文章编号:1000-5404(2011)12-1211-05

论著

脑缺血再灌注致小鼠神经元退行性变进程中自由基水平和SOD-1表达的变化

袁 野,杨俊卿,周岐新 (400016 重庆,重庆医科大学药学院药理学教研室)

【摘要】 **目的** 探讨脑缺血再灌注(ischemia/reperfusion,I/R)致神经元退行性变自由基和SOD-1表达的时程变化。**方法** NIH小鼠160只,分为I/R组和假手术组,每组80只。抽取并回输约40%总血量加双侧颈总动脉夹闭20 min建立I/R损伤模型。分别于术后5、15、30、60 d以光学显微镜观察神经元损伤;Morris水迷宫评价学习记忆能力;分光光度计法检测SOD-1活性和丙二醛(MDA)含量;RT-PCR和Western blot分别检测海马SOD-1 mRNA和蛋白表达。**结果** 假手术组脑组织MDA含量、SOD-1活性及蛋白、mRNA表达分别为(0.549±0.049) nmol/mg、(55.134±4.076) U/mg、30.413±2.962和104.541±18.825。与假手术组比较,I/R组小鼠学习记忆能力显著降低,术后5、15、30、60 d脑组织MDA含量[(0.673±0.087)、(0.782±0.101)、(0.719±0.094)、(1.084±0.140) nmol/mg]进行性显著升高($P<0.05$);术后5 d和15 d I/R组SOD-1活性[(42.522±3.701)、(37.011±4.843) U/mg]和蛋白表达(23.145±3.476、15.746±2.344)显著降低($P<0.05$);术后30 d和60 d I/R组SOD-1活性[(51.801±6.706)、(50.202±6.488) U/mg]与假手术组间差异无显著性($P>0.05$),但SOD-1蛋白表达(40.587±6.154、44.263±6.597)较假手术组显著升高($P<0.05$);各组SOD-1 mRNA表达水平无显著差异($P>0.05$);组织学检测显示I/R组海马出现进行性神经元核固缩加重和神经元丢失。**结论** I/R致小鼠神经元退行性变与SOD-1表达和功能异常和氧化应激进行性增强有关。

【关键词】 再灌注损伤;神经变性疾病;超氧化物歧化酶;自由基;小鼠
【中图法分类号】 R743.31;R741.02 【文献标志码】 A

Level of free radicals and expression of SOD-1 in neuronal degeneration mice due to cerebral ischemia-reperfusion

Yuan Ye, Yang Junqing, Zhou Qixin (Department of Pharmacology, College of Pharmacy, Chongqing Medical University, Chongqing, 400016, China)

【**Abstract**】 **Objective** To study the changes of three radicals and expression of SOD-1 in neuronal degeneration due to cerebral ischemia/reperfusion (I/R) in mice. **Methods** One hundred and sixty NIH mice were divided into I/R group and sham operation group, 80 mice in each group. A cerebral I/R model was established by drawing out and reperfusing 40% of the whole blood volume and clamping the bilateral carotid arteries for 20 min. On days 5, 15, 30, and 60 after cerebral I/R, neuronal injury was observed under a light microscope, learning and memory ability of the mice was assessed with Morris water maze, hippocampal SOD-1 activity and malonaldehyde (MDA) level were measured with a spectrophotometer and expressions of SOD-1 mRNA and protein in the hippocampus were detected by RT-PCR and Western blotting, respectively. **Results** The MDA level, SOD-1 activity, expression level of SOD-1 protein and mRNA in sham operation group were 0.549±0.049 nmol/mg, 55.134±4.076 U/mg, 30.413±2.962 and 104.541±18.825, respectively. The learning and memory ability of mice was significantly lower in I/R group than in sham operation group. The MDA level in brain tissue of I/R group was significantly higher on days 5, 15, 30, and 60 days after I/R (0.673±0.087, 0.782±0.101, 0.719±0.094, and 1.084±0.140 nmol/mg) than sham operation group ($P<0.05$). The activity of SOD-1 (42.522±3.701 and 37.011±4.843 U/mg) and the expression level of SOD-1 protein (23.145±3.476 and 15.746±2.344) were significantly lower than sham operation group after I/R on days 5 and 15 ($P<0.05$). No significant difference was observed in SOD-1 activity after I/R 30 and

【基金项目】 国家自然科学基金(30672211)
【通信作者】 周岐新,电话:(023)68485038,E-mail:cqzhouqx@yahoo.com.cn

60 d between the two groups (51.801 ± 6.706 *vs* 50.202 ± 6.488 U/mg, $P > 0.05$), while the expression of SOD-1 protein was significantly higher in I/R group than in sham operation group (44.263 ± 6.597 *vs* 40.587 ± 6.154, $P < 0.05$). However, no significant difference was found in expression level of SOD-1 mRNA ($P > 0.05$). Histology showed the progressive loss and karyopyknosis of neurons in hippocampi of I/R group. **Conclusion** Neuronal degeneration due to cerebral I/R is related with the progressively increased oxidative stress and abnormal SOD-1 expression and activity.

[Key words] reperfusion injury; neuronal degeneration; superoxide dismutase; free radical; mice

Supported by the National Natural Science Foundation of China (30672211). Corresponding author: Zhou Qixin, Tel: 86-23-68485038, E-mail: cqzhouqx@yahoo.com.cn

脑组织血氧需求量大,对缺血、缺氧十分敏感。脑缺血可导致酶异常激活、ATP生成减少、钙超负荷、离子平衡失调、细胞兴奋性毒性物质释放、花生四烯酸释放、线粒体功能异常、酸中毒和脑水肿等[1]。脑缺血后再灌注在恢复脑组织血液供应的同时可以加剧脑缺血所致脑损伤,并引发其他一系列生化和分子生物学变化[2]。大量研究证明脑缺血再灌注(cerebral ischemia/reperfusion, I/R)损伤与脑氧化应激和抗氧化应激系统平衡失调,氧自由基生成增加密切相关[3]。其失衡机制迄今未完全明了。

超氧化物歧化酶1(superoxide dismutase-1, SOD-1)是SOD的同工酶之一。SOD-1基因变异可导致自由基生成增加,线粒体氧化损伤,ATP合成异常,最终导致神经元退行性变[4]。目前对于脑缺血再灌注损伤中SOD-1的研究主要集中在急性期,忽略了神经元退行性变的发生是一个慢性渐进的过程。为此,本研究拟采用本室创建的脑缺血再灌注致神经元退行性变动物模型,探讨在缺血再灌注致神经元退行性变进程中自由基水平和SOD-1表达的关系。

1 材料与方法

1.1 实验动物

清洁级NIH小鼠,雄性,鼠龄28 d,体质量27~29 g,由重庆医科大学实验动物中心提供,动物合格证号:scxk(渝)20070001。

1.2 主要试剂

SOD试剂盒、双缩脲法蛋白定量试剂盒及丙二醛(MDA)检测试剂盒(南京生物建成生物研究所);兔抗鼠SOD-1多克隆抗体(Santa Cruz公司);兔抗鼠β-actin多克隆抗体(Abcom公司);二抗羊抗兔抗体(北京中杉金桥公司);RT试剂盒(TOYOBO公司);PCR试剂盒(天根生化科技有限公司,北京)。

1.3 主要仪器

3K30型低温超速离心机(Sigma公司);UV-265紫外可见光分光光度计(日本岛津公司);凝胶成像系统(Bio-Rad公司);凝胶图像分析系统(Bio-Rad公司);微型印迹电泳转移系统(Bio-Rad公司);Morris水迷宫(中国医学科学院药物研究所)。

1.4 缺血再灌注致神经元退行性变模型建立

参照本室自创脑缺血再灌注方法[5]进行。小鼠以40 g/L水合氯醛400 mg/kg腹腔注射麻醉,仰卧固定于鼠解剖板,暴露并分离出双侧颈总动脉和右侧颈总静脉。经颈总静脉向心脏方向插入导管,缓慢抽取小鼠理论血量的40%。用无创性微动脉夹夹闭双侧颈总动脉,20 min后松开动脉夹,并回输血液,拔出导管,结扎颈总静脉近心端,缝合伤口。在手术全程动物肛温保持在(36.0 ± 0.5)℃。假手术组动物以水合氯醛麻醉后,仅分离暴露双侧颈总动脉和右侧颈总静脉20 min。

1.5 动物分组和处理

NIH小鼠160只,分为缺血再灌注组和假手术组,每组80只。术后第5、15、30天和第60天每组抽取5只动物颈椎脱臼处死,于冰面上快速分离海马,以冰生理盐水制备10%组织匀浆,匀浆在4 ℃,700 × *g* 离心15 min,保留上清备用;术后第5、15、30天和第60天每组另随机抽取10只动物颈椎脱臼处死,于冰面上快速分离海马,-80 ℃保存。

1.6 组织病理学分析

HE染色,光镜下进行组织病理学观察。

1.7 空间搜索实验

参照李爱萍等[6]方法进行,改良如下:实验时间固定在每天下午12~15点之间进行。实验前动物自由游泳2 min。每天训练4次,每次60 s,将动物随机从东、西、南、北4个入水点,面向池壁放入水中。如果动物在60 s内未找到平台,由实验者将其引至平台。每只动物共计训练16次。在第5天撤去平台,将小鼠从任意方位放入水中,记录小鼠第1次跨越原平台的时间,即寻台潜伏期(searching latency,超过60 s以60 s计算)。寻台潜伏期越短,说明小鼠记忆能力越好。

1.8 SOD-1活性检测

参照SOD试剂盒说明书进行。

1.9 MDA含量检测

参照MDA试剂盒说明书进行。

1.10 Western blot检测SOD-1蛋白表达水平

按照100 mg组织:1 ml裂解液(10 mmol/L Tris-HCl, 0.15 mol/L NaCl, 1% NP-40, 1% 脱氧胆酸, 0.1% SDS, 1 mg/L Leupeptin, 1 mg/L Pepstatin, 1 mg/L Aprotinin, 10% PMSF)的

比例,4 ℃冰浴匀浆,超声破碎,12 000 × *g* 离心 30 min,取上清 BCA 法蛋白定量,把样品调成相同浓度备用。取蛋白样品(40 μg 总蛋白/泳道),12% SDS-PAGE 电泳(积层胶 20 mA,分离胶 100 V)后电转移(15 V,16 h)至 PVDF 膜上。5% 脱脂奶粉封闭 2 h,按 1∶200 的浓度加入一抗,37 ℃孵育 2 h,洗 3 次,每次 5 min。1∶5 000 的浓度加入二抗,37 ℃孵育 1 h,洗膜 5 次,每次 5 min。化学发光试剂反应 2 min,凝胶成像系统摄像,采用 Quantity One 图像分析软件进行图像分析。以 SOD-1 灰度值与 β-actin 灰度值比值表示蛋白表达水平。比值越大,则蛋白表达越高。

1.11 RT-PCR 检测 SOD-1 mRNA 表达水平

采用硫氰酸胍-酚-氯仿一步抽提法(Trizol,大连宝生物公司)提取总 RNA。以 GAPDH 作为内参,SOD-1 上游:5′-CCAGTGCAGGACCTCATTTT-3′,下游:5′-GTTTACTGCGCAATCCCAAT-3′,PCR 产物为 292 bp。扩增产物用 1 × 电泳缓冲液 Tris-乙酸制备 2% 琼脂糖凝胶,2 μl PCR 产物上样,恒压 5 V/cm 电泳。凝胶数字扫描成像系统照相并测定条带积分灰度值,以目的条带与 GAPDH 条带灰度比值作为目的基因的相对表达量。

1.12 统计学分析

数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 SPSS 12.0 统计软件进行单因素方差分析,组间比较用 LSD-*t* 检验。

2 结果

2.1 脑缺血再灌注对小鼠神经元损伤作用

假手术组小鼠海马神经元呈多层,排列整齐紧密,细胞核呈圆形,大而清晰,核仁明显。神经纤维密集,排列整齐。缺血再灌注组随时间进程,海马 CA1 区细胞形态变为锥形或多边形;细胞核染色加深,可见核固缩;细胞出现空泡样变,细胞层次减少、排列紊乱,最终发展为细胞严重丢失,海马正常结构毁损。见图 1。

2.2 脑缺血再灌注对小鼠学习记忆能力影响

与假手术组相比,不同时间点 I/R 组小鼠寻台潜伏期均显著延长($P < 0.05$)。见表 1。

表 1 脑缺血再灌注不同时间对小鼠寻台潜伏期的影响(s,$n = 5$,$\bar{x} \pm s$)

时相点	I/R 组	假手术组
5 d	50.826 ± 7.620[a]	36.001 ± 3.167
15 d	42.861 ± 6.432[b]	19.856 ± 1.794
30 d	33.325 ± 4.987[b]	14.332 ± 1.284
60 d	35.012 ± 5.253[b]	15.174 ± 2.275

a $P < 0.05$,b $P < 0.01$,与同时相点假手术组比较

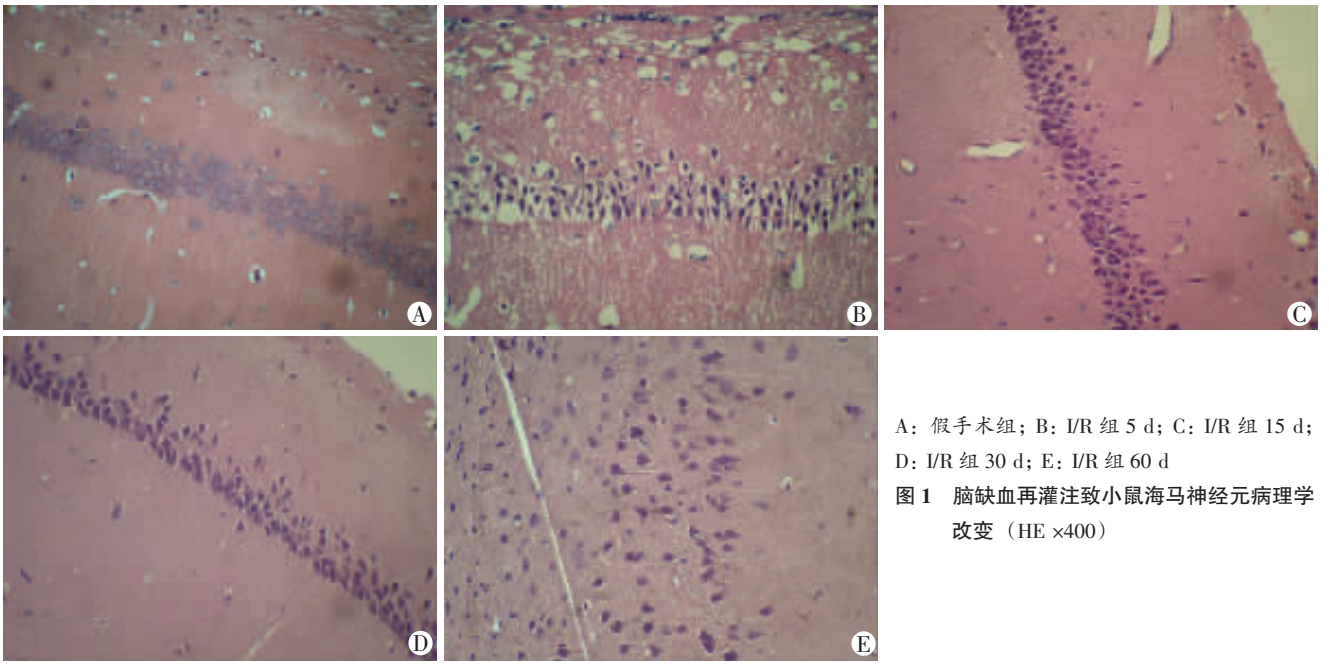
2.3 脑缺血再灌注对 MDA 含量影响

I/R 组 MDA 含量较假手术组显著升高($P < 0.05$)。I/R 组 15、30 d 和 60 d MDA 含量高于 I/R 组 5 d,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 2。

表 2 脑缺血再灌注不同时间对 MDA 含量影响(nmol/mg,$n = 5$,$\bar{x} \pm s$)

时相点	I/R 组	假手术组
5 d	0.673 ± 0.087[a]	0.549 ± 0.049
15 d	0.782 ± 0.101[ac]	0.486 ± 0.044
30 d	0.719 ± 0.094[ac]	0.533 ± 0.048
60 d	1.084 ± 0.140[bd]	0.579 ± 0.052

a $P < 0.05$,b $P < 0.01$,与同时间点假手术组比较;c $P < 0.05$,d $P < 0.01$,与 I/R 组 5 d 比较

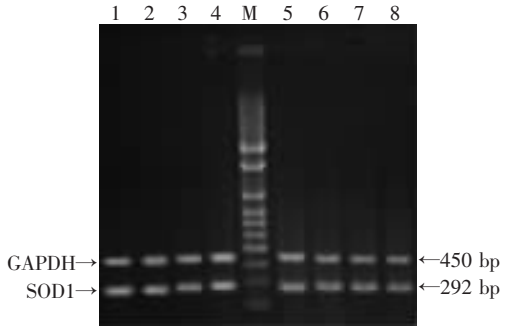


A:假手术组;B:I/R 组 5 d;C:I/R 组 15 d;D:I/R 组 30 d;E:I/R 组 60 d

图 1 脑缺血再灌注致小鼠海马神经元病理学改变(HE ×400)

2.4 脑缺血再灌注对 SOD-1 mRNA 表达影响

与假手术组相比，I/R 组 5、15、30、60 d SOD-1 mRNA 表达水平差异无统计学意义（$P>0.05$）。见图 2，表 3。



M：标准；1～4：分别为假手术组为 5、15、30、60 d；5～8：分别为 I/R 组 5、15、30、60 d

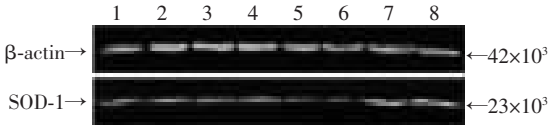
图 2 脑缺血再灌注对 SOD-1 mRNA 表达影响

表 3 脑缺血再灌注不同时间对 SOD-1 mRNA 表达影响（$n=5$，$\bar{x}\pm s$）

时相点	I/R 组	假手术组
5 d	102.422 ± 16.376	104.541 ± 18.825
15 d	102.774 ± 16.477	102.357 ± 18.393
30 d	97.478 ± 15.577	105.531 ± 19.081
60 d	100.824 ± 16.262	97.279 ± 17.493

2.5 脑缺血再灌注对 SOD-1 蛋白表达影响

术后 5、15 d I/R 组 SOD-1 蛋白表达水平较假手术组显著降低（$P<0.05$）；术后 30、60 d I/R 组 SOD-1 蛋白表达较假手术组显著升高（$P<0.05$）。术后 15 d I/R 组 SOD-1 蛋白水平较术后 5 d 显著降低（$P<0.05$）。见图 3、表 4。



1～4：分别为假手术组 5、15、30、60 d；5～8：分别为 I/R 组 5、15、30、60 d

图 3 脑缺血再灌注对 SOD-1 蛋白表达影响

表 4 脑缺血再灌注不同时间对 SOD-1 蛋白表达影响（$n=5$，$\bar{x}\pm s$）

时相点	I/R 组	假手术组
5 d	23.145 ± 3.476[a]	30.413 ± 2.962
15 d	15.746 ± 2.344[bc]	28.631 ± 2.875
30 d	40.587 ± 6.154[a]	32.077 ± 3.117
60 d	44.263 ± 6.597[a]	31.712 ± 3.091

a：$P<0.05$，b：$P<0.01$，与同时相点假手术组比较，c：$P<0.05$，与 I/R 组 5 d 比较

2.6 脑缺血再灌注对 SOD-1 活性影响

I/R 组 5、15 d SOD-1 活性较假手术组显著降低（$P<0.01$）；I/R 组 30、60 d SOD-1 活性与假手术组相比差异无显著性（$P>0.05$）。见表 5。

表 5 脑缺血再灌注不同时间对 SOD-1 活性影响（U/mg，$n=5$，$\bar{x}\pm s$）

时相点	I/R 组	假手术组
5 d	42.522 ± 3.701[a]	55.134 ± 4.076
15 d	37.011 ± 4.843[b]	53.625 ± 5.940
30 d	51.801 ± 6.706	54.732 ± 6.027
60 d	50.202 ± 6.488	55.479 ± 5.985

a：$P<0.05$，b：$P<0.01$，与假手术组比较

3 讨论

脑组织缺乏足够的能量储存，它需要连续不断地血液供应，以保证其对氧和葡萄糖的需求。脑 I/R 导致大量超氧阴离子（O^{2-}）生成，其中 90% 源自线粒体。O^{2-} 又可进一步反应生成氧化能力更强的自由基，如 OH^-、$ONOO^-$。生理情况下，自由基具有抗病原微生物和抗寄生虫等作用。但在脑 I/R 情况下，自由基的生成超过了机体的清除能力，大量自由基可致脂质过氧化，酶活性降低，RNA 和 DNA 断裂、基因突变等[7]，自由基还可损伤线粒体呼吸链复合体Ⅰ、Ⅱ、Ⅲ，抑制复合体Ⅳ的功能，加重线粒体功能失调，促进自由基产生[8]，最终导致神经元凋亡。病理结果显示，随时间进程，缺血再灌注组海马 CA1 区神经元依次出现细胞空泡样变，细胞染色进一步加深，形态改变，细胞排列层次混乱，核固缩，细胞层次明显减少，最后发展为细胞丢失严重，细胞排列紊乱，海马正常结构严重毁损。与李露丝等[9]报道的脑缺血致神经元退行性变病理改变一致，同时小鼠还伴有学习记忆能力减退，提示神经元退行性变模型建立成功。

MDA 是生物膜中多不饱和脂肪酸受到氧自由基攻击后，形成的一种脂质过氧化物。MDA 含量检测可反映机体脂质过氧化的程度，从而间接显示体内氧化应激平衡状态。本研究结果显示，脑 I/R 各时间点组 MDA 含量比假手术组明显升高，说明脑内氧化应激反应增强，导致脂质过氧化损伤。随着实验进程，脑 I/R 组 MDA 含量进行性升高，提示脑内氧化应激逐渐增强，这可能是 I/R 致神经元退行性变的重要因素之一。

通常情况下，随着脑氧化应激反应增强，自由基生成增加，机体抗氧化应激系统也被动员，以对抗氧化应激增强所致的组织损伤。SOD-1 是 SOD 3 种亚型之一，其活性中心含有铜离子和锌离子，又被称为铜锌超氧化物歧化酶（Cu-Zn SOD）。SOD-1 在中枢神经系统表达广泛，其中又以海马锥形细胞和齿状回颗粒细胞，及黑质神经元表达最高。SOD-1 在神经元细胞内广泛分布于细胞质，及线粒体、内质网和细胞核等结构，具

有含量大、活性高(SOD-1 活性占细胞内总 SOD 活性的70%以上)的特点,被认为是神经元内抗氧化应激的重要成分。既往研究[10]认为,SOD-1 表达水平与脑缺血再灌注损伤程度平行,SOD-1 不足可加重缺血再灌注致神经元损伤,SOD-1 过表达可缓解急性脑缺血再灌注损伤[11]。本研究显示,脑 I/R 的早期,SOD-1 表现为蛋白表达水平和活性的协同降低,神经元损伤进行性加重,与文献报道基本一致。在 I/R 的中后期,I/R 组 SOD-1 蛋白表达显著高于对照组,SOD-1 活性与对照组相似,同时神经元损伤仍继续加重。RT-PCR 结果则显示,各组间 SOD-1 mRNA 表达水平差异无统计学意义。

上述结果提示,在脑缺血再灌注致神经元退行性变中存在神经元损伤与 SOD-1 功能、mRNA 和蛋白质表达水平不平行的现象。其发生机制可能与自由基损伤修饰蛋白质,造成蛋白质交联聚合及功能异常有关,其中以金属蛋白为甚[12]。据报道,轻中度氧化应激可选择性促进包括 SOD 在内的蛋白质水解[13],重度氧化应激可促进蛋白聚合(聚合物难以水解),并抑制过氧化物酶、过氧化氢酶活性,从而抑制蛋白降解[14]。结合 MDA 水平持续升高的现象,我们认为在缺血再灌注致神经元退行性变的早期(15 d 以前),脑内氧化应激处于相对较低水平。此时,低水平的氧化应激可促进 SOD-1 蛋白降解,表现为 SOD-1 活性与蛋白表达水平降低。机体氧化应激逐渐发展加重,严重的氧化应激促进 SOD-1 聚合,抑制过氧化物酶和过氧化氢酶的蛋白质水解作用,表现为 SOD-1 蛋白表达水平异常升高,功能异常。这可能是神经元损伤与 SOD-1 变化不一致的原因之一。相关研究[15-16]显示,SOD-1 基因突变也可致 SOD-1 蛋白异常聚集和活性改变。鉴于自由基可直接损伤核酸大分子,导致基因突变。因此,在 I/R 致神经元退行性变的进程中是否还存在由 SOD-1 基因突变所引发的 SOD-1 活性、mRNA 与蛋白表达不一致的仍需进一步研究。

参考文献:

[1] Homi H M, Freitas J J, Curi R, *et al*. Changes in superoxide dismutase and catalase activities of rat brain regions during early global transient ischemia/reperfusion[J]. Neurosci Lett, 2002, 333(1): 37-40.

[2] 李红梅, 肖农, 张晓萍. 右-苯丙胺对脑缺血大鼠细胞凋亡和生长相关蛋白 43 的作用[J]. 第三军医大学学报, 2007, 29(1): 81-83.

[3] Shibata N, Kobayashi M. The role for oxidative stress in neurodegenerative diseases[J]. Brain Nerve, 2008, 60(2): 157-170.

[4] Lenzken S C, Romeo V, Zolezzi F, *et al*. Mutant SOD1 and mitochondrial damage alter expression and splicing of genes controlling neuritogenesis in models of neurodegeneration[J]. Hum Mutat, 2011, 32(2): 168-182.

[5] 李梨, 周岐新, 石京山. 脑缺血再灌对小鼠脑细胞色素 C 氧化酶亚基ⅡmRNA 表达的影响及淫羊藿苷的作用[J]. 第三军医大学学报, 2006, 28(7): 685-687.

[6] 李爱萍, 赵慧, 李韶, 等. 不同鼠种在 Morris 水迷宫学习记忆行为中的种属差异[J]. 中国行为医学科学, 2005, 14(1): 29-31.

[7] Perluigi M, Di-Domenico F, Giorgi A, *et al*. Redox proteomics in aging rat brain: involvement of mitochondrial reduced glutathione status and mitochondrial protein oxidation in the aging process[J]. J Neurosci Res, 2010, 88(16): 3498-3507.

[8] Matsuzaki S, Szweda L I, Humphries K M. Mitochondrial superoxide production and respiratory activity: biphasic response to ischemic duration[J]. Arch Biochem Biophys, 2009, 484(1): 87-93.

[9] 李露斯, 刘之荣. 大鼠慢性脑灌注不足脑内小胶质细胞活化和脑的病理改变[J]. 第三军医大学学报, 2001, 23(4): 398-400.

[10] DeKosky S T, Abrahamson E E, Taffe K M, *et al*. Effects of post-injury hypothermia and nerve growth factor infusion on antioxidant enzyme activity in the rat: implications for clinical therapies[J]. J Neurochem, 2004, 90(4): 998-1004.

[11] Kokubo Y, Matson G B, Derugin N, *et al*. Transgenic mice expressing human copper-zinc superoxide dismutase exhibit attenuated apparent diffusion coefficient reduction during reperfusion following focal cerebral ischemia[J]. Brain Res, 2002, 947(1): 1-8.

[12] Hardingham G E, Lipton S A. Regulation of neuronal oxidative and nitrosative stress by endogenous protective pathways and disease processes[J]. Antioxid Redox Signal, 2011, 14(8): 1421-1424.

[13] Smuder A J, Kavazis A N, Hudson M B, *et al*. Oxidation enhances myofibrillar protein degradation *via* calpain and caspase-3[J]. Free Radic Biol Med, 2010, 49(7): 1152-1160.

[14] Calabrese V, Cornelius C, Stella A M, *et al*. Cellular stress responses, mitostress and carnitine insufficiencies as critical determinants in aging and neurodegenerative disorders: role of hormesis and vitagenes[J]. Neurochem Res, 2010, 35(12): 1880-1915.

[15] Prudencio M, Durazo A, Whitelegge J P, *et al*. An examination of wild-type SOD1 in modulating the toxicity and aggregation of ALS-associated mutant SOD1[J]. Hum Mol Genet, 2010, 19(24): 4774-4789.

[16] Pasinelli P, Belford M E, Lennon N, *et al*. Amyotrophic lateral sclerosis-associated SOD1 mutant proteins bind and aggregate with Bcl-2 in spinal cord mitochondria[J]. Neuron, 2004, 43(1): 19-30.

(收稿 2010-12-07 修回 2011-01-13)

(编辑 王 红)