

综述与专论

垂体腺苷酸环化酶激活肽的研究概况

李喜龙*

(中国科学院昆明动物研究所, 昆明 650223)

赵兴绪

(甘肃农业大学动物医学系, 兰州 730070)

摘要 垂体腺苷酸环化酶激活肽 (PACAP) 及其受体存在于许多动物的下丘脑和垂体中, 而且在肾上腺、睾丸、卵巢、肝脏、肾脏、胰腺、松果腺、心脏、脊椎、神经节、呼吸系统和消化系统等组织或系统中也存在, 其中肾上腺含量最高. 在这些组织或系统中, 通过 Ca^{2+} 、 Na^{+} 、腺苷酸环化酶或磷酸肌醇等作用通路, PACAP 发挥神经递质/调质、或神经营养因子等生物学功能.

关键词 垂体腺苷酸环化酶激活肽, 血管活性肠肽, 受体, 神经肽

学科分类号 Q55

1 PACAP 的结构及其受体

垂体腺苷酸环化酶激活肽 (pituitary adenylate cyclase activating polypeptide, PACAP) 最初是从羊下丘脑中分离出来的一种能够激活培养的大鼠垂体细胞腺苷酸环化酶活性的神经肽, 属于分泌素、胰高血糖素、血管活性肠肽 (VIP) 和生长激素释放激素 (GHRH) 家族的新成员, 具有 PACAP-38 和 PACAP-27 两种活性形式, 它们来源于同一个含 176 个氨基酸残基的前体, 其中含有 38 个氨基酸残基的多肽称为 PACAP-38, 而将 PACAP-38 的部分 C 端含 27 个氨基酸残基的多肽称为 PACAP-27. PACAP N 端的 1~28 个残基序列与 VIP 有 68% 的同源性, 部分序列也与 GHRH、分泌素、胰高血糖素或组胺酸-异亮氨酸多肽相同, 但 PACAP 刺激腺苷酸环化酶的活性比 VIP 强^[1,2].

在已研究的所有哺乳动物中, PACAP-38 的序列都是相同的. 在低等脊椎动物如青蛙也有 PACAP 存在, 其与哺乳动物 PACAP-38 的唯一区别就是位于 35 位的缬氨酸被异亮氨酸所取代, 它也能刺激垂体 cAMP 的产生, 由此表明在动物进化过程中 PACAP 的结构具有高度的保守性^[3].

PACAP 的受体也广泛分布于各种组织中, 根据其功能可分为 I 型和 II 型两种. I 型仅与 PACAP 特异性结合, 分布于大脑、垂体、睾丸、肾上腺髓质及一些肿瘤细胞中; II 型则指 PACAP/VIP 受体, 分布于心、肾、肺、肝等部位中, 它与

PACAP 的亲力和 VIP 的基本相当. I 型受体可以进一步分为 I A 和 I B 两个亚型, I A 与 PACAP-38 和 PACAP-27 的亲力和相当, 而 I B 与 PACAP-38 的亲力和比与 PACAP-27 的高 1 000 倍左右^[4]. 近年来也有人将 PACAP 受体分为特异的 PACAP 受体 (PAC1, 60 ku) 和普通的 VIP/PACAP 受体 (包括 VPAC1, 58 ku 和 VPAC2, 68 ku 两种), 而且还可能存在新的 PAC1 受体亚型^[5], 因此, 还需要对 PACAP 结构及其受体进行研究, 以阐明其分布、类型及作用机制.

2 PACAP 在不同组织或器官中的作用

在不同组织或系统中, PACAP 可以发挥神经递质/调质或神经营养因子等生物学功能.

2.1 神经细胞

在胚胎发育早期或在成熟的大脑中, PACAP 通过 PAC1 受体, 激活磷酸肌醇和 cAMP 通路, 抑制磷脂酶 C, 直接刺激交感神经元神经肽 Y 的释放, 减少或降低对神经元的损伤, 促进神经元的存活, 抑制其凋亡, 从而发挥其对神经元的营养或保护作用^[6,7].

2.2 小脑粒细胞

PACAP 可以刺激小脑粒细胞呈剂量依赖性分

* 通讯联系人.

Tel: 0871-5198989, E-mail: lixilong@hotmail.com

收稿日期: 2000-03-01, 接受日期: 2000-05-15

泌 cAMP. PACAP-38 能刺激多磷酸肌醇的断裂, 其刺激作用可被 U-73122 (一种 G 蛋白阻断剂) 和百日咳毒素明显降低, 而 VIP 对磷酸肌醇的代谢无作用, 说明这一过程可能是 PACAP-38 结合 I 型或 PAC1 受体, 通过百日咳毒素敏感 G 蛋白而刺激磷脂酶 C, 发挥其调节小脑粒细胞增长和分化的生物学作用^[8].

2.3 垂体细胞

PACAP 的 mRNA 存在于下丘脑, 并在下丘脑合成 PACAP, 然后通过垂体门脉系统到达垂体, 刺激垂体细胞增强腺苷酸环化酶的活性, 释放 GH、PRL、促肾上腺皮质激素和 LH.

PACAP-38 的结构类似物 PACAP-6-38 和血清素的前体 5-羟-L-色氨酸可以完全抑制 PACAP-38 刺激垂体前叶细胞分泌 GH 的能力, 而 GHRH 的拮抗剂则无此能力, 说明 PACAP-6-38 是体内 PACAP-38 刺激活性的拮抗剂, 而 PACAP-38 可能是通过血清素途径来刺激 GH 的释放. PACAP 还能增加垂体 GH3 细胞 cAMP 水平, 激活 PRL 启动子活性, 升高 PRL 的 mRNA 水平, 其活性可被蛋白酶 A (PKA) 的抑制剂所抑制, 但蛋白酶 C (PKC) 的抑制剂则无此能力^[9], 所以 PACAP 刺激 PRL 启动子的过程可能是通过 cAMP 和 PKA 通路, 而不包括磷酸肌醇/ Ca^{2+} 通路.

2.4 肾上腺细胞

外周组织中, 肾上腺 PACAP 的浓度最高, 而且肾上腺髓质部的浓度是皮质部的 24 倍. PACAP 可以使髓质部释放儿茶酚胺类, 增加 cAMP、 Ca^{2+} 和 IP3 的浓度, 而且其能力比 VIP 强得多, 说明髓质部细胞上存在有 I 型受体.

PACAP 通过激发髓质嗜铬性细胞释放儿茶酚胺类, 再使皮质部的小球状细胞分泌醛固酮, 而且在由胰岛素诱导的低血糖症中, PACAP 也有明显的糖调节功能, 但在分散的肾上腺皮质细胞上则无此功能^[10], 说明 PACAP 具有间接刺激肾上腺皮质细胞分泌醛固酮的能力.

PACAP 可以激活肾上腺嗜铬细胞的腺苷酸环化酶活性, 增加 cAMP 和 Ca^{2+} 浓度, 或者通过 PKC 调节的 Na^+ 流促使细胞膜的去极化, 再使 L 型 Ca^{2+} 通道产生 Ca^{2+} 流, 从而使 Ca^{2+} 浓度增加^[11], 即 PACAP 通过两种完全不同的机制使 Ca^{2+} 浓度增加: 细胞内的 Ca^{2+} 贮存释放使 Ca^{2+} 迅速增加; 或者是 Na^+ 流导致的细胞膜去极化使 Ca^{2+} 长期释放.

2.5 睾丸

除大脑和肾上腺外, 睾丸中也大量存在 PACAP. 在精子生成早期, PACAP 作为一种旁分泌或自分泌调节因子, 调节睾丸血流量和附睾氯化物的分泌, 影响曲细精管和睾丸间质间的相互作用.

大鼠睾丸中的精子细胞上存在有 PACAP 的免疫类似物 (PACAP-IL) 及其 mRNA, mRNA 大约有 800 个碱基, 除了非翻译区 5' 端的第 126 个碱基不同外, 整个序列与下丘脑的 PACAP 相同, 睾丸中 PACAP 及其 mRNA 的含量受到下丘脑-垂体-性腺轴系活性 (主要是促黄体素或促卵泡激素) 的调节^[12].

精母细胞和精细胞与 PACAP-38、PACAP-27、VIP 或 dbcAMP 共同培养后, 可以明显增加精母细胞的蛋白质合成和分泌, 但精细胞蛋白质的合成和分泌则可被 PACAP、VIP 或 dbcAMP 明显抑制^[13], 说明 PACAP 能够调节精母细胞和精细胞的细胞内蛋白质合成和分泌.

在胎儿发育早期, 血浆中 LH 的浓度很低, 这时 PACAP-27 和 VIP 能够显著刺激胎儿的 Leydig 细胞分泌类固醇, 但它们对成年动物的 Leydig 细胞则无作用, 说明垂体促黄体素 (LH) 并非是胎儿睾丸中类固醇生成的最初启动因子, PACAP-27 和 VIP 可能作为某种旁分泌因子发挥作用, 在 LH 开始分泌之前维持胎儿睾丸类固醇的生成. PACAP-38 可使 Leydig 细胞产生 cAMP 和 PGE2 的量呈剂量依赖性增加, 而 PACAP-27 则对睾酮的分泌没有任何作用, 表明 PACAP-38 可以激活 Leydig 细胞的 cAMP 和磷脂酰肌醇依赖机制, 增强睾丸 Leydig 细胞产生类固醇的能力. PACAP 和 VIP 在影响睾丸类固醇生成的同时, 对睾丸的代偿性肥大有影响, 这种影响也与动物年龄有关^[14].

除去细胞外的 Ca^{2+} 并不能抑制 PACAP-38 刺激 Leydig 细胞分泌睾酮的能力, 任何剂量的 PACAP-38 和 PACAP-27 也不能改变 Leydig 细胞内游离 Ca^{2+} 的水平, 说明 Ca^{2+} 在 PACAP 刺激类固醇分泌过程中不发挥作用. PACAP-38 可以通过细胞外的 Na^+ 流而使细胞膜去极化, 当除去细胞外的 Na^+ 时, PACAP-38 则不能刺激大鼠 Leydig 细胞分泌类固醇^[15], 表明通过细胞膜的 Na^+ 流而导致细胞膜的去极化过程与 PACAP 的作用关系极为密切, PACAP-38 是通过一种新的 PACAP 受体亚型或传导途径来刺激成年大鼠 Leydig 细胞分泌睾酮, 这一现象与其他组织中的研究结果不同.

2.6 卵巢

卵巢上存在 PACAP-38 的免疫类似物 (PACAP-38-IL), PACAP-38 和 PACAP-38-IL 可以增加卵巢 PGE₂、孕酮和皮质酮的分泌. 环加氧酶 (COX) 可以中和 PACAP-38-IL 或 PACAP-38 增加 PGE₂、孕酮和皮质酮的能力, 磷脂酶 C (AC) 的抑制剂也有中和作用, 但不能减少 PGE₂ 的增加, 表明 PACAP-38 或 PACAP-38-IL 可能是先诱导 PGE₂ 的增加, PGE₂ 再作用于 AC, 诱导卵巢孕酮和皮质酮分泌增加. PACAP 也能刺激卵巢颗粒细胞中 cAMP 的积累和雌二醇、孕酮的分泌, 作用比 VIP 或 GnRH 强, 而且 PACAP-38 诱导 cAMP 积累的能力又比 PACAP-27 强得多, 说明卵巢颗粒细胞上大量存在 PACAP-38 的特异受体, 通过其刺激类固醇激素的分泌, 同时研究也表明, 大鼠颗粒细胞上的孕酮受体也反馈调节 PACAP 基因表达^[16].

2.7 肝脏细胞

肝细胞上也存在 PACAP-27 和 VIP, 但 PACAP-27 在肝细胞上刺激腺苷酸环化酶的活性比 VIP 的高, 当这两种多肽同时存在于培养液中时, 它们刺激腺苷酸环化酶的活性却没有增加, 说明在肝细胞上存在 PACAP-27 与 VIP 共同的受体^[17].

2.8 松果体细胞

大鼠松果体细胞上存在 PACAP 受体, 其中 I 型受体比 II 型高 12 倍, 松果体细胞经 PACAP 处理后可以增加 cAMP 和褪黑素 (MT), 其效果是 α -肾上腺素能刺激活性的 2~3 倍, 但无论是否存在肾上腺素能, PACAP 并不能影响 cGMP 的含量, 说明 cAMP 可能作为第二信使, 在 PACAP 刺激松果体细胞产生 MT 时发挥作用, 这一过程也可能包括 α -肾上腺素能-PKC 机制^[18].

2.9 胰腺细胞

PACAP 可以刺激培养的 HIT-T15- β 细胞 (胰腺细胞的一种) cAMP、Ca²⁺ 的增加和胰岛素的分泌, 但引起 cAMP 和 Ca²⁺ 的增加是暂时的, 在培养 30 min 后, cAMP 和 Ca²⁺ 含量已经恢复到基础水平, 这时 PACAP 仍能刺激胰岛素的分泌. PACAP 刺激胰岛素释放的能力可被低浓度的磷脂酰肌醇 3-激酶的抑制剂渥曼青霉素所抑制, 说明 PACAP 刺激胰岛素的释放是通过不同的受体类型和不同转导通路引起的, 其中短暂过程是由 cAMP 和 Ca²⁺ 增加引起的, 而与磷酸肌醇通路无关, 长期效应则可能与磷脂酰肌醇 3-激酶敏感通路有

关^[19].

2.10 淋巴细胞

PACAP 可以通过 cAMP 依赖性通路和 cAMP 非依赖性通路, 抑制白介素-12 的基因表达, 而白介素-12 参与了 T 淋巴细胞的分解、分化、或激活等一系列过程, 同时 PACAP 还可以增强白介素-10 的基因表达和释放. 在培养的人腺瘤细胞系 HP75 中可以表达三种 PACAP 受体, PACAP 与受体结合后能够抑制转移生长因子 (TGF) - β 1 诱导的细胞凋亡过程, PACAP-38 的拮抗物 PACAP-6-38 则可以阻断其抑制效应, 表明 PACAP 作为一种抗炎反应剂, 存在于淋巴系统的微环境中, 通过特殊的受体, 调节淋巴细胞的凋亡过程, 从而在机体的免疫反应中发挥重要作用^[20, 21].

3 展望

经过近 12 年的研究发现, PACAP 作为一种神经递质/调质、或神经营养因子在体内不同的组织或系统中, 可通过不同的受体或不同的作用通路来发挥其生物学效应, 因此继续研究 PACAP 及其受体在体内的分布、在不同组织或细胞中的作用机理、及其在生理条件下的基因表达与调控, 将有助于发挥其在制药业等行业中的重要作用.

致谢 本文得到中国科学院昆明动物研究所所长季唯智研究员的指导并予以修正, 在此谨表谢忱.

参考文献

- 1 Miyata A, Arimura A, Dahl R R, *et al.* Isolation of a novel 38 residue hypothalamic polypeptide which stimulates adenylate cyclase in pituitary cells. *Biochem Biophys Res Commun*, 1989, **164** (1): 567~574
- 2 Arimura A. Pituitary adenylate cyclase activating polypeptide (PACAP): discovery and current status of research. *Regul Pept*, 1992, **37** (3): 287~303
- 3 Chartel N, Tonon M C, Vaudry H. Primary structure of frog pituitary adenylate cyclase activating polypeptide (PACAP) and effects of ovine PACAP on frog pituitary. *Endocrinology*, 1991, **129** (6): 3367~3371
- 4 Arimura A. Receptors for pituitary adenylate cyclase activating polypeptide, comparison with vasoactive intestinal peptide receptors. *Trends Endocrinol Metab*, 1992, **3** (8): 288~294
- 5 Solano R M, Carmona M J, Busto R, *et al.* Identification and functional properties of the pituitary adenylate peptide (PAC1) receptor in human benign hyperplastic prostate. *Cell Signal*, 1999, **11** (11): 813~819
- 6 Braas K M, May V. Pituitary adenylate cyclase activating

- polypeptide directly stimulate sympathetic neuron neuropeptide Y release through PAC1 receptor isoform activation of specific intracellular signaling pathway. *J Biol Chem*, 1999, **274** (39): 27702~ 27710
- 7 Dickinson T, Mitchell R, Robberecht P, *et al.* The role of VIP/ PACAP receptor subtypes in spinal somatosensory processing in rats with an experimental peripheral mononeuropathy. *Neuropharmacology*, 1999, **38** (1): 167~ 180
 - 8 Magali B, Bruno J G, Laurence D, *et al.* Pituitary adenylate cyclase activating polypeptide (PACAP) stimulates adenylyl cyclase and phospholipase C activity in rat cerebellar neuroblasts. *J Neurochem*, 1995, **65** (3): 1318~ 1324
 - 9 Daniel T C, Xiaohual C, Sassaroli M, *et al.* Pituitary adenylate cyclase activating polypeptide regulates prolactin promoter activity via a protein kinase A-mediated pathway that is independent of the transcriptional pathway employed by thyrotropin releasing hormone. *Endocrinology*, 1996, **137** (4): 1276~ 1285
 - 10 Yamaguchi N, Lamouche S. Enhanced reactivity of the adrenal medulla in response to pituitary adenylate cyclase activating polypeptide-27 (PACAP) during insulin induced hypoglycemia in anesthetized dogs. *Can J Physiol Pharmacol*, 1999, **77** (10): 819~ 826
 - 11 Kerko T, Izumi S, Toshihisa N, *et al.* Pituitary adenylate cyclase activating polypeptide causes rapid Ca^{2+} release from intracellular stores and long lasting Ca^{2+} influx mediated by Na^{+} influx dependent membrane depolarization in bovine adrenal chromaffin cells. *Endocrinology*, 1996, **137** (3): 956~ 966
 - 12 Hurley J D, Gardiner J V, Jines P M, *et al.* Cloning and molecular characterization of complementary deoxyribonucleic acid corresponding to a novel form of pituitary adenylate cyclase activating polypeptide messenger ribonucleic acid in the rat testis. *Endocrinology*, 1995, **136** (2): 550~ 557
 - 13 West A P, McKinnell C, Sharpe R M, *et al.* Pituitary adenylate cyclase activating polypeptide can regulate testicular germ cell protein synthesis *in vitro*. *J Endocrinol*, 1995, **144** (2): 215~ 223
 - 14 EL-Gehano F, Zhang F P, Pakarinen P, *et al.* Gonadotropin-independent regulation of steroidogenesis in the fetal rat testis. *Biol Reprod*, 1998, **58** (1): 116~ 123
 - 15 Romanelli F, Fillo S, Isodori A, *et al.* Pituitary adenylate cyclase activating polypeptide regulates rat leydig cell function *in vitro*. *Neuropeptides*, 1997, **31** (4): 311~ 317
 - 16 Ko C, In Y H, Park-Sarge O K. Role of progesterone receptor activation in pituitary adenylate cyclase activating polypeptide gene expression in rat ovary. *Endocrinology*, 1999, **140** (11): 5185 ~ 5194
 - 17 Gujjarro L G, Rodriguez-Henche N, Garcia-Lopez E, *et al.* Receptors for pituitary adenylate cyclase activating peptide in human liver. *J Clin Endocrinol Metab*, 1995, **80** (8): 2451~ 2457
 - 18 Constance L C, Anthony K. Pituitary adenylate cyclase activating polypeptide: control of rat pineal cyclic AMP and melatonin but not cyclic GMP. *J Neurochem*, 1995, **64** (5): 2111~ 2117
 - 19 Borboni P, Porzio O, Pierucci D, *et al.* Molecular and functional characterization of pituitary adenylate cyclase activating polypeptide (PACAP) / vasoactive intestinal polypeptide receptors in pancreatic beta cells and effects of PACAP-38 in components of the insulin secretory system. *Endocrinology*, 1999, **140** (12): 5530~ 5537
 - 20 Delgado M, Ganea D. Vasoactive intestinal peptide and pituitary adenylate cyclase activating polypeptide inhibit antigen induced apoptosis of mature T lymphocytes by inhibiting fas ligand expression. *J Immunol*, 2000, **164** (3): 1200~ 1210
 - 21 Delgado M, Munoz-Elias E J, Gomariz R P, *et al.* Vasoactive intestinal peptide and pituitary adenylate cyclase activating polypeptide enhance IL-10 production by murine macrophages: *in vitro* and *in vivo* studies. *J Immunol*, 1999, **162** (3): 1707~ 1716

Pituitary Adenylate Cyclase-activating Polypeptide

LI Xi-Long*

(Kunming Institute of Zoology, The Chinese Academy of Sciences, Kunming 650223, China)

ZHAO Xi-Xu

(Department of Veterinary Medicine, Gansu Agricultural university, Lanzhou 730070, China)

Abstract Pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide (PACAP) which belongs to the secretin/ glucagon/ VIP family has been originally isolated from the sheep hypothalamus on the basis of its ability to stimulate cAMP formation in culture rat anterior pituitary cells. Post-translational processing of the PACAP precursor generates two biologically active molecular forms, PACAP-38 and PACAP-27. The primary structure of PACAP has been remarkably conserved during evolution. The sequence of PACAP-27 exhibits substantial similarities with those of vasoactive intestinal polypeptide (VIP), glucagon and secretin. The gene encoding the PACAP precursor is widely expressed in brain and various peripheral organs, notably in endocrine glands, gastro-intestinal, uro-

genital tracts and respiratory system. *In vivo* and *in vitro* studies have shown that PACAP exhibits multiple activities especially a trophic activity during ontogenesis, notably in the adrenal medulla and the central nervous system. The biological effects of PACAP are mediated through three distinct receptor subtypes which exhibit differential affinities for PACAP and VIP. The PAC1 receptor, which shows high selectivity for PACAP, is coupled to several transduction systems. In contrast, VPAC1 and VPAC2, which bind with the same affinity for PACAP and VIP, are mainly coupled to the adenylyl cyclase pathway. In conclusion, PACAP is neuropeptide, and it functions as a hypothalamic hormone, neurohormone, neuromodulator, vasodilator, neurotransmitter or trophic factor in the brain and the various organs.

Key words pituitary adenylyl cyclase-activating polypeptide, vasoactive intestinal peptide, receptor, neuropeptide

* Corresponding author. Tel: 86-871-5198989, E-mail: lixilong@hotmail.com

Received: March 1, 2000 Accepted: May 15, 2000

2001 年全国植物光合作用、光生物学及其相关的分子生物学 学术研讨会征文通知

中国植物生理学会、中国生物物理学会和中国植物学会联合举办, 广西师范大学生物系承办的全国植物光合作用、光生物学及相关分子生物学研讨会拟于 2001 年 10 月下旬在广西桂林市召开。

会议征文内容:

1. 植物光合作用: 原初反应与放氧、光合膜蛋白复合体的结构与功能、电子与质子传递、光合碳代谢、光合生理生态、光合机理的运转与调节、光合作用与作物生产力关系等;
2. 光生物学: 生物系统的光物理与光化学、光医学、环境光生物学、生物发光及其新分析技术与新方法等;
3. 植物分子生物学与生物技术: 光合作用的分子生物学、关键发育过程的分子生物学和光形态建成的分子基础及其相关的信息传导调节机理、DNA 的损伤与修复等。

征文请写成 1 000~ 1 200 字摘要。

格式包括: 题目 (宋体, 三号黑体)

作者 (楷体, 小四)

单位 (注明省市和邮编) (仿宋, 小四)

主要结果 (宋体, 小四)

要求内容可靠, 文字清晰, 打印在一张 A4 纸上。

欲参加会议者请于 2001 年 6 月 30 日前将摘要打印件和软盘寄到上海市枫林路 300 号中国植物生理学会, 邮政编码: 200032。请在信封上注明会议征文。

正式会议通知将于 2001 年 8 月底至 9 月初发出。

中国植物生理学会
中国生物物理学会
中国植物学会