

黄青松,牛志国,孙启蒙,等. 2013. 长期铅暴露对小鼠胸腺微环境阳性选择相关分子表达的影响[J]. 环境科学学报,33(2):650-654
Huang Q S, Niu Z G, Sun Q M, et al. 2013. Influence of long-term lead exposure on the development of thymus cells subsets in mice[J]. Acta Scientiae Circumstantiae,33(2):650-654

长期铅暴露对小鼠胸腺微环境阳性选择相关分子表达的影响

黄青松¹,牛志国^{2,*},孙启蒙³,赵晓楠³,牛艳华³,聂慧岩³,魏小辉³

1. 新乡医学院微生物学教研室,新乡 453003

2. 新乡医学院免疫学教研室,新乡 453003

3. 新乡医学院临床医学系,新乡 453003

收稿日期:2012-05-25 修回日期:2012-06-30 录用日期:2012-07-02

摘要:为探讨铅暴露对小鼠胸腺微环境阳性选择相关分子表达的影响,将 24 只健康初断乳 21 日龄清洁级雄性 KM 小鼠随机分为 4 组,分别为对照(蒸馏水)组和低($200 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$)、中($400 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$)、高($800 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$)剂量乙酸铅染毒组,每组 6 只.采用自由饮水方式进行染毒,连续染毒 12 周.染毒结束后,采用流式细胞技术检测小鼠胸腺细胞和胸腺上皮细胞阳性选择相关膜分子的表达.结果发现,与对照组比较,各剂量乙酸铅染毒组小鼠胸腺细胞膜分子 CD4、CD8、CD28 和 LFA-1 及胸腺上皮细胞 H2-A、H2-K、B7 和 ICAM-1 的表达均明显下降,差异显著($p < 0.05$);且随着乙酸铅染毒剂量的升高,小鼠胸腺细胞膜分子 CD4、CD8、CD28、LFA-1 的表达及胸腺上皮细胞膜分子 H2-A、H2-K、B7、ICAM-1 的表达均呈下降趋势.

关键词:重金属;铅;胸腺细胞;阳性选择

文章编号:0253-2468(2013)02-650-05 中图分类号:X171.5 文献标识码:A

Influence of long-term lead exposure on the development of thymus cells subsets in mice

HUANG Qingsong¹, NIU Zhiguo^{2,*}, SUN Qimeng³, ZHAO Xiaonan³, NIU Yanhua³, NIE Huiyan³, WEI Xiaohui³

1. The Department of Microbiology, Xinxiang Medical University, Xinxiang 453003

2. The Department of Immunology, Xinxiang Medical University, Xinxiang 453003

3. College of Preclinical Medicine, Xinxiang Medical University, Xinxiang 453003

Received 25 May 2012; received in revised form 30 June 2012; accepted 2 July 2012

Abstract: This study investigated the effect of long-term lead exposure on expression of positive selection associated molecules in the mouse thymus micro-environment. A total of 24 healthy 21-day-old male KM mice were randomly and evenly divided into four groups, labeled as control group (distilled water), low ($200 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$), medium ($400 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$), and high ($800 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$) doses of lead acetate exposure group. Mice were continuously exposed to lead acetate in drinking water for 12 weeks. At the end of the exposure, the expression of positive selection associated membrane molecules on mouse thymocytes and thymic epithelial cells were assessed by flow cytometry. The results showed that the expression of CD4, CD8, CD28 and LFA-1 in mouse thymus cell from each dose of lead acetate exposure group significantly decreased in comparison with control group. Similarly, the expressions of H2-A, H2-K, B7 and ICAM-1 in thymic epithelial cells decreased significantly ($p < 0.05$). Along with increasing doses of lead acetate, the expression of thymus cell membrane molecules CD4 and CD8, CD28, LFA-1 displayed a downward trend, and the expression of thymic epithelial cell membrane molecule H2-A, H2-K, B7 and ICAM-1 showed similar patterns.

Keywords: heavy metal; lead; thymus cells; positive selection

基金项目: 新乡医学院重点研究领域招标课题(No. ZD2011-15);新乡医学院大学生创新课题资助计划

Supported by the Focus Research Field Tender Foundation of Xinxiang Medical University(No. ZD2011-15) and the Undergraduate Creative Subsidize Foundation of Xinxiang Medical University

作者简介: 黄青松(1978—),女,讲师,E-mail:xxmuhqs@163.com; *通讯作者(责任作者),E-mail:androtin@qq.com

Biography: HUANG Qingsong(1978—), female, lecturer,E-mail:xxmuhqs@163.com; * Corresponding author,E-mail:androtin@qq.com

1 引言(Introduction)

随着我国工业化进程的发展,包括饮用水、空气在内的与生活息息相关的环境污染日趋严重,对人体健康造成了极大威胁(李峰等,2012)。其中以饮用水的铅污染尤为突出,造成的儿童铅中毒事件频繁发生。从生理角度来讲,儿童时期是免疫系统发育的关键阶段,儿童阶段的铅暴露极易引起系统性的免疫损伤。本实验室前期研究结果显示,慢性铅暴露可导致小鼠胸腺系数增大,且伴有胸腺细胞膜表面移行相关趋化性细胞因子表达异常(黄青松等,2012);此外,外周血和胸腺都出现 $\alpha\beta$ T 细胞百分率、CD4 + T 细胞百分率等下降的现象(黄青松等,2012),提示可能是铅对胸腺的毒性所致。胸腺内 T 细胞发育最关键的两个过程就是阳性选择和阴性选择(Gascoigne *et al.*, 2011),结合前期的研究结果,提示可能是长期铅暴露引起小鼠胸腺细胞的阳性选择过程出现异常。胸腺细胞的阳性选择是胸腺细胞获得主要组织相容性复合体(Major histocompatibility complex, MHC)的限制性过程,参与此过程的关键膜分子就是胸腺细胞和胸腺微环境表面的 CD4/CD8、MHC 分子及协同刺激分子淋巴细胞功能抗原 1(Lymphocyte function associated antigen1, LFA-1)、细胞间黏附分子 1(Intercellular cell adhesion molecule1, ICAM-1)等。为此,本实验室拟通过自由饮水进行染毒,制备长期铅暴露小鼠模型,通过流式细胞技术观察 T 细胞阳性选择相关膜分子的改变,进而深入探讨铅暴露后的免疫损伤机制。

2 材料与方法(Materials and methods)

2.1 仪器与试剂

仪器:BD FACSAria II cell sorter 流式细胞仪(美国 BD 公司),PB4455ENEU 型 Muse 全能细胞状态分析仪(德国 Merck Millipor 公司)。

试剂:乙酸铅(分析纯),红细胞裂解液 FACS Lysing Solution、荧光标记的羊抗鼠抗体 FITC-CD4、APC-CD3、PE-CY5-CD8、PE-H2-A、FITC-H2-K 及其相应的同型对照抗体 FITC-IgG、PE-IgG、PE-CY5-IgG、APC-IgG 均购自美国 BD 公司,细胞活力计数试剂盒(德国 Merck Millipor 公司),Hanks 液,胶原蛋白酶 IV。

乙酸铅染毒溶液的配制:准确称量 200 mg 乙酸

铅,加入 800 mL 三蒸水,待醋酸铅完全溶解后,用三蒸水定容至 1L,即为 $200 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的乙酸铅溶液,其他浓度溶液配制方法相同。

2.2 实验动物分组及染毒方法

选择同窝出生的健康初断乳 21 日龄清洁级昆明雄性 KM 小鼠 24 只,体重为 $(12.6 \pm 1.5) \text{ g}$,由新乡医学院实验动物中心提供,动物合格证号为 XY20110452。小鼠在室温 $20 \sim 25 \text{ }^\circ\text{C}$ 、相对湿度 $40\% \sim 60\%$ 、自然光照的清洁级环境中饲养。实验期间,动物喂食普通饲料(饲料购自新乡医学院实验动物中心),可自由摄食、饮水;同时,严格控制其他可能存在的铅污染,实验中动物的处置符合国家科学技术部颁布的《关于善待实验动物的指导性意见》的相关要求。

将实验动物随机分为 4 组,分别为对照(蒸馏水)组和低($200 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$)、中($400 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$)、高($800 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$)剂量乙酸铅染毒组,每组 6 只。采用自由饮水方式进行染毒,连续染毒 12 周。每周测定并记录小鼠体重。

2.3 胸腺质量及其脏器系数的测定

染毒结束后,称量体重,处死小鼠,迅速分离胸腺,去除胸腺组织表面的结缔组织被膜,称重并计算胸腺系数(胸腺系数 = 胸腺质量/体重 $\times 100\%$)。

2.4 胸腺细胞及胸腺上皮细胞分离

将胸腺大致分为均匀两半,将其中一半用玻片研磨法制取小鼠胸腺细胞。另一半切成小块,参考文献(李倩如等,2011)方法分离胸腺上皮细胞,在 200 目不锈钢滤网上面轻轻碾磨,用 Hanks 液轻轻洗涤,去除碾磨过程中分离出来的胸腺细胞;随后将网上残留的组织块用剪刀尽可能剪碎,随后加入 $1 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的胶原蛋白酶 IV, $37 \text{ }^\circ\text{C}$ 孵育 1 h,期间轻轻晃动几次,将消化后的细胞悬液用 80 目的滤网过滤;滤过的细胞悬液以 800 g 离心 5 min,弃上清,所得细胞即为胸腺上皮细胞(Thymic epithelial cell, TEC)。将胸腺细胞和胸腺上皮细胞经 Muse 细胞计数器计数细胞浓度及活性(不低于 90%),采用 PBS 调整胸腺细胞浓度为 $6 \times 10^6 \text{ cells} \cdot \text{mL}^{-1}$,调整胸腺上皮细胞浓度为 $2 \times 10^6 \text{ cells} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。

2.5 小鼠胸腺细胞膜分子 CD4、CD8、CD28、LFA-1 的检测

取 $500 \text{ } \mu\text{L}$ PBS 重悬的胸腺细胞悬液,加入 APC-CD3、FITC-CD4、PE-CY5-CD8 各 $20 \text{ } \mu\text{L}$;另取 $500 \text{ } \mu\text{L}$ PBS 重悬的胸腺细胞悬液,加入 APC-CD3、

FITC-LFA-1、PE-CD28 各 20 μL , 设置同型对照管, 对应加入等量的同型对照抗体; 混匀后, 室温避光孵育 30 min, 以 800 g 离心 5 min, PBS 洗涤 1 次, 加入 0.5 mL PBS 重悬后, 经 300 目过滤后, 以 CD3 设置 Gate, 上流式细胞仪检测, 其中, 以 CD3 + 表示胸腺 T 淋巴细胞; 检测 T 细胞表面膜分子的平均荧光强度 (MFI), 以实验组 MFI 与同型对照 MFI 之比表示相应膜分子的表达。

2.6 小鼠胸腺上皮细胞 H2-K、H2-A、B7、ICAM-1 的检测

取 500 μL PBS 重悬的胸腺上皮细胞悬液, 加入 20 μL FITC-H2-K、PE-H2-A 抗体; 另取 500 μL 胸腺上皮细胞悬液, 加入 FITC-ICAM-1、PE-B7 各 20 μL , 同时设置同型对照管, 加入等量的同型对照抗体; 混匀后, 室温避光静置 30 min, PBS 洗涤 1 次后加 500 μL 冰冷的 PBS 重悬细胞, 经 300 目过滤后, 上流式细胞仪检测。以实验组 MFI 与同型对照 MFI 之比表示为相应膜分子的表达。

2.7 统计学方法

实验数据均以平均值 \pm 标准差 ($x \pm s$) 表示, 采用 SPSS 13.0 软件进行统计学分析, 多组间比较采用方差齐性检验和单因素方差分析 (One Way ANOVA)。进一步进行组间两两比较时, 若方差齐时, 采用 SNK 检验 (Student-Newman-Keuls 法); 若方差不齐时, 采用 Games-Howell 检验。以 $p < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果 (Results)

3.1 小鼠体重、胸腺质量及其脏器系数的测定

铅染毒小鼠胸腺质量及其脏器系数的变化见表 1。由表 1 可知, 与对照组相比, 中、高剂量乙酸铅染毒组小鼠体重明显下降, 而胸腺系数明显增加, 差异均有统计学意义 ($p < 0.05$); 且随着乙酸铅染毒剂量的升高, 小鼠体重和胸腺质量均呈下降趋势, 胸腺系数呈上升趋势。

表 1 铅染毒对小鼠胸腺重量及其脏器系数的影响 ($n = 6$)

Table 1 The impact of lead exposure on the mouse thymus weight and organ coefficient

组别	体重/g	胸腺重量/mg	胸腺系数
对照组	40.8 \pm 3.9	124.0 \pm 18.0	2.8% \pm 0.4%
低剂量乙酸铅染毒组	36.2 \pm 3.1	117.0 \pm 15.0	3.0% \pm 0.5%
中剂量乙酸铅染毒组	30.1 \pm 2.3 ^a	102.0 \pm 9.5 ^a	3.3% \pm 0.5% ^a
高剂量乙酸铅染毒组	26.7 \pm 1.9 ^a	99.0 \pm 8.2 ^a	3.7% \pm 0.5% ^a

注: a 与对照组比较, $p < 0.05$, 下同。

3.2 小鼠胸腺细胞膜分子 CD4、CD8、CD28、LFA-1 表达的测定

铅染毒小鼠胸腺 T 细胞膜分子 CD4、CD8、CD28、LFA-1 表达的变化见表 2。由表 2 可知, 与对照组相比, 各剂量乙酸铅染毒组小鼠胸腺 T 细胞膜

表面 CD4、CD8、LFA-1、CD28 分子的表达均明显下降, 差异均有统计学意义 ($p < 0.05$); 且随着乙酸铅染毒剂量的升高, 小鼠胸腺 T 细胞 CD4、CD8、LFA-1、CD28 分子的表达均呈现下降趋势。

表 2 铅染毒对小鼠胸腺 T 细胞膜分子表达的影响 ($n = 6$)

Table 2 The impact of lead exposure on the mouse thymic T cell membrane molecules

组别	MFI (实验组)/MFI (同型对照)			
	CD4	CD8	LFA-1	CD28
对照组	34.6 \pm 4.7	28.3 \pm 3.5	26.4 \pm 3.2	34.8 \pm 4.5
低剂量乙酸铅染毒组	28.3 \pm 3.9 ^a	24.1 \pm 2.9 ^a	20.6 \pm 2.8 ^a	30.5 \pm 4.1 ^a
中剂量乙酸铅染毒组	23.1 \pm 3.2 ^a	20.7 \pm 2.3 ^a	15.1 \pm 2.7 ^a	26.6 \pm 3.4 ^a
高剂量乙酸铅染毒组	17.2 \pm 2.7 ^a	15.8 \pm 2.1 ^a	12.8 \pm 2.4 ^a	23.4 \pm 2.9 ^a

3.3 小鼠胸腺上皮细胞 H2-K、H2-A、B7、ICAM-1 分子的测定结果

铅染毒后小鼠胸腺上皮细胞 H2-K、H2-A、B7、

ICAM-1 分子表达的变化见表 3。由表 3 可知, 与对照组相比, 各剂量乙酸铅染毒组小鼠胸腺上皮细胞 MHC 分子的 H2-K、H2-A 及 B7、ICAM-1 的表达均

明显降低,差异均有统计学意义($p < 0.05$);且随着乙酸铅染毒剂量的升高,小鼠胸腺上皮细胞 H2-K、

H2-A、B7、ICAM-1 的表达均呈现下降趋势。

表 3 铅染毒对小鼠胸腺上皮细胞 MHC 分子表达的影响($n = 6$)

Table 3 The impact of lead exposure on the expression of MHC molecules of thymic epithelial cells in mice

组别	MFI(实验组)/MFI(同型对照)			
	H2-K	H2-A	B7	ICAM-1
对照组	43.3 ± 5.4	34.6 ± 4.5	15.6 ± 1.8	44.1 ± 5.1
低剂量乙酸铅染毒组	38.2 ± 4.6 ^a	31.3 ± 3.7 ^a	12.8 ± 1.9 ^a	35.2 ± 3.5 ^a
中剂量乙酸铅染毒组	30.5 ± 3.8 ^a	27.2 ± 3.4 ^a	10.7 ± 1.5 ^a	31.7 ± 3.2 ^a
高剂量乙酸铅染毒组	28.4 ± 3.7 ^a	23.5 ± 3.0 ^a	9.6 ± 1.1 ^a	22.8 ± 2.1 ^a

4 讨论(Discussion)

金属毒物可能影响免疫调节功能,增加传染病、癌症或自身免疫性疾病的发病率.铅作为最主要的重金属环境毒物已引起广泛关注,连续低剂量暴露可引发各种健康问题.研究表明,铅可诱导神经细胞凋亡(徐进等,2007;2006),也可诱导 DNA 损伤、氧化还原损伤(连灵君等,2006),对肝脏也有明显毒副作用(吴晨等,2006,徐进等,2004,李婷婷等,2007),但铅对儿童免疫系统的影响更为严重.而 T 细胞是免疫系统的核心,其数目、功能的异常均会导致严重的免疫缺陷或自身免疫性疾病,因而 T 细胞发育的研究一直是免疫学的热点.近年来,对于 T 细胞在胸腺中的发育研究主要集中在胸腺微环境的生理状态或病理改变对 T 细胞分化的影响上(Love *et al.*, 2011).胸腺微环境主要由胸腺基质细胞(包括胸腺上皮细胞、巨噬细胞、树突状细胞、纤维细胞)、细胞外基质和细胞因子组成,其中,最为重要的就是胸腺上皮细胞(Manley *et al.*, 2011).胸腺上皮细胞表达的 p-选择素可聚集造血干细胞,促进骨髓来源的造血干细胞向 T 细胞发育(Sultana *et al.*, 2012);而胸腺上皮细胞的再生能力受损可导致全系 T 细胞数量及质量的整体下降(Rode *et al.*, 2012).胸腺上皮细胞膜分子 Aire 蛋白的缺失同样可造成小鼠易患甲状旁腺功能减退、慢性念珠菌感染等自身免疫性疾病(Akirav *et al.* 2011).但毫无疑问,胸腺微环境最重要的作用仍然是参与 T 细胞的阴性选择和阳性选择.尽管铅暴露与 T 细胞关系的研究并不少见,但并未涉及到 T 细胞的发育,尤其是 T 细胞在胸腺中的发育.本研究将以长期铅暴露的小鼠为模型,观察与 T 细胞发育相关的胸腺上皮细胞膜分子的变化,为其机制研究提供理论依据.

众所周知,胸腺是重要的中枢免疫器官,是 T 淋巴细胞发育、分化、成熟的场所,而 T 淋巴细胞在胸腺内的发育是一个高度有序的、多阶段的过程(Anderson *et al.*, 2012),最关键的就是赋予 T 细胞 MHC 限制性的阳性选择和清除自身反应性 T 细胞的阴性选择.本课题组前期的实验表明,长期铅暴露导致的胸腺系数增大和 T 细胞亚群比例失衡可能是由于阳性选择异常造成的(黄青松等,2012).故本实验着重讨论铅暴露与阳性选择相关的胸腺微环境变化.

由于阳性选择是赋予 T 细胞获得自身 MHC 的限制性过程,而参与此过程的主要是 T 细胞表面的膜分子 CD4、CD8 和胸腺上皮细胞表面的 MHC 分子 H2-A、H2-K 等,第二信号 CD28-B7 和协同刺激信号 ICAM-1/LFA-1(Nitta *et al.*, 2008),故本实验首先检测了 T 细胞表面的 CD4 和 CD8 分子的表达,结果显示,各剂量乙酸铅染毒组小鼠胸腺 T 细胞膜表面 CD4 和 CD8 分子的表达均明显下降;而随后检测胸腺上皮细胞膜表面的 MHC I 类分子 H2-A 和 II 类分子 H2-K 也出现类似的结果.这说明参与胸腺 T 细胞阳性选择最关键的膜分子在细胞膜的表达明显减少.有研究表明,无论是外周血 T 细胞识别外界抗原后的克隆性增殖还是胸腺中 T 细胞识别 MHC 分子后的克隆清除,都依赖于 T 细胞膜分子 CD4 或 CD8 和胸腺微环境的 MHC 分子 H2-A 和 H2-K 的相互识别,而识别后的信号传递并非简单的有或无,通常需要一定数目的膜分子相互接触(Alarcón *et al.*, 2011),大约为 50 ~ 100 的分子配对,过低的分子配对不足以引起 T 细胞的下游信号传递;同样地,对阳性选择起着关键辅助作用的第二信号 CD28/B7 和协同刺激信号 ICAM-1/LFA-1 也需要一定数量的分子配对才能起到辅助活化的作用(Springer *et al.*, 2012).而本研究结果显示,无

论是第二信号还是协同刺激信号膜分子都出现明显下降,这些信号分子配对表达的整体性下降必然导致胸腺中 T 细胞选择异常,选择异常的结果必然是 CD4 + CD8 + 双阳性 T 细胞向 CD4 或 CD8 单阳性细胞分化障碍,表现出来就是单阳性细胞百分率降低,双阳性细胞百分率上升,这与文献(黄青松等,2012)的研究结果相吻合。

本研究发现,长期铅暴露后可导致胸腺细胞和胸腺微环境以及与 T 细胞分化发育相关的膜分子表达异常下降,而膜分子表达的异常下降必然会导致胸腺细胞的选择异常,无论是选择失败还是选择无能,导致的结果必然是双阳性细胞百分比的升高,而关于选择异常的信号机制需在今后的研究中进一步探讨。

5 结论(Conclusions)

1)长期铅暴露可导致小鼠胸腺 T 细胞表面克隆选择相关分子 CD4、CD8、CD28、LFA-1 等表达降低,克隆选择是 T 细胞在胸腺中发育的关键过程。

2)长期铅暴露也可导致小鼠胸腺上皮细胞克隆选择的相关分子 H2-K、H2-A、B7、ICAM-1 的表达降低,该细胞是胸腺微环境的关键组成细胞。

责任作者简介:牛志国(1979—),男,讲师,主要从事免疫毒理学研究。E-mail: androtion@qq.com.

参考文献(References):

Akirav E M, Ruddle N H, Herold K C. 2011. The role of AIRE in human autoimmune disease[J]. *Nat Rev Endocrinol*, 7:25-33

Alarcón B, Mestre D, Martínez-Martín N. 2011. The immunological synapse: a cause or consequence of T-cell receptor triggering[J]. *Immunology*, 133:420-425

Anderson G, Takahama Y. 2012. Thymic epithelial cells: working class heroes for T cell development and repertoire selection[J]. *Trends Immunol*, 33(6):256-263

Gascoigne N R, Palmer E. 2011. Signaling in thymic selection[J]. *Curr Opin Immunol*, 23:207-212

黄青松,王树芳,孙启蒙,等. 2012. 长期铅暴露对小鼠胸腺细胞移行相关趋化性细胞因子受体的影响[J]. *环境与健康杂志*, 29(3):219-221

黄青松,常海敏,孙启蒙,等. 2012. 长期铅暴露对小鼠胸腺细胞亚群的影响[J]. *环境与健康杂志*, 29(5):412-414

李峰,石辉. 2012. 锌金属硫蛋白对 PM_{2.5} 暴露的运动大鼠血清抗氧化酶及免疫指标的影响[J]. *环境科学学报*, 32(2):465-471

李倩如,杜焱,苏艳宾,等. 2011. 人 CK8&18 阳性胸腺上皮细胞对脐血 CD34 + 细胞向 T 细胞分化的影响[J]. *中国免疫学杂志*, 27(3):200-203

连灵君,吴晨,徐进,等. 2006. 铅染毒导致小鼠 DNA 损伤与氧化损伤[J]. *环境科学学报*, 26(1):137-141

Love P E, Bhandoola A. 2011. Signal integration and crosstalk during thymocyte migration and emigration[J]. *Nat Rev Immunol*, 11:469-477

李婷婷,李润国,郝林,等. 2007. 外源水杨酸对染铅小鼠抗氧化水平的调节[J]. *环境科学学报*, 27(8):1359-1363

Manley N R, Richie E R, Blackburn C C, et al. 2011. Structure and function of the thymic microenvironment[J]. *Front Biosci*, 17:2461-2477

Nitta T, Murata S, Ueno T, et al. 2008. Thymic microenvironments for T-cell repertoire formation[J]. *Adv Immunol*, 99:59-94

Rode I, Boehm T. 2012. Regenerative capacity of adult cortical thymic epithelial cells[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 109:3463-3468.

Sultana D A, Zhang S L, Todd S P, et al. 2012. Expression of functional P-selectin glycoprotein ligand 1 on hematopoietic progenitors is developmentally regulated[J]. *J Immunol*, 188(9):4385-4393

Springer T A, Dustin M L. 2012. Integrin inside-out signaling and the immunological synapse[J]. *Curr Opin Cell Biol*, 24(1):107-115

吴晨,连灵君,徐进,等. 2006. 铅对小鼠肝脏超微结构及凋亡相关蛋白 p53、Bax、Bcl-2 表达的影响[J]. *环境科学学报*, 26(9):1510-1514

徐进,徐立红,郑一凡,等. 2004. 铅暴露引起的小鼠肝脏抗氧化系统损伤[J]. *环境科学学报*, 24(6):1142-1144

徐进,季林丹,徐立红. 2006. 铅诱导的 PC12 细胞凋亡及 caspase-3 的激活[J]. *环境科学学报*, 26(7):1172-1174