

冬虫夏草人工菌丝诱变及抗诱变效应研究

马继霞 王世英¹ 李玲君

北京大学生命科学学院 北京 100871 ¹湖北师范学院生物系 黄石 435002

摘要 本文报道采用小鼠骨髓细胞微核试验和精子畸形试验,对冬虫夏草人工菌丝[Cordyceps sinensis (Berk) Sacc. Artificial Pypha]遗传毒性进行研究。结果如下:人工菌丝作用1、2和4WK结果均为阴性,其抗诱变效应十分明显,且与时间呈正相关。

关键词 冬虫夏草,抗诱变效应;人工菌丝;精子畸形

STUDY ON MUTAGENIC AND ANTIMUTAGENIC POTENTIALS OF CORDYCEPS SINENSIS (BERK) SACC ARTIFICIAL PYPHA

Ma Jixia, Wang Shiyang, Li Lingjun

College of life Sciences, Beijing University, Beijing 100871

Department of Biology, Hubei Teachers College, Huang Shi 435002

Abstract By means of micronucleus test of bone marrow cells and sperm malformation test, genetic toxicity of the Cordyceps sinensis (Berk) Sacc artificial Pypha was evaluated in mice. No mutagenic potential in groups treated with artificial Pypha for 1, 2, and 4 weeks was noticed. The antimutagenic potentials of this substance was dose time dependent. The longer the time of treatment the better the beneficial effect.

Key words Cordyceps sinensis (berk) sacc; antimutagenic potentials; artificial pypha; sperm malformation.

冬虫夏草[Cordyceps sinensis (Berk) Sacc.]是麦角科的一种药用真菌,产于四川、云南及甘肃等省。是名贵中药,具有平喘、止咳、降脂、抗炎及提高免疫力等功效^(1,2)。由于过量开采天然药源日趋减少。人工虫草的培养及其药理研究引起广大医药工作者的关注。80年代初张士善等对冬虫夏草及人工菌丝的化学成分及其药理作用进行比较研究,结果表明两者十分相似^(3,4)。张力等的研究支

持了上述观点⁽²⁾。人工菌丝的诱变与抗诱变效应研究报道不多尤其抗诱变效应研究尚属少见。

本室对冬虫夏草人工培养的无性菌丝——头棒束孢霉 *Lsaria Crelacea* (D), 对环磷酰胺 Cyclophosphamide (CP) 诱发小鼠骨髓嗜多染红细胞 Polychromatic erythrocytes (PCE) 微核率及精子畸形率升高的保护作用, 进行为期 1WK (急性)、2WK (亚急性) 及

4WK(亚慢性的)的观察研究。以探讨D对CP诱发小鼠体细胞及性细胞是否存在诱变活性及抗诱变性。

材料和方法

1. 材料

实验动物 成年封闭群昆明种小鼠。体重19—23克。购于北京医科大学实验动物中心。

冬虫夏草人工菌丝头棒束孢霉D,系本院分子生化系微生物组提供。每克饲料含0.17mg。

环磷酰胺(CP)上海第十二制药厂。

2. 方法

2.1 实验分组 采用昆明种小鼠,随机分成三大组:急性、亚急性及亚慢性组,每组分别设以下四组:阴性对照组、阳性对照组(CP₂)、虫草组(D)及虫草保护组(D+CP₂)。同时,亚急性组增设虫草保护2组(CP₅+D)。每组动物10只,雌雄各半。

2.2 实验处理 微核(MN)试验:急性、亚急性及亚慢性的阴性组及CP₂组、喂饲普通饲料。取材前48h,24h分别腹腔注射生理盐水(每只为0.2ml)及CP两次(60mg/kg体重)。D、D+CP₂组喂食虫草饲料。取材前处理与阴性、CP₂相同。此外,CP₅+D组喂食虫草饲料的同时腹腔注射CP5次,间隔72h,剂量同前。

2.3 精子畸形试验 sperm malformation test)亚慢性组雄鼠进行精子畸形试验。实验处理及给药剂量均与微核试验相同。只是CP₂组注射CP与喂食D饲料同步进行。

2.4 观察与计数

2.4.1 微核试验 采用整体微核试验法,末次给药后24h取材。取骨髓PCE常规制片⁽⁶⁾。每只个体观察1000—2000个PCE,统计微核百分率。结果进行统计学分析。同时计数PCE与正染红细胞NCE(normochromatic erythrocytes)之比值。

2.4.2 精子畸形试验 取双侧附睾,常规制片。每只个体计数500个完整精子,观察头部形态变化。判断标准见本室以往报告⁽⁵⁾。统计畸形精子占观察总数的百分率。结果进行t测验。

结果和讨论

微核结果详见表1。(1)冬虫夏草组,1WK、2WK及4WK PCE微核率与阴性组比较无显著性差异, $P>0.05$,表明虫草人工菌丝未显示出遗传毒性,且无剂量效应。而阳性对照组(CP₂)的MN率则明显升高,其结果1、2及4WK分别为46.5%,56.7%及38.0%与阴性组及D组比较均呈高度显著性差异 $P<0.001$ 。进一步说明D无致微核遗传毒性。

Table 1. Comparison of the micronucleus from 1wk, 2wk and 4wk treatment

Groups	NO. of animals	MN(%) $\bar{x} \pm s$					
		1wk	PCE/NCE	2wk	PCE/NCE	4wk ***	PCE/NCE
Controls	10	1.5 \pm 0.22	1.6	2.3 \pm 0.56	1.91	1.6 \pm 0.51	1.60
CP ₂	10	46.5 \pm 5.22**	0.78	56.7 \pm 5.38**	0.94	38.0 \pm 2.95**	2.50
D	10	1.9 \pm 0.42*	1.62	2.1 \pm 0.41*	1.78	2.0 \pm 0.63*	2.67
D+CP ₂	10	32.6 \pm 2.47**	1.16	38.6 \pm 1.69**	1.63	20.6 \pm 2.80**	2.72
CP ₅ +D	10			27.6 \pm 2.39	1.23		

* $P>0.05$, ** $P<0.001$, *** 5 female mice for each group.

(2) D+CP₂ 及 CP₅+D 与其相应 CP₂ 组比较, 有显著及高度显著性差异 $P < 0.05$; $P < 0.001$ 。说明虫草人工菌丝对 CP 诱发小鼠 PCE 微核率的升高有明显的抑制作用。PCE/NCE 比值均大于 0.5 属正常范围。

表 2 结果提示, 突变抑制率随着食用虫草饲料时间的延长抑制率明显增加, 呈正相关。

Table 2. Suppress rate on micronucleus induction

Group	WK	MN(cp)	MN(D+cp)	Rate of suppress
		%	%	%
D+CP ₂	1	46.5	32.6	30.3
D+CP ₂	2	56.7	38.6	31.9
D+CP ₂	4	38.0	20.6	45.8
CP ₅ +D	2	56.7	27.6	51.3

表 2 急性、亚急性和亚慢性突变抑制率比较, 其中 CP₅+D 组抑制率可达 51.3%, 作者认为虫草人工菌丝与诱变剂 CP 同时作用比虫草菌丝作用于诱变剂使用之前效果更佳。提示虫草人工菌丝对 CP 诱发小鼠体细胞遗传损伤有较好的保护作用。说明人工菌丝与 CP 有明显的拮抗作用。

虫草人工菌丝对精子畸形自发频率及 CP 诱发频率的升高均有一定的保护作用。表 3 结果可见; D 及 CP₂+D 精子畸形百分率分别为 2.1 和 2.7 明显低于正常对照组 3.3。该三组与 CP 组 13.0 比较有统计意义 $P < 0.001$ 。D 对自发频率有一定的抑制作用, 其抑制率为 36.4%。而 CP₂+D 组对 CP 诱发小鼠精子畸形频率的升高有较高的抑制效果, 其抑制率为 79.3%。以上结果揭示 D 是安全的且对小鼠性细胞显示良好的保护效果。

Table 3. Frequency of sperm malformation in subchronic groups

Groups	NO. of animals	No. of sperm examined	No. of malformad sperm	sperm malformation frequency ($\bar{x} \pm s$) %
Controls	8	4000	131	3.3 ± 0.13
CP ₂	9	4500	585	13.0 ± 2.11
D	8	4000	82	2.1 ± 0.47
CP ₂ +D	9	4500	123	2.7 ± 0.35

$P < 0.001$ Compared with the CP group.

Table 4. Frequency of weight gain

Groups	frequency of average increase %		
	(1WK)	(2WK)	(4WK)
Controls	20.26	34.97	41.64
CP ₂	17.67	29.64	30.18
D	31.27	36.68	41.61
D+CP ₂	26.07	31.37	34.92

冬虫夏草人工菌丝对小鼠一般毒性观察表明, 大体解剖未见肉眼可见的异常现象。食

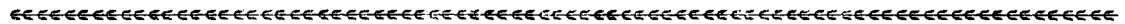
用虫草人工菌丝饲料小鼠食欲及精神状态良好。皮毛光泽而浓密。体重增长百分率 1WK 和 2WK 均高于其他三组, 喂食 4WK 组与阴性组相近。

近年来, 对中药水煎提取物诱变与抗诱变效应研究有不少报道^(6,7,8,9,10)。学者们探讨近 140 余种中药当中, 绝大多数中药是无诱变活性, 其中包括天然虫草。有些种中药则呈现出明显的抗诱变效应如山楂、首乌、丹参等七种, 且与药液浓度呈正相关, 其中不含天然

虫草⁶⁾。以上多为体外试验研究结果。本室利用整体哺乳动物实验,对人工虫草无性菌丝——头棒束孢霉对 CP 诱发小鼠体细胞及性细胞遗传损伤具有明显的抗诱变效应且随食用时间的延长而抗诱变作用也更为明显。同时未显示诱变活性。说明人工菌丝——头棒束孢霉是安全的。在天然虫草日趋减少的今天,人工虫草有其广泛地开发前景。其药理工作尚需深入研究。

参考文献

1. 张士善,张伯石. 冬虫夏草的药理作用. 药学学报, 1958, 6(3): 142.
2. 张力,张士善. 冬虫夏草的药理学研究进展. 药学通报 1988; 9: 521.
3. 张士善,王兰芬,郭鸣放等. 冬虫夏草和人工培养虫草菌丝的药理作用比较. 药学通报, 1981, 3: 139.
4. 高俊德,马紫亮,张喜财等. 冬虫夏草菌丝分离培养及其与生药冬虫夏草化学成分的对比. 中药通报, 1981, 6(1): 3.
5. 马继霞,李子玉,许旭. 石油化工污水对小鼠性细胞及体细胞遗传毒性研究. 北京大学学报(自然科学报), 1990, 26(2): 225.
6. 刘明哲,赵革干,黄品 等. 41 种中药的诱变和抗诱变作用的研究. 癌变·畸变·突变, 1992, 4(3): 25.
7. 殷学军,刘德祥,王河川等. 102 种中药水溶性提取物的诱变性筛选. 癌变·畸变·突变, 1989, 1(1): 27.
8. 赵泽贞,温登瑰,魏丽珍等. 7 种中药水提取物的抗突变和致突变同步试验报告. 癌变·畸变·突变, 1993, 5(6): 56.
9. 金中初,钱晶,郭峻等. 33 种中药水提物、蔬菜汁和化学品溶液对大肠杆菌 SOS 反应和突变抑制效应. 癌变·畸变·突变, 1993, 5(6): 55.
10. 阮萃才,梁远,刘锦玲等. 10 种中药对霉变食物致突变作用的抑制. 癌变·畸变·突变, 1991, 3(3): 39.



长乐胃癌高发区饮用水致突变性研究

陈华 林育纯

福建医学院环境卫生学教研室 福州 350004

摘要 本文应用蚕豆根尖细胞微核技术分析了长乐胃癌高发区不同饮用水的致突变性。水样采自长乐县 21 个村,其中塘水 6 份、河水 7 份、浅井水 8 份。结果表明三种饮用水均能在一定程度上诱发蚕豆根尖细胞微核率升高。诱发微核效应的能力为河水(28.01%)>塘水(23.57%)>井水(15.81%)。与同时测定的氨氮、亚硝酸盐氮、硝酸盐氮及耗氧量等水质有机污染指标比较,发现微核率的高低与水样的有机污染严重程度趋势一致,提示水样的致突变性与水源受到有机污染有关。

关键词 致突变; 饮用水; 蚕豆根尖微核试验

A STUDY ON MUTAGENICITY OF SOURCE WATER FOR DRINKING IN CHANGLE COUNTY, A AREA PREVAILING GASTRIC CANCER