巩固理论知识, 提高学生的学习兴趣, 培养学生分析和解决问题的能力。当前“以人为本, 融知识传授、能力培养和素质教育为一体”的实验教学新理念是中国高校传统实验教学理念的继承和发展。因此, 克服传统的医学寄生虫学实验

教学模式弊端, 利用先进的教学手段进行有效的改革以提高教学质量势在必行^[1]。

1 医学寄生虫学实验教学现状

1.1 教学学时偏少 目前多数医学院校已经建立基础医学的实验教学平台, 如形态学实验中心、机能学实验中心和医学细胞与分子生物学实验中心等。每个实验教学中心涉及多门相关课程, 如形态学实验中心需负责免疫学、微生物学、寄生虫学、组织与胚胎学和病理学等的实验教学。因此, 由于教学

基金项目: 安徽省教育厅省级重点教研项目 (No. 20100610)

作者单位: 皖南医学院医学寄生虫学教研室, 芜湖 241000

* 通讯作者, E-mail: cpli001@126.com