

吲哚 -3- 乙酸对人外周血淋巴 细胞微核和 SCE 频率的影响

胡晓岩, 黄 辰, 宋土生, 王艾英

(西安交通大学医学院遗传教研室, 陕西 西安 710061)

【摘要】背景与目的: 研究吲哚 -3- 乙酸对人体外周血淋巴细胞微核和 SCE 频率的影响。材料与方法: 应用人体外周血淋巴细胞测定吲哚 -3- 乙酸诱导微核形成率试验和姊妹染色单体互换率(SCE)。结果: 各吲哚 -3- 乙酸处理组与阴性对照组相比, 微核形成率和 SCE 差异均存在显著性。结论: 吲哚 -3- 乙酸对人外周血淋巴细胞的遗传物质具有损伤作用。

【关键词】吲哚 -3- 乙酸; 姊妹染色单体互换(SCE); 微核

中图分类号: R 394.2 文献标识码: A 文章编号: 1004 - 616X(2004)03 - 0171 - 02

The Effect of the Indole-3-Acetic Acid on the SCE and Micronuclei of Human Peripheral Lymphocytes

HU Xiao-yan, HUANG Chen, SONG Tu-sheng, *et al*

(The Medical School of Xi'an Jiaotong University, Xi'an 710061, China)

【ABSTRACT】BACKGROUND & AIM: To study the effect of the indole-3-acetic acid(IAA) on the SCE and micronuclei of human peripheral lymphocytes. MATERIAL AND METHODS: We apply IAA to detect micronuclei and SCE of human peripheral lymphocytes. RESULTS: There were salience difference on the micronuclei rate and SCE rate between each group treated with different concentration of the indole-3-acetic acid and the negative controlled group($P < 0.05$). CONCLUSION: The indole-3-acetic acid damaged the genetic material of human peripheral lymphocytes.

【KEY WORDS】Indole-3-acetic acid; SCE; micronuclei

吲哚乙酸是植物生长过程中必不可少的生长激素。近来, 有报道证明吲哚 -3- 乙酸与过氧化物酶反应后的产物对人类肿瘤细胞具有细胞毒作用^[1], 而吲哚乙酸对人类外周血淋巴细胞遗传物质的影响未见报道。本采用了淋巴细胞微核(Micronuclei, MN)和姊妹染色单体互换(SCE)试验来研究吲哚 -3- 乙酸对人类遗传物质的影响。

1 材料与方法

1.1 材料 吲哚 -3- 乙酸 (Indole-3-acetic acid, IAA) (化学纯, 97.0 %), 购自中国医药集团上海化学试剂公司。环磷酰胺 (Cyclophosphamide, CP), 购自上海第十二制药厂。健康个体肝素抗凝外周血采自西安

交通大学医学院。

1.2 实验方法

1.2.1 微核实验 取 4.7 ml 培养液 (RPMI 1640 培养液内含小牛血清 20 % 及 PHA), 加全血 0.3 ml, 另加 IAA, 使 IAA 的终浓度分别达到 1 750(1 mmol/L)、175(0.1 mmol/L)和 17.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ (0.01 mmol/L); 阳性对照加环磷酰胺, 使其终浓度达到 20 $\mu\text{g}/\text{ml}$; 阴性对照加生理盐水。以上各组均设 3 个平行实验组。37 $^{\circ}\text{C}$ 培养 72 h 后, 收集细胞用新鲜配制的甲醇/冰醋酸 (3:1) 固定, 制片, Giemsa 染色 20 min, 镜检, 以 1 000 个细胞为一组计算微核的千分率。微核的识别: 在完整的淋巴细胞浆内与主核分离, 直径小于主核 1/3, 结构和染色与主核相同^[2]。

收稿日期: 2003 - 06 - 23; 修订日期: 2003 - 09 - 01

基金项目: 陕西省自然科学基金(No. 2001SM62)

作者简介: 胡晓岩(1965 -), 男, 山东省沂南人, 讲师, 主要从事医学生物学研究。

Tel: 029 - 82655190, E-mail: xtbyxy@Sohu.com

1.2.2 SCE 实验 处理与分组见微核实验。于 37℃ 培养 48 h, 加入 BrdU, 使其终浓度为 10 μg/ml, 继续培养。在培养终止前 4 h 加入秋水仙素, 于 72 h 收集细胞, 制片, u.v 照射 30 min, 水洗, Giemsa 法染色, 观察完整并明显分染的中期相细胞, 以 50 个细胞为一组, 求得每个细胞的互换率^[3]。

1.2.3 分裂指数 每组计数 1 000 个细胞。

1.3 统计方法 用 SPSS 10.0 统计软件处理, 用方差分析、曲线相关分析。

2 结果

表 1 吲哚-3-乙酸对人体外周血淋巴细胞微核率、SCE 的影响

Table 1 The effect of the IAA on the SCE and micronuclei of human peripheral lymphocytes

	CP (μg · ml ⁻¹)		IAA (μg · ml ⁻¹)			r
	20	0	17.5	175	1 750	
MN (× 10 ⁻³)	15.73 ± 0.30	4.24 ± 0.67	8.40 ± 0.88	9.01 ± 2.33	9.46 ± 0.99	0.9045
SCE (× 10 ⁻²)	9.14 ± 4.67	4.01 ± 2.43	5.95 ± 3.14	7.38 ± 3.32	8.59 ± 3.11	0.9987

2.2 吲哚-3-乙酸对人体外周血淋巴细胞细胞增殖的影响 结果见表 2, 环磷酰胺处理组的淋巴细胞分裂指数最低 (1.7%), 阴性对照组的淋巴细胞分裂指数最高 (3.2%), IAA 的 3 个浓度梯度处理组的淋巴细胞分裂指数介于阴性对照和环磷酰胺处理组间。

表 2 吲哚-3-乙酸对人体外周血淋巴细胞分裂指数的影响

Table 2 The effect of the IAA on the cell divisional index of human peripheral lymphocytes

	CP (μg · ml ⁻¹)		IAA (μg · ml ⁻¹)		
	20	0	17.5	175	1750
cell divisional index (× 10 ⁻²)	1.70	3.20	2.90	3.04	2.70

3 讨论

淋巴细胞微核 (Micronuclei, MN) 形成率和姊妹染色单体互换率可以反映化学物质诱导染色体损伤的程度, 现已广泛应用遗传毒理学研究^[4-7]。

IAA 作为植物激素, 广泛应用于植物的组织培养以及植物扦插等领域, 对动物的正常细胞是否具有影响, 鲜见报道。本研究应用不同浓度的 IAA 处理正常人全血培养的淋巴细胞, 结果显示, 随着 IAA 浓度的升高, 培养淋巴细胞的微核 (Micronuclei, MN) 形成率和 SCE 互换率均有所增加, 表明 IAA 不同程度上可以诱导染色体损伤。引起染色体损伤的原因可以来自两个方面: ①诱导自由基形成; ②碱基类似物通过替代正常的碱基。

Sharon Rossiter 等^[1]研究发现 IAA 与辣根过氧化物酶联合使用, 可以有效地引起肿瘤细胞的死亡。进一步研究证明 IAA 在辣根过氧化物酶的催化下可以释放氧自由基。自由基引起 DNA 断裂损伤, 诱导 P53

基因的激活, 并调节 DNA 修复系统, 从而导致细胞周期滞后。本研究通过分析细胞分裂指数, 结果表明 IAA 可以抑制细胞分裂, 并且抑制细胞增殖周期, 暗示 IAA 诱导染色体损伤可能与自由基形成有关。IAA 为双环化合物, 与嘌呤碱基双环结构极为相似, 其是否可以通过插入 DNA 分子诱导染色体损伤, 有待进一步证明。

基因的激活, 并调节 DNA 修复系统, 从而导致细胞周期滞后。本研究通过分析细胞分裂指数, 结果表明 IAA 可以抑制细胞分裂, 并且抑制细胞增殖周期, 暗示 IAA 诱导染色体损伤可能与自由基形成有关。IAA 为双环化合物, 与嘌呤碱基双环结构极为相似, 其是否可以通过插入 DNA 分子诱导染色体损伤, 有待进一步证明。

参考文献:

- [1] Rossiter S, Folkes LK, Peter W, et al. Halogenated Indole-3-acetic acids as oxidatively activated prodrugs with potential for targeted cancer therapy [J]. *Bioorganic Med Chem Letters*, 2002, 12: 2 523 - 2 526.
- [2] 黄 辰, 康朝英, 陈 萍, 等. 丝裂霉素 C 诱导淋巴细胞微核形成的相关研究 [J]. *中华医学遗传学杂志*, 1995, 12(3): 182 - 183.
- [3] 张 吉, 刘 民, 王立言, 等. 人体外周血姐妹染色单体互换 (SCE) 两种染色方法的比较 [J]. *中国优生与遗传杂志*, 2000, 18(2): 54.
- [4] 徐世林, 闫丽娟, 杨新良, 等. 胸水 DNA 倍体及细胞周期检测的研究 [J]. *海军医学杂志*, 2002, 23(3): 205 - 206.
- [5] 孔志明, 许 超. *环境毒理学* [M]. 南京: 南京大学出版社, 1995. 208 - 211.
- [6] Sardas S, Karabiyik L, Aygun N, et al. DNA damage evaluated by the alkaline comet assay in lymphocytes of humans anaesthetized with isoflurane [J]. *Mutat Res*, 1998, 418: 1 - 6.
- [7] 封少龙, 孔志明, 王五香, 等. 吡虫啉和抑食肼对人体外周血淋巴细胞遗传物质的影响 [J]. *癌变·畸变·突变*, 2002, 14(4): 210 - 213.