

- [4] 徐文, 海春旭, 杨晨, 等. CLA 对 2 型糖尿病大鼠肝脏线粒体呼吸链酶活性及氧化应激的影响 [J]. 第四军医大学学报, 2005, 26 (23): 2138-2141.
- [5] Tahara A, Kurosaki E, Yokono M, *et al.* Effects of sodium-glucose cotransporter 2 selective inhibitor ipragliflozin on hyperglycaemia, oxidative stress, inflammation and liver injury in streptozotocin-induced type 1 diabetic rats [J]. J Pharm Pharmacol, 2014, 66 (7): 975-987.
- [6] 马山, 崔荣军. 翻白草对 2 型糖尿病肝脏大鼠氧化应激的实验性研究 [J]. 牡丹江医学院学报, 2008, 29 (4): 7-9.

- [7] 孙玉敏, 陈树君, 杨扬, 等. 慢性氟中毒大鼠血清总抗氧化能力与一氧化氮水平的变化 [J]. 中国工业医学杂志, 2009, 22 (6): 445-446.
- [8] 陈树君, 孙玉敏, 孟羽俊, 等. 慢性氟中毒对雄性大鼠肝脏的损伤及其抗氧化能力的影响 [J]. 环境与健康杂志, 2008, 25 (8): 714-715.
- [9] Romagnoli M, Gomez-Cabrera M C, Perrelli M G, *et al.* Xanthine oxidase-induced oxidative stress causes activation of NF-kappaB and inflammation in the liver of type I diabetic rats [J]. Free Radic Biol Med, 2010, 49 (2): 171-177.

2,4-二硝基苯甲醚的致突变性研究

Study on the mutagenicity of 2,4-dinitroanisole

卢青¹, 王鸿¹, 张盼红¹, 高俊宏¹, 刘志永¹, 岳红¹, 王延琦¹, 周群²

(1. 兵器工业卫生研究所, 陕西 西安 710065; 2. 西安近代化学研究所, 陕西 西安 710065)

摘要: 采用卫生部《化学品毒性技术鉴定规范》中试验方法对 2,4-二硝基苯甲醚 (DNAN) 的致突变性进行研究。Ames 试验结果显示, DNAN 在每皿 200~2500 μg 剂量范围引起 T98 菌株 (加 S_0) 回变菌落数增加 ($P < 0.05$), 且超过溶剂对照菌落数的 2 倍, 存在剂量-效应关系; 微核试验结果显示, DNAN 在 6~22 mg/kg 剂量范围内不引起小鼠骨髓嗜多染红细胞微核率增加。提示 DNAN 在 Ames 试验中有致突变作用, 但在小鼠体内试验中未发现致突变作用, 为可疑诱变剂。

关键词: 2,4-二硝基苯甲醚 (DNAN); 致突变性

中图分类号: R994.6 **文献标识码:** B

文章编号: 1002-221X (2015)01-0041-02

DOI: 10.13631/j.cnki.zgggxyx.2015.01.018

DNAN 是一种熔铸不敏感载体炸药^[1], 因其感度低、溶解性好等特性, 已成为 TNT 最有前景的替代物^[2]。本文采用卫生部《化学品毒性鉴定技术规范》^[3] 中鼠伤寒沙门杆菌回复突变试验 (Ames)、体内哺乳动物骨髓细胞嗜多染红细胞微核试验方法对 DNAN 的致突变性进行了研究。

1 材料与方法

1.1 材料

DNAN 为无色或淡黄色晶体, 微溶于水, 纯度 95%, 由西安近代化学研究所提供。实验动物 SPF 级 KM 小鼠, 由西安交通大学实验动物中心提供, 许可证号为 XK (陕) 2012—006。

1.2 方法

1.2.1 Ames 试验 菌株在试验前进行了生物特性鉴定, 鉴定结果为 TA97a、TA98、TA100、TA102 菌株。DNAN 采用二甲基亚砷溶解, 设每平皿 2500、1000、500、200、100 μg 共 5 个剂量组, 同时设置阳性和溶剂对照。每个剂量每个菌株各作 3 个平行皿, 在代谢活化 (加 S_0) 和非代谢活化 (不加 S_0) 两种条件下进行,

试验重复 1 次。平皿在 37℃ 培养 48 h 后人工计数回变菌落数, 并求平均值和标准差。若受试物的回变菌落数等于或大于溶剂对照回变菌落数的 2 倍, 并有剂量-反应关系判定结果为阳性。

1.2.2 微核试验 设 6、11、22 mg/kg 三个剂量组, 同时设阴性对照 (4% 淀粉溶液) 和阳性对照 (CP 30 mg/kg)。50 只健康 KM 小鼠, 体重 18~22 g, 随机分为五组, 采用 30 h 两次给药法, 第二次给药后 6 h 取材。取胸骨骨髓制片、固定、染色、阅片, 计算含有微核的嗜多染细胞数 (PCE) 及 PCE 与正染红细胞 (NCE) 的比值, 如受试物剂量组与对照组相比差异有统计学意义, 并有剂量-反应关系则可判定结果为阳性。

1.3 统计分析

应用 SPSS13.0 软件对数据进行统计分析。

2 结果

2.1 Ames 试验

在代谢活化或未代谢活化条件下, 阳性对照组各菌株的回变菌落数出现明显增多 ($P < 0.01$), 说明本试验系统可靠。在加 S_0 状态下, 每皿各剂量组诱发 TA98 回变菌落数增加 ($P < 0.05$), 且超过溶剂对照组菌落数 2 倍, 见表 1。说明在代谢活化条件下, DNAN 有致 TA98 菌株基因突变的作用。

2.2 微核试验

DNAN 各剂量组微核率与阴性对照组相比, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 见表 2。说明在本试验条件下, DNAN 在 6~22 mg/kg 剂量范围内不引起小鼠骨髓嗜多染红细胞微核率增加。

3 讨论

Dodd 等人曾用 TA98、TA100、TA102、TA1535 及 TA1537 菌株, 在代谢活化 (加 S_0) 和不活化 (不加 S_0) 的状态下检测了 DNAN 的致突变性, 结果发现 DNAN 能诱导 TA100 在未活化状态下回复突变增加^[4]。本次 Ames 试验结果表明, DNAN 在代谢活化时, 每皿 200、500、1000、2500 μg 浓度下可诱发 T98 回变菌落数增加 ($P < 0.05$), 且超过溶剂对照

收稿日期: 2014-03-05; 修回日期: 2014-04-28

作者简介: 卢青 (1976—), 女, 在职硕士, 主要从事职业卫生与毒理研究。

表 1 DNAN Ames 试验菌株的回变结果 ($\bar{x}\pm s$)

组别 ($\mu\text{g}/\text{皿}$)	TA97a		TA98		TA100		TA102	
	-S ₉	+S ₉	-S ₉	+S ₉	-S ₉	+S ₉	-S ₉	+S ₉
DNAN2500	抑菌	抑菌	55 ± 38	685 ± 80 * *	抑菌	抑菌	1186 ± 50 * *	1600 ± 214 * *
	抑菌	抑菌	60 ± 28	689 ± 70 * *	抑菌	抑菌	1203 ± 30 * *	1623 ± 114 * *
DNAN1000	71 ± 6	490 ± 128 * *	570 ± 91 * *	618 ± 48 * *	36 ± 14 *	87 ± 35 * *	614 ± 168 *	1133 ± 185 * *
	81 ± 13	500 ± 126 * *	576 ± 51 * *	623 ± 35 * *	40 ± 12 *	82 ± 42 * *	613 ± 68 *	1116 ± 90 * *
DNAN500	252 ± 114	688 ± 91 * *	262 ± 27 * *	305 ± 48 * *	728 ± 141 * *	2532 ± 50 * *	553 ± 16	775 ± 287 *
	244 ± 90	698 ± 81 * *	253 ± 15 * *	300 ± 38 * *	718 ± 214 * *	2612 ± 60 * *	563 ± 26	790 ± 185
DNAN200	475 ± 93 * *	582 ± 4 * *	84 ± 19	106 ± 1 *	2796 ± 84 * *	1317 ± 106 * *	418 ± 162	574 ± 82
	465 ± 70 * *	587 ± 10 * *	74 ± 12	115 ± 4	2700 ± 56 * *	1356 ± 86 * *	428 ± 123	586 ± 62
DNAN100	269 ± 75	364 ± 24 * *	41 ± 7	49 ± 17	1324 ± 28 * *	766 ± 19 * *	293 ± 178	572 ± 5
	254 ± 50	401 ± 14 * *	35 ± 6	54 ± 10	1305 ± 18 * *	788 ± 23 *	302 ± 123	594 ± 10
溶剂对照	162 ± 2	136 ± 33	9 ± 4	20 ± 2	231 ± 9	391 ± 52	334 ± 17	445 ± 61
	160 ± 3	140 ± 20	7 ± 1	18 ± 3	225 ± 6	400 ± 36	350 ± 15	441 ± 50
阳性对照★	2308 ± 352 * *	407 ± 16 * *	790 ± 155 * *	1107 ± 171 * *	2528 ± 204 * *	841 ± 91 * *	2284 ± 119 * *	836 ± 106 * *
	2219 ± 243 * *	435 ± 20	798 ± 103 * *	1115 ± 185 * *	2576 ± 237 * *	841 ± 91 * *	2256 ± 108 * *	902 ± 88 * *

注：与溶剂对照相比，* $P<0.05$ ，* * $P<0.01$ ；★：Dexon 为-S₉TA97a、-S₉TA98、-S₉TA102 阳性对照，NaN3 为-S₉TA100 阳性对照，2-AF 为+S₉TA97a、+S₉TA98、+S₉TA102 阳性对照，1,8-二羟基蒽醌为+S₉TA102 阳性对照。

表 2 DNAN 小鼠骨髓细胞嗜多染红细胞微核试验结果 ($\bar{x}\pm s$)

组别	动物数 (只)	受检PCE数 (个)	含微核 PCE数(个)	微核细胞率 (%)	PCE/NCE
6 mg/kg 组	10	20000	74	3.70±1.51	1.00±0.05
11 mg/kg 组	10	20000	73	3.65±1.45	1.00±0.05
22 mg/kg 组	10	20000	60	3.00±1.75	1.01±0.07
阴性对照	10	20000	34	1.70±1.89	0.97±0.07
阳性对照	10	20000	445	22.25±1.51 * *	0.98±0.07

注：与阴性对照组相比，* * $P<0.01$ 。

组的 2 倍，存在剂量-反应关系，有致突变作用。而微核试验为体内试验，本次结果为阴性，说明 DNAN 在体外（Ames）试验中有致突变作用，但在小鼠体内试验中未发现致突变作用，这种差异可能来源于体内外试验生物系统、代谢途径、受试物浓度差异等^[5]。试验表明 DNAN 为可疑诱变剂，可能对人体有潜在遗传毒性。

参考文献：

[1] 王浩, 王亲会, 黄文斌, 等. DNAN 降低 DNTF 冲击波敏感度研究 [J]. 含能材料, 2010, 18 (4): 435-438.

[2] Platten W E III, Bailey D, Suidan M T, *et al.* Biological transformation pathways of 2,4-dinitroanisole and *N*-methyl paranitro aniline in anacrobic fluidized-bed bioreactors [J]. Chemosphere, 2010, 81 (9): 1131-1136.

[3] 中华人民共和国卫生部,《化学品毒性鉴定技术规范》[S].

[4] Dodd D E, McDougal J N. 2001. Recommendation of an occupational exposure level for PAX-21 [R]. Wright Patterson Air Force Research Laboratory, Techncl Report AFRL-HE-WP-TR-2001-0103.

[5] 秦秀军, 岳娟, 李曙芳, 等. 二-(2,4-二氯苯甲酰异羟肪酸) 二苯基合锡的遗传毒性研究 [J]. 癌变·畸变·突变, 2012, 24 (4): 305-308.

(上接第 13 页)

[3] Jomova K, Valko M. Advances in metal-induced oxidative stress and human disease [J]. Toxicology, 2011, 283 (2/3): 65-87.

[4] 吴恺, 谭钢, 邵毅, 等. 莱菔硫烷对高糖刺激下大鼠晶状体上皮细胞的抗氧化效应研究 [J]. 当代医学, 2013, 24 (323): 1-2.

[5] 张平, 孟宪钧. 分光光度法测定大鼠不同组织还原型谷胱甘肽含量 [J]. 中华实用外科杂志, 1989, 6 (3): 141-142.

[6] Lowry O H, Rosebrought N J, Fan A L. Protein measurement with the Folin phenol reagent [J]. Biol Chem, 1951, 38 (3): 265-267.

[7] Leffler P E, Jin T, Norderg G F. Nephrotoxic impact of multiple short-interval cadmium-metallothionein injections in the rat [J]. Toxicology, 1996, 112 (2): 151-156.

[8] 刘德贝, 曹艳林, 吴建华, 等. 随机尿蛋白与尿肌酐比值测定临床分析 [J]. 检验医学与临床, 2010, 7 (4): 293-294.

[9] 杨海波, 徐兆发, 刘巍, 等. 氯化汞致大鼠损伤及原花青素的保护作用 [J]. 环境与职业医学, 2011, 28 (2): 105-108.

[10] 柯振符. 血清肌酐、胱抑素-C、尿素氮及 β_2 -微球蛋白检测在 2 型糖尿病早期肾损伤中的价值 [J]. 中国医药导报, 2013, 10

(22): 94-96.

[11] Zhang H, Cai C, Shi C, *et al.* Cadmium-induced oxidative stress and apoptosis in the testes of frog *Ranallimnocharis* [J]. Aquat Toxicol, 2012, 22 (6): 67-74.

[12] 王飞, 徐兆发, 冯雪英, 等. 沙棘油和五味子乙素对镉致大鼠肾损伤的影响 [J]. 环境与健康杂志, 2008, 25 (11): 3970-3972.

[13] 翁淑兰, 王桂芳, 刘士云, 等. 谷胱甘肽对顺铂所致肾损伤的保护作用 [J]. 职业与健康, 2009, 25 (4): 341-343.

[14] Wiwanitkit V. Cadmium related health effects [J]. Environ Res, 2012, 236 (12): 237-238.

[15] Uruno A, Motohashi H. The Keap1/Nrf2 system as an in vivo sensor for electrophiles [J]. Nitric Oxide, 2011, 25 (2): 153-160.

[16] Wakabayshi N, Dinkova-Kostova A T, Holtzclaw W D, *et al.* Protection against electrophile and oxidant stress by induction of the phase 2 response: Fate of cysteines of the Keap1 sensormodified by inducers [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2004, 101: 2040-2045.