

补肾益精方药对人外周淋巴细胞 DNA 损伤修复能力的影响 II. 对姐妹染色单体交换率和细胞周期状态的影响*

钱汝红 丁镛发¹ 宋宇红 应馨萍 李伯勤 殷海珍² 林长兴

上海中医学院医用生物教研室 上海 200032

摘要 实验以外周淋巴细胞的姐妹染色单体交换(SCE)率和细胞增殖周期(CGC)为指标,研究“固真胶囊”对机体 DNA 损伤修复能力的影响。结果表明:无论是自发 SCE 率还是 40ng/ml 丝裂霉素 C(MMC)诱发的 SCE 值,服药老年组均较对照老年组低,差异显著($P < 0.02$);服药组 CGC 的 M_1 值,增殖速率(PRI)也明显提高,与相应对照组有明显差异($P < 0.001$)。提示,“固真胶囊”增强了机体 DNA 损伤修复能力和细胞增殖能力。

关键词 补肾益精方药;固真胶囊;姐妹染色单体交换;细胞增殖周期

THE EFFECT OF PRESCRIPTION OF TONIFYING KIDNEY AND BENEFITING ESSENCE ON DNA REPAIRING CAPACITY OF HUMAN PERIPHERAL LYMPHOCYTES II. THE EFFECT ON SCE AND CGC

Qian Ruhong, Ding Yongfa, Song Yuhong, Ying Xinping, Li Boqin, Yin Haizhen, Lin Changxing

Shanghai College of the Traditional, Shanghai 200032

Abstract In order to observe the effect of Vitality Reinforcing Capsules (VRC) on human DNA repairing capacity and search for the genetic mechanism of the prescription of tonifying kidney and benefiting essence, the frequencies of sister chromatid exchange (SCE) and the level of cell generation circle (CGC) were detected in peripheral lymphocytes. The results show that the frequencies of both the spontaneous and 40ng/ml MMC-induced SCE of the old men after medication were lower than those of the control old men. Their differ-

* 该课题由国家自然科学基金资助

1. 本课题负责人

2. 现在上海复旦电容器厂保健站工作

ences were significant($P < 0.02$); the level of M3 of CGC and the proliferation rate index(PRI) were obviously increased. They were significantly different from the respective control group($P < 0.001$). The work indicated that VRC could increase the capacity of DNA repairing and the rate of cell generation. This might be a modern scientific mechanism of Chinese Medicine's function of tonifying kidney, benefiting essence and delaying senility.

Key words prescription of tonifying kidney and benefiting essence; vitality reinforcing capsules; sister chromatid exchange; cell generation circle.

“固真胶囊”是本院研制、由肉苁蓉、首乌等6味中药组成的补肾益精方药，临床和一些实验指标都显示有明显的延衰药效⁽¹⁾。本实验以外周淋巴细胞的SCE和CGC为指标，进一步研究“固真胶囊”对机体DNA损伤后修复能力的影响，探讨补肾益精方药延衰的遗传学机理。

材料和方法

老年人来自上海复旦电容器厂退休工人及本院离休干部，均无严重烟酒史与明显的器质性疾病，平均年龄62.7岁，共15名。

青年人系本院1年级学生，平均年龄18岁，共11名。

老人实验分药前、药后2次进行，青年人实验只作不服药对照组1次。均肘静脉取血。

外周血按常规方法培养，24h后加Brdu，终浓度 $10\mu\text{g}/\text{ml}$ ，并加入MMC，终浓度分别为 $40\text{ng}/\text{ml}$ 和 $60\text{ng}/\text{ml}$ ；另

取1瓶不加MMC，只加Brdu，避光继续培养48h。常规制片，用紫外线、 $2\times\text{SSC}$ 溶液分色，姬姆萨液染色，镜检。

对SCE率，每例观察30个细胞，计数标准按以前报道⁽²⁾。对CGC，每例观察100个中期分裂相，参照吴昱等人的标准⁽³⁾，随机记录 M_1 、 M_2 、 M_3 期(包括 M_3 以上各期)细胞数，并以 $(1\times M_1+2\times M_2+3\times M_3)+100$ 公式求得PRI⁽⁴⁾。以上数据均作 t 测验统计。

结 果

1. SCE率

自发SCE：老年对照组与老年服药组比较，二者差异显著($P < 0.02$)；青年对照组与老年对照组比较差异也显著($P < 0.001$)。

诱发SCE：在 $40\text{ng}/\text{ml}$ MMC剂量下，对照组与服药组比较，二者差异显著($P < 0.001$)；在 $60\text{ng}/\text{ml}$ MMC剂量下，对照组与服药组比较，无统计意义的差异($P > 0.05$)(表1，图1~7)。

表1 老年对照组与青年组、老年服药组外周淋巴细胞 SCE 值比较 ($\bar{x} \pm s\bar{x}$)

组别	n	损伤因子(MMC)剂量		
		0	40ng/ml	60ng/ml
青年组	11	4.87 ± 0.78 *		
老年对照	15	7.15 ± 0.21	37.81 ± 2.41	51.69 ± 3.40
老年服药	13	5.75 ± 0.22	29.65 ± 0.76	45.28 ± 2.06
P 值		<0.02	<0.01	>0.05
SCE 降低率**		20	22	12

* 与老年对照组比较 $P < 0.001$ ** SCE 降低率 = (药前 SCE 值 - 药后 SCE 值) ÷ 药前 SCE 值 × 100
药组 CGC 的 M_1 、 M_2 、 M_3 值与对照组比较, 有明显差异 ($P < 0.001$).

2. CGC 状况和 PRI 值
在无 MMC 诱发下, 服药组 CGC 的 M_1 、 M_2 、 M_3 值与对照组比较, 都有显著差异 ($P < 0.05$).

在 60ng/ml MMC 剂量诱发下, 服药组 CGC 的 M_1 、 M_2 、 M_3 值与对照组比较, 也都有明显差异 ($P < 0.01$) (表 2, 图 8 ~ 10).

在 40ng/ml MMC 剂量诱发下, 服



图1 青年对照自发 SCE 率, 图示 5 次

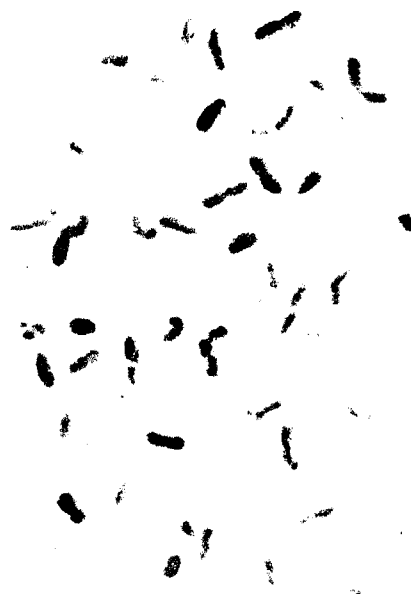


图2 老年对照自发 SCE 率, 图示 9 次



图3 老年服药组自发SCE率, 图示6次



图4 经40ng/ml剂量MMC损伤后的对照老年组
SCE率, 图示37次



图5 经40ng/ml剂量MMC损伤后的
服药老年组SCE率, 图示23次

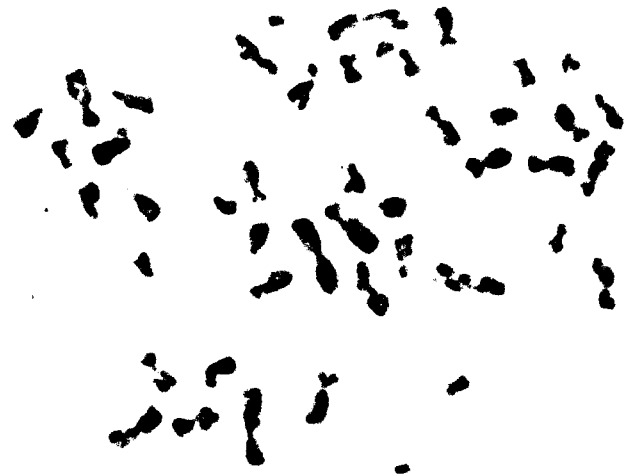


图6 经60ng/ml剂量MMC损伤后的对照老年组
SCE率, 图示45次

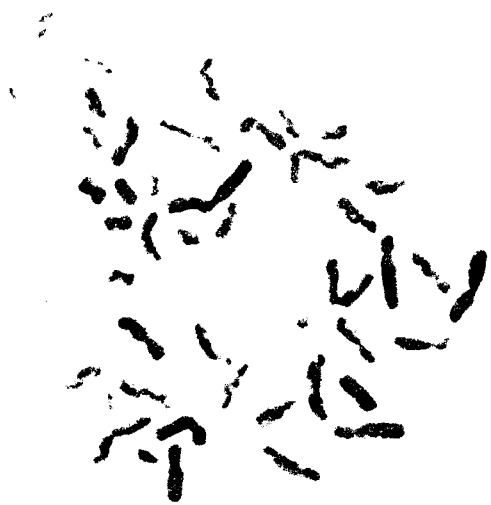


图7 经60ng/ml剂量MMC损伤后的
服药老年组SCE率, 图示5次

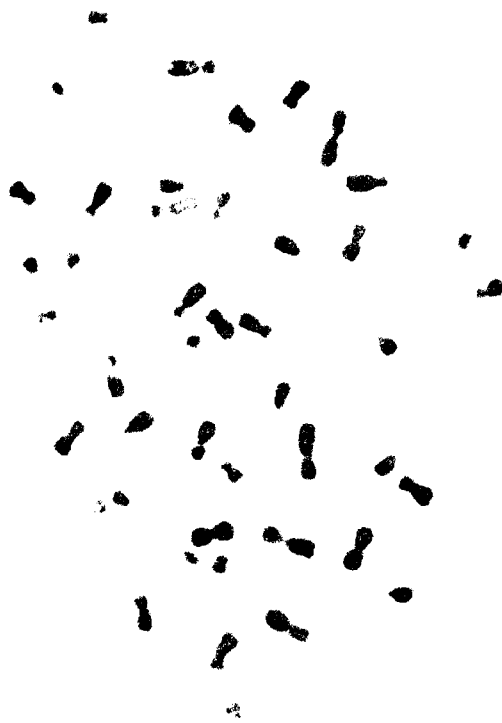


图8 示M₁期分裂相

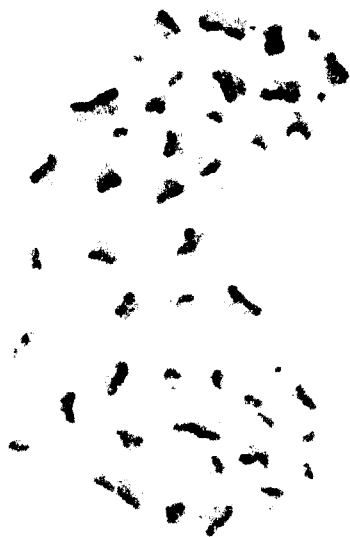


图9 示M₂期分裂相

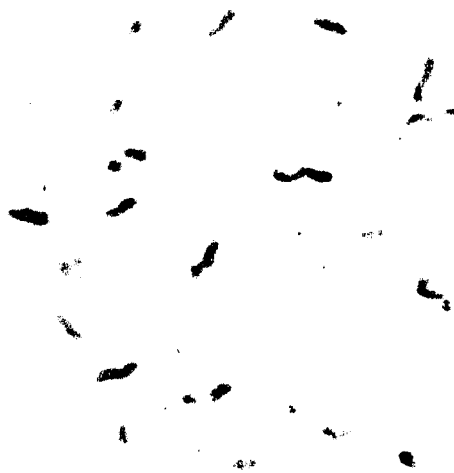


图10 示M₃期分裂相

表 2 老年对照组与老年服药组外周淋巴细胞 CGC 和 PRI 值比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	损伤因子(MMC)剂量											
		0				40ng/ml				60ng/ml			
		M ₁	M ₂	M ₃	PRI	M ₁	M ₂	M ₃	PRI	M ₁	M ₂	M ₃	PRI
老年对照	15	36.10 ±2.7	38.9 ±1.09	25.16 ±2.54	1.89	50.1 ±2.17	41.58 ±1.71	8.45 ±0.84	1.59	55.09 ±3.43	38.9 ±3.20	6.04 ±0.92	1.51
老年服药	13	27.66 ±1.56	34.5 ±1.37	39.06 ±1.85	2.13	28.27 ±2.32	43.83 ±1.76	27.89 ±3.06	2.15	39.32 ±3.14	42.9 ±1.98	17.87 ±2.74	1.79
P		<0.02	<0.05	<0.001		<0.001	>0.05	<0.001		<0.001	>0.05	<0.01	

讨 论

Latt 等曾报道 SCE 很可能是由于 DNA 修复过程的错误而引起, 增强 DNA 损伤或削弱 DNA 修复的因素都能诱发 SCE^(5, 6)。因此, SCE 可作为细胞 DNA 损伤修复的 1 个可靠指标; 在同样损伤条件下, 一般认为诱发 SCE 值较低的细胞比诱发 SCE 值较高的细胞具有更强的损伤修复能力。本实验结果显示, 无论是自发 SCE 值, 还是 40ng/ml 剂量诱发的 SCE 值, 服药组都比对照组明显降低, 降低率分别是 20% 和 22%, 提示“固真胶囊”增强了细胞对 DNA 损伤的修复能力, 减弱了 MMC 对细胞的损伤效果。

实验结果还显示, 青年人的自发 SCE 值明显低于老年对照组, 即青年人比老年人具有更强的 DNA 损伤修复能力, 这与王毓奎等人的观察基本一致⁽⁷⁾。而本实验服药组的自发 SCE 值低于老年对照组, 向青年对照组靠拢, 这从又 1 个侧面显示了“固真胶囊”在提高机体 DNA 损伤修复能力中的作用。

细胞增殖周期状况可作为机体衰老程度的 1 个指标⁽⁷⁾, 而细胞 DNA 损伤后的增殖周期状况, 则可用来反映机体 DNA 损伤后的修复情况。因为细胞 DNA 受损后只有加以修复才能正常生长, 进入分裂

各期。修复能力强的, 进入分裂各期的细胞自然较快、较多; 修复差的进入分裂期细胞自然较长。本实验在无 MMC 损伤下服药组的 M₁、M₂ 值均小于对照组, M₃ 值却大于对照组, PRI 值提高 24%; 在 2 种剂量 MMC 损伤下的服药组 M₁ 也小于对照组, 而 M₃ 大于对照组, PRI 值分别提高 56% 和 28%。这些都显示, “固真胶囊”既提高了无 MMC 损伤的外周淋巴细胞体外增殖能力, 又提高了 MMC 损伤下外周淋巴细胞的 DNA 修复能力, 进而提高细胞增殖能力。

实验数据发现, 在同样的 60ng/ml MMC 剂量损伤下, 老年服药组的 M₃ 值比老年对照组明显提高, 而 2 组的 SCE 值并无统计意义的差异, 这可能是老年服药组因“固真胶囊”提高了细胞的 DNA 损伤修复能力, 使较多细胞经受 MMC 的损伤而进入 M₃ 期, 同时 SCE 值也相应提高而对老年对照组, 由于其 DNA 损伤修复的能力相对较弱, 在受同等较高剂量 MMC 损伤后, 大量细胞已无法通过提高姐妹染色单体交换来维持其正常的生命活动而死亡, 只有少数能承受并修复这种损伤, SCE 值不太高的细胞存活下来⁽⁸⁾, 结果造成了老年对照组的 M₃ 值明显减少,

(下转第 46 页)

根据汤火顺等研究资料,北京地区正常早期妊娠妇女的绒毛自发染色体异常率为4.2%(43/1016)⁽¹⁸⁾。从本研究观察的结果来看,服用RU486终止早孕期妊娠的总剂量较少仅150mg,而作用时间短对绒毛染色体尚未致明显异常作用,加上样本数小,有待进一步积累资料,并在同条件下作比较。

本研究结果表明:RU486因作用于蜕膜孕酮受体致使绒毛变性,从而影响绒毛细胞自发的有丝分裂,但对绒毛染色体异常影响还需进一步观察。

(致谢 上海第一妇婴保健院郑忆文医生提供流产标本特致谢意)

参考文献

1. Beatrice C, et al. Termination of early pregnancy by the progesterone antagonist RU₄₈₆. *New England J*

Medicine 1986;315(25):1565.

2. Herrmann W, et al. The effects of an antiprogesterone steroid on women interruption of the menstrual cycle and of early pregnancy. *Cr Acad Sci Paris* 1982;294:933.
3. Baulieu E-E. Contraception the progesterone antagonist RU₄₈₆: A novel approach to human fertility control. *Contraception* 1987;36(1):1.
4. Ulman A. Uses of RU₄₈₆ contraception an update *Contraception* 1987;36(1):27.
5. 陈国茶. 等. 绒毛滋养层细胞直接制备染色体方法. *细胞生物学杂志* 1987;(4):188.
6. Romagnano A, et al. Direct preparation from chorionic villi relationship between villous morphology and mitotic index. *Prenatal Diagnosis* 1989;9(1):385.
7. Fraccaro M, et al. First trimester fetal diagnosis. *Spring Verlag Berlin Heidelberg, New York*, 1985;9.
8. 汤火顺. 等. 正常早期妊娠的自发染色体异常频率的研究. 全国优生优育研究学术讨论会论文摘要汇编. 广州暨南大学, 1987:11.

(上接第43页)

而SCE计数与老年服药组接近这样1种假象,这也揭示:当MMC达到一定浓度时,不能单独用诱发SCE值来衡量DNA的损伤后修复能力,而应同时比较CGC的状况,以免由假象导致错误结论。

本实验揭示:“固真胶囊:能提高机体外周淋巴细胞DNA损伤的修复能力和提高细胞的体外增殖能力。

参考文献

1. 林水森. 固真饮延缓衰老的临床研究. 上海中医学院. 上海市中医研究院学报. 1990; 4(1): 3.
2. 丁镛发. 等. 还精煎对机体DNA损伤修复的影响. 中西医结合杂志 1989; 9(11): 647.

3. 吴昱. 等. 正常人和放射工作人员淋巴细胞在培养条件下的姐妹染色单体交换和染色体畸变. *实验生物学报* 1979; 12(1): 31.
4. 何介薇. 等. 甲2巨球蛋白制剂对正常人外周血淋巴细胞周期的影响. *细胞生物学杂志* 1991; 13(3): 114.
5. Cleavel JE. Correlation between sister chromatid exchange frequencies and replicon sizes *Exp Cell Res* 1981; 136: 27.
6. Latt SA. Sister chromatid exchanges, indices of human chromosome damage and repair: detection by Mitomycin C. *Proc Nat Acad Sci USA* 1974; 71(8): 3162.
7. 王毓奎. 等. 老年人外周血淋巴细胞周期及姐妹染色单体互换的观察. *老年学杂志* 1987; 7(3): 15.
8. David Kram, et al. Ageing and sister chromatid exchange. *Exp Cell Res* 1978; 114(2): 471.