

鸭肝微粒体酶代谢活化作用的观察

曹群立 王慧敏 鲍懿 冷光鸣* 俞顺章

上海医科大学预防医学研究所

摘要 本文对1月龄麻鸭经过黄曲霉毒素 B_1 诱导后在1月、1年及3年观察其肝微粒体酶(S_9)的代谢活性并与各相应对照组进行比较。提示1月、1年及3年龄鸭肝 S_9 均有代谢活化前致癌物—黄曲霉毒素 B_1 的效能。经过 AFB_1 诱导后 S_9 活性比对照组高。但诱导后的第三年增加的活性已不复存在。也见到雏鸭 S_9 活性明显高于成年鸭。 AFB_1 诱导的雏鸭 S_9 代谢 AFB_1 的活性与经多氯联苯诱导的大鼠肝 S_9 无显著差别,但其代谢2-氨基芴的活性却远高于后者。试验结果提示鸭肝 S_9 无论是否经过药物诱导皆有良好代谢活性可作为体外短期检测诱变剂活化体系的酶来源。

关键词 肝微粒体酶; 代谢活性; 诱导

检测环境诱变剂的体外短期测试方法很多,但这些体系中多数缺少哺乳类动物的药物代谢酶系,使受试的间接诱变剂或前致癌物得不到代谢转化,不能在测试中检出,故一般于检测时需加入哺乳类动物的微粒体酶(S_9)。Ames试验中最先采用了大鼠肝脏制备的 S_9 ,其后边有应用其他种属啮齿类动物肝脏的报导,如中国仓鼠等制备的 S_9 。不同动物种属间肝微粒体酶的活性差异较大,甚至同一种属不同品系的动物间也存在着差异^[1]。本文应用黄曲霉毒素 B_1 诱导麻鸭于建立肝癌模型的同时,分期经过诱导后饲养不同时间的鸭肝,观察其 S_9 的活性,并与Ames试验常规应用的鼠肝 S_9 的活性进行了比较。

材料和方法

1. 主要试剂:黄曲霉毒素 B_1 (AFB_1)、2-氨基芴(2-AF)购自Sigma公司。

2. 动物模型的建立:1月龄麻鸭,分为诱导组及对照组。诱导组动物用 $\frac{1}{15}LD_{50}$

AFB_1 0.04mg/kg/日(稀释1120倍的二甲亚砷为溶剂)连续灌胃14天。对照组用等量相同溶剂处理。

3. 鸭肝微粒体酶(S_9)制备:将1月龄雏鸭于给药结束后第三天诱导组和对照组各处死4只,于无菌条件下,每只鸭取5克肝脏,同组混合,按照Ames试验^[2]提供的方法制备 S_9 。另外于诱导后的一年及三年两组各处死20只及10只成年鸭制备 S_9 。

4. 鼠肝 S_9 制备:100-150克体重的SD大鼠。经过多氯联苯Aroclor 1254诱导,五天后处死制备 S_9 ^[2]。

5. S_9 活性比较

5.1. 应用Ames试验观察不同 S_9 的代谢活性,将各组分别制备的 S_9 混合液^[2]中 S_9 的加入量皆根据其蛋白质的含量调整在同一水平,即每毫升 S_9 混合液蛋白质量为6毫克。用此混合液加入Ames试验平板掺入法测试体系中,观察 AFB_1 (0-0.16 μ g/皿)对TA98菌株的诱发回变数。籍以比较各组 S_9 的活性。

5.2. S_9 的蛋白质含量测定:应用Lowry法^[3]。

结果

1. 1月龄、1年龄及3年龄诱导鸭肝 S_9 与其相应对照组活性的比较见表1。提示无论是否经过 AFB_1 的诱导,鸭 S_9 均有代谢转化前致癌物— AFB_1 的活性。将所得数据经过对数转换进行直线回归及回归系数的显著性

* 进修生

表 1 不同龄鸭 S₉ 活化 AFB₁ 的诱变性比较

鸭 龄	AFB ₁ (μg/皿)	TA98 ₊ + 对照组鸭 S ₉) 诱变菌落数 ($\bar{X} \pm SD$)	TA98 (+ 诱导组鸭 S ₉) 诱变菌落数 ($\bar{X} \pm SD$)	备 注
1月	0	50.3 ± 5.1	41.0 ± 1.7	蛋白质含量 (mg/ml) 对照组 S ₉ : 36.5 诱导组 S ₉ : 31.0
	0.01	128.7 ± 25.1	221.3 ± 36.5	
	0.02	187.0 ± 10.8	412.3 ± 37.2	
	0.04	365.7 ± 60.5	729.3 ± 9.0	
	0.08	1075.5 ± 24.8	1363.0 ± 113.9	
	0.16	1417.0 ± 467.4	2049.5 ± 126.6	
1年	0	41.3 ± 5.0	38.7 ± 2.5	蛋白质含量 (mg/ml) 对照组 S ₉ : 37.0 诱导 S ₉ : 28.0
	0.01	69.7 ± 5.5	108.3 ± 8.7	
	0.02	167.7 ± 9.8	170.3 ± 21.7	
	0.04	180.5 ± 3.5	293.0 ± 7.0	
	0.08	275.7 ± 61.9	661.0 ± 26.9	
	0.16	659.7 ± 48.9	1238.3 ± 97.5	
3年	0	50.7 ± 7.8	53.7 ± 4.9	蛋白质含量 (mg/ml) 对照 S ₉ : 43.0 诱导 S ₉ : 59.0
	0.0025	101.7 ± 17.2	126.7 ± 10.1	
	0.005	244.3 ± 21.1	217.7 ± 28.1	
	0.01	438.0 ± 11.3	338.7 ± 69.8	
	0.02	777.3 ± 92.0	768.7 ± 112.3	
	0.04	1301. ± 238.6	1233.3 ± 146.9	

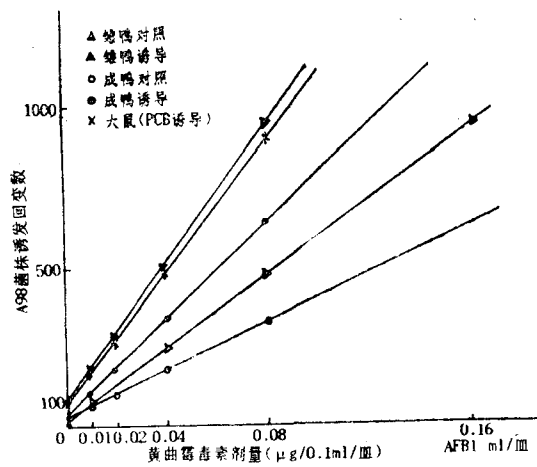


图 1 四组鸭 S₉ 与鼠 S₉ 代谢 AFB₁ 活性的比较

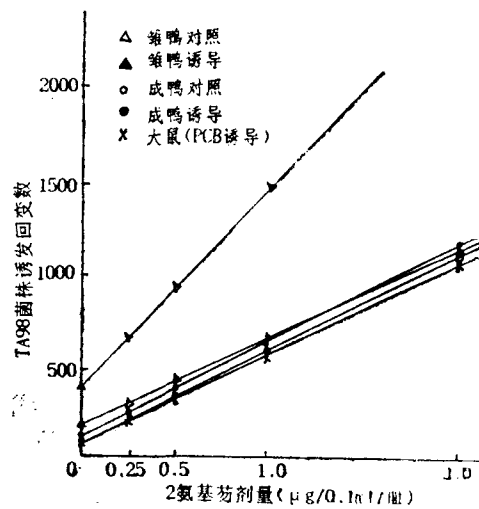


图 2 四组鸭 S₉ 与鼠 S₉ 代谢 2-氨基芴活性比较

检验,表明经1月及1年龄诱导组鸭肝 S_9 活化后的 AFB_1 对 TA_{98} 的诱变菌落动均明显大于其相应对照组($P < 0.001$)。显示了 AFB_1 对鸭肝微粒体酶的诱导效果。而且在饲养1年后其活性仍较未经诱导的同龄鸭肝 S_9 活跃。但饲养3年后诱导组 S_9 与其对照组已无显著差别($P > 0.05$),表明诱导增加的活性已不明显。

2. 当诱导组及对照组鸭饲养一年后,另外进行了一批一月龄鸭给予相同剂量 AFB_1 诱及其相应对照组,于给药一周后几组同时处死,制备 S_9 。将1月龄、1年龄鸭肝 S_9 及本室常规用的鼠肝 S_9 活性进行比较,结果见图1。经统计学处理,经鸭肝 S_9 转化的 AFB_1 诱发 TA_{98} 回变菌落数在1月及1年龄鸭的诱导组及各对照组均有极显著差别($P < 0.001$)。其中以雏鸭诱导组的活性最高,但与常规鼠肝 S_9 的活性无显著差别($P > 0.05$)。

3. 对上述四组鸭肝 S_9 代谢2AF对 TA_{98} 诱发回变菌落数进行了观察(图2)。结果亦表明经 AFB_1 诱导的雏鸭肝 S_9 代谢活性最强,与其他三组有极显著差别($P < 0.001$),1年龄诱导的鸭肝 S_9 活性也明显高于其相应对照组($P < 0.005$)。鼠肝 S_9 代谢2氨基芴的活性则明显低于诱导的雏鸭肝 S_9 ($P < 0.001$),但与其他三组无显著差别($P > 0.05$)。

讨论

实验结果提示,无论雏鸭(1月龄)或成年鸭(1年龄、3年龄)的肝 S_9 均有代谢活化前致癌物/间接诱变剂- AFB_1 、2AF的功能。但经过 AFB_1 诱导的鸭肝 S_9 比未经诱导的活性高,雏鸭肝 S_9 的活性高于成年鸭。经过多氯联苯诱导的大鼠肝 S_9 代谢 AFB_1 的

效能与经过 AFB_1 诱导的雏鸭 S_9 活性接近,但其代谢2AF的效能却远较上述诱导的雏鸭肝 S_9 差。鸭经过诱导增高的肝 S_9 活性,在饲养一年后仍存在,但在3年后即与对照组无显著差别。本文3年龄鸭肝 S_9 所活化的 AFB_1 是新从Sigma公司购得的,其诱发回变菌落数远高于前两批的结果,因此3年龄鸭肝 S_9 活性无法与雏鸭及1年龄鸭肝 S_9 活性进行比较。通过本文可见不同种属的哺乳动物肝 S_9 活性不尽相同,鸭肝无论是否经过诱导均具有良好的转化前致癌物或间接诱变剂的效能,又以雏鸭活性更强些。关于肝微粒体酶诱导的文献较多,以苯巴比妥与3-甲基胆蒽两类诱导剂多见,前者主要诱导细胞色素P-450,后者主要为P-448,常用的多氯联苯类则兼有这两者功能。但 AFB_1 对微粒体酶的诱导未见报导。关于其诱导的酶谱待进一步测定。此外有关鸭肝 S_9 具有较高的酶活性也未见报导。这一结果将为今后制备哺乳类动物肝微粒体酶开辟了新的途径。本实验应用了Ames试验,用相同剂量的前致癌物经过不同种类肝 S_9 转化后,观察其对同一菌株的诱发菌落数,籍以比较各种肝 S_9 的活性,扩展了Ames试验的应用。

(本文由徐忠、成志强老师提供鸭模型;俞国培老师进行微机处理,特此一并致谢。)

考考文献

1. 李寿琪主编:卫生心理学基本原理和方法,成都:四川科学技术出版社,1987;38-43
2. Maron DM and Ames BN, Revised methods for the Salmonella mutagenicity test Mut Res, 1983; 113: 173
3. Lowry OH et al, Protein Measurement with the Folin Phenol reagent J. Biol. Chem, 1951; 193: 265

nitrosated fish sauce (NFS) also induced SOS in *E. coli* PQ37 and alkylation of calf-thymus DNA. The potency of NFS to induce unscheduled DNA synthesis (UDS) in human normal gastric mucosal cells was increased about five fold compared with FS. When the NFS extract was given to newborn rats by gavage, dysplasia and adenocarcinoma were induced in the glandular stomach in the 4th and 16th experimental week respectively. N-nitrosamides were also found in NFS, which may account for the mutagenicity and carcinogenicity of NFS. It is indicated that FS, a traditional daily eaten seasoning, may contribute to the causes of the high gastric cancer mortality for the local residents.

STUDY ON THE METABOLIC ACTIVITY OF LIVERMICROSOMAL ENZYMES IN DUCK

Cao Qun-li, Wang Hui-ming, Bao Yi, Len Guang-ming, Yu shun-zhang
Preventive Medical Institute of Shanghai Medical University

After induced by AFB₁, the activity of liver microsomal enzymes in duck has been studied and has been compared with the control groups respectively. It is shown that the liver S₉ of them all possesses the effectivity to metabolize the precarcinogen-AFB₁. The activity of liver S₉ in duck induced by AFB₁ is higher than its control group. But in the third year after induction the adding activity induced by AFB₁ has disappeared. By the way the activity of liver S₉ in baby duck is higher than elder duck significantly. The activity of liver S₉ in baby duck induced by AFB₁ is not significantly different with that in rat induced by Aroclor 1254. But the activity of the former is higher than the latter. These results show that the liver S₉ in duck possesses sufficient metabolic activity. The liver S₉ of duck either induced or not by chemicals is a good source of activating metabolic system for short-term bioassays.

THE GREEN TEA POLYPHENOLS NO. 1 IN SLRL TEST OF DROSOPHILA MELANOGASTER

Huang Pin-jian • Li Ming-zhe • • Li Xia •
Xu wei • Yang xian qiang • • •

- Shanghai Institute of Entomology, Chinese Academy of Sciences,
- • Zhe-Jiang Agricultural University,
- • • Zhe-Jiang Chinese Medical College

The green tea is a favourable health drink for people. It seems to be necessary to evaluate its safety accurately. The Green Tea Polyphenols No. 1 (GTP-1) is an