

大黄抗突变作用的研究

陶玉珍 刘毅 郭启明 刘永霞

山东省劳动卫生职业病防治研究所 济南 250062

摘要 本文通过 Ames 试验 TA98、TA100 菌株和 SOS 反应原噬菌体诱导抗突变和致突变同步试验测试了大黄水溶性提取液的抗突变作用。结果表明大黄在 4~40mg/皿三个浓度,加或不加 S9 试验中对柔毛霉素、2AF 所诱发的 TA98 的突变、对叠氮钠、环磷酰胺所诱发的 TA100 的突变有不同程度的抑制作用,并呈观剂量-效应关系。对移码型致突变剂的作用较优。原噬菌体诱导抗突变和致突变同步试验发现大黄对 MMC 诱发的突变也表现出明显的抑制。

关键词 大黄;Ames 试验;SOS 反应;抗突变;致突变

大黄 (*Rheum palmatum* L.) 为蓼科植物,药用其根茎。其性味苦、寒具有泻实热、破积滞、行瘀血之功效。具有较高的药用价值⁽¹⁾。近年来大黄的抗突变作用已逐渐引起国内学者的关注。但研究尚不系统。本研究采用 Ames 试验和 SOS 反应原噬菌体诱导抗突变和致突变同步试验对大黄的抗突变作用进行了研究。

材料和方法

1 材料

大黄 (*Rheum palmatum* L.) 由山东省药材公司购买,采用传统煎法提取,称取大黄 40g 加蒸馏水浸泡 4h,文火煎二次,收集二次药液过滤定容至 100ml,使相当生药 400mg/ml,4℃ 保存备用。

Ames 试验菌株 TA98、TA100 由中国预防医学科学院劳卫所提供。经鉴定各项生物特性均符合实验要求。

大鼠肝 S9,多氯联苯诱导,本室自制。

原噬菌体诱导试验菌株 GY5027、GY4015,由河北省肿瘤研究所提供,经鉴定具有原生物特性。

2 方法

Ames 试验按 Maron 和 Ames 1983 年修订

的方法进行加和不加 S9 平板掺入试验。致突变试验按常规方法进行,抗突变试验除在每一试管中加入不同浓度的大黄水提取液、菌液、S9 混合液外,还加入已知的阳性对照剂。每剂量均设平行样品,重复 2 次。抗突变结果以抑制率表示。

抑制率 =

$$\frac{\text{阳性回变菌落数} - \text{样品加阳性回变菌落数}}{\text{阳性回变菌落数}} \times 100\%$$

原噬菌体诱导抗突变和致突变同步试验按赵泽贞等建立的方法进行^(2,3)。采用垂直加条法。大黄浓度为 400mg/ml、200mg/ml。MMC(丝裂霉素 C) 0.05mg/ml 为致突变阳性对照剂,Vit. C 100mg/ml 为抗突变对照剂,生理盐水为阴性对照。分别设平行样品,重复 2 次,结果判定按方法规定。

结果

致突变试验结果显示大黄 0.04~40mg/皿 4 个剂量无论加否 S9 回变菌落数均未超过自发回变的 2 倍,最大浓度 40mg/皿未见抑制现象,表明大黄无致突变作用。抗突变结果显示大黄对柔毛霉素、2AF(二氨基苄)所诱发的 TA98 的突变,对叠氮钠、环磷酰胺诱发的

TA100 的突变均有不同程度的抑制作用,并呈现剂量—效应关系,但对不同的阳性对照剂

其抗突变效果有所差别,结果见表 1。

表 1 大黄抗突变作用 Ames 试验结果 ($\bar{x} \pm s$)

药物	浓度 (mg/皿)	TA98 - S9		TA98 + S9		TA100 - S9		TA100 + S9	
		柔毛霉素	抑制率(%)	2AF	抑制率(%)	叠氮钠	抑制率(%)	环磷酰胺	抑制率(%)
大黄	40	66.5 ±11.4	83.9	60.0 ±7.4	94.6	360.7 ±35.8	42.8	126.8 ±4.8	78.0
	20	137.3 ±35.1	66.7	464.0 ±22.5	58.9	381.5 ±32.6	39.6	175.5 ±28.0	70.2
	4	259.0 ±15.8	37.4	708.0 ±35.7	36.1	469.5 ±42.1	25.7	375.0 ±35.7	34.4
大黄对照	40	22.3 ±5.7		21.8 ±2.2		142.8 ±13.2		148.8 ±17.4	
自发回变		19.8 ±6.3		24.2 ±3.4		126.3 ±17.4		139.0 ±19.9	
柔毛霉素	5μg	413.5 ±58.4							
2AF	20μg			1108.0 ±80.6					
叠氮钠	2.5μg					631.6 ±52.1			
环磷酰胺	200μg							576.3 ±34.3	

原噬菌体诱导抗突变和致突变同步试验方法结果显示,在培养至 9h 后出现典型 SOS 反应,平皿菌苔背景生长良好,并有散在分布均匀的,典型自然回变噬菌斑, Vit. C 滤纸条与 MMC 直径线相交处噬菌斑减少一倍以上, MMC 滤纸条周围出现密集的噬菌斑,与

MMC 直径线相交处更明显。而生理盐水滤纸条周围无变化。大黄 400mg/ml、200mg/ml 两浓度滤纸条周围噬菌斑明显减少,与 Vit. C 反应一致。表明两浓度对 MMC 的致突变作用有明显的抑制效应。结果见表 2。

表 2 大黄抗突变和致突变同步试验结果

样品	浓度 (mg/ml)	抗 突 变		致 突 变	
		+ S9	- S9	+ S9	- S9
大黄	400	+	+	-	-
	200	+	+	-	-
MMC	0.05	-	-	+	+
Vit. C	100	+	+	-	-
生理盐水		-	-	-	-

讨 论

本研究采用 Ames 试验和原噬菌体诱导抗突变和致突变同步试验方法对大黄的抗突变作用进行了研究。在 Ames 试验中我们选用 TA98、TA100 菌株分别进行了加和不加 S9 平板掺入试验,其目的是检测大黄有无抗移码型和碱基置换型突变剂的作用。结果显示大黄本身无致突变作用,最大测试浓度 40mg/皿未出现抑菌现象。对于移码型和碱基置换型

致突变剂大黄均表现出不同程度的抗突变作用,而且呈剂量—效应关系。但对不同的致突变剂其抑制效果有所差别。最大测试浓度 40mg/皿对 TA98 致突变剂柔毛霉素和 2AF 的抗突变效果分别为 83.9%和 94.6%;而对 TA100 致突变剂叠氮钠和环磷酰胺仅为 42.8%和 78%。这一结果提示大黄对移码型致突变剂的作用较为明显。经代谢活化后其抗突变作用有所增强。

P⁵³基因突变及 P⁵³突变蛋白在卵巢上皮肿瘤中表达检测方法的探讨

金 镇¹ 李守柔² 黄冰玉² 冷为春³ 张爱臣³

¹中国医科大学第二临床学院妇产科 沈阳 110003 ²白求恩医科大学第二临床学院妇产科研究室 130041 长春 ³白求恩医科大学第三临床学院妇产科 长春 130021

摘要 采用改进的 aPCR - SSCP 银染技术和 SP 免疫组化技术检测 36 例卵巢上皮癌, 12 例卵巢上皮交界瘤和 15 例良性卵巢上皮肿瘤的 P⁵³基因的突变和突变蛋白的表达。结果卵巢上皮癌 P⁵³基因突变率为 30.6%, 突变蛋白表达为 58.4%。P⁵³基因突变主要发生在外显子 5~8 上, 以第 7 外显子突变率最高。交界性肿瘤个别出现 P⁵³基因突变和突变蛋白表达, 而在良性肿瘤无一例出现。提示 P⁵³基因突变是卵巢癌形成过程中的晚期事件。P⁵³基因突变可作为肿瘤标记物判定卵巢癌的预后。aPCR - SSCP 非同位素基因突变技术克服了常规 PCR - SSCP 检测方法的缺陷, 可提高准确性。

关键词 卵巢上皮肿瘤; 基因; P⁵³; 突变

STUDY OF TEXTING METHOD OF EXPRESSION OF P⁵³ GENE MUTATION AND MUTATION PROTEIN IN EPITHELIAL OVARIAN TUMOR

原噬菌体诱导抗突变和致突变同步试验方法是赵泽贞等新建的试验方法, 我们采用这一方法对大黄的抗突变作用做了进一步验证。其结果判断标准为: 平皿上菌苔背景生长良好并有散在分布均匀的典型自然回变噬菌斑出现; MMC 纸条周围噬菌斑密集; Vit. C 纸条与 MMC 纸条相交处噬菌斑减少一倍以上或消失; 生理盐水纸条周围无变化; 受试物纸条反应与 Vit. C 一致判为抗突变作用, 与 MMC 纸条反应一致则判为有致突变作用。本次试验大黄纸条的反应与 Vit. C 一致, 表明大黄有抗突变作用。这一结果与 Ames 试验结果一致。

陈永培等报导大黄 3mg/皿对 4-硝基苯二胺诱发的 TA98 突变抑制率为 57.2%⁽⁴⁾。本研究大黄对柔毛霉素、2AF 诱导的 TA98 的突变有抑制作用, 对叠氮钠、环磷酰胺诱导的

TA100 的突变也有一定抑制作用。但对 TA98 的作用较强。呈现明显的剂量-效应关系。并在 SOS 原噬菌体诱导抗突变致突变同步试验中作了进一步验证。试验结果证实大黄确有一定的抗突变作用, 但大黄的药用成份较为复杂, 要确定其确切的抗突变作用成份及其机理还需进行大量的工作, 有待进一步深入探讨。

参考文献

1. 全国中草药汇编编写组. 全国中草药汇编. 北京: 人民卫生出版社, 1976; 62 - 64
2. 赵泽贞, 温登瑰, 魏丽珍, 等. 抗诱变和诱变同步快速试验方法的研究. 中国公共卫生报, 1992; 1: 41
3. 赵泽贞, 温登瑰, 魏丽珍, 等. 11 种天然药材及植物的抗突变与致突变同步试验报告. 癌变 畸变 突变, 1994; 2: 28
4. 陈永培, 郑鸣金, 黄锦燕. 临床常用抗肿瘤中药的抗突变初步研究. 中国中药杂志, 1992; 7: 431