

胎盘免疫调节多肽遗传毒性和抗突变作用的研究

丰慧根 李延兰 刘明林 任太芳 杨保胜

新乡医学院细胞生物学教研室 河南新乡 453003

摘要 本文应用体外培养人淋色细胞并进行微核、染色体畸变的检测以及小鼠骨髓微核实验的研究,评价胎盘免疫调节肽(Placental immunoregulating polypeptide, PIP)遗传毒性和抗突变效应,实验结果表明:胎盘免疫调节肽(0.02和0.03ml/ml)可显著抑制培养人淋巴细胞的自发和射线诱发的微核形成以及丝裂霉素C(MMC)诱发的染色体畸变,并能明显抑制环磷酰胺诱发的小鼠骨髓多染性红细胞微核的增加,揭示了胎盘免疫调节肽具有抗突变作用。

关键词 胎盘免疫调节肽;抗突变;遗传毒性;染色体畸变;微核

STUDY ON GENOTOXICITY AND ANTIMUTAGENIC EFFECTS OF THE PLACENTAL IMMUNOREGULATION POLYPEPTIDE

Feng Huigen, Li Yanlan, Liu minglin.

Department of Cell Biology Xingxiang Medical College.

Abstract The genotoxicity and antimutagenic effects of placental immunoregulation on polypeptide(PIP) against mutagen-induced chromosomal aberrations and micronucleus formation in human lymphocytes in vitro and bone marrow of mice were studied. PIP(0.02 and 0.03ml/ml) significantly inhibited spontaneous and rays-induced micronucleus formation and MMC-induced chromosomal aberrations in vitro. Mentimes PIP(0.02 and 0.03ml/ml) strongly suppressed also micronucleus formation induced by CP in PCEs of mice. PIP has no genotoxicity and has antimutagenic effects.

Key words placental immunoregulation polypeptide; antamutagenic effects; genotoxicity; chromosome aberration; micronucleus.

胎盘免疫调节多肽(Placental immunoregulating polypeptide, PIP)系从正常孕妇足月分娩的胎盘中分离提取的小分子多肽物质,实验表明 PIP 可明显提高化疗和放疗小鼠的免疫功能,并可抑制小鼠肿瘤的生长和转移^(1,2),本研究试图通过 PIP 抗突作用或遗传毒性的

7. 刘胜学, 1,3-丁二烯的毒理学研究. 国外医学卫生学分册, 1996;23(4):223

8. Au WW, et al., *Mutat Res*, 1995;344:125

9. Tive RR, Bolucher R, Luke CA. Comparative cytogenetic analysis of bone marrow damage induced in male B6C3F1 mice by multiple exposures to gaseous 1,3-butadiene. *Environ Mutagen*, 1987;9(3):235

研究,从细胞和分子水平提供 PIP 具有抑瘤效应的理论依据,同时对其遗传毒性进行评价。

材料与方 法

- 1 动物 昆明小鼠(由本校动物中心提供),雌雄各半,8 - 12 周龄,体重 18 - 22 克。
- 2 PIP 按 Lawrence 匀浆透析法制备⁽³⁾,分子量为 2000 - 5000dal,多肽含量在 941μg/ml。
- 3 人淋巴细胞微核的检测 外周血采自本校 4 名健康青年,男女各 2 名,经 PHA 刺激,37 下微量全血培养,为了更好的评价 PIP 的遗传毒性和抗突变效应,检测分成 8 个组:对照组,3 个处理组(培养时加入 PIP 最终浓度分别为 0. 01ml/ml、0. 02ml/ml、0. 03ml/ml),3Gy 射线全血照射组和 3 个照射加 PIP 联合处理组(全血照射后加 PIP 最终浓度为 0. 01ml/ml,0. 2ml/ml,0. 03ml/ml),培养 3d,收获细胞,制备完整淋巴细胞微核片,编码,每组观察计数 1000 个淋巴细胞。
- 4 人淋巴细胞染色体畸变(CAR)实验 采取本校 4 名健康青年的静脉血,37 培养至 24h,分别加入 0. 20μg/ml 丝裂霉素(MMC)或 PIP,共分 8 个组:对照组,3 个 PIP 处理组

(PIP 分别为 0. 01ml/ml,0. 02ml/ml,0. 03ml/ml),MMC 处理组和 3 个 PIP 与 MMC 联合处理组(PIP 分别为 0. 01ml/ml,0. 02ml/ml,0. 03ml/ml)。继续培养 58h,加入秋水仙素(0. 4μg/ml),72h 后常规制备染色体片,编号。4 批 32 组中每组观察 200 个中期分裂相。

5 小鼠骨髓嗜多染红细胞微核实验 将 80 只实验小鼠随机分成 8 个组:对照组,3 个 PIP 处理组(PIP 分别为 1ml/只,2ml/只,3ml/只),环磷酰胺(CP)处理组(5ml/只)和 3 个 PIP 与 CP 联合处理组(PIP 分别 1ml/只,2ml/只,3ml/只),每组动物腹腔注射给药后,继续饲养 30h,按常规取小鼠骨髓制片,观察分析多染性红细胞(PCE)微核和 PCE/PCE + NCE(正染性红细胞)。

结 果

1 PIP 对自发和诱发人淋巴细胞微核率的影响。

实验结果表明(见表 1)在全血培养中,加入 0. 01,0. 02,0. 03ml/ml 的 PIP,使自发微核率(MNF)随着剂量的增加而下降,与对照组相比,0. 03ml/ml PIP 处理组的 MNF 明显下降($P < 0. 01$)。

表 1 PIP 对诱发人淋巴细胞微核的影响

组别	剂量(ml/ml)	观察组数	微核率(%)	P
A	0	15	3. 62 ± 0. 98	-
B	3. 0Gy - 线	15	15. 16 ± 1. 23	-
C	0. 01PIP	15	3. 61 ± 1. 01	-
D	0. 02PIP	15	2. 56 ± 0. 86	-
E	0. 03PIP	15	0. 68 ± 0. 44	< 0. 01
F	- 线 + 0. 01PIP	12	12. 24 ± 1. 15	-
G	- 线 + 0. 02PIP	12	6. 67 ± 2. 62	< 0. 01
H	- 线 + 0. 03PIP	12	4. 63 ± 2. 32	< 0. 01

表 1 结果还表明 射线可诱发人淋巴细胞形成大量微核,经照射后的全血,加入不同剂量的 PIP,可引起 MNF 随着剂量的增加而

下降,当用 0. 02 和 0. 03ml/ml PIP 联合处理时,MNF 显著下降($P < 0. 01$)。由此可见 PIP 具有抗自发和 射线诱发微核形成的作

用。

2 PIP对自发和诱发人淋巴细胞染色体畸变的影响

表2结果显示了在全血培养时,加入不同剂量的PIP,不引起正常人的淋巴细胞CAR;当培养时加入MMC,MMC可诱发人淋巴细

胞CAR明显增加,若同时加入不同剂量的PIP,可使CAR呈剂量依赖性下降,当加入0.02和0.03ml/ml的PIP时,可见CAR明显下降,由此表明PIP不引起正常人细胞CAR,并具有抗MMC诱发CAR的作用。

表2 PIP对诱发淋巴细胞染色体畸变的影响

组别	剂量(ml/ml)	染色体畸变类型			畸变率(%)	P
		裂隙	交换	损伤		
A	0	3	0	1	2.00	
B	0.02μg/mlMMC	11	2	9	11.00	
C	0.01PIP	1	0	1	1.00	
D	0.02PIP	1	0	0	0.50	
E	0.03PIP	1	0	1	1.00	
F	MMC+0.01PIP	8	2	8	9.00	
G	MMC+0.02PIP	5	1	6	6.00	<0.01
H	MMC+0.03PIP	3	2	2	3.50	<0.01

3 PIP对诱发小鼠骨髓细胞微核的影响

从实验结果可见给小鼠腹腔注射不同剂量的PIP,不引起PCE-MNF和PCE/PCE+NCE比值的明显改变。当注射CP时,可显著诱发骨髓PCE-MNF的上升,若同时加入不

同剂量的PIP,对骨髓PCE-MNF具有显著的抑制作用,当剂量为2,3ml/只时,小鼠骨髓的PCE-MNF明显降低($P < 0.01$),但CP和PIP对PCE/PCE+NCE比率没有明显的影响。(见表3)

表3 PIP对诱发小鼠骨髓细胞微核的影响

组别	剂量(ml/只)	微核 PCEs	
		1000PCEs	PCEs + NCEs(%)
A	0	2.21 ±0.34	56.22
B	CP(5mg/只)	13.42 ±1.15	59.82
C	1PIP	2.20 ±0.45	55.34
D	2PIP	2.25 ±0.62	56.67
E	3PIP	2.01 ±0.78	54.67
F	CP+1PIP	2.62 ±1.67*	55.12
G	CP+2PIP	4.37 ±1.82**	56.09
H	CP+3PIP	3.66 ±1.13**	54.15

* $P < 0.05$, ** $p < 0.01$

讨论

许多理化因子都可诱发基因突变以及染

色体损伤,从而引起人类各种肿瘤和遗传疾病。同时在肿瘤治疗过程中所用的放射线和

昆明山海棠对人外周血淋巴细胞染色体的畸变效应

李练兵 蔡 敏 马明福 李新生 曾维三
重庆市计划生育科学研究所 重庆 400020

摘要 本文报道昆明山海棠对人外周血淋巴细胞的染色体畸变效应测试结果。分别将昆明山海棠根部水提取物 (THH) 50、100、200、400、800 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 和乙醇提取物 (ATH) 2.5、25、50、100 和 200 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 进行人外周血淋巴细胞染色体畸变试验,均未显示明显的染色体畸变作用。空白和溶剂对照组的染色体无异常,阳性对照组的染色体畸变率为 39%,显示明显的诱变作用。结果表明昆明山海棠两种提取物在本试验的剂量范围内,对人外周血淋巴细胞染色体无致畸变作用。

关键词 昆明山海棠;人淋巴细胞;染色体畸变

EFFECTS OF TRIPTERYGIUM HYPOGLAUCUM(LEVL) HUTCH ON CHROMOSOME ABERRATION IN CULTURED HUMAN PERIPHERAL BLOOD LYMPHOCYTES

Li Lianbing, Cai Min, Ma Mingfu, Li Xiinsheng, Zeng Weisan

Chongqing Family Planning Scientific Research Institute, Chongqing 400020

化疗药物大多数有诱变作用,并可继发二次肿瘤^(4,5),因此为了防治肿瘤和遗传性疾病,寻找更有效,副作用小的抗突变药物在临床上具有重要的意义。胎盘免疫调节含大量具有生物活性的小分子多肽,具有调节机体免疫功能作用。⁽⁶⁾。实验结果表明,PIP 不引起培养人淋巴细胞微核率增加和 CAR 的明显改变,同时,在我们所用的剂量范围对小鼠骨髓 PCE-MNF 亦无明显改变,由此说明,PIP 无遗传毒性。

射线和 MMC 已经被公认为直接致癌作用的致突变因子,本实验结果验证了它们分别诱发人的淋巴细胞 MNF 和 CAR 明显增加,当联合使用不同剂量的 PIP 时,MNF 和 CAR 随剂量的增加而明显下降,显示了具有明显的拮抗作用;另外小鼠体内实验也表明,PIP 亦可显著抑制突变剂 CP 诱发骨髓细胞的微核形成,上述实验结果表明了 PIP 具有显

著的抗突变效应,为 PIP 临床上进行肿瘤辅助治疗提供了可靠的理论依据。

参考文献

1. 丰慧根,杨保胜,苗兴泉等. 胎盘免疫调节肽对化疗小鼠免疫水平的影响. 新乡医学院学报,1995;12(4):301
2. 丰慧根,韩金红,卢光荣等. 胎盘免疫调节肽抑瘤效应的研究. 新乡医学院学报,1996;3(2):127
3. Lawrence HS. Experimental Study of the placental immunoregulation factor. *Adv Immunol*, 1990;11(19):206
4. 杜传书,刘祖洞. 医学遗传学. 北京:人民卫生出版社,1992:540-570
5. Rowley JD, Le Beau MM. Treatment-related acute myeloid leukemia: new insight in Leukemogenesis. *Mutat Res*, 1991;252:167
6. 李思善,董帮全,杨琨等. 胎盘免疫调节因子理化性质及生物学活性的实验研究. 上海免疫学杂志,1993;13(4):204
7. Kuo ML, Obe G, Johannes C, et al. Origin of chromosomal aberrations by DNA double-strand breaks. *Mutat Res*, 1992;270:87