

丙烯醛 -DNA 加合物的研究进展*

尹瑞川 汪海林**

(中国科学院生态环境研究中心环境化学与生态毒理学国家重点实验室, 北京, 100085)

摘 要 丙烯醛是一种活泼的 α β 不饱和醛, 在环境中广泛存在, 香烟烟气和厨房油烟是人体丙烯醛暴露的主要环境来源. 另一方面机体内丙烯醛可以通过脂质过氧化、氨基酸氧化等多种途径自发生成. 进入人体后, 丙烯醛和 DNA 发生加合生成丙烯醛-DNA 加合物. 目前研究最多的是丙烯醛-dG 加合物, 包括 α -OH-PdG 和 γ -OH-PdG, 其中 γ -OH-PdG 是主要 dG 加合物, 可引起基因突变 (约 1%), 以 $G \rightarrow T$ 突变为主, 而次要加合物 α -OH-PdG 的突变概率高于 γ -OH-PdG (约 8%), 同样以 $G \rightarrow T$ 突变为主, 并且这些加合物与一些癌症密切相关, 如吸烟相关肺癌和膀胱癌等. 此外, 丙烯醛可以与其它碱基发生加合, 生成其它类型的 DNA 加合物, 包括丙烯醛-dA、dC 和 dT 加合物, 其中一些加合物的结构已表征, 并在体外反应中存在.

关键词 香烟烟气, 丙烯醛-DNA 加合物, 基因突变.

丙烯醛是一种活泼的 α β 不饱和醛, 在环境中广泛存在. 香烟烟气中含有大量丙烯醛, 每支香烟大约产生 10—500 μ g 丙烯醛^[1]. 空气中丙烯醛的另一个主要来源是厨房油烟, 它与中国妇女肺癌多发有着密切的关系^[2]. 此外, 机体内还可以通过脂质过氧化、氨基酸氧化及多胺氧化等多种途径生成丙烯醛. 这些自发生成的丙烯醛也不可忽视, 与多种疾病的生成有关^[2].



丙烯醛含有两个亲电基团, 具有很强的反应活性, 因而在机体内可直接和多种生物分子发生加合, 如蛋白质半胱氨酸残基中的巯基, 组氨酸、赖氨酸、精氨酸等残基中的氨基^[2-3], 核酸中的鸟嘌呤^[4,7]、腺嘌呤^[8-12]、胞嘧啶^[8, 13-15]及胸腺嘧啶^[16, 17]等. 丙烯醛-DNA 加合物可导致基因突变, 可能与一些癌症的发生密切相关, 如吸烟相关肺癌^[1, 18]、化疗病人的二次膀胱癌^[19]等, 因而受到越来越多的科学家关注, 其相关报道也越来越多. 本文总结了近年来关于丙烯醛-DNA 加合物的相关研究, 从丙烯醛-DNA 加合物的表征与鉴定、检测方法及其毒理效应 (包括致突变和致癌作用) 研究等三个方面进行简要介绍.

1 丙烯醛 -DNA 加合物的表征与鉴定

目前, 关于丙烯醛-DNA 加合物的报道大多集中在 dG 加合物的研究. 尽管如此, 一些研究表明丙烯醛可以与其它核苷 (dA, dC 和 dT) 生成加合物, 并对这些加合物进行表征鉴定. 下面分别介绍这几类丙烯醛-DNA 加合物.

1.1 丙烯醛 -dG 加合物

1984 年, Hecht 实验室在研究丙烯醛与脱氧鸟苷 dG 的体外反应中, 发现了 3 种主要产物, 结合紫外可见光谱、质谱和核磁共振等手段, 确认了 3 个产物均为丙烯醛-dG 加合物, 对 3 种加合物的结构进行了表征. 丙烯醛的 C-3 与 dG 的 N-1 发生 Michael 加成, 丙烯醛的 C-1 与 N² 结合, 形成环状加合物 1, N²-6-OH- β -propanodG (α -OH-PdG); 丙烯醛与 dG 反向加合, 则生成 1, N²-8-OH- β -propanodG (γ -OH-PdG)^[4] (见图 1).

α -OH-PdG 的 C₆ 具有手性, 因而有两种同分异构体, 具有相同的紫外可见光谱, 质谱和核磁共振谱,

2010 年 8 月 6 日收稿.

* 973 计划项目 (2007CB407305, 2009CB421605); 863 计划项目 (2007AA06A407); 国家自然科学基金 (20877091, 20737003) 资助.

** 通讯联系人, E-mail: hhwang@rcees.ac.cn

可以通过 HPLC 分离, 而且两种异构体可相互转换; γ -OH-PdG 在 C_{ν} 具有手性, 有两种同分异构体. 在生物体内丙烯醛-dG 加合物的生成具有立体选择性, γ -OH-PdG 是主要的形式, 其含量高于 α -OH-PdG. 在丙烯醛暴露的中国仓鼠卵巢细胞^[20] 和人纤维细胞^[21] 中均发现了 γ -OH-PdG. 口服抗癌药环磷酰胺 1h 后, 小狗白细胞中也可以检测到 γ -OH-PdG^[21]. 在未经丙烯醛或抗癌药物处理的啮齿动物和人不同组织中均存在丙烯醛-dG 加合物^[5, 7, 22].

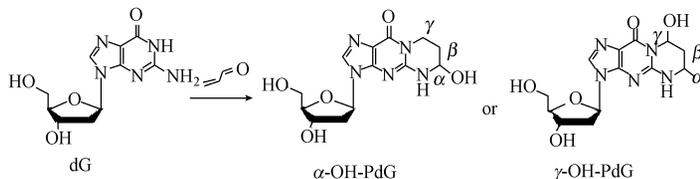


图 1 丙烯醛-dG 加合物

Fig 1 The structure of A croleir dG adducts

1.2 丙烯醛-dA 加合物

1988年 Sodem 及其同事鉴定了丙烯醛-dA 加合物. 他们将脱氧腺核苷 (dA) 和丙烯醛混合反应, 通过阴离子交换柱分离纯化反应产物, 结合紫外吸收、¹H NMR 和氧化银氧化, 推断产物为 γ -OH-1, N⁶-PdA^[8] (图 2). 随后, Smith 等人发现丙烯醛-dA 加合物是 α -OH-1, N⁶-PdA, 而不是 γ -OH-1, N⁶-PdA. 采用一维 (¹H, ¹³C) 和二维 NMR 对其结构进行表征, 确认该加合物是 α -OH-1, N⁶-PdA, 进一步确定羟基在 α 位而不是 γ 位 (图 2). 他们还结合 5'-³²P 标记、薄层层析 TLC 和离子对色谱等手段, 对丙烯醛处理的寡链脱氧腺苷酸和小牛胸腺 DNA 进行分析, 均检测到 α -OH-1, N⁶-PdA 加合物的生成^[9]. 近年来, Pawlowicz 研究组致力于丙烯醛-dA 加合物的研究. 采用 LC-ESI/MS/MS 方法, 确认了多种丙烯醛-dA 加合物, 其中 α -OH-1, N⁶-PdA 是丙烯醛和脱氧腺苷反应的主要产物. 这与 Smith 等人的研究结果相同. 同时在丙烯醛处理的小牛胸腺 DNA (单链和双链) 中, 他们均检测到了该加合物^[10-11]. 此外, Kawai 等人采用免疫的方法, 在大鼠肾上皮细胞 DNA 中检测到 α -OH-1, N⁶-PdA^[12].

1.3 丙烯醛-dC 加合物

Sodem 等人在发现丙烯醛-dA 加合物的同时, 也合成、表征了丙烯醛-dC 加合物. 通过 TLC 分析, 结合紫外吸收、¹H NMR 和氧化银氧化, 发现了丙烯醛-dC 加合物, 并推断了其结构为 γ -OH-3, N⁴-PdC^[8] (图 3). Smith 等人将 3'-磷酸脱氧胞苷酸和 3 倍过量的丙烯醛混合, 37°C 反应 16h 通过二维 NMR 表征, 其反应产物为单丙烯醛加合物, 其结构为 α -OH-3, N⁴-PdC, 不同于 Sodem 提出的 γ 型异构体^[13] (图 3). 此后, Chenna 等也认为丙烯醛-dC 加合物为 α -OH-3, N⁴-PdC^[14]. Pawlowicz 等发现丙烯醛与脱氧胞苷 dC 可生成加合物 α -OH-3, N⁴-PdC, 其摩尔产率为 7.7%. α -OH-3, N⁴-PdC 的结构与 Smith 和 Chenna 研究相同.

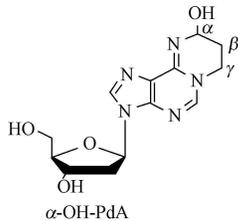
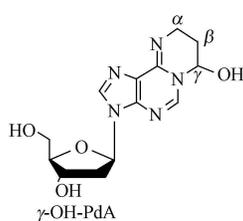


图 2 丙烯醛-dA 加合物可能的两种结构

Fig 2 Proposed structure of A croleir dA adducts

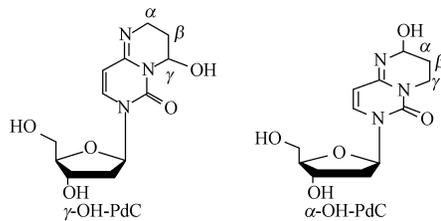


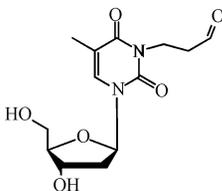
图 3 丙烯醛-dC 加合物两种可能的结构

Fig 3 Proposed structure of A croleir dC adducts

进一步研究了该加合物的紫外吸收光谱: λ_{max} (H₂O) 218 和 284 nm, λ_{min} (H₂O) 246nm. 在丙烯醛处理的小牛胸腺 DNA (单链和双链) 中, 他们也检测到 α -OH-3, N⁴-PdC^[15]. 因而推断在人体内可能存在这些加合物, 并对丙烯醛的致突变性有所贡献.

1. 4 丙烯醛-dT加合物

Chenna等利用 UV、MS、和 ^1H NMR 等手段, 鉴定丙烯醛-dT加合物的结构. 室温下, 该加合物在水溶液中不稳定, 容易生成其它物质^[16]. Pawlowicz等也发现了有丙烯醛-dT加合物生成, 结合质谱、 ^1H 和 ^{13}C -NMR, 确认其为单加合物, 结构如下, 并且在丙烯醛处理的小牛胸腺 DNA 中, 检测到了丙烯醛-dT加合物^[17].



2 检测方法

2.1 丙烯醛-dG加合物的检测方法

丙烯醛-dG加合物的常见检测方法包括 ^{32}P 后标记法、高效液相色谱-串联质谱检测法和免疫检测方法. 在丙烯醛-dG加合物研究的早期, 多采用 ^{32}P 后标记法, 检测不同生物、不同组织中 dG加合物的含量. 但是由于 ^{32}P 后标记法不能提供 DNA 加合物的结构信息, 也不能精确定量加合物, 近几年高效液相色谱-串联质谱检测法逐渐替代 ^{32}P 后标记法而广泛用于丙烯醛-dG加合物的检测中. 除了上述两种方法外, 还有一些报道利用免疫的方法检测该加合物. 这种方法 DNA 用量少, 操作简单.

2.1.1 ^{32}P 后标记法

Chung研究组建立了一种 ^{32}P 后标记方法, 用来检测丙烯醛-dG加合物以及相关加合物, 如巴豆醛-dG加合物^[5,6,23]. 该方法可分为几步进行: 首先向 DNA 中加入微球菌核酸酶和脾磷酸二酯酶, 将 DNA 酶切为 3'磷酸核苷酸, 通过高效液相色谱 (HPLC) 或固相萃取 (SPE) 纯化富集 3'磷酸丙烯醛修饰的核苷酸, 然后添加核酸酶 P1、T4 多核苷酸激酶和 $[\gamma\text{-}^{32}\text{P}]\text{ATP}$, 得到 5'- ^{32}P 标记-3', 5'-双磷酸丙烯醛修饰的核苷酸. 薄层色谱 (TLC) 去除剩余的 $[\gamma\text{-}^{32}\text{P}]\text{ATP}$, 纯化 5'- ^{32}P 标记-3', 5'-双磷酸丙烯醛修饰的核苷酸, 再经反相液相色谱和离子对色谱进一步纯化, 收集含有该物质的馏分, 干燥, 重溶, 最后由反相色谱分离, 辐射检测器检测和定量. 其方法流程如图 4 所示.

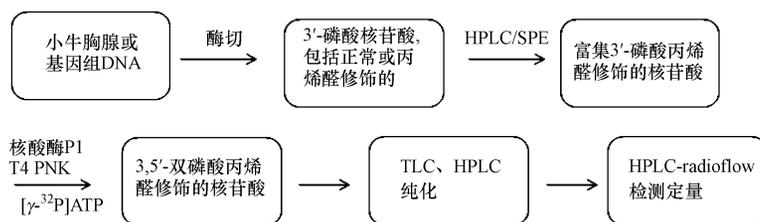


图 4 ^{32}P 后标记法测定丙烯醛-DNA 加合物的流程

Fig 4 An outline of the procedure of ^{32}P -post labeling method

利用该方法, 他们在未经丙烯醛处理的小鼠、大鼠和人体肝脏组织内发现了丙烯醛、巴豆醛与 dG 的加合物^[5]. 丙烯醛-dG加合物主要为 $\gamma\text{-OH-PdG}$, 其含量分别为 23—67 个加合物/ 10^8 鸟核苷 (小鼠)、1.0—4.0 个加合物/ 10^8 鸟核苷 (大鼠) 和 3.0—74 个加合物/ 10^8 鸟核苷 (人). 在大多样品中 $\alpha\text{-OH-PdG}$ 含量很低, 甚至有些样品中并没有检测到 $\alpha\text{-OH-PdG}$. 他们又对未处理的小鼠、大鼠肺、肾、脑、乳房、前列腺、结肠、皮肤和白细胞进行检测, 在这些样品中均检测到丙烯醛-dG加合物, $\gamma\text{-OH-PdG}$ 为主要加合物, 其含量在 5.5—93.4 个加合物/ 10^8 鸟核苷之间^[22]. 最重要的是, 他们发现在未处理的人体白细胞和乳腺中均含有 $\gamma\text{-OH-PdG}$, 其含量为 3.0—25 个加合物/ 10^8 鸟核苷 (白细胞)、10—66 个加合物/ 10^8 鸟核苷 (乳腺). 同样, 在上述样品 (小鼠、大鼠和人) 中, $\alpha\text{-OH-PdG}$ 含量很低, 甚至低于检测限. 这些数据表明丙烯醛-dG加合物的生成在生物体内具有立体选择性, $\gamma\text{-OH-PdG}$ 是主要的形式, 其含量高于 $\alpha\text{-OH-PdG}$. 在上述样品中也检测到了巴豆醛-dG加合物, 但低于丙烯醛-dG加合物. 此外, 这两种加合物在不同组织中分布并不相同, 如大鼠脑组织中, 巴豆醛-dG加合物含量最高, 而前列腺和乳腺中, 主要为丙烯醛-dG加

合物^[22].

此外,他们还比较了吸烟者和不吸烟者口腔组织中丙烯醛-dG加合物的含量,在口腔组织中发现了丙烯醛-dG加合物,并且吸烟者口腔组织中 γ -OH-PdG含量(136 ± 90 个加合物/ 10^8 鸟核苷)比不吸烟者(46 ± 26 个加合物/ 10^8 鸟核苷)高三倍^[6].香烟烟气中含有大量的丙烯醛,这是吸烟者口腔组织中丙烯醛-dG加合物含量明显高于不吸烟者的主要原因.然而,并没有发现丙烯醛-dG加合物含量与吸烟次数(每天)正相关,这可能是由于样品量少(11个)、个体修复能力差异以及未考虑其它来源丙烯醛等因素所造成的^[6].

2.1.2 高效液相色谱-串联质谱检测法(HPLC-MS/MS)

³²P后标记法不能提供DNA加合物的结构信息,可产生假阳性结果;又由于缺乏内标物质,故不能准确定量加合物.高效液相色谱-串联质谱检测法克服³²P后标记的上述缺点,近几年广泛用于丙烯醛-dG加合物的检测中.一方面根据分子离子和特征碎片离子,可以确定DNA加合物的结构;另一方面以稳定同位素标记的丙烯醛-dG加合物作为内标物,可实现丙烯醛-DNA加合物的准确定量.高效液相色谱-串联质谱检测法的流程如图5所示.

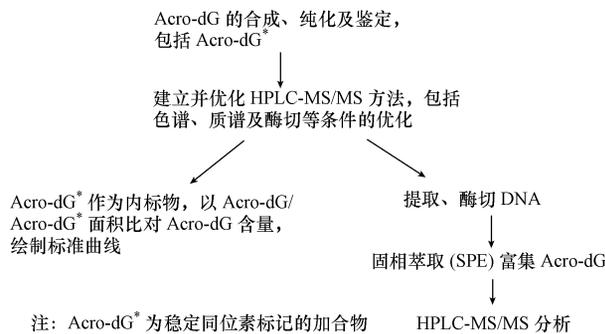


图 5 高效液相色谱-串联质谱检测丙烯醛-DNA 加合物的方法流程

Fig 5 An outline of the procedure of HPLC-MS/MS method

Lynn 等人发展了同位素稀释的毛细管液相色谱-纳流电喷雾电离-串联质谱法 (Capillary LC-nanoESI-DMSSMS). 以离子阱 (Ion Trap) 质谱作为检测器, 检测通道为: 丙烯醛-dG 加合物 (Acro-dG), m/z 324⁺, m/z 208, Acro-¹³C₁₀, ¹⁵N₅-PdG, m/z 339⁺, m/z 218 (图 6). 采用该方法对阿尔茨海默病人 (AD) 和正常脑组织中的 Acro-dG 进行定量, 对照含量为 2800 个加合物/ 10^9 核苷, 而 AD 患者脑组织中 Acro-dG 含量为 5100 个加合物/ 10^9 核苷, 是对照组的 1.8 倍^[24]. 与传统液质联用相比, 该方法显著地提高了分析灵敏度, 而且 DNA 用量小, 1—2 μ g 脑组织 DNA 即可定量, 有利于临床检测. 此后, Zhang 等人建立了一种 HPLC-ES/MS/MS 方法, 检测人肺组织中 Acro-dG 的含量^[7]. 在 30 个人体肺组织样品 (包括吸烟者和已戒烟者) 中, 均检测到了 Acro-dG, 其中 α -OH-PdG 的含量在 0—154 个加合物/ 10^9 核苷之间, 平均含量为 40 ± 38 个加合物/ 10^9 核苷; γ -OH-PdG 在 64—159 个加合物/ 10^9 核苷之间, 平均含量为 29 ± 31 个加合物/ 10^9 核苷. 可见, 在肺部组织中 α -OH-PdG 的含量与 γ -OH-PdG 相差不大, 而且在一些样品中其含量高于后者, 这与以前报道并不一致. 该报道还比较了吸烟者和已戒烟者体内 Acro-dG 的含量, 不过并没观察到丙烯醛-dG 加合物含量与吸烟之间的相关性. 2009 年, Chen 实验室发展了一种纳流液相色谱-纳流电喷雾电离-串联质谱方法 (nanoLC-NSI-MS/MS), 与 Lynn 的方法类似, 可用于同时分析人胎盘或白细胞中丙烯醛-dG 加合物和巴豆醛-dG 加合物^[25]. 在人胎盘 DNA 中, Acro-dG 总量为 108 个加合物/ 10^8 正常核苷, 而 Cro-dG 为 26 个加合物/ 10^8 正常核苷. 在人白细胞 DNA (9 个样品) 中, Acro-dG 平均含量为 78 ± 23 个加合物/ 10^8 正常核苷, 其中 α -OH-PdG 1, 11 ± 5 个加合物/ 10^8 正常核苷, α -OH-PdG 2 和 γ -OH-PdG, 68 ± 21 个加合物/ 10^8 正常核苷. α -OH-PdG 1 和 2 可以互相转换, 在体内含量相同, 因而 α -OH-PdG 约占 Acro-dG 的 28%; 而 Cro-dG 平均含量为 6.2 ± 3.8 个加合物/ 10^8 正常核苷. 在人体胎盘和白细胞中, 丙烯醛-dG 加合物含量均高于巴豆醛-dG 加合物, 这与以前的报道一致. 与 Lynn 的方法类似, 这个方法具有很高的灵敏度, 而且 DNA 用量小, 每次约 4—6 μ g.

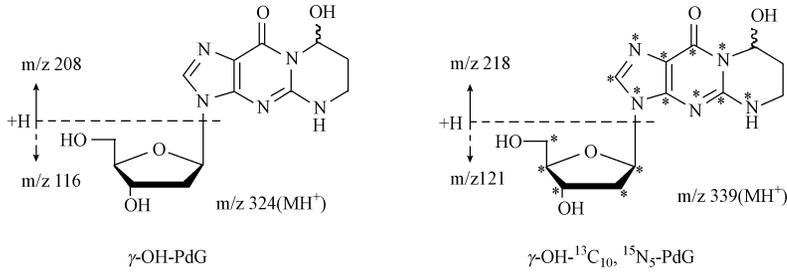


图 6 γ -OH-PdG 及其同位素内标物的断裂方式

Fig 6 Main fragment ions of γ -OH-PdG and stable isotope labeled counterpart

2.1.3 免疫检测法

Foiles 等人利用自制单克隆抗体 CA2 发展了一种免疫分析方法, 用来监测丙烯醛暴露的鼠伤寒沙门氏菌中丙烯醛-dG 加合物 (γ -OH-PdG) 的生成情况^[26-27]. 他们在该菌体内发现了丙烯醛-dG 加合物, 并且其含量随着暴露浓度的升高而增大, 最高含量为 5 个加合物 / 10^6 鸟核苷酸. 菌株 TA 100 基因突变频率与丙烯醛-dG 加合物含量正相关, 而 TA 100 多用来检测 G:C 碱基对突变, 这表明在突变过程中丙烯醛-dG 加合物可能起着重要作用. 菌株 TA 104 突变频率也与丙烯醛浓度正相关, 但菌株 TA 104 多用来检测 A:T 碱基对突变, 因而可能是由其它类型丙烯醛-DNA 加合物引起的基因突变. 同样, 在丙烯醛处理的中国仓鼠卵巢细胞中, 检测到了 γ -OH-PdG, 其含量也随着暴露浓度升高而增加, 当丙烯醛为 1 mmol L^{-1} 时, γ -OH-PdG 含量为 162 个加合物 / 10^6 鸟核苷酸^[21].

此后, Mcdiamid 研究组采用酶联免疫吸附测定 (enzyme-linked immune sorbent assay ELISA) 和免疫斑点杂交 (immune-dot blot IDB) 等两种免疫方法, 比较了未化疗和服用过抗癌药物环磷酰胺病人体内丙烯醛-DNA 加合物的含量^[28]. 结果表明, 在 12 位化疗病人体内, 酶联免疫吸附测定和免疫斑点杂交均发现了丙烯醛-DNA 加合物的存在, 其中 ELISA 检测到 4 个含有加合物, 占总数的 33%, IDB 检测到了 6 个, 占总数的 50%. 而对于未服用化疗药物的病人 (15 人), 两种方法均未检测到加合物. 这与环磷酰胺药物在体内可以引起丙烯醛-DNA 加合物的报道一致.

2.2 其它核苷加合物的检测

Kawai 等人发现大鼠肾上皮细胞经氨基三乙酸铁 (Fe^{3+} -NTA) 暴露后, 在它们细胞核 DNA 中可以检测到丙烯醛-dA 加合物^[12]. Fe^{3+} -NTA 是一种离子螯合物, 进入细胞后, 可引起氧化应激反应, 进而引起细胞坏死乃至肾腺癌. 因而大鼠肾上皮细胞经 Fe^{3+} -NTA 暴露后, 活性氧大量生成, 进而引起脂类物质发生氧化产生丙烯醛, 与腺嘌呤形成丙烯醛-dA 加合物. 在 Fe^{3+} -NTA 诱导的癌症小鼠模型中, 采用单克隆抗体 mAb21 通过免疫组织化学方法, 在细胞核 DNA 中检测到了丙烯醛-dA 加合物, 说明了丙烯醛-dA 加合物可经脂质过氧化而生成, 并将丙烯醛-DNA 加合物和氧化应激反应联系在一起. 他们还利用两种特异性单克隆抗体 N45 1 (抗 8-OH-dG 抗体) 和 mAb21 (抗丙烯醛-dA 加合物抗体), 发展了一种 DNA 片段免疫沉淀方法, 研究 8-OH-dG 和丙烯醛-dA 加合物在 C57BL/6 小鼠基因组中的分布^[29]. 然而, 基于单克隆抗体 mAb21 的免疫组织化学或 DNA 免疫沉淀方法只能定性说明有没有丙烯醛-dA 加合物, 并不能用于丙烯醛-dA 加合物的准确定量.

随后, Pawlowicz 实验室采用 HPLC-MS/MS 在丙烯醛处理的小牛胸腺 DNA 中检测到了大量的丙烯醛-dA、dC 和 dT 加合物^[10-11, 15, 17], 但并没有进一步将该方法应用于生物体内的检测.

3 丙烯醛-DNA 加合物的毒理效应

3.1 DNA 突变研究

1985 年, 采用脂质预培养的过程, Marnett 等发现丙烯醛对鼠伤寒沙门氏菌 TA 104 有致突变作用. 暴露后, TA 104 发生无义突变 (nonsense mutation), 具有不同的表现特征, 因而可评价丙烯醛的致突变作用. 丙烯醛暴露可以致使突变型菌株明显增加^[30]. 随后, Curren 研究组发现在着色性干皮病人 (XP) 纤维细胞中, 丙烯醛有明显的致突变性, 而在正常纤维细胞中, 则不能引起基因突变^[31].

Kawanishi等人采用 *supF* 基因突变分析方法,评价丙烯醛在人纤维细胞中的致突变性^[32].他们将丙烯醛修饰的 pSP189质粒转入人纤维细胞,培养一段时间.纯化回收 pSP189质粒,然后将质粒载体转入大肠杆菌中,培养一段时间.一部分菌株用于检测 DNA 复制效率和突变频率;另一部分,进行 DNA 测序,以确定突变类型.他们发现在人纤维细胞中丙烯醛-DNA 加合物可引起基因突变,其中 76% 为碱基替代,24% 为碱基缺失和插入.单个碱基替代是最容易发生的一种突变,占基因突变的 46%,44% 单个碱基替代是 G:C[→]T:A 转变,24% 是 G:C[→]A:T 而多个碱基和相邻两个碱基替代也不容忽视,分别为 18% 和 12%.与自发的突变不同,丙烯醛-DNA 加合物引起的基因突变并不是随机发生而是存在突变热点.与 Kawanishi 的研究类似,Wang 等人将修饰的 pSP189质粒转入人纤维细胞 CCL-202,发现基因突变频率与丙烯醛暴露浓度正相关^[33],丙烯醛为 2mmol L^{-1} 时,其突变频率为 0.5%,高于阳性对照 UV 引起的 DNA 损伤 (18.3×10^{-4} /Acro-dG 对 8.7×10^{-4} /UV-DNA 损伤),将连接 PCR (LM-PCR) 扩增和 DNA 修复酶 UvrABC 特异酶切相结合,确认了丙烯醛趋向与 *supF* 基因中的 dG 位点生成加合物.其突变形式主要为 G:C[→]T:A (53%) 和 G:C[→]A:T (30%) 转变.此外,富含 dG 的序列 (2-5dGs) 既是丙烯醛优先结合的位点,同样也是突变多发的区域.这些结果都表明丙烯醛-dG 加合物与基因突变相关^[33].

与上述研究不同,Kin 认为丙烯醛有很强的细胞毒性,如小鼠胚胎纤维细胞经 $100\mu\text{mol L}^{-1}$ 丙烯醛处理 6h 其存活率仅为正常的 (7.7 ± 6.5)%,但在小鼠和人体细胞中丙烯醛-DNA 加合物并不具有致突变性^[34].第一,与对照相比,不同浓度丙烯醛 ($0-100\mu\text{mol L}^{-1}$) 暴露后,小鼠胚胎纤维细胞均没有明显增加基因突变的概率.第二,将未处理或丙烯醛修饰的 pSP189质粒分别转入正常和修复缺失的人纤维细胞,进行 *supF* 基因突变分析.无论正常、修复缺失,还是丙烯醛修饰、未修饰,其基因突变频率并没有显著变化.在转入细胞前,对 pSP189质粒甲基化也没有明显改变基因突变的概率.

3.2 特定位点的突变

一些研究者通过化学合成的方式,合成了具有单个 A 或 C2OH 2PdG 加合物的寡核苷酸链^[3527],促使研究者逐渐采用这些寡核苷酸链,进行致突变性研究.分析策略如下:1 将含有单个 Acro2dG 的特定寡核苷酸链转入单链或双链质粒载体;2 用构建成功的质粒载体转染待测细胞或菌株,加入抗生素筛选转染成功的细胞或菌株;3 纯化回收质粒载体;4 将质粒载体转入大肠杆菌中,培养一段时间.一部分菌株用于检测 DNA 复制效率和突变频率;另一部分,采用 ³²P 标记的 DNA 探针,以确定突变类型.

VanderVeen 等以含有 C2OH 2PdG 的寡核苷酸链作为模板,在体外扩增 DNA,发现 C2OH 2PdG 可以引起碱基错配,主要以 Gy A 碱基替代为主^[38].随后,他们成功构建了含有 C2OH 2PdG 的单链和双链噬菌体载体 (M13mp7L2 和 M13MB10221),分别转染野生型、碱基切除或核苷切除修复酶缺失的大肠杆菌株.通过 ³²P 标记的 DNA 探针杂交方法,分析从大肠杆菌回收的质粒,在这三种菌株中,C2OH 2PdG 均与 dC 配对,几乎不存在碱基突变现象^[38].

Yang 等人将含有 C2OH 2PdG 的寡核苷酸链转入 SV40/BK 穿梭质粒 (双链),并用该质粒分别转染不同的大肠杆菌株^[39]、Hela XPA 及 XPV (XPA 的变异型) 细胞^[40241];设计了不同序列的 ³²P 标记的 DNA 探针,用来评价丙烯醛 2dG 加合物的复制效率和突变频率.在大肠杆菌中,C2OH 2PdG 可以抑制 DNA 复制,DNA 合成为正常的 70% 左右,但几乎没有发生突变./ SOS0DNA 聚合酶缺失并不影响 C2OH 2PdG 正常复制,而体外实验表明聚合酶 β 能介导 C2OH 2PdG 与 dA 错配,这些研究表明,聚合酶 δ 能促使 C2OH 2PdG 正确复制,因而在大肠杆菌中 C2OH 2PdG 不具有明显的致突变性^[39].与大肠杆菌的研究类似,在 Hela 等三种细胞中,C2OH 2PdG 均能抑制 DNA 复制,C2OH 2PdG 加合物的复制效率只有正常 dG 的 75%.在 Hela 细胞中,C2OH 2PdG 的致突变作用并不明显,其突变频率为 1%,突变形式多为 Gy T 和 Gy A 等碱基替代^[40].利用同样的双链穿梭质粒模型,他们又比较了丙烯醛 2dG 加合物的两种异构体 (A-C2OH 2PdG) 在 XPA 细胞中的突变情况. A2OH 2PdG 明显地抑制了 DNA 复制,而且具有较强的致突变性,突变概率大于 10%,以 Gy T 突变为主;而 C2OH 2PdG 并不明显抑制 DNA 复制,其突变频率小于 0.136%^[41].尽管 A2OH 2PdG 含量比 C2OH 2PdG 低,但前者具有更强的基因毒性,而且体外实验中碱基切除修复酶不能有效修复这两种 DNA 损伤^[41].

Lloyd 研究组构建了含有 C2OH 2PdG 的单链 pMS2 质粒载体,分别转入大肠杆菌突变型 AB2480 (*uvrA*⁻, *recA*⁻)^[42]、哺乳动物细胞 COS27^[42243]、XPV 和人纤维细胞^[44].与上述研究类似,C2OH 2PdG 并

不明显抑制 DNA 合成, 在大肠杆菌中突变频率不高, 小于 1%, 但与以前研究不同的是该加合物在 COS27 细胞中是致突变的, 其突变概率在 7.4% 左右, 多为 Gy T (3.8%) 和 Gy C (2.6%) 等突变形式^[42]. 同样, 在 XPV 和人纤维细胞中也具有致突变性, 其突变概率分别为 3.9% 和 1%, 多为 Gy T 和 Gy A 等突变形式^[44]. 体外引物扩增实验和单碱基插入实验表明, C2OH2PdG 明显抑制了两种主要的 DNA 聚合酶 polD 和 E 的复制作用, 而加入协同因子增殖细胞核抗原 PCNA, 可以消除该加合物的抑制作用, 但基因突变频率增高. 因而这两种 DNA 聚合酶可能与 C2OH2PdG 的突变相关^[42]. 他们又研究了酵母和人 DNA 聚合酶 G 在 C2OH2PdG 复制和突变过程中的作用. 在体外单碱基插入实验和扩增试验中, C2OH2PdG 明显降低了 dG 与 dC 配对能力 (酵母, 190 倍; 人, 100 倍), 减慢了 DNA 扩增速率 (酵母, 8 倍; 人, 19 倍). 酵母 DNA 聚合酶 G 可以促使 C2OH2PdG 正确复制, 而人 DNA 聚合酶 G 则引起了碱基错配. 故 DNA 聚合酶 G 可能对 C2OH2PdG 的致突变作用有所贡献^[44]. 与 C2OH2PdG 不同, A2OH2PdG 明显地抑制了聚合酶 G 介导的 DNA 复制作用. 该加合物在 COS27 细胞中也可引起突变, 其突变概率在 8.3%, 高于 C2OH2PdG (7.4%), 其突变形式为 Gy T (5.6%)、Gy C (2.6%) 和 Gy C (1%) 等^[41].

总之, 对于丙烯醛 2dG 加合物的致突变性, 还没有一致的看法. 一般认为 C2OH2PdG 不影响 DNA 聚合酶正确复制, 其突变概率较低 (约 1%), 以 Gy T 突变为, 而 A2OH2PdG 的突变概率高于 C2OH2PdG, 在 8% 左右, 同样以 Gy T 突变为. 很可能是 A 和 C2OH2PdG 加合物的立体异构导致了它们致突变能力的差异. 双链 DNA 中, C2OH2PdG 加合物由闭环转变为开环结构, 以 Watson-Crick 模式与 dC 配对, 对 DNA 结构几乎没有影响, 因而其突变概率较低. 而在与 dC 配对时, A2OH2PdG 加合物维持闭环结构, 影响它们之间氢键的生成, 因而对 DNA 结构产生较大影响, 进而导致基因突变^[43,46]. 作为丙烯醛与 dG 的次要产物, A2OH2PdG 加合物对丙烯醛的基因毒性贡献更大. 另一方面 C2OH2PdG 还可以介导形成 DNA 链内^[46,247]、链间交联^[32]以及 DNA-蛋白质交联^[46,48], 这两种交联是一种严重的 DNA 损伤, 并且难以修复, 对 DNA 复制也有较强的抑制作用.

3.3 丙烯醛与癌症

丙烯醛暴露能引发大鼠膀胱癌^[49,252]. 在丙烯醛处理的 30 只大鼠中, 18 只出现了乳突淋瘤, 膀胱癌的早期症状, 占总数的 60%; 而对照组 30 只大鼠中, 只有 8 只出现了乳突淋瘤, 占总数的 30%. 可见丙烯醛在大鼠膀胱癌的形成过程起着重要作用. 作者也对丙烯醛能否引起膀胱癌中期和后期症状进行了研究, 不幸的是高剂量或长期丙烯醛暴露产生了严重的细胞毒性, 造成大鼠死亡, 因而无法得出确切的结论^[49]. 腹腔注射后, 大鼠膀胱细胞出现了轻度增生^[50]; 而将丙烯醛直接注射到大鼠膀胱中, 其上皮细胞则出现恶性增生^[51]. 经丙烯醛长期处理后, 大鼠呈现出肿瘤早期症状, 生成乳头状和结状增生^[52]. 这些研究都表明丙烯醛可能是一种弱致癌性物质.

2006 年, Feng 等提出与多环芳烃 PAHs 相比, 丙烯醛可能是吸烟相关肺癌更为重要的病因^[1]. 主要有三方面的依据: 第一, 丙烯醛 2dG 加合物优先分布于 p53 基因中的 152、154、156、157 和 158 密码子 (外显子 5); 248 和 249 密码子 (外显子 7); 273 和 282 密码子 (外显子 8). 这与 BPDE 2dG 加合物 (一种典型的 PAH-DNA 加合物的分布类似, 该加合物多分布在 156、157 和 158 密码子 (外显子 5); 248 密码子 (外显子 7); 273 密码子 (外显子 8). 而 156、157、158、248、249、273 和 282 密码子是吸烟相关肺癌患者 p53 基因的突变热点, 密码子 249 和 273 也是非吸烟肺癌的突变热点. 与丙烯醛不同, 多环芳烃及其代谢产物 BPDE 并不倾向与密码子 249 形成加合物, 因而丙烯醛是引起吸烟者和非吸烟者发生密码子 249 突变的重要病因. 第二, 正如上文所述, 丙烯醛 2dG 加合物可引起人肺纤维细胞发生突变, 主要以 GBCy TBA 为主, 而吸烟相关肺癌细胞 p53 基因富含 Gy T 突变. 第三, 丙烯醛暴露降低了细胞修复 BPDE-DNA 加合物的能力, 而这种加合物可以导致基因突变, 进而产生癌变. 一种可能的解释是丙烯醛可以与修复酶发生加合, 而这种修饰影响了酶的活性, 因而降低其修复能力.

另一方面, 丙烯醛是化疗药物环磷酰胺和异环磷酰胺等的主要代谢产物, 被认为是化疗病人二次膀胱癌多发的重要原因. 丙烯醛处理明显引起膀胱乳突淋瘤^[19]. M. Diamidi 研究组在化疗病人体内检测到了丙烯醛-DNA 加合物^[28]. 这说明丙烯醛-DNA 加合物可能在癌变过程起着重要作用.

尽管上述研究表明丙烯醛与一些癌症密切相关, 但高剂量或长期丙烯醛暴露将产生严重的细胞毒性, 致使丙烯醛致癌性评价无法进行. 因此, 正如国际癌症组织所述, 我们现在还没有充足的证据证明丙

烯醛是致癌物^[53].

4 研究展望

从 1984 年至今, 丙烯醛 DNA 加合物的研究已经走过了 25 年的历程, 对于丙烯醛 DNA 加合物有了更深的认识. 然而还有很多未解决的问题, 有待进一步研究.

(1) 尽管 AOH₂PdG 是体内次要的丙烯醛 dG 加合物, 其含量低于 COH₂PdG, 但 AOH₂PdG 致突变性高于 COH₂PdG, 因而需要更多的研究关注这个次要加合物. Zhang 等采用 LCMSMS 方法在人肺部组织中, 发现 AOH₂PdG 含量不低于 COH₂PdG, 甚至有些样品前者还高于后者^[7]. 同样采用 LCMSMS 方法, Lin WenPeng 在人白细胞中检测到了 AOH₂PdG, 其含量约占总丙烯醛 dG 加合物的 30%^[25]. 由于 AOH₂PdG 在人体中含量、致突变性、致癌作用均不容忽视, 因而生物体内该加合物的异构体分析需要更多的关注.

(2) 在细胞内其它丙烯醛 核苷加合物含量、致突变性和致癌作用, 未得到细致的研究, 同样需要更多的关注. Paw owicz 实验室在丙烯醛处理的小牛胸腺 DNA 中检测到了大量的丙烯醛 dA、dC 和 dT 加合物^[11, 15, 17], 由此推断在体内也可以生成这些加合物. Kawai 等大鼠肾上皮细胞核 DNA 中检测到了丙烯醛 dA 加合物, 说明在生物体内丙烯醛与 DNA 可形成其它类型的加合物^[12].

(3) DNA 聚合酶和修复酶都可以影响丙烯醛 DNA 加合物的致突变作用, 但一个重要的问题是丙烯醛是否影响这些酶的生物功能, 从而影响其加合物的修复和突变性. 上文提到, 聚合酶 θ 能促使含有 COH₂PdG 的 DNA 正确复制, 因而解释了为什么 COH₂PdG 在大肠杆菌中不具有明显的致突变性^[39]. 在哺乳动物细胞中, COH₂PdG 明显抑制了 DNA 聚合酶 polD 和 E 的复制作用, 而人 DNA 聚合酶 G 可引起了碱基错配. 故可能对 COH₂PdG 的致突变作用有所贡献^[42, 44]. 可以预期, 如果丙烯醛可与这些酶发生作用, 有可能影响加合物的 DNA 复制、修复酶的修复功能, 从而增强丙烯醛加合物的毒理效应.

参 考 文 献

- [1] Feng ZH, Hu W W, Hu Y, et al Acrolein is a major cigarette-related lung cancer agent: Preferential binding at p53 mutational hotspots and inhibition of DNA repair [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2006, 103: 15404-15409
- [2] Stevens JF, Maier C S. Acrolein: Sources, metabolism, and biomolecular interactions relevant to human health and disease [J]. Mol Nutr Food Res, 2008, 52: 7225
- [3] Minko IG, Kozekov ID, Kozekova A, et al Mutagenic potential of DNA2peptide crosslinks mediated by acrolein2derived DNA adducts [J]. Mutation Research, 2008, 637: 1612172
- [4] Chung F L, Young R, Hecht S S. Formation of cyclic 1, N²propanodeoxyguanosine adducts in DNA upon reaction with acrolein or crotonaldehyde [J]. Cancer Research, 1984, 44: 9902995
- [5] Nath R G and Chung F L. Detection of exocyclic 1, N²propanodeoxyguanosine adducts as common DNA lesions in rodents and humans [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1994, 91: 749127495
- [6] Nath R G, Ocampo J E, Guttenplan J B, et al 1, N²propanodeoxyguanosine adducts: potential new biomarkers of smoking induced DNA damage in human oral tissue [J]. Cancer Research, 1998, 58: 5812584
- [7] Zhang S Y, Villalata P W, Wang M Y, et al Detection and quantitation of acrolein2derived 1, N²propanodeoxyguanosine adducts in human lung by liquid chromatography2electrospray ionization2tandem mass spectrometry [J]. Chem Res Toxicol, 2007, 20: 5652571
- [8] Sodom R S, Shapiao D. Reaction of acrolein with cytosine and adenine derivatives [J]. Biorganic Chemistry, 1988, 16: 2722282
- [9] Smith R A, Williamson D S, Cemy R L, et al Detection of 1, N⁶propanodeoxyadenosine in acrolein2modified polydeoxyadenylic acid and DNA by ³²P postlabeling [J]. Cancer Research, 1990, 50: 300523012
- [10] Paw owicz A, J M unter T, Klka K D, et al Reaction of acrolein with 22deoxyadenosine and 92ethyladenine2Formation of cyclic adducts [J]. Biorganic Chemistry, 2006, 34: 39248
- [11] Paw owicz A, J M unter T, Zhao Y, et al Formation of acrolein adducts with 22deoxyadenosine in calf thymus DNA [J]. Chem Res Toxicol, 2006, 19: 5712576
- [12] Kawai Y, Furuhashi A, Toyokuni S, et al Formation of acrolein2derived 22deoxyadenosine adduct in an iron2induced carcinogenesis model [J]. Journal of Biological Chemistry, 2003, 278: 50346250354
- [13] Smith R A, Williamson D S, Cohen S M. Identification of 3, N⁴propanodeoxycytidine 52monophosphate formed by the reaction of acrolein with deoxycytidine 52monophosphate [J]. Chem Res Toxicol, 1989, 2: 2672271
- [14] Cherna A and Iden C R. Characterization of 22deoxycytidine and 22deoxyuridine adducts formed in reactions with acrolein and 22bromoacrolein [J]. Chem Res Toxicol, 1993, 6: 2612268

- [15] Paw owicz A , K l i k a K D , Kronberg L . The structural identification and conformational analysis of the products from the reaction of acrolein with 2-deoxycytidine , 2-methylcytosine and calf thymus DNA [J] . *Eur J Org Chem*, 2007: 142921437
- [16] Chenna A , Rieger R A and Iden C R . Characterization of thymidine adducts formed by acrolein and 2-bromooacrolein [J] . *Carcinogenesis* 1992 , 13: 236122365
- [17] Pawlowicz A and Kronberg L . Characterization of adducts formed in reactions of acrolein with thymidine and calf thymus DNA [J] . *Chemistry and Biodiversity* 2008 , 5: 1772188
- [18] Hecht S S . Smoking and lung cancer: a new role for an old toxin? [J] . *Proc Natl Acad Sci USA*, 2006, 103: 15725215726
- [19] Gomes R , Meek M E , Eggleton M . Concise international chemical assessment document No 43 [R] . World Health Organization Geneva 2002
- [20] Foiles P G , Akekar S A , Miglietta L M , et al . Formation of cyclic deoxyguanosine adducts in Chinese hamster ovary cells by acrolein and crotonaldehyde [J] . *Carcinogenesis* 1990, 11: 205922061
- [21] Wilson V L , Foiles P G , Chung F L , et al . Detection of acrolein and crotonaldehyde DNA adducts in cultured human cells and canine peripheral blood lymphocytes by ^{32}P postlabeling and nucleotide chromatography [J] . *Carcinogenesis* 1991, 12: 148321490
- [22] Nath R G , Ocampo J , Chung F L . Detection of 1, N^2 -propanodeoxyguanosine adducts as potential endogenous DNA lesions in rodent and human tissues [J] . *Cancer Research*, 1996, 56: 4522456
- [23] Pan J S , Davis W , Trushin N , Amin S , et al . A solid-phase extraction/high performance liquid chromatography-based ^{32}P postlabeling method for detection of cyclic 1, N^2 -propanodeoxyguanosine adducts derived from enals [J] . *Analytical Biochemistry*, 2006, 348: 15223
- [24] Lin X L , Lovell M A , Lynn B C . Development of a method for quantification of acrolein-deoxyguanosine adducts in DNA using isotope dilution capillary LC/MS/MS and its application to human brain tissue [J] . *Anal Chem*, 2005 , 77: 598225989
- [25] Chen C H , Lin W P . Simultaneous quantification of 1, N^2 -propano-2-deoxyguanosine adducts derived from acrolein and crotonaldehyde in human placenta and leukocytes by isotope dilution nanoflow LC nanospray ionization tandem mass spectrometry [J] . *Anal Chem*, 2009 , 81: 981229818
- [26] Foiles P G , Chung F L , Hecht S S . Development of a monoclonal antibody-based immunoassay for cyclic DNA adducts resulting from exposure to crotonaldehyde [J] . *Cancer Research* 1987, 47: 3602363
- [27] Foiles P G , Akekar S A , Chung F L . Application of an immunoassay for cyclic acrolein-deoxyguanosine adducts to assess their formation in DNA of *Salmonella typhimurium* under conditions of mutation induction by acrolein [J] . *Carcinogenesis* 1989, 10: 87290
- [28] M D i a m i d M A , Iype T , K o l d n e r K , K r a n D J , et al . Evidence for acrolein-modified DNA in peripheral blood leukocytes of cancer patients treated with cyclophosphamide [J] . *Mutation Research* 1991, 248: 93299
- [29] Akatsuka S , Aung T T , Dutta K K , et al . Contrasting genome-wide distribution of 8-hydroxyguanine and acrolein-modified adenine during oxidative stress-induced renal carcinogenesis [J] . *The American Journal of Pathology* 2006 , 169: 132821342
- [30] Mamett L J , Hurd H K , Holtslein M C , et al . Naturally occurring carbonyl compounds are mutagens in *Salmonella* tester strain TA104 [J] . *Mutation Research*, 1985 , 148: 25234
- [31] Curren R D , Yang L L , Conkin P M , et al . Mutagenesis of xeroderma pigmentosum fibroblasts by acrolein [J] . *Mutation Research* 1988 , 209: 17222
- [32] Kawashimi M , Matsuda T , Nakayama A , et al . Molecular analysis of mutations induced by acrolein in human fibroblast cells using *supF* shuttle vector plasmids [J] . *Mutation Research*, 1998 , 417: 65273
- [33] Wang H T , Zhang S Z , Hu Y , et al . Mutagenicity and sequence specificity of acrolein-DNA adducts [J] . *Chem Res Toxicol* 2009 , 22: 5112517
- [34] Kin S , Pfeifer G P , Besaratinia A . Lack of mutagenicity of acrolein-induced DNA adducts in mouse and human cells [J] . *Cancer Res* 2007 , 67: 11640211647
- [35] Khullar S , Varaprasad C V , Johnson F . Postsynthetic generation of a major acrolein adduct of 2-deoxyguanosine in oligomeric DNA [J] . *J Med Chem*, 1999 , 42: 9472950
- [36] Nechev L V , Harris C M , Harris T M . Synthesis of nucleosides and oligonucleotides containing adducts of acrolein and vinyl chloride [J] . *Chem Res Toxicol* 2000 , 13: 4212429
- [37] Huang Y H , Torres M C , Iden C R , et al . Synthesis of the minor acrolein adducts of 2-deoxyguanosine and their generation in oligomeric DNA [J] . *Bioorganic Chemistry*, 2003 , 31: 1362148
- [38] VanderVeen L A , Hashin M F , Nechev L V , et al . Evaluation of the mutagenic potential of the principal DNA adduct of acrolein [J] . *Journal of Biological Chemistry*, 2001 , 276: 906629070
- [39] Yang I Y , Hossain M , Miller H , et al . Responses to the major acrolein-derived deoxyguanosine adduct in *Escherichia coli* [J] . *Journal of Biological Chemistry*, 2001 , 276: 907129076
- [40] Yang I Y , Johnson F , Grollman A P , et al . Genotoxic mechanism for the major acrolein-derived deoxyguanosine adduct in human cells [J] . *Chem Res Toxicol* 2002 , 15: 1602164
- [41] Yang I Y , Chan G , Miller H , et al . Mutagenesis by acrolein-derived propanodeoxyguanosine adducts in human cells [J] . *Biochemistry*, 2002 , 41: 13826213832

- [42] Kanuri M, Minko IG, Nechev LV, et al. Error prone translesion synthesis past C2hydroxypropano deoxyguanosine the primary acrolein2 derived adduct in mammalian cells [J]. Journal of Biological Chemistry, 2002, 277: 18257-18265
- [43] Sanchez A M, Minko IG, Kurtz A J, et al. Comparative evaluation of the bioreactivity and mutagenic spectra of acrolein2 derived A2HOPdG and C2HOPdG regioisomeric deoxyguanosine adducts [J]. Chem Res Toxicol, 2003, 16: 1019-1028
- [44] Minko IG, Washington M T, Kanuri M, et al. Translesion synthesis past acrolein2 derived DNA adduct C2hydroxypropano deoxyguanosine by yeast and human DNA polymerase G [J]. Journal of Biological Chemistry, 2003, 278: 7842-790
- [45] Santos C, Zaliznyak T, Johnson F. NMR characterization of a DNA duplex containing the major acrolein derived deoxyguanosine adduct C2OH2, N22propano2e2deoxyguanosine [J]. Journal of Biological Chemistry, 2001, 276: 9077-9082
- [46] Minko IG, Kozekov I D, Harris T M, et al. Chemistry and biology of DNA containing 1, N22deoxyguanosine adducts of the A, B2 unsaturated aldehydes acrolein, crotonaldehyde and 42hydroxynonenal [J]. Chem Res Toxicol, 2009, 22: 759-778
- [47] Stone M P, Cho Y J, Huang H, et al. Interstrand DNA crosslinks induced by A, B2unsaturated aldehydes derived from lipid peroxidation and environmental sources [J]. Accounts of Chemical Research, 2008, 41: 793-804
- [48] Vanderveen L V, Harris T M, Jacobson L J, et al. Formation of DNA2protein crosslinks between C2hydroxypropano deoxyguanosine and EcoRI [J]. Chem Res Toxicol, 2008, 21: 1733-1738
- [49] Cohen S M, Garland E M, John M S, et al. Acrolein initiates rat urinary bladder carcinogenesis [J]. Cancer Research, 1992, 52: 3577-3581
- [50] Sakata T, Smith R A, Garland E M, et al. Rat urinary bladder epithelial lesions induced by acrolein [J]. J Exp Pathol Toxicol Oncol, 1989, 9: 159-170
- [51] Irving C C, Murphy W M, Cox R. The effects of intravesical instillation of acrolein on the urothelium of the rat [J]. Proc Am Assoc Cancer Res, 1987, 28: 109
- [52] Cohen S M. The pathology of bladder cancer [M]. Boca Raton, FL: CRC Press, Inc, 1983, 2: 1240
- [53] Wang H and Tang M S. Acrolein: excessive cytotoxicity or potent mutagenicity? [J]. Chem Res Toxicol, 2009, 22: 753-754

REVIEW: THE FORMATION AND MUTAGENESIS OF A ROLEIN DNA ADDUCTS

YN Ruichuan WANG Hailin

(Research Center of Environmental Science CAS, Beijing 100085, China)

ABSTRACT

Acrolein, one of the most reactive A, B unsaturated aldehydes, is an ubiquitous environmental pollutant and is found in cigarette smoking and cooking. On the other hand, acrolein can also be endogenously released during lipid peroxidation, myeloperoxidase-mediated degradation of amino acids, and so on. Acrolein can directly react with DNA without metabolic activation. As a result, several types of DNA adducts could be produced. Currently, most of studies focus on Acrolein2dG adduct, including A2OH2PdG and C2OH2PdG. The measured amount of C2OH2PdG is higher than A2OH2PdG in human body and it can generate about 1% gene mutation, while gene mutation frequency is 8% for A2OH2PdG. Both adducts mainly induce G-T mutation. In addition, other base adducts may also be generated *in vitro*, including Acrolein2dA, dC, and dT adducts. But their metabolism and genotoxicity are unknown. To unbiasedly judge the genotoxicity of acrolein, the formation, metabolism and genotoxicity of non2dG adducts should be considered.

Keywords cigarette smoking, Acrolein2DNA adducts, gene mutation