

成一些化合物,具有与天然性激素竞争受体的作用,就有可能用于治疗目的。事实上各类甾体激素相应的拮抗物都已合成;利用拮抗物来研究甾体激素的作用,也是近几年来一个很活跃的方面。纳法西丁(Nafoxidine)它之所以有抗雌激素作用是由于阻断了细胞浆受体的补充,纳法西丁开始与子宫细胞浆受体结合成复合物,也可转移到细胞核里。它在细胞核里保留的时间比雌二醇长,在细胞核上结合规律也不完全同于雌激素。虽然它能引起基因的转录,一次给药也可促进子宫生长,可是它抑制细胞浆受体的循环使用或新合成,就不能继续对激素起反应,所以一般都是一次给药时具弱雌活性,而多次给药则拮抗性十分明显。随着甾体激素作用机制的深入了解,人工设计合成的抗激素试剂还有可能作为安全有效的避孕药物。

## 六、结 束 语:

甾体激素作用机制的研究十多年来虽然取得了很大的进展,但对它的了解还是属于粗线条的。从激素分子在内分泌腺体中产生,直至在靶细胞内如何调节基因的表达,各个环节上都有着许多尚待澄清的问题,特别是作为甾体激素作用的关键大分子——受体蛋白,由于它们在组织内的含量有限,提纯起来比较困难,又由于方法学上的局限,对它的了解也还是很不夠的。例如,受体一定要在与激素结合的情况下才可测定,在靶细胞内自然状态的受体分子究竟是怎样的,就无法知道。还有激素受体复

合物变构作用的本质是什么?它们在细胞内的功能是什么?在DNA的转录过程中激素和受体究竟是如何参与反应的?可以说甾体激素的作用愈深入到细胞内部的分子过程,我们能得到的信息愈少,原因是真核细胞的基因表达本身,就是当今分子生物学正在攻坚的一大课题。尽管如此,甾体激素与基因表达的关系目前正是一个活跃的研究领域。对甾体激素的受体分子作为真核细胞转录作用的调节元件正在积极的研究。

本文得到张友瑞先生的指导,特此致谢。

## 参 考 文 献

- [1] Shutsung Liao.: *Int. Rev. Cytol.*, 41, 87, 1975.
- [2] Jensen, E. V. et al.: *Recent. Progr. Hormone Res.*, 18, 387, 1962.
- [3] Stumpf, W. E.: *Endocrinology*, 83, 777, 1968.
- [4] Jensen E. V. et al.: *Sci.*, 182, 126, 1973.
- [5] Hsueh, A. J. W.: *Clinical Obstetrics and Gynecology*, 21, 53, 1978.
- [6] Toft, D. et al.: *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A.*, 57, 1740, 1967.
- [7] Clark, J. H. et al.: *Receptor and Hormone Action*, 383 ed by O'Malley.
- [8] Chamness, G. C. et al.: *Biochemistry*, 11, 2466, 1972.
- [9] O'Malley, B. W. et al.: *J. B. C.*, 247, 1368, 1972.
- [10] O'Malley, B. W. et al.: *Scientific American* 234 (2), 32, 1976.
- [11] Schulster, D. et al.: *Molecular Endocrinology of the Steroid Hormones*, p257.
- [12] Yamomuto, K. et al.: *Ann. Rev. Biochem.*, 721, 1976.
- [13] Liu Yi-Hsun (刘以训): *Scientia Sinica*, 22, 222, 1979.

[本文于1979年11月20日收到]

# 生 物 活 性 肽——P 物 质

温 博 贵

(江西医学院生化教研室)

1931年 Von Euler 和 Galdum 在测定乙酰胆碱的组织分布时,发现马脑和肠壁的酸性乙醇提取液中存有另一种生物活性物质。因当时

将该物质制备成粉末状态(powder),故称之为P物质<sup>[1]</sup>(下称SP)。然而,经过近半个世纪的研究,证明SP具有重要的神经生物学功能。目

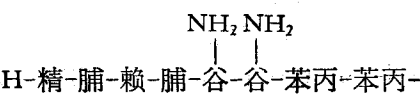
前, SP 作为一种拟议中的肽类递质而受到神经生理学的重视, 同时又由于它具有对抗吗啡镇痛的作用、舒张血管的降血压作用、促使平滑肌收缩的作用、催涎及利尿、促下丘脑释放生长抑制激素等一系列生理与药理效应, 从而使 SP 的研究在药理学的新分支——肽类药理学中占有一定的地位。

本文拟从神经化学的角度首先介绍 SP 的理化性质, 在不同水平上的分布及定位, 然后重点阐述 SP 作为一种肽类递质的实验根据及初步结论。

一、SP 的性质

长期以来有关 SP 的研究进展缓慢, 其原因主要是纯化困难。早期的工作多采用粗制 SP。由于纯化程度不一, 且往往混杂有其它结构的肽段, 因而实验结果难以评价, SP 生理功能也模糊不清。近十年来, 由于生化分离技术以及免疫技术的迅速发展, 神经组织中一些具有重要生物学功能的肽类相继被发现。与此同时, SP 的研究也取得了突破。1970 年 Chang 等<sup>[2]</sup>成功地从牛下丘脑精制出 SP, 并测出分子量。次年弄清了结构<sup>[3]</sup>并用固相法人工合成了 SP<sup>[4]</sup>。1974 年建立了放射免疫测定及免疫组化定位方法。这一系列进展使 SP 的研究进入到一个崭新阶段。

粗制 SP 是先用乙醇或醋酸抽提, 然后用丙酮或乙酸乙酯沉淀。亦有用乙醇或甲醇抽提, 然后经氧化铝柱层析, 50% 乙醇或蒸馏水洗脱。1967 年 Zeber 等以上述粗提为基础, 进一步用离子交换分离、凝胶过滤、逆流分布、高压纸电泳及制备性纸层析, 从 100 公斤牛脑提出 1 毫克的 SP。1970 年 Chang 等<sup>[2]</sup>用牛下丘脑为材料, 经多次凝胶过滤、离子交换层析及高压电泳从 20 公斤牛下丘脑分离得 0.15 毫克 SP。经测定为 11 肽, 具有促唾液分泌作用, 故称为催涎肽 (Sialogogic Peptide)。分子量为 1340, 氨基酸排列顺序如下:



甘-亮-蛋-NH<sub>2</sub>。

1974 年 Takahashi 等<sup>[5]</sup>又由牛脊髓背根提出一种生物活性肽 (背根肽), 其在理化性质上与所述牛脑 SP 和下丘脑 SP (催涎肽) 极其相似。现确认它们三者同属 SP, 其性质比较见表 1。

表 1 三种不同组织来源 SP 性质的比较<sup>[1,2,5]</sup>

| 性 质                                                | SP<br>(脑小肠) | 下丘脑 SP<br>(催涎肽) | 脊髓背根 SP<br>(背根肽) |
|----------------------------------------------------|-------------|-----------------|------------------|
| 分子量<br>(凝胶过滤法)                                     | 1650±250    | 1340            | 1250±150         |
| 电泳迁移率<br>(pH 2.0)<br>(以谷氨酸为 1<br>计算)               | 0.8—1.0     | 1.1             | 1.17±0.02        |
| 等电点                                                | >8.5        | >8.9            | —                |
| R <sub>f</sub> 值(纸层析)                              | 0.63        | 0.62            | 0.62±0.02        |
| NH <sub>2</sub> 末端残基                               | 精 氨 酸       | 精 氨 酸           | 精 氨 酸            |
| 乙醚                                                 | 不 溶         | 不 溶             | —                |
| 乙醇                                                 | 不 溶         | 不 溶             | —                |
| 60%(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> | 不 溶         | 不 溶             | —                |
| 糜蛋白酶                                               | 活性破坏        | 活性破坏            | 活性破坏             |
| 胃蛋白酶                                               | 活性破坏        | 活性破坏            | 活性破坏             |
| 羧基肽酶 A                                             | 活性不破坏       | 活性不破坏           | 活性不破坏            |

固相人工合成的 SP 是按牛下丘脑催涎肽的氨基酸结构顺序合成的。为了肯定它是否与经典方法抽提者在理化性质、生物活性及氨基酸排列上一致, Stueler 等按经典法从马小肠粗提 SP, 经豚鼠回肠生物学鉴定表明, 此粗提物具有 SP 的生物活性。再经进一步纯化的马肠 SP 与 Chang 等人从下丘脑分离的 SP 在氨基酸组成及排列上完全相同, 证明 Chang 等纯化的 SP 确是天然状态的 SP<sup>[6]</sup>。

无论是含有 SP 的组织提取液, 抑或是不同纯度的 SP 均能被各种蛋白酶所失活, 在水解与失活过程中伴有氨基酸的释放, 证明 SP 的活性与肽的结构完整有关<sup>[1]</sup>。

二、SP 的分布

1. SP 的测定方法

(1) 生物学鉴定法<sup>[1]</sup> 放射免疫法建立之

前,均采用此法。最常用是离体豚鼠回肠末端,观察其平滑肌收缩作用,但需加用对抗乙酰胆碱、对抗5-羟色胺、对抗组胺的阿托品、色胺及甲基去敏灵。由于缓激肽的作用与SP近似,而又缺乏特异性抗缓激肽的药物,用豚鼠回肠测定时容易混淆。所以有时采用对缓激肽不起反应的鸡盲肠。此外亦有用动情期大鼠子宫的收缩或测定阿托品化家兔的血压作为定量测量SP的指标。

(2) 放射免疫测定<sup>[7-10]</sup> 将人工合成的SP与人 $\alpha$ -球蛋白(或牛血清白蛋白)交联在一起作为抗原,注入家兔(或豚鼠)产生抗SP抗血清。<sup>125</sup>I-N<sup>a</sup>-酪氨酰SP作为示踪物。此法灵敏度高达2.5—5 pg。该抗体与少数SP类似物有交叉反应。出现交叉反应的类似物分子较SP小,为10, 9及8肽。另有一些与SP结构相似天然肽(如: Eledosin, Physalaemin\*, 生长激素)即使克分子浓度比SP高1000倍,亦不出现交叉反应。考虑到放射免疫测定可能出现一些非特异性反应,故将所测得的SP称为SP样免疫反应活性。

必须指出,SP的含量在动物死后有明显改变。实验发现,动物断头后脑中SP值很不稳定。如果用致冷混合物迅速固定,12小时后SP值稳定不变。SP的死后变化说明脑内存在有不稳定的SP前体。

## 2. SP的组织分布<sup>[1, 5, 10, 11]</sup>

SP存在于人及已研究过的所有脊椎动物的肠及神经系统中,并呈现非均一的分布。

(1) SP在脑内的分布 用放射免疫及免疫组化法测定神经系统中SP分布,其结果与生物学鉴定法基本一致。在脑内,皮层下区浓度很高。其中以黑质最为丰富,其次为脑干、丘脑下部、尾核、丘脑。一般说,灰质中的含量远高于白质。但亦有例外,例如视皮质中的SP并不比白质高。在皮质不同区域,SP含量亦异。扣带前回的含量就比中央前回及中央后回高两倍。视神经与坐骨神经纤维中亦发现有SP<sup>[12]</sup>。

(2) SP在脊髓中的分布 主要在背根。测

定表明,牛及猫背根SP浓度为腹根的9—27倍。为了探明SP与初级感觉神经元之间的关系。Takahashi等应用生物学鉴定法检查了猫脊髓SP分布状况,结果SP在背角中的浓度特别高。这是因为大部分的初级传入纤维末梢终止于此,并形成突触联系的缘故。SP样免疫反应活性主要存在于大鼠和猫脊髓切片的I—III层,而且主要是聚集在突触体中。

(3) SP在消化道内的分布 在肠道,以十二指肠及空肠的含量为最高,食道及胃最少。猴小肠组织SP含量约为50生物活性单位/克组织,高于其它动物(例如家兔仅3单位/克组织)。小肠壁各层中均有SP存在,惟粘膜下肌层的含量最高,提示SP与肠壁麦氏(Meissner's)神经丛有关。

## 3. SP的亚细胞定位<sup>[8, 13]</sup>

在神经系统中,SP主要位于神经元;胶质细胞内缺如。胶质细胞瘤中也没有。当神经变性时,神经元的SP即告消失。说明它与胶质细胞无关。

各种亚细胞定位技术表明,牛的下丘脑及黑质中,多数的SP在粗线粒体部分。将此粗线粒体进一步分级,发现大多数SP及腺苷酸环化酶均位于神经末梢颗粒之中。SP有可能是通过激活腺苷酸环化酶发挥生理学效应,或也表明SP与神经冲动传递有密切关系。

对外周及中枢进行免疫组化定位观察,SP存在于初级感觉神经元,这些神经元可能是一些无髓鞘的小神经细胞。松果体中层细胞体及一些脑区的神经纤维内亦发现有SP。免疫酶标定位观察,酶标主要落在圆形突触囊泡上,囊泡膜与轴浆膜亦见有酶标产物。

Ryall发现,约有1/3的SP是在SP阳性末梢的微粒体上。这些SP可能是位于内质网中,处于生物合成阶段。

另有作者报道,SP位于脊髓背角末梢的一些大囊泡(直径为60—80 nm)中。

\* Eledosin 为章鱼唾液腺中存在的一种肽,有降压作用。  
Physalaemine 为南美蛙皮肤中存在的一种肽。

### 三、SP 的递质功能

#### 1. 脊髓中的 SP<sup>[5, 14, 15]</sup>

人工合成的 SP 用于研究以来,大大地加快了对其生理功能的了解。在脊髓,SP 很可能是初级传入神经元的递质。有以下主要实验根据:

(1) 去极化作用 SP 对蛙脊髓运动神经元有强烈的去极化效应,其强度约为另一种拟议中的脊髓兴奋性递质谷氨酸的200倍。将 SP 透入离体的新生大鼠脊髓标本,当 SP 作用于背根时,从腹根的运动神经元引出明显的峰形放电。Hökfelt 等曾以一种比较精细的方法确定了 SP 在脊髓 I、II、III 层和 Lissauer 束内的定位。在 Lissauer 束内,SP 似乎集中在初级传入末梢。

(2) 毁损背根对 SP 的影响 前已述及 SP 主要是分布在脊髓背角背部,且灰质含量大于白质。经测定背角背外侧部含量约为  $1 \text{ n mole/克湿组织}$ ,约为背根的 50 倍,腹根的 1000 倍。背角的 SP 浓度如此之高可能与主要的初级传入纤维终止于此有关。业已证实,SP 聚集在初级传入纤维轴突末梢。实验将猫脊髓腰骶部背根暴露出来,将单侧背根切断或结扎后 10 天,检测 SP 在脊髓中的分布,发现伤侧背根 SP 含量较对照侧显著降低,而  $\gamma$ -氨基丁酸及谷氨酸不变(见图 1)。值得注意的是,背角 SP 变化最明显是背外侧部,此处 SP 浓度仅为对照侧的 10%。已知神经递质(如去甲肾上腺素)是借轴流向末梢方向转运的。因此,切断或结扎背根,引起末梢部位 SP 减少,可能与其轴流转运受阻有关。由此推论:SP 是在背根神经节

内合成,借轴流转运至初级传入纤维末梢发挥递质功能的。但是,SP 究竟是所有背根纤维抑或是部分纤维的递质。经用免疫组化研究证明,大鼠脊神经节内 SP 阳性神经元约占 10-20%。

新近,Hammar<sup>[16]</sup> 通过结扎猫的胸主动脉及乳内动脉以阻断脊髓的血液供应,造成脊髓背外侧部僵化。手术后形态学检查发现,脊髓中间神经元和腹角运动神经元减少,而小细胞(可能是胶质细胞)增加。对腰段( $L_6-S_1$ )脊髓四种拟议中的氨基酸递质:门冬氨酸、谷氨酸(兴奋性)、甘氨酸、 $\gamma$ -氨基丁酸(抑制性)及 SP 同时进行测定发现,灰质与白质中上述四种氨基酸含量均有降低,然而 SP 的含量及分布未变。作者认为,手术对腰段脊髓 SP 无明显影响,可能因其主要存在于脊髓初级传入纤维及脑干下行纤维中。因而当脊髓运动神经元减少时,其含量及分布不受影响。但是,SP 及  $\gamma$ -氨基丁酸同聚集于背角背部,脊髓缺血缺氧可累及  $\gamma$ -氨基丁酸,使其含量下降,而 SP 却未被波及;反之,背根切除时 SP 减少,而  $\gamma$ -氨基丁酸含量不变。在这两个毁损实验中,SP 与  $\gamma$ -氨基丁酸的变化迥然不同,说明二者位于背角背部功能不同的细胞群中,即 SP 主要在脊髓传入神经元中,而  $\gamma$ -氨基丁酸则位于脊髓的中间神经元内。

#### 2. 三叉脊束核中的 SP<sup>[17-19]</sup>

免疫组化显示 SP 阳性末梢集中于延脑。三叉脊束核的罗氏胶质区是 SP 阳性纤维密集的区域。该区含有很多的脑啡肽神经元,而 SP 神经元极少。前已述及,SP 的胞体是位于背根神经节,含 SP 的神经纤维属细纤维,这提示 SP 可能是传递痛觉的初级传入纤维递质。罗氏胶质区 SP 丰富表示这类纤维是经过或终止于该区。最近的研究证明,高  $K^+$  可使包含三叉脊束核的组织切片释放 SP。并可被吗啡激动剂或内源性肽所抑制,而此抑制效应可被纳洛酮逆转。由于脑干的三叉脊束核含有痛觉纤维,SP 特别丰富,如果脑啡肽能在此部位阻止 SP 释放,则可设想这种内源性镇痛肽应当存在

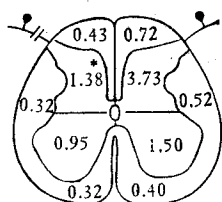


图1 切除背根对 SP 的影响

SP  $\times 10^{-10} \text{ mol/g}$  \*  $< 0.01$

于脊髓,其中的 SP 神经元应有吗啡受体。目前确已证实脊髓内有内源性吗啡受体,而且该受体的分布与 SP 神经元相平行。

有人将脊髓感觉神经元的传入途径切断,观察到 SP 神经元变性,此时脑啡肽受体亦告消失。这表明 SP 神经元上可能有脑啡肽的结合位点。

有人用一种辣椒素 (Capsacin) 作用于人及实验动物,可产生剧痛。如长期使用此致痛物,动物对刺激变得不敏感。这可能由于 SP 长期释放而被耗竭。

以上实验结果可以概括如下:脊髓感觉的初级传入纤维存在吗啡受体。含有脑啡肽的中间抑制性神经元对初级传入纤维末梢施加突触前抑制。末梢上的脑啡肽受体是实现此效应的基础(见图 2)

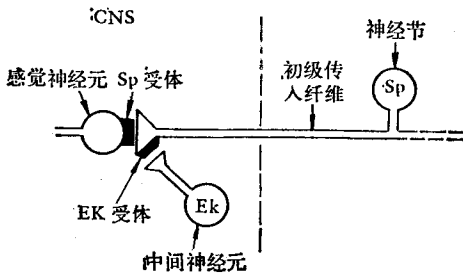


图 2 脑啡肽与 SP 神经元功能关系  
EK: 脑啡肽

亦有人将 SP 与脑啡肽的关系和“疼痛闸门”学说联系起来。他们认为,脑啡肽在脊髓水平上阻止 SP 释放,从而使“闸门”关闭,阻止痛觉信号上传。

另一些研究者认为,脑啡肽还可阻止疼痛信号在脊髓中的传导。当刺激由脑下行至脊髓的神经时,可使痛感消失,且由于该效应可被纳洛酮反转,故设想这也可能是通过脑啡肽发挥作用的。业已发现,某些下行的神经元既含 SP 也含 5-羟色胺。这提示同一神经元的末梢可以形成两种突触,一种发放 SP,另一种发放 5-羟色胺。如果的确存在这种类型的神经元,那么三叉脊束核释放的脑啡肽或许可阻止这类神经元痛觉信号的传导。于是,SP 神经元的作用

机理将比单一递质神经元更为复杂。因为涉及到抑制性的 5-羟色胺与兴奋性的 SP 两种性质不同的疼痛信号递质。它们是否同时发放,是否一道作用于同一靶细胞,目前尚难回答,但是阐明这些问题对于进一步认识神经元之间的调控机理将是十分有意义的。

3. 锥体外系中的 SP<sup>[20-21]</sup>

在锥体外系中的某些核团发现有 SP 免疫荧光纤维聚集。这些核团是:黑质、丘脑下核及脚内核 (Nucleus endopeduncularis)。大鼠的尾状核、苍白球中则发现有 SP 阳性胞体存在。毁损实验证明,黑质的 SP 纤维就是由这些胞体发出的。神经化学研究,证明纹状体-黑质系统有 5 种高浓度的候补递质:多巴胺、5-羟色胺、乙酰胆碱、 $\gamma$ -氨基丁酸及 SP。单胺类递质存于黑质神经元的轴索及末梢当中,乙酰胆碱位于纹状体、 $\gamma$ -氨基丁酸与 SP 则分布在支配黑质神经元的核周体中。分别参与多巴胺、乙酰胆碱及  $\gamma$ -氨基丁酸合成的酶系:酪氨酸羟化酶、胆碱乙酰化酶及谷氨酸脱羧酶也在黑质-纹状体中呈现特定的分布。表明纹状体-黑质系统之间存在多巴胺、5-羟色胺、乙酰胆碱、 $\gamma$ -氨基丁酸及 SP 神经元,这几种神经元之间必然有功能上的联系。例如,释放多巴胺的药物可降低纹状体乙酰胆碱的代谢转换率。注入胆碱可活化黑质-纹状体末梢中的酪氨酸羟化酶,后者活性增高可能与纹状体乙酰胆碱神经元,释放乙酰胆碱增多有关。基于上述,有人认为在黑质-纹状体系统中单胺类、乙酰胆碱、 $\gamma$ -氨

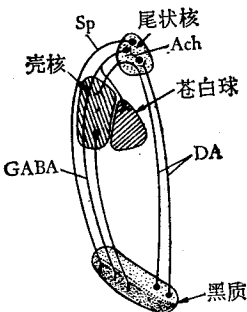


图 3 黑质-纹状体-黑质系统神经传导机构模型图  
Ach: 乙酰胆碱 SP: P 物质 DA: 多巴胺  
GABA:  $\gamma$ -氨基丁酸

基丁酸及 SP 四种神经元之间构成突触联系,这种联系组成一个反馈抑制回路。并对这个反馈过程提出如下一些设想:

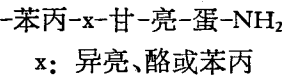
从纹状体-黑质的长轴突终止于多巴胺神经细胞体上。根据多巴胺神经元与其余三种神经元的机能联系,可将这四种神经元分为两组;多巴胺、乙酰胆碱和  $\gamma$ -氨基丁酸为一组;多巴胺与 SP 为另一组。如图 3 所示,纹状体中的  $\gamma$ -氨基丁酸与 SP 神经元通过纹状体-黑质长轴突末梢释放出  $\gamma$ -氨基丁酸与 SP,这两种递质作用在黑质多巴胺神经元树突的相应受体上。 $\gamma$ -氨基丁酸对多巴胺神经元的作用是抑制性的,而 SP 是兴奋性的。反之,由黑质的多巴胺神经元又发出长轴突支配纹状体中的乙酰胆碱及 SP 神经元,效应均为抑制性的。当黑质中多巴胺的上行传导被阻断时,纹状体中 SP 及乙酰胆碱神经元通过短突触抑制  $\gamma$ -氨基丁酸神经元,这时由于多巴胺神经元对乙酰胆碱神经元的抑制减弱,导致后者对  $\gamma$ -氨基丁酸神经元抑制加强。 $\gamma$ -氨基丁酸神经元本身被抑制,它对黑质多巴胺神经元的抑制也随之被解除。

最近, Gale 等<sup>[22]</sup>发现遗传性舞蹈症患者,黑质及苍白球 SP 减少 40—50%。尾状核,壳核及大脑皮层未见改变,提示 SP 变化与该疾患的发病机理有关。

SP 在精神分裂症的病原学上可能有一定意义。有人发现,SP 可促进多巴胺的释放,而过量释放多巴胺可导致精神分裂症<sup>[17]</sup>。

4. SP 的构效关系<sup>[5, 10, 11]</sup>

对比 SP 相关肽对脊髓前角运动神经元的去极化效应,发现凡是有效的 SP 类似物在结构上有一个特征,即具有一段相同的 N-末端顺序:



将 SP 肽从 C-末端切去 1—5 个氨基酸残基,对去极化效应并没有严重影响。甚至出现一些七肽、六肽类似物,较 11 肽的 SP 活性强得多的情况(见表 2)

如将 N-末端的蛋氨酸残基断开,活性则完

表 2 下丘脑 SP 及某些相关肽去极化作用强度比较<sup>[5]</sup>

| 肽                                                                                                              | 对蛙脊髓运动神经元去极化强度<br>(以谷氨酸强度为 1) |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------|
| $\begin{array}{c} \text{NH}_2, \text{NH}_2 \\   \\ \text{精-脯-赖-脯-谷-谷-苯丙-苯丙-甘-亮-蛋-NH}_2 \end{array}$            | 200                           |
| $\begin{array}{c} \text{NH}_2 \\   \\ \text{焦谷-丙-门-脯-门-赖-苯丙-酪-甘-亮-蛋-NH}_2 \\ (\text{physalaemin}) \end{array}$ | 1,500                         |
| $\begin{array}{c} \text{焦谷-脯-丝-赖-门-丙-苯丙-异亮-甘-亮-蛋-NH}_2 \\ (\text{eledoisin}) \end{array}$                      | 2,000                         |
| 赖-苯丙-异亮-甘-亮-蛋-NH <sub>2</sub>                                                                                  | 770                           |
| 赖-苯丙-酪-甘-亮-蛋-NH <sub>2</sub>                                                                                   | 150                           |
| $\text{N}_2\text{N}-(\text{CH}_2)_5-\text{CO}-\text{苯丙-酪-甘-亮-蛋-NH}_2$                                          | 130                           |
| 赖-苯丙-异亮-甘-Me亮-蛋-NH <sub>2</sub>                                                                                | 50                            |
| 赖-苯丙-异亮-甘-Hylc-蛋-NH <sub>2</sub>                                                                               | 30                            |
| 赖-苯丙-甘-甘-亮-蛋-NH <sub>2</sub>                                                                                   | 2                             |
| 赖-苯丙-Lac-甘-亮-蛋-NH <sub>2</sub>                                                                                 | 2                             |
| 赖-Me 苯丙-异亮-甘-亮-蛋-NH <sub>2</sub>                                                                               | 1                             |
| 赖-Me 苯丙-异亮-甘-Me 亮-蛋-NH <sub>2</sub>                                                                            | 1                             |

注: Me 亮: 甲基亮氨酸 Me-苯丙: N 甲基苯丙氨酸  
Hylc:  $\alpha$ -羟基异己酸 Lac: 乳酸

表 3 下丘脑 SP 结构类似物对蛙脊髓运动神经元去极化的相对强度<sup>[5]</sup>

| 肽                                                                                                   | 与谷氨酸比较<br>(谷氨酸强度为 1) |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------|
| $\begin{array}{c} \text{NH}_2, \text{NH}_2 \\   \\ \text{精-脯-赖-脯-谷-谷-苯丙-苯丙-甘-亮-蛋-NH}_2 \end{array}$ | 200                  |
| $\begin{array}{c} \text{NH}_2, \text{NH}_2 \\   \\ \text{脯-谷-谷-苯丙-苯丙-甘-亮-蛋-NH}_2 \end{array}$       | 15                   |
| 焦谷-苯丙-苯丙-甘-亮-蛋-NH <sub>2</sub>                                                                      | <5                   |
| 苯丙-苯丙-甘-亮-蛋-NH <sub>2</sub>                                                                         | 1.2                  |
| 苯丙-甘-亮-蛋-NH <sub>2</sub>                                                                            | <0.1                 |
| 甘-亮-蛋-NH <sub>2</sub>                                                                               | <0.04                |

全丧失。SP 类似物去极化活性的强弱与其它生物学活性,诸如降血压及促肠平滑肌收缩作用是平行的。根据上述结果推想,SP 可能是一种前身物质,当它的 C-末端去除一些氨基酸残

基后即转变为真正的递质。由此看来,研究 C-末端肽酶在 SP 代谢转化中的作用是有意义的。然而从 SP 构效关系也得出一些与此相矛盾的结果,即 SP 肽链缩短,去极化效应通常是削弱的(表 3)。

## 四、SP 的释放与失活

### 1. SP 的释放<sup>[10, 11, 23]</sup>

早期证实蛙脊髓灌流液中有 SP 流出。最近用离体的新生大鼠脊髓及下丘脑灌流均证实了 SP 的释放过程。当反复刺激脊髓背根,灌流液中 SP 样免疫反应活性明显增多。这一释放过程取决于培养液中  $\text{Ca}^{+2}/\text{Mg}^{+2}$  的正常比率。当离体标本置于低  $\text{Ca}^{+2}$  高  $\text{Mg}^{+2}$  环境中,突触传导被完全阻断,这时刺激背根,SP 样免疫反应活性物质迅速释放。高  $\text{K}^{+}$  可诱发下丘脑切片释放 SP,低  $\text{Ca}^{+2}$  高  $\text{Mg}^{+2}$  可取消这一作用。

### 2. SP 的失活<sup>[10, 11, 24]</sup>

神经递质的失活有两种方式:酶促降解和重摄取。SP 是怎样被失活的呢?实验表明,用大鼠脊髓、黑质及下丘脑组织切片,与  $^{125}\text{I}$ -标记的 SP 温育,组织切片对标记肽无明显积蓄,说明重摄取对 SP 失活意义不大。可是,使 SP 失活的酶系却广泛存在于神经组织中,像松果体、垂体后叶、黑质、下丘脑、桥-延脑和脊髓等。其中以松果体中活性最高,垂体后叶、丘脑下部、桥-延脑及皮质较低,脊髓最低。这些酶已从哺乳动物脑内提出并部分纯化。此酶为可溶性,与中性内肽酶性质上相似<sup>[25]</sup>。SP 的失活主要依靠此酶的作用。当然详细地查明此酶在神经组织中的分布将有助于其生理功能的进一步了解。如果能发现 SP 失活酶的专一抑制剂,证实该药物对脊髓初级传入的影响,将是很有意义的课题。Krivoy 曾报道 N-二乙基麦角酰胺 (LSD-25) 对神经组织中的 SP 失活酶有抑制作用。

最近, Ward 等<sup>[24]</sup>研究了 SP 在体内的失活过程,实验证明,肾匀浆失活 SP 的速率为小肠、肝、肺、心及脑的 5—20 倍。说明肾脏是体内失

活 SP 的重要部位。肾组织中,又以肾皮质的作用最强。分离肾皮质的亚细胞组分,发现 SP 失活酶的活性以微粒体、质膜最高,内质网及终末上清部分最低。在肾单位结构中,纯净的近曲小管刷状缘失活 SP 的速率比肾小球快 10 倍。前者的 SP 失活酶可能与肾皮质微粒体酶类似。各种抑制剂与刷状缘温育,发现 1, 10-二氮杂菲及 EDTA 均能有效的抑制其对 SP 的失活,说明刷状缘制备中的 SP 失活酶需金属离子作为辅助因子。但是,二异丙基氟磷酸(丙氟磷)并不抑制刷状缘失活 SP 的酶。说明它不属于丝氨酸蛋白酶。

目前已从肾近曲小管刷状缘中分离出中性内肽酶、二肽酰基肽酶 IV (dipeptidyl peptidase) 和氨基肽酶 M 等,这些酶很可能是 SP 的主要失活酶。

### 3. SP 的拮抗剂<sup>[21]</sup>

研究发现,AMP、胱氨酸-2- $\beta$ -萘酰胺及 Arf. nad (trimethapha Comphorsulfonate) 能拮抗 SP 对豚鼠回肠的作用。它们是否也能拮抗 SP 对中枢神经的作用呢?最近报道 Baclofen ( $\beta$ -4 氯苯- $\gamma$ -氨基丁酸) 能拮抗 SP 对大鼠脊髓运动神经元的去极化作用。同时谷氨酸的去极化作用也减弱,但减弱的幅度较小。由于 Baclofen 可阻断单突触与多突触反射以及背根电位,因而认为它是通过对抗 SP 的传导作用来阻断初级传入作用的。用微电泳研究表明, Baclofen 与 SP 之间的拮抗作用也表现在猫脊髓及脑的神经元上,但作用机理不明。

### 4. SP 与 cAMP<sup>[26, 27]</sup>

业已阐明,多种递质均通过“第二信使”cAMP 来实现其传导作用。然而,作为“肽类递质”的 SP 是否也通过环化核苷酸起作用呢?Duffy 等的研究首先揭示了这种可能性。他们发现,SP 对大鼠全脑及人脑 13 个不同区域脑匀浆的腺苷酸环化酶活性都有促进作用。同时,这种作用还表现一定的种族特异性及器官特异性。例如,SP 能提高人脑松果体的腺苷酸环化酶活性,但对大鼠松果体无效,SP 能促进脑腺苷酸环化酶活性,但对肝及红细胞中的

这种酶却无影响。由此可见, SP 可能也是通过突触后的“第二信使”来实现其生理效应的。为了进一步揭示这种可能性, Narumi 等采用体外培养的神经母细胞(N18 克隆)作为细胞模型。该细胞株保留着完整神经系统的一些功能,诸如轴索延伸,乙酰胆碱酯酶及 ATP 酶的活性等等。实验观察到人工合成的 SP 起先增高 cAMP 水平,继而使培养的神经细胞出现轴索延伸,同时提高细胞中乙酰胆碱酯酶及  $(\text{Na}^+, \text{K}^+)^-$ ,  $\text{HCO}_3^-$  及  $\text{Mg}^{+2}$  激活 ATP 酶活性。如果用丁二酰 cAMP 代替 SP, 亦出现类似的影响。表明 SP 与 cAMP 之间有密切的关系。至于 SP 对该细胞株的形态分化与酶分化的影响是否通过 cAMP 来实现,其详细机理如何,尚待进一步探讨。但是,上述结果至少提示 SP 可能在神经系统中起调节(或局部激素)的作用。

## 五、SP 的药理学功能<sup>[1 6 10]</sup>

Hökfelt 等发现 SP 阳性末梢分布在猫皮肤血管周围。这提示 SP 参与血管紧张性调节。这种调节可能是通过轴突反射支配血管的末梢端释放 SP, 反射性引起血管舒张。

SP 能促进各类平滑肌强烈收缩。Nillson 等用免疫组化法证明 SP 阳性末梢分布在哺乳动物的胃肠道中。这类纤维可能是 SP 促平滑肌收缩的结构基础。

药理学实验表明,给小鼠肌注人工合成的 SP (0.5 毫克/公斤)可消除成瘾小鼠的吗啡戒断症状。给小鼠脑内或腹腔注入 SP 可引起麻醉,纳洛酮有催醒作用。将 SP 注入大鼠导水管周围灰质未引起明显的麻醉效应。

给猴静脉注射 SP ( $1\text{p mole/公斤}$ )可使动脉血压暂时下降,下降幅度约 15 毫米汞柱。加大 SP 剂量,作用无明显增强,但维持时间延长。SP 还可促进肥大细胞释放 5-羟色胺。

用人工合成的 SP 灌注麻醉犬肾动脉,可增加激肽释放酶的排出,降低肾素分泌速率,促尿钠排泄及利尿等等<sup>[28-30]</sup>。这说明 SP 与肾功能有关。

将 SP 注入动物脑室,可降低血清的生长

素浓度。如果用生长素抑制激素的抗血清预先处理动物,上述效应可被取消。体外实验表明, SP 可促进下丘脑释放生长素抑制激素。总之注射 SP 可促进下丘脑释放生长素抑制激素至垂体门脉,从而导致生长素分泌减少<sup>[31]</sup>。

## 结束语——问题与展望

根据以上援引的资料,将 SP 看成是初级传入纤维的递质证据比较充分。业已证实, SP 在脊髓背角浓度极高,背角 SP 阳性纤维密布,突触体中 SP 含量丰富,突触囊泡中有 SP 蓄积,刺激背根伴有 SP 释放,同时出现相应的电位变化等等。尽管上述研究有待进一步完善,但它至少初步证明了: SP 也和其它递质一样具有特殊的分布与定位,显示出释放与失活过程,甚至和 cAMP 也存在一定的关联。然而与大多数小分子递质相比,尚有更多的疑点需要澄清。诸如 SP 的生物合成问题,即 DNA 上的遗传信息是如何转录、翻译以至最后合成为 SP 的前体蛋白; SP 以何种形式释放; SP 受体的结构;性质及作用机理如何? 等等。

对 SP 充当递质持对立论点的亦不乏其人。其理由: ① SP 对神经元的作用非常慢,至少比谷氨酸及乙酰胆碱要慢得多。Krnjevic 等<sup>[22, 23]</sup>发现 SP 对大脑楔叶及脊髓神经元的兴奋作用出现 10—30 秒的延搁,效应持续时间达 1—2 分钟之久。这说明 SP 缺乏突触化学传递所必须的快速性与灵活性。②鉴于 SP 能增强谷氨酸对家兔脊髓神经元的兴奋效应,因而认为 SP 的功能是起敏化 (Sensitization) 和调整作用 (Modulation)。亦有认为 SP 与谷氨酸在蛙脊髓运动神经元上表现的是简单的总合效应。③SP 的分子量在 1000 以上,而一般递质均是小分子物质。如此大的分子充当递质至少目前是令人费解的。有人甚至怀疑 SP 作为递质是否符合“生物经济法则”。因而不少人把 SP 看作是一种调节物。

经过半个世纪的研究, SP 在大量实验资料的支持下已加入到神经肽类的行列,并为药理学开拓出一个新的领域——肽类药理学。由于



现代肽化学技术的发展,对于一些小肽的合成并不困难。目前有能力合成各种生物活性肽的激动剂与拮抗剂<sup>[34]</sup>。这些药物进入中枢的问题一旦解决,就可能为肽类的临床应用开辟一条广阔的道路。

本文承江西医学院生理教研组李子瑜老师指正,谨致谢意。

## 参 考 文 献

- [1] Zetler, G: *Handbook of neurochemistry* (ed by Lajtha A), 4, 135, 1970.
- [2] Chang, M. M. et al.: *J. Biol. Chem.*, 245, 4784, 1970.
- [3] Chang, M. M. et al.: *Nature* (New Biol), 232, 86, 1971.
- [4] Tregear, G.M. et al.: *Nature* (New Biol), 232, 87, 1971.
- [5] Otsuka, M. et al.: *Fed. Proc.*, 34, 1922, 1975.
- [6] Leeman, S.E. et al.: *Life Sci.*, (ed by Bernard, B.) 15, 2033, 1975.
- [7] Hökfelt, T. et al.: *Science*, 190, 889, 1975.
- [8] Duffy, M.J. et al.: *J. Neurochem.*, 25, 305, 1975.
- [9] Otsuka, M.: *Nature*, 264, 83, 1976.
- [10] Marks, N.: *Frontiers in Neuroendocrinology*, (ed by Gnanoy, W. F.) 5, 329, 1978.
- [11] Otsuka, M., et al.: *Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, 17, 425, 1977.
- [12] Reubi, J. C. et al.: *J. Neurochem.*, 31, 359, 1979.
- [13] Cuello, A.C. et al.: *J. Neurochem.*, 29, 747, 1977.

- [14] Otsuka, M.: *Proc. Sixth Inter. Cong. Pharmacol.*, 12, 39, 1975.
- [15] Kerr, F.W.L., et al (张德星译): 《生物科学动态》1979年,第6期,第37页。
- [16] Homma, S. et al.: *J. Neurochem.*, 32, 691, 1979.
- [17] Marx, J.L.: *Science*, 205, 886, 1979.
- [18] Cuello, A.C.: *Adv. Biochem. Psychopharmacology* (ed by Costa E), 18, 111, 1978.
- [19] Jessell, T.M. et al.: *Nature*, 268, 549, 1977.
- [20] 融 道男: 蛋白质、核酸、酵素, 24, 150, 1979.
- [21] Scally, M.C. et al.: *Brain Res.*, 143, 556, 1978.
- [22] Gale, J.S. et al.: *J. Neurochem.*, 30, 633, 1978.
- [23] Schenker, C. et al.: *Nature*, 264, 291, 1976.
- [24] Ward, P.E.: *Biochem. J.*, 171, 143, 1978.
- [25] Benuk, M. et al.: *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 65, 153, 1975.
- [26] Duffy, M.J. et al.: *Biochem. Biophys. Acta*, 385, 275, 1975.
- [27] Narumi, S. et al.: *J. Neurochem.*, 30, 1321, 1978.
- [28] Gullner, H.G. et al.: *Fed. Proc.*, 36, 984, 1977.
- [29] Mills, I.H. et al.: *Nature*, 247, 108, 1974.
- [30] Arendshorst, W.J. et al.: *Am. J. Physiol.*, 230, 1662, 1976.
- [31] Sheppard, M.C. et al.: *J. Neurochem.*, 32, 647, 1979.
- [32] Krnjvic, K. et al.: *Can. J. Physiol. Pharmacol.*, 52, 736, 1974.
- [33] Hanry, J.L. et al.: *Can. J. Physiol. Pharmacol.*, 53, 423, 1975.
- [34] Hong, J.S. et al.: *Neuropharmacol.*, 17, 83, 1978.

[本文于1979年11月15日收到]

~~~~~

## 科技消息

### 左 脑 与 右 脑

科学家最近认为大脑两半球并不十分特化。一半脑可以把另一半的功能全部接收过来。

过去一直认为脑左半球功能上是主要的,而且控制着右边身体,它管逻辑、数学、科学思想、和语言分析。右半球控制左侧身体,它管艺术及创造性思考而完全不能表达语言。

60年代初对进行性癫痫患者的脑两半球分开(切开并联体)结果,出现戏剧性的改善。许多不同年龄儿童切除半边大脑,不管切除左半球还是右半球,其智力和运动功能都能正常地执行。一个14岁的男孩曾切除半边脑,二年后全部功能恢复正常。另一女孩

出生后右侧瘫痪,到21岁时智力水平只及10岁左右,心情郁抑。21岁时左脑半球切除,切除后五个月右肢可以活动,并能正常讲话,对一切都发生兴趣,一年后可以正常工作。另外有三例成年人。其中一个47岁,习惯用右手,在他脑左侧有一瘤并已波及全侧。切除后,右侧瘫痪,语言也消失。10周后可以用单字回答问题。五个月后突然回忆起所有能唱的歌。因此科学家认为如大脑有病切除局部不如切除半边。上面这些结果的唯一解释是大脑两半球各有一套完整的智力与体力功能,二半球完整时,各有侧重分工协作,切除一侧,另一侧功能全部可以被代偿。

摘自 New Sci 87 (1218) 80