

用放射自显影术研究冬凌草甲素对 L 1210 细胞 DNA, RNA 和蛋白质合成的影响

王绵英、林 晨、张覃沐 (河南省医学科学研究所, 郑州 450052)

提要 冬凌草甲素对 $[^3\text{H}]$ 脱氧胸苷(TdR)、 $[^3\text{H}]$ 尿苷(UR)和 $[^3\text{H}]$ 亮氨酸(Leu)参入 DNA、RNA 和蛋白质均有明显抑制作用。对 $[^3\text{H}]$ TdR 参入的抑制于 2-3 h 达谷点, 但对 $[^3\text{H}]$ UR 和 $[^3\text{H}]$ Leu 参入的抑制于 9 h 达谷点。提示该药对 DNA 合成的抑制先于 RNA 和蛋白质。

关键词 放射自显影术; 脱氧核糖核酸; 冬凌草甲素; 蛋白质; 核糖核酸; 亮氨酸; 胸腺嘧啶脱氧核苷; 尿嘧啶核苷; 近交 DBA/2 小鼠; 近交 C 57 BL 小鼠

我们在研究冬凌草甲素(oridonin)对 ECA, S 180 和 L 1210 细胞动力学的影响之后, 采用氚标记特异前体物参入的放射自显影术研究该药对 L 1210 细胞 DNA, RNA 和蛋白质合成等细胞周期中主要生化活动的影响, 以期为临床合并用药提供理论依据。

材 料

小鼠白血病 L 1210 用 DBA/2 小鼠传代, 每 7 d 传一代。实验用 DBA/2 和 C 57 BL 远交 F1, ♀ ♂ 兼用, 每次接种细胞数 $1 \times 10^6/0.2$ ml/鼠。

冬凌草甲素为郑州化学制药厂生产, 批号 800601, $[^3\text{H}]$ TdR(比活性 0.67 TBq/mmol), $[^3\text{H}]$ UR(比活性 1.11 TBq/mmol), $[^3\text{H}]$ Leu(比活性 1.99 TBq/mmol), 均系中国科学院上海原子能研究所出品。核-4 乳胶系中国科学院 401 厂提供。

方法和结果

对照组 ip 6% 丙二醇 0.2 ml/鼠, 用药组

ip 冬凌草甲素 15 mg/kg。所有涂片均用甲醇固定, 涂核-4 乳胶, 4°C 曝光 1 wk, 显影, 定影, Giemsa 染色。镜检 1000 个细胞中标记细胞数即标记指数 LI(%). 每张涂片随机取 100 个标记细胞统计平均颗粒计数 MGC。每张涂片均有两人分别镜检计数, 取其均值。

对 DNA 合成的影响 取 d 6 的 L 1210 小鼠 21 只, 分别 ip 丙二醇和冬凌草甲素, 药后不同时间分别取 3 只小鼠 ip $[^3\text{H}]$ TdR 7.4 GBq/鼠, 1 h 后取腹水涂片作放射自显影。镜检求出 LI 和 MGC, 并对时间作图 1. $[^3\text{H}]$ TdR 参入 L 1210 细胞的放射自显影照片见图 2 (见图版 4)。如图 1 所示, LI 和 MGC 分别在药后

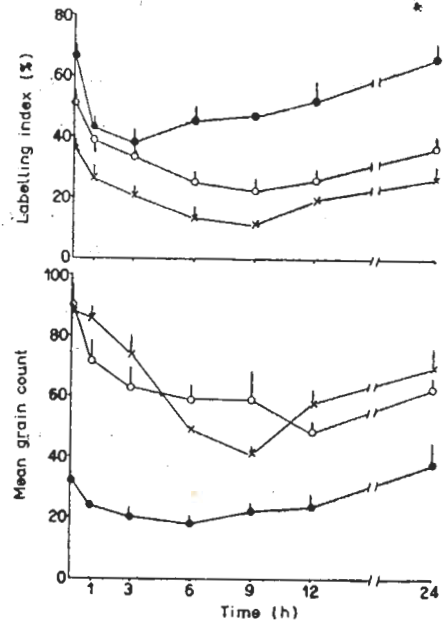


Fig 1. Effect of oridonin 15 mg/kg on the labelling index (%) and mean grain count of incorporation of $[^3\text{H}]$ TdR (●), $[^3\text{H}]$ Leu (○) and $[^3\text{H}]$ UR (×) into L1210 cells.

3 h 和 6 h 达谷值, 为对照组的 56% 和 55% ($p < 0.05$).

对 RNA 和蛋白质合成的影响 依上法, 采用 [^3H]UR, [^3H]Leu 参入的放射自显影术研究冬凌草甲素对 L 1210 细胞 RNA 和蛋白质合成的影响, 结果由图 1 看出, 在 [^3H]UR 参入实验中, LI 和 MGC 均于药后 1 h 开始下降, 9 h 达谷值、分别为对照组的 32% ($p < 0.001$) 和 47% ($p < 0.001$). 至 24 h 尚未完全恢复.

[^3H]Leu 参入实验中, LI 和 MGC 分别于药后 9 h 和 12 h 达谷值. 此时两者分别为对照组的 55% ($p < 0.05$) 和 44% ($p < 0.01$), 24 h 尚未恢复.

讨 论

用特异前体物 [^3H]TdR, [^3H]UR, [^3H]Leu 参入的放射自显影术研究冬凌草甲素对 DNA, RNA 和蛋白质合成的影响. LI 表示参与合成 DNA、RNA 和蛋白质的细胞数, MGC 表示每个参与合成三大物质的细胞之合成能力. 在本文条件下, 涂片本底颗粒很少, 甚至没有颗粒. 镜检时每个含 6 个颗粒以上者为标

记细胞, 由于该方法具有定位准确, 灵敏度高等优点, 故采用此项技术是可靠的. 但仍具有操作烦琐、实验周期长, 工作量大等缺点.

通过本项研究发现, 冬凌草甲素可迅速地抑制 DNA 合成, 也能抑制 RNA 和蛋白质合成. 但其对 DNA 的抑制达到谷值的时间先于 RNA 和蛋白质合成抑制, 对后两者抑制的程度则大于 DNA, 推测该药对 DNA 合成的抑制可能是原发作用.

参 考 文 献

- 1 王锦英, 林 晨, 张覃沐. 冬凌草甲素对小鼠白血病 L 1210 细胞动力学的影响. 中国药理学报 1985; 6: 195
- 2 Pardee AB, Dubrow R. Control of cell proliferation. *Cancer* 1977; 39: 2747
- 3 薛社普. 同位素技术及其在生物医学中的应用. 第 1 版. 北京: 科学出版社, 1977; 149-60
- 4 Mendelsohn ML. Chronic infusion of tritiated thymidine into mice with tumors. *Science* 1962; 135: 213
- 5 潘震昆, 韩 锐, 王永潮. 三尖杉酯碱对白血病 L 1210 细胞杀伤动力学的研究. 生物化学与生物物理学报 1980, 12: 13

Acta Pharmacologica Sinica 1987 Mar; 8 (2): 164-165

Effects of oridonin on DNA, RNA and protein syntheses of leukemia L 1210 cells studied by autoradiography

WANG Mian-Ying, LIN Chen, ZHANG Tan-Mu (Henan Medical Institute, Zhengzhou 450052)

ABSTRACT The incorporation of [^3H]TdR into DNA of L 1210 cells was inhibited by oridonin *in vivo*. The labelling index and the mean grain count decreased by 56 and 55%, respectively.

The incorporation of [^3H]UR into RNA of L 1210 cells was inhibited by oridonin in mice. The labelling index and the mean grain count were lowered to 32 and 47%, respectively, of the controled value in 9 h.

The incorporation of [^3H]Leu was also inhibited by oridonin. The labelling index

and the mean grain count fell to 55 and 44%, respectively, of the controled value in mice.

These results indicate that oridonin can inhibit DNA, RNA and protein syntheses, and the inhibition of DNA syntheses was more prominent and earlier than that of RNA and protein syntheses.

KEY WORDS autoradiography; DNA; oridonin; protein; RNA; [^3H] leucine; [^3H]thymidine; [^3H]uridine; inbred DBA mice; inbred C 57BL mice