

生殖毒性与剂量关系相符。A组中胎鼠的长度，体重均明显低于阴性对照组，表现为胚胎生长迟缓，它与畸胎、吸收胎的大量出现，都说明 10mg/kg CP 也具有明显的胚胎毒性。在本实验条件下，畸胎常与死胎、吸收胎同时出现，似乎表明了同类性质损害的不同程度的反应⁽⁵⁾。

每种致畸物都有在某器官的最敏感期内引起畸形，根据国内外的有关资料⁽²⁾和本实验结果，可以认为 10mg/kg 是 CP 的最小致畸剂量，同时，由于 CP 的致畸带非常狭窄，稍低于或高于该值，都可能得不致畸结果⁽²⁾，因此，10mg/kg 是比较适合的致畸剂量。

在胚胎器官形成期这一致畸敏感期内给药日期不同，产生的胎鼠各器官的致畸敏感期也不同。Wilson 认为⁽⁵⁾第 9-11 天为脑和神经器官的致畸敏感期，其中第 10 天为最敏感期，骨骼为 10-12 天，心脏和主动脉弓为 10-12 天，而泌尿生殖系统则为 14-16 天。在本次实验中，B 组（10、11 两天连续给药），出现了大量的吸收胎和死胎，而无活胎率

存，可能是两次给药剂量使受损伤的细胞大幅度增加，导致胚胎死亡，从而掩盖了致畸作用的显现。A组亦出现部分死胎和吸收胎，但多数胚胎仍存活，并伴有各种畸形产生，主要表现为脑部组织和骨骼的畸形及胎鼠的发育迟缓，这与 Wilson 等的文献报道是一致的。

参考文献

1. Manson JM, et al. Teratology Test Method of Laboratory Animals. In : Hayes AW , et al eds. Principles and Methods of Toxicology. Raven Press, 1982, 141-184.
 2. Mirker PE. *Teratogen Carcinogen Mutagen*, 1985, 5(2) : 75.
 3. Schardein JL. Approaches to define the relationship of maternal and development toxicity. *Teratogen Carcinogen Mutagen*, 1987, 7 : 255-271.
 4. Khera KS. Maternal toxicity : A. Possible etiological factor in embryo-fetal deaths and fetal malformations of rodent-rabbit species. *Teratology*, 1985, 31 : 129-153.
 5. 李寿祺. 卫生毒理学基本原理和方法. 四川科学出版社, 1987 : 171, 175.

XXXXXX XXXXXXXX XXXXXXXX XXXXXXXX XXXXXXXX XXXXXXXX XXXXXXXX XXXXXXXX

癌变·畸变·突变 1994年第6卷第6期

兴安升麻总皂甙对丝裂霉素C诱发人外周血淋巴细胞 SCE 频率的影响

林 新 蔡有余¹ 肖培根

中国医学科学院药用植物资源开发研究所 北京 100094 ¹中国医学科学院实验动物研究所 北京
100021

摘要 选择正常健康人为对象,研究兴安升麻总皂甙对丝裂霉素C(MMC)诱发人外周血淋巴细胞姐妹染色单体互换(Sister Chromatid Exchange,SCE)频率的影响。实验分为 $10.94\mu\text{g}/\text{ml}$ 、 $43.75\mu\text{g}/\text{ml}$ 、 $175.0\mu\text{g}/\text{ml}$ 三个升麻剂量组,DMSO溶剂对照组,MMC阳性对照组和空白对照组,比较不同浓度兴安升麻剂量组,对MMC诱发体外人外周血细胞SCE频率的差异。结果表明,MMC加兴安升麻组SCE频率与对照组比较,

有显著统计学意义的改变($P<0.001$)，提示兴安升麻是个潜在的抗突变剂。

关键词 兴安升麻；SCE频率；抗突变；丝裂霉素C(MMC)；突变

THE EFFECT OF CIMICIFUGA DAHURICA SAPONINS ON SCE FREQUENCY INDUCED BY MMC IN PERIPHERAL LYMPHOCYTES OF HUMAN

Lin Xin, Cai Youyu¹ and Xiao Peigen

Institute of Medicinal Plant Development, Chinese Academy of Medical Sciences, Beijing 100094, ¹Institute of Laboratory Animal Sciences, Chinese Academy of Medical Sciences, Beijing 100021.

Abstract The effect of *Cimicifuga dahurica* Saponins on SCE frequency induced by MMC in peripheral lymphocytes of healthy human was studied. There were six experimental groups, i. e. 10.94 μ g/ml, 43.75 μ g/ml, 175.0 μ g/ml *Cimicifuga dahurica* Saponins, DMSO control group, MMC positive control group and negative control group, compared with each of three control groups, all three *Cimicifuga dahurica* Saponins groups showed dramatic changes ($P<0.001$). The fact that *Cimicifuga dahurica* Saponins effectively inhibits the SCE frequency induced by MMC in peripheral lymphocytes of normal human indicated that *Cimicifuga dahurica* Saponins is a potential antimutagenic agent.

Key words *Cimicifuga dahurica*; Sister Chromatid Exchange-frequency; Mitomycin C(MMC); Mutagenesis; Anti-mutagenesis.

兴安升麻(*Cimicifuga dahurica*)为毛茛科植物，以根状茎入药，其传统疗效为解“毒”，即对中医辩证定性为“毒”的情况，如“温毒”、“火毒”、“疫毒”和误食某些食物或药物等情况均有一定的解毒功效⁽¹⁾。现代医学研究表明兴安升麻具有较强的抗炎⁽²⁾，抗突变⁽³⁾作用。为了进一步从细胞染色体水平阐述其抗突变作用，进行了人体外周血细胞姐妹染色单体交换(SCE)试验。

材料和方法

1. 药品 兴安升麻总皂甙(*Cimicifuga dahurica* Saponins, Cd-S)由本所化学室提供，为棕黑色固体粉末。用时用DMSO配制，终浓度分别为10.94 μ g/ml、43.75 μ g/ml、175.00 μ g/ml。丝裂霉素C(MMC)为Sigma公司产品，终浓度为0.5 μ g/ml。

2. 细胞培养与实验处理，将RPMI 1640培养液(FBS20%， PHA0.4mg/ml)分装入12只25ml培养瓶，每瓶含培养液5ml，将采集的正常人静脉血(肝素抗凝)无菌条件下接种于培养基内，每瓶400ml，轻轻摇匀，37℃温箱培养26h后，从温箱中取出，将12只培养瓶分成6组，3个对照组和3个升麻实验组，对照组每组2瓶，分为空白对照组，DMSO对照组和MMC阳性对照组。实验组3瓶分别加100 μ l兴安升麻总皂甙(Cd-S)液，终浓度分别为10.93 μ l/ml、43.75 μ g/ml、175 μ g/ml，同时加MMC(5 μ g/ml)100 μ l。实验组另外3瓶只加相同浓度的兴安

升麻皂甙液。对照组和实验组于无菌条件下，每瓶加5-溴脱氧尿嘧啶核昔(5-BUDR)50 μ g，混匀后于37℃温箱中继续培养至70h(终止培养前2h)，向各培养液中加入5 μ g/ml秋水仙素100 μ l，其终浓度为0.1 μ g/ml，使细胞分裂停止于中期，于37℃温箱中继续培养2h。

3. 按常规方法制备染色体标本，SCE分化染色和SCE计数如前文⁽⁴⁾。

结 果

单加兴安升麻皂甙(Cd-S)实验组外周血淋巴细胞SCE频率的分析，与各自空白对照组和DMSO对照组SCE频率比较，无统计学差异($P>0.05$)，与各自单加MMC阳性对照组SCE频率比较，均有非常显著统计学差异($P<0.001$)，见表1。兴安升麻总皂甙(Cd-S)加丝裂霉素C(MMC)实验组外

Tab 1. The effect of *Cimicifuga dahurica* Saponins on SCE frequency in peripheral lymphocytes of normal human

Group	MMC μ g/ml	Cd-S μ g/ml	Numbers of cell	SCE/cell \pm s
Negative control	0	0	25	9.41 \pm 1.863
DMSO control	0	0	25	9.68 \pm 1.725
MMC control	0.05	0	25	36.08 \pm 3.559
Cd-S	0	10.94	25	9.72 \pm 2.622*
	0	43.75	25	10.04 \pm 2.188*
	0	175.00	25	10.96 \pm 2.189*

Cd-S = *Cimicifuga dahurica* Saponins. * $P>0.05$ As compared with Negative control and DMSO control;
* $P<0.001$ As compared with MMC control group.

周血淋巴细胞SCE频率分析，与各自的空白对照组，DMSO对照组及单加MMC阳性对照组SCE频率比较，均有非常显著的统计学差异($P<0.001$)。随着兴安升麻皂甙(Cd

-S)剂量的增加，兴安升麻皂甙实验组SCE频率逐渐减少，剂量—效应呈负相关($r = -0.7194$, $P<0.05$)，见表2及图1。

Tab 2. The inhibitory effect of *Cimicifuga dahurica* Saponins on SCE frequency induced by MMC in peripheral lymphocytes of normal human

Group	MMC μ g/ml	Cd-S μ g/ml	Numbers of cell	SCE/cell \pm s
Negative control	0	0	25	8.00 \pm 2.500
DMSO control	0	0	25	8.33 \pm 2.872
MMC control	0.05	0	25	31.64 \pm 6.658
Cd-S	0.05	10.94	25	20.16 \pm 3.671*
	0.05	43.75	25	16.08 \pm 3.265*
	0.05	175.00	25	13.40 \pm 2.799*

Cd-S = *Cimicifuga dahurica* Saponins. P<0.001 As compared with Negative control group, DMSO control group and MMC control group;

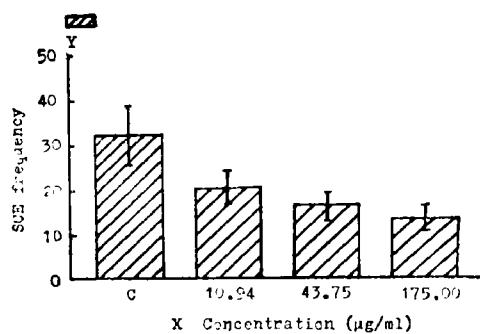


Fig 1. The inhibitory effect of *Cimicifuga dahurica* with different doses on SCE frequency induced by MMC in peripheral lymphocytes of normal human. C = MMC control group.

讨 论

SCE的机理虽尚未彻底搞清，但多数学者认为它是一种对DNA损伤的修复方式(重组修复)，从而可阻止基因的突变。它包括了DNA损伤引起的继发性修复和DNA合成的过程⁽⁵⁾。因此，SCE与基因突变有高度相关性⁽⁶⁾。它已被越来越广泛地用作一种快速检测致突变剂⁽⁷⁾和抗突变剂⁽⁸⁾的方法。兴安升麻皂甙实验组外周血淋巴细胞SCE频率分析表明，兴安升麻对健康人外周血淋巴细胞SCE频率均在正常范围内，表明兴安升麻皂甙本身在试验浓度范围，对染色体DNA无损伤作用，是个安全的临床常用药。

已有报道，MMC是一个很强的诱变剂，可诱发微核⁽⁹⁾、SCE频率升高及染色体畸变⁽¹⁰⁾。以兴安升麻皂甙为拮抗剂，观察它对MMC诱发人外周血淋巴细胞SCE频率的影响。兴安升麻皂甙加MMC实验组人外

周血淋巴细胞SCE频率分析表明，兴安升麻皂甙(Cd-S)有明显抑制MMC诱发人外周血淋巴细胞SCE频率。并随着兴安升麻皂甙剂量的提高，其抑制作用加强，剂量与SCE频率呈负相关($r = -0.7194 P < 0.05$)，提示兴安升麻皂甙是个潜在的抗突变剂，其作用机理可能与提高抗氧化酶和谷胱甘肽S-转移酶活性有关⁽¹¹⁾。

参 考 文 献

1. 方药中. 谈我对升麻的认识及临床运用经验. 辽宁中医杂志, 1981, 5(1): 32.
2. 柴田丸, 等. 生药[升麻]的药理研究——升麻的抗炎作用. 药学杂志, 1977, 8(7): 911.
3. 林新, 李革, 蔡有余, 等. 原位缺口翻译技术检测兴安升麻的抗突变作用. 癌变·畸变·突变, 1993, 5(4): 36.
4. 吴旻, 王秀琴. 一种改进的姊妹染色单体差别染色方法. 科学通报, 1980, 25: 239.
5. Lohman PHM, Vijg J, Vitterlinden AG, et al. DNA methods for detecting and analyzing mutation in vivo. Mutat Res, 1987, 181: 227-234.
6. 蔡世真, 薛京伦. 姊妹染色单体交换——国际姊妹染色单体交换讨论会. 国外医学遗传学分册, 1984, 7(3): 111-121.
7. 蔡有余, 刘裕, 韩香玉, 等. 棉酚经加鼠肝S-9组份前, 后诱发人体淋巴细胞SCE频率的研究. 解剖学报, 1985, 16(2): 209-216.
8. 宋为民. 香菇药理新观——抗变效应. 中国食用菌, 1991, 10(2): 7.
9. 黄建, 曹佳, 杨录军, 等. 丝裂霉素C诱发小鼠外周血和骨髓细胞微核率的比较. 癌变·畸变·突变, 1991, 3(4): 27-31.
10. 王亚平, 马国建, 薛开先. 丝裂霉素C诱发染色体畸变的量效关系与特异性断裂点的观察. 癌变·畸变·突变, 1990, 2(3): 11-14.
11. 欧阳卓志, 王红兵, 李革, 等. 临床前药物毒理检测系统的建立和应用. 1992: 113.