

大蒜素改善 GJIC 功能及抗氧化作用的实验研究

罗 阳 吴耕书 张荔彦 杜 晶

沈阳医学院生物化学教研室 沈阳 110031

摘要 本文从氧自由基、GJIC(细胞间缝隙连接通讯)及 DNA 含量三个不同角度观察了大蒜素可显著减轻氧自由基对细胞的毒害,并能解除苯巴比妥对 GJIC 的抑制($P < 0.01$),提示大蒜素有明显的预防苯巴比妥的动物促癌作用及对抗氧自由基损害的功效。

关键词 大蒜素;苯巴比妥;细胞间缝隙连接通讯;氧自由基

EXPERIMENTAL RESEARCH ON EFFECT OF ALLITRADI ON IMPROVING GJIC AND ANTI-OXIDATION

Luo yang, Wu Gengshu, Zhang Liyan, et al

Shenyang Medical College, Shenyang, 110031

Abstract The effect of allitradi on improving GJIC and anti-oxidation was investigated by measuring oxygen free radicals, GJIC(gap junction intercellular communication) and DNA. The results showed that allitradi could prevent the cytotoxicity by anti-oxidation, relieve the inhibition of phenobarbitone on GJIC($P < 0.01$). It implies that allitradi could prevent the effect of phenobarbitone on promoting carcinogenesis by increasing the GJIC function, and inhibit the toxic effect of oxygen free radicals on hepatocytes.

Key Words Allitradi; phenobarbitone; GJIC; oxygen free radicals

关于大蒜素的药理作用,近几年多有报道,但大蒜素对动物促癌剂及氧自由基的作用尚未有人涉及。本实验对此进行了一些探讨。

材料和方法

1 动物:Wistar 系大鼠由沈阳医学院实验动物中心提供。

2 试剂:Lucifer Yellow, Rhodamine dextran, Glucose Oxidase 均为 Sigma 公司产品;大蒜素注射液,上海天丰制药厂产品,批号 930701。

3 检测方法

3.1 乳鼠肝细胞的原代单层培养 采用吴耕书等的方法⁽¹⁾,取生后 3 - 5d 的 Wistar 系大鼠乳鼠,无菌剖腹取肝,去除结缔组织,锐利剪刀切成 1mm^3 的小块,用胶原酶及胰蛋白酶组成的混合酶进行冷消化,离心,制成细胞悬液(5.2×10^6 个细胞/ml),接种于小平皿,于 37°C , 5% CO_2 , 95% 湿度条件下培养。

3.2 LDH 活性的测定 取隔夜培养的肝细胞,分 4 组(1)葡萄糖氧化酶组(最终浓度为 $25\mu\text{g/ml}$);(2)大蒜素组(最终浓度为 $50\mu\text{g/ml}$);(3)葡萄糖氧化酶 + 大蒜素组;(4)正常对照组(加 Hank's buffer)。各处理因素作用

时间为 4h,测定培养基中的 LDH 活性⁽²⁾。

3.3 GIC 的检测 取已长满平皿的肝细胞,分为(1)正常组(加 Hank's buffer);(2)苯巴比妥组(最终浓度为 300 μ g/ml);(3)苯巴比妥+大蒜素组;(4)大蒜素组(最终浓度为 50 μ g/ml);各处理因素作用时间为 72h,按 Mark. G. Evans 等的方法略加改进⁽³⁾,用锋利手术刀片划痕,加入 Lucifer Yellow 及 Rhodamine dextran,沿划痕线,观察沿线细胞导入萤光物质情况下,并用萤光显微镜测定细胞间萤光染料扩散程度。选取 5 \times 2 格大小的矩形光栅,沿刮伤处测定该光栅下的细胞萤光量,每个平皿测 10 多个点,取其平均值,作为每个平皿的萤光相对强度⁽⁴⁾。

3.4 DNA 含量测定 取培养 4 天的肝细胞,分组及作用时间同 LDH 活性测定,刮取培养物制成细胞悬液,提取并测定 DNA 含量。

结 果

葡萄糖氧化酶催化产生了氧自由基,氧自由基对细胞有毒害作用,漏入培养基中的 LDH 增多,而大蒜素对此有抑制作用。苯巴比妥阻断了 GIC,而大蒜素可明显恢复 GIC,但对 DNA 含量影响不大。(见表 1 至表 3)

表 1 GIC 的测定

分 组	相对萤光量(AV)	($\bar{x} \pm s$)
苯巴比妥组(400 μ g/ml)	35.2 \pm 8.3	$P < 0.01$
苯巴比妥 + 大蒜素组	64.8 \pm 7.2	$P < 0.01$
大蒜素组	100.4 \pm 8.6	$P > 0.05$

正常组与苯巴比妥组比

苯巴比妥 + 大蒜素组与苯巴比妥组比

正常组与大蒜素相比

表 2 DNA 含量测定

分 组	DNA 含量(μ g/ml)	($\bar{x} \pm s$)
正常组	6.3 \pm 1.2	
苯巴比妥组(400 μ g/ml)	6.2 \pm 1.0	
苯巴比妥 + 大蒜素组	5.9 \pm 1.3	
大蒜素组	6.2 \pm 0.9	

表 3 LDH 活性的测定

分 组	LDH($\bar{x} \pm s$)
正常组	0.01 \pm 0.2
葡萄糖氧化酶组	6.10 \pm 1.0 $P < 0.01$
葡萄糖氧化酶 + 大蒜素组	2.18 \pm 0.8 $P < 0.01$
大蒜素组	0.01 \pm 0.2 $P > 0.05$

葡萄糖氧化酶组与正常相比

葡萄糖氧化酶组与葡萄糖氧化酶 + 大蒜素组相比

正常组与大蒜组相比

讨 论

大蒜素是从大蒜中提取出的一种有效成分,在临床上主要用于抗真菌的治疗。有些实验也提示了大蒜素可以通过直接的细胞杀伤及免疫增强而抗肿瘤。近几年的研究又进一步发现了大蒜素新的抗肿瘤作用机制。如张桂梅等人的研究表明大蒜素可增强巨噬细胞的抗肿瘤作用,同时可增强某些癌细胞对巨噬细胞介导的细胞毒作用的敏感性⁽⁵⁾。本实验旨在对大蒜素可能的新的抗肿瘤及其它药理作用进行探讨。肿瘤的发生有三阶段学说,即启动、促进、发展。从理论上讲,人们对任一阶段施加影响,从而阻止肿瘤的发生。但促进阶段发生的是可逆性变化,所以,目前多数对化学性促癌剂的研究主要集中在第二阶段。促癌剂在体内可产生二种作用,既可直接杀伤细胞,又可抑制细胞间通讯及诱导细胞增殖,对 GIC 的抑制作用作为鉴定促癌剂的一个重要指标已被广泛采用。苯巴比妥是已经被证明的一种动物促癌剂,主要通过阻断 GIC 来促进癌变过程。虽然避免与促癌剂的接触是防止癌症发生的一个重要环节,但在实际工作中不可能完全做到。苯巴比妥在临床上仍被用于治疗失眠,焦虑及惊厥。所以,拮抗一些促癌剂的作用就显得尤为重要。本实验的结果也表明苯巴比妥的确可阻断 GIC,而大蒜素可明显拮抗苯巴比妥的此种作用,提示大蒜素可做为拮抗苯巴比妥的动物促癌作用的有效用药。一些研究也表明,许多促癌剂或致癌剂可在细胞及组织诱导产生氧自由基,而氧

小剂量受照人员远期外周血淋巴细胞染色体畸变分析

吕玉民 傅宝华 韩林 陈玉浩 赵凤玲 邵志良

河南省职业病防治研究所 郑州 450052

摘要 本文对26例小剂量(0.10~0.33 Gy)受照人员受照26~31年后外周血淋巴细胞染色体畸变和微核进行了分析。结果表明,受照组染色体畸变率和微核率都明显高于对照组($P < 0.01$),但染色体畸变率和微核率与受照剂量的相关关系已不存在;外照组染色体畸变率略高于内照组($P > 0.05$),但在内照组中检出双着丝粒体和稳定性畸变,外照组中未检出。提示,不能排除在内照组人员体内仍有裂变产物内污染的存在。

关键词 小剂量照射;染色体畸变;微核;远期效应

LATE OBSERVATION OF CYTOGENETICS IN PERSONS EXPOSED TO LOW-DOSE RADIATION

Lu Yumin, Fu Baohua, Han Lin, et al

Henan Institute of Occupational Disease, Zhengzhou 450052

Abstract The analyses of chromosome aberrations and micronuclei in peripheral blood lymphocyte were performed in 26 cases exposed to low-dose radiation in 1966 and in 1971. The results show that the frequencies of chromosome aberration and micronucleus in the irradiated group were

自由基已被报道参与了小鼠肝癌的促进阶段。 鉴意义。

本实验通过加入葡萄糖氧化酶,催化产生了氧自由基,氧自由基对细胞的毒害作用可被大蒜素对抗,提示大蒜素对肝细胞有一定的保护作用。细胞间通讯功能的阻断与肿瘤的发生有一定关系,是促癌剂促进癌变过程的主要机制,改善此通讯功能,对癌变的发生有预防作用。苯巴比妥是此功能的抑制剂,并已证明是肝细胞癌发生中的促癌剂。大蒜素可对抗苯巴比妥的作用,证明大蒜素对苯巴比妥的动物促癌作用有显著的抑制作用。DNA含量增高几乎是所有肿瘤细胞的共同代谢特点,大蒜素对DNA含量影响不大,值得进一步探讨。本实验的结果对进一步探讨大蒜素的药理作用及寻找有效的防癌变,抗氧化药物有一定的借

参考文献

- 1 吴耕书,姜玉顺. ATP-Mg CL_2 对体外培养肝细胞的保护作用. 延边医学院学报, 1989;12(4):22
- 2 Ruch RJ. Prevention of Oxygenradical mediated cell killing and inhibition of intercellular communication by antioxidant catechins isolated from chinese green tea. *Carcinogenesis*, 1989;10:1003
- 3 Evans MG. Anchored cell analysis/ sorting coupled with the scrape-loading/ dye-transfer technique to quantify inhibition of Gap-Junctional intercellular communication in WB-F344 cells by 2,2',4,4',5,5'-hexabromobiphenyl. *J Toxicol Environ Health*, 1988;24:261
- 4 高贤龙,余应年,陈星若. 用刮伤法试测促癌剂(简报). 实用肿瘤杂志, 1991;16(4):240
- 5 张桂梅,冯作化,郝天玲,等. 大蒜素对巨噬细胞介导的细胞毒作用的影响. 中国中药杂志, 1996;21(1):45