

## A 致癌与抗癌部分

### A - 1 云锡矿尘合并吸烟诱发大鼠肺癌的实验研究

孙来华 刘崇林 宣琼学 晋 萍 姬学敏 赵桂芬 何丽飞 姚树祥

(云锡劳动防护研究所 个归 661400)

本实验以雌雄各半的 Wistar 成年大鼠 264 只, 分为 5 组, 分别给锡矿尘气管灌注、吸烟, 及高尘低烟、中尘中烟与低尘高烟等处理, 外加未处理及盐水处理两个对照组各 50 只, 进行了三年的长期致癌试验。灌尘量分别为 2、4、6mg/0.2ml 次, 隔周一次共 15 次, 总剂量为 30、60、90mg。在 170 升的动式气柜中燃香烟, 然后使吸入, 卷烟量每鼠 2、1、1/2 支/次实验, 隔周吸 5 天, 共 8 个月。饲养三年剖验未处理组及盐水组均未发现肺癌, 实验组共 233 只发现有肺癌鼠 43 只, 癌前变 35 只。肺癌率为: 单纯高吸烟组 18.18% (8/44), 单纯高尘组 8.16% (4/49), 高烟低尘组 27.50% (11/40), 中尘中烟组 21.15% (11/52), 低烟高尘组 18.75% (9/49)。肺癌率单纯吸烟组高于单纯灌尘组, 吸烟与灌尘有相加协同作用, 有剂量效应、反应关系趋势, 但在实验组之间的统计未发显著性水平差异, 如与阴性对照组作比较统计均有极其强意义的差别。实验结果提示吸烟及吸入矿尘均为云锡矿肺癌的致病因素, 两者有相加协同作用。印证明流行病学的调研结论。

### A - 2 青石棉诱发的转化细胞中 p53 分析

林 凡 翟朝阳 刘玉清 周 谷 孙芝琳 李寿祺

(<sup>1</sup> 华西医科大学公共卫生学院毒理研究室 <sup>2</sup> 医学分子生物实验室 <sup>3</sup> DNA 重组实验室 成都 610041)

本文分析了八株青石棉诱发的小鼠 BALB/c3T3 转化细胞的 p53 基因突变, 以探讨两者之间的关系。8 株转 p53 基因有 11 个外显子作了 PCR - SSCP 分析, 共发现 7 个突变, 2 个位于外显子 4 - 6, 5 个位于外显子 9 - 11。大多数检出的异常条带是野生型多 1 条带。突变随机地分布于各个青石棉剂量组。结果显示: p53 基因突变与体外转化实验中所用的青石棉剂量无关。p53 基因突变可能发生在青棉诱发 BALB/c3T3 细胞恶性转化的较晚期, 并且突变热点人肿瘤中常见 p53 基因突变多发生于外显子 5 - 8 的情所不同。p53 基因突变与 k - ras 基因突变之间的连系及突变所处片段 DNA 序列分析均有待於进行。

国家自然科学基金资助课题 (资助号 39370604); 博士点基金资助课题 (资助号 93123)

### A - 3 食管癌高发区玉米中腐马含量的检测

章 红 (中国农业大学生物学院 邮编 100094)

腐马素 (Fumonisin) 是一类主要由串珠镰刀菌 (*Fusarium moniforme*) 产生的真菌毒素, 其中 Fumonisin B1 (FB1) 是天然污染玉米样品及真菌产毒培养物中的主要腐马素组分, 其致癌性已在大鼠上证实。本研究采用 ELISA 方法, 检测了采自我国食管癌高发区河北省磁县, 河南省林县和安阳市及食管癌低发区河南省范县和北京郊区延庆县等地区 246 份, 表现无霉变的口粮用玉米样品中 FB1 的含量。在 164 份食管癌高发区玉米样品中, 有 106 份被检出含有 FB1, 含量在 0.5 - 16.0ppm 之间, 平均值为 0.70ppm; 而在 82 份食管癌低发区玉米样品中, 仅有 23 份被检出含有 FB1, 且其含量在 0.5 - 1.5ppm 之间, 平均值为 0.20ppm。表明食管癌高发区玉米样品中 FB1 的污染率是低发区的 2.3 (1.60 ~ 3.32) 倍, 有统计显著意义 ( $X^2 = 29.34 P = 1 \times 10^{-7}$ ), 平均污染量为 3 倍, 高腐马素致食管癌高发的危险度为 4.69 (2.53 ~ 8.73)

## A - 23 端粒酶在消化道肿瘤组织中的表达

陈 雯<sup>1</sup> 张 桥<sup>1</sup> 寸凌云<sup>1</sup> 万德森<sup>2</sup>

(<sup>1</sup> 中山医科大学卫生毒理学教研室 广州 510089 <sup>2</sup> 中山医科大学肿瘤医院腹外科)

端粒 (Telomere) 的长度与细胞的寿命密切相关, 正常细胞的端粒随分裂次数的增加而逐渐缩短, 最终导致细胞衰老死亡。端粒长度的维持需要端粒酶 (Telomerase) 的激活, 端粒酶是一核糖蛋白体复合物, 在人体正常情况下, 只在生长速度很快的胚胎细胞及骨髓造血细胞中可检测到此酶, 而在大多数分化了的体细胞中则检测不到。端粒酶的激活与肿瘤的发生及发展的关系的成为近年来肿瘤学研究的热点。本研究采用目前国际上普遍应用的端粒酶重复序列扩增法 (Telomeric Repeat Amplification Protocol, TRAP) 来检测原发性消化道肿瘤组织中端粒酶的活性。共检测了 40 例, 其中包括 9 例直肠癌、20 例大肠癌和 11 例胃癌以及它们相应的癌旁组织。结果发现在 40 例肿瘤组织中, 有 36 例端粒酶呈阳性 (90%), 而 39 例癌旁组织中则全部阴性。另外, 端粒酶的表达与肿瘤发生的部位、类型、恶性程度及肿瘤转移的关系未见有关联。结果提示端粒酶的激活也许是细胞永生所必需的, 端粒酶可能是一个很好的肿瘤标记物, 可运用于临床恶性肿瘤诊断和鉴别诊断, 并可能作为肿瘤治疗的靶标。

## B1 致突变的基础及方法研究部分

### B1 - 1 <sup>60</sup>Co - 射线和 B(a)P 处理的人外周血 T 淋巴细胞 HPRT 基因位点突变频率的检测和比较

徐洪兰 曹 毅 段志凯 吴启庆 (中国辐射防研究所 生命科学研究所 太原 030006)

应用 T 淋巴细胞克隆分析技术, 检测了经不同剂量的 <sup>60</sup>Co - 射线和苯并 (a) 芘 B(a)P 处理的人外周血 T 淋巴细胞 HPRT 基因位点的突变频率, 抗性突变体用 6 - 巯基鸟嘌呤 (6 - TG) 筛选。在诱导的突变频率相同的情况下, 初步比较了两种诱变剂的剂量范围、细胞毒性及诱变剂的致突性, 得出了本实验条件下 <sup>60</sup>Co - 射线和 B(a)P (+S9) 处理后的细胞存活率及突变频率的剂量效应曲线和数学表达式。当射线的剂量在 0.5 ~ 4Gy (剂量率 1.03Gy/min) 时, HPRT 位点的突变为 1.5 ~ 11.3 个突变体/10<sup>5</sup> 个细胞, 当 B(a)P 的剂量在 0.5 ~ 8g/ml 时, 突变频率为 1.4 ~ 14.2 个突变体/10<sup>5</sup> 个细胞。当诱导的突变频率为 1 ~ 14 个突变体/10<sup>5</sup> 个细胞时, 剂量为 0.05 ~ 4.76Gy 的射线的效应基本上相当于浓度为 0.15 ~ 7.36μg/ml B(a)P 的效应。当细胞存活率为 37% 时, B(a)P 诱导的 HPRT 位点的突变频率 (13.93 × 10<sup>-5</sup>) 大于 <sup>60</sup>Co - 射线 (8.80 × 10<sup>-5</sup>) 的作用。

国际原子能机构和核工业科学基金资助项目

### B1 - 2 亚硫酸氢钠诱发 CHO 细胞 gpt 基因突变的分子分析

孟紫强 (山西大学 生命科学系 环境生物毒理研究室 太原 030006)

本文采用标准的突变细胞克隆技术、PCR 及 DNA 序列分析方法研究了二氧化硫在体内的衍生物——亚硫酸氢钠对 CHO - AS52 细胞 gpt 基因的致突变作用。实验结果表明, 高浓度的亚硫酸氢钠能诱发该基因发生突变, 且其突变频率随该化学物浓度的增加而增高。PCR 分析指出, 在 CHO - AS52 细胞自发的、5mmol/L 和 10mmol/L 亚硫酸氢钠诱发的突变体中, gpt 基因完全缺失者所占比率分别为 36.0%、44.0% 及 65.0%。对 10mmol/L 亚硫酸氢钠诱发的非缺失型 gpt 基因突变的 PCR 序列分析表明, 在 5 个突变细胞克隆中, 有 1 个发生基因的碱置换型和移码型突变, 其余 4 个突变细胞克隆的 gpt 基因结构未发现改变,

陈家<sup>1</sup> 高宏光<sup>1</sup> 吴中亮<sup>1</sup> 雷毅雄<sup>1</sup> 黄文溶<sup>2</sup>

(<sup>1</sup>广州医学院化学致癌研究所 广州 510182 <sup>2</sup>美国国家职业安全与卫生研究所 Morgantown, WV 26505)

用 SSCP 和 DNS 序列分析法对 27 例人肺癌组织 P<sup>53</sup> 的第 5~8 外显子和 K-ras 的第 1、2 外显子的突变情况进行了分析。结果 27 例中有 18 例 P<sup>53</sup> 点突变, 突变率为 67%, 主要发生在第 7 和 8 外显子的 226、270、275 和 281 密码子中; 吸烟患者癌组织 P<sup>53</sup> 的突变率为 70%, 与非吸烟者的 65% 相近; 非吸烟者的 G A 和 T C 的转换频率较高。从细胞类型分析, 鳞癌 P<sup>53</sup> 突变率与腺癌相近, 分别为 69% (9/13) 和 67% (8/12), 但 A G 转换和 A C 颠换频率则鳞癌高于腺癌。至于 K-ras 基因, 其突变率为 48% (13/27), 全部都发生在第 1 外显子的第 9 到 32 密码子中。吸烟患者与非吸烟者比较, 除非吸烟者的 G A 的转换频率较高外, 两者没有差别。鳞癌的 K-ras 突变率为 54%, 腺癌为 42%。全部 6 例 A T 颠换均发生在鳞癌中, 在吸烟与不吸烟患者间和不同组织类型间 P<sup>53</sup> 和 K-ras 基因突变型的多样化提示, 这些病人的肺癌除吸烟外可能与环境和饮食因素也有一定的关系。

### A-21 绿茶提取物对小鼠肺肿瘤发生的影响

蒋义国 陈家 吴中亮 林丽白 冯苏妹 (广州医学院预防医学教研室 广州 510182)

实验选用雌性昆明种小白鼠, 乌拉坦一次腹腔注射 (500mg/kg), 己烯雌酚每周一次肌肉注射 (50mg/kg), 联合诱导小鼠肺肿瘤。以 0.02% 及 0.2% 的绿茶提取物 (GTE) 溶液供小鼠自由饮用以研究 GTE 对肺肿瘤发生的影响。18 周后作肺肿瘤病理分析, 饮用 GTE 的动物其发瘤率和发癌率显著降低, 并且平均肿瘤数和恶生肿瘤比例也明显降低, 高剂量 GTE 的平均肿瘤数明显低于低剂量 GTE 组。乌拉坦与己烯雌酚联合诱发的肺肿瘤雌激素受体阳性率为 37.3%, 低剂量和高剂量的 GTE 可使受体阳性率分别降低到 19.5% 与 12.5%。结果 GTE 对药物联合诱导的肺肿瘤发生有抑制作用, 提示茶叶在肿瘤预防上有良好的应用前景。

### A-22 眼镜蛇毒心脏毒素对人肺癌 A549 细胞株的遗传毒性研究

梁敏仪<sup>1</sup> 陈家坤<sup>2</sup> 朱蔚云<sup>1</sup> (广州医学院<sup>1</sup> 生物学教研室<sup>2</sup> 化学致癌研究所 广州 510182)

眼镜蛇毒心脏毒素 (CT) 是中华眼镜蛇毒的一个重要组分。本文应用不同浓度 CT (2 $\mu$ g/ml、4 $\mu$ g/ml、6 $\mu$ g/ml) 处理体外培养的肺癌 A<sub>549</sub> 细胞株, 在细胞遗传学方面探讨 CT 对人肺癌 A<sub>549</sub> 细胞的遗传毒性。本实验通过细胞生长速率的测定, 发现不同浓度的 CT 对肺癌细胞的生长速率均有不同程度的影响, 随着 CT 浓度增大, 癌细胞的生长受抑制程度越大。而用 CT 染毒 72 小时后换液常规培养, 两周后收获细胞, 实验结果显示: 细胞分裂指数 (MI) 随着 CT 浓度增加而减小, 经统计学处理, 对照组和各实验组之间的有丝分裂指数均有显著的差异 ( $P < 0.01$ ), 表明 CT 对 A<sub>549</sub> 细胞的增殖有明显的抑制作用。观察 BrdU 掺入后的细胞周期动态变化, 分析细胞周期动力学指数 (CKI), 对照组的 CKI 为 1.70, 分别是 CT<sub>2 $\mu$ g/ml</sub> 和 CT<sub>4 $\mu$ g/ml</sub> 实验组的 1.5 倍和 1.65 倍, 反映出对照组与各实验组之间的肺癌细胞的 DNA 复制速率有显著的差异 ( $P < 0.01$ )。分析细胞核仁组织区 (NOR) 的银染计数, 对照组肺癌细胞平均 AgNOR 数 (3.37) 是实验组的 2~3 倍 ( $P < 0.01$ ), 这说明 CT 不仅抑制 DNA 的复制, 同样通过遏制 rDNA 基因的转录而使肿瘤细胞的增殖活性降低。肺癌 A<sub>549</sub> 细胞株具恶性突变的特点, SCE 频率 ( $x = 11.525$ ) 比正常人体的 SCE 频率高。但经 CT 处理的实验组 SCE 频率明显下降, 与对照组比较有显著差异 ( $P < 0.01$ ), 可能提示 CT 不仅具杀瘤细胞作用, 它还能抑制癌细胞的恶性程度, 但有关遗传机理尚待进一步探讨。染色体异常是肿瘤细胞一个伴随性的遗传特征, 本实验从染色体数目畸变分析中发现, 对照组和实验组中出现的二倍体细胞比率差异不明显 ( $P > 0.05$ ), 该实验结果提示 CT 的毒性只能抑制癌细胞的“恶性”程度, 但不能使癌细胞的恶性表型逆转。

内以透明细胞为著, 而各时期各例肝纤维化均较轻, 仅有 4 例发生肝硬化。实验结束时, DEN + AFB1 组 14 只鼠中 6 只发生肝细胞性肝癌 (6/14)。DEN 组肝硬化发生早而明显, 18 周时 9 只发生肝癌 (9/16)。介绍了模型建立的方法及病理形态学所见。见实验结果显示: 联合应用 DEN 和 AFB1 诱发的大鼠肝癌模型具有投毒剂量较小, 诱癌时间较短; 癌前期病变以透明细胞灶多见; 组织学类型肝细胞性肝癌; 伴发肝硬化程度较轻; 病因学方面似与人类更接近等特点。提示 DEN 和 AFB1 对大鼠的致癌性具有协同作用或作用相加效应, 从而引伸到人群中如果同时接触此二种致癌物, 可能更易较早发生肝癌。

### A-7 人支气管上皮细胞癌变早期阶段分子细胞遗传学的改变

程书钧 王永军 董向阳 童彤 舒为群 白瑾萍 韩乃君

(中国医学科学院 中国协和医大肿瘤研究所 北京 100021)

肺癌是危害人类健康最严重性肿瘤之一。人支气管上皮细胞癌变要经历多个阶段, 涉及到多个基因功能的激活与灭活。研究其癌变过程中, 尤其是早期阶段分子生物学及细胞遗传学的变, 对肺癌的早期发现及控制具有重要的战略意义。4 例经 SV40T 转染的人支气管上皮细胞, 经传代后已在本研究室建成永生生化细胞系。对其中两株来自非肿瘤患者永生生化细胞系 (M、Y) 的研究表明: M 和 Y 细胞系在连续传代过程中, 已经表现出许多转化细胞的表型, 包括生长加速, 倍增时间缩短; 对血清分化作用抗性增强; 对 EGF 生长依赖性下降; 核型由近二倍体发展成异倍体; 以及着锚不依赖性生长增强。所有这些变化表明细胞已向恶性发展, 但接种裸鼠尚不能产生肿瘤, 病理检查表现为从化生至不典型增生的病变, 说明该细胞系仍处于癌变的早期阶段。两株支气管上皮细胞在自发转化过程中其自发及诱导的细胞凋亡敏感性均逐渐下降。M 细胞系在转化过程中分别出现 3p-, 2q-, 9q- 以及 c-myc 基因异位。P16 蛋白表达逐渐降低。而 Y 细胞系除 2q- 外, 并未见上述与 M 细胞类似的变化, 但 Western blotting 显示 Bcl-2 及 MDM2 蛋白表达明显下降。对 40 多例人非小细胞肺癌组织研究表明: 从正常支气管上皮 不典型增生 癌的发展过程中, 细胞增殖逐渐增强 (PCMA 增高), 凋亡细胞也有升高趋势 (与体外所见相反)。P53 蛋白表达增高, 而 Bax 表达下降。肺癌组织中凋亡细胞多出现于微血管密度低的区域, 提示缺氧可诱导体内癌细胞凋亡, 而 P53 野生型功能表达可促进这种凋亡。肺癌组织中有 3p-, 9p- 及 2q- 等变化, 其中 17 例患者同时检查了癌及癌旁支气管上皮, 发现 88% (15/17) 癌组织及 23.5% (4/17) 癌旁上皮细胞均有 P16 基因杂合性缺失 (LOH)。结论: 人支气管上皮细胞增殖与凋亡动态平衡失调与细胞癌变有密切的联系。本文讨论了其相关基因的改变, 以及体外与体内癌变的特点及其应用前景。

本研究经费部分由国家自然科学基金及教委博士点基金资助

### A-8 恶性间皮瘤 p53 基因点突变及蛋白表达的研究

袁素波<sup>1</sup> 杨青<sup>1</sup> 王治明<sup>1</sup> 朱春贤<sup>2</sup>

(<sup>1</sup> 华西医科大学 成都 610041 <sup>2</sup> 河北省胸科医院病理科 石家庄市)

p53 基因是大多数人类肿瘤中发生广泛突变的, 与人类肿瘤相关性最强的抑癌基因, 其 80% 的突变均集中在进化的高保区内, 即对应的第 5-8 外显子部位。恶性间皮瘤是一种与接触石棉有明确关系的间叶源性肿瘤。为深入阐明 p53 基因在人恶性间皮瘤发生发展中的作用, 本研究应用银染聚合酶链-单链构象多态性和免疫组化技术研究了 34 例恶性间皮瘤 p53 基因的突变情况。研究结果表明: 62% (21/34) 的病例显示有 p53 基因的突变, 突变率在不同组织学类型之间有一定差异; 在所发现的 21 次突变中有 18 次发生在

皇贝宝试验但小鼠的 NK 细胞活性分别为  $24.17 \pm 17.04\%$  与  $27.18 \pm 6.90\%$ ; 靶效比 50:1 时, NK 细胞活性分别为  $30.85 \pm 16.31\%$  与  $33.01 \pm 1.45\%$ , 与对照但(分别为  $6.48 \pm 9.68\%$  及  $11.57 \pm 8.23\%$ ) 比较  $P < 0.01$ ; 与正常组 ( $30.72 \pm 9.10\%$  及  $30.93 \pm 10.12\%$ ) 则无差别。皇贝宝能明显提高 S180 荷瘤小鼠 NK 细胞的活性, 从而增强其免疫监视功能, 对抑制肿瘤有重要作用。NK 细胞在防止化学致癌中的作用, 早已引起了国内外学者们的关注, 由于化学致癌物质对 NK 细胞活力往往产生抑制作用, 所以对提高 NK 细胞活性的研究, 在抑抗肿瘤方面具有重要的实际意义。对未负荷肿瘤的正常个性, 皇贝宝则对 NK 细胞未产生明显的影响。

### A-18 纯中药制剂“消乳增”冲剂、胶囊对乳腺增生效研究报告

韩书恩 (甘肃省人民医院胸外科 兰州 730000)

乳腺增生又称为乳腺腺病, 即乳腺上皮细胞及其基质 (例如纤维组织) 出现增生现象, 15 年随机无选择性系统观察我院住院患者中, 经过手术和病理检验确定诊断类乳房病变 810 例, 其中女性乳腺增生 270 例。男性乳发育症 55 例, 共计 325 例, 占 40.19%。还有文献报告, 在 40 岁以上的妇女中进行病理学检查, 可以见到 60% 的女性乳腺有这种增生状况, 因此, 乳腺增生极其常见, 在各种乳房病变当中占居到首位。比正常乳腺高出 4 倍。所以乳腺增生严重地危害着人们的健康, 尤其对妇女造成的损害最大。当诊断为乳腺增生时, 局限性乳腺区段切除, 或者全乳腺切除, 只适应于怀疑存在癌变需要做病理检查的病例, 对于大多数患者来说, 主要应当依靠药物治疗。鉴于无特效的西药可供使用, 中、西医相结合, 根据活血化瘀、调节免疫和内分泌功能平衡的原理, 组织、拟定纯中药处方, 制成“消乳增”冲剂、胶囊、作为姊妹药服用, 进行治疗方便, 无毒副作用, 总有效率百 95%。消乳增剂成分: 香附、郁金、川楝子、当归、陈皮、焦楂、牡蛎、女贞子、柴胡、白芷、青皮及丹参; 产胶囊成分: 香附、甘草、郁金、川楝子、当归、青皮、陈皮、山豆根、生楂、丹参、三棱、夏枯草、牡蛎、白芍、柴胡、女贞子及白芷。能够治愈乳腺增生, 自然也预防了乳癌发生的机会。

### A-19 错义突变对 P16 基因功能影响的研究

黄长晖 傅继梁 (第二军医大学军队医学分子遗传学重点实验室 上海 200433)

P16 基因 (CDKN2) 是一种新的, 在许多种原发性恶性肿瘤中存在突变的抑癌基因。该基因编码的蛋白质 P16 通过抑制细胞 G1/S 期的转换, 起了抑制细胞生长的作用。p16 结构上的显著特点是具有四个锚蛋白 (Ankyrin) 重复序列, 目前的研究证实, 多种原发性肿瘤中发现的位于第 和 锚蛋白重复序列上保守碱基的错义突变导致 p16 功能的丧失。但是, 许多肿瘤中发现的突变频率较高的错义突变位于这一区域以外, 比如第 锚蛋白重复序列上高度保守的第 48 位脯氨酸密码子 CCG AAC 的突变, 突变频率较高, 在黑色素瘤和头颈部肿瘤中都有发现。而且, 该 P48L 突变位于双嘧啶部位, 与日光引起的突变机理吻合。为了探讨 P16 基因的肿瘤中的失活机制, 本课题在克隆了 P16cDNA 的基础上, 应用 PCR 体外定点突变方法, 成功地构建 P16 - P48L 和 P16 - D74N 突变体。在此基础上, 以 pCDNA3 真核表达载体构建野生型和突变型 P16 表达载体, 导入纯合缺失 P16 基因的人肺癌细胞株 H460, 经 RNA 点杂交、Northern 印迹和免疫组织化学染色, 检测到 P16 表达。通过比较表达野生型和突变型 P16 的 H460 细胞在  $^3\text{H}$ -TdR 掺入及所处细胞周期的差异, 证实 P16 表达抑制细胞进入 S 期, 而 P48L 和 D74N 突变体对细胞进入 S 期没有什么影响, 提示 P48L 和 D74N 突变体导致 P16 蛋白功能丧失。

国家自然科学基金资助课题

### A-20 肺癌组织 P53 和 K-ras 基因点突变分析

倍。结果提示该毒素可能与食管癌的关系密切,需进一步研究。

#### A - 4 氟化物的细胞转化作用研究

李 杰 孙建霞 刘春生 刘国庆 郭冬梅 王福琳

(山东医科大学环境卫生教研室 济南 250012)

本文应用以下试验检测了氟化物的诱变致癌性,并对其诱变机理进行探讨。金黄地鼠胚胎细胞转化试验:分别以盐水为溶剂和 MNNG 为阳性对照,以 1mM、2mM、4mM NaF 为三个剂量组,24h 染毒体外金黄地鼠胚胎细胞 (SHE)。结果表明,NaF 对 SHE 具有细胞毒性,且有剂量依赖性。1mM、4mM NaF 受试组与阴性对照存活,80 天左右,未见转化发生。而 2mM NaF 处理组 (SHEF2) 细胞逐渐出现类似阳性对照 MNNG 诱导的转化细胞特征:细胞生长旺盛,功能活跃,可见异型细胞、多极分裂,培养至 110 天有转化集落形成;ConA 凝集反应呈强阳性;与溶剂对照相比,显示该细胞获得了相对永生性,已存活 200 余天,仍旺盛生长;将培养到 150 天的 SHEF2 细胞注射于裸鼠腹部皮下,有纤维肉瘤形成;这些特性均有力地支持 SHEF2 细胞已转化为恶性细胞,提示氟化物对哺乳动物细胞可能具有致突变和潜在致癌性。NaF 染毒人胚肺细胞 K - ras 的检测:应用 PCR - SSCP 技术检测 NaF 染毒的第 8 代人胚肺细胞 DNA,未发现 K - ras 基因的 12、13 密码子突变。但由于多种癌基因和抑癌基因的存在,以及癌变过程的复杂性,氟化物诱变性在分子水平的表现还有待于进一步研究。

#### A - 5 氟化物诱导转化细胞的超微结构观察及细胞间隙连接通讯检测

孙建霞 李 杰 刘春生 郭冬梅 刘国庆 杨志祥

(山东医科大学环境卫生教研室 济南 250012)

为研究氟化物致突变性和潜在致癌性及探讨其诱变机理,本文在以前试验基础上,对 NaF 诱导转化的金黄地鼠胚胎细胞 (SHE) 进行了超微结构观察及细胞间隙连接通讯 (cell gap junctional intercellular communication, GJIC) 检测。分别以盐水为溶剂和 MNNG 为阳性对照,设 1mM、2mM、4mM NaF 3 个剂量组,24h 处理体外培养的金黄地鼠胚胎细胞,结果表明,1mM、4mM NaF 受试组和溶剂对照组存活 80 天左右,未见转化发生,而 2mM NaF 处理组 (SHEF2) 细胞则逐渐出现转化细胞特性,获得了相对永生性。对上述转化细胞的超微结构观察见细胞表面微绒毛、皱褶明显增多,有丝状突起和异型细胞,分裂相较多且有多极分裂,多数细胞核体积增大,形状不规则,溶酶体残体显著增加,核仁体积增大,数目增加,显示功能异常活跃,生长迅速,代谢产物显著增多;另外,少数细胞有凋亡迹象,这些现象说明该细胞群中少数细胞被淘汰凋亡,大部分细胞则已逃脱凋亡转化成恶性细胞,而且该细胞群可能通过凋亡继续分化选择使恶性程度增高;应用新近发展的划痕标记染料示踪技术 (scrape - loading and dye transfer, SLDT) 检测 130 天的转化细胞,发现其 GJIC 已被完全阻断;亦显示 SHEF2 已具备恶性转化细胞特性,提示氟化物对哺乳动物细胞可能具有诱变致癌性。

#### A - 6 联合应用二乙基亚硝胺和黄曲霉毒素 B<sub>1</sub> 诱发大鼠肝癌的模型建立和病理学观察

李国利 刘秉钧 盖晓东 董志恒 (吉林医学院病理学教研室 吉林 132001)

用 2% 二乙基亚硝胺 (DEN) 和 0.004% 黄曲霉毒素 B<sub>1</sub> (AFB<sub>1</sub>) 二甲基亚砷溶液交替灌喂大鼠,成年健康 Wistar 纯系大鼠 22 只,投毒 6 周,实验全程 18 周 (126 天),投毒总剂量为 DEN - 80mg/只鼠,AFB<sub>1</sub> - 280μg/只鼠。另设 DEN - 160mg/只鼠组 (投毒 12 周) 及空白对照组。DEN + AFB<sub>1</sub> 组在实验第 8 周即有肝细胞散在性增生,第 10 周出现灶状增生,以后相继出现结节状增生,部分肝细胞呈不典型增生,增生灶

第七外显子,表明第七外显子是恶性淋巴瘤的突变热点所在;SSCP电泳带型显示第七外显子的突变为杂合型。免疫组化染色表明:23%(8/34)的病例p53蛋白免疫组化染色为阳性,阳性率远低于基因突变率。以上资料提示p53基因突变可能在恶性淋巴瘤的发生发展过程中起着重要作用。

本研究项目由国家自然科学基金及CMB基金支帮助。

### A-9 大肠癌患者及其家庭成员外周血淋巴细胞 P53 基因突变研究

李明烈<sup>1</sup> 沈兆忠<sup>2</sup> 章月星<sup>1</sup> 钱 鸣<sup>3</sup> 程 俊<sup>1</sup>

(<sup>1</sup>上海市肿瘤研究所 <sup>2</sup>上海医科大学肿瘤医院 <sup>3</sup>上海飞机制造厂医务室 上海 200023)

本文应用聚合酶链反应——单链构象多态(PCR-SSCP)银染技术对大肠癌患者及其家庭成员外周血淋巴细胞的基因DNA作P53基因的突变研究。结果发现20例大肠癌患者有6例存在基因突变,突变率为30%。在所观察的第5-8外显子中,以第8外显子突变率20.0%(4/20)为最高。20例大肠癌家族成员发现5例存在基因突变,突变率为25%,且以第6外显子突变率15.0%(3/20)最明显。20例正常健康者未发现P53基因突变, $\chi^2=6.90$ , $P=0.03172$ 。大肠癌是环境和遗传因素共同影响所致的较典型的恶性肿瘤,本文观察到的大肠癌及其家族成员淋巴细胞DNA的P53基因突变从分子遗传学角度验证了遗传物质的改变是癌变的重要基础,并提示肿瘤患者的家族成员是一组肿瘤易患个体。而应用外周血淋巴细胞进行基因DNA的突变分析,将可为肿瘤易个体的筛选和监控及癌前预防提供重要佐证。

### A-10 过氧化氢诱导细胞凋亡峰及原癌基因表达的测定

杨瑞华 李瑞珍 海春旭(第四军医大学军队卫生学教研室 西安 710032)

正常生物体内自由基的产生和清除处在平衡状态,外环境中的自由基与体内多种物质发生化学反应,与内源性自由基一起影响着细胞的生长、分化及消亡过程。凋亡可使体内失去生命活性的细胞或生理上不再需要的细胞,以有序形式被清除,从而维持组织中的细胞生成(有丝分裂)与细胞消亡(凋亡)之间的平衡。近年研究表明,肿瘤发生与细胞凋亡有着密切的关系。在本实验中,我们用不同剂量的H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>作用于细胞,观察细胞消长状态的变化,使用免疫组织化学方法研究其对c-myc, p53, bcl-2等原癌基因表达的影响。结果表明,过氧化氢与细胞生长状态之间存在剂量-反应关系。低浓度的过氧化氢(15μmol/10ml培养液)可刺激细胞增殖,c-myc基因的表达加强,bcl-2基因表达;在50, 100μmol/10ml培养液浓度时引起细胞凋亡,c-myc和p53基因均有弱表达;表明c-myc基因对细胞分裂的影响呈双向作用;而当浓度大于100μmol/10ml培养液时,则可直接致细胞坏死。

### A-11 大鼠实验性肝癌发病过程中抑凋谢蛋白 bcl-2 表达的意义

张 哲<sup>1</sup> 张文智<sup>2</sup> 李绍连<sup>1</sup> 赵会军<sup>1</sup> 付琳杰<sup>1</sup>

(<sup>1</sup>河北省医学科学院实验医学研究所 石家庄 050021 <sup>2</sup>河北省第五医院病理科)

本研究旨在动态观察大鼠实验性肝癌形成过程中,抑凋基因bcl-2蛋白表达的意义,探讨刺五加多糖、致癌剂与核酸蛋白在分子水平上相互作用的规律。用bcl-2单抗进行免疫组化SABC检测和用酶学动力学方法检测酶活性。发现喂饲致癌剂3-甲氨基偶氮苯(3'-MeDAB)的早期(15天)bcl-2蛋白表达已明显增高,随着癌变过程的进展其表达随之增强,至实验结束的110天时3'-MeDAB组阳性率为89.5%(17/19),刺五加组为64.7%(11/17)。刺五加组在脏器系数、-谷氨酰转氨酶(-GT)活性、谷胱甘肽硫转移酶(GST)活性、bcl-2蛋白表达和病理组织学改变等方面均较3'-MeDAB组有差别,但尚未达统计显著意义。表明bcl-2蛋白过度表达是紧随-GT活性升高出现的实验性肝癌早期阶段

的事件, bcl-2 蛋白在实验性肝癌及其癌前病变中对细胞凋谢的调控作用, 很可能在肿瘤的发生发展中起着促进作用, 中药刺五加多糖对实验性肝癌的形成可能有些缓解和抑制作用。

### A-12 乳癌组织中 C-erbB-2 基因扩增与临床关系的研究

陈森清 赵祥生 马国建 吴建中 薛开先 (江苏省肿瘤防治研究所 南京 210009)

在肿瘤的发生和演进中, 癌基因、抑癌基因的扩增和缺失起着重要的作用。在乳癌组织中, 癌基因 C-erbB-2 的扩增或过度表达与乳癌病情的发展或肿瘤的转移相关, 因此临床上可作为乳癌的预后指标之一。为满足是临床简便、快速和多项检测的需求, 我们首先应用小块新鲜癌组织, 制成组织悬液, 用基因释放剂 (深圳晶美生物工程公司) 释放 DNA, 进行差别 PCR, 即在检测乳癌组织中 C-erbB-2 癌基因的同时设立一个单拷贝参照基因 IFNG, 两对引物分别为 C-erbB-2 (5' - CCTCTGACGTCCATCATCTC-3'; 5' - ATCTTCTGCTGCCGTCGCTT-3'); IFNG (5' - TCTTTTCTTTCCGATAGGT-3'; 5' - CTGGGATGCTCTTCGACCTC-3'), 从而确定 C-erbB-2 基因拷贝数的变化, 探讨 C-erbB-2 基因扩增与临床的关系。结果表时, 在 63 例乳癌患者手术标本中, 共有 13 例检出 C-erbB-2 基因扩增 (20.6%); 在有、无淋巴结转移的乳癌患者中, C-erbB-2 扩增在阳性章分别为 21.8% (8/37) 和 19.2% (5/26), 两者无统计学差异; 在 50 例临床分期明确的病例中, 期的 C-erbB-2 扩增阳性检出率为 5/17; 期为 1/4, 高于 期 4/27 及 期 0/2, 但无统计学差异。结果提示, 淋巴结是否转移与癌基因 C-erbB-2 扩增间无内在的联系, 另外, 临床分期较晚, C-erbB-2 扩增的阳性率有增高的趋势, 但未获统计学支持 ( $X^2 = 1.96, P = 0.5813$ )。

### A-13 限量饮食对致癌物活化代谢及 DNA 断裂的影响

陈雯<sup>1</sup> 张桥<sup>1</sup> 吴中亮<sup>2</sup> 周明武<sup>3</sup>

(<sup>1</sup> 中山医科大学卫生毒理学教研室 广州 510089 <sup>2</sup> 广州医学院化学致癌研究所 广州 510182 <sup>3</sup> 美国国家毒理研究中心)

动物实验证明限量饮食 (Dietary restriction, DR) 可以降低化学致癌物的诱癌率。为了探讨限量饮食在致癌过程的起始阶段所产生的作用, 我们选择了几种致癌物包括黄曲霉毒素 B<sub>1</sub> (Aflatoxin B<sub>1</sub>, AFB<sub>1</sub>)、苯并 a 芘 (benzo a pyrene, BaP)、2-乙基氨基苊 (2-Acetylaminofluorene, 2-AAF) 和 6-硝基苯甲萘 (6-nitrochrysene, 6-NC) 作为间接致癌物的代表, 研究限量饮食对小鼠肝代谢活化致癌物的影响作用, 以致癌物-DNA 主要加合物的生成量及有关的代谢酶活性改变作为小鼠肝代谢活化致癌物的生物指标。另外, 还研究了限量饮食对 DNA 链断裂产生的影响及 DNA 链断裂与致癌物-DNA 加合物生成的关系。结果显示: 限量饮食减少小鼠肝中 AFB<sub>1</sub>-DNA 加合物 (AFB<sub>1</sub>-N<sup>7</sup>-dG 和 AFB<sub>1</sub>-FAP) 的生成, 同时也减少致癌物导致的 DNA 链断裂; 限量饮食增加 BaP-DNA 加合物 (BP-N<sup>2</sup>-dG)、2-AAF-DNA 加合物 (AF-C<sup>8</sup>-dG) 和 6-NC-DNA 总加合物的生成, 也增加致癌物导致的 DNA 链断裂。在小鼠肝中, 致癌物-DNA 加合物的生成与染毒剂量存在量效关系, 并且与致癌物导致的 DNA 链断裂程度密切相关。限量饮食可引起某些酶活性的改变如诱导谷胱甘肽硫转移酶 (GST), 芳烃羟化酶 (AHH), 乙氧基-9-羟基异吩嗪去乙酰基酶 (EROD), 1-硝基芘还原酶 (1-NR), N-乙酰转移酶 (N-AT), UDP-葡萄糖醛酸脂酰转移酶 (UDP-GT) 等。结果表明: 限量饮食改变小鼠肝 相和 相代谢酶的活性继而影响致癌物的代谢活化, 对不同的致癌物这种作用具有特殊性, 并且在致癌过程的起始阶段起重要作用。

### A-14 MHP 检测方法实验研究



裴秀坤 张晓明 董 静 (河北省卫生防疫站 保定 071000)

“尿中肿瘤标记物 - 单羟酚衍生物 (MHP) 检测”是肿瘤早期论断的一种新方法,为验证方法的可靠性,我们对 7 例住院肿瘤患者和 129 普通人的尿液进行检测,结果表明,方法的灵敏和特异性分别在 85.7%和 95.3%。由于该方法简便易行,在排除干扰,避免假阳性后,有可能适用于人群肿瘤筛选普查。

### A - 15 碳酸锂对环磷酰胺的抑瘤及毒副作用的影响

张爱华<sup>1</sup> 黄晓欣<sup>2</sup> 蒋宪瑶<sup>1</sup> 吴应宽<sup>1</sup>

(<sup>1</sup> 贵阳医学院预防医学系 贵阳 550004 <sup>2</sup> 解放军第 44 医院)

环磷酰胺 (CP) 是临床常用抗癌药,效果好但毒副作用大,突出表现为骨髓抑制、遗传毒性及损害免疫功能等。碳酸锂 ( $\text{Li}_2\text{CO}_3$ ) 毒性低,无诱变性,有升高白细胞和免疫调节作用,并有明显的抗诱变和抑瘤作用。我们在以往研究基础上,联合应用  $\text{Li}_2\text{CO}_3$  和 CP,观察  $\text{Li}_2\text{CO}_3$  对 CP 的抑瘤作用和毒副作用的影响。方法:选择健康昆明种小鼠,体重  $22 \pm 2\text{g}$ ,实验分阳性对照组 (CP 90、180mg/kg),联合用药组 ( $\text{Li}_2\text{CO}_3 + \text{cp}$  剂量分别为 20 + 90, 40 + 90, 20 + 180, 40 + 180mg/kg),同时设肿瘤对照组 (肝癌 H22、肉瘤 S180) 和正常对照组。按抗肿瘤药物筛选方法对每只小鼠 (除正常对照组) 进行肿瘤 (H22、S180) 接种,24h 后给药,  $\text{Li}_2\text{CO}_3$  (20、40mg/kg 分别为 1/2 及 1 份人口报用量) 每天灌胃 1 次,连续 10 天; CP (90、180mg/kg) 一次腹腔注射,第 11 天处死动物,取瘤称重,计称抑瘤率,同时测定各鼠外周血 WBC 和骨髓嗜多染红细胞微核率 (MNF)。结果:  $\text{Li}_2\text{CO}_3$  与 CP 联合用药的抑瘤效果明显超过 CP 的单独作用,表现为瘤块显著缩小,同时可提高荷瘤鼠的外周血 WBC 数和降低 MNF。结论:  $\text{Li}_2\text{CO}_3$  联合使用能增强 CP 的抑瘤作用,减轻 CP 降低骨髓细胞的 WBC 及增加骨髓细胞 MNF 的毒副作用,可作为肿瘤联合化疗药物之一。

### A - 16 复方活性碘毒理学评价

秦淑珍 马晓彤 赵 文 蒋东升 (河北省卫生防疫站毒理科 保定 071000)

复方活性碘为棕色粘稠状液体,易溶解和吸收,对皮肤粘膜无刺激性。是一种新型的手术消毒及外用消毒剂。为探讨本品的其他作用,我们对其进行了抗诱变, S180 肉瘤的抑制作用以及二阶段毒理学评价的研究。复方活性碘安全性评价结果:急性毒性 (LD50) 大于 10g/kg;小鼠骨髓细胞微核实验阴性,阴性对照组微核率均在 1 - 2%之间;小鼠精子畸形试验的对照组为  $23.17 \pm 6.9\%$ ,三个剂量组结果均在 16 - 17%之间,结果为阴性。复方活性碘对 S180 肉瘤的抑制实验结果:外用涂抹组 20mg/kg,抑瘤率 20%; 40mg/kg, 20.2%; 200mg/kg, 49.2%;经口灌胃组: 10mg/kg; 24.5%; 20mg/kg, 27.7%; 40mg/kg, 14.9%。对骨髓细胞微核抗诱变实验结果:阳性组 c.p40mg/kg 微核率 (%)  $27.67 \pm 13.60$ , 10mg/kg + C.P (40mg/kg)  $26.83 \pm 6.18$ , 20mg/kg + C.P (40mg/kg)  $21.17 \pm 7.68$ , 40mg/kg + C.P (40 mg/kg)  $21.0 + 6.32$ 。复方活性碘 200mg/kg 外用涂抹有明显抑瘤作用,并对长至 2 - 4cm 对照组肉瘤用 200mg/kg 涂抹后 7 - 10 天可使肿瘤消失。经口灌胃组各组抑瘤效果不明显。

### A - 17 皇贝宝对 S180 荷瘤小鼠 NK 细胞活性的影响

王福林 许百全 丁 恬 张天亮 (山东医科大学 济南 250012)

NK 细胞是一种具有免疫监视功能,能自然杀伤肿瘤细胞的淋巴样细胞。皇贝宝的主要成分为峰王胚 (幼虫),加減古方剂枸杞五味饮,经提炼加工而成。为了研究皇贝宝的抑制肿瘤作用,用同位素  $^3\text{H}$  - TdR 法观察了 2mg/kg, 4mg/kg 皇贝宝对 S<sub>180</sub> 荷瘤小鼠 NK 细胞活性的影响。结果表明在靶效比 100 1 时,上述两组