

表 2 小肠上皮细胞胞质核酸相对含量两种测定结果的比较

测定方法	组 别	动物例数	核酸相对含量 (光密度)			
			均值±标准差	标准误	t	P
显微分光光度计	加 磁	8	0.255±0.046	0.016	0.415	>0.05
	对 照	8	0.288±0.041	0.015		
光电半定量法	加 磁	8	0.363±0.027	0.010	0.824	>0.05
	对 照	8	0.349±0.041	0.015		

细胞胞质核酸相对含量的差异不明显。

讨 论

Malnin 将体外培养的两种哺乳动物细胞 I-929 及 WI-38 置于 5,000G. S. 的磁场下曝磁 4 至 8 小时后,明显地阻碍了该两种细胞的生长^[4]。许多研究结果表明在 300—700G.S. 的磁场下,可使多种肿瘤细胞的 DNA 和 RNA 合成速度显著下降^[1]。Garganeev 将豚鼠曝于 7000G. S. 磁场下 500 小时,细胞内 DNA 和 RNA 含量也明显下降^[1]。本文采用的磁场强度虽已达 500 G. S.,但加磁时间不长,可能是引起核酸含量变化不大的原因之一。

从通磁组与对照组肠上皮细胞胞质核酸含

量无明显差异的结果看来,在 500G. S. 左右的磁场强度通磁一小时没有改变细胞的核酸含量。说明在这样强度的磁场下,进行治疗是比较安全的。

参 考 文 献

- [1] Kim, S. Y.: T-I-T J. Life Science, 6: 11—28, 1976.
- [2] 杨煜荣等:《磁场的生物学效应》,1980.
- [3] 艾民康等:《湖北卫生》2: 61, 1979.
- [4] Malnin, G. I. et al.: Science, 194(4267): 844—845, 1976.

(本文于1982年12月22日收到)

接种腹水肝癌后小白鼠某些组织中 cAMP 含量的变化

吴 同 乐

(中国科学院生物物理研究所)

3',5'-磷酸腺苷(简称 cAMP)广泛存在于生物机体中。大量实验表明,它是作为第二信使调节机体的生理功能和代谢。在生命活动的基本过程中,cAMP 还通过核酸代谢和蛋白质合成影响着细胞增生和异常分化^[1]。同时还证明,cAMP 水平与许多疾病的病理过程密切相关^[2,3]。

本文试图通过对腹腔接种腹水肝癌后 1—9 天小白鼠肝、脾、睾丸及脑组织中 cAMP 含量

变化的观察,进一步探索它的作用机理和变化规律,以便为临床疾病诊断提供依据。

一、材料和方法

1. 实验动物

实验共用雄性成熟健康小白鼠 40 只,平均体重 25 克左右,分成两批,每批实验取 20 只,再将其分成两组。

实验组 腹腔中接种腹水肝癌 0.2 毫升。

对照组 腹腔中注射 0.85% 生理盐水 0.2 毫升。

两组小鼠平行饲养于铁笼中, 接种后的 1, 3, 5, 7, 9 天分别从活体中取出肝、脾、睾丸和脑组织。

2. 组织样品的制备

称取肝、脾、睾丸和脑各 50 毫克, 立刻置于预先冰冻并盛有 1 毫升 5% TCA 的玻璃匀浆器中, 在冰冻下匀浆。然后分别倒入微型离心管中, 以 3000 转/分离心 5 分钟, 倾出上液于一微型离心管中, 加入三倍体积的水饱和乙醚进行抽提, 除去 TCA, 如此重复 3—5 次。最后弃去上层乙醚相, 收集下液置于青霉素小瓶中, 在真空中抽干, 放冰箱中保存待测。分析前加入 100 微升的 Tris-EDTA 缓冲液 (pH7.5) 溶解。

3. 操作步骤

取微型离心管若干支, 每管依次加入标准 cAMP (或样品) 40 微升, ^3H -cAMP 30 微升 (约 0.01 微居里/30 微升), 蛋白激酶 60 微升 (20 微克/60 微升) (为 C_x)。空白管 (B) 不加标准 cAMP 或样品, 也不加激酶, 而以 100 微升的 0.05M Tris 缓冲液 (pH7.5 内含 0.004MEDTA) 代替。在总计数管 (C_T) 中只加 1.50 微升缓冲液及 30 微升的 ^3H -cAMP。以上步骤均需在冰浴中进行。加完后置 0—2℃ 处温育 2 小时进行反应。终止反应后, 除 CT 管外, 在其它各管中分别加入 50 微升的吸附剂 (5 毫升 Tris-EDTA 缓冲液中含有 100 毫克牛血清白蛋白和 300 毫克活性炭, 在磁力搅拌器下搅拌 10 分钟), 摇匀, 以 3000 转/分离心 5 分钟。用微量加样器小心吸取上清液 120 微升放入测量瓶中, 加入 5 毫升 ppo-二氧六环闪烁液, 在 YS-2 型自动闪烁计数器下测量。

4. cAMP 含量的计算

按各管所得的计数率减去空白管 (B) 的计数率求出 C_0/C_x 值 (C_0 代表仅有 ^3H -cAMP 时结合的放射性, C_x 代表标准或未知样品存在时的放射性), 并以 C_0/C_x 值对微微克分子标准 cAMP 作标准曲线。如所测样品中 cAMP 含

量大于 1 微微克分子, 则从所作标准曲线中查找, 如果样品中 cAMP 含量小于 1 微微克分子时, 则从 $C_x/C_T \times 100$ 求出结合百分率。在半对数坐标纸上以结合百分率对微微克分子标准 cAMP 作标准曲线, 然后从这标准曲线中查找。经过简单的计算, 最后求出每毫克组织中 cAMP 的含量。

二、结果与讨论

1. 结合蛋白饱和曲线

分析组织样品之前, 应先测定每批结合蛋白制剂的结合蛋白饱和曲线, 以选择适宜的蛋白用量。根据文献介绍^[4], 结合蛋白以能结合 50% 左右的 ^3H -cAMP 为宜。根据我们的实验结果, 每管采用 20 微克的蛋白激酶, 其结合率可达 60% 左右, 见图 1

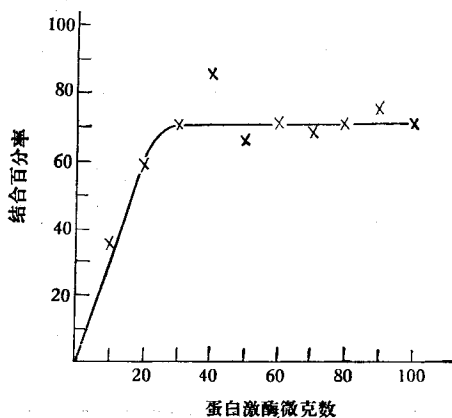


图 1 结合蛋白饱和曲线

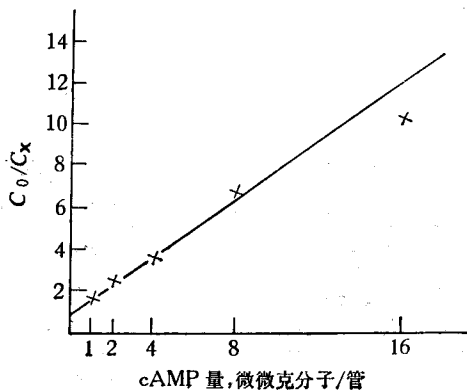


图 2 cAMP 标准曲线

2. 标准曲线

将标准的 cAMP 依次稀释成 16, 8, 4, 2,

1, 0.5, 0.25 微微克分子/40 微升的浓度后, 制成标准曲线如图 2 及图 3。

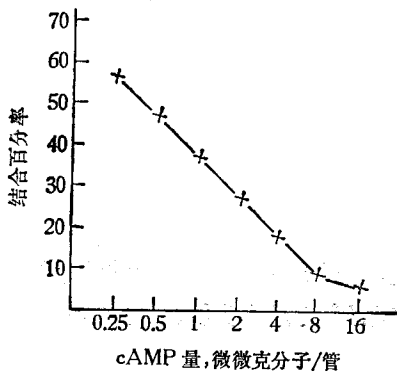


图 3 cAMP 标准曲线

表 1 小白鼠脾、肝、睾丸、脑组织中 cAMP 含量的比较 (微微克分子/每毫克湿组织)

正常平行对照组							腹腔中接种腹水肝癌后						
天数 样品	1	3	5	7	9	平均值	天数 样品	1	3	5	7	9	平均值
脾	0.21	0.29	0.48	0.54	0.44	0.39±0.06	脾	0.37	0.29	1.11	0.81	0.58	0.63±0.15
肝	0.27	0.22	0.38	0.55	0.32	0.35±0.06	肝	0.48	0.22	0.58	0.80	0.41	0.50±0.09
睾丸	0.35	0.25	0.73	0.52	0.45	0.46±0.19	睾丸	0.48	0.35	0.44	0.64	0.47	0.48±0.05
脑	0.35	0.25	0.60	0.73	0.49	0.48±0.09	脑	0.41	0.40	0.81	1.26	0.65	0.71±0.16

量平均值分别为 0.63 ± 0.15 , 0.50 ± 0.09 , 0.71 ± 0.16 , 0.48 ± 0.05 微微克分子/每毫克湿组织。由此可见, 腹腔中接种腹水肝癌后, 小白鼠组织中 cAMP 含量除睾丸未见明显变化外, 肝、脾、脑中的 cAMP 含量都有明显的增高, 尤其在接种后 5—7 天明显增高。据报道^[5]在整体动物肿瘤组织中 cAMP 含量远高于健康动物同种组织中的含量。这表明接种腹水肝癌后小白鼠肝、脾、脑组织中已出现了病变。肝、脾、脑组织中 cAMP 含量增高这一现象, 有可能为临床诊断提供一定的参考依据。

造成这种病理变化的原因有可能是由于腹水肝癌引起机体组织中某种激素或体液因子失调, 进而造成作为第二信使的 cAMP 水平改

cAMP 含量在 1 微微克分子以上时, 可从图 2 中查对, cAMP 含量在 1 微微克分子以下时, 从图 3 中查对。

3. 组织样品中 cAMP 含量的测定

测量正常小白鼠的肝、脾、睾丸、脑组织中 cAMP 含量, 以及腹腔中接种腹水肝癌后的小白鼠 1 至 9 天肝、脾、睾丸及脑组织中 cAMP 含量变化, 结果见表 1。

从表中可以看出正常小白鼠脾、肝、脑、睾丸组织中 cAMP 含量平均值分别为 0.39 ± 0.06 , 0.35 ± 0.06 , 0.48 ± 0.09 , 0.46 ± 0.19 微微克分子/每毫克湿组织, 而在腹腔中接种腹水肝癌后的小白鼠脾、肝、脑、睾丸组织中 cAMP 含

变。
关于 cAMP 作用机理, 是一个相当复杂的问题, 目前了解的还很不充分, 尚待进一步深入探讨和研究。

参 考 文 献

[1] Otten, J. et al.: *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **44**, 1192, 1971.
[2] Murad, F.: *Advance in Cyclic nucleotide Research*, Vol. III, 369 (Greengard p. et al. eds) Raven Press N. Y. 1973.
[3] Rabinwitz, B.: *Clin. Chem.*, **19**, 312, 1973.
[4] 《放射免疫分析及其它放射体外测量方法》1975 年会议资料选编, 原子能出版社 P. 228.
[5] 徐叔云等《临床药理》, 安徽科学技术出版社, P3, 1980.
(本文于 1982 年 12 月 10 日收到)