

## 碱性成纤维细胞生长因子(BFGF)诱变性研究<sup>①</sup>

马继霞 康三毛 林 剑<sup>1</sup>

北京大学生命科学学院 北京 100871 <sup>1</sup>暨南大学生物系 广州 510632

**摘要** 本文应用活体小鼠骨髓细胞染色体畸变(CA)试验及骨髓嗜多染红细胞(PCE)微核(MN)试验,对碱性成纤维细胞生长因子(BFGF)的诱变活性进行为期1WK、2WK及4WK的实验研究。结果表明:经BFGF处理的实验各组微核率与正常对照组比较无显著性差异( $P>0.05$ ),但是,染色体畸变试验结果揭示,其与对照组比较显示出一定的诱变活性。CA及MN两种方法测定结果均无剂量效应关系。

**关键词** 碱性成纤维细胞生长因子(BFGF);染色体畸变;微核;小鼠骨髓细胞

## STUDY ON THE MUTAGENICITY OF BASIC FIBROBLAST GROWTH FACTOR(BFGF)

Ma Jixia, Kang Sanmao, Lin Jian<sup>1</sup>

College of Life Sciences, Beijing University, Beijing 100871 Department of Biology, Jinan University, Guangzhou 510632

**Abstract** The micronucleus in polychromatic erythrocytes (PCE) of mouse bone-marrow and chromosomal aberration were counted for studying the mutagenicity of basic fibroblast growth factor (BFGF). Results showed that there was no difference among testing groups themselves and the vehicle control ( $P>0.05$ ). In other hand, there was differences in the chromosome aberration in comparing with the negative control. However, no differences was found among groups with various treatments.

**Key words** Basic fibroblasts growth factor (BFGF); chromosomal aberration; micronucleus; mouse bone marrow cell

随着轻工业生产的迅速发展,人民生活水平的提高,化妆品的需求量不断增长。据估计我国约有数以亿计的人长期使用化妆品。化妆品的原料多为化学合成制品及生物制品。长期、慢性小剂量接触化妆品,对生物机

体遗传物质是否会产生潜在的危害,是人们十分关心的问题。

碱性成纤维细胞生长因子(BFGF)是DNA重组产品。分子量为20Kd。含有155个氨基酸,微溶于水。PH8.0—8.5是其水溶液

<sup>①</sup> 本课题为八五攻关项目

的稳定条件。粉末及水溶液应放在 4℃ 条件下保存。

BFGF 是高级化妆品的原料之一。含有 BFGF 的化妆品具有滋养细胞、改善微循环、恢复弹性纤维弹力等功效。

本室采用遗传毒理学常规测试手段——活体小鼠骨髓细胞染色体畸变(CA)试验及骨髓嗜多染红细胞微核(MN)试验。就 BFGF 对小鼠体细胞诱变活性,进行为期 1WK(急性)、2WK(亚急性)及 4WK(亚慢性)的实验研究。为评价 BFGF 的安全性提供实验依据。

## 材料和方法

### 1 待测物与试剂

碱性成纤维细胞生长因子(BFGF)粉末。暨南大学、暨东京生物工程研究所提供。

BFGF 应用液 用 0.9%生理盐水配制。

环磷酰胺(CP) 上海第十二制药厂产品。

### 2 实验动物及实验方法

2.1 昆明种封闭群小鼠,北京医科大学实验动物中心提供。体重 19—22 克,随机分组每组 10 只,雌雄各半。

2.2 实验分组 阴性对照组、阳性对照组及实验 I(急性)、实验 II(亚急性)、实验 III(亚慢性)组。分别腹腔注射生理盐水、CP 及

BFGF。

2.3 染色体畸变试验 阴性组给生理盐水 2 次。每只每次 0.2ml。阳性组给 CP 2 次,剂量为 60μg/kg 体重,间隔 24h。实验 I 组给 BFGF 2 次,剂量为 5μg/只/次。实验 II、III 组分别给 BFGF 7 及 14 次,剂量为 1μg/只/次。间隔 48h。阳性组及实验 I 组末次给药后 120h 取材,其他均为给药后 24h 取材。常规染色体制片<sup>(1)</sup>。结果进行 *t* 检验。

2.4 骨髓 PCE 微核试验 阳性组给 CP 剂量为 100μg/kg 体重。阴性组及实验 I、II、III 组给药剂量、方式及取材时间同 CA 试验。PCE 微核制片及读片标准等详见本室工作<sup>(2)</sup>。每只个体观察 PCE1000 个,同时计数 PCE 及 RBC 之比值。结果进行 *t* 检验。

## 结果

### 1 染色体畸变试验

结果见表 1 图 1。小鼠染色体自发频率为 9.8%,与本室以往记录相符<sup>(1)</sup>。与阳性 CP 比较(32.5%),有高度显著性差异  $P < 0.001$ 。CP 显示明显阳性效果。实验 I、II、III 组 CA 百分率分别是 12.3;12.9;13.1,与阴性组比较  $P < 0.05$  及  $P < 0.01$ 。其与 CP 组比较  $P < 0.001$  差异高度显著。

经 BFGF 处理小鼠,CA 试验三个组间比较无显著性差异。

Tab 1. Effect of BFGF of on chromosome aberration

groups	No. of mice	No. of cells analysed	No. of cells with aberration	Frequency of aberration(%)
Control	10	1000	98	9.8±0.76
CP	10	1000	325	32.5±1.20***
BFGF-I	10	1000	123	12.3±0.80**
BFGF-II	10	1000	129	12.9±0.66*
BFGF-III	10	1000	131	13.1±0.67*

\*  $P < 0.01$ ; \*\*  $P < 0.05$ ; \*\*\*  $P < 0.001$ . Compared with the control group.

## 2 骨髓嗜多染红细胞微核试验

表 2、图 2 结果揭示,昆明种小鼠 PCE 自发微核千分率为 2.4,与国内外报道一

致<sup>(1,2,3)</sup>。与 CP 组比呈高度显著性差异。与三个实验组比较差异不显著  $P > 0.05$ 。实验组间比较  $P > 0.05$ 。

Tab 2. Effects of BFGF on frequency of micronucleated cells

groups	No. of mice	No. of cells analysed	No. of MNC	MNF(%)
Control	10	10000	24	2.4 ± 0.37
CP	10	10000	453	45.3 ± 2.84**
BFGF-I	10	10000	30	3.0 ± 0.26*
BFGF-II	10	10000	35	3.5 ± 0.29*
BFGF-III	10	10000	33	3.3 ± 0.40*

MNC; Micronucleated cells. MNF; Frequency of micronucleated cells.

\*\*  $P < 0.001$ ; \*  $P > 0.05$ ; Compared with the control group.

PCE 与 RBC 之比值均大于 0.1,说明 BFGF 对骨髓无抑制作用<sup>(3,4)</sup>。

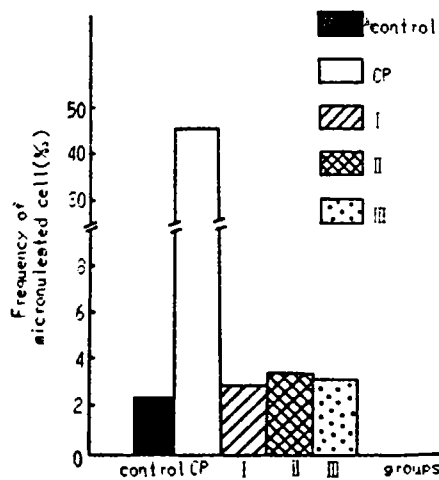


Fig 1. Comparison on the frequency of cell micronucle-

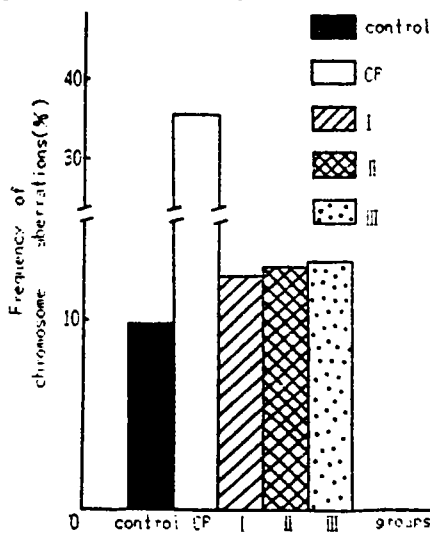


Fig 2. Comparison on the frequency of aberration chromosome

经 BFGF 处理的急性、亚急性及亚慢性三组小鼠全部存活,体重正常增长,大体解剖无肉眼可见的异常。

## 讨论

近年来,对化妆品的安全评价时有报道<sup>(6,7)</sup>。赵肃等(1987)及赵泽贞(1990)等先后对国内市售名牌化妆品 311 种及国内销量大而常用的 49 种化妆品进行 Ames 法及 SOS 反应测试。结果表明,目前市售化妆品中的 0.6% 有潜在性危害<sup>(6)</sup>。

本文采用活体小鼠骨髓嗜多染红细胞微核及染色体畸变试验进行诱变活性检测;结果表明:BFGF 对 MNPCE 未显示诱变活性,在两次大剂量冲击(急性组)及慢性小剂量处理(亚急性及亚慢性)均未显示诱变活性,且无剂量累加效应。PCE 与 RBC 之比值正常说明在本实验条件下无骨髓抑制毒性。染色体畸变试验结果揭示:BFGF 组与阴性组比较有统计意义。但是,BFGF I、II 及 III 组间无剂量效应( $P > 0.05$ )与微核试验结果一致。因此,对 BFGF 的安全评价尚需进一步深入研究。

\* 康三毛,北京大学生命科学学院 88 级细胞遗传专业学生

## 参考文献

1. 马继霞,赵超,王新力. 石油化工污水对成年小鼠、妊娠小

鼠及其胎鼠的遗传毒性研究. 北京大学学报(自然科学版), 1990; 26(2): 219.

2. 马继霞, 李子玉, 许旭. 石油化工污水对小鼠性细胞及体细胞遗传毒性研究. 北京大学学报(自然科学版), 1990; 26(2): 225.

3. 黄建, 曹佳, 林录军, 等. 丝裂霉素 C 诱发小鼠周血和骨髓细胞微核率的比较. 癌变·畸变·突变, 1991; 3(4): 27.

4. 周宗灿, 刘春光, 傅娟玲. 小鼠骨髓和周血体内微核试验方法学进展. 癌变·畸变·突变, 1993; 5(1): 49.

5. Friedman MA and Staub J. Induction of micronuclei in mouse and hamster bone-marrow by chemical carcinogens. *Mutat Res.* 1977; 43: 255.

6. 赵肃, 王风芝, 王仁群, 等. 应用 Ames 法筛检化妆品中致突变物. 第三届中国一半诱变剂学会学术交流大会. 第一册, 1987: 1974.

7. 赵泽贞, 黄民提, 魏丽珍, 等. 对 49 种化妆品的致突变性研究. 癌变·畸变·突变, 1990; 2(2): 32.

## BFGF 经皮肤吸收对乳鼠肝遗传损伤的初步研究

马继霞 王世英<sup>1</sup>

北京大学生命科学学院 北京 100871 <sup>1</sup>湖北师范学院生物系 黄石 435002

化妆品通过对皮肤的作用使之改善、增加皮肤弹性, 达到抗皱、美容、护肤之目的。碱性成纤维细胞生物因子(Basic Fibroblasts Growth Factor, BFGF)具有此种功能, 但有经皮吸收, 起全身作用的潜在可能。本室继 BFGF 对成年小鼠体细胞诱变活性研究<sup>(1)</sup>之后, 又对 BFGF 经皮肤吸收的达乌尔黄鼠(Ground squirrel, *Citellus dauricus*)乳鼠体细胞进行遗传损伤的研究, 同时观察 BFGF 对环磷酰胺(CP)诱发引起的微核频率增高的抑制作用。建立检测方法以探讨 BFGF 的全身性抗诱变功效。

目前, 对化妆品的遗传毒性问题, 已经引起了国内外学者们的关注<sup>(1,2)</sup>, 经皮肤吸收为染毒方式, 以达乌尔黄鼠乳鼠为实验动物, 乳鼠肝的嗜多染红细胞(PCE)为靶细胞。对 BFGF 进行遗传损伤研究的同时, 探索了其抗诱变作用, 目前报道尚属少见。

### 材料和方法

— 344 —

取 5—8d 龄达乌尔黄鼠乳鼠。体重 9—12g。雌雄兼用。据鼠龄相近, 按窝分成五组: 阴性组(不经处理)、阳性组(环磷酰胺 CP)、实验组分为 BFGF 保护组(BFGF + CP)、低剂量组(BFGF1)及高剂量组(BFGF2)。

#### 1 待测物与试剂

碱性成纤维细胞生长因子(BFGF)广州暨南大学暨东生物工程研究所提供, 生理盐水配制, 浓度 5μg/ml。

环磷酰胺(CP)上海第十二制药厂。用生理盐水配制, 浓度 3μg/ml。

#### 2 实验方法

阴性对照组未经处理。阳性组: 于乳鼠背部皮上贴 1cm<sup>2</sup> 擦镜纸一张, 取 30μl CP (158μg/每克体重)分三次滴在纸上, 自然干燥。48h 后, 以同样方式给 40μl, 总量达 70μl。BFGF + CP 组: 于乳鼠背部及腹部各贴一张擦镜纸, 同时分别给 BFGF (0.28μg/克体重)及 CP (同前)各 70μl。低剂量 BFGF1 组: 70μl 分两次给药, 间隔 48h (剂量与方法同前)。以