

文章编号:1004 - 616X(2000)03 - 0169 - 03

重组葡激酶对 ICR 小鼠的致畸作用研究

王取南,魏凌珍,孙美芳,余素贞,徐德祥

(安徽医科大学卫生毒理学教研究,安徽 合肥 230032)

摘要:目的:用 ICR 小鼠研究重组葡激酶(r-SAK)的致畸作用。方法:ICR 小鼠于妊娠第 6 - 15d 静脉注射 r-SAK,剂量为 100mg/kg bw、31.6mg/kg bw、10mg/kg bw,同时设立阴性对照组和阳性对照组,于孕第 18d 处死动物,进行各项检查。结果:各剂量组孕鼠增重、活胎率、胎鼠体重、身长及尾长与阴性对照组比较,差异皆无显著性($P > 0.05$);各剂量组胎鼠外观、内脏和骨骼均无畸形发现。结论:在本实验条件下,r-SAK 对 ICR 小鼠无致畸作用。

关键词:重组葡激酶;致畸作用

中图分类号:R345.57

文献标识码:A

STUDY ON THE TERATOGENICITY OF RECOMBINANT STAPHYLOKINASE

WANG Qiu-nan WEI Ling-zhen, SUN Mei-fang, SHE SU-zhen, XU De-xiang

(Dept of Toxicology, Anhui Medical University, Hefei 230032, China)

2 交通性污染物对精子的影响可导致精子畸形,即精子形状改变和畸形精子数量增多,雄性精子数量减少或畸形精子数量增多与交配的雌鼠发生流产有关。本次试验结果表明,交通性污染物干扰了精子的发育与成熟,使精子的畸形率增高。出现无钩,香蕉形,尾折叠,胖头等多种畸形,其中以香蕉形和尾折叠畸形为主。

3 微核试验的结果显示,对照组的微核出现率为 1.7%。这与文献报道正常小鼠骨髓 PCE 微核率接近。各染毒组的微核率则均显著高于对照组,而且呈现明显的剂量-反应关系。这说明交通性污染物能引起染色体丢失或断裂,是一种断裂剂。尽管断裂剂不一定具有诱变性及致癌性,但可能会引起遗传的染色体畸变。

小 结

通过上述三种试验的研究,我们认为,交通性污染物对小鼠具有较强的遗传毒性。其毒性大小与污染物浓度有关。本次研究得出的现场交通性污染物毒性暴露时间所建立的遗传效应的动物模型,间接地说明了交通性污染物对人类,特别是对交警的健康具有潜在的危害作用;为此提供了有力的科学依据。

参考文献:

- 1 彭宝成,叶舜华. 汽油车尾气排出物的致突变和致癌效应 J. 国外医学卫生学分册,1995,22(3):144-148.
- 2 唐明德,易义珍,高泽宣,等. 室内燃料燃烧的废气致突变性研究 J. 癌变、畸变、突变,1992,4(6):42-44.
- 3 黄辛纾,陈星若. 环境化学物致突变致畸变致癌试验方法 M. 第 1 版. 杭州:浙江科学技术出版社,1985. 265 - 266.
- 4 杨树勤. 卫生统计学 M. 第 3 版. 北京:人民卫生出版社,1993. 76 - 86.
- 5 朱惠刚,赵启宇,蒋颂辉,等. 大气颗粒物致突变性研究 J. 上海环境科学,1991,(6):10-14.

收稿日期:1999 - 10 - 15;修订日期:2000 - 02 - 20

作者简介:王取南(1969 -)男,安徽人,讲师,硕士。Tel: 2816602 - 2201(O), 2813282(H)

Abstract : Purpose : To research the teratogenic effect of recombinant staphylokinase (r - SA K) on ICR mice. **Methods :** The animals were divided into negative and positive control and three experiment groups which were intravenously given by r - SA K from Day 6 to Day 15 of gestation in dosages of 100mg/ kg. bw , 31. 6mg/ kg. bw and 10mg/ kg. bw , respectively. The body growth gains of gestation mice , the numbers , body weight , length and tail length in living fetus and some indicators of embryonic formation were measured. **Results :** There were no significant differences as compared with negative control groups. Besides , the deformity of the appearances , internal organs and bone in fetal mice was not found. **Conclusion :** The results indicated that r - SA K had no teratogenic effect on ICR mice in this experiment.

Key words : recombinant staphylokinase ; teratogenicity

重组葡激酶 (Recombinant Staphylokinase , r - SA K) 是国内某研究所研制的国家一类基因工程药物,能激活体内纤维蛋白原转化为纤溶酶原,水解纤维蛋白,从而使血栓溶解,是一种较高专一性的纤维蛋白溶解剂。为了确保用药的安全性,了解该药有无潜在致畸作用,用小鼠对 r - SA K 进行了致畸实验研究,结果如下。

材料与amp;方法

1 受试药物 r - SA K 为白色冻干粉剂,比活性为 $5.5 \times 10^4 \text{U/mg}$,批号 980702,由安徽桑尼生物技术研究所提供。

2 动物 ICR 小鼠(清洁级),体重:雌鼠 22—27g,雄鼠 28—32g。购自上海西普尔一必凯实验动物有限公司,合格证:沪动合证字 153 号。人工昼夜(6:00AM—6:00PM 光照,6:00PM—6:00AM 黑暗),室温 24 ± 3 ,相对湿度 60%左右,自由进食饮水。

3 致畸实验 实验动物适应性喂养 1 周后,按文献^{1,2},以雌鼠与雄鼠 2:1 合笼,每日 8:00AM 左右检查雌鼠阴栓,以查到阴栓之日为孕第 0d。将每天交配成功雌鼠随机分组,每组 15 - 17 只。r - SA K 分为 100mg/ kg. bw、31. 6mg/ kg. bw 和 10mg/ kg. bw 3 组,最高剂量为临床拟用量的 300 倍,相当于 1/4 LD₅₀,同时设立阴性(蒸馏水)和阳性(环磷酰胺 20mg/ kg. bw)对照组。各剂量组和阴性组孕鼠于孕第 6 - 15d,每天经尾静脉注射 1 次,给药体积为 10ml/ kg. bw。阳性对照于孕第 10d 经肌肉注射给药 1 次,体积为 10ml/ kg. bw。于孕 0d、3d、6d、9d、12d、15d 和 18d 称体重,根据体重变化情况调整给药量。孕第 18d 处死动物,按常规进行各项检查。

4 统计方法 实验数据用 SAS6. 12 软件进行统计分析,母体增重、平均黄体数、平均着床数、平均活胎

数、胎仔体重、身长和尾长用 *t* 检验,死胎率、吸收胎率、畸形率用 χ^2 检验。

结果

1 对孕鼠的影响(表 1) 各组孕鼠在实验期进食饮水,外观行为未见异常,未发生流产,各剂量组的母体增重与阴性组比较,差异无显著性。孕 18d 尸检时,肉眼观察未发现可归因于 r - SA K 处理的异常变化。

2 对胚胎形成的影响(表 2) r - SA K 三个剂量组平均黄体数、着床数、活胎数、死胎率及吸收胎率与阴性组比较,差异皆无显著性。

3 对胎鼠的影响(表 3, 4, 5) r - SA K 各剂量组胎鼠的身长、尾长、体重及外观、内脏和骨骼检查结果,与阴性组比较,差异皆无显著性。检查发现,r - SA K 三个剂量组共有 4 例胎鼠皮下出血、6 例第 5 块胸骨缺失,而阴性组有 6 例胎鼠皮下出血、7 例第 5 块胸骨缺失和 1 例缺少第 13 肋。各剂量组枕骨骨化程度与阴性组比较,差异无显著性。

4 阳性对照组结果(表 1 - 5) 阳性组每窝平均活胎数显著低于阴性组,而其吸收胎数(率)和死胎数(率)显著高于阴性组。阳性组胎鼠的身长、尾长、体重均显著低于阴性组。检查发现阳性组胎鼠各种畸形发生显著升高,枕骨骨化显著延迟,畸形主要表现为脑膜膨出、露脑、突眼、短舌、四肢短小、卷尾、多趾、囊状肾、枕外骨缺失、腕骨融合、少肋、尺骨桡骨融合或缺失等。

表 1 重组葡激酶对孕鼠母体增重的影响

组别	孕鼠数	母体增重($\bar{x} \pm s$)
高剂量组	15	1.60 \pm 1.62
中剂量组	15	1.14 \pm 1.58
低剂量组	15	1.19 \pm 2.10
阴性组	15	0.71 \pm 2.65
阳性组	17	2.58 \pm 2.55

表 2 重组葡激酶对胚胎形成的影响

组别	孕鼠数	黄体数 (总数, $\bar{x} \pm s$)	着床数 (总数, $\bar{x} \pm s$)	活胎数 (总数, $\bar{x} \pm s$)	死胎数 (总数, %)	吸收胎数 (总数, %)
高剂量组	15	159, 10.6 \pm 3.0	140, 9.3 \pm 3.0	129, 8.6 \pm 2.7	4, 2.86	7, 5.0
中剂量组	15	169, 11.3 \pm 2.9	153, 10.2 \pm 3.3	138, 9.2 \pm 2.8	6, 3.92	9, 5.88
低剂量组	15	174, 11.6 \pm 2.6	164, 10.9 \pm 2.3	148, 9.9 \pm 2.0	4, 2.44	12, 7.32
阴性组	15	181, 12.1 \pm 1.7	174, 11.6 \pm 1.4	165, 11.0 \pm 1.4	3, 1.72	6, 3.45
阳性组	17	208, 12.2 \pm 1.8	187, 11.1 \pm 1.7	28, 1.6 \pm 3.2 **	141, 75.40 **	19, 10.16 *

注: *与阴性组比较, $P < 0.05$, **与阴性组比较, $P < 0.01$

表 3 重组葡激酶对胎鼠生长发育的影响

组别	活胎数	胎仔体重 (g, $\bar{x} \pm s$)	胎仔身长 (cm, $\bar{x} \pm s$)	胎仔尾长 (cm, $\bar{x} \pm s$)	性比 (雄:雌)
高剂量组	129	1.15 \pm 0.17	2.24 \pm 0.07	1.10 \pm 0.07	0.74(55:74)
中剂量组	138	1.16 \pm 0.12	2.21 \pm 0.10	1.11 \pm 0.06	1.16(74:64)
低剂量组	148	1.19 \pm 0.13	2.21 \pm 0.14	1.13 \pm 0.06	0.85(68:80)
阴性组	165	1.06 \pm 0.18	2.13 \pm 0.13	1.08 \pm 0.06	1.35(74:55)
阳性组	28	0.66 \pm 0.11 **	1.60 \pm 0.14 **	0.84 \pm 0.05 **	0.75(12:16)

注: **与阴性组比较, $P < 0.01$ 。

表 4 重组葡激酶对胎鼠外观、内脏及骨骼畸形的影响

组别	活胎数	外观畸形率(%) (畸形数/检查数)	内脏畸形率(%) (畸形数/检查数)	骨骼畸形率(%) (畸形数/检查数)
高剂量组	129	0(0/129)	0(0/61)	0(0/68)
中剂量组	138	0(0/138)	0(0/69)	0(0/69)
低剂量组	148	0(0/148)	0(0/74)	0(0/74)
阴性组	165	0(0/165)	0(0/82)	0(0/83)
阳性组	28	85.71 ** (24/28)	100 ** (14/14)	78.57 ** (11/14)

注: **与阴性组比较, $P < 0.01$

表 5 重组葡激酶对胎鼠枕骨骨化程度的影响

组别	检查数	枕骨骨化程度				
		0级	级	级	级	级
高剂量组	68	58	10	0	0	0
中剂量组	69	60	5	4	0	0
低剂量组	74	67	6	1	0	0
阴性组	83	59	13	10	1	0
阳性组	14	0	0	2	5	7

讨论

r-SAK 主要适用于急性心肌梗死、外周动静脉栓塞、中央视网膜动静脉栓塞及其他新鲜血栓阻塞性疾病,采用蒸馏水或生理盐水溶解静脉注射给药。在本次研究中,为使受试剂量准确和药物在溶液中不发生变化,均在实验前现配现用,并采用与临床相同的给药途径。鉴于其急性毒性较小(小鼠 $LD_{50} = 413.2 \text{mg/kg} \cdot \text{bw}$),最大治疗量较低(20mg/人),生产成本

昂贵,所以采用临床拟用量的 300 倍作为高剂量。

本研究中,环磷酰胺诱发了受试小鼠明显的外观、内脏和骨骼畸形,表明所选小鼠对致畸剂反应敏感。受试药物在给药时间上覆盖了整个致畸敏感期,虽有少数胎鼠出现了皮下出血和第 5 块胸骨缺失,但其发生率比阴性组还低,所以不能认为是由 r-SAK 所引起,而当归因于小鼠的自发变异。除此之外,各剂量组无任何阳性发现。这一结果表明, r-SAK 在本实验条件下无致畸作用。为该药的安全性评价提供了实验依据。

参考文献:

- 袁伯俊,王治乔. 新药临床前安全性评价与实践 M. 北京:军事医学科学出版社,1997. 117 - 151.
- 中华人民共和国卫生部药政局. 新药(西药)临床前研究指导原则汇编(药理学、毒理学、毒理学) Z. 北京:卫生部药政管理局,1993. 216 - 217.