

THE DIFFERENTIATION OF J6-2 CELLS INDUCED BY GANGLIOSIDE GM3 AND THE COMPARISON OF GLYCOSPHINGOLIPID AND PHOSPHOLIPID COMPOSITION BEFORE AND AFTER DIFFERENTIATION

Zhang Xinbo Cui Zhaochun Tang Naimei Zhu Zhengmei

(Dept. of Biochemistry, Dalian Medical College, Dalian 116023, China)

ABSTRACT

By morphological and histochemical methods, the authors demonstrated the differentiation of J6-2 leukemic cells induced by exogenous ganglioside GM3, and studied the change of glycosphingolipid and phospholipid composition after differentiation. The results showed that the main ganglioside component was GM3, and no significant changes were seen after differentiation. The neutral GSL component CMH and phospholipid component PC were shown to increase after differentiation, and lyso-PC, sphingomyelin, PI+PS were shown to decrease. This study suggests a new function of ganglioside—regulation of phospholipid metabolism, the mechanism of which remains to be elucidated.

Key words Leukemic cells, Ganglioside GM3, Glycosphingolipids, Phospholipids, Differentiation inducer

血清胃泌素变化与急性胃粘膜病变关系的研究

吴 同 乐

(中国科学院生物物理研究所, 北京 100080)

提 要

对大白鼠血清中胃泌素水平的变化与急性胃粘膜病变的关系进行了初步的研究, 结果表明以消炎痛为诱因引起的急性胃粘膜病变大白鼠血清胃泌素水平明显增高。而维酶素可以抑制因消炎痛引起的急性胃粘膜病变时血清胃泌素的释放, 对胃粘膜具有保护作用。

关键词 消炎痛, 胃粘膜, 急性胃粘膜病变, 血清胃泌素, 维酶素, 前列腺素

急性胃粘膜病变 (acute gastric mucosal lesion, 简称 AGML) 是指以胃粘膜浅表性损伤为特征的一组急性胃粘膜出血性病变, 早在 1883 年 Beaumont 就曾报道由于过度饮酒而引起急性胃粘膜病变的实例^[1]。此后, 相继又

有人报道了某些药物如消炎痛可引起急性胃粘膜的出血性病变^[2-4], 并提出这种病变可能与胃酸分泌失调有关。而作为一种具有广泛生理作

用的多肽激素——胃泌素，最主要的特点是通过血液循环，作用于壁细胞促进胃酸的分泌，因此，研究急性胃粘膜病变与血清胃泌素的关系，对于探讨胃疾病的发病机理是十分重要的，但直到目前为止，国内外对这方面的研究报导尚少。本实验对以消炎痛诱发的大白鼠急性胃粘膜病变时血清中胃泌素的水平变化进行了初步探讨，同时为一种胃病特效新药——维酶素的药用机理提供了一种可能的解释。

1 材料和方法

1.1 实验动物

本实验所选用的动物为健康、成熟的雌性大白鼠，体重为 180—220g。随机将其分成：

对照组：每天给予皮下注射 1 ml 的生理盐水溶液。

维酶素组：每天皮下注射 1 mg/ml 的维酶素生理盐水溶液。

维酶素加消炎痛组：每天皮下注射 1 mg/ml 的维酶素生理盐水溶液，于第七天临试验前的 5h，再于皮下注入 5 mg/ml 的消炎痛液。

急性胃粘膜病变模型组(简称病变组)：每天给予皮下注入 1 ml 的生理盐水溶液，于第七天临试验前 5h，再于皮下注入 5mg/ml 的消炎痛液。

我们共进行了 3 次实验，每次实验使用大白鼠 20 只。

试验时，将以上各组动物采用断头法杀死后，立刻收集血液，制成血清以备血清胃泌素的放免分析，并快速取出各组动物的胃，沿胃大弯切开，除去残留在胃内的渣滓，洗净并对胃粘膜进行整体观察。

1.2 维酶素溶液

维酶素是用新鲜黄豆渣以类酵母菌经固体发酵制成的一种复合制剂，此制剂最初名为“粗制核黄素”(crude riboflavin preparation)。本实验所用的维酶素溶液是将维酶素经乙醚抽提冰冻干燥后溶于生理盐水的溶液。

1.3 消炎痛液的配制

临实验前称取 NaHCO_3 1g 溶于 100 ml

的水中，于磁力下搅拌待溶，再称取消炎痛(indomethacin) 500mg 倾入以上溶液中于磁力搅拌至全溶，其最终浓度为 5 mg/ml。

1.4 血清胃泌素的放射免疫分析

取聚苯乙烯管若干支，依次加入各种试剂和待测血清(所用试剂和浓度以及测试程序，请参阅文献[5])，在 Beckman Gamma 5500 仪器下进行 ^{125}I -胃泌素的放免分析，经过测定所得到的 cpm 值，然后根据 B_0 (为零标准管计数减去空白管计数)和 B (各标准管计数减空白管计数)在半对数坐标纸上以 $B/B_0 \times 100\%$ 为纵坐标，以各标准管胃泌素浓度为横坐标绘制标准曲线。

而以血清样品计数减去样品空白管计数 B ，计算出各样品 $B/B_0 \times 100\%$ 的值，然后在标准曲线上查出相应胃泌素 pg/ml 浓度。

2 结果与讨论

2.1 胃泌素的标准曲线

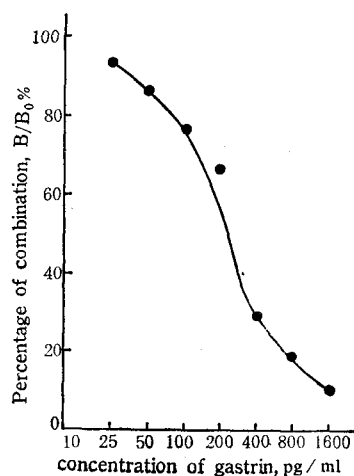


图 1 胃泌素的标准曲线

Fig. 1 Standard curve of gastrin

2.2 胃粘膜表面形态学观察

以消炎痛诱发的急性胃粘膜出血性病变所表现的最主要特征是胃粘膜浅表性出血及糜烂，并伴有点状和条状的出血，实验结果表明，在经过消炎痛作用后 3 h 的大白鼠胃粘膜表面即出现明显的出血性损伤，而以 5 h 损伤最为

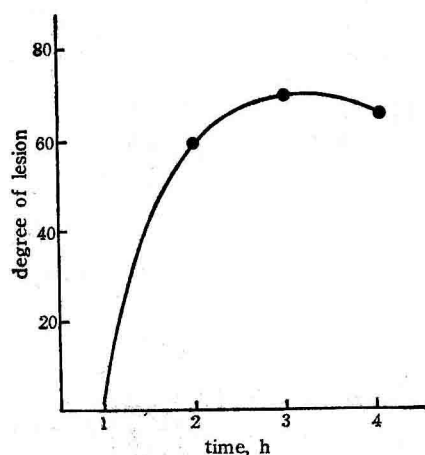


图 2 损伤程度与时间的关系

Fig. 2 Relation between degree of lesion and time

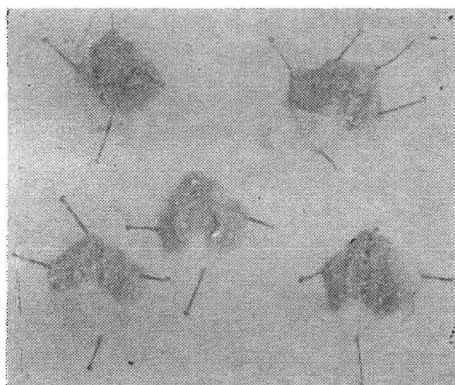


图 3 消炎痛引起的急性胃粘膜病变

Fig. 3 Acute gastric mucosal lesion caused by in domethacin

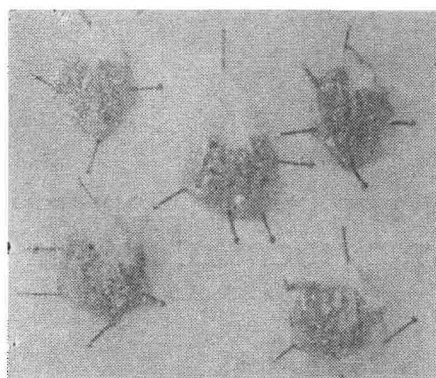


图 4 正常的胃粘膜

Fig. 4 Normal gastric mucosa

严重,其表现为浆膜层有轻度充血和肿胀,胃粘膜表现出明显出血,呈条状和点状分布,(见图

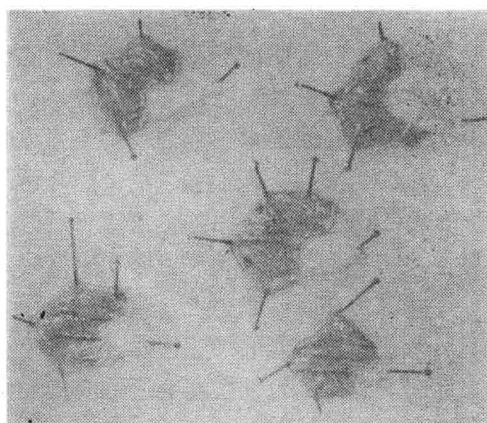


图 5 维酶素对急性胃粘膜病变的作用

Fig. 5 The effect of "crude riboflavin preparation" on acute gastric mucosal lesion

表 1 各组血清胃泌素浓度的比较

Table 1 Comparison of the concentration of serum gastrin in each group

组 别 Group	胃泌素浓度 Concentration of gastrin (pg/ml) $\bar{X} \pm SD$
对 照 Control	64.7 $\pm$ 7.5
维酶素 Crude riboflavin preparation	68.7 $\pm$ 3.8
维酶素+消炎痛 Crude riboflavin preparation + indomethacin	78.2 $\pm$ 3.0
急性胃粘膜病变模型组 Model group of acute gastric mucosal lesion	116.7 $\pm$ 27.4

2 和图 3)。而对照组的大白鼠胃粘膜表面则为光滑,湿润无任何出血(见图 4)。从我们对各组动物的胃粘膜出血性损伤的比较,可以观察到事先每天给动物注射一定药用剂量的维酶素,7 d 后,再以消炎痛诱发急性胃粘膜出血性损伤,其损伤程度明显低于病变组,胃粘膜上出血点明显减少(见图 5)。

2.3 血清胃泌素浓度的变化

国外对于正常人空腹血清胃泌素水平的报道^[2],众说不一,最低者为 24 ± 48 pg/ml,最高者为 400 ± 300 pg/ml,这可能与各实验室所用的抗体特异性及胃泌素标准样品不同有关,但

大多数的报道是在 60—120 pg/ml 的范围。

以上各组大鼠血清胃泌素浓度测得的结果如表 1 所示。

表 1 给出了各组的大鼠血清胃泌素浓度的比较, 3 次实验的结果表明, 以消炎痛为诱因而引起的急性胃粘膜病变组的血清胃泌素浓度明显高于其它各组, 从表 1 还可以看出维酶素组和对照组保持在同一水平上, 但预先给予大鼠注射一定药用剂量的维酶素后, 却可阻止因消炎痛引起的急性胃粘膜病变所造成的血清胃泌素浓度的升高。

关于消炎痛可引起急性胃粘膜病变可能与前列腺素 (prostaglandins, PG) 合成受抑有关^[2], 正常的人和动物胃粘膜上都存在着大量的 PG, PG 具有强烈的抑制胃酸-胃蛋白酶原的分泌和保护胃粘膜不受胃酸侵蚀的功能。

关于 PG 对胃酸分泌调节作用的机理, 长期为人们所关注。对 PG 与胃肠激素的相互作用的研究表明, 许多胃肠激素如胃泌素和生长抑制素等对胃酸分泌具有很重要的调节作用, PG 在参与胃酸分泌调节时, 可能是通过抑制胃泌素的释放来实现的^[4]。以消炎痛为诱因而引起的急性胃粘膜病变时血清胃泌素浓度的显著增高表明, 消炎痛的作用是破坏了胃粘膜上具有强烈保护作用的 PG 合成, 因而降低了 PG 对胃泌素释放的调节, 所以, 由胃幽门腺区中的胃泌素细胞 (G 细胞) 所分泌的胃泌素随着血液循环作用于壁细胞, 促进了胃酸分泌, 由

于胃粘膜受到胃酸的侵蚀, 引起胃粘膜出血性损伤, 而维酶素对于消炎痛所引起的急性胃粘膜病变的保护作用, 可能是维酶素促进 PG 的合成, 并能抑制胃泌素分泌, 减少了胃酸对胃粘膜的侵蚀, 从而达到了对胃粘膜的保护。我们对大鼠胃中 ($H^+ + K^+$)-ATPase 活性变化的研究^[6]也表明, 预先给大鼠注射药用剂量的维酶素一段时间后, 即可观察到以消炎痛为诱因的急性胃粘膜病变所造成的胃 ($H^+ + K^+$)-ATPase 活力的变化恢复到正常水平, 而且胃粘膜上的出血点明显减少。由于胃酸分泌的调节是一个十分复杂的多层次调节体系, 且维酶素的成分又较复杂, 它除了含有大量的核黄素及其衍生物外, 还含有多种的微量元素如 Fe、Mn、Mo、Zn、Cu 等和必需的氨基酸, 其对于消炎痛和胃泌素的作用以及所引起的急性胃粘膜病变的药用机理仍不十分清楚, 还需进一步深入研究, 但以上的初步研究结果表明, 急性胃粘膜病变与胃泌素的释放有十分密切的关系。

参 考 文 献

- 1 张锦坤, 陆廉贞主编. 内科学讲座. 北京: 人民卫生出版社, 1984; 4: 226—232
- 2 王德民, 鲁立. 北医学报, 1985; 17(1): 15
- 3 El-Bayer H et al. Prostaglandins, 1985; 30:401
- 4 Befrits R et al. Scand J Gastroenterol, 1984; 19: 899
- 5 李振甲, 王仁芝主编. 激素的放射免疫分析. 北京: 科学技术文献出版社, 1985; 423—436
- 6 左凤蓉, 吴同等. 生物化学杂志, 1990; 6(2): 181

STUDY ON THE RELATION BETWEEN THE CHANGE OF SERUM GASTRIN AND THE ACUTE GASTRIC MUCOSAL LESION

Wu Tongle

(Institute of Biophysics, Academia Sinica, Beijing 100080)

ABSTRACT

We have studied on the relation between the change of serum gastrin and the acute gastric mucosal lesion.

(Continued on page 151)

亚硫酸氢钠, 在植物酪氨酸酶粗提液的制备过程中加入到缓冲液中, 可防止色素的形成。当酶的粗提液经过 Sephadex G-25 柱层析去除亚硫酸氢钠后, 酶活性重新恢复(图 1)。表明亚硫酸氢钠对酪氨酸酶的抑制作用是可逆的。

加亚硫酸氢钠的酪氨酸酶粗提液经过滤、离心及 60% 饱和度硫酸铵沉淀后在 Sephadex G-25 柱的分离情况见图 2, 在 7—15 管处有一个酶的活性组分。

由于经 Sephadex G-25 柱层析后, 小分子底物被除去, 因此就避免了在亚硫酸氢钠去除

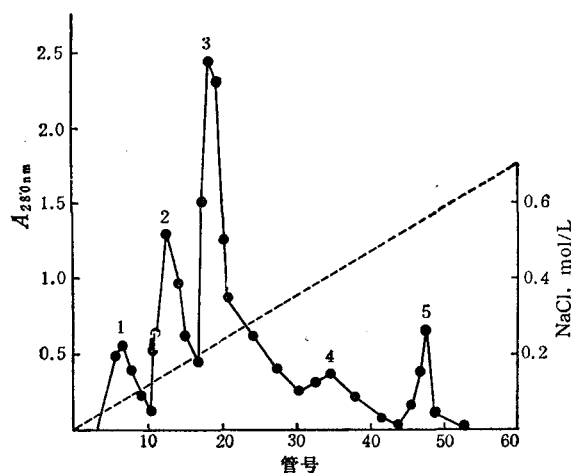


图 3 去除亚硫酸氢钠的酪氨酸酶提取液在 DEAE-52 柱的洗脱图

4ml/管, 峰 3 为具有酪氨酸酶活性蛋白峰

后色素的生成, 得到无色且具有较高酶活性的酪氨酸酶提取液。采用此阶段收集的酪氨酸酶进行酶动力学性质研究, 取得了较好的实验结果。

收集 Sephadex G-25 柱层析具有酪氨酸

表 1 马铃薯酪氨酸酶的分离纯化

纯化步骤	总蛋白 (mg)	总活力 (U)	比活力 (U/mg)	纯化倍数	产率 (%)
12000g 离心上清	572				
60% 硫酸铵沉淀	107				
Sephadex G-25	97	6710	69	1 ¹⁾	100 ¹⁾
DEAE 52	30	4160	138	2	61
PAGE	2.5	2343	937	13	34

1) 加亚硫酸氢钠后, 酪氨酸酶活性完全被抑制, 故酶活力计算是从 Sephadex G-25 柱层析除去亚硫酸氢钠开始。因此, 纯化倍数与产率均以 Sephadex G-25 柱层析作为第一步计算, 并不能确切代表整个分离纯化的纯化倍数与产率。

酶活性的各管洗脱液经 DEAE-52 柱层析的分离情况见图 3。

收集具有酪氨酸酶活性的组分经浓缩胶浓缩后, PAGE 电泳, 即得到电泳纯的酪氨酸酶的组分, 各步纯化结果见表 1。

参 考 文 献

- Garcia B, Solano F, Iborra J L. *J Biochem*, 1985; 228: 95
- Jesus D. *J Biochem*, 1982; 205: 397
- Tomita Y, Hariu A, et al. *Arch Biochem Biophys*, 1983; 225: 75
- Charles R. *Methods in Enzymol*, 1955; 2: 817
- Kanagy J, Vanderkooi J M. *Arch Biochem*, 1988; 267: 668
- Vachtenheim J. et al. *Arch Dermatol Res*, 1984; 267: 111
- Iborra J et al. *J Biochem*, 1981; 244: 1593
- Yamamoto H, John A B. *Biochim Biophys Acta*, 1984; 800: 282
- Gaulton GN et al. *J Biochem*, 1983; 258: 14845
- Vachtenheim J et al. *Comp Biochem Biophys*, 1987; 87B, 4: 709
- Wayne T. *Anal Biochem*, 1984; 139: 345
- Vachtenheim J et al. *Anal Biochem*, 1985; 146: 405
- Bouchilloux S, McMachill P, Mason H S. *J Biol Chem*, 1963, 238: 1699

(Continued from page 130)

Experimental result shows that the acute gastric mucosal lesion is related to the change of serum gastrin. When the acute gastric mucosal lesion of rats was induced by indomethacin, the serum gastrin level was increased obviously. The drug crude riboflavin preparation could decreased the release of serum gastrin caused by indomethacin.

Key words Indomethain, Gastric mucosa, Acute gastric mucosal lesion, Serum gastrin, Crude riboflavin preparation, Prostaglandin.