维普资讯 http://www.cqvip.com

93,18(3)
169-173

大鼠小肠乳糖酶活性的发育模式以及乳糖、氢化可的松和胰岛素的影响

生物化学教研室 武 凡* 申功述

Q55

提 要 不同鼠龄大鼠173只用于观察发育过程中小肠乳糖酶活性的变化，同时测定蔗糖酶及碱性磷酸酶活性。另用60只小鼠研究乳糖、氢化可的松及胰岛素对酶活性发育的影响。结果表明：出生前胎鼠小肠中乳糖酶活性已开始增加，出生后前三周空、回肠酶活性均处于很高水平，以后二者迅速下降至成年低水平。相反，蔗糖酶及碱性磷酸酶在成年期均具有高活性。发育过程中给动物胃饲乳糖、注射氢化可的松或胰岛素均使小肠乳糖酶活性下降速度变慢，但不能阻止其下降。这些说明哺乳动物大鼠的成年期小肠乳糖酶缺乏是该酶正常发育成熟的表现

关键词 空肠；回肠；乳糖酶 大鼠
中图分类号 Q55；Q533.3

成人特发性乳糖酶缺乏的分布极为广泛，其发生率在世界多数地区都很高[1]，国内报道在82.0%～100%[2,3,4]。乳糖酶缺乏者由于乳糖吸收不良，摄入含乳糖食物后可出现腹痛、腹泻、胃肠胀气等临床表现。成年人乳糖酶缺乏的原因不明，一般在断奶后乳糖酶开始减少。由于其发生率极高，很难将之作为疾病，因此成人乳糖酶缺乏的本质为病理性或为生理性改变至今未能确定。为了探讨这一问题，我们用哺乳动物大鼠进行实验，观察胎鼠经出生至成年后发育过程中小肠乳糖酶活性的变化，同时测定蔗糖酶及碱性磷酸酶活性作比较。另以胃饲乳糖、注射氢化可的松和胰岛素来观察这些因素对上述酶活性发育的影响。

材料和方法

Wistar大鼠173只，不分性别，于孕期第15、18、21、23d和出生后0、1、2、4、6、8、10、13、16、18、20、23、25、27、30、60及360d共分为21个不同鼠龄组，每组有动物7～16只，出生0d是指刚出生尚未吮吸母乳的阶段。大鼠孕期24d，出生后22d断奶。确定孕期前，先将公、母鼠以1与3之比同笼，以后每晨作母鼠阴道涂片检查。当观察到大量动情期无核角化细胞加上大量精子时，即作为受孕第一天。已确定鼠龄的各组动物，均于当天断头处死取标本。

另取Wistar大鼠60只不分性别用于观察胃饲乳糖、注射氢化可的松和胰岛素对酶活性发育的影响。胃饲乳糖组从出生后16d起每天胃饲17%乳糖溶液1.2ml（0.2g乳糖）/10g体重，连续15d至鼠龄30天处死动物取标本。对照组胃饲等体积生理盐水。氢化可的松组在上述相同时间内每天臀部肌肉注射氢化可的松0.5mg/10g体重，对照组肌肉注射等体积生理盐水。胰岛素组同样每天颈部皮下注射正规胰岛素120mU/10g体重连续15d，对照组皮下注射等体积生理盐水。

取标本时先去除十二指肠，将剩余小肠等分为三段，用近端1/3代表空肠，远端1/3代表回肠。剪开肠腔经蒸馏水冲洗滤纸吸干，在中部刮取粘膜20～100mg湿重置入试管，加生理盐水2ml，在冰浴

* 研究生 现在长治医学院生物化学教研室

维普资讯 http://www.cqvip.com

中用高速分散器约1000r/min制成匀浆供酶活性测定。乳糖酶及蔗糖酶活性按Dahlqvist法[5]测定，酶活性以每克蛋白质每分钟释出葡萄糖的μmol数（U/g蛋白质）表示，同一标本作乳糖酶活性重复测定得CV为1.5%。小肠碱性磷酸酶活性按Kelly法[6]测定，酶活性以每克蛋白质每分钟释出对硝基酚的μmol数（U/g蛋白质）表示，同一标本作重复测定得CV为1.8%。蛋白质含量用Lowry法[7]测定。各项测定均使用岛津UV-265型分光光度计比色自动记录数据。

结　果

1. 小肠乳糖酶、蔗糖酶及碱性磷酸酶活性的发育

对不同鼠龄组的数据用秩合检验进行多组资料比较和多组间两两比较。同一鼠龄组中空、回肠酶活性差别的显著性用秩合检验作两组资料比较。各组资料用中位数表示，见图1。

（1）**乳糖酶**　各组乳糖酶活性见图1(a)。可以看出孕期15天的胎鼠小肠中已有乳糖酶活性，以后空、回肠酶活性均迅速增高，以空肠的增高更为显著。出生后第2天空肠酶活性达最高值147.4U/g蛋白质，后即缓慢下降，于6～20天内相对稳定在较高水平，然后迅速显著下降，至30天已进入成年低水平11.31U/g蛋白质，约为出生时酶活性的8%。回肠乳糖酶活性在刚出生时明显低于空肠，以后急剧增高，至13天达最高值201.4U/g蛋白质，然后迅速显著下降，至30天进入成年低水平6.38U/g蛋白质，约仅为哺乳期酶活性最高值的3%，并明显低于该时期的空肠酶活性。

（2）**蔗糖酶**　小肠蔗糖酶活性变化见图1(b)。出生前胎鼠小肠蔗糖活性极低，刚出生时空、回肠酶活性分别为1.86和3.32U/g蛋白质。出生后二者均逐渐缓慢上升，20天后才迅速显著增高，其中以空肠酶活性的增高更为迅速，至27天均达成年高水平，空回肠酶活性分别为117.1和42.5U/g蛋白质，各为刚出生时酶活性的63和13倍。

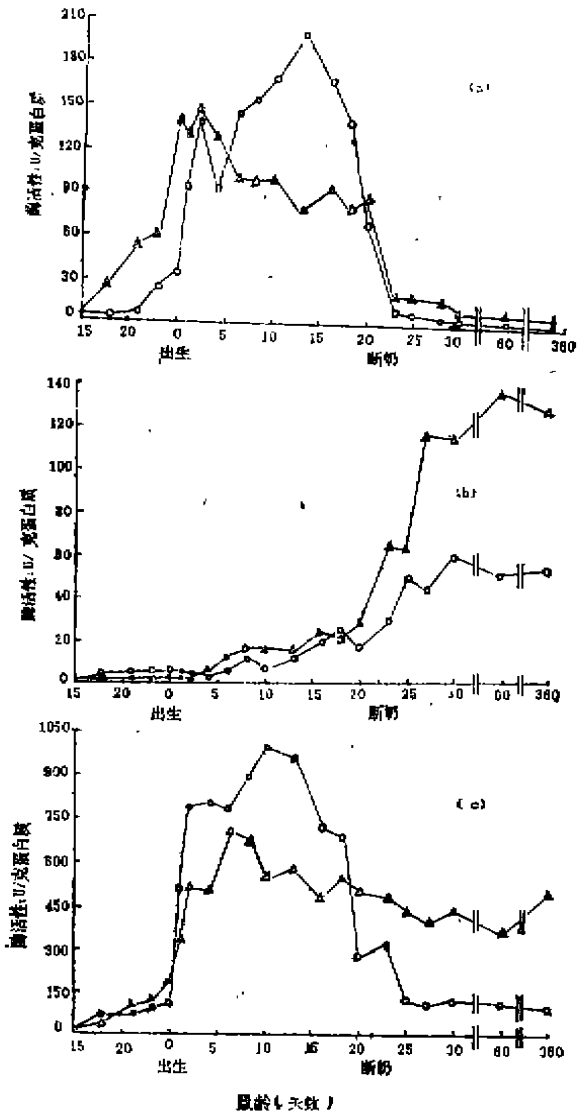


图1　大鼠小肠三种酶活性的发育

（a）乳糖酶　（b）蔗糖酶　（c）碱性磷酸酶
酶活性用中位数表示
△ 代表空肠　○ 代表回肠　▲ 表示所在鼠龄组空、回肠酶活性有显著差异

（3）**碱性磷酸酶**　小肠碱性磷酸酶活性变化见图1(c)。在孕期15天的胎鼠小肠中已有碱性磷酸酶活性，以后酶活性迅速增高。空肠酶活性在出生后继续显著增高，第6天达最高值702U/g蛋白质，以后逐步缓慢下降，20天后相对稳定在较高的成熟水平。出生后30天空肠酶活性为443.9U/g蛋白质，

维普资讯 http://www.cqvip.com

约为刚出生时酶活性的2.5倍。回肠碱性磷酸酶活性在出生时明显低于空肠酶活性，以后迅速增高超过空肠酶活性，至第10天达最高值979.8U/g蛋白质，然后迅速下降，35天后达到较稳定的成熟水平，与刚出生时酶活性接近，又明显低于空肠酶活性。

2. 乳糖、氢化可的松和胰岛素对小肠酶活性发育的影响

将试验组与对照组作两样本均数比较，方差齐用t检验，方差不齐用t'检验。各组资料用平均数±标准差表示，见表1。

出生后第16天起经胃饲乳糖15天后，空、回肠乳糖酶活性均显著高于对照组，但仍远低于各自哺乳期的乳糖酶活性，蔗糖酶及碱性磷酸酶均不受影响。连续注射氢化可的松或胰岛素后，空回肠乳糖酶和蔗糖酶活性都显著高于对照组，然而乳糖酶活性仍远低于哺乳期酶活性。碱性磷酸酶活性与对照组无明显差异。

讨　论

从以上结果可以看出小肠乳糖酶的发育模式与蔗糖酶或碱性磷酸酶显然不同。我们对大鼠小肠乳糖酶活性发育的观察结果与Koldovsky[8]、Alvarez[9]及Doell[10]等的研究结果相似。此外已知牛[11]、兔[11]、猪[12]、狗[13]和狒狒[14]都是在出生初期具有很高的小肠乳糖酶活性，进入成年期后酶活性即处于很低水平。因此，可以认为在上述哺乳动物中，成年期小肠乳糖酶缺乏是该酶正常发育成熟的表现。

正常成年人中乳糖酶缺乏的发生率很高，东方亚洲人的发生率一般在85～100%[1]，国内重庆地区的部份检测结果显示发生率达100%[4]。但在妊娠末期胎儿、足月出生新生儿[15]以及3岁以下儿童[16]的小肠中，乳糖酶活性都很高。这些资料可以说明人类小肠乳糖酶的发育过程与其它哺乳动物相似。Simoons氏的地域学说[1]认为在旧石器时

表1　乳糖、氢化可的松及胰岛素对小肠酶活性发育的影响

(U/g蛋白质，$\bar{x}\pm SD$)

组别	动物数	乳糖酶		蔗糖酶		碱性磷酸酶	
		空肠	回肠	空肠	回肠	空肠	回肠
胃饲乳糖							
试验组	10	14.58±2.36	8.96±0.68	103.41±10.31	60.37±8.14	442.71±40.49	143.61±5.63
对照组	10	10.89±3.17	6.11±1.54	104.32±20.51	63.63±14.47	435.47±57.84	139.51±34.22
P值		<0.01	<0.01	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05
注射氢化可的松							
试验组	10	14.47±1.22	11.0±1.97	118.34±7.68	100.99±17.17	452.14±60.91	140.06±26.49
对照组	10	9.24±2.03	6.64±0.95	97.70±15.56	61.80±8.49	454.21±65.22	146.59±38.40
P值		<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	>0.05	>0.05
注射胰岛素							
试验组	10	12.10±0.57	13.36±1.31	136.27±11.94	109.38±13.56	443.85±30.79	133.91±15.95
对照组	10	10.07±1.21	6.74±0.92	112.53±9.66	65.11±10.01	424.63±35.70	138.26±18.20
P值		<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	>0.05	>0.05

维普资讯 http://www.cqvip.com

代人类与大部份哺乳动物相同，断奶后几乎100%成为乳糖酶缺乏者。本文动物实验结果和我们对重庆地区正常人的研究资料[4]都符合并支持Simoons学说。按此学说，发生率极高的成人乳糖酶缺乏应是正常的生理性改变。

Bolin等[17,18]经动物实验提出乳糖酶的生物合成能被乳糖诱导，并以此说明断奶后小肠乳糖酶活性下降的原因。但诱导理论与一些学者[9,10,11]的动物实验结果不符，而对人的研究结果都否定乳糖酶是诱导酶[19,20]。我们以乳糖溶液连续饲饲出生后16天的大鼠，观察到这批动物的小肠乳糖酶活性显著高于对照组，然而仍远低于哺乳期的酶活性。这说明胃饲乳糖不能阻止乳糖酶活性下降，但可使其下降速度减慢。

激素能激活基因调控而影响酶的合成速度。我们给出生16天的大鼠连续注射氢化可的松或胰岛素后，动物的小肠乳糖酶活性虽显著高于对照组，但仍远低于哺乳期的酶活性。说明胰岛素和氢化可的松也只能影响乳糖酶活性的下降速度，使其变慢而不能阻止其下降。因此，可以看出在发育过程中，小肠乳糖酶活性一旦下降，就不再恢复至原有水平。

参 考 文 献

[1] Simoons FJ. Am J Dig Dis 1978; 23: 963

[2] 陈贻生，等. 中华消化杂志 1984; 4:20

[3] 杨海涛，等. 中华消化杂志 1987; 7: 127

[4] 吕自南，等. 中华医学杂志 1989; 69:698

[5] Dahlqvist A. Anal Biochem 1968; 22:99

[6] Kelly MH, et al. Clin Biochem 1970; 3:33

[7] Lowry OH, et al. J Biol Chem 1951; 193:265

[8] Koldovsky O, et al. Biochem J 1965; 94:266

[9] Alvarez A, et al. Nature, Lond 1961 190:826

[10] Doell R, et al. Biochim Biophys Acta 1962; 62:353

[11] Heilskov NSC. Acta physiol Scand 1951; 24:84

[12] Dahlqvist A. Nature, Lond 1961; 190:31

[13] Welsh JD, et al. Proc Soc Exp Biol Med 1965; 120:525

[14] Welsh JD, et al. Gastroenterology 1974; 66:993

[15] Auricchio S, et al. Pediatrics 1965; 35:944

[16] Welsh JD, et al. Gastroenterology 1978; 75:847

[17] Bolin TD, et al. Gastroenterology 1969; 57:406

[18] Bolin TD, et al. Gastroenterology 1971; 60:432

[19] Gilat T, et al. Gastroenterology 1972; 62:1125

[20] Kogut MD, et al. J Pediat 1967; 71:75

（收稿日期 1992-10-27）

维普资讯 http://www.cqvip.com

DEVELOPMENTAL PATTERN OF LACTASE ACTIVITY OF THE SMALL INTESTINE IN RATS AND THE EFFECTS OF LACTOSE, HYDROCORTISONE AS WELL AS INSULIN ON IT

Wu Fan, et al

Dept · of Biochemistry

173 rats of *different* ages were used to observe the changes of lactase activity of small intestine during development. Sucrase and alkaline phosphatse activities were also measured. Another 60 rats were used in order to study the effects of lactose, hydrocortisons and insulin. Our results indicate that lactase activity of the small intestion of fetal rat begins to rise from prenatal period. The lactase activity sustains a very high level both in jejunum and ileum during tue first 3 weeks of postnatal development, then both decline rapidly to very low adult values. On the contrary, sucrase and alkaline phosphatase activities are high throught the whole adult life. Gastric feeding of lactose and injection of hydrocortisone or insulin reduce the rate of declination of lactase activity, but do not prevent its dropping. All of these facts reveal that lactase deficiency of adult small intestine is the normal result of developmental maturation of this enzyme in mammalian rat

KEY WORDS Jejunum; Ileum; Lactase

（上接178页）

ULTRA THIN-LAYER ISOELECTRIC FOCUSING FOR CHARACTERIZATION OF BETA-LACTAMASES

Qian Yuanshu, et al

Dept · of Infectious Diseases, The First Hospital

Analytical isoelectric focusing (IEF) is one of the high resolving power methods for protein analysis, and is also important to characterize β-lactamases by determining their isoelectric points in a stable, continuous and linear pH gradient. In this study, we improved the traditional method by setting up an ultra thin-layer polyacrylamide gel IEF to characterize β-lactamases of Gram-negative bacteria. This improved method has many advantages. Many samples can be analyzed within one block of gel. It is easy to perform and the time for electrophoresis is greatly shortened. Only small volume of sample is needed and the resolving power is high. The amount of reagents used is mueh reduced and cost lowered. By changing certain conditions, it can also be used to seperate and analyze other biological material. Thus, we believe this improved method is valuable and is highly recommendable in biochemical researches

KEY WORDS Ultra thin-layer; Isoelectric focusing; Characterization; Beta-lactamases