

焦炉工人外周血淋巴细胞凋亡特征分析

胡志鹏¹, 张红明², 李卫星¹, 张晶¹, 宋秋坤¹, 王保平², 李治玉², 郑金平^{1*}

摘要: [目的] 研究焦炉工人外周血淋巴细胞凋亡特征及其影响因素, 为加强焦炉工的健康防护提供指导依据。[方法] 收集343名焦炉工人班后尿, 高效液相色谱法测定尿1-羟基芘(1-OHP)浓度, 按尿1-OHP浓度将研究对象分为低、中、高暴露组。分光光度法测定血浆乳酸脱氢酶(LDH)活性和丙二醛(MDA)含量, 流式细胞仪测定淋巴细胞凋亡率。[结果] 以低暴露组淋巴细胞凋亡率95%上限值(7.90%)为界值判断淋巴细胞凋亡阳性, 结果显示, 低、中、高暴露组淋巴细胞凋亡阳性率随剂量升高而升高(趋势检验 $P<0.01$)。经多因素Logistic回归分析, 中暴露组、高暴露组和夜班是淋巴细胞凋亡阳性的主要危险因素(OR 分别为3.42、8.58和5.05, P 值均小于0.05)。相关分析结果显示, 淋巴细胞凋亡率与尿1-OHP含量呈正相关($r=0.113$, $P<0.05$)。[结论] 焦炉逸散物暴露可导致部分焦炉工人淋巴细胞凋亡率升高, 且与尿1-OHP水平有关。夜班是主要影响因素。

关键词: 焦炉工人; 淋巴细胞; 细胞凋亡; 影响因素

Characteristics of Peripheral Blood Lymphocytes Apoptosis in Coke-oven Workers HU Zhi-peng¹, ZHANG Hong-ming², LI Wei-xing¹, ZHANG Jing¹, SONG Qiu-kun¹, WANG Bao-ping², LI Zhi-yu², ZHENG Jin-ping^{1*}(1. Department of Toxicology, School of Public Health, Shanxi Medical University, Taiyuan, Shanxi 030001, China; 2. Shanxi Coking Group Co., Ltd., Hongtong, Shanxi 041601, China). *Address correspondence to ZHENG Jin-ping; E-mail: Zhengzheng200101@yahoo.com.cn

Abstract: [Objective] To investigate the characteristics of lymphocytes apoptosis in peripheral blood of coke-oven workers and its influential factors. [Methods] In this study, a total of 343 coke-oven workers were included. 1-Hydroxypyrene (1-OHP) in worker's post-shift urine sample was determined by high performance liquid chromatography. Subjects were divided into low, medium or high exposure group according to the 1-OHP concentration. Lactic dehydrogenase (LDH) activity and malondialdehyde (MDA) concentration in plasma were determined using spectrophotometry. Lymphocyte apoptosis in peripheral blood was determined using flow cytometry. [Results] The upper bound lymphocyte apoptosis rates of 95% subjects in the low exposure group (7.9%) was defined as the threshold to determine positive lymphocyte apoptosis. The positive rate of lymphocyte apoptosis in the low, medium and high exposure groups were increased with the exposure levels (chi-square trend test, $P<0.01$). The multivariate Logistic regression analysis showed that the medium exposure group, the high exposure group and the night work shift were the main risk factors of positive lymphocyte apoptosis (OR were 3.42, 8.58 and 5.05, $P<0.05$). The results of correlation analysis showed that lymphocyte apoptosis significantly correlated with urinary 1-OHP levels (r was 0.113, $P<0.05$). [Conclusion] Occupational exposure of coke-oven result in an increase possibility of lymphocyte apoptosis, which relate to urinary 1-OHP level. Night work shift is a predictive factor of lymphocyte apoptosis occurrence.

Key Words: coke-oven workers; lymphocyte; apoptosis; influential factors

焦炉作业过程中可产生大量焦炉逸散物, 其中多环芳烃 (polynuclear aromatic hydrocarbons, PAHs) 与焦炉工人呼吸道疾病和职业性肺癌等多种疾病的发生有关。苯并芘 [benzo(a)pyrene, B(a)P] 是PAHs中的主要致癌成分, 与肿瘤的发生、

发展密切相关。尿1-羟基芘(1-hydroxypyrene, 1-OHP)是B(a)P的代谢产物已被作为客观反映PAHs实际暴露水平^[1-2]的良好生物标志物。本研究拟通过对导致焦炉工人机体免疫功能降低的淋巴细胞凋亡特征和影响因素的分析, 为焦炉工人的健康防护提供依据。

1 对象与方法

1.1 研究对象

选取某焦化厂343名工人作为研究对象, 其中男性257名、女性86名, 年龄20~50岁, 工龄1~33年。研究对象的工种分布为辅助工145人、炉底工27人、炉侧工85人和炉顶工86人。早上工人换班时进行采样。由经过统一培训的调查员采用面对

[基金项目] 国家自然科学基金(编号: 30872137); 山西省自然科学基金(编号: 2009011049-1); 山西医科大学科技创新基金(编号: 01200701)

[作者简介] 胡志鹏(1985—), 男, 硕士生; 研究方向: 卫生毒理学; E-mail: huzhipeng0002@163.com

[*通信作者] 郑金平教授; E-mail: zhengzheng200101@yahoo.com.cn

[作者单位] 1. 山西医科大学公共卫生学院毒理学教研室, 山西 太原 030001; 2. 山西焦化集团有限公司, 山西 洪洞 041601

面询问的方式采集研究对象的基本信息, 填写调查表, 收集年龄、工龄、吸烟(以吸烟指数 >100 为吸烟, 吸烟指数=吸烟支数/d×吸烟年限)、饮酒(以每周饮白酒至少1次, 连续1年以上为饮酒)、职业史、检查前上班类型、既往病史、生活环境、生活习惯、健康状况等信息。抽取肘静脉血5 mL, 肝素抗凝, 分离血浆和淋巴细胞。收集研究对象班后尿, 用于尿1-羟基芘(1-OHP)含量的测定。

1.2 实验方法

1.2.1 作业环境中B(a)P浓度的检测 分别在炉顶、炉侧、炉底和对照区各选取3个采样点, 设置AFQ-20A型粉尘采样器(中国西化仪科技有限公司), 流速20 L/min, 连续采样4 h, 每个采样点重复采样两次, 采用Varian-Prostar型高效液相色谱仪(美国Varian公司)检测B(a)P浓度。

1.2.2 血浆中乳酸脱氢酶(lactic dehydrogenase, LDH)活性和丙二醛(MDA)含量的测定 按照LDH和MDA试剂盒(中国南京建成生物有限公司)说明书要求, 用721分光光度计(中国上海Unico公司)测定。

1.2.3 淋巴细胞凋亡率的测定 向分离血浆后的血中加磷酸盐缓冲液(phosphate buffered saline, PBS)补充至5 mL混匀, 用淋巴细胞分离液(中国医学科学院生物工程研究所)分离淋巴细胞, 取 1×10^5 个细胞, 按Annexin V/FITC-PI凋亡试剂盒(中国南京凯基生物科技发展有限公司)说明书要求, 用FACSCalibur型流式细胞仪(美国BD公司)测淋巴细胞凋亡率。

1.2.4 尿1-OHP测定 按李晓华^[3]的方法用Varian-Prostar型高效液相色谱仪(美国Varian公司)测试焦炉工人班后尿中尿1-OHP浓度, 用肌酐(creatinine, Cr)试剂盒(中国南京建成生物有限公司)测定尿肌酐水平; 所测尿1-OHP浓度用尿肌酐含量校正。

1.3 统计分析

用SPSS 13.0软件进行统计分析。尿1-OHP浓度、血浆LDH活性、MDA浓度和淋巴细胞凋亡率经对数转换后呈正态分布, 用“几何均数±标准差”($G \pm S_G$)表示, 使用对数转换值进行统计分析。不同组间尿1-OHP浓度、血浆LDH活性、MDA浓度和淋巴细胞凋亡率差异采用协方差分析。淋巴细胞凋亡率、尿1-OHP、血浆MDA和LDH相关关系采用偏相关分析。率的比较用 χ^2 检验。检验水准 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 研究对象的一般情况

按研究对象尿1-OHP浓度的三分位间距分为低、中、高3个暴露组。低暴露组的尿1-OHP浓度为 $\leq 1.52 \mu\text{mol/mol Cr}$; 中暴露组的尿1-OHP浓度为 $1.52\sim 3.88 \mu\text{mol/mol Cr}$; 高暴露组的尿1-OHP浓度为 $\geq 3.88 \mu\text{mol/mol Cr}$ 。各暴露组之间年龄、吸烟指数和检测前上班类型间差异没有统计学意义($P>0.05$); 各暴露组工龄、性别组成、吸烟率和饮酒率间差异有统计学意义($P<0.05$), 见表1。

表1 研究对象的一般情况($\bar{x} \pm s$ 或n, %)
Table 1 General condition of subjects ($\bar{x} \pm s$ or n, %)

| 组别 Group | 低暴露组(n=110) Low exposure group | 中暴露组(n=114) Medium exposure group | 高暴露组(n=119) High exposure group | P |
|--|-----------------------------------|--------------------------------------|------------------------------------|-------|
| 尿1-OHP(Urinary 1-OHP, $\mu\text{mol/mol Cr}$) | 1.04 ± 1.34 | $2.38 \pm 1.32^*$ | $12.48 \pm 2.65^{*\#}$ | 0.000 |
| 年龄(岁)(Age, years) | 35.02 ± 7.90 | 32.98 ± 7.12 | 33.32 ± 6.66 | 0.080 |
| 工龄(年)(Employment time, years) | 12.94 ± 8.32 | 8.49 ± 7.14 | $6.71 \pm 6.18^{*\#}$ | 0.000 |
| 性别(Sex) | | | | |
| 男(Male) | 64, 58.2 | 81, 71.1 | 112, 94.1 | 0.000 |
| 女(Female) | 46, 41.8 | 33, 28.9 | 7, 5.9 | |
| 吸烟指数(Index of smoking) | 246.60 ± 275.02 | 199.23 ± 161.63 | 200.31 ± 189.13 | 0.373 |
| 吸烟(Smoking) | 35, 31.8 | 45, 39.5 | 57, 47.9 | 0.046 |
| 饮酒(Alcohol drinking) | 51, 46.8 | 62, 54.4 | 87, 73.7 | 0.000 |
| 检测前上班类型(Type of work before the examination) | | | | |
| 白班(Daytime shift) | 72, 65.5 | 77, 67.5 | 65, 54.6 | 0.091 |
| 夜班(Night shift) | 38, 34.5 | 37, 32.5 | 54, 45.4 | |

[注]*: 与低暴露组比较(Compared with the low exposure group), $P<0.05$; #: 与中暴露组比较(Compared with the medium exposure group), $P<0.05$ 。

2.2 环境监测结果

环境监测显示, 对照、炉底、炉侧、炉顶工作场所空气中B(a)P浓度分别为(0.01 ± 0.00)、(0.02 ± 0.01)、(0.05 ± 0.005)和(0.21 ± 0.02) $\mu\text{g/m}^3$, 呈对照<炉底<炉侧<炉顶的趋势。

2.3 焦炉工人血浆MDA浓度和LDH活性与淋巴细胞早期凋亡的关系

不同暴露水平焦炉工血浆MDA浓度和LDH活性均呈现高暴露组>中暴露组>低暴露组的趋势(趋势检验 $P<0.01$)。高

暴露组的血浆MDA浓度明显高于低暴露组($P<0.01$)、血浆LDH活性明显高于低与中暴露组($P<0.01$)。淋巴细胞凋亡率各组间差异没有统计学意义($P>0.05$); 但凋亡阳性率随剂量升高而升高(趋势检验 $P<0.01$), 在高、中、低暴露组中分布有统计学意义($P<0.01$), 见表2。

图1显示, 大多数工人在低、中、高暴露水平下凋亡率处于相同范围内, 但中、高暴露组中高凋亡率人群明显增多, 且与暴露水平相一致。

表2 焦炉工人血浆MDA、LDH和淋巴细胞早期凋亡结果($G \pm S_G$ 或 $n, \%$)Table 2 MDA concentration, LDH activity in plasma and lymphocytes apoptosis of coke-oven workers ($G \pm S_G$ or $n, \%$)

| 项目 Item | 低暴露组($n=110$) Low exposure group | 中暴露组($n=114$) Medium exposure group | 高暴露组($n=119$) High exposure group | P | $P_{\text{趋势}}$ P_{trend} |
|---------------------------------------|---------------------------------------|--|--|-------|---------------------------------------|
| MDA(nmol/mL) | 1.53 ± 1.46 | 1.66 ± 1.37 | 1.75 ± 1.54* | 0.032 | 0.009 |
| LDH(U/L) | 130.98 ± 1.31 | 134.46 ± 1.23 | 158.67 ± 1.56** | 0.000 | 0.000 |
| 早期凋亡率(Lymphocytes apoptosis) | | | | | |
| 平均凋亡率(%) (Average apoptosis) | 3.64 ± 2.04 | 3.82 ± 2.27 | 4.01 ± 2.18 | 0.632 | 0.059 |
| 凋亡阳性率($n, \%$) (Positive apoptosis) | 4, 3.6 | 13, 11.4 | 28, 23.5 | 0.000 | 0.000 |

[注]以低暴露组淋巴细胞凋亡率的95%上限值(7.90%)为界值(凋亡率<7.90%为阴性, ≥7.90%为阳性)[The upper bound lymphocyte apoptosis rate of 95% subjects in low exposure group(7.9%) was as the threshold to determine positive lymphocyte apoptosis.]。*: 与低暴露组比较(Compared with the low exposure group), $P < 0.05$; **: 与中暴露组比较(Compared with the medium exposure group), $P < 0.05$ 。

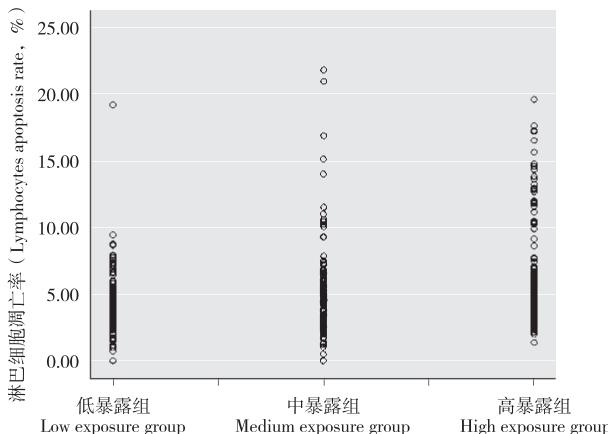


图1 不同尿1-OHP水平焦炉工人淋巴细胞早期凋亡率散点图

Figure 1 Scatter plot of lymphocytes apoptosis among different exposure group

2.4 淋巴细胞凋亡阳性和阴性人群各因素比较

表3显示, 淋巴细胞凋亡阳性和阴性人群之间检测前上班类型、尿1-OHP浓度和血浆LDH活性间差异有统计学意义($P < 0.05$)。年龄、工龄、性别、吸烟、吸烟指数、饮酒和血浆MDA含量方面差异均无统计学意义($P > 0.05$)。

表3 淋巴细胞凋亡阳性和阴性人群各因素比较($\bar{x} \pm s$ 或 $n, \%$)Table 3 Comparison of various factors between positive and negative lymphocyte apoptosis ($\bar{x} \pm s$ or $n, \%$)

| 项目(Item) | 阳性(Positive) ($n=45$) | 阴性(Negative) ($n=298$) | P |
|---|------------------------------|-------------------------------|-------|
| 尿1-OHP($\mu\text{mol/mol Cr}$)(Urinary 1-OHP) | 6.32 ± 3.30 | 2.93 ± 3.25 | 0.000 |
| 年龄(岁)(Age, year) | 33.20 ± 7.45 | 33.84 ± 7.24 | 0.583 |
| 工龄(年)(Employment time, year) | 9.04 ± 8.05 | 9.34 ± 7.63 | 0.811 |
| 性别(Sex) | | | |
| 男(Male) | 35, 77.8 | 222, 74.5 | 0.636 |
| 女(Female) | 10, 22.2 | 76, 25.5 | |
| 吸烟(Smoking) | 15, 33.3 | 122, 40.9 | 0.332 |
| 吸烟指数(Index of smoking) | 174.81 ± 183.72 | 217.72 ± 210.88 | 0.327 |
| 饮酒(Alcohol drinking) | 28, 62.2 | 172, 58.1 | 0.602 |
| 检测前上班类型 Type of work before the examination | | | |
| 白班(Daytime shift) | 14, 31.1 | 200, 67.1 | 0.000 |
| 夜班(Night shift) | 31, 68.9 | 98, 32.9 | |
| MDA(nmol/mL) | 1.53 ± 1.70 | 1.66 ± 1.42 | 0.187 |
| LDH(U/L) | 215.33 ± 1.63 | 132.74 ± 1.29 | 0.000 |

2.5 淋巴细胞凋亡阳性的危险度分析

表4所示, 以焦炉逸散物暴露、年龄、工龄、吸烟、饮酒、上班类型、LDH活性和MDA含量为自变量, 多因素Logistic回归分析结果显示, 焦炉逸散物暴露、上班类型和血浆LDH活性与淋巴细胞凋亡率表达阳性有关。与低暴露组相比, 中、高暴露组工人淋巴细胞凋亡阳性的 OR (95%CI)值分别为3.42(1.07, 10.97)和8.58(2.78, 26.47), 随暴露水平升高而增大。夜班工人与白班工人相比, 危险度也明显升高, $OR=5.054$, 95%CI: 2.49~10.24。

表4 焦炉工人淋巴细胞凋亡阳性的Logistic分析

Table 4 Logistic regression analysis on positive lymphocyte apoptosis of coke-oven workers

| 自变量(Covariates) | b | $Wald \chi^2$ | $OR(95\%CI)$ | P |
|--|--------|---------------|--------------------|-------|
| 低暴露组(Low exposure group) | — | 16.06 | 1.00 | — |
| 中暴露组(Medium exposure group) | 1.229 | 4.27 | 3.42(1.07~10.97) | 0.039 |
| 高暴露组(High exposure group) | 2.149 | 13.974 | 8.58(2.78~26.47) | 0.000 |
| 检测前上班类型 Type of work before the examination | 1.62 | 20.233 | 5.05(2.49~10.24) | 0.000 |
| 常数项(Constant) | -5.572 | 12.785 | — | 0.000 |

[注]自变量为年龄(岁)、工龄(年)、吸烟(是=1, 否=0)、饮酒(是=1, 否=0)、暴露(低暴露组=1, 中暴露组=2, 高暴露组=3)、检测前上班类型(夜班=1, 白班=0)、LDH活性(U/L)、MDA含量(nmol/mL)。

[Note] Independent variable : age(years), employment time(years), smoking(yes = 1, no = 0), drinking(yes = 1, no = 0), type of exposure(low exposure group = 1, medium exposure group = 2, high exposure group = 3), type of work before the examination(night shift = 1, daytime shift = 0), LDH activity(U/L) and MDA concentration(nmol/mL).

2.6 淋巴细胞早期凋亡率和尿1-OHP的相关关系

在校正年龄、工龄、吸烟、饮酒等因素后, 对淋巴细胞早期凋亡率和尿1-OHP进行相关分析。结果显示, 尿1-OHP浓度与血浆淋巴细胞早期凋亡率呈正相关(偏相关系数 $r=0.113$, $P=0.038 < 0.05$)。

3 讨论

细胞凋亡是细胞在一定的生理或病理条件下, 通过自我调控进行的程序性死亡过程, 细胞凋亡一旦失常, 将导致机体发育障碍, 免疫状态失调甚至肿瘤的发生。淋巴细胞(lymphocyte)由淋巴器官产生, 是机体免疫应答功能的重要细胞成分。成熟

淋巴细胞需依赖抗原刺激而分化增殖，继而发挥其免疫功能。淋巴细胞异常凋亡常引起组织内正常细胞群稳定性、机体的防御和免疫反应的改变，导致疾病甚至肿瘤的发生，针对自身抗原的淋巴细胞凋亡障碍还可导致自身免疫性疾病。流行病学研究发现，长期从事焦炉作业工人的免疫功能明显受到抑制，可能是导致焦炉作业工人肺癌超量发生的原因之一^[4]。

LDH 是体内能量代谢过程中一个重要的酶，血清 LDH 活性升高多由膜通透性增加，使 LDH 从细胞内进入细胞间液所致。MDA 是脂质过氧化物的产物，其变化可间接反映体内自由基水平的变化。焦炉工人长期暴露于 PAHs 环境，PAHs 在人体内经过代谢产生大量活性氧，引起脂质过氧化反应，形成脂质过氧化物，导致细胞及 DNA 氧化损伤^[5]，可能是引起血浆淋巴细胞凋亡的影响因素。

本研究以尿 1-OHP 浓度将研究对象分为低、中、高暴露组后，3 组中多数人群淋巴细胞凋亡率并未出现明显差异，但我们研究发现，随着暴露水平的增加，出现较为严重的细胞凋亡（凋亡率 ≥ 7.90%）的人数显著增加，中、高暴露组分别达到 11.4% 和 23.5%，显著高于低暴露组的 3.6%，其危险度分别是低暴露组的 3.42 和 8.58 倍。整体人群进行相关分析，淋巴细胞凋亡率与尿 1-OHP 浓度也呈正相关。表明，焦炉工人淋巴细胞凋亡与苯并芘暴露水平有关，同时也与工人个体差异及其他影响因素有关。焦炉工人长期接触 PAHs，导致机体免疫功能特别是细胞免疫力降低，使淋巴细胞受到损伤进而发生凋亡。在相同暴露水平下出现严重细胞凋亡的人群可能为易感人群，是否与遗传及个体和其他影响因素有关尚需进一步研究。

本研究中还发现夜班也可影响淋巴细胞凋亡，与白班工人相比，凋亡率明显升高，OR 值为 5.054，可能是协同焦炉逸散物导致焦炉工人淋巴细胞凋亡率升高的主要因素之一。国外研究表明长期倒班者患结肠癌的风险大大增加^[6]，长期夜班

可导致妇女乳腺癌发生的危险性增加^[7]。可能由于经常上夜班的焦炉工人长期睡眠障碍及精神长期处于高度紧张状态使人体免疫系统更容易受到侵害，抗击潜在致癌因素的能力下降。此外，生物钟紊乱还会影响细胞分裂、DNA 修复等人体必要机能，使细胞的自我修复功能障碍，导致细胞凋亡的发生。

综上所述，加强焦炉作业工人的职业防护，降低 PAHs 暴露水平，减少夜间上班频率，加强对易感人群的筛选和防护，对减少焦炉作业工人机体细胞的损伤有重要意义。

参考文献：

- [1] JONGENEELLEN F J. Benchmark guideline for urinary 1-hydroxypyrene as biomarker of occupational exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons [J]. Ann Occup Hyg, 2001, 45(1): 3-13.
- [2] 郑金平, 陈卫红, 刘爱林, 等. 尿 1-羟基芘作为焦炉工人多环芳烃暴露生物标志物的研究 [J]. 山西医科大学学报, 2007, 38(1): 21-27.
- [3] 李晓华, 冷曙光, 郭君, 等. 改良的高效液相色谱法测定尿中 1-羟基芘 [J]. 卫生研究, 2003, 32(6): 616-617.
- [4] 康美玉, 韩永霞, 高玉梅. 焦炉作业工人某些细胞免疫和体液免疫指标的变化 [J]. 中国职业医学, 2005, 32(6): 55-56.
- [5] 王芳, 张红梅, 薛翠娥, 等. 苯并(a)芘对焦炉工和大鼠体内脂质过氧化水平的影响 [J]. 环境与职业医学, 2007, 24(2): 161-163.
- [6] STEVENS R G. Circadian disruption and breast cancer: from melatonin to clock genes [J]. Epidemiology, 2005, 16(2): 254-258.
- [7] ÅKERSTEDT T, WRIGHT K P. Sleep loss and fatigue in shift work and shift work disorder [J]. Sleep Med Clin, 2009, 4(2): 257-271.

(收稿日期：2010-11-29)

(英文编审：金克峙；编辑：王晓宇；校对：丁瑾瑜)

(上接第 151 页)

游泳时间较空白对照组则明显减少。说明苯中毒可使空间学习能力和记忆保持能力下降。

海马被认为是空间学习记忆的关键结构，海马神经元及细胞的形态及数目改变及脑部血流量有是海马功能正常的必要保证。本实验结果显示，苯中毒后海马 CA1 区神经元数目显著减少，归脾丸溶液可明显减少变性坏死的神经元数量，提高存活神经元密度；本研究中外周血指标的改善也恰好说明了这一点。归脾丸溶液通过养心健脾、心脾同治改善造血功能、升高血红蛋白增加血细胞的携氧量，从而减轻缺氧状况下对海马神经元及神经细胞的损害，同时改善脑部供血量，增加脑部血流营养神经细胞，改善和提高学习记忆能力。

综上所述，本研究结果表明，苯中毒可导致记忆功能和造血功能的同时下降；归脾丸溶液可改善苯中毒所致的记忆力减退及判断力降低的神经衰弱症状，提高学习记忆能力。这种效果表现可能与造血功能及海马神经元功能有关。

参考文献：

- [1] 成东艳. 室内空气中苯系物污染的危害及防治 [J]. 环境保护与循环经济, 2008, 40(3): 32.
- [2] 汤丽霞, 姚永成. 低浓度苯系物对作业工人健康的影响 [J]. 河南预防医学杂志, 2000, 11(2): 102-103.
- [3] 任东峰, 万晓燕, 土会仓. 脾肾双补汤预防化疗所致白细胞减少 49 例疗效观察 [J]. 吉林中医药, 2008, 28(1): 32.
- [4] FRISONE D F, FRYE C A, ZIMMERBERG B. Social isolation stress during the third week of life has age-dependent effects on spatial learning in rats [J]. Behav Brain Res, 2002, 128(2): 153-160.
- [5] D'HOOGE R, De DEYN P P. Applications of the Morris water maze in the study of learning and memory [J]. Brain Research Reviews, 2001, 36(1): 60-90.

(收稿日期：2010-07-02)

(英文编审：金克峙；编辑：王晓宇；校对：丁瑾瑜)