

不同泌乳阶段山羊乳中环核苷酸的变化

王秋芳 欧阳五庆 李志荣

(西北农业大学 陕西杨陵 712100)

摘要 用放射免疫法测定了健康奶山羊不同泌乳阶段乳中环腺苷酸 (cAMP)、环鸟苷酸 (cGMP) 的浓度, 结果发现乳中环核苷酸随不同泌乳阶段发生不同变化, cAMP 与 cGMP 的变化趋势基本相反。在泌乳发动期, cGMP 浓度变化剧烈 (9.5~108.0 pmol/ml), 分娩前 2 天达峰值, 分娩后迅速下降。泌乳维持期, cAMP 一直保持较高水平 (2.1~3.3 nmol/ml)。泌乳减退期, cAMP 浓度下降迅速 (0.9 nmol/ml)。同时, 乳中 cAMP 和 cGMP 均与产乳量显著相关。

关键词 泌乳; cAMP; cGMP

自 60 年代初, Sutherland 和 Ashan 分别发现 3', 5' 环腺苷酸 (Cyclic Adenosine 3', 5'-Monophosphate; cAMP) 与 3', 5' 环鸟苷酸 (Cyclic Guanosine 3', 5'-Monophosphate; cGMP) 以来, 人们对环核苷酸进行了大量研究, 证明它们是广泛存在于动物体内的小分子调节物质。在机体正常生命活动中, 以介导激素、递质或其他调节剂对细胞作用的方式, 通过改变细胞蛋白激酶活性或调控基因表达实现对细胞代谢、生长、分化及各种生理功能的调节作用。

乳腺的泌乳功能受多种激素的综合调控, 因此环核苷酸在泌乳生理过程中必然有其重要作用。30 多年来, 人们对大鼠、小鼠、豚鼠、兔等实验动物进行了乳腺及乳中环核苷酸的深入研究, 取得了离体培养与活体观察的大量资料, 但对奶畜 (如奶牛、奶羊) 的研究相对较少, 尤其是在活体条件下, 环核苷酸对奶畜泌乳的调节作用机理尚不够清楚, 因此这方面的研究尚待深入。本试验系统测定了山羊不同泌乳阶段乳中环核苷酸的变化, 分析了不同泌乳阶段环核苷酸的变化规律及它们与产奶量的关系。

1 材料与方法

1.1 供试动物

选预产期接近, 健康的 3~5 岁西农莎能奶山羊 20 只, 分娩后哺乳羔羊 3~4 天开始正常挤奶, 每日 3 次 (8 h、15 h、21 h), 记录奶量。

1.2 采奶样时期

泌乳发动期, 于产前 3 天 (-3) 开始采样, 用实际分娩日期 (0) 较准, 采样时间为 -4、-3、-2、-1、0、1、2、4 天。泌乳维持期, 从分娩后第 15 天起, 每 15 天采样 1 次,

• 国家自然科学基金资助项目

承蒙王建辰教授审阅, 谨致谢忱。

收稿日期 1992-12-30 修回日期 1993-04-09

连续 10 次。泌乳减退期, 停止挤奶前 1 个月, 每 15 天采样 1 次。

奶样均于 15 h 采混合乳样 10 ml 于试管内, 离心去脂肪; 加过氯酸去蛋白, 用 KOH 中和调 pH 至 7~8, 贮存冰箱, 待测 cAMP、cGMP 的含量。

环核苷酸含量测定, 按西安第四军医大学生化教研室建立的 cAMP、cGMP 放射免疫测定法进行。测定灵敏度为 0.095 pmol/管, 批内变异系数 6.5%, 回收率 98.25%。放射免疫测定药盒由第四军医大学提供。

2 研究结果

泌乳发动期, 乳中 cAMP 与 cGMP 变化剧烈 (图 1)。cGMP 含量在分娩前急剧上升, 于分娩前 2 天达到高峰。分娩后突然下降, 其波动范围在 95~108.0 pmol/ml 之间。cAMP 浓度变化与 cGMP 基本相反, 分娩前波动不大, 分娩后急剧升高, 其波动范围在 0.7~2.9 nmol/ml 之间。cAMP/cGMP 的值分娩前一般很小, 分娩后明显增大。

泌乳维持期, 分娩 15 天以后, 乳中 cAMP 浓度一直维持在较高水平 (2.1~3.3 nmol/ml), 而 cGMP 浓度较低 (9.0~70.4 pmol/ml), 二者的比值普遍较高。在泌乳高峰期 (分娩后 70 天左右), cAMP 与 cGMP 的浓度均有所升高。

泌乳减退期, 停止挤奶前 1 月左右, 羊只妊娠, 产乳量显著降低, 乳中 cAMP 大幅度下降, 而 cGMP 浓度稍回升。cAMP 与 cGMP 比值降低。

经线性相关分析, cAMP 和 cGMP 均与产乳量显著相关 ($r_{cA}=0.6724$, $r_{cG}=0.5110$; $p<0.05$), 而 cAMP/cGMP 与乳量相关性不强 ($r=0.233$, $p>0.05$)。

3 讨论

3.1 乳中环核苷酸的变化

环核苷酸系体内小分子调节物质。当激素、递质或其他调节剂影响细胞内环核苷酸的合成和分解时, 可使其含量发生显著变化。细胞内产生的环核苷酸在发挥其调节作用的同时, 部分被磷酸二酯酶破坏, 部分通过细胞膜进入体液, 并在细胞内外发生迅速双向移动, 以保持动态平衡^[1]。本试验的测定结果, 不仅说明乳腺中环核苷酸变化符合上述观点, 而且还表明, 乳中环核苷酸浓度变化在一定程度上反映着不同泌乳阶段乳腺随激素水平而发生的机能变化。和豚鼠、羊及人乳中环核苷酸^[2~4]水平相比, 本结果与之相近。乳中环核苷酸水平平均比血浆、脑脊液、尿液中的高 (一般高出 1~2 数量级), 尤其是 cAMP。这表明乳中环核苷酸浓度与乳腺细胞的分泌机能有关。推测乳腺环核苷酸不仅仅在细胞膜内外发生双向移动, 而且有可能以某种途径被细胞大量分泌到乳中, 即参与泌乳过程, 对乳腺环核苷酸浓度起一定调节作用。

3.2 环核苷酸与泌乳

由结果看出, cAMP 和 cGMP 不仅随泌乳阶段发生明显变化, 而且与乳量显著相关。这

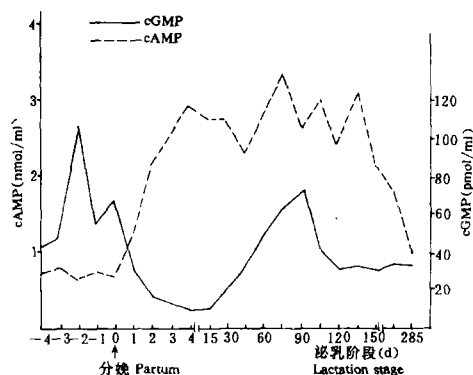


图 1 不同泌乳阶段山羊乳中 cAMP 和 cGMP 的变化 ($\bar{X} \pm S$)

Fig 1 The changes of goat milk cAMP and cGMP at different lactation stages

进一步说明 cAMP 和 cGMP 是继激素作用之后调控乳腺细胞内生乳、泌乳活动的重要物质。象 Rillema 报道的那样,催乳素的泌乳作用是通过提高 cGMP 水平和降低或维持 cAMP 水平而实现的^[5]。然而 cAMP 和 cGMP 如何进行调控,目前尚不十分清楚,尤其是对 cGMP 的了解更少。多数报道认为, cAMP 可降低豚鼠、小鼠、大鼠、兔子等乳腺核糖核酸 (RNA)、乳糖、乳脂、酪蛋白等的合成,减弱一些酶的活性,因而抑制乳的生成^[6~10], 还认为 cAMP 能使蛋白质从内质网向质膜转移,从而促进乳成分的分泌^[11]。也有少数人发现 cAMP 有促进乳腺 RNA 的合成作用^[12], cGMP 对乳腺机能活动的影响,主要是通过促进乳腺 RNA 合成^[5,13], 增加功能蛋白含量,进而加速乳成分尤其是乳蛋白的合成。可见 cAMP 和 cGMP 在调控乳成分生成和分泌的过程中作用不同, cGMP 主要促进乳汁生成, cAMP 主是促使乳汁分泌。对照我们所测乳中 cAMP、cGMP 浓度变化规律及它们与产乳量的相关性,与上述观点十分相符。在泌乳发动期,首先是 cGMP 浓度急剧上升, cAMP 浓度相应下降,使生乳作用进一步加强、乳成分大量生成。分娩后 cAMP 浓度大幅度上升, cGMP 明显下降,使乳汁开始大量分泌。泌乳维持期,乳中 cAMP 浓度始终很高, cGMP 浓度较低,但在泌乳高峰期浓度均有所上升,这些变化使乳腺细胞继续维持旺盛的生乳、泌乳机能。泌乳减退期,由于妊娠开始,体内激素水平发生改变,乳中 cAMP 浓度明显下降,而 cGMP 稍有回升,二者的比值下降,乳腺的生乳、泌乳作用显著减退。cGMP 和回升可能与组织更新、修复有关。

从乳中 cAMP 和 cGMP 浓度的不同变化规律及它们对乳腺生乳、泌乳功能的不同调节作用可以看出, cAMP 和 cGMP 是乳腺细胞内一对互相颉颃、互相制约的调节物质,它们的消长变化和相对含量与细胞的泌乳机能有关。这些与 Goldberg 提出的“阴阳学说”相似。Goldberg 认为, cAMP 和 cGMP 可能就是中医阴阳的物质基础; cAMP 属阳, cGMP 属阴,正常细胞的生理效应和代谢调节活动,可能与 cAMP 和 cGMP 这对阴阳物质的消长变化的动态平衡有关^[14]。

究竟如何使 cAMP、cGMP 这对阴阳物质基础的变化达到有利于细胞生乳、泌乳的最佳平衡状态,这是人们期待深入研究的问题。

参 考 文 献

- 1 郑广华. 环核苷酸与临床. 天津科技出版社, 1985. 1~8
- 2 Loizzi R F. Cyclic AMP changes in guinea pig mammary gland and milk. Am. J. Physiol, 245 (Endocrinol Metab. 8): 549~554
- 3 Biatchford D Q *et al.* Cyclic nucleotides in goat's milk changes with physiological state. Comp Biochem, physiol. 1984, 78 (1): 203~206
- 4 Skala T P *et al.* Cyclic nucleotides in breast milk. Am. J. Clin Nutr. 1981, (34): 343~350
- 5 Rillema J A. Cyclic nucleotides and the effect of prolactin on uridine incorporation into RNA in mammary gland explants of mice. Horm. Metab Res, 1975 (7): 45
- 6 Loizzi R F *et al.* Inhibition by cyclic AMP of lactose production in lactating guinea pig mammary gland slices. Biochim Biophys. Acta, 1975, (392): 20~25
- 7 Perry J W *et al.* Cyclic AMP as a negative regulator of hormonally induced lactogenesis in mouse mammary gland organ culture. Proc Natl. Acad. Sci USA, 1980, (77) 2093~2097
- 8 Sapag-hagar M *et al.* The effect of dibutyl cAMP on enzymatic and metabolic changes in explants of rat mammary tissue. Biochem. Biophys. Res. Commun, 1974, (59): 261~268

- 9 Speake B R *et al.* Regulation of enzyme turnover during tissue differentiation. Interactions of insulin, prolactin, and cortisol in controlling the turnover of fatty acid synthetase in rabbit mammary gland in organ culture. *Biochem. J.*, 1976, (154): 359~370
- 10 Sheffield L G. Cyclic nucleotides concentrations and protein kinase activities of bovine mammary tissue maintained in athymic nude mice; Effects of mammogenic and lactogenic hormones. *J. Dairy Sci.*, 1988, (71): 75~83
- 11 Park C S *et al.* Selected hormonal effects on protein secretion and amino acid uptake by acini from bovine mammary gland. *Int J. Biochem.*, 1979, (10): 889~894
- 12 Kleczkowska D *et al.* Cyclic purine nucleotides as modulators of RNA synthesis in rabbit mammary gland. *Bull. Acad. Pol. Sci. Biol.*, 1976, 24 (4): 189~193
- 13 Rillema J A. Possible interaction of Cyclic nucleotides with the prolactin stimulation of casein synthesis in mouse mammary gland explants. *Biochim. Biophys Acta*, 1976, (432): 348~352
- 14 Goldberg N D *et al.* Advance in cyclic nucleotide research. Raven press, New york 1975, (5): 307

MILK CYCLIC NUCLEOTIDE CHANGES WITH VARIANT LACTATING STAGES*

Wang Qiufang, Ouyang Wuqing and Li Zhirong

(The Northwestern Agricultural University Shaanxi Yangling 712100)

ABSTRACT

The concentration of milk cAMP and cGMP in twenty goats were measured by Radioimmunoassay at different lactation stages, the onset of copious milk secretion, the lactation maintenance and the lactation decline. The results showed that the concentration of milk cyclic nucleotide changed with variant lactation stages. The milk cGMP concentration was waved acutely (9.5~108.0 pmol/ml) at the onset of copious secretion, increased rapidly before parturition, reached to peak about 2 days of preparturition and decreased sharply after parturition, while the milk cAMP concentration was changed contrary. The milk cAMP concentration (2.1~3.3 nmol/ml) was much higher than cGMP (9.0~70.4 pmol/ml) during the stage of lactation maintenance. During the peaked lactation stage the milk cGMP concentration was increased. The milk cAMP concentration was decreased rapidly (0.9 nmol/ml) and cGMP increased lightly (34.0 pmol/ml) in the lactation decline period. The concentration of milk cAMP and cGMP were associated with milk yield.

Key words Lactation; cAMP; cGMP