

## 523 人才项目专栏

## 钇早期暴露对大鼠海马组织生长发育的组织形态学影响

李炳辉<sup>1,4</sup>, 张丽英<sup>2</sup>, 陈晨<sup>3</sup>, 李宁<sup>4</sup>, 张文众<sup>4</sup>, 贾旭东<sup>4</sup>, 李志华<sup>1</sup>

(1. 潍坊医学院公共卫生与管理学院, 山东 潍坊 261000; 2. 济南市第一人民医院儿科, 山东 济南 250013; 3. 中国疾病预防控制中心营养与健康所中心实验室, 北京 100050; 4. 国家食品安全风险评估中心 卫生部食品安全风险评估重点实验室, 北京 100021)

**摘要:**目的 探讨钇早期暴露对大鼠海马组织生长发育的组织形态学影响。方法 基于神经发育毒性模型, 将试验分为4组: 对照、低、中和高剂量组, 染毒剂量分别为0、2、8和32 mg/kg BW(以饲料中钇计), 子鼠从GD0(受孕成功之日)持续暴露至PND70(出生后第70天), 每组随机选取6只子鼠(雌雄各半)的海马组织制作石蜡切片, 用4',6-二脒基-2-苯基咪唑(DAPI)染色、神经特殊染色以及苏木精-伊红(HE)染色法观察海马组织形态结构以及凋亡情况; 通过透射电镜观察海马组织细胞和亚细胞结构。结果 32 mg/kg BW组海马组织胶质细胞凋亡量较对照组明显增多, 差异有统计学意义( $P < 0.05$ ); 海马神经元尼氏体、神经纤维较对照组变化不明显; 32 mg/kg BW组血脑屏障完整性受到破坏, 线粒体脊肿胀、内有致密颗粒物沉积。结论 GD0~PND70钇暴露, 高剂量组(32 mg/kg BW)海马组织胶质细胞凋亡增加, 血脑屏障完整性受到破坏, 线粒体受到氧化损伤。

**关键词:** 钇; 海马组织; 凋亡; 血脑屏障; 线粒体; 稀土元素; 病理; 生长发育; 毒性

中图分类号: R155 文献标志码: A 文章编号: 1004-8456(2016)02-0160-06

DOI: 10.13590/j.cjfh.2016.02.005

### Effect of developmental histomorphology of rat hippocampus after early stage yttrium exposure

LI Bing-hui, ZHANG Li-ying, CHEN Chen, LI Ning, ZHANG Wen-zhong, JIA Xu-dong, LI Zhi-hua  
(Department of Health Toxicology, School of Public Health and Management, Weifang Medical University, Shandong Weifang 261000, China)

**Abstract: Objective** The study aimed to explore the effect of developmental histomorphology of rat hippocampus after early stage yttrium exposure. **Methods** Rats were dietary exposed to yttrium nitrate under one of four doses (0, 2, 8, 32 mg/kg BW, calculated based on  $Y^{3+}$ ) from GD0 to PND70, based on the developmental neurotoxicity. Six offsprings\* (half male and half female) hippocampi per group were selected for histomorphology observation by the method of DAPI stain. Nerve special dyeing and HE staining was applied and subcellular structure was observed by transmission electron microscope. **Results** The amount of hippocampus glial cell apoptosis was significantly increased in 32 mg/kg BW group as compared with the control. No obviously visible change of nerve fiber and neuronal Nissl body in hippocampus was found. However, the impaired integrality of blood-brain barrier, swelling mitochondria and deposit sediment of dense particulate matter were found in 32 mg/kg BW group. **Conclusion** Rats exposed to yttrium of 32 mg/kg BW from GD0 to PND70 caused apoptosis of hippocampus glial cell, the impaired integrality of blood-brain barrier and the oxidative damage of mitochondria.

**Key words:** Yttrium; hippocampus; apoptosis; blood-brain barrier; mitochondria; rare earth; pathology; growth and development; toxicity

随着稀土元素在现代社会各个领域(如农业、

工业和医学等领域)的广泛应用, 稀土元素导致的生物学效应引起了人们的广泛关注。稀土元素进入血液后能够通过血液循环蓄积于多个脏器, 产生毒理学效应<sup>[1-3]</sup>。长期稀土元素暴露能够降低肾脏抗氧化能力, 诱导氧化应激反应, 损伤肾功能<sup>[4]</sup>; 还可诱导肝细胞凋亡, 导致肝功能受损<sup>[5]</sup>。脑毛细血管壁和神经胶质细胞通过形成特殊的屏障, 阻止血液和脑脊液中的有害大分子进入脑组织, 维持内环

收稿日期: 2016-02-01

基金项目: 国家自然科学基金项目(81373009, 81273081); 523 人才项目

作者简介: 李炳辉 男 硕士生 研究方向为卫生毒理学  
E-mail: libinghui02@sina.com

通信作者: 张文众 男 研究员 研究方向为卫生毒理学  
E-mail: zhangwz2002@sina.com

境稳态,起到保护作用。正常状态下,稀土元素离子很难通过血脑屏障,动物实验发现,长期稀土暴露后脑组织中均检测出稀土元素<sup>[6-7]</sup>。吴敏仪等<sup>[8]</sup>认为,高浓度钇暴露能够明显抑制大鼠生长发育,降低学习记忆能力。随着稀土元素暴露的增加,海马神经元凋亡现象更加明显<sup>[9]</sup>。长期稀土暴露能够明显抑制小鼠脑组织  $\text{Ca}^{2+}$ -ATP 酶活性,降低 DNA 浓度,导致微量元素失衡<sup>[10-11]</sup>。WANG 等<sup>[12]</sup>研究发现,小鼠连续暴露氯化铈 90 d 后海马组织细胞肿胀、出血,炎性细胞浸润,组织严重受损。人群研究结果显示<sup>[13-14]</sup>,稀土元素污染区儿童智力较非污染区明显降低。本课题组前期研究发现,低剂量钇对大鼠的学习记忆有促进作用,高剂量会产生损伤效应。海马体是动物学习记忆的中心区域,海马组织结构和功能的改变直接影响机体的学习记忆能力。上述研究提示稀土元素长期暴露可能会影响海马体组织结构的完整性,但是缺乏系统研究和剂量-反应关系研究,钇对神经系统的组织形态学影响鲜见相关报道。

本试验通过神经特殊染色、免疫组化、电镜技术,全面研究大鼠胎儿期至青春期钇暴露对海马体神经元、神经纤维以及细胞、亚细胞结构的影响,从组织形态学角度揭示钇的毒性效应和机制。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

#### 1.1.1 实验动物

试验选取 160 只清洁级成年健康 SD 大鼠,由北京维通利华公司提供[许可证号:SYXK(京)2009-0032],雌性体质量 190 ~ 230 g,雄性体质量 220 ~ 250 g,动物饲养场所由中国疾病预防控制中心动物实验室提供[清洁级动物室,许可证号:SYXK(京)2009-0032],温度范围 20 ~ 24 °C,相对湿度 45% ~ 55%,12 h 明暗交替,自由进食和饮水,适应性喂养一周后用于试验。

80 只雌性 SD 大鼠随机分为 4 组,每组 20 只,饲喂两周后与同龄同品系的雄鼠按 1:1 比例交配,从观察到有阴栓脱落后,开始进行饲料染毒,分为对照、低、中和高剂量组,染毒剂量分别为 0、2、8 和 32 mg/kg BW,染毒至子代 PND21(PND21 指出生第 21 天,以此类推),子鼠从 PND22 开始连续染毒至 PND70。子代大鼠出生日期记为 PND0。

每组随机选取 6 只子代大鼠,雌雄各半,用 1% 戊巴比妥钠腹腔注射麻醉,开胸经左心室插管;快速灌注预冷的生理盐水直至流出液变清亮,以 4% 的多聚甲醛在 30 min 内持续灌注,充分固定后,在

冰上快速分离海马组织,取出的海马组织在 4% 甲醛中继续固定 2 h,然后脱水透明后进行石蜡包埋和切片。

#### 1.1.2 主要仪器与试剂

生物显微镜(日本 Nikon)、荧光显微镜(德国 Leica)、H-7650 型透射电子显微镜(日本 HITACHI)、全自动脱水机、全自动包埋机、半自动石蜡切片机、全自动染色机、全自动封片机。

尼式检测试剂盒、Weil 检测试剂盒、4',6-二脒基-2-苯基喹啉染料(DAPI)均购自华兴创新(北京)科技有限公司,甲醛、二甲苯、4% 多聚甲醛、2.5% 戊二醛和氯仿均为分析醇。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 DAPI 染色检测细胞凋亡

海马组织石蜡切片常规脱蜡、水化,用硫酸盐缓冲液(PBS)洗 5 min;将以上制备好的切片浸泡在 DAPI 染色缸中,避光作用 10 min,用盖玻片封片;置于荧光显微镜下在 359 nm 处以激发光观察结果:DAPI 染色呈蓝白色荧光。早期凋亡细胞呈现核浓缩,染色加深或核染色质呈新月形聚集于核膜一边,晚期凋亡细胞表现为核碎裂成大小不等的圆形小体,并被细胞膜所包绕,即凋亡小体。运用 Image-Pro Plus 软件对凋亡小体染色图像进行半定量分析,检测参数为积分光密度(IOD),IOD 值越大表示视野内凋亡小体量越多。

#### 1.2.2 海马组织神经尼氏染色

将海马组织石蜡切片脱蜡,置入水中;用尼氏染色 A 液涂片,染色 10 ~ 20 min;然后蒸馏水冲洗;用尼氏染色 B 液分化,直到大部分染色被消除(4 ~ 8 s);取出切片放入无水酒精 I、II 中各 2 min,然后取出切片浸入二甲苯 I 和 II 中各处理 2 min,最后用加拿大树胶封片。染色结果:尼氏小体呈紫黑蓝色,神经元呈淡紫蓝色,细胞核呈紫蓝色。Image-Pro Plus 软件对尼氏小体染色图像进行半定量分析,检测参数为 IOD,IOD 值越大表示视野内尼氏小体量越多。

#### 1.2.3 Weil 髓鞘染色

取石蜡切片 15 ~ 20  $\mu\text{m}$ ,脱蜡后蒸馏水洗涤;加入试剂 A 处理 30 min,置于 37 °C 或 60 °C 温箱 10 ~ 30 min,蒸馏水洗涤;以试剂 B 分化(镜下控制区分正常髓鞘与灰质或变性区域)后蒸馏水洗涤;试剂 C 分化(如分化较好此步可省略)后蒸馏水洗涤;最后加入 6 滴试剂 D 处理,充分水洗,进行脱水、透明、封固。染色结果:髓鞘呈黑色,背景呈无色。

#### 1.2.4 海马组织苏木精-伊红(HE)染色

二甲苯脱去切片中的石蜡,分别用梯度为 95%、90%、80%、70% 的酒精浸泡 1 min,再用蒸馏

水冲洗片刻;将蒸馏水冲洗后的切片放入苏木精水溶液中染色数分钟;取出后蒸馏水洗涤,置于盐酸水溶液中分色,各数秒钟;流水冲洗1 h后浸入蒸馏水中片刻;取出切片以70%和90%酒精中各脱水10 min;用酒精伊红染色液染色2~3 min;染色后的切片通过纯酒精脱水,再用二甲苯冲洗使切片至透明;最后以中性树脂胶封片,光镜下观察海马组织的形态结构。

### 1.2.5 透射电子显微镜观察

每组随机选取6只SD大鼠(雌雄各半),用1%戊巴比妥钠腹腔注射麻醉,开胸后经左心室插管,先快速灌注预冷的生理盐水,直至流出液变清亮,继以电镜固定液持续灌注30 min,充分固定后,取出大脑,切取1 mm × 1 mm × 1 mm 海马CA3区组织块,放入2%多聚甲醛-2.5%戊二醛4℃固定2 h;二甲砷酸钠缓冲液(pH=7.2)冲洗3次,每次10 min;1%锇酸4℃固定2 h;固定后的切片用双蒸水冲洗3次,每次10 min;以梯度浓度的酒精进行脱水(以50%、70%、90%的酒精各脱水10 min;然后以100%的酒精脱水15 min,进行2次),环氧树脂

Epon812进行包埋;先做成天青-美兰染色半薄切片(1 μm),用光学显微镜找到海马体;再将海马体的半薄切片制作成超薄切片,最后用醋酸双氧铀/枸橼酸铅染色。透射电子显微镜下观察海马体细胞和亚细胞结构。

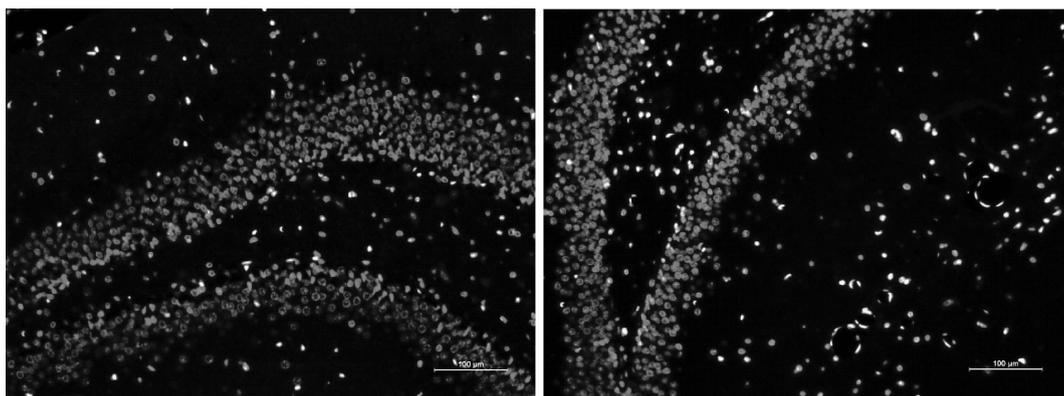
### 1.3 统计学分析

Office 2010 汇总整理校核数据,结果以“平均值 ± 标准差”表示( $\bar{x} \pm s$ ),用SPSS 18.0进行组间差异的方差分析,方差齐时用LSD方法,方差不齐时用Games-Howell方法检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果与分析

### 2.1 海马组织细胞凋亡研究结果

高剂量组(32 mg/kg BW)大鼠海马神经胶质细胞核固缩现象明显,染色加深,核染色质呈新月形聚集于核膜一边,见图1;随着硝酸钷暴露剂量的增加,高剂量组海马组织细胞凋亡数量与对照组相比明显增多,均有差异统计学意义( $P < 0.05$ ),见表1。



对照组(0 mg/kg BW, ×200)

高剂量组(32 mg/kg BW, ×200)

注:低、中剂量组海马体细胞凋亡结果较对照组无明显变化,故图略

图1 海马组织细胞凋亡图

Figure 1 Hippocampus cell apoptosis

表1 不同浓度硝酸钷暴露组海马凋亡小体IOD值的比较( $\bar{x} \pm s, n=6$ )

Table 1 IOD of apoptosis body in different groups

分组	IOD值
对照组(0 mg/kg BW)	10.48 ± 1.25
低剂量组(2 mg/kg BW)	9.89 ± 2.01
中剂量组(8 mg/kg BW)	10.72 ± 2.21
高剂量组(32 mg/kg BW)	12.13 ± 3.97*

注:\*表示该组数据与对照组比较,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )

## 2.2 神经特殊染色结果分析

### 2.2.1 钷对尼氏小体的影响

光镜下尼氏体呈紫黑蓝色颗粒或斑块状,对照组(0 mg/kg BW)海马神经元胞浆内斑块状尼氏小体丰富,神经元排列整齐,见图2;高剂量组(32 mg/kg BW)尼氏小体较对照组(0 mg/kg BW)略有减

少,差异无统计学意义( $P > 0.05$ ),见表2。

### 2.2.2 钷对神经纤维的影响

各剂量组神经纤维完整,粗细均匀,排列紧密,较对照组无明显差别,见图3。

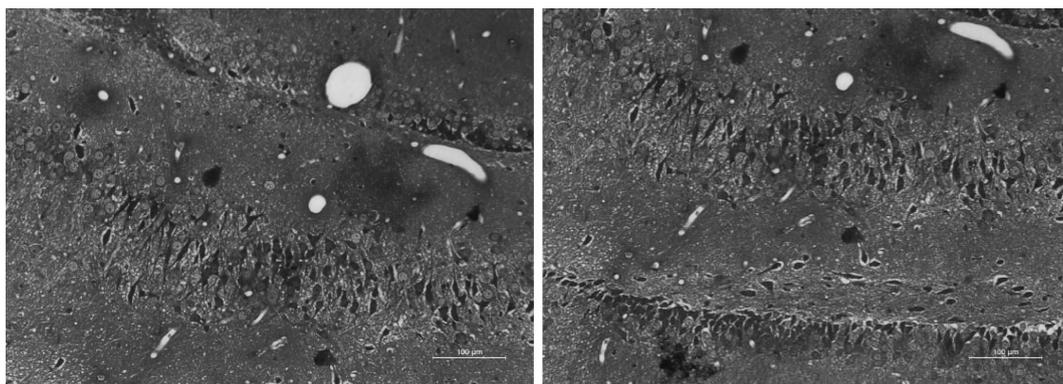
## 2.3 海马组织病理学分析

光学显微镜下观察发现,各剂量组海马神经元形态基本完整,分布规则,数目无明显变化,细胞核未见明显异常,与对照组相比均无明显变化。

## 2.4 海马神经元亚细胞结构观察结果

### 2.4.1 血脑屏障

对照组(0 mg/kg BW)血脑屏障完整,高剂量组(32 mg/kg BW)部分血脑屏障不完整,星型胶质细胞细胞器固缩,出现髓样变性,部分血脑屏障周围



对照组(0 mg/kg BW, ×200)

高剂量组(32 mg/kg BW, ×200)

注:低、中剂量组海马神经元胞浆内尼氏体染色结果较对照组无明显变化,故图略

图2 海马尼氏小体染色图

Figure 2 Observation on Nissl's body stain in hippocampus

表2 不同浓度硝酸钷暴露组海马尼氏小体 IOD 值的比较 ( $\bar{x} \pm s, n = 6$ )

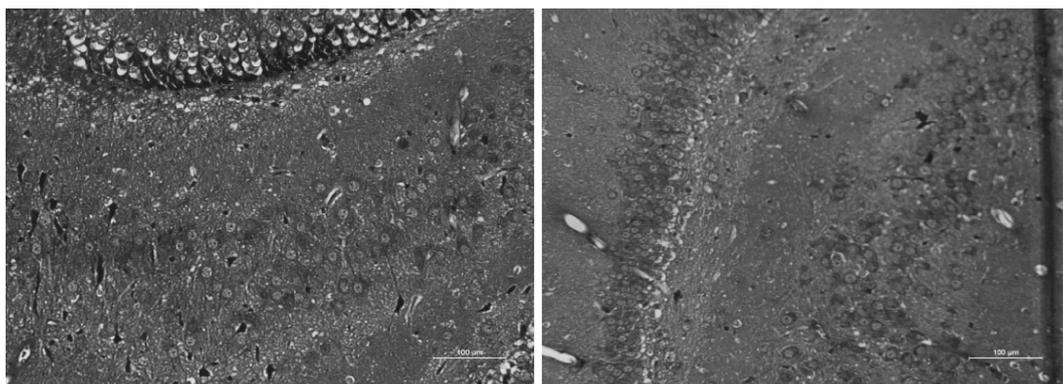
Table 2 IOD of Nissl's body in different groups

分组	IOD 值
对照组(0 mg/kg BW)	118 ± 3.48
低剂量组(2 mg/kg BW)	123 ± 3.31
中剂量组(8 mg/kg BW)	120 ± 2.98
高剂量组(32 mg/kg BW)	115 ± 3.02

可见髓样体,见图4。

#### 2.4.2 线粒体

高剂量组(32 mg/kg BW)线粒体电子密度增加;双层膜不完整,模糊不清或断裂;脊间质电子密度增加,小的黑色颗粒沉积,大的黑色颗粒聚集。脊扩张,双层膜消失,见图5。



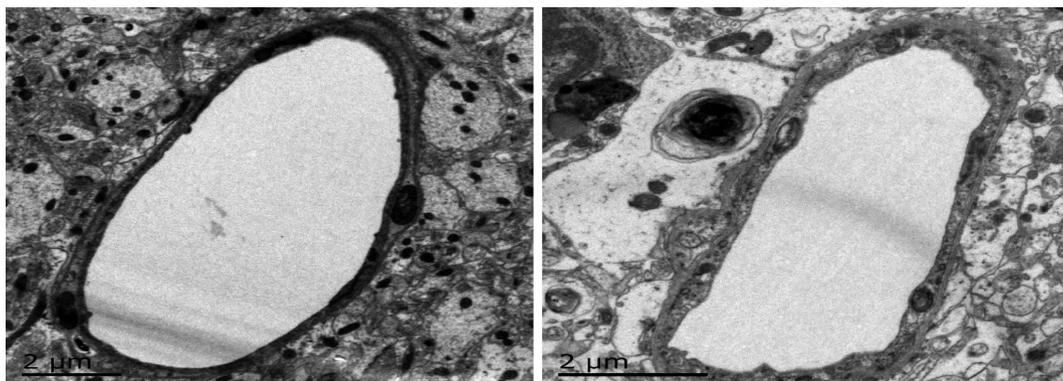
对照组(0 mg/kg BW, ×200)

高剂量组(32 mg/kg BW, ×200)

注:低、中剂量组海马神经纤维染色结果较对照组无明显变化,故图略

图3 Weil法神经纤维染色图

Figure 3 Weil stain in nerve fibers



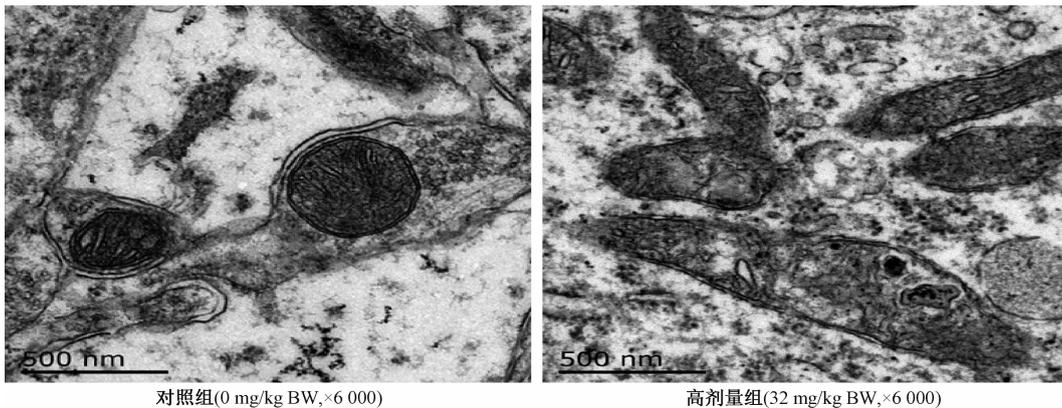
对照组(0 mg/kg BW, ×1 000)

高剂量组(32 mg/kg BW, ×1 500)

注:低、中剂量组血脑屏障较对照组无明显变化,故图略

图4 海马体血脑屏障电镜图

Figure 4 Ultra microstructure of hippocampus blood-brain barrier



对照组(0 mg/kg BW, ×6 000)

高剂量组(32 mg/kg BW, ×6 000)

注:低、中剂量组海马神经元内线粒体较对照组无明显变化,故图略

图5 海马体线粒体电镜图

Figure 5 Ultra microstructure of mitochondria

### 3 讨论

大鼠长期进行腹腔注射、静脉注射以及经口灌胃稀土溶液后均可在脑内检测出稀土元素<sup>[15-18]</sup>。戚大煜等<sup>[19]</sup>发现,雌鼠哺乳期稀土元素镧暴露能够明显抑制子鼠大脑的发育。小鼠连续给予铈 60 d,海马神经元出现明显凋亡现象<sup>[9]</sup>。章子贵等<sup>[20]</sup>研究发现,小鼠学习记忆能力随钐暴露浓度的增加而逐渐降低。血脑屏障位于脑毛细血管壁和神经胶质细胞之间,能够阻止有害物质侵入,维持脑组织内环境稳态,保证中枢神经系统正常结构和功能。朱为方等<sup>[21]</sup>通过流行病学调查以及动物实验认为,成人稀土日允许摄入量为 0.07 mg/kg BW 较为合适。故本次研究选取 0、2、8 和 32 mg/kg BW 作为染毒剂量,结果显示高剂量组(32 mg/kg BW)大鼠海马组织血脑屏障出现明显的损伤,神经胶质细胞凋亡明显增加,提示生命早期持续的钐暴露可能通过损伤血脑屏障,蓄积于脑组织,诱导海马组织细胞凋亡,导致学习记忆能力降低。

长期稀土暴露能够明显降低鼠脑组织抗氧化能力,导致脑内活性氧增多,脂质过氧化加剧,出现氧化应激现象,诱导海马组织细胞凋亡<sup>[19,22-23]</sup>。动物实验发现,小鼠学习记忆能力降低和脑组织氧化损伤密切相关<sup>[24]</sup>。线粒体通路是细胞凋亡调控的主要信号通路,线粒体膜通透性转换孔(mPTP)在细胞凋亡和神经变性过程中起着重要的作用,mPTP过度开放会导致细胞基质肿胀、外膜破裂、膜间隙内物质(细胞色素 C 等)释放到细胞质中,释放出的凋亡因子能够激活胞内含半胱氨酸的天冬氨酸蛋白水解酶(caspase),活化的凋亡蛋白酶 caspase 反作用于线粒体,促进细胞色素 C 的释放,破坏电子传递链,诱导氧化应激,引起典型的凋亡反应<sup>[25-27]</sup>。本次研究发现,钐高剂量组(32 mg/kg BW)大鼠海

马神经元线粒体受损情况明显,提示钐可能通过损伤线粒体诱导细胞凋亡。线粒体基质内出现黑色致密颗粒物,可能是由钙离子沉积引起的。HE 等<sup>[28]</sup>发现,长期镧暴露能够诱导大鼠海马细胞内  $Ca^{2+}$  浓度升高,同时伴随着  $Ca^{2+}$ -ATP 酶活性降低。 $Ca^{2+}$  是细胞内重要的第二信使,在线粒体损伤和细胞凋亡调控中起着至关重要的作用<sup>[29]</sup>。

综上所述,生长发育早期的钐暴露导致海马体的血脑屏障损伤和线粒体破坏,提示氧化损伤是钐的重要毒性作用机制之一。

### 参考文献

- [1] 宋雁,刘兆平,贾旭东. 稀土元素的毒理学安全性研究进展[J]. 卫生研究,2013,42(5):885-892.
- [2] 刘建国,王素华,武婧,等. 稀土元素生物效应研究进展[J]. 中国职业医学,2015(3):335-337.
- [3] CHENG J, LI N, CAI J, et al. Organ histopathological changes and its function damage in mice following long-term exposure to lanthanides chloride[J]. Biol Trace Elem Res, 2012, 145(3): 361-368.
- [4] ZHAO H, HONG J, YU X, et al. Oxidative stress in the kidney injury of mice following exposure to lanthanides trichloride[J]. Chemosphere, 2013, 93(6): 875-884.
- [5] ZE Y, CHENG J, CAI J, et al. The impairment of liver DNA conformation and liver apoptosis of mice caused by  $CeCl_3$  [J]. Biol Trace Elem Res, 2011, 143(1): 437-445.
- [6] 杨维东,刘洁生,申治国,等. 稀土元素钐对子代小鼠体内痕量元素的影响[J]. 卫生研究,2003,32(5):427-429.
- [7] 陈祖义. 稀土的动物脏器蓄积与射线的内照射[J]. 中国稀土学报,2002(S1):176-180.
- [8] 吴敏仪,张萍,杨维东,等. 长期喂饮钐对子代大鼠生长发育及学习记忆能力的影响[J]. 卫生研究,2006,35(3): 283-285.
- [9] CHENG Z, LI N, CHENG J, et al. Signal pathway of hippocampal apoptosis and cognitive impairment of mice caused by cerium chloride[J]. Environ Toxicol, 2012, 27(12): 707-718.
- [10] FENG L, XIAO H, HE X, et al. Long-term effects of lanthanum

- intake on the neurobehavioral development of the rat [ J ]. Neurotoxicol Teratol, 2006, 28(1) : 119-124.
- [ 11 ] FENG L, XIAO H, HE X, et al. Neurotoxicological consequence of long-term exposure to lanthanum [ J ]. Toxicol Lett, 2006, 165(2) : 112-120.
- [ 12 ] WANG X, SU J, ZHU L, et al. Hippocampal damage and alterations of inflammatory cytokine expression in mice caused by exposure to cerium chloride [ J ]. Arch Environ Contam Toxicol, 2013, 64(4) : 545-553.
- [ 13 ] 朱为方, 张辉, 邵萍萍, 等. 稀土区儿童智商调查研究——赣南稀土区生物效应研究 [ J ]. 科学通报, 1996(10) : 914-916.
- [ 14 ] 范广勤, 郑辉烈, 袁兆康. 稀土暴露对儿童智商的影响 [ J ]. 环境与健康杂志, 2005, 22(4) : 256-258.
- [ 15 ] FENG L, HE X, XIAO H, et al. Ytterbium and trace element distribution in brain and organic tissues of offspring rats after prenatal and postnatal exposure to ytterbium [ J ]. Biol Trace Elem Res, 2007, 117(1/3) : 89-104.
- [ 16 ] XIAO H, ZHANG Z, LI F, et al. Accumulation and distribution of samarium-153 in rat brain after intraperitoneal injection [ J ]. Biol Trace Elem Res, 2005, 104(1) : 33-40.
- [ 17 ] XIAO H, LI F, ZHANG Z, et al. Distribution of ytterbium-169 in rat brain after intravenous injection [ J ]. Toxicol Lett, 2005, 155(2) : 247-252.
- [ 18 ] 陈祖义, 刘玉, 程薇, 等. 稀土元素<sup>147</sup>Pm、<sup>141</sup>Ce、<sup>147</sup>Nd的环境毒理研究 [ J ]. 农村生态环境, 2002, 18(4) : 52-55.
- [ 19 ] 戚大煜, 蔡原, 巫生文. 哺乳期母鼠镧暴露对子代脑组织氧化损伤影响 [ J ]. 中国公共卫生, 2009(6) : 704-705.
- [ 20 ] 章子贵, 陈燕珍, 申秀英, 等. 稀土元素钆对小鼠学习记忆的影响及其脑内机制 [ J ]. 浙江师范大学学报, 2007, 30(3) : 322-325.
- [ 21 ] 朱为方, 徐素琴, 邵萍萍, 等. 赣南稀土区生物效应研究——稀土日允许摄入量 [ J ]. 中国环境科学, 1997(1) : 65-68.
- [ 22 ] ZHAO H, CHENG Z, HU R, et al. Oxidative injury in the brain of mice caused by lanthanide [ J ]. Biol Trace Elem Res, 2011, 142(2) : 174-189.
- [ 23 ] CHENG Z, ZHAO H, ZE Y, et al. Gene-expression changes in cerium chloride-induced injury of mouse hippocampus [ J ]. PLoS One, 2013, 8(4) : e60092.
- [ 24 ] HU D, Serrano F, Oury T D, et al. Aging-dependent alterations in synaptic plasticity and memory in mice that overexpress extracellular [ J ]. J Neurosci, 2006, 26(15) : 3933-3941.
- [ 25 ] 朱玉山, 陈俭. 线粒体与细胞凋亡调控 [ J ]. 生命科学, 2008, 20(4) : 506-513.
- [ 26 ] Kinnally K W, Peixoto P M, Ryu S Y, et al. Is mPTP the gatekeeper for necrosis, apoptosis, or both? [ J ]. Biochim Biophys Acta, 2011, 1813(4) : 616-622.
- [ 27 ] Atlante A, Calissano P, Bobba A, et al. Glutamate neurotoxicity, oxidative stress and mitochondria [ J ]. FEBS Lett, 2001, 497(1) : 1-5.
- [ 28 ] HE X, ZHANG Z, ZHANG H, et al. Neurotoxicological evaluation of long-term lanthanum chloride exposure in rats [ J ]. Toxicol Sci, 2008, 103(2) : 354-361.
- [ 29 ] 张帅, 崔隽, 沈萍萍. 细胞凋亡中的钙离子调控 [ J ]. 细胞生物学杂志, 2007, 29(6) : 785-790.

## · 资讯 ·

### 日本修订食品卫生法实施规则和食品及添加剂规范标准

2015年7月29日,日本厚生劳动省发布食安发0729第2号公告,修订食品卫生法实施规则、食品及添加剂规范标准,主要修订内容包括:(1)鉴于经过杀菌已杀灭了原材料中存在或可能经过繁殖后存在的微生物,效果与低于10℃储存温度的效果相当,因此修订对矿泉水类、冷冻水果饮料及原料用果汁以外的清凉饮料的储存温度要求;(2)修订非加热肉类产品、特定加热食肉制品及加热肉类产品中的沙门氏菌标准和硫化氢使用标准。(3)根据食品卫生法第11条第1项的规定,修订食品中葡萄糖酸锌及酸钙的使用标准,并修改硅酸钙及二氧化硅的使用标准。该公告自发布之日起生效。(来源:中国饮料工业协会网)

(相关链接:<http://www.chinabeverage.org/standard/show/detail.php?id=6783>)