

基因与细胞治疗

DOI: 10.13406/j.cnki.cyx.000015

3 种药物对饲喂 TCDD 的胎鼠腭突超微结构的影响

何晓梦, 刘翠苹, 袁心刚, 魏光辉, 傅跃先

(重庆医科大学附属儿童医院整形外科, 儿童发育疾病教育部重点实验室, 重庆市儿科学重点实验室, 重庆市儿童发育重大疾病诊治与预防国际科技合作基地, 重庆 400014)

【摘要】目的:观察叶酸、白藜芦醇和 α -萘黄酮拮抗四氯二苯二噁英(2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin, TCDD)诱导胎鼠腭裂发生的效应, 及对饲喂 TCDD 的胎鼠腭突表面超微结构的影响。**方法:**妊娠第 10 天(gestation day 10, GD10)孕鼠随机分组, 每组 8 只。TCDD 组以 TCDD 28 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 灌胃, 对照组以玉米油 0.1 ml 灌胃, 叶酸组以叶酸 10 mg/kg + TCDD 28 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 灌胃、白藜芦醇组以白藜芦醇 50 mg/kg+TCDD 28 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 灌胃、 α -萘黄酮组以 α -萘黄酮 5 mg/kg+TCDD 28 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 灌胃, 于 GD17.5 在解剖显微镜下观察胎鼠腭裂的发生率。另取 15 只孕鼠随机分组, 每组 3 只, 处理方法同前, 分别于 GD13.5、14.5、15.5 剪取胎鼠头部, 扫描电镜观察腭突表面的超微结构。**结果:**TCDD 组胎鼠腭裂发生率为 92.86%, 对照组未见胎鼠腭裂形成。叶酸组、白藜芦醇组和 α -萘黄酮组胎鼠腭裂发生率分别为 73.08%、74.51%、65.52%, 与 TCDD 组相比, 差异有统计学意义($P<0.05$)。TCDD 组腭中嵴上皮细胞表面逐渐破裂、皱缩, 伪足结构逐渐减少、消失, 最终形成腭裂; 对照组、叶酸组、白藜芦醇组和 α -萘黄酮组腭中嵴上皮细胞表面光滑整齐、饱满膨胀, 表面丝状伪足逐渐增多、延长, 一直持续到腭突融合结束。**结论:**叶酸、白藜芦醇和 α -萘黄酮均能恢复小鼠腭中嵴上皮细胞表面的超微结构, 从而拮抗 TCDD 的致腭裂效应。

【关键词】叶酸; 白藜芦醇; α -萘黄酮; 腭裂; 四氯二苯二噁英; 扫描电镜

【中图分类号】R726.2

【文献标志码】A

【收稿日期】2013-03-05

Effects of three drugs on mouse embryonic palate ultrastructure after feeding TCDD

He Xiaomeng, Liu Cuiping, Yuan Xingang, Wei Guanghui, Fu Yuexian

(Department of Plastic Surgery, the Children's Hospital, Chongqing Medical University, Ministry of Education Key Laboratory of Child Development and Disorders, Key Laboratory of Pediatrics in Chongqing, Chongqing International Science and Technology Cooperation Center for Child Development and Disorders)

【Abstract】Objective: To observe the incidence and ultrastructure of folic acid, resveratrol and α -naphthoflavone antagonize 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin(TCDD)-induced fetal mice cleft palate. **Methods:** On gestation day 10(GD 10), 40 pregnant mice were randomly assigned to 5 groups. TCDD group(TCDD 28 $\mu\text{g}/\text{kg}$), control group(corn oil 0.1 ml/kg), folic acid group(folic acid 10 mg/kg+TCDD 28 $\mu\text{g}/\text{kg}$), resveratrol group(resveratrol 50 mg/kg+TCDD 28 $\mu\text{g}/\text{kg}$), α -naphthoflavone group(α -naphthoflavone 5 mg/kg+TCDD 28 $\mu\text{g}/\text{kg}$) were gavaged. Incidences of cleft palate of each group were observed on GD17.5. Another 15 pregnant mice were randomly divided into five groups, the same as above. The head coronal sections of the fetal mice were prepared on GD 13.5, 14.5, 15.5, observed by scanning electron microscopy(SEM). **Results:** Incidences of cleft palate were 92.86% in TCDD group, 0% in control group, 73.08% in folic acid group, 74.51% in resveratrol group, 65.52% in α -naphthoflavone group. There were significant differences of cleft palate incidence in folic acid, resveratrol and α -naphthoflavone groups compared with that in TCDD group($P<0.05$). The embryonic palatal cells in TCDD group gradually ruptured and shrinkaged and filopodia disappeared; the filopodia in the surface of the smooth cells gradually increased, extended and continued until the end of the palatal fusion in control, folic acid, resveratrol, α -naphthoflavone groups. **Conclusions:** Folic acid, resveratrol and α -naphthoflavone can restore the ultrastructure of mice embryonic palatal cells and antagonize TCDD-induced cleft palate.

【Key words】 folic acid; resveratrol; α -naphthoflavone; cleft palate; 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin; scanning electron microscopy

作者介绍: 何晓梦, Email: xiaomengyouyou@126.com,

研究方向: 环境污染 TCDD 与腭裂。

通信作者: 傅跃先, Email: yuexianfu@163.com。

基金项目: 国家自然科学基金青年基金资助项目(编号: NSFY, 81202167); 重庆市自然科学基金重点资助项目(编号: CSTC, 2009BA5085)。

优先出版: <http://www.cnki.net/kcms/doi/10.13406/j.cnki.cyx.000015.html>

唇腭裂作为严重的出生缺陷,为儿童头面部的首发先天性畸形,是环境和遗传因素相互作用所致的多基因遗传病,其病因仍未完全明确。在众多致畸因素中,环境污染物四氯二苯二噁英(2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin, TCDD)与腭裂发生之间具有显著的相关性。目前,多种维生素及芳香烃受体拮抗剂正逐渐显示出其在预防或减少包括腭裂在内的先天性畸形发生中的价值^[1-3]。本实验拟用扫描电镜观察 TCDD、叶酸、白藜芦醇和 α -萘黄酮作用后小鼠腭中嵴上皮细胞表面的超微结构变化,以探讨 TCDD 诱导腭裂发生及叶酸、白藜芦醇或 α -萘黄酮抑制 TCDD 致胎鼠腭裂发生可能的机制。

1 材料与方法

1.1 实验动物

由重庆医科大学实验动物中心提供[许可证号:SCXK(渝)20050002],SPF 级 C57BL/6J 小鼠,8~10 周龄,体质量 20~23 g。小鼠饲养于 SPF 实验室,温度为 22℃~24℃,湿度为(55±5)%,循环光照明暗各 12 h,自由摄食饮水,于黄昏时按雌雄比 2:1 的比例合笼交配,次日晨观察雌鼠外阴,发现阴栓者视为受孕,记录为妊娠第 0 天(gestation day 0, GD0)。

1.2 器材与试剂

解剖显微镜(NIKON INC),扫描电子显微镜(S-3000N,重庆医科大学生命科学研究院)。TCDD、玉米油、叶酸、白藜芦醇、 α -萘黄酮均购自美国 Sigma 公司,4℃冰箱内避光保存备用。羧甲基纤维素钠(carboxymethylcellulose, CMC)购自北京索莱宝公司。

1.3 胎鼠腭部发育情况的观察

将 GD10 孕鼠随机分为 5 组,每组 8 只。TCDD 组以 TCDD 28 μ g/kg(用玉米油配制成 4 μ g/ml)灌胃;对照组以玉米油 0.1 ml 灌胃;叶酸组以叶酸 10 mg/kg+TCDD 28 μ g/kg 灌胃;白藜芦醇组以白藜芦醇(用 0.05%CMC 配置成 10 mg/ml)50 mg/kg+TCDD 28 μ g/kg 灌胃; α -萘黄酮组以 α -萘黄酮

(用 0.05%CMC 配置成 1 mg/ml)5 mg/kg+TCDD 28 μ g/kg 灌胃。于 GD17.5 脱颈法处死孕鼠,称量孕鼠及胎鼠体质量,记录胎鼠数、有无死胎和吸收胎,解剖显微镜下观察胎鼠腭裂的发生情况。

1.4 腭部扫描电镜观察

将 GD 10 孕鼠随机分为 5 组,每组 3 只。处理方法同前,每组分别于 GD13.5、14.5、15.5,断颈处死孕鼠,取出胚胎后,解剖显微镜下剪取胎鼠头部并去除下颌和舌,保持腭器官完整。于 2.5%戊二醛中 4℃固定 24 h 后,乙醇逐级脱水、经临界点干燥、粘台(注意腭口腔面朝上)和真空蒸镀金属膜,然后用扫描电子显微镜观察拍照。测量各组腭突间隙的宽度,在间隙的上、中、下取值,以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示。

1.5 统计学分析

采用 SPSS 17.0 统计软件进行分析。计量资料以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示。多组间比较采用单因素方差分析。样本率比较采用卡方检验,检验水准 $\alpha=0.05$ (双侧);样本率两两比较,检验水准 $\alpha=0.017$ (双侧)。

2 结果

2.1 各组胎鼠腭裂发生情况

对照组和各实验组孕鼠外观、饮水、摄食、活动均无明显异常,无早产、流产情况。TCDD 组、白藜芦醇组和 α -萘黄酮组分别出现死胎和吸收胎各 1 只,其余各组胎鼠均为活胎。对照组和实验各组之间相比,孕鼠体质量增加量、活胎鼠体质量、每窝平均胎数、每窝活胎数、死胎和吸收胎数,差异均无统计学意义($P>0.05$)。TCDD 28 μ g/kg 致胎鼠腭裂发生率为 92.86%(52/56),对照组未见胎鼠腭裂形成。叶酸组、白藜芦醇组和 α -萘黄酮组胎鼠腭裂发生率分别为 73.08%(38/52)、74.51%(38/51)、65.52%(38/58),与 TCDD 组相比,差异均有统计学意义($\chi^2=6.238, P=0.013, \chi^2=5.421, P=0.020, \chi^2=11.221, P=0.001$);3 组之间相互比较差异无统计学意义(叶酸组和白藜芦醇组, $\chi^2=0.027, P=0.869$;叶酸组和 α -萘黄酮组 $\chi^2=0.734, P=0.392$;白藜芦醇组和 α -萘黄酮组, $\chi^2=1.040, P=0.308$)。

表 1 孕鼠和胎鼠的发育情况及腭裂发生率($\bar{x} \pm s$)

Tab.1 Development of pregnant and fetal mice and the incidence of cleft palate ($\bar{x} \pm s$)

组别	孕鼠体质量增 加量(g)	活胎鼠体质量 (g/只)	胎鼠(只)				腭裂发生率 (%)
			总胎数	每窝平均胎数	每窝活胎数	死胎/吸收胎数	
对照组	2.05±0.44	1.09±0.10	57	7.13±1.36	7.13±1.36	0	0.00
TCDD组	1.79±0.57	1.06±0.11	57	7.13±0.99	7.00±0.93	1	92.86 ^a
叶酸组	1.94±0.40	1.05±0.12	52	6.50±1.07	6.50±1.07	0	73.08 ^{ab}
白藜芦醇组	1.93±0.50	1.02±0.10	52	6.50±0.93	6.38±1.06	1	74.51 ^{ab}
α -萘黄酮组	1.91±0.41	0.96±0.09	59	7.38±0.74	7.25±0.70	1	65.52 ^{ab}
F 值	0.318	1.109		1.198	1.109		
P 值	0.864	0.368		0.329	0.368		

注:a,与对照组比较, $P<0.01$;b,与 TCDD 组比较, $P<0.01$

2.2 胎鼠腭裂模型的扫描电镜观察

如图 1 所示,在 GD13.5,对照组和 TCDD 组腭突无明显差异,沿舌体两侧垂直生长;腭表面的中嵴上皮细胞呈光滑整齐的铺路石样外观,饱满膨胀且弥漫点状伪足。在 GD14.5,对照组双侧腭突逐渐接触融合,在即将融合的腭突饱满光滑的中线上皮表面出现大量丝状伪足;而 TCDD 组双侧腭突体积小,表面上皮细胞出现皱缩、破碎现象及细胞脱落后遗留的凹陷(图 1 所示),且表面未见明显伪足。在 GD15.5,对照组双侧腭突在中线完全融合,且表面上皮细胞光滑完整、连接紧密;TCDD 组双侧腭突未接触融合,中间留有缝隙形成腭裂,其腭突表面细胞扁平,分界不清且散在细胞碎片。

2.3 用药组的扫描电镜观察

如图 2 所示,GD14.5,叶酸组、白藜芦醇组、 α -萘黄酮组双侧腭突间隙的宽度(表示)分别为(0.20 ± 0.03)、(0.17 ± 0.05)、(0.35 ± 0.05) mm,均较 TCDD 组(0.38 ± 0.04) mm 狭窄;叶酸组和白藜芦醇组腭突间隙的宽度,与 TCDD 组相比差异有统计学意义($F=13.342, P=0.002; P=0.001$),两者之间相比差异无统计学意义($P=0.697$); α -萘黄酮组腭突间隙的宽度较 TCDD 组差异无统计学意义($P=0.587$)。叶酸组腭中嵴上皮细胞表面光滑、饱满膨胀,且表面可见伪足样结构,但明显短于对照组、白藜芦醇组及 α -萘黄酮组伪足;白藜芦醇组和 α -萘黄酮组腭中嵴上皮细胞表面饱满膨胀,连接紧密,表面可见大量丝状伪足,与对照组相比差异无统计学意义。

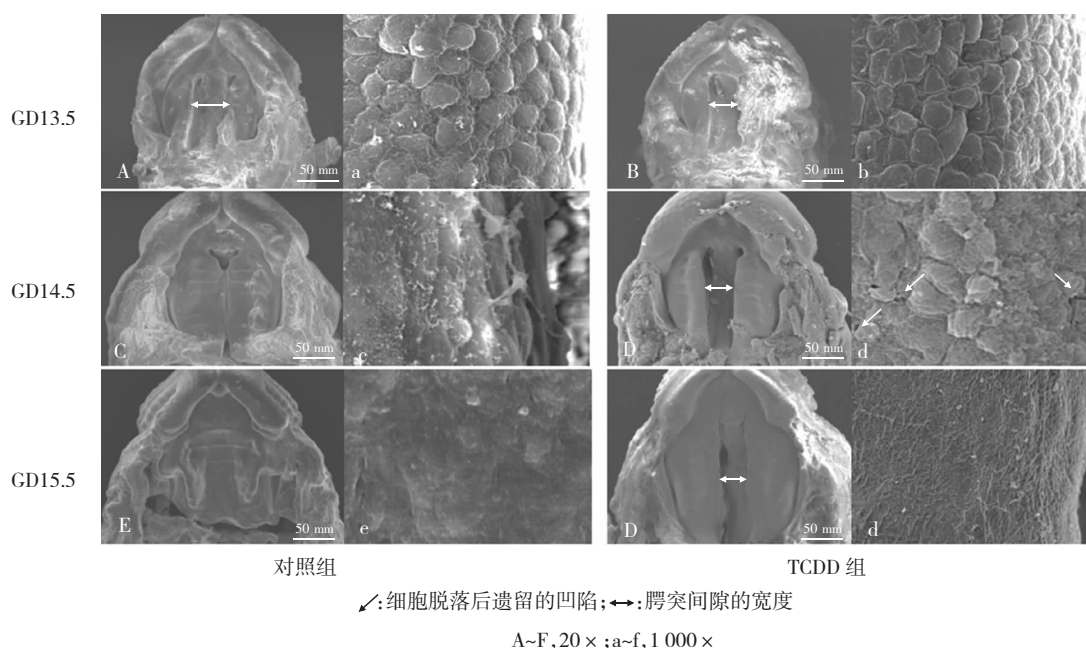


图 1 对照组和 TCDD 组胎鼠 GD13.5、14.5、15.5 的腭突发育扫描电镜表现

Fig.1 Micrographs for palate of control group and TCDD treated group on GD13.5,14.5,15.5 under scanning electron microscope

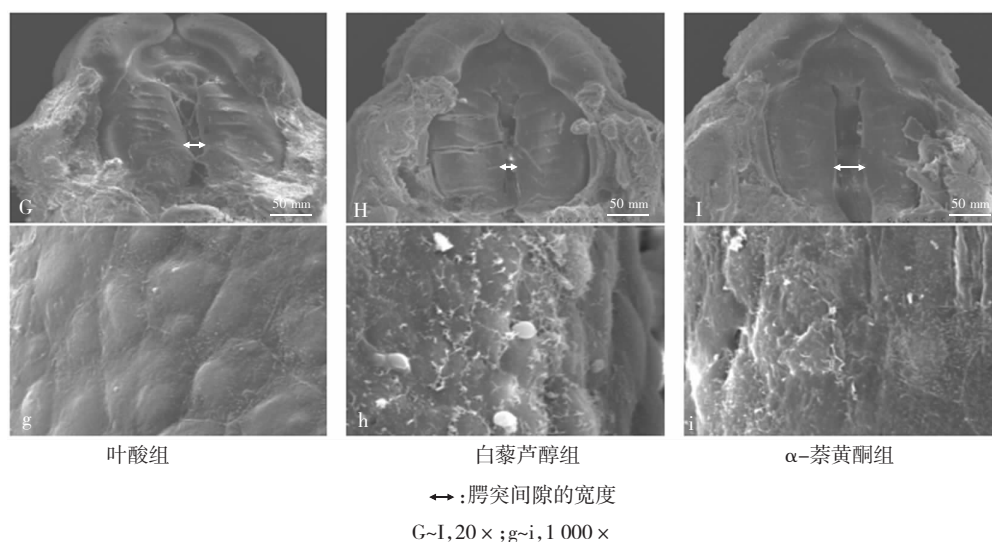


图 2 各拮抗组胎鼠 GD14.5 的腭突扫描电镜表现

Fig.2 Micrographs for palate of the antagonistic groups on GD14.5 under scanning electron microscope

3 讨 论

腭裂是环境和遗传因素相互作用所致的多因素遗传病。已有学者从大体和分子水平研究发现, TCDD 对腭中嵴上皮(medial edge epithelial, MEE)细胞均有影响, 与腭裂发生相关^[4]。笔者在前期研究中^[5], 利用 TCDD 成功诱导出胎鼠先天性腭裂模型。已有动物研究显示了叶酸、白藜芦醇和 α -萘黄酮预防腭裂形成的价值, 即, 特定时间、特定剂量的叶酸能够拮抗维甲酸、TCDD 诱导的腭裂发生^[6-7]; 白藜芦醇和 α -萘黄酮均为二噁英受体[芳香烃受体(aryl hydrocarbon receptor, AhR)]的拮抗剂, 能够降低 TCDD 的毒性, 并能阻断 TCDD 诱导的腭裂^[2-3]。笔者拟通过观察正常腭部发育及腭裂形成过程中腭中嵴上皮细胞表面的超微结构, 叶酸、白藜芦醇和 α -萘黄酮干预后腭裂发生率及腭中嵴上皮细胞表面超微结构的变化, 以进一步探讨 TCDD 诱导腭裂发生及上述 3 种药物拮抗 TCDD 致胎鼠腭裂发生可能的机制。

本组实验, TCDD 28 $\mu\text{g/kg}$ 致胎鼠腭裂发生率为 92.86%, 对照组未见胎鼠腭裂形成。扫描电镜(图 1)显示, 正常组腭发育过程中腭中嵴上皮细胞表面光滑整齐、饱满膨胀, 表面丝状伪足逐渐增多、延长, 一直持续到腭突融合结束。而 TCDD 组腭突发育过程中腭中嵴上皮细胞表面逐渐变得皱缩、破裂, 表面粗糙, 散在细胞碎片, 伪足结构逐渐减少、消失, 最终形成腭裂。说明 TCDD 可能通过破坏胚胎腭突表面被覆上皮的基本形态、抑制伪足的生长延伸, 并进一步破坏上皮完整性, 导致了腭裂的发生。已有研究证实, 在双侧腭突接触前保持被覆上皮的完整性非常重要, 倘若腭突上皮提前脱落, 腭突间充质组织失去表面上皮的保护将导致融合失败, 形成腭裂^[8]。本实验结果与国内外文献报道^[7,9]基本一致。丝状伪足的结构基础是肌动蛋白, 其可能的作用如下: (1)丝状伪足可大大增加 MEE 的表面积; (2)丝状伪足可浓缩桥粒或细胞黏附分子; (3)丝状伪足可降低 MEE 表面的能量自由释放; (4)丝状伪足可指示分裂和迁移活性的增加。上述作用对于双侧腭突接触后上皮缝消失及快速融合而形成一完整的腭至关重要^[10]。

本实验结果显示: 叶酸、白藜芦醇和 α -萘黄酮均能拮抗 TCDD 诱导胎鼠腭裂发生, 与国内外相关文献报道^[2-3,8]基本一致; 叶酸、白藜芦醇和 α -萘黄酮分别干预后对孕鼠及胎鼠的发育均无明显毒性影响, 且其致胎鼠腭裂发生率, 3 组之间比较无明显差异; 结合腭突间隙宽度的测定, 可见叶酸、白藜芦

醇促进腭突的生长发育较 α -萘黄酮更明显。扫描电镜显示(图 2), GD14.5, 3 个用药组腭中嵴上皮细胞表面光滑、饱满膨胀、连接紧密且表面可见大量丝状伪足, 以白藜芦醇组及 α -萘黄酮组明显, 与对照组相比无明显差异, 提示白藜芦醇和 α -萘黄酮可以恢复 TCDD 诱导后腭胚突表面超微结构至正常状态; 而叶酸组腭中嵴上皮细胞表面虽可见大量伪足, 但结构短小, 说明叶酸对细胞表面结构的恢复作用并不完全。

综上所述, 叶酸、白藜芦醇和 α -萘黄酮均能拮抗 TCDD(28 $\mu\text{g/kg}$)诱导胎鼠腭裂的发生, 此作用的组织学基础是, 3 种药物可能通过恢复 TCDD 诱导后腭胚突表面超微结构, 促进腭突的融合, 进而形成完整的腭, 其中以白藜芦醇的作用更明显。TCDD 发挥的毒作用是由于与 AhR 结合后诱导相应基因的表达^[9](如 CYP1A1、CYP1A2、CYP1B1、环氧化酶 2), 改变酶活性和蛋白质, 在生物氧化反应中, 增加活性氧的产生, 导致氧化应激等一系列反应^[10]。MEE 的运动性(迁移、接触、黏附)是胎鼠腭突融合的前提条件, 而 MEE 的运动性主要依靠 MEE 表层的周皮细胞产生的丝状伪足^[11]。故推测, TCDD 通过激活胎鼠的氧化应激, 诱导 MEE 表层周皮细胞的凋亡, 使丝状伪足减少, 降低了 MEE 的运动性, 从而抑制了腭突的融合, 诱导胎鼠腭裂发生。叶酸在体内的主要活性形式 5-甲基四氢叶酸, 具有抗氧化作用^[12]; 白藜芦醇(CYP1B1 抑制剂)和 α -萘黄酮(CYP1A1、CYP1A2 抑制剂)均为 AhR 的拮抗剂^[13-14], 具有抗氧化、清除氧自由基的作用。故推测, 叶酸、白藜芦醇和 α -萘黄酮恢复 TCDD 诱导后腭胚突表面超微结构至正常状态, 可能通过拮抗 AHR 抑制 CYP 的表达, 从而降低活性氧的产生, 并通过抗氧化作用, 抑制周皮细胞的凋亡, 伪足增加了 MEE 的运动性, 从而促进腭突的融合。TCDD 诱导腭裂的机制及 3 种药物发挥拮抗作用的机制是否与氧化应激有关, 仍需进一步研究。

参 考 文 献

- [1] Li S, Chao A, Li Z, et al. Folic acid use and nonsyndromic orofacial clefts in China: a prospective cohort study[J]. *Epidemiology*, 2012, 23(3): 423-432.
- [2] Jang JY, Park D, Shin S, et al. Antiteratogenic effect of resveratrol in mice exposed in utero to 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin[J]. *Eur J Pharmacol*, 2008, 591(1-3): 280-283.
- [3] Jang JY, Shin S, Choi BI, et al. Antiteratogenic effects of α -naphthoflavone on 2,3,7,8-tetrachloro-dibenzo-p-dioxin (TCDD) exposed mice in utero[J]. *Reprod Toxicol*, 2007, 24(3-4): 303-309.

基因与细胞治疗

DOI: 10.13406/j.cnki.cyx.000110

骨髓间充质干细胞在 C6 脑胶质瘤细胞微环境中
瘤性转化的生物学分析

张春敏, 朱 静, 燕 莎, 崔建邦

(重庆医科大学附属儿童医院中心实验室、儿童发育疾病研究教育部重点实验室, 重庆 400014)

【摘要】目的:探讨骨髓间充质干细胞(bone marrow-derived mesenchymal stem cells, BMSCs)在 C6 脑胶质瘤细胞微环境中是否发生了生物学特性的改变。**方法:**全骨髓贴壁筛选法分离培养 SD 大鼠 BMSCs, 免疫荧光(immunofluorescence, IF)法检测 BMSCs 表面标志分子 CD90⁺、CD105⁺、CD45⁻; 活细胞荧光染料 CM-Dil 标记 BMSCs(CM-Dil+BMSCs), 流式细胞术(flow cytometry, FCM)检测标记效率, 台盼蓝染色法连续监测 BMSCs 死亡率; CM-Dil+BMSCs 与 C6 脑胶质瘤细胞直接接触共培养为直接共培养组, BMSCs 与 C6 脑胶质瘤细胞非接触共培养为间接共培养组, 阳性对照组为 C6 脑胶质瘤细胞单独培养, 阴性对照组为 BMSCs 单独培养, 培养 7 d 后, IF 法检测各组酸性胶质纤维蛋白(glial fibrillary acidic protein, GFAP)、CD90、CD105 表达情况; FCM 分选实验组 CM-dil+BMSCs 和 C6 脑胶质瘤细胞, 实时荧光定量聚合酶链反应(real time quantitative polymerase chain reaction, RT-qPCR)检测各组 GFAP、PTEN、Bcl-xl、CyclinD1、CD90、CD105 基因的表达。**结果:**①培养至第 3 代的 BMSCs 90% 以上表达 CD90、CD105 且不表达 CD45; ②IF 结果显示直接共培养组、间接共培养组 BMSCs 细胞表达 GFAP 水平较阴性对照组 BMSCs 均增高。③RT-qPCR 结果显示直接共培养组、间接共培养组 BMSCs 细胞 GFAP、PTEN、Bcl-xl、CyclinD1 基因表达水平较阴性对照组 BMSCs 明显增高($P<0.05$), 且直接共培养组与间接共培养组比较无明显差异($P>0.05$); 同时, 直接共培养组、间接共培养组 BMSCs 的 CD90、CD105 基因表达水平较阴性对照组 BMSCs 显著降低($P<0.05$)。**结论:**BMSCs 在 C6 脑胶质瘤细胞微环境中存在潜在瘤性转化的倾向。

【关键词】骨髓间充质干细胞; 酸性胶质纤维蛋白; C6 脑胶质瘤细胞

【中图分类号】R737.9

【文献标志码】A

【收稿日期】2013-12-25

作者介绍: 张春敏, Email: zhangchunmin1987@163.com,

研究方向: 骨髓间充质干细胞瘤性转化。

通信作者: 朱 静, Email: jingzhu@cqmu.edu.cn。

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(编号: 31140035)。

优先出版: <http://www.cnki.net/kcms/doi/10.13406/j.cnki.cyx.000110.html>

- [4] Fujiwara K, Yamada T, Mishima K, et al. Morphological and immunohistochemical studies on cleft palates induced by 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin in mice[J]. Congenit Anom (Kyoto), 2008, 48(2): 68-73.
- [5] Yuan X, Liu LL, Pu YL, et al. 2,3,7,8-Tetrachlorodibenzo-p-dioxin induces a proteomic pattern that defines cleft palate formation in mice[J]. Food Chem Toxicol, 2012, 50(7): 2270-2274.
- [6] Yao Z, Chen D, Wang A, et al. Folic acid rescue of ATRA-induced cleft palate by restoring the TGF- β signal and inhibiting apoptosis[J]. J Oral Pathol Med, 2011, 40(5): 433-439.
- [7] Li CH, Shi B, He W, et al. Is it possible to antagonize 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin-induced cleft palate by prenatal administration of folic acid? An experimental study[J]. Toxicol Ind Health, 2010, 26(5): 281-286.
- [8] Gritli-Linde A. Molecular control of secondary palate development[J]. Dev Biol, 2007, 301(2): 309-326.
- [9] Lindén J, Lensu S, Tuomisto J, et al. Dioxins, the aryl hydrocarbon receptor and the central regulation of energy balance[J]. Front Neuroen-

doocrinol, 2010, 31(4): 452-478.

- [10] 王朝和, 原丽欣, 曹明琳, 等. 2,3,7,8-四氯二苯并二噁英对体内氧化应激反应的研究进展[J]. 中国工业医学杂志, 2003, 16(2): 99-101.

- [11] Cuervo R, Covarrubias L. Death is the major fate of medial edge epithelial cells and the cause of basal lamina degradation during palatogenesis[J]. Development, 2004, 131(1): 15-24.

- [12] Lü XY, Armfinn HS, Asta J, et al. Antioxidant effect of 5-methyl-tetrahydrofolate stronger than ascorbic acid[J]. Chinese Journal of Biochemistry and Molecular Biology, 2009, 25(9): 824-827.

- [13] Lu F, Zahid M, Wang C, et al. Resveratrol prevents estrogen-DNA adduct formation and neoplastic transformation in MCF-10F cells[J]. Cancer Prev Res (Phila), 2008, 1(2): 135-145.

- [14] Tutel'yan VA, Gapparov MM, Telegin JY, et al. Flavonoids and resveratrol as regulators of Ah-receptor activity: protection from dioxin toxicity[J]. Bull Exp Biol Med, 2003, 136(6): 533-539.

(责任编辑: 唐秋姗)