

霉素处理后仍然保持与卵受精的能力,同时诱发明显的染色体结构畸变。在本研究中,人精子暴露于 10—40 $\mu\text{g}/\text{m l}$ 的平阳霉素后微核 2 细胞胚率也见明显增高,并存在明显的剂量反应关系;微核均数与微核指数均呈现相似的变化规律,也显示有意义的剂量效应相关。这些结果进一步说明,化学因子诱导的精子染色体损伤也能够传递至 2 细胞胚并以微核的形式表达出来。因此,我们的实验观察提示人精子 2 细胞胚微核技术是一个有效的离体测试系统,与人精子染色体分析方法相

比更为简便快捷,其在人类遗传毒理研究方面具有一定的应用价值。

参考文献

1. Kamiguchi Y, et al Micronucleus test in 2- cell embryos as a simple assay system for human sperm chromosome aberrations *Mutat Res*, 1991; 252: 297- 303
2. 黄天华, 崔晓, 李丹, 等. 多精受精对人精子核发育和染色体制备的影响. 汕头大学医学院学报, 1993; (1): 16—20
3. 黄天华, 崔晓, 漆著, 等. 平阳霉素诱发人精子染色体结构畸变——评价化学物质致断性的一种离体测试系统. 遗传, 1991; 13(6): 24—26

硒化亚油酸与亚硒酸钠抗突变作用的比较研究

曹洁 李瑞珍¹ 史勇亮¹ 吴端宗¹ 龚书明¹

第二军医大学卫生毒理学教研室 上海 200433 ¹第四军医大学军队卫生学教研室 西安 710032

摘要 本文应用人全血白细胞非程序DNA合成(UDS)试验,对硒化亚油酸(Se-LA)和亚硒酸钠(Na_2SeO_3)两者抑制MNNG诱发DNA损伤作用进行了观察和比较。结果表明:Se-LA(0.023~3.424 $\mu\text{g}/\text{m l}$)对MNNG诱发UDS反应有明显抑制作用,其抑制率远大于含硒量相同的 Na_2SeO_3 ;0.05 $\mu\text{g}/\text{m l}$ Na_2SeO_3 (含Se量为0.023 $\mu\text{g}/\text{m l}$)对UDS反应呈最强的抑制率(21.7%),随 Na_2SeO_3 浓度增高,其抑制作用反而降低,说明 Na_2SeO_3 作为抗突变剂,它在高剂量时又呈现遗传毒性;当含Se量0.046 $\mu\text{g}/\text{m l}$ 时, Na_2SeO_3 对MNNG诱发DNA损伤的抑制作用显著下降,而Se-LA仍保持较高的抑制率(42.2%~43.9%),表明Se-LA明显降低了硒的毒性。

关键词 硒化亚油酸;亚硒酸钠;抗突变作用;非程序DNA合成

COMPARATIVE STUDY ON ANTIMUTAGENESIS OF LINOLEIC ACID CONTAINING SELENIUM AND SODIUM SELENITE

Cao Jie, Li RuiZhen¹, Shi Yongliang¹, Wu Duanzhong¹, Gong Suming¹

Department of Health Toxicology, Second Military Medical University, Shanghai 200433

¹Department of Military Health, Fourth Military Medical University, Xi'an 710032

Abstract The effects of linoleic acid containing selenium (Se-LA) and sodium selenite

(Na_2SeO_3) were observed and compared on MNG- induced DNA damaged with human whole blood cells by the test of unscheduled DNA synthesis(UDS). The results showed that (0.023~3.424 $\mu\text{g}/\text{ml}$) Se- LA significantly suppressed the responses of UDS induced by MNG. Inhibitory effects of Se- LA were stronger than those of Na_2SeO_3 whose selenium concentration was the same as Se- LA. 0.05 $\mu\text{g}/\text{ml}$ Na_2SeO_3 (containing 0.023 $\mu\text{g}/\text{ml}$ Se) expressed the largest inhibitory rate (21.7%) on UDS responses. With the concentration of Na_2SeO_3 increasing, the inhibitory effects reduced. The results revealed that Na_2SeO_3 , as inhibitor of mutagenesis, could induce genotoxic effects by itself at higher dose levels. At the concentration of Se 0.046 $\mu\text{g}/\text{ml}$, although the inhibitory effects on MNG- induced DNA damage decreased for Na_2SeO_3 , Se- LA still maintained higher inhibitory rates (42.4~43.9%). These results indicated that Se- LA significantly reduced the toxicity of selenium.

Key words linoleic acid containing selenium; sodium selenite; antimutagenesis; unscheduled DNA synthesis

目前微量元素硒的抗癌作用日益受到重视。据报道,无机硒在高剂量时有抗癌作用,但对机体有一定危害⁽¹⁾,而有机硒较易被人体吸收且毒性比无机硒小⁽²⁾,因此近年来国内已开发了一些有机硒抗癌产品。硒化亚油酸是硒与亚油酸共价结合而形成的一种新型有机硒化合物,已有研究表明它具有一定的抗肿瘤活性^(3,4)。本文应用人全血白细胞非程序DNA合成(Unscheduled DNA Synthesis, UDS)试验,对硒化亚油酸(Linoleic acid containing selenium, Se- LA)和亚硒酸钠(Na_2SeO_3)两者抑制MNG诱发的DNA损伤作用进行了观察和比较。

材料和方法

1. 材料

1.1 试剂及仪器 亚硒酸钠,分析纯, Sigma 公司产品; 硒化亚油酸(含硒量2%),由陕师大化学系合成并提供; N-甲基-N'-硝基-N-亚硝基胍(MNG), Fluka 公司产品; ³H-脱氧胸腺嘧啶核苷(³H-TdR),北京原子能所产品; 羟基脲(HU)和RPM I-1640培养基均为Sigma公司产品; 二甲基亚砷(DMSO), E. Merck 公司产品。样品放射

活性测定使用FJ-2105型自动液体闪烁计数仪,为西安262厂产品。

1.2 血标本 抽取健康成人静脉血,为新鲜抗凝血。

2 Na_2SeO_3 和 Se- LA 抗MNG诱发的UDS试验 方法按文献⁽⁵⁾进行。取肝素钠抗凝的健康成人全血加入等量的RPM I-1640培养液(含HU 20mM, ³H-TdR 10 $\mu\text{Ci}/\text{ml}$),混匀后加入24孔细胞培养板,每孔0.5ml,阳性对照组加入MNG 5 μl ,终浓度为147.09 $\mu\text{g}/\text{ml}$,溶剂对照组加入等量DMSO,实验组则在加入MNG的同时分别加入不同剂量的 Na_2SeO_3 或Se- LA,每孔5 μl 。37℃恒温培养6h,4℃生理盐水终止反应。然后将细胞移至49型玻璃纤维滤纸抽吸过滤,依次用蒸馏水、5%三氯醋酸、无水乙醇过膜。待膜干燥后,膜置于盛有2ml闪烁液的瓶中,测定放射活性。以实验组cpm均值或阳性对照组cpm均值与溶剂对照组cpm均值之比(T/C)表示UDS值。每一剂量组每一个体设两个平行样,总共6个个体,最后取均值。数据的统计学处理用t检验方法。

结果 见表1。

表1 Se- LA 和 $N a_2SeO_3$ 对MNN G 诱发人全血白细胞UDS 反应的抑制作用

组别	含 Se 量 ($\mu g/m l$)	T/C 值 ($\bar{x} \pm s$)	抑制率 (%)
阳性对照组		3 96 \pm 0 79	
0 01 $\mu g/m l$ $N a_2SeO_3$ + MNN G	0 005	3 20 \pm 0 64*	19 2
0 05 $\mu g/m l$ $N a_2SeO_3$ + MNN G	0 023	3 10 \pm 0 39*	21 7
0 10 $\mu g/m l$ $N a_2SeO_3$ + MNN G	0 046	3 58 \pm 0 36	9 6
0 50 $\mu g/m l$ $N a_2SeO_3$ + MNN G	0 228	3 41 \pm 0 27	13 9
1 50 $\mu g/m l$ $N a_2SeO_3$ + MNN G	0 685	3 63 \pm 0 68	8 4
0 023 $\mu g/m l$ Se- LA + MNN G	0 005	2 10 \pm 0 37* * #	47 0
0 114 $\mu g/m l$ Se- LA + MNN G	0 023	2 24 \pm 0 27* * #	43 4
0 228 $\mu g/m l$ Se- LA + MNN G	0 046	2 22 \pm 0 28* * * #	43 9
1 141 $\mu g/m l$ Se- LA + MNN G	0 228	2 28 \pm 0 38* * * #	42 4
3 424 $\mu g/m l$ Se- LA + MNN G	0 685	2 22 \pm 0 45* * * #	43 9

注:MNN G 终浓度为 147. 09 $\mu g/m l$, * 与阳性对照组比较 $P < 0. 05$, * * 与阳性对照组比较 $P < 0. 01$; # 与相同含 Se 量 $N a_2SeO_3$ 组比较 $P < 0. 05$, # # 与相同含 Se 量 $N a_2SeO_3$ 组比较 $P < 0. 01$

讨 论

目前硒抗突变/抗癌作用的研究和应用多是采用 $N a_2SeO_3$ 这种无机硒形式。由本实验结果可知, 当 $N a_2SeO_3$ 浓度为 0 05 $\mu g/m l$ 时, 对MNN G 诱发的UDS 反应呈最强的抑制作用。当 $N a_2SeO_3$ 浓度进一步增高时, 其抑制作用反而降低。这与以往文献报道一致⁽⁶⁾, 出现这种情况的原因可能是由于高剂量的硒本身可以引起DNA 损伤所致⁽⁷⁾, 表明 $N a_2SeO_3$ 作为肿瘤预防物质在高剂量时又具有遗传毒性。

1988 年国内首次合成了硒化亚油酸等新型有机硒化合物⁽⁸⁾。据报道, 硒化亚油酸对于小鼠移植性肿瘤及 S₁₈₀腹水型癌细胞的生长均有明显抑制作用^(3, 4)。但硒化亚油酸抗肿瘤作用的机理尚不清楚。目前认为硒化亚油酸分子中的羧基、不饱和双键以及 Se 都可能具有一定的作用。本实验结果表明, 硒化亚油酸与含硒量相同的 $N a_2SeO_3$ 相比, 硒化亚油酸对UDS 反应的抑制率明显大于 $N a_2SeO_3$, 显示了有效的抗DNA 损伤作用。当含 Se 量 0 046 $\mu g/m l$ 时, $N a_2SeO_3$ 对MNN G 诱发

DNA 损伤的抑制作用明显下降, 而硒化亚油酸仍保持较高的抑制率(42 2% ~ 43 9%), 表明硒与亚油酸的共价结合大大地降低了硒的毒性, 这为探索更为理想有效的抗癌硒化物提供了一条有益的线索。

参考文献

1. Leboeuf RA, Hoekstra WG. Changes in cellular glutathione levels: Possible relation to selenium mediated anticarcinogenesis. *Fed Proc*, 1985; 44: 2563
2. 罗焕造, 程书钧, 叶树勇, 等. 有机硒拮抗致突变作用的初步研究. *中华肿瘤杂志*, 1991; 13(3): 162
3. 薛少安, 李宝林, 王仲会, 等. 硒化亚油酸多项脂质体的抗肿瘤作用研究. *营养学报*, 1992; 14(1): 54
4. 王仲会, 薛少安, 齐浩, 等. 硒化亚油酸及硒化亚麻酸对肿瘤细胞DNA 合成的影响. *癌症*, 1993; 12(5): 402
5. 蔡永庭, 邹介智, 瞿永华. 简化人全血细胞DNA 非程序合成检测化学致癌物研究. *肿瘤* 1988; 8(2): 77
6. 黄吉武, 周佳, 杨小玲. 硒与抗坏血酸在SCE 和UDS 试验中的抗诱变效应. *癌变·畸变·突变*, 1992; 4(4): 14
7. Shamberger FJ. The genotoxicity of selenium. *Mutat Res*, 1984; 133: 135
8. 薛少安, 吴祺, 刘宏全. 多烯脂肪酸及其硒化物的体外抗癌活性研究. *陕西师大学报*, 1988; 16(4): 19