

脱氧雪腐镰刀菌烯醇(CBD₁)的毒性探讨: CBD₁对DNA合成的抑制作用观察

上海医科大学 许兰文 抑启沛 邵玉芬 徐达道

摘要 为了评价CBD₁的诱变和/或致癌作用,用³H-胸腺嘧啶核苷研究CBD₁对雄性小鼠睾丸DNA合成的影响。实验结果表明CBD₁抑制睾丸DNA合成。CBD₁剂量越大,睾丸DNA合成抑制越明显,具有剂量—效应关系。结合Ames试验的阳性结果,可初步检测CBD₁的诱变和/或致癌作用。

关键词 诱变; DNA合成; DNA合成抑制试验

赤霉病麦及其毒素的致癌、致畸、致突变等潜在危害日益受到重视。其中T-2毒素、镰刀菌烯醇-X、玉米赤霉烯酮的“三致”作用已有报导¹。T-2毒素能直接引起大鼠癌变、产生多器官的肿瘤;并使怀孕小鼠引起胎鼠畸形²。玉米赤霉烯酮对大鼠的致畸作用较为肯定³。但体外Ames试验均为阴性结果⁴。其它赤霉病麦毒素则报导甚少,且有不同看法。流行病学调查发现,非洲某地食道癌高发可能与霉变玉米中脱氧雪腐镰刀菌烯醇和赤霉烯酮含量有关⁵。脱氧雪腐镰刀菌烯醇(CBD₁)的致癌、致畸作用国内外至今报导甚少。本实验采用DNA合成抑制试验(DSI)对CBD₁作致癌、致诱变作用的快速筛选⁶。

1 材料和方法

1.1 实验材料

CBD₁纯品由上海市粮食科学研究所提供。

³H-脱氧胸腺嘧啶核苷系上海原子能研究所生产。

1.2 实验动物和分组

选用雄性健康昆明种小鼠20只,体重18.5—19.5克,鼠龄8周,随机分为5组,每组4只。其中一组为对照组。其余四组为实验组,CBD₁的灌胃量分别为9.26mg/kg、4.63mg/kg、2.33mg/kg和1.16mg/kg。

1.3 实验方法

灌胃后24小时处死小鼠,处死前3小时腹腔注射³H-脱氧胸腺嘧啶核苷15μCi。小鼠经眼眶采血后,称取肝、肾、睾丸等组织各200mg,加入2ml蒸馏水制成10%匀浆。取匀浆1ml加10%三氯醋酸(TCA)2ml,3000rpm离心5分钟,弃去上清液。用玻棒

的结合不牢固,37℃培养能自发地由菌体脱落,在20~25℃培养时比较稳定。本次试验培养温度为37℃,在71株细菌中有3株观察到不同菌体上分别生长两种鞭毛,这有可能是周鞭脱落的原因。

图1、2、3,副溶血性弧菌与溶藻弧菌鞭毛形状的区别。

参 考 文 献 (略)

研散沉淀后,即加入1:1乙醇:乙醚混合液2ml,3000rpm离心5分钟弃去上清液。沉淀物加85%甲酸0.3ml、双氧水0.2ml、辛醇1滴。在80—90℃水浴中消化30分钟。冷却后作均相测定,用LS8000 Beckman液体闪烁计数器测定样品放射性。

结 果

CBD₁对DNA合成抑制作用的影响见表1。

表1 CBD₁对睾丸DNA合成抑制作用(\bar{X} , n=4)

剂量 (mg/kg)	肝	肾	睾丸	血清
9.26	16298	9963	13047**	3295
4.63	39150	12133	24681*	3820
2.33	37705	21300	30890	3255
1.16	36005	27111	39272	5206
0.0	36365	16693	38570	3200

(阴性对照)

**P<0.01

*P<0.05

给予小剂量(1.16mg/kg) CBD₁后,肾脏、睾丸的放射量(分别为27111cpm/g、39272cpm/g)较阴性对照组(分别为16693cpm/g、38570cpm/g)为高。但随着CBD₁剂量增加,肾脏睾丸放射量反而下降,显示明显的剂量—反应关系(图1)。除1.16mg/kg组外,其它三组睾丸放射量(分别为30890cpm/g、24682cpm/g、13047cpm/g)均较对照组(38570cpm/g)为低。说明睾丸DNA合成受抑。与对照组相比,9.26mg/kg组有非常显著意义(P<0.01),4.96mg/kg组有显著意义(P<0.05)。

2 讨 论

脱氧胸腺嘧啶核苷(TdR)是DNA合成的原料。测定了H—TdR掺入组织的放射量,可衡量DNA合成是否受抑制。friedmen和Stanb指出化学致癌剂或诱变剂能抑制睾丸DNA合成⁷,通过测定哺乳动物体内DNA合成受抑制的情况,可作快速、简单而

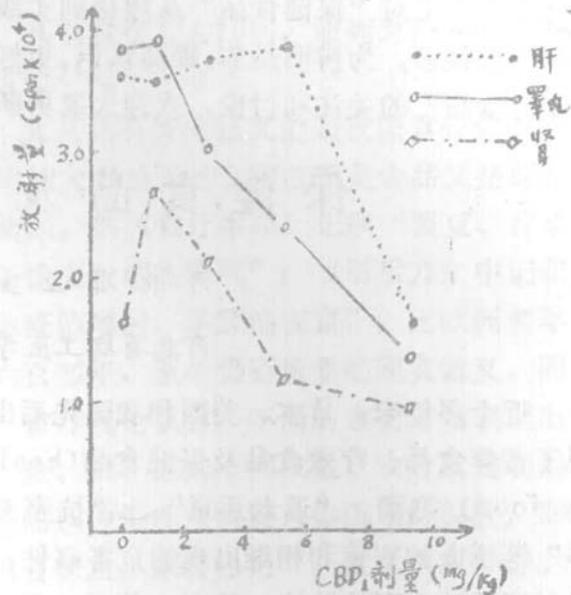


图1 注射了H—dTR各组织掺入动态

有效的致癌和/或诱变初筛试验。靶器官睾丸与遗传功能密切相关⁸,化学物质对性细胞的影响更具毒理学意义。

本实验中,随着CBD₁剂量递增,掺入睾丸中了H—TdR减少,二者有明显的剂量—效应关系,表明CBD₁对DNA合成有抑制作用。Lambert和Eriksson用此法区分DNA损伤剂和DNA合成代谢抑制剂⁹,前者可抑制体内睾丸DNA的合成,而后者不影响睾丸中DNA含量,由于此时睾丸能有效地利用胸腺嘧啶激酶补救途径合成DNA。CBD₁明显抑制睾丸DNA合成,似属DNA损伤剂。

Seiler 总结100种化学物质的资料,发现DNA合成抑制试验与阳性致癌剂或诱变剂间的符合率为86%,稍低于Ames试验(93%)¹⁰。我们曾用CBD₁纯品作Ames试验,结果与DNA合成抑制试验相符。

本实验结果提示CBD₁可能具有一定的致癌和/或诱变作用。

参 考 文 献

1. Schoental R, et al. Cardiovascular lesions and various tumors found in rats given T-2 toxin, a