

几味中药复方提取液对正常的和丝裂霉素 C 诱发的淋巴细胞微核率的影响

刘维兰 史天良 张继东 文锦华 郑启英 殷卫东
山西省肿瘤研究所 太原 030013

摘要 将茜草、淫羊藿、人参组成复方,提取其水溶成分,观察其对正常的淋巴细胞和用丝裂霉素 C(MMC)诱发的淋巴细胞的微核率的影响。结果表明,各种浓度的提取液,诱发正常淋巴细胞微核不同,随着浓度的增高,微核率有上升趋势。而对 MMC 诱发淋巴细胞微核的影响不显著。 $P > 0.05$ 。

关键词 淋巴细胞;微核率;提取液

THE EFFECT OF THE TONICS COMPOUND ON THE MN RATES OF THE NORMAL AND MMC INDUCED LYMPHOCYTES

Liu Weilan, Shi Tianliang, Zhang Jidong
Shanxi Tumor Institute, Taiyuan 030013

Abstract The aqueous solution was extracted from a compound formed by *Rubia Cordifolia L.*, *Epimedium grandiflorum Morr.* and *Panax ginseng C. A. Mey.* The effect of the aqueous solution on the MN rates of both normal lymphocyte and the lymphocyte induced by MMC was surveyed. Results show that the extracted solution of different concentration can induce different MN rates of normal lymphocyte. Along with the rising of the concentration, the MN rate is tending to ascend. However, it can't remarkably affect the MN rate of lymphocyte induced by MMC. $P > 0.05$

Key words Lymphocyte; Micronucleus; aqueous solution

祖国传统医药学观点认为,补益药具有祛邪扶正,益气养血,补肾强身等功效。适应于各种虚弱症,贫血、无力、消瘦、营养不良以及机体器官机能低下等疾病。我们将茜草、淫羊藿、人参组成复方,提取其水溶成分,观察其对正常的淋巴细胞和丝裂霉素 C 诱发的淋巴细胞的微核率的影响。本文就此报道如下:

材料和方法

1 材料 提取液:将茜草、淫羊藿、人参(山西

省肿瘤医院中药房提供)以重量比 1:1.5:0.3 配方,粉碎,用蒸馏水浸泡 24h,以 1000g 离心 10min,取上清液。最后采用滤膜过滤法除菌,得 50mg/ml (以生药计算)的提取液置于 4℃ 冰箱备用。

人体外周血:采自山西省肿瘤医院供血部
阳性对照:丝裂霉素 C(MMC),日本进口
阴性对照:0.9%氯化钠注射液(石家庄第四制药厂)

2 测试方法 取肝素抗凝静脉血 0.3ml 加入

含有 4ml RPMI1640 培养液(内含灭活小牛血清 20%) PH7.2。于 37℃ 培养 48h 后,加入提取液,使终浓度分呈 0、2.5、5.0、10、20 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 。以终浓度为 0.05、0.1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 的 MMC 阳性对照。再继续培养 24h。另一实验组为既加入 MMC 又加入提取液。收获细胞制片。涂片干燥后,置入纯用纯缸中 30min,取出置入 70—80℃ 中烘 1h,待涂片冷却后,置 60℃ 的 2 \times ssc 中孵育 1h,最后 Giemsa 染色。分析 1000 个淋巴细胞,计数其中微核细胞率(1)。

3 实验结果数据的统计学处理:对所有各组数据用 q 检验和秩和检验两种方法进行统计分析。

结 果

1 本实验各种浓度的提取液,诱发淋巴细胞微核不同,随着浓度的增高,微核率有上升的趋势,但应用 q 检验做两两比较:0.1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ MMC 组与 10 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 提取液组。0.1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ MMC 与 0.9%氯化钠注射液组。0.05 $\mu\text{g}/\text{ml}$ MMC 组与 2.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 提取液组。0.05 $\mu\text{g}/\text{ml}$ MMC 组与 5.0 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 提取液组有显著性差异($0.01 < P < 0.05$)。0.1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ MMC 组与 2.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 提取液组。0.1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ MMC 组与 10 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 提取液组有高度显著性差异($P < 0.01$)。其它各组间无显著性差异($P > 0.05$)。

2. 提取液抑制 MMC 诱发淋巴细胞微核率实验结果见表 和表 。经秩和检验, $P > 0.05$ 。结果表明:本实验中的各个浓度对 MMC 诱发淋巴细胞微核的影响都不显著。

讨 论

Goeta Kihlman 等初步阐明了染色体畸变和微核之间有密切相关的关系。微核可有规律地存在于癌症患者外周血淋巴细胞胞浆中,也存在于受环境污染的生物外周血有核红细胞胞浆内。本实验设立阴性对照组、MMC 阳性组,提取液组,提取液 + 0.05 $\mu\text{g}/\text{ml}$ MMC 组和提取液 + 0.1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ MMC 组。实验结果表明:2.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 提取液诱发淋巴细胞微核率接近于阴性对照组。但随着提取液浓度的升高,诱发淋巴细胞微核率也呈上升趋势。这个结果暗示,在应用于临床时,一定要掌握好使用剂量。当使用剂量适当时,可以发挥其祛邪扶正、益气养血、补肾强身的功效;当使用剂量过大时,有引起细胞中的染色体损伤,导致微核率升高的可能。但此结论仍需采用其它研究途径进一步论证。

MMC 被认为是强诱导剂之一(2)。应用于诱发小鼠外周血嗜多染红细胞(PEE)和骨髓(PCE)的微核实验(3)。本实验应用于人外周血淋巴细胞呈阳性, $P < 0.01$ 。MMC 的作用机理是抑制了 DNA 复制叉移动的进程,阻碍了细胞内 DNA 的复制,使微核升高。

已有报导某些单味补益药对环磷酰胺诱发 SCE 频率有抑制作用。这些补益药正是提取液的主要成份。本实验结果表明,提取液对 MMC 诱发淋巴细胞微核率作用不明显,是否与本制剂工艺不完全符合传统中药加工方法有关,需待进一步研究。

表 1 不同剂量的提取液对 0.05 $\mu\text{g}/\text{ml}$ MMC 诱发淋巴细胞微核的影响

配伍组	微 核 率 (%)				
	0.05 $\mu\text{g}/\text{ml}$ MMC	0.05 $\mu\text{g}/\text{ml}$ MMC + 2.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 提取液	0.05 $\mu\text{g}/\text{ml}$ MMC + 5.0 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 提取液	0.05 $\mu\text{g}/\text{ml}$ MMC + 10 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 提取液	0.05 $\mu\text{g}/\text{ml}$ MMC + 20 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 提取液
1	9	10	22	8	14
2	8	18	8	18	24
3	9	12	8	9	14
4	14	11	6	8	13

0.05 $\mu\text{g}/\text{ml}$ MMC 组与其它组比较 $P > 0.05$

茯苓对丝裂霉素 C 诱发小鼠精子畸形的抑制作用

刘 冰 刘耀斌*

白求恩医科大学医学遗传教研室 长春 130021

茯苓 (*Poria cocos*) 具有治疗肿瘤的作用⁽¹⁾, 在临床上用途广泛。但是有关茯苓遗传毒性的研究甚少, 尤其是茯苓对生殖细胞遗传毒性的研究尚未见报道。为此, 我们进行了茯苓诱发和抑制小鼠精子畸形的实验研究。

材料和方法

1 实验动物

昆明种雄性小白鼠, 体重 20—25g。

2 实验药品

茯苓水提取物: 茯苓购自长春市药店, 经吉林省中药站鉴定。将茯苓粉碎, 称取 10g 粉末, 去离子水 300ml 浸泡 1h, 在烧杯中反复煎煮 3 次 (第一次 30min, 后两次各 20min), 收集 3 次滤液, 水浴浓缩体积至 10ml, 每毫升含相

当于生药量 1g。4 保存, 使用前以无菌生理盐水稀释至所需浓度。丝裂霉素 C (MMC, 日本协和发酵工业株式会社)。

3 分组和实验方法

将动物随机分为阴性对照组 (生理盐水, NS); 阳性对照组 (MMC, 1.0mg/kg); 茯苓诱变试验组 (2.5, 5, 10g/kg); 茯苓抗诱变试验组 (MMC + 不同剂量茯苓)。每组 6 只动物。MMC 腹腔注射给药, 浓度为每 10g 体重 0.1ml; 其它药品灌胃给药, 每 10g 体重 0.2ml。以上各组均为每天给药 1 次, 连续 5d。抗诱变组 MMC 与茯苓同时给药。首次给药后 4wk 末, 颈椎脱臼处死小鼠, 剪开腹腔, 取出睾丸, 分离附睾, 按 Wyrobek 方法制片⁽²⁾。每只动物检查完整的精子 1000 个。精

表 2 不同剂量的提取液对 0.1 μ g/ml MMC 诱发淋巴细胞微核的影响

配伍组	微 核 率 (%)				
	0.1 μ g/ml MMC	0.1 μ g/ml MMC + 2.5 μ g/ml 提取液	0.1 μ g/ml MMC + 5.0 μ g/ml 提取液	0.1 μ g/ml MMC + 10 μ g/ml 提取液	0.1 μ g/ml MMC + 20 μ g/ml 提取液
1	16	20	16	13	21
2	10	21	14	17	9
3	11	18	18	18	20
4	13	20	17	14	19

0.1 μ g/ml MMC 组与其它组比较 $P > 0.05$

参考文献

- 杨录军, 曹佳. 一种改良的人淋巴细胞微核染色法. 第三军医大学学报, 1995; 17(1): 64
- Abdel-Fadil MR, et al. Effect of temperature variation on SCE and cell-cycle duration in culture human lymphocytes. *Mutat Res*, 1982; 104(45): 267
- 黄建, 曹佳, 杨录军, 等. 丝裂霉素 C 诱发小鼠外周血和骨髓细胞微核率的比较. 癌变 畸变 突变, 1991; 3(4): 27
- 宋为民, 贾敏, 法京, 等. 补气药对环磷酰胺诱发 SCE 的抑制作用. 癌变 畸变 突变, 1991; 3(4): 24

* 白求恩医科大学 92 级七年制实习学生