

中国药理学学会 编

生化药理学进展

13

中国医药科技出版社

生化药理学进展

中国药理学会编

※

中国医药科技出版社出版

(北京广安门外湾子)

新华书店北京发行所发行

天津富华印刷厂印刷

※

开本: 787×1092 1/32 印张: 7.375 159 字

1987年2月第1期 1987年2月第1次印刷

印 数: 0 001—6 000

统一书号: 14485·002

定价: 1.95元

目 录

生化药理学展望·····	嵇汝运 (1)
受点学说的基本概念、研究方法及与 临床医学的关系·····	金荫昌 (5)
关于阿片药物致死的受体机制·····	王崇铨 (31)
中枢突触前受体的调节作用·····	金国章 许守玺 (54)
烟碱受体的结构与功能·····	孙曼霁 (73)
受体研究的若干动向和进展·····	刘祖舜 (124)
生化分离方法的概况及某些进展·····	朱秀媛 (138)
血小板衍生生长因子——PDGF与动脉 粥样硬化·····	石 琳 (159)
生物样品中前列腺素及白三烯测定 方法的探讨和进展·····	岳天立 (179)
酶的生化药理研究·····	丛 铮 (198)
神经递质的研究·····	金国章 (208)
毒素的药理研究·····	顾振纶 (213)
代谢的药理研究·····	丛 铮 (221)

生化药理学展望

嵇汝运

生化药理学近年发展非常迅速，学术活动也非常活跃。我们回顾药理学的发展，在四十年代还只在整体器官和组织水平上研究药物与机体间相互作用，当时应用了不少生理学的知识与技术。近二十年来，迅速吸取了分子生物学的新进展，并且应用各种物理化学方法，例如核磁共振、电子能谱等；使分析药物的作用机理，也深入到分子水平。追究药物怎样与机体内各种大、小分子、特别是生物高分子的相互作用，于是生化药理学就蓬勃地发展起来了。我国学者近年在生化药理学的许多方面，特别在神经递质、受体、多肽、酶、代谢等领域开展了工作，并且取得了不少可喜成果，进行交流讨论，必将进一步促进我国在生化药理学方面的科研与教学的进步。

生化药理学的进展虽然迅速，对于阐明生命现象的基本规律来说，却还只是一个开端。对各项专题进行论述，讨论下一步怎样走，将有助于我们前进。

有些疾病目前还缺少良药，原因之一是对病因尚属茫然。通过生化药理学研究，阐明发病的机理，将有助于设计针对性新药。例如，近年从人的癌细胞的染色体内发现的癌基因，是癌细胞失去控制地生长的原因。另一方面，在正常细胞内还发现与癌基因有相似核苷酸序列的细胞致癌基因，并且还发现了后者怎样激活⁽¹⁾转化为癌基因，或怎样会

加速表达,产生过量的某种蛋白,导致癌变,是向揭示癌症病因迈出的重要一步。又例如,从体内分离出不少具有高度生理作用的微量物质,其中多肽激素与前列腺素类物质更引人重视。由73个氨基酸所组成的心房排钠因子(Atrial natriuretic factor)^(2,3),促使肾脏排钠与利尿,并舒张血管,可能是从心脏分泌的用来调节心血管功能的物质。不少多肽作用于神经系统,有的调节体温,有的作用于支气管,有的也可能与意识、记忆等有关⁽⁴⁾。应用基因工程技术⁽⁵⁾,从其基因的核苷酸序列,还可推测迄今未分离的多肽激素,并进一步发现机体的细胞控制与病理的分子基础。有些病疾的病因是由于组成蛋白或多肽的氨基酸发生变异,新近发现少数糖尿病患者体内胰岛素的B链的第25位苯丙氨酸不正常地变换为亮氨酸等其它氨基酸,因此不能很好地完成胰岛素的功能。对前列腺素类物质的研究,不但阐明了血栓素,前列环素等对心血管系统的作用⁽⁶⁾,还发现了白三烯等与过敏的关系⁽⁷⁾。对自身免疫疾病的研究,发现患者循环内存在自身免疫抗体。研究这类抗体的结构与功能,将启发制服这种顽疾的途径。这些实例说明生化药理学研究的结果,不但在理论上可了解所以然,并且对于征服许多顽疾方面怎样设计新的药物,怎样更合理地应用已有的药物,提供了重要的依据,因此在实践上有明显的社会效益和经济效益。

生化药理学的发展,也促进了兄弟学科的发展。许多原来属于药理学的概念,由于工作深入到分子水平,便发现具有普遍的生物学意义。受体就是一个例子,金荫昌教授将有专文论述。受体本来是用以说明药物作用的设想,现在却证

明它是一个实体，在意外地发现吗啡、安定、乌巴因等也有受体后，激发了对内源活性物质的寻找⁽⁸⁾。不但药理学上受体研究是一个活跃的领域，其它学科也因结合受体研究而前进。这样，生化药理学也促进了整个分子生物学的发展。

正因为这样，开展生化药理学研究，出版生化药理进展丛书有着深刻的意义。

参 考 文 献

- 1、Kakunaga T. *Molecular biology of oncogenic transformation*. *Fed Proc* 1984; 43:2273.
- 2、Sagnella G A, MacGregor G A. *Cardiac peptides and the control of sodium excretion* 1984; 309.666.
- 3、Seymour A A, Blaine E H, Mazack, E K et al. *Renal systemic effects of synthetic atrial natriuretic factor*. *Life Sci* 1985; 36:33.
- 4、Krieger D T. *Brain peptides: what, where and why*. *Sci* 1983; 222:975.
- 5、Vane J, Cuatrecasas p. *Genetic engineering and pharmaceuticals* *Nature* 1984; 312:303.
- 6、Bunting S, Moncada S, Vane J R. *The prostacyclin-thromboxane A_2 balance: pathophysiological and therapeutic implications*. *Br Med Bull* 1983; 39:271.
- 7、Piper p J, *Formation and actions of leukotrienes*. *Physiol Rev* 1984; 64:744

8. Shimoni Y, Gotsman M, Deutsch J, Kachalsky S, Lichtstein D. Endogenous ouabain-like compound increases heart muscle contractility. *Nature* 1984; 307:369.

受点学说的基本概念

研究方法及与临床医学的关系

金 荫 昌

(中国医学科学院基础医学研究所)

受点学说已成为现代生物医学科学的极为重要的带有根本意义的理论，因为它是说明细胞如何识别、接受和传递信息的学说。像人体这样复杂的多细胞体，要维持个体的正常发育和生存，要维持种族子代的不断繁衍，都有赖于遗传信息和神经及体液因素信息的正常传递。这种信息传递在相当大的程度上依赖于各种受点，它们能识别和接受化学介质所携带的信息，并将其转换和放大继续传递下去而产生终反应。信息传递系统的紊乱和障碍即可产生病理状态，采用不同手段，其中包括药物治疗，以矫正信息的传递，则可使疾病得到纠正，恢复或接近恢复正常。

受点学说已有百年历史，其中相当长的时期内，几乎只有药理学家应用和发展这个学说，以解释药理作用的各种现象。1878年Langley首先提出“接受物质”以解释阿托品与匹罗卡品的拮抗现象，1908年Ehrlich提出“receptor”名称；（本文作者译为“受点”，而不少作者译为“受体”，下文将提出一些概念和实际情况，希望对译名有个统一认

识。) 1928~1933年间Clark通过大量研究、探讨, 药物对细胞的作用方式, 推广了受点一词的应用, 提出药物占有受点产生效应的学说, 即所谓“占有学说”(occupation theory), 以及药物与受点间“亲和力”(affinity)概念; 1957年Ariens补充了“内在活性”(intrinsic activity亦译“本质活性”)概念, 可以说明对同一种受点的激剂、部分激剂和抗剂的作用。近二十年来, 由于放射性同位素在受点研究中的应用, 以及Sutherland于1972年提出他所发现的环磷酸腺苷(CAMP)做为受点后“第二信使”(Second messenger), 受点的研究蓬勃发展, 已达到全国开花的程度, 受点学说不仅得到学者的公认, 而且深入到生物医学科学的各个方面, 也已成为临床医学不可缺少的基础。

作者在近十年来曾写过几篇综述, 介绍有关受点学说的基础知识和研究进展, 本文不做过多的重复, 仅在基本概念和研究方法上做一些阐述和补充, 并介绍几个涉及临床医学的有关问题。

一、受点学说的基本概念

受点学说的基本概念在六十年代之前已经形成, 可以概括为以下三点: (1) 药物作用的特异性(选择性)取决于特异性受点的存在; (2) 受点与药物的反应决定药理作用的量效关系; (3) 拮抗剂的药理作用也是通过和受点反应而产生的。虽然这三条基本概念是由于深入研究药理作用而形成的, 但适用于几乎所有的有生物活性的物质, 包括内源的例如神经递质、激素、抗原抗体等物质。

直到二十年前, 受点学的研究已很深入, 用以上概念

可解释各种药理作用，并且可以肯定受点就是很多药理作用的始初反应点，因此可把通过与受点反应而引起的药理作用以下面的公式表示。



如果药物是R的特异性抗剂D'，作用方式是



不但不产生效应，而且还阻断激剂D，使其不能产生或减小其效应。Ariens提出内在活性后，则部分激剂的作用也能得到解释。尽管如此，那时还没有人拿得出受点做为客观存在的实体的直接证据。只是由于近二十年内人们应用放射性同位素标记的配基（内源、外源、激剂、抗剂的统称），合并应用放射自显影（ARG）和放射配基受点结合法（RRA）才使科学家能直接观察和探测受点在组织细胞中的分布情况和带有受点的生物大分子的特性和功能。

现已知道受点是在细胞表面、胞浆内、和细胞核内大分子上，这些大分子大都是复合蛋白质——脂蛋白和糖蛋白，分子量可达数十万道尔顿。细胞表面的受点分子若是从膜外跨膜直至膜内，这个跨度至少有70Å即使不完全跨越脂质双层，其跨度也达数10Å。那么膜绑的蛋白质分子大小约为 $30 \times 30 \times 50 (\sim 70) \text{Å}^3$ 。在这样大分子上和配基结合的受点，其大小约计只有大分子的千万或万分之一。近年国外文献中已经提出有必要区别“receptor site”和“receptor molecule”，当时并没预见到有关知识发展到今日的深度，现在无论是外文或中文都有必要把用词的概念区别开。为了避免以后用词紊乱。作者建议是否就用“受点”和“受体”这两个中文名词，分别做为“receptor site”和“receptor

molecule”的译名，各有所指？本文的下文将依此用词。上面已经介绍，药理作用的始初反应是药物分子与受点间的特异性识别和结合，药理作用的选择性和量效关系取决于这一始初反应。根据这个基本概念，这个学说则以定名为“受点学说”更适宜些。

药物分子和受点的识别和结合是由于它们分子结构间的契合，便于形成离子键、极矩性键、氢键等，并且在立体结构上也能契合。起初提出药物与受点间的“锁钥关系”或印刷板关系，都是这种分子间结构的“互补契合”关系，这种概念比较刻板，因此有人提出“诱导契合”概念，比较灵活，可以补充“互补契合”不足之处。这一概念引自酶学中底物诱导酶分子构变，使之与底物更好地结合而起催化反应。这一概念进一步又发展为药物或生物活性物质小分子和受点之间“相互诱导契合”概念，这样就可以解释可挠分子与不可挠分子对于同一受点的作用差别了。

受点与其激动剂结合后，受体发生分子构变，呈激活状态，这样才能将信息转换传递给产生效应的分子。并经过一串连锁反应，例如通过改变离子的运转，或是酶的激活、减活，或是改变蛋白质的合成，或是改变细胞结构物质，将原来接受的信息经过扩大而产生效应。因此，受体本身在激动剂和受点结合后可能经历以下的变化过程。



R是受点处于能接受配基结合时的状态，和药物分子D结合成复合物DR，受体发生构变，成为被激活的复合物DR*，R*无论是在复合物中或已经从复合物解离出来都呈激活状态；都能继续传递信息产生效应。R*与D解离后或者在一段

时间内保持激活状态，然后恢复非激活状态，或者在解离时立即恢复非激活状态。在恢复的初期可能要经过一种受点不能识别和结合配基的状态R的阶段，最后才恢复到R，其受点又能接受配基的反应。

从理论上讲，有两点值得讨论的问题，一点就是上面提到的受体循环问题；另一点就是受体的发生和再生问题。各种受体本身应有其新陈代谢，从胚胎发育时期起某种受体开始出现，就不断地有新的受体合成和旧的受体降解消失。受体的生物合成为遗传基因所决定，同时也有许多因素影响基因的表达，从而影响受体的合成。受体的更新和循环是保持细胞上/内具有一定数量受体的两个相辅的过程。现在已知受点和配基结合后，在某种情况下，激活的受体发挥了传递信息和引起效应的作用，而受体本身被细胞吞饮，内陷到细胞内，可能被溶酶体消化降解。如果这种受体得不到充分的补充，其数量就会因此减少。产生低敏现象。受体的生成、降解和更新影响临床药效，也与许多疾病有关，将在本文后部讨论。

还有一点要在这里提到的是受点的多型问题。这已不是什么新鲜问题，因为从发现乙酰胆碱是一种神经递质起，就提出有烟碱型(N-AChR)和毒蕈碱型受点(M-AChR)从发现肾上腺素和去甲肾上腺素并且研究类似物起，就提出有 α -型和 β -型受点。以后又进一步分为 N_1 、 N_2 、 M_1 、 M_2 乙酰胆碱受点和 α_1 、 α_2 、 β_1 、 β_2 肾上腺素受点，甚至还提出有更多的受点亚型。关于其他受点，如5-羟色胺，组胺、多巴胺、 γ -氨基丁酸，阿片受点等等，都曾提出有多种亚型。多种亚型受点的提出是以药理效应或RRA结果

为依据的。这里产生两个问题：（1）RRA只能反映配基和某种分子特异性结构相结合，这种部位只能说是结合点（binding site），可能不是受点，因为这种结合并不意味着一定有信息的传递和效应的产生，因此带有这种不传递信息和产生效应而能与配基结合的分子不是受体。有人建议应比较严格地区别受体和这类分子，把后者叫做“acceptor”（可译为“结合体”），它们最终也可能产生物质摄取、运转、酶反应等，也可能是非特异性结合。（2）从现有的关于受点亚型的知识还不能解决是否存在多型受体的问题。受体蛋白质分子量可达数十万道尔顿，为多聚体，每个单体可以不止一个亚基。一个受体上并不是只有一个受点。例如N-AChR上有两个受点；一个受体上是否只有一种亚型的受点，也是没有解决的问题，例如有人提出阿片受体可能是两个双亚基的二联体，以受体为单元来说，上面可能带有 μ -、 δ -、 k -多种亚型，并且有可能带有一种亚型受点的亚基在一定的条件下可能转变为带有另一亚型，而且能互变。目前这只能说还是概念性的设想，这种概念可否能推广到两种神经递质和激素的受点共存于一个受体分子上面，这些问题是要依靠更多的溶脱、分离、纯化和鉴定受体的研究予以解决的。

二、受点的研究方法

二十余年前，研究受点的方法仅限于生理学和药理学性质的，研究目标是观测量一效关系和药物间的协同拮抗关系，从而发展了对受点的认识和概念。但至现在，受点学说已发展成为几乎所有生物医学科学的共同课题，所以研究的

方法也发展为综合多科性的方法，其目标在于直接观察受点和产生效应的分子过程，在于能取得受体并鉴定其性质和功能，也在于研究受体的发生和变化与临床药效和疾病的关系。因此研究受点方法中还包括形态学、生物化学、免疫学和遗传学方法，本文不介绍具体实验，只对下述两方面做一些解释和讨论。

(一) 从效应分析药物受点反应

虽然从药物分子和受点结合直到产生效应是一个连续的链锁反应，为方便起见可将它分为以下两段进行讨论。



L为配基，如是激剂，和受点结合后可产生效应E。L和R的结合反应服从质量作用定律，平衡时解离常数

$$K_D = \frac{k_2}{k_1} = \frac{[R][L]}{[RL]} = \frac{[R_t - RL][L]}{[RL]} \quad [3]$$

R_t 为受点总数， k_1 为结合速率常数， k_2 为分解速率常数。L和R的亲合力为 K_D 的倒数， K_D 常做为亲和力的衡量，但并不是亲和力， K_D 值越大亲和力越小，而 K_D 越小则亲和力越大。将〔3〕式整顿得

$$\frac{[RL]}{[R_t]} = \frac{[L]}{K_D + [L]} \quad [4]$$

按Clark的受点占领学说，当〔L〕很大，受点全被占领时产生最大效应 $E_{\max}$ ($Q_E = \max$)；当〔L〕 = K_D 时，〔RL〕 = $[R_t] / 2$ ，则 $Q_E = E_{\max} / 2$ 。过去没有RRA法，便是从量效曲线求 K_D 。用Lineweaver-Burk双倒数作图，

也像在酶反应中求Michaelis常数一样，化曲线为直线，测 K_D 比较方便准确。

Ariens提出内在活性（用 α 表示），可以说明激动剂，部分激动剂/抗剂和抗剂的不同作用。与同一受点有相等亲和力的不同的配基，如果所用浓度相同，则 $[RL]/[R_t]$ 相同，按受点占领学说， Q_E 亦应相同。但有的相同，有的却不同并表现拮抗作用。所以在 Q_E 和 $[RL]/[R_t]$ 之间加进一个常数 α ，使

$$Q_E = \alpha \frac{[RL]}{[R_t]} = \frac{\alpha}{1 + \frac{K_D}{[L]}} \quad [5]$$

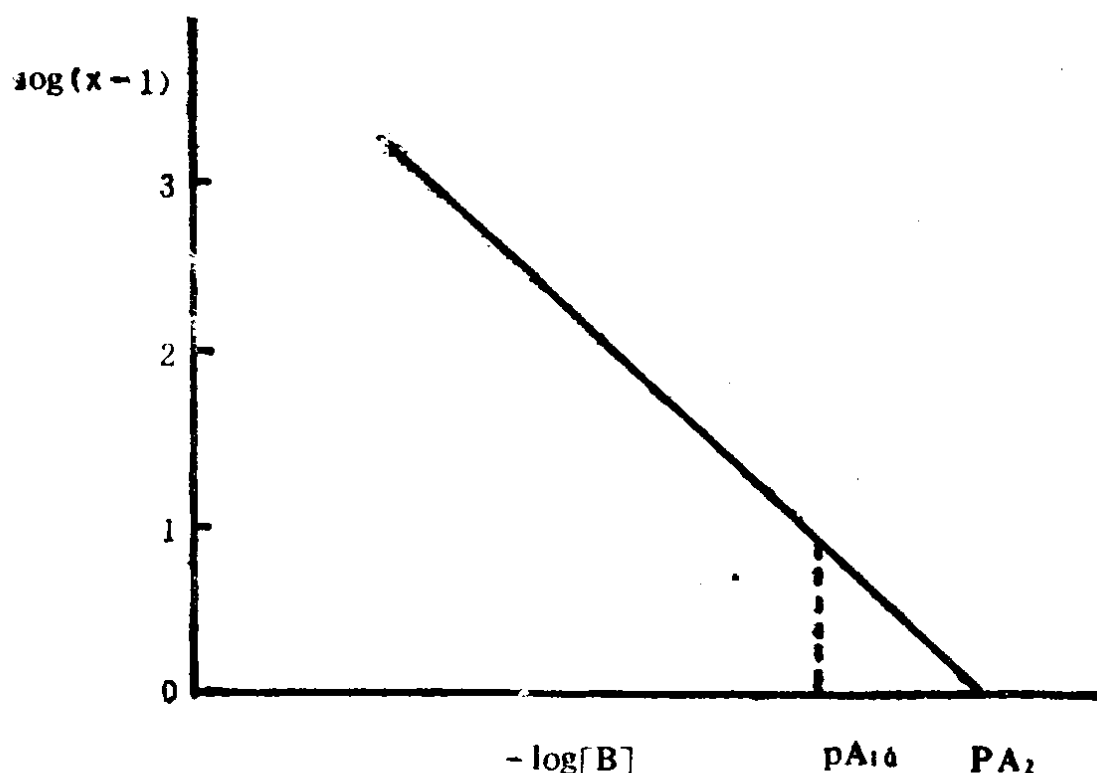
虽然〔2〕式所示的过程几乎没有一处已经完全了解了的，但〔5〕式却可以表达了 Q_E 和 $[RL]$ 之间的关系。 α 是生物活性物质的另一个重要属性，激动剂的 $\alpha=1.0$ 。抗剂的 $\alpha=0$ ，部分激动剂/抗剂的 $\alpha>0$ 而 <1.0 。部分激动剂/抗剂的 α 也可用Lineweaver-Burk作图法，将其量效关系和相同实验条件下所获另一激动剂的量效曲线进行比较，即可求得。如所用激动剂和部分激动剂/抗剂的 K_D 相同，也可用〔5〕式计算出来。如二者的 K_D 不同，则须先求 K_D ，然后再按〔5〕式的量效进行比较计算。

Lineweaver-Burk作图还可用以辨别一个抗剂是竞争性还是非竞争性的。但为比较抗剂的强弱则要按Schild作图求 PA_2 （图1）。当有两种配基同时作用于同一组织的同一种受点时，一种分子为A，内在活性为 α ，另一种分子B的内在活性为 β ，则

$$Q_E = \alpha \frac{[RA]}{[R_t]} + \beta \frac{[RB]}{[R_t]}$$

$$= \frac{\alpha}{1 + (1 + \frac{[B]}{K_B}) \frac{K_A}{[A]}} + \frac{\beta}{1 + (1 + \frac{[A]}{K_A}) \frac{K_B}{[B]}} \quad [6]$$

[6] 式中 K_A 和 K_B 分别为 A 和 B 的 K_D ，如果 B 是一个纯抗剂，则 $\beta = 0$ 。在不同 $[B]$ 存在时，必须加大 $[A]$ 才能使 Q_E 维持一定的水平。换句话说，如果没有 B 同时存



在，加大 $[A]$ 就增加 Q_E 。使 $[A]$ 增加一倍，即 $[A_2]$ 若加 $[B]$ 使 Q_E 减至与 $[A]$ 所产生的 Q_E 一样，这个 $[B]$ 的负对数就是 PA_2 。同样，使 $[A_{10}]$ 、 $[A_x]$ 产生的 Q_E 减至与 $[A]$ 一样所需 $[B]$ 的负对数分别为 PA_{10} 和

PA_x 。按此定义,

$$\frac{\frac{\alpha}{1 + \frac{K_A}{[A]}}}{1 + \left(1 + \frac{[B]}{K_B}\right) \frac{K_A}{[A_x]}} = \frac{\alpha}{[A_x]} \quad [7]$$

$$\text{即 } \frac{[A_x]}{[A]} = 1 + \frac{[B]}{K_B} = x \text{ 或 } (x-1) = \frac{1}{K_B} [B]$$

$$\log(x-1) = \log \frac{1}{K_B} - pA_x \quad [8]$$

将实验数据按〔8〕式作图即可求得 PA_2 。

$$pA_2 = \log \frac{1}{K_B}$$

由此可求得 K_B 。为检验是否竞争性拮抗, 可以用实验测 PA_{10} 和 PA_2 , 据〔8〕式

$$\log(10-1) = \log \frac{1}{K_B} - pA_{10}$$

$$pA_2 - pA_{10} = \log 9 = 0.951$$

若实验结果证实, 则可确定为竞争性抗剂。

(二) 放射配基受点结合反应

利用放射性同位素标记的配基与相应受点结合反应, 可以直接观察受点在组织细胞和亚细胞的分布, 可以测定受点的数量、密度、以及和配基间的亲和力等特征, 还可以用以鉴定胞浆内或从膜上溶脱下来的受体。放射配基受点结合法(RRA)的应用是现代受点学说得以全面发展的关键。

首先简单介绍RRA法。实验一般在体外进行, 可取组织匀浆, 突触小体、浆膜碎片、亚细胞器、胞浆, 以至现在已