

文章编号:1004 - 616X(2000)02 - 0105 - 03

香菇多糖胶囊抗突变作用的实验研究

陈冠敏,林升清,黄宗锈,陈幼雄,何玲,姜瑞钗

(福建省卫生防疫站,福建 福州 350001)

摘要:目的与方法:本文采用 Ames 试验及活体小鼠骨髓嗜多染红细胞微核试验方法,对香菇多糖胶囊进行抗突变试验,结果:香菇多糖胶囊各剂量组在加与不加 S9 的条件下,均能抑制由 2 - 氨基芴等阳性物引起的 TA98、TA100 回变菌落数的增加;抑制由环磷酰胺引起的小鼠微核率的增加,抑制率在 45.32% - 64.72%。结论:香菇多糖胶囊具有一定的抗突变作用。

关键词:香菇多糖;抗突变作用;Ames 试验;微核试验

中图分类号:R155; R965.2 文献标识码:A

STUDY ON THE ANTIMUTAGENICITY OF LENTINAN

胞微核与外周血淋巴细胞微核显著相关。由此可见,口腔白斑病损区脱落粘膜细胞微核细胞率的高低与组织病变程度相关,可反映组织病变程度,由于其取材无损伤性,患者易接受,因此,可作为动态观察和预测白斑发生癌变和化学预防效果评价的中间标志物,证明用口腔粘膜细胞微核代替外周血淋巴细胞微核反映机体接触致癌物水平是可行的,而且更简便易行。

本研究结果进一步证明香烟的致癌物引起口腔粘膜组织 DNA 损伤是诱发口腔癌前病变和口腔癌及机体其它组织癌症的一个重要因素。吸烟者口腔白斑脱落粘膜细胞微核增高,同时伴随外周血微核与染色体畸变率增高,因此,我们上述指标均可作为口腔白斑追踪观察和口腔癌化学预防效果的观察指标。

参考文献:

- Magrath I, Litvakk J. Cancer in developing countries: Opportunity and challenge J. *J Natl Cancer Inst*, 1993, 85: 862 - 874.
- Tanaka T. Chemoprevention of oral carcinogenesis J. *Oral Oncol, Eur J Cancer*, 1995, 31B:3 - 15.
- 许国祺,李秉琦,等. 口腔癌前病变—白斑与扁平苔藓 M. 北京:中国医药科技出版社,1992. 1 - 6.
- Sankaranarayanan R, mathew B, Varghese C, et al. Chemoprevention of oral leukoplakia with vitamin A and Beta carotene: an assessment J. *Oral Oncol*, 33:231 - 236.
- Stich HF, Rosin Mp. Quantitating the synergistic effect of smoke and alcohol consumption with the micronucleus test on human buccal mucosa cells J. *Int J Cancer*, 1983, 31: 305 - 308.
- 陈少华. 淋巴细胞微核制片改良法. 福建医学院学报,1992, 26:365.
- 章静波,等. 细胞生物学实用方法与技术 M. 北京:北京医科大学中国医科大学联合出版社,1995. 6 - 9.
- Tanaka T, Kawamori T, Ohnishi M, et al. Chemoprevention of 4 - troquinolinel - Oxide - induced oral carcinogenesis by dietary protocatechuic acid during initiation and postinitiation phases J. *Cancer Res*, 1994, 1:2359 - 2365.
- Desai SS, Ghaisas SD, Jakhi SD, et al. Cytogenetic damage in exfoliated oral mucosal cells and circulating lymphocytes of patients suffering from precancerous oral lesions J. *Cancer letters*, 1996, 109:9 - 14.
- Carbone D. Smoking and cancer J. 1992:93 (Suppl. 1A):1.
- Mooney LVA, Bell DA, Santella RM, et al. Contribution of genetic and nutritional factors to DNA damage in heavy smokers J. *Carcinogenesis*, 1997, 18: 503 - 509.
- Desai SS, Ghaisas SD, Jakhi SD, et al. Cytogenetic damage in exfoliated oral mucosal cells and circulating lymphocytes of patients suffering from precancerous oral lesions J. *Cancer Letters*, 1996, 109:9.

收稿日期:1999 - 06 - 16;修订日期:1999 - 09 - 29

作者简介:陈冠敏(1960 -),女,浙江省人,副主任技师,理学学士,从事食品毒理研究。

Abstract : Purpose and Methods : The effect on antimutation of Lentinan was studied by Ames test and micronucleus test with polychromatic erythrocyte(PCE) of mouse bone marrow in vivo. **Results :** The results show that the increasing of the number of bacteria in different dose groups can be inhibited by Lentinan. Lentinan inhibited the increasing of micronucleus rate and the inhibition rate is between 45.32 % and 64.72 % . **Conclusion :** It has been observed that Lentinan possess significant antimutagenic effect.

Key words : Lentinan ; antimutagenicity ; Ames test ; micronucleus test

香菇多糖胶囊由香菇子实体浸泡、分离提取而成,主要含香菇多糖及少量蛋白质、脂肪、微量元素,具有降血脂、调节机体免疫、抑制肿瘤等功效¹,然而其抗突变作用报道甚少,本次实验采用体外、体内实验方法对香菇多糖胶囊的抗突变性进行研究。

材料与方 法

1 Ames 试验:指示菌为鼠伤寒沙门氏菌组氨酸缺陷型 TA98、TA100,经鉴定合格后使用。采用平板掺入法³,受试物用蒸馏水配制而成,设低剂量组(0.001mg/0.1ml + 阳性物)、中剂量组(0.01mg/0.1mg + 阳性物)、高剂量组(0.1mg/0.1ml + 阳性物),受试物对照组(0.1mg/0.1ml),阴性对照组(蒸馏水)和阳性对照组,阳性物:柔毛霉素(DNR)、叠氮化钠(NaN₃)、2-氨基芴(2-AF),用二种方法进行实验。方法A:取0.1ml致突变物及0.2ml受试物同时加入0.3ml磷酸盐缓冲液(0.2mol/L PH7.4),加或不加S9于37℃水浴预培养20min,再加入0.1ml菌液;方法B:取0.2ml受试物、0.1ml致突变物与0.1ml菌液同时加入0.3ml磷酸盐缓冲液(0.2mol/L PH7.4),加或不加S9于37℃水浴预培养20min;以上两种方法随后再加入2ml融化的(45℃水浴)顶层培养基迅速倾入底层培养基,平放固化,37℃培养48h,计算菌落数。数据采用方差分析进行统计。

2 抗小鼠骨髓细胞微核试验³ 实验动物为健康昆明种小鼠,体重22-25g,由福建省实验动物中心提供(闽医动字第23-002质1号)。受试物用蒸馏水配成三个剂量:0.25mg/kg.bw、0.50mg/kg.bw、1.0mg/kg.bw,另设阴性对照(蒸馏水)、受试物对照组及阳性对照组(环磷酰胺cp 50mg/kg.体重),分两批动物进行实验。每批动物每组10只,连续灌胃14天、28天,各剂量组与阳性对照组分别经口给予cp染毒,24h后再给予一次,于末次染毒后6h,颈椎脱臼处死动物,取胸骨骨髓血制片镜检,每只动物观测1000个嗜多染红细胞,计算微核率⁴。数据采用泊松分布进行U检验。

结 果

1 香菇多糖胶囊对 TA9、TA100 的拮抗作用

在受试物直接灭活致突变物的实验中,香菇多糖胶囊在有活化代谢酶S9的条件下,能抑制由2-AF引起TA98、TA100回变菌落数的增加,且各剂量组与阳性对照组相比,差异均呈显著性(P<0.05);在没有S9条件下,两个指示菌的菌落数均有下降趋势,高剂量组有统计学意义,结果见表1,+S9比-S9更灵敏。在受试物抑制致突变物对菌株的致突变作用实验中,香菇多糖胶囊对TA98、TA100有不同程度的抑制作用,但方法B抑制率明显低于方法A的实验结果,详见表2。

Table 1 The antimutagenic effect of Lentinan on TA98、TA100(method A)

dose of Lentinan (mg/0.1ml)	TA98		TA100	
	- S9	+ S9	- S9	+ S9
	No of inhibition bacteria rate(%) ($\bar{x} \pm s$)	No of inhibition bacteria rate(%) ($\bar{x} \pm s$)	No of inhibition bacteria rate(%) ($\bar{x} \pm s$)	No of inhibition bacteria rate(%) ($\bar{x} \pm s$)
normal(0)	33.3 ±1.5 *	33.3 ±1.5 *	148.0 ±10.6 *	148.0 ±10.6 *
0.1	33.0 ±2.6 *	39.3 ±3.5 *	134.0 ±12.1 *	141.0 ±6.2 *
positive	152.0 ±30.2	280.0 ±53.9	1030.0 ±157.2	1593.3 ±110.2

dose of Lentinan (mg/0.1ml)	TA98		TA100	
	- S9	+ S9	- S9	+ S9
	No of inhibition bacteria rate(%) ($\bar{x} \pm s$)	No of inhibition bacteria rate(%) ($\bar{x} \pm s$)	No of inhibition bacteria rate(%) ($\bar{x} \pm s$)	No of inhibition bacteria rate(%) ($\bar{x} \pm s$)
positive +0.001	219.0 ±18.0	163.0 ±8.0 * 47.8	880.0 ±53.0 17.0	813.0 ±12.0 * 52.9
positive +0.01	182.0 ±9.0	135.0 ±7.0 * 59.2	720.0 ±20.0 35.1	627.0 ±83.0 * 65.5
positive +0.1	87.0 ±15.0 55.6	99.0 ±2.0 * 73.9	443.0 ±40.0 * 66.6	340.0 ±20.0 * 84.9

positive: - S9: TA98: DNR (1μg/0.1ml)、TA100: NaN₃(0.25μg/0.1ml)

+ S9: TA:98 2 - AF(0.25μg/0.1ml)、TA100: 2 - AF(5μg/0.1ml)

* P<0.05 compared with positive control

Table 2 The antimutagenic effect of Lentinan on TA98、TA100(method B)

dose of Lentinan (mg/0.1ml)	TA98		TA100	
	- S9	+ S9	- S9	+ S9
	No of inhibition bacteria rate(%) ($\bar{x} \pm s$)	No of inhibition bacteria rate(%) ($\bar{x} \pm s$)	No of inhibition bacteria rate(%) ($\bar{x} \pm s$)	No of inhibition bacteria rate(%) ($\bar{x} \pm s$)
normal(0)	35.3 ±1.5 *	35.3 ±1.5 *	148.0 ±10.5 *	148.0 ±10.5 *
0.1	33.0 ±2.6 *	39.3 ±3.5 *	134.0 ±12.1 *	141.0 ±6.2 *
positive	152.0 ±30.2	279.7 ±52.5	1030.0 ±157.2	1593.3 ±110.2
positive +0.001	170.3 ±1.5 -	206.7 ±37.7 29.9	926.7 ±11.5 11.7	1653.0 ±80.8
positive +0.01	165.7 ±5.1 -	160.0 ±35.5 49.0	933.3 ±41.6 10.7	917.0 ±5.2 * 46.8
positive +0.1	127.3 ±26.8 21.1	116.3 ±22.3 * 66.9	790.0 ±36.1 27.2	457.3 ±33.3 * 78.6

positive: - S9: TA98: DNR (1μg/0.1ml)、TA100: NaN₃(0.25μg/0.1ml)

+ S9: TA:98 2 - AF(0.25μg/0.1ml)、TA100: 2 - AF(5μg/0.1ml)

* P<0.05 compared with positive control

2 香菇多糖胶囊对环磷酰胺引起微核率增加的影响 率的增加,各剂量组与阳性对照组相比差异呈显著性
 对小鼠连续灌胃 14 天、28 天后,三个剂量组的 (P<0.01),结果见表 3。
 香菇多糖胶囊均能明显降低由环磷酰胺所致的微核

Table 3 The result of antimicronucleus test of Lentinan

group	dose of Lentinan (mg/ kg. bw)	dose of cp (mg/ kg. bw)	14 days		28 days	
			MCN rate(%) ($\bar{x} \pm s$)	inhibition rate(%)	MCN rate(%) ($\bar{x} \pm s$)	inhibition rate(%)
			normal	0	0	1.30 ±0.28
positive	0	50	25.33 ±13.53	-	30.90 ±7.23	-
low dose	0.25	0	2.70 ±0.67			
low dose	0.25	50	13.50 ±3.50 **	46.70	16.30 ±1.49 **	47.25
middle dose	0.50	0	2.60 ±0.70			
middle dose	0.50	50	13.85 ±3.19 **	45.32	15.90 ±9.32 **	48.54
high dose	1.0	0	2.80 ±0.79			
high dose	1.0	50	11.67 ±3.14 **	53.93	10.90 ±2.96 **	64.72

* * P<0.01 compared with positive control

讨 论

从实验结果可知,香菇多糖胶囊本身没有致突变性,受试物各剂量组与阴性对照组结果相近。

在体外回复突变试验中,TA98、TA100 是检测被测物质 DNA 分子移码型及碱基对置换型突变的两株敏感菌株。我们通过受试物直接灭活致突变物(方

文章编号:1004 - 616X(2000)02 - 0108 - 03

八峰氨基酸口服液对大鼠的致畸作用

周立国¹, 向佳华², 向富权²

(1. 同济医科大学药学院, 湖北武汉 430030; 2. 鹤峰县八峰制药厂, 湖北鹤峰 445800)

摘要:目的:应用八峰氨基酸口服液对大鼠进行了传统致畸试验。观察本品是否引起母体毒性和胚胎毒性反应。方法:设8g/kg、4g/kg、2g/kg(相当临床的30、15、6倍)3个剂量组。浓鱼肝油为阳性对照物,自来水为阴性对照组。结果:高、中剂量

法A)以及受试物抑制致突变物对菌株的致突变作用(方法B)二种试验发现,香菇多糖胶囊能明显抑制由诱变剂(NaN_3 、2-AF等)引起的回变菌落数的增加,尤其在直接灭活致突变物的试验中,在有代谢活化酶S9的条件下,其抑制率更高,TA98高达73.9%,TA100高达84.9%。认为:香菇多糖胶囊具有较强细胞外抗突变作用。从实验结果看到:方法A较方法B更灵敏,提示香菇多糖提取物可直接与诱变剂作用使之灭活而起抗突变作用;从表1、2可见,在无阳性物的条件下,香菇多糖提取物在+S9和-S9的实验中,对TA98、TA100菌落数的变化无影响;在阳性物存在的条件下,香菇多糖提取物在+S9和-S9的条件下,均能抑制阳性物引起的TA98、TA100回变菌落数的增加,且+S9比-S9更敏感。这是否与香菇多糖提取物含一定量蛋白质的抑制作用有关尚待进一步实验研究。

在体内抗骨髓细胞微核试验中,按卫生部《保健食品功能学评价程序和检验方法》对小鼠需连续灌胃28天后进行实验,为了较系统地了解其香菇多糖胶囊预防诱变剂作用的能力,我们在实验中期增设了一个组。结果发现:对小鼠连续灌胃两周、四周,香菇多糖提取物对诱变剂环磷酰胺有一定预防作用,且连续灌胃二周香菇多糖胶囊就能保护细胞遗传物质免受染色体断裂剂环磷酰胺的伤害,抑制小鼠微核率的增加,三个剂量组的抑制率分别为46.7%、45.32%、53.90%。可见多菇多糖胶囊灌胃二周对小鼠就能产生一定的作用,能阻断由环磷酰胺引起的染色体

DNA分子的损伤,其结果与体外实验结果相一致,这与香菇多糖的化学成分有密切相关。

据资料报道⁵,香菇的浸出液含有6种多糖体,香菇多糖为一种葡聚糖,呈双螺旋结构。在动物实验中,香菇多糖可阻断化学及病毒致癌作用。在临床上发现它能抑制肿瘤的转移,对癌症患者有较好的辅助治疗作用,并能通过刺激细胞的成熟、分化和增殖,通过改善宿主机体平衡来达到恢复或提高宿主细胞对淋巴细胞等其它生物活化因子的反应性的作用,从而提高宿主的免疫力。宋为民曾以姐妹染色单体互换实验进行测试,香菇多糖有一定的抗突变作用,我们以体外抗细菌回复突变和体内抗微核实验进一步证实了香菇多糖有一定的抗突变作用⁶,能保护遗传物质DNA免受损伤,其作用机理还有待进一步探讨。

参考文献:

- 1 李忠. 多糖类成分的药理作用J. 药学通报, 1988, 23(8): 455 - 458.
- 2 黄幸纾, 陈星若. 环境化学致突变致畸致癌试验方法M. 第一版. 杭州: 浙江科学技术出版社, 1985. 20 - 30.
- 3 卫生部. 保健食品功能学评价程序和检验方法J. 1996. 63 - 66.
- 4 刘毓谷. 卫生毒理学基础M. 第二版. 北京: 人民卫生出版社, 1996. 215 - 220.
- 5 Chinara G. 香菇多糖的免疫药理作用J. 国外医药. 植物药分册, 1993, 8(4): 165 - 166.
- 6 宋为民. 香菇药理新观—抗变效应J. 中国食用菌, 1991, 10(2): 7 - 8.

收稿日期:1999 - 05 - 02; 修订日期:1999 - 07 - 04

作者简介:周立国(1946 -),男(土家族),湖北鹤峰人,副教授。从事新药毒理学研究。