

三尖杉酯碱诱发染色体畸变和形成微核的作用

黄念君、陈世明 (卫生部药品生物制品检定所, 北京 100050)

提要 三尖杉酯碱抑制 CHL 细胞的有丝分裂, 1/4 ID_{50} 剂量可诱发染色单体断裂畸变达 47%。还诱发小鼠骨髓有核细胞的核碎裂, 引起多色性红细胞和有核细胞出现微核, MNPCE 达 1.8%。故三尖杉酯碱具有明显的遗传毒性和潜在致癌性。

关键词 三尖杉酯碱; 突变; 致突变试验; 中国仓鼠肺细胞; 染色体畸变; 细胞核试验

三尖杉酯碱(harringtonine)是从三尖杉属植物(*Cephalotaxus*)中提取的抗癌新药, 对急性非淋巴白血病具有一定的疗效⁽¹⁾。本文用体内外致突变法检测和评价了三尖杉酯碱的遗传毒性和潜在致癌性, 并试图为评价抗肿瘤药物提供一种毒理学指标。

材 料 和 方 法

中国仓鼠肺(CHL)细胞的染色体畸变试验⁽²⁾ 细胞置 37°C 含 Eagle MEM(日本制药株式会社制)及 10%小牛血清培养液中, 培养 3 d 后分别加入不同剂量药物, 作用 48 h 后, 固定, 染色, 求 ID_{50} 。以此剂量作为染色体畸变试验的最高剂量, 加药 24 和 48 h 后分别收获细胞,

按常规制备染色体, 镜检。观察 100 个中期细胞的染色体畸变数。正常 CHL 细胞染色体自发畸变率 < 4%。化学物质诱发畸变率 > 10%, 具有剂量依赖关系或虽无剂量依赖关系, 但某一测试点可重复也判断为阳性。

微核试验^(3,4) 以三尖杉酯碱 5, 2.5, 1.25, 0.625 mg/kg 给 NIH 纯系♂鼠 ip, 每组 6 只, 给药后 24 h 取股骨骨髓, 离心沉淀, 涂片镜检。部份作吖啶橙染色。以 4-氧化 硝基喹啉作阳性对照。分别计数 1000 个多色性红细胞中带微核的细胞数(MNPCE), 经统计判断结果。

结 果

诱发 CHL 细胞染色体的畸变 三尖杉酯碱的 ID_{50} 为 0.78 $\mu\text{g/ml}$ 。此剂量可全部抑制 CHL 细胞的有丝分裂。当浓度降至 0.39 $\mu\text{g/ml}$ 时偶见分裂相, 有丝分裂仍受抑制。以 0.195 $\mu\text{g/ml}$ 才出现明显染色体畸变, 单体断裂为主(图 1, 见后铜版图 4), 易位少见, 并偶见环状染色体形成。24 h 畸变率为 20%, 48 h 高达 47%。并有明显的剂量依赖关系(表 1)。阳性对照剂二乙基亚硝酸胺在存在肝微粒体酶复合因

Tab 1. Chromosome aberration test of Chinese hamster lung cell line for harringtonine (HAR) and diethylnitrosamine (DEN). Type b - break, g - gap, p - polyploid, r - ring, t - translocation

Drug	Concn ($\mu\text{g/ml}$)	Time (h)	Chromosomal aberrations		
			%	Type	Scale
DEN	4000 + $S_{9\text{mix}}$	24	15	bt	+
HAR	saline	24	0	—	—
	0	24	0	—	—
	0.05	24	11	bgpt	+
	0.10	24	14	bpt	+
	0.20	24	20	bp	++
	saline	48	2	p	—
	0	48	0	—	—
	0.05	48	19	bt	+
	0.10	48	34	brt	++
	0.20	48	47	bpt	++

子的条件下获阳性反应。

微核试验 三尖杉酯碱以 5, 2.5 mg/kg 对 NIH 小鼠骨髓细胞已有抑制作用, 使骨髓含微核的多色性红细胞和有核细胞明显增加。以 1.25 mg/kg 时 MNPCE 为 1.8% (图 2, 见后铜版图 4), 0.63 mg/kg 时 MNPCE 为 1.5%, 而生理盐水对照仅为 0.1% ($p < 0.01$)。阳性对照剂 4-氧化硝基喹啉呈阳性反应, MNPCE 高达 2.2%。

在吖啶橙特异染色的涂片, 骨髓有核细胞核碎裂多见, 碎片较大和细胞核染色一样, 呈圆形或椭圆形或不规则状, 也属于微核明显增加。部分细胞由于染色变浅, 显示细胞内 DNA 和 RNA 减少。

讨 论

本文体内外 实验证明 三尖杉 酯碱对 CHL

细胞能诱发相当明显的染色单体畸变, 对骨髓细胞能诱发含微核的多色性红细胞增加。因此它是一种不需要肝微粒体酶活化的直接致突变剂, 具有明显遗传毒性和潜在致癌性, 高三尖杉酯碱也显示这种毒性。观察药物抗肿瘤效应的同时, 应加强致突变的测试, 了解其遗传毒性和潜在致癌性, 权衡利弊选用之^(7,8)。一般取对数生长期的细胞可获取相当多的有丝分裂相, 但对有丝分裂抑制剂必需同时考虑细胞生长速度、剂量和畸变这三者的关系, 否则会由于有丝分裂的抑制而无法观察或得出假阴性结果。本文通过多次降低浓度, 才显示三尖杉酯碱所诱发的畸变和微核, 收到良好效果。

以 ID_{50} 为基准可获取相当高的染色体畸变率^(5,6)。因培养条件等影响, 二者可相差 1-2 个剂量级, 因此需采用 3 个以上测试浓度和必要的重复。三尖杉酯碱的 ID_{50} 较宽, 可能与有丝分裂的抑制和培养条件有关。

参 考 文 献

- 1 张志义, 主编. 恶性肿瘤化学治疗学. 第 1 版. 上海: 上海科学技术出版社, 1981: 18
- 2 黄念君. 遗传 1984; 6: 26
- 3 黄念君、陈世明. 药学通报 1985; 20: 714
- 4 Yamamoto K, Kikuchi Y. *Mutat Res* 1981; 90: 163
- 5 Ishidate M, Odashima S. *Ibid* 1977; 48: 337
- 6 Ishidate M, Sofuni T, Yoshikawa K. *Gann* 1981; 27: 95
- 7 Hayashi M, Sofuni T, Ishidate M. *Mutat Res* 1982; 105: 253
- 8 黄念君. 环境科学 1984; 5 (3): 58

Effects of harringtonine on induced chromosome aberrations and micronuclei

HUANG Nian-jun, CHEN Shi-ming

(National Institute For The Control of Pharmaceutical and Biological Products, Ministry of Public Health, Beijing 100050)

ABSTRACT The genetic toxicity and carcinogenic potential of harringtonine, a new antineoplastic drug, have been assessed by Chinese hamster lung cell chromosomal aberration test and micronucleus test in mice. Harringtonine induced the dose-dependent chromosomal aberrations *in vitro*. The highest rate of chromosomal aberrations was 47% at 0.2 $\mu\text{g/ml}$ for 48 h. It also induced nuclear fragmentation of hemocytoblast of bone marrow in mice. The

number of micronucleated polychromatic erythrocytes was remarkably increased in 1.8% cells at 1.25 mg/kg for 24 h. Obviously harringtonine showed a genetic toxicity and carcinogenic potential.

KEY WORDS harringtonine; mutation; mutagenicity tests; Chinese hamster lung cells; chromosome aberrations; cell nucleus tests



Fig 1. CHL cell treated with harringtonine 0.2 $\mu\text{g/ml}$ for 48 h. Arrows = multiple chromatid breaks.

(See p 173)

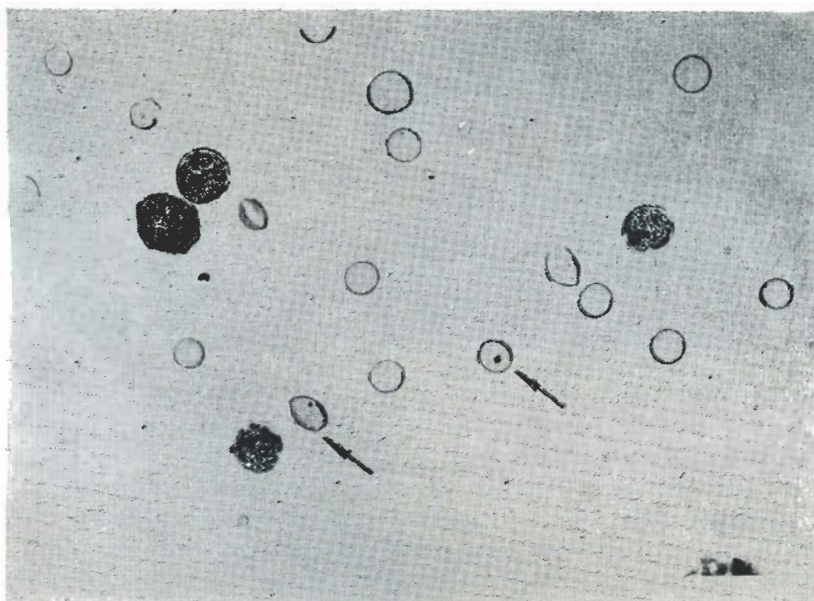


Fig 2. Micronucleated polychromatic erythrocytes (arrows) in mice treated with harringtonine 1.25 mg/kg for 24 h, Giemsa stain,

(See p 174)