

综 述

癌 瘤 中 同 工 酶 的 基 因 表 达

陈 惠 黎 吴 永 麟

(上海第一医学院 生化教研室)

肿瘤的基因表达在研究肿瘤的发病机理及探索肿瘤诊断的指标中具有重要意义。近十余年来大量的研究证明:恶性肿瘤(以下统称癌瘤)的基因表达发生紊乱,产生一些相应的正常分化组织所没有的或含量极微的基因表达产物,例如甲胎蛋白(AFP)、癌胚抗原(CEA)、CS-抗原(在C型病毒转化细胞中发现)、急性淋巴细胞白血病抗原、胚胎性胰抗原和癌胚膜抗原等癌胚蛋白,以及异位分泌的肽类激素和一些胎儿型的同工酶。同时正常分化组织所特有的一些功能蛋白,例如白蛋白等血浆蛋白和某些成年型同工酶则降低或消失。这些改变往往和癌瘤的增殖速度和恶性程度有平行关系。其中同工酶的研究是一个比较活跃的领域。由于在组织分化或癌变的过程中,同一种酶的各种同工酶的活性常有明显变化,所以同工酶是研究基因表达的良好指标。本文拟就癌瘤中同工酶的基因表达及有关问题作一简要综述。

一 关于同工酶的概念和分类

按照国际生化命名委员会(CBN)的建议^[1],同工酶的含义应该是:在同一种属中,由不同基因位点或遗传变异的等位基因编码的多肽链、以及由后者组成的纯聚体或杂交体,其理化及生物学性质不同但能催化相同的化学反应(表1)。不少作者^[2,3]把表1中1—3项由不同基因编码的同工酶称为原级同工酶(Primary isozyme),其电泳、层析、动力学和免疫性质往往都不相同,但有时可交叉免疫;而把酶蛋白mRNA在翻译后的一切修饰反应所产生的多种分子形式,称为次级同工酶(Secondary isozyme)

(表1中4—6项),其免疫特异性相同、动力学参数相同或相近,但电泳和层析性质不同。

表 1 酶 的 多 种 形 式^[1]

组	多种形式的原因①	举 例
1	遗传上互相独立的蛋白质②	线粒体和细胞浆的苹果酸脱氢酶、乳酸脱氢酶的纯聚体
2	两条或多条多肽链以非共价键相联结的杂多聚体②	乳酸脱氢酶 A、B 亚基的杂交体
3	遗传变异(等位基因酶)②	人类 6-磷酸葡萄糖脱氢酶
4	结合的或衍生的蛋白质 (1) 与其它基团接合的蛋白质 (2) 由该多肽链衍生的蛋白质	磷酸化酶 b、糖元合成酶 D 由糜蛋白酶元衍生的糜蛋白酶族
5	单一亚单位的多聚体	分子量为 1,000,000 和 250,000 的谷氨酸脱氢酶
6	不同的构象形式	酶变构引起的构象改变

① 在制备过程中人为造成者,不属本表范围。

② 这些均归入同工酶的范畴。

有人按个体发生中的变化将同工酶分为成年型和胎儿型两类^[4],其区别见表2。各种同工酶的组织分布常有很大区别^[5](表3)。

二 癌瘤时同工酶基因的表达

酶是基因表达的产物,酶谱的改变可以反映基因表达的失常。在多数情况下,癌瘤组织同工酶基因表达的失常表现为原级同工酶含量

表 2 成年型和胎儿型同工酶的区别

	成年型 (分化型)	胎儿型 (原始型)
分布	少数成年组织	广泛, 包括 胎儿组织
个体发育时的 变化	出生前后开始表 达、逐渐增加	胎儿期即表 达、出生前后 在有些组织中 逐渐减少
对底物的 K_m 或 $K_{0.5}$	常较大	常较小
受激素或饮 食调节	常+	常-
功能	与特殊代谢功能 有关	参与一般代 谢或与细胞增 殖有关。
举例	葡萄糖激酶 (GK) B 型醛缩酶 (B- ALD) L 型丙酮酸激酶 (L-PyK) II 型支链氨基酸转 氨酶 氨基甲酰磷酸合 成酶 (CPS ₁) 成年型糖元磷酸 化酶	己糖激酶 (HK) A 型、C 型 ALD K 型 PyK I 型 CPS ₂ 胎儿型

表 3 三种糖酵解酶的同工酶在成年大鼠组织中的分布

组织	己糖激酶 (HK)				醛缩酶 (ALD)			丙酮酸激酶 (PyK)			
	I	II	III	IV	A	B	C	L	R	M	K
骨骼肌	+	+++	+		+++					+++	
心肌	++	+++	+		++					++	±
脑	+++	+	±		++		++			++	+
脾	+++	+++	+++		++						++
小肠	+++	+++	++					+			++
胸腺	+++	+++	++								++
肺	+++	+++	+++								++
肾脏	+++	+	++	±	++	++		+			++
肝脏	+++	+	+++	+++	±	++		+++			+
睾丸	+++	+++	±								++
红细胞	+++	+	±						++		

注: +多少代表酶含量的高低, 但本表一般只作纵行比较, 在横行比较时, 同是 +++ 的各型同工酶活性实际上尚有差别, 不同酶也难以相互比较。

的变化, 可引起酶谱的反分化或者出现胎盘型或异位型同工酶; 但也可以是次级同工酶的变化。

1. 原级同工酶谱的变化

(1) 基因表达的反分化 在组织恶变后, 常见成年型同工酶的降低或丧失、胎儿型同工酶的出现或增高, 与分化不全的胎儿组织的酶谱相似。这种分化的逆转称为“返祖”或反分化。Weinhouse^[6] 等人用不同恶化程度的 Morris 肝癌证明, 除了高度分化、生长较慢的肝癌, 其同工酶谱基本上接近正常外, 中度分化或分化较差的肝癌都有上述变化; 但后者的变化尤为明显, 其成年型同工酶的活性极低或几乎消失, 而胎儿型同工酶的活性较正常增高数倍乃至数十倍, 致使该酶的总活性也明显上升。但有时在中度分化的肝癌中只有成年型同工酶的降低, 而胎儿型同工酶尚未升高或只有轻度升高, 故酶的总活力可反而降低 (图 1)。佐藤等^[7] 比较了不同致癌物诱发肝癌后四组同工酶谱的变化, 发现成年型酶的降低和胎儿型酶的升高程度与癌组织的恶性程度有反平行关系, 其中以己糖激酶和 PyK 同工酶的差别更为明显。Potter 等^[8] 用 3' 甲基奶油黄 (3'MeDAB) 诱发大鼠肝癌的过程中, 也发现成年鼠肝中的 GK、B 型 ALD 和 L 型 PyK 活性明显地逐渐下降, 而 A 型 ALD、K 型 PyK 逐渐升高, 但 HK 的变化不大。己糖激酶和 PyK 的总活性都有所下降。即使 15 天后停止喂饲 3'MeDAB, B 型 ALD 和 K 型 PyK 仍持续增高。非致癌剂 2'MeDAB 则不会引起上述变化。在一些高度未分化的肝癌中, 除 A 型 ALD、K 型 PyK 等的明显上升外, 还可出现早期胚胎的同工酶, 如 C 型 ALD^[4]。

其它癌瘤中也有类似的反分化出现^[4]。如肌肉恶变成横纹肌肉瘤后, 肌肉中的成年型 A 型 ALD、M 型 PyK 等分别被 C 型 ALD 和 K 型 PyK 所取代, 有时可出现成年组织没有的 ALD A-C 杂交体。正常人脑组织中的 PyK 以 M₄ (表示 4 个 M 亚基的四聚体) 为主, 可含少量的 K₄ 及 M-K 杂交体; 而脑膜瘤及恶性神经胶质瘤组织中 K 型 PyK 明显增高, 电泳证明其主要酶带

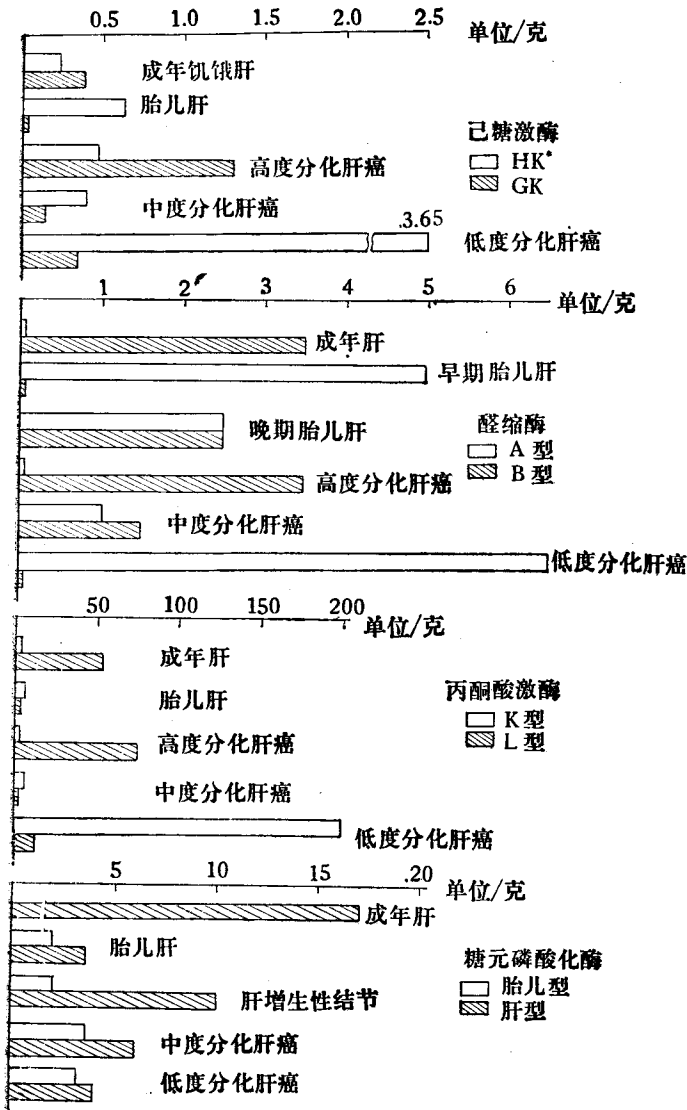


图1 大鼠成年肝、胎儿肝及 Morris 肝癌中四种糖代谢酶同工酶的变化
* 主要为 II 型

是 K_4 及 K_3M 。在神经胶质瘤的邻近区域中, K 型也见升高。癌瘤同工酶的反分化现象约有下列几种类型:

① 不同组织的成年型同工酶相同, 胎儿型同工酶也相同, 故恶变后的酶谱相同。如成年肝、肾、大肠细胞膜上的 N-乙酰- β -葡萄糖胺酶都是等电点偏酸性的 A 型, 而它们的胎儿型又都是等电点偏碱性的 B 型。肝癌、肾癌、大肠癌中的同工酶也都是和胎儿一样的 B 型^[9]。

② 不同组织的成年型同工酶不同, 但胎儿型同工酶相同, 恶变后酶谱也相同。如上述肝

脏和骨骼肌恶变后, PyK 同工酶分别由 L 型及 M 型趋向 K 型 (表 4), 糖元磷酸化酶也分别从肝型及肌型趋向胎儿型^[4]。

③ 不同组织的成年型同工酶不同, 恶变后的酶谱也不同。如肝癌时, ALD 同工酶由 B 型趋向 A 型, 而骨骼肌恶变成肉瘤后, ALD 除原有的 A 型外, 可出现 C 型 (表 4)^[4]。

④ 不同组织的成年型和胎儿型同工酶互相置换。如磷酸依赖性谷氨酰胺酶, 肝脏的胎儿型是肾 (K) 型, 肾脏的胎儿型是肝 (L) 型; 恶变后的同工酶谱也互相置换, 如在不少 Morris 肝癌中发现肾型明显增加, 而在三型实验性肾癌可见肝型增高。与此相似, 脾脏发育的晚期, ALD 的变化与肝脏相反, 是从 B 型趋向 A 型, 而脾脏网状肉瘤时, ALD 则也与肝癌相反, 从 A 型趋向 B 型。

(2) 表达胎盘型同工酶 某些癌瘤组织可以出现胎盘型同工酶, 例如碱性磷酸酶 (AKP) 和支链氨基酸转氨酶。

① AKP Fishman 等^[9] 从妊娠 6—10 周即在胚胎滋养层细胞发展成绒毛时的早期胎盘中分离出 I、II_a、II_b 三种同工酶, 其中 I 型和 II_a 型都是二聚体糖蛋白; 它们的分子量、免疫性、

表 4 几种组织恶变后同工酶谱的变化

	肝	肾	骨骼肌	脑
成年组织				
HK	IV>I>III	I>III	II	I
ALD	B>A	A, B	A	A, C
PyK	L>K	K>L	M	M>K
LDH	M>H	H, M	M>H	H, M
癌瘤				
HK	II $\uparrow$ IV $\downarrow$	II, III $\uparrow$	III $\uparrow$	?
ALD	A $\uparrow$ B $\downarrow$	A $\uparrow$ B $\downarrow$	C $\uparrow$	?
PyK	K $\uparrow$ L $\downarrow$	K>L	K $\uparrow$ M $\downarrow$	K $\uparrow$ M $\downarrow$
LDH	M $\uparrow$	M $\uparrow$	M $\uparrow$	M $\uparrow$

热失活率和受氨基酸抑制的程度都不相同,说明是两个不同基因编码的酶蛋白。但 II_b 型是四聚体,后来证明是 I 型和 II_a 型的杂交体。I 型 AKP 的性质和骨型 AKP 相同,和肝型 AKP 也仅是其糖链上的唾液酸量不同而表现不同的电泳速度而已。待至妊娠 13 周后, I 型和 II_b 型消失,而 II_a 型的活性增高,故 II_a 型又称为晚期胎盘型。

在某些癌瘤病人血清中发现的 Regan 同工酶,现证明就是晚期胎盘同工酶,而 Nagao 同工酶是 Regan 氏酶的一种变种;因为它和 Regan 氏酶的免疫性和热稳定性基本相同,只在受亮氨酸和 EDTA 的抑制性质上有所差别。这些同工酶多见于卵巢癌、睾丸癌、肺癌、胰腺癌的病人,以 Regan 型较常见,但其血清的阳性率仅约 4.4—28.9%,故尚难于常规诊断。此外,在某些不同的癌瘤中,如乳腺癌,也会出现早期胎盘型 AKP;而在一些肝癌患者血清中则出现胎肠型(也是成年小肠型)的 AKP。Kasahara 和 Warnock's 同工酶都是胎肠型 AKP 的变种。

② 支链氨基酸转氨酶 催化缬、亮、异亮三种氨基酸和 α -酮戊二酸之间的转氨基作用。市原等^[10]从细胞上清液中提出三种同工酶,具有不同的分子量、动力学参数和免疫学特性。在大鼠中发现, I 型几乎是心肌、骨骼肌、肾、脾、睾丸和脂肪组织中唯一的同工酶;而肝脏和脑中也有少量存在。II 型是肝脏中的主要成分,约占 75%,只对亮氨酸有催化作用,对亮氨酸的 K_m 也较其它型同工酶大,可受高血糖素及糖皮质激素诱导,其功能可能和亮氨酸在肝中生成酮体有关。III 型在脑中占绝大部分,而胎盘中, I 型和 III 型的比例大致相等。

大鼠胎肝从怀孕 16 天起到出生,只含 I 型;出生后才见 II 型升高。在生长较慢的 Morris 肝癌中仍保留 II 型及 I 型,但也出现 III 型;而生长较快的肝癌则 I 型对 II 型的比例增高,个别可只出现 I 型。在生长更快的未分化肝癌中则同时表达 I 型和 III 型,类似胎盘的酶谱,其活性也明显增高。用致癌物处理只含 I 型的培

养肝细胞,可出现 III 型;或用 3'MeDAB 等致癌物体诱发大鼠肝癌也使 II 型减少而 III 型升高,从而接近胎盘的同工酶谱。

(3) 表达异位型同工酶 一种组织恶变后产生其它组织的酶或成年型同工酶,称为异位性 (ectopic) 表达,如胃癌周围区域可出现正常只有肠粘膜才有的一些二糖酶和 AKP。在同工酶中,其典型的例子是磷酸果糖激酶 (PFK) 及肌酸激酶 (CK)。

① PFK^[4,5] 此酶有四型: I 型仅存在于肌肉组织及脑, IV 型仅存在于肝脏及红细胞,肾脏可能有少量,而多数组织为 II 型或/和 III 型,其中肾脏和睾丸以 II 型为主。此酶在大多组织中的胎儿型尚不明瞭,只知肝脏的胎儿型与成年型相同,也是 IV 型。肝细胞恶变后(如吉田腹水型肝癌),其同工酶不是胎儿型,而出现 II 型及 III 型,也即表达了肾脏或睾丸的成年型同工酶谱。相反,非肝细胞性癌瘤如胃癌、癌肿转移的淋巴结、吉田肉瘤和 Walker 肉瘤 256,却除 II、III 型外,可出现 IV 型;其中 Walker 肉瘤 256 尚出现 I 型。这些组织特异性同工酶的出现也是基因表达异位化的结果。

② CK 在肌肉组织和脑中的含量最为丰富,其它组织也含有少量^[11]。大鼠除骨骼肌(只含 MM)、心肌(大量 MM 及少量 MB)、肺(含 BB 较多于 MM)、乳腺(MM 多于 BB)和主动脉(大部分是 BB)外,其它组织如脑、肾等包括 13—15 天的胚胎中只含 BB 型。成年肝脏和胎肝全部是 BB 型,但在刚出生前及新生儿的肝脏可含少量 MM 型。各种实验性肝癌中 CK 的总活性与成年肝相差不大,但都含一定量的 MM 型(只有 5123C 和 S-19 例外,仍全为 BB 型),即异位表达了肌肉组织的 CK 同工酶,其总活性或 MM 型的比例与癌瘤生长的速度和分化程度关系不大。三类肾癌细胞中 CK 活性有所增高,也出现正常肾没有的肌肉 MM 型。此外小鼠横纹肌肉瘤(出现 BB 型)及神经母细胞瘤(出现 MM 型)也都有异位表达的情况。

(4) 其它异常表达^[4] 以上三种情况,不论是出现胎儿型、胎盘型或异位型同工酶,一般

都有关闭基因的重新开放、活跃,或伴有活性基因的阻遏或关闭。但在少数情况下,如 LDH,其 A、B 两种亚基在胚胎早期(受精卵着床后)即同时开放,唯其比例在不同种属可有很大差别。在整个胚胎发育中,A、B 亚基始终同时存在,只是在不同脏器中有不同的发展倾向。一般在妊娠后期,酶谱发生激烈变化,从而造成出生后各组织同工酶谱的分化。肝脏和骨骼肌仍保留 A 型的优势,而心肌及脑等则变成以 B 型为主,因此 A、B 两型并无胎儿型和成年型之分。在人类和鼠类的癌瘤中,一般是 A 亚基增加,但也不尽然,如人类的横纹肌肉瘤及平滑肌瘤有时可见 A 亚基减少,而 B 亚基相对增加;大鼠某些肝癌也可见 B 亚基比例增加或绝对量增加。这些变化,并无基因的重新开放或关闭,而只有基因表达的增减;目前除睾丸肿瘤外,其它癌瘤中尚未发现有仅在正常睾丸中存在的 LDH_x,也证明癌瘤时 LDH 的表达没有关闭基因的开放。

总之,癌瘤时同工酶基因的表达变化是十分复杂的,同一种癌瘤在不同的情况下也有不同的表达形式。如体内的神经母细胞瘤仍表达 3-磷酸甘油脱氢酶的成年型,但体外培养时却表达胎儿型。一般实体瘤表达成年型,而该瘤株的腹水型则表达胎儿型。为此,有人建议用“程序紊乱(Misprogramming)”来概括癌瘤基因表达失常的不同类型^[4]。

上述种种癌瘤时同工酶基因表达的失常,都是同工酶之间量的变化,而关于癌瘤合成的同工酶和相应正常组织中的同工酶之间有无质的异常的研究甚少。作者^[12]从小鼠 HepA 腹水肝癌细胞中提纯了 K 型 PyK,将其和正常小鼠肝脏中提纯的 K 型 PyK 比较,发现它们在电泳迁移率、层析性质、热稳定、最适 pH、底物动力学、对激活剂和抑制剂的敏感性、分子量及免疫性等十几项指标上都完全相同或十分接近,提示它们可能是相同的蛋白质,即癌瘤中基因表达的蛋白质结构和正常并无质的差异,也间接证明了癌瘤酶谱的失常是由于正常基因的不正常调控和表达。

濱田发现^[13],从人子宫肌瘤中提纯的 LDH₅(A₄)和 LDH₁(B₄),其氨基酸组成和正常子宫中的 A₄及 B₄均基本相同,表示其一级结构可能没有区别;但圆二色谱证明肌瘤 LDH 的 A₄和 B₄分子中 α -螺旋区的比例较正常子宫 LDH 有所减少,肌肉瘤的 LDH 则更为明显,说明癌瘤基因表达产物的空间结构可能有些失常。

2. 次级同工酶的变化

不同组织或不同发育时期的同工酶,有一些属于次级同工酶。目前发现的癌瘤次级同工酶大多是糖蛋白;同工酶之间的糖链有所不同。

(1) γ -谷氨酰转肽酶(γ -GT)^[9,14,15]是一种糖蛋白,90%与膜结构结合。在大鼠胎肝及成年肾脏中,这种 γ -GT 的活性极高,而成年肝脏则活性很低。在化学致癌物诱发的肝癌组织中,此酶活性可增高数十倍,故 γ -GT 可能是癌变早期的重要指标。在一些肺癌和结肠癌中也有发现。从吉田腹水肝癌及诱发性肝癌的增生结节中提纯的“膜结合性 γ -GT”与正常肾脏的 γ -GT 有相同的免疫性及亚基结构(由轻、重二种亚基组成),仅其唾液酸的含量较肾脏的 γ -GT 高,等电点较低,因此肝癌中的酶和正常肾脏中 γ -GT 是糖链修饰不同的次级同工酶。胎肝中的 γ -GT 也有和肝癌 γ -GT 相同的等电点,提示膜结合性 γ -GT 是一种癌胚蛋白。

从肝癌病人血清 γ -GT 的电泳谱中,发现有两条“肝癌特异性”的酶带 II 和 II_s,电泳迁移率在 α_1 球蛋白至铜蓝蛋白区域。在正常人和非肝癌病人的血清中均未发现,故有诊断价值。进一步证明此“肝癌特异性”的 γ -GT 来源于肝癌组织的可溶部份,在胎肝中也大量存在。但此可溶性 γ -GT 和膜结合性 γ -GT 的关系则至今尚不清楚,前者可能是后者“溶解”至胞浆的结果,但两者的免疫性质却并不相同。

(2) 芳香酰胺酶(Arylamidase; AAD)^[9,16]

可催化芳香胺类和酰基化合物(包括氨基酸)所形成的酰胺的水解,也可水解肽链 N 端的肽键;是存在于组织的细胞膜质结构上的一种糖蛋白。不同组织来源的 AAD,其电泳迁移率和

热稳定性虽有差别,但分子量和动力学相同;其中胎盘和肾脏中的酶在免疫学和氨基酸组成上也没有多大差别,因此它们很可能是次级同工酶。从人的肾癌、肝癌或肺癌中提出的 AAD,在上述各项指标上都与胎盘来源的 AAD 一样;当分别和正常的肾、肝、肺中提出的 AAD 比较时,也仅在电泳迁移率、等电点和耐热性上有所差别。当用神经氨酸酶处理癌瘤及正常组织的 AAD 后,它们在 TEAE 纤维柱上的层析行为就完全一致。因此,可以认为癌瘤中的 AAD 同工酶与正常组织 AAD 的差别,也仅在糖链末端唾液酸的数量上有所不同而已。

上述情况均说明了癌瘤基因所表达的糖蛋白,其蛋白部分与正常无异,而其糖链部分则可与正常有唾液酸含量的差别。

3. 癌瘤同工酶基因表达失常的机理

当用患癌鼠的血液灌流另一正常鼠肝时,可使后者 K 型 PyK 增高。生长在肝脏以外的癌瘤也可使肝中很多酶活性发生改变,特别是葡萄糖激酶及鸟氨酸转氨酶^[17]。可见癌瘤组织能产生一种调控肝中酶活性的体液因子。最近,田中^[17]从艾氏腹水癌细胞中提出了一个分子量大于 300,000 的糖蛋白,腹腔注射 1 微克即使肝、脾和肾脏中鸟氨酸脱羧酶活力上升,但其作用机理不明。一般说来,癌瘤基因表达可在转录、翻译或翻译后水平上发生失常。

(1) 基因转录水平的失常 癌瘤细胞染色质中的非组蛋白较正常明显增高,其磷酸化的非组蛋白也高于正常,且可出现正常染色质所没有的磷酸化非组蛋白^[18],说明癌瘤基因的调控发生改变。将主要含 K 型 PyK 的脾脏或 Rhodamine 肉瘤中提出的染色质注射于大鼠皮下,一定时间后可见肝中 K 型 PyK 增高,但注射肝染色质无效,可见肉瘤或脾脏染色质中的成分可调控 K 型 PyK 的合成^[19]。如果分别注射艾氏腹水癌细胞核的不同组分,也证明此调控物质存在于染色质中较多^[20]。Ibsen^[20]进一步提取了这个因子,证明是一种低分子量蛋白和 RNA 的复合物,此复合物可随癌细胞的破坏而释入血中,电泳在 α 球蛋白区,可与抗染色质的

抗体结合,但它是否即是上述血液中调控 PyK 的体液因子,则有待于阐明。

(2) 翻译水平的失常 转录活性的改变不能完全解释酶活性的改变。如无染色质的去核细胞也可诱导鸟氨酸脱羧酶的生成。有人证明^[21]肝中过氧化氢酶的合成受 F_1 和 F_2 两种胞浆因子的调控。 F_1 可与合成过氧化氢酶的多聚核糖体结合而抑制其翻译,而 F_2 则可拮抗 F_1 的作用。在正常肝脏中 F_2 多于 F_1 ,故过氧化氢酶的合成较多,而肝癌时 F_1 增多而 F_2 减少,从而抑制了酶蛋白的合成。另一方面,肝癌中 K 型 PyK 的增高可同时受转录抑制剂放线菌素 D 和翻译抑制剂环己亚胺的抑制,可见癌瘤中 K 型 PyK 的上升与翻译活性的增高也有关系。一些与肝癌细胞增殖有关的酶类,其合成只对翻译抑制剂敏感也证明了这一点^[4]。

(3) 翻译后修饰失常 上述癌瘤时次级同工酶上糖链的变化实际上就是一种翻译后修饰的失常。癌瘤时糖蛋白末端唾液酸的增多可能是唾液酸转移酶活力或性质的失常。近年来发现白血病人及癌瘤大鼠血清中唾液酸转移酶的活力增加,可能与上述现象有关。

三 具有类似癌瘤同工酶谱的其它情况

目前已发现,几乎所有肝癌时反分化产生的胎儿型同工酶以及 AFP 等癌胚蛋白,均可在再生肝中出现。因此 Ibsen 提出:反分化是一个正常过程^[4]。 CCl_4 等中毒使肝细胞坏死后,也有肝再生的过程,故其酶谱变化也与再生肝相似。但是肝再生时基因表达的改变和肝癌也有不少区别,例如①肝再生很少表达胚胎早期的同工酶,如 C 型 ALD;②肝再生也不表达胎盘型同工酶,如 AKP-II₂ 及支链氨基酸转氨酶 III;③异位表达不完全,如肝再生可有 MM 型 CK 增高,但 PFK 仍与正常肝相同;④有时肝再生的反分化也有别于肝癌,如肝癌时 HK 的升高以 II 型为主,而 CCl_4 中毒时则除 II 型外,III 型也明显增多。特别值得提出的是:肝再生的改变可自动逆转恢复,即从反分化再转变成重分化,而肝癌一般不能自动逆转。

先天性酪氨酸血症是一种常染色体隐性遗传症,可引起肝硬化。患者肝脏中也有B型ALD、L型PyK降低和A型ALD及K型PyK增高;并可持续产生AFP,唯不同的病例可相差甚大。这些变化与病变肝脏形态上有癌前变化有关,酶谱改变的原因也可能是肝再生的结果。

四 癌瘤时同工酶谱改变的生物学意义

Weber^[22]认为,癌瘤时酶谱的改变与其生长迅速的特点相适应。与细胞增殖有关的酶活性增高固然如此,一些糖代谢酶类的活性改变也为细胞增殖提供了合成原料或能量。同样,同工酶谱的改变也适应细胞增殖的需要。例如糖酵解酶系中,一些胎儿型同工酶增高后,它们对底物的亲和力比成年型大得多,故可使糖酵解速度增加,有利于细胞增殖。同时,因分化型同工酶丧失,使脏器的一些特殊功能(加糖异生、鸟氨酸循环)降低。这样,在一定程度上也可将ATP节约下来,更多地用于增殖必需的蛋白质和核酸的生物合成。

克奈特瑞效应(Crabtree effect)是癌瘤组织糖代谢最普遍最典型的特点之一,这在数十年前就由Warburg发现,但其确切机理尚未完全清楚。最近作者证明:肝癌组织中PyK活力的增高及其同工酶谱由L型转变为K型,与克奈特瑞效应有密切关系^[23]。因为PyK以ADP为底物,故糖酵解必需ADP,而ADP也是线粒体中刺激细胞呼吸和氧化磷酸化的重要化合物,故胞液中的PyK与线粒体之间有竞争ADP的作用。肝癌组织中PyK活性增高;并且增高的K型PyK比正常肝脏的L型PyK对底物ADP及PEP的 K_m 小得多,即对ADP及PEP的亲和力增大。产物ATP对K型PyK的抑制也小于L型PyK。这样,就使肝癌的细胞液向线粒体争夺ADP的能力显著提高,使胞液中糖

酵解速度加速;同时使线粒体中的ADP明显减少,导致呼吸降低,这是造成癌瘤中出现克奈特瑞效应的主要机理。糖酵解中另一个可与线粒体争夺ADP的3-磷酸甘油酸激酶,由于在肝癌时增高不多,且不是糖酵解的关键酶,故与克奈特瑞效应的关系较少。

从上述,可见阐明同工酶基因调控和表达的规律,探讨失常的机理,将对癌变原理的研究提供有益的启示,并能对寻找新的癌瘤诊断指标奠定理论基础。

参 考 文 献

- [1] IUPAG-IUB Recommendation 1976: *Eur. J. Biochem.*, 82, 1, 1978.
- [2] Moss, D. W.: *Isozyme Analysis*, pp. 1, 1979.
- [3] Trantshold, I. et al.: "*Adv. in Clinical Enzymol.*", edited by E. Schmidt & F. W. Schmidt, 1979.
- [4] Ibsen, D. G. et al.: *Biochim et Biophys Acta*, 560, 243, 1979.
- [5] Tanaka, T. et al.: *GANN Monograph on Cancer Res.*, 13, 219, 1972.
- [6] Weinhouse, S. et al.: *ibid*, 1, 1972.
- [7] Sato, K. et al.: *Cancer Res.*, 38, 3086, 1978.
- [8] Potter, V. R. et al.: *GANN Monograph on Cancer Res.*, 13, 121, 1972.
- [9] 佐藤清美:《代谢》, 17, 1651 1980.
- [10] Ichihara, A. et al.: "*Gene Expression and Carcinogenesis in Cultured Liver*", edited by L. G. Gerschenson, 1976.
- [11] Weinhouse, S.: *Cancer Res.*, 39, 492, 1979.
- [12] 陈惠黎等:《生物化学与生物物理学报》,待发表。
- [13] 濱田稔:《蛋白质、核酸、酵素》, 22, 1690, 1977.
- [14] Tsuchida, S. et al.: *Cancer Res.*, 39, 4200, 1979.
- [15] 藤沢洵等:《代谢》, 16, 199, 1979.
- [16] Hiwada, K. et al.: *Eur. J. Biochem.*, 104, 155, 1980.
- [17] Weinhouse, S.: *Cancer Res.*, 39, 3279, 1979.
- [18] 何开玲:《上海第一医学院学报》, 7, 75, 1980.
- [19] Muriya, N. et al.: *J. Biochem.*, 79, 203, 1976.
- [20] Ibsen, K. H.: *Cancer Res.*, 37, 341, 1977.
- [21] Uenoyama, K. et al.: *J. Mol. Biol.*, 74, 439, 1977.
- [22] Weber, G.: *New Eng. J. Med.*, 296, 486, 1977.
- [23] 邵明川, 陈惠黎:《生物化学与生物物理学报》,待发表。

[本文于81年3月20日收到]