

综述

细胞凋亡相关的组合生物标志物的分子基础 及其在环境毒理学中的意义

徐立红

(浙江大学医学院生物化学与分子生物学教研室, 杭州 310031)

MOLECULAR BASIS OF APOPTOSIS-RELATED INTEGRATED BIOMARKERS AND ITS SIGNIFICANCE IN ENVIRONMENTAL TOXICOLOGY

XU Li-Hong

(Department of Biochemistry and Molecular Biology, School of Medicine, Zhejiang University, Hangzhou 310031)

关键词: 污染物; 细胞凋亡; 组合生物标志物

Key words: pollutants; Apoptosis; Integrated biomarker

中图分类号: S18 文献标识码: A 文章编号: 1000-3207(2005)03-0329-07

生物标志物(Biomarker)可以反映机体接触外来化学物后出现的细胞、生物化学或分子生物学改变,或个体对外来因素产生反应的易感性,因此,生物标志物作为指标具有早期预警作用,在生态毒理学、环境毒理学及流行病学研究中都受到极大的重视^[1-6]。生物标志物被用于污染物影响的早期检测时具有极大优势,它们的建立依赖于对污染物致毒机理的揭示,随着对污染物作用机理研究的深入,建立并采用的生物标志物越来越多,污染物的多样性及生物结构的复杂性也决定了生物标志物种类繁多、性质各异。虽然生物标志物的应用已经受到广泛关注并且显示出极大的优越性,然而仍有很大的局限性,当生物标志物用于污染物的危害性预测时,如何将污染物引起生物标志物的改变与具有的危害相关联是尤为受到关注的问题。

将单项的指标按一定规律组合从而得到组合指标,用这些静态的参数组合成为反映生物动态过程的系列化指标,将它们所反映的污染物的作用与可能引起的疾病相关联,根据这种设想,本文提出组合生物标志物(Integrated biomarker)的概念:用特定的细胞学过程将多项生物标志物组合,而通过这个过程作为纽带,将生物标志物与生物学效应相关联,使生物标志物更准确、客观、全面地预测污染物可能产生的最终效应或可能对人引起的疾病,这样将可以最大限度体现生

物标志物的预测价值。建立与细胞凋亡相关的组合生物标志物的分子基础及用微囊藻毒素作为模式物进行的探索性研究是本文重点阐述的内容。

1 细胞凋亡的分子调节机制

细胞增殖、分化、死亡是细胞经历的基本过程。细胞凋亡是多细胞有机体为调控机体发育和维护内环境稳定而由基因控制的细胞主动死亡过程,是细胞内在的决定动物发育和组织平衡的一个重要机制,是维持生物正常生理过程和功能活动所必须的,细胞凋亡是多细胞生物生命活动过程中不可缺少的组成内容,贯穿于全部生命周期中,无论是低等还是高等动物都是如此。

1.1 参与凋亡调控的基因 细胞的死亡像生存一样受基因控制,凋亡是基因活动引起级联反应的结果,有多种基因参与凋亡过程的起始和执行。目前研究较为深入和公认的是 Bcl-2 基因与凋亡的关系^[7]。Bcl-2 基因的表达是凋亡的重要调节因素,而且有些其他基因对凋亡的影响正是通过对 Bcl-2 基因表达的调控来实现的,哺乳动物 Bcl-2 家族分为抗凋亡和促凋亡两类,分别以 Bcl-2 和 Bax 为主要代表,二者蛋白产物水平的高低与凋亡调控直接相关,Bax 增高,促进凋亡,Bcl-2 增高,抑制凋亡。Bcl-2 与 Bax 对凋亡的调节作用主

收稿日期:2004-11-08;修订日期:2004-12-15

基金项目:国家自然科学基金重点项目(20137010)资助

作者简介:徐立红(1960—),女,河南镇平;博士,教授;博导,主要从事环境毒理学和生化毒理学研究

要表现在对凋亡执行过程的调节。 $p53$ 是一个重要的抑癌基因,在细胞凋亡调控中也具有十分重要的作用^[8]。 $p53$ 基因产物可对多种下游基因包括 *Bcl-2* 家族起调节作用。

1.2 凋亡信号转导通路 从凋亡起始期到凋亡效应期,涉及到多种信号转导通路、胞间通讯和第二信使,不同通路的作用形式不同,而且通路间存在着错综复杂的关系,决定细胞生或死的是多种信号的综合作用。神经酰胺途径(CE)的信号可引起 ICE 家族蛋白酶激活而诱导凋亡, Ca^{2+} 作为凋亡的信号分子是通过改变线粒体的膜电位而触发凋亡。MAPK (Mitogen-activated protein kinase) 家族的由生长因子激活的 ERK 途径和应激因素激活的 JNK、 $p38$ 信号途径在细胞凋亡中起着重要的调节作用,ERK 信号途径活化对细胞增殖、分化和存活起作用,而 JNK、 $p38$ 信号途径活化对细胞凋亡起作用,因此,ERK 与 JNK $p38$ 途径的动态平衡在决定细胞的存活与凋亡中起着重要作用^[9]。

大部分组织细胞的生存依赖于由相邻细胞和细胞外基质提供的生存信号,细胞间隙连接通讯(Gap junctional intercellular communication,简写 GIC)就是细胞间传递信息的重要方式,水溶性的小分子如 IP_3 ,cAMP,通过跨膜的间隙连接通道在细胞之间通过从而迅速传递信息,当遗传突变或环境因素对 GIC 产生作用时,它对细胞凋亡及增殖、分化的调控作用将受到影响^[10]。

1.3 凋亡执行过程 尽管信号途径及反应途径多样,但目前研究发现,凋亡过程的执行都是通过 Caspases 来完成的。Caspase 是 cystein-aspartate proteases 的缩写,C 表示 Cys 蛋白酶,aspase 则反映了酶的 Asp 断裂位点专一性,它们是一类在进化上保守的酶,目前已发现了 14 种^[11],按照它们被发现的顺序编号,从它们的功能看,包括起始 Caspase (上游 caspase) 和效应 Caspase (下游 caspase),起始 Caspase 是刺激信号最先激活的 Caspase,它们在 TNF、DNA 损伤等促凋亡信号的作用下被活化,从而激活下游的 Caspase 即效应 Caspase,后者的激活则参与对特定底物的切割,如细胞骨架蛋白和核蛋白,它们的酶解反应直接决定了凋亡的特征性的生物化学变化和形态变化。

Caspases 是以酶原的形式存在,它的活化有线粒体途径(非受体介导)和非线粒体途径(受体介导,如 Fas 受体)。当通过线粒体途径激活 Caspases 时,线粒体膜 PT 孔在凋亡信号作用下打开,线粒体跨内膜电位 $\Delta\psi_m$ 降低,cyto C 释放,与 Apaf-1、Caspase 9 酶原、dATP 形成复合物,这个复合物触发 Caspase-3 酶原的断裂而活化,因此启动了 Caspase 级联反应而执行凋亡,被激活的 Caspases 作用于其底物,包括蛋白激酶、DNA 酶、Rb 蛋白及 Caspases 本身,当 Caspases 3 被激活后细胞凋亡便不可逆转。cyto C 的释放受 *Bcl-2* 家族成员的调节,即 *Bcl-2*/*Bax* 对凋亡的调节作用是通过对线粒体的影响来完成的。因此,线粒体在介导凋亡中起着枢纽作用,线粒体的异常足以触发可导致凋亡的下游事件。

1.4 凋亡影响因素 细胞凋亡是多种生理病理因子参与的由凋亡相关基因启动的细胞主动死亡过程,许多炎症介质如

细胞因子均影响凋亡过程。除了生理性刺激成为凋亡信号,活性氧 ROS 也可作为信号在许多细胞中诱导凋亡^[12]。细胞内活性氧水平的增加和细胞内抗氧化剂水平的降低可导致凋亡,如 GSH 水平与凋亡相关^[13-15]。活性氧诱导细胞凋亡的可能机制是调节凋亡相关基因的表达和活化凋亡程序,或通过影响线粒体的稳定性释放出 cyto C 而触发凋亡,表明外源性因子同样可以通过一定的信号通路对凋亡发挥刺激效应。

2 环境污染物对细胞凋亡的影响

由于细胞凋亡有许多调节因素,除了内源性因素,外源性物质亦可以通过对这些调节因素的干扰来影响凋亡,例如许多外遗传物质就是通过抑制凋亡而导致癌症的发生或促进癌症的形成,因此细胞凋亡这一热点研究领域的飞速发展也给研究外源性化学物质的毒性作用机制带来更多的新思路,借助于细胞凋亡研究迅速发展所获得的成就,环境毒理学研究已得以在细胞动力学水平上阐述污染物的生物效应。有多种类型的环境污染物包括农药、重金属、多环芳烃类,在发挥其毒性作用的机制中都包括了触发凋亡,并且这种影响也发生在细胞凋亡调控的多个层次。

2.1 污染物在不同层次对细胞凋亡产生影响

2.1.1 对基因的影响 多种化学物质可以诱导凋亡相关基因的表达而对凋亡产生影响,如苯并芘可能是通过调节 *Bcl-2* 家族的表达对 Daudi 细胞的凋亡产生影响^[16]。

2.1.2 对信号转导途径的影响 研究发现 Cd 在影响 GIC 功能的同时,可以诱导氧化应激作用而降低 GIC 通道中的连接蛋白 Cx26 和 Cx32 的表达^[17]。对大鼠的小脑神经元细胞的研究证明亚砷酸钠可以通过活化 JNK3 和 $p38$ 而诱导细胞凋亡并推测可能是其产生神经毒性的机制^[18]。

2.1.3 对 Caspase 的影响 有机磷类物质可以诱导 SH-SY5Y 凋亡同时伴随 Caspase 3 被活化并具有时间依赖性^[19]。研究发现,除草剂对人外周血淋巴细胞和 Jurkat T 细胞的凋亡的诱导作用可被广谱 Caspase 抑制剂完全阻止^[20]。

2.1.4 对线粒体的影响 在大多数由化学物引起的凋亡中都包含了对线粒体的作用,引起细胞色素 C 的释放、激活 Caspase 级联反应。铅可以通过使线粒体 PT 孔开放而触发 cyto C-caspase 级联反应,诱导细胞凋亡^[21]。低剂量有机锡在离体实验中通过破坏线粒体完整性和通过对 Caspase 的作用来诱导凋亡的发生^[22]。柴油燃烧颗粒的提取物可以通过线粒体途径诱导肺泡巨嗜细胞发生凋亡^[23]。

2.1.5 对 ROS 产生的影响 化学物诱导的凋亡中,氧化损伤是一个关键的调节环节,ROS 可诱导凋亡,例如苯是广泛存在的环境污染物,它在肝脏中被 CYP 2E1 代谢,代谢物通过氧化还原循环产生活性氧,活性氧可以促进细胞凋亡。实验研究表明,CO 通过产生可调节凋亡作用的 NO 自由基而影响细胞凋亡^[24]。过量 ROS 的产生可能是硫丹影响细胞凋亡的重要途径^[25]。

2.2 多种污染物可对细胞凋亡产生影响

2.2.1 金属类污染物 砷可引起细胞的砷浓度、染毒时

亡的专一性标志物,而凋亡的形态学改变是最专一的标志。这些凋亡特征性的标志为建立污染物对凋亡影响的生物标志物奠定了基础,同时,对凋亡研究的深入及对污染物作用机理了解的深入,可以有更多反映凋亡受到影响的生物标志物被建立。表 1 列出了几类可以建立的细胞凋亡相关的生物标志物及与细胞凋亡的关系。

多种独立的生物标志物通过细胞凋亡而彼此相关联并组合起来,这些指标的预测价值又通过细胞凋亡而体现出来,因此,这种与细胞功能相关联的组合生物标志物在环境

毒理学中将发挥重要作用:不仅可以综合地反映环境污染物的早期作用并能准确预测对生物可能产生的有害影响,而且多层次研究污染物对细胞凋亡的影响还可为揭示化学因素致病机理提供重要的参考依据,同时多维、立体的指标体系对于有效的化学品评价与筛选也具有极其重要的价值。此外,由于细胞凋亡研究尚处于不断发现和深入的阶段,从环境毒理学角度系统研究外源性物质对凋亡的影响,对于病理学研究及治疗与细胞凋亡相关疾病药物的探索等内容的研究也有十分重要意义。

表 1 目前可建立的与细胞凋亡相关的生物标志物
Tab. 1 Currently eligible biomarkers correlated with apoptosis

细胞凋亡相关组合生物标志物	类别	可建立的生物标志物	在凋亡中的作用或意义
	基因及其蛋白产物	p53 基因, p53 蛋白	凋亡相关基因
		Bcl-2 基因, Bcl-2 蛋白	
		Bax 基因, Bax 蛋白	
	小分子	Ca ²⁺	影响凋亡的因素
		CE	
		ROS	
	信号通路	ERK	参与凋亡信号转导
		JNK, p38	
		GIC	
	凋亡执行	Caspases	参与凋亡的执行
	凋亡标志	DNA 梯状带	凋亡发生的标志
		AChE	

3.3 用微囊藻毒素作为模式物建立组合生物标志物的探讨及研究设想 基于上述设想,本研究室选用目前广泛存在、对水生态系统造成严重危害并威胁人群健康^[36-49]的水污染物微囊藻毒素作为模式物,研究了三种浓度微囊藻毒素染毒时不同细胞株的凋亡增加及凋亡相关基因 bcl-2、Bax、p53 的蛋白表达水平,凋亡执行者 Caspase-3,凋亡影响因素细胞间隙连接功能 GIC 等的变化^[50-55]。100nmol/L 的微囊藻毒素 LR 染毒 24h 使大鼠肾细胞凋亡率明显增加^[33],而对同样的细胞株和同样的藻毒素浓度,在染毒 1h 时就可以检测到 Caspase-3 被诱导^[51],表明在有可见的凋亡改变前就已经可以检测到影响凋亡的相关因素的变化。图 2 综合了微囊藻毒素对肝细胞株 BRL-3A 五种指标影响的情况。从图可以看出,在 8h 内的不同染毒剂量和时间时,各种指标发生变化的程度不同,在所采用的最低浓度组, p53、Bax 和 Caspase-3 都在 1h 内有显著改变并且以 p53 和 Bax 的变化最大,而 bcl-2

没有改变;在染毒时间 2、4、8h 时,四种指标都有显著改变并且与染毒时间相关,促凋亡蛋白 Bax 和抗凋亡蛋白 bcl-2 变化的相关性也十分吻合,不仅表明上述指标参与了微囊藻毒素诱导的细胞凋亡过程,同时也证明了外源性物质诱导细胞凋亡的变化可以在短时间里从多层次的凋亡影响因素密切相关的变化中反映出来。随着浓度升高,这种变化的情形有所不同,这可能是毒素在高浓度下不仅仅对细胞凋亡产生影响,也对细胞具有了毒性作用,因此作用效应与时间不是相关的。

初步的探讨证明了本文关于用细胞凋亡相关的系列指标的变化来建立组合生物标志物的设想是可行的,而且这些指标的变化具有生物标志物所具有的灵敏、早期的特点。目前尚在进一步用不同类型的典型化学污染物进行系统研究,得到预期结果后将进一步进行病理学检验以证明组合生物标志物用于预测的有效性。

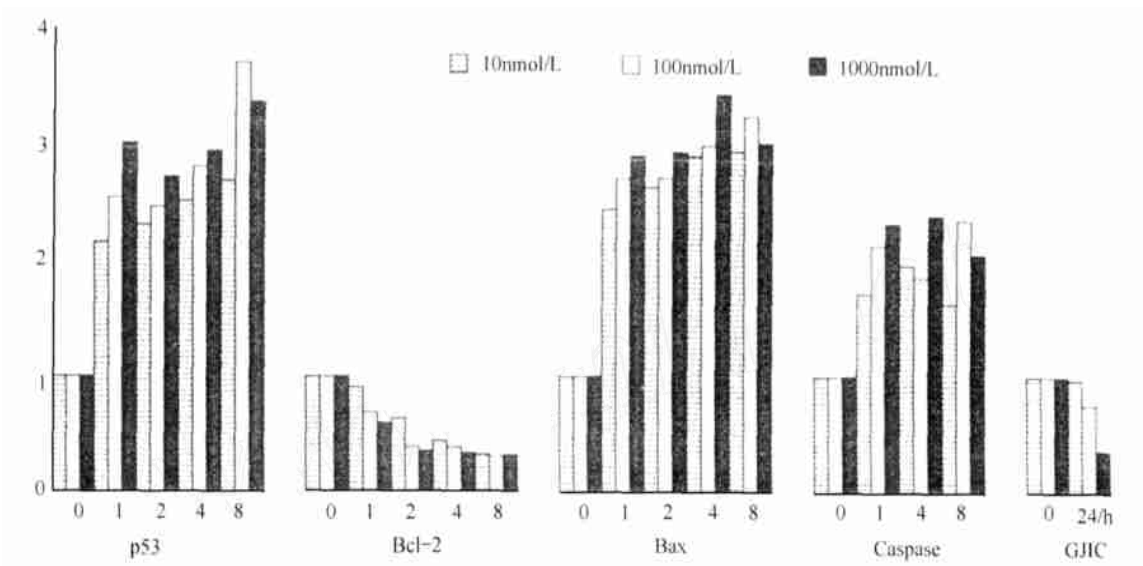


图2 微囊藻毒素对肝细胞株多项凋亡相关因素的影响及时间/浓度-效应关系

Fig.2 Effects of microcystin on apoptosis related factors of BRL-3A and the time/ concentration-response relationships

参考文献:

[1] Wang H L ,Tao S. Application of biomarkers in aquatic environmental research[J]. *China Environmental Science* ,1999 ,**19** (5) : 421 —426
[王海黎,陶澍. 生物标志物在水环境研究中的应用. 中国环境科学,1999,**19**(5): 421 —426]

[2] Xu L H,Zhang Y Y,Chen Y Y. The advances of molecular ecotoxicology and its significance in water environment protection[J]. *Acta Hydrobiological Sinica*, 1995 ,**19** (3) , 171 —185[徐立红,张甬元,陈宜瑜. 分子生态毒理学研究进展及在水环境保护中的作用. 水生生物学报,1995,**19**(3) , 171 —185]

[3] Xu L H. The study of DNA adducts and its application in environmental toxicology[J]. *Bulletin of National Natural Science Foundation of China* ,1999 ,**13**(5) : 274 —278[徐立红. DNA 加合物研究及在环境毒理学中的应用. 中国科学基金,1999 ,**13**(5) : 274 —278]

[4] Furberg A H,Ambrosone C B. Molecular epidemiology, biomarkers and cancer prevention[J]. *Trends in Molecular Medicine* ,2001 ,**7** (11) : 517 —521

[5] Srinivas P R,Kramer B S,Srivastava S. Trends in biomarker research for cancer detection[J]. *The Lancet Oncology* ,2001 ,**2** : 698 —704

[6] Timbrell J A. Biomarkers in toxicology[J]. *Toxicology* ,1998 ,**129** : 1 —12

[7] Allen R T,Cluck M W,Agrawal D K. Mechanisms controlling cellular suicide: role of Bcl-2 and caspases[J]. *Cellular and Molecular Life Sciences* ,1998 ,**54** : 427 —445

[8] Fisher D E. The p53 tumor suppressor: critical regulator of life & death in cancer[J]. *Apoptosis* , 2001 .**6** : 7 —15

[9] Xia Z,Dickens M,Raingaud J ,et al. Opposing effects of ERK and JNK/p38 MAP kinases on apoptosis[J]. *Science* ,1995 ,**270** : 1045 —1051

[10] Trosko J E,Chang C C,Wilson M R ,et al. Gap junctions and the regulation of cellular functions of stem cells during development and differentiation[J]. *Methods* ,2000 ,**20** (2) : 245 —264

[11] Wolf B B,Green D R. Suicidal tendencies: apoptosis cell death by caspase family proteinases[J]. *The Journal of Biological Chemistry* , 1999 ,**274** (29) : 20049 —20052

[12] Simon H U,Haj-Yehia A,Levi-Strauss F. Role of reactive oxygen species(ROS) in apoptosis induction[J]. *Apoptosis* ,2000 ,**5** : 415 —418

[13] Slater A F,Stefan C,Nobel I ,et al. Signalling mechanisms and oxidative stress in apoptosis[J]. *Toxicology Letters* ,1995 , (83) : 149 —153

[14] Burdon R H,Gill V,Allianguana D. Hydrogen peroxide in relation to proliferation and apoptosis in BHK-21 hamster fibroblasts[J]. *Free Radical Research* ,1996 ,**24** : 81 —93

[15] Iwata S,Hori T,Sato N ,et al. Adult T cell leukemia (ATL)-derived factor/ human thioredoxin prevents apoptosis of lymphoid cells induced by L-cysteine and glutathione depletion: possible involvement of thiol-mediated redox regulation in apoptosis caused by pro-oxidant state[J]. *Journal of Immunology* ,1997 ,**158** : 3108 —3117

[16] Salas V M,Burchiel S W. Apoptosis in Daudi Human B cells in response to benzo[a]pyrene and benzo[a] pyrene-7,8-dihydrodiol [J]. *Toxicology and Applied Pharmacology* ,1998 ,**151** : 367 —376

[17] Jeong S-H,Habeebu S S M,Klaassen C D. Cadmium decreases gap junctional intercellular communication in mouse liver. *Toxicological Sciences* ,2000 ,**57** : 156 —166

[18] Namgung U Xia Z. Arsenic induces apoptosis in rat cerebellar neurons via activation of JNK3 and p38 MAP Kinases [J]. *Toxicology and Applied Pharmacology* ,2001 .**174** : 130 —138

[19] Carlson K,Jortner B S,Ehrlich M. Organophosphorus compound - induced apoptosis in SH-SY5Y human neuroblastoma cells [J]. *Toxicology and Applied Pharmacology* ,2000 ,**168** : 102 —113

[20] Kaionova D,Susal C,Opelz G. Induction of apoptosis in human lymphocytes by the herbicide 2,4-dichlorophenoxyacetic acid [J].

- Human Immunol*, 2001, **62**(1): 64—74
- [21] He L H, Poblentz A T, Medrano C J, *et al.* Lead and calcium produce rod photoreceptor cell apoptosis by opening the mitochondrial permeability transition pore[J]. *The Journal of Biological Chemistry*, 2000, **275**(16): 12175—12184
- [22] Robertson J D, Orrenius S. Molecular mechanisms of apoptosis induced by cytotoxic chemicals[J]. *Current Reviews in Toxicology*, 2000, **30**: 609—627
- [23] Hiura T S, Li N, Kaplan R, *et al.* The role of a mitochondrial pathway in the induction of apoptosis by chemicals extracted from diesel exhaust particles[J]. *J. Immunol*, 2000, **165**(5): 2703—2711
- [24] Thom S R, Fisher D, Xu Y A, *et al.* Adaptive responses and apoptosis in endothelial cells exposed to carbon monoxide [J]. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 2000, **97**: 1305—1310
- [25] Kannan K, Holcombe R F, Jain S K, *et al.* Evidence for the induction of apoptosis by endosulfan in a human T-cell leukemic line. *Molecular Cellular Biochem.*, 2000, **201**: 53—66
- [26] Chen Y C, Liu-Shiau S Y, Lin J K. Involvement of reactive oxygen species and caspase 3 activation in arsenite-induced apoptosis [J]. *Journal Cell Physical*, 1998, **177**(2): 324—333
- [27] Harrison M T, McCoy K L. Immunosuppression by arsenic: a comparison of cathepsin inhibition and apoptosis [J]. *International Immunopharmacology*, 2001, **1**: 647—656
- [28] Pritchard D E, Ceryak S, Ha L, *et al.* Mechanism of apoptosis and determination of cellular fate in chromium(VI)-exposed populations of telomerase-immortalized human fibroblasts[J]. *Cell Growth & Differentiation*, 2001, **12**: 487—496
- [29] Kitazawa M, Ananham V, Kanthasamy A G. Dieldrin-induced oxidative stress and neurochemical changes contribute to apoptosis cell death in dopaminergic cell [J]. *Free Radical Biology and Medicine*, 2001, **31**(11): 1473—1485
- [30] Toomey B H, Bello S, Hahn M E, *et al.* 2,3,7,8-Tetrachlorodibenzo-p-dioxin induces apoptosis cell death and cytochrome P4501A expression in developing *Fundulus heteroclitus* embryos[J]. *Aquatic Toxicology*, 2001, **53**(2): 127—138
- [31] Ko C B, Kim S J, Park C, *et al.* Benzo(a)-pyrene-induced apoptotic death of mouse hepatoma Hepalclc7 cells via activation of intrinsic caspase cascade and mitochondrial dysfunction[J]. *Toxicology*, 2004, **199**: 35—46
- [32] McDermott C M, Nho C W, Holton B. The cyanobacterial toxin, microcystin-LR, can induce apoptosis in a variety of cell types [J]. *Toxicicon*, 1998, **36**: 1981—1996
- [33] Fu W Y, Li M W, Chen J. P, *et al.* Flow cytometric detection of apoptosis of renal cells of mice induced by microcystin-LR using PI and Annexin V staining [J]. *Acta hydrobiological Sinica*, 2004, **28**(1): 101—102 [傅文宇, 李敏伟, 陈加平, 等. 用流式细胞仪双染色法检测微囊藻毒素LR诱导的大鼠肾细胞凋亡. 水生生物学报, 2004, **28**(1): 101—102]
- [34] Strupp W, Weidinger G, Scheller C, *et al.* Treatment of cells with detergent activates caspases and induces apoptotic cell death [J]. *J. Membrane Biol*, 2000, **175**: 181—189
- [35] Mullauer L, Gruber P, Seibinger D, *et al.* Mutations in apoptosis genes: a pathogenic factor for human disease[J]. *Mutation Research*, 2001, **488**: 211—231
- [36] Wang X F, Guo Z L, Wang Y, *et al.* Detection of microcystin class compounds in water by colorimetric protein phosphatases inhibition assay[J]. *Acta hydrobiological Sinica*, 2003, **27**(4): 431—433 [王晓峰, 郭宗楼, 王燕, 等. 用蛋白磷酸酶抑制法——比色法检测水华水体中微囊藻毒素类物质. 水生生物学报, 2003, **27**(4): 431—433]
- [37] Xu L H, Zhang Y Y. Recent developments in the study of the molecular intoxication mechanism of microcystins[J]. *Acta Hydrobiological Sinica*, 1993, **17**(4): 365—374 [徐立红, 张甬元. 微囊藻毒素分子致毒机理研究近况. 水生生物学报, 1993, **17**(4): 365—374]
- [38] Chen J P, Xu L H, Zhang Y P. A study of inhibition of microcystins on protein phosphatase in fish tissue homogenate [J]. *Acta Hydrobiological Sinica*, 1998, **22**(1): 95—97 [陈加平, 徐立红, 张甬元. 微囊藻毒素对鱼组织匀浆液蛋白磷酸酶活性抑制作用的研究. 水生生物学报, 1998, **22**(1): 95—97]
- [39] Zhang Y Y, Xu L H, Zhou B S, *et al.* Preliminary studies on the role of GSH in detection of microcystin-LR in fish [J]. *Acta Hydrobiological Sinica*, 1996, **19**(3): 284—286 [张甬元, 徐立红, 周炳升, 等. 鱼体中谷胱甘肽对微囊藻毒素的解毒作用的初步研究, 水生生物学报, 1996, **19**(3): 284—286]
- [40] Zhou B S, Xu L H, Zhang Y Y, *et al.* The effect of microcystin-LR on the liver ultrastructure of grass carp, *Ctenopharyngodon idellus* [J]. *Acta Hydrobiological Sinica*, 1998, **22**(1): 90—91 [周炳升, 徐立红, 张甬元, 等. 微囊藻毒素LR对草鱼肝脏超微结构影响的研究, 水生生物学报, 1998, **22**(1): 90—91]
- [41] Xu L H, Chen J P, Xu J M, *et al.* Use of protein phosphatase inhibition assay for measuring microcystin class compounds in aquatic system [J]. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 1999, **19**(5): 536—539 [徐立红, 陈加平, 许建明, 等. 用蛋白磷酸酶法测定水体中微囊藻毒素类物质, 环境科学学报, 1999, **19**(5): 536—539]
- [42] Xu L H, Chen J P, Zhang Y Y. In vivo and in vitro inhibition of microcystins on fish protein phosphatase [J]. *China Environmental Science*, 1998, **18**(5): 391—393 [徐立红, 陈加平, 张甬元. 活体及离体条件下微囊藻毒素对蛋白磷酸酶的作用. 中国环境科学, 1998, **18**(5): 391—393]
- [43] Xu L H, Zhou B S, Zhang Y Y, *et al.* The preliminary study of environmental behaviour of microcystins [J]. *Acta Hydrobiological Sinica*, 1997, **21**(1): 85—89 [徐立红, 周炳升, 张甬元, 等. 微囊藻毒素环境行为的初步研究, 水生生物学报, 1997, **21**(1): 85—89]
- [44] Xu L H, Zhang Y Y, Chen G S, *et al.* Study of inhibition of microcystins on fish protein phosphatase [J]. *Acta Hydrobiological Sinica*, 1997, **21**(2): 185—186 [徐立红, 张甬元, 陈国胜, 等. 微囊藻毒素对鱼体蛋白磷酸酶抑制作用的研究. 水生生物学报, 1997, **21**(2): 185—186]
- [45] Xu L H, Chen G S, Chen J P, *et al.* Toxic effects of microcystin on fish liver [J]. *Acta Hydrobiological Sinica*, 1998, **22**(4): 378—379 [徐立红, 陈国胜, 陈加平, 等. 微囊藻毒素对鱼肝的毒性效应. 水生生物学报, 1998, **22**(4): 378—379]
- [46] Xu L H, Zhang Y Y, Chen G S, *et al.* Isolation and purification of fish protein phosphatase [J]. *Acta Hydrobiological Sinica*, 1995, **19**

- (4):379—381[徐立红,张甬元,陈国胜,等. 鱼肝中蛋白磷酸酶的分离纯化. 水生生物学报,1995,19(4):379—381]
- [47] Zhou L, Yu D, Yu H, *et al.* Drinking water types, microcystins and colorectal cancer[J]. *Chinese J. Preventive Medicine*. 2000, 34(4):37—39[周伦,鱼达,余海,等. 饮用水源中的微囊藻毒素与大肠癌发病的关系. 中华预防医学杂志,2000,34(4):37—39]
- [48] Yu S Z. Primary prevention of hepatocellular carcinoma[J]. *J. Gastroent. Hepatol.* 1995, 10:674—682]
- [49] Yu S Z, Zhao N, Zi X N, *et al.* The relationship between cyanotoxin (Microcystin, MC) in pond-ditch water and primary liver cancer in China[J]. *Chinese J. Oncology*. 2001, 23(2):96—99[俞顺章,赵宁,资晓宁,等. 饮水中微囊藻毒素与我国原发性肝癌的研究. 中华肿瘤杂志,2001,23(2):96—99]
- [50] Fu W Y, Chen J P, Xu L H. The role of caspase-3 in the apoptosis induced by microcystin[J]. *China Environmental Science*, 2004, 24(1):6—8[傅文字,陈加平,徐立红, caspase-3 在微囊藻毒素诱导的细胞凋亡中的作用. 中国环境科学,2004,24(1):6—8]
- [51] Chen J P, Weng D P, Fu W Y, *et al.* Damage of microcystin-LR on rat lymphocytes DNA[J]. *Acta Hydrobiological Sinica*, 2004, 28(6):677—678[陈加平,翁登坡,傅文字,等. 微囊藻毒素 LR 对大鼠淋巴细胞 DNA 的损伤效应,水生生物学报,2004,28(6):677—678]
- [52] Chen J P, Fu W Y, Wang X M, *et al.* Influence of microcystin-LR on the expression of apoptosis-related proteins in BRL-3A[J]. *China Environmental Science*, 2004, 24(4):460—463[陈加平,傅文字,王秀敏,等. 微囊藻毒素 LR 对大鼠肝细胞中 p53、Bcl-2 和 Bax 蛋白表达的影响. 中国环境科学. 2004,24(4):460—463]
- [53] Chen J P, Xu L H, Fu W Y, *et al.* Bax expression of rat nephrocyte NRK induced by microcystin-LR[J]. *Acta Hydrobiological Sinica*, 2004, 28(4):450—451[陈加平,徐立红,傅文字,等. 微囊藻毒素 LR 诱导大鼠肾 NRK 细胞 Bax 蛋白表达. 水生生物学报, 2004,28(4):450—451]
- [54] Mao G G, Xu L H, Ye S J. Studies on the downregulation of gap-junctional in hepatocyte by microcystin-LR[J]. *China Environmental Science*, 2003, 23(1):34—37[毛国根,徐立红,叶少菁. 微囊藻毒素-LR 致肝细胞间隙连接细胞间通讯下调的研究,中国环境科学,2003,23(1):34—37]
- [55] Fu W Y, Wang M M, Xu L H. Effect of Microcystin-LR on caspase-3 in rat hepatocytes[J]. *Acta Hydrobiological Sinica*, 2004, 28(4):452—453[傅文字,王咪咪,徐立红. 微囊藻毒素 LR 对大鼠肝细胞 Caspase-3 酶活性的影响. 水生生物学报,2004,28(4):452—453]