

锌源及锌水平对体外培养胸腺细胞 凋亡的影响及其机制

虞泽鹏¹, 施用晖¹, 黄红宇², 魏云玉², 乐国伟¹, 李吕木¹

(1.江南大学营养与生物技术教研室, 江苏 无锡 214036;

2.无锡市第二人民医院中心实验室, 江苏 无锡 214000)

摘 要: 目的: 研究不同锌补加形式和补加水平对体外培养胸腺细胞凋亡的影响及其机制。方法: 采用地塞米松作为诱导剂, 建立小鼠胸腺细胞体外培养的凋亡模型, 培养基中分别补加 0、50、100、500、1000 $\mu\text{mol/L}$ 的硫酸锌或蛋氨酸锌, 培养 16h。测定细胞凋亡率、细胞内钙离子浓度、DNA 片段化等指标。结果: 添加硫酸锌与蛋氨酸锌对体外地塞米松诱导的小鼠胸腺凋亡均有抑制作用。不同浓度的锌均能在一定程度上抑制凋亡的发生, 减少 DNA 片段化, 且这种抑制作用具有剂量效应。50~100 $\mu\text{mol/L}$ 添加水平时, 蛋氨酸锌对细胞凋亡的抑制作用低于硫酸锌($p < 0.05$), 但蛋氨酸锌处理组细胞内钙离子浓度显著高于硫酸锌处理组($p < 0.05$)。500~1000 $\mu\text{mol/L}$ 时, 两种锌对凋亡抑制作用相近($p > 0.05$), 蛋氨酸锌处理组细胞内钙浓度明显高于硫酸锌处理($p < 0.05$)。锌水平增加显著降低细胞内钙离子浓度($p < 0.05$); 锌补加水平升高时, 胞内 Cu、Zn-SOD 活性随之增高, 细胞培养上清液中 AKP 活性也有上升趋势。结论: 两种锌源均能抑制地塞米松体外诱导的胸腺细胞凋亡, 其机制可能涉及到细胞内 Ca^{2+} 浓度、细胞内氧化还原状态的变化等生理生化过程。

关键词: 硫酸锌; 蛋氨酸锌; 凋亡; 体外培养; 地塞米松; 胸腺细胞

Effects and Mechanism of Zinc Sources and Chelation Levels on Apoptosis of Thymocytes Cultured *in Vitro*

YU Ze-peng¹, SHI Yong-hui¹, HUANG Hong-yu², WEI Yun-yu², LE Guo-wei¹, LI Lü-mu¹
(1.Lab of Nutritional and Biological Technology, Southern Yangtze University, Wuxi 214036, China;
2.Center Lab of No.2 People's Hospital of Wuxi, Wuxi 214000, China)

Abstract: Object: To investigate the effects of different zinc sources and levels of addition on apoptosis and their mechanism. Method: Dexamethasone was used to make the apoptosis model of thymocytes. Zinc sulfate and zinc methionine were added to the medium with the levels of 0, 50, 100, 500, 1000 $\mu\text{mol/L}$. The activity AKP, Cu, Zn-SOD and intracellular calcium concentration and the percentage of apoptosis nuclei were determined. Result: Both ZnSO_4 and Zn-Met could modulate apoptosis. They inhibited apoptosis and decreased DNA ladder formation; and the modulation would rely on the dose of zinc. Supplemented with 50, 100 $\mu\text{mol/L}$ zinc, the ability of Zn-Met inhibiting apoptosis was less efficiency than ZnSO_4 ($p < 0.05$), and of no difference to modulate apoptosis when being added with 500 or 1000 $\mu\text{mol/L}$ to the medium ($p > 0.05$). Intracellular calcium concentrations of cells cultured with Zn-Met were higher than those cultured with ZnSO_4 of the same level. Zinc supplementation decreased the concentration of intracellular calcium significantly ($p < 0.05$), but increased the activity of Cu, Zn-SOD ($p < 0.05$) in the extract of the cells, and AKP in the supernatant of the culture fluids ($p > 0.05$). Conclusion: Both forms of zinc could modulate apoptosis of thymocytes induced by glucocorticoid. The mechanism might involve the exchange of intracellular calcium and the redox of cells.

Key words: zinc sulfate; zinc methionine; apoptosis; dexamethasone; thymocytes

中图分类号: Q945.12

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2005)02-0202-06

凋亡是细胞为了维持内环境的稳态, 由基因控制的自主有序的死亡。其涉及一系列信号传导、基因激活等方面的复杂的主动过程; 显著特征是凋亡小体的形成、染色体DNA断裂、胞膜及核膜皱缩。锌是细胞生长、发育和分化所必需的元素, 它参与胸腺嘧啶核苷激酶、DNA和RNA聚合酶等组成。当缺锌时, 这些酶活性降低, DNA、RNA含量降低、细胞的分裂和分化受阻等^[1]。研究表明, 锌对于细胞的凋亡具有重要的调节作用; 体外培养的细胞缺锌时, 为维持细胞内环境稳态, 一些特异基因自主表达, 诱导细胞凋亡。

糖皮质激素是诱导小鼠胸腺细胞凋亡的经典模型, 高锌可以有效抑制其诱导的凋亡。Cohen研究发现, 加入50~500 $\mu\text{mol/L}$ 锌可以阻断DNA片段化, 锌离子的这种抑制作用与已知凋亡抑制剂羧苄胺环己酮、放线菌素的作用相似。500 $\mu\text{mol/L}$ 的锌使地塞米松诱导的凋亡细胞从70%降至30%; 添加Ni、Cu则没有抑制作用; 添加Cd、Ad反而造成细胞坏死, 故锌抑制细胞凋亡具有高度特异性。另外的一些研究表明, 200~1000 $\mu\text{mol/L}$ 以及生理浓度的锌对糖皮质激素诱导的细胞凋亡均有抑制作用。高浓度的锌还可以抑制秋水仙素诱导的慢性白血细胞凋亡。但另有研究表明, 在培养基中仅加入锌载体吡硫翁(pyrrithione)也可抑制凋亡, 且离子载体浓度与凋亡抑制率呈剂量反应关系^[2]。此外, 锌离子不能阻断环磷酰胺诱导的人成熟淋巴细胞的凋亡、四膜虫属生命周期中出现的DNA断裂、染色体固缩等凋亡特征变化。因此, 锌离子可能是一种作用范围有限的凋亡抑制剂。对于锌如何参与凋亡过程的控制目前研究尚不清楚。

蛋氨酸锌作为氨基酸螯合锌的代表是一种新型、高效的有机锌源; 研究表明它对于促进动物生长, 提高机体免疫力有着重要的作用^[3,4], 目前的研究多局限于动物活体, 对于体外培养的细胞凋亡过程的影响及其机制尚未见报道。本试验拟通过使用地塞米松建立体外培养胸腺细胞凋亡模型, 在培养基中添加硫酸锌、蛋氨酸锌两种不同形式的锌, 旨在研究两种不同锌补给形态及补给水平对细胞凋亡的影响及其可能机制。

1 材料与方法

1.1 试验处理

取昆明种断奶小鼠3只, 颈椎脱臼处死。无菌取出胸腺, 用Hank's液清洗后, 移至盛有少量Hank's液的平皿中, 下垫尼龙膜, 用针芯磨挤, 制成细胞悬液。离心, 用Hank's液洗涤细胞两次。PRMI 1640

培养基(Gibco, Invitrogen)调细胞数 $2 \times 10^6 \sim 5 \times 10^6$ 个/ml。在24孔培养板上, 每孔加入等体积细胞悬液, 加入终浓度为 $10^{-7} \mu\text{mol/L}$ 的地塞米松(Dexamethasone Sodium Phosphate Injection, DEX), 同时设阴性对照组(control)。分别在各孔中加入不同水平硫酸锌($\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 分析纯)和蛋氨酸锌(Zinc-Methionine, Zn-Met, 本实验室自制)50、100、500、1000 $\mu\text{mol/L}$ (终浓度, 以锌计), 同时设一阳性对照组(DEX组)。37℃、5% CO_2 培养细胞16h。

1.2 测定指标

1.2.1 碱性磷酸酶(AKP)活性测定 培养16h后收集细胞悬液, 离心取上清进行检测。PBS漂洗细胞3次, 反复冻融裂解细胞, 收集细胞裂解液。采用碱性磷酸酶试剂盒测定培养上清液及细胞裂解液中碱性磷酸酶活性^[5]。

1.2.2 铜、锌超氧化物歧化酶(Cu、Zn-SOD)活性测定 同上取细胞培养上清液及细胞裂解液用SOD测试试剂盒进行Cu、Zn-SOD活性测定。

1.2.3 细胞内钙离子浓度测定^[6] 培养后细胞悬于400 μl 0.5% BSA-DMEM中, 同时加入2 μl 0.4mmol/L Fura-2-AM(终浓度2 $\mu\text{mol/L}$), 37℃恒温轻摇30min。离心去上清, 用BAS-HEPES洗两次, 重悬于BAS-HEPES中, 调细胞数 2×10^6 。荧光分光光度计492nm为发射波光, 300~400nm为激发波长进行扫描, 380nm有一吸收高峰, 用此波长作为观测波长监测细胞内钙的变化。加1mmol/L CaCl_2 , 此时为 F_0 值。加入0.1% Triton X-100后有一荧光高峰值, 为 F_{max} , 再加入3倍于钙的EGTA将所有的钙螯合, 荧光值最低, 为 F_{min} 。计算细胞内钙的浓度: $[\text{Ca}^{2+}]_i = \text{Kd}(F_0 - F_{\text{min}})/(F_{\text{max}} - F_0)$; 其中Kd为Fura-2/Ca的解离常数, 224nmol/L。

1.2.4 流式细胞仪分析 采用碘化丙啶(PI)单染法进行测定^[6], 大致步骤如下: 收集培养后细胞 5×10^6 个, 1000r/min离心5min, 弃去培养液。PBS洗涤, 预冷的70%乙醇4℃固定1h。离心弃去固定液, PBS重悬5min, 400目筛网过滤, 1000r/min离心弃PBS。1ml PI染液(PI溶于PBS中, 终浓度为100 $\mu\text{g/ml}$, 含Rnase 100 $\mu\text{g/ml}$), 4℃避光染色30min。采用流式细胞仪(Coulter Epics XL, Beckman)进行检测, 用Expo32 V1.2 ADC Analysis软件分析。

1.2.5 DNA片段化检测(DNA Ladder) 细胞结束时, 将 5×10^6 的细胞转入无菌的1.5ml的离心管, 4℃、2000r/min、离心5min, 弃上清。加入20 μl 溶解缓冲液(20mmol/L

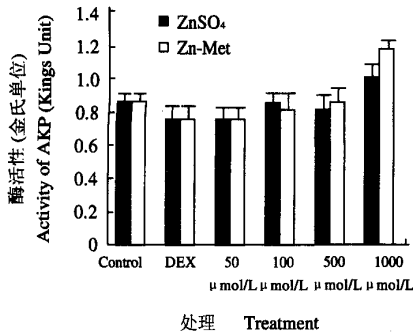
L EDTA, 100mmol/L tris pH8.0, 0.8%SDS, 混匀沉淀。加入10 μ l RNA 酶 A(500U/ml, Ambion), 轻弹混匀, 37 $^{\circ}$ C 孵育 2h。加入10 μ l 蛋白酶 K(20mg/ml), 混匀, 50 $^{\circ}$ C 孵育 90min。1.5% 琼脂糖凝胶低电压电泳, 溴化乙锭染色、拍照。

1.3 数据处理 本试验数据采用 SAS 8.1 中 Anova 过程进行分析, 差异显著者进行 Duncan 比较; 本文图中数据为 $\bar{X} \pm SD$, $n=3$ 。

2 结果与分析

2.1 不同处理对 AKP 活性的影响

细胞培养上清液中, AKP 活性对锌的添加水平具有很大的依赖性; 添加不同形式的锌, 随添加剂量的上升, AKP 的活性也随之升高, 添加 50 μ mol/L 与添加



注: 图中 control 组为正常培养组, DEX 组为添加地塞米松组, 50、100、500、1000 μ mol/L 分别是在添加地塞米松同时添加不同浓度硫酸锌或蛋氨酸锌共同培养组; 下同。

Note: Control was cells cultured in normal medium, DEX was cells supplemented with dexamethasone, and treatments 50, 100, 500, 1000 μ mol/L were cells supplemented with dexamethasone and zinc sulfate or zinc methionine at 50, 100, 500, 1000 μ mol/L. The following figures run as the same.

图1 培养上清液中 AKP 活性

Fig.1 AKP activities in the supernatant of the culture

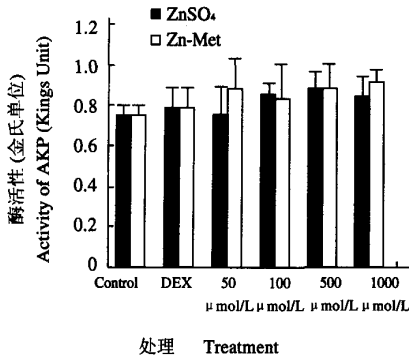


图2 细胞内容物中 AKP 活性

Fig.2 AKP activities in the extract of cultured cells

1000 μ mol/L 之间差异达到了显著水平($p < 0.05$, 参见图 1)。相同水平的两种锌处理之间没有明显差异($p > 0.05$)。细胞裂解液中的 AKP 活性各组间无显著差异($p > 0.05$), 但随添加量的上升, 也有上升的趋势(参见图 2)。

2.2 不同处理对 Cu、Zn-SOD 活性的影响

DEX 处理后, 培养上清液与细胞内裂解液中 Cu、Zn-SOD 活性均明显下降(图 3)。随锌补加水平上升, 上清液中 Cu、Zn-SOD 活性略有上升, 但幅度较小; 细胞裂解液中 Cu、Zn-SOD 活性上升较为明显(图 4); 与 DEX 组相比, 添加锌 1000 μ mol/L 时, 差异达到了显著水平($p < 0.05$)。两种锌处理未表显出明显差异($p > 0.05$)。

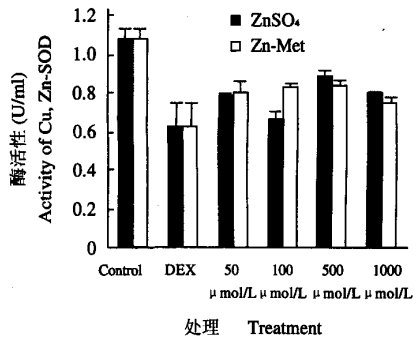


图3 培养上清液中 Cu、Zn-SOD 活性

Fig.3 Cu, Zn-SOD activities in the supernatant of the culture

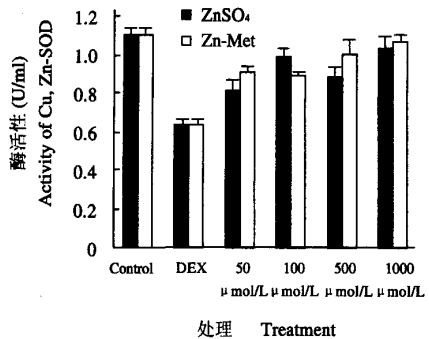


图4 细胞内容物中 Cu、Zn-SOD 活性

Fig.4 Cu, Zn-SOD activities in the extract of cells

2.3 不同处理对细胞内 Ca²⁺ 浓度的影响

培养基中添加地塞米松后, 细胞内钙离子浓度显著升高($p < 0.05$, 图 5)。添加不同形式及水平的锌以后, 细胞内钙离子浓度均有降低($p < 0.05$)。蛋氨酸锌处理的细胞胞内钙离子浓度均不同程度高于相应水平的硫酸锌组($p < 0.05$)。

2.4 不同处理对细胞凋亡率的影响

地塞米松处理组细胞凋亡率显著高于正常对照组, 添加不同水平的锌均对凋亡有抑制作用($p < 0.05$, 图

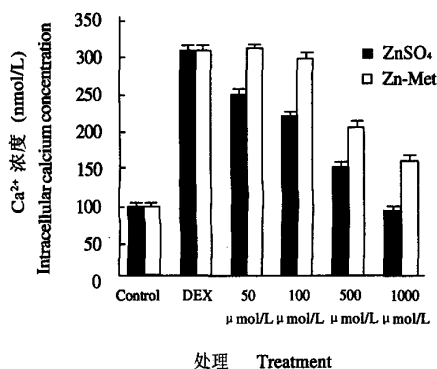
图5 细胞内Ca²⁺浓度

Fig.5 Intracellular calcium concentration

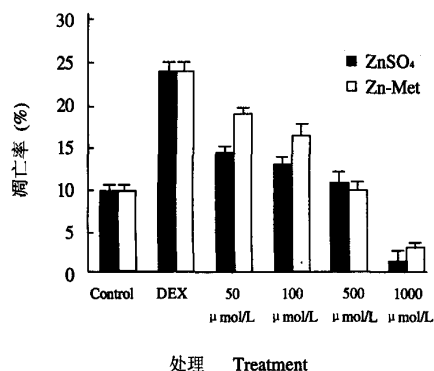


图6 不同锌源对细胞凋亡率的影响

Fig.6 Percentage of apoptotic nuclei of thymocytes

6); 添加1000 μmol/L 锌极其显著抑制了培养细胞的凋亡($p < 0.01$)。在添加量为50、100 μmol/L时, 蛋氨酸锌处理组细胞凋亡率显著高于相同水平的硫酸锌处理组($p < 0.05$); 添加量为500、1000 μmol/L时, 两者无显著差异($p > 0.05$)。

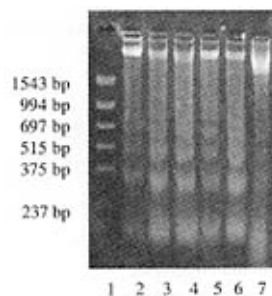
2.5 不同处理对DNA ladder的影响

本试验中, 空白组及各处理组细胞DNA均有不同程度的片段化(图7、图8); 地塞米松使片段化明显加强。培养基中添加锌后, 地塞米松诱导所致的DNA片段化有减弱现象。但仅从电泳不能精确看出两种锌源对细胞DNA片段化影响的程度高低及有无异同。

3 讨论

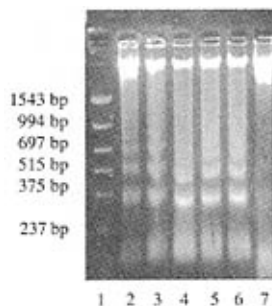
3.1 不同处理对AKP活性的影响

AKP是含一种含锌酶, 锌对其活性有着重要的影响。但目前尚没有研究表明它与细胞凋亡之间有着联系。本次试验中, 细胞培养上清液中, 随锌添加水平的上升, 其中AKP活性也随之上升。这表明, 细胞培养上清液中AKP含量可能在一定程度上能够反映细胞的代谢状况。细胞裂解液中AKP活性也有上升趋势。宋



Note: 1, PCR markers, 2, DEX+ZnSO₄ 1000 μmol/L, 3, DEX+ZnSO₄ 500 μmol/L, 4, DEX+ZnSO₄ 100 μmol/L, 5, DEX+ZnSO₄ 50 μmol/L, 6, DEX, 7, Control.

图7 硫酸锌组细胞DNA琼脂糖电泳图

Fig.7 DNA fragmentation of cells cultured with ZnSO₄

Note: 1, PCR markers, 2, DEX+ Zn-Met 1000 μmol/L, 3, DEX+ Zn-Met 500 μmol/L, 4, DEX+ Zn-Met 100 μmol/L, 5, DEX+ Zn-Met 50 μmol/L, 6, DEX, 7, Control.

图8 蛋氨酸锌组细胞DNA琼脂糖电泳图

Fig.8 DNA fragmentation of cells cultured with Zn-Met

亮年(1995)研究发现, DEX可以完全抑制HOS-8603细胞系产生AKP^[7]。本试验表明, 高锌能在一定程度上缓解DEX体外培养胸腺细胞产生AKP的抑制作用。至于AKP表达与细胞凋亡之间有无关联尚有待进一步研究。

3.2 Cu、Zn-SOD与细胞凋亡

细胞凋亡与自由基关系密切, 氧自由基可通过以下途径诱导细胞凋亡: (1)直接损伤DNA诱导细胞凋亡^[8]; (2)攻击蛋白质, 导致多种蛋白质尤其是具有酶活性蛋白质功能的丧失; (3)影响核基因转录, 改变细胞的表型特征, 诱导细胞凋亡; (4)作用于细胞膜, 诱发脂质过氧化, 进而影响信号转导系统, 激发有关调控基因, 导致细胞凋亡^[9,10]。

锌是Cu、Zn-SOD的结构成分, 缺锌时, Cu、Zn-SOD活性降低, 自由基增多, 后者与蛋白质、DNA、脂质体等反应, 引起凋亡的发生。研究表明, 锌对Cu、Zn-SOD表达有着重要的调控作用, 并通过它间接影响细胞凋亡^[11]。本研究表明, 锌水平上升时, 可

以提高细胞 Cu、Zn-SOD 表达, 而 Cu、Zn-SOD 有重要的抗氧化作用, 这可能也是锌抑制凋亡的一个重要原因。

3.3 钙离子浓度对细胞凋亡的影响

本试验表明, 不同水平及种类的锌对细胞内钙离子浓度均具有明显的抑制作用。 Ca^{2+} 是激活凋亡程序的关键阳离子; Ca^{2+} 含量升高时, 可以诱发细胞凋亡。其主要从以下两个方面起作用。其一, Ca^{2+} 直接激活介导细胞凋亡的核酸内切酶、蛋白酶、磷脂酶; 研究已发现四种 Dnase 中 Danse- I、Nuc-18、Nuc-1 均可受到锌的抑制^[12]。多数学者研究认为 DNase I 参与细胞凋亡。 Ca^{2+} 和 Mg^{2+} 依赖型 DNase I 主要分布在细胞核内, 分子质量为 22ku, pH 值为 7.0~8.0, 其活性能被 Zn^{2+} 所抑制。 Zn^{2+} 通过与内切酶上 Ca^{2+} 位点竞争结合, 从而阻断 $\text{Ca}^{2+}/\text{Mg}^{2+}$ 依赖的内切酶活性, 抑制细胞凋亡。其二, 通过 Ca^{2+} 依赖性途径将信号传递到核内启动凋亡。糖皮质激素受体有三个区域, 即调控区、DNA 结合区、激素结合区。锌离子可以阻断糖皮质与受体激素结合区的结合, 从而抑制细胞凋亡。

本试验中蛋氨酸锌处理组细胞内钙离子浓度均高于相同水平硫酸锌处理组细胞, 这表明, 这两种锌源对细胞的影响不同, 但具体机制尚有待进一步研究。

3.4 锌源及锌水平对细胞凋亡的调节

锌作为体内辅助因子、辅助蛋白或蛋白结构成分, 在机体内执行着广泛的生物功能, 包括 DNA 合成、序列辨认、转录调节、细胞骨架、膜的完整性、细胞凋亡和细胞能量代谢过程。本次试验表明, 锌对地塞米松诱导的胸腺细胞凋亡的抑制作用具有明显的剂量效应, 在培养基中加锌 $1000\mu\text{mol/L}$ 时, 几乎完全抑制了地塞米松诱导的凋亡现象。有学者研究认为, 锌对细胞凋亡的影响关键并不在于补锌的量, 而主要取决于细胞内的 Zn^{2+} 浓度^[13]。

前文已提及细胞内、外 Ca^{2+} 的流动, 在启动胸腺细胞凋亡的过程中起重要作用, 但它并不是唯一的凋亡激活机制。锌调节细胞凋亡还可能参与蛋白激酶 C 信号系统起作用。PKC 信号系统是调节整个细胞凋亡负反馈的一个重要机制。PKC 可以激活离子通道, 使 G 蛋白磷酸化, 对 G 蛋白下游的生物效应产生负调节, 诱导细胞凋亡; 也可使 TF 磷酸化, 调控靶基因表达, 促进细胞增殖、分化。锌与 PKC 关系密切, PKC 磷脂结合区有 4 个锌结合位点, 能与锌形成特定的锌指结构。该结构能稳定 PKC 构象并指导 TF 磷酸化。锌离子内流可以直接提高 PKC 活性, 促进 TPA 与 PKC 结合, 并诱导 PKC 从胞浆内向胞膜转移, 促进细胞分裂^[14]。

凋亡抑制作用要求有较高浓度的 Zn^{2+} , 因此必须考虑细胞在高浓度 Zn^{2+} 环境条件中的耐受性。Fraker 等研究表明, 地塞米松诱导胸腺细胞 6h, 凋亡细胞比例为 61%, 诱导 16h 为 88%; 若同时加入 Zn^{2+} , 6h 凋亡细胞比例为 16%, 16h 为 95%。这表明 Zn^{2+} 6h 是凋亡抑制剂, 而在 16h 却是诱导剂。因此, 研究者认为 Zn^{2+} 可能不能长期保护细胞, 超过一定时间会成为凋亡诱导剂。本试验中, 添加地塞米松 $10^{-7}\mu\text{mol/L}$ 诱导胸腺细胞凋亡, 加不同水平的锌培养 16h 后对凋亡仍表现抑制作用。另有研究者认为, Zn-Met 相对毒性较小, 可以用来代替无机的硫酸锌, 但本实验中未能观测到两者毒性是否存在差异。这一方面可能是由于在不同研究者的试验中, 地塞米松以及锌的使用剂量存在着差异, 而另一方面使用的动物品系及细胞培养时间的长短等都可能导致试验结果出入。

本实验表明, ZnSO_4 和 Zn-Met 对地塞米松诱导的胸腺细胞凋亡均具有明显的抑制作用。添加水平为 $50\sim 500\mu\text{mol/L}$ 时, ZnSO_4 的抑制强度高于 Zn-Met。这表明, 这两种形式的锌补加形式对于细胞而言可能存在着内在的差别。有研究认为, 有机锌源在机体内的利用效率要高于无机锌源^[15]。但两者对动物细胞及机体的影响机制是否相同目前尚所知甚少。

4 结 论

添加硫酸锌与蛋氨酸锌对体外地塞米松诱导的小鼠胸腺凋亡均有调节作用。不同浓度的锌均能在一定程度上抑制凋亡的发生, 减少 DNA 片段化, 且这种抑制作用具有剂量效应。 $50\sim 100\mu\text{mol/L}$ 添加水平时, 蛋氨酸锌对细胞凋亡抑制作用低于硫酸锌。 $500\sim 1000\mu\text{mol/L}$ 时, 两者抑制作用相近。不同补加浓度时, 蛋氨酸锌处理细胞内钙离子浓度均高于硫酸锌处理。胞内 Cu、Zn-SOD 活性在凋亡过程中随锌添加水平上升而升高, 其抗氧化作用对锌抑制细胞凋亡可能起着一定的作用。锌抑制地塞米松体外诱导的胸腺细胞凋亡的机制可能涉及与细胞内、外 Ca^{2+} 流动及细胞内氧化还原状态的变化等生理生化过程。

参考文献:

- [1] Detmar Beyersmann, Hajo Haase. Functions of zinc in signaling, proliferation and differentiation of mammalian cells [J]. Bio Metals, 2001, 14: 331-341.
- [2] Teruyo Nakatani, Maki Tawaramoto, David Opere Kennedy, et al. Apoptosis induced by chelation of intracellular zinc is

- associated with depletion of cellular reduced glutathione level in rat hepatocytes[J]. *Chemico-Biological Interactions*, 2000, 125: 151-163.
- [3] J Cao, P R Henry, R Guo, et al. Chemical characteristics and relative bioavailability of supplemental organic zinc sources for poultry and ruminants[J]. *J Anim Sci*, 2000, 78: 2039-2054.
- [4] M T Kidd, M A Qureshi, P R Ferket, et al. turkey hen zinc source affects progeny immunity and disease resistance[J]. *J Appl Poultry Res*, 2000, (9): 414-423.
- [5] 卢丙仑, 冯志安, 刘宝林, 等. 人重组骨形成蛋白—2对骨髓成骨细胞增殖和碱性磷酸酶活性的影响[J]. *中国临床康复*, 2002, 6(24): 3662-3663.
- [6] 朱立平, 陈学清. 免疫学常用实验方法[M]. 人民军医出版社, 2001.
- [7] Song Liangnian. Relationship between the induction of heat shock proteins and the decreased in glucocorticoid receptor during heat shock response in human osteosarcoma cells[J]. *Science In China (Series B)*, 1995, 38(12): 1473-1481.
- [8] Seon Joo Yoon, Yung Ho Koh, Robert A Floyd, et al. Copper, zinc superoxide dismutase enhances DNA damage and mutagenicity induced by cystein/iron[J]. *Mutation Research*, 2000, 448: 97-104.
- [9] 蒋与刚, 郭长江, 韦京豫, 等. 锌对缺血/再灌注肝脏自由基含量和细胞凋亡的影响[J]. *中国应用生理学杂志*, 2001, 17(3): 244-246.
- [10] ILan Y, Roy Chowdhury N, Prakash R, et al. Massive repopulation of rat liver by transplantation of hepatocytes into specific lobes of liver and ligation of portal vein branches to other lobe[J]. *Transplantation*, 1997, 64(1): 8-13.
- [11] Greenlund L J S, Deck werth T L, Johnson, E M Jr. Superoxide dismutase delays neuronat apoptosis: a role reactive oxygen spencies in programmed neuronal death[J]. *Neuron*, 1995, 14(2): 303-315.
- [12] McCabe M J J R, Jiang S A. Relation of intracellular zinc triggers apoptosis in mature thymocytes[J]. *Laboratory Investigation*, 1993, 69(1): 101.
- [13] 王枫. 微量元素锌对细胞凋亡的影响[J]. *国外医学卫生学分册*, 1998, 25(4): 214-217.
- [14] 徐世侠, 马波, 叶广俊. 硫酸锌对体外培养胸腺细胞凋亡的影响[J]. *中国儿童保健杂志*, 1999, 7(2): 122-123.
- [15] 杨月欣, 刘建宇, 崔红梅. 四种锌化合物的生物利用率的比较[J]. *营养学报*, 1998, 20(2): 157-162.

信息

墨西哥用西红柿香蕉研制出口服疫苗

日前, 墨西哥科研人员通过培植转基因植物, 研制出一些新型口服疫苗。这些疫苗将来有望用来预防胃病、乙肝、霍乱和疟疾等疾病, 并可能对预防癌症也有一定的效果。

科研人员把不同疾病的致病基因植入西红柿或香蕉的植物胚胎中, 并让胚胎在试管里生长至5厘米, 然后移植到肥沃的土壤中, 以传统方法培育。成熟的果实含有抗原蛋白, 将这种有效成分提取出来就可制成针对不同疾病的口服疫苗。

新型疫苗中的抗原蛋白进入人体后, 能模拟病毒侵入人体的过程, 激活免疫系统, 使人体内产生对有关疾病的抗体, 从而获得免疫功能。

与传统疫苗相比, 这种新型疫苗的优越性在于无需冷藏和注射, 从而使药价降低50%左右。同时, 这种由植物培育出的疫苗毒性较弱, 不会对人体产生危害。

研究中心目前已在试验的基础上开始较大规模培育已植入乙肝和霍乱致病基因的转基因西红柿。与香蕉相比, 西红柿培植效果更好。西红柿培植期相对较短, 仅需6个月左右, 易于广泛培植, 同时西红柿比香蕉更容易产生功效成分抗原蛋白。