第 27卷第 2期
2007年 2月

环 境 科 学 学 报
Acta Scientiae Circumstantiae

Vol 27, No. 2
Feb., 2007

徐钱, 杨旭, 杨光涛, 等. 2007. 不同浓度甲醛致小鼠肾细胞 DNA损伤效应研究 [J]. 环境科学学报, 27(2): 276 - 281
Xu Q, Yang X, Yang G T, *et al* 2007. Study on DNA damage of the kidney cells of mice induced by formaldehyde at different doses[J]. Acta Scientiae Circumstantiae, 27(2): 276 - 281

不同浓度甲醛致小鼠肾细胞 DNA损伤效应研究

徐钱, 杨旭*, 杨光涛, 何胡军, 彭光银, 丁书茂

华中师范大学生命科学学院环境科学实验室, 武汉 430079

收稿日期: 2006-04-20　　录用日期: 2006-11-29

摘要: 为了探讨甲醛导致生物机体内的 DNA损伤效应及其剂量 - 效应关系, 通过不同浓度的液态甲醛对小鼠肾细胞进行染毒, 并分别运用了单细胞凝胶电泳实验、荧光检测法实验和 KCl-SDS沉淀法实验进行研究. 结果显示, 甲醛在低浓度 (5 μmol·L^{-1})时, 具有致 DNA断裂的作用; 在中等浓度 (25 μmol·L^{-1})时, 对 DNA的损伤作用以 DNA-DNA交联为主; 在高浓度 (125、625 μmol·L^{-1})时, 对 DNA的损伤作用以 DNA-蛋白质交联为主.

关键词: 甲醛; 肾细胞; DNA断裂; DNA-DNA交联; DNA-蛋白质交联

文章编号: 0253-2468(2007)02-0276-06　　**中图分类号**: R994.6　　**文献标识码**: A

Study on DNA damage of the kidney cells of mice induced by formaldehyde at different doses

XU Qian, YANG Xu*, YANG Guangtao, HE Hujun, PENG Guangyin, DING Shumao

Laboratory of Environmental Science, College of Life Science, Central China Normal University, Wuhan 430079

Received 20 April 2006;　　**accepted** 29 November 2006

Abstract: Formaldehyde is one of the indoor air pollutions with the characteristics of extension sources and serious biological toxicities. The kidney cells of mice were chosen as materials to evaluate the relationship between the types of damage on DNA and different doses of liquid formaldehyde by the methods of single cell gel electrophoresis (SCGE), fluorescent detection assay and KCl-SDS assay. The results demonstrated that formaldehyde could induce DNA strand breaks at the lower dose (5 μmol·L^{-1}), and could primarily induce DNA-DNA crosslinks at the middle dose (25μmol·L^{-1}), as well as DNA-protein crosslinks at the higher dose (125, 625 μmol·L^{-1}).

Keywords: formaldehyde; kidney cells; DNA breakage; DNA-DNA crosslinks; DNA-protein crosslinks

1 引言 (Introduction)

甲醛 (formaldehyde, FA), 俗名蚁醛, 是一种无色、强嗅的刺激性气体. 它具有来源广泛、污染时间长、相对污染水平高、生物毒性大等特点, 因此, 越来越受到人们的广泛关注. 甲醛可以导致各组织器官氧化损伤、DNA链断裂 (DNA stand breakage, DSB), DNA-DNA的交联 (DNA-DNA crosslink, DDC)及 DNA-蛋白质交联 (DNA-protein crosslinks, DPC)、呼吸道和眼部刺激作用、致敏作用和免疫毒性等 (World Health Organization, 2002).

乔琰等 (2004)通过对甲醛染毒后小鼠肾细胞还原型谷胱甘肽 (GSH)含量的测定, 发现 GSH的含量明显下降. 刘军等 (2003)通过对超氧化物歧化酶 (SOD)水平的测定, 发现肾脏组织的 SOD活性显著下降. 这都证明甲醛能导致肾脏组织的抗氧化能力显著降低, 进而造成肾脏组织的氧化损伤. 2006年, 梁海荣等通过彗星实验发现吸入甲醛还能引起小鼠肾细胞 DNA断裂损伤. 由此可见, 甲醛能通过多种途径破坏机体的氧化平衡状态, 使机体的抗氧化能力显著降低, 体内过多的自由基导致机体的氧化应激, 自由基攻击靶细胞, 可造成包括肾脏等多种

基金项目: 国家自然基金面上项目 (No. 30570799); 湖北省科技攻关计划项目 (No. 2005AA307B01)

Supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 30570799) and Hubei Province Science and Technology Key Project (No. 2005AA307B01)

作者简介: 徐钱 (1984—), 男; *通讯作者 (责任作者), E-mail: yangxu@mail.ccnu.edu.cn

Biography: XU Qian (1984—), male; * **Corresponding author**, E-mail: yangxu@mail.ccnu.edu.cn

© 1994-2007 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

组织器官的不同程度的损伤. 然而,甲醛对肾所造成的 DSB、DDC和 DPC损伤的系统研究却相对较少. 故本实验以小鼠肾细胞为实验材料,采用液态甲醛体外染毒的方法,对不同浓度甲醛所致 DNA损伤及其剂量 效应关系进行具体的研究,以期为更进一步研究甲醛的遗传毒性效应提供实验依据.

2　材料与方法 (Materials and methods)

2.1　主要试剂和仪器

试剂: 10%福尔马林溶液 (美国 SIGMA公司),蛋白酶 K(美国 Merk公司), Hoechet33258荧光染料 (美国 SIGMSA公司),十二烷基硫酸钠 (美国 Merk公司),正常熔点琼脂糖 (上海化学试剂公司),低熔点琼脂糖 (德国 Premega公司),丫啶橙 (上海化学试剂公司), 0.4%苔　蓝溶液 (美国 SIGMA公司),其它试剂均为分析纯.

仪器:低温离心机 (Epperdof - 5415R,德国),荧光分光光度计 (F-4500,日本日立), DYY-Ⅲ型电泳槽 (北京市六一仪器厂), DYY-11B型三恒电泳仪 (北京市六一仪器厂), BH-2型荧光显微镜 (日本 OLYMPUS), 0.635 cm、450万相素数码相机 (日本 Nikon),三用电热恒温水箱 (北京长源实验仪器厂).

2.2　实验动物

本研究所用实验动物为湖北省预防医学院实验动物中心提供的 SPF级昆明雄性小鼠 6只,体重 23 g左右.

2.3　实验方法

2.3.1　小鼠肾细胞悬液的制备及染毒方案　将实验动物脱颈致死后,迅速取出肝脏,用眼科剪剪成糜状 (约 $1mm^3$的组织块),用 2层擦镜纸过滤,将得到的细胞悬液均匀分装到 5个离心管中,并分别加不同浓度的甲醛溶液,使甲醛的最终浓度分别为 0、5、25、125和 625 μmol·L^{-1}. 然后将 5组离心管放入 37 ℃水浴中,染毒 1 h. 设计每个染毒组分别做 6个样品.

2.3.2　离体细胞数量及死亡率的测量　用苔　蓝排斥法检测离体细胞活力. 细胞存活率接近 90%,细胞密度约为 10^5～10^6个 ·mL^{-1}.

2.3.3　单细胞凝胶电泳实验

制片:将 180 μL质量分数为 1%的正常熔点的琼脂糖 (NMA)滴加于完全磨毛的载玻片 (75mm × 25mm) (经预加热处理)的一侧,迅速将胶铺平, 然后将载玻片放入保湿盒中,待其凝固之后,再滴 100 μL质量分数为 1%的低熔点琼脂糖 (LMA)和细胞悬液的混合液 (体积比约为 3∶1)后,于第一层胶面上迅速铺平. 再把载玻片放入保湿盒中,充分凝固后滴加 100 μL质量分数为 0.8%的低熔点琼脂糖 (LMA)于第二层胶面上,盖上盖玻片待其凝固.

裂解:移去盖玻片,将凝固好的载玻片放到裂解液 (2.5 mol·L^{-1} NaCl, 100 mol·L^{-1} NaEDTA, 10 mmol·L^{-1} Tris, 1%十二烷基肌氨酸钠, pH = 10,用前加入 1%体积的 TritonX-100, 10%二甲基亚砜)中,在 4℃下避光裂解 2 h.

解旋:取出载玻片,放于蒸馏水中漂洗 3 min. 再放在电泳槽中,倒入新鲜配制的电泳缓冲液 (1 mol·L^{-1} Na_2 EDTA, 300 mmol·L^{-1} NaOH, pH = 13),电泳液应略高过胶面 0.25 cm. 盖上盖子. 避光静置 20 min,使双链 DNA在碱性条件下解旋成单链 DNA.

电泳:调节电压为 16V,电流 116 mA,避光电泳 20 min.

中和: 电泳结束后,将载玻片放入中和液 (0.4 mol·L^{-1} Tris, pH = 7.5)中,中和 30 min,除去碱和去污剂,以免影响染色效果.

染色:在避光条件下,用 20 mg·L^{-1}丫啶橙染色 5 min,再用蒸馏水小心洗掉表面染料, 24 h内荧光显微镜下观察并拍照.

实验数据的统计分析: 运用 CASP彗星图像分析软件 (从 http://www.casp.of pc/下载)分析由数码相机拍摄的单个细胞电泳图片,检测指标为国际公认的 Tail DNA和 Tail moment 单细胞凝胶电泳实验测得数据用 Sigma Plot 9.0统计软件分析.

2.3.4　DDC的检测 ——荧光检测法　DDC采用荧光检测法检测 (Liu Y S *et al*, 2006; Pu *et al*, 1999; Zhang *et al*, 2001; Raquel *et al*, 2002),其原理是经过裂解细胞、分离 DNA、DNA变性和荧光染料染色之后,用荧光分光光度计对 DNA的荧光强度进行检测. 由于荧光染料 hochest 33258仅能与 DNA双链结合,因此,将每组 DNA分成等量的 2份,一份在 100℃下变性,随后快速冷却至 23℃,使其中游离的 DNA不致复性. 再用荧光染料分别对 2份 DNA进行染色,最后测出变性前后的 DNA的荧光强度. 根据下式计算 DNA交联率:

$$C_t = 100\frac{f_n - f_0}{1 - f_0} \quad (1)$$

© 1994-2007 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

式中, C_t为 DNA 交联率, f_n为甲醛染毒组中热变性后的荧光强度与热变性前的荧光强度的比值, f_0为对照组中热变性后的荧光强度与热变性前的荧光强度的比值.

细胞的裂解及总 DNA的分离:用离心管收集细胞后,向其中加入 500 μL PBS(pH = 7.5)和 500 μL (2%)的 SDS溶液,轻微振荡后于 65℃水浴中裂解 10 min. 从水浴取出裂解细胞并加入 100 μL溶于 20 mmol·L^{-1} Tris-HCl的 KCl(1.0 mol·L^{-1}, pH = 7.5)溶液,将混合液 6次穿过 1 mL聚丙烯枪头后,冰上放置 5 min,形成大量白色沉淀,在 12000 r·min^{-1}下离心 10 min收集沉淀,将上清液转入一干净的离心管 (4 mL)中. 在沉淀中加入 500 μL清洗缓冲液,然后再加入 500 μL蛋白酶 K(0.2 mg·mL^{-1},用清洗缓冲液配制),轻微震荡, 50℃消化 3 h,冰上骤冷 5 min,在 12000 r·min^{-1}下离心 10 min收集沉淀,用清洗缓冲液清洗 2次,每次都将上清转入同一离心管中.

游离 DNA变性: 将上述 4 mL离心管中的上清液混匀后,各取 1 mL分装 2管作为待测样品. 一管于 100℃水浴中热变性 5 min,随后快速冷却至 23℃,使游离的 DNA不致复性.

DNA标准曲线的制作:用清洗缓冲液配制终浓度分别为 0、100、300、500、750、1000、1500、2000、3000和 5000 ng·mL^{-1}的小牛胸腺 DNA标准液,用终浓度为 200 ng·mL^{-1}的荧光染料 Hoechst33258,于暗处染色 30 min,用 F-4500型荧光分光光度仪在 350 nm激发光和 450 nm发射光下测得各浓度的荧光值,制备标准曲线,所制标准曲线如图 1所示. 回归方程为:

$$Y = 2.4423 + 0.0028X,\quad R^2 = 0.9974$$

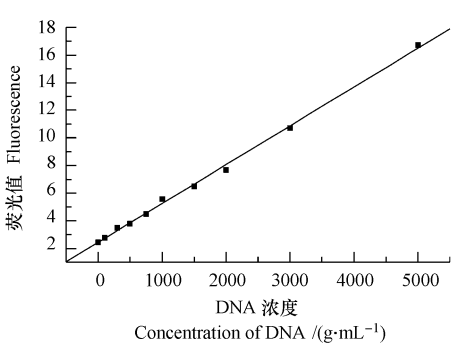

图 1 DNA标准曲线

Fig 1 Standard curve of DNA

染色与检测:向上述待测样品加入终浓度为 200 ng·mL^{-1}荧光染料 Hoechst33258,置于暗处染色 30 min;用 F-4500型荧光分光光度计在 350 nm激发光和 450 nm发射光下测得其荧光值,按公式 (1)计算 DNA交联率.

2.3.5 DPC的检测 ——KCl-SDS沉淀法 DPC采用 KCl-SDS沉淀法检测 (刘英帅 等, 2004; Zhitkovich A *et al*, 1992; Kuykendall J R *et al*, 1995; Chakrabarti S K *et al*, 1999),其原理是十二烷基硫酸钠 (SDS)可以跟 DPC以及其它蛋白质结合,而不与游离态的 DNA结合. 当向样品加入 KCl溶液后,钾离子替换钠离子,产生十二烷基硫酸钾的大量白色沉淀,而与 SDS结合的蛋白质以及交联的 DNA也一起共沉淀下来. 留在上清液中的则是游离态的 DNA,收集上清即可得到游离态的 DNA. 将上清液转移后,再向沉淀中加入蛋白酶 K,在 50℃条件下水浴 3 h后,再次放入冰上骤冷时, SDS-蛋白质复合物就沉淀下来,收集上清,从而分离出交联 DNA,并用荧光法分别测定游离 DNA及交联 DNA含量,并以 DPC系数 η来反映 DNA和蛋白质的交联程度.

细胞的裂解:用离心管收集细胞后,向离心管中加入 500 μL的 PBS(pH = 7.5)重悬细胞,再加入 500 μL (2%)的 SDS溶液并轻微震荡,再将离心管放入 65℃水浴 10 min,裂解细胞.

游离 DNA和交联 DNA的分离:向离心管中加入 100 μL溶于 20 mol·L^{-1} Tris-HCl的 KCl(1.0 mol·L^{-1}, pH = 7.5)溶液. 将混合液 6次穿过 1 mL聚丙烯枪头,从而使 DNA长度统一 (DNA片断的长度可影响该方法的准确性),冰上放置 5 min,形成大量白色沉淀后,在 12000 r·min^{-1}下离心 10 min收集沉淀,将上清液 (游离态 DNA)转入一干净的离心管 (4 mL)中. 再加入 1mL清洗缓冲液 (0.1 mol·L^{-1} KCl、0.1 mmol·L^{-1} EDTA、20mmol·L^{-1} Tris-HCl, pH = 7.5)重悬浮沉淀;在 65℃下水浴加热 10 min,冰上骤冷 5 min,如前述离心,如此清洗 3次,每次都将上清转入上述离心管中. 清洗完毕后,向原离心管中加入 1 mL蛋白酶 K(0.2 mg·mL^{-1},用清洗缓冲液配制),轻微震荡, 50℃消化 3 h,冰上骤冷 5 min. 在 4℃、12000 r·min^{-1}下离心 10 min,将上清液 (其中包括交联 DNA)移入另一离心管中 (4 mL).

染色与检测:向上述待测样品中加入终浓度为 200 ng·mL^{-1}荧光染料 Hoechst33258,使其置于暗处染色 30 min. 用 F-4500型荧光分光光度计测定其

© 1994-2007 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

荧光值,根据标准曲线(图 1)计算 DPC系数 η:

$$\eta = \frac{A}{A+B} \times 100\% \qquad (2)$$

式中,η为 DPC系数,A为交联 DNA的荧光强度,B为自由 DNA的荧光强度.

3　结果(Results)

3.1　DNA断裂作用

采用单细胞凝胶电泳法检测发现,在低浓度(5 μmol·L^{-1})水平时,甲醛对小鼠肾细胞 DNA的损伤以 DNA断裂为主. 如图 2所示,当甲醛溶液浓度为 5 μmol·L^{-1}时, Tail Moment和 Tail DNA都较空白对照组有极显著的提高($p<0.01$); 当甲醛溶液浓度升高到 25 μmol·L^{-1}时, Tail Moment和 Tail DNA都开始下降,并且与空白对照组相比无显著差异性;但当甲醛溶液浓度升高到 125和 625 μmol·L^{-1}时, Tail Moment和 Tail DNA相对于空白对照组有极显著下降($p<0.01$). 由此推判,甲醛在低浓度(5μmol·L^{-1})时,能显著导致小鼠肾细胞的 DNA断裂($p<0.01$);而随着甲醛浓度(25、125、625 μmol·L^{-1})的升高,又导致了 DNA的交联效应,并具有明显的计量效应关系. 但单细胞凝胶电泳法只能局限于检测 DNA的断裂情况,还不能确定是究竟是形成了 DDC还是 DPC.

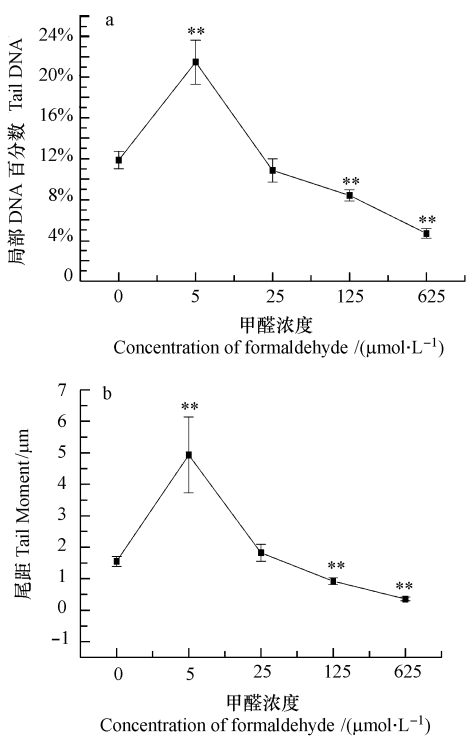

图 2　甲醛致小鼠肾细胞 DNA断裂形成的效应(a.尾部 DNA; b.尾距)(* $p<0.05$, ** $p<0.01$, 与空白对照组比较)

Fig 2　DNA strand breakage formation in mice kidney cells induced by formaldehyde (a. Tail DNA; b. Tail Moment) (* $p<0.05$, ** $p<0.01$, compared with control group)

3.2　DNA-DNA分子交联作用

用 DDC的荧光检测法检测发现,在中等浓度(25 μmol·L^{-1})水平时,甲醛对小鼠肾细胞 DNA的损伤以 DNA-DNA分子交联为主. 如图 3所示,当甲醛溶液浓度为 5 μmol·L^{-1}时, DDC系数较对照组有明显地升高($p<0.05$);而当甲醛溶液浓度继续升高到 25 μmol·L^{-1}时, DDC系数有极显著升高($p<0.01$);当甲醛溶液浓度升高到 125 μmol·L^{-1}及 625 μmol·L^{-1}时, DDC含量又略有降低,但仍高于空白对照组. 这表明甲醛在低浓度(5μmol·L^{-1})时,只能够诱导小鼠肾细胞产生形成少量的 DDC,这时甲醛对 DNA造成的损伤以 DNA断裂为主;而浓度升高到 25 μmol·L^{-1}后,甲醛能够显著诱导 DDC的形成($p<0.01$);而随着甲醛浓度的进一步的升高(125、625μmol·L^{-1}),虽然也产生了 DDC,但 DDC系数却在不断降低,这表明此时产生的 DNA交联不是以 DDC为主,而是以 DPC为主.

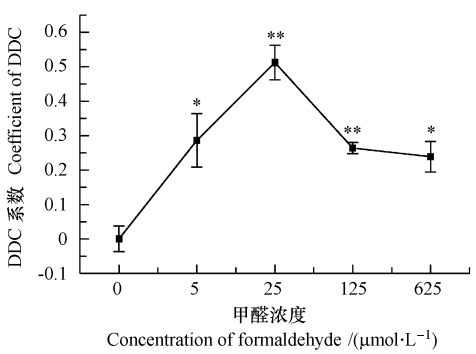

图 3　甲醛致小鼠肾细胞 DDC形成的效应(* $p<0.05$, ** $p<0.01$,与空白对照组比较)

Fig 3　DDC formation in mice kidney cells induced by formaldehyde (* $p<0.05$, ** $p<0.01$, compared with control group)

3.3　DNA蛋白质分子交联作用

用 DPC的 KCl-SDS沉淀法检测发现,在较高浓度(125、625 μmol·L^{-1})水平时,甲醛对小鼠肾细胞 DNA的损伤以 DNA蛋白质分子交联为主. 如图 4所示,当甲醛溶液浓度为 5、25 μmol·L^{-1}时, DPC系数略有升高,但较对照组没有显著性差异. 当浓度上升到 125 μmol·L^{-1}时, DPC系数较对照组有显著

© 1994-2007 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

性提高 ($p < 0.05$);而当甲醛溶液浓度升高到 625 μmol·L^{-1}时,DPC系数较对照组产生了极显著升高 ($p < 0.01$). 这说明在低浓度 (5、25 μmol·L^{-1})时,甲醛对小鼠肾细胞 DNA的损伤不是以 DPC为主,而是以 DNA分子的断裂和 DDC为主;而在高浓度 (125、625 μmol·L^{-1})时,甲醛溶液对小鼠肾细胞 DNA分子的损伤则主要表现为 DPC,从而印证了 DDC检测的结果.

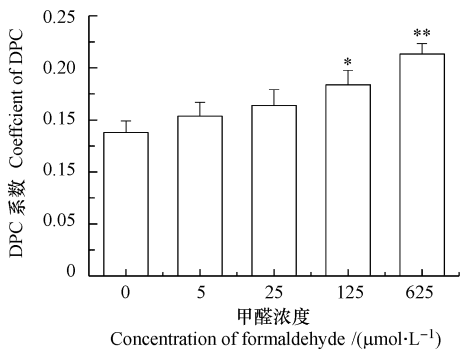

图 4 甲醛致小鼠肾细胞 DPC形成的效应 (* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$,与空白对照组比较)

Fig 4 DPC formation in mice kidney cells induced by formaldehyde (* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, compared with control group)

4 结论 (Conclusions)

1)通过单细胞凝胶电泳实验证实了,低浓度 (5μmol·L^{-1})的甲醛能显著导致小鼠肾细胞的 DNA断裂 ($p < 0.01$);而随着甲醛浓度 (25、125、625 μmol·L^{-1})的升高,又导致了 DNA的交联效应.

2)通过荧光检测法实验说明了,低浓度 (5 μmol·L^{-1})的甲醛只能够诱导小鼠肾细胞产生少量的 DDC;中等浓度 (25 μmol·L^{-1})的甲醛能够显著诱导 DDC的形成 ($p < 0.01$);而高浓度甲醛 (125、625 μmol·L^{-1}),虽然也能诱导 DDC的产生,但却不是以 DDC为主.

3)通过 KCl-SDS沉淀法实验说明了,低浓度 (5μmol·L^{-1})和中等浓度 (25 μmol·L^{-1})的甲醛不能显著诱导 DPC的形成 ($p > 0.05$);而高浓度的甲醛 (125、625μmol·L^{-1})则能够显著诱导 DPC的形成 ($p < 0.05$).

通讯作者简介:杨旭 (1954 -),男,华中师范大学生命科学学院教授,副院长. 从事室内空气污染与健康关系研究工作 23年. E-mail: yangxu@mail ccnu edu cn; Tel: 13871361954 / 027 - 62094654.

References:

Bunde R L, Jarvi E J, Rosentreter J J. 2000. A piezoelectric method for monitoring formaldehyde induced crosslink formation between poly-lysine and poly-deoxyguanosine [J]. Talanta, 51: 159—171

Chakrabarti S K, Bai C J, Subramanian K S. 1999. DNA-protein crosslinks induced by nickel compounds inisolated rat renal cortical cells and its antagonism by specific amino acids and magnesium ion [J]. Toxicology and applied Pharmacology, 154: 245—255

Conaway C C, Whysner J, Verma L K, *et al* 1996. Formaldehyde mechanistic data and risk assessment: endogenous protection from DNA adduct formation [J]. Pharmacol Ther, 71(1-2): 29—55

Concise International Chemical Assessment Document 40: Formaldehyde [R]. Geneva: World Health Organization, 12 —16

Kuykendall J R, Trela B A, Bogdanffy M S. 1995. DNA-protein crosslink formation in rat nasal epithelial cells byhexamethylphosphoramide and its correlation with formaldehyde production [J]. Mutation Research, 343: 209—218

Li R, Lu Z S, Qiao Y, *et al* 2004. Study on the formaldehyde-induced DNA damage with comet assay [J]. Acta Biologiae Experimentalis Sinica, 37(4): 262—268 (in Chinese)

Liu J, Liu H L, Wang G X, *et al* 2003. Suppression effect of gasous formaldehyde on superoxide dismutase (SOD) of various organs of mice [J]. Journal of Environment and Health, 20(2): 81—83 (in Chinese)

Liu Y S, Lu Z S, Li C M, *et al* 2006. Studies on formation and repair of formaldehyde-damaged DNA by detection of DNA-protein crosslinks and DNA breaks [J]. Frontiers in Bioscience, 11: 991—997

Liu Y S, Lu Z S, Yang J W, *et al* 2004. Quantification study on the DNA-protein crosslinks of human blood lymphocytes Induced by formaldehyde [J]. Hubei Journal of Preventive Medicine, 15(4): 4—7 (in Chinese)

Lu Z S, Yan Y, Qiao Y, *et al* 2003. Studies on genotoxicity of gaseous formaldehyde on human buccal cells [J]. China Environmental Science, 23(6): 566—569 (in Chinese)

Pu Q Q, Bezwoda W R. 1999. Induction of alkylator (melphalan) resistance in HL60 Cells is accompanied by increased levels of topoisomerase II expression and function [J]. Mol Pharmacol, 56(1): 147—153

Quievryn G, Zhitkovich A. 2000. loss of DNA-protein crosslinks from from formaldehyde-exposed cells occurs through spontaneous hydrolysis and an active repair process linked to proteosome function [J]. Carcinogenesis, 21(8): 1573—1580

Raquel Aloyz, Xu Z Y, Vanessa Bello, *et al* 2002. Regulation of cisplatin resistance and homologous recombinational repair by the TFIIH subunit XPD1 [J]. Cancer Research, 62(19): 5457—5462

Teng S, Beard K, Pourahmad J, *et al* 2001. The formaldehyde metabolic detoxification enzyme systems and molecular cytotoxic mechanism in isolated rat hepatocytes [J]. Chemico-Biological

© 1994-2007 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

Interactions, 130-132: 258—296

Tice R R, Agurell E, Anderson D, *et al* 2000. Single Cell Gel/Comet Assay: Guidelines for In Vitro and In Vivo Genetic Toxicology Testing [J]. Environmental and Molecular Mutagenesis, 35: 206—221

Zhitkovich A, Costa M. 1992. A simple Sensitive assay to detect DNA-protein crosslinks in intact cells and in vivo [J]. Carcinogenesis 13(8): 1485—1489

Zhang K, May C, Er B Y, *et al* 2001. Modulation of cisplatin cytotoxicity and cisplatin-induced DNA cross-links in HepG2 cells by regulation of glutathione- related mechanisms [J]. Mol Pharmacol, 59(4): 837—843

Zhang Q W, Sun S H, Yang D. 2003. Oxidative damage induce by chronic formaldehyde inhalation in liver of mice [J]. Modern Preventive Medicine, 30(6): 767—768 (in Chinese)

中文参考文献:

李睿, 鲁志松, 乔琰, 等. 2004. 甲醛对 DNA损伤的彗星实验研究 [J]. 实验生物学报, 37(4): 262—268

刘英帅, 鲁志松, 杨继文, 等. 2004. 甲醛致人血淋巴细胞 DNA蛋白质交联作用的定量研究 [J]. 湖北预防医学杂志, 15(4): 4—7

刘杰, 刘宏亮, 王光学, 等. 2003. DNA气态甲醛对小鼠不同组织器官 SOD的抑制作用 [J]. 环境与健康杂志, 20 (2): 81—83

鲁志松, 严彦, 乔琰, 等. 2003. 气态甲醛对人体颊黏膜细胞遗传毒性的研究 [J]. 中国环境科学, 23(6): 566—569

张全武, 孙少华, 杨迪, 等. 2003. 慢性甲醛吸入对小鼠肝脏的氧化损伤 [J]. 现代预防医学, 30(6): 767—768

环境科学领域学术论文中常用数理统计方法的正确使用问题 (二) ——相关分析中相关系数的选择

在相关分析中,作者们常犯的错误是简单地计算 Pearson积矩相关系数,而且既不给出正态分布检验结果,也往往不明确指出所计算的相关系数就是 Pearson积矩相关系数. 常用的相关系数除有 Pearson积矩相关系数外,还有 Spearman秩相关系数和 Kendall秩相关系数等. 其中, Pearson积矩相关系数可用于描述 2个随机变量的线性相关程度 (相应的相关分析方法称为"参数相关分析",该方法的检验功效高,检验结果明确); Spearman或 Kendall秩相关系数用来判断两个随机变量在二维和多维空间中是否具有某种共变趋势,而不考虑其变化的幅度 (相应的相关分析称为"非参数相关分析",该方法的检验功效较参数方法稍差,检验结果也不如参数方法明确). 各种成熟的统计软件如 SPSS、SAS等均提供了这些相关系数的计算模块. 在相关分析中,计算各种相关系数是有前提的. 对于二元相关分析,如果 2个随机变量服从二元正态分布,或 2个随机变量经数据变换后服从二元正态分布,则可以用 Pearson积矩相关系数描述这 2个随机变量间的相关关系 (此时描述的是线性相关关系),而不宜选用功效较低的 Spearman或 Kendall秩相关系数. 如果样本数据或其变换值不服从正态分布,则计算 Pearson积矩相关系数就毫无意义. 退而求其次,此时只能计算 Spearman或 Kendall秩相关系数 (尽管这样做会导致检验功效的降低). 因此,《环境科学学报》编辑部要求作者在报告相关分析结果时,还应提供正态分布检验结果,以证明计算所选择的相关系数是妥当的. 需要指出的是,由于 Spearman或 Kendall秩相关系数是基于顺序变量 (秩)设计的相关系数,因此,如果所采集的数据不是确定的数值而仅仅是秩,则使用 Spearman或 Kendall秩相关系数进行非参数相关分析就成为唯一的选择.

注:摘自《环境科学学报》27卷 1期 171～173页

© 1994-2007 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net