

临床生物化学进展

江苏科学技术出版社

临床生物化学进展

《江苏医药》编辑部

出版: 江苏科学技术出版社

发行: 江苏省新华书店

印刷: 泰州人民印刷厂

开本787×1092毫米 1/32 印张 9 字数 200,000

1983年 6 月第 1 版 1983年 6 月第 1 次印刷

印数 1—4,500 册

书号 14196·127 定价 0.82 元

责任编辑 徐 欣

前 言

生物化学是一门研究生物体化学组成和变化规律的科学，特别是临床生物化学，更是现代临床医学的重要基础。近年来，临床生物化学在理论和技术上都有飞跃发展，人们对疾病的认识已经深入到分子水平。临床生物化学已引起医学界日益广泛的重视，许多临床医师、检验师及其他医药卫生工作者，都迫切希望在新的水平上探讨疾病的发病原理，寻找新的诊断、治疗方法。

从临床实际需要出发，本书介绍了最近几年（特别是1978年以来）在临床生物化学领域内取得的部分重要进展，包括新理论及其应用技术。例如，在物质代谢和调控方面，着重叙述了核酸与肿瘤的关系，肿瘤早期诊断与生化标志物的发现，下丘脑肽类神经激素的结构、功能与调节。在疾病的病因、病理、诊断和治疗方面，本书着重介绍了诊断酶学（特别是血清酶活性测定）的临床应用，脂类代谢和心血管疾病的联系，酸碱平衡的新概念，胆石的形成和溶石疗法，匿血试验的新方法，抗雌激素新药应用于治疗乳腺癌等等。其中，有些专题（如诊断酶学等）作者等还介绍了自己的实践体会。

本书由编辑部组织南京医学院孙宏训、沈士弼、方正沅同志和苏州医学院蒋滢同志共同执笔编写。由于我们缺乏经验，水平有限，书中存在错误和缺点在所难免，欢迎读者批评指正。

《江苏医药》编辑部

1982年12月30日

目 录

cAMP和cGMP的拮抗性代谢调节问题	(1)
内啡肽和神经调节	(15)
下丘脑肽类神经激素	(24)
前列腺素	(48)
脂质体	(71)
乳酸酸中毒	(87)
阴离子差值	(94)
核酸与肿瘤	(104)
肿瘤的生物化学标志物和早期诊断	(125)
脂类代谢和高脂血症	(186)
血清酶和急性心肌梗塞	(211)
血清酶和肝脏疾病	(226)
胆石形成和溶石疗法	(245)
匿血试验临床应用的进展	(265)
抗雌激素和乳腺癌的治疗	(272)

cAMP 和 cGMP 的拮抗性代谢 调节问题

一、cAMP和cGMP是重要的代谢调节系统

生物调节主要就是通过调节细胞的代谢功能，并使之适应环境变化的过程。细胞代谢功能愈复杂，其调节方式也愈繁多。尽管在各种不同情况下，细胞对各种调节讯号的应答是多种多样的，但是简单说来，生物调节无非就是对细胞各个过程施加正性或者负性的控制。

在许多生物的细胞代谢调节系统中，环腺苷酸 (cyclic adenosine monophosphate, 简称cAMP) 和环鸟苷酸 (cyclic guanosine monophosphate, 简称cGMP) 是极其重要的一对，它们似乎经常起着拮抗性的调节作用，如同双向控制 (bidirectional control) 的闸刀式开关，在适当时候一开一关，使细胞代谢调节更臻完善。

cAMP是Sutherland于1957年发现的，接着 Ashmar 等又于1963年发现了cGMP。从最初对它们的单纯描述开始，随后对它们引起的各种生理效应加以分析，直到目前又从分子水平上探索和阐明这些效应表现的机理，不断取得新的成就。通过二十多年的研究表明，cAMP和cGMP的生物学意义是相当广泛的，大大超出了Sutherland最初提出的“第二信使”学说的含义。

1973年，Goldberg提出生物控制的“阴阳假说”，曾经引起许多学者的兴趣。据说当时他从朝鲜出版的《汉医学》

中看到一张“阴阳八卦图”，由此得到启发，认为cAMP和cGMP是体内两种对立的调节系统，它们和中医学阴阳学说有关。1975年，Goldberg进一步提出生物控制的二元论学说——“阴阳学说”。他认为：这种通过cAMP和cGMP相反作用的生物调节可用中医学常用的“阴”、“阳”两词来概括。“阴”和“阳”代表两种相反的自然拮抗力。当然在某些特定情况下，这些相互拮抗的力，也可能相辅相成地显示其协同的合成作用。

Goldberg曾将他的观点用作图方式表示（图1-1）。

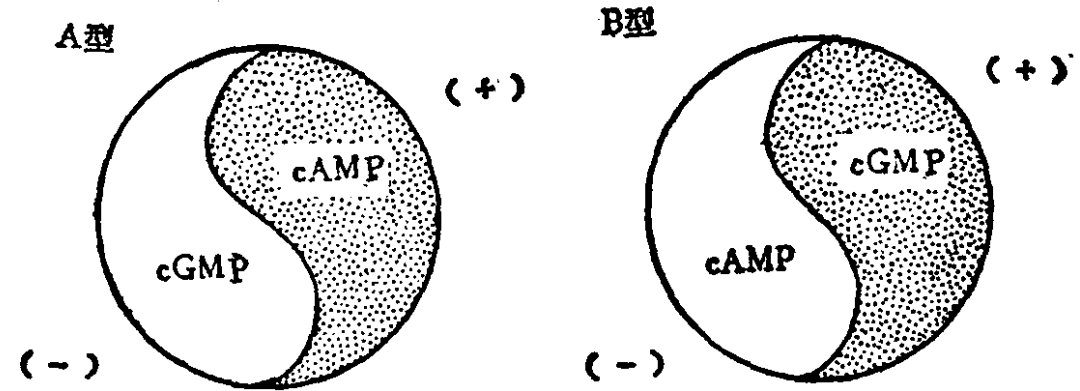


图1-1 两种基本类型的双向控制体系

图1-1所示的两种基本类型双向调节系统的作用表现是：

- A型 cAMP促进，
cGMP抑制；
- B型 cGMP促进，
cAMP抑制。

另一位学者Elliott(1975)更直截了当地提出cAMP为阴和cGMP为阳的概念。

Goldberg等的假说当然也考虑到以下可能性，即某些细胞功能可能不受双向控制，而只对一种调节讯号起反应。这

种过程可以看做是单向调节的,通常以无功能状态存在,在得到一种适宜的讯号时即行“活化”;而在讯号消失之后又返回到无功能状态。这种单向调节系统的存在固然尚待进一步证实,但应用它可以解释某些细胞过程,例如肾上腺皮质类固醇的合成的调节,其促进讯号是ACTH,但迄未发现抑制讯号。

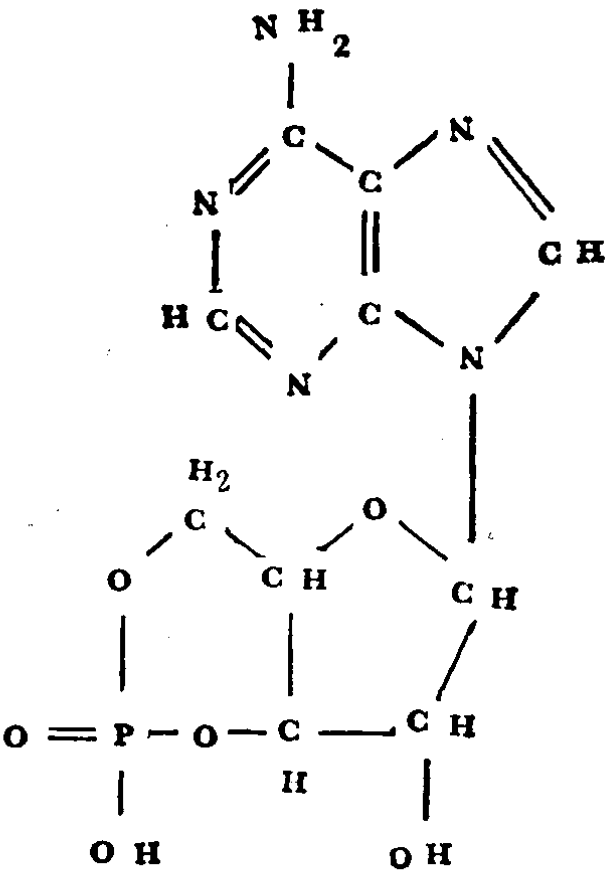
就目前的大量资料可以证明, cAMP和cGMP广泛分布于细菌直到哺乳动物的细胞中。体内多种物质的代谢调节、血液凝固、心肌活动、细胞的分裂和分化、基因转录,以及免疫功能等,均与之有密切关系;许多疾病也和 cAMP、cGMP在细胞内的含量,以及它们的代谢异常相关。在治疗方面,有人将cAMP试用于牛皮癣及冠心病病人,收到一些疗效。这一切都说明了继续深入研究cAMP和cGMP是十分有价值的。本文限于篇幅,只着重介绍cAMP和cGMP的基本性质及其生成、分解、调节等方面的研究进展;Goldberg等人的阴阳学说的事实依据,即cAMP和cGMP的拮抗性代谢调节,以及目前对这种学说的不同评价。

二、cAMP和cGMP的基本性质

(一) cAMP (3', 5'环状腺苷酸)

cAMP的发现已有二十多年的历史,特别是1971年Johnson等将二丁酰cAMP加入转化的纤维母细胞,使多边形的排列杂乱的恶性细胞逆转成细长的、平行排列的正常纤维母细胞。同年,Hsie等将二丁酰cAMP和睾丸酮一起加入中国仓鼠卵巢细胞也得到类似结果。这些研究引起了人们的极大兴趣。现在按照Pauling在Chemistry一书中的叙述,将cAMP的基本性质介绍如下:

Sutherland通过对cAMP的研究曾对激素作用机制的认识作出了重大贡献。他在研究肾上腺素对肝细胞和肌细胞的作用时，发现激素和细胞中间存在一种起着把激素讯息传递给细胞作用的中间物质。他把这种物质唤做“第二信使”，并鉴定这个物质就是cAMP，其化学结构式如下：



cAMP和腺苷酸（AMP）非常相似，唯一的不同点是在cAMP磷酸根与核糖的C^{3'}及C^{5'}构成二酯键，从而形成一个环。cAMP是腺苷环化酶作用于ATP的产物。1965年，Sutherland证明腺苷环化酶既不在细胞内，也不在细胞外，而存在于细胞膜上。此酶平时没有活性，如遇到肾上腺素，它就显示出活性，把ATP转变成cAMP。最后，cAMP被分解为AMP而失活。肾上腺素在上述过程中并不进入细胞。

现在已经知道cAMP作为第二信使参与四十多种细胞过

程，其中包括增强心肌的收缩力，增进胃粘膜的泌酸作用，抑制血小板的凝聚性等等。cAMP可使下列酶的活性提高：磷酸化酶、果糖磷酸激酶、酪氨酸氨基移换酶；cAMP可使下列反应速度加快：类固醇的合成、脂肪分解、葡萄糖氧化、糖原异生、尿素形成、生酮作用、淀粉酶释放、胰岛素释放、黑素细胞扩散等等。cAMP可抑制下列酶的活性：糖原合成酶、果糖1，6二磷酸酶；cAMP可抑制下列反应速度：氨基酸转变成肝脏蛋白质，乙酸盐转变成肝脏脂肪酸，血小板凝聚等等。

（二）cGMP（3'，5'环状鸟苷酸）

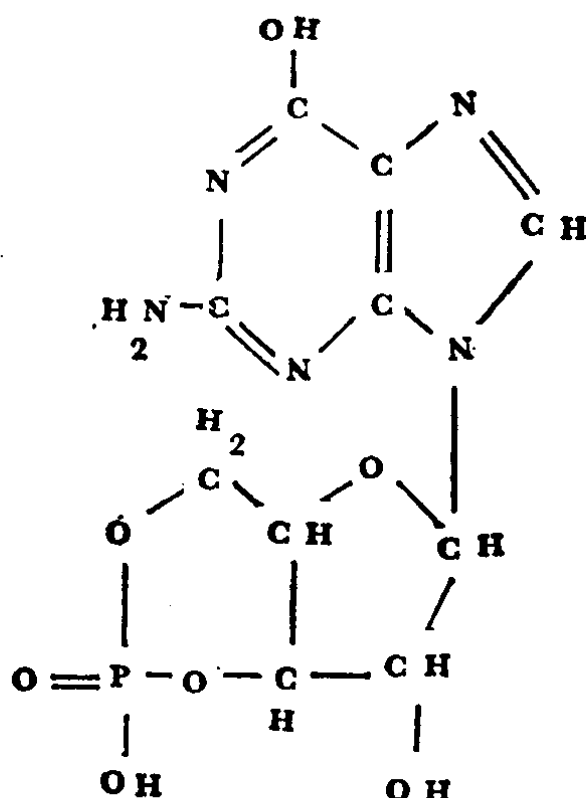
除cAMP外，已先后证实还有cGMP及cCMP（环胞苷酸）存在于生物组织和体液中。

在结构上，cGMP是和cAMP类似的物质。1963年Ashmar等从Fisher大鼠尿中分离到cAMP和cGMP，这是确证cGMP存在于生物系统中的第一个材料。这种大鼠每天在尿中排出cAMP10微克/100克体重，排cGMP13微克/100克体重。在哺乳类动物中，肺脏cGMP与cAMP含量相若，其他组织则cGMP少于cAMP。

有关cGMP的研究开始还不久。直到1973年，人们还在致力于探讨cGMP作为cAMP替代物的那些问题，而它作为cAMP替代物的活性则是极其微弱的。目前，对cGMP的了解已经越出上述范围，现有的实验资料已足以充分证明cGMP本身就是一种独立的生物效应物。在许多生物学体系中cGMP和cAMP可能各自促进不同的细胞过程，而在更多场合中，它们常常具有明显的拮抗性。

1974年，Bloch已从白血病L-1210细胞中找到cGMP。在大鼠肝中也找到cGMP。还对白血病患者尿中的cGMP作

了鉴定。cGMP的结构式已知如下：



cGMP系统和cAMP系统比较究竟有哪些异同，根据Goldberg于1980年10月在上海讲学时指出：

1. 对完整细胞来说，有些激素使cAMP增加，有些则使cGMP增加，但两者增加的情况不同，cGMP的增加常很短暂，除非正好抓住了测定时间，否则不易发现。如在神经母细胞瘤动物模型制备时，加乙酰胆碱或组胺可使cGMP增加20~40倍，但维持时间只有几十秒。因此，cAMP可以视为粗调节系统，而cGMP则是细调节系统，只要一点点刺激就能显示反应。例如，某些因素可使细胞内cAMP减少，一般只减少10~20%；而cGMP可以减少很多，甚至测不出。

2. 凡能增加cGMP的刺激因素作用时，必须有 Ca^{2+} 的存在。如除去细胞内的 Ca^{2+} ，cGMP的含量就逐步降到零。此外，缺氧可使cGMP急剧下降，还原剂也可使cGMP含量降到

只有原来的 5~10%。上述现象在 cAMP 系统中都看不到。

3. 在完整细胞内, 80~90% AMP 都以与蛋白质结合的形式存在, 这个蛋白质就是 PK(蛋白激酶)。cAMP 含量之所以比较稳定, 原因之一就是它和 PK 结合, PDE(磷酸二酯酶) 不易水解它。cGMP 在细胞内不和 PK 结合, 因此某些因素可以使它很快下降。

4. 组织细胞存有不同受体, 激素或递质作用于不同受体就引起不同反应。如大鼠输精管平滑肌细胞既有 α 受体, 也有 β 受体。去甲肾上腺素既激动 α 受体, 又激动 β 受体, 前一作用可使 cGMP 增加, 后一作用则使 cAMP 增加。应用 β 阻断剂后, 前一作用仍存在; 应用 α 阻断剂后, 则后一作用仍出现。

5. 有些刺激因素作用于 cGMP 系统时, 先有细胞功能变化, 然后才有 cGMP 含量的变化。这种情况, 在 cAMP 系统也有发现。此外, 还有一个值得注意的现象, 即将 PDE 抑制剂用于完整细胞, 可见 cAMP 和 cGMP 都增加。其中, cGMP 增加非常显著, cAMP 增加较少。因此, 可以认为在细胞内 cGMP 的更新率比 cAMP 快得多。

三、cAMP/cGMP 与阴阳学说

Goldberg 提出, cAMP 和 cGMP 相对含量 (即 cAMP/cGMP 比值) 的变化可能比其中任何一个绝对量的变化更为重要。Kim (1976) 支持 Goldberg 的观点, 他认为 cAMP 和 cGMP 作用相反, 不仅符合阴阳的概念, 而且用以解释针刺作用原理。他把 cAMP、cGMP 称为针刺作用的第二介质, 以“推-拉”(Push-Pull) 的方式相互起作用。

下面是一些可以作为支持 Goldberg 阴阳学说的实验资

料:

(一) 心肌

心肌收缩力的增进与心肌cAMP浓度的增加相联系; 而心肌收缩力的抑制则和cGMP含量的增高相联系。

George等用乙酰胆碱灌注离体大鼠的心脏时, 心肌的收缩性受到抑制, 心室肌肉中cGMP的含量迅速增高3倍。在cGMP含量上升后, 或者与此同时, cAMP的含量下降。不过这一实验还不能确定cGMP含量的增高是否先于神经体液所诱导的机械功能变化, 或者两者是同时发生的。George等又发现, 对心肌收缩功能起促进作用的异丙肾上腺素可使心肌cAMP形成增加, 而cGMP的含量下降(约50%)。使用豚鼠的心脏作心房灌注的一系列实验结果说明, 在用乙酰胆碱后, 组织内cGMP含量的上升发生在其收缩性被抑制之前约2~3秒钟。Wollenberger等发现蛙心环核苷酸水平的变化正好先于自发性收缩发生之前: cAMP中等程度增加(约50%), cGMP含量大幅度下降(约90%)。在松弛期, 各种核苷酸的含量都回到原来的水平。cAMP略下降(约30%), cGMP显著上升(9倍)。当然, 这一现象可能有不同的解释和推测, 但在目前还是可作为阴阳学说的依据之一。

(二) 平滑肌

乙酰甲基胆碱和其他能刺激子宫平滑肌收缩的物质(如加压素、5-羟色胺、PGF_{2α})都能增进离体大鼠子宫中cGMP的积累而不影响组织中cAMP的浓度。cAMP(或其二丁酰衍生物)或那些可以促进cAMP积累的物质, 一般都可以促进和上述相反的作用即松弛大鼠子宫肌。Diamond和Hartle(1974)没有能观察到乙酰甲基胆碱所引起的大鼠子宫

cGMP 浓度增加的情况，但却在离体的豚鼠子宫见到其延迟的增升（即在收缩发生之后）。

乙酰甲基胆碱可使分离的子宫内膜组织中cGMP在2秒钟内显著增加30%，在15秒钟内cGMP浓度加倍。在分离的宫肌条（组织学上不含宫内膜）遇到乙酰甲基胆碱5秒钟后，其cGMP含量开始是下降的（约下降60%），其后即稳步上升，在30秒钟时超过对照组75%，60秒钟达100%。分离的宫肌细胞在遇到乙酰甲基胆碱1秒钟后，cGMP含量立即增高并持续上升约30秒钟。对cGMP无作用的阿托品可以防止乙酰甲基胆碱诱导的cGMP增高。

目前，对上述现象虽然还不能作出更明确的解释，但可以部分地支持以下假说：收缩剂能促进宫肌cGMP的积累；而松弛剂的作用则与cAMP含量的增高相联系。

对犬、牛的静脉平滑肌收缩性实验清楚地表明，cGMP促进收缩，cAMP抑制收缩。把成对犬的隐静脉或牛总趾背静脉的长条用PGF_{2α}刺激，使之收缩，在15~30秒钟内cGMP的浓度即行增高。尽管其对cAMP浓度的影响不一，但是它们的cGMP/cAMP比值则明显增高达200~300%。在给予血管平滑肌松弛剂PGE₁或异丙肾上腺素后，cGMP/cAMP比值即显著下降（下降60%）。

此外，输精管、肠和胆囊的平滑肌收缩，也都伴有cGMP的上升。能引起这种效应的激素还有组胺、α-肾上腺素能物质以及缩胆囊素-肠促胰液素（CCK-PZ）。

（三）骨骼肌

肌萎缩病人肌肉中蛋白质分解增多，氨基酸释出增加。骨骼肌培养试验中，cAMP使正常肌肉氨基酸释出减少，cGMP使正常肌肉氨基酸释出增加。至于萎缩肌肉的氨基酸

释出则没有变化，这可能是萎缩肌肉的氨基酸释出已很多，而不能再进一步增加。在动物试验可见，肌萎缩时，cAMP系统活性受抑制，cGMP系统则增强。对照组动物给肾上腺素后，肌肉AC活性大大加强，cAMP含量也增加；肌萎缩动物给肾上腺素后对AC活性则无影响。肌萎缩动物的肌肉氨基酸释放增加，cAMP不能抑制这一过程。

cGMP对磷酸果糖激酶有抑制作用，cAMP对之则有刺激作用。有人认为，肌萎缩可能与cGMP含量升高，影响磷酸果糖激酶活性有关。

(四) 血小板凝集

血小板凝集是一种可被cAMP抑制的细胞过程。早年的研究发现巴豆醇豆蔻乙酯(PMA)可以刺激血小板凝集及血小板内cGMP浓度的升高。在肾上腺素诱导的血小板凝集出现之前，也出现血小板内cGMP含量迅速显著上升的现象。用白蛋白溶液洗过的血小板在肾上腺素溶液的诱导下，在2~3秒钟内其cGMP含量即上升10倍或更多；到15秒钟下降至基础水平之后又重新升高。后来发现，单独用抗坏血酸(肾上腺素溶液里用抗坏血酸作抗氧化剂)也可引起cGMP含量的显著增高。血小板中cGMP浓度的增高可看做是由于抗坏血酸引起的，而等克分子浓度的其他还原剂如巯乙醇和谷胱甘肽等，都没有这种作用。

cAMP对血小板的凝集，其调节作用显然与cGMP不同。例如，以PGE₁促使cAMP含量增加而抑制血小板凝集；但cGMP含量的增加，甚至是在抗坏血酸和肾上腺素结合使用时，也无力制止凝集过程的进行。换言之，单独用抗坏血酸(不加肾上腺素)使血小板内cGMP含量上升也并不能使血小板凝集。由此可见，cGMP可能与血小板的凝集并

无直接联系，但是，由于血小板凝集剂促进钙的内流，而cGMP可能与钙起协同作用以促进此种反应；另一可能性是细胞内原有的cGMP水平在某种情况下由于这种或其他系统中细胞浆里钙的增多而发挥作用。当然，为了证实这种可能性必须把细胞里的cGMP消耗干净，这在目前是办不到的。

已知对血小板凝集过程起抑制作用的阿司匹林，能使血小板内cGMP的含量下降。

(五) 免疫

多数材料表明，抑制免疫的物质可刺激cAMP系统，刺激免疫的物质则增强cGMP系统。如刀豆素刺激T细胞繁殖，将其加于T细胞，可使cGMP增加5~6倍。能刺激淋巴细胞免疫功能的物质，如咪唑类能刺激DNA合成，也能使其中cGMP增加。给淋巴细胞外加cGMP或其衍生物二丁酰cGMP可促进其繁殖；二丁酰cAMP则抑制其繁殖，若此时再加入cGMP可以逆转这种抑制（表1-1）。

表1-1 cAMP和cGMP对免疫活性细胞的作用

免疫活性细胞的作用名称	cAMP	cGMP
(1) T 淋巴细胞对靶细胞的杀伤能力	抑 制	促 进
(2) B 淋巴细胞→浆细胞，产生抗体	抑 制	促 进
(3) 单核细胞→巨噬细胞及其吞噬能力	抑 制	促 进
(4) 中性粒细胞的吞噬能力	抑 制	促 进
(5) 肥大细胞释放组胺等物质	抑 制	促 进
(6) 血小板释放组胺等物质	抑 制	促 进

(六) 细胞的增殖分化

在细胞的增殖、分化过程中，也可以看到cAMP和cGMP的拮抗性代谢调节关系。许多组织培养的实验研究证明：细胞内如cGMP水平增高可能是细胞增殖的信号，而

cAMP水平的增高则抑制细胞分裂。

用化学致癌质引起小鼠乳腺肿瘤，可见对照动物的肿瘤一天天增大，而皮下注射二丁酰cAMP者，其肿瘤生长被抑制。还发现在这种肿瘤内cGMP含量很高，用二丁酰cAMP治疗后cGMP含量降低。

急性淋巴细胞性白血病人白细胞内cGMP含量很高，而cAMP只及正常人的四分之一。

直肠癌患者的癌组织中，也是cGMP含量增高，而cAMP含量低于正常人。

（七）细菌代谢与生长的控制

大肠杆菌和Licheniformis杆菌都含有cGMP。大肠杆菌的cGMP含量变动基本上与cAMP的变动相反。在葡萄糖浓度高的对数生长期，细胞内cGMP的含量最高，而cAMP的含量则最低。当培养液中葡萄糖被消耗，生长达到静止期时，cGMP含量下降到最低值，而cAMP含量却上升到最高值。假如，用琥珀酸盐代替葡萄糖作为碳源，使细菌保持较慢的生长速率，则其cGMP的含量也低些；假如用谷氨酸盐作为碳源时只可维持较慢速度的生长，其cGMP含量仅仅能达到用葡萄糖时的14%。

在Licheniformis杆菌加葡萄糖后，其cGMP含量也上升。

综上所述，Goldberg等所提出的阴阳学说，应用cAMP和cGMP常常呈拮抗性代谢调节的现象，以解释中医基础理论，引起了国内外学者的重视，特别对于如何从分子水平上研究中医学说中“阴”和“阳”的本质，更吸引了我国中医及中西医结合工作者的注意。目前，国内学者如邝安堃等通过测定cAMP/cGMP比值的改变，发现几种类型的“阴虚”

病人的cAMP/cGMP均升高,而几种类型的“阳虚”病人均降低,显示出比较明显的不同。汪春明等观察慢性再生障碍性贫血病人血浆cAMP和cGMP的变化,他们发现,3例脾肾阳虚型再生障碍性贫血,其cAMP/cGMP比值都较高,接近正常人;6例肝肾阴虚的cAMP/cGMP比值,则显著低于正常。

但是,目前多数学者认为,cAMP和cGMP的代谢调节是十分广泛和复杂的,有待于继续深入研究,特别是对中医学阴阳学说,更不应过于简单化。有的实验报告指出,cGMP还不能和cAMP列为同等重要的第二信使地位。Armato等将cAMP和cGMP加入新生大鼠的肝细胞培养基中,结果发现在肝细胞增殖的生理调节中,cAMP起主要作用,而cGMP仅起次要、协调的作用,两者不是对等的相互拮抗。有的学者复习文献,总结了肝再生过程中环核苷酸在细胞内含量和分布变化的一般规律,发现在肝部分切除后有两个cAMP的上升峰,并认为cAMP第二个上升峰是DNA合成所必需。至于cGMP在肝部分切除后未检测到量的改变,有可能是通过在细胞内分布部位的改变来影响肝再生过程。但是并没有发现cAMP和cGMP的变化之间存在相互消长的拮抗性关系。Goldberg在1980年冬访华期间也对其假说作了进一步阐述,认为中医学中的阴阳学说是比较复杂的,不能简单地将cAMP和cGMP直接等同于阴和阳。著者等对于这一问题曾作过一些实验研究和临床观察,初步体会是,能否以cAMP/cGMP比值来区别阴虚和阳虚证,必须有更多的实验材料才能得出正确结论。

(方正沅)