

# 吗啡样神经肽及其基因的一级结构研究

李 凌 松

(军事医学科学院基础医学研究所, 北京)

## 提 要

中枢神经系统吗啡样神经肽有三大系统, 分别来源于三种前体。这些前体分子及其基因的一级结构已经阐明。

迄今为止, 在中枢神经系统已经发现 100 多种神经肽<sup>[1]</sup>。虽然对于大多数神经肽的来源、分布及功能还不清楚, 但有关吗啡样神经肽, 我们已有了一定的认识。特别是基因工程在神经生物学中的应用, cDNA 克隆技术以及 DNA 序列测定, 为研究神经肽提供了极大的方便。

所谓吗啡样神经肽, 是神经系统内固有的一类中小分子肽, 它们具有吗啡样的药理作用, 如镇痛、安眠等。而吗啡的药理机制正是基于它的结构与这类神经肽相似。其实, 这类神经肽具有远不止我们所知道的类吗啡功能。它们分别来源于不同的前体, 这些前体在不同脑区的选择性表达或选择性裂解, 产生了多种中小分子肽。它们各具不同功能, 在中枢神经系统形成三大家族<sup>[2]</sup>: POMC 系统 (proopiomelanocortin)、脑啡肽前体系统 (proenkephalin) 和强啡肽前体系统 (prodynorphin)。

## 一、吗啡样神经肽的三大系统

POMC 分子量为 31000 道尔顿<sup>[3]</sup>。它可裂解产生 ACTH (促肾上腺皮质激素) 和  $\beta$ -LPH ( $\beta$ -lipotropin, 促脂激素)。ACTH 内含  $\alpha$ -MSH (促黑激素) 及 CLIP (corticotropin-like intermediate-lobe peptide, 类皮质激素中叶肽) 的完整结构; 而  $\beta$ -LPH 可衍生出  $\gamma$ -LPH、 $\beta$ -MSH 及内啡肽 (endorphin)<sup>[4]</sup>。根据一级结构的差异, 内啡肽分为  $\alpha$ -内啡肽 ( $\beta$ -LPH 61—

76)、 $\gamma$ -内啡肽 ( $\beta$ -LPH 61—77) 和  $\beta$ -内啡肽 ( $\beta$ -LPH 61—91)<sup>[5]</sup> 等。另外, 在 POMC 的 N 末端, 有一段与  $\alpha$ -MSH 及  $\beta$ -MSH 的氨基酸残基序列很相似的十一肽, 乃为  $\gamma$ -MSH (图 1)。

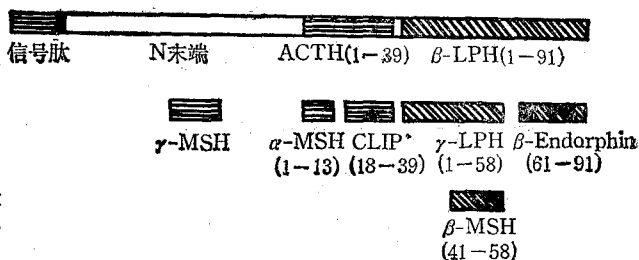


图 1 POMC 及其衍生肽示意图<sup>[13]</sup>

图中数字为氨基酸残基序号

在 POMC 系统中, 对 ACTH 的研究最深入。许多哺乳类动物的 ACTH 都由 39 个氨基酸残基组成, 分子量 4500 道尔顿。它的活性中心是第 4—10 氨基酸残基组成的七肽, 但其活性只有 ACTH 的百分之一。ACTH 的 1—18 残基片段是受体结合部位, 19—24 及 34—39 两片段与 ACTH 的稳定性有关, 而 ACTH 的 25—33 片段表现出种属差异<sup>[6]</sup>。ACTH 的主要功能是作用于肾上腺皮质, 促进糖皮质激素和盐皮质激素的合成与分泌。它还作用于胰岛  $\beta$ -细胞, 促进胰岛素的释放。此外, ACTH 还有分解脂肪的功能<sup>[7]</sup>。

吗啡样神经肽的另一大家族是脑啡肽前体

系统。它们来源于共同的前体 proenkephalin, 最初由 Clement 等人从肾上腺髓质中分离出来<sup>[8]</sup>。有人把这种前体称为 preproenkephalin A, 而把强啡肽前体称为 preproenkephalin B<sup>[9]</sup>。

有关脑啡肽前体的结构, 文重等人已有综述<sup>[10]</sup>。另有三个内含片段分别为 MERGL, MERF 和 Metorphamide。在 Met-脑啡肽 C 端加上 Arg-Gly-Leu, 为 MERGL; 加上 Arg-Phe, 为 MERF; 若加上一个酰胺基, 则为 Metorphamide<sup>[2,11]</sup>(图 2)。

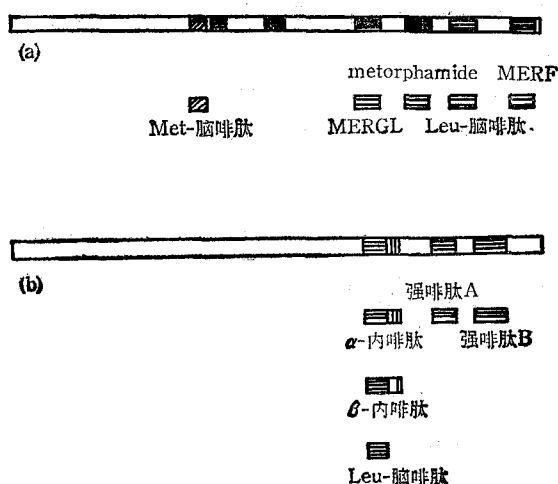


图 2

(a) 脑啡肽前体及其衍生肽<sup>[11]</sup>  
(b) 强啡肽前体及其衍生肽

强啡肽前体除含有 Met-及 Leu-脑啡肽外, 还包含了  $\beta$ -内啡肽、 $\beta$ -新-内啡肽、 $\alpha$ -新-内啡肽和强啡肽(图 2)。

强啡肽最初系从猪脑垂体 ACTH 粗制品中获得<sup>[12]</sup>。强啡肽 A 有 17 个氨基酸残基, 其一级结构已经阐明。其中前 13 个氨基酸残基片段——强啡肽 B 为活性部位, 后四个氨基酸残基起稳定作用<sup>[16,7]</sup>。

## 二、脑内吗啡样神经肽的分布

POMC 的衍生肽主要分布于垂体前叶和垂体中叶。无论是脑啡肽, 还是强啡肽, 在中枢神经系统的分布都比 POMC 广泛, 但分布量的差异很显著。在下丘脑, MERF 含量最高,

含量递减顺序为  $\alpha$ -新-内啡肽、MERGL 和强啡肽 B,  $\beta$ -新-内啡肽含量最低, 约为 MERF 的四分之一。在脊髓中, 含量的递减顺序为 MERGL, Leu-脑啡肽、MERF,  $\beta$ -新-内啡肽及  $\alpha$ -新-内啡肽, MERGL 为  $\alpha$ -新-内啡肽的三倍。在尾状核, MERF, MERGL, Leu-内啡肽和强啡肽 B 分别比 metorphamide 高出五倍、四倍、三倍和一倍<sup>[2]</sup>。

吗啡样神经肽在中枢神经系统的作用非常复杂, 它与神经递质的代谢有关, 与某些精神疾病有关<sup>[13]</sup>, 与大脑的高级神经活动(比如记忆)也有一定关系<sup>[13]</sup>。有人认为, 吗啡样神经肽与受体结合后, 通过第二信使 cAMP, 使离子通透性发生改变, 从而实现其生理功能<sup>[14]</sup>。1987 年 8 月在布达佩斯举行的第二届世界神经科学会议上, 专门讨论了不同类型吗啡样神经肽的生理和药理作用, 以及它们和神经递质的关系<sup>[15]</sup>。揭示各种神经肽的功能机制将是认识大脑的主要课题之一。

## 三、基因研究

吗啡样神经肽分别来源于各自的前体。那么, 各个中、小分子肽的基因在前体基因上是如何排布的呢? 要解决这个问题, 离不开基因工程的手段。实际上, 前面有关吗啡样神经肽的描述, 许多都来自基因分析。cDNA 克隆及 DNA 序列测定为神经肽的结构、来源和代谢等研究, 提供了直接的证据和重大的修正。

从富含某一种神经肽的组织中抽提 mRNA, 在反转录酶作用下, 体外合成 mRNA 的互补 DNA, 即 cDNA。将 cDNA 接入一定的载体系统, 并转化细菌, 使它在细菌内拷贝, 建成该组织的含有特定基因的 cDNA 文库。然后用同位素标记的一段寡聚核苷酸片段作为探针, 用杂交的方法从 cDNA 文库中筛选特定基因的 cDNA 克隆。如果有多个阳性克隆, 对它们分别进行 DNA 序列分析, 从而推测目的基因的完整序列。

1978 年, 东京大学 Nakanishi 等人构建了猪脑垂体的 cDNA 文库, 克隆了 POMC 基

因。现在已完全弄清了 POMC 的基因结构。POMC 基因有 1091 个碱基对,从 5' 末端开始的大约 500 个碱基对,除编码  $\gamma$ -MSH 的十一肽以及一段信号肽外,大都是非编码序列。ACTH 和  $\beta$ -LPH 的基因由大约 400 个碱基对组成,二者之间由编码 Lys-Arg 的六个碱基对隔开。其它中小分子肽基因在前体基因上的位点业已阐明<sup>[4]</sup>。

脑啡肽前体的基因长 1222 个碱基对。序列的 283—411 编码三个拷贝的 Met-脑啡肽;538—690 片段编码 Met-脑啡肽的衍生肽(Met-脑啡肽-Arg<sup>6</sup>-Gly<sup>7</sup>-Leu<sup>8</sup>),Met-脑啡肽和 Leu-脑啡肽;763—789 序列为一个七肽片段 Met-脑啡肽-Arg<sup>6</sup>-Phe<sup>7</sup> 编码<sup>[10]</sup>。前体基因中含有大量非编码序列。

强啡肽前体基因比前两个基因约大一倍,有 2333 个碱基对。核苷酸序列的 523—549 以及 625—675 两个片段编码  $\beta$ -新-内啡肽和强啡肽,而三个拷贝的 Leu-脑啡肽及其衍生肽由序列 682—696 编码<sup>[9]</sup>。

通过基因分析,直接证明了吗啡样神经肽来源于各自的前体,同时弄清了这些神经肽基因在各自前体基因中的位点以及各基因间的结构关系。当然也提出了新问题:同一系统的各种吗啡样神经肽来源于共同的前体,但各个肽在中枢神经系统的分布却有显著差异。比如:MERF 和 Metorphamide 都来源于脑啡肽前体,然而在尾状核,MERF 的含量却比后者高五倍。这当然可以用选择性基因表达和选择性前体裂解做原则性回答。但到底是怎样的机制呢?这种现象和中枢神经系统的高级活动又是怎样联系的?吗啡样神经肽是研究这些问题的良好模型。

## 四、展 望

中枢神经系统的功能非常复杂,每一种功能都有其内在的物质基础,神经肽就是其中最重要的一类。但是,中枢神经系统各种神经肽的含量很少,分离提纯极端困难。从基因着手,既可获得关于某种神经肽的基因结构的认识,从而推测该神经肽的一级结构;又可设法使该基因在适合的受体细胞中表达,产生相对丰富的特定神经肽,以利于神经肽本身的研究。随着基因工程技术的不断进步,这样的策略不但但是可行的,从某种意义上讲也是势在必行的。

## 参 考 文 献

- [1] Eipper, B. A. et al.: *TINS*, 1986, 9(10), 463.
- [2] Sonder, M. et al.: *J. Neurochem.*, 1987, 49, 671.
- [3] Meador-woodruff, J. H.: *Neuropeptides*, 1988, 11, 111.
- [4] Nakanishi, S. et al.: *Nature*, 1979, 278, 423.
- [5] Krieger, D. T. et al.: *Molecular Genetic Neuroscience*, Raven Press, New York, 1982, 207—210.
- [6] 蒋正齐:《激素的生物化学》,科学出版社,北京,1983,54—63。
- [7] Turner, A. J.: *Neuropeptides and Their Peptidases*, Ellis Horwood, Chichester (England), 1987, 10—13.
- [8] Clement, J. V. et al.: *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 1980, 95, 665.
- [9] Kakidani, H. et al.: *Nature*, 1982, 298, 245.
- [10] 文重等:《生物化学与生物物理进展》,1987,(6),26。
- [11] Nada, M. et al.: *Nature*, 1982, 295, 202.
- [12] Teschemacher, H. et al.: *Life Sci.*, 1975, 16, 1771.
- [13] Introini-collison, I. B. et al.: *Psychobiology*, 1987, 15(2), 171.
- [14] Mcfadzean, I. et al.: *Neuropeptides*, 1988, 11, 173.
- [15] 谢国玺:《生理科学进展》,1988,19(1),91。

[本文于 1988 年 6 月 18 日收到]