

# 突触体上谷氨酸递质的释放和检测

潘家祜

(江西中医学院生物化学教研室, 南昌 330006)

## 提 要

中枢兴奋性神经递质谷氨酸 (Glu) 从突触前的释放, 是 Glu 神经传导的重要部分, 也是造成兴奋性神经毒性的重要环节. 在许多 Glu 释放的分析检测技术中, 最近发展的 Glu 连续荧光分析法有许多优点. 此法快速而灵敏度高, 可对 Glu 释放作动态的检测. 该法所揭示的 Glu 释放动力学表明: Glu 的胞泌释放, 主要依赖于胞外  $Ca^{2+}$  的内流, 其释放呈两相性, 对 ATP 有严格要求. Glu 的代谢异常和过量释放会对突触后受体造成滥刺激而导致神经毒性. 研究对这种神经毒性的拮抗是目前神经科学的重要内容之一. Glu 连续荧光分析法为这类研究提供了一个有力手段. 此法简便, 易于在国内大多数实验室中进行.

**关键词** 突触体, 谷氨酸递质, 连续荧光分析法, 释放动力学

谷氨酸 (Glu) 是中枢神经系统 (CNS) 中一个主要的兴奋性神经递质. 因它在 CNS 的信息传导、记忆机制中的作用和在许多溃变性神经系统疾病中的作用而成为近年来神经科学的重要研究领域<sup>[1]</sup>.

Glu 神经传导主要通过 Glu 从突触前膜的释放, 对突触后膜受体上的作用等过程来完成. Glu 代谢异常和过量释放, 造成对突触后膜受体的滥刺激, 会导致 Glu 神经毒性<sup>[1]</sup>, 以前大量的研究集中于对其受体作用上<sup>[2]</sup>. 现在随着对 Glu 释放检测技术的发展, 对 Glu 突触前释放机制的了解已日益充分.

## 1 各类 Glu 释放试验与检测技术的评价

Glu 的释放机制可通过体内或体外试验来研究. 体内试验虽有许多长处, 如更接近实际, 但因难以对 Glu 递质释放动力学及各种影响因素进行分析而受限制. 体外试验的脑切片、神经突触体和神经细胞的培养, 均为研究 Glu 释放和调控的常用方法. 脑切片, 能提供神经元与胶质细胞的相互作用、突触前后受体及递质代谢等有价值的信息, 但它复杂的分隔作用限

制了它在 Glu 释放机制研究上的应用. 而经分离制备的纯神经突触体对这类研究十分有利. 它与神经细胞的培养相比, 程序简单而又有足够的均匀性去检测递质在神经传递过程中发生的各种事件, 如: 离子转运、膜电位、细胞内外  $Ca^{2+}$  的瞬息变化、能量变化及神经末梢的分隔作用等<sup>[3]</sup>. 至今, 许多有关 Glu 释放的信息是从神经突触体上获得的.

目前, 在检测 Glu 递质释放上有许多不同的技术. 它们各有长处和不足<sup>[3]</sup>. 同位素标记和内源性 Glu 递质的释放都可以通过连续灌流或分批培育技术来研究. 同位素标记物有高灵敏度的优点, 但它容易代谢, 并在突触体内造成不平衡分布而使问题复杂化. 用层析技术, 如 HPLC 来测定内源性 Glu 的含量和释放, 可产生完全的氨基酸谱来进行分析和避免误差. 然而, 这技术很耗时. 在 Glu 递质的快速释放过程中, 对应于精细的时间变量, 难以获得足够的信息. 连续灌流技术有不少长处: 实验中, 介质可更换数次, 释放的递质可被移出以限制其重吸收或限制其它干扰物质的积累. 但在选择

流速时, 必须在灵敏度和时间参数上采取折衷办法. 它广泛用于同位素标记物的代谢研究. 在 Glu 释放上, 其主要缺陷在于难于控制突触体内发生的一些事件, 如胞外  $Ca^{2+}$  的快速内流和能量变化. 分批培育, 即突触体用一定量介质培育, 在 Glu 释放后再分离、检测, 它比灌流有较多优越处. 因为它允许释放递质的重吸收, 也允许了那些可影响突触传递的生物因素, 如  $Ca^{2+}$  内流、膜电位变化、ATP/ADP 等的参与. 但也有其短处: 各种物质在有限的容积中积累, 可能会影响突触前受体的活性.

Nicholls 在 Fosse 等的 Glu 荧光分析法<sup>[4]</sup>基础上发展了一种检测 Glu 释放的连续荧光分析法<sup>[5,6]</sup>. 该法结合分批培育的长处, 对突触体上 Glu 释放的全过程, 用荧光分光光度计作连续的、动态的检测. 该法可使我们获得许多信息, 如突触体外 Glu 的初始浓度、Glu 从极化的突触体中流出的速率、Glu 依赖  $Ca^{2+}$  释放的动力学及突触体内 Glu 的总量等. 该法快速、简便而灵敏度高, 是目前国际上研究 Glu 释放试验中常用的一种先进方法.

## 2 Glu 递质释放的连续荧光分析法

**2.1 原理** 从突触前膜释放的 Glu, 在谷氨酸脱氢酶 (GDH) 作用下, 可与  $NAD^+$  或  $NADP^+$  发生氧化还原反应, 生成 NADH 或 NADPH 以及  $\alpha$ -酮戊二酸 (图 1)<sup>[4]</sup>. 随着  $NAD^+$  或  $NADP^+$  被还原成 NADH 或 NADPH, 会引起荧光快速增加而为荧光光度计检测到. 通过标准 Glu 的加入, 可对释放的 Glu 精确定量. 荧光变化与 Glu 量在 0—8nmol/mg 蛋白范围内呈线性关系.

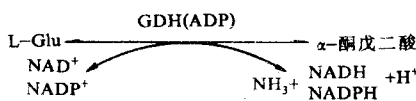


图 1 Glu 与  $NAD^+$ 、 $NADP^+$  间氧化还原反应示意图

此反应为可逆反应, 一般 GDH 催化的反

应平衡点偏向于合成 Glu 一边. 而在过量  $NAD^+$  或  $NADP^+$  ( $\geq 1 \text{ mmol/L}$ ) 存在或低浓度 Glu ( $< 50 \mu\text{mol/L}$ ) 时, Glu 则为 GDH 氧化而发生脱氨反应<sup>[4]</sup>.

**2.2 分析程序** 将制备的豚鼠脑皮层突触体用 Kreb's 培养液悬浮 (蛋白含量为  $0.67 \text{ mg/ml}$ ), 置  $37^\circ\text{C}$  培育 35min. 然后, 取  $0.75 \text{ ml}$  该悬浮液置于石英杯内, 放入荧光分光光度计中. 加入  $1 \text{ m mol/L}$   $NADP^+$  和  $50 \text{ U}$  GDH, 用  $30 \text{ m mol/L}$  KCl 触发突触体去极化来引起 Glu 释放. 在激发波长为  $340 \text{ nm}$ , 发射波长为  $460 \text{ nm}$  处记录荧光变化. 最后可加入  $0.5\%$  (W/V) 的表面活性剂 Triton X-100, 用以破坏质膜和囊泡来测定突触体所含 Glu 的量. 全过程可在  $15 \text{ min}$  内完成<sup>[7]</sup>.

使用  $NADP^+$  较  $NAD^+$  为优. 因为, NADH 易缓慢重新氧化, 而 NADPH 不会, 产生的荧光较稳定. 该法对 D-天冬氨酸 (D-Asp) 不敏感, 其它腺苷类也不影响测定.

由于 GDH 在  $\text{pH}7.4$  并有  $1 \text{ m mol/L}$   $NADP^+$  存在时不能立即引起所释放的 Glu 的转变, 所以荧光痕迹要稍滞后于实际所释放的 Glu. 这可以用标准 Glu ( $4 \text{ n mol}$ ) 产生的速率来校正 (图 2). 由于 GDH 除去了胞外 Glu, 减少了重吸收, 该法有些类似于灌流法.

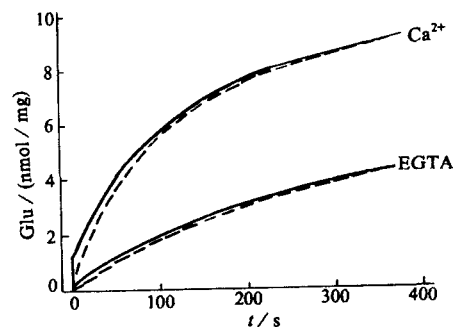


图 2 对 Glu 释放荧光痕迹的校正  
虚线代表 Glu 释放的荧光痕迹, 实线代表经校正的 Glu 释放痕迹

### 3 Glu 的释放动力学和影响因素

连续荧光分析法对突触体在数秒钟释放的 Glu 有足够的灵敏度. 它可在 5min 内提供 Glu 释放的整个动力学过程. 该法与其它方法的结合, 逐渐丰富了我们对 Glu 从突触前释放机制的了解.

#### 3.1 Glu 依赖 $Ca^{2+}$ 和不依赖 $Ca^{2+}$ 的释放

连续荧光分析法可清楚显示出 Glu 依赖  $Ca^{2+}$  和不依赖  $Ca^{2+}$  释放两种动力学特征 (图 3). 在去极化条件下, 5min 内 Glu 依赖  $Ca^{2+}$  的释放, 先是很快, 然后减弱. 而不依赖  $Ca^{2+}$  的释放与时间呈线性关系<sup>[6]</sup>.

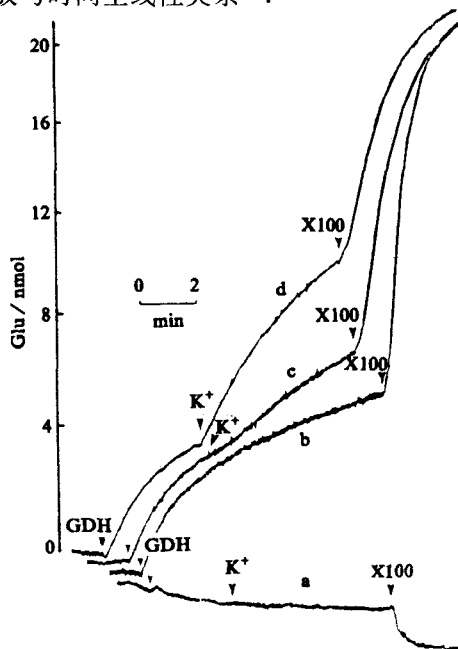


图 3 Glu 依赖  $Ca^{2+}$  与不依赖  $Ca^{2+}$  释放的荧光痕迹

- 在突触体培养介质中加有 60U GDH, 1.3mmol/L  $CaCl_2$ , 30mmol/L KCl (在图中用  $K^+$  表示) 和 0.5% 的 Triton X-100 (在图中用 X100 表示), 但无  $NADP^+$  的荧光痕迹
- Glu 从极化的 (未加  $K^+$ ) 突触体上加 1.3mmol/L  $CaCl_2$  时释放的荧光痕迹
- Glu 在加了 30mmol/L KCl, 但无  $Ca^{2+}$  时的荧光痕迹
- Glu 在加了 30mmol/L KCl 和 1.3mmol/L  $Ca^{2+}$  后的荧光痕迹

突触体去极化后, Glu 总量的 10%—15% 可按依赖  $Ca^{2+}$  的方式释放<sup>[8]</sup>. 延长去极化, 可导致 Glu 的进一步释放, 但这种释放要慢而广泛得多. 因为, 这需要将含 Glu 囊泡移位到突触前膜释放活性区. 在灌流实验中, 减少介质中  $K^+$  浓度, 使质膜复极化后, 还可以用高浓度  $K^+$  再度引起这种释放<sup>[9]</sup>. 如在去极化之前, 将突触体在 30℃ 预先培养 2h, 可使 Glu 不依赖  $Ca^{2+}$  的释放减少, 而使其依赖  $Ca^{2+}$  的释放增加. 这也反映了含 Glu 囊泡向突触前膜释放活性区的重新定位.

在图 2 上可见 Glu 从极化的突触体上外流的荧光痕迹. 这是胞浆内 Glu 通过质膜上酸性氨基酸载体的流出. 这类载体是高活性的、电性的和双向的. 其最小化学比为  $2Na^+ : Glu^- / 1K^+$ . 这也是 Glu 重吸收的主要途径 (周围胶质细胞上的此类载体也是). 在突触体内, Glu 除了有在囊泡的递质池外, 还有在胞浆的代谢池. 因而, Glu 在去极化条件下的释放与极化条件下的外流, 性质不同. 如向培养介质中加入 30mmol/L NaCl 来增加胞外  $Na^+$  浓度, 可减少 Glu 在突触体极化时的流出速率. 因为增加了与  $K^+$  的交换, 所以 Glu 的流出速率要小于极化时的外流速率. 测定在用 KCl 去极化后, Glu 不依赖  $Ca^{2+}$  的外流速率, 是检验突触体制备质量的很好手段. 低速率表明突触体内  $Na^+$  浓度低.

#### 3.2 Glu 依赖 $Ca^{2+}$ 释放的两相性

突触体上含 Glu 囊泡在去极化条件下, 是以依赖  $Ca^{2+}$  的胞泌机制释放<sup>[3]</sup>. 经校正的 Glu 释放荧光痕迹表明: 这种释放呈两相性, 在 2s 内即可完成的快相释放之后是持久的慢相释放. 两种不同的去极化试剂, 在慢相使 Glu 达半数最大释放量的时程 ( $t_{1/2}$ ) 不同: KCl 需 52s, 4-氨基吡啶 (4-AP) 则需 120s 以上<sup>[7]</sup>. KCl 引起 Glu 快相半数最大释放量 ( $Q_{1/2}$ ) 约为 1.0 n mol 每 mg 蛋白, 而慢相的  $Q_{1/2}$  为 3.8 n mol 每 mg 蛋白, 两者的比值约为 1 : 4. 两者的  $t_{1/2}$  相差 30 倍以上. 限制去极化的程度, 可使两相释放

的  $Q_{1/2}$  都减弱, 但对慢相的  $t_{1/2}$  没有影响<sup>[7]</sup>.

用  $^{45}\text{Ca}^{2+}$  和 Fura-2 对突触体胞浆内  $\text{Ca}^{2+}$  浓度 ( $[\text{Ca}^{2+}]_c$ ) 变化测定后发现: KCl 去极化后, 胞外  $\text{Ca}^{2+}$  的内流呈两相.  $[\text{Ca}^{2+}]_c$  可在数秒钟内出现一瞬间峰, 随后降为一平台期<sup>[10]</sup>. 突触体上存在  $\text{Ca}^{2+}$  的快通道和慢通道. 快通道在  $\text{Ca}^{2+}$  快速内流后即失活. 平台期则为  $\text{Ca}^{2+}$  通过定位的、非失活的慢通道而内流. 这反映了突触体上  $\text{Ca}^{2+}$  的转运机制将  $\text{Ca}^{2+}$  清除出胞浆 (或排出胞外, 或排入线粒体等  $\text{Ca}^{2+}$  池) 的速率大于其进入的速率<sup>[11]</sup>.

儿茶酚氨类递质的两相释放与  $^{45}\text{Ca}^{2+}$  两相内流相吻合; 其快相释放与  $\text{Ca}^{2+}$  可失活的快通道相关<sup>[12]</sup>. 而氨基酸类递质的释放对  $\text{Ca}^{2+}$  内流有不同的依赖性. 对  $[\text{^3H}]$  GABA 释放的动力学分析表明, 可失活的快  $\text{Ca}^{2+}$  通道对其释放作用不大<sup>[13]</sup>. Glu 的释放, 也发现与  $\text{Ca}^{2+}$  通道的失活无关, 尽管两者的快相期在时程上相当.

Glu 释放的主要部分发生在  $\text{Ca}^{2+}$  内流的平台期. 4-AP 几乎不能引起  $[\text{Ca}^{2+}]_c$  的瞬间峰, 但 Glu 仍有快相释放<sup>[7]</sup>. 为抑制  $\text{Ca}^{2+}$  的快通道, 在加  $\text{Ca}^{2+}$  之前先使突触体去极化, 这不会影响重新加入  $\text{Ca}^{2+}$  而引起的 Glu 慢相释放. 用藜芦碱 (激活电压依从性  $\text{Na}^+$  通道) 和离子霉素 (ionomycin, 可引起  $\text{Ca}^{2+}/2\text{H}^+$  交换而使  $[\text{Ca}^{2+}]_c$  上升) 引起 Glu 的释放, 都未见  $[\text{Ca}^{2+}]_c$  的瞬间峰, 但 Glu 释放的动力学和程度都与 KCl 引起的释放十分相似<sup>[14]</sup>. 这说明  $\text{Ca}^{2+}$  的快速内流并非触发 Glu 释放的主要因素. Glu 释放是由  $\text{Ca}^{2+}$  通过非失活性通道内流而触发的. 如在 KCl 去极化后加入 EGTA, 会立即中断 Glu 的释放. 因而, Glu 的两相释放均要求  $\text{Ca}^{2+}$  的连续进入.

Glu 释放的两相性反映了突触体中含 Glu 囊泡在前膜释放活性区和胞浆的双重定位. 由于 Glu 是一“快”递质, 这就必须有相当数量的囊泡在活性区来保证其快速胞泌释放. 突触专一性蛋白 I (synapsin I) 的磷酸化是将含 Glu 囊泡从突触前膜活性区释放的重要环节. 这种磷酸化是瞬息就完成的<sup>[15]</sup>. 这就使得囊泡

在  $\text{Ca}^{2+}$  内流触发下只能快速释放有限量的 Glu. 随后 Glu 的慢相释放则需要能量和时间, 持续不断地将囊泡从胞浆转位到前膜活性区.

Glu 在去极化后毫秒间的快速胞泌, 要求其释放触发者—— $\text{Ca}^{2+}$  通道定位于 100nm 范围的活性区内, 这可使含 Glu 囊泡暴露于区域性的高浓度  $\text{Ca}^{2+}$  中<sup>[16]</sup>. 非定位的  $\text{Ca}^{2+}$  进入突触体对 Glu 释放无效. 因而, Glu 在慢相期的大量释放是  $\text{Ca}^{2+}$  通过区域定位的非失活性通道内流而触发的. 突触前斑片钳分析表明, 在海马苔状纤维末梢上存在着这种非失活的  $\text{Ca}^{2+}$  通道<sup>[17]</sup>, 这些可能与从神经元胞体上测到的 L-, T-和 N-型  $\text{Ca}^{2+}$  通道有所不同.

### 3.3 Glu 释放的能量要求

Glu 依赖  $\text{Ca}^{2+}$  的释放对 ATP 有严格要求<sup>[14]</sup>. 这在分离的突触体上只能通过有氧氧化才能充分满足. 因为, 尽管有无氧酵解存在, 呼吸抑制后总的 ATP/ADP 下降, 足以明显抑制 Glu 依赖  $\text{Ca}^{2+}$  的释放程度. 如酵解受抑制, 突触体还可以靠内源性底物呼吸, 但降低的 ATP/ADP 再次抑制了 Glu 的释放<sup>[18]</sup>. 用鱼藤酮和碘乙酸盐来快速耗竭 ATP, Glu 释放则立即停止. 所以, ATP 对 Glu 的释放是必需的. 另外, 与质膜酸性氨基酸载体相反, 囊泡对 Glu 的摄取不依赖  $\text{Na}^+$ , 而依赖于  $\text{Mg}^{2+}$  和 ATP.

### 3.4 Glu 释放的突触前调控

突触体内的蛋白激酶 C (PKC), 在用低浓度 phorbol esters 激活后, 可使它明显转位到质膜上. 而在较高浓度时, 可强化 PKC 对 KCl 引起的 Glu 释放. 这与 PKC 对乙酰胆碱和去甲肾上腺素释放的影响相仿<sup>[19]</sup>. 这表明 PKC 可象对其它递质一样调节  $[\text{Ca}^{2+}]_c$  与 Glu 释放的偶联. Glu 的过度刺激, 可引起大量、持续的 PKC 移位. 它与高浓度  $[\text{Ca}^{2+}]_c$  结合, 持续地激活脂酶和蛋白酶等  $\text{Ca}^{2+}$  依赖性酶, 最终导致神经元死亡<sup>[20]</sup>.

Glu 突触后受体可分为离子型受体和代谢型受体两大类, 前者有 N-甲基-D-天冬氨酸 (NMDA) 受体和非 NMDA (以海人酸——KA 等受体为代表), 后者有使君子氨酸 (QA) 受

体. Glu 能神经末梢显然没有 NMDA 和 KA 的自受体. 无论有无  $Mg^{2+}$ , NMDA 对  $[Ca^{2+}]_i$  或 Glu 从脑皮层与海马突触体上的释放都无影响<sup>[21]</sup>. 0.1—1m mol/L KA 引起的 Glu 不依赖  $Ca^{2+}$  的释放则是它抑制了质膜上载体, 阻断了 Glu 重吸收, 引起 Glu 释放的净增. QA 及其它 QA 受体激动剂在 100 $\mu$ mol/L 可引起 Glu 从极化的突触体上不依赖  $Ca^{2+}$  的缓慢释放, 可能与该类受体相偶联的肌醇磷酸化过程有关<sup>[21]</sup>. 1—100 $\mu$ mol/L 的 Glu 和 D-Asp 可反向引起突触体去极化而触发 Glu 释放<sup>[22]</sup>. 这不是通过突触前的 Glu 自受体, 而是通过质膜上酸性氨基酸载体而作用. 这类载体在对 Glu 重吸收的同时, 引起  $Na^+$  的内流. 这内向  $Na^+$  流足以使 Glu 能突触去极化, 激活  $Ca^{2+}$  通道, 从而引起 Glu 释放. 当使用了这类载体的竞争性抑制剂——二氢海人酸盐, Glu 和 D-Asp 引起的去极化可被完全阻断<sup>[22]</sup>. 这样看来, 只要突触间隙积累的 Glu 达 10  $\mu$ mol/L 以上, 就足以通过载体转运机制, 引起去极化而触发 Glu 再释放, 从而加剧 Glu 神经毒性.

随着分析、检测 Glu 释放技术的发展, 不但使我们可以搞清 Glu 从突触前膜的释放机制这一神经生物学上的重要问题, 而且也使我们有一有力手段, 去研究在不影响 Glu 的正常神经传导条件下, 对 Glu 异常释放, 造成对 Glu 受体的滥刺激所致神经毒性的拮抗.

### 参 考 文 献

- 1 Robinson M B, Coyle J T. Glutamate and related acidic excitatory neurotransmitters: from basic science to clinical application. *FASEB J*, 1987;1:446
- 2 Monaghan D T, Bridges R J, Cotman C W. The excitatory amino acid receptors. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, 1989;29:365
- 3 Nicholls D G. The release of glutamate, aspartate and GABA from isolated never terminals. *J Neurochem*, 1989;52:331
- 4 Fosse V M, Kolstad J, Fonnum F. A bioluminescence method for the measurement of L-glutamate. *J Neurochem*, 1986;47:340
- 5 Nichols D G, Sihra T S. Synaptosomes possess an exocy-

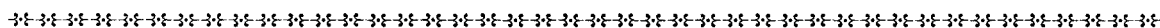
- 6 Nicholls D G, Sihra T S, Sanchez-Prieto J. Calcium-dependent, and-independent release of glutamate from synaptosomes monitored by continuous fluorometry. *J Neurochem*, 1987;49:50
- 7 McMahon H T, Nicholl D G. Transmitter glutamate release from isolated never terminals. *J Neurochem*, 1991;56:86
- 8 McMahon H T, Nicholls D G. Glutamine and aspartate loading of synaptosomes. *J Neurochem*, 1990;54:373
- 9 Barnes S, Leighton G E, Davies J A. A novel superfusion chamber for the measurement of endogenous glutamate release from cerebellar slices. *J Neurosci Methods*, 1988;23:57
- 10 Tibbs G R, Barrie A P, Van Miegheem F J E *et al*. Repetitive action potentials in isolated never terminals in the presence of 4-aminopyridine. *J Neurochem*, 1989;53:1693
- 11 Adam-Vizi, Ashley R H. Relation of acetylcholine release to  $Ca^{2+}$  uptake and intraterminal  $Ca^{2+}$  concentration in guinea pig cortex synaptosomes. *J Neurochem*, 1987;49:1013
- 12 Leslie S W, Woodward I T, Wilcox R E *et al*. Correlation of rates of  $Ca^{2+}$  entry and endogenous dopamine release in mouse striatal synaptosomes. *Brain Res*, 1985;325:99
- 13 Turner T J, Goldin S M. Multiple components of synaptosomal  $[^3H]$ -GABA release resolved by a rapid superfusion system. *Biochemistry*, 1989;28:586
- 14 Sanchez-Prieto J, Sihra T S, Nicholls D G. Characterization of the exocytotic release of glutamate from guinea-pig cerebral cortical synaptosomes. *J Neurochem*, 1987;49:59
- 15 Wang J K T, Walas S I, Greengard P. Protein phosphorylation in never terminals. *J Neurosci*, 1988;8:281
- 16 Smith S J, Augustine G J. Calcium ions, active zones and synaptic transmitter release. *Trends Neurosci*, 1988;11:458
- 17 Gray R, Johnston D. Recordings of single calcium channels from presynaptic mossy fibre terminals in adult guinea pig hippocampus. *Soc Neurosci Abstr*, 1988;14:68
- 18 Kauppinen R A, McMahon H T, Nicholls D G. Calcium-dependent and-independent glutamate release, energy status and cytosolic free  $Ca^{2+}$  concentration. *Neurosci*, 1988;27:175
- 19 Diaz-Guerra M J M, Sanchez-Prieto J, Bosca L *et al*.

根据本文结果,我们认为,人外周血 Ly-CL 实质上是 PBMC-CL, 刺激物 (包括有丝分裂原和其它受体刺激剂) 诱导 PBMC 亚群化学发光可能均无选择性. 因此,在用 Ly-CL 技术作为研究淋巴细胞活化,细胞毒机制,细胞间相互作用等指标时,应将 PBMC 进一步分离为 T 细胞, B 细胞和单核细胞,以避免细胞亚群间化学发光干扰. 同时也应提出,由于有丝分裂原诱导 Ly-CL 时主要贡献细胞为 T 细胞和 B 细胞, 单核细胞所做贡献很小; 此外,我们最近研究发现, Ly-CL 与疾病状态下的淋巴细胞功能有密切关系<sup>[9,10]</sup>, 因此; Ly-CL 测定仍可从整体上反映淋巴细胞氧化代谢活性或功能状态.

### 参 考 文 献

1 张学军, 刘 琰. 人外周血淋巴细胞化学发光测定的方法学研究. 中华微生物学和免疫学杂志, 1990; **10**: 195  
 2 司传平, 刘 琰. 人外周血淋巴细胞化学发光测定的最佳

实验条件探讨. 中国免疫学杂志, 1991; **7**: 49  
 3 张工梁. 分离 T, B 淋巴细胞的简易方法. 上海免疫学杂志, 1986年; **6**: 184  
 4 陶义训, 章谷生, 孙 萌. 临床免疫学检验. 上海: 上海科技出版社, 1983: 19-21  
 5 Peerless A G, Stiehm R E. Abnormal erythrocyte and lymphocyte chemiluminescence in chronic granulomatous disease. *Clin Immunol Immunopathol*, 1986; **38**: 1  
 6 张学军. 淋巴细胞化学发光. 生物化学与生物物理进展, 1990; **17**: 430  
 7 Van Dyke K. Cellular chemiluminescence. Vol I. Florida: CRC Press, Boca Raton, 1987: 93  
 8 Mayanskii A N. C<sub>3</sub> b-mediated chemiluminescence of human lymphocytes. *chemical Abstracts*, 1990; **112** (7): 556  
 9 张学军, 刘 琰, 杨 林. 肿瘤患者淋巴细胞化学发光测定意义的研究. 中华肿瘤杂志, 1992; **14**: 17  
 10 张学军, 刘 琰, 杨 森等. 淋巴细胞化学发光临床意义的初探. 免疫学杂志, 1991; **7**: 252



(上接第 280 页)

Phorbol ester translocation of protein kinase C in guinea-pig synaptosomes and the potentiation of Ca<sup>2+</sup>-dependent glutamate release. *Biochem Biophys Acta*, 1988; **970**: 157  
 20 Manev H, Costa E, Wroblewski J T *et al.* 著, 任民峰编译. 兴奋性氨基酸受体过度刺激和对抗其神经毒性的途径. 生理科学进展. 1991; **22** (2): 107  
 21 Pocock J M, Murphie H M, Nicholls D G. Kainic acid in-

hibits the synaptosomal plasma membrane glutamate carrier and allows glutamate leakage from the cytoplasm but does not affect glutamate exocytosis. *J Neurochem*, 1988; **50** (3): 745  
 22 McMahon H T, Barrie A P, Lowe M *et al.* Glutamate release from guinea-pig synaptosomes. *J Neurochem*, 1989; **53**: 71