

·基础研究·

热休克蛋白 70对小鼠海马 CA3区 神经元损伤的保护作用*

朱熊兆 元晓丽 姚树桥 @ 彭敏

【摘要】目的:探讨心理应激对海马 CA3区神经元凋亡的影响,热休克蛋白 70 (Hsp70)对心理应激引起的海马 CA3区神经元凋亡的保护作用。方法:建立心理应激、热应激 (Heat Shock Pretreatment)、心理应激加热应激三种动物模型,利用免疫组化和 TUNEL 分别检测海马 CA3区神经元在第 1、2、3个月三个时间段的 Hsp70表达和神经元凋亡水平。结果:有心理应激的各组动物海马凋亡神经元数高对照组 ($P < 0.05$),热应激加心理应激组凋亡神经元在 2、3个月时较同时段心理应激组下降 ($P < 0.05$),但热应激组与对照组间差异没有显著性。有热应激各组 Hsp70表达数高于无热应激的两组 ($P < 0.01$)。海马 CA3区 Hsp70表达水平与神经元凋亡水平呈负相关 ($r = -0.26, P = 0.03$)。结论:热应激可促进海马 Hsp70的表达,热休克蛋白 70对心理应激导致的海马 CA3区神经元损伤有保护作用。

【关键词】 心理应激;热休克蛋白 70 (Hsp70);动物实验;凋亡;海马

中图分类号: R395.6, B845 文献标识码: A 文章编号: 1000-6729 (2006) 07-0425-05

The Protective Role of the Hsp70 in Hippocampal CA3 Neurons against Chronic Psychological Stress

ZHU Xiong-Zhao¹, QI Xiao-Li², YAO Shu-Qiao¹, et al.

Clinical Psychological Research Center, Second Xiangya Hospital, Central South University, Changsha 410011

【Abstract】 Objective: To investigate whether Hsp70 can protect hippocampal CA3 neuron from apoptosis induced by chronic psychological stress. **Methods:** Establish three kinds of stress animal models: psychological stress animal model, thermal stress animal model and psychological stress plus thermal stress animal model. Detect the Hsp70 expression and the neuronal apoptosis in the hippocampal CA3 sub-region with immunohistochemistry staining and TUNEL respectively at three time points, one month, two months and three months after treatment. Three-way ANOVA was used for statistical analysis. Make correlation analysis of the Hsp70 expression and neuronal apoptosis. **Results:** The results revealed that the psychological stress promoted the neuronal apoptosis in the hippocampal CA3 region without increasing the Hsp70 expression; the thermal stress promoted the Hsp70 expression in the hippocampal CA3 neurons, and it did not increase the neuronal apoptosis in this region. At the same time, the neuronal apoptosis of the mice treated with psychological stress and thermal stress was much less than that of the mice treated only with psychological stress. The psychological stress \times thermal stress interaction had significance effect on the apoptosis of the hippocampal CA3 neurons. There was a significant negative correlation between the Hsp70 expression and the apoptosis in the hippocampal CA3 neurons. **Conclusion:** In conclusion, this study demonstrated the Hsp70 could exert protective effect on the hippocampal CA3 neurons against apoptosis from chronic psychological stress.

【Key words】 psychological stress; Heat shock protein70 (Hsp70); animal study; hippocampus; apoptosis

热休克蛋白 (Heat shock protein, Hsp) 是机体在应激条件下合成的应激蛋白,在多种应激条件下都能够发挥保护作用,如缺血缺氧、射线照射、重金属中毒等,因此被认为是具有重要应激保护作用的分子之一。机体在热休克条件下能够合成多种热休克蛋白,包括 5 个主要家族,如 Hsp27、Hsp60、Hsp90、Hsp70 以及 Hsp110/104。其中热休克蛋白 70 (Heat shock protein70, Hsp70) 被认为是对温度和应激条件最敏感的蛋白,且被认为功能最重要。Hsp70 作为许

多结构和功能蛋白质的“分子伴侣”能够促进新生多肽链的正确折叠、转运和组装,以及变性蛋白质的修复、清除。Hsp70 也能够参与细胞周期关键分子的调节,如 p53、Cdk4、Wee-1、c-myc、PRb 等,调节细胞的生存和死亡^[1-3]。

海马作为心理应激环路的重要组成部分,在心理应激条件下其结构可发生一系列可塑性变化,主要包括体积缩小,神经元数目减少,分叉减少,突触结构的改变等^[4],例如 McEwen 的研究表明慢性心理应激

* 基金项目:国家自然科学基金资助项目 (30170326),湖南省自然科学基金项目 (01JJY2085)
中南大学湘雅二医院精神卫生研究所,长沙 410011 中国科学院心理研究所 @通讯作者

可引起海马 CA3区树突萎缩, 齿状回颗粒细胞增生抑制^[5]。Lucassen的研究显示慢性心理应激能够引起海马 CA3区神经元凋亡增加, 使得该脑区的神经元数目减少^[6]。但是心理应激是否引起海马神经细胞凋亡仍存在争论, 其机制尚不清楚。近几年的研究发现限制性心理应激可促使动物海马组织中 Hsp70mRNA 的表达迅速增加, 并且以 CA3区最明显, 由此推测海马 CA3区是应激的敏感区域, 而 Hsp70可能在心理应激期间对该区的神经细胞起保护作用^[7], 最近 Hayase的研究表明强制性游泳应激使小鼠海马组织 Hsp70的阳性细胞数明显增多, Hsp70可减轻应激引起的抑郁, 这一结果提示 Hsp70在心理应激过程中对应激敏感组织发挥了保护作用^[8]。这些研究均是研究急性心理应激与 Hsp70的关系, 且未从形态学上来证明 Hsp70在心理应激过程中对海马组织的保护作用。为了解 Hsp70在心理应激中是否对海马组织有保护作用, 本研究采用慢性心理应激的方法, 对动物给予热应激和心理应激处理, 探讨慢性心理应激对海马 CA3区神经元凋亡的影响, Hsp70在 CA3区的表达水平与凋亡水平的关系, 试图找到 Hsp70对心理应激引起的海马 CA3区神经元凋亡是否具有保护作用的实验性证据, 为预防和干预心理应激对海马组织的损伤作用, 提供一种新的思路。

对象与方法

1.1 动物 1.1.1 动物的繁殖 采用动物由美国德克萨斯大学西南医学中心培育的 HSF1 (heat shock factor 1) 基因敲除杂合子交配, 然后经 PCR 基因型鉴定所得到的野生型小鼠^[9] (本品系小鼠是研究 Hsp70的组织保护作用的常用实验动物, 尤其是该品系中已培育出了 HSF1 基因敲除鼠, 其野生型的实验结果可与将来 HSF1 基因敲除鼠的实验结果进行比较)。所有动物在中南大学湘雅二医院动物饲养中心饲养, 近交繁殖, 群养, 3~5只/盒。选取2月龄小鼠入组。饲养条件为光照 8am - 8pm, 温度为 24 ± 0.5 , 相对湿度 60%, 照度 220lux, 屏蔽环境, 饲料、垫料以及饮水都经过严格的消毒。

1.1.2 动物的分组 采用析因设计的方法, 入组动物共 70只, 根据随机数字表分为四组。对照组 16只; 热应激组 18只; 心理应激组 18只; 心理应激加热应激组 18只 (对照组在 1、2、3个月时段各 5只, 其他各组在每个时段 6只)。入组动物分别给予 1个月、2个月、3个月处理, 干预结束后断头处死。

1.2 动物模型的建立 对照组动物放于一安静的

环境中, 不接受心理应激或热应激。热应激组, 每周接受一次热应激。心理应激组, 接受限制应激和饮水冲突应激。心理应激加热应激组, 在接受限制应激和饮水冲突应激的基础上, 每周接受一次热应激。

1.2.1 心理应激动物模型的建立 心理应激包括两种方式, 限制应激和饮水冲突应激。饮水冲突应激是根据 Vogel冲突模型和 Geller-Seifter冲突模型设计而成的^[10,11]。限制应激是将小鼠限制在一狭小的容器内 (直径 4cm, 长 8cm), 限制其活动范围, 使动物产生无助和抑郁的情绪, 每次限制 0.5~1.5个小时, 容器开口以保证充足的氧气供应。

1.2.2 热应激动物模型的建立 将一支肛温计插入小鼠直肠内约 3cm 处进行肛温监测, 然后将动物放于一个自制的加热舱内进行加热。舱内相对湿度约为 60%。待其直肠温度达到 42 时停止加热, 此时动物的直肠温度能够保持在 42 达 15分钟^[12]。

1.3 免疫组化测定海马神经元 Hsp70的表达

一抗为小鼠抗小鼠 Hsp70, 二抗为山羊抗小鼠 IgG, 正常的山羊血清封闭液, SABC, DAB 显色液 (试剂购于麦新生物制品公司)。步骤: (1) 石蜡切片常规脱蜡入水; (2) 3% H₂O₂ 室温 10分钟消除内源性过氧化物酶; (3) 抗原热修复两次, 0.1MPBS 洗 2分钟 ×2次; (4) 滴加正常山羊血清封闭液, 室温 20分钟; (5) 滴加一抗 4 过夜, 0.1MPBS 洗 2分钟 ×3次; (6) 滴加生物素化山羊抗小鼠 IgG, 室温 15分钟, 0.1MPBS 洗 2分钟 ×3次; (7) 滴加 SABC 室温 15分钟, 0.1MPBS 洗 5分钟 ×4次; (8) DAB 显色, 显微镜下控制反应时间, 蒸馏水冲洗, 梯度酒精脱水, 二甲苯透明, 中性树脂封片。

1.4 脱氧核苷酸末端标记法 (Terminal deoxynucleotidyl transferase-mediated dUTP nick-end labeling, TUNEL) 测定海马神经元的凋亡

平衡缓冲液, 生物素化脱氧核苷酸混合物, 末端脱氧核苷酸转移酶 (Terminal deoxynucleotidyl Transferase, TdT), 20 ×SSC, 蛋白酶 K, 链酶亲和素 HRP, DAB 显色剂, H₂O₂。所需试剂购于美国 Promega 公司。反应步骤如下: (1) 石蜡切片常规脱蜡入水; (2) 切片浸入 0.85% NaCl, 0.1MPBS 洗 5分钟 ×1次; (3) 3% H₂O₂ 室温 10分钟消除内源性过氧化物酶; (4) 在 4% 多聚甲醛 / 1 ×PBS 中固定 15分钟, 0.1MPBS 洗 5分钟 ×1次; (5) 每片组织滴加 20ug/ml 的蛋白酶 K, 室温下消化 30分钟, 0.1MPBS 洗 5分钟 ×1次; (6) 滴加 100ul 平衡缓冲液平衡 10分钟; (7) 每片组织滴加 98ul 平衡缓冲液, 1ul 生物素

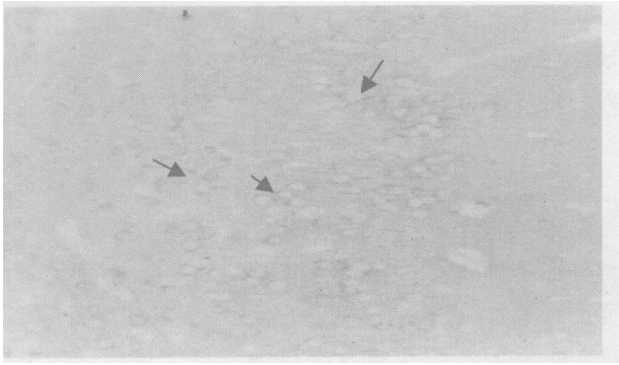


图1 C组3个月CA3区Hsp70的表达 DAB ×200

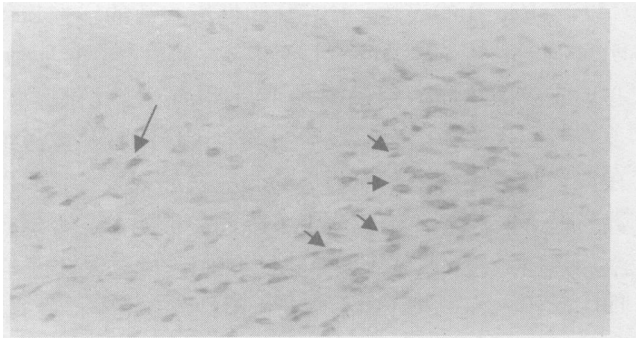


图2 心理应激加热应激组3个月CA3区Hsp70的表达 DAB ×200



图3 心理应激组3个月CA3区凋亡 DAB ×200

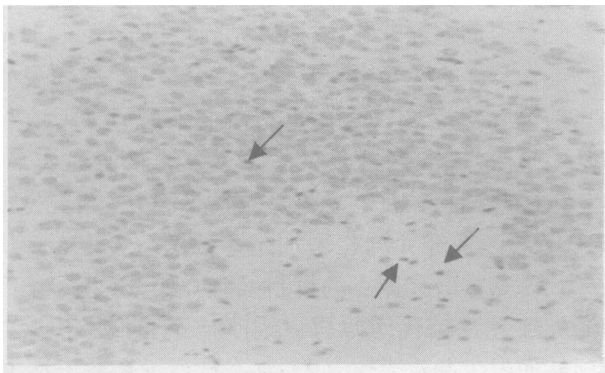


图4 心理应激加热应激组3个月CA3区凋亡 DAB ×200

化脱氧核苷酸, 1uITdT酶混合液, 4 过夜; (8) 2 ×SSC浸泡 30分钟, 终止反应, 0.1MPBS洗 5分钟 ×3次; (9) 1 : 500稀释链酶亲和素 HRP, 滴加 100ul于组织片, 室温下反应 20分钟, 0.1MPBS洗 5分钟 ×3次; (10) DAB显色, 显微镜下控制反应时间, 蒸馏水冲洗; (11) 苏木素轻度复染, 梯度酒精脱水, 二甲苯透明, 中性树脂封片。

1.5 检测结果记录 在 Olympus显微镜 10 ×20 高倍视野下观察免疫组化和凋亡阳性细胞, 记数海马 CA3区的阳性细胞数, 以作为统计指标进行统计分析。取适当的视野进行显微摄影。Hsp70在神经元和神经胶质细胞均可表达, 但依据 Bodega 提出的 Hsp70的阳性神经元判断标准可区别神经胶质细胞^[13]: 细胞浆呈现棕黄色, 细胞核透明 (见图 1、2)。神经元凋亡阳性细胞主要表现为: 染色质浓集, 细胞核体积变小, 呈现棕黑色 (见图 3、4)。

1.6 统计分析 进行三因素析因设计的方差分析和 Pearson相关分析。

结 果

2.1 四组动物各时间段海马 CA3区 Hsp70表达结果 (见表 1)

表 1 不同时间段各组动物海马 CA3区 Hsp70阳性神经元数 ($\bar{x} \pm s$)

时间 (月)	对照组	热应激组	心理应激组	热应激加心理应激组
1	21.6 ±16.6	109.7 ±44.7	48.3 ±36.0	74.5 ±51.2
2	23.8 ±7.4	78.3 ±58.5	34.5 ±22.2	117.5 ±51.6
3	57.0 ±32.5	120.0 ±67.2	71.7 ±28.6	145.0 ±52.4

2.2 心理应激、热应激、时间三因素对海马 CA3区神经元 Hsp70表达的方差分析

表 2 各组动物海马 CA3区神经元 Hsp70表达的析因设计方差分析

项目	F值	P值
心理应激	1.686	0.199
热应激	38.619	0.000
时间	5.075	0.009
心理应激 ×热应激	0.137	0.713
心理应激 ×时间	0.737	0.483
热应激 ×时间	0.131	0.877
心理应激 ×热应激 ×时间	1.736	0.185

为了解心理应激、热应激、时间 3个因素对海马 CA3区 Hsp70表达的影响, 以海马 CA3区神经元 Hsp70水平为统计指标, 作三因素多水平析因设计的方差分析。结果 (见表 2) 发现热应激、时间因素对海马 CA3区 Hsp70表达有显著作用 ($P < 0.05$)。心理应激作用不显著 ($P > 0.05$), 且心理应激和热应

激、心理应激和时间、热应激和时间、心理应激热应激和时间不存在交互作用 ($P > 0.05$)。表 1 示给予热应激的各组 Hsp70 表达均数显著高于无热应激的各组, 提示热应激促进 Hsp70 表达。

2.3 四组动物各时间段海马 CA3 区神经元凋亡结果 (见表 3)

2.4 心理应激、热应激、时间三因素对海马 CA3 区神经元凋亡的方差分析

表 3 不同时间段各组动物海马 CA3 区凋亡神经元数 ($\bar{x} \pm s$)

时间(月)	对照组	热应激组	心理应激组	热应激加心理应激组
1	11.20 \pm 3.35	14.83 \pm 4.26	19.33 \pm 14.92	18.83 \pm 3.13
2	5.80 \pm 2.86	10.83 \pm 5.38	19.83 \pm 13.69	6.67 \pm 6.06
3	11.67 \pm 4.76	8.17 \pm 2.04	15.50 \pm 5.89	7.00 \pm 1.67

为了解心理应激、热应激、时间 3 个因素对海马 CA3 区神经元凋亡的影响, 以海马 CA3 区神经元凋亡水平为统计指标, 作三因素多水平方差分析。结果 (见表 4) 发现心理应激、时间因素对海马 CA3 区神经元凋亡有显著作用 ($P < 0.05$)。热应激作用不显著 ($P > 0.05$), 但热应激与心理应激存在交互作用 ($P = 0.01$), 心理应激和时间、热应激和时间、心理应激与热应激和时间不存在交互作用 ($P = 0.05$)。表 3 示有心理应激各组动物除热应激加心理应激组 3 个月时段外其余各时段凋亡神经元均数均高于对照组, 提示心理应激增加海马 CA3 区神经元凋亡。热应激虽然没有主效应, 但是热应激与心理应激存在交互作用, 热应激加心理应激组凋亡神经元在两个月和三个月时均较同时段心理应激组下降, 而热应激组与对照组没有明显差异, 提示热应激可以抑制神经元凋亡, 这种保护作用在应激性状态下明显, 在非应激状态下不明显。一个月时段热应激加心理应激组凋亡神经元均数均较同时段心理应激组无明显差异, 这与时间因素具有显著作用相吻合, 提示应激的时间越长, 热应激的保护作用越明显。

表 4 各组动物海马 CA3 区神经元凋亡的 $3 \times 2 \times 2$ 析因设计方差分析

项目	F 值	P 值
心理应激	5.853	0.019
热应激	2.780	0.101
时间	4.407	0.017
心理应激 \times 热应激	7.187	0.010
心理应激 \times 时间	0.715	0.493
热应激 \times 时间	1.784	0.177
心理应激 \times 热应激 \times 时间	1.777	0.178

2.5 海马 CA3 区 Hsp70 表达与神经元凋亡的相关

分析 对三个时间段海马 CA3 区 Hsp70 表达水平和神经元凋亡水平进行相关分析, 结果显示二者之间存在有统计学意义的负相关 ($r = -0.26$, $P = 0.03$)。

讨论

本研究发现心理应激明显地促进了海马 CA3 区神经元的凋亡, 心理应激组动物的海马 CA3 区神经元凋亡始终维持在较高的水平, 且该组动物海马 CA3 区 Hsp70 阳性细胞数没有显著增加。热应激明显促进了热应激组、心理应激加热应激组两组动物海马 CA3 区 Hsp70 的表达, Hsp70 阳性细胞数的增加趋势明显强于心理应激组和对照组, 在第 2、3 个月时, 心理应激加热应激组的 CA3 区 Hsp70 阳性细胞数显著高于心理应激组。热应激组和心理应激加热应激组在各个时间段均未发现明显的凋亡增加现象, 且凋亡数目呈下降趋势, 热应激组下降趋势最明显, 心理应激加热应激组的 CA3 区神经元凋亡数目总是小于心理应激组。海马 CA3 区 Hsp70 阳性细胞数与凋亡细胞数呈显著负相关, 显示了热应激的抗凋亡作用, 心理应激和热应激的交互作用对海马 CA3 区神经元凋亡的发生具有显著作用。结果提示热应激通过诱导 Hsp70 的表达降低心理应激所致的大脑 CA3 区神经元凋亡水平; 随着心理应激时间延长, 实验动物海马 CA3 区神经元凋亡水平增高, 反之, 实验动物 CA3 区神经元凋亡水平则随着热应激时间的延长而降低, 从而表明 Hsp70 对心理应激所致的小鼠海马神经元损伤具有保护作用。

心理应激能够诱导机体细胞发生凋亡, 在心理 - 神经 - 免疫领域的研究中已经得到广泛证实。例如 Engler 等人^[14]研究发现社会挫败应激能够引起胸腺细胞凋亡和胸腺细胞数目减少。尽管众多研究都指出海马 CA3 区是心理应激的敏感区域, 然而对于心理应激是否引起海马 CA3 区神经元凋亡仍有争议。Lucassen 等人^[6]的研究发现心理应激引起海马各区发生凋亡的情况有差别, 对小鼠给予 28 天的心理应激, 海马 CA1 区凋亡数目减少, CA3 区凋亡数目增多, 海马神经元凋亡数目的总体是减少的, 与本研究发现海马 CA3 区神经元凋亡增加是一致的。关于心理应激导致海马神经元凋亡的机制可能有如下几种: (1) 应激导致葡萄糖代谢障碍, 致使神经元能量代谢障碍, 从而发生凋亡^[15]; (2) 兴奋性谷氨酸和 Ca^{2+} 依赖的 NMDA 受体介导的兴奋性毒性作用, Ca^{2+} 的内流触发了 Ca^{2+} 依赖或调节的激酶, 启动凋亡的发生^[16]; (3) 应激引起的 BDNF 的减少, BDNF 是神经

元发育的主要调节成分,其减少可直接导致细胞的凋亡^[17]。但是心理应激导致海马神经元凋亡的确切机制并不十分清楚,有待深入研究。

本研究结果显示随着热应激诱导的 Hsp70 表达的增加,能对抗心理应激所导致的实验鼠海马 CA3 区神经元的凋亡。凋亡是受基因控制的细胞自我破坏过程,在这个过程中有基因的表达和蛋白质的合成。Hsp70 可通过多条途径和这些调控凋亡的基因和蛋白质相互作用,从而调节细胞的增殖分化,抑制凋亡的发生。Hsp70 能够调节参与细胞周期的关键分子,如 P53、Cdk4、Wee-1、Cmyc 等,通过调节这些周期蛋白而抑制凋亡的发生^[18];也可参与有丝分裂素激活的信号通路,对其中的蛋白酶进行调控,如 Src 激酶、酪氨酸受体激酶、Raf 和 Map 激酶,参与细胞的有丝分裂,进而调节细胞的增殖和分化,抑制凋亡的发生^[19];还可通过与 Bcl-2 凋亡抑制基因发生协同作用,抑制凋亡发生^[20]; Hsp70 的高表达也能够抑制 Fas 介导的凋亡信号的传导,从而抑制凋亡的发生^[21]。但是心理应激促进海马 CA3 区神经元凋亡的具体途径,以及 Hsp70 有效的抵抗这种凋亡的具体机制仍有待继续研究。

参考文献

- 1 Tsuchiya D, Hony S, Matsumori Y, et al. Overexpression of rat heat shock protein 70 reduces neuronal injury after transient focal ischemia, transient global ischemia, or kainic acid-induced seizures. *Neurosurgery*, 2003, 53 (5): 1179 - 1187.
- 2 朱熊兆, 彭敏, 姚树桥. HSP70 在慢性情绪应激中对胃粘膜保护作用. *世界华人消化杂志*, 2004, 12 (11): 2605 - 2609.
- 3 Feng ZH, Huang B, Zhang GM, et al. Investigation on the effect of peptides mixture from tumor cells inducing anti-tumor specific immune response. *Sci China C Life Sci*, 2002, 45 (4): 361 - 369.
- 4 Duman RS, Melberg J, Thome J. Neural plasticity to stress and antidepressant treatment. *Biol Psychiatry*, 1999, 46 (9): 1181 - 1191.
- 5 McEwen BS, Magarinos AM. Stress and hippocampal plasticity: implications for the pathophysiology of affective disorders. *Hum Psychopharmacol*, 2001, 16 (s1): s7 - 19.
- 6 Lucassen PJ, Vollmann-Honsdorf GK, Gleiberg M, et al. Chronical psychosocial stress differentially affect apoptosis in hippocampal subregions and cortex of adult tree shrew. *Eur J Neurosci*, 2001, 14 (1): 161 - 166.
- 7 Fukudo S, Abe K, Itoyama Y, et al. Psychophysiological stress induces heat shock cognate protein 70 messenger RNA in the hippocampus. *Neurosci*, 1999, 91 (4): 1205 - 1208.
- 8 Hayase T, Yamamoto Y, Yamamoto K, et al. Similar effects of cocaine and immobilization stress on the levels of heat-shock proteins and stress-activated protein kinases in the rat hippocampus, and on swimming behaviors: the contribution of dopamine and benzodiazepine receptors. *Behav Pharmacol*, 2003, 14 (7): 551 - 62.
- 9 Xiao XZ. HSF1 is required for extra-embryonic development, postnatal growth and protection during inflammatory responses in mice. *EMBO J*, 1999, 18: 5943 - 5952.
- 10 Geller I, Seifter J. The effect of meprobamate on experimentally induced conflict in the rat. *Psychopharmacologia*, 1960, 1: 482 - 492.
- 11 Vogel JR, Beer B, Cloudy DE. A simple and reliable procedure for testing anti-anxiety agents. *Psychopharmacologia*, 1971, 21: 1 - 7.
- 12 Yang YL, Lin MT. Heat shock protein expression protects against cerebral ischemia and monoamine overload in rat heat shock. *Am J Physiol*, 1999, 276 (6 Pt 2): H1961 - 7.
- 13 Bodega G, Hernandez C, Suarez I, et al. Hsp70 Constitutive Expression in Rat Central Nervous System from Postnatal Development to Maturity. *J Histochem Cytochem*, 2002, 50: 1161 - 1168.
- 14 Engler H, Stefanski V. Social stress and T cell maturation. *Psychoneuroendocrinology*, 2003, 28 (8): 951 - 969.
- 15 Homer H, Packan O, Sopolisky R. Glucocorticoids inhibits glucose transport in cultured hippocampal neurons and glia. *Neuroendocrinology*, 1990, 52: 57 - 62.
- 16 Cameron HA, McEwen BS, Gould E. Regulation of neurogenesis excitatory input and NMDA receptor action the dentate gyrus. *J Neurosci*, 1995, 15: 4687 - 4692.
- 17 Vaidya VA, Duman RS. Role of 5-HT receptor in down-regulation of BDNF by stress. *Neurosci Lett*, 1999, 287: 1 - 4.
- 18 Gardile V, Scifo C, Russo A, et al. Involvement of HSP70 in resveratrol-induced apoptosis in human prostate cancer. *Anticancer Res*, 2003, 23 (6C): 4921 - 4926.
- 19 Beere HM. Heat-shock protein 70 inhibits apoptosis by recruitment of procaspase 9 to the Apaf-1 apoptosome. *Nature Cell Biol*, 2000, 2: 469 - 475.
- 20 Dix DJ, Allen JW, Collins BW, et al. Bcl-2 and the mortalin cooperate in cell survival. *Cell Growth Differ*, 1995, 6: 799 - 805.
- 21 Schett G, Steiner CN, Croyer M, et al. Activation of Fas Inhibits heat-induced activation of HSF, and up-regulation of hsp70. *FASEB J*, 1999, 13 (8): 833 - 842.

责任编辑: 张卫华

05 - 04 - 08 收稿, 05 - 10 - 17 修回