

研究工作

大鼠肝癌组织 AC 和 cAPD 比活力及其比值的变化

杨东丽 崔耀宗

(皖南医学院生化教研室, 芜湖)

提 要

本文比较了大鼠正常肝、宿主肝和肝癌组织中 AC 和 cAPD 比活力及其比值。三种组织 AC 比活力无差异。肝癌和宿主肝 cAPD 比活力比正常肝分别降低 54% 和 22%, 肝癌和宿主肝 AC/cAPD 比值较正常肝分别升高 123% 和 50%。提示 cAPD 比活力和 AC/cAPD 比值的变化可作为肝癌早期的生化标志。

cAMP 作为第二信使之一, 具有广泛的生物学作用。我们研究肿瘤组织中催化 cAMP 生成和降解的酶——腺苷酸环化酶 (AC) 和环腺苷酸磷酸二酯酶 (cAPD) 的变化, 对阐明肿瘤的生长可能具有重要的意义。根据最近的文献^[1]报道, 肿瘤组织中 AC 和 cAPD 的变化尚未得出一致的结论, 并且仅限于实验性肿瘤。本实验选用国内建立的大鼠移植性肝癌 (BERH-2)^[2] 模型, 观察了这种癌组织中 AC 和 cAPD 比活力及其比值的变化。

材 料 与 方 法

一、实验动物 Wistar 种大白鼠, 雌雄皆有, 鼠龄 40 天左右, 体重 50—70 克, 由中国科学院上海实验动物中心提供。

二、实验瘤株 BERH-2 肝癌, 引自中国科学院上海药物研究所。

BERH-2 肝癌的接种: 将带有 BERH-2 肝癌的大鼠断颈处死, 在无菌条件下取出肝癌组织, 剪成约 1 立方毫米的小块, 用骨髓穿刺针取 4—5 小块注入 Wistar 种大白鼠腹腔内, 生长 14 天。

三、组织液的制备 将正常鼠和肝癌大鼠

断颈处死, 迅速取出正常肝、宿主肝和肝癌组织, 用生理盐水洗去血液, 除去包膜, 将表面水分用滤纸吸干。称取组织 1 份, 加 0.32mol/L 蔗糖溶液 9 份, 放于玻璃匀浆器中, 置冰浴中匀浆, 在显微镜下检查细胞达到完全破碎为止。匀浆液离心, 10,000 r/min 15 分钟。前文^[3]已证明 AC 主要存在于沉淀部分, cAPD 主要分布在上清液中。因此, 取上清液测 cAPD, 取沉淀物用上清液相等体积的 0.32mol/L 蔗糖溶液悬浮成悬浮液测 AC。

四、蛋白质含量的测定 按 Lowry 氏法^[4], 以牛血清蛋白为标准。

五、AC 和 cAPD 活力的测定^[5] 按 Ramachandran 的方法^[6]加以改良。

分别以 ATP (含 ³H-ATP) 和 cAMP (含 ³H-cAMP) 作为 AC 和 cAPD 的底物, 分别同组织制备液一起保温。反应生成的或未水解的 cAMP (含 ³H-cAMP), 用氧化铝微柱层析法分离, 洗脱液中 ³H-cAMP 用 FJ-2101 双道液体闪烁计数器测定 cpm, 回收率为 91.9—100.4%^[3]。AC 比活力以 cAMP 生成量 nmol/min/mg 蛋白质表示之, cAPD 比活力以 cAMP 水解量 nmol/min/mg 蛋白质表示之。

测 AC 比活力时, CV 为 12.1%, 测 cAPD 比活力时, CV 为 10.6%^[9]。

结 果

正常鼠肝、BERH-2 宿主肝和 BERH-2 肝癌组织中 AC 与 cAPD 比活力以及 AC/cAPD 比值的结果见表 1。

表 1 AC 与 cAPD 比活力及其比值

组 织	AC 比活力	cAPD 比活力	AC/ cAPD 比 值
(1) 正常鼠肝	0.82± 0.04(16)*	1.90± 0.10(16)	0.44± 0.03(16)
(2) BERH-2 宿主肝	0.87± 0.09(14)	1.48± 0.13(14)	0.66± 0.08(14)
(3) BERH-2 肝癌	0.82± 0.07(14)	0.88± 0.07(14)	0.98± 0.10(14)
P 值**: (1)/(2)	>0.05	<0.01	<0.05
(1)/(3)	>0.05	<0.01	<0.01
(2)/(3)	>0.05	<0.01	<0.01

* 均数±标准误(大鼠数) ** *t* 检验

由表中数值可以看到,正常鼠肝、BERH-2 宿主肝和 BERH-2 肝癌组织 AC 比活力无显著差异, BERH-2 肝癌组织 cAPD 比活力较正常鼠肝降低 54% ($P < 0.01$), BERH-2 宿主肝 cAPD 比活力较正常鼠肝降低 22% ($P < 0.01$)。AC/cAPD 比值的变化与 cAPD 比活力的变化相反,即 BERH-2 肝癌组织 AC/cAPD 比值最高,是正常鼠肝的 2.23 倍 ($P < 0.01$); BERH-2 宿主肝 AC/cAPD 比值是正常鼠肝的 1.50 倍 ($P < 0.05$)。

讨 论

根据测定 cAPD 活力时所用底物 cAMP 浓度为 1mmol/L, 因此所测 cAPD 属于高 K_m 值。我们观察到 BERH-2 肝癌组织中高 K_m 值 cAPD 比活力降低, Clark 等^[7] 和 Hickie 等^[8] 也报道大鼠 Morris 肝癌组织高 K_m 值 cAPD 活力降低。一般说来,高 K_m 值的酶易受激素等因素的调节,此与组织的特殊功能有关。因此,肿瘤组织(如 BERH-2 肝癌组织)中 cAPD 活力的降低很可能是肿瘤组织逃避机体调节的一种方式。

我们观察到 BERH-2 宿主肝 cAPD 比活力介于正常肝与肝癌之间,可能是宿主肝受肝癌细胞分泌的某种成分的影响处于癌前期,但也不能排除宿主肝存在肉眼看不见的肝癌转移灶的可能性。从宿主肝 cAPD 活力的降低,导致 AC/cAPD 比值升高,提示 cAPD 活力和 AC/cAPD 比值的变化系肝癌的早期生化改变。

参 考 文 献

- [1] 杨东丽等:《国外医学肿瘤学分册》, 1985, 12(4), 193.
- [2] 强家模等:《科学通报》, 1978, 23(6), 374.
- [3] 杨东丽等:《皖南医学院学报》, 1986, 5(3), 163.
- [4] Lowry, O. H. et al.: *J. Biol. Chem.*, 1951, 193, 265.
- [5] 杨东丽等:《皖南医学院学报》, 1987, 6(2), 141.
- [6] Ramachandran, J.: *Anal. Biochem.*, 1971, 43, 227.
- [7] Clark, J. F. et al.: *Cancer Res.*, 1973, 33(2), 356.
- [8] Hickie, R. A. et al.: *Cancer Res.*, 1975, 35(3), 601.

[本文于 1987 年 6 月 26 日收到]

(上接第 192 页)

- [11] 张惠芸:《生理科学》, 1986, 6, 269.
- [12] Nowicky, M. C. et al.: *Nature*, 1985, 316, 440.
- [13] Poo Mu-ming: *Nature*, 1982, 295, 232.
- [14] Fareley, J. M. et al.: *Pflügers Arch.*, 1986, 406, 629.
- [15] Guy, H. R.: *Biophys. J.*, 1984, 45, 249.
- [16] Hartshorne, R. P. et al.: *J. Biol. Chem.*, 1984, 291, 539.
- [17] Greenblatt, R. E. et al.: *FEBS* 3209, 1985, 193, 125.

- [18] Kosower, E. M.: *FEBS* 2369, 1985, 182, 234.
- [19] Guy, H. R. and Seetharamulu, P.: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1986, 83, 508.
- [20] 杨文修等:《生物物理学报》, 1985, 1, 96.

[本文于 1987 年 5 月 29 日收到]