

遗传毒理学原理



David Brusick
Principles of Genetic Toxicology
Plenum Press, New York, 1980

遗传毒理学原理

复旦大学出版社出版

(上海国权路 579 号)

新华书店上海发行所发行 江苏如皋印刷厂印刷

开本 850×1168 1/32 印张 8.75 字数 252 千

1987 年 3 月第 1 版 1987 年 3 月第 1 次印刷

印数 1—5,000

统一书号: 13253·041 定价: 1.80 元

内 容 提 要

本书介绍遗传毒理学的基本原理及研究方法。全书分九章。在前两章介绍遗传毒理学由来、遗传毒理学基础以后,有四章着重介绍基本原理:在人类和其他哺乳动物中的遗传毒性效应的后果、化学物质的遗传毒性鉴定、遗传危害的估计、遗传毒理学在环境和人类监测方面的应用。围绕研究方法,除有两章阐述遗传毒理学实验室和测试种类外,专列一章介绍了 21 种测试实例。本书可作为遗传毒理学课程的教材,也可供从事遗传学、医学、卫生、毒理、药物合成、肿瘤研究的师生和科技工作者参考。

译 者 的 话

遗传毒理学是一门新学科。它综合遗传学、毒理学、细胞学、微生物学和生物化学等基本原理和实验技术,用于检测遗传毒理因子,研究这些因子对基因结构和功能的作用,进而提出保障遗传安全的有效措施。因此,遗传毒理学与人类的健康密切有关。

《遗传毒理学原理》一书是这门学科的基本教程,详细阐述了遗传毒理学的基础理论,总结了遗传毒理因子的一系列检测系统和具体操作方法。作者戴维·布鲁西克(D. Brusick)是著名的遗传毒理学家,有丰富的实际工作经验,对各种检测系统和研究方法提出了比较中肯的评价,对这门学科的发展方向有独特的见解。

近年来,由于四化建设的需要,我国许多单位相继开展了遗传毒理学的研究工作,如环境保护系统对诱变源的监测、食品检验部门对诱变致癌物质的检出、医药系统的药物遗传毒理测试、计划生育系统对避孕药物的遗传安全性鉴定、工业卫生系统安全指数的建立、农作物中天然及人工诱变源蓄积量的控制等等。由于这方面的研究尚属初创阶段,亟需培养专业人材,提高原有工作人员的素质,建立适合各项具体要求的检测系统。因此,我们将《遗传毒理学原理》一书翻译出版,供大家在工作和学习中参考。

本书第二、九章和附录由吕群译出,第三、四、五和七章由强义国译出,序、第一、六和八章由江绍慧译出。赵寿元教授统校全稿。项维教授生前曾校阅部分译稿。刘祖洞教授关心和支持本书的翻译工作,谨致谢意。

1985年1月

序

遗传毒理学是由研究化学诱变作用和现代毒理学而产生的一门比较新的学科。就系统检测化学诱变作用而言,只不过30多年的历史,但随着出现了众多鉴别化学诱变剂的方法,这个领域发展非常迅速。

为评价这些方法的用途和选出在实际条件下能提供最重要信息的测试方法,需要有象布鲁西克博士在最近10年内所获得的丰富经验。因为这个领域正在迅猛地扩大,新的测试方法正被认可,所以应该牢记,在今后5至10年里本书也许还要加以修订。

显而易见,这样一本书对我们来说是很需要的,特别是因为:第一,在开设遗传毒理学课程和建立遗传毒理学实验室中体会到使用已确立的各项准则是大有裨益的;第二,文献的报道未必一定详尽阐述实验测试过程中的工作。

布鲁西克博士除了具有广博的遗传学基础知识外,对组织和指导涉及面非常广的诱变剂检测的实验室工作也有丰富的实际经验。我十分高兴地看到人们对本书的需要日益增加。

亚历山大·霍兰德

前 言

当代人只是子孙后代人类基因组的守护者

马林和瓦尔科维克 (1978)*

DNA 的存在已远远超过十亿年,它是现今所有生命形态进化的基本的信息大分子。DNA 的古老性把一切生命体彼此联系起来,拿我们人类来说,就有很多基因是与动物、植物和微生物共同的。因为共同基因的发展必定处于动植物在进化过程中分化之前,所以这些基因中有许多已有几亿年的历史了。

在人类进化过程中,由于突变和各种类型的重组,每个细胞的基因数目和构型在改变。总基因库的组成决定了人种这一个物种的遗传整体性。我们这一代只是这个基因库的暂时保管者,所有未来的人类都将来自这个基因库。基因库并不是完美无疵的,因为有许多改变了的基因会引起遗传病。然而,我们的责任是防止更进一步增加突变负荷。

近 70 年来,在实现工业化、化学合成和核能等方面都出现了巨大的进展。这些进展带来了好处,但不可避免地也带来了危险。有些危险来自人造诱变剂,这些诱变剂对人类基因库可能的影响,我们还刚刚在开始了解。我们的环境中存在着天然的和人造的诱变剂,如果接触这些诱变剂的程度足以对关键性的细胞内靶组分产生遗传毒理效应,那么这些因子对人类健康可能是至关重要的。

遗传毒理学就是论述这一问题的学科。在构成毒理学的各门学科中,它是一门比较新的学科,不过它是建立在一百多年以来遗传学研究的实验资料的基础之上的。遗传毒理学不断取得进展,对人类未来的

* 参阅第一章的文献 [21]

幸福是重要的。由于我们对突变问题漠不关心或未曾觉察,以致基因库中的突变负荷日益增加,我们的后代为此将会付出血的代价。我们的目标应是防止当代的人们成为漫不经心的守护者。

本书旨在综合遗传学和毒理学。许多希望转入应用科学的遗传学家需要了解毒理学的发展方向和目标;同样,在工业卫生和安全等其他领域中训练有素的毒理学家和科学家需要通晓作为基础科学和应用科学的遗传学原理。这是一项相当新的尝试,但是当一门应用卫生科学开始与基础科学的许多领域交叉时,这种类型的综合将日趋普遍。

戴维·布鲁西克

目 录

译者的话

序

前言

第一章 遗传毒理学的由来 (1)

引言 (1)

遗传毒理学的历史 (2)

转入应用遗传学的技术 (4)

遗传毒理学的组成 (5)

参考文献 (7)

第二章 遗传毒理学基础 (12)

引言 (12)

毒理学家须了解的基础遗传学 (12)

基因结构 (12)

基因功能 (14)

体细胞和生殖细胞的细胞周期和染色体力学 (20)

造成细胞遗传毒性效应时的 DNA 变化: 机制和分类 (29)

遗传毒性效应的分类表 (30)

DNA 损伤的修复 (39)

参考文献 (42)

第三章 在人和其他哺乳动物中的遗传毒性效应的后果 (45)

引言 (45)

对基因库造成的后果 (46)

诱变剂对可遗传的基因库的直接效应 (48)

遗传毒性效应与其他毒理学指标的关系 (55)

诱变性测试和活体致癌之间的效能关系 (64)

参考文献	(65)
------------	--------

第四章 化学物质的遗传毒性鉴定 (68)

引言和背景	(68)
-------------	--------

适合于筛选试验的特征	(71)
------------------	--------

检测的效应终点的类型和数目	(72)
---------------------	--------

测试系统或有关活化系统的代谢能力	(72)
------------------------	--------

可靠性和重复性	(74)
---------------	--------

设备	(77)
----------	--------

发展成套测试的方针	(77)
-----------------	--------

基本思想	(77)
------------	--------

发展成套测试的方法	(78)
-----------------	--------

推荐的第一组测试	(83)
----------------	--------

对筛选试验数据的解释	(85)
------------------	--------

离体和活体测试中的对照	(89)
-------------------	--------

数据分析和解释的方法	(92)
------------------	--------

参考文献	(102)
------------	---------

第五章 遗传危害的估计 (107)

引言	(107)
----------	---------

危害的定义	(108)
-------------	---------

在体细胞和性细胞中的危害估计	(112)
----------------------	---------

体细胞危害	(112)
-------------	---------

性细胞损伤	(116)
-------------	---------

暴露途径和全身剂量的关系	(117)
--------------------	---------

暴露途径与代谢的关系	(118)
------------------	---------

血/生殖腺屏障	(119)
---------------	---------

化学诱变剂的分子剂量测定	(120)
--------------------	---------

测定遗传毒性效应	(122)
----------------	---------

用动物模型估计性细胞危害的方法	(124)
-----------------------	---------

根据短期测试数据外推到人体	(125)
---------------------	---------

离体数据直接外推到活体反应	(126)
---------------------	---------

阈值	(128)
----------	---------

参考文献	(130)
------------	---------

第六章 遗传毒理学在环境和人类监测方面的应用	(135)
引言	(135)
监测技术	(136)
职业监测	(137)
环境监测	(143)
参考文献	(145)
第七章 遗传毒理学实验室	(147)
一般实验室区域	(147)
化学物品的贮存和废弃物的处理	(149)
实验室安全和工作人员监护	(150)
“良好实验室操作”要求	(154)
参考文献	(157)
第八章 遗传毒理学测试种类	(158)
遗传毒理学测试的一般分类	(158)
基因突变的常规测定	(158)
微生物的测定	(158)
离体的哺乳动物细胞	(161)
昆虫	(163)
哺乳动物	(164)
染色体畸变的检测	(164)
微生物	(164)
离体的哺乳动物细胞	(165)
昆虫测试染色体效应	(166)
哺乳动物	(167)
初级 DNA 损伤测试	(173)
微生物测试	(174)
离体培养哺乳类细胞修复测试	(175)
SCE 分析	(176)
昆虫	(177)
哺乳动物体内初级 DNA 损伤	(177)
离体细胞转化	(178)
参考文献	(184)

第九章 样品研究设计(189)

选择研究设计	(189)
实验 1. Ames 沙门氏菌/微粒体培养皿测试	(189)
实验 2. 酿酒酵母菌株 D ₃ 有丝分裂重组	(194)
实验 3. 酿酒酵母菌株 D ₄ 有丝分裂基因转变	(197)
实验 4. 酿酒酵母菌株 D ₅ 有丝分裂重组	(200)
实验 5. L 5178 Y TK ⁺ / ⁻ 小鼠淋巴瘤细胞正向突变试验	(202)
实验 6. 中国仓鼠卵巢细胞染色体畸变	(209)
实验 7. 人体淋巴细胞姐妹染色单体互换	(213)
实验 8. 中国仓鼠卵巢细胞(CHO)姐妹染色单体互换	(215)
实验 9. 人体 WI-38 细胞程序外 DNA 合成的测定	(218)
实验 10. 大鼠肝原代细胞程序外 DNA 合成	(221)
实验 11. BALB/3T3 细胞离体转化	(225)
实验 12. 微生物宿主间介试验	(229)
实验 13. 大鼠骨髓细胞遗传学分析	(233)
实验 14. 大鼠显性致死试验	(237)
实验 15. 小鼠遗传性易位试验	(239)
实验 16. 小鼠微核试验	(242)
实验 17. 小鼠精子头部异常检测	(244)
实验 18. 小鼠体细胞突变试验(斑点试验)	(247)
实验 19. 果蝇 X 和 Y 染色体丢失试验	(250)
实验 20. 果蝇遗传性易位试验	(253)
实验 21. 果蝇伴性隐性致死试验	(256)

附录部分(261)

附录 A: S9 肝匀浆的制备	(261)
微粒体酶诱导	(261)
S9 组分的制备	(262)
S9 混合液的制备	(264)
参考文献	(265)
附录 B: 活体遗传学测试的剂量选择.....	(266)
参考文献	(267)
附录 C: 遗传学和遗传毒理学的参考文献和综述.....	(268)

第一章 遗传毒理学的由来

引言

毒理学领域讨论各种因子对生命系统的效应, 目的在于明显地或在某些情况下隐言地确定各种因子对人类健康的影响。这是一门应用科学, 它从生理学、药理学、新陈代谢、行为学、遗传学、胚胎学、化学和数学等许多基础学科中汲取数据和方法。

过去 20 年里, 在现有产品和新产品影响健康的化学安全性评价方面, 毒理学提供了基本数据。没有这些资料, 许多有潜在危险的化学产品就只能通过人们的使用和经验来鉴别。人们通过意外事故、战争和获准的人类试验(例如晚期病人试验性的化学疗法)而取得的经验已向毒理学家提供了一些最确切的数据, 但这些方法不能作为新的化学产品引入人类环境以前的常规测试。

另一种方法是在毒理学评价中使用动物模型。哺乳动物是普遍使用的测试动物。选择使用哪一种哺乳动物, 根据两种因素: 一是作为人类经验模型的适合性, 即该种动物对选定的化学因子反应与人体反应十分相似; 二是经济上的考虑, 要用容易得到的和价格便宜的动物。啮齿类动物似适合于急性毒性测定和重复实验, 但在测定某些特殊类型的毒性时, 只能用与人类反应相似的某些哺乳动物。对于心理药理学以及与营养和衰老有关的毒性研究, 这种情况尤其如此^[10,17]。

因为还没有合适的人体代用物, 所以毒理学的许多方面还必须依靠不太合适的模型系统。举例来说, 畸胎学、皮肤过敏、表皮吸附和毒性以及某些类型的致癌作用等领域缺乏良好模型系统^[8,27,34]。所以, 毒

理学并不是很严格的,而是根据在实验条件下对接触化学药物的动物模型所观察到的效应,作出不完全可靠的推论,这是因为在实验室中和在自然环境中接触化学药物并不总是完全一样的。

可靠地估计人类的危险,取决于在整体水平上了解表现出毒性终点的细胞机制和分子机制,以及取决于对化学物质的准确剂量(达到关键的靶位点的量)和反应水平的适当定量方法。剂量常常被等同于接触或暴露,即等于测试生物周围环境中的浓度,但这很难代表到达关键性目标的剂量。

动物毒理学可划为许多方面,每一个方面又都是一个单独的研究领域。在毒理学的各个领域中,研究的持续时间可分为急性、亚急性和慢性三种类型,绝大多数的研究属于其中之一。每一种研究的持续时间取决于测试生物,一般来说,小啮齿类的急性研究是1至15天,亚急性是15至120天,慢性是从12个月起一直到动物死亡。表1.1总结了某些测量到的典型的毒性终点和与其有关的持续时间。

表 1.1 动物毒理学主要的暂时亚组中观察到的典型毒性终点或迹象

急性	亚急性 ^a	慢性 ^b
致死 激怒 坏死 改变正常的平衡参数 神经学反应	生殖能力 畸胎学 可逆的组织退化 食欲不振 行为改变	不可逆的组织退化 致癌 估计寿命

a 亚急性效应也可以包括在急性栏内列出的所有项目。

b 慢性效应也可以包括在急性和亚急性栏内列出的这些项目。

遗传毒理学的历史

遗传毒理学作为毒理学的一个方面,鉴定和分析毒性物质对生命系统遗传组分的作用。许多种毒物损伤遗传的物质,一旦当它们达到某一水平而普遍地产生非特异的细胞毒性和细胞死亡时,这就是遗传毒理学检测和了解少数化学物质特性的初步指标。这些化学物质对核

酸是高度专一的，并在亚毒性的浓度上对遗传因子产生有害效应。对遗传毒理学来说，复合暴露(接触)的研究范围从急性到慢性，因此象这类测试属于毒理学测试的三个主要的暂时亚组。

在亚毒性的接触水平上，一些因子专一性地产生遗传改变，从而生物体的遗传特性发生改变，这些因子称为遗传毒性因子，遗传毒剂通常具有促进与核酸相互作用的化学性质或物理性质。事实上这是给遗传毒理学提供科学基础的靶分子的普遍属性。在文献^[15]中可以找到遗传毒性这一名词的由来。

遗传毒理学可以说起始于 1927 年 Muller 用辐射第一次验证基因突变的开创性研究^[23]，随后差不多二十年后，Auerbach 用化学物质作了研究^[3]。两人都不用哺乳动物进行研究。但在下一个二十年，Cattanach 和橡树岭的 Russell 证实了射线和化学物质能引起动物的遗传变化^[11,25]。这项工作使人们认识到在人群中观察到的某些“遗传”病可能是环境引起的^[6,26]。本世纪四十年代初期证明 DNA 是遗传物质，随后 Watson 和 Crick 于五十年代初期阐明了 DNA 的一级、二级和三级结构，开辟了研究致突变机制的新途径。

1953 年到 1968 年是分子遗传学的“黄金时代”。在这个时期，得到了有关 DNA 的结构和复制、遗传密码、蛋白质合成机制和 DNA 修复过程等许多基础资料(表 1.2)。细胞生物学家、生物化学家和微生物学家曾主宰过这个黄金时代，有数位由于作出了贡献而获得诺贝尔奖。

1969 年左右遗传毒理学被认为是一门学科。那一年在 Alexander Hollaender 博士和另外几位遗传学家的领导下建立了环境诱变剂学会，他们都关心环境中人造化学产品激增带来的潜在的遗传冲击。遗传毒理学概念和当时盛行的对环境保护的强烈关切，显然是一致的。

几乎就在遗传学家对环境诱变剂日益关心的同时，几个研究组的报告指出了哺乳动物的致癌剂和诱变剂是相互关联的^[1,6,9,21,28]。早期几次尝试想找出致突变和致癌的相关性都失败了，因为可用的遗传测试法有其固有的局限性^[7]。然而，把在 1969 年到 1971 年间建立起来的中间宿主^[16]和体外微粒体活化系统^[18]引进了致癌剂活化作用以

后,诱变致癌剂的概念才有了新的活力。

表 1.2 分子遗传学的主要发现

现象	年份	文献
DNA 构成遗传物质	1944	4
阐明 DNA 的结构	1953	32
蛋白质合成机制——中心法则假说	1957	12
DNA 分子半保留复制的证明	1958	22
基因调节的操纵子模型	1961	18
阐明蛋白质的遗传密码	1964—1967	24
DNA 的体外酶促合成	1967	13

因此,在总的健康影响的研究中,遗传毒理学起着双重作用:一种功能是作为测试工具和危险性的估计方法,以确定在环境中发现的,其存在会改变人类基因库完整性的遗传毒物所产生的影响;另一种功能是阐明遗传毒性和瘤形成的启动作用之间的关系。在这后一个关系中,遗传毒理学已用于可能有致癌作用的化学物质初筛。

在过去五年内,遗传毒理学不断发展成为毒理学的一个公认的专门领域,这门学科对整个化学物质安全性评价的影响已是显而易见的。美国政府和其他一些国家制定法规的机构,已在实施或正在考虑对潜在的遗传毒物详细检测的专门准则。

转入应用遗传学的技术

在当今关心遗传毒性之前,就已应用一套遗传学的基本方法去研究人类问题。动、植物育种都起源于遗传学早期的实验。这门应用学科是一项国际性的几十亿美元的买卖,包括培育出动、植物的新品种供观赏和消遣或农业生产之用。

技术转入,即运用基础学科的方法论去解决实际问题,对遗传毒理学的发展已是必不可少的。许多用于检测遗传毒性物质的方法,最初是为其他目的而建立的。例如 Ames *Salmonella* (沙门氏菌)/微粒体试验是从 *Salmonella typhimurium* (鼠伤寒沙门氏菌) 组氨酸生物合

成的早期生化研究演化而来的^[33]。这种方法以及其他一些方法,如用来测定促进 DNA 修复过程(期外 DNA 合成)的方法,本来就是阐明 DNA 修复途径研究的一部分。在遗传学和其他毒理学领域中,技术转入仍在很快地实现,事实上还在发生一场小小的革命。

毒理学传统上是一门动物测试科学,主要依靠定量和定性地检出动物的行为、自动调节过程和致死性上的变化。根据这些观察,就能反映出某一物质毒性的概况。然后这种概况被用来测定人类接触这种物质后可能产生的后果,通常它就构成调节该物质在环境中的水平的依据。因为毒理学很少了解测定的毒理学终点所表达的分子情况,所以认为是一门描述性科学。

由于来自许多方面的科学的和规章制度的压力,对阐明所有毒性类型分子机制的兴趣日益增长,这种毒理学研究的新途径称为分子毒理学。分子毒理学家是想确定一些机制和基本过程。遗传毒理学、行为毒理学、免疫毒理学、畸胎学和肿瘤发生都是毒理学的分支学科,科学家们试图在毒理学范围内把这些特定的终点同分子机制联系起来。

增加动物实验的费用是促进分子毒理学发展的一个重要因素。在费用日益增加的同时,评价更多的化学物质毒性的必要性也与日俱增。因此,在以后的几年里应继续发展快速而经济的测试方法,根据待测物质与其关键的分子过程的相互作用,鉴定受检物质是不是一种可能的毒物。

遗传毒理学的组成

过去几年里,技术转入的结果使遗传毒理学测试系统产生了明显的折腾。要对新的测试系统的适合性作出评价,往往要把那些有希望的测试系统引入本学科已运用的测试系列中去。遗憾的是在增加新的测试系统时,几乎没有测试系统被淘汰。因而遗传毒理学被价值不大的测试方法和对遗传毒性作出真正评价的测定方法搞乱了。例如噬菌体的诱导试验和 2-酚羟基化实验在使用的早期似颇有希望,但在测定

种类更多的化学物质时表现出分辨化合物的水平很低,从而一般不能作为遗传毒理学的可靠指标。这些测试方法很可能在某些特定的情况下有其应用价值。其他的测试方法,例如 Gabridge 和 Legator 最初描述的中间宿主试验^[18]仍是有用的,但也作了一些修改,已比原方法明显地增加了效用^[2,14]。中间宿主技术最初的目的是为研究原诱变剂的代谢活化作用提供手段,然而 Malling 于 1971 年证实,体外微粒体代谢系统可和微生物诱变性试验相配合,基本上替代了用作筛选测试的中间宿主方法^[19]。

随着引进 S9 补充的微生物和哺乳类细胞培养物测试法,某些不流行的测试法又重新被采用。对黑腹果蝇(*Drosophila melanogestes*)广泛研究的结果,这种经典遗传学试验生物又重新引起人们的兴趣。果蝇有很多优点,包括有它自己的代谢活化系统和筛选基因效应和染色体效应的能力^[31]。

目前正在被检验的、用哺乳动物做实验的新测试方法,提供了测定体内一系列遗传终点的可能性,这些测试包括体细胞和生殖细胞的靶位^[20]。

诚然,用来检测遗传毒性化合物的整个系列的测试方法,采用了极为广泛的技术,其中包括一些不常用的试验,如家蚕卵细胞测试^[29]、鸭跖草雄蕊毛^[30]的突变体诱发试验,另一些比较普遍的实验,如起源于传统毒理学技术的显性致死测试。可是,在毒理学测试实验室的常规筛选程序中,所用的只是整个测试系列中的很少一部分。

新的测试方法,一般按照一个相似的模式,从实验阶段进入应用阶段(图 1.1)。第一步是确立和论证一项技术,通常来源于基础科学研究,这一步是要确定终点的性质(也就是说,终点必须是真正的遗传变化,而不是类似于遗传事件的现象)。在确立和论证阶段也建立了一套方法和操作程序,确立的过程一般只用作用机理早已清楚的模式药物。第二步是证实阶段,一项测试的全部效用取决在各种各样化学物质中检测遗传活性的能力。一个相当标准化的测试方案一旦建立,该项测试方法就要用只编上号码的样品在许多个实验室里作出评价。