

鼠伤寒沙门氏菌/微粒体诱变试验 对73种化学物质的致突变性测定

南充医专病理教研室 曾立成 张敦良 胡红一

自Ames⁽¹⁾全面介绍鼠伤寒沙门氏菌/微粒体诱变试验(即Ames试验)方法以来,此法已被广泛用于测定人类接触的化学物质在致癌与致突变性。由于其具有快速、简易、经济、特别是准确性高的特点,被认为是快速筛测化学致癌物的较优方法之一⁽²⁻⁴⁾。我室用此法筛测了以医药和实验室试剂为主的73种化学物质的致突变性,现报告如下。

材料与方法

一、试验菌株:采用Ames试验的鼠伤寒沙门氏菌(*Salmonella typhimurium*)组氨酸营养缺陷型突变菌株TA100、TA98和TA1537,个别对TA100非常敏感的物质,为便于计数,在渗入试验中用其次敏感亲株TA1535。所用菌于实验前按Ames原法鉴定⁽¹⁾,生物学特性符合实验要求。

二、培养基的配制:见参考文献⁽⁵⁾。

三、S₉的制备与S₉混合液的配制:见参考文献⁽⁶⁾。

四、主要化学物品:

1. 试剂:多氯联苯(从西安市供电所赠送的联苯电容器中获得),辅酶Ⅱ(BDH Chemicals Ltd Poole England),6-磷酸葡萄糖(Boehringer Mannheim GmbH, W-Germany),D-生物素(瑞士进口分装),L-组氨酸(中国科学院生物化学研究所)。

2. 待测物:均由医药公司与化学试剂公司购获。除甲基磺酸甲酯(MMS)、N-甲基-N-硝基-N-亚硝基胍(MNNG)、3,4-苯并芘[B(a)P]、黄曲霉毒素B₁(AFB₁)和丝裂霉素C为进口分装外,其余均为国产。圆弧青霉4、圆弧青霉346、杂色曲霉336和杂色曲霉911代谢产物由四川省卫生干部进修学院供给。

五、实验方法:

实验分两阶段进行,所有待测物首先用点试法进行初筛,然后将点试为阳性或可疑阳性物再作渗入试验和浓度反应曲线,以确定该物的致突变性能。点试验,每物、每菌、每浓度级作2~3个试点;渗入法和剂量反应曲线,每物、每菌、每浓度级作3~5个平皿。凡直接法为阳性者,一般不再作间接法试验。

具体实验操作方法基本按Ames⁽¹⁾和汉堡会议⁽⁴⁾推荐方案进行,间接渗入采用顶孵法。每次实验均设自发回变、溶剂和已知致突变物平行对照组。

结果与分析

在点试验中,凡在试点周出现密集的回变菌落者,即为点试阳性⁽¹⁾。试点周菌落无明显增加者为阴性。试点周菌落数有增加,但不达别处2倍以上为可疑阳性。73种被测物质在点试验中,有52种对三株试验用菌均不引起试点周回变菌增加,为

3. 宗永生等:鼻咽癌的病理组织学和脱落细胞学——2639例分析。癌症2:99,1982

4. Lynn TC: Prognosis of nasopharyngeal Carcinoma by Epstein-Barr-Virus antibody titer. Arch otolaryngol 103(3):128, 1977

5. Desgranges C, et al: EBV Specific Secretory IgA in saliva of NPC patients, presence of Secretory Piece in epithelial malignant cells. Int J Cancer 20(6):881, 1977

6. Lascano E F: mast Cells in Human Tumors. Cancer 11(6):1110, 1958

7. Csaba G, et al: genesis and function of mast Cells, mast Cell and plasmacyte Reaction to induced, Homologous and Heterolo-

gous tumours. Brit J Cancer 15(2):327, 1961

8. Liang Po-chiang, et al: The Histopathologic Classification, Biologic characteristics and Histogenesis of nasopharyngeal Carcinomas. Chin Med J 81(10):629, 1962

9. Dobrogorski O J, et al: Histochemical Study of staining lipid, glycogen, and mucin in Human neoplasms. Amer J clin path 40(4):435, 1963

10. Ozzello L, et al: The Mucopolysaccharides in the normal and diseased Breast. Their Distribution and Significance. Amer J path 34(5):993, 1958

(1982年12月13日收稿)

Ames试验点试阴性。而其它21种物质却能引起至少一株菌试点周围回变菌增加,其中18种物质为点试验阳性,3种为可疑阳性。

凡受试平皿回变数超过同次试验相应自发回变2数倍以上者,即为Ames试验渗入法阳性⁽¹⁾。如果某物不仅在渗入试验中为阳性,而且在一定剂量范围内随着诱变剂量的增加回变菌数亦随之增加,此物即为Ames试验阳性物质。经点试初筛为阳性或可疑阳性的21种物质,在渗入试验中均能引起每皿回变菌落数大量增加,超过同次实验相应自发回变率2倍以上,然而各次实验平行对照组的阴性对照为阴性、阳性对照为阳性,故为Ames试验渗入法阳性。这21种物质,不仅渗入法为阳性,而且在一定的剂量范围内,每皿回变数亦随着剂量的增大而递增,因此,这21种物质为Ames试验阳性物质,即对鼠伤寒沙门氏菌具有致突变作用。

讨 论

在我们测定的73种物质中,其中联苯胺、环磷酸胺、正定霉素、氮芥、丝裂霉素C、6-巯基嘌呤、噻啉派、吡啉橙、9-氨基吡啶、黄曲霉毒素B₁、3,4-苯并芘、N-甲基-N'-硝基-N-亚硝基胍、甲基磺酸甲酯、滴滴涕、2,7-二氨基苄、己烯雌酚等16种物质的致癌性或致突变性已见报告^(1,7-12),在我们的实验中,仅己烯雌酚为阴性,其余全为阳性,吻合率约为94% (15/16),就唯一未做出阳性结果的己烯雌酚,在McCann和Ames⁽¹⁴⁾的文章中亦为阴性。从而提示,在作大量的物质筛测时,先用点试验初筛,然后再作渗入实验和剂量反应曲线是可行的。

6-巯基嘌呤(乐疾宁)、3,4-苯并芘和丝裂霉素C三种物质,在点试验中为可疑阳性,而在渗入试验中为明确的阳性,可能系这些物质在点试验中用量不够或扩散较差所致。这些问题在点试验中尚值得探讨。

由于Ames试验阳性物质与致癌物极为相关,并且国际上已将此试验作为环境监测、预警潜在致癌物的可靠方法之一^(4,12,15),因此,本试验所测得的阳性物,特别是未知的阳性物质,有关方面给予应有的重视,进一步研究、鉴定和采取一定措施实属必要。但是,由于Ames试验阳性物质与致癌作用尚有一定误差,并且,化学致癌作用还存在着

生物种系的易感性差异。因而,本试验所测得的阳性物质,特别是未知的阳性物质,是否对人类有致癌作用,尚需进一步研究证实。

小 结

用鼠伤寒沙门氏菌/微粒体诱变试验初步测定了以医药和实验室试剂为主的73种物质的致突变作用。以TA1537、TA98和TA100为实验用菌,多氯联苯诱导的大鼠肝S9作体外活化、点试验初筛,阳性或可疑阳性者再作渗入试验与剂量反应曲线。结果表明,21种为Ames试验阳性物质,16种已知致癌、致突变物质在本试验中15种阳性,1种为阴性。

参考文献

1. Ames, B. N. et al: Mut Res 31: 347, 1975.
2. McCann J. et al: Natl Acad Sci USA Proc 73: 950, 1976.
3. Purchase IFH et al: Nature 264: 621, 1976.
4. EEMS: Mut Res 53: 369, 1978.
5. 曾立成等:《南医资料》第1期 P 54, 1979
6. 曾立成等:《南充医学学报》第1期 P 1, 1981.
7. John Ashby et al: Br J Cancer 38: 521, 1978.
8. William F. Benedict et al: Cancer Res 37: 2209, 1977.
9. Liemel, A. Poirier et al: J Natl Cancer Inst 62: 833, 1979.
10. MM. Brown et al: J Natl Cancer Inst 62: 841, 1979.
11. S. M. Wolf: in, Origins of Human Cancer, Book C, P 1735, by H. H. Hiatt, Cold Spring Harbor Laboratory, 1977.
12. Hans F. Stich et al: In, Short-term Tests for Chemical Carcinogens, P 65, by H. F. Stich and R. H. C. San, Springer-Verlag New York Inc 1981.
13. Ames B. N.: Proc Nat Acad Sci USA 70: 782, 1973.
14. J. McCann and B. N. Ames: Proc Nat Acad Sci USA 73: 950, 1976.
15. EEMS: Mut Res 74: 71, 1980.

(1982年8月24日收稿)