

氯化锰对雄性小鼠生殖细胞诱变性的研究

王子元¹, 李玉贵¹, 林磊光¹, 宋春华², 罗圣庆¹

(1. 哈尔滨医科大学公共卫生学院, 黑龙江 哈尔滨 150001; 2. 大连大学医学院, 辽宁 大连 116000)

摘要: 通过氯化锰给小鼠腹腔注射染毒, 研究锰对雄性生殖细胞的遗传毒性。显性致死试验 50 mg/kg 组见平均死胎数和突变指数, 与阴性对照组比较差异有显著性 ($P < 0.05$)。睾丸染色体畸变分析亦仅 50 mg/kg 剂量组见常染色体和性染色体早熟分离, 与阴性对照组差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。本实验结果显示, 锰对雄性生殖细胞有诱变性。

关键词: 氯化锰; 诱变性; 显性致死试验

中图分类号: O614.711; R994.6 文献标识码: A 文章编号: 1002-221X(2002)01-0008-03

Study on the mutagenicity of manganese chloride in reproductive cells of male mice

WANG Zi-yuan¹, LI Yu-gui¹, LIN Lei-guang¹, SONG Chun-hua², LUO Sheng-qing¹

(1. College of Public Health, Harbin Medical University, Harbin 150001, China; 2. Medical College of Dalian University, Dalian 116000, China)

Abstract: To study the genetic toxicity of manganese on reproductive cells of male mice via injecting manganese chloride i.p. in mice. The dominant lethal test of manganese chloride at 50 mg/kg level showed that the average stillbirth number and the mutagenic index were significantly higher than those of negative control ($P < 0.05$), and the incidence of premature separation in autosomes and sex chromosomes was also more significant than negative control group at the dose of 50 mg/kg ($P < 0.05$) by analysing the aberration of testis chromosomes. The study suggests that manganese has the mutagenicity on reproductive cells of male mice.

Key words: Manganese chloride; Mutagenicity; Dominant lethal test

近年来, 锰的雄性生殖毒性受到国内外学者的关注, 并且在动物实验和人群调查方面积累了一些资料^[1]。在国外, Mandzhgaladze 首先研究了锰化合物对雄性大鼠性功能的影响。以后的研究表明, 锰对多种雄性动物生殖系统有损害作用^[2,3]。本研究的目的在于通过氯化锰对小鼠显性致死试验和睾丸染色体畸变分析, 探讨锰对雄性生殖细胞的遗传毒性。

1 材料与方法

氯化锰 ($\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$) 系天津化学试剂三厂生产的分析纯试剂, 用蒸馏水配制成不同浓度的溶液。

1.1 显性致死试验

实验用昆明种小鼠, 体质量 27~35 g, 雄性 50 只, 雌性 250 只 (5 批)。将雌雄动物分别随机分成 5 组, 每组均为 10 只。3 个组为实验组, 染毒剂量分别为 50 mg/kg、20 mg/kg 和 5 mg/kg。另设阴性对照组授予蒸馏水, 阳性对照组授予丝裂霉素 1.7 mg/kg。连续染毒 5 天, 均为腹腔注射。然后按雌雄鼠 1:1 合笼 6 天, 此为一个周期。取出雄鼠休息 1 天, 再与第 2 批雌鼠合笼, 如此连续 5 个周期。

合笼后每天早晨检查阴栓, 以检出日定为妊娠

零天, 未检出的以合笼第 4 天定为妊娠零天。每批动物均于妊娠第 14 天处死, 检查着床数、活胎数、死胎数、计算受孕率、平均着床数、平均死胎数和致突变指数。致突变指数的计算方法为早期死胎数除以总着床数再乘以 100。

1.2 睾丸染色体畸变分析

选体质量 25~30 g 昆明种雄性小鼠 25 只, 随机分成 5 组, 每组 5 只, 染毒剂量、时间和方法均同显性致死试验。处死动物前 6 小时腹腔注射 0.04% 秋水仙素 4 mg/kg。处死后, 取出睾丸, 经低渗、固定、软化、染色。每只鼠镜下检查 100 个处于分裂中期相的初级精母细胞 (每组检查 500 个细胞), 各组畸变细胞数经 χ^2 检验统计处理。

2 结果

2.1 显性致死试验

显性致死试验结果见表 1。

显性致死试验结果, 3 个实验组的受孕率分别为 0.40、0.52、0.40, 而阴性对照组的受孕率为 0.62, 各实验组受孕率显著降低。平均死胎数和突变指数仅 50 mg/kg 组第 1、2、3 交配周期与阴性对照组比较差异有显著性。

2.2 睾丸染色体畸变分析

睾丸染色体畸变试验结果列于表 2。

收稿日期: 2001-06-01; 修回日期: 2001-07-11

作者简介: 王子元 (1943-), 男, 黑龙江省海伦人, 教授, 从事卫生学教学和工业毒理研究工作。

表 1 氯化锰小鼠显性致死试验结果

受试物	剂量 (mg/kg)	周数	动物数	妊娠鼠数	活胎数	死胎数	受孕率	平均着床数	平均死胎数	突变指数
蒸馏水		1	10	6	49	6	0.60	9.17	1.00	10.91
		2	10	7	63	2	0.70	9.29	0.29	3.08
		3	10	4	28	5	0.40	8.25	1.25	15.15
		4	10	7	56	8	0.70	9.14	1.14	12.50
		5	10	7	67	6	0.70	10.43	0.86	8.22
氯化锰	50	1	10	5	32	14	0.50	9.20	2.80*	30.40*
		2	10	3	18	5	0.30	7.67	1.67*	21.70*
		3	10	3	19	12	0.30	10.33	4.00*	38.70*
		4	10	7	73	4	0.70	11.00	0.57	5.20
		5	10	2	21	3	0.20	12.00	1.50	12.50
	20	1	10	7	62	7	0.70	9.88	1.00	10.10
		2	10	3	31	1	0.30	10.67	0.33	3.10
		3	10	7	68	15	0.70	11.87	2.14	18.10
		4	10	5	48	1	0.50	9.80	0.20	2.00
		5	10	4	39	1	0.40	10.00	0.25	2.50
	5	1	10	6	58	6	0.60	10.67	1.00	9.40
		2	10	2	17	1	0.20	9.00	0.50	5.90
		3	10	4	33	2	0.40	8.50	0.50	5.90
		4	10	5	42	8	0.50	10.00	1.60	16.00
		5	10	3	27	2	0.30	9.67	0.67	6.90
丝裂霉素	1.7	1	10	5	37	6	0.50	8.60	1.20	14.00
		2	10	3	15	14	0.30	9.67	4.67*	48.00*
		3	10	4	20	7	0.40	6.75	1.75*	25.90*
		4	10	0	—	—	—	—	—	—
		5	10	0	—	—	—	—	—	—

与阴性对照组比较 * $P<0.05$

表 2 氯化锰对小鼠睾丸染色体畸变分析试验结果

组别	动物数	计数细胞数	常染色体早熟分离	%	性染色体早熟分离	%
阴性对照组	5	500	2	0.4	13	2.6
50 mg/kg	5	500	9	1.8*	28	5.6*
20 mg/kg	5	500	2	0.4	13	2.6
5 mg/kg	5	500	1	0.2	10	2.0
丝裂霉素	5	500	28	5.6*	33	6.6*

与阴性对照组比较 * $P<0.05$

对处于分裂中期相的初级精母细胞所进行的畸变分析, 50 mg/kg 剂量组见常染色体早熟分离和性染色体早熟分离的发生率, 与阴性对照组比较显著升高。氯化锰染毒的各剂量组小鼠初级精母细胞染色体未见有断裂、易位和多倍体。

3 讨论

关于锰的生殖毒性报道不少。锰能使实验小鼠和家兔的睾丸、输精管质量下降, 还能造成生殖器官发育障碍和丧失生育能力^[4]。但是, 有关锰的远期效应, 特别是对雄性生殖细胞遗传效应的研究国内外罕见。庄碧嘉等用硫酸锰每日给小鼠经口染毒 3 个月, 剂量分别为 572 mg/kg 和 286 mg/kg。结果显示, 精子

畸形率和早期精细胞微核率明显上升, 与阴性对照组比较差异有非常显著性 ($P<0.01$)^[5]。我们所作的显性致死试验除各组染毒小鼠受孕率降低, 与阴性对照组差异有显著性外 ($P<0.05$), 只有 50 mg/kg 组第 1、2、3 交配周期的平均死胎数和突变指数明显增加, 与阴性对照组比较差异有统计学意义 ($P<0.05$)。小鼠在染毒后, 前 3 周内交配的结果表示对精子和精细胞的作用情况。睾丸染色体畸变试验中, 亦仅见 50 mg/kg 组初级精母细胞常染色体和性染色体早熟分离显著高于阴性对照组 ($P<0.05$)。本实验结果与庄碧嘉等研究结果一致, 均提示锰对雄性动物生殖细胞有致突变性, 并且主要作 (下转第 12 页)

表3 TM 的方差分析

	总方差	自由度	平均方差	F 值	P 值
正常值	8.38	5	1.67	4.86	0.000
中位数	3.37	1	3.37	9.76	0.002
职业暴露者	1.71	1	1.71	4.96	0.027
吸烟	2.19	1	2.19	6.36	0.012
饮酒	2.15	1	2.15	6.23	0.013
性别	1.13	1	1.13	3.26	0.072
年龄	0.27	1	0.27	0.77	0.382
误差	126.02	365	0.35		
合计	239.65	371			
正常值合计	134.41	370			

值大,混合车间 TM 值最大。这是因为称料和混合均在混合车间进行,因而混合车间工人接触粉尘和甲苯的浓度最高,它们都超过了我国车间空气最高容许浓度。Sorsa^[6]和 Rendon^[7]分别观察到混合车间工人染色体畸变和 SCE 频率增加,我们的本次研究结果与他们的发现相符合。

橡胶生产工人在硫化过程中接触到大量的有害化学物质,如 PAHs、1,3-丁二烯、苯乙烯等,均有损伤 DNA 作用,由 PAHs 的活性代谢产物与生物大分子如蛋白质和 DNA 的亲核区反应所致的 DNA 氧化损伤以及 DNA 修补能力降低被认为是橡胶生产工人 DNA 损伤的机制;某些活性代谢产物可同时与蛋白质和 DNA 作用,形成 DNA-蛋白质交联。本研究方法中在电泳前使用蛋白酶 K 处理细胞就是为了断开 DNA-蛋白质交联,保证了实验结果的准确,因为这种交联会阻滞 DNA 碎片的迁移,从而影响结果。

生活因素如吸烟、饮酒在职业卫生工作中作为混杂因素应加以重视。Barale^[8]等发现作业工人吸烟可使 SCE 增高^[8],我们以前的研究也表明吸烟与烟草工人的职业接触对 DNA 损伤有协同作用^[9]。本研究发现在橡胶作业工人当中,吸烟、饮酒也可使 DNA 断裂增加,所以作业工人的吸烟、饮酒等生活习惯也应为职业卫生所关注。

参考文献:

- [1] M Sasiadek. Cytogenetic studies of workers from the rubber industry [J]. *Mutat Res* 1992, 279: 195-198.
- [2] M kogevas, M Sala, P Boffetta, et al. Cancer risk in the rubber industry: a review of the recent epidemiological evidence [J]. *Occup Environ Med* 1998, 55: 1-2.
- [3] International Agency for Research on Cancer. The rubber industry, Monographs on the evaluation of carcinogenic risk chemicals to human [M]. Vol 28, Lyon: IARC, 1982.
- [4] International Agency for Research on Cancer. Overall evaluation of carcinogenicity. An updating of IARC monographs. Monographs on the evaluation of carcinogenic risk chemicals to human [M]. Vol 42 (suppl 7), Lyon IARC, 1987.
- [5] CQ Zhu, TH Lam, CQ Jiang, et al. Increased lymphocyte DNA strand breaks in rubber workers assay [J]. *Mutat Res* 2000, 470: 201-209.
- [6] M Sorsa, J Maki-paakkanen, H Vainio. A chromosome study among worker groups in the rubber industry [J]. *Scand-J-Work Environ Health* 1983 (suppl 2), 9: 43-47.
- [7] A Rendon, A Rojas, S I Fernandez et al. In chromosome aberrations and in abnormal sperm morphology in rubber factory workers [J]. *Mutat Res* 1994, 323: 151-157.
- [8] Barale R, Chebotti L, Divini T, et al. Sister chromatid exchange and micronucleus frequency in human lymphocytes of 1 650 subjects in an Italian population: 2 contribution of sex, age, and lifestyle [J]. *Environ Mol Mutagen* 1998, 31: 228-242.
- [9] CQ Zhu, TH Lam, CQ Jiang, et al. Lymphocyte DNA damage in cigarette factory workers measured by the comet assay [J]. *Mutat Res* 1999, 444: 1-6.

(上接第9页)用于精子和精细胞,对生殖细胞具有遗传学效应,而且存在着剂量效应关系。

参考文献:

- [1] 罗圣庆,李玉贵. 锰对雄性生殖功能危害的研究进展 [A]. 顾祖维. 职业医学进展 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 1998: 82-86.
- [2] 吴卫平. 锰的雄性生殖毒性 [J]. 国外医学卫生学分册, 1990, 6: 324-327.

- [3] 罗圣庆, 王子元, 王秀铃. 锰对雄性小鼠睾丸生殖功能的作用 [J]. 卫生研究, 1995, 24 (特辑): 49.
- [4] Barlow SM. Reproductive hazard of industrial chemicals [J]. Academic press, 1982, 370.
- [5] 庄碧嘉, 陈月华, 曹易琼. 硫酸锰对雄性小鼠生殖系统的亚慢性毒性影响 [J]. 卫生毒理学杂志, 1996, 10 (2): 97-99.