维普资讯 http://www.cqvip.com

文章编号:0253－3626(2005)03－0333－04

NOD 鼠胰岛细胞 FasL/Fas 凋亡通路的动态变化

孙 辽[1], 邓华聪[1], 张志利[2], 兰丽珍[1], 刘云峰[2], 肖 君[1], 赵同峰[1]

(1.重庆医科大学临床学院内分泌科,重庆 400016;2.山西医科大学附属第一医院内分泌科,太原 030001)

【摘 要】目的:观察雌性 NOD 鼠在不同病程时,胰腺细胞因子 mRNA 和凋亡因子 mRNA 的表达,及胰岛内细胞因子和凋亡因子蛋白的表达。方法:54 只雌性 NOD 鼠随要分为 C1、C2、C3 三组各 18 只,分别于 4 周龄,15 周龄和 30 周龄(或发病时)处死,摘取胰腺。RT－PCR 法检测胰腺 IFN－γ、IL－10、Fas,FasL 和 CPP32mRNA 的表达水平。HE 染色观察胰岛炎程度。SP 免疫组化染色观察胰岛内胰岛细胞及炎症细胞 Fas,FasL 及 CPP32 蛋白表达水平。结果:随病程的进展胰腺 Fas、IFN－γ mRNA 的表达水平增加($P<0.05$),IL－10mRNA 三组间无显著性差异。C2 和 C3 组胰腺 FasL、CPP32mRNA 水平较 C1 组明显增强(FasL、$P<0.05$;CPP32,$P<0.01$),C2 与 C3 组比较无显著差异。胰腺 Fas、CPP32mRNA 与 IFN－γmRNA 的表达水平呈正相关(相关系数 γ=0.677,0.530),与 IL－10mRNA 的表达不相关(γ= －0.427, －0.464)。免疫组化染色显示:C1、C2、C3 组胰岛细胞 FasL 均高表达,三组间无显著差异($P>0.05$),Fas、CPP32 的表达在 C1 组组弱表达,C2、C3 组表达增强。C2、C3 与 C1 组之间均有统计学差异($P<0.05$),C2 与 C3 组比较无显著差异。C1 组几无炎症细胞浸润,C2 与 C3 组之间比较炎症细胞 Fas、FasL、CPP32 的表达无显著性差异。结论:在 NOD 鼠糖尿病发病中 Th1 细胞因子起主导作用;FasL/Fas 凋亡通路参与 NOD 鼠胰岛 β 细胞的破坏;Th1 细胞因子 IFN－γ 能上调胰腺 FasL/Fas 凋亡通路。

【关键词】1 型糖尿病;凋亡因子;细胞因子

【中国图书分类法分类号】R587.1 【文献标识码】A 【收稿日期】2004－11－02

Dynamic changes of FasL/Fas apoptosis pathway in islets of NOD mice

SUN Liao, et al

(*Department of Endocrinology, College of Clinical Medicine, Chongqing Medical University*)

【Abstract】*Objective*: To investigate expression of cytokines and apoptosis factors in islets of female NOD mice at different weeks of age. *Methods*: 54 female NOD mice were randomly divided into three groups(C1, C2, C3) and each group consisted of 18 mice. The mice were killed respectively at 4th, 15th, 30th week (of onset of diabetes), and their panreases were removed. The levels of expression of cytokines and apoptosis factors mRNA of the pancreas were detected by RT－PCR. The expressions of cytokines and apoptosis factors protein were measured by using immunohistochemical method. Insulitis scores were observed by HE staining. *Results*: Expressions of Fas and IFN－γ mRNA in pancreas were stronger in C3 vs C1 or C2, in C2 vs C1($P<0.05$). No difference in expression of IL－10 mRNA of pancreas was found in three groups. FasL and CPP32 mRNA in pancreas were more strongly in C2 and C3 than in C1 (FasL, $P<0.05$; CPP32, $P<0.01$). Positive correlations existed respectively between levels of Fas, CPP32 mRNA and IFN－γ mRNA of pancreas(γ=0.677, 0.530), but no correlations exited between the apoptosis factors and IL－10mRNA(γ= －0.427, －0.464). There were no correlations between FasL mRNA and IFN－γmRNA or IL－10mRNA(γ=0.306, －0.390). Immunohistochemical staining indicated that strong positive expression of FasL was observed in islet cells in three groups($P>0.05$). Expressions of Fas and CPP32 were stronger in islet cells in C2 and C3 vs C1($P<0.05$). Levels of all apoptosis factors were not significantly different in infiltrating inflammatory cells between C2 and C3. *Conclusion*: Th1 cytokines IFN－γ play a main role in pathogenesis of type 1 diabetes; FasL/Fas system participates in destruction of β cells in NOD mice; IFN－γ can promote activation of FasL/Fas apoptosis pathway on β cells.

【Key words】Type 1 diabetes; Apoptosis factor; Gytokine

1 型糖尿病发病的病理基础是胰岛 β 细胞进行性减少,而凋亡又是 β 细胞减少的主要原因。FasL/Fas 系统是最重要的细胞凋亡信号通路,其在 β 细胞凋亡中的作用已得到体外实验的证实,但在 1 型

作者介绍:孙 辽(1963－),男,博士,副教授,主要研究方向:1 型糖尿病的发病机理。

基金项目:国家自然科学基金项目(30370670,30070365);重庆市卫生局资助项目。

维普资讯 http://www.cqvip.com

糖尿病病程中的动态改变尚未见报道。

1 材料和方法

1.1 动物与分组

NOD/Lt 小鼠(no-obese diabetes mice)购自中国医学科学院实验动物研究所。54 只雌性 NOD 鼠随机分成 C1、C2、C3 三组,每组 18 只,分别于 4 周龄、15 周龄、发生糖尿病或至 30 周龄处死,摘取胰腺,液氮冻存,用于指标检测。

1.2 雌性 NOD 鼠的自然发病率

20 只雌性 NOD 鼠于 12 周开始测尿糖,若尿糖阳性时,断尾法取血,血糖仪(惠好、美国)检测血糖,如果连续 2 周血糖值>16.6mmol/L 时诊断为糖尿病[1]。

1.3 胰岛炎积分

各组取 6 只小鼠断颈处死,取胰腺立即置液氮内冷冻,5μm 冰冻切片,丙酮固定,HE 染色,两人用双盲法对每个胰腺的两个不同层面进行观察,观察 10 个胰岛并进行胰岛炎分级计数。胰岛炎共分 0~4 五级[1]。

1.4 组织免疫化学

4μm 冰冻切片,丙酮固定,SP 免疫组化染色观察胰岛细胞和胰岛内炎症细胞 Fas、FasL 和 CPP32 蛋白表达(Fas、FasL、CPP32 一抗购自 Santa Cruz 公司),每张切片观察 5 个胰岛,在 SP-2000 图像分析仪(上海世珈医疗设备公司)测定并计算其平均密度值,再计算 6 只鼠的平均密度值,然后进行比较分析。

1.5 RT-PCR

异硫氰酸胍-酚-氯仿一步法提取总 RNA,按照 RevertAid™First Strand cDNA Synthesis Kit 说明逆转录制备单链 cDNA。PCR 反应条件:94℃ 预变性 5min;94℃ 变性 1min;55~60℃ 退火 1min;72℃ 延伸 1min,进行 30 个循环后,72℃ 充分延伸 5min。1.5% 琼脂糖凝胶电泳,扩增带进行吸光度扫描,以 β-actin 为内参照,进行对照分析,引物序列如表 1。

1.6 统计学方法

数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较和相关分析用 SPSS10 软件包处理分析。

2 结 果

2.1 雌性 NOD 鼠的自然发病率

本实验所用雌性 NOD 鼠于 17 周龄开始发病,22~26 周龄发病频率最高,至 30 周龄累积发病率为 70%。

2.2 NOD 鼠不同病程胰岛炎积分

HE 染色结果示 4 周龄 NOD 鼠胰岛炎多为 0 级,少数 1 级,无或仅有少量淋巴细胞浸润,胰岛结构完整;15 周龄多为 2~3 级,淋巴细胞浸润明显,胰岛结构不同程度破坏;发病和 30 周龄 NOD 鼠胰岛炎多为 3~4 级,胰岛结构明显破坏。平均胰岛积分比较:4 周龄与 15 周龄和 30 周龄比较均有显著性差异($P<0.01$),15 周龄与 30 周龄比较无显著差异如表 2 所示。

2.3 胰腺 INF-γ、IL-10、Fas、FasL 和 CPP32 mRNA 的表达水平

图 1 示 INF-γ、Fas mRNA 于 4 周龄时表达最弱、30 周龄最强,15 周龄和 30 周龄与 4 周龄,以及 15 周龄与 30 周龄比较均有显著性差异($P<0.05$);IL-10mRNA 的表达均为弱表达,三组间无统计学差异;CPP32、FasL mRNA C1 组弱于 C2 和 C3 组

表 1 细胞因子和凋亡因子的引物序列

引物	引物序列		碱基
β-actin	sense	5'-GTTACCAACTGGGACGACA-3'	
	antisense	5'-GGAACCGCTCGTTGCCAA-3'	541bp
IFN-γ	sense	5'-CATTGAAAGCCTAGAAAGTCTG-3'	
	antisense	5'-CTCATGAATGCATCCTTTTTCG-3'	275bp
IL-10	sense	5'-CCCTATCACTCTTTAATCACTACTCA-3'	
	antisense	5'-ATTTCCGATAAGGCTTGGCAACCC-3'	380bp
Fas	sense	5'-CAAGGGACTGATAGCATCTTTGAGG-3'	
	antisense	5'-TGTGAAAGTCCAGAACCCTAAGG-3'	326bp
FasL	sense	5'-ATCCCTCTGGAATGGGAAGA-3'	
	antisense	5'-CCATATCTGTCCAGTAGTGC-3'	240bp
CPP32:	sense	5'-AGTCAGTGGACTCTGGGATC-3'	
	antisense	5'-GTACAGTTCTTTCGTGAGCA-3'	661bp

表2 雌性 NOD 鼠不同时期胰岛炎积分比较

组别 group	例数(胰岛数)N(n)	平均数±平均差 $\bar{x} \pm s$
C1(4周龄)	6(30)	0.87±0.73
C2(15周龄)	6(30)	2.47±0.94*
C3(30 周龄)	6(30)	3.03±1.00*

注:与 C1 组比较* $P<0.01$

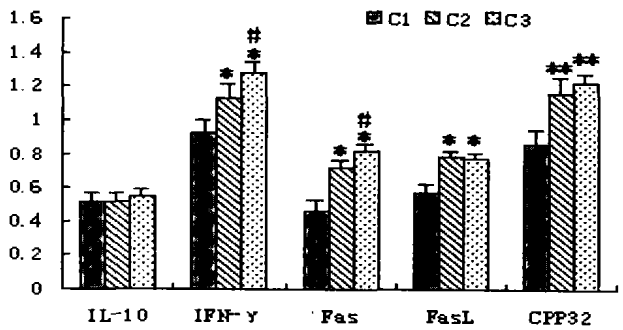


图 1 不同病程 NOD 鼠胰腺 IFNγ、IL-10、FasL、Fas、CPP32 mRNA 的表达

(注:与 C1 组比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$;与 C2 组比较# $P<0.05$)

维普资讯 http://www.cqvip.com

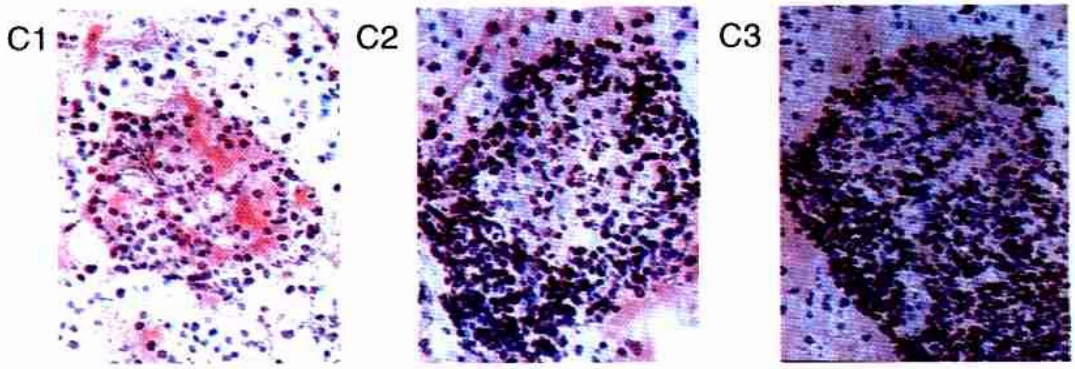


图 2 组织免疫化学(SP 染色 ×400)

注:4 周龄 NOD 鼠胰岛内无炎症细胞浸润,胰岛细胞 CPP32 染色弱阳性(C1);15 和 30 周龄胰岛内大量炎症细胞浸润,炎症细胞和胰岛细胞 CPP32 染色强阳性(C2、C3)

表 3 不同病程胰岛细胞 Fas、FasL、CPP32 蛋白表达(密度值)

组别 group	胰腺(胰岛数)N(n)	Fas($\bar{x}\pm s$)	FasL($\bar{x}\pm s$)	CPP32($\bar{x}\pm s$)
C1	6(30)	0.179±0.025	0.291±0.023	0.207±0.018
C2	6(30)	0.265±0.015*	0.308±0.016	0.245±0.016*
C3	6(30)	0.288±0.023*	0.298±0.016	0.261±0.026*

注:与 C1 组比较 * $P<0.05$

表 4 不同病程炎症细胞 Fas、FasL、CPP32 的表达(密度值)

组别 group	胰腺(胰岛数)N(n)	Fas($\bar{x}\pm s$)	FasL($\bar{x}\pm s$)	CPP32($\bar{x}\pm s$)
C2	6(30)	0.780±0.011	0.994±0.052	0.685±0.042
C3	6(30)	0.770±0.010	1.037±0.096	0.702±0.046

(FasL,$P<0.05$;CPP32,$P<0.01$),C2 与 C3 组间无统计学差异。

2.4 NOD 鼠胰腺细胞因子 mRNA 与凋亡因子 mRNA 的相关分析

雌性 NOD 鼠自然病程中,Fas、CPP32 mRNA 的表达与 IFN-γ mRNA 的表达成正相关(γ=0.677,0.530),与 IL-10 mRNA 的表达无关(γ=-0.427,-0.464);FasL mRNA 的表达与 IFN-γ mRNA 和 IL-10mRNA 的表达无关(γ=0.306,-0.390)。

2.5 胰岛内 Fas、FasL、CPP32 蛋白表达水平

免疫组化及密度半定量分析表明:C2、C3 组胰岛细胞 Fas、CPP32 蛋白表达较 C1 组明显增强($P<0.05$),C2 与 C3 组比较无显著性差异;三组 FasL 蛋白均为强表达,组间无显著性差异(表 3)。C1 组基本没有炎症细胞浸润,尽管 C3 组炎症细胞 Fas、FasL、CPP32 的表达强于 C2 组,但无统计学差异(表 4)。图 2 示 CPP32 免疫组化染色,Fas、FasL 免疫组化未显示。

3 讨 论

NOD 鼠是最常用的 1 型糖尿病实验模型,本研究选用的雌性 NOD 鼠 17 周龄开始发病,22~26 周龄发病频率最高,30 周龄累积自然发病率为 70%。与提供的该鼠系 60%~80%的自然发病率相符,能满足实验要求。

1 型糖尿病是 T 细胞介导的胰岛 β 细胞特异性破坏的自身免疫性疾病。在 1 型糖尿病的致病过程中,具有破坏作用的 Th1 细胞和细胞因子 IFN-γ、IL-1、TNF-α 功能增强,和保护作用的 Th2 细胞和细胞因子 IL-4、IL-10 功能减弱导致胰岛 β 细胞的进行性破坏[2]。本研究发现 4 周龄雌性 NOD 鼠多无胰岛炎发生,胰腺 IFN-γmRNA 弱表达。随着病程进展,胰岛炎逐渐加重,至 15 周龄胰岛炎发展为 2-3 级,发病时多为 3~4 级,胰腺 IFN-γ mRNA 表达逐渐增加。4 周龄胰腺 IL-10mRNA 弱表达,且不随着病程进展和胰岛炎的加重而发生改变,表明 Th1 细胞因子 IFN-γ 在 NOD 鼠糖尿病发病中的主导地位。由于在干扰素调节因子 1(IRF-1)缺乏的情况下,可完全抑制 IFN-γ 介导的 NOD 鼠胰岛炎和糖尿病的发生,表明 IFN-γ 对胰岛 β 细胞的破坏效应,是通过 IRF-1 通路实现的[3,4]。

胰岛 β 细胞进行性破坏是 1 型糖尿病的病理基

维普资讯 http://www.cqvip.com

础。1 型糖尿病 NOD 鼠的研究表明,细胞凋亡是胰岛 β 细胞主要死亡方式,NOD 小鼠和正常对照小鼠比较,存在异常调亡高峰,即出生后 2 周的新生凋亡高峰,和 15 周凋亡高峰,新生凋亡高峰早于胰岛炎的初发时间(4～6 周),而 15 周的凋亡高峰恰好在临床糖尿病的始发时间,由此可设想胰岛 β 细胞新生异常调亡,提供了大量的自身抗原,触发了针对 β 细胞的自身免疫反应[5,6]。FasL/Fas 系统是最重要的凋亡通路之一,FasL 与 Fas 交联,可诱导表达 Fas 的细胞发生凋亡。为了明确 FasL/Fas 凋亡通路在 NOD 鼠胰岛 β 细胞破坏中的作用,我们观察了不同病程胰腺及胰岛内 Fas、FasL、CPP32 mRNA 和蛋白的表达。结果表明 4 周龄 NOD 鼠胰腺 Fas mRNA、和胰岛细胞 Fas 蛋白弱表达。随着病程进展和胰岛炎加重,以及糖尿病的发生胰腺 FasmRNA 和胰岛细胞 Fas 蛋白表达逐渐增强。尽管 4 周龄胰腺 FasL mRNA 弱表达,15 周龄和发病(或 30 周龄)时 FasL mRNA 表达明显增强,但胰岛细胞 FasL 蛋白的表达于 4 周龄时即强表达,且与病程及胰岛炎的程度无关。4 周龄胰岛内几乎无炎症细胞,15 和 30 周龄胰岛内炎症细胞 Fas 和 FasL 蛋白强表达,两组间无显著差异。相关分析显示胰腺 Fas mRNA 与 IFN－γ mRNA 表达水平成正相关、与 IL－10mRNA 表达水平不相关,胰腺 FasL mRNA 与 IFN－γmRNA 和 IL－10mRNA 表达不相关。Suarez－Pinzon 等的同种胰岛移植实验以及 Moriwaki 等对 1 型糖尿病患者的研究中,也证明了胰岛 β 细胞 Fas 异常表达在 β 细胞破坏的中心作用[7,8]。此外,Amrani 等[9]的转基因实验表明 IFN－γ 介导的自身反应性 CD_4^+ T 细胞对 β 细胞的破坏,依赖于 Fas 效应。上述结果提示胰岛 β 细胞 Fas 的异常表达,在胰岛 β 细胞破坏中起关键性作用,而胰岛内炎症细胞的浸润和 Th1 细胞因子 IFN－γ 的表达,是导致胰岛 β 细胞 Fas 异常表达的重要因素。

半胱氨酸蛋白 32(CPP32)是白细胞介素 1β 转化酶家族(caspase 的重要成员。Yamada 等[10]构建了表达 Fas 的鼠 β 细胞系(βTC1),Fas 抗体可诱导该细胞系凋亡,并上调 CPP32 样蛋白酶活性,却不能上调 caspase－1 蛋白酶活性。CPP32 拮抗剂和反义 CPP32 可抑制 Fas 介导 βTC1 系凋亡,Caspase－1 拮抗剂无此效应。说明在介导 β 细胞凋亡的 FasL/Fas 凋亡通路中,CPP32 是一重要的下游凋亡因子。本研究发现 4 周龄 NOD 鼠胰腺 CPP32 mRNA 及胰岛细胞 CPP32 蛋白弱表达,随病程进展和胰岛炎加重其表达明显增强,胰腺 CPP32mRNA 与 IFN－γmRNA 表达呈正相关,与 IL－10mRNA 表达不相关。表明 CPP32 作为下游凋亡因子,参与了 FasL/Fas 系统介导的 β 细胞凋亡。

综上所述,在 NOD 鼠糖尿病发病中 Th1 细胞因子 IFN－γ 起主导作用;FasL/Fas 凋亡通路参与 NOD 鼠胰岛 β 细胞的破坏,且 Fas 起关键作用;Th1 细胞因子 IFN－γ 能上调胰腺 FasL/Fas 凋亡通路。

参 考 文 献

[1] 李玉秀,王 姮,孙 琦,等. NOD 小鼠口服胰岛素对胰岛 Fas 及配体表达的影响[J]. 中华内分泌代谢杂志,1999;15:72－76.

[2] Rabinovitch A. Immunoregulatory and cytokine imbanlances on the pathogenesis of IDDM[J]. Diabetes,1994;43:613－621.

[3] Nakazawa T, Satoh J, Takahashi K, et al. Complete suppression of insulitis and diabetes in NOD mice lacking interferon regulatory factor－1[J]. J Autoimmun,2001;17:119－125.

[4] Suk K, Kim s, Kim YH, et al. IFN－gamma/TNF－alpha synergism as the final effector in autoimmune diabetes: a key role for STAT1/IFN regulatory factor－1 pathway in pancreatic beta cell death[J]. J Immunol,2001;166:4481－4489.

[5] Trudeau JD, Dutz JP, Arany E, et al. Neonatal β－cell apoptosis: a trigger for autoimmune diabetes[J]. Diabetes,2000;49:1－7.

[6] O'bren BA, Harmon BV, Cameron DP, et al. Apoptosis is the mode of β－cell death responsible for the development of IDDM in the nonobese Diabetic (NOD) mouse[J]. Diabetes,1997;46:750－757.

[7] Suarez－Pinzon W, Sorensen O, Bleackley RC, et al. β－cell destruction in NOD mice correlates with Fas(CD95 expression on β－cells and proinflammatory cytokine expression in islets[J]. Diabetes,1999;48:21－28.

[8] Moriwaki M, Itoh N, Miyagawa J, et al. Fas and Fas ligand expression in inflamed islets in pancreas sections of patients with recent－onset type Ⅰ diabetes mellitus[J]. Diabetologia,1999;42:1332－1340.

[9] Amrani A, Verdaguer J, Thiessen S, et al. IL－lalpha, IL－lbeta, and IFN－gamma mark beta cells for Fas－dependent destruction by diabetogenic CD_4(+)T lymphocytes[J]. J Clin Invest,2000;105:459－468.

(下转第 351 页)

维普资讯 http://www.cqvip.com

胞增殖,使白血病复发;另外一些观点认为在化疗前或同时应用,可以促进原始细胞进入细胞增殖周期从而增加对化疗药物的敏感性。那么 GM-CSF 携带^{131}I,它对^{131}I 的细胞毒性作用会是增强、减弱还是无影响?基于这些理论和疑问,我们设计本次实验观察^{131}I-GM-CSF 对 HL-60 细胞凋亡的影响,来为其临床应用提供基础研究依据。电离辐射诱发细胞死亡包括细胞坏死和凋亡。在本次实验中,我们首先发现当放射性浓度较低时 GMCSF 将减弱^{131}I 的细胞毒性,^{131}I-GMCSF 组细胞存活率低于^{131}I 组,差异有显著性。当放射性浓度增加≥18.5×10^{8}Bq/L 的浓度后它对^{131}I 的毒性作用无影响,两组细胞存活率无统计学差异。随后,我们从形态学和生化特征两方面证明了在较高放射性浓度下的^{131}I-GMCSF 能诱导 HL60 细胞凋亡,并且细胞凋亡率高于同等剂量的^{131}I($P<0.05$);而低浓度下不能诱导细胞凋亡。进一步实验发现诱导 HL60 凋亡的机制可能是激活 p53,下调 bcl-2、bcl-xl,显著降低线粒体膜电位。线粒体膜通透性的改变(permeability transition,PT)是细胞凋亡通路的关键步骤。在病理条件下,线粒体内膜电位丧失和 PT 改变使凋亡诱导因子(AIF)和细胞色素 C(cyto c)释放,激活 caspase9,从而启动细胞凋亡[8~11]。

通过本次实验证实 GM-CSF 作为载体携带^{131}I 可以杀伤 HL60 细胞,但是剂量依赖性的。在一定放射性浓度下^{131}I-GMCSF 有望成为一种治疗 AML 的经济、实用且有效的方法。

参 考 文 献

[1] Jurcic JG, Caron PC, Miller WH Jr, et al. Sequential targeted therapy for relapsed acute promyelocytic leukemia with all-trans retimoic acid and anti-CD33 monoclonal antibody M195[J]. Leukemia, 1995;9:244-256.

[2] Linda SP, Peter EW, Della Friend, et al. Interleukin-3, GM-CSF, and G-CSF receptor expression on cell lines and primary leukemia cells: receptor heterogeneity and relationship to growth factor responsiveress[J]. Blood, 1989;74:56-65.

[3] 刘长征,王浩丹,胡雅儿,主编. 实验核医学与核药学[M]. 第 1 版,北京:人民卫生出版社,1999;78-90.

[4] Frankel AE, Powell BL, Hall PD, et al. Phase I trial of a novel diphtheria toxin/granulocyte macrophage colony-stimulating factor fusion protein(DT388GMSF) for refractory of relapsed acute mydloid leukemia[J]. Clin Cancer Res, 2002;8:1004-1013.

[5] Burbage C, Tagge EP, Harris B, et al. Fusion toxin targeted to the human granulocyte-macrophage colony stimulation factor receptor is selectively toxic to aute myeloid leukemia cells [J]. Leuk Res, 1997;21:681-690.

[6] Grossbard ML, Press OW, Appdlbaum FR, et al. Monoclonal antibody-based therapies of leukemia and lymphoma [J]. Blood, 1992;80:863-881.

[7] Wilder RB, DeNardo GL, Denardo SJ, et al. Radioimmunotherapy: recent results and future directions[J]. J Clin Oncol, 1996;14:1383-1400.

[8] Loelfler M, Kroemer G. The mitochonerion in cell death control; certainties and incognital[J]. Exp Cell Res, 2000;256:19-26.

[9] Gross A, McDonnel JM, Korsmeyer SJ. Bcl-2 family members and the mitochoneria in apoptosis[J]. Genes Dev, 1999;13:1889-1911.

[10] Sturm I, Papadopoulos S, Hillebrand T, et al. Impaired BAX protein expression in breast cancer mrtational analysis of the BAX and p53 gene[J]. Int J Cancer, 2000;87:517-521.

[11] Pallis M, Grundy M, Turzanski J, et al. mitochondrial membrane sensitivity to depolarization in acute myeloblastic leukemia is associated with spontaneous in witro apoptosis, wild-type TP53, and vicimal thiol/disufide status[J]. Blood, 2001;98:405-413.

(上接第 336 页)

[10] Yamada K, Ichikawa F, Ishiyama-Shigemoto S, et al. Essential role of caspase-3 in apotosis of mouse β-cells transfected with human Fas[J]. Diabetes, 1999;48:478-483.