

丹参对丝裂霉素 C 诱发小鼠生殖细胞遗传损伤的防护作用研究

赵景春 扬杰娜 孙轶梅

北京教育学院生物系 100044

摘要 本文根据动物实验模型的设计,研究了中药丹参对丝裂霉素 C(MMC)诱发雄性小鼠过生殖细胞遗传损伤的防护效应。雄性昆明小鼠随机分成 8 组,每组 15 只,实验组分别注射高、中、低剂量丹参和 MMC,观察动物的精子畸形率、早期精细胞微核率和精原细胞染色体畸变率。结果表明,中药本身无诱变损伤作用,而对 MMC 有拮抗抑制作用。提出中药丹参具有抗 MMC 诱发小鼠生殖细胞遗传损伤的作用。

关键词 丹参;生殖细胞;精子畸形;微核;染色体畸变

A PROTECTIVE EFFECT OF SALVIA MILTIORRHIZA ON GENETIC DAMAGE OF GERM—CELL INDUCED BY MITOMYCIN C (MMC)

Zhao Jingchun, Yang Jiena, Sun Yimei

Normal College of Vocational And technical Training Of BUU, Beijing 100011

Abstract In this paper, the relationship between the MMC inducing effect and protecting effect of *Salvia miltiorrhiza*, was studied in germ - cell of Kunming mice. Male mice divided randomly into eight groups with 15 mice each group. In experimental groups different dose of *Salvia miltiorrhiza* and same dose of MMC were administrated. The chromosome aberration (CA) of spermatogonia, sperm aberration and micronucleus (MN) of early spermatids were observed. The results showed that chinese medicine itself has no genotoxic effect, bus can significantly decrease CA, MN and sperm aberration frequencies induced by MMC ($P < 0.01$). The results indicated that the chinese medicine *Salvia miltiorrhiza* may be an antimutagen.

Key words *Salvia miltiorrhiza*; Germ - cell; Sperm aberration; Chromosome aberration; Micronucleus

丹参 (*Salvia miltiorrhiza*) 是我国传统医学的一味草药,为唇形科植物,具活血化瘀、养血通脉之功效⁽¹⁾。有资料表明丹参对肿瘤细胞有抑制作用⁽²⁾,并对诱变剂引起的体细胞遗传损伤有一定的防护作用⁽³⁾。但是否可以抑制诱变物质所致的生殖细胞的突

变和损伤,尚未见报道。本工作旨在观察丹参对 MMC 所致生殖细胞遗传损伤的抑制作用。

材料和方法

1 实验动物:雄性昆明小鼠,由中国中医研

究院医学实验动物中心提供,体重 28—30g。

2 主要试剂:MMC(日本);丹参注射液(上海新冈制药厂)。

3 给药方式:丹参和 MMC 均为腹腔注射。

4 实验分组:将实验动物随机分成 8 组,每组不少于 15 只小鼠。A₁、A₂ 和 A₃ 分别为低、中、高剂量丹参组;剂量分别是 0.15g/只、0.30g/只、0.75g/只,连续注射 3d。B₁、B₂ 和 B₃ 分别为各剂量丹参加 MMC 组,在第 3d 同时注射 MMC(0.5μg/gbw);C 组为空白对照组,腹腔注射生理盐水 0.3ml。D 组为阳性对照组,腹腔注射 MMC0.5μg/gbw。

5 小鼠精子畸形率检测

首次给药后第 30d,取 1/3 小鼠处死,取睾丸置于生理盐水中,分离包膜,剪碎附睾,过滤后将滤液以 1000r/m 离心,弃上清后制成悬液涂片,甲醇固定,伊红染色,高倍镜下观察精子形态,每只动物检查完整的精子 1000 个,计算精子畸形率,并进行 X 检验。

6 小鼠早期精细胞微核率的测定

首次给药后第 5d,取 1/3 小鼠处死,按辛华等简易方法制备小鼠早期精细胞微核标本(4)。每只小鼠的玻片在油镜下计数 1000 个核圆形,质均匀的早期精细胞,计算微核细胞千分率,结果进行 t 检验。

7 小鼠精原细胞染色体畸变率的检测

首次给药后 5d,取 1/3 小鼠处死,处死

前 4h 腹腔注射秋水仙素,参照徐惟安的方法制备精原细胞染色体标本⁽⁵⁾,空气干燥法制片。选择染色体形态和分散良好,无丢失的精原细胞中期相进行观察分析。每只小鼠计数 100 个细胞,计算各动物的染色体畸变率,包括缺失、断裂、环、双着丝粒和断片等明显结构变异(间隙不计),用 t 检验统计分析。

结果和讨论

1 实验结果(见表)表明,三个剂量组的丹参单独使用时,小鼠精子畸形率,早期精细胞微核率和精原细胞染色体畸变率与空白对照组均无显著性差异($P > 0.05$)。证明了中药丹参本身对小鼠生殖细胞无诱变损伤作用,这与有关丹参对小鼠体细胞 DNA 无诱变性的报道是一致的⁽³⁾。

2 阳性药物 MMC 是强诱变剂,能造成染色体的损伤,使微核率、染色体畸变率升高⁽⁶⁾。本工作同时证明了 MMC 也能使小鼠精子畸形率,早期精细胞微核率和精原细胞染色体畸变率明显升高,由表可见 D 组与空白对照比较差异极显著($P < 0.001$)。

3 丹参与 MMC 合用时,其三个剂量组对 MMC 诱发的精子畸形,早期精细胞微核及精原细胞染色体畸变均有不同程度的抑制作用。由实验结果得知(表 1),丹参能使小鼠精子畸形率明显降低($P < 0.01$),但剂量组之间无组间差异。最大抑制率为 60.4%。

Table 1 Protective effect of *Salvia miltiorrhiza* on sperm aberration induced by MMC.

Group	No. Of animal	No. of observed sperm	No. of sperm aberration	Sperm aberration Frequencies(%)
A ₁	5	5 000	80	1.60
A ₂	5	5 000	72	1.44
A ₃	5	5 000	91	1.82
B ₁	5	5 000	239	4.78 **
B ₂	5	5 000	214	4.28 **
B ₃	5	5 000	195	3.90 **
C	5	5 000	84	1.68
D	5	5 000	493	9.86

* *: $P < 0.01$

丹参对早期精细胞微核率(表 2)以高剂量组的抑制效果最明显(44.5%)。其它两组也较为显著($P > 0.05$);丹参对精原细胞染色体畸变率的影响(表 3),除低剂量组外,另两组

与阳性对照比较,染色体畸变率明显呈降低趋势($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$),最大抑制率为 66.6%,但三个剂量组对 MMC 的抑制效应不具典型的量效关系,组间差异不显著。

Table 2 Protective effect of *Salvia miltiorrhiza* on MN of early spermatids induced by MMC.

Group	No. of animal	No. of in 1000 examined early spermatids of individual animal					MNF(% \pm s)
A ₁	5	2	2	1	2	2	1.80 \pm 1.02
A ₂	5	2	4	2	2	3	2.60 \pm 1.28
A ₃	5	3	2	4	3	3	3.00 \pm 0.97
B ₁	5	25	29	30	29	27	28.00 \pm 4.06 *
B ₂	5	28	22	26	31	25	26.40 \pm 2.21 *
B ₃	5	15	20	19	22	20	19.20 \pm 3.17 **
C	5	2	3	1	5	3	2.80 \pm 0.76
D	5	36	38	32	29	38	34.60 \pm 1.93

* : $P < 0.05$, ** : $P < 0.01$

4 以上结果显示,中药丹参可以抑制 MMC 所致的生殖细胞突变,这很可能是促进了修复机能。DNA 是否受到损伤取决于诱变剂与拮抗作用相互斗争的结果。可以推测,丹

参对遗传物质的防护作用可能与其促进合成与 DNA 修复所必需的酶类有关,并且这种作用可以通过血—生殖腺屏障而使得生殖细胞的损伤得以修复。

Table 3 Protective effect of *Salvia miltiorrhiza* on chromosome aberration(CA) of spermatogonia induced by MMC.

Group	No. of animal	No. of CA in 100 examined spermatogonia of individual animal					CAF(% , $\bar{x} \pm s$)
A ₁	5	1	2	2	1	2	1.60 \pm 0.83
A ₂	5	0	1	2	1	1	1.00 \pm 1.35
A ₃	5	0	2	1	1	1	1.00 \pm 0.91
B ₁	5	4	2	5	2	1	3.80 \pm 2.91
B ₂	5	2	3	1	1	2	1.80 \pm 2.52 **
B ₃	5	3	2	4	4	2	3.00 \pm 1.72 *
C	5	1	2	0	2	1	1.20 \pm 1.31
D	5	6	5	4	6	6	5.40 \pm 2.05

* : $P < 0.05$, ** : $P < 0.01$

抗诱变物的筛选或寻找能抑制肿瘤化疗

药的毒制作用的物质是十分有意义的工作,

格兰西隆的致突变性研究

贺清玉 印木泉 陆 敦 陈耀富 毕 洁 刘 建

第二军医大学基础部卫生毒理学教研室 上海 200433

摘要 应用 Ames 试验,体外染色体畸变试验和微核试验对格兰西隆进行了致突变性研究。研究结果,格兰西隆的各剂量组对 TA98,TA97,TA100,TA102 在加和不加 S9mix 条件下均无致突变性,染色体畸变试验中,在加 S9mix 条件下,15 μ g/ml 和 30 μ g/ml 剂量对 CHL 细胞诱发的畸变率分别为 6%和 7%,为阳性。以 4.8mg/kg 剂量以上对小鼠骨髓多染红细胞有诱发微核作用。实验结果提示,格兰西隆具有潜在致突变性。

关键词 格兰西隆;Ames 试验;微核试验;染色体畸变试验;致突变性

STUDIED ON MUTAGENICITY OF GRANISETRON

He Qingyu, Yin Muqun, Lu Dun, Chen Yaofu Bi Jie Liu Jian

Department of Hygienic Toxicology, Second Military medical University, Shanghai 200433

Abstract The Mutagenicity of Granisetron was studied by Ames test, chromosome aberration assay of mammalian cell (CHL) in vitro and mouse marrow micronucleus assay. The results showed that Granisetron had no mutagenicity on salmonella typhimurium strain TA97, TA98, TA100 and TA102 with or without S9 mix. Chromosome aberration rates induced by 15 μ g/ml and 30 μ g/ml doses with S9 mix were 6% and 7% respectively, Possible positive. The frequency of male mice micronucleus rate induced by 4.8mg/kg dose were significant differences as compared with negative control ($P < 0.01$), The results showed that Granisetron more than 4.8mg/kg Granisetron could also induce mouse marrow micronucleus rates increase, So, Granisetron is mutagenic.

也是当务之急⁽⁷⁾。本文提示,丹参这类扶正养血,活血化瘀的中药对环境致癌物,致突变物所致的生殖细胞遗传损伤能起到防护和抑制作用,或提高修复损伤的能力,也有望成为肿瘤化疗药物毒副使用的拮抗物质。

(致谢:本工作蒙中国中医研究院李鸿广主任的大力协助,在此表示感谢。)

参考文献

1. 钱伯文. 抗癌中草药的临床效用,第1版. 上海:上海译文出版社,1987.71

2. 张玉. 破瘀活血药的抗癌作用初步研究. 上海中医杂志, 1965;(2):6

3. 赵景春,高伟,梁宜萍. 丹参和半枝莲对 MMC 诱发小鼠 MN 和 SCE 的防护作用. 癌变 畸变 突变,1994;6(6):44

4. 辛华,邵红莲. 制备小鼠雄性生殖细胞微核标本的简易方法. 癌变 畸变 突变,1994;6(6):58

5. 黄幸纾,陈星若. 环境化学物致突变致畸变致癌试验方法. 第1版,杭州:浙江科学技术出版社,1985:258

6. 王慕娣,阚捷,刘菊年等. 枸杞子对 MMC 诱发遗传损伤的保护作用. 中草药,1992;23(5):251

7. 赵泽贞,温登瑰,魏丽珍等. 杏仁对 12 种抗肿瘤药物的诱变性的抑制效应. 癌变 畸变 突变. 1992;4(6):49