

硒与抗坏血酸在 SCE 和 UDS 试验中的抗诱变效应

黄吉武 周 佳 杨晓玲

西安医科大学卫生毒理学教研室 西安 710061

摘要 通过离体和整体实验方法观察,发现随着经饮水摄入的Vc和/或Se剂量的增大,诱变物 MNNG 诱发的小鼠骨髓细胞SCE数下降,且呈剂量反应关系;同时Vc与Se单独或联合使用均可明显降低 MNNG 诱发的人全血细胞培养的UDS值。结果提示Vc和Se具有抗诱变协同效应。实验还显示Se和Vc作为抗诱变剂,本身在高剂量下又呈现遗传毒性。

关键词 硒;抗坏血酸;抗诱变剂;联合作用;化学预防

INHIBITORY EFFECTS OF SODIUM SELENITE AND ASCORBIC ACID ON MNNG-INDUCED MUTAGENESIS IN UDS AND SCE TESTS

Huang Jiwu, et al.

Division of Toxicology, Department of Public Health, Xian Medical University, Xian 710061

Abstract The antimutagenic effects of sodium selenite (Se), ascorbic acid (Vc) and Se+Vc were examined on MNNG-induced DNA damage with human whole-blood cells UDS in vitro and mouse bone marrow SCE in vivo. The results showed that the SCE frequencies induced by MNNG decreased with the increase of the concentrations of Se and Vc in the drinking water, in a manner of dose-response relationship. The combined use of the lower concentration of (0.02%) Vc and the intermediate concentration of (0.50ppm) Se seemed to have a synergistic effect of antimutagenesis. The treatments with Se, Vc and Se+Vc all significantly suppressed the responses of UDS induced by MNNG, and the intermediate concentration of ($3 \times 10^{-8}M$) Vc and the lower concentration of ($1 \times 10^{-6}M$) Se exhibited stronger antimutagenic activity. The results also revealed that Se and Vc, as inhibitors of mutagenesis, could induce genotoxic effects by themselves at higher dose levels.

Key words: Selenium; Ascorbic acid; Antimutagen; Combined effect; Chemoprevention.

抗氧化剂硒和抗坏血酸已经证实在微生物和哺乳动物体外系统中具有抗诱变性,但在整体条件下及对人体细胞是否具有同样效应,资料尚嫌不足。此外,在自然情况下或为化学预防的目的,两种抗诱变剂可能会同时前入人体。为此有必要阐明他们之间可能出现的抗诱变交互作用的性质。本研究选择体内小鼠骨髓细胞姐妹染色单体交换(SCE)和人全血细胞培养非程序DNA合成(UDS)作为终点指标,观察亚硒酸钠(Se)和抗坏血酸(Vc)单独及联合应用时,对MNNG诱发的原发性DNA损伤的对抗/保护作用。

材料和方法

1. 动物与血标本 实验动物为西安医科大学实验动物中心提供的ICR小鼠体重18-23克。血标本采自健康成人献血者,为新鲜抗凝血。

2. 试剂与仪器 亚硒酸钠、分析纯,北京化工厂提供;抗坏血酸、分析纯,西安化学试剂厂产品;N-甲基-N'-硝基-N-亚硝基胍(MNNG),E. Merck公司产品;³H-脱氧胸腺嘧啶(³H-TdR)、北京中国原子能所产品;羟基脲(HU)、Sigma公司产品;5-溴脱氧尿嘧啶(BrdU)、Fluka AG公司产品。样品放射活性使用Beckman LS-900型液体闪烁计数仪测定。

3. 抗诱变剂对MNNG诱导的SCE的影响 实验组小鼠自由饮用含不同剂量Vc或/

和Se的饮水,阴性与空白对照小鼠则饮用普通自来水,连续7d后,颈部皮下包埋含8mg Brdu的琼脂药片。然后除空白组外其余各组小鼠均腹腔注射MNNG。21h后,再注射秋水仙素。再经2-3h取小鼠两侧股骨骨髓,常规方法低渗、固定、涂片,UPG法分化染色。油镜下每鼠观察20个细胞,记录SCE数。

4. 抗诱变剂对MNNG诱导的UDS的影响 将0.3ml肝素钠抗凝的人全血加入含RPMI-1640培液的备好的各管中。各实验管及阴性对照管中加入MNNG,空白管中加入等量溶剂。再向各实验管中加入不同剂量的Se或/和Vc。最后各管中均加入HU和³H-TdR,其终浓度分别为5mM和2-3 μ Ci/ml,终容积为1ml。恒温培养7h,终止反应。然后将内容物转入49型玻璃滤膜抽吸过滤,依次用蒸馏水、生理盐水、5%三氯乙酸、无水乙醇过膜。待干燥后,将膜片投入盛有2ml闪烁液的闪烁瓶中,测定放射活性。UDS值以实验组cpm均值与空白对照组cpm均值之比(T/C)表示。

结果

1. 饮水中不同剂量的Vc和Se均使致瘤物MNNG诱导的SCE频率降低。随着Vc或Se剂量增大,诱变抑制作用加强,存在剂量反应关系。低剂量Vc和中等剂量Se同时给予,降低SCE频率的效果最为显著(表1)。

表1 亚硒酸钠、抗坏血酸对MNNG诱变的小鼠骨髓细胞SCE频率的影响

处理方式	平均SCE/细胞	P值
空白对照	2.18 ± 1.2	—
阴性对照	8.17 ± 1.8	—
0.02% Vc 饮水 + MNNG	4.09 ± 1.7	<0.01
0.10% Vc 饮水 + MNNG	3.93 ± 1.8	<0.05
0.20% Vc 饮水 + MNNG	3.26 ± 1.6	<0.01
0.25ppm Se 饮水 + MNNG	5.34 ± 1.9	<0.01
0.50ppm Se 饮水 + MNNG	4.42 ± 1.7	<0.01
1.00ppm Se 饮水 + MNNG	3.82 ± 2.0	<0.01
0.02% Vc + 0.50ppm Se 饮水 + MNNG	2.64 ± 1.6	<0.01
0.20% Vc + 0.25ppm Se 饮水 + MNNG	3.76 ± 1.6	<0.01

注: 每组处理5只小鼠。MNNG: ip, 40mg/kg。

2. 在实验所用剂量范围内, Vc 和Se均可抑制MNNG诱发的UDS反应, 但未观察到明显的剂量反应关系, 而且高剂量Se的抑制

作用反而呈减弱倾向。同时应用Se和Vc则对UDS反应的抑制表现出相加作用趋势(表2)。

表 2 亚硒酸钠、抗坏血酸对 MNNG 诱发的人全血细胞 UDS 反应的抑制

处理方式	T/C值	抑制百分数
阴性对照组	2.09 ± 0.63	—
1 × 10 ⁻⁷ M Se + MNNG	1.54 ± 0.16	26.32
5 × 10 ⁻⁷ M Se + MNNG	1.54 ± 0.28	27.75
1 × 10 ⁻⁶ M Se + MNNG	1.86 ± 0.64	11.00
5 × 10 ⁻⁶ M Se + MNNG	1.82 ± 0.37	12.92
1 × 10 ⁻⁵ M Se + MNNG	1.94 ± 0.97	7.18
3 × 10 ⁻⁷ M Vc + MNNG	1.44 ± 0.39	31.10
3 × 10 ⁻⁶ M Vc + MNNG	1.58 ± 0.34	24.40
3 × 10 ⁻⁵ M Vc + MNNG	1.57 ± 0.20	24.88
3 × 10 ⁻⁴ M Vc + MNNG	1.62 ± 0.23	22.48
3 × 10 ⁻³ M Vc + MNNG	1.40 ± 0.30	33.01
3 × 10 ⁻² M Vc + MNNG	1.20 ± 0.20	41.15
1 × 10 ⁻⁶ M Se + 3 × 10 ⁻³ M + MNNG	1.25 ± 0.64	40.19

注: MNNG浓度为5 × 10⁻³。各组P < 0.01。

每剂量组每个体设二个平行样, 总共6个个体, 最后取均值。

讨论

由实验结果得知, 当Se浓度为5 × 10⁻⁷ M时, 对MNNG诱导的UDS反应呈最强的抑制作用。当Se浓度进一步增高时, 抑制作用反而降低。出现这种情况的原因可能是高剂量的Se本身可以引起DNA损伤⁽¹⁾, 硒作为抗诱变剂本身又具有遗传毒性。文献报道, 腹腔注射3-6mg/kg亚硒酸钠可明显扩大小鼠骨髓细胞SCE⁽²⁾, 而10⁻⁷—10⁻⁴ M的亚硒酸钠可增加V₇₀细胞的染色体畸变数⁽³⁾。我们在另一实验中发现Se(5 × 10⁻⁴ M)可减少体外培养人血细胞DNA中³H-TdR掺入量, 高剂量的Vc也有相同的作用。较高剂量的Vc还可使细胞微核率升高⁽⁴⁾以及沙门氏菌回变数增加⁽⁵⁾。化学物质具有这种诱变/抗诱变双重性不是绝无仅有的, 相反在某种程度上具有普遍意义。因此, 不能把化学物质简单地划分为诱变剂或抗诱变剂。在实施以

抗诱变剂作为化学预防措施之前, 大量的研究工作包括探明化学物质抗诱变的机理、适宜的作用条件等有待完成, 以便加强其保护作用而减少其中毒危险性。

实验观察到, 无论在体外或体内条件下, Vc和Se联合使用均呈协同抗诱变效应。Vc对MNNG诱变的抑制作用, 据认为是由于Vc与MNNG相互作用而导致MNNG灭活⁽⁶⁾。Se及其代谢产物可与MNNG发生竞争, 改变膜或染色单体结构而减少致癌物/诱变物对DNA损伤^(3,7)。由此可知, 不同的抗诱变剂可以通过不同的机理或不同的细胞部位起作用⁽⁸⁾, 而呈现协同抗诱变作用。抗诱变剂的联合使用, 因其不同的作用机理以及发挥多点攻击优势而加强了保护作用; 同时由于降低了各单一物质的剂量而减少了各自可能的毒性。这可能会成为一种较合理的抗诱变/抗癌的预防手段。

参考文献

1. Shamberger RJ. Genetic toxicology of ascorbic acid. *Mutat Res* 1985; 154: 29.
2. Norppa HT, et al. Chromosomal effect of sodium selenite in vivo. Aberrations and sister-chromatid exchanges in chinese hamster bone marrow. *Hereditas* 1980; 91: 101.
3. Combs Jr GF, et al. Selenium in biology and medicine. New York: AVI Publishing co, 1987: 1060-1073.
4. 曾晓非, 等. 以微核试验为指标研究Vc的抗诱变作用. *工业卫生与职业病* 1991; 17: 11.

5. Shamberger RJ. The genotoxicity of selenium. *Mutat Res* 1984; 133: 135.
6. Guttenplan JB. Mechanisms of inhibition by ascorbate of microbial mutagenesis induced by E-nitroso compounds. *Cancer Res* 1978; 38: 2018.
7. Whiting RF, et al. Unscheduled DNA synthesis and chromosome aberrations induced by organic selenium compounds in the presence of glutathione. *Mutat Res* 1980; 78: 159.
8. Ramel C, et al. Inhibitors of mutagenesis and their relevance to carcinogenesis. *Mutat Res* 1986; 168: 47.

(continuous with abstracts of the originals)

test in *Vicia faba* root tip cells..... *Yin Muquan, et al*(39)

The study on acute inhaling toxicity and micronuclei test of S2 and its mosquito-repellent incense*Yu Xiuzhen, et al*(42)

The report of using *tradescantia*-stamen hair mutation to test 9 insecticides
.....*Ningzhen Huang, et al*(44)

(上接第32页)

I trails of WR-2721 Preceding radiation therapy. in: Nygaard OF, et al (eds). Radioprotectors and Anticarcinogens. New York: Academic Press, 1983: 681~694.

7. Rander BS, et al. Suppression of x-ray-induced transformation by vitamin E in mouse C3H10T1/2 cells. *Cancer Lett* 1986; 32: 25.
8. 李向高. 人参的抗衰老作用. *中成药研究* 1984; 10: 32.
9. Kadat T, et al. Detection and chemical identification of natural bioantimutagens,

Mutat Res 1985; 150: 127.

10. Zhao BL, et al. Scavenging effect of extracts of green tea and natural antioxidants on active oxygen radicals. *Cell Biophysics* 1989; 14: 175.
11. 李媛, 等. 叔丁基羟基茴香醚和苯巴比妥对黄曲霉毒素 B1 诱发的大鼠肝癌前期病变发展过程的影响. *广西医学院学报* 1986; 3: 1.
12. 高凤鸣, 等. γ 线和雌性激素联合诱发细胞转化的分子和自由基机理的研究. 第三届全国自由基生物学与自由基医学学术会议. 厦门. 1991: 36.

(上接第41页)

Environment, part E, Mendelsohn ML and Albertini RJ, eds. New York: Wiley-Liss, Inc. 1990: 1-9.

3. Meier JR. Mutagens in chlorinated water. In: Mutation and Environment, part E, Mendelsohn ML and Albertini, RJ eds, New York: Wiley-Liss Inc. 1990: 11-19.
4. Sandhu SS, et al. Status report of the

international programme on chemical safety's collaborative study on plant test systems. *Mutat Res* 1991; 257(1): 19.

5. Gustaviu FB and Rizzoni M. A mutagenicity analysis of water and sludge of the Tiber river, using the micronucleus test in *Vicia faba* root tip. *Mutat Res* 1991; 252(2): 215.