

急性铅应激诱导肝肾损伤及其分子机制初探

耿雪侠^① 戴欣^① 晁秋杰^① 杨震^② 张海军^①

① 淮北师范大学生命科学院 淮北 235000; ② 安徽省涡阳县第三中学 涡阳 233600

摘要: 利用腹腔注射醋酸铅方法构建了铅染毒小鼠 (*Mus musculus*) 模型, 观察了染毒小鼠肝、肾的组织学变化, 并通过免疫组织化学方法检测了染毒小鼠肝、肾组织中 Caspase-3、Bcl-2 和 Bax 蛋白的表达量。结果发现, 急性铅染毒可诱导肝和肾组织学损伤, 且在诱导肝细胞和肾细胞凋亡、损伤过程中, 随着时间的延长, Caspase-3 的表达量逐渐增加, 而 Bcl-2 与 Bax 两蛋白表达量的比值呈逐渐下降趋势, 有一定的时效性, 染毒 48 h 后, 与对照组相比, 均差异极显著, 表明铅可能通过影响 Caspase-3、Bcl-2 和 Bax 的表达而诱导肝和肾细胞异常凋亡。

关键词: 铅中毒; 细胞凋亡; Caspase-3; Bcl-2; Bax

中图分类号: Q494 文献标识码: A 文章编号: 0250-3263(2013)04-642-08

Injury of Liver and Kidney Caused by Acute Lead Poisoning and Related Molecular Mechanisms in Mice

GENG Xue-Xia^① DAI Xin^① CHAO Qiu-Jie^① YANG Zhen^② ZHANG Hai-Jun^①

① School of Life Sciences, Huaibei Normal University, Huaibei 235000;

② No. 3 High School of Guoyang County, Guoyang 233600, China

Abstract: Lead-poisoned mouse (*Mus musculus*) model was established by intraperitoneal injection of lead acetate. The pathological changes of liver and kidney were examined. The expression alterations of Caspase-3, Bcl-2 and Bax, two apoptosis-related proteins, were also measured. We found that acute lead poisoning caused hepatic and renal injury by inducing cell apoptosis. After lead poisoning, Caspase-3 expression was increased while the ratio of Bcl-2 to Bax decreased in a time-dependent manner. Significant difference in the expression level between control group and experimental group was observed after 48 h of lead exposure. These results suggest that lead poisoning causes hepatic and renal cell apoptosis probably by regulating the expression of Caspase-3, Bcl-2 and Bax.

Key words: Lead poisoning; Cell apoptosis; Caspase-3; Bcl-2; Bax

随着现代工业的发展, 铅的使用非常广泛, 而铅对环境和人体造成的危害现已成为一个全球性的公共卫生问题(赵剑等 2010)。铅进入体内, 诱发一系列生理过程的变化, 如铅中毒可以导致小鼠 (*Mus musculus*) 肝中谷丙转氨酶、谷草转氨酶和肾中尿素氮、肌酐等生化指标发生急剧变化(赵剑等 2010); 诱导细胞凋亡 (apoptosis)、氧化损伤和基因损伤等 (van Wijngaarden et al. 2006, 李晋等 2011)。李晋

等(2011)报道, 铅可以改变 *Caspase-3*、*Bcl-2* 和 *Bax* 等基因表达, 诱导生精细胞凋亡。铅是否

基金项目 安徽省教育厅自然科学基金项目 (No. KJ2010A299), 安徽省高校青年教师资助计划项目 (No. 2006jq141zd), 安徽省自然科学基金项目 (No. 1208085MC45);

第一作者介绍 耿雪侠, 女, 硕士研究生; 研究方向: 动物学; Email: xuexiageng@163.com。

收稿日期: 2012-11-27, 修回日期: 2013-05-16

通过上述基因表达变化来诱导肝细胞和肾细胞凋亡,进而导致生化指标发生剧烈变化,鲜见资料报道。细胞凋亡是由基因控制的细胞自主的有序的死亡,涉及一系列基因的激活、表达以及调控等。其中,Caspase-3 被证实为主要的凋亡执行者,而 Caspase-3 家族的其他成员会在凋亡诱导因子作用下依次激活,最终形成级联凋亡通路,诱发凋亡。连灵君等(2006)通过特异性 Caspase-3 抑制剂证实了 Caspase-3 在 PC12 细胞凋亡过程中起重要作用,是凋亡的重要执行者,而醋酸铅可通过 Caspase-3 诱导 PC12 的细胞凋亡过程。研究表明,位于细胞线粒体膜内侧的 Bcl-2 蛋白会在线粒体受凋亡因子诱发破裂后而释放到细胞基质中,与 Bax 蛋白拮抗调节细胞凋亡,凋亡发生时,Bcl-2/Bax 比值明显下降,其比例的变化调控细胞凋亡的走向(Adams et al. 1998)。

铅对肝和肾形态学及其凋亡相关蛋白 Caspase-3、Bcl-2、Bax 表达变化影响的报道较少。本研究通过建立铅染毒小鼠模型,观察染毒小鼠肝和肾形态学变化及 Caspase-3、Bcl-2 和 Bax 表达变化,探讨铅对肝和肾的毒性,为铅引起的肝病、肾病的预防及治疗提供理论依据和数据参考。

1 材料与与方法

1.1 实验动物分组及模型制作

成年昆明近交鼠(KM系),雌雄不限,购自南京青龙山动物场,7~8周龄,体重30g左右,共25只,每5只饲养于1笼,普通饲料和蒸馏水喂养,饲养温度保持25℃左右,自然光照,稳定1周后进行实验。实验鼠随机分为5组,即对照组、12h、24h、36h、48h组,每组5只。其中生理盐水注射组为对照组,共5只;其他20只小鼠按体重100mg/kg腹腔注射醋酸铅1次,并开始计时,在12h、24h、36h、48h时间点分别脱白处死各处理组动物,同时,在48h时间点处死对照组。解剖取出肾和肝,分别称重,并计算肾和肝的相对重量,即肾或肝的重量与体重之比。

1.2 试剂

醋酸铅 $\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ (温州

化学药品厂,分析纯);PV6001 试剂盒(Zymed 公司)含试剂 A(即内源性过氧化物酶阻断)和试剂 B(二抗辣根酶标记羊抗兔 IgG 多聚体,工作浓度为 5%);兔抗鼠 Caspase-3、Bcl-2 和 Bax 多克隆抗体,二氨基联苯胺(diaminobenzidine, DAB)显色试剂盒、3-氨丙基-3-乙氧基甲硅烷(3-aminopropyl-triethoxysilane, APES)、PBS 缓冲液(武汉博士德生物工程有限公司);其他试剂均为国产分析纯。

1.3 取材、切片制作及组织细胞形态观察

在无菌条件下采集肝和肾,用 0.9% 生理盐水清洗后称重。然后以 Bouin 固定液固定 24 h,梯度脱水、透明、石蜡包埋。切片厚度为 5~7 μm ,裱于 APES 处理过的载玻片上,苏木精-伊红(hematoxylin-eosin staining, H. E)染色,Olympus BX51 型电动显微镜下观察,400 倍下拍照。

1.4 免疫组化检测

不同处理组器官取连续切片 10 张,常规脱蜡后分别用 Caspase-3、Bcl-2、Bax 抗体进行免疫组化研究,DAB 显色,苏木素复染,封片镜检。Olympus BX51 显微镜和 Motic 2000 显微成像系统,控制同一拍摄条件,在 100 倍下拍照,每张切片随机检测 5 个完整而不重叠的视野。此外,每批用 0.05 mol/L PBS 代替一抗,设阴性对照。

1.5 数据统计

利用 IPP 6.0 免疫组化照片分析软件分析结果(李涛等 2008,李枫 2009,徐洪等 2012),统计积分光密度(integral optical density, IOD)。IOD 为所测结构范围内各像素光密度值之和,根据染色的灰度及面积大小可确定蛋白的表达量。以每例 5 个视野 IOD 值的平均数作为该例的测量值,表示阳性表达量。应用单因素方差分析,把对照组的平均值与处理组进行配对样本 *t* 检验,显示差异性,数据处理过程在 SPSS 13.0 统计软件包中进行。

2 结果

2.1 铅对小鼠肝、肾相对重量的影响

100 mg/kg 的剂量给小鼠腹腔注射醋酸铅,48 h 肝相对重量明显高于对照组($P < 0.05$),肾相对重量与对照组差异不显著($P > 0.05$)(表 1)。

表 1 铅对小鼠肝、肾相对重量的影响

Table 1 Effects of acute lead poisoning on the relative weight of liver or kidney

	体重(g) Body weight	肝 Liver		肾 Kidney	
		重量(g) Weight	相对重量 Relative weight	重量(g) Weight	相对重量 Relative weight
对照组 Control group	31.77 ± 0.844	1.004 ± 0.121	0.0317 ± 0.0123	0.6740 ± 0.067	0.0212 ± 0.0163
铅处理组 PbAc treated groups	12 h 31.85 ± 0.797	1.078 ± 0.100	0.0339 ± 0.0171	0.7156 ± 0.035	0.0225 ± 0.0196
	24 h 31.53 ± 1.608	1.092 ± 0.070	0.0347 ± 0.0109	0.7696 ± 0.024	0.0250 ± 0.0121
	36 h 31.96 ± 0.713	1.144 ± 0.086	0.0358 ± 0.0116	0.6500 ± 0.032	0.0203 ± 0.0165
	48 h 31.40 ± 0.548	1.270 ± 0.083	0.0405 ± 0.0119*	0.7846 ± 0.046	0.0250 ± 0.0191

数据为平均值 ± 标准误; * 表示该处理组与对照组差异显著 ($P < 0.05$)。

Data are expressed as Mean ± SE; * indicates significant difference ($P < 0.05$), compared to the control group.

2.2 铅对肝组织的损伤 肝组织切片 H. E 染色显示,对照组中央静脉及其周围肝细胞体积饱满,胞浆丰富,核仁明显(图 1a);铅处理 12 h,肝细胞基本正常,汇管区见异型细胞,肝窦充血(图 1b);铅处理 24 h,门管区异型细胞明显,肝细胞水肿,血管充血(图 1c);铅处理 36 h,肝索紊乱(图 1d);铅处理至 48 h,肝细胞排列紊乱,可见

少数肝细胞破裂,有凋亡小体形成(图 1e)。

2.3 铅对肾组织的损伤 肾组织切片 H. E 染色显示,对照组可见正常肾小球,肾小管(图 2a);铅处理 12 h,肾小球正常,间质轻度充血(图 2b);铅处理 24 h,肾小球数量减少,肾小管细胞变形,肾小球充血(图 2c);铅处理 36 h,少数肾小管细胞破裂,间质血管充血(图 2d);铅

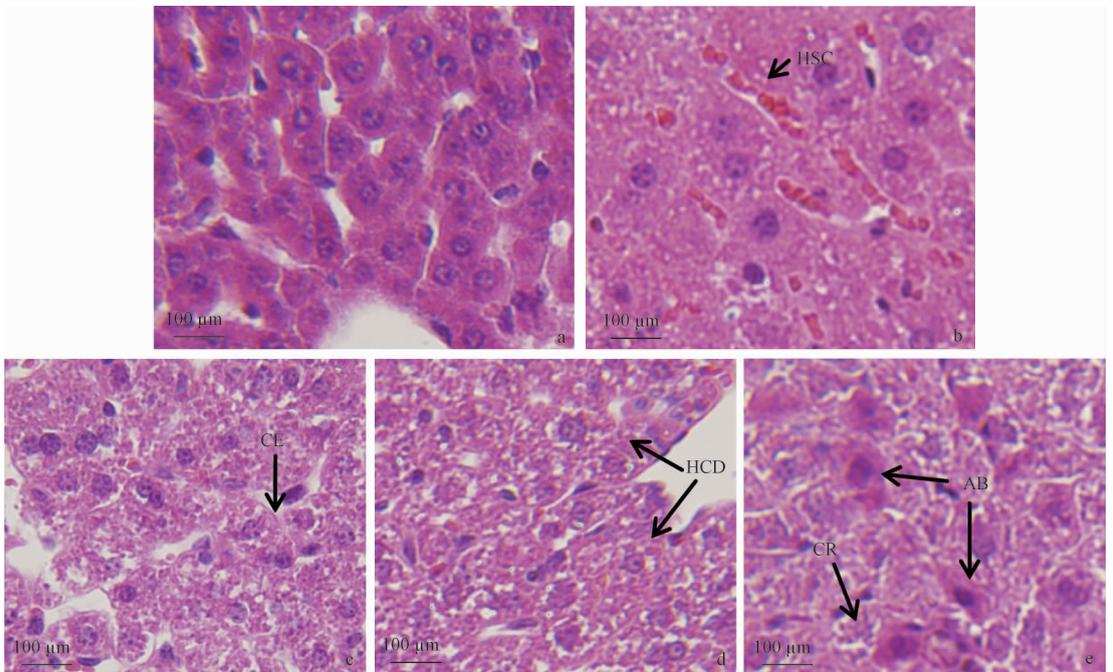


图 1 小鼠肝组织 H. E 染色结果

Fig. 1 H. E dyeing of the mouse liver (×400)

a. 对照组; b. 12 h 铅处理组; c. 24 h 铅处理组; d. 36 h 铅处理组; e. 48 h 铅处理组。

a. Control group; b. Treated with PbAc for 12 h; c. Treated with PbAc for 24 h;

d. Treated with PbAc for 36 h; e. Treated with PbAc for 48 h.

HSC. 肝窦充血; CE. 细胞水肿; HCD. 肝索紊乱; AB. 凋亡小体; CR. 细胞破裂。

HSC. Hepatic sinus congestion; CE. Cellular edema; HCD. Hepatic cord disorder; AB. Apoptosis body; CR. Cell rupture.

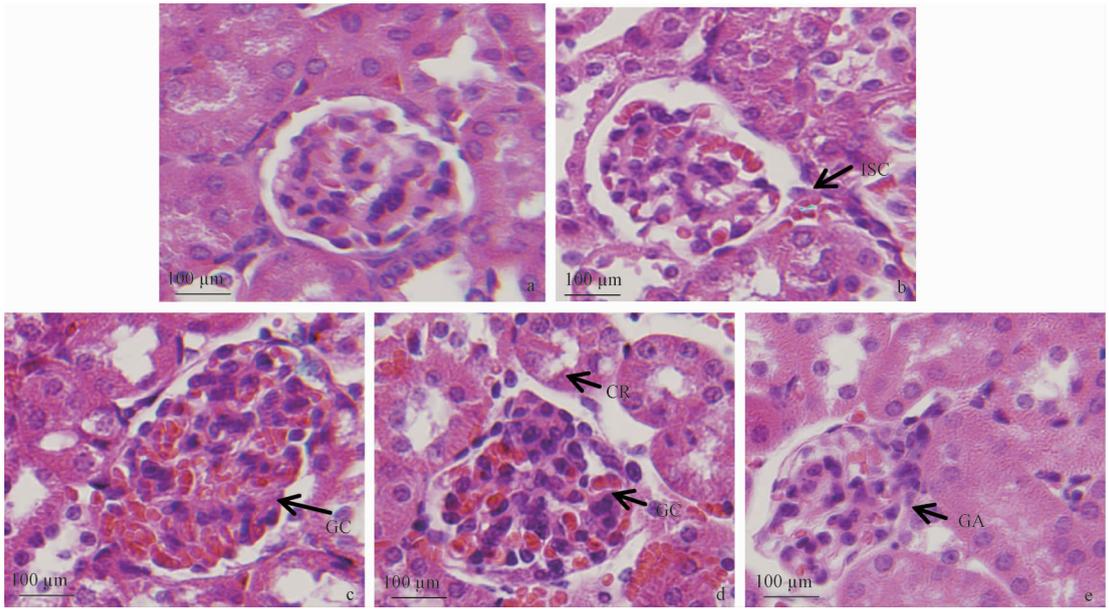


图2 小鼠肾组织 H. E 染色结果

Fig. 2 H. E dyeing of the mouse kidney (×400)

a. 对照组; b. 12 h 铅处理组; c. 24 h 铅处理组; d. 36 h 铅处理组; e. 48 h 铅处理组。

a. Control group; b. Treated with PbAc for 12 h; c. Treated with PbAc for 24 h;

d. Treated with PbAc for 36 h; e. Treated with PbAc for 48 h.

ISC. 间质充血; GC. 小球充血; CR. 细胞破裂; GA. 肾小球萎缩。

ISC. Intercellular substance congestion; GC. Glomerular congestion; CR. cell rupture; GA. Glomerular atrophy.

处理至 48 h 时,肾小球数量明显减少,肾小球萎缩(图 2e)。

2.4 免疫组织化学结果

2.4.1 铅对凋亡相关蛋白在肝组织中表达的影响

肝组织切片免疫组化染色显示,表达 Caspase-3、Bax 和 Bcl-2 这 3 个蛋白的细胞,其细胞质均呈棕黄色(图 3)。在对照组中, Caspase-3 蛋白量较少,细胞内仅见少量棕黄色颗粒;铅处理 12 h 后表达 Caspase-3 的阳性细胞数即开

始增加(表 2),细胞内已可见明显的棕黄色颗粒,且随着处理时间的延长,阳性细胞数及棕黄色颗粒增加的趋势越来越明显,在 48 h 时达到最高,与对照组相比,差异极显著($P < 0.01$)。对照组 Bcl-2 的阳性细胞数量较高,细胞内可见明显的棕黄色颗粒;铅处理 12 h 组,阳性细胞数及棕黄色颗粒的量达到最高峰,但随后逐渐减少,48 h 组降到最低,与对照组相比,差异显著($P < 0.05$)。Bax 仅在对照组少量细胞中表达;

表 2 Caspase-3、Bax 和 Bcl-2 在肝组织中的表达 (IOD)

Table 2 Expression of Caspase-3, Bax and Bcl-2 in the mouse liver (IOD)

	Caspase-3	Bax	Bcl-2	Bcl-2/Bax
对照组 Control group	60 100 ± 900	45 900 ± 600	191 200 ± 600	4.16 ± 0.23
铅处理组 PbAc treated groups	12 h	110 200 ± 1 000 *	312 800 ± 700 **	16.38 ± 0.13
	24 h	160 700 ± 800 **	134 700 ± 900 **	1.48 ± 0.26 *
	36 h	177 300 ± 200 **	183 900 ± 1 100 **	0.95 ± 0.11 **
	48 h	221 200 ± 600 **	244 700 ± 600 **	103 300 ± 500 *

数据为平均值 ± 标准误; * 或 ** 表示该处理组与对照组差异显著 ($P < 0.05$) 或极显著 ($P < 0.01$)。

Data are expressed as Mean ± SE; * and ** indicate that significant difference ($P < 0.05$) and extremely significant ($P < 0.01$), respectively, compared to the control group.

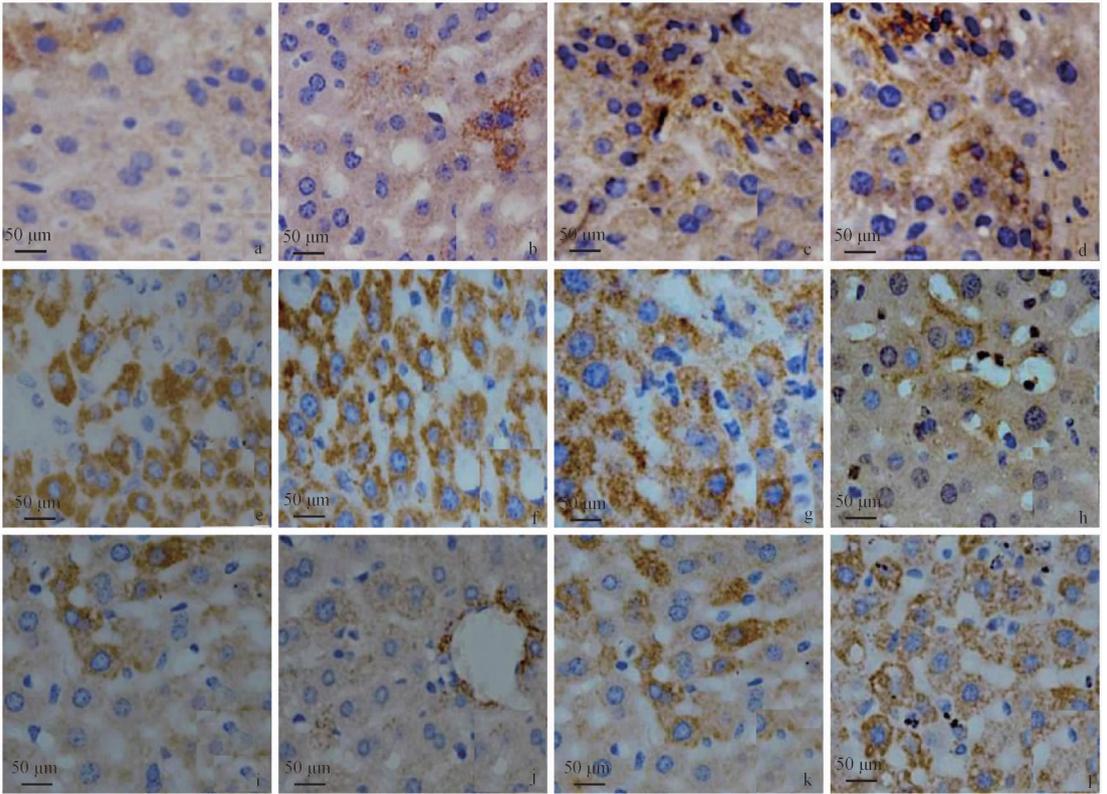


图3 Caspase-3、Bcl-2 和 Bax 在小鼠肝组织中的表达 (×100)

Fig.3 Immunohistological assay showing expression of Caspase-3, Bcl-2 and Bax in the mouse liver

a ~ d. 对照组及 12 h、24 h 和 48 h 铅处理组 Caspase-3 的表达情况；e ~ h. 对照组及 12 h、24 h 和 48 h 铅处理组 Bcl-2 的表达情况；i ~ l. 对照组及 12 h、24 h 和 48 h 铅处理组 Bax 的表达情况。

a - d. The expression of Caspase-3 in control group and groups treated with PbAc for 12 h, 24 h and 48 h;

e - h. The expression of Bcl-2 in control group and groups treated with PbAc for 12 h, 24 h and 48 h;

i - l. The expression of Bax in control group and groups treated with PbAc for 12 h, 24 h and 48 h.

随着铅处理时间的延长,其变化规律与 Bcl-2 相反,48 h 时升到最高,与对照组相比,差异极显著 ($P < 0.01$)。定量分析蛋白 Bcl-2 和 Bax 表达量的比值发现,此比值在铅处理 12 h 达到最大值,随后呈现逐渐降低的趋势,48 h 达到最低值,与对照组相比,差异极显著 ($P < 0.01$) (表 2)。

2.4.2 铅对凋亡相关蛋白在肾组织中表达的影响 肾组织切片免疫组化染色显示,表达 Caspase-3、Bax 和 Bcl-2 这 3 个基因的细胞的细胞质均呈棕黄色 (图 4)。在对照组中 Caspase-3 的表达量较低;随着铅处理时间的延长, Caspase-3 的表达量逐渐增加,在 48 h 时达到最高,与对照组差异极显著 ($P < 0.01$) (表 3)。Bcl-2 在对照组中表达量较高;随铅处理时间延

长而逐步减少,48 h 时的表达量降到最低,与对照组差异极显著 ($P < 0.01$)。Bax 在对照组表达量最低;铅处理 24 h 达到最高峰,与对照组差异极显著 ($P < 0.01$),后随着时间的延长,表达量略有下降,但与对照组相比,仍差异显著 ($P < 0.05$)。Bcl-2 和 Bax 表达量的比值在对照组最高,随后逐渐降低,48 h 达到最低,差异极显著 ($P < 0.01$) (表 3)。

3 讨论

3.1 急性铅中毒通过损伤肝肾组织而影响肝肾功能 肝是机体新陈代谢的中心站,是体内排除有害物质的最重要器官。已有的研究表明,肝是铅的主要蓄积器官,肾次之 (Sá et al.

表 3 Caspase-3、Bax 和 Bcl-2 在肾组织中的表达 (IOD)

Table 3 Expression of Caspase-3, Bax and Bcl-2 in the mouse kidney (IOD)

	Caspase-3	Bax	Bcl-2	Bcl-2/Bax
对照组 Control group	26 100 ± 600	35 900 ± 300	117 100 ± 300	3.26 ± 0.23
铅处理组 PbAc treated groups	12 h	47 200 ± 700	64 300 ± 500 *	1.30 ± 0.13
	24 h	86 900 ± 800 *	110 800 ± 400 **	0.58 ± 0.26 **
	36 h	125 200 ± 800 **	80 500 ± 800 *	0.75 ± 0.11 **
	48 h	141 900 ± 700 **	76 700 ± 700 *	0.39 ± 0.34 **

数据为平均值 ± 标准误差; * 或 ** 表示该处理组与对照组差异显著 ($P < 0.05$) 或极显著 ($P < 0.01$)。

Data are expressed as Mean ± SE; * and ** indicate significant difference ($P < 0.05$) and extremely significant ($P < 0.01$), respectively, compared to the control group.

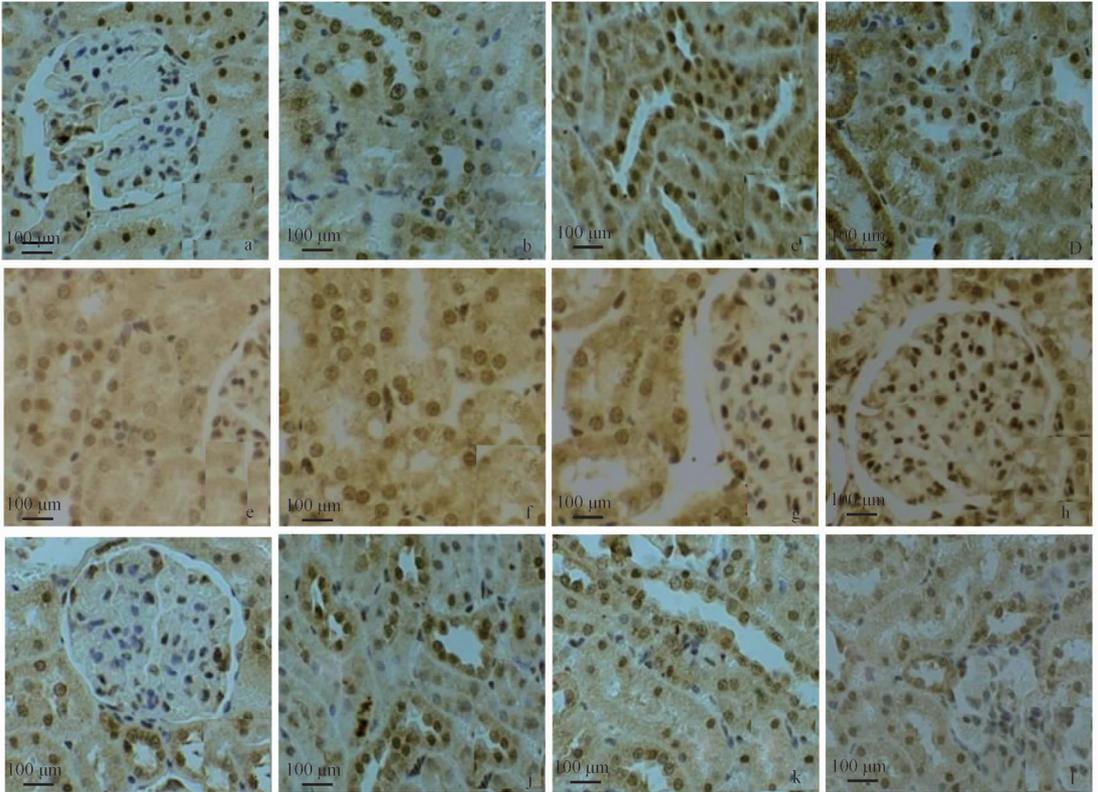
图 4 Caspase-3、Bcl-2 和 Bax 在小鼠肾组织中的表达 ($\times 100$)

Fig. 4 Immunohistological assay showing expression of Caspase-3, Bcl-2 and Bax in the mouse kidney

a ~ d. 对照组及 12 h、24 h 和 48 h 铅处理组 Caspase-3 的表达情况; e ~ h. 对照组及 12 h、24 h 和 48 h 铅处理组 Bcl-2 的表达情况; i ~ l. 对照组及 12 h、24 h 和 48 h 铅处理组 Bax 的表达情况。

a - d. The expression of Caspase-3 in control group and groups treated with PbAc for 12 h, 24 h and 48 h;

e - h. The expression of Bcl-2 in control group and groups treated with PbAc for 12 h, 24 h and 48 h;

i - l. The expression of Bax in control group and groups treated with PbAc for 12 h, 24 h and 48 h.

2012), 所以肝也是最易受铅损伤的器官。正常情况下, 成年动物的肝细胞处于较稳定的低分裂状态, 而一旦铅使肝功能受损, 铅可诱导肝细胞代偿性增生, 肝体增大, 肝重增加(李红澜等 1988)。本实验中, 小鼠染毒 48 h 后未发生

自然死亡, 但肝重与体重的比值与对照组相比明显升高 ($P < 0.05$), 提示此比值的升高可能是肝细胞代偿性增生的结果(吴晨等 2006)。但铅诱导肝细胞增生的机制尚不清楚。小鼠染铅后, 肾体积变化报道不一(Pulido et al.

2003)。本实验结果显示,小鼠染毒 48 h 后的肾重与体重的比值与对照组相比,差异不显著 ($P > 0.05$),提示可能肾早期病理形态学改变主要在近曲小管,未改变肾体积和质量。

肝细胞受损,形态学变化分两阶段 (Breckenridge et al. 2004):第一阶段是细胞之间脱离接触,部分细胞膨胀、破裂,胞膜表面形成大小不等泡状隆起,部分细胞呈分叶状,呈异型,最后形成凋亡小体;第二阶段是吞噬细胞吞噬凋亡小体,凋亡小体在吞噬细胞内溶解而消失。本实验采用 100 mg/kg 高剂量醋酸铅急性染毒小鼠模型。H. E 组织切片结果显示,肝组织在染毒后出现细胞水肿,排列拥挤混乱,少数肝细胞破裂,片状坏死。

肾组织 H. E 组织切片结果可见肾小球数量明显减少,肾小球萎缩,肾小管细胞形态异型,证实肾是也是铅最重要靶器官之一。肾中铅的蓄积会破坏肾小管结构,进而影响肾近曲小管的功能,使肾小管结构受损,过滤渗透系统功能下降,最终低分子量蛋白质、氨基酸等会从尿中大量排出。

3.2 急性铅中毒通过影响 Caspase-3、Bcl-2 和 Bax 的表达而诱导肝、肾细胞凋亡 细胞凋亡是多细胞生物细胞代谢程序死亡的一种形式,也是一个受基因和激素等调控的生理现象,在去除不需要的或功能异常细胞中起着重要的作用 (曹卉等 2010)。现有的很多研究已经证实,铅可诱导细胞凋亡 (Cheng et al. 2002)。Caspase-3 在 Caspase 基因家族中处于凋亡有序级联反应的下游,是最重要的效应性 Caspase,同时,Caspase-3 的表达是细胞凋亡进入不可逆阶段的标志 (贾庆华等 2010)。大多数触发细胞凋亡的因素,均需要通过 Caspase-3 介导的信号传导途径,使细胞失去与环境之间的联系,最终激活细胞凋亡过程。本研究中,对照组肝、肾细胞中 Caspase-3 的表达量均较低,随着染毒处理时间的延长,Caspase-3 的表达量随之增加,48 h 时达到最大值,与对照组相比,差异极显著 ($P < 0.01$),说明铅对小鼠肝和肾细胞的损害可能也是通过激活 Caspase-3 介导的细胞调

亡途径。

Bcl-2 基因家族在调控细胞凋亡的过程中亦发挥着重要作用,既包括可抑制细胞凋亡的 Bcl-2 基因,也含有可促进细胞凋亡的 Bax 基因。此二基因同属于一个基因家族,Bax 与 Bcl-2 在结构上有广泛的同源性。在细胞内,Bax 可形成同源二聚体或与 Bcl-2 形成异源二聚体 (Dhyan et al. 2005)。当 Bax 表达量占优时,形成 Bax-Bax 同源二聚体,促进细胞凋亡;而当 Bcl-2 表达量占优时,形成 Bcl-2/Bax 异源二聚体,抑制细胞凋亡,因此,Bcl-2-Bax 的比值变化能控制细胞的凋亡 (Yu et al. 2001)。在本实验中,小鼠染铅后,肾细胞 Bcl-2 的表达量随染毒时间的延长而逐渐下降,48 h 后降至最低,与对照组差异极显著 ($P < 0.01$);而 Bax 的表达量在染毒 24 h 时增加到最大值,后略有下降,但与对照组相比,仍差异显著 ($P < 0.05$)。同时,Bcl-2/Bax 的比值随时间延长而下降,48 h 降到最低,表明细胞凋亡在加重。肝细胞中 Bcl-2、Bax 及 Bcl-2/Bax 比值的变化与肾细胞中相应指标的变化趋势大致相同,但染毒 12 h 后,肝细胞的 Bcl-2 及 Bcl-2/Bax 比值曾一度升至最高。此结果可能是与肝在染毒初期的应激性增殖有关 (李红澜等 1988),仍需进一步研究。

综上所述,急性铅中毒可直接间接导致肝和肾细胞凋亡,并与 Caspase-3 和 Bax 两蛋白的高表达和 Bcl-2 蛋白的低表达相关,并呈现出一定的时效性,可为进一步研究铅对肝和肾损伤的作用机理及对铅的预防、治疗等提供有益的线索。

参 考 文 献

- Adams J M, Cory S. 1998. The Bcl-2 protein family: arbiters of cell survival. *Science*, 281(5381): 1322 - 1326.
- Breckenridge D G, Xue D. 2004. Regulation of mitochondrial membrane permeabilization by Bcl-2 family proteins and Caspases. *Current Opinion in Cell Biology*, 16(6): 647 - 652.
- Cheng Y, Yang B C, Hsieh W C, et al. 2002. Enhancement of TNF-alpha expression does not trigger apoptosis upon

- exposure of glial cells to lead and lipopolysaccharide. *Toxicology*, 178(3): 183 - 191.
- Dhyan C, Grace C, Peter T, et al. 2005. Bax-dependent regulation of Bak by Voltage-dependent anion Channel 2. *Journal of Biological Chemistry*, 280(5): 19051 - 19061.
- Pulido M D, Parrish A R. 2003. Metal-induced apoptosis: mechanisms. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 533(1/2): 227 - 241.
- Sá I, da Costa M J, Cunha E M. 2012. Lead hepatotoxicology: a study in an animal model. *Toxicology and Industrial Health*, 28(2): 108 - 113.
- van Wijngaarden E, Dosemeci M. 2006. Brain cancer mortality and potential occupational exposure to lead: findings from the national longitudinal mortality study 1979 - 1989. *International Journal of Cancer*, 119(5): 1136 - 1144.
- Yu X Z, Kubota H, Wang R S, et al. 2001. Involvement of *Bcl-2* family genes and Fas signaling system in primary and secondary male germ cell apoptosis induced by 2-bromopropane in rat. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 174(1): 35 - 48.
- 曹卉, 李霖, 朱志飞, 等. 2010. 铅对小鼠卵泡颗粒细胞凋亡的影响. *上海畜牧兽医通讯*, 6(3): 23 - 24.
- 贾庆华, 蒋军军, 哈小琴. 2010. 醋酸铅对小鼠星形胶质细胞凋亡及 *Caspase-3* 表达影响. *中国职业医学*, 37(6): 513 - 515, 517.
- 李枫. 2009. 图像分析中光密度参数物理意义的正确理解和使用. *解剖学杂志*, 32(2): 271 - 274.
- 李红澜, 周袁芬, 蒋学之. 1988. 铅对肝细胞增生的诱导作用. *卫生毒理学杂志*, 2(2): 77 - 79.
- 李晋, 曹枫. 2011. 铅对小鼠睾丸生精细胞凋亡及 *Caspase-3*, *Bcl-2* 和 *Bax* 基因表达的影响. *安徽师范大学学报: 自然科学版*, 34(6): 559 - 564.
- 李涛, 范好, 刘芳. 2008. 免疫组织化学图像光密度分析的标准方法. *解剖学杂志*, 31(5): 727 - 728.
- 连灵君, 吴晨, 徐进, 等. 2006. 铅染毒导致小鼠 DNA 损伤与氧化损伤. *环境科学学报*, 26(1): 137 - 141.
- 吴晨, 连灵君, 徐进, 等. 2006. 铅对小鼠肝脏超微结构及凋亡相关蛋白 *p53*, *Bax*, *Bcl-2* 表达的影响. *环境科学学报*, 26(9): 1510 - 1514.
- 徐洪, 杨方, 袁媛, 等. 2012. 免疫组织化学 Image Pro Plus 图像半定量分析的参数选择. *解剖学杂志*, 35(1): 37 - 41.
- 赵剑, 童希琼, 蔡亚非. 2010. 铅对小鼠血液和肝肾影响的实验性初步观察. *生物学杂志*, 27(1): 17 - 19, 38.