

镉对人胚肺组织中抗氧化酶的影响

黎学锋 董金堂 魏慧娟 罗贤懋

(中国医学科学院肿瘤研究所, 北京 100021)

关键词 镉, 抗氧化酶, 人胚肺

自由基和脂质过氧化作用能损伤生物膜, 攻击 DNA 导致肿瘤发生^[1]。而机体中的抗氧化酶类, 如超氧化物歧化酶(SOD), 过氧化氢酶(CAT)和谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)等, 则能有效地清除超氧自由基(O_2^-)、过氧化氢(H_2O_2)和脂质过氧化物^[2]。这些抗氧化酶的结构中, 各含有相应的微量元素。因此, 研究微量元素和酶的结构和功能的关系, 对探索微量元素与肿瘤的发生发展的相关性有重要意义。

1 材料与方法

取水囊引产 4—6 个月胎儿, 在脱离母体后 4h 内取出肺, 并浸入冰冷的 L-15 培养液中, 运至实验室。将肺组织切成 $2\text{mm} \times 2\text{mm}$, 加入器官培养液, 将培养皿置封闭的培养小箱内, 充以混合气, 36.5°C 摆动培养, 摆动速度每分钟 8—10 次^[3], 分别培养 12, 24, 48, 72 h, 滤纸吸干水分, 称湿重, 加 65mmol 磷酸钾缓冲液 3ml , 于 16000r/min 匀浆 25s, 然后在 16000r/min , 4°C 离心 30min , 上清液用作酶活性分析。总 SOD 和 Mn-SOD 活性^[4]。以亚硝酸盐单位(NU)每克计算(U/g), GSH-Px 及过氧化氢酶活性^[5,6]分别以酶活性单位每克(U/g)及 K/g (K 为反应速度常数)为单位计算。

2 结果

肺组织分别培养 12, 24, 48, 72h, 其中以培养 48h

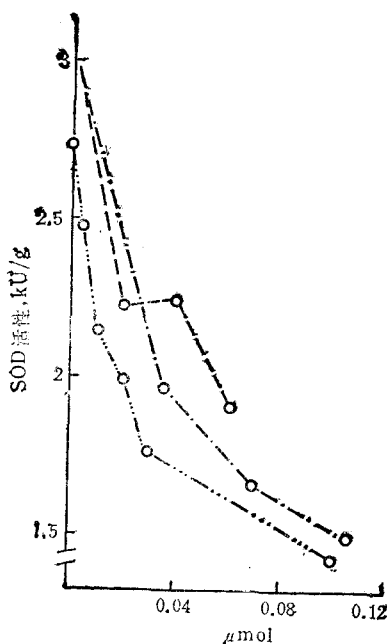


图 1 B(a)P, MNNG 和镉对人胚肺组织中总 SOD 活性的影响

—— 为 B(a)P; - - - 为 MNNG; ... 为 Cd
以亚硝酸盐单位(NU)每克计算(U/g)

表 1 镉对人胚肺组织中总 SOD, Mn-SOD, GSH-Px 及 CAT 的影响 (n = 6)

Cd μmol	总 SOD U/g	Mn-SOD U/g	CAT K/g	GSH-Px U/g
0	2706 ± 109	2501 ± 234	0.564 ± 0.074	0.581 ± 0.119
0.005	$2413 \pm 82^{2)}$	$2135 \pm 280^{1)}$	0.509 ± 0.092	0.437 ± 0.114
0.01	$2199 \pm 111^{2)}$	$1884 \pm 101^{2)}$	0.486 ± 0.066	$0.426 \pm 0.087^{1)}$
0.02	$2003 \pm 92^{2)}$	$1859 \pm 179^{2)}$	$0.434 \pm 0.070^{1)}$	$0.374 \pm 0.111^{2)}$
0.03	$1776 \pm 84^{2)}$	$1566 \pm 106^{2)}$	$0.374 \pm 0.111^{2)}$	$0.345 \pm 0.094^{2)}$
0.1	$1401 \pm 186^{2)}$	$893 \pm 259^{2)}$	$0.236 \pm 0.050^{2)}$	—
0.3	$1324 \pm 246^{2)}$	$878 \pm 223^{2)}$	$0.227 \pm 0.040^{2)}$	—
0.5	$1168 \pm 114^{2)}$	$882 \pm 69^{2)}$	$0.231 \pm 0.030^{2)}$	—
0.7	$1307 \pm 266^{2)}$	$1038 \pm 236^{2)}$	$0.239 \pm 0.050^{2)}$	—

1) $P < 0.05$ 2) $P < 0.01$

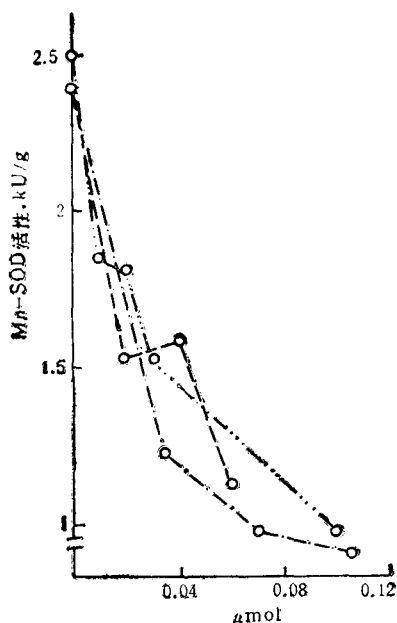


图 2 B(a)P, MNNG 和镉对人胚肺组织中 Mn-SOD 活性的影响

--- 为 B(a)P; - · - · 为 MNNG; ····· 为 Cd

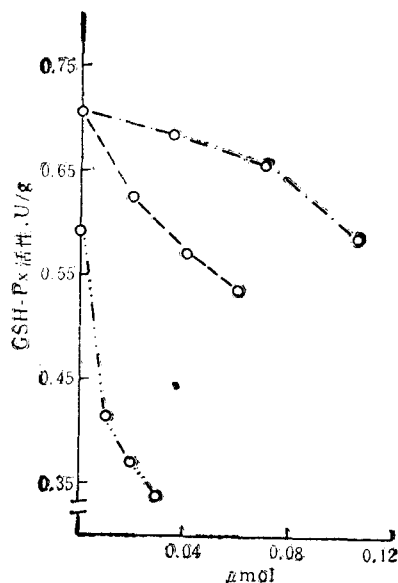


图 4 B(a)P, MNNG 和镉对人胚肺组织中 GSH-Px 活性的影响

--- 为 B(a)P; - · - · 为 MNNG; ····· 为 Cd
以酶单位每克 (U/g) 计算

1—4)。

3 讨 论

微量元素与肿瘤的关系,日益引起人们的关注。镉不仅导致人类的急性和慢性疾病,并具有致癌作用^[1]。1981 年 IARC 在致癌物分类中将镉定为 2B 类,而 1987 年已升级为 2A^[2]。但其作用机理还不清楚。生物体的自身代谢可产生自由基^[4],外源性致癌物在体内也可诱导自由基^[5],近年来认为自由基可以通过损伤 DNA 或攻击细胞的膜系统导致癌症^[1]。机体主要通过自身的抗氧化酶类消除自由基的作用,维护细胞的正常^[2]。我们在实验中证实镉导致人胚肺组织中总 SOD, Mn-SOD, GSH-Px 及过氧化氢酶的活性下降,而且,在同一实验条件下,其剂量-反应曲线与已知致癌物 B(a)P, MNNG 的相似,对总 SOD 和 GSH-Px 的作用甚至强于 B(a)P 和 MNNG。这是因为,动物和人体内有两种 SOD: Cu-Zn SOD 和 Mn-SOD, SOD 分子的体外重组实验证明^[10], Cu-Zn SOD 中的 Zn 可以被镉替换,形成 Cu-Cd SOD 而使活性消失。GSH-Px 是一种含硒酶,由于镉对硒的拮抗作用^[11],也能使其活性下降。这样使组织内 O_2^- 得不到及时清除,以及镉使组织产生自由基和镉对抗氧化酶的直接破坏作用,均会使 Mn-SOD 和过氧化氢酶等抗氧化酶活性下降。同时体现了镉对蛋白质的毒性作用。镉对抗氧化酶的破坏,可影响机体对自由基的清除,从而导致与癌变过程有关的细胞膜与 DNA 损伤。镉对蛋白质的毒性作用可以影响与 DNA 复制,修复以及基因表达有关的

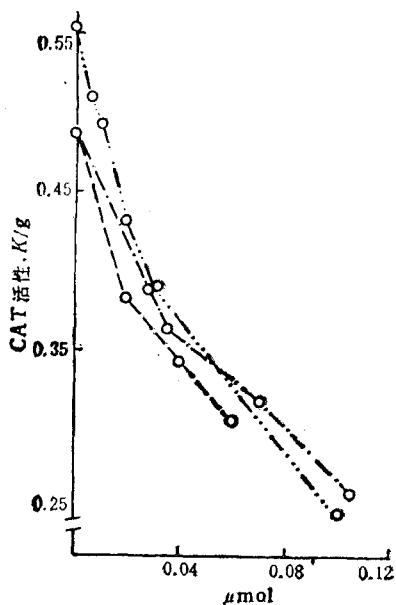


图 3 B(a)P, MNNG 和镉对人胚肺组织中 CAT 活性的影响

--- 为 B(a)P; - · - · 为 MNNG; ····· 为 Cd

结果最具有规律性,加镉培养 48h, 对肺组织中抗氧化和的化酶活性的影响见表 1, 并以已知致癌物苯并芘 [B(a)P] 甲基硝基亚硝基胍(MNNG)为阳性对照 (见图

各种酶的活性,造成 DNA 复制与修复的错误,影响基因表达的平衡,从而导致肿瘤的发生。

参 考 文 献

- 1 赵保路,张建中. 生物化学与生物物理进展,1984;(3):9
- 2 Lohman W *et al.* *Free radicals, lipid peroxidation and cancer*. London: Academic Press, 1982: 55
- 3 Trump B F *et al.* *Methods in cell biology*. New York: Academic Press, 1980; 21A: 1—14
- 4 Oyanagui Y. *Anal Biochem*, 1984; 142: 290
- 5 Paglia O E *et al.* *J Lab Clin Med*, 1967; 70: 158
- 6 Aebi H. *Methods in Enzymology*, 1984; 105: 121
- 7 Kazantzis G. *Toxicological and Environmental Chemistry*, 1989; 22: 159
- 8 International Agency for Research in Cancer, *Supplement 7 to IARC Monographs on the evaluation of Carcinogenic risk of chemical to human*, Lyons, 1987: 80
- 9 Stier A *et al.* *Free radicals, lipid peroxidation and cancer*, London: Academic Press, 1982: 329
- 10 李益新等. 生物化学与生物物理学报 1984;(5): 472
- 11 魏慧娟等. 中国医学科学院学报 1989;11(3): 185

福斯可林的分离、纯化、结构和生物活性鉴定*

刘纯益 姚文贞 孟 琨 刘亚兵 张世荣

(中国科学院动物研究所,北京 100080)

曾 淑 君

卢思聪 李海燕

(中山医科大学药理教研组,广州 510089)

(中国科学院北京植物园,北京 100093)

关键词 毛喉鞘蕊花,福斯可林,化学结构,生物活性,腺苷酸环化酶

福斯可林 (Forskolin) 是从唇形科毛喉鞘蕊花 (*coleus forskohlii briq.*) 块茎中分离的双萜烯类化合物^[1], 其化学结构如图 1 所示。分子式为 $C_{22}H_{34}O_7$, 分子量为 410。药理学研究表明,福斯可林具有强心、降血压^[2-4]、降低眼内压、抑制肿瘤生长^[5]、抗血小板聚集^[6]和消炎等作用,临床用于治疗心血管疾病,青光眼^[7],支气管哮喘及癌症等,显示高效低毒的特点^[8,9]。福斯可林是腺苷酸环化酶激活剂,在体内起着广泛的调节作用,是生物化学、生理学、细胞生物学和药理学研究的良好工具。国外研究福斯可林已有许多年,但国内有关福斯可林的分离、提纯、药理及临床研究尚未见报道。本文从栽培的毛喉鞘蕊花块茎分离纯化福斯可林,并对它的化学结构和生物活性,进行了鉴定,为福斯可林的药理学研究和临床应用打下良好基础。

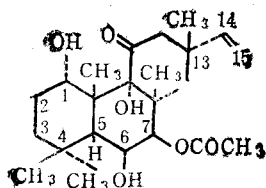


图 1 福斯可林的化学结构

1 材 料 和 方 法

1.1 一年生毛喉鞘蕊花块茎 由中国科学院北京植物园提供。

1.2 药品 苯、石油醚、甲醇、己烷、乙酸乙酯、硅胶,均为化学纯。

1.3 仪器:

色谱仪 (Varian Gas Chromatography) Model 3700; 色质联用仪 GC-MS, American Finnigan Mat 4510; 高分辨色质联用仪 GC-FABMS, 英国 VG 公司, VGZAB-HS 型; 紫外光谱仪 (UV) Ultrosper II 型; 红外光谱 (IR) 美国 PE 公司 1620 系列 FTIR; 核磁共振仪 (NMR) 日本 JEOL FX-90Q 型; 液闪仪 (Liquid Scintillation Counter) 瑞典 LKB wallac 81000 型。

1.4 福斯可林的分离提纯 一年生毛喉鞘蕊花块茎,经凉干、粉碎、以苯提取、石油醚去脂后,甲醇提取物通过硅胶层分离纯化,以薄层及色谱鉴定,产物经己烷-乙酸乙酯结晶,供 GC-MS, IR, NMR 化学结构测定和腺苷酸环化酶活性测定。

1.5 腺苷酸环化酶的活性测定 按 Ho 和 Suthc

* 本课题曾获得中国科学院院长特别基金资助。

收稿日期: 1990-11-14 修回日期: 1991-03-15