

· 毒理 ·

雄黄致体内外染色体畸变

赵源, 吴文斌, 汤家铭*

(上海中医药大学实验动物中心, 上海 201203)

[摘要] **目的:**用仓鼠体内染色体畸变试验和中国仓鼠肺细胞 CHL 细胞染色体畸变试验评价雄黄的遗传毒性。**方法:**体内染色体畸变试验用毛足属仓鼠连续 ig 5 d 给予 33.25, 66.5, 133 mg·kg⁻¹ 剂量雄黄悬浊液, 处死前 2 h ip 秋水仙素。处死后取骨髓细胞制备染色体。油镜下观察每只动物骨髓细胞的有丝分裂指数和 100 个中期分裂相细胞的畸变类型。CHL 细胞染色体畸变试验用雄黄浸出液终质量浓度为 0.15, 0.3, 0.6 g·L⁻¹ 作用于 CHL 细胞, 培养 24 h 或 48 h, 终止培养前 4 h 加入秋水仙素。收获细胞, 制备染色体, 油镜下观察 CHL 细胞有丝分裂指数和 200 个中期分裂相细胞的畸变类型。**结果:**①雄黄 265.0 mg·kg⁻¹ 组和雄黄 530.0 mg·kg⁻¹ 组 ig 给药和雄黄浸出液 (1.2, 2.4 g·L⁻¹) 作用于 CHL 细胞显示有明显的抑制有丝分裂作用。②与阴性对照组比较, 雄黄 ig 给药仓鼠体内染色体畸变率和雄黄体外给药 CHL 细胞染色体畸变率均显著升高, 差异有极显著意义, 且有明显的量效关系。但体内试验的畸变率低于体外试验。③雄黄给药后 CHL 细胞染色体畸变试验中可见较多的染色体断片, 而仓鼠体内染色体畸变试验中未发现, 这可能与体内外药物作用的方式不同。**结论:**①雄黄能致体内外细胞染色体畸变, 具有遗传毒性。②仓鼠体内染色体畸变试验可作为中药新药遗传毒性评价试验组合的方法之一。

[关键词] 染色体畸变; 雄黄; 体内试验; 体外试验; 毛足属仓鼠; CHL 细胞; 有丝分裂指数

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)14-0245-05

[网络出版地址] <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20120515.1600.025.html>

[网络出版时间] 2012-05-15 16:00

Studies on *in vivo* and *in vitro* Hamster Chromosome Aberration Induced by Realgar

ZHAO Yuan, WU Wen-bin, TANG Jia-ming*

(Laboratory Animal Center, Shanghai University of Traditioanl Chinese Medicine, Shanghai 201203, China)

[Abstract] **Objective:** To evaluate the genetic toxicity of realgar by using Hamster *in vivo* chromosome aberration test and CHL cells chromosome aberration test. **Method:** For *in vivo* chromosome aberration test, hamsters (*Phodopus sungorus*) were used to realgar suspension at doses of 33.25, 66.5, 133 mg·kg⁻¹ respectively for 5 days by ig administration. Colchicine was injected intraperitoneally 2 h before sacrificed. Bone marrow cells were taken to prepare chromosome smears. Mitotic index of bone marrow cells and types of chromosome aberration in 100 metaphase cells per animal were observed under the microscope oil lens. For CHL cells chromosome aberration test, realgar extracts were used to cells at final doses of 0.15, 0.3, 0.6 g·L⁻¹, cultured for 24 h or 48 h. Colchicine was added at 4 h before harvesting and preparing chromosome smears. Mitotic index of CHL cells and types of chromosome aberration in 200 metaphase cells per dose were observed under the microscope oil lens. **Result:** ① Obvious mitosis inhibition effects were found at doses of 265.0, 530.0 mg·kg⁻¹

[收稿日期] 20111208(001)

[基金项目] 科技部重大新药创制基金(上海中医药大学 2009ZX09502-002)

[第一作者] 赵源, 理学学士, 实验师, 从事中药的遗传毒性研究, Tel:021-51322648, E-mail:cmx_2@126.com.

[通讯作者] * 汤家铭, 研究员, 硕士生导师, 从事中药的安全性评价及疾病动物模型的研究, Tel/Fax:021-51322647, E-mail:tangjiaming@hotmail.com

realgar suspensions *in vivo* chromosome aberration test, and of 1.2, 2.4 g·L⁻¹ final extract concentrations in CHL cell chromosome aberration test. ② Compared with the negative control, the chromosome aberration rates in both *in vivo* chromosome aberration test and CHL cell chromosome aberration test after administration were statistically significant increased, and had dose-effect relations. The aberration rate was lower *in vivo* test than *in vitro* test. ③ More chromosome fragments could be found in *in vitro* test, while no chromosome fragments was found in *in vivo* test. The difference may be caused by different drug-cell reactions in *in vitro* and *in vivo*. **Conclusion:** ① Realgar can cause chromosome aberrations both *in vitro* and *in vivo*, therefore has genotoxicity effect. ② Hamster (*Phodopus sungorus*) *in vivo* chromosome aberration test can be used as one of the test battery for evaluating Chinese medicine genotoxicity.

[Key words] chromosome aberrations; realgar; *in vivo*; *in vitro*; hamster (*Phodopus sungorus*); CHL cell line; mitosis index

雄黄(realgar)是一种矿物类中药,主要成分为三硫化二砷(As₂S₃)。现代药理学证明雄黄具有抗肿瘤、镇痉、止痛、杀虫和抗菌等功效^[1]。长期以来中医认为雄黄有毒,内服宜慎,不可久用,孕妇禁用,临床上亦有过量服用而中毒的报道^[2],因而雄黄列入我国颁布的 72 种有毒中药之一,受到药监部门的严格控制。对雄黄的毒理学研究发现,雄黄具有肝肾毒性^[3-4],但至今未有遗传毒性的报道。

染色体畸变试验是毒理学上常用的用于检测药物对机体遗传物质引起损伤的一种方法。目前应用的体内染色体畸变试验方法主要有小鼠骨髓细胞染色体畸变试验^[5],体外采用中国仓鼠肺细胞(CHL)进行染色体畸变试验^[6]。小鼠染色体数多(达 40 条)而小,在一般光学显微镜下不易对染色体畸形类型进行区分,因而普遍采用 CHL 细胞进行体外染色体畸变试验。由于体内试验能模拟药物在人体内的吸收、分布、代谢和排泄的过程,更适合于中药的遗传毒性研究,而仓鼠染色体具有大而少的特点,适用于染色体畸变的观察。为此我们采用自己培育的毛足属仓鼠^[7],用中药雄黄作为受试物进行仓鼠体内染色体畸变试验和 CHL 细胞染色体畸变试验的比较研究,观察雄黄致染色体畸变的作用。

1 材料

1.1 动物 普通级毛足属仓鼠,体重(40±5)g,来源于上海中医药大学实验动物中心自行繁育的封闭群,饲养在普通级动物实验室内,温度控制在(20~25)℃,湿度控制在 40%~70%。动物自由摄食,饮水,1 周换 1~2 次垫料。

1.2 仪器与试剂 Motic BA400 生物显微镜(带数码照相及图像分析系统),雄黄(产地湖南石门,由上海封浜中药饮片厂加工炮制成饮片,上海市食品药品监督管理局提供,批号 H2007052401,使用前经上海

食品药品检验所检测总砷含量 95.5%,可溶性砷含量 3.32%,价态砷含量 1.39%)。雄黄浸出液制备:1.0 g 雄黄生药溶解于 10 mL HBSS 中形成混悬液,37℃水浴摇床以 100 r·min⁻¹水浴震荡 4 h 后静止 20 h,取上清液过滤后备用。CHL 细胞株(中国科学院上海药物研究所药物安全评价中心)、丝裂霉素 C(MMC,购自上海楷洋生物技术有限公司,进口分装,Number: K0029)、秋水仙素(购自 Sigma,批号 119K147)、甲醇、冰醋酸及其他试剂均为国产分析纯。

2 方法

2.1 毛足属仓鼠分组与给药 在普通级饲养室观察 5 d 按体重随机分组,分为阴性对照组、MMC 阳性对照组、雄黄 5 个剂量(530,265,133,66.5,33.25 mg·kg⁻¹)组,每组 6 只,雌雄各半。雄黄组连续 ig 给药 5 d,阴性对照组仓鼠 ig 0.5% 羧甲基纤维素钠(0.5% CMC-Na),阳性对照组第 5 天 ip MMC 0.2 mg·kg⁻¹。

2.2 处死及取材 各实验组最后 1 次染毒后 22 h 给毛足属仓鼠 ip 秋水仙素(2 mg·kg⁻¹),2 h 后将毛足属仓鼠处死,取其股骨,剪去两端,用针头吸少许 37℃预热生理盐水冲出骨髓,制备染色体片。

2.3 CHL 细胞染色体畸变试验 CHL 细胞培养选用 Φ60 mm 的培养皿,培养于 5% CO₂,37℃的 CO₂ 培养箱内。当细胞长满 80% 时,每只细胞培养皿中依次加入阴性对照(DMSO)、阳性对照(MMC,最终浓度 24 h 0.1 mg·L⁻¹,48 h 0.05 mg·L⁻¹)和不同剂量雄黄浸出液 0.5 mL,最终培养液总量为 5.0 mL,继续置 CO₂ 培养箱中 37℃培养 24 h 或 48 h。终止培养前 4 h,每只细胞培养皿中加入 10 mg·L⁻¹秋水仙素溶液 0.1 mL 使其终质量浓度达到 0.2 mg·L⁻¹。收获细胞,制染色体标本。

2.4 染色体制片和染色 按 Prestone 等^[8]的方法

制备染色体,并用 Giemsa 液染色 20 min 左右。

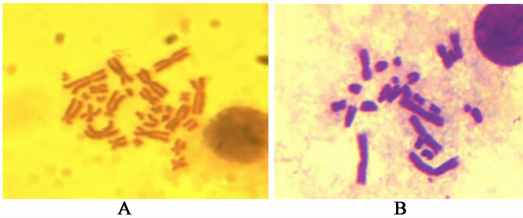
2.5 观察分析 对各组的仓鼠骨髓细胞和 CHL 细胞计数 1 000 个,计算有丝分裂指数。选择细胞染色体分散良好、背景清晰的分裂中期的细胞在油镜下进行染色体分析。毛足属仓鼠每只动物观察 100 个中期分裂相细胞,CHL 细胞每个标本观察 200 个中期分裂相细胞,分别记录染色体畸变细胞数和畸变类型,计算畸变率。

2.6 数据处理 实验数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示,毛足属仓鼠体内染色体畸变试验用方差检验,CHL 细胞染色体畸变用卡方检验进行统计学处理, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 毛足属仓鼠染色体和 CHL 细胞染色体的比较

将正常毛足属仓鼠骨髓细胞与 CHL 细胞系制成染色体片,在 $1\ 000\times$ 显微镜下计数 50 个中期分裂相细胞的染色体数,发现毛足属仓鼠 94% 的骨髓细胞为 28 条染色体,只有 6% 的细胞少于 28 条 (27.9 ± 0.59); 而 CHL 细胞有 21 ~ 26 条染色体 (23.7 ± 1.33),其分布为:21 条 3 个,22 条 6 个,23 条 14 个,24 条 8 个,25 条 17 个,26 条 2 个。用 Motic 图像分析系统测量染色体大小,毛足属仓鼠最大染色体长 $8.5 \sim 9.0\ \mu\text{m}$,宽 $1.8\ \mu\text{m}$,CHL 细胞最大染色体长 $17 \sim 20\ \mu\text{m}$,宽 $2.0 \sim 2.2\ \mu\text{m}$ (图 1)。



A. 正常毛足属仓鼠骨髓细胞;B. 正常 CHL 细胞

图 1 正常仓鼠骨髓细胞(A)和

正常 CHL 细胞(B)染色体(Giemsa 染色, $\times 1000$)

3.2 雄黄给药后毛足属仓鼠骨髓细胞和 CHL 细胞的有丝分裂指数分析

雄黄连续 ig 给药 5 d,秋水仙素注射 2 h 后取骨髓制备染色体片,镜下观察染色体畸变情况。发现阴性对照组和阳性对照 MMC 组的有丝分裂指数差异无显著意义,而雄黄 530.0, 265.0 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 剂量组的有丝分裂指数明显低于阴性对照和与 MMC 组比较,差异有显著意义($P < 0.05$)。雄黄 133.0, 66.5, 33.3 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 剂量组的有丝分裂指数与阴性对照组和 MMC 组比较,差异无显著意义。故在染色体畸变试验中选雄黄高剂量组 ($133.0\ \text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)、中剂量组 ($66.5\ \text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) 和低剂

量组 ($33.3\ \text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) 进行染色体畸变观察。见表 1。

表 1 雄黄 ig 给药后仓鼠骨髓细胞有丝分裂指数 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

组别	剂量	有丝分裂指数
	/ $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$	/ $\times 10^{-3}$
阴性对照(0.5% CMC-Na)	-	36.3 ± 16.6
阳性对照 MMC	0.2	28.0 ± 4.6
雄黄	33.3	28.0 ± 5.0
	66.5	31.2 ± 2.4
	133.0	29.0 ± 23.9
	265.0	$9.7 \pm 3.6^{1)}$
	530.0	$8.7 \pm 6.8^{1)}$

注:与阴性对照组比较¹⁾ $P < 0.05$ 。

在体外 CHL 细胞培养中加入药物,秋水仙素处理 4 h 后取制备染色体片,镜下计算 1 000 个 CHL 细胞中处于中期分裂相细胞的千分比。结果发现,用雄黄浸出液 2.4, 1.2 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 终浓度,细胞在 24 h 内完全脱落,无法进行有丝分裂指数计算和染色体畸变试验;而用雄黄浸出液 0.6, 0.3, 0.15 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, 各剂量的有丝分裂指数与阴性对照比较,差异无显著意义,则选 0.6, 0.3, 0.15 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 进行染色体畸变观察。见表 2。

表 2 雄黄给药后 CHL 细胞的有丝分裂指数

组别	剂量/ $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	有丝分裂指数/ 10^{-1}
阴性对照	-	34
阳性对照 MMC	0.000 1	28
雄黄浸出液	0.15	20
	0.3	22
	0.6	29
	1.2	ND
	2.4	ND

注: χ^2 检验分析,各组间差异无统计学意义;ND 为细胞漂浮,未检测。

3.3 雄黄给药后毛足属仓鼠骨髓细胞和 CHL 细胞的染色体畸变率的比较 表 3 示不同剂量雄黄 ig 给药 5 d 后对毛足属仓鼠骨髓细胞染色体畸变率的观察结果。因研究结果未显示性别差异,故将雌、雄小鼠的实验结果合并。

表 3 雄黄 ig 给药仓鼠体内染色体畸变试验结果 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

组别	剂量	中期相染色体细胞	染色体畸
	/ $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$	计数/个/只	变细胞率/%
阴性对照	-	100	0.5 ± 0.0
阳性对照 MMC	0.2	100	$15.5 \pm 6.1^{2)}$
雄黄	33.25	100	$2.8 \pm 1.0^{2)}$
	66.5	100	$4.7 \pm 1.0^{2,3)}$
	133.0	100	$12.1 \pm 6.6^{2)}$

注:与阴性对照组比较¹⁾ $P < 0.05$,²⁾ $P < 0.01$;与雄黄 33.25 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 组比较³⁾ $P < 0.05$ 。

结果显示阳性对照 MMC 的染色体畸变率与阴性对照比较, 差异有极显著意义; 雄黄各剂量组与阴性对照比较, 差异有极显著意义 ($P < 0.01$), 且有明显的量效关系。

在 CHL 细胞染色体畸变试验中, 考虑到雄黄三

硫化二砷是无机化合物, 无需添加代谢活化系统 (S9)。结果显示无论 24 h 还是 48 h, 阳性对照 MMC 的染色体畸变率与阴性对照比较, 差异有极显著意义; 雄黄各剂量组与阴性对照比较, 差异有极显著意义 ($P < 0.01$), 且有明显的量效关系 (表 4)。

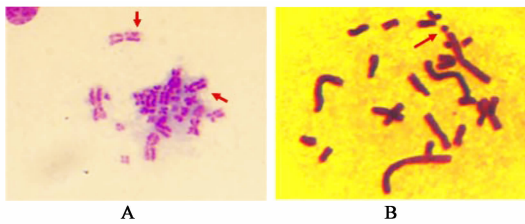
表 4 雄黄 CHL 细胞染色体畸变试验

组别	剂量 /g·L ⁻¹	中期相染色体 细胞计数/个	24 h, -S9 mix		48 h, -S9 mix	
			染色体畸变 细胞数/个	染色体 畸变率/%	染色体畸变 细胞数/个	染色体 畸变率/%
阴性对照 (DMSO) ³⁾	0.02	200	3	1.5	4	2.0
丝裂霉素 C	0.000 1	200	48	24.0 ²⁾	56	28.0 ¹⁾
雄黄浸出液	0.15	200	25	12.5 ²⁾	21	10.5 ²⁾
	0.3	200	39	19.5 ²⁾	24	12.0 ²⁾
	0.6	200	41	20.5 ²⁾	37	18.5 ²⁾

注: 与阴性对照组比较¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$; DMSO 的剂量单位是 L·L⁻¹。

图 2 示雄黄致仓鼠体内和 CHL 细胞体外染色体断裂的照片。

3.4 雄黄高剂量组与 MMC 组给药后毛足属仓鼠骨髓细胞和 CHL 细胞的染色体畸变类型的比较
将毛足属仓鼠体内染色体畸变试验 MMC 组、雄黄高剂量组和 CHL 细胞染色体畸变试验中 MMC 组、雄黄高剂量组的各种染色体畸变类型进行分析。用 SPSS 13.0 统计软件作卡方检验发现, 无论是 MMC 组还是雄黄高剂量组, CHL 体外试验 24, 48 h 的染色体断裂和断片的百分比与毛足属仓鼠体内试验比较, 都显著增高, 差异有显著性意义 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$), 表明 MMC 和雄黄在体外试验中对染色体的损伤更大 (表 5)。



A. 仓鼠骨髓细胞染色体; B. CHL 细胞染色体

图 2 雄黄致仓鼠骨髓细胞 (A)

和 CHL 细胞染色体断裂 (Giemsa 染色, ×1000)

表 5 雄黄致体内外染色体畸变类型的比较

染色体	n	正常	缺失	断裂	断片	多倍体*	粉碎化	三辐体	四辐体	环状染色体		
毛足属仓鼠 (体内)	丝裂霉素 C 0.2 mg·kg ⁻¹	600	n	507	44	45	0	0	2	1	0	1
		%		84.50	7.33	7.50	0.00	0.00	0.33	0.17	0.00	0.17
	雄黄 265 mg·kg ⁻¹	600	n	582	10	6	0	0	0	2	0	0
		%		97.00	1.67	1.00	0.00	0.00	0.00	0.33	0.00	0.00
CHL 细胞 24 h (体外)	丝裂霉素 C 1 mg·L ⁻¹	200	n	152 ¹⁾	9	26 ¹⁾	12 ²⁾	0	0	1	0	0
		%		76.00	4.50	13.00	6.00	0.00	0.00	0.50	0.00	0.00
	雄黄 600 mg·L ⁻¹	200	n	159 ⁴⁾	5	17 ⁴⁾	18 ⁴⁾	0	1	0	0	0
		%		79.50	2.50	8.50	9.00	0.00	0.50	0.00	0.00	0.00
CHL 细胞 48 h (体外)	MMC 1 mg·L ⁻¹	200	n	144 ²⁾	8	36 ²⁾	5 ²⁾	1	1	5 ¹⁾	1	0
		%		72.00	4.00	18.00	2.50	0.50	0.50	2.50	0.50	0.00
	雄黄 600 mg·L ⁻¹	200	n	163 ⁴⁾	10 ³⁾	10 ⁴⁾	16 ⁴⁾	2	0	1	0	0
		%		81.50	5.00	5.00	8.00	1.00	0.00	0.50	0.00	0.00

注: * 多倍体不计入畸变率中, χ^2 检验: 与毛足属仓鼠 MMC 0.2 mg·kg⁻¹ 组比较¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$; 与毛足属仓鼠雄黄 265 mg·kg⁻¹ 组比较³⁾ $P < 0.05$, ⁴⁾ $P < 0.01$ 。

4 讨论

根据《药物遗传毒性研究技术指导原则》^[9], 药

物遗传毒性评价试验组合包括 Ames 试验、CHL 细胞染色体畸变试验和小鼠骨髓细胞微核试验, 其中

Ames 试验和 CHL 细胞染色体畸变试验是体外试验。中药因其特殊的剂型和理化性质的干扰,很难用体外试验进行遗传毒性评价。根据近年来的研究,一些中药如槟榔^[10]、姜半夏^[11]、斑蝥^[12]、商陆^[13]、狼毒^[14]、桑寄生^[15]、细辛^[16]等具有遗传毒性,这就提出了如何针对中药新药特别是中药复方的遗传毒性评价的问题。由于体内试验没有上述理化性质的干扰,能更简便、真实反映药物在体内的吸收、分布、代谢和排泄过程,因而筛选稳定、可靠的各种体内试验方法是建立针对中药的遗传毒性试验组合的基础。

我们在建立毛足属仓鼠染色体制备的基础上,用毛足属仓鼠体内染色体畸变试验对雄黄进行遗传毒性研究,并与 CHL 染色体畸变试验进行比较。结果显示,不论是仓鼠体内染色体畸变试验还是 CHL 细胞染色体畸变试验,与阴性对照组比较,雄黄各剂量组都有较高的染色体畸变率,差异有统计学意义,且呈明显的量效关系,与小鼠骨髓细胞微核试验和彗星试验结果一致,证明了雄黄具有遗传毒性。

我们发现,用 MMC 做阳性对照,雄黄做受试物,仓鼠体内和体外染色体的畸变类型有所不同,CHL 细胞出现较多的染色体断裂和断片,而体内试验则没有,这可能是因为体外实验是受试物直接与细胞接触,而受试物在体内则要经过复杂的吸收、分布和代谢过程才作用于染色体的关系,这也是体内染色体畸变率低于体外试验的原因。

用仓鼠做染色体畸变试验的优点是染色体大而少,中国仓鼠染色体仅 11 对,因而容易清楚地观察到畸变类型。但是由于中国仓鼠喜独居,繁殖力低下,需要单笼饲养,给动物饲养繁殖、供应、运输和动物实验带来困难,这可能是文献很少报道用中国仓鼠做染色体畸变试验的原因。毛足属仓鼠染色体虽小于中国仓鼠,但与小鼠染色体相比,要大得多,数量也少得多(毛足属仓鼠 $2n = 14$ 对,小鼠 $2n = 20$ 对),因而在显微镜下易观察到各种畸变的种类。特别值得注意的是,毛足属仓鼠雌雄可长期同居繁殖,繁殖力也强,不存在饲养管理和运输上的问题,给动物实验带来极大的便利^[7]。

正常动物染色体都是二倍体,极少有非整倍体出现;而 CHL 细胞由于长期体外传代,染色体数量已经发生改变,如中国仓鼠染色体是 22 条,我们计数 CHL 细胞染色体在 21 ~ 26 条不等,这也给辨别药物引起染色体数量改变带来困难。

本次实验我们用雄黄浸出液进行 CHL 细胞染

色体畸变试验,这是因为我们已经发现雄黄的毒性成分是可溶性砷^[17],但如果受试物是中药水煎剂或丸散膏丹等,就无法进行体外试验,体内试验就显示了其优越性,因此仓鼠体内染色体畸变试验可作为中药新药遗传毒性评价试验组合的方法之一。

[参考文献]

- [1] 中国药典.一部[S].2005:307.
- [2] 白冰,李秀芳,杨莹,等.大鼠口服雄黄后砷的药物动力学与毒代动力学研究[J].中国药师,2010,13(5):626.
- [3] 张亚敏,纪淑芳,蔡连之,等.雄黄生品水飞炮制品的毒理学比较[J].长春中医学院学报,2000,16(1):46.
- [4] 李国明,刘社清,张雪静.雄黄对小鼠肾脏形态学的研究[J].河北医药,2002,24(1):60.
- [5] 孟紫强,张波.二氧化硫吸入诱发小鼠骨髓细胞染色体畸变的效应[J].中华预防医学杂志,2002,36(4):229.
- [6] 尤昭玲,刘丹卓,赵新广,等.游丹寿胎丸对 CHL 细胞株染色体畸变影响的研究[J].湖南中医药大学学报,2008,28(3):3.
- [7] 黄珍祯,赵源,樊海艇,等.黑线毛足仓鼠实验动物化及生物学特性观察[J].实验动物与比较医学,2011,31(5):1.
- [8] Prestone R J, Kean B J, Galloway S, et al. Mammalian *in vivo* cytogenetic assays: Analysis of chromosome aberrations in bone marrow cells[J]. *Muta Res*, 1987, 189(2):157.
- [9] 《药物遗传毒性研究技术指导原则》课题研究组.药物遗传毒性研究技术指导原则(第二稿),2006:10.
- [10] 臧雪冰,胡怡秀,丘丰,等.槟榔的遗传毒性研究[J].实用预防医学,1999,6(4):265.
- [11] 王小红,江洪,夏明珠,等.姜半夏致突变性实验研究[J].江苏中医药,2002,23(8):42.
- [12] 周晖.南方大斑蝥煎煮液的体内和体外致突变作用研究[J].癌变·畸变·突变,2000,12(4):221.
- [13] 李啸红,杨柳,李朝平,等.商陆遗传毒性研究[J].中药药理与临床,2003,19(2):27.
- [14] 刘萍,杜娟,于丽华,等.狼毒大戟水提物对小鼠致突变作用的实验研究[J].山东医科大学学报,2000,38(1):27.
- [15] 彭树新,李啸红.桑寄生的遗传毒理学研究[J].中国优生与遗传杂志,2008,16(12):46.
- [16] 宋俊斋,李家亿,杨念,等.中药细辛的遗传毒性实验研究[J].中国药物警戒,2010,7(5):262.
- [17] 顾晶晶,黄珍祯,谷颖敏,等.雄黄可溶性砷和价态砷与小鼠急性毒性关系的研究[J].中国实验方剂学杂志,2011,17(8):266.

[责任编辑 聂淑琴]