

3. 我们的实验结果证明, 四种肿瘤细胞都有较高的 PA 活性, 肝癌细胞中尤其高, 而正常肝组织则测不出。几种正常细胞如血液、骨髓、肌肉等 PA 活性甚低或者没有。这就为用“抗癌药前体”选择性杀伤癌细胞的设想提供了依据。某些正常细胞例如肾、肺、脑等也有较高的 PA 活性, 但一些激素类物质对正常细胞的 PA 具有选择性的抑制作用^[10], 从图 4A 和 B 中可以看出, 氟美松对癌细胞的 PA 活性影响不大, 而对正常组织(肾)的 PA 活性呈明显的抑制($X_1 = 48.48 \pm 1.05$; $X_2 = 31.24 \pm 1.86$; $P < 0.01$)。这有助于加强该药的选择性。我们的结果表明骨髓和血液中 PA 活性很低, “抗癌药前体”在这里不会被激活, 无毒性, 这就可以避免一般抗癌药常有的对造血系统的毒害作用。

总起来看, 用“抗癌药前体”选择性杀伤肿瘤细胞的设想有一定的实验根据, 在一定范围

内, 有较好的应用前景。

参 考 文 献

- [1] Reich, E.: *Biological Markers of Neoplasia: Basic And Applied Aspects* (ed Ruddon R. W. Elsevier. New York), 491, 1978.
- [2] Carl, P. L. et al.: *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.*, 77, 2224, 1980.
- [3] 周爱如《生理科学进展》, 11, 41, 1980。
- [4] Hakim, A. A.: *Cancer Biochem. Biophys.*, 5, 63, 1980.
- [5] Tucker, W. S. et al.: *Cancer Research*, 38, 297, 1978.
- [6] 叶智彰等:《动物学研究》, 2, 33, 1981。
- [7] 徐康森等:《药检工作通讯》, 9, 241, 1979。
- [8] Lassen, M.: *Acta Physiol. Scand.*, 27, 371, 1953.
- [9] Liliana Ossowski, et al.: *J. Biol. Chem.*, 249, 4312, 1974.
- [10] Roblin, R.: *Biological Markers of Neoplasia: Basic And Applied* (ed. Ruddon R. W. Elsevier) New York, 421, 1978.

【本文于1983年11月21日收到】

温度对蛤蚧视杆外段视紫红质分子的排列和流动性的影响

胡 坤 生 孙 其 坚

(中国科学院生物物理研究所, 北京)

赵 东 坡

(山东省中医药研究所, 济南)

赵 南 明

(清华大学近代生物学及生物医学工程研究所, 北京)

脊椎动物的视杆细胞外段, 是光感受器中研究得较多、了解得较清楚的部分, 其功能是把吸收的光线转变成神经的电脉冲。脊椎动物的视杆细胞, 通常分成内段和外段两部分。外段中, 大约有 90% 的细胞膜区域是由许多盘膜堆积而成的。因种类的不同, 盘膜的数量在 500—2000 个之间。盘膜中类脂和视紫红质分子的排列较规则。Schmidt^[1] 和 Liebman^[2] 等测定视杆外段视紫红质分子的双折射时, 发现在正常条件下, 暗适应视杆细胞外段正的本质双折射大于负的形状双折射, 也就是说总双折

射是正值。Schmidt^[1] 和 Denton^[3] 等测量细胞视杆外段的二向色性, 证明视紫红质生色团垂直于视杆的长轴排列; Liebman^[4] 测量了青蛙视杆细胞外段的二向色性比为 6 (与双折射一样, 二向色性也是由本质二向色性及形状二向色性组成); Cone^[5] 观察到由偏振闪光诱导的蛙网膜中的瞬间二向色性。Brocon^[6] 观察到蛙网膜用戊二醛固定时轴二向色性的诱导, 从而表明视红质分子在盘膜中存在着自由旋转运动。随后 Poo^[7], Liebman^[8] 和 Edidin^[9] 等又发现了视紫红质分子在盘膜中的侧向扩散运

动;侧向扩散系数一般为 $10^{-9}\text{cm}^2\text{sec}^{-1}$ 数量级。

早期感受器电位 (ERP) 是视杆细胞的快速电响应,其产生与视红质分子在盘膜中的有序排列是分不开的。这就表明视杆细胞的生理功能通常与视杆外段盘膜上的分子排列及其结构有关。蔡浩然等研究温度对早期感受器电位的影响,发现蛤蚧的 ERP 经过 45°C — 48°C 的温度处理后 R_2 振幅最大^[10]。在上述工作的基础上,本文着重测量了蛤蚧视杆外段的双折射线二向色性,以及视紫红质分子在盘膜中的侧向扩散系数及其随温度的变化。因为视杆外段的双折射及线二向色性的大小与盘膜中分子排列的有序程度密切相关,而且侧向扩散系数的大小可用来定量表征膜的流动性,因而通过上述参数的测量,我们可以了解蛤蚧视杆外段盘膜中分子的排列及其流动性随温度的变化,进而有助于了解视杆外段的分子排列,结构与其有关生理功能的联系。

材 料 与 方 法

以蛤蚧(广西南宁地区产)为实验材料,其网膜中均为视杆细胞,而且细胞体积较大(直径 $10\mu\text{m}$, 长 $40\mu\text{m}$),便于观察。

样品制备 蛤蚧暗适应 10 个小时以上,在暗红光下取网膜放入 8/1,000 的任氏液中;取一滴带视杆外段的任氏液在载片上,供流动性和二向色性测量和观察双折射使用。离体的视紫红质一经漂白就不能再生,所以制备与测量的全部过程必须在暗红光下进行。

显微分光光度测量 将分离的新鲜视杆外段样品放在 OPTON SMP-05 型显微分光光度计载物台上,用恒温控制器调节好温度,选择完好视杆细胞外段,并使其长轴与由场栏控制的漂白光束的长轴和由测栏控制的测量光束的长轴均一致。用 520nm 的光束漂白视杆外段 $1/3$ 左右,持续时间 3 秒,然后改用测量光(波长不变,光强为漂白时的 $1/1000$,以避免在测量时继续漂白)进行测量,测量范围为 $34\times 30(\mu\text{m})^2$ 。漂白后立即记录视杆外段未漂白区域在 3 分钟内透光率的变化。

将视杆外段长轴调至水平方向,用偏振器控制的线偏振光进行测量,其偏振方向分别与细胞外段的长轴平行和垂直,测量面积为 $3.7\times 35(\mu\text{m})^2$;在不同的处理温度下,用波长 520nm 的测量光分别测量视杆外段对于平行、垂直视杆外段长轴的偏振光的透光率。

偏振光测量 测量光波长为 600nm ,采用 0.03λ 的云母旋转补偿器以及视场匹配法,在偏光显微镜上测量双折射^[11]。测量时,样品和补偿器置于正交偏振器之间,将视杆外段长轴放在与水平成 45° 处,然后旋转补偿器,直到视杆外段与背景亮度相同。记下云母补偿器读数,并算出相应的双折射^[12]。

结 果

侧向扩散的变化 视紫红质分子在视杆细胞外段盘膜中进行侧向扩散运动,其速度用侧向扩散系数 D 表示。当视紫红质吸收光后,由于其生色团——视黄醛从顺式异构成反式,引起吸收峰值变化,所以视紫红质本身就是很好的天然标志物。我们观察到,青蛙、蛤蚧视杆外段部分漂白后, 500nm (蛙)、 520nm (蛤蚧)处的透光率立即增加,随后又随时间逐渐下降;而未漂白区的透光率随时间而逐渐回升,并在一段时间后达到平衡^[13,14]。本实验测量了即时温度控制下 (23°C — 45°C) 蛤蚧视杆外段漂白后,未漂白区 520nm 透光率随时间的变化,如图 1 所示。

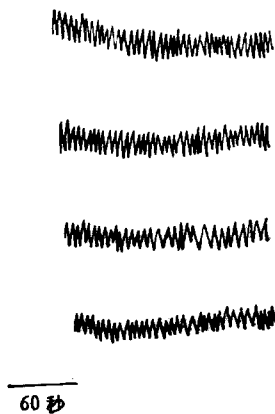


图 1 未漂白区透光率随时间的变化

通过求解具有圆盘边界条件的二维扩散方程,可以确定视紫红质分子在盘膜中的侧向扩散系数。按照 Poo 等的计算,扩散系数 D 可以表示为^[7]:

$$D = (0.6bL^2)/(\pi^2 t_{1/2}) \quad (1)$$

L 是视杆细胞外段盘膜的直径; $t_{1/2}$ 为达到扩散平衡所需时间的一半; b 是与视杆细胞外段的形状和尺寸有关的几何因子(可通过几何形状的金属薄圆盘的热扩散模拟实验来确定)。由于不同的动物视杆外段的几何尺寸不同,实验所得的 b 值差异较大。例如,蛙的 b 值为 2.7 ± 1.0 , 而大鲵鱼(mudpuppy)的 b 值为 0.9 ± 0.2 ^[7]。因为蛤蚌的与蛙的视杆细胞外段几何形状和尺寸十分接近,因此,在一级近似下,可以取 $b = 2.7 \pm 1.0$ 。另外,实测蛤蚌的视杆外段盘膜的直径 $L = 10 \mu\text{m}$, 最后依据实验测得的 $t_{1/2}$ 值,一并代入(1)式,就可算出相应的扩散系数 D 。例如, 23.5°C 时,测得的 $t_{1/2} = 40 \text{ sec}$, 由(1)式可算得

$$D = (4.7 \pm 1.8) \times 10^{-9} \text{cm}^2 \text{sec}^{-1}$$

同时,在 30°C , 40°C 和 45°C 分别测得的相应 $t_{1/2}$ 值,可以算得相应温度下的 D 。结果如图 2 所示, D 随温度的升高而增大,透光率减小。

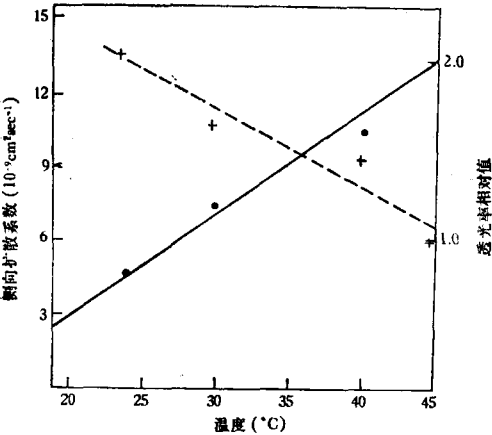


图 2 侧向扩散系数及相对透光率随温度的变化
—•— 扩散系数, $\times$ — $\times$ 透光率。

线二向色性的变化 在即时温度 (23°C — 50°C) 控制下,用蛤蚌的吸收峰 520nm 的光线进行测量,第一次用平行于视杆外段长轴的线偏振光,第二次用垂直于长轴的线偏振光。每

个温度点测 5 个以上细胞,取平均值并计算不同温度下的二向色性比,结果如图 3 所示。

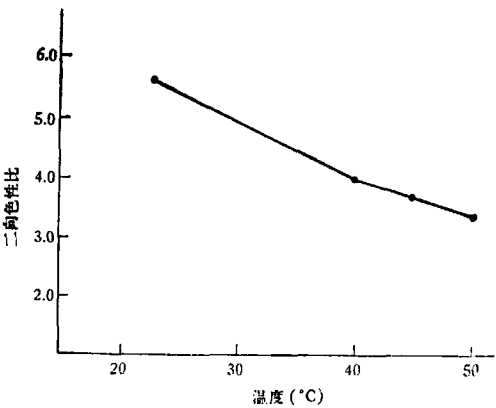


图 3 二向色性比随温度的变化

双折射的变化 视杆细胞外段,是光轴平行于视杆长轴的单轴双折射体。双折射是由于视杆外段分子排列的有序性引起的。我们用旋转云母补偿器,采用匹配法,测定了即时温度控制下视杆外段的微弱双折射,并通过计算求出不同温度下的双折射的量值,结果见图 4,

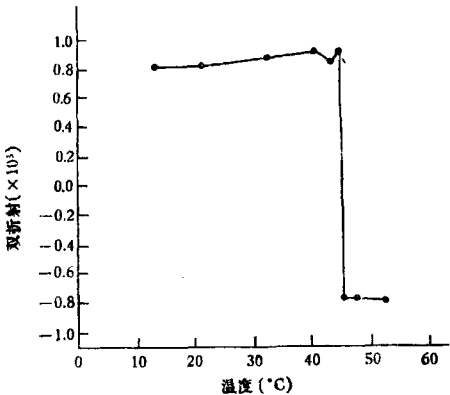


图 4 视杆外段的双折射值随温度的变化

从图 4 可看到,当高于 45°C 时,双折射的数值从正变负。

讨 论

实验结果表明, 23.5°C 时,蛤蚌视杆外段盘膜上视紫红质分子的侧向扩散系数为 $(4.7 \pm 1.8) \times 10^{-9} \text{cm}^2 \text{sec}^{-1}$ 。这一结果与国外的报道相似。例如,在类似温度下, Poo 等^[7]对蛙的视杆外段的测量结果为

$D = (3.5 \pm 1.5) \times 10^{-9} \text{cm}^2 \text{sec}^{-1}$; Lieban 等测得蛙和大鲵鱼的视杆外段

$$D = (5.5 \pm 0.6) \times 10^{-9} \text{cm}^2 \text{sec}^{-1}.$$

在 23.5°C — 30°C 的范围内我们还求得了侧向扩散的温度系数 $Q_{10} = 2.36 \pm 1.17$. 这一结果亦正处在 Poo 的结果 ($Q_{10} = 3.7 \pm 0.7$) 和 Edidin 的结果 ($Q_{10} = 1.7 \pm 0.5$) 之间. 我们还着重测量了上述扩散系数 D 随温度的变化, 当温度由 23.5°C 增加到 45°C 时, D 值也随之增加. 这表明, 随着温度的增加, 视杆外段盘膜上分子的流动性明显地增大. 这与二向色性比的实验结果是一致的. 如图 3 所示, 当温度逐渐增大时, 二向色性比逐步下降, 这就表明分子排列的有序性逐步下降, 也就是膜的流动性增加. 在测量双折射时, 我们还发现了一个十分有趣的现象, 即 45°C 时, 视杆外段的双折射突然由正值变为负值. 这表明在 45°C 附近, 盘膜上的分子排列可能发生一个突然的转折. 双折射是由正的本质双折射和负的形状双折射两部分组成. 因此上述转折可能与这两种贡献的权重发生变化有关. 从 ERP 实验^[10]可知, 45°C — 48°C 时, 观察到 R_2 的峰值最大. 视杆细胞的

快速电响应中的这一现象是否与双折射的突变有关(可能意味着分子排列的突然改变)尚待深入研究. 总之, 视觉感受器的膜组分通常是处于具有相当有序性的液晶状态, 有关它的分子排列、结构及其与生理功能间的关系至今仍不清楚, 还有待深入探讨.

参 考 文 献

- [1] Schmidt, W. J.: *Kolloid-Z.*, **85**, 137, 1938.
- [2] Liebman, P. A., J. Jagger, M. Kaplan and F. Bargoot: *Nature*, **251**, 31, 1974.
- [3] Denton, E. J.: *J. Physiol.*, **124**, 16, 1954.
- [4] Liebman, P. A.: *Biophysical J.*, **2**, 161, 1962.
- [5] Cone, R. A.: *Nature (New Biology)*, **236**, 39, 1972.
- [6] Brown, P. K.: *ibid.*, **236**, 35, 1972.
- [7] M. Poo, R. Cone: *Nature*, **247**, 438, 1974.
- [8] Liebman, P. A. Entine, G.: *Science*, N. Y. **185**, 457, 1974.
- [9] Chang-Lin Weng, et al.: *Biophysical J.*, 33—34, 225, 1981.
- [10] 蔡浩然, 马万禄, 张允芝: 《生理学报》, 1, 1981.
- [11] Smith, R. W.: *Vision Research*, **11**, 1383, 1971.
- [12] Liebman, P. A.: *Biophysical J.*, **23**, 59, 1978.
- [13] 胡坤生, 马万禄, 谈曼琪, 赵东坡: 《生物物理与生物化学进展》, 2, 72, 1981.

[本文于1983年12月14日收到]

髌骨下肢延长术中的生物力学探讨

朱孝华 胡瑞娟 洪天禄 唐天驹

(苏州大学) (苏州丝绸工学院) (苏州医学院骨科)

从 1982 年开始, 苏州医学院骨科对下肢不等长畸形施行经髌骨下肢延长手术已有 100 余例, 病人在手术后一周均可下床扶拐行走, 此后肢体延长稳定可靠, 优于国内、外同类型手术. 现从生物力学角度对其经验加以总结.

一、最佳负荷点的选择

该院骨科通过对骨盆结构的生物力学探讨, 为改进原来 Salter 氏手术提供了依据.

髌骨锯开处的断面如图 1a 所示. 手术采

用钛合金圆柱体内固定器撑开髌骨. 人的体重、日常负荷及肌肉收缩力均会对髌骨的形态结构有影响^[1]. 它主要承受压缩应力, 由于应力分布不均匀, 在髌骨断面处宽窄不一, 骨皮质亦有厚有薄. 图 1(a) 中 A 点是断面最宽、骨皮质最厚处, 骨小梁较密集, 此处是压缩应力合力的着力点, 应被选作最佳负荷点. 根据 60 个髌骨标本测量, A 点距坐骨大切迹截骨点约为 2.36 厘米. 手术中应根据具体情况判断 A 点位置, 选准放置圆柱体支撑内固定器.