

环己酮二腙诱导大鼠脑白质脱髓鞘及细胞凋亡的实验研究*

尹瑞雪¹ 陆江阳² 尹 超³ 陆兵勋³ 范建中¹

(1 南方医科大学南方医院康复医学科 广东 广州 510515 2 解放军 304 医院病理科 北京 100142 ;

3 南方医科大学南方医院神经内科 广东 广州 510515)

摘要 目的:探讨双环己酮草酰二腙(cuprizone)诱导大鼠脑白质脱髓鞘及其病因,证实双环己酮草酰二腙引起脑白质脱髓鞘与细胞凋亡有关。方法:用环己酮草酰二腙制备大鼠脑白质脱髓鞘模型(酮腙组),与安定(安定组)、苯巴比妥(苯巴比妥组)、生理盐水对照组(对照组)比较,应用电镜技术及caspase3免疫组化染色,观察各组第14天、28天、42天时脑组织结构变化及细胞凋亡的信号传导通路。结果:电镜显示,安定组、苯巴比妥组、酮腙14天组和对照组白质结构完整致密,无脱髓鞘现象;酮腙28天组可见髓鞘排列较紊乱,部分结构松解变性,但无典型脱髓鞘改变;酮腙42天组胼胝体压部可见髓鞘肿胀,多部位髓鞘被涡轮状空泡所裂解。caspase3染色:酮腙28天、42天组可见皮层下白质、胼胝体、脑干及小脑白质caspase3阳性染色,与安定组、苯巴比妥组、对照组和酮腙14天组比较差异具有统计学意义($P<0.05$);酮腙42天组caspase3阳性染色明显多于28天组,差异具有统计学意义($P<0.05$)。结论:环己酮草酰二腙可诱导大鼠脑白质脱髓鞘、空泡样变;病变白质区存在大量caspase3阳性染色,且早于脱髓鞘。提示:caspase蛋白酶级联反应参与了环己酮草酰二腙诱导脑白质脱髓鞘的过程,进一步说明细胞凋亡可能是脑白质脱髓鞘原因之一。

关键词 环己酮草酰二腙;大鼠;细胞凋亡;caspase3

中图分类号:Q95-3 R742 文献标识码:A 文章编号:1673-6273(2012)26-5023-04

The Cuprizone Induced the Brain White Matter Demyelination and Apoptosis in the Rat Brain*

YIN Rui-xue¹, LU Jiang-yang², YIN Jia³, LU Bing-xun³, FAN Jian-zhong¹

(1 Department of rehabilitation, Nanfang Hospital, Southern Medical University, Guangzhou 510515, China;

2 Department of Pathology, PLA 304 Hospital, Beijing 100142, China;

3 Department of neurology, Nanfang Hospital, Southern Medical University, Guangzhou 510515, China)

ABSTRACT Objective: To explore the bicyclic cyclohexanone oxalyl hydrazone (cuprizone) induced white matter demyelination and its causes, confirmed the demyelination was caused by white matter apoptosis. **Methods:** Cuprizone was used to make the rat brain white matter demyelination and vacuolation model(Cu), compared with Diazepam, Phenobarbital and physiological saline group. Structural changes and apoptosis signaling pathways in brain tissue during the application of electron microscopy techniques and caspase3 immunohistochemical staining observed in each group 14days, 28days and 42days after treatments. **Results:** White matter structure was integrity and dense, non-demyelinating in the normal alba; Arranged irregular myelin were observed in the Cu 28d, part of the structure release variability, but no typical demyelination, We observed myelin swelling, vacuolation, myelin sheath cracking by turbo-like vacuoles at corpus callosum in the Cu 42d group. Caspase3 positive staining: Cu 28d and Cu 42d group had Statistically significant difference compare with diazepam, Phenobarbital and Cu 14d groups at subcortical white matter, corpus callosum, brain stem($P<0.05$). Cu 42d was significantly more than Cu 28d ($P<0.05$). **Conclusion:** The cuprizone induced white matter demyelination, vacuolar degeneration; There are a large number of caspase3 positive staining in the lesions of white matter, and earlier than the demyelination. Suggesting that the caspase protease cascade of reactions involved in the cuprizone induced white matter demyelination, further demonstrate apoptosis may be one of the reasons of matter demyelination.

Key words: Cuprizone; Rat; Apoptosis; Caspase3

Chinese Library Classification(CLC): Q95-3, R742 **Document code:** A

Article ID:1673-6273(2012)26-5023-04

近年来,不明原因的脑白质变性越来越多地被影像学检查所发现,已知一些毒物可以引起中枢神经系统白质病变,在镜下表现为海绵状变性^[1],如异烟肼、三乙基锡、环己酮草酰二腙^[2]

等。我们前期研究采用HE染色、MBP及TUNNEL检测发现,环己酮草酰二腙可引起脑白质脱髓鞘、空泡样变以及细胞凋亡^[3]。在此基础上,本文将运用电镜技术及caspase3染色进一步明确

* 基金项目:广东省自然科学基金(S2011040003054);广东省医学科研基金(A2011366)

作者简介:尹瑞雪(1968-),女,博士,副主任技师,主要研究方向:中枢神经疾病及康复

电话:020-61642065 E-mail: yinruixueshen@126.com

(收稿日期:2012-04-20 接受日期:2012-05-15)

白质变性的细胞结构改变及细胞凋亡的信号传导通路,为阐明白质变性发病机制提供更深层的实验依据。

1 材料与方法

1.1 实验动物

购买 SD 大鼠 72 只(南方医科大学动物中心,许可证号 2006B051),鼠龄 6-8 周,体质量 200-220 克,雌雄各半,清洁级环境分笼饲养,每周更换垫料 2 次。

1.2 主要仪器和试剂

光学显微镜(OLYMPUS),显微数码拍摄图像分析系统(Anymicro DSS TM/YT-5M Dighital shoot system)。透射电子显微镜(JEOL JEM-1200EX,日本电子公司)。双环己酮草酰二胺(上海科晖生物化工试剂有限公司),地西泮片(广州白云山侨光制药有限公司),苯巴比妥片(山东新华制药股份有限公司)。一抗 caspase3 抗体:单克隆兔抗鼠 IgG(中衫金桥公司,批号 6119751);二抗:通用型二步法(PV-8000)(中衫金桥公司,批号 H0611);DAB 显色剂(中衫金桥公司)。

1.3 实验方法

1.3.1 动物分组 将实验动物分为双环己酮草酰二胺组(酮胺组)、地西泮组、苯巴比妥组和生理盐水组(对照组),共 4 组。给药方案:酮胺组将双环己酮草酰二胺配制成 1%混悬液,按 10 mg/100 g 给药;地西泮组将地西泮制成 0.003%混悬液,按 0.03 mg/100 g 给药;苯巴比妥组将苯巴比妥制成 0.015%的混悬液,按 0.15 mg/100 g 给药;对照组予等量生理盐水。分别经口喂饲 1 次/日。

1.3.2 脑组织取材及处理 分别于给药后第 14 天、28 天、42 天,以 1%水合氯醛 0.35 mL/100 g 腹腔注射麻醉大鼠,予局部消毒,剪开大鼠胸腔,暴露心脏,用 4%多聚甲醛灌注心脏,至大鼠眼睛变白(约需 120~140 mL),断头取脑,测量脑重,以正中矢状位切开鼠脑:①立即取右半脑胼胝体组织 1 mm³,浸入 2.5%戊二醛液中固定;②将余下右半脑及左半脑组织浸入 10%中性甲醛中固定。③组织脱水、石蜡包埋,连续矢状面切片,片厚 6μm,5 张普通玻片,10 张丙酮预处理玻片。

1.3.3 电镜检查 取 2.5%戊二醛溶液固定的鼠脑胼胝体组织,经漂洗、固定、脱水、浸透、包埋、切片和染色,通过透射电子显微镜观察大鼠脑白质髓鞘改变。

1.3.4 丙酮切片 caspase3 免疫组化染色 切片脱蜡,封闭内源性过氧化物酶,抗原修复,小牛血清封闭,滴加 caspase3 一抗(1:

100),湿盒孵育 4℃过夜,加二抗,TBS 漂洗,DAB 显色,树脂封片,在光镜下观察。染色过程中均常规设立阴性对照(一张不加一抗,另一张不加二抗),阳性对照按试剂盒说明操作。每张切片于同一脑区随机选取 5 个不连续高倍视野(×40),分别于皮层下白质、小脑白质、胼胝体和脑干计数 caspase3 阳性细胞数,求均值作为此脑区的阳性细胞数进行统计分析。

1.4 统计学方法

采用 SPSS13.0 统计软件,caspase3 阳性细胞数以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,进行完全随机设计资料的方差分析,检验水准 $\alpha=0.05$, $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 肉眼观察

各组大鼠体重无明显增减,酮胺 42 天组大鼠出现四肢活动不灵。脑体积未见明显变化,脑重量在 1.85~1.92 g 之间,白色质软,未见明显脑萎缩及肿胀。酮胺 42 天组部分脑膜与颅骨之间有轻度粘连,矢状切面灰白质界限分明、结构清晰。

2.2 电镜检查

对照组胼胝体组织结构完整、致密,无脱髓鞘现象,酮胺 28 天组可见髓鞘排列较紊乱,部分松散变性,但无典型脱髓鞘改变,酮胺 42 天组可见胼胝体压部髓鞘肿胀,髓鞘板层内有空泡形成,多部位髓鞘被涡轮状空泡所裂解。

2.3 Caspase3 免疫组化染色

各组灰质区有少量 caspase3 阳性表达,差异无统计学意义($F=0.485$, $P=0.694$),不同时间之间比较,差异无统计学意义($F=0.094$, $P=0.911$)。地西泮组、苯巴比妥组、生理盐水组和酮胺 14 天组白质区可见少量 caspase3 阳性表达,酮胺 28 天组皮层下白质、室周、小脑白质、胼胝体及脑干可见散在 Caspase3 阳性染色,酮胺 42 天组上述区域存在广泛大量 Caspase3 阳性染色,分布在白质病变区,从浅层到深层阳性表达逐渐增多。组间相同部位比较 caspase3 阳性表达差异具有显著统计学意义($F=84.018$, $P=0.000$),组内不同时间比较,差异具有显著统计学意义($F=23.611$, $P=0.000$),各组不同时间交互效应具有显著统计学意义($F=29.138$, $P=0.000$),酮胺组与对照组比较差异均有统计学意义($P=0.000$),酮胺 42 天组与 14 天组、28 天组比较均有显著统计学意义($P=0.000$),28 天组与 14 天组比较具有显著统计学意义($P=0.003$),其余各组之间差异无统计学意义。以酮胺 42 天组最高,其次为酮胺 28 天组(图 1、表 1)。

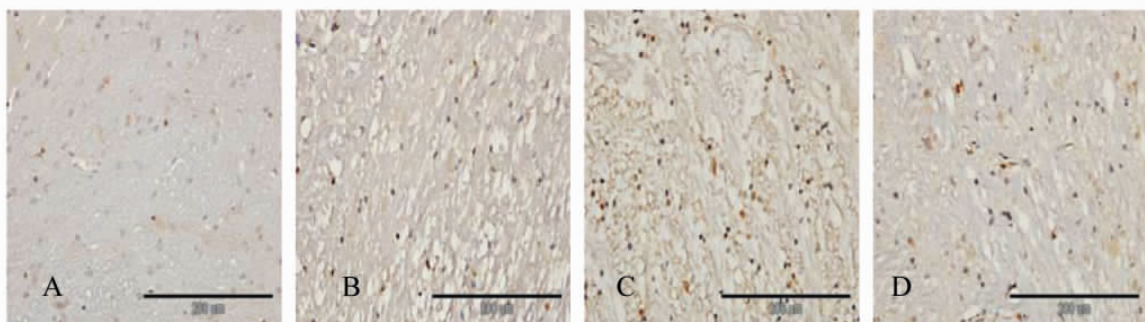


图 1 白质区 Caspase3 染色(×40): A 对照组小脑白质, B 酮胺 42 天组小脑白质, C 酮胺 42 天组胼胝体, D 酮胺 42 天组脑干。

Fig.1 Brain whiter matter Caspase3 stained (×40): A saline group Cerebellar white matter; B Cu 42d group Cerebellar white matter; C Cu 42d group corpus callosum; D Cu 42d group brain stem

表 1 caspase3 在各实验组不同时间和脑区阳性表达的比较($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Comparison of caspase3 positive expression in all experimental groups at different times and the brain regions

Group	Days	Cortex	Corpus callosum	Cerebellum	Brain stem
Saline	14	2.367 $\pm$ 0.991	10.400 $\pm$ 1.207	10.867 $\pm$ 1.360	10.200 $\pm$ 0.522
	28	2.300 $\pm$ 0.746	10.300 $\pm$ 0.667	10.867 $\pm$ 1.063	10.033 $\pm$ 0.843
	42	2.267 $\pm$ 0.628	10.167 $\pm$ 0.889	10.133 $\pm$ 1.170	9.900 $\pm$ 1.137
Diazepam	14	1.967 $\pm$ 0.698	10.733 $\pm$ 0.969	10.700 $\pm$ 1.879	9.867 $\pm$ 1.001
	28	2.167 $\pm$ 0.497	10.700 $\pm$ 0.986	10.933 $\pm$ 1.593	10.133 $\pm$ 0.864
	42	2.100 $\pm$ 0.713	10.833 $\pm$ 1.299	10.533 $\pm$ 1.157	9.500 $\pm$ 0.883
Phenobarbital	14	2.200 $\pm$ 0.632	10.300 $\pm$ 0.757	10.833 $\pm$ 0.784	10.400 $\pm$ 1.028
	28	2.200 $\pm$ 0.867	10.667 $\pm$ 1.170	10.067 $\pm$ 1.230	9.567 $\pm$ 0.742
	42	2.367 $\pm$ 0.638	10.800 $\pm$ 0.903	10.900 $\pm$ 0.993	10.033 $\pm$ 0.999
Cuprizone	14	2.267 $\pm$ 0.766	10.4000 $\pm$ 0.963 ^a	10.866 $\pm$ 0.845 ^a	10.600 $\pm$ 0.810 ^a
	28	2.367 $\pm$ 0.804	16.600 $\pm$ 1.035 ^b	16.167 $\pm$ 1.162 ^b	15.600 $\pm$ 0.912 ^b
	42	2.433 $\pm$ 0.804	25.933 $\pm$ 2.979 ^c	22.367 $\pm$ 2.196 ^c	19.567 $\pm$ 0.975 ^c

3 讨论

脑白质对多种毒性物质非常敏感,有报道放射线、化学药物、重金属、环境污染因素均能引起白质脑病^[4],异烟肼(isoniazid, INH)就是破坏磷酸吡哆醛的代谢,使磷酸化过程发生障碍,而直接损伤轴突^[5]。研究发现六氯酚(hexachlorophene)中毒后,主要病理改变是脑白质海绵状变性^[6]。三乙基锡可以使脑白质发生海绵状变性,主要是髓鞘和胶质细胞受损,表现为脱髓鞘及海绵状变性,但对脑血管和神经元无明显影响^[7]。文献报道环己酮草酰二胺慢性中毒可以引起皮层下白质、脑干、胼胝体及小脑白质的海绵状变性。将酮螯合物喂食大鼠,出现原发性少突胶质细胞退变并髓鞘脱落,以小脑脚上部、前联合、胼胝体最为严重,而视神经、幕髓质前部和脊髓却很少或无脱髓鞘现象,未见淋巴细胞浸润,无血脑屏障损害^[8,9]。采用酮 0.2% 胺喂大鼠,3-4 周时开始出现脱髓鞘,大鼠对新刺激反应迟钝,到 5 周时脱髓鞘最严重,平衡功能改变,感觉反应也受到影响,旋转试验显示处理组比对照组运动协调性差,撤除酮胺 6 周后运动协调功能未见好转,恢复正常摄食期间,在学习程序性旋转任务时动物也表现出困难,认为酮胺诱导脱髓鞘—髓鞘再生,小鼠出现行为缺乏,并且持续到正常摄食 6 周后^[10]。8 周龄 C57/BL6 小鼠 28 天 MRI 显示胼胝体尾段明显脱髓鞘、轴突损伤,组织病理学显示小胶质细胞聚集及细胞浸润,二者表现相一致^[11,12]。这些研究均提示环己酮草酰二胺具有神经毒性作用,主要表现为脱髓鞘改变。

本实验采用随机对照设计,多因素方差分析,设酮胺组、地西洋组、苯巴比妥组及生理盐水对照组,利用电镜及 caspase3 免疫组化染色观察酮胺致白质损伤及细胞凋亡情况。电镜观察到对照组大鼠脑胼胝体白质结构完整致密,无脱髓鞘现象,酮胺 28 天组,可见白质区髓鞘排列较紊乱,部分结构疏松,密度减低,但无典型脱髓鞘改变,酮胺 42 天组,可见胼胝体压部髓鞘肿胀,髓鞘板层内有空泡形成,呈涡轮状、条索状或弯月形,多部位髓鞘被空泡所裂解,证实酮胺致脑白质损害主要为脱髓

鞘改变。

酮胺诱导大鼠脑白质脱髓鞘变性,未发现脑组织坏死区或坏死软化灶,我们前期研究发现酮胺诱导大鼠脑白质脱髓鞘与胶质细胞凋亡有关,可能为少突胶质细胞凋亡导致脱髓鞘。细胞受各种凋亡信号刺激启动凋亡,研究发现蛋白酶与细胞凋亡密切相关,凋亡的发生是由半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶(cysteinyI aspartate-specific proteases, caspases) 蛋白质家族成员介导的复杂的蛋白酶级联反应过程^[13],caspase 家族成员是细胞凋亡中核心的启动者和执行者,信号传递到核内切酶,而执行死亡功能。在哺乳动物中已发现 14 种同源分子 caspase1-14,其中 caspase8、9 等为细胞凋亡过程中的起始胱天蛋白酶(initiator caspase),当受到抑制性因素刺激而启动细胞凋亡,而 caspase3、6 和 7 则是细胞凋亡的效应胱天蛋白酶(effector caspase),当接受上游凋亡信号转导时,进一步执行解聚 DNA 使细胞凋亡,Caspases3 是 Caspases 级联“瀑布”反应下游最关键的凋亡蛋白酶,是多种死亡受体介导的凋亡途径的必经之路,是细胞凋亡蛋白酶级联反应的共同下游汇聚点,在各种因素启动的凋亡过程中起最后的枢纽作用。正常细胞 Caspase3 以无活性单链酶原的形式 procaspase 存在于细胞中,并与凋亡抑制因子(inhibitor of apoptosis, IAPs)结合,其酶切功能被抑制。细胞受到凋亡信号刺激以后,caspases 与凋亡抑制因子解离,在毗邻天冬氨酸处切割形成 p20 和 p12 两个片段而活化^[14,15]。虽然目前还没有完全弄清 Caspase 执行细胞凋亡的机理,但现有的研究已经证实 Caspase 至少从以下 3 个方面参与了这一过程:①分解凋亡保护蛋白,如 ICAD/DFF45、DNA 修复蛋白、bcl-2 蛋白家族成员,活化凋亡蛋白 bid;②解聚细胞结构,caspase 能直接分解核层的中间丝,使坚固的核层结构解体,导致核膜破坏、染色质凝聚、DNA 片段化、凋亡小体形成等;③灭活或下调蛋白酶,如使参与 DNA 修复(DNA - PKCS)、mRNA 剪切(U1-70K)和 DNA 复制(复制因子 C)的酶失活,从而使细胞丧失修复功能,正常稳态不能维持^[16-18]。一旦 caspase3 活化,细胞凋亡不可避免。

本实验喂食大鼠环己酮草酰二胺,发现 14 天组病变区有

散在的 caspase3 的阳性表达,与对照组相比差异并不明显。酮胺 28 天组可见皮层下白质、室周、胼胝体、脑干、小脑白质较多 caspase3 阳性表达,呈棕褐色,深染不均,与酮胺 14 天组及对照组比较差异显著,明显高于对照组及酮胺 14 天组。酮胺 42 天组发现病变区大量阳性染色,从浅层白质到深层白质,阳性表达逐渐增多,与酮胺 14 天、28 天组比较差异具有明显统计学意义,而皮质未见明显 caspase3 阳性染色。Caspase3 阳性表达与前期 TUNEL 检测细胞凋亡部位相一致,进一步说明酮胺诱导大鼠脑白质脱髓鞘过程中存在细胞凋亡,同时证实 caspase3 参与了这一凋亡过程。

少突胶质细胞是中枢神经的髓鞘神经胶质细胞,成熟少突胶质细胞能产生髓鞘碱性蛋白(MBP)、髓鞘相关糖蛋白(MAG)、髓鞘少突胶质糖蛋白(MOG)、髓磷脂糖蛋白(OMgp)、蛋白脂质蛋白(PLP),大量成熟的髓鞘蛋白相连成片包绕轴突在其外周形成髓鞘,起到绝缘、支持及保护作用,保证每条神经纤维的正常快速的电信号传导。小鼠接受 20-30Gy 照射后 120-180 天,以环核苷酸磷酸酯水解酶(CNPase)和髓磷脂碱性蛋白(MBP)标记少突胶质细胞,发现在胼胝体、海马等部位的标记物表达减少,呈剂量依赖性,并与组织学上观察到的脱髓鞘变化相一致^[19],提示少突胶质细胞是脑损伤的重要靶细胞,其损伤是发生脱髓鞘和白质萎缩的重要原因^[20]。使用酮胺处理含大量少突胶质细胞的胶质细胞组及混合胶质细胞组 1h,并继续分化数天,以 O4+MBP-双标免疫荧光法染色,未观察到前体少突胶质细胞减少,推测酮胺通过抑制少突胶质细胞成熟而导致脱髓鞘,并显示出对少突胶质细胞线粒体的影响^[21]。这与我们检测到酮胺致脱髓鞘及细胞凋亡相互支持。进一步证实酮胺诱导少突胶质细胞凋亡引起白质脱髓鞘及空泡样变。基于酮胺诱导少突胶质细胞凋亡及信号传导通路的机理有待下一步的研究中,保护少突胶质细胞抑制其凋亡可能成为防治白质脑病的有效途径。

参考文献(References)

- [1] 郑志仁,主编.环境病理学[M].第1版.济南:山东科学技术出版社,1990:56-57
Zheng Zhi-ren, editor. Environmental pathology[M]. The first edition. Jinan: Shandong science technology publishing company, 1990: 56-57 (In Chinese)
- [2] DC Purves, IJ Garrod, AD Dayan, et al. A comparison of spongiosis induced in the brain by hexachlorophene, cuprizone and triethyl tin in the Sprague-Dawley rat [J]. Human and Experimental Toxicology, 1991,10(6): 439-444
- [3] 尹瑞雪,陆江阳,陆兵勋,等.脑白质空泡样变的病因研究[J].医学研究杂志,2011,40(6):49-52
Yin Rui-xue, Lu Jiang-yang, Lu Bing-xun, et al. Study on etiologies of the brain white matter vacuolation [J]. Journal of medical research, 2011, 40(6): 49-52(In Chinese)
- [4] Filley CM. Toxic leukoencephalopathy[J]. Clin Neuropharmacol,1999 (22):249-260
- [5] N. J. Thomas, C. U. Meteyer, L. Sileo. Epizootic Vacuolar Myelinopathy of the Central Nervous System of Bald Eagles (*Haliaeetus leucocephalus*) and American Coots (*Fulica americana*)[J]. Veterinary Pathology, 1998, 35: 479-487
- [6] A Hantzschel, K Andreas. Efficacy of glutamate receptor antagonists in the management of functional disorders in cytotoxic brain oedema induced by hexachlorophene [J]. Pharmacol Toxicol, 1998, 82 (2): 80-88
- [7] Marciavan Gemert, James Killeen. Chemically Induced Myelinopathies[J]. International Journal of Toxicology, 1998, 17: 231-275
- [8] S Komoly. Experimental demyelination caused by primary oligodendrocyte dystrophy[J]. Regional distribution of the lesions in the nervous system of mice [corrected] Ideggogy Sz, 2005, 58(1-2): 40-43
- [9] H Jurevics, C Largent, J Hostettler, et al. Alterations in metabolism and gene expression in brain regions during cuprizone-induced demyelination and remyelination[J]. J Neurochem, 2002, 82(1): 126-136
- [10] N Franco-Pons, M Torrente, MT Colomina, et al. Behavioral deficits in the cuprizone-induced murine model of demyelination/ remyelination [J]. Toxicol Lett, 2007, 169(3): 205-213
- [11] QZ Wu, Q Yang, HS Cate, D Kemper, et al. MRI identification of the rostral-caudal pattern of pathology within the corpus callosum in the cuprizone mouse model[J]. J Magn Reson Imaging, March 1, 2008,27 (3): 446-453
- [12] SW Sun, HF Liang, K Trinkaus, et al. Noninvasive detection of cuprizone induced axonal damage and demyelination in the mouse corpus callosum[J]. Magn Reson Med, 2006, 55(2): 302-308
- [13] Newmeyer DD, Ferguson- Miller S. Mitochondria: releasing power for life and unleashing the machineries of death [J]. Cell, 2003,112 (4):481-490
- [14] Thornberry NA, Lazebnik Y. Caspases: enemies within [J]. Science, 1998, 281: 1312-1316
- [15] Kuida K,Zheng TS,Na S,et al. Decreased apoptosis in the brain and premature lethality in CPP32-deficient mice [J]. Nature, 1996, 384 (6607):368-372
- [16] Adam JM, Corys. Apoptosomes: engines for caspase activation[J]. Curropin Cell Biol, 2002, 14(6): 715
- [17] Shi Y. Mechanisms of caspase activation and inhibition during apoptosis[J]. Mol Cell, 2002, 9(3): 459
- [18] Cheng EH, Kirsch DG, Clem RJ, Ravi R,Kastan MB, Bedi A, Ueno K,Hardwick JM.Conversion of Bcl-2 to a Bax-like death effector by caspases[J]. Science, 1997, 278:1966-1968
- [19] Chiang C S, McBride W H, Wither H R. Radiation induced Astrocytic and microglial Responses in Mouse Brain [J]. Radiother Oncol, 1993, 29: 60
- [20] Romero A A, Gross S R, Cheng K Y, et al. An Age-related Increase in Resistance to DNA Damage-induced Apoptotic Cell Death is Associated with Development of DNA Repair Mechanisms[J]. Neurochem, 2003, 84 (6):1275
- [21] W Cammer. The neurotoxicant, cuprizone, retards the differentiation of oligodendrocytes in vitro [J]. J Neurol Sci, October 15, 1999, 168 (2): 116-120