科学通报 2009 年 第 54 卷 第 23 期: 3702 ~ 3709
论 文 www.scichina.com csb.scichina.com
《中国科学》杂志社
SCIENCE IN CHINA PRESS

Ni^{2+}胁迫对斜纹夜蛾幼虫血细胞凋亡的影响

孙虹霞[①②], 夏嫱[③], 唐文成[②], 周强[②], 张古忍[②*], 党志[①]

① 华南理工大学环境科学与工程学院/工业聚集区污染控制与生态修复教育部重点实验室, 广州 510006;
② 中山大学有害生物控制与资源利用国家重点实验室/昆虫学研究所, 广州 510275;
③ 遵义医学院珠海校区免疫学与病原生物学教研室, 珠海 519041
* 联系人, E-mail: zhanggr@mail.sysu.edu.cn

2009-04-15 收稿, 2009-08-11 接受
国家重点基础研究发展计划(编号: 2006CB102001)、国家自然科学基金(批准号: 30771458), 教育部博士点专项基金(批准号: 20070558029)、广东省基础研究团队项目(批准号: E039254)、珠海市科技计划项目(批准号: PC20061049)和遵义医学院博士启动基金资助

摘要 通过在人工饲料中添加不同浓度的Ni^{2+}, 采用流式细胞技术和激光扫描共聚焦显微镜, 分析了Ni^{2+}胁迫对连续 3 个世代植食性昆虫斜纹夜蛾 *Spodoptera litura* Fabriciurs 幼虫血细胞凋亡的影响. 结果表明, 在Ni^{2+}胁迫下, 第 1 代斜纹夜蛾幼虫血细胞的凋亡率随饲料中Ni^{2+}浓度的增加而增加, 最高Ni^{2+}浓度(40 mg/kg)胁迫下的血细胞凋亡率显著高于其他处理中的凋亡率. 第 2 代, 受 5 mg/kg Ni^{2+}胁迫幼虫的血细胞凋亡率最高, 高浓度Ni^{2+}胁迫下的血细胞凋亡率呈下降趋势. 第 3 代斜纹夜蛾幼虫血细胞的凋亡规律类似于第 2 代, 但高浓度胁迫下的血细胞凋亡率都受到显著抑制. 因此, Ni^{2+}胁迫对斜纹夜蛾幼虫血细胞凋亡的影响与饲料中Ni^{2+}的浓度和胁迫的世代数相关.

关键词
Ni^{2+}
斜纹夜蛾
血细胞
凋亡

细胞凋亡是细胞受到内、外因子刺激后发生的由自身基因调控的生理性死亡行为, 是一个主动和高度有序的生命活动过程, 可发生于胚胎发育、组织重建、免疫调节以及肿瘤退化等各个时期, 其作用在于清除体内多余的和损伤的细胞[1,2].

许多物理化学因素, 如重金属、电离辐射、高温、生长因子缺乏和糖皮质激素等, 均能诱导细胞发生凋亡, 其中重金属是认识较早的典型诱导细胞凋亡因子之一[3,4]. 适量的重金属对生物体的生长发育具有特殊的调节作用, 但过量的重金属可在生物体中积累, 并产生免疫毒性和免疫抑制现象, 从而降低甚至破坏机体的免疫抗病能力; 而细胞凋亡则能在一定程度上调节机体的免疫应激反应, 抵抗病毒感染和抑制肿瘤发生[5]. 研究表明, Zn, Cu, Cd, Cr, Pb, Se, Hg 等多种金属都可诱导或影响免疫细胞, 如 T 和 B 淋巴细胞、双壳类血细胞的凋亡, 其中 Zn 和 Cd 具有诱导和拮抗双重效应[6~8].

由于镍在精细化工业、电镀工业、贵金属冶炼工业以及医学研究中应用的广泛性, 因此可对工业区附近的土壤和地下水源造成污染, 并最终威胁人类的健康. 同时, 过量的镍还可通过食物链的传递以及呼吸作用进入生物体内, 对机体遗传物质 DNA 造成各种形式的损害, 具有明显的致突变和致癌作用. 研究表明, Ni^{2+}可诱导小鼠肾脏 NRK-52E 细胞[9]以及免疫 T 细胞杂交瘤细胞[10]的凋亡; 但Ni^{2+}在诱发小鼠 BALB/c-3T3 细胞恶性转化过程中则涉及细胞凋亡的抑制作用[11], 当Ni^{2+}浓度低于 500 μmol/L 时, 小鼠肝脏单层培养细胞都未见显著的细胞形态变化, 但在此浓度胁迫下, 细胞几乎全部枯死, 而少见凋亡细胞的存在[12].

重金属对昆虫细胞凋亡的影响仅在昆虫果蝇 *Drosophila*、家蚕 *Bombyx mori* (L.)、秋黏虫 *Spodoptera*

引用格式: 孙虹霞, 夏嫱, 唐文成, 等. Ni^{2+}胁迫对斜纹夜蛾幼虫血细胞凋亡的影响. 科学通报, 2009, 54: 3702~3709
Sun H X, Xia Q, Tang W C, et al. Effects of dietary nickel on apoptosis of hemocytes of *Spodoptera litura* (Fabricius) larvae. Chinese Sci Bull, doi: 10.1007/s11434-009-0726-x

frugiperda (Smith)和斜纹夜蛾 *Spodoptera litura* Fabricius (鳞翅目: 夜蛾科)中有所报道, 且主要集中在 Cd, Pb[13,14]和 Zn[15]等, 而 Ni^{2+}对昆虫细胞凋亡的影响还未见报道.

斜纹夜蛾是重要的植食性昆虫, 对多种作物尤其是蔬菜构成严重威胁. 前期研究表明, Ni^{2+}可在斜纹夜蛾 6 龄末幼虫血淋巴中积累, 且血淋巴中的 Ni^{2+}浓度随饲料中 Ni^{2+}浓度的增加而增加, 并存在显著的浓度-反应关系[16]. 鉴于此, 本文以斜纹夜蛾 6 龄幼虫为材料, 通过流式细胞仪和激光扫描共聚焦显微镜检测了 Ni^{2+}胁迫对连续 3 个世代 6 龄幼虫血细胞凋亡的影响, 为进一步了解 Ni^{2+}胁迫对细胞凋亡的影响和进一步分析细胞凋亡的机制, 以及揭示农田重金属污染对食物链不同环节可能产生的潜在影响提供一定的理论依据.

1 材料与方法

(ⅰ) 斜纹夜蛾幼虫的饲养与 Ni^{2+}的胁迫处理. 斜纹夜蛾系中山大学昆虫学研究所养虫室人工饲料[17]饲养. 在人工饲料中添加不同浓度的 Ni^{2+}, 并以此连续 3 代饲喂斜纹夜蛾幼虫. 以第 1 代幼虫化蛹后, 羽化成虫所产的卵作为第 2 代虫源, 第 3 代依此类推, 每天更换饲料并连续胁迫 3 代. 根据 Garrido 等人[18]的报道, 当蔬菜中的 Ni^{2+}含量达到 10~30 mg/kg 时, 就会对蔬菜产生毒害作用. 鉴于此, 将 $NiCl_2$ 添加在人工饲料中, 使 Ni^{2+}终浓度分别为 1, 5, 10, 20 和 40 mg/kg. 以不添加 $NiCl_2$ 饲料饲养的斜纹夜蛾为对照. 所有的昆虫均饲养在(26±1)℃, 16 L∶8 D, RH (75±5)%条件下.

(ⅱ) 仪器与试剂. FAC Svantage SE 型流式细胞仪为 Becton Dickinson (BD)公司生产. TCS-SP2 激光扫描共聚焦显微镜(Laser Scanning Confocal Microscope, LSCM, 激发波长 514/543/633 nm)购自 Leica 公司. 凋亡细胞检测试剂盒购自 ClonTech 公司.

(ⅲ) 幼虫血细胞的凋亡. 血细胞的凋亡检测根据试剂盒中说明进行. 用昆虫针刺连续 3 代 6 龄末幼虫的第 3 腹足取血淋巴, 将血淋巴滴在 Parafilm 上, 每个处理 3 个重复(每个重复为 15 头幼虫). 每个重复各取 30 μL 血淋巴, 分别加在含有 50 μL PBS 的 2 mL 离心管(EP)中, 离心取血细胞, 并将约 1×10^5~1×10^6 个细胞重悬于结合缓冲液中. 在血细胞中分别加入 5 μL Annexin V 和 10 μL PI, 室温下反应 10 min, 然后加 PBS 至 500 μL, 用 300 目滤膜过滤到 FACS 管中待测. 以正常未处理未染色细胞为空白对照, 以正常未处理染色细胞为对照, 对染色后的细胞采用流式细胞仪进行分析. 每个样本检测 10000 个细胞, 以细胞凋亡的百分率为观测指标. 同时, 染色后的第 3 代斜纹夜蛾幼虫血细胞置于激光扫描共聚焦显微镜下观察, 以了解细胞染色情况.

(ⅳ) 数据分析. 血细胞凋亡率经 arcsin 转换后, 采用 SAS 软件包[19]进行方差分析, 并进行多重比较, 以阐明对照与处理间以及各个处理间差异的显著性.

2 结果和分析

2.1 Ni^{2+}胁迫对 6 龄幼虫血细胞凋亡的影响

正常与各处理幼虫血细胞的流式分析结果见图 1~3, 与之对应的各处理幼虫血细胞的凋亡率如表 1 所示. 结果表明, 随 Ni^{2+}胁迫浓度的增加, 第 1 代 6 龄幼虫血细胞的凋亡率逐渐增高, 且在 10, 20, 40 mg/kg Ni^{2+}处理下的细胞凋亡率存在显著差异, 并显著高于 1 和 5 mg/kg Ni^{2+}处理下的凋亡率. 至第 2 代, 血细胞凋亡率在 1 和 5 mg/kg Ni^{2+}处理下随胁迫浓度的增加而增加(分别为 8.14%和 62.19%), 凋亡率在 Ni^{2+}浓度为 5 mg/kg 处理中达到最高值; 但在 10, 20, 40 mg/kg Ni^{2+}处理中, 细胞凋亡率呈下降趋势(分别为 4.25%, 4.00%和 3.85%), 且显著低于低浓度 Ni^{2+}处理下的凋亡率, 但与对照之间未见显著差异. 第 3 代幼虫的凋亡率也有类似趋势, 但低浓度处理中的细胞凋亡率和第 2 代相比有所下降, 且在高浓度 Ni^{2+}处理下的细胞凋亡率显著低于对照和低浓度 Ni^{2+}处理. 因此, 低浓度 Ni^{2+}的胁迫对斜纹夜蛾幼虫血细胞

表 1 连续 3 代幼虫取食含不同 Ni^{2+}浓度的人工饲料的斜纹夜蛾 6 龄幼虫血细胞凋亡率 a)

饲料中 Ni^{2+}浓度 (mg/kg)	第 1 代	第 2 代	第 3 代
0	5.94±0.158E	5.38±0.133C	5.41±0.032C
1	6.40±0.259DE	8.14±0.566B	5.91±0.025B
5	6.91±0.520D	62.09±0.672A	6.24±0.057A
10	7.63±0.289C	4.13±0.137C	3.98±0.056D
20	8.22±0.598B	4.04±0.056C	3.00±0.074E
40	26.72±0.407A	3.85±0.512C	2.41±0.017F

a) 同一列中不同的大写字母表示同一世代 6 龄幼虫血细胞的凋亡率在不同处理间存在显著差异(P<0.05)

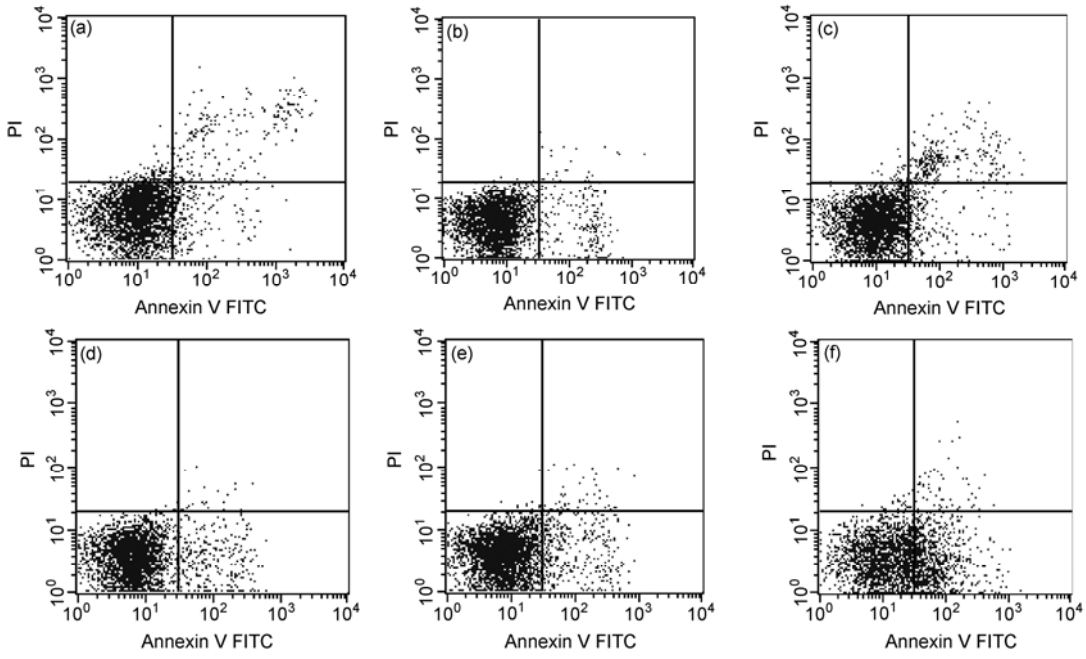

图 1 取食含不同浓度 Ni^{2+}饲料的第 1 代斜纹夜蛾 6 龄幼虫血细胞凋亡的流式细胞仪分析

(a) 对照; (b) 1 mg/kg; (c) 5 mg/kg; (d) 10 mg/kg; (e) 20 mg/kg; (f) 40 mg/kg. *X* 轴为 Annexin V 染色细胞数; *Y* 轴为 PI 染色细胞数. 左上格为机械损伤细胞数; 右上格为死亡细胞数; 左下格为正常细胞数; 右下格为凋亡细胞数. 图 2, 3 同

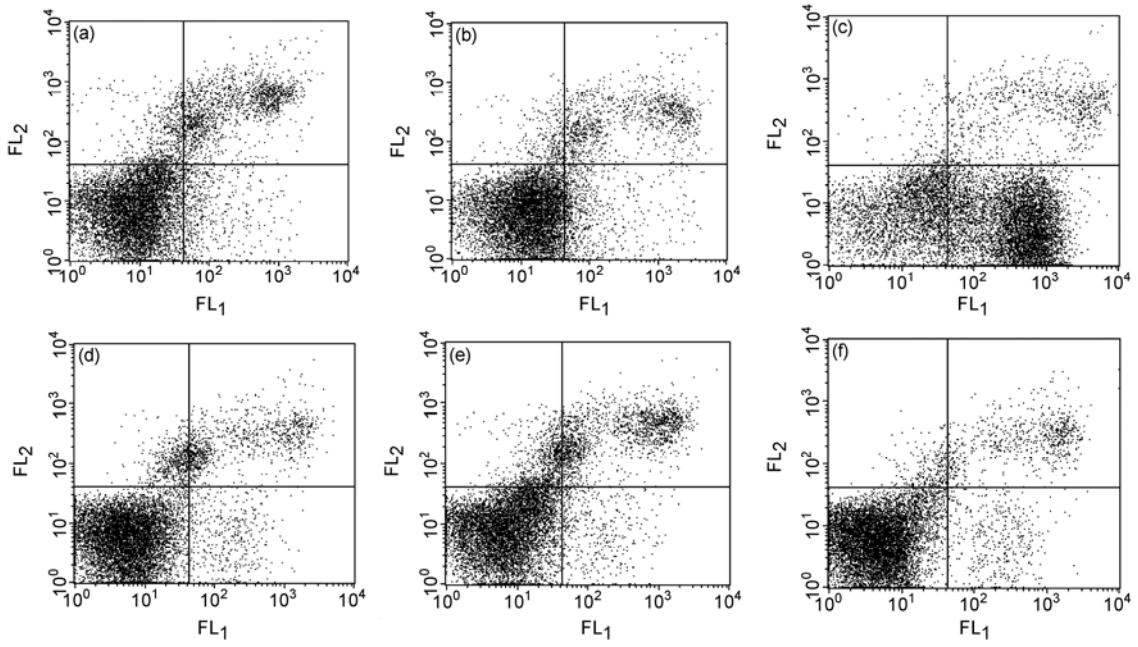

图 2 取食含不同浓度 Ni^{2+}饲料的第二代斜纹夜蛾 6 龄幼虫血细胞凋亡的流式细胞仪分析

FL_1和 FL_2分别代表不同的荧光通道, 用于区分 AnnexinV 和 PI 荧光所染色的细胞

的凋亡具有一定的诱导作用, 而高浓度胁迫对斜纹夜蛾幼虫血细胞的凋亡具有一定的抑制作用.

2.2 激光扫描共聚焦显微镜的观察

图 4~9 为受 Ni^{2+}胁迫的第 3 代幼虫血细胞经

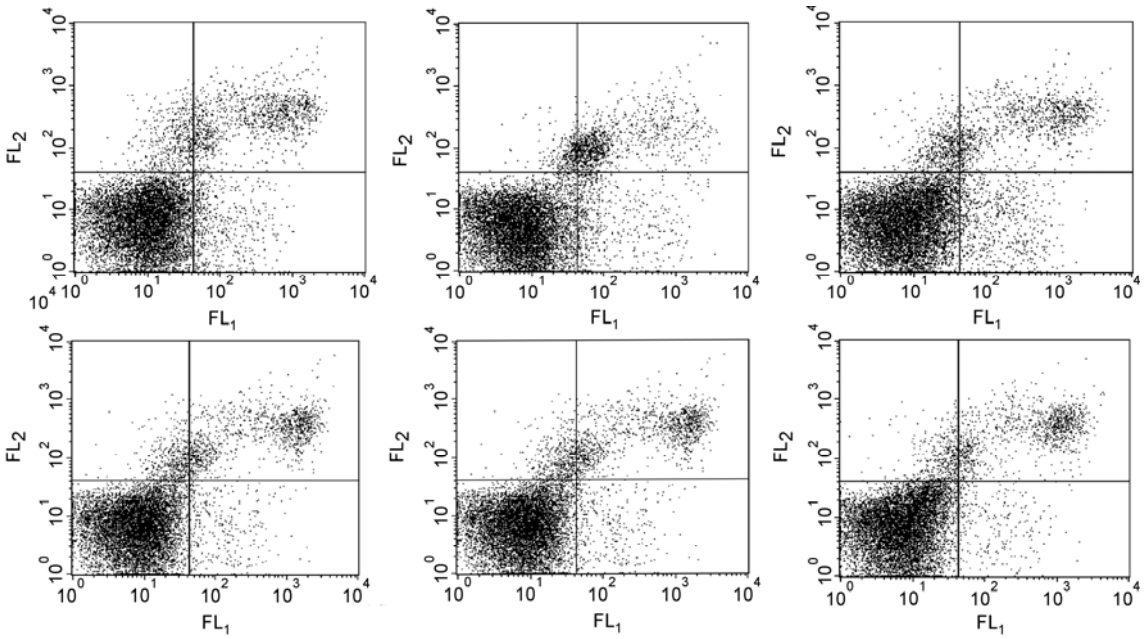

图 3　取食含不同浓度 Ni^{2+}饲料的第三代斜纹夜蛾 6 龄幼虫血细胞凋亡的流式细胞仪分析

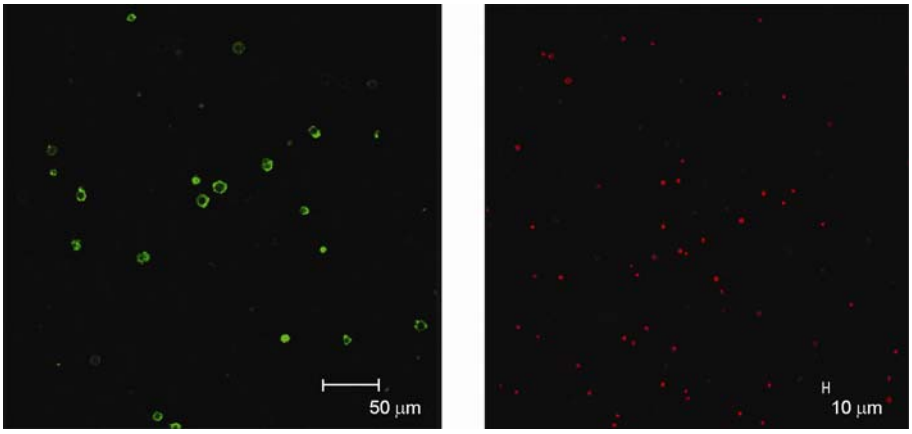

图 4　激光扫描共聚焦显微镜下 6 龄幼虫血细胞的 Annexin V 和 PI 单染图

(a) Annexin V 单染效果; (b) PI 单染效果

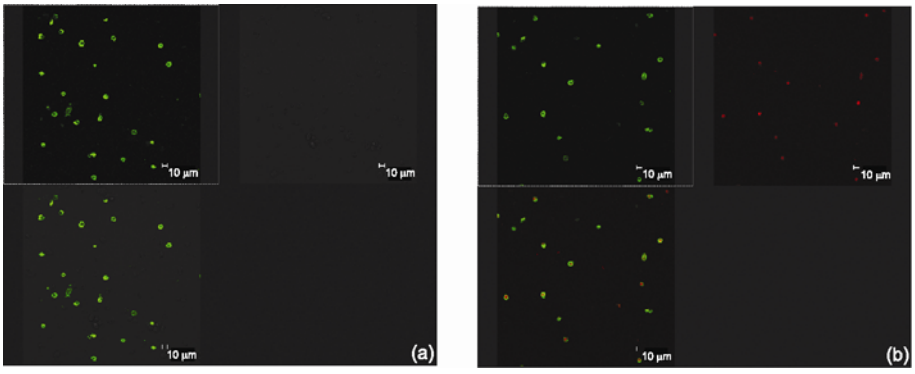

图 5　受 1 mg/kg Ni^{2+}胁迫的 6 龄幼虫血细胞凋亡的激光扫描共聚焦显微镜图

(a)和(b)分别代表不同视野下的细胞染色图

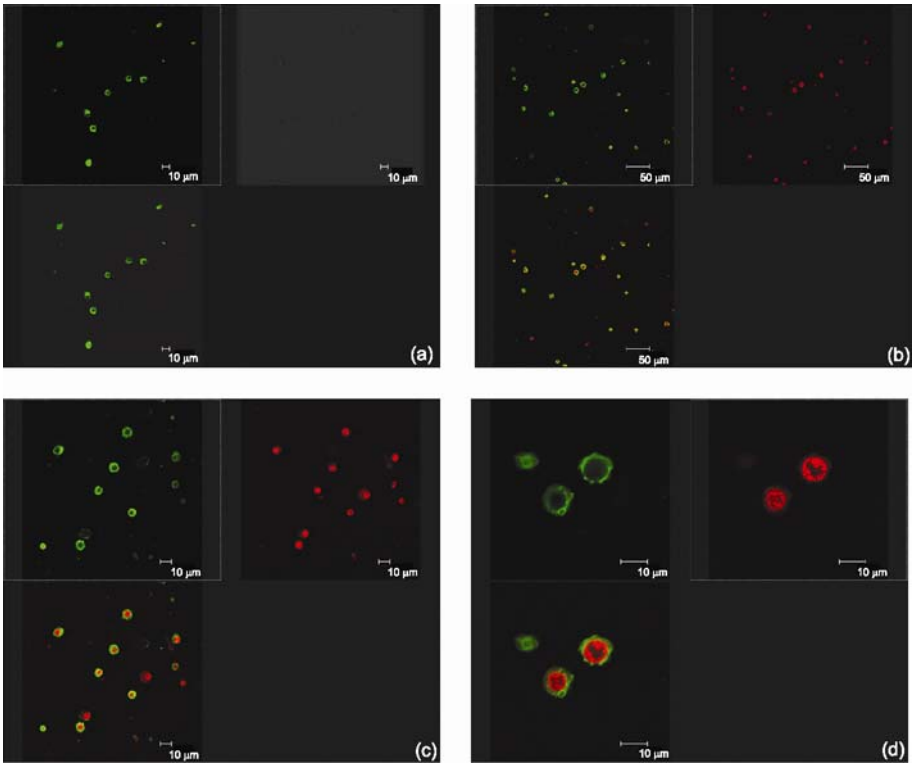

图 6 受 5 mg/kg Ni^{2+}胁迫的 6 龄幼虫血细胞凋亡的激光扫描共聚焦显微镜图

(a)~(d)分别代表不同视野下的细胞染色图

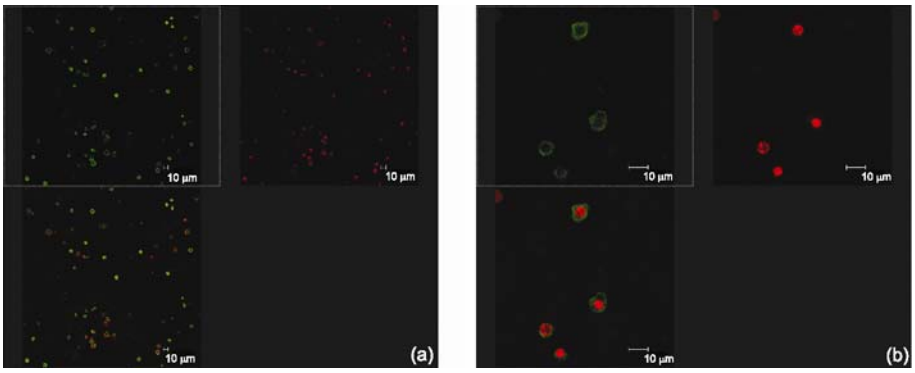

图 7 受 10 mg/kg Ni^{2+}胁迫的 6 龄幼虫血细胞凋亡的激光扫描共聚焦显微镜图

(a)和(b)分别代表不同视野下的细胞染色图

Annexin V 和 PI 染色后, 在激光扫描共聚集显微镜下的观察结果. 其中绿色荧光为 Annexin V 的染色结果, 红色荧光为 PI 的染色结果.

结果表明, 受 1 mg/kg Ni^{2+}胁迫幼虫的血细胞均表现为 Annexin V 高染(图 5(a)), 少量细胞表现为 PI 低染的形态(图 5(b)), 呈现出细胞凋亡的显著特征. 受 5 mg/kg Ni^{2+}胁迫幼虫的血细胞也存在类似的染色体征(图 6(a)), 但在显微镜下也观察到多数细胞呈现出 AnnexinV 和 PI 高染的形态(图 4(b)~(d)), 出现此类结果的一种原因是细胞的枯死, 另一种情况是细胞状态为凋亡晚期. 在图中可以观察到细胞形态还保持得较为完整, 细胞核膜边缘呈不规则状, 故其可能为

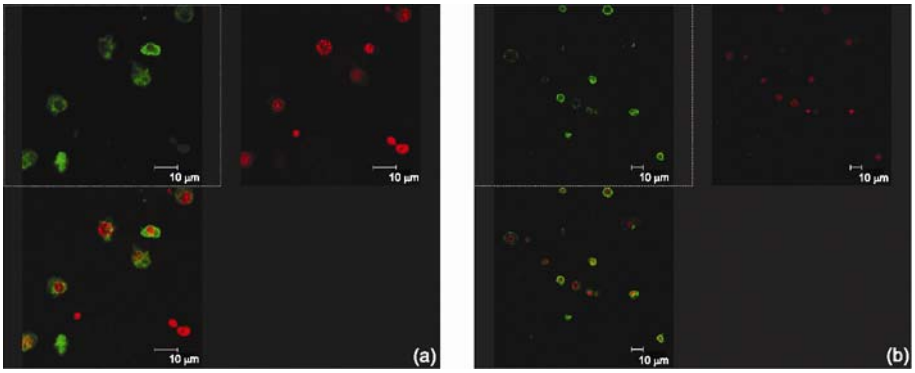

图 8　受 20 mg/kg Ni^{2+}胁迫的 6 龄幼虫血细胞凋亡的激光扫描共聚焦显微镜图

(a)和(b)分别代表不同视野下的细胞染色图

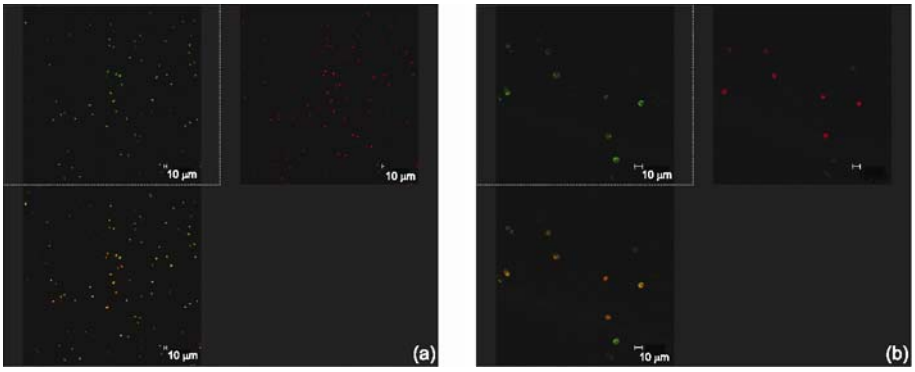

图 9　受 40 mg/kg Ni^{2+}胁迫的 6 龄幼虫血细胞凋亡的激光扫描共聚焦显微镜图

(a)和(b)分别代表不同视野下的细胞染色图

凋亡晚期的细胞. 受 10~40 mg/kg Ni^{2+}胁迫的幼虫血细胞也表现为 Annexin V 和 PI 高染的状态(图 7~9), 但细胞形态多不完整, 细胞被 Annexin V 所染成的绿色部分多偏向细胞一侧, 细胞表现为枯死状态.

3 讨论

过量 Ni^{2+}的胁迫能影响斜纹夜蛾 6 龄幼虫血细胞的凋亡, 并与 Ni^{2+}的浓度和世代数有一定关联. 只有第 1 代幼虫血细胞的凋亡率随饲料中 Ni^{2+}浓度的增加而增加. Shiao 等人[20]首先报道了 Ni^{2+}可诱导中国仓鼠卵巢细胞(CHO)的凋亡, 随后 Kim 等人[10]的研究表明, 此浓度范围的 Ni^{2+}(160~640 μmol/L)也可诱导 T 细胞杂交瘤细胞的凋亡; 但第 1 代幼虫血淋巴中检测到的 Ni^{2+}浓度(1.533~17.667 mg/L)并不在此范围内, 这可能是种属特异性的原因, 同时, 体内、体外细胞防御反应的异同也可能是此种差异的原因之一.

第 2 和第 3 代, 1 和 5 mg/kg Ni^{2+} 处理下血细胞的凋亡率又有所增加, 且 5 mg/kg Ni^{2+}处理中的细胞凋亡率达到最高值, 并未出现如第 1 代所示的浓度-反应关系. 随胁迫时间的延长, 第 3 代血细胞凋亡的规律虽类似于第 2 代, 但细胞凋亡率都有所下降, 且高浓度 Ni^{2+}处理下的细胞凋亡率都存在显著差异. 然而, 高浓度 Zn^{2+} (1000 mg/kg)可诱导第 3 代斜纹夜蛾幼虫血细胞的凋亡[15], 这可能与金属特性有一定的关联.

研究表明, Ni^{2+}可直接与细胞膜外表面的 Ca^{2+}感受位点相互作用而对细胞产生毒害作用[21]; 当 Ni^{2+}浓度达到一定范围时, 则可通过与 Mg^{2+}竞争并经由 Mg^{2+}转移系统进入细胞中而对其结构和功能产生影响[22]. 受 5 mg/kg Ni^{2+}胁迫的第 2 代幼虫血淋巴中的 Ni^{2+}浓度则可能处于此阈值交界处, 超过此范围的 Ni^{2+}浓度则可通过抑制细胞凋亡对细胞造成危害, 并影响免疫相关功能. 然而, 细胞凋亡是一个由复杂机制调控的过程, Ni^{2+}对血细胞凋亡的影响是否与幼虫体内其他信号途径存在交互作用还有待于进一步的研究.

此外, 昆虫对过量重金属的胁迫存在特定的解毒机制, 如将过量的重金属以金属颗粒形式储存在

具消化、存储或分泌功能的器官中，将其转运至溶酶体中解毒；同时，金属结合蛋白和抗氧化酶也起重要的作用；但长期的胁迫能对部分昆虫的遗传和发育造成严重的影响，如畸形、蜕皮抑制等[23,24]. 前期研究表明，第 3 代斜纹夜蛾幼虫的免疫功能也受到了影响，Ni^{2+}的长期胁迫对其产生了一定的免疫毒性. 由于细胞凋亡是昆虫抗病毒感染的重要机制，因此，高浓度 Ni^{2+}的长期胁迫对细胞凋亡的抑制也可能使斜纹夜蛾幼虫对外界环境的抵抗力降低，并增加了遗传突变的几率.

第 3 代 6 龄幼虫血细胞的共聚焦扫描电子显微镜的观察结果也表明，低浓度 Ni^{2+}胁迫细胞的染色情况和结构变化也呈细胞凋亡特征；但受高浓度 Ni^{2+}胁迫的细胞呈枯死特性，而流式细胞仪则未检测到类似结果，制样过程的时间间隔可能是此类差异的原因之一.

Ni^{2+}胁迫可诱导和抑制血细胞的凋亡，但对其具体机制还知之甚少. 在哺乳动物中，Ni^{2+}诱导的细胞凋亡伴随着 FasL 蛋白表达量的增加以及 caspase-3 活性的激活[5,10]. 同时，Ni^{2+}诱导产生的大量 ROS 在细胞凋亡过程中也起重要作用，其可激活同时具促细胞凋亡和抗细胞凋亡特性的转录因子 NF-κB，并可减少自由基清除剂的产生[25~30]. 但 Ni^{2+}在诱导昆虫细胞凋亡过程中是否存在类似的机制还有待进一步研究. 此外，由于体内生化环境的复杂性，Ni^{2+}对细胞凋亡的影响还需在体外条件下进行论证.

参考文献

1 Salnikow K, Zhitkovich A. Genetic and epigenetic mechanisms in metal carcinogenesis and cocarcinogenesis: Nickel, arsenic and chromium. Chem Res Toxicol, 2007, 21: 28—44[doi]

2 Romero D, Hernández-García A, Tagliati C A, et al. Cadmium- and lead-induced apoptosis in mallard erythrocytes (*Anas platyrhynchos*). Ecotoxicol Environ Saf, 2009, 72: 37—44[doi]

3 Rana S V S. Metal and apoptosis: recent development. J Trace Ele Med Biol, 2008, 22: 262—284[doi]

4 刘欣梅，项黎新，邵健忠，等. 重金属诱导细胞凋亡的分子机制. 细胞生物学杂志, 2004, 26: 235—240

5 Pulido M D, Parrish A R. Metal-induced apoptosis: Mechanisms. Muat Res, 2003, 533: 227—241

6 Chatterjee S, Kundu S, Bhattacharyya A. Mechanism of cadmium induced apoptosis in immunocyte. Toxicol Lett, 2008, 177: 83—89[doi]

7 Au A, Ha J, Hernandez M, et al. Nickel and vanadium metal ions induce apoptosis of T-lymphocyte Jurkat cells. J Biomed Mater Res A, 2006, 79: 512—21

8 Kim S H, Sharma R P. Cytotoxicity of inorganic mercury in murine T and B lymphoma cell lines: Involvement of reactive oxygen species, Ca^{2+} homeostasis and cytokine gene expression. Toxicol *In Vitro*, 2003, 17: 385—395[doi]

9 Lee S H, Chio J G, Cho M H. Apoptosis, bcl2 expression, and cell cycle analyses in nickel (Ⅱ)-treated normal rate kidney cells. J Korean Med Sci, 2001, 16: 165—168

10 Kim K, Lee Y R, Seo Y R, et al. Nickel (Ⅱ)-induced apoptosis in murine T cell hydridoma cells is associated with increased fas ligand expression. Toxicol Appl Pharmacol, 2002, 185: 41—47[doi]

11 王敏，吴中亮，陈家堃，等. 镍化合物诱发细胞恶变过程中细胞凋亡的变化. 卫生毒理学杂志, 2003, 17: 27—30

12 Gunaratnam M, Grant M H. Damage to F-actin and cell death induced by chromium Ⅵ and nickel in primary monolayer cultures of rat hepatocytes. Toxicol *In Vitro*, 2004, 18: 245—253[doi]

13 朱玉芳，吴康，崔勇华，等. 镉铅对家蚕茧质及血细胞 DNA 损伤的影响. 农业环境保护, 2002, 21: 502—504

14 朱玉芳，朱江. $CdCl_2$ 诱导家蚕细胞(BmN)凋亡的研究. 蚕业科学, 2003, 29: 433—435

15 夏嫱，孙虹霞，胡新军，等. 重金属 Zn^{2+}胁迫诱导斜纹夜蛾幼虫血细胞凋亡. 科学通报, 2005, 50: 2613—2616

16 孙虹霞，夏嫱，周强，等. 斜纹夜蛾幼虫对食物中重金属 Ni^{2+}的积累与排泄. 昆虫学报, 2008, 51: 569—574

17 陈其津，李广宏，庞义. 饲养 5 种夜蛾科昆虫的一种简易人工饲料. 昆虫知识, 2000, 37: 325—327

18 Garrido S, Campo G M C, Esteller M V, et al. Heavy metals in soil treated with sewage sludge composting, their effects on yield and uptake of broad bean seeds (*Vicia faba* L.). Water Air Soil Pollut, 2005, 166: 303—319[doi]

19 SAS Institute Inc. SAS/STAT User's Guider. Ver 6, 4th ed. Cary, NC: SAS Institute Inc, 1989. Vol 1 and 2

20 Shiao Y H, Lee S H, Kasprzak K S. Cell cycyl arrest, apoptosis and p53 expression in nickel (Ⅱ) acetate-treated Chinese hamster ovary

cells. Carcinogenesis, 1998, 19: 1203—1207[doi]
21 Salnikow K, Zhou D, Wang S, et al. Treatment of human lung cells with calcium channel blocker nickel chloride resulted in elevation of intracellular calcium and expression of a novle gene. Toxicologist, 1998, 43: 320
22 Costa M. Chromium and nickel. In: Zalups R K, Koropatnick J, eds. Molecular Biology and Toxicology of Metals. New York: Taylor and Francis, 2000. 113—128
23 孙虹霞, 周强, 唐文成, 等. 食物中 Ni^{2+}胁迫对斜纹夜蛾幼虫中肠细胞解毒酶的影响. 科学通报, 2008, 53: 2195—2199
24 孙虹霞, 刘颖, 张古忍. 重金属胁迫对昆虫生长发育的影响. 昆虫学报. 2007, 50: 178—185
25 Doreswamy K, Shrilatha B, Rajesh K T, et al. Nickel induced oxidative stress in testis of mice: evidence of DNA damage and genotoxic effects. J Androl, 2004, 25: 996—1003
26 Trombetta D, Mondello M R, Cimino F, et al. Toxic effects of nickel in an *in vitro* model of human oral epithelium.Toxicol Lett, 2005, 159: 219—225[doi]
27 Dally H, Hartwig A. Induction and repair inhibition of oxidative DNA damage by nickel (Ⅱ) and cadmium (Ⅱ) in mammalian cells. Carcinogenesis, 1997, 18: 1021—1026[doi]
28 Lynn S, Yew F H, Chen K S, et al. Reative oxygen species are involved in nickel inhibition of DNA rapair. Environ Mol Mutagen, 1997, 29: 208—216[doi]
29 M'Bemba-Meka P, Lemieux N, Chakrabarti S K. Role of oxidative stress, mitochondrial membrane potential and calcium homeostasis in human lymphocyte death induced by nickel carbonate hydroxide *in vitro*. Arch Toxicol, 2006, 80: 405—420[doi]
30 Ding J, Zhang X, Li J, et al. Nickel compounds render anti-apoptotic effect to human bronchial epithelial Beas-2B cells by induction of cyclooxygenase-2 through an IKKbeta/p65-dependent and IKKalpha- and p50-independent pathway. J Biol Chem, 2006, 281: 39022—39032[doi]