

三、讨 论

在放射自显影像中,可见 ^{125}I -牛胰 RNA 进入瘤细胞而集中在核内。这是 ^{125}I -牛胰 RNA 以大分子形式进入瘤细胞内的结果。因为以 ^{125}I -核苷酸试验在同样的条件下,瘤细胞中未见到银颗粒的积聚^[6]。

Kolodny^[7]等当观察外源性 RNA 进入生长活跃的哺乳动物的淋巴、脾脏、骨髓、肿瘤细胞时,用 ^3H 、 ^{14}C 双标记的 RNA 与上述细胞共温育之后,发现这些细胞内 RNA 分子中的 ^3H 与 ^{14}C 比值与外源性 RNA 的 $^3\text{H}/^{14}\text{C}$ 比值相同,从而证明 RNA 以大分子形式进入细胞内。

我们曾把牛胰 RNA 和 EATC 一起体外换液培养七天或者注射于腹腔内,传代培养三次,就发现 EATC 形态改变,其特点为瘤细胞体积和核体积变小、核与胞浆界线清楚,核染色淡而均一,核内出现粉红色物质,核体积与细胞体积的比值降低,核分裂相显著减少。但在以生理盐水代替牛胰 RNA 的对照组内未见此种变化。又作过 RNase 处理实验,在 0.01 M Tris-HCl 缓冲液 (pH7.4)-1mM MgCl_2 溶液中,加牛胰 RNA 至 1mg/ml,再加 25 μg 牛胰 RNase 37 $^{\circ}\text{C}$ 温育 30 分。然后将其加入含有 4.5×10^6 /ml EATC 的培养液中,或者注射于 EAT 小鼠腹腔内,则未见上述的形态改变。这说明,牛胰 RNA 在体内外,以大分子形式进入瘤细胞内之后,才发挥其对瘤细胞的抑制和杀伤作用。

^{125}I -牛胰 RNA 放射自显影片子中,可见有的瘤细胞标记了,有的未标记,这种现象可能与

瘤细胞所处的细胞周期不同有关。在瘤细胞 S 期时, RNA 的进入量多,故 S 期瘤细胞愈多,其标记率愈高(当然也与 RNA 作用时间、浓度、放射性浓度、瘤细胞的恶性度有关)。

如此,外源性 RNA 对瘤细胞起抑制杀伤作用,但另一方面使正常细胞如白细胞与淋巴细胞^[8]以及成纤维细胞^[9]的 ^3H -TdR 掺入率增加至 3—8 倍。这样看来外源性 RNA 只对瘤细胞选择性地抑制其 DNA 合成,并杀伤瘤细胞。这些特点表明牛胰 RNA 优于化学抗癌药物,具有临床应用的可能性。

参 考 文 献

- [1] Pilch, Y. H. et al.: *Med. Clin. North. Amer.*, **60**, 567, 1976.
- [2] Pimm, M. V. et al.: *Brit. J. Cancer*, **33**, 154, 1976.
- [3] Clercq, E. De. et al.: *Europ. J. Cancer*, **14**, 1273, 1978.
- [4] 陈苏民:《肿瘤防治研究》**10**, 1, 1983.
- [5] Girad, M.: *Methods in Enzymology*, **XII**, 581, 1967.
- [6] 上海肿瘤防治研究所生化组:《生物化学与生物物理学报》, **9**, 237, 1977.
- [7] Kolodny, G. M. et al.: *Cell Communication*, New York, Part II 97, 1977.
- [8] 施佩璋等:《生理科学》**3**, 41, 1983.
- [9] 郭焯等:《肿瘤》, **3**, 18, 1983.

[本文于1984年2月13日收到]

本实验的放射自显影在北京医学院细胞研究室进行,并得到刘鼎新教授的指导和该室全体成员的支持。 ^{125}I -牛胰 RNA 是中国科学院北京原子能研究所张佩璋同志标记的,谨此致谢。

人体内 cAMP 与 cGMP 动态平衡机理的探讨

张 鹏 洪宝源

(哈尔滨医科大学)

cAMP (环磷酸腺苷)与 cGMP (环磷酸鸟苷)作为“第二信使”参与激素的作用。

Goldberg 等^[1]根据在一些分化的细胞(心

肌、平滑肌、血小板和中枢神经细胞)中观察到 cAMP 和 cGMP 对细胞代谢反应和生理功能的调节作用是相反的,浓度的变化是相反而相

关的,提出了双向控制学说和阴阳学说,似乎和我国中医学的“阴阳”相符。他们认为这一对阴阳物质能调节细胞的酶反应和细胞的生理效应。正常代谢和生理反应就是这一对阴阳物质的动态平衡的结果。为了探讨 cAMP 与 cGMP 动态平衡的机理,我们对正常人白细胞、血浆和脑脊液中两者含量的相关性进行了初步研究。

一、材料及方法

观察对象

1. 白细胞测定: 18 例(男 10, 女 8)健康的献血员; 制备测定样品时白细胞的台盼蓝排斥活力为 65—95%, 平均活力 83.56%; 测定样品所含白细胞数 0.4445×10^6 — 1.4625×10^6 。

2. 血浆测定: 18 例(男 10, 女 8)健康的献血员。

3. 脑脊液测定: 经临床证实无神经系统疾病的外科腰麻手术患者 15 例(男 9, 女 6), 16—45 岁。

标本收集

1. 白细胞

(1) 用 0.02 毫升 0.5 M EDTA-2Na/生理盐水(pH7.5)抗凝, 取静脉血 2 毫升。

(2) 以 400 转/分离心, 取富含白细胞的血浆。

(3) 以 1000 转/分离心, 弃去富含血小板的血浆, 用 0.5 毫升无钙-镁缓冲液(简称“缓冲液”)混匀沉淀的细胞。

(4) 用 Tris 液, 水浴破坏红细胞。

(5) 1000 转/分离心, 弃上清液, 用 2 毫升缓冲液轻轻吹洗沉淀的白细胞。离心, 弃上清液, 用适量缓冲液混匀白细胞。

(6) 白细胞计数: 用 0.1% 台盼蓝染液计数细胞活力。

(7) 取适量的白细胞悬液两份, 分别制备 cAMP 和 cGMP 测定样品。

2. 血浆

(1) 用 0.04 毫升 0.5 M EDTA-2Na/生理盐水(pH7.5)抗凝取静脉血 4 毫升。

(2) 3,000 转/分离心, 除去血细胞。

(3) 取血浆 0.5 毫升和 1 毫升分别制备 cAMP 和 cGMP。

3. 脑脊液

(1) 取 2 毫升脑脊液, 加入盛有 0.02 毫升 0.5 M 的 EDTA-2Na/生理盐水(pH7.5)的试管内。

(2) 吸取 0.5 毫升和 1 毫升分别制备 cAMP 和 cGMP 测定样品。

测定样品的制备

cAMP 和 cGMP 测定样品均用三氯醋酸法制备, 冰箱内保存。测前分别用适量的 TE 溶液或醋酸钠溶液稀释。

二、实验方法

用北京原子能研究所出品的 cAMP 和 cGMP 测定药盒。用国产 FJ-353 双道液体闪烁计数器测定; 实验前对仪器精密度和实验方法的准确性做了鉴定, 结果表明测得值可靠。

三、实验结果

白细胞: cAMP 极差 2.52—9.60, 均值 6.15 (pmol/ 10^6 个细胞); cGMP 极差 0.91—3.02, 均值 1.61 (pmol/ 10^6 个细胞); cAMP/cGMP 比值极差 1.89—7.44, 均值 4.04。

血浆: cAMP 极差 11.00—40.50, 均值 24.07 (pmol/ml); cGMP 极差 2.67—9.00, 均值 4.96 (pmol/ml); cAMP/cGMP 比值极差 3.53—8.61, 均值 5.35。

脑脊液: cAMP 极差 11.10—40.50, 均值 2700 (pmol/ml); cGMP 极差 2.85—11.10, 均值 5.75 (pmol/ml); cAMP/cGMP 比值极差 3.00—

表 1 白细胞、血浆、脑脊液 cAMP 与 cGMP 直线相关与回归分析

		白细胞	血浆	脑脊液
直线相关	相关系数 (r)	0.609	0.872	0.669
	P	<0.01	<0.001	<0.01
直线回归	回归系数 (b)	0.1861	0.2520	0.1723
	P	<0.01	<0.001	<0.01

8.76, 均值 5.03。

直线相关与回归分析(表 1)表明, 白细胞、血浆、及脑脊液中 cAMP 与 cGMP 之间都存在显著的“正相关”, 并且白细胞、血浆及脑脊液三组回归系数之间无显著性差异(表 2)。

表 2 白细胞、血浆、脑脊液回归系数之间差异性分析

	白细胞与血浆	白细胞与脑脊液	血浆与脑脊液
<i>t</i>	0.723	0.107	1.259
<i>P</i>	>0.05	>0.5	>0.05

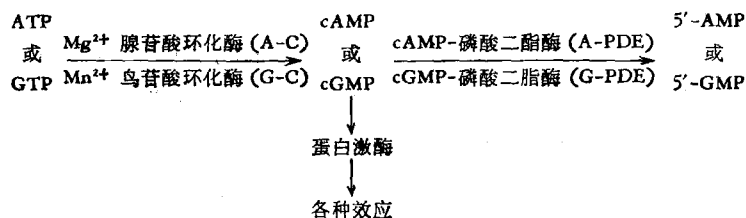
四、讨 论

正常人白细胞、血浆和脑脊液 cAMP 与 cGMP 显著的“正相关”, 且三组回归系数无显著

性差异, 这表明不论在白细胞、血浆、还是脑脊液中, cAMP 含量的变化对 cGMP 水平的影响规律是一致的。很可能是这种变化规律使得机体正常生理状态时白细胞、血浆和脑脊液中 cAMP/cGMP 比值恒定, 这种“恒定”在某种程度上为“阴阳学说”提供了依据。

关于组织、细胞和体液中 cAMP 和 cGMP 的比值各作者^[2-4]意见不一。我们测得的血浆这一比例大多在 5 左右, 正常人白细胞和脑脊液中在 4—5 之间。比值相近一方面可能它们之间确实存在内在联系, 另一方面可能与我们对三种标本采用的处理和测定方法相同有关。

生理状态下细胞内 cAMP 和 cGMP 是按下列过程维持二者的动态平衡的。



cAMP 或 cGMP 的水平主要是由各自的环化酶和磷酸二酯酶的活性控制。影响环化酶和磷酸二酯酶活性的因素很多, 如某些激素、生物活性物质以及离子(特别是 Ca^{2+}) 等。但在维持 cAMP 和 cGMP 含量的比例关系中最重要还是这两个不同反应中的反应物、生成物和酶之间的彼此影响。ATP 对 A-C^[5] 和 G-C^[6] 的活性均有抑制作用; cAMP 抑制 G-PDE 的活性, 而 cGMP 抑制 A-PDE 的活性^[7], 低浓度的 cGMP 还可以刺激 cAMP 的水解^[8]; cAMP 的水平又直接影响着 A-PDE 活性^[9]。

参 考 文 献

[1] Goldberg, N. D. et al.: *Advances in Cyclic*

Nucleotide Research, Raven Press, New York, Vol 5, 307, 1975.

[2] Steiner, A. L. et al.: *J. Biol. Chem.*, 247, 1114, 1972.

[3] 汪堃仁:《生物科学参考资料》, 北京, 11, 1, 科学出版社, 1978。

[4] 刘立群:《环磷酸腺苷 cAMP 与肿瘤》(内部资料), 1978 年 6 月。

[5] John Willey et al.: *Cyclic 3', 5'-Nucleotides: Mechanisms of Action* (John Wiley and Sons), London, New York, Sydney, Toronto, 1, 1977.

[6] Godberg, N. D. et al.: *Ann. Rev. Biochem.*, 46, 823, 1977.

[7] Russell, T. R. et al.: *J. Biol. Chem.*, 248, 1334, 1973.

[8] John Willey et al.: *Cyclic 3', 5'-Nucleotides: Mechanisms of Action* (John Wiley and Sons), London, New York, Sydney, Toronto, p. 107, 1977.

[本文于 1984 年 3 月 12 日收到]