

莪术对硫酸镍诱导的人外周血淋巴细胞非程序脱氧核糖核酸合成的影响[△]

李应东¹ 李啸红¹ 王毓美²

徐厚谦¹ 魏道武¹ 赵 学¹

内容提要 以人外周血淋巴细胞非程序 DNA 合成(UDS)为观察指标,研究了莪术和硫酸镍的遗传毒性效应及莪术对硫酸镍诱导的人外周血淋巴细胞 UDS 的影响。结果表明,莪术对人外周血淋巴细胞 UDS 无诱导效应,但当剂量达到 1 g/ml 时,可显著抑制³H-TdR 向细胞 DNA 的掺入。硫酸镍可大量诱发人外周血淋巴细胞 UDS,莪术对硫酸镍和紫外线诱导的人外周血淋巴细胞 UDS 有明显抑制,且存在剂量效应关系。提示莪术在一定剂量时可明显减轻硫酸镍对人外周血淋巴细胞 DNA 的损伤,而其本身无致突变作用。但当莪术剂量达到 1 g/ml 时,对 DNA 的修复合成可造成抑制。

关键词 莪术 硫酸镍 人外周血淋巴细胞 非程序脱氧核糖核酸合成

Effects of Rhizoma Zedoariae on Nickel Sulfide Induced Unscheduled DNA Synthesis of Human Lymphocytes Li Ying-dong, Li Xiao-hong, Wang Yu-mei, et al *Gansu College of TCM, Lanzhou (730000)*

The study was designed to investigate the toxic effects of Rhizoma Zedoariae (RZ) and nickel sulfide, and the effect of RZ on nickel sulfide induced unscheduled DNA synthesis (UDS) of human lymphocytes using an UDS assay of human lymphocytes. The results showed that TZ did not induce UDS, it could inhibit ³H-TdR incorporation with intracellular DNA when its' dose was 1 g/ml, that nickel sulfide and ultraviolet could largely induce UDS, that might be inhibited by RZ with a dose dependent relationship. These suggested that nickel sulfide induced damage of DNA might be inhibited by RZ, RZ was not mutagenic and DNA synthesis might be inhibited when the RZ dose amounted to 1 g/ml.

Key words Rhizoma Zedoariae, nickel sulfide, human lymphocytes, unscheduled deoxyribonucleic acid synthesis

近年的研究表明,莪术具有抗肿瘤、提高机体免疫力等作用^{〔1〕}。本文以人外周血淋巴细胞非程序 DNA 合成(unscheduled DNA Synthesis,UDS)为指标,研究了莪术和硫酸镍对 DNA 修复合成的影响,以及莪术对硫酸镍诱导的人外周血淋巴细胞 UDS 的影响。现报告如下。

材料与方法

1 材料

1.1 莪术制剂 由本室制备。莪术购自

甘肃省药材总公司,经本院中药鉴定教研室鉴定为姜科姜黄属植物莪术 *Curcuma zedoaria* (Berg.) Roscoe 的根状茎。取莪术块 600 g 砸碎,用蒸馏水洗 3~4 次,加蒸馏水浸泡 3 h 后煎煮 1 h,过滤,药渣再加水同法煎煮 2 次,合并 3 次煎液浓缩至 150 ml 左右。冷却后加 3 倍量乙醇静置 12 h 以上,滤去沉淀物,回收乙醇,过滤,滤液加蒸馏水至 300 ml,热压灭菌 115℃, 68.95 kPa, 30 min,灌封。每毫升含生药 2 g。

1.2 试剂 硫酸镍(NiSO₄·6H₂O, 重庆北碚化学试剂厂);羟基脲(HU, Sigma); 氚-胸腺嘧啶脱氧核苷(³H-TdR, 北京同位素

△ 国家中医药管理局资助课题(910061); 1. 甘肃中医学院内科教研室(兰州 730000); 2. 兰州医学院环境医学研究室

研究所); RPMI 1640(日本制药株式会社); 49 型玻璃纤维滤纸(上海红光造纸厂)。

1.3 人外周血 来源于兰州市中心血站健康供血者提供的 O 型混合血。

2 方法

UDS 试验方法, 参照上海肿瘤研究所蔡永庭等的方法⁽²⁾稍加改进。肝素钠抗凝的人外周血(全血不分离淋巴细胞)加等量的 RPMI 1640 培养液(内含³H-TdR(终浓度为 10 μ Ci/ml)和 HU(终浓度为 10 mmol/L))混匀后, 分装试管, 每管 0.45 ml。需作紫外线照射的样本细胞在羟基脲处理后倾倒在 5 cm 平皿中(液厚约 1 mm), 以 30 W 紫外线灯垂直距离 20 cm 照射 10 s, 剂量为 14 J/m², 然后按上法分装。分别向试管内加入不同剂量的各种受试物 5 μ l, 摇匀, 置 37°C 水浴箱中避光培养 4 h, 其间进行多次振摇。终止培养时, 加入冰冷的蒸馏水 2 ml 使其溶血并终止反应, 然后在多头细胞收集仪上将细胞移至湿润的 49 型玻璃纤维滤纸上, 真空抽吸下, 分别以 50 ml 蒸馏水洗去游离的³H-TdR; 10 ml 5% 的三氯乙酸固定细胞, 并除去酸溶性组分; 10 ml 95% 的乙醇洗涤, 以除去脂溶性成份。烘干后, 将滤纸片平置于闪烁杯底, 加入 5 ml 闪烁液(PPO 0.4%, PDPDP 0.04%), 用 JJ-2101

双道液体闪烁计数器做放射性测量, 试验结果以 cpm 表示 DNA 合成(UDS)。本实验每一剂量的受试物均作 3 个复管, 取其平均 cpm; 蒸馏水为阴性对照, 紫外线为阳性对照, 用 t 检验进行显著性检验。

结 果

1 莪术和硫酸镍对人外周血淋巴细胞³H-TdR 掺入量的影响

硫酸镍 0.01、0.1、1.0、5.0 mmol/L 时的 cpm 值分别为 362.67 $\pm$ 67.28、437.00 $\pm$ 76.06、560.33 $\pm$ 107.21、368.67 $\pm$ 162.67; 硫酸镍组的 cpm 值均高于空白对照组 228.60 $\pm$ 79.74 ($P < 0.05 \sim 0.01$), 且呈剂量效应关系。但当剂量达到 5 mmol/L 时, cpm 值降低, 可能是大剂量产生了细胞毒性。莪术中, 低剂量 0.1 g/ml、0.5 g/ml 时的 cpm 值分别为 242.33 $\pm$ 43.28、232.67 $\pm$ 53.31; 与空白对照组无显著差异。但高剂量 1 g/ml 时的 cpm 值(109.00 $\pm$ 65.56)明显低于空白对照组 ($P < 0.01$)。提示莪术对 UDS 无诱导效应, 但当剂量达到一定值时, 可显著阻抑³H-TdR 向细胞 DNA 的掺入。

2 莪术对硫酸镍和紫外线诱导的人外周血淋巴细胞 UDS 的影响 见附表。

附表 莪术对硫酸镍及硫酸镍和紫外线诱导的人外周血淋巴细胞 UDS 的影响 ($\bar{x} \pm S$)

受试物及剂量		UDS	受试物及剂量			UDS
莪术 (g/ml)	NiSO ₄ (mmol/L)	(cpm)	莪术 (g/ml)	NiSO ₄ (mmol/L)	紫外线 (J/m ²)	(cpm)
0	0	228.60 $\pm$ 79.74 Δ	0	0	14	517.00 $\pm$ 30.24
0	1	560.33 $\pm$ 107.21	0	1	14	665.00 $\pm$ 78.20
0.1	1	468.00 $\pm$ 79.40	0.1	1	14	398.33 $\pm$ 97.85*
0.5	1	252.33 $\pm$ 24.98 Δ	0.5	1	14	221.33 $\pm$ 91.53**
1.0	1	158.67 $\pm$ 38.35 Δ	1.0	1	14	168.67 $\pm$ 31.94**

注: 与单用硫酸镍组比较, $\Delta P < 0.01$; 与硫酸镍和紫外线组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

由附表可见, 莪术对硫酸镍及硫酸镍和紫外线诱导的 UDS 有明显的抑制作用 ($P < 0.05$), 且呈剂量效应关系。

讨 论

程序外 DNA 合成是发生在正常 DNA 半

保留复制期(S 期)以外其他细胞周期的 DNA 修复合成反应。一般情况下, 修复反应仅为 S 期半保留 DNA 合成的 1~5%⁽³⁾, 因而修复合成的表现易被半保留合成所掩盖。通过抑制 S 期 DNA 的半保留复制, 测定损伤修复合成, 可反映化学物质造成 DNA 受损情况⁽⁴⁾。

镍是致癌性很强的元素^(5, 6)，其对人外周血淋巴细胞 UDS 的诱导效应，表明可造成 DNA 的损伤。但当剂量增加到一定程度后，其诱导 UDS 的作用反而降低，可能是其剂量增大产生细胞毒性，影响了细胞 DNA 的修复合成功能⁽⁷⁾。紫外线可造成人外周血淋巴细胞 DNA 的损伤而使 UDS 增高，而硫酸镍在适当剂量时可使紫外线诱导的 UDS 明显增加，进一步表明硫酸镍可造成人外周血淋巴细胞 DNA 的损伤。

莪术的抗肿瘤作用机理虽不甚清楚，但有资料表明莪术提取物可使艾氏腹水癌细胞核酸含量明显减少，并对 RNA 聚合酶有明显抑制作用，还能与 DNA 结合⁽⁸⁾。本实验结果表明，莪术对人外周血淋巴细胞 UDS 无诱导效应，但当剂量达到 1 g/ml 时，可显著阻抑 ³H-TdR 向细胞 DNA 的掺入。另外莪术对硫酸镍及硫酸镍和紫外线诱导的人外周血淋巴细胞 UDS 有明显抑制作用。提示莪术在一定剂量范围内可抑制硫酸镍和紫外线对人外周血淋巴细胞 DNA 的损伤。但当其剂量达到一定

程度时，可对 DNA 的修复合成造成一定的抑制。其前者可能与防癌、抗突变有关，而后者与其抗肿瘤作用有关。

参 考 文 献

1. 王浴生, 薛春生, 邓文龙, 等. 中药药理与应用. 第1版. 北京: 人民卫生出版社, 1983: 870—875.
2. 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.
3. 余应年. 环境化学物致突变、致畸、致癌试验方法. 第1版. 杭州: 浙江科学技术出版社, 1985: 138.
4. 余应年, 丁辰, 陈星若, 等. 一种适合于筛选化学物质 DNA 损伤作用的改良 UDS 检测法. 浙江医科大学学报 1984; 13(2): 74.
5. 陆彝芬, 区宝祥, 刘国贞, 等. 硫酸镍在诱发大鼠鼻咽癌中的作用. 癌症 1983; 2(2): 100.
6. Pitot, Henry C. Fundamentals of oncology. 3rd ed. New York: Marcel Dekker, INC, 1986: 242.
7. 曾晓非, 毛德寿, 顾祖维, 等. 非程序 DNA 合成试验检测某些金属诱变性的研究. 工业卫生与职业病 1990; 16(1): 27.
8. 崔秀云, 李德山. β -榄香烯对 RNA 聚合酶活性的抑制及与 DNA 的结合. 中国药理学报 1991; 7(3): 228.

(收稿: 1994—04—20 修回: 1994—08—12)

· 读者 · 作者 · 编者 ·

编者按 近来本刊陆续收到反馈信息, 就临床常见病的简单、实用疗法类文章提出诸多询问。有些作者已就有关问题作出答复, 摘录如下。

贵刊 1993 年第 12 期刊载了笔者“手掌穴位封闭治疗顽固性剧烈头痛疗效验证”一文后, 笔者陆续收到一些读者来信, 询问具体治疗方法。现就几个主要问题答复如下。

1 有关治疗方法问题 该疗法原载于《中西医结合杂志》1986; 6(1): 48 页“手掌穴位封闭治疗顽固性剧烈头痛”一文(作者: 李忠良)。根据中医缪刺理论取穴, 左侧头痛取右手掌, 右侧头痛取左手掌, 全头痛取左右均可或双手掌。封闭部位皮肤常规消毒后, 取 2% 普鲁卡因 4 ml(先做过敏试验), 用 6 号注

射针头, 从掌面距第四、五指间联合近心端 2 cm 处进针, 针头与手掌呈 45 度角向近心端封闭, 进针深度约 3 cm, 边进针边推药。

2 根据笔者数年来应用体会, 该疗法并无明显的禁忌症及副作用(对普鲁卡因过敏者除外), 治疗时除局部有暂时麻木外无其他不适。

3 该疗法对各种头痛均有效, 但器质性头痛必须进行病因治疗。一次治疗未能痊愈者, 可重复治疗直至痊愈。

张智农

江苏省泰州市泰东医院(泰州 225314)

(收稿: 1994—07—15)