

- 7 Cawley D B, Hedblom M L, Houston L L. Arch Biochem Biophys, 1978; **190** (2): 744
8 Ziska P, Franz H, Kindt A. Experientia, 1978; **34**: 123
9 Franz H. Oncology, 1986; **43** (suppl 1): 23

Isolation and Properties of Toxic Lectin from *Viscum coloratum* (Beijisheng). Li Gee, Liu Qing, Yuan Xiaomei (*Research Institute of Chemical Defense, Beijing 102205, China*).

Abstract A *Viscum coloratum* lectin (VCL) was first separated from extracts of the stems and leaves of *Viscum coloratum* Chinese, an ordinary traditional medicine bejisheng, by

affinity chromatography on acid-treated Sepharose 6B and gel filtration on Sephacryl S-200, with $M_r = 52\ 000$, $pI = 10.5$. The LD_{50} was $4.4\ \mu\text{g}/\text{kg}$ for mice by intravenous injection. It's a toxic protein obtained from the plant with higher toxicity to mice. The crude extracts of the plant also have strong toxicity, because it's LD_{50} was $200\ \text{mg}/\text{kg}$ for mice by intraperitoneal injection and to be expressed as the amount of dry materials.

Key words Beijisheng, mistletoe, toxic lectin

高苯丙氨酸血症大鼠脑内单胺类递质的研究

万福生 南国华

(江西医学院生物化学教研室, 南昌 330006)

摘要 以 3 d 龄 Sprague-Dawley 大鼠腹腔注射苯丙氨酸 (Phe) 诱导高苯丙氨酸血症. 荧光法测定大脑皮层及其突触体中去甲肾上腺素 (NE)、多巴胺 (DA) 和 5-羟色胺 (5-HT) 含量; Y 型电迷宫法测其学习记忆能力. 结果显示: 高苯丙氨酸血症大鼠大脑皮层 NE、DA 及 5-HT 含量降低 38.6%~67.4%, 突触体中 NE、DA 和 5-HT 含量降低 51.9%~70.2%, 学习记忆能力明显低于对照组. 结果提示, 苯酮尿症智力障碍可能与大脑皮层及其突触体中某些单胺类递质含量降低相关.

关键词 高苯丙氨酸血症, 智力障碍, 单胺类递质, 行为测定, 对比研究

已知苯酮尿症 (phenylketonuria, PKU) 的智力障碍是由高苯丙氨酸血症所致, 但其影响机理至今尚未阐明. 据报道^[1,2], PKU 病人脑内单胺类递质含量有一定下降, 但 PKU 动物大脑皮层及其突触体中单胺类递质含量变化与智力关系的报道甚少. 本实验观测了高苯丙氨酸血症大鼠大脑皮层及其突触体中去甲肾上腺素 (NE)、多巴胺 (DA) 和 5-羟色胺 (5-HT) 含量及其与学习记忆能力的关系, 旨在探讨大脑皮层中单胺类递质的改变与智力障碍的关系.

1 材料与方法

1.1 主要试剂及仪器

多巴胺盐酸盐购自 FLUKA 公司; 去甲肾

上腺素酒石酸盐和 5-羟色胺硫酸肌酐为瑞士产品; L-苯丙氨酸为第二军医大学药学系产品. 其它试剂均为国产分析纯或优级纯. 日产 CS-930 型双波长薄层扫描仪; 日立 65-PT 型超速离心机; 美国 PERKIN-ELMER 公司的 MPF-66 型荧光分光光度计.

1.2 高苯丙氨酸血症诱导^[1]

选 3 d 龄 Sprague-Dawley 大鼠 (由本院动物室供给), ♂ ♀ 兼有. 随机分为对照组、实验组 I、实验组 II 和实验组 III. 实验组大鼠仅腹腔注射 3% Phe 液 (I 组: $0.8\ \text{g}/\text{kg}$; II 组: $1.0\ \text{g}/\text{kg}$; III 组: $1.2\ \text{g}/\text{kg}$), 一天两次, 连续

注射 7 d. 对照组注射等体积生理盐水. 在最后一次注射后 4 h 处死动物.

1.3 突触体的分离

大脑皮层突触体的制备参照 Cotman^[3] 方法进行.

1.4 单胺类递质及氨基酸含量分析

单胺类递质的提取、测定按文献 [4] 方法进行; 氨基酸定量分析按文献 [5] 进行. 结果以均数±标准差表示, 统计处理采用 *t* 检验.

1.5 Y 型电迷宫试验^[6]

受试大鼠在 45 d 龄时开始进行, 每个试验日测试 15 次, 刺激电压为 30~50 V, 电击后直接进入安全区为正确反应, 否则均为错误反应. 记录每个试验日的正确反应和错误反应次数. 试验指标有: a. 总潜伏期: 指受试鼠从开始试验到正确反应率达 90% 时为止, 所用的试验天数. 该指标反映受试鼠的学习能力 (即形成条

件反射的快慢). b. 正确反应率: 指受试鼠正确反应次数的百分数. c. 总错误次数: 指受试大鼠在整个试验中错误次数总和. 此二项指标从不同角度反映受试鼠的记忆状况.

2 结 果

2.1 血清及大脑皮层中氨基酸含量

用聚酰胺薄膜荧光扫描法测定了 10 d 龄大鼠血清及大脑皮层中芳香族氨基酸含量 (见表 1). 从表 1 可知, 实验组大鼠血清中 Phe 浓度为对照组的 19 倍以上, 大脑皮层中 Phe 为对照组 30 倍以上, 血清及大脑皮层中酪氨酸 (Tyr) 含量也有轻度升高, 但大脑皮层中色氨酸 (Trp) 含量则较对照组明显降低 ($P < 0.05$). 上述结果说明, 实验组大鼠高苯丙氨酸血症特点与 PKU 中高苯丙氨酸血症特点基本相一致.

表 1 10 d 龄大鼠血清及大脑皮层中氨基酸含量

组 别	鼠数	血清中含量/ $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$			大脑皮层中含量/ $\text{nmol} \cdot \text{g}^{-1}$		
		Phe	Tyr	Trp	Phe	Tyr	Trp
对照组	20	0.110±0.014	0.105±0.010	0.196±0.031	0.054±0.008	0.084±0.008	0.021±0.006
实验组 I	20	2.071±0.312	0.751±0.071	0.189±0.052	1.595±0.174	0.171±0.045	0.014±0.004
实验组 II	20	2.103±0.406	0.731±0.065	0.178±0.063	1.617±0.169	0.159±0.052	0.015±0.004
实验组 III	20	2.217±0.414	0.658±0.073	0.185±0.048	1.630±0.181	0.161±0.056	0.014±0.005

2.2 大脑皮层及其突触体中单胺类递质含量

表 2 结果显示, 三组高苯丙氨酸血症大鼠

大脑皮层中 NE、DA 和 5-HT 含量分别较对照组降低 41.1%~62.5%, 38.6%~50.5% 和

表 2 10 d 龄大鼠大脑皮层及其突触体中单胺类递质含量

组 别	鼠数	大脑皮层中含量/ $\mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1}$			突触体蛋白中含量/ $\text{nmol} \cdot \text{g}^{-1}$		
		NE	DA	5-HT	NE	DA	5-HT
对照组	20	1.142±0.156	2.093±0.147	1.608±0.101	0.131±0.014	0.295±0.021	0.601±0.035
实验组 I	20	0.673±0.072*	1.285±0.151*	0.625±0.102**	0.047±0.009**	0.142±0.020*	0.217±0.022**
实验组 II	18	0.637±0.079*	1.162±0.171*	0.538±0.096**	0.043±0.009**	0.110±0.012**	0.215±0.018**
实验组 III	18	0.428±0.084**	1.036±0.124*	0.525±0.088**	0.039±0.008**	0.101±0.014**	0.181±0.016**

注: 与对照组比较, * $P < 0.01$, ** $P < 0.005$.

61.1%~67.4%，其中 5-HT 降低程度最显著。突触体中 NE、DA 和 5-HT 含量则分别下降了 60.4%~70.2%，51.9%~65.8% 及 63.9%~69.9%。且 NE 和 5-HT 降低更为严重。并发现 NE 和 DA 在突触体中的降低程度明显大于大脑皮层组织。从注射 Phe 剂量看，三个实验组中以实验组 III 递质降低最严重，其次为实验组 II。即脑内单胺类递质降低程度与注射 Phe 的量有一定的相关性。

2.3 学习记忆能力观察

实验中发现，四组大鼠（每组 10 只）Y 型电迷宫试验总潜伏期分别为：对照组为（5.17±0.41）d；实验组 I 为（9.01±0.82）d；实验组 II 为（10.67±0.58）d；实验组 III 为（12.13±0.47）d。即实验组大鼠正确反应率达 90% 时所需的时间明显长于对照组（ $P<0.01$ ）。每个实验组的正确反应次数也显著低于正常对照组（见图 1）。试验错误总次数（见图 2）分别为：

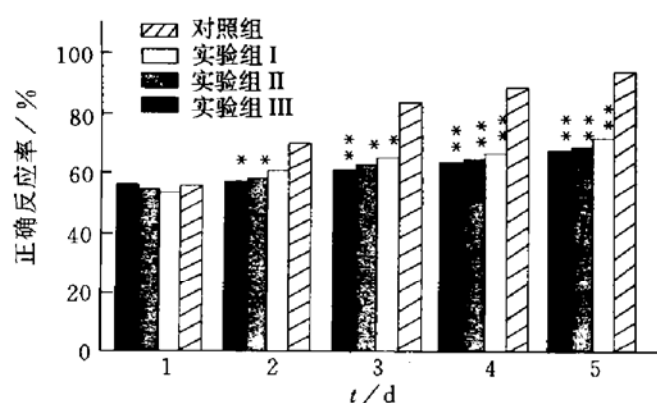


图 1 Y 型电迷宫试验正确反应率情况
与对照组比较，* $P<0.05$ ，** $P<0.01$ 。

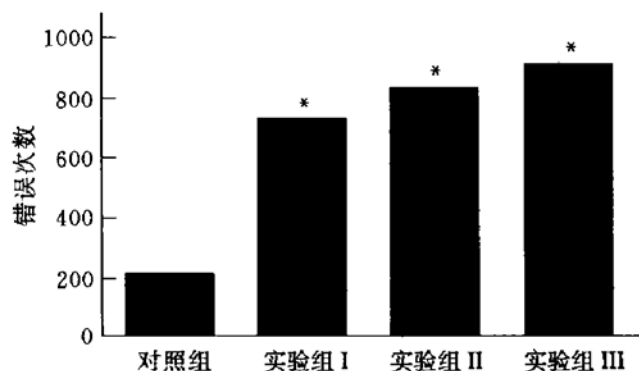


图 2 四组大鼠总错误次数比较
与对照组比较，* $P<0.01$ 。

对照组为 207 次，实验组 I 为 720 次，实验组 II 为 823 次，实验组 III 为 897 次。三个实验组与对照组比较均有显著性差异（ $P<0.01$ ）。

3 讨 论

大鼠高苯丙氨酸血症模型的氨基酸分析表明，其血清及大脑皮层中 Phe 浓度异常升高，而大脑皮层中 Trp 含量却显著降低，与国外报道基本一致^[7,8]。本实验证实，高苯丙氨酸血症大鼠大脑皮层及其突触体中 NE、DA 和 5-HT 含量均显著降低，但降低程度不同。其降低机理尚未弄清，一方面可能是因为高苯丙氨酸血症抑制了其它氨基酸进入脑内，导致脑内氨基酸比例失调；另一方面，脑内高浓度 Phe 可与结构相似的 Tyr 竞争酶蛋白的反应部位，从而抑制单胺类递质合成的酶反应系统，导致递质合成减少。此外，高苯丙氨酸血症时苯丙氨酸的旁路代谢增强，所产生的某些毒性代谢产物（如苯丙酮酸）亦可直接影响许多递质合成的酶反应系统。有资料认为^[8,9]，脑内 5-HT 降低主要是由于 Trp 入脑减少和 Phe 及其某些代谢产物增加对色氨酸羟化酶和 5-羟色氨酸脱羧酶抑制所致；脑内儿茶酚胺含量降低主要是高浓度 Phe 及其脱氨产物苯丙酮酸抑制了酪氨酸羟化酶^[10]、多巴脱羧酶及多巴胺羟化酶^[8]等所引起。可见脑内单胺类递质降低的原因复杂，作用环节多，详细机理有待进一步探讨。

学习记忆是脑的最高级功能之一，也是智力的重要组成部分。学习记忆是通过神经系统一系列生理生化过程实现的。突触体中 NE、DA 及 5-HT 含量丰富，它不仅与突触传递有关，而且与突触成熟有关。脑内 NE、DA 和 5-HT 含量降低，势必影响脑内神经递质的生理平衡，导致智力损伤^[11]。有研究发现^[12]，儿茶酚胺特别是 NE 在记忆方面起重要作用。脑内 NE 和 DA 的降低也可通过干扰磷脂代谢影响中枢神经系统的生长发育。5-HT 似乎是脑生长发育所必需的，脑内 5-HT 降低者，智力障碍明显，用 5-HT 或类似物则可改善 PKU 的智力

（下转第 376 页）

(Shanghai Institute of Biochemistry, Academia Sinica, Shanghai 200031, China).

Abstract Two partial antagonists of human interleukin-2 (IL-2): 15Val-IL-2, 126Asp-IL-2 and an IL-2 receptor α subunit binding deficient mutant 62Leu-IL-2 have been obtained by site-directed mutagenesis. 62Leu-IL-2 could exhibit significant stimulation on CTLL-2 cells. When 15Val-IL-2 or 126Asp-IL-2 was incubated together with CTLL-2 cells in addition to 62Leu-IL-2, the stimulative ability of

62Leu-IL-2 was distinctly inhibited. In consideration with the interaction of IL-2 with IL-2 receptor subunits, 15Val-IL-2 or 126Asp-IL-2 can be used for the primary determination on receptor subunit binding ability of IL-2 mutants. Furthermore, this idea may also be applied in some other ligand-receptor systems.

Key words interleukin-2 (IL-2), interleukin-2 receptor (IL-2R), antagonist, receptor subunit binding deficiency

=====

(上接第 354 页)

障碍。本实验结果显示, 高苯丙氨酸血症大鼠学习记忆能力降低与脑内单胺类递质含量降低的结果一致, 提示苯酮尿症智力障碍可能与大脑皮层及其突触体中单胺类递质含量降低相关。

参 考 文 献

- 1 Vorhees C V, Butcher R E, Berry H K. *Biobehav Rev*, 1981; **5**: 177
- 2 Crafts S. *Neuropsychologia*, 1992; **30** (4): 341
- 3 Cotman C W. *Method in Enzymology*, Part A. 1974; **31**: 446
- 4 万福生, 南国华. *江西医学院学报*, 1992; **32** (2): 117
- 5 张 蕾. *贵阳医学院学报*, 1992; **17** (1): 1
- 6 张均田 (徐叔云主编). *药理实验方法学*, 第二版. 北京: 人民卫生出版社, 1992: 661
- 7 Greengard O, Wolfe J. *Biochem Pharmacol*, 1987; **36** (6): 965
- 8 Sandler M. *J Inherited Metal Dis*, 1982; **5** (supple 2): 65
- 9 黎海带, 李希成. *中国药理学报*, 1992; **13** (2): 146
- 10 Brass C A, Greengard O. *Biochem J*, 1982; **208** (3): 765
- 11 张中启, 罗质璞. *中国药理学通报*, 1994; **10** (2): 81
- 12 李长宏, 刘 焯. *中国医院药学杂志*, 1992; **12** (12): 564

Study of the Brain Monoamine Transmitter in Hyperphenylalaninemia Rats. Wan Fusheng, Nan Guohua (*Department of Biochemistry,*

Jiangxi Medical College, Nanchang 330006, China).

Abstract The Sprague-Dawley rats with postnatal 3 d were collected. The hyperphenylalaninemia was induced by intraperitoneal injection with phenylalanine. Fluorospectrophotometry was applied to quantive determination of norepinephrine (NE), dopamine (DA) and serotonin (5-HT) in the cerebral cortex and its synaptosome of the rats. Behavior in the rats was observed by Y-maze learning. The results showed that compare with the control, the contents of NE, DA and 5-HT were decreased over 38.6%~67.4% in the cortex of the hyperphenylalaninemic rats and decreased over 51.9%~70.2% in the synaptosome of the cortex. Y-maze learning ability in the rats was decreased apparently. The results suggest that the mental retardation of PKU is in close correlative with decrease of some monoamine transmitter contents in the cortex and its synaptosome.

Key words hyperphenylalaninemia, mental retardation, monoamine transmitter, behavior determination, compatative study