

氟化钠的体外遗传毒性

周谔¹, 张素慧^{1,2}, 程小芹¹, 李睿¹, 周志俊², 唐黎明¹

摘要: [目的] 研究氟化钠对小鼠淋巴瘤细胞(L5178Y TK^{+/−3.7.2c})微核的影响及其对中国仓鼠肺成纤维细胞(CHL)细胞染色体畸变及细胞凋亡的影响。[方法] 以灭菌注射用水为阴性对照, 采用胞质分裂阻滞微核细胞组学试验法, 并以丝裂霉素(0.1 μg/mL)为阳性对照, 研究氟化钠3个浓度组(100、75与50 μg/mL)对L5178Y TK^{+/−3.7.2c}细胞总微核率、核分裂指数、核质桥发生率、核芽突发生率与含核突芽的双核细胞数/含I型微核与含II型微核的双核细胞数值的影响。以空白细胞为阴性对照, 丝裂霉素(0.2 μg/mL)为阳性对照, 氟化钠以600、360、216和130 μg/mL的浓度作用于CHL细胞, 以观察其对CHL细胞致突变的作用。用流式细胞仪AnnexinV/PI双染法检测氟化钠对CHL细胞凋亡的影响。[结果] 与阴性对照组的相比: ①阳性对照组(丝裂霉素, 0.1 μg/mL)和75、100 μg/mL氟化钠组L5178Y TK^{+/−3.7.2c}细胞微核率明显升高($P<0.05$), 且氟化钠三个浓度的氟化钠染毒组细胞核质桥发生率、含核突芽的双核细胞数/含I型微核与含II型微核的双核细胞数值均升高($P<0.01$); ②阳性对照组(丝裂霉素, 0.2 μg/mL)CHL细胞畸变率明显升高($P<0.05$); 氟化钠各染毒组畸变率差异无统计学意义($P>0.05$), 其早期凋亡率随染毒浓度的增加而上升($r=0.814$, $P<0.05$)。[结论] 氟化钠对L5178Y TK^{+/−3.7.2c}细胞染色体具有损伤作用, 对CHL细胞没有致突变作用, 可以诱导CHL细胞的早期凋亡, 呈现剂量相关性。

关键词: 氟化钠; 胞质分裂阻滞; 微核; 染色体畸变; 细胞凋亡

In vitro Genotoxicity of Sodium Fluoride ZHOU Su¹, ZHANG Su-hui^{1,2}, CHENG Xiao-qin¹, LI Rui¹, ZHOU Zhi-jun², TANG Li-ming¹ (1.Shanghai Institute for Drug and Food Control, Shanghai 201203, China; 2.School of Public Health, Fudan University, Shanghai 200032, China). Address correspondence to TANG Li-ming, E-mail: tangliming@smda.gov.cn · The authors declare they have no actual or potential competing financial interests.

Abstract: [Objective] To assess the effects of sodium fluoride (NaF) on mouse lymphoma cells (L5178Y TK^{+/−3.7.2c}) micronucleus and on chromosome aberration and apoptosis of China hamster lung fibroblast cells (CHL). [Methods] L5178Y TK^{+/−3.7.2c} cells were treated with sterile water for injection (negative control), mitomycin (0.1 μg/mL) (positive control), and NaF (100, 75, and 50 μg/mL) to evaluate frequency of micronuclei, nuclei division index, nucleoplasmic bridges rate, nuclei buds rate, and nucleoplasmic bridges/micronuclei ratio. CHL cells were treated with blank (negative control), mitomycin (0.2 μg/mL) (positive control), and NaF (130, 216, 360, and 600 μg/mL) to evaluate selected mutagenic effects. AnnexinV/PI double staining method was applied for detecting cell apoptosis induced by NaF. [Results] Compared with the negative control group: ① For L5178Y TK^{+/−3.7.2c} cells, the positive control group treated with 0.1 μg/mL mitomycin and the NaF groups treated with 75 μg/mL and 100 μg/mL had higher frequencies of micronuclei ($P<0.05$), and the three NaF groups showed elevated nucleoplasmic bridge rates and nucleoplasmic bridge/micronuclei ($P<0.01$); ② For CHL cells, the positive control group treated with 0.2 μg/mL mitomycin had statistical differences in chromosome aberration ($P<0.05$); no significant difference of chromosome aberration was observed in the CHL cells exposed to various NaF concentrations ($P>0.05$), and the early apoptosis rate rose with elevated concentrations of NaF ($r=0.814$, $P<0.05$). [Conclusion] NaF could damage L5178Y TK^{+/−3.7.2c} cell chromosome. NaF shows no mutagenic effect on CHL cells, but could induce CHL cell apoptosis in a dose-dependent manner.

Key Words: sodium fluoride; cytokinesis-block; micronuclei; chromosome aberration; cell apoptosis

DOI: 10.13213/j.cnki.jeom.2015.15188

[作者简介] 周谔(1987—), 男, 硕士生, 药师; 研究方向: 药理毒理;

E-mail: hello-world-zhou@163.com

[通信作者] 唐黎明, E-mail: tangliming@smda.gov.cn

[作者单位] 1.上海市食品药品检验所, 上海 201203; 2.复旦大学公共卫生学院, 上海 200032

氟普遍分布于自然界, 是人所必需的微量元素。自1945年以来, 氟化物(氟化钠, NaF)已被广泛用于工农业生产、医药及生活用品中, 人们越来越多地暴露于高氟环境中。因此, 氟的安全性问题引起了人们的关注^[1]。有文献报道NaF具有潜在的遗传毒性, 可

使小鼠骨髓嗜多染红细胞微核率及紫露草花粉母细胞微核率均升高^[2], NaF还可致大鼠软骨细胞DNA损伤^[3];也有研究证实2~4 mmol/L NaF暴露可诱导人神经细胞凋亡^[4],同时氟暴露也可使人外周血淋巴细胞DNA链断裂,彗星发生率增加,细胞凋亡率升高^[5]。职业性氟接触女性肿瘤发病率升高,肿瘤发病年龄提前,提示氟可能是一种潜在的致癌物;氟可致实验小鼠染色体畸变、体外培养的人淋巴细胞细胞凋亡、DNA损伤,具有明显的遗传损伤效应,可能与肿瘤发生有关^[6]。为了检测化学物的遗传毒性和潜在致癌性,所采用的方法应简单、快速、经济、敏感和重复性强,而以体外培养的哺乳动物细胞系作为实验对象,正具备着这些特点。

经济合作与发展组织(Organization for Economic Co-operation and Development, OECD)于2014年颁布胞质分裂阻滞微核细胞组学试验法(CBMN)的指导原则^[7],用国际通用的TK位点基因突变试验的标准靶细胞系小鼠淋巴瘤细胞(L5178Y TK^{+/-3.7.2c})为靶细胞进行微核试验,可以令受试物直接作用于靶细胞,克服了体内骨髓微核试验中某些受试物不能在骨髓内达到引起诱变效应的足够浓度而导致假阴性的缺点,从而更客观地揭示受试物的潜在致突变性;而且哺乳类细胞在细胞结构、分化、代谢模式及DNA修复能力等方面更接近人类,故结果比微生物试验有更大意义^[8]。鉴于此,采用CBMN研究NaF对L5178Y TK^{+/-3.7.2c}细胞总微核率、核分裂指数、核质桥发生率、核芽突发生率与NPB/MN(含核突芽的双核细胞数/含I型微核与含II型微核的双核细胞数)值的影响。微核也是细胞凋亡的产物,当程序性死亡基因激活,随之Ca²⁺依赖性内切酶激活,切割DNA,形成细胞核碎片,形态学表现为核深染,染色质边缘分布的帽形核,最后导致微核形成^[9]。

Ishidate自1977年起成功地应用中国仓鼠肺成纤维细胞(CHL)细胞系统来检测环境中的化学物,发现不少新的诱变剂^[10],同时CHL细胞是OECD推荐的进行染色体畸变试验的细胞^[9],故选择其进行NaF的体外细胞染色体畸变试验。微核是真核生物细胞中的一种异常结构,通常认为是在有丝分裂后期由丧失着丝粒的染色体断片产生的,是染色体畸变在间期细胞中的一种表现形式。畸变反应过于敏感带来了某些局限性,如药剂和试验条件造成染色体黏连而分散不佳,或中期细胞太少,降低了分析的可靠性。将微核

技术和染色体畸变技术相结合来检测生物遗传物质的损伤具有简便、迅速的优点,可弥补畸变分析的不足之处^[11]。氟化物对哺乳动物细胞确有细胞毒性,以剂量依赖的方式抑制细胞生长、蛋白质合成,并诱导细胞凋亡^[12]。此外,近年来国内外学者对NaF的体内遗传毒性进行了大量的研究,而体外遗传毒性研究却不常见。体外实验经方法改进和计数自动化的逐步实现,除去了一些造成假阳性和影响实验结果准确性的人为因素,实验结果的可靠性不断增加,方法已较为成熟。因此,本试验结合体外微核、体外染色体畸变及体外细胞凋亡来研究NaF的体外遗传毒性。

1 材料与方法

1.1 细胞株、试剂及仪器

L5178Y TK^{+/-3.7.2c}、CHL均购自中科院上海细胞库。NaF(含量≥98.0%,国药集团化学试剂有限公司);RPMI-1640培养液、马血清、新生牛血清(美国Gibco公司);丝裂霉素、0.25%胰酶、细胞松弛素B、姬姆萨(Giemsa)、二甲基亚砷(DMSO)(美国Sigma公司);AnnexinV/PI双染试剂盒(美国BD公司);灭菌注射用水(中国上海福达制药有限公司);氯化钾、甲醇、冰乙酸(国药集团化学试剂有限公司)。CO₂培养箱(Thermo Electron 3121,美国Thermo公司),显微镜(Axio Scope A1,德国Zeiss公司),流式细胞仪(C6,美国BD公司)。

1.2 细胞培养

1.2.1 L5178Y TK^{+/-3.7.2c}细胞的培养 L5178Y TK^{+/-3.7.2c}细胞接种于含10%(体积分数)马血清的RPMI-1640培养基中,培养条件为37℃、5%CO₂加湿培养,2~3d传代一次。选取对数生长期的细胞进行试验。

1.2.2 CHL细胞的培养 CHL细胞接种于含10%(体积分数)新生牛血清的RPMI-1640培养基中,培养条件为37℃、5%CO₂加湿培养。试验开始前复苏细胞,0.25%胰蛋白酶消化传代,选取对数生长期的细胞进行试验。

1.3 体外微核试验

参考OECD487方法^[9]与Fenech方法^[13-14],L5178Y TK^{+/-3.7.2c}细胞以每孔1×10⁶个接种于6孔培养板,补加培养基至5 mL,加不同浓度的受试物共同培养4 h后,再加入40 μL细胞松弛素B(4.5 μg/mL),轻轻混匀,继续培养至24 h。以灭菌注射用水为阴性对照,并以丝裂霉素(0.1 μg/mL)为阳性对照,受试物溶于灭菌

注射用水,选取NaF对L5178Y TK^{+/-3.7.2c}细胞的 IC_{50} 值为最高剂量(100 μ g/mL),下设75、50 μ g/mL两个剂量,加样体积均为100 μ L,每组均为双复孔。收获细胞,测定细胞浓度,细胞悬液于200 $\times$ g离心5 min,弃上清,加入37 $^{\circ}$ C预温的0.075 mol/L氯化钾5 mL低渗3 min,低渗结束加预冷(2~8 $^{\circ}$ C)的固定液(甲醇:冰醋酸=3:1)2 mL,吹打混匀,离心,弃上清,加入5 mL固定液,吹打混匀,固定40 min,离心,弃上清,加入上述固定液几滴,充分吹打混匀,将细胞悬液滴在预冻的玻片上,每孔滴2张玻片,晾干,用Giemsa染液[Giemsa原液:磷酸盐缓冲液(PBS)=1:6]染色30 min,细流水冲洗,晾干,二甲苯透明,封片,镜检。

在光学显微镜($\times 1000$ 倍)下观察并计数500个细胞,分别计数其中单核、双核、三核、四核细胞的数量,每个剂量组计数2000个双核细胞中出现I型微核、II型微核、核质桥及核芽突的数量,并按以下公式计算微核率、核分裂指数、核质桥发生率、核芽突发生率与NPB/MN值。核分裂指数= $(M1+2M2+3M3+4M4)/$ 至少500个细胞总数, $M1\sim M4$ 代表有1~4个细胞核的细胞数量。总微核率=(含I型微核与含II型微核的双核细胞数/至少1000个双核细胞总数) $\times 1000\%$ 。核质桥发生率=(含核质桥的双核细胞数/至少1000个双核细胞总数) $\times 1000\%$ 。核芽突发生率=(含核芽突的双核细胞数/至少1000个双核细胞总数) $\times 1000\%$ 。NPB/MN值=含核芽突的双核细胞数/含I型微核与含II型微核的双核细胞数。

1.4 体外染色体畸变试验

参考OECD473方法^[15],选取对数生长期的细胞,0.25%胰蛋白酶消化传代,按每10 mL培养液接种 $(1.5\sim 1.7) \times 10^6$ 个细胞[细胞培养皿规格:100 mm $\times$ 150 mm;细胞终浓度: $(1.5\sim 1.7) \times 10^5$ 个/mL],培养过夜。次日,根据药物遗传毒性研究技术指导原则^[16]对体外哺乳动物细胞染色体畸变试验剂量设置的要求,选取NaF对CHL细胞的 IC_{50} 值为最高剂量(600 μ g/mL),下设360、216、130 μ g/mL三个剂量,以灭菌注射用水为阴性对照,并以丝裂霉素(0.2 μ g/mL)为阳性对照。培养6 h后,PBS洗涤细胞3次,重新加入含有10%(体积分数)小牛血清的RPMI-1640培养液10 mL,培养至24 h。在细胞收获前4 h,每皿加入浓度为20 μ g/mL的秋水仙素0.1 mL,使秋水仙素的终浓度为0.2 μ g/mL。秋水仙素处理后,弃去培养液,加

0.25%胰酶-乙二胺四乙酸(EDTA)消化细胞后加适量RPMI-1640 10%小牛血清至10 mL细胞悬液。取0.5 mL细胞悬液计数活细胞数。取剩下的细胞悬液离心后经0.075 mol/L氯化钾低渗、固定、滴片,干燥后Giemsa染色,干燥后封片。在油镜下观察,每组观察200个分散良好的中期分裂相细胞。记录染色体结构畸变细胞数和畸变类型。畸变类型包括断裂、缺失、交换、环状、三辐体、四辐体、粉碎等。裂隙和染色体数目畸变(如多倍体和内复制)不计入畸变率中。畸变率=(出现结构畸变染色体细胞/观察细胞数) $\times 100\%$ 。

1.5 流式细胞仪AnnexinV/PI双染法检测NaF对CHL细胞凋亡的影响

细胞培养方法同“1.4”。次日,加入不同浓度含NaF的培养液,使其终浓度为600、360、216和130 μ g/mL,阴性对照组只加入培养液。培养4 h后,PBS洗涤细胞3次,重新加入含有10%(体积分数)小牛血清的RPMI-1640培养液10 mL,培养至24 h。收集上清液,以不含EDTA的胰酶消化细胞,合并上清液及消化的细胞悬液。冷PBS洗涤细胞两次后,以1 $\times$ Binding-Buffer重悬细胞至 1×10^6 /mL。吸取100 μ L细胞进行标记,加入5 μ L AnnexinV-FITC和5 μ L PI,混匀细胞后室温下避光孵育15 min。每管中另加400 μ L标记缓冲液,1 h内上样。

1.6 统计学分析

实验数据以均数 $\pm$ 标准差表示。采用SPSS 12.0统计软件进行数据分析。多组数据的组间比较,对于正态分布资料采用单因素方差分析,对非正态分布资料则采用非参数检验Kruskal-Wallis分析。另外,使用卡方检验及Bonferroni校正的Post hoc检验多组数据间的两两比较。检验水准 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 L5178Y TK^{+/-3.7.2c}细胞

2.1.1 核分裂指数和总微核率 各组核分裂指数均 >1.3 ,且相对阴性对照抑制率大部分为0,说明受试物对细胞的增殖无影响;与阴性对照组比较,阳性对照组(丝裂霉素)的总微核率明显升高,差异具有统计学意义,证明试验系统成立。NaF(75、100 μ g/mL)可使L5178Y TK^{+/-3.7.2c}细胞的总微核率增加,差异具有统计学意义($P<0.05$),见表1。

表1 NaF对L5178Y TK^{+/-3.7.2c}细胞的抑制率、核分裂指数和总微核率的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	抑制率(%)	核分裂指数	总微核率(‰)
阴性对照组	—	1.63 ± 0.05	25 ± 6
阳性对照组(丝裂霉素)	0	1.52 ± 0.06	150 ± 11**
NaF(μg/mL)			
100	5.3	1.49 ± 0.03	47 ± 6*
75	0	1.51 ± 0.04	52 ± 9*
50	0	1.56 ± 0.08	39 ± 7

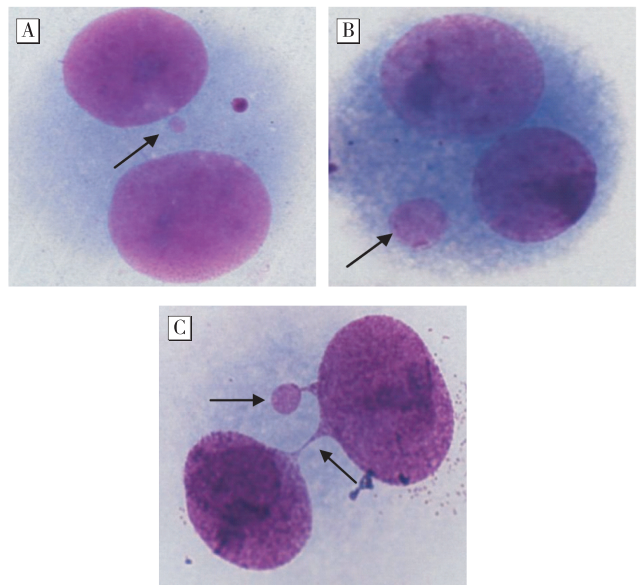
[注]与阴性对照组比较,*: $P<0.05$; **: $P<0.01$ 。

2.1.2 细胞核质桥、核芽突发生率与NPB/MN值 与阴性对照组比较,50~100 μg/mL NaF均可使L5178Y TK^{+/-3.7.2c}细胞的核质桥发生率、NPB/MN值明显增加,差异具有统计学意义($P<0.01$),见表2,经NaF处理后的L5178Y TK^{+/-3.7.2c}细胞产生了不同种类的细胞微核见图1。

表2 NaF对L5178Y TK^{+/-3.7.2c}细胞核质桥、核芽突发生率与NPB/MN值的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	核质桥发生率(‰)	核芽突发生率(‰)	NPB/MN值
阴性对照组	1 ± 1	14 ± 2	0.04 ± 0.03
阳性对照组(丝裂霉素)	1 ± 1	17 ± 3	0.01 ± 0.01
NaF(μg/mL)			
100	33 ± 5*	19 ± 2	0.72 ± 0.14*
75	30 ± 3*	22 ± 4	0.59 ± 0.09*
50	22 ± 3*	15 ± 4	0.60 ± 0.15*

[注]*:与阴性对照组比较, $P<0.01$ 。



[注]A: I型微核(箭头所指); B: II型微核(箭头所指); C: 核质桥、核芽突(箭头所指)。

图1 经NaF处理后的产生的各类细胞微核(×1000)

2.2 CHL细胞染色体畸变、细胞凋亡

NaF在各个剂量组(600、360、216和130 μg/mL)对CHL细胞染色体没有致畸变作用;可以诱导CHL细胞的早期凋亡,随剂量增加凋亡细胞的比例逐渐增加,且呈现剂量相关性($r=0.814$, $P<0.05$),见表3。

表3 NaF体外哺乳动物细胞染色体畸变、细胞凋亡试验结果

组别	畸变率(%)	早期凋亡率(%, 均值 ± SD)
阴性对照组	1.0	6.95 ± 0.78
阳性对照组(丝裂霉素)	19.0*	—
NaF(μg/mL)		
600	1.0	35.35 ± 4.45*
360	0.0	34.75 ± 2.76*
216	0.0	26.05 ± 2.76*
130	0.0	12.7 ± 2.26

[注]*:与阴性对照组比较, $P<0.05$ 。

3 讨论

本研究将不同剂量的NaF作用于L5178Y TK^{+/-3.7.2c}细胞,发现在50~100 μg/mL浓度下NaF可诱导细胞微核率升高、核质桥发生率增加,根据Thomas等^[17]的研究,NPB/MN值可作为判断遗传毒物类型的重要指标,一般非整倍体诱发剂的NPB/MN值接近于0,诱裂剂的NPB/MN值可能接近1。本试验中NaF各剂量组的NPB/MN值明显较阴性对照组与阳性对照组高,超过0.5,表明NaF对细胞有丝分裂后期染色体中DNA有所损伤。

研究报道NaF可以诱导细胞凋亡,如NaF可以诱导睾丸间质细胞的凋亡^[18],NaF可以诱导诱导人神经母细胞瘤SH-SY5Y细胞凋亡^[19],NaF也可通过调节Bcl-2 mRNA表达和抑制α-醋酸萘酚酯酶活性来抑制THP-1细胞增殖并诱导其凋亡^[20]。本研究也表明NaF可以诱导CHL细胞的凋亡,且随着剂量的增加,诱导效应增强。

本研究发现NaF不引起CHL细胞染色体畸变,而会使L5178Y TK^{+/-3.7.2c}细胞微核率明显升高,这些可能由于L5178Y TK^{+/-3.7.2c}细胞对诱变剂的细胞毒性有较高的耐受性^[9],而对诱变剂的细胞毒性耐受相对较低的CHL细胞则因为细胞染色质浓缩、DNA被破坏、不能进行正常的分裂而表现出凋亡。综上所述,NaF可能存在体外遗传毒性,其发挥遗传毒性的作用可能与其诱导细胞凋亡有关,其凋亡的分子机制还需进一步研究。

由于体内遗传毒性试验方法有限,且在动物试验

3Rs原则的贯彻和限制替代的总趋势下,以动物试验为主的体内试验在短期遗传毒性检测中虽具有明显的优势,但作为大规模筛查方法已受到明显制约^[21],所以综合几种体外遗传毒性试验来研究一种环境化学物,可以快速、有效地暴露出化合物的遗传毒性。本研究采用了体外哺乳动物细胞微核试验、体外哺乳动物细胞染色体畸变实验结合细胞凋亡试验来研究NaF的体外遗传毒性,更加简便、快速、耗费低,不受动物个体差异等因素的影响,而且可以测出其在低浓度的遗传毒性反应,灵敏度较高,为NaF体外遗传毒性的深入研究及环境化学物体外遗传毒性的检测打下了基础。

•作者声明本文无实际或潜在的利益冲突。

参考文献

- [1] 陈秉衡, 屈卫东. 世界卫生组织对氟化物的卫生评价[J]. 中国地方病学杂志, 2000, 19(6): 477-478.
- [2] 王文蔚, 方芳, 胡明月. 氟化钠对小鼠骨髓细胞微核率的影响[J]. 广东微量元素科学, 2011, 18(5): 16-19.
- [3] 王宁, 王俐, 张慧君, 等. 氟化钠对大鼠软骨细胞活性的影响及DNA损伤作用[J]. 环境与健康杂志, 2010, 27(10): 875-877.
- [4] Xu B, Xu Z, Xia T, et al. Effects of the Fas/Fas L pathway on fluoride-induced apoptosis in SH-SY5Y cells[J]. Environ Toxicol, 2011, 26(1): 86-92.
- [5] 王燕飞. 氟暴露致工人外周血淋巴细胞DNA损伤及其影响因素研究[D]. 南宁: 广西医科大学, 2014.
- [6] 阳益萍. 氟的遗传毒性及维生素C、E的干预研究[D]. 南宁: 广西医科大学, 2013.
- [7] OECD. OECD Guidelines for testing of chemicals. 487 *in vitro* mammalian cell micronucleus test[EB/OL]. [2015-02-01]. http://www.oecd-ilibrary.org/environment/test-no-487-in-vitro-mammalian-cell-micronucleus-test_9789264091016-en.
- [8] 沈光平, 王钦南, 周祉祯. 微核与染色体畸变的相关性[J]. 遗传, 1985, 7(1): 15-17.
- [9] 吕晓华. 体外微核试验方法研究进展[J]. 癌变·畸变·突变, 1999, 11(2): 109-112.
- [10] 龙丽. 氟化物细胞毒性和遗传毒性的研究进展[J]. 国外医学: 医学地理分册, 2002, 23(2): 49-52.
- [11] 黄念君. 染色体畸变试验中CHL细胞系/剂量法则的应用[J]. 遗传, 1984, 6(6): 26-28.
- [12] Sato N, Mizumoto K, Nakamura M, et al. A possible role for centrosome overduplication in radiation-induced cell death[J]. Oncogene, 2000, 19(46): 5281-5290.
- [13] Fenech M. Cytokinesis-block micronucleus cytome assay[J]. Nat Protoc, 2007, 2(5): 1084-1104.
- [14] Kirsch-Volders M, Plas G, Elhajouji A, et al. The *in vitro* MN assay in 2011: origin and fate, biological significance, protocols, high throughput methodologies and toxicological relevance[J]. Arch Toxicol, 2011, 85(8): 873-899.
- [15] OECD. OECD Guidelines for testing of chemicals. 473 *in vitro* mammalian chromosomal aberration test[EB/OL]. [2015-02-01]. http://www.oecd-ilibrary.org/environment/test-no-473-in-vitro-mammalian-chromosomal-aberration-test_9789264224223-en.
- [16] 国家食品药品监督管理局. 药物遗传毒性研究技术指导原则[EB/OL]. (2007-10-23)[2015-02-01]. <http://www.chinacourt.org/law/detail/2007/10/id/122521.shtml>.
- [17] Thomas P, Umegaki K, Fenech M. Nucleoplasmic bridges are a sensitive measure of chromosome rearrangement in the cytokinesis-block micronucleus assay[J]. Mutagenesis, 2003, 18(2): 187-194.
- [18] 赵凌燕, 宋国华, 张斌, 等. 氟化钠对体外培养小鼠睾丸间质细胞凋亡与Bcl-2、Bax表达的影响[J]. 毒理学杂志, 2012, 26(1): 17-20.
- [19] 徐八一, 王普生, 黄建云, 等. 氟化钠诱导人神经母细胞瘤SH-SY5Y细胞凋亡及其机制研究[J]. 环境与健康杂志, 2011, 28(11): 944-946.
- [20] 方鹏. NaF诱导急性单核细胞白血病THP1细胞凋亡及机制初步探讨[D]. 长沙: 中南大学, 2013.
- [21] 李欣. 体外遗传毒性评价方法的新动向[J]. 华南预防医学, 2007, 33(6): 38-41.

(收稿日期: 2015-02-08)

(英文编辑: 汪源; 编辑: 王晓宇; 校对: 汪源)