DOI:10.16016/j.1000-5404.1988.01.009

二乙基亚硝胺对小鼠肝、肺、小肠、胃γ-GT酶活性变化的影响

王德青 金晓琳（生物化学教研室）

提 要 小鼠腹腔注射二乙基亚硝胺后150～180天，肝脏及小肠γ-GT活性显著增加，提示细胞癌变。该期间肺及胃γ-GT活性增加均不显著。

关键词 二乙基亚硝胺—药效学；γ-谷氨酰转移酶类；肝—分析；肺—分析；胃—分析

γ-谷氨酰转移酶（γ-Glutamyltransferase，γ-GT）为一质膜结合糖蛋白，广泛分布于哺乳动物组织中，可能与氨基酸的细胞膜转运、谷胱甘肽代谢及对某些毒物（包括致癌剂）、药物的解毒功能密切相关[1]。七十年代以来，不少人研究了实验性化学性肝癌形成过程中γ-GT活性的变化，从而提出γ-GT活性与化学物质诱发的癌变过程密切相关，认为γ-GT可作为化学性致癌物诱发肝癌的阳性指标[2]，对其他脏器被致癌剂诱发肿瘤的过程中γ-GT活性变化很少报导。我们用二乙基亚硝胺致癌剂连续注入小鼠腹腔，分别测定了肝、肺、小肠、胃γ-GT活性的变化，为探讨γ-GT的生理功能及寻找化学致癌的灵敏指标积累动物实验资料。

材料和方法

动物 雄性昆明种小鼠，鼠龄45～60天，体重25～35g，分为实验组和对照组。

实验组 每只小鼠每周皮下注射0.1ml 1.5%二乙基亚硝胺（DENA，瑞士Fluka公司出品，纯度大于99%）等渗盐水溶液（含DENA 1.5mg）1次，持续15周。

对照组 每只小鼠每周与实验组同时皮下注射等量等渗盐水。

动物注射后分别在1、3、15、30、45、60、75、90、105、120、135、150、165、180天断头处死，立即取肺、肝、胃、小肠进行γ-GT活性测定，每批实验动物5只，共70只。对照动物每批2～5只，共23只。

方法 用含0.5% Triton X-100，pH 7.4的Tris-HCl缓冲液按1:10制成组织匀浆，离心3000 r.p.m，10min。取上清液按Szasz方法[3]测定γ-GT活性，蛋白质测定用Lowry改良法[4]。

实验结果

小鼠腹腔注射DENA后1、3、15、30、45、60、75、90、105、120、135、150、165、180天，其肝、肺、胃、小肠γ-GT活性与对照组比较见图及表。

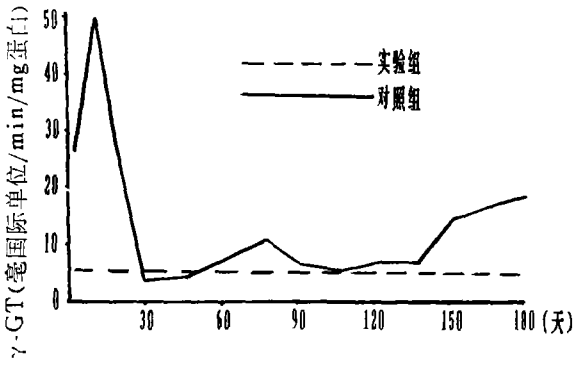


图1 肺γ-GT活性变化

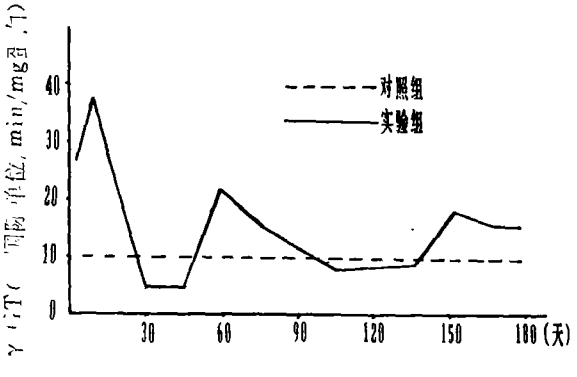


图2 肝脏γ-GT活性变化

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

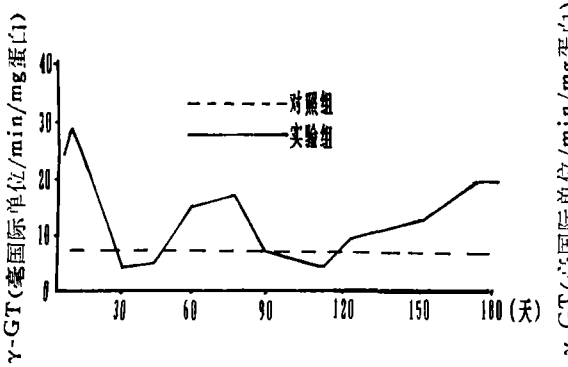


图 3　胃γ-GT活性变化

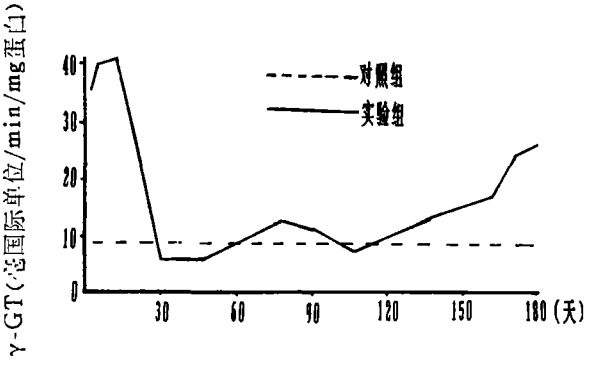


图 4　小肠γ-GT活性变化

表　小鼠四种脏器γ—GT活性变化

		肝 $\bar{X}\pm SD$	肺 $\bar{X}\pm SD$	胃 $\bar{X}\pm SD$	小肠 $\bar{X}\pm SD$
	对照组	4.8±1.9 (20)	9.9±3.2 (23)	7.1±3.5 (23)	8.9±2.5 (21)
	1天	27.2±6.2**	27.0±3.4**	23.6±5.9**	36.1±2.5**
	3天	50.2±7.1**	36.8±3.0**	26.5±8.1**	39.3±2.3**
	15天	27.1±4.3**	26.9±2.7**	20.3±5.1**	40.6±4.3**
实	30天	3.2±0.5	4.1±1.2	4.6±1.2	6.7±1.2
	45天	4.2±1.1	4.1±1.8	5.7±1.0	6.8±0.9
	60天	6.7±1.1*	21.2±2.7*	12.8±2.2	10.8±2.4
验	75天	9.9±1.7*	14.6±2.8	14.0±2.9	13.5±2.0
	90天	5.8±1.0	10.7±2.9	7.3±4.3	12.1±1.6
	105天	4.6±0.6	8.5±3.2	5.7±1.8	9.4±3.1
组	120天	5.9±1.2	9.2±1.8	8.0±1.1	10.7±1.9
	135天	5.6±1.3	9.3±2.1	9.8±1.7	12.6±1.9
	150天	11.4±2.6**	18.3±5.0	11.3±3.4	15.0±2.3*
	165天	13.6±4.7**	14.4±1.9	15.7±2.1	23.5±4.8**
	180天	14.5±0.8**	14.5±1.2	15.3±1.7	25.1±3.2**

注：括号内数字为动物数，实验组各时相点均为5只动物

**为P<0.01与对照组比较相差非常显著；*P<0.05相差显著。

由图及表可见给小鼠腹腔注射DENA后，第1、3、15天四种脏器γ-GT活性与对照组相比升高均非常显著（P<0.01）。以肝脏γ-GT活性升高最为明显，第3天肝γ-GT活性约为正常组的10倍；用药后第30、45天四种脏器γ-GT活性均降至低于对照组；60～90天，各脏器γ-GT活性均出现第二个高峰，但与对照组相比除肝脏在60天升高显著（P<0.05）、75天升高非常显著（P<0.01）外，其

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

它脏器γ-GT 在统计学上均无差异；150至180天各脏器 γ-GT活性又出现第三个高峰，但只有肝脏 γ-GT活性升高非常显著，小肠165、180天升高非常显著，其它脏器升高均不显著。

讨　论

实验结果可见，给小鼠 DENA 后肝、肺、胃及小肠四种脏器 γ-GT 活性均出现三个高峰，该变化规律与 Naoyuki[5]等用致癌剂甲基黄喂大鼠后所测得的肝脏 γ-GT 活性变化规律基本相似，只是第二、三峰出现的时间略有不同，这可能与致癌剂的性质、剂量、致癌强度及给药方式不同有关。

给药后第 1 天四种脏器 γ-GT 活性均显著升高，以肝脏升高最明显。肝脏 γ-GT 活性增高可能是 γ-GT 对致癌剂的解毒反应。很久以前就了解机体可以合成硫醚氨酸，以解除亲电子基的毒性作用（包括致癌剂）。γ-GT 在硫醚氨酸生物合成中起重要作用。给大鼠标记的偶氮类致癌剂时，发现以硫醚氨酸的形式出现在胆汁和尿中，同时发现肝组织中 γ-GT 活性升高[1]。Margison[6]报导 DENA注入大鼠后 9 h，发现DENA 对 DNA 有烷化作用，但组织及血液的 γ-GT 活性却升高，认为这可能是药物对 γ-GT 的激活作用而不是合成量的增加。

给药后30、45天，四种脏器 γ-GT 活性均降至对照组水平以下，这可能是药物对细胞DNA的损害作用，使 γ-GT 合成减少所致。Margison 报导 DENA 对肝脏DNA烷化作用时间一直持续到 5 周后才逐步恢复，这与我们所测定的γ-GT 活性低潮时间相一致。Naoyuki给大鼠偶氮染料后第 6 周，肝γ-GT 活性也降低至正常水平，也认为是致癌剂对细胞的损害作用。

给药后60～90天，四种脏器 γ-GT 活性出现第二个高峰，该期间病理镜检发现肝、肺组织细胞明显增生或异型性增生出现，少数动物肝、肺组织出现初期癌变[7][8]。Naoyuki 给大鼠偶氮类制剂后第10周，肝 γ-GT 活性也再次升高。与我们的结果基本一致。Watabe[9]用偶氮类制剂喂大鼠，也在该期间测得类似结果，同时观察到血液中胎甲球蛋白出现，有肝细胞增生，但未观察到肝癌细胞，他认为这是癌发生的初期反应，并认为该期间 γ-GT 活性增高，比胎甲球蛋白更为灵敏。

给药后135～180天（动物处死）四种脏器γ-GT活性均升高，李士谔[7]等报导DENA喂大鼠 20 周后，大多数动物发生肝细胞癌变。这与我们在该期间测定的肝 γ-GT 活性显著升高的结果呈正相关。故进一步证实了肝 γ-GT 活性升高可作为肝细胞癌变的灵敏指标。杜仲明[8]报导，本实验动物组 114 只中62只小鼠肺检出瘤结208个，其中良性瘤32例，恶性30例，良性瘤常小于 1 mm，恶性瘤体积较大。但该期间我们所测定的肺γ-GT 活性升高不显著，故认为该期间肺 γ-GT 活性升高不能作为肺癌的灵敏指标。杜仲明在同组实验动物中还观察到小肠及胃有癌变发生，未做系统观察，故该期间所测小肠γ-GT 活性显著升高是否能作为小肠癌变的指标，尚需要进一步观察。

（本实验系利用病理教研室杜仲明的动物模型，特此致谢）

参 考 文 献

1. 王德青。γ-谷氨酰转移酶。国外医学临床生物化学与临床检验学分册 1985；1:4
2. Fiala S, et al. γ-Glutamyltransferase and the inhibition of AZO dye-produced neoplasia by concomitant administration of disulfaram. J Natl Cancer Inset 1980; 64 (2):267
3. Szaza G, et al. Reaction-rate method for γ-glutamyltransferase activity in serum. Clin Chem 1976; 22:2051
4. Schacterle GR, et al. A simplified method for the quantitative assay of small amounts of protein in biologic material.

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

Anal Biochem 1973; 51:654
5. Naoyuki T, et al. Effect of hepatocarcinogenic AZO dyed on glutathione and related enzymes in rat liver. Gann 1974; 65:381
6. Margison NJ, et al. Effect of chronic N, N-Diethylnitrosamine on the excision of 6-ethylysamine from rat liver DNA. Brit J Cancer 1979; 40:809
7. 李士谔，等。癌变病理研究。生物化学与生物物理学报 1977；9(2):112
8. 杜仲明，等。二乙基亚硝胺诱发小鼠肺肿瘤形态学、组织化学及组织发生的研究。中华肿瘤学杂志 1987；2(9):103
9. Watabe H, et al. Early appearance of embryonic α-Globulin in rat serna during carcinogenesis with 4-Dimethylaminoa zobenzene. Cancer Res 1971; 31:1192

Effects of Diethynitrosamine on γ-GT Activity Changes in the Liver, Lungs, Stomach and Small Intestine of Mice

Wang Deqing and Jin Xiaolin (Department of Biochemistry, Third Military Medical College)

One hundred and fifty to one hundred and eighty days after an intraperitoneal injection of diethynitrosamine to mice, the activity of γ-GT in the liver and small intestine of the mice was found to have increased significantly, which suggests the occurrence of cancerous degeneration of the cells of the 2 organs. No significant change of γ-GT activity was found in the lungs and stomach.

Key words: Diethylnitrosamine/pharmacodynamics; Gamma-glutamyltransferase; Liver/analysis; Lung/analysis; Stomach/analysis

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net