

急性低氧及力竭运动对大鼠骨骼肌肌球蛋白重链(MHC)亚型基因表达的影响

Influence of Acute Hypoxia and Exhaustive Exercise on Gene Expression of Myosin Heavy Chain Isoforms of Skeletal Muscle in Rat

潘同斌¹, 毛杉杉², 王瑞元², 袁建琴²PAN Tong-bin¹, MAO Shan-shan², WANG Rui-yuan², YUAN Jian-qin²

摘要: 研究急性低氧及力竭运动对大鼠骨骼肌肌球蛋白重链(MHC)亚型基因表达的影响。取健康SD雌性大鼠80只,随机分成4大组:常氧对照组(C),常氧力竭组(NE),低氧对照组(HC)和低氧力竭组(HE)。采用半定量反转录聚合酶链式反应(RT-PCR)法,测定各组骨骼肌MHC I, IIa, IIx, IIb 4种亚型的mRNA基因表达。结果表明,MHC各亚型mRNA所占百分比分析显示,单纯低氧能刺激MHC亚型mRNA表达出现“由慢到快”的趋势;力竭运动则能刺激MHC亚型mRNA表达出现“由快到慢”的趋势。关于MHC亚型转变在功能上的意义还有待进一步研究。
关键词: 急性低氧; 力竭运动; 肌球蛋白重链(MHC)亚型; 基因表达

Abstract: This paper analyzes the influence of acute hypoxia and exhaustive exercise on gene expression of myosin heavy chain isoforms of skeletal muscle in rat. 80 female SD rats are randomly divided into four groups: Control at normal oxygen condition, exhausting at normal oxygen condition, control at hypoxic condition, exhausting after hypoxic condition. The gene expression of skeletal muscle MHC-I, IIa, IIx, IIb isoform mRNA is determined by using the semi-quantitative reverse transcription PCR technology. The result shows that the percentage analysis of MHC isoform mRNA expression indicates there is a change trend of slow to fast caused by hypoxia, but a contrary tendency by exhausted exercise.

Key words: acute hypoxia; exhaustive exercise; myosin heavy chain isoforms; gene expression
中图分类号: G804.7 文献标识码: A

1 前言

关于低氧训练引起骨骼肌收缩蛋白的变化及其机制的研究很少,而急性低氧及力竭运动对骨骼肌肌球蛋白重链(myosin heavy chain, MHC)亚型影响的研究还未见报道。一般认为,不同运动模式和运动负荷可导致肌纤维类型发生不同转变^[1-3],耐力性训练可观察到IB型向IIA型转变,即“由快到慢”趋势,但是由IIA型转变为I型是非常困难的。目前许多研究^[4,5]证实耐力训练、阻力训练和速度训练后,II型肌纤维由IB向IIA转化,其基因表达也有类似的变化。另一方面, Bigard等(2000)用免疫组化及电泳方法观察了慢性低压低氧下,年轻大鼠骨骼肌的MHC组成^[6]。在跖肌(PLa),慢性低氧可导致IIa型纤维比例明显降低($P < 0.01$),而IIb型纤维百分比则相应升高,即慢性低氧可导致跖肌(PLa)的MHC组成出现“由慢到快”的转变,而运动则引起某些肌纤维组成“由快到慢”的趋势。但该研究未涉及其mRNA表达,且关于急性低氧及力竭运动对骨骼肌MHC蛋白亚型及基因表达的影响还未见报道,而此模型对收缩蛋白代谢的冲击是很大的,本研究旨在在这方面做一些探索。

2 研究方法

2.1 动物分组及处理

取健康SD雌性大鼠80只,7周龄,平均体重 $220 \pm$

25 g,由河北医科大学实验动物中心提供。随机分成4大组:常氧对照组(C),常氧力竭组(NE),低氧对照组(HC)和低氧力竭组(HE)。其中,HC、HE 2个低氧组在模拟4000m高原的低氧舱(氧浓度12.7%)进行低氧暴露及力竭后的低氧恢复(每天23h低氧,1h清扫及前期跑台适应),饲养温度 22 ± 3 ,3天后,NE、HE 2个运动组均在常氧下进行一次力竭性跑台下坡运动,跑速16m/min,坡度-16°,力竭标准为出现卧位跑、趴伏,“逃避反应”极差,降低跑速或短时间休息后(低于10min),仍无法持续运动。各组均于力竭后即刻、12h、48h用戊巴比妥钠腹腔麻醉,宰杀,迅速选取股四头肌样本液氮保存。

收稿日期: 2004-04-26; 修订日期: 2004-10-19

基金项目: 国家自然科学基金资助项目“低氧运动对骨骼肌蛋白代谢的影响及机理研究”部分内容。

作者简介: 潘同斌(1965-),男,江苏仪征人,副教授,博士,毕业于北京体育大学运动人体科学专业,主要研究方向为低氧运动对骨骼肌代谢的影响, Tel: (0514) 7321930, E-mail: panlichina@sohu.com.

作者单位: 1. 扬州大学体育学院,江苏扬州225002; 2. 北京体育大学人体运动科学学院,北京100084

1. Physical Education College, Yangzhou University, Yangzhou 225002, China; 2. Human Sport Science College, Beijing Sport University, Beijing 100084, China

2.2 测定方法

低氧设备: 采用 HYPOXIC TRAINING SYSTEMS, Hypoxico Inc (USA)。

用 RT-PCR 法^[7,8], 测定骨骼肌 MHC I, IIa, IIx, IIb 4 种亚型的 mRNA 基因表达。PCR 仪为 Biometra 公司(德)生产的 ThermoCycler。

先进行总 RNA 提取、逆转录(RT)(按试剂盒说明书), 然后进入 PCR 反应。PCR 过程:

1. 20 μ l PCR 反应体系: 10 \times PCR buffer 2 μ l, dNTP 0.5 μ l, Pex 3ant 1 μ l, Taq 酶 0.2 μ l, MgCl₂ 2 μ l, ddH₂O 7.3 μ l, 上、下游引物各 1 μ l(10 μ M), cDNA 模板 5 μ l(β actin 内参用 1 μ l 量)。

表 1 本研究实验大鼠骨骼肌 MHC 亚型引物序列一览表

Table 1 List of MHC Isoforms of Skeletal Muscle in Experiment Rat

	上游引物	下游引物
MHC I	5'A GGA GCGGTGCA GGA GTGT 3'	5'TCCTCA TGCCCTTCA CCGAC 3'
MHC IIa	5'A GCGGAA TGTTGA GGCTGTCA 3'	5'TGAACCTCGCGGCTCTTAC 3'
MHC IIx	5'GA GGCCA GGGTCCGTGAACT 3'	5'TTCA CCCGCA GCTTGTGAC 3'
MHC IIb	5'CTGA TCA CCA CCA CCA TA T3'	5'GTGA CCA TCCA CA GGAA CA TC3'
β actin	5'-TCA TGAA GTGTGACGTTGACA TCCGT-3'	5'-CCTA GAA GCA TTTGCGGTGCA CGA TG-3'

2. PCR 反应条件: 预变性: 94 10 min, 变性: 94 45 s, 退火: 55 45 s, 延伸: 72 1 min, 72 10 min。

3. 琼脂糖电泳: 5~ 10 V/cm, 约 1 h。用英国 Amersham 公司的 ImageMaster VDS analyzer 凝胶成像系统扫描分析。

2.3 统计分析

所有数值以“均数 \pm 标准差”表示。统计分析用 SPSS 11.0 软件完成, 各组间的两两比较采用方差分析的 LSD 方法, 结合 Excel 方法做图; 某些情况下用采用独立样本 *t* 检验, $P < 0.05$ 时统计具有显著性意义。

3 研究结果

急性低氧及力竭运动对骨骼肌 MHC 的影响, 结果可分两部分考虑: 1) MHC 及其亚型 mRNA 含量的变化, 2) MHC 各亚型 mRNA 所占百分比的变化。各亚型含量可表现出多种变化, 如同时上升、下降等, 但各亚型百分比相加为 100%, 只能是当一种亚型上升时, 另外几种必然下降, 故应分两部分分析。

3.1 骨骼肌肌球蛋白重链(MHC)及其亚型 mRNA 含量的变化

表 2 本研究各组大鼠骨骼肌肌球蛋白重链(MHC)及其亚型 mRNA 含量的变化(MHC/ β actin 内参)一览表

Table 2 List of Changes in MHC and Isoforms mRNA Content of Skeletal Muscle in Each Group

	n	I	IIa	IIx	IIb	总MHC
C	6	1.31 \pm 0.27	2.49 \pm 0.48	5.15 \pm 0.76	1.66 \pm 0.31	10.61 \pm 1.58
HC0	6	1.94 \pm 0.42*	3.94 \pm 0.78*	6.18 \pm 0.82	3.18 \pm 0.60**	15.23 \pm 2.72*
HC12	6	2.06 \pm 0.45*	3.45 \pm 0.60*	5.65 \pm 0.85	3.16 \pm 0.61**	14.31 \pm 2.48*
HC48	6	2.22 \pm 0.47*	4.08 \pm 0.76*	6.77 \pm 0.92*	3.04 \pm 0.56**	16.10 \pm 2.87*
HE0	6	1.03 \pm 0.22	2.69 \pm 0.57	4.38 \pm 0.79	1.11 \pm 0.23*	9.20 \pm 1.62
HE12	6	1.70 \pm 0.33	3.76 \pm 0.71*	6.29 \pm 0.65*	1.58 \pm 0.33	13.33 \pm 1.77*
HE48	6	1.71 \pm 0.32	3.79 \pm 0.65*	6.85 \pm 0.99*	1.76 \pm 0.30	14.11 \pm 2.11*
NE0	6	0.93 \pm 0.18*	2.29 \pm 0.40	3.93 \pm 0.57*	0.86 \pm 0.19**	8.01 \pm 1.21*
NE12	6	1.18 \pm 0.25	2.59 \pm 0.56	4.22 \pm 0.68	1.15 \pm 0.24*	9.14 \pm 1.37
NE48	6	1.53 \pm 0.30	3.74 \pm 0.69*	6.09 \pm 0.83	1.53 \pm 0.29	12.88 \pm 1.88

注: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; C——常氧对照组, HC——低氧对照组, HE——低氧力竭组, NE——常氧力竭组; 取样时间点为: 力竭后 0, 12 h, 48 h; 下同。

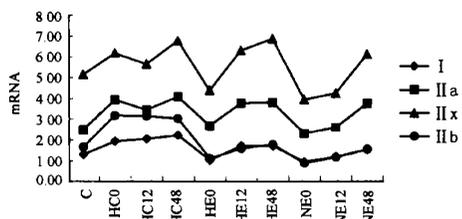


图 1 本研究各组大鼠骨骼肌肌球蛋白重链(MHC)亚型 mRNA 含量的变化曲线图(MHC/ β actin 内参)
Figure 1 Curve of Changes in MHC and Isoforms mRNA Content of Skeletal Muscle in Each Group

由表 2、图 1 可知, 与常氧对照组(C)相比, 低氧对照组(HC)总 MHC mRNA 含量显著升高 ($P < 0.05$), 4 种亚型均

表现为明显升高 ($P < 0.05, P < 0.01$), 各时间点无明显区别, 提示单纯低氧能刺激 MHC mRNA 及其亚型全面表达。

低氧力竭组(HE)总 MHC mRNA 含量在 12 h、48 h 后明显升高 ($P < 0.05$), 但力竭后即刻无明显变化; 其中, IIa、IIx 亚型 mRNA 含量变化规律与之一致; 但该组 IIb 型 mRNA 力竭后即刻明显降低 ($P < 0.05$), 12 h、48 h 后恢复正常水平。

常氧力竭组(NE)总 MHC mRNA 含量在力竭后即刻明显降低 ($P < 0.05$), 而后恢复正常水平, 其中, IIx、IIb 亚型 mRNA 含量变化与之相似; 但 IIa 型力竭后即刻、12 h 后变化不明显, 48 h 后则明显高于对照组。可见, 各组、各亚型 mRNA 表达量虽有差异, 但低氧或力竭后总体上以上升趋势为主。

3.2 骨骼肌肌球蛋白重链(MHC)亚型 mRNA 所占百分比的变化

由表 3、图 2 可知,与常氧对照组(C)相比,低氧对照组(HC)各时间点MHC-I 型及 I_{1a} 型 mRNA 所占百分比各组均无明显变化,但MHC-I_{1k} 型 mRNA 所占百分比明显下降($P < 0.05$),MHC-I_{1b} 型 mRNA 所占百分比则明显上升($P < 0.05$),提示单纯低氧可能刺激MHC mRNA 表达出现“由

慢到快”的趋势;另一方面,低氧力竭组(HE)及常氧力竭组(NE)MHC-I_{1b} 型 mRNA 所占百分比明显下降($P < 0.05$),MHC-I_{1a} 型 mRNA 所占百分比则明显上升($P < 0.05$),提示力竭运动可能刺激MHC mRNA 表达出现“由快到慢”的趋势,各时间点无明显差异。

表 3 本研究各组大鼠骨骼肌肌球蛋白重链(MHC)亚型 mRNA 所占百分比的变化一览表 (%)

Table 3 List of Changes in Percentage of MHC and Isoform smRNA of Skeletal Muscle

	n	I	I _{1a}	I _{1k}	I _{1b}
C	6	12.34 ± 1.89	23.47 ± 2.65	48.53 ± 4.96	15.66 ± 2.02
HC0	6	12.71 ± 1.79	25.89 ± 2.95	40.55 ± 4.13*	20.85 ± 3.15*
HC12	6	14.42 ± 2.25	24.08 ± 2.86	39.44 ± 3.92*	22.06 ± 3.32*
HC48	6	13.78 ± 2.31	25.32 ± 2.97	42.04 ± 4.30*	18.86 ± 2.98
HE0	6	11.22 ± 2.03	29.18 ± 3.35*	47.53 ± 6.28	12.07 ± 1.53*
HE12	6	12.78 ± 2.24	28.22 ± 3.15*	47.17 ± 6.78	11.83 ± 1.35*
HE48	6	12.13 ± 2.18	26.87 ± 2.95	48.54 ± 6.52	12.46 ± 1.42*
NE0	6	11.62 ± 1.96	28.58 ± 3.14*	49.05 ± 6.88	10.75 ± 1.46**
NE12	6	12.86 ± 1.88	28.34 ± 3.21*	46.23 ± 6.07	12.57 ± 1.49*
NE48	6	11.87 ± 1.97	29.03 ± 3.35*	47.25 ± 6.26	11.85 ± 1.43*

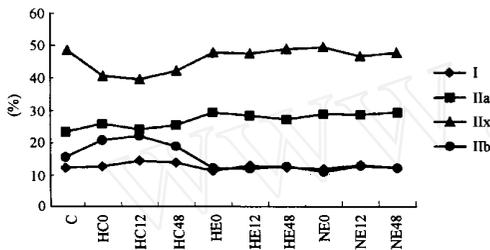


图 2 本研究各组大鼠骨骼肌肌球蛋白重链(MHC)亚型 mRNA 所占百分比的变化曲线图

Figure 2 Curve of Changes in Percentage of MHC and mRNA of Skeletal Muscle in Each Group

4 讨论

4.1 低氧、运动对骨骼肌肌球蛋白重链(MHC)及其亚型 mRNA 含量的影响

关于急性力竭运动对骨骼肌肌球蛋白重链(MHC)亚型 mRNA 的影响报道很少,低氧力竭运动的相关报道更少。王瑞元(2000)在这方面进行了纵向研究,结果显示,一次力竭性离心运动后大鼠骨骼肌MHC 及其亚型的基因表达均呈现出一定的波动^[8]。总的来说,大鼠骨骼肌总MHC mRNA 在运动后 6~12 h 低于安静对照组,运动后 48 h 明显升高,出现超量基因表达。本文的常氧力竭组(NE)的纵向分析结果与之基本一致,低氧组变化与之缺乏可比性,关于低氧的有关报道见下文 4.2 分析。

本研究结果(表 2、图 3)表明,各组、各亚型 mRNA 表达量虽有差异,但低氧或力竭运动后总体上大都表现为上升趋势,与下述报道有一致之处。

Willoughby 等(2002)观察了一次重阻力训练课对人体 MHC 亚型 mRNA 及转录因子 myogenin、MyoD 和 Id-1mRNA 表达的影响^[9]。结果练习组在运动后 6h, MHC I 型、I_{1a} 和 I_{1k} mRNA 分别提高 38.19%、45.61% 和 74.24% ($P < 0.05$),即一次重阻力训练课后,人体 3 种 MHC 亚型的表达均得到上调。MyoD 和 myogenin mRNA 在运动后即刻及运动后 6 h 亦显著提高($P < 0.05$)。但 Id-1mRNA 表达未

发生变化。结果还发现,MyoD 在快收缩肌肉中水平较高,似乎与人体 MHC I_{1k} 的表达有关;而 myogenin 在较慢收缩的肌肉中水平较高,似乎与 I 型、I_{1a} 型 MHC 亚型表达有关。

有证据显示,骨骼肌 MHC 亚型 mRNA 水平与其蛋白水平表达的不匹配,反映了 MHC 亚型 mRNA 与蛋白之间不同时间的上调和下调^[14]。因此,由于人体肌肉 MHC 蛋白亚型的缓慢变化,发生在阻力训练计划早期的 MHC mRNA 基因表达并不能代表发生在长时间阻力训练计划中的 MHC 蛋白亚型表达,故研究中应区别对待。

4.2 低氧、运动对骨骼肌肌球蛋白重链(MHC)亚型 mRNA 所占百分比的影响

关于 MHC 亚型变化的报道大都研究慢性耐力训练及阻力训练对它的影响,而低氧对 MHC 亚型的影响报道很少见。本研究室的实验模型,即急性低氧暴露及常氧力竭运动对骨骼肌 MHC 蛋白亚型及基因表达的影响,具有一定的探索性,还未见报道,故缺乏直接可比性。但本研究的急性低氧暴露实验结果与下述慢性低氧报道有一致的地方。Bigard 等(2000)用免疫组化及电泳方法观察了慢性低压低氧下,年轻大鼠骨骼肌的 MHC 组成^[6]。在跖肌(PLa),慢性低氧可导致 I_{1a} 型纤维比例明显降低($P < 0.01$),而 I_{1b} 型纤维百分比则相应升高。即慢性低氧可导致跖肌(PLa)的 MHC 组成出现“由慢到快”的转变,而耐力运动训练则引起肌纤维组成“由快到慢”的趋势。但两种因素共同作用时,在跖肌,并不出现简单的抵消作用,仍与慢性低氧的效应一致。可见,低氧引起的骨骼肌收缩蛋白变化更深刻,但该研究未测定 mRNA 水平的变化。

本研究结果(表 3、图 2)与常氧对照组(C)相比,低氧对照组(HC)各时间点 MHC-I 型及 I_{1a} 型 mRNA 所占百分比各组均无明显变化,但 MHC-I_{1k} 型 mRNA 所占百分比明显下降($P < 0.05$),MHC-I_{1b} 型 mRNA 所占百分比则明显上升($P < 0.05$),提示单纯低氧可能刺激 MHC mRNA 表达出现“由慢到快”的趋势,与上述报道一致;另一方面,低氧力竭组(HE)及常氧力竭组(NE)MHC-I_{1b} 型 mRNA 所占百分比明显下降($P < 0.05$),MHC-I_{1a} 型 mRNA 所占百分比则明

显上升($P < 0.05$),提示力竭运动可能刺激MHC mRNA表达出现“由快到慢”的趋势,其中,HE组在两种因素共同作用时,仍与NE组效应一致,提示力竭运动引起的变化可能比低氧更深刻,这是与上述慢性低氧报道的差异所在。

另外,关于运动的影响,Allen等(2001)观察了小鼠心肌和骨骼肌对滚轮耐力运动的适应。结果在骨骼肌,无论采用电泳及组化方法,运动2周后表达MHC IIa的肌纤维百分数在腓肠肌和胫前肌均明显升高;4周运动后表达MHC IIb的肌纤维百分数在两种肌肉中则明显降低,出现MHC IIb向IIa表达的转变,即“由快到慢”的转变趋势^[3]。本实验一次性耐力运动的变化趋势与之相似。在Caizzo等的电刺激实验中,总体亦表现为“由快到慢”的转变趋势^[4],与耐力运动训练的效应相近,亦与本研究一次力竭性耐力运动后引起的变化相近。

关于肌肉收缩蛋白变化的原因,有报道显示^[10],当CP、ATP水平持续下降时,肌肉的收缩蛋白会发生变化,因此,认为高能磷酸化物水平(CP、ATP)可能改变肌肉收缩蛋白的合成。Gutierrez等(1989)报道,在游离的兔后肢肌肉准备液中,低氧可导致CP明显下降,可能引起肌肉收缩蛋白的变化;关于低氧运动后高能磷酸化物在肌纤维组成变化中的角色,还需实验进一步证实^[11]。Itoh等(1990)根据自己的研究结果认为,慢性低氧导致的肌纤维组成的变化,是一种通过中间类型的转变,而不是快肌纤维(FG)或慢肌纤维(SO)的新生或消失,且快肌及慢肌纤维组成的转变方向有很大的差异^[12]。肌纤维类型转变及相应的氧化酶活性变化可发生在单纯慢性低氧条件下,而不一定伴随其他生理刺激。

关于MHC亚型转变在功能上的意义,目前还未有定论。笔者推论,运动引起某些肌纤维组成“由快到慢”的变化趋势,可能与抗疲劳适应有关,而低氧导致MHC组成出现“由慢到快”的转变,则可能提高低氧应激下的肌肉功率。将来的研究应该针对:1)控制转录及翻译机制的信号途径及执行机制,以及转录和翻译能控制MHC可塑性的明显程度;2)表达如此多样性运动蛋白的肌纤维的形态组织和功能执行能力。骨骼肌MHC亚型及基因表达可以通过多种不同的信号途径和分子机制进行调控。现在研究比较多的两条途径是肌源调节因子^[13](myogenic regulatory factor MRFs)途径和钙—钙调磷酸酶—活性T细胞核因子(NFAT)途径。

5 结论

从基因表达水平观察,与常氧对照组(C)相比,低氧对照组(HC)大鼠骨骼肌肌球蛋白重链(MHC)及各亚型mRNA表达量均显著升高($P < 0.05$),各时间点无明显区别;其他组几种亚型mRNA表达量虽有差异,但低氧或力竭运动后各组总体上表现为上升趋势。另一方面,MHC各亚型mRNA所占百分比分析显示,单纯低氧能刺激MHC亚型mRNA

表达出现“由慢到快”的趋势;而力竭运动可能刺激MHC mRNA表达出现“由快到慢”的趋势。其功能上的意义有待进一步探讨。

参考文献

- [1] SULLIVAN V K. Myosin Heavy Chain Composition in Young and Old Rat Skeletal Muscle: Effects of Endurance Exercise[J]. *J Appl Physiol*, 1995, 78(6): 2115-2120
- [2] ANDERSEN J L. Myosin Heavy Chain Isoforms in Single Fibres from m. Vastus Lateralis of Sprinters: Influence of Training[J]. *Acta Physiol Scand*, 1994, 151: 135-142
- [3] ALLEN D L, et al. Cardiac and Skeletal Muscle Adaptations to Voluntary Wheel Running in the Mouse[J]. *J Appl Physiol*, 2001, 90: 1900-1908
- [4] CAIZZO V J, et al. Influence of Mechanical Loading on Myosin Heavy-chain Protein and mRNA Isoform Expression[J]. *J Appl Physiol*, 1996, 80(5): 1503-1512
- [5] O'NEILL D S, et al. Effect of Endurance Exercise on Myosin Heavy Chain Gene Regulation in Human Skeletal Muscle[J]. *Am J Physiol*, 1999, 276(45): R414-R419
- [6] BIGARD A X, et al. Myosin Heavy Chain Composition of Skeletal Muscles in Young Rats Growing under Hypobaric Hypoxia Conditions[J]. *J Appl Physiol*, 2000, 88: 479-486
- [7] F. 奥斯特伯著, 颜子颖, 王海林译. 精编分子生物学实验指南[M]. 北京, 科学出版社, 2001.
- [8] 王瑞元. 一次力竭性离心运动后大鼠骨骼肌 α -actin代谢、 α -actin和MHC基因表达及针刺对其影响[D]. 北京体育大学博士学位论文, 2000
- [9] WILLOUGHBY D S, et al. Myosin Heavy-chain mRNA Expression after a Single Session of Heavy-resistance Exercise[J]. *Med Sci Sports Exe*, 2002, 34(8): 1262-1269
- [10] LAIM M, BOOTH F W. Cytochrome c mRNA and α -actin mRNA in Muscles of Rats Fed α -GPA[J]. *J Appl Physiol*, 1990, 69: 843-848
- [11] GUTIERREZ G, et al. Skeletal Muscle O₂ Consumption and Energy Metabolism during Hypoxemia[J]. *J Appl Physiol*, 1989, 66: 2117-2123
- [12] ITOH K, et al. Hypoxia-induced Fibre Type Transformation in Rat Hindlimb Muscles[J]. *Eur J Appl Physiol*, 1990, 60: 331-336
- [13] CARLSEN H, K GUNDERSEN. Helix-loop-helix Transcription Factors in Electrically Active and Inactive Skeletal Muscles[J]. *Muscle Nerve*, 2000, 23: 1374-1380
- [14] ANDERSEN J, SCHIAFFINO. Mismatch between Myosin Heavy Chain mRNA and Protein Distribution in Human Skeletal Muscle Fibers[J]. *Am J Physiol*, 1997, 272: C1881-C1889