

2011年药理学辅导：毒理学新技术以及发展方向介绍 PDF转换可能丢失图片或格式，建议阅读原文

[https://www.100test.com/kao\\_ti2020/647/2021\\_2022\\_2011\\_E5\\_B9\\_B4\\_E8\\_8D\\_AF\\_c23\\_647040.htm](https://www.100test.com/kao_ti2020/647/2021_2022_2011_E5_B9_B4_E8_8D_AF_c23_647040.htm) 毒理学新技术以及发展方向介绍：基因引入技术在毒理学中的应用，毒理学预测范畴的新进展，21世纪毒理学的发展趋势。毒理学是一门研究化学物质对生物体的毒性反应、严重程度、发生频率和毒性作用机制的科学，也是对毒性作用进行定性和定量评价的科学。毒理学与药理学密切相关，目前已发展成为具有一定基础理论和实验手段的独立学科，并逐渐形成了一些新的毒理学分支。本文就新技术在分子毒理学中的应用及毒理学的一些发展趋势作一简述。

1 基因引入技术在毒理学中的应用 分子毒理学研究是采用分子生物学技术和方法来研究毒理学问题。如体外采用细胞培养等检测基因毒性，整体动物试验采用转基因动物模型，这对于阐明外源性化学物的毒性及其机制均有重要意义。基因引入技术是把一段DNA（可以是一个完整的基因，也可以是一个基因片段）引入到细胞或生物体内。引入的DNA可以改变毒物的作用强度，或改变毒物作用方式。因此，可以通过毒物作用程度或方式的改变来判断引入的DNA所起的毒性作用。

1.1 在致突变检测中的应用 基因毒物是指能损害遗传物质DNA的化学物，大多为致突变剂。常规的Ame's试验是由细菌介导的检测基因毒物的方法。但这种方法也有一定的局限性，有时可出现假阳性结果。如谷胱甘肽和半胱氨酸均为抗癌剂，但在Ame's试验中却显示较强的致突变能力。此外，细菌和动物细胞在其生物学方面有很大差异，因此体外动物细胞实验较细菌更能反映毒物在机体

内的作用。有两类细胞常用于基因毒物的检测，一类为原代细胞，另一类为传代细胞。有多种指标用于检测化学物的基因毒性，如核苷酸同位素标记法，若一种化学物能损害DNA，细胞在用该化学物处理后，对损害的DNA要进行修复，修复过程需要核苷酸，如果在培养基中加入同位素标记的核苷酸，则修复的DNA即被同位素标记，在一定情况下，损害的DNA越多，修复的就越多，细胞DNA含的同位素就越多。因此，通过检测DNA中同位素的含量来决定该化学物的基因毒性。另一种判断方法是根据基因毒物能改变细胞的代谢。如正常的V79细胞具有次黄嘌呤磷酸转移酶，这种酶是正常替代途径中合成嘌呤核苷酸的必需酶。如果培养基中有嘌呤的同系物（如8-偶氮鸟嘌呤），这种酶能将其同系物转化成相应的嘌呤核苷酸而合成DNA，但嘌呤同系物没有正常嘌呤功能，因此会导致细胞死亡。相反，如果一种化学物能损害DNA而使次黄嘌呤磷酸转移酶的基因发生损害而不能合成正常的酶，其受损的细胞反而存活下来。存活的细胞越多，在一定情况下说明该化学物的致突变能力越强。某些化学物本身并没有毒性，但其代谢物显示出较强的毒性作用。对于这些化学物，上述方法不能检测出它们的毒性。为了克服这一缺点，可在细胞或细菌培养液中加入肝细胞抽提液以帮助代谢毒物。有的实验室还用少量原代细胞与被检的传代细胞混合培养，由引入的原代细胞提供代谢酶。如硝基二甲基胺，用常规的细菌检测系统显示不出任何突变作用，但在细菌培养液中加入肝细胞抽提液后，显示出很强的基因毒性。这些实验也存在许多问题，如有些代谢物的半衰期很短，来不及进入检测细胞与其DNA作用就失活了，肝脏抽提液或原代

细胞代谢酶活性随时间下降得很快；肝脏抽提液或原代细胞含多种酶，即使能代谢毒物并显示出毒性，也不知道是哪种酶起主导作用。很显然，建立一种细胞株，能合成某种单一的酶，对研究毒物的毒性作用很重要。利用分子生物学技术，把转录某种代谢酶的DNA连接，再接到基因载体上（多为质粒或病毒），这段具有调控能力的DNA，能与体外培养细胞的转录因子作用，把含有编码某种代谢酶的DNA的基因载体引入到体外培养细胞，该细胞就能表达这种特异的酶。这方面较突出的例子是细胞多功能性单胺氧化酶（P450）。体外建立能表达P450的细胞株有两类，一类是能长期稳定表达的细胞株，一类是能短期表达的细胞株。人的多种P450，如1A1，2A6，2E1，3A4等，已成功地引入人的淋巴样细胞株、鼠的胎盘细胞株、苍鼠肝癌细胞株等，这些细胞株由于能表达毒物代谢酶，对需要代谢后才有毒性的化学物，其检测敏感度提高许多倍。如表达2A6的细胞比不表达2A6的同样细胞株，在检测硝基二甲基胺的毒性方面要敏感500倍；比表达2E1的细胞也要敏感大约500倍。说明硝基二甲基胺要代谢以后才能显示毒性，也说明2A6是能将硝基二甲基胺转化为毒性代谢物的代谢酶，而2E1则不是。

### 1.2 转基因动物在毒理学中的应用

转基因动物是在其基因组中含有外来遗传物质的动物，它被广泛应用于科学研究的各个方面。由于转基因动物集整体、细胞和分子水平于一体，更能体现生命整体研究的效果，因此成为毒理学研究的热点之一。

#### 1.2.1 一般毒性研究模型

C-fos-LacZ转基因小鼠用于神经毒性的研究。金属硫蛋白（MT）基因的转基因和基因删除小鼠用于金属和某些非金属的研究。如用MT转基因小鼠对镉等的抗性增加，而MT的

基因删除小鼠对镉、银、汞、顺铂和四氯化碳的毒性敏感性增强。

### 1.2.2 致突变检测模型

转基因动物为解决遗传毒性研究中长期存在的一些问题提供了可能性。如体外试验和体内整体动物的定性、定量外推，整体动物基因突变需消耗大量动物和时间，如确定靶器官以及对诱发的遗传改变做精细分析等。自Gosen等1989年建立了第一个转基因突变检测模型以来，已有十多种模型。

### 1.2.3 致癌检测模型及其在致癌物质作用机制研究中的应用

转基因动物为快速检测致癌物、促癌物和研究化学致癌的机制提供了新的重要途径。目前已建立的检测模型或研究模型有：

- 过量表达癌基因的转基因动物模型如TG，AC小鼠，HK-fos转基因小鼠，ras-H2转基因小鼠，携带激活的H-ras原癌基因小鼠等。这些转基因动物对化学致癌剂的敏感性提高了许多倍。如带有激活Pim-I肿瘤基因的转基因动物，对乙基硝基脲的致癌作用，较相应的非转基因动物，其敏感性提高了25倍；
- 基因删除动物致癌检测模型用同源重组的方法，将一段DNA整合到抗肿瘤基因，使该抗肿瘤基因不能表达具有正常功能的蛋白质，用这种方法培养的动物称基因删除动物。在这方面研究得最多的是肿瘤抑制基因P53.基因删除动物P53（ $-/-$ ）和正常动物P53（ $+/+$ ）一样，发育和生长均无异常，但用致癌剂（如二硝基二甲胺）处理后，P53（ $-/-$ ）基因删除动物的平均寿命为29周，而P53（ $+/+$ ）的平均寿命为42周，其肿瘤的发生与分布也有很大的差异。其他如芳香烃受体（AHR）小鼠、过氧化物酶体增殖剂诱导的受体 $\alpha$ （PPAR $\alpha$ ）小鼠等；
- 转基因动物用于生殖毒性研究ZP3（编码）透明带硫酸糖蛋白基因删除小鼠、雌激素受体基因或孕酮受体基因删除小鼠、DNA甲基转移酶基因删除小鼠

等。 1.2.4 用于特定组织毒性研究的转基因动物 典型的例子是用含乳糖操纵子的噬菌体培育一种转基因动物，具有乳糖操纵子的噬菌体在感染某些细菌后，菌落为蓝色。如果含有乳糖操纵子的噬菌体在体内由于受化学物的处理而受到损害，

100Test 下载频道开通，各类考试题目直接下载。详细请访问 [www.100test.com](http://www.100test.com)