

因而在国际上该细胞与BALB/C3T3、C3H/10T1/2 被推荐为普遍接受的三种检测化学致癌物的细胞⁽⁶⁾。

³H- TdR 被广泛用作DNA 合成的示踪物,细胞DNA 合成的测定可反映细胞分裂、增殖情况,因而³H- TdR 掺入法是一种准确了解细胞DNA 合成的敏感方法。

转化细胞往往具有肿瘤细胞的一些特性,诸如形态改变,生长特性及表面超微结构改变等,其中最重要的特征之一是细胞失去控制地无限制生长,而细胞迅速分裂增殖必须有一定的物质基础,也就是说必须合成更多的DNA 方能适应细胞分裂增殖的需要。

本研究结果表明,在实验浓度范围内,氯化镉对哺乳动物细胞具有转化活性,可形成明显的转化灶,它不但具有转化细胞的主要特征——杂乱性生长和交叉重叠,可在低浓度胎牛血清的培养液中生长,而且转化细胞³H- TdR 掺入量高出对照组 1.7~ 3.0 倍,说明转化细胞的DNA 合成旺盛得多,但又略低于L₉₂₉。可能一方面是转化集落的细胞中尚有部分未转化细胞,另一方面是转化集落中有部分坏死、液化细胞混杂所造成。氯

化镉诱导的SHE 转化细胞具有恶性肿瘤细胞的特征,从而说明氯化镉具有诱导哺乳动物细胞恶性转化的能力。但癌变过程是一复杂、多步骤变化过程⁽⁷⁾,其作用机理多种多样,有待于进一步深入研究和探讨。

参考文献

1. 李寿祺主编 卫生毒理学基本原理和方法 第一版,成都:四川科学技术出版社,1987:494—451.
2. 黄幸纾,陈星若主编 环境化学物致突变、致畸、致癌试验方法 第一版,杭州:浙江科学技术出版社,1985:175—182
3. 丁方兴,聂岚,朱惠刚.长江水质对SHE 细胞的恶性转化作用 中国公共卫生学报,1994;13(6):332
4. 张伟,唐竹萍.体外细胞培养技术评价实验动物笼具毒性的研究:IV 塑料笼器具浸出液对³H- TdR 掺入HeLa 细胞DNA 的影响 实验动物与动物实验,1993;10(2):6
5. 李军,王福林,刘春生等.氯化镉对人胚肺成纤维细胞转化作用的研究 解放军预防医学杂志,1991;9(2):92
6. Charles HB, Aron EF, Roman JP, et al. Cell transformation by chemical agents- a review and analysis of the literature, a report of the United States Environmental Protection Agency. *Mutat Res*, 1993; 114: 283- 9
7. IARC. Monographs on the cadmium and cadmium compounds 1993; 58: 188- 205

沙棘汁的抗诱变研究

刘敏捷 解国梁 钱毅春 刘世亮 安秀伟 尹幸念 刘丽珍 赵金贵
内蒙古卫生防疫站 呼和浩特 010020

摘要 本文采用Ames 实验及小鼠骨髓细胞微核实验,研究了沙棘汁对亚硝胺在体内外合成的阻断作用;并与同浓度的维生素C 做了比较,研究结果表明,沙棘汁有较好的抗诱变作用,而且这种作用明显优于同浓度的维生素C。这对沙棘汁进一步开发利用提供了生物学方面的科学依据。

关键词 沙棘汁;N—二甲基亚硝胺;抗诱变性

沙棘,又名醋柳、酸刺,蒙名查日嘎纳,属野生灌木,在内蒙古中西部地区有大片的沙棘林,资源十分丰富,现已开始人工栽培,沙棘果实酸甜略涩,可生食,其含糖量达64%,蛋白质10.3%以及丰富的维生素、有机酸和多种无机盐类⁽¹⁾,其中维生素C含量达1.067%,《中药大辞典》载:“醋柳果实有活血散瘀、化痰宽胸补脾健胃,生津止渴,清热止泻之效”⁽²⁾。目前,从天然植物中开发具有防癌作用的食物,改善膳食结构与习惯,对预防人类肿瘤具有广泛前景,是当今世界颇受关注的课题,为此我们采用体外及体内两种抗诱变试验对沙棘汁的防癌作用进行了研究。

N—亚硝基化合物是一类已知的强致癌物与人类肿瘤的发生有密切关系^(3,4)其前体—硝酸盐,亚硝酸盐和胺类广泛存在于食品及人类的环境中,据报道,N—亚硝基化合物可在体内合成⁽⁵⁾,因此,阻断其合成是预防其危害的主要措施之一。已知维生素C能阻断此类物质在体内外合成⁽⁶⁾,而沙棘汁中含有丰富的维生素C,本文通过对N—亚硝基化合物阻断的研究,对维生素C与沙棘汁的抗诱变作用进行了比较。

材料和方法

1. 材料

1.1 沙棘汁:由内蒙古大江食品有限公司提供,吸取样品50ml,置水浴60℃,30分钟,巴氏消毒,测pH2.5,维生素C含量1.067mg/ml

1.2 实验菌株:TA102由中国预防医学科学院环境卫生监测检验所提供,使用前经系统菌种鉴定合格;S9活化系统亦由上述单位提供,液氮中保存。

1.3 实验动物:昆明种小白鼠由内蒙古大学实验动物中心提供,为国家II级清洁动物,体重18—25克。

1.4 亚硝酸钠:分析纯,北京化工厂产品。

1.5 氨基比林:化学纯,北京化工厂产品。

1.6 维生素C:分析纯,北京化工厂产品;用

灭菌磷酸缓冲液配制为浓度1.067mg/ml,稀盐酸调pH为2.5。

1.7 磷酸缓冲液:1M柠檬酸溶液75ml加1M磷酸氢二钠溶液25ml,混匀后调pH值为2.5。以此液补充各试验组至等量。

2. 方法

2.1 Ames 试验

受试物采用五种不同的反应体系,分别为(1)亚硝酸钠,氨基比林加磷酸缓冲液;(2)亚硝酸钠,氨基比林加沙棘汁;(3)亚硝酸钠,氨基比林加维生素C;(4)亚硝酸钠加2倍的磷酸缓冲液;(5)氨基比林加2倍的磷酸缓冲液。每个体系中氨基比林、亚硝酸钠的剂量分别为1.0;2.0;4.0;5.0;8.0mg/ml(同一体系中两种前体物浓度相同)。

以无菌操作,在15ml试管中分别加入磷酸缓冲液,沙棘汁,维生素C各3.0ml,然后加入不同浓度的亚硝酸钠和氨基比林,充分混匀后在37℃水浴中准确保温1h,以同样方式将各种浓度的亚硝酸钠和氨基比林单独处理,以观察前体物质的致突变性。在加与不加S9活化系统的条件下,用TA102菌株均进行了两次以上重复平板掺入试验,各剂量浓度同时做3个平行样,结果按均值计算,并求回变比值。

2.2 小鼠骨髓细胞微核试验

将实验动物随机分为10组,每组6只动物雌雄各半,实验设三个反应体系分别为(1)亚硝酸钠和氨基比林,(2)亚硝酸钠、氨基比林和沙棘汁,(3)亚硝酸钠、氨基比林和维生素C;每个体系分三个实验组:亚硝酸钠和氨基比林的浓度I组为231,69mg/kg;II组为462,138mg/kg;III组为924,276mg/kg;另设阴性对照组,给予等量的蒸馏水。按常规方法制片,求各组的微核率。

结果

1. Ames 试验

1.1 非活化试验

用TA102菌株测定结果,在本试验设计

的所有剂量范围内,每皿菌落数均值未达到自发回变菌落数的2倍,证明N-二甲基亚硝酸胺不经代谢活化没有致突变活性。

1.2 活化试验

1.2.1 在亚硝酸钠和氨基比林反应体系中,从4mg/ml的浓度开始回变菌落数明显增多,达到5mg/ml时,菌落数均值达到自发回变的2倍以上,提示亚硝酸钠和氨基比林合成的物质经过肝微粒体酶代谢产生致突变活性。

1.2.2 在5mg/ml的亚硝酸钠和氨基比林反应体系中,加入沙棘汁后,每皿菌落数小于自发回变数的2倍,与未加入阻断剂的亚硝酸钠和氨基比林反应体系相比,有极显著性差异($P < 0.01$)而同浓度的维生素C溶液对亚硝酸胺合成也有阻断作用,但效果明显低于沙棘汁,两种阻断剂之间亦有极显著性差异($P < 0.01$)。见表1

2 小鼠骨髓细胞微核试验

由表2可见, I组与III组中沙棘汁与维生素C对亚硝酸胺合成的阻断作用均有极显

著性差异($P < 0.01$),而维生素C和沙棘汁两种阻断作用亦存在极显著性差异($P < 0.01$)。沙棘汁的阻断作用优于同浓度的维生素C溶液。

表1 不同浓度的反应体系Ames试验测定结果(菌落数/皿)

反应体系 组别	亚硝酸钠和氨基比林浓度(mg/ml)				
	1.0	2.0	4.0	5.0	8.0
亚硝酸钠	287	295	439	535	531
氨基比林	(1.2)	(1.2)	(1.3)	(2.2)	(2.2)
亚硝酸钠	246	262	270	282	385
氨基比林	(1.0)	(1.1)	(1.1)	(1.2)	(1.6)
沙棘汁					
亚硝酸钠	252	320	355	416	432
氨基比林	(1.0)	(1.3)	(1.5)	(1.7)	(1.8)
维生素C					
亚硝酸钠	233	234	285	313	295
氨基比林	(1.0)	(1.0)	(1.2)	(1.3)	(1.2)
氨基比林	244	253	264	255	303
	(1.0)	(1.0)	(1.1)	(1.0)	(1.3)

注:回变菌落数为三皿均值,括号内数字为回变比值;TA102菌株自发回变菌落数:241 ± 40;黄曲霉毒素阳性对照 > 1000

表2 不同浓度的亚硝酸胺合成体系微核试验结果

反应体系 组别	受检嗜多染 红细胞数(个)	I组		II组		III组	
		微核数(个)	率(%)	微核数(个)	率(%)	微核数(个)	率(%)
亚硝酸钠	6000	(85)	14.1	(1)	0.2	(3)	0.5*
氨基比林							
亚硝酸钠	6000	(1)	0.2*	(18)	3.0	(22)	3.6*
氨基比林							
沙棘汁							
亚硝酸钠	6000	(12)	2.0*	(18)	3.0	(22)	3.6*
氨基比林							
维生素C							
阴性组	6000	—	—	—	—	(0)	0

注:*表示各剂量组分别与亚硝酸钠和氨基比林组微核率比较 $P < 0.01$;“-”此剂量组未做。

讨论

癌症是危害人类健康的严重疾病,国内外大量实验证实亚硝酸胺具有明显的致癌作用,其前体广泛存在于人类生活环境中,并能在体内合成,而体内合成的亚硝酸胺比环境中

的亚硝酸胺更快更直接地作用于人体,因此探讨阻断体内亚硝酸胺的合成对癌症的病因性预防有着十分重要的意义。

本次实验我们采用亚硝酸钠和氨基比林两种前体物质,在体外模拟胃液条件下进行

Ames 试验,在所设计的剂量范围内证明二甲基亚硝胺未经活化没有致突变性,活化后,随着反应前体物质浓度的增加而出现阳性结果,进一步表明:二甲基亚硝胺是一种间接致癌物;在加入沙棘汁和维生素 C 反应体系中,5mg/ml 和 8mg/ml 的剂量组每皿菌落数值均未出现阳性结果,表明对亚硝胺均起到阻断作用。但沙棘汁对亚硝胺的阻断作用明显高于同浓度的维生素 C 溶液 ($P < 0.01$)。

本试验由于设计的实验体系较多,操作比较繁琐,因而在 Ames 实验中我们只选用了 TA 102 菌,因其检测终点范围较宽,不仅能同时检测碱基置换和移码突变,还可检出多种对其它菌株不敏感的致突变物,但也存在一定局限性,因此,我们体内试验采用微核试验作为 Ames 试验的补充。结果表明:随着前体物质的增加,微核率也呈上升趋势,当前体物质剂量达 924, 276mg/kg 时,加入沙棘汁,小鼠骨髓细胞微核率有极明显的下降 ($P < 0.01$),由 18.7‰ 下降到 0.5‰,而同浓度的维生素 C 也使骨髓细胞微核率由 18.7‰ 明显降到 3.6‰ ($P < 0.01$)。沙棘汁的阻断作用明显强于同浓度的维生素 C 溶液 ($P < 0.01$)。此结果与我们体外实验结果相吻合。

维生素 C 是国际上公认的亚硝胺合成阻断剂⁽⁷⁾,本文以同浓度的维生素 C 作为对

照,观察沙棘汁对亚硝胺合成的阻断作用,实验结果提示:沙棘汁中除维生素 C 外,可能还有其它成份协同阻断体内的亚硝化,但对其成份的分析以及这些成份是否参与某些生物学作用还有待进一步研究。

沙棘汁作为一种天然野果汁,能阻断亚硝胺合成,这对预防某些肿瘤的发生有着十分重要的意义,对沙棘汁应用范围的进一步开发具有广阔的前景。

参考文献

1. 章钰 药食皆佳的沙棘油 中国食品, 1987; 4: 7.
2. 中药大辞典下卷 上海人民出版社, 1977; 2062
3. Fong LYY. Possible Relationship of Nitrosamines in the Diet to Causation of Cancer in Hong Kong. In: Magee PN ed: Nitrosamines and Human Cancer (Banbury Report 12). New York: Cold Spring Harbor Laboratory, 1982: 473.
4. Yang CS. Research on Esophageal Cancer in China: a Review. *Cancer Res*, 1980; 40: 2633.
5. 张文敏 N-亚硝基化合物在动物及人体内的合成 国外医学卫生学分册, 1981; 8(2): 78
6. Archer MC. Catalysis and Inhibition of N-Nitrosation Reactions. In: O'Neill J et al eds: N-Nitroso Compounds: Occurrence, Biological Effects and Relevance to Human Cancer (IARC Scientific Publications No. 57). Lyon: International Agency for Research on Cancer, 1984: 263.
7. Politzer P. Sixth Annual Interdisciplinary Cancer Research Workshop. *Cancer Res*, 1984; 44: 1305.

ZESTE 试验——一种检测非整倍体的新方法

王红兵¹ 叶恩赐² 审校

上海医科大学预防医学研究所 上海 200032 ² 上海铁道医学院

非整倍体是指一条或多条染色体的丢失

或获得,它是引起人类自发流产和出生缺陷