

文章编号:1004 - 616X(2002)01 - 0013 - 02

论著 ·

-胡萝卜素对丝裂霉素 C 诱导的小鼠 DNA 损伤的保护作用

申慧琴¹, 高 应²

(1. 山西医科大学第二医院, 山西 太原 030001; 2. 山西医科大学生化教研室, 山西 太原 030001)

【摘要】目的:研究 -胡萝卜素 (C) 和维生素 E(V-E) 对丝裂霉素 C(MMC) 诱导的小鼠 DNA 损伤的保护作用。**方法:**选择雄性昆明种小鼠 48 只, 随机分 4 组, 其中正常对照(A) 分别给予基础饲料和阳性对照组(B), 另外 2 组分别喂含 V-E(200 mg/kg bw) 的基础饲料(C 组) 和含天然 -胡萝卜素晶体(200 mg/kg bw) 的基础饲料(D 组)。饲养 4 周后, 除 A 组外, 间隔 24 h 按 1 mg/kg bw 腹腔注射 MMC(A 组注射同等剂量的生理盐水)。12 h 后, 处死小鼠, 无菌条件下取出脾脏、胸骨, 观察小鼠脾细胞双链 DNA 剩余率和骨髓嗜多染红细胞微核发生率。**结果:**A、B、C、D 组脾细胞双链 DNA 剩余率(%) 分别为 66.44 ±5.97, 43.06 ±5.95, 58.69 ±8.28, 63.26 ±7.95, B 组明显低于 A、C、D 组 ($P < 0.01$); A、B、C、D 组小鼠骨髓嗜多染红细胞微核发生率(%) 分别为 1.87 ±0.83, 31.00 ±6.32, 17.37 ±2.88, 15.25 ±4.68, B 组明显高于 A、C、D 3 组 ($P < 0.01$)。**结论:** C 和 V-E 可抑制 MMC 诱导小鼠脾细胞 DNA 断裂和骨髓细胞微核发生的作用。

【关键词】-胡萝卜素; 维生素 E; 丝裂霉素 C; DNA 断裂率; 微核

中图分类号:R730.1

文献标识码:A

PROTECTIVE EFFECT OF -CAROTENE ON DNA DAMAGES OF MICE INDUCED BY MITOMYCIN C

SHEN Hui-qin¹, GAO Ying²

(1. The 2nd Hospital, Shanxi Medical University, Taiyuan 030001, China; 2. Department of Biochemistry, Shanxi Medical University, Taiyuan 030001, China)

Abstract : Purpose : To study the protective effects of -carotene (C) and vitamin E(V-E) on DNA damages of mice induced by mitomycin C (MMC). **Methods :** Forty eight male Kunming mice were divided into 4 groups at random, the mice then were fed with basal diets in normal (A) and positive control (B) groups, basal diet + V-E (200 mg/kg bw, C), and basal diet + C (200 mg/kg bw, D) for 4 weeks respectively. The mice were injected with MMC (1 mg/kg bw) intraperitoneously except for group A which was injected with normal saline before and after 24 h. 12 h later after administration, the mice were killed. The spleen and sternum were excised sterily. The double-stranded DNA remained rate of spleen cells and micronucleus frequency in bone marrow cells were studied. **Results :** For each group the double-stranded DNA remained rate (%) was 66.44 ±5.97(A), 43.06 ±5.95(B), 58.69 ±8.28(C), 63.26 ±7.95(D) respectively. The value of group B was significantly lower than those of the others ($P < 0.01$). Micronuclei (%) in bone marrow cells were 1.87 ±0.83(A), 31.00 ±6.32(B), 17.37 ±2.88(C), 15.25 ±4.68(D) respectively. Group B was significantly higher than those of the others ($P < 0.01$). **Conclusion :** C and V-E can obviously inhibit the DNA breakages of spleen cells and reduce the formation of micronuclei of bone marrow cells in mice induced by MMC.

Key words : -carotene; vitamin E; mitomycin C; DNA breakage; micronucleus

收稿日期:2000 - 06 - 30; 修订日期:2001 - 03 - 19

作者简介:申慧琴(1969 -), 女, 山西晋城人, 医师, 硕士, 从事消化道肿瘤研究。

丝裂霉素 C(MMC)是一种常用的抗癌抗生素,是一个双官能团烷化剂,在遗传毒理学研究中,MMC 可作为突变剂检测物的阳性对照物,而且 MMC 诱发的染色体畸变多为单体断裂和单体交换。国内外已有报道,-胡萝卜素(C)对某些基因毒化合物所致的基因损伤具有保护作用¹。本研究主要以小鼠脾细胞 DNA 断裂率、小鼠骨髓嗜多染红细胞染色体微核发生率为指标,观察 C 对 MMC 诱导的染色体损伤的保护效应。

1 材料与方 法

1.1 动物与受试物 昆明种雄性小鼠 48 只,体重(14.0 ± 1.6) g,山西医科大学动物实验中心提供。维生素 E 为德国 E. Merck 公司产品。天然胡萝卜素晶体由内蒙古兰太生物工程公司提供。丝裂霉素 C 为日本 Kyowa Hakko Kogyo Co. Ltd 产品。

1.2 实验方法 将小鼠适应本室条件 1 周后按体重随机分为 4 组:正常对照(A)组、阳性对照(B)组、维生素 E(C)组、-胡萝卜素(D)组。每组 12 只,分笼饲养,自由进食和饮水。其中 A、B 组分别喂基础饲料,C 组喂含 V-E 200 mg/kg bw 的基础饲料,D 组喂含天然 -胡萝卜素晶体 200 mg/kg bw 的基础饲料。动物饲养 4 周后,除 A 组外,每组间隔 24 h 按 1 mg/kg bw 腹腔注射丝裂霉素 C(A 组注射同等量的生理盐水),12 h 后颈椎脱臼处死小鼠,无菌下取脾脏,在冰冷的 Hank's 液中研碎,纱网过滤,分离单个脾细胞备用,同时取出小鼠胸骨、剔净,制骨髓涂片。

1.3 测定指标及方法

1.3.1 脾细胞 DNA 单链断裂率检测 采用稍加改进的 FADU 法(Fluorimetric Analysis of DNA Unwinding)²。实验原理:在适当碱性溶液中,DNA 氢键断裂,形成单链 DNA。当 DNA 损伤剂损伤 DNA 时,造成直接或间接的 DNA 链断裂,可能是由于解螺旋起始端增多,而使 DNA 解螺旋的速度加快。解链一定时间后,加入溴乙啶,测定解链后双链 DNA 的剩余量。溴乙啶能选择性地嵌入双链 DNA 中,与其牢固结合而产生荧光。测定荧光强度可代表双链 DNA 剩余量,进而反映 DNA 损伤程度。

1.3.2 微核实验 常规方法,涂片、固定、Gemsa 染色、镜检。微核率测定:在油镜下每个动物观察 1 000 个嗜多染红细胞(PCE)。选择细胞分散,形态完整,染色良好的部分,按顺序进行 PCE 及微核计数。PCE 中因含有核糖体,Gemsa 染色呈灰蓝色,成熟红细胞

的核糖体已溶解,被染成淡橘红色,微核实验的终点是 PCE 中的微核,PCE 中微核的嗜色性与核一致,典型的微核呈圆形、肾形、马蹄形及环形,PCE 中微核多为 1 个,也可以有 2 个或 2 个以上的微核,仍按 1 个有微核的 PCE 计数,所得的结果用 %表示。

1.3.3 统计方法方差分析。

2 结 果

2.1 各组小鼠脾细胞 DNA 解链率

表 1. 小鼠脾细胞 DNA 解旋后的双链 DNA 剩余率

Table 1. Double-stranded DNA remained after DNA unwinding of mice spleen cells(%, $\bar{x} \pm s$)

Group	n	Double-stranded DNA remained
A	8	66.44 ± 5.97 *
B	8	43.06 ± 5.95
C	8	58.69 ± 8.28 *
D	8	63.26 ± 7.95 *

Compared with B, * P < 0.01

表 1 结果表明,阳性对照组小鼠脾细胞双链 DNA 剩余率显著低于其他各组(P < 0.01),C 组又高于 V-E 组,与普通对照组相比差异无显著性。

2.2 小鼠骨髓细胞微核试验

表 2. -胡萝卜素对小鼠骨髓细胞微核频率的影响

Table 2. Effect of -carotene on micronucleus frequency in bone marrow cells of mice(%, $\bar{x} \pm s$)

Group	n	Micronuclei
A	8	1.88 ± 0.83 +
B	8	31.00 ± 6.32 *
C	8	17.38 ± 2.88 + *
D	8	15.25 ± 4.68 + *

Compared with B, + P < 0.01; Compared with A, * P < 0.01

表 2 结果表明阳性对照组微核发生率明显高于其他各组(P < 0.01),C 组、V-E 组也高于正常对照组,但明显低于阳性对照组(P < 0.01)。

3 讨 论

MMC 是一个双官能团烷化剂,广泛用于致突变、致癌及抗癌研究。MMC 的抗肿瘤机制之一是它本身的结构与烷化剂相似,在体内肝微粒体细胞色素 P450 作用下活化为 DNA 交联剂,其损伤机制一般认为是由于 MMC 的活性基团与碱基(主要是鸟嘌呤)结合所致,造成 DNA 双股交联或链内烷化交联,从而抑

文章编号:1004-616X(2002)01-0015-04

论著·

结晶型 NiS 诱发人支气管上皮细胞系恶性转化

纪卫东,吴中亮,陈家

(广州医学院化学致癌研究所,广东 广州 510182)

【摘要】目的:研究结晶型硫化镍(NiS)诱发 SV₄₀ Large T 抗原永生化的支气管上皮细胞系(16HBE)恶性转化作用。方法:体外用不同浓度结晶型 NiS 多次处理 16HBE 细胞,软琼脂集落形成和裸鼠成瘤试验鉴定转化细胞的恶性度。结果:细胞培养至 35 代,发现 NiS 可诱导 16HBE 恶性转化。转化细胞排列紊乱,重叠生长,在软琼脂中的集落形成率显著高于对照组($P < 0.01$),并呈时间剂量依赖关系;转化细胞在裸鼠体内成瘤,组织学证实为低分化鳞状细胞癌。结论:结晶型 NiS 有较强的

制 DNA 合成,诱发染色体畸变和断裂。因此, MCC 以及任何抗肿瘤药物长期或大剂量使用,在杀伤肿瘤细胞同时,可以对正常细胞发生作用,使诱发第二肿瘤的风险增高²。

目前,肿瘤防护的重要措施之一是利用化学药品或天然成份干预理化因子对机体细胞的致癌、致突变作用。近年来肿瘤化学防护的临床及实验研究表明, C 对致癌因子诱发的多种动物及人类某些肿瘤有明显防护效果^{3,4}。据报道 C 可以抑制 α -射线诱导的人淋巴细胞微核形成及 MMC 诱导的人淋巴细胞染色体畸变¹。本实验结果显示,阳性对照组小鼠腹腔注射 MMC 后,小鼠骨髓细胞微核发生率明显升高,脾细胞双链 DNA 剩余率明显减低(表明 DNA 单链断裂较高),而 C 和 V-E 对 MMC 诱导的染色体损伤具有保护作用。C 和 V-E 可能作为抗氧化剂起作用。Lee 报道,膳食补充 C 和 V-E 可降低吸烟者体内 DNA 和蛋白质的氧化性损伤⁶, Collins 也认为膳食补充 C 可降低健康受试者外周血淋巴细胞 DNA 的氧化性损伤⁷。结合以前的实验结果⁸分析,可进一步证实 C 可减少致癌、致突变因子对 DNA、蛋白质等生物大分子的损伤,调整和激发机体免疫功能,从而预防并可降低诱变因子的致癌和毒副作用。

总之, C 对某些基因毒化合物具有保护作用,从而预防了遗传物质的损伤,这与许多实验结果一致。

C 与这些化合物联用可能减轻它们对机体毒副作用并预防药物治疗性二次肿瘤的发生,但这种可能性尚需临床进一步验证。

参考文献:

- 1 Xue KX, Wu JZ, Ma G, et al. Comparative studies on genotoxicity and antigenotoxicity of natural and synthetic beta-carotene stereoisomers J. *Mutat Res*, 1998, 418: 2~3, 73~78.
- 2 杨业鹏,徐厚恩,南新开.快速检测 DNA 链断裂的 DNA 解旋荧光分析法 J. *卫生毒理学杂志*, 1994, 8(2): 118~120.
- 3 Rowley JD, Le Beau MM. Treatment-related acute myeloid leukemia: new insights in leukemogenesis J. *Mutat Res*, 1991, 252: 167.
- 4 Tsubono Y, Tsugane S, Gey KF. Plasma antioxidants and carotenoids in five Japanese populations with varied mortality from gastric cancer J. *Nutr Cancer*, 1999, 34: 1, 56~61.
- 5 Chew BP, Park JS, Wong MW, et al. A comparison of the anticancer activities of dietary beta-carotene, canthaxanthin and astaxanthin in mice *in vivo* J. *Anticancer Res*, 1999, 19 (3A): 1 849~1 853.
- 6 Lee BM, Lee SK, Kim HS. Inhibition of oxidative DNA damage, 8-OHdG, and carbonyl contents in smokers treated with antioxidants (vitamin E, vitamin C, beta-carotene and red ginseng) J. *Cancer Lett*, 1998, 132: 1~2, 219~227.
- 7 Collins AR, Olmedilla B, Southon S, et al. Serum carotenoids and oxidative DNA damage in human lymphocytes J. *Carcinogenesis*, 1998, 19(2): 1~2, 159~162.
- 8 Wu XD, Cheng YY, Lou J, et al. Up-regulation of natural β -carotene crystal on mice immune functions J. *J Nanjing Normal Univ (Natural Sci)*. 1997, 20: 61~64.

收稿日期:2001-04-18; 修订日期:2001-06-28

基金项目:国家自然科学基金资助项目(39170651)

作者简介:纪卫东(1968-),男,安徽省池州市人,硕士,研究方向为化学致癌。