

环 腺 一 磷 与 肿 瘤

方福德 吴冠芸

(中国医学科学院分院核酸白血病组)

3',5'-环状腺嘌呤核苷一磷酸(简称cAMP)是在1957年发现的。由于它在调节生物体内的生化过程和生理功能所表现出来的重要性,因而受到了广泛的重视和研究。在近二十年的时间里,在激素和某些体液因子的作用原理中,cAMP作为“第二信使”学说不仅得到了验证,而且还发现,它与某些病理过程密切相关。特别近几年来,人们注意到cAMP对肿瘤细胞也有某些影响。大量实验结果表明,cAMP或其某些衍生物能够改变肿瘤细胞的生长特性——抑制其恶性增殖,并使其丧失了形态学和生化学的分化特征重新出现。总的结果是肿瘤细胞向正常方向逆转,并丧失其致癌能力。但也有一些工作指出,在一定的条件下,cAMP不仅没有上述的作用,相反还有促进癌瘤生长的能力。无论如何,这些结果使人们有理由认为,在肿瘤学中,cAMP这个因素是不能忽视的。那么cAMP与肿瘤究竟有什么关系?这些关系又如何表现出来?确切地回答这些问题目前还有困难。但许多研究工作已提供了能借以探讨这些问题的线索。因此,本文拟将其中有关方面的一些情况作一介绍和讨论。

cAMP 与肿瘤的关系

一、问题的提出

1968年Bürk在测定BHK细胞和多瘤病毒转化的BHK细胞的腺苷酸环化酶时发现,后者的酶活性显著地低于前者。由于已知细胞内cAMP的浓度主要以下列方式保持平衡:



作者推测,如果这一平衡由于突变、畸形分化或感染而遭到破坏,则细胞功能也将随之改变。因此,细胞内cAMP浓度的低下,可能就是通常所观察到的有氧酵解的增加或细胞特异性功能消失的原因。若通过加入外源性cAMP或刺激腺苷酸环化酶的活性或抑制cAMP磷酸二酯酶的活性等方法增加其cAMP浓度,很可能会产生相反的情形。作者认为,在正常细胞和转化细胞中,cAMP水平的调节作用是不同的。这实际上提出了两个重要问题:(1)cAMP水平的低下与肿瘤的发生可能有一定的内在联系;(2)如果确实如此,那么设法给肿瘤细胞或转化细胞增加cAMP水平,岂非可以使它们的特异性功能得到恢复?

二、cAMP及其某些衍生物抑制肿瘤细胞生长和促进分化的实验证据

作者的这些设想受到了注意,并被后来许多工作者的实验所证实和修正。

1. 组织培养系统的研究

外源性cAMP能够抑制肿瘤细胞或转化细胞的生长,这一现象首先是在体外组织培养系统中观察到的。1968年,Ryan, W. L. 等报道,在HeLa细胞和L细胞的组织培养液中加入0.3mM cAMP后,这些细胞的增殖受到了特异性抑制。随后,很多作者分别在体外实验和整体动物实验中验证了这一结果。进一步观察到,四株肿瘤细胞和一株正常细胞的培养基中加入cAMP后,发现对肿瘤细胞生长的抑制率达70—89%,而对正常细胞影响很小。对3-甲基胆蒽诱发的小鼠L₉₂₉细胞和Rous肉瘤病毒诱发的肉瘤细胞来讲,cAMP的双丁酰衍生物

(DBcAMP)可促进其形态学上的分化 (Johnson, G. S. 1971)。中国地鼠的卵巢细胞和与肿瘤细胞近似的细胞,在形态上具有多层、无方向性生长且失去接触抑制的特点,当培养基中加入 DBcAMP 后,细胞逐渐转变为单层、有方向性生长并恢复了接触抑制作用 (Hsie, A. W. 等, 1971)。除了瘤细胞的生长特性和形态学的变化外, cAMP 还能促进生化学的分化。如小鼠神经母细胞瘤经 cAMP 或 DBcAMP 作用后,不仅代表形态学分化的神经突触能够伸长,而且代表生化学分化指标的乙酰胆碱酯酶的活性显著增高 (Furmanski, P. 等 1971)。在一定浓度下, cAMP 和 DBcAMP 对 L₅₁₇₈Y-R 白血病细胞的 DNA、RNA 和蛋白质的生物合成产生抑制作用,在细胞周期中则被阻断在 G₁ 末期 (Yang, T. J. 等 1971)。某些转化细胞经作用后,其倍增时间延长了 25—30% (Sheppard J. R. 1971)。DBcAMP 与 cAMP 相比,前者对肿瘤细胞有更大的敏感性和亲和力,主要表现在达到抑制作用所需的浓度低,而在相同浓度下抑制率高。除此之外, Perkins, J. P. 等 1971 年报道,人类星形细胞瘤细胞也可被 DBcAMP 向正常方向诱导。所有这些结果,都使生物学和医学工作者感到兴趣,并且一再在其他肿瘤细胞株和转化细胞株的实验中被重复出来 (Rosen, F. J. 等 1972, Van Wijk, R. 等 1972, Taylor-papadimitrion, J. 1974)。这为进一步研究 cAMP 与肿瘤的关系打下了基础。综上所述,在体外实验中, cAMP 对肿瘤细胞的作用,大致可归纳成这样几个特点:

(1) 在一定条件下, cAMP 或 DBcAMP 能够抑制肿瘤细胞或转化细胞的生长。主要表现在细胞生长速度显著减慢或受抑制以及接触抑制的恢复,而正常细胞所受影响甚微或不受影响。

(2) cAMP 或 DBcAMP 能够促进肿瘤细胞或转化细胞分化功能的重新出现。主要表现在形态学分化和生化学分化的可诱导性。这表明 cAMP 是分化的一个重要因素,其作用很可能在大分子水平上进行。

(3) cAMP 或 DBcAMP 对肿瘤细胞或转

化细胞生长的抑制作用与它的浓度有关。一般来说,在一定限度内,抑制作用随浓度增加而增强。DBcAMP 的作用较 cAMP 更强,是由于它有较强的亲脂性,能更好地进入细胞和不易受 cAMP 磷酸二酯酶降解之故。cAMP 的多数类似物的作用活性较小甚或不起作用,这表明了 cAMP 对肿瘤细胞调节控制作用的特异性和复杂性。

(4) 多数工作表明, cAMP 或 DBcAMP 对肿瘤细胞生长的抑制作用是暂时性的,当培养基中去除它们后,细胞又会恢复先前的生长特性(图 1)。

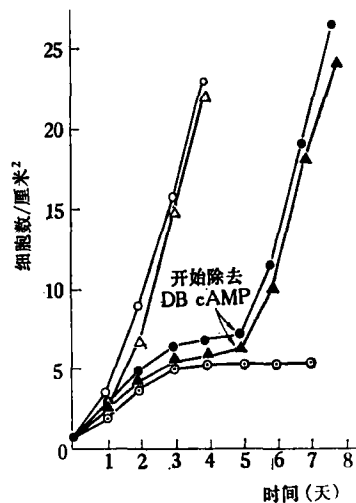


图 1 DBcAMP 对肿瘤细胞、转化细胞和正常细胞生长的影响

- 多瘤病毒感染的 3T3 细胞;
- △—△ 自发转化的 3T3 细胞;
- ⊙—⊙ 正常的 3T3 细胞;
- 多瘤病毒感染的 3T3 细胞加 DBcAMP 和茶碱;
- ▲—▲ 自发转化的 3T3 细胞加 DBcAMP 和茶碱

2. 整体动物实验

组织培养系统的环境比体内简单的多,由此所得的结果是否适用于体内的情况,须以整体动物实验加以直接考验。实验表明, cAMP 或 DBcAMP 抑制某些移植性肿瘤和原发瘤的结果与体外实验结果比较一致,但 cAMP 在化学致癌中的作用,有些结果完全不同。

整体动物实验最早是 Gericke, D. 和 Chandra, P. Z. (1969) 的工作。他们给移植性

NKL 淋巴肉瘤瘤体注射 cAMP, 抑制率达 50%。解除 cAMP 后, 肿瘤仍以原来速度生长。采用体外与体内相结合的方法也证明了 cAMP 对转化细胞的致癌性有严重的破坏作用 (Reddi, P. K. 1972)。用鸡胚-致死孤儿病毒 (chicken embryo-lethal orphan Virus) 转化的地鼠上皮细胞给健康地鼠进行皮下接种后, 形成实体瘤。若将该转化细胞与 0.2mMDBcAMP 和 1mM 茶碱体外保温 24 小时和 48 小时, 再接种于地鼠, 发现培养 24 小时组患癌率为 38%, 48 小时组患癌率为 0, 对照组患癌率为 100%, 若在培养 24 小时和 48 小时后洗去 DBcAMP 和茶碱, 再培养 24 小时接种, 则 24 小时组患癌率为 80%, 48 小时组为 60%。说明转化细胞与 DBcAMP 和茶碱接触时间长, 细胞内 cAMP 浓度持续保持较高水平, 从而抑制其致癌能力, 而洗去 DBcAMP 和茶碱后, 即降低了细胞内 cAMP 水平, 故转化细胞的致癌能力又有所增强。实验还证明了 cAMP 磷酸二酯酶的抑制剂茶碱也会有抑制转化细胞的致癌能力。这些结果与体外实验的结果是很一致的。为了突出作用效果, 往往采用所谓“预防”实验。如 Walker 癌于皮下移植前, 给动物注射 DBcAMP 或茶碱, 癌瘤的生长受到严重抑制 (Keller, R. 1972)。在所谓“治疗”实验的工作中, 下面的结果颇能说明问题 (Seller, M. J. 等 1973): 给小鼠皮下接种艾氏腹水瘤细胞产生实体瘤, 腹腔接种产生腹水瘤。接种后 3 天, 分 3 组进行实验, 实验组腹腔注射 cAMP 加茶碱, 氨茶碱组腹腔注射氨茶碱, 对照组腹腔注射生理盐水, 均为每日注射两次, 连续 4—5 天。经这样处理后, 第八天的检查结果是: 按实体瘤瘤重和腹水瘤细胞数计, 实验组只有对照组的 50%, 氨茶碱组居中; 按平均瘤细胞体积计算, 亦然。在腹水瘤的实验中, 实验组有 50% 的动物无腹水瘤形成, 其腹壁肌肉层组织形态学正常, 炎症反应消失, 而形成腹水瘤者, 其瘤细胞形态也发生了改变, 出现了某些正常细胞形态的成分。Chandray 等 (1973) 进一步注意到, cAMP 能延长带瘤小鼠的存活时间, 但与给药途径关系甚大, 皮下给予

无明显作用, 瘤体给予作用才显著。他们还观察到, 小鼠给以 poly I: C 后让其感染 Friend 白血病毒 (FLV) 比先给 poly I: C 后给一次 cAMP, 再感染 FLV, 存活率高二倍。若先给 poly I: C 后连续给予两次 cAMP, 再感染 FLV, 存活率又再降低一倍。如果在体外将 FLV 与 cAMP 在 37℃ 保温一小时, 接种于小鼠, 其存活率比 FLV 感染者低, 将 cAMP 浓度提高三倍, 存活率竟然降至零。这几组实验说明 cAMP 对肿瘤细胞的作用不能单纯考虑到 cAMP 本身, 还要考虑到其他因子的存在及其相互作用的后果。如 cAMP 可以抑制 poly I: C 诱导干扰素的产生, 从而减弱了宿主对病毒的抵抗能力等。cAMP 抗肿瘤作用的免疫学机制也有不少探讨, 一般认为, cAMP 不是作为免疫反应的刺激剂的作用而发挥抗肿瘤活性的, 因为在抗肿瘤所需的 cAMP 浓度下, 抗体的合成受到抑制, 机体受到不同程度的免疫抑制作用。人癌细胞的致癌作用也可被 cAMP 所抑制 (Smith, E. E. 等 1973)。人癌细胞 (KB) 在田鼠颊陷凹部形成实体瘤的能力由于 cAMP 的作用而丧失。有的作者总结了别人的工作后, 以乳腺癌和其他一些实体瘤为模型, 比较系统地研究了 cAMP 抑制肿瘤生长的最初信号以及提高实体瘤中 cAMP 浓度与其生长受抑之间的关系, 对于激素与 cAMP 诱导肿瘤消退或受抑之间的关系也作了探讨 (Cho-chung, Y. S. 等 1974)。把 7, 12-二甲基苯蒽 (DMBA) 诱发的乳腺癌和移植性 MTW, 乳腺癌作为激素依赖性的瘤模型, 亚硝基甲基脲 (NMU) 诱发的乳腺癌作为激素敏感性的瘤模型, 移植性的 W₂₅₆ 癌作为非激素依赖性的瘤模型, 肝癌 5123 和纤维肉瘤作为非乳腺癌的瘤模型。每种肿瘤先让其生长至 2—3 克, 然后以每天 8 毫克的剂量皮下注射 DBcAMP, 结果显示, 不同的瘤模型其受抑情况不同: MTW, 癌和 DMBA 诱发癌立即停止生长; NMU 癌受抑率 50%; W₂₅₆ 癌和肝癌₅₁₂₃ 有的很快消退, 有的无作用; 而对纤维肉瘤全无作用。8-硫甲基 -cAMP 和 8-溴 -cAMP 具有同样的效果。这一结果说明 cAMP 可能有一定

的作用瘤谱,它既不依赖于激素,也不仅仅限于乳腺癌,同时也不能完全排除个体差异对这一作用的影响。除了直接给予外源性 cAMP 外,也有用茶碱以增加瘤细胞内源性 cAMP 浓度而达到抑制肿瘤生长的报道 (Webb, D. 等 1972)。

从上述结果可以看到,在整体动物实验中,外源性 cAMP 对肿瘤生长的影响情况比体外实验要复杂得多,需要考虑的因素比较多,因此对不同情况要作具体的分析。但一个比较一致的结果是,许多移植性肿瘤和原发瘤的生长可被外源性 cAMP 所抑制或引起消退,这些抑制作用一般也是暂时性的,并且取决于剂量(图2)。

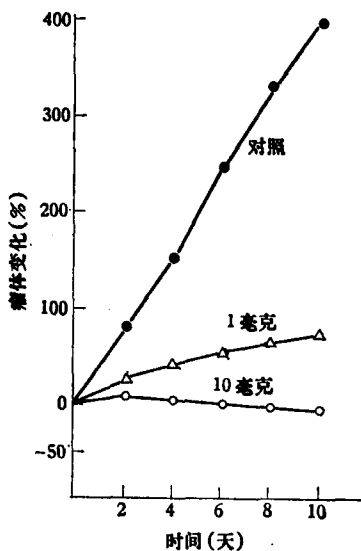


图2 cAMP 抑制 MTW, 瘤生长的剂量关系

但是,在化学致癌方面,有的整体实验与体外实验的结果截然相反。如 cAMP 对甲基胆蒽诱出小鼠肿瘤具有促进作用 (Chandray, P. 等 1973), 对 DMBA 诱发皮肤癌也有促进作用 (Curtis, G. L. 等, 1974)。至于 cAMP 在化学致癌中是否都有促癌作用,目前还不能定论,因为也有与此相反的结果,如由 7,12-DMBA 和 NMU 诱发的乳腺癌的生长均不同程度地受到 DBcAMP 的抑制。有关这方面的认识,有待更多的实验结果来充实。

cAMP 对肿瘤细胞作用的可能原理的探讨

cAMP 为什么能抑制肿瘤细胞的生长? 这是一个引人注意的问题。许多作者根据各自的实验材料提出了一些设想或假说,这对深入认识 cAMP 与肿瘤的关系有一定参考价值。归纳起来,大致有如下几方面:

一、cAMP 水平持续低下是细胞癌变成因说

最初, Bürk 设想正常细胞和肿瘤细胞中的 cAMP 水平调节作用是不同的,换言之, cAMP 水平的低下可能就是细胞癌变的成因。要证明这一假说,必须从三个方面的研究引出结论。这就是: (1)正常细胞与肿瘤细胞中 cAMP 含量的比较; (2)细胞周期中 cAMP 的变化规律及其与 DNA 合成的关系; (3)人为增加细胞内 cAMP 水平对细胞分裂、生长及分化的影响。第(3)个标题的内容上面已提到很多,不再赘述。兹将(1)、(2)两方面分述如下。

1. 正常细胞与肿瘤细胞中 cAMP 含量的比较

Granner 等(1968)报告,大鼠肝癌细胞中 cAMP 浓度比正常肝细胞显著降低。随后,陆续报道了在肿瘤细胞或转化细胞中 cAMP 浓度比相应的正常细胞为低,快速增殖比缓慢生长的细胞为低的结果 (Heidrick, M. L. 等, 1971; Otten, J. 等, 1971; Sheppard, J. R, 1972)。这些结果直接证明了 cAMP 含量的低下是肿瘤细胞的共同特点。

影响细胞内 cAMP 含量的因子很多,如激素、钙离子、血清因子等等。但一定浓度 cAMP 的存在主要依靠腺苷酸环化酶和 cAMP 磷酸二酯酶的活性来控制。因此,测定这两个酶的活性有助于认识 cAMP 与肿瘤的关系。从目前已发表的资料来看,结果还不甚一致。自最初报道多瘤病毒转化细胞中腺苷酸环化酶的活性降低之后,相继报告了在某些肝癌中酶活性也低,且对高血糖素不敏感 (Emmelot, P. 等 1971; Butcher, F. R. 等 1972)。乳腺癌组织和正常组织相比,其酶活性降低了 40%。Paska, K. J.

(1973) 则观察到,鼠肾纤维母细胞用腺病毒 12 型感染后,7.5 小时腺苷酸环化酶下降,14 小时 cAMP 含量最低并开始合成 DNA,19 小时后 cAMP 磷酸二酯酶活性下降。根据这些结果,不少人认为,在肿瘤细胞中,环状核苷酸的代谢过程,可能被阻断在腺苷酸环化酶阶段。有的则更明确提出,腺苷酸环化酶的降低是肿瘤细胞的本质。但是问题并非如此简单。有人在比较三种 Morris 肝癌和正常肝细胞中腺苷酸环化酶活性后发现,肝癌细胞中肾上腺素-氟化钠敏感的酶活性比正常肝细胞的高。不同生长速度的肝癌组织中,其酶活性与正常肝、再生肝相比,在同一范围内,无多少差别,但对高血糖素的敏感性则与生长速度成反相关,即生长速度越快的肝癌对高血糖素的敏感性越低(Allen, D. O. 1971)。大多数大鼠腹水瘤细胞其腺苷酸环化酶活性比正常肝和再生肝者高,对胰高血糖素及 L-肾上腺素无敏感性。就肝细胞而言,已证明存在两种腺苷酸环化酶系统:一种对高血糖素敏感,叫高血糖素环化酶系统;另一种对肾上腺素敏感,叫肾上腺素环化酶系统。因此,用总的酶活性来作比较似乎有些粗略。总之,至今为止,腺苷酸环化酶与细胞生长速度之间的关系尚无一致的结果,这种不一致性的原因可能很多,首先是,不同类型的细胞和生长的不同阶段难以相比较;此外,酶活性及其调节与细胞膜的结构有密切关系,从破碎细胞测得的活性和对激素的敏感性不一定代表完整细胞的实际状态;再有,用于测定酶活性的肿瘤细胞可能杂有其他细胞等等。至于 cAMP 磷酸二酯酶,Heidrick, M. L. 等(1971)认为它与生长速度无关,有人认为该酶活性的降低也是肿瘤细胞的特征之一。cAMP 磷酸二酯酶不是一种单一的酶,而是一类酶,细胞内 cAMP 的浓度调节着该酶的合成。

2. 细胞周期中 cAMP 含量的变化规律及其与 DNA 合成的关系

DNA 合成速度是细胞分裂和增殖速度的客观指标,细胞周期则反映了细胞不同阶段的生长状况。弄清 cAMP 与它们的关系,有利于

阐明 cAMP 在控制和调节细胞分裂和增殖中的作用。曾观察到,在 13 种不同的细胞中,cAMP 含量与 DNA 合成速度成反比关系(Otten, J. 1971)。增加肿瘤细胞内的 cAMP 浓度即抑制了 DNA 的合成。在肿瘤细胞或正常细胞中,cAMP 含量与倍增时成正比关系,用 DBcAMP 处理过的转化细胞其倍增时随之延长。上述结果说明 cAMP 能够改变细胞分裂和周期。在正常的细胞周期中 cAMP 含量又是如何变化的呢?据测定,同步分裂的 HeLa 细胞有丝分裂期 cAMP 含量最低。有意思的是,当在 G_2 期开始之际,加入 cAMP 磷酸二酯酶的特异抑制剂,3 小时后有丝分裂就受到了阻滞。中国地鼠卵巢细胞中 cAMP 的含量在 G_1 初期增加, G_1 后期与 S 期相仿,有丝分裂期最低(Sheppard, J. R. 1972)。由此可见,高的 cAMP 含量必定与低的有丝分裂同时发生。增加细胞内 cAMP 浓度必将延长细胞周期。这些事实与 cAMP 能够抑制肿瘤细胞的分裂和增殖的结果是一致的。因此人们一致认为,在细胞分裂和增殖中,cAMP 起负调节作用,另一个重要的环状核苷酸 cGMP 起正调节作用。

事实上,事情要复杂得多。因为在一定条件下,cAMP 也会变成正调节者,促进 DNA 的合成及细胞分裂(Hovi, T. 等 1973; Whitfield, J. E. 等 1973)。因此看来 cAMP 促进或抑制细胞的增殖决定于 cAMP 加入在周期的哪一阶段;此外,也有人认为与 Ca^{2+} 的浓度密切相关。

二、组织分解代谢作用的增强使肿瘤生长受抑说

在体外实验中,外源性 cAMP 能抑制肿瘤细胞分裂和生长。在体内实验中情况比较复杂。有人为了寻找肿瘤生长受抑的原因,特意将 W_{256} 癌分出两种细胞群,一种对于 DBcAMP 敏感,另一种则不敏感,它们所引起的肿瘤也相应地分为敏感和不敏感两种。在整体动物实验中,由于外源性 DBcAMP 的作用,这两种肿瘤细胞中 cAMP 的浓度都比原来增加了二倍,总含量两者亦一致,但只有对 DBcAMP 敏感的 W_{256} 癌生长受抑,而不敏感的 W_{256} 癌不受任何影

响。此实验说明,细胞内 cAMP 浓度的简单变化并不是抑制肿瘤生长的决定因素。在几种 Morris 肝癌中,其 cAMP 浓度与生长速度并无对应关系也支持了这一看法 (Butcher, F. R. 1972)。

在此基础上 Cho-Chung 等注意到,在激素依赖性乳腺癌中, DBcAMP 处理 4 小时后,酸性核糖核酸酶 (RNase) 活性和合成的量明显增加,宿主在解除激素后使肿瘤消退时,此酶活性亦增加。因此作者认为,酸性 RNase 的增加是肿瘤生长受抑的最初信号。RNase 是一种核酸水解酶,其活性增加说明组织分解代谢作用的增强。

有一些工作支持了这一假说。如用 cAMP 处理断食 24 小时的大鼠肝,观察其超微结构的变化,发现这些细胞出现了自家吞噬作用 (Rosa, G. 1971)。细胞自家吞噬作用是胞浆降解作用的一种现象,代表了溶酶体的活跃状态,而溶酶体释放水解酶的增加是组织分解代谢作用增强的根源。此外,还观察到, cAMP 能使大鼠肝细胞中溶酶体膜的超微结构发生变化,其结果是增加了对酸性磷酸酶和 β -葡萄糖醛酸酶的通透性 (Imre, S. 1972)。小鼠白血病 (15178Y/R) 细胞也可因 DBcAMP 的作用而产生自家吞噬作用 (Yang, T. S. 等 1974)。

三、cAMP 促进核组蛋白的磷酸化作用是促细胞分化说

不分化和不成熟是肿瘤细胞的特点。cAMP 能够促进肿瘤细胞生化学和形态学分化的出现,说明它是返分化作用的重要因素(不是唯一因素)。分化的概念在生化学上意味着新的特异性蛋白质的合成。细胞代谢过程中的各种变化都是在酶的催化下进行的,细胞不是连续地制造它们所能产生的蛋白质(包括酶),而只是在需要它们时才合成。通常认为, DNA 的大部分在正常情况下是被掩盖着或不起作用的,核内组蛋白、酸性蛋白调节着 DNA 分子上进行 RNA 合成的区域(即转录水平的调节),从而调节着蛋白质的合成。

现已知道,在真核细胞中,核内组蛋白位于

DNA 双螺旋结构的浅槽中,并以其碱性基团与 DNA 的磷酸基团以静电力相结合,从而掩盖了 DNA 分子上某些基因的暴露,使之不能转录。因此,组蛋白是 DNA 模板活性的抑制剂,能够抑制某些 RNA 的合成,这就是 DNA 在正常情况下大部分基因不起作用的原因。在基因转录之前,必须先发生核内蛋白质的某些变化,如组蛋白的磷酸化作用或乙酰化作用等。这些变化可以改变核蛋白携带电荷的状况,从而使它们与 DNA 的静电结合破坏,引起 DNA 模板活性的去阻遏作用。有一些工作表明 cAMP 能够增加组蛋白的磷酸化作用速度。因此,核组蛋白磷酸化作用的增强在解释 cAMP 在转录水平上促进肿瘤细胞分化的作用受到了重视。以动物肝为材料 (Langan, T. A., 1968, 1969, 1971),在体外实验中观察到,cAMP 能使组蛋白 F_1 和 F_{2b} 磷酸化作用的速度增加 4—6 倍;在体内实验中,当大鼠腹膜内注射 cAMP 和 DBcAMP 后,组蛋白磷酸化速度分别增加了 8 倍和 20 倍。组蛋白磷酸化作用的位置有两个,其中仅有一个依赖于 cAMP。依赖于 cAMP 的蛋白激酶催化组蛋白磷酸化的位置是专一的,一般在富含赖氨酸的组蛋白 F_1 的丝氨酸残基上。有意思的是,当动物喂以高血糖素后,肝中组蛋白 F_1 的磷酸化作用也大大地增加。这一现象与上面提到的结果并非偶然的巧合,而正是说明组蛋白磷酸化作用速度的增强确系 cAMP 所致。这样看来, cAMP 是起到去阻遏作用,从而有可能使新的 RNA 的合成被诱导出来,而这正是肿瘤细胞分化的重新出现所必需的。

众所周知, mRNA 的合成是转录过程的具体体现,这种合成的能力取决于染色质结合的 RNA 聚合酶即 RNA 聚合酶 II 的活性。已有报道 (Korinek 等, 1973), XC 肉瘤细胞经 cAMP 作用后,染色质 RNA 聚合酶 II 的活性回升至相应的正常细胞的水平,随之出现分化,肿瘤细胞的生长特性也发生了改变。

近年来在研究核内酸性蛋白对核组蛋白的生物活性的调节作用中,逐步认识到它们可能是调节组蛋白功能的特异因子这一重要性。目

前已经知道有十二种属于酸性蛋白的酶,如 RNA 聚合酶、ATP 酶、蛋白质磷酸激酶等等。也知道了其中一些酸性蛋白由于与组蛋白竞争同 DNA 结合或改变了 DNA-组蛋白的作用方式而发挥了去阻遏作用。

四、cAMP 改变膜性质与促进微小管形成是肿瘤细胞生长特性的转变和形态学分化出现的原因说

在体外实验与某些整体实验中, cAMP 能使肿瘤细胞接触抑制得到恢复以及形态学上向正常方向逆转。前者提示细胞膜性质发生了变化,后者提示形态学上分化的出现。

膜性质的改变包括膜结构的改变、腺苷酸环化酶对激素和其他物质敏感性的改变、对凝集素反应的改变、移动性质的改变、通透性的改变等等。XC 肉瘤细胞与小鼠白血病病毒一起培养能形成巨大的融合细胞,电镜观察可见细胞膜包膜溶解,加入外源性 cAMP 培养后,细胞浆膜的超微结构起了变化,丧失了形成融合细胞的能力 (Korinek, J. 1973)。

细胞膜的变化还可用凝集实验来监视。转化细胞对小麦芽凝集素的表面受体是暴露着的,而正常细胞的这些受体被掩盖着,因而前者表现出对小麦芽凝集素有高的凝集反应,后者则否。DBcAMP 和茶碱能使高的凝集反应回复至正常。

作为细胞膜的一个重要组成成分的腺苷酸环化酶,其对激素敏感性的差异也反映了肿瘤细胞与正常细胞膜结构的差异。这方面的情况上面已提到一些。最近也有报告,在大鼠腹水肝癌细胞中,该酶对 NaF 和前列腺素 E_1 反应性差,对胰高血糖素及 L-肾上腺素无反应,而正常肝和再生肝的情况恰恰相反。但是, cAMP 能否改善此种现象尚无充足证据可资说明。腺苷酸环化酶对激素的敏感性大概是反映细胞膜上激素受体的数量或效能的尺度。

肿瘤细胞丧失了控制细胞移动的能力,因而表现为对周围正常组织的侵犯,即所谓“转移”。因此“转移”也可视为肿瘤细胞膜性质异常的一个方面。培养的瘤细胞比正常细胞容易

从器壁脱落,经 cAMP 作用后,此现象即消失 (Johnson, G. S. 等 1972, Grinnell, F. 1973)。

但是要问,这些膜性质的改变又是如何受到控制的呢?有人观察到 cAMP 对膜性质的影响可被放线菌素 D 或 3'-脱氧腺嘌呤核苷或环己酰胺所取消,这可认为膜性质的改变实际上是在转录或翻译阶段上受到控制的。

至于肿瘤细胞形态学分化的出现,不少人认为是由于 cAMP 诱导微小管蛋白的合成,进而促进微小管形成的结果。微小管是什么?在组织形态学上没有给它下过确切定义,但许多作者一致指出,微小管是微小管蛋白的聚合体,它对有丝分裂时纺锤体的形成和保持细胞形态起重要作用。在肿瘤细胞中由于 cAMP 浓度的低下,微小管形成不佳,外源性 cAMP 能促使其形成 (Roisen, F. L. 等 1972)。秋水仙素能阻遏 cAMP 促使微小管形成的能力。

结 语

cAMP 与肿瘤的关系是最近几年受到注意的一个研究课题。它不仅涉及到肿瘤发生、发展的理论问题,也涉及到肿瘤治疗的一个崭新方向。已有的结果开阔了人们的眼界,提示在适宜的条件下肿瘤细胞向正常方向逆转(即返分化)是有可能的,这就开辟了肿瘤研究的新途径。

由于肿瘤问题的复杂性,虽然有很多实验证明 cAMP 能抑制肿瘤细胞的生长和促进分化,但鉴于 cAMP 具有多功能的性质,将不能作为一种药物用于肿瘤的临床治疗。如何使 cAMP 能在肿瘤治疗中发挥作用,尚需进一步研究。此外, cAMP 对肿瘤细胞的作用原理,目前研究得还很不充分,各种假设还缺少直接一致的证据,这些问题的进一步澄清也有利于 cAMP 在肿瘤研究中的实际应用。几年来,我国不少单位也已开展了 cAMP 与肿瘤的研究,相信通过深入的工作后,这个问题将会得到进一步的明确。

[本文于 1976 年 11 月 9 日收到]