

## 乙双吗啉的致突变作用

陈森清, 薛开光, 吴建中, 马国建 (江苏省肿瘤防治研究所, 南京 210009, 中国)

### Mutagenic effects of bimolane

CHEN Sen-Qing, XUE Kai-Xian, WU Jian-Zhong, MA Guo-Jian (*Jiangsu Institute of Cancer Research, Nanjing 210009, China*)

**AIM:** To study the genotoxicity of bimolane. **METHODS:** Bimolane 5, 10, and 15 mg·kg<sup>-1</sup> was injected ip in mice to investigate its effects on chromosome/chromatid aberrations of bone marrow cells. Mutagenic effects on TA97, TA98, TA100, TA102 were studied in Ames test. **RESULTS:** Bimolane 5, 10, and 15 mg·kg<sup>-1</sup> induced of chromosome/chromatid aberrations, and the frequency of aberration cells (ACF) induced by bimolane increased markedly ( $P < 0.01$ ); Bimolane without S<sub>9</sub> showed mutagenic to TA98 and TA102 at the concentrations of 100 and 150 μg/plate in Ames test. **CONCLUSION:** Bimolane is a kind of genotoxic compound.

**KEY WORDS** bimolane; mutagenicity tests; chromosome aberrations; bone marrow

**目的:** 研究乙双吗啉的遗传毒性。 **方法:** 乙双吗啉5, 10和15 mg·kg<sup>-1</sup>, 腹腔注射观察诱发的小鼠骨髓染色体/染色单体畸变; 应用 Ames 试验观察对测试菌株 TA97, TA98, TA100, TA102 的诱变作用。 **结果:** 乙双吗啉显著诱发小鼠骨髓染色体/染色单体畸变, 其诱发的畸变细胞率(ACF)显著增加( $P < 0.01$ ); 在不加 S<sub>9</sub>条件下, 乙双吗啉对 TA98, TA102 有一定的诱发回复突变的作用。 **结论:** 乙双吗啉是一种遗传毒物质。

Received 1994-08-22

Accepted 1995-04-26

**关键词** 乙双吗啉; 诱变性试验; 染色体畸变; 骨髓

乙双吗啉(bimolane, AT-1727)是由中国科学院上海药物研究所合成的一种新抗癌药, 是乙亚胺与丙亚胺的同系化合物<sup>[1]</sup>, 临床多用来治疗银屑病, 但长期服用可诱发治疗相关性白血病, 从而引起对其遗传毒性的关注<sup>[2-4]</sup>。为探讨其致突变作用, 本文研究了乙双吗啉诱发小鼠骨髓染色体畸变作用及对 TA97, TA98, TA100, TA102 的诱变作用。

### MATERIALS AND METHODS

乙双吗啉由国营南京第三制药厂生产, 实验前4℃冰箱保存。

**小鼠骨髓染色体畸变试验** 昆明种小鼠25只, 20±2 g, 随机分成5组, 每组5只。其中: 阴性对照组 ip 生理盐水, 阳性对照组一次性 ip 丝裂霉 C 0.2 mg·kg<sup>-1</sup>, 其它3组分别一次性 ip 乙双吗啉5, 10, 20 mg·kg<sup>-1</sup>。抽取骨髓细胞前4 h ip 秋水仙素160 μg/只, 拉颈处死小鼠, 按常规法制备中期染色体标本<sup>[5]</sup>, 每组分析300个完整的中期相细胞, 记录各类染色体及染色单体畸变。计算畸变细胞率(ACF), 即具有染色体/染色单体畸变的细胞占被检细胞的%。

**Ames 试验** 选用组氨酸营养缺陷型鼠伤寒沙门氏菌菌株 TA97, TA98, TA100, TA102为测试菌株(上海市肿瘤所提供)。采用预培养法<sup>[6]</sup>, 分别在加和不加代谢活化系统 S<sub>9</sub>(上海市肿瘤所提供)条件下进行。阴性对照用蒸馏水, 溶剂对照为 Me<sub>2</sub>SO, 阳性对照物: -S<sub>9</sub>; TA98 正定霉素 (2 μg/皿), TA100

叠氮化钠 (1.5 μg/皿), TA102 丝裂霉素 C (0.5 μg/皿); +S<sub>9</sub>: TA97, TA98, TA100 为 2-AF (10 μg/皿), TA102 为 1,8-二羟基蒽醌 (20 μg/皿). 乙双吗啉剂量分别为 50, 100, 150, 200, 250 μg/皿. 在 37 °C 水浴中, 菌液与不同剂量乙双吗啉混匀, 作用 20 min, 加入上层培养基混匀, 倒入加有底层培养基平皿中铺匀, 37 °C 培养 48 h 后记录回变菌落数.

**统计方法** 小鼠骨髓染色体畸变试验: 运用 *t* 检验分析组间 ACF 的统计学差异; Ames 试验: 突变率 = 诱发回变数/自发回变数 > 2, 判定为阳性; < 2, 则为阴性.

**RESULTS**

ip 乙双吗啉显著诱发小鼠中期相染色体畸变(包括各类染色体及染色单体断裂交换等), 其畸变细胞率 ACF 与对照组相比, 各剂量组均有明显上升 (*P* < 0.01); 并且, ACF 呈剂量依赖性增加 (Tab 1).

乙双吗啉在不加 S<sub>9</sub> 条件下, 当剂量为 100, 150 μg/皿 时, 对于 TA98, TA102, 突变率 (诱发回变数/自发回变数) > 2; 加 S<sub>9</sub> 条件下, 四种菌株检测结果均为阴性. 乙双吗啉

**Tab 1. Induction of chromosome/chromatid aberrations in 300 metaphase cells by bimolane ip in mice. n = 5,  $\bar{x} \pm s$ . \**P* < 0.01 vs control.**

Treatment/ mg·kg <sup>-1</sup>	Chromatid aberration			Chromosome aberration			ACF / %
	gap	break/ fragment	dele- tion	gap	break/ fragment	ring	
0 (saline)	1	4	0	2	7	0	4.67
Mitomycin C 0.2	8	16	2	10	33	1	22.33 <sup>c</sup>
Bimolane 5	6	11	2	6	41	0	21.67 <sup>c</sup>
10	4	27	0	4	38	0	24.00 <sup>c</sup>
20	10	16	0	7	51	2	27.33 <sup>c</sup>

达 250 μg/皿 时, 对四种菌株均有明显的抑制作用, 表明它有很强的细胞毒性 (Tab 2).

**DISCUSSION**

长期服用乙双吗啉可诱发治疗相关性白血病. 银屑病患者接受乙双吗啉及其同系物-丙亚胺治疗可发生继发性白血病, 对患者进行细胞学检查, 均发现特异性染色体易位<sup>(7-9)</sup>. 因此, 乙双吗啉通过引起染色体畸变而诱发白血病<sup>(8)</sup>. 鉴于以上原因, 引起了基础研究对其遗

**Tab 2. Effects of bimolane on TA97, TA98, TA100, TA102 in Ames test (preincubation). n = 4,  $\bar{x} \pm s$ . \*Diagnostic mutagens: -S<sub>9</sub>: TA98 Daunomycin (2 μg/plate), TA100 Sodium azide (1.5 μg/plate), TA102 Mitomycin C (0.5 μg/plate); +S<sub>9</sub>: TA97, TA98, TA100 are 2-AF (10 μg/plate), TA102 1,8-dihydroxy-anthraquinone (20 μg/plate). <sup>a</sup>MR (mutation rate) > 2; <sup>b</sup>MR < 2.**

Groups/ μg/plate	TA97		TA98		TA100		TA102	
	-S <sub>9</sub>	+S <sub>9</sub>	-S <sub>9</sub>	+S <sub>9</sub>	-S <sub>9</sub>	+S <sub>9</sub>	-S <sub>9</sub>	+S <sub>9</sub>
Spontaneous reversion	146 ± 12.7	171 ± 11.4	28 ± 3.8	31 ± 4.2	136 ± 2.1	128 ± 8.5	440 ± 6.4	440 ± 11.8
Bimolane								
50	167 ± 2.1 <sup>c</sup>	128 ± 18.4 <sup>c</sup>	48 ± 6.0 <sup>c</sup>	45 ± 7.1 <sup>c</sup>	162 ± 21.5 <sup>c</sup>	157 ± 12.7 <sup>c</sup>	711 ± 47.6 <sup>c</sup>	413 ± 17.0 <sup>c</sup>
100	149 ± 1.4 <sup>c</sup>	162 ± 9.9 <sup>c</sup>	58 ± 5.2 <sup>b</sup>	56 ± 1.4 <sup>c</sup>	240 ± 12.0 <sup>c</sup>	145 ± 5.7 <sup>c</sup>	772 ± 37.8 <sup>c</sup>	472 ± 44.6 <sup>c</sup>
150	172 ± 5.7 <sup>c</sup>	144 ± 5.7 <sup>c</sup>	56 ± 4.5 <sup>b</sup>	51 ± 7.1 <sup>c</sup>	179 ± 11.9 <sup>c</sup>	154 ± 5.7 <sup>c</sup>	967 ± 55.5 <sup>b</sup>	761 ± 33.3 <sup>c</sup>
200	127 ± 15.6 <sup>c</sup>	178 ± 4.9 <sup>c</sup>	cytotoxic	60 ± 2.1 <sup>c</sup>	cytotoxic	153 ± 3.5 <sup>c</sup>	989 ± 43.2 <sup>b</sup>	669 ± 28.3 <sup>c</sup>
250	cytotoxic	cytotoxic		cytotoxic		cytotoxic	cytotoxic	cytotoxic
Positive control <sup>a</sup>	>500	>500	>200	>200	>500	>500	>2000	>2000

传毒性的关注。

紫露草四分体微核检测表明,乙双吗啉有强遗传毒性<sup>[2]</sup>,我们进一步在哺乳动物测试中进行了一系列研究,结果表明,乙双吗啉可诱发人培养淋巴细胞各类染色体畸变与微核形成<sup>[3]</sup>;应用胞质分裂阻滞法表明乙双吗啉在胞质分裂阻滞的双核细胞及未阻滞的单核细胞中均显著诱发微核<sup>[10]</sup>;乙双吗啉还可抑制细胞周期的演进,同时抑制胞质分裂,导致双核及多核细胞的形成<sup>[11]</sup>。本文在已有实验的基础上,应用小鼠骨髓染色体畸变试验及 Ames 试验,进一步探讨乙双吗啉的致突变机理。结果表明,乙双吗啉同样可显著诱发小鼠骨髓细胞染色体畸变,与体外试验<sup>[3]</sup>一致;Ames 试验中,乙双吗啉仅在不加 S<sub>9</sub>条件下对 TA98, TA102 有一定的诱变性。TA98 用以检测移码型突变剂,TA102 作为其它三种菌株的补充菌株<sup>[12]</sup>,由此推测乙双吗啉可能直接诱发移码突变,而移码突变是 DNA 断裂后由 DNA 片段的缺失、插入等引起的,这也是染色体重排、缺失等的基础。总结本实验室研究结果<sup>[3,10,11]</sup>,结合临床研究<sup>[7-9]</sup>看来,乙双吗啉诱发人体白血病可能主要是通过诱发染色体畸变形成的;乙双吗啉在不加 S<sub>9</sub>时,对 TA98, TA102 有诱变性,而加 S<sub>9</sub>时,检测结果为阴性,另外,未加活化系统的一系列体外试验结果<sup>[3,10,11]</sup>也表明,乙双吗啉是一种直接诱变剂。

## REFERENCES

1 Ren YF, Shu HL, Zhang TM, Chen ZY, Lin C. Studies

on biomolane (AT-1727), a potential anticancer drug. Sci Bull 1980; 25: 189-90.

- 2 Wang YZ, Li JX, Yan MR, Lin WS, Guo XY. Preliminary study on the mechanism of biomolane induced leukemia. Chin J Hematol 1989; 10: 19-21.
- 3 Xue KX, Wang S, Ma GJ, Wang GQ, Wu JZ. Studies on chromosomal aberration and micronucleus formation in human lymphocytes induced by biomolane. Chin J Hematol 1991; 12: 321-2.
- 4 Xue KX, Ma GJ, Wang S, Wang YP. Nuclear anomaly test in human lymphocytes *in vitro*. Acta Pharmacol Sin 1992; 13: 464-7.
- 5 Xue KX, Zhou P, Wang DB, Wang XC. A preliminary cytogenetic study on the macrophage line MMC-1. Acta Genet Sin 1983; 10: 493-7.
- 6 Maron DM, Ames BN. Revised methods for the Salmonella mutagenicity test. Mutat Res 1983; 113: 173-215.
- 7 Caffrey EA, Daker MG, Horton JJ. Acute myeloid leukaemia after treatment with razoxane. Br J Dermatol 1985; 113: 131-4.
- 8 Lu DR, Xue YQ, Guo Y, Lin BJ. Cytogenetic study of therapy-related leukemia caused by biomolane for the treatment of psoriasis - A report of 5 cases. Jiangsu Med J 1989; 15: 597-8.
- 9 Xue YQ, Lu DR, Guo Y, Lin BJ. Chromosome study on patients with secondary leukemia following biomolane therapy for psoriasis. Chin J Hematol 1994; 15: 12-4.
- 10 Wu JZ, Xue KX, Ma GJ. Studies on effects of biomolane on micronucleus formation and cytokinetics in human lymphocytes cultured *in vitro* by means of cytokinesis-block. Hereditas (Beijing) 1994; 16: 10-2.
- 11 Xue KX, Ma GJ, Wu JZ. Effects of biomolane on cell cycle and cytokinesis in human lymphocytes *in vitro*. Acta Pharmacol Sin 1994; 15: 87-9.
- 12 Levin DE, Hollstein M, Christman MF, Schwiers EA, Ames BN. A new Salmonella tester strain (TA102) with A-T base pairs at the site of mutation detects oxidative mutagens. Proc Natl Acad Sci USA 1982; 79: 7445-9.