

文章编号:1004-616X(2002)03-0177-03

检测研究 ·

无花果提取物致突变及抗突变研究

马国建¹,孟正木²,王俏先¹,张琴芬¹,薛开先^{1*}

(1. 江苏省肿瘤防治研究所遗传学研究室,江苏 南京 210009; 2. 南京药科大学天然植物化学教研室,江苏 南京 210009)

【摘要】目的:研究无花果提取液(fig extract, FE)致突变及抗突变效应。方法:用体外人淋巴细胞微核测试法,研究了FE对丝裂霉素C(MMC)和 γ 射线诱变作用的影响。结果:FE 0.05~0.45(g/ml)剂量范围内,对人淋巴细胞无致突变性,但可拮抗MMC和 γ 射线诱发突变和老年人、肿瘤患者自发微核形成。结论:FE具抗突变作用。

【关键词】无花果提取液;微核试验;人淋巴细胞

中图分类号:R730.1

文献标识码:A

2.3 小鼠骨髓嗜多染红细胞微核试验

HWAP-1各剂量组微核细胞率均在1.3‰~1.9‰之间,与阴性对照组比较无显著性差异($P > 0.05$),3个剂量组间亦无显著性差异($P > 0.05$),也未见明显的剂量-效应关系,与阳性对照组比较则有非常显著差异($P < 0.01$),表明HWAP-1的微核试验阴性(表3)。

表3. HWAP-1对诱发小鼠骨髓PCE微核的作用结果

Table 3. Frequencies of micronuclei in bone marrow PCE cells of mice by HWAP-1

Test Sample	Dose / $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$	n	PCE	MNPCE	MNCF(%)
HWAP-1	460	10	10 000	18	1.8
HWAP-1	230	10	10 000	13	1.3
HWAP-1	100	10	10 000	17	1.7
H ₂ O		10	10 000	14	1.4
CP	80 000	10	10 000	202	20.2

3 讨论

化学物质致突变性检测不能仅仅依靠单一试验。由于没有一种短期检测系统可评价所有的致突变剂⁵,因此我们选择了Ames试验、染色体畸变试验和微核试验3个测试系统来研究HWAP-1的致突变性。Ames试验为研究新药体外致突变作用的首选方

法,我们所研究的HWAP-1各剂量组,无论有无活化系统存在,MR均小于2,表明受试物对鼠伤寒沙门氏菌无致突变作用。由于化学物质致突变、致癌机制的复杂性,仅以Ames试验的结果尚不能完全肯定化学物质有无致突变作用。于是,我们又做了中国仓鼠肺成纤维细胞染色体畸变试验和小鼠骨髓嗜多染红细胞微核试验,均未发现受试物诱导细胞染色体畸变,也未发现受试物诱导小鼠骨髓嗜多染红细胞微核率明显增加,这样就避免了采用单一方法出现假阳性结果的可能性。本次研究结果表明,湖南师大蛋白质化学研究室提供的HWAP-1无明显体内外致突变作用。

参考文献:

- PENG Kuan, CHEN Xiang-ding, LIANG songping. The effect of huwentoxin-1 on Ca^{2+} channel in differentiated NG108-15 cells, a patch-clamp study J. *Toxicol*, 2001, 39(4): 491~498.
- Maron DM, Ames BN. Revised methods for the Salmonella mutagenicity test J. *Mutes Res*, 1983, 113~173.
- 新药(西药)临床前研究指导原则汇编(毒理学)M. 北京:中华人民共和国卫生部药政管理局, 1993. 211~215.
- 王治乔,袁伯俊. 新药临床前安全性评价与实践M. 北京:军事医学科学出版社, 1997. 89~102.
- 黄幸纾,陈若星. 环境化合物致突变致畸致癌试验方法M. 第1版. 杭州:浙江科学技术出版社, 1985. 13~52.

收稿日期:2001-12-25; 修订日期:2002-2-10

基金项目:国家新药研究项目(97-X-0)

作者简介:马国建(1957-),男,江苏南京人,主管技师,从事肿瘤细胞遗传学和遗传毒理学研究工作。

* 通讯作者

STUDY ON THE MUTAGENIC AND ANTIMUTAGENIC EFFECTS OF FIG EXTRACT

MA Guo-jian¹, MENG Zheng-mu², WANG Yi-xian¹, ZHANG Qin-fen¹, XUE Kai-xian¹

(1. Laboratory of Genetics, Cancer institute of Jiangsu Province, Nanjing 210009, China; 2. Department of Natural plant Chemistry, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009, China)

【Abstract】 Purpose : To study the mutagenic and antimutagenic effects of fig extract (FE). **Methods :** The *in vitro* micronucleus test in human lymphocytes was used. The effect of FE on mutagenesis induced by MMC and γ -ray was studied. **Results :** Within the dosage of 0.05 ~ 0.45 g/ml, FE had no mutagenicity, but inhibited γ -ray- and MMC-induced micronucleus formation. FE also inhibited spontaneous micronucleus formation in old donors and tumor patients. **Conclusion :** FE has an antimutagenic effect.

【Key words】 fig extract; micronucleus test; human lymphocyte

无花果提取物 (fig extract, FE) 系桑科植物无花果 (*Ficus carica* L.) 的聚花果经提取获得的天然成分, 无毒, 具有健脾、补肾、活血等功效。已有实验表明, 该品可提高小鼠免疫功能, 并有抗衰老和抑瘤能力^{1~4}。进一步研究 FE 的抗突变效应对人类肿瘤的防治有应用价值。本研究利用体外人淋巴细胞微核检测方法, 对 FE 致突变和抗突变作用做了实验探讨。

1 材料与方法

1.1 FE 制备

无花果干果 (产于江苏如东无花果基地, 1990 年通过江苏省科委鉴定) 低温干燥, 粉碎, 按 1:10 比例用蒸馏水迥流浸提后, 弃药渣, 合并浸出液, 通过大孔树脂分离得到 F1, F2, F3, F4 组分。将活性组分 F2 (定性分析属黄酮类和三萜类化合物) 经低压 40 ~ 50 kPa, 旋转蒸发器浓缩至干, 采用药剂方法, 制备成符合要求的 FE (以生药计), 终浓度为 10 g/ml。

1.2 FE 致突变及抗突变作用实验

健康供血员男、女各 2 人 (24 ~ 45 岁) 的新鲜抗凝血每例分为两份, 第一份分装 8 瓶 (0.1 ml/瓶), 常规培养 24 h 后加药: 阴性对照加无血清 RPMI 1640 培养液 0.1 ml, 阳性对照加诱变剂 MMC 0.1 ml, 终浓度为 0.12 μ g/ml; FE 致突变处理 3 个组, 各加 0.1 ml 浓度分别为 0.05 g/ml, 0.15 g/ml, 0.45 g/ml 的 FE (FE 用无血清 RPMI 1640 稀释); 抗突变 3 个组, 同时加 MMC 和上述浓度的 FE; 继续培养至 72 h, 制备完整淋巴细胞微核片。

第二份抗凝血也分装 8 瓶 (0.4 ml/每瓶)。阴性对照组及致突变 3 个组同上处理, 阳性对照组及抗突变 3 个组经 γ -射线 3 Gy 照射, 抗突变组立即加同上剂量的 3 个浓度 FE。各组于 37 $^{\circ}$ C 放置 16 ~ 18 h, 制备外周血淋巴细胞微核片。上述两法实验秩序与制片参照本实验室常规^{5,6}, 每观察剂量组分析 1 000 个完整淋巴细胞中的微核率 (MNF %), 每个剂量共观察了 16 组 ($n = 16$)。

1.3 FE 拮抗老年人和癌症患者自发体细胞突变实验

采取健康老年人男 2 人、女 12 人及肿瘤患者 4 人外周血 (60 ~ 65 岁), 各分为 4 组。自发突变组 (不加任何药物), FE 抗突变 3 个组, 分别加入上述 3 个浓度的 FE。培养条件、制备完整淋巴细胞微核片方法及观察分析指标同上。每剂量观察组分别为老年人 12 组 ($n = 12$), 癌症患者 16 组 ($n = 16$)。

1.4 统计学分析

各实验组的组间差异采用 μ 检验。

2 结果

2.1 FE 致突变及对 MMC 和 γ -射线诱发突变的影响

由表 1 可见, FE 在 0.05 ~ 0.45 g/ml 剂量下, 不引起人淋巴细胞 MNF 升高, 和对照组相比, 两者统计学上无显著差异 ($P > 0.05$); 诱变剂 MMC 和 γ -射线明显诱发人淋巴细胞 MNF 上升, 当同时与 FE 合用时, 可使 MMC 和 γ -射线诱发的 MNF 增加呈剂量依赖性下降, 统计学差异非常显著 ($P < 0.01$)。

表1. FE致突变及对MMC和 γ 射线诱发人淋巴细胞MNF的影响Table 1. Mutagenicity of FE and its ineffect on MNF induced by MMC and γ -rays in human (% α , $\bar{x} \pm s$)

	Negative control	Positive control	FE/ g · ml ⁻¹			FE/ g · ml ⁻¹ + mutagens		
			0.05	0.15	0.45	0.05	0.15	0.45
γ ray	0.75 ±0.83	5.25 ±0.80	0.63 ^a ±0.69	0.63 ^a ±0.69	0.75 ^a ±0.82	4.00 ^b ±0.71	2.13 ^b ±0.27	—
MMC	2.25 ±1.19	10.38 ±1.32	2.00 ^a ±1.12	2.38 ^a ±0.99	2.38 ^a ±0.86	3.75 ^c ±0.97	3.13 ^c ±1.05	3.00 ^c ±1.22

a. $P > 0.05$, compared with negative control; b. $P < 0.01$, compared with γ -rays; c. $P < 0.01$, compared with MMC

2.2 FE对老年人及癌症患者自发微核形成的影响

从表2、表3可以看出,老年人和肿瘤患者自发MNF高于健康年青供血的3倍($P < 0.01$),但经FE作用后,MNF显著下降,而且淋巴细胞转化率(LTF)和有丝分裂指数(mitotic index,MI)也随着FE剂量增加出现统计学差异($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$)。

表2. FE对老年人自发体细胞突变的影响

Table 2. Effect of FE on spontaneous somatic cells of the aged($\bar{x} \pm s$)

	Spontaneous mutation	Young healthy control	FE/ g · ml ⁻¹		
			0.05	0.15	0.45
MNF(% α)	7.26 ±1.39	2.25 ±1.19	5.50 ±0.87 ^d	3.26 ±0.67 ^d	2.38 ±0.48 ^d
LTF(%)	67.45 ±2.05	—	83.15 ±1.55	85.50 ±2.50	77.65 ±8.45
MI(% α)	5.22 ±0.55	—	8.75 ±0.75	7.90 ±1.60	12.56 ±4.35

表3. FE对癌症患者自发突变的影响

Table 3. Effect of FE on spontaneous mutation in cancer patients($\bar{x} \pm s$)

	Spontaneous mutation	Young healthy control	FE/ g · ml ⁻¹	
			0.15	0.45
MNF(% α)	6.37 ±0.99	2.25 ±1.19	4.50 ±1.12 ^e	2.38 ±0.69 ^f
LTF(%)	73.90 ±2.40	—	89.75 ±0.25	92.75 ±0.35
MI(% α)	5.15 ±0.55	—	6.50 ±0.50	6.70 ±0.20

d. $P < 0.01$, compared with spontaneous mutation of the aged;

e. $P < 0.05$, compared with spontaneous mutation of the cancer patients;

f. $P < 0.01$, compared with spontaneous mutation of the cancer patients

3 讨论

本研究结果显示,FE可非常显著地拮抗致突变因子MMC和 γ 射线对体外健康人淋巴细胞诱发的微核形成和对LTF的抑制作用,表明它具有明显的抗突变作用;而在实验剂量范围内对健康人体外LTF、MI和MNF无明显影响,表明FE对人淋巴细胞无明显细胞毒性和遗传毒性。本研究中经使用FE后,老年人自发MNF呈对FE剂量依赖性下降,并同时伴有MI增加,表明FE可增加老年人人体细胞基因

组的稳定性,降低自发突变率,这和文献报导FE有一定抗衰老的结果相一致³。实验结果同时显示,肿瘤患者自发MNF明显高于健康人群,表明肿瘤患者是对体内外致癌、致突变因子易感的人群。在合并使用FE后,肿瘤患者自发MNF和自发对照组相比明显下降($P < 0.01$),表明FE可拮抗体内外致癌因子的致突变效应。有临床观察发现,FE可治疗晚期癌症患者并发的癌性腹水,有效提高患者的生活质量^{2,4}。结合本研究结果,进一步提示:FE又有拮抗肿瘤放、化疗中的毒副作用的作用,可用于肿瘤的辅助治疗。

由于癌变是一个多阶段过程,它关系到环境致癌因子与个体易感性的相互作用,因此阻断诱变因子对体细胞致突变效应是预防肿瘤发生的有效措施。人类接触的诱变因子主要来自环境污染,而清除环境中的诱变因子却是比较困难⁷;肿瘤治疗中使用的许多放化疗药物,本身亦可诱发突变,造成二次肿瘤,给肿瘤的治疗带来严重的晚期综合征^{8,9}。故此,人们一方面努力降低环境污染,减少或避免致癌/致突变物,另一方面在抗突变和抗癌研究中寻找一些有效的抗癌/抗突变成分,以拮抗环境污染及各类诱变因子的致突变效应,减轻或治愈肿瘤放、化疗中抗癌药物的毒副作用,并试图阐明其抗突变/抗癌作用机制,这已成为目前肿瘤预防与治疗研究中的重要课题^{10,11}。迄今为止的研究已发现,许多天然有机物具有抑制诱变剂的作用,并且对机体无毒副作用,它们对肿瘤的化学预防具有很大潜力。结合以往工作基础^{12,13},作者认为天然植物成分FE存在抗突变成分,具有无毒、无诱变性、副作用小等特点,值得进一步深入研究并开发利用,有望成为抗肿瘤、抗突变药物的潜在资源。

参考文献:

1 李小平,钱和平,冯捷,等. 卵巢癌COC166-9单克隆抗体片段的

文章编号:1004-616X(2002)03-0180-03

检测研究·

海藻多糖对 γ 射线诱发的小鼠微核形成率的影响

刘志辉,孟庆勇

(广东医学院分析中心,广东 湛江 524023)

【摘要】目的:观察海藻多糖(PS)的抗辐射效应。方法:观察PS对 ^{60}Co γ 射线诱发的小鼠外周血淋巴细胞及骨髓嗜多染红细胞微核率的影响。结果:小鼠接受2 Gy γ 射线照射后,外周血淋巴细胞及骨髓嗜多染红细胞微核率明显升高($P < 0.01$);20 mg/kg·bw及40 mg/kg·bw剂量的PS能使照射小鼠外周血淋巴细胞微核率明显降低($P < 0.05$);10 mg/kg·bw、20 mg/kg·bw及40 mg/kg·bw剂量的PS能使照射小鼠骨髓嗜多染红细胞微核率明显降低($P < 0.05$)。结论:PS对 γ 射线诱发的染色体损伤有明显的保护作用。

【关键词】海藻多糖;微核试验;辐射;抗辐射效应

中图分类号:R285.5

文献标识码:A

EFFECT OF POLYSACCHARIDES OF SEAWEED ON FORMATION OF MICRONUCLEUS IN γ RAY IRRADIATION MICE

LIU Zhi-hui, MENG Qing-yong

(Analysis Center Of Guangdong Medical College, Zhanjiang 524023, China)

- 制备及在放射免疫显像中的应用J. 中华妇产科杂志,1997,32(3):152~154.
- 2 史美祺,郑秀立,吴罕利,等. 无花果提取液治疗癌性腹水的临床研究J. 河南肿瘤学杂志,1995,8(4):256~257.
- 3 王劲,裘维焰,周淡宜,等. 圣果七味口服液抗衰老的临床研究J. 浙江中医杂志,1996,6:280~281.
- 4 王俏仙,张香莲,张琴芬,等. 无花果抗癌作用的研究J. 癌症,1990,9(3):223~225.
- 5 马国建,薛开先. 一种快速简便的培养淋巴细胞微核制片法J. 细胞生物学杂志,1989,11:143~144.
- 6 薛开先,马国建,王 苏,等. 人淋巴细胞核异常体外测试法J. 中国药理学报,1992,13(6):464~467.
- 7 Crover IS,Bala S. Studies on antimutagenic effects of guava (*Psidium guajava*) in *Salmonella typhimurium* J. *Mutat Res*,1993,300(1):1~4.
- 8 Kaldor JM,Day NE,Hemminki K. Quantifying the carcinogenicity of antineoplastic drugs J. *Eur J Cancer Clin Oncol*,1988,24:703~706.
- 9 Pappo A,Schmeider NR,Sanders JM,et al; Secondary myelodysplastic syndrome complicating therapy for osteogenic sarcoma J. *Cancer*,1991,68:1373~1377.
- 10 Cozzi RP,Bona PR,Polam S. Antimutagenic activities of naturally occurring polyamines in Chinese hamster ovary cells *in vitro* J. *Environ Mol Mutagen*,1991,18:207~209.
- 11 Sato TO,Nagase H. Desmutagenic effect of humic acid J. *Mutat Res*,1986,162:173~178.
- 12 马国建,薛开先,吴建中,等. 盐藻-胡萝卜素抗突变效应J. 中国药理学报,1998,19(3):282~284.
- 13 马国建,薛开先,吴建中,等. 复方灵芝胶囊对丝裂霉素C诱发突变及老年人自发突变的抑制作用J. 山西医药杂志,1999,28(2):20~21.

收稿日期:2002-01-04;修订日期:2002-03-14

基金项目:广东省湛江市科委科技攻关项目(9945)。

作者简介:刘志辉(1975-),男,湖北黄冈人,硕士,从事抗辐射药物研究。