

Dissertations of
Progress in Neuro-Science

神经科学进展

论文集



中国神经精神疾病杂志

1983 · 12

目 录

内啡素研究的某些进展	韩济生 (1)
精神分裂症的某些生物学标志	夏镇夷 (9)
精神分裂症的多巴胺假说	徐韬元 (12)
电休克惊厥与中枢单胺类神经介质 (动物实验研究)	匡培根等 (15)
神经内分泌学最近动态	朱镛连 (20)
电生理技术在神经科临床应用的进展	朱汉英 (28)
脑脊液细胞学检查的进展	侯熙德 周善仁 (39)
神经免疫学研究近况	侯熙德 周善仁 (46)
一过性脑供血不全时血浆和脑脊液中环磷酸核苷酸的研究	薛启贵等 (55)
实验性脑缺血动物脑匀浆 $PGF_{2\alpha}$ 含量的观察	傅雅谷 牟琪琪 (59)
脑血管病患者的脑脊液前列腺素 $F_{2\alpha}$ 含量测定	傅雅谷 胡常林 (68)
脑脊液髓磷脂碱性蛋白 (MBP) 测定及其临床应用	董为伟 傅雅谷 (78)
脑脊液髓磷脂碱性蛋白抗体测定的临床应用	董为伟等 (87)
国内外牛、猪脑的酶水解物在神经科的临床应用	姜书枫 (94)
广州市越秀区一万居民神经系统疾病流行病学的调查研究	赵 馥等 (97)
六万人群中高热惊厥的调查研究	赵 馥整理 (127)
广州市一万人群中高热惊厥的调查研究	张先绪整理 (137)
广州市越秀区抽样人群癫痫发病调查报告	詹国华整理 (145)
良性X连锁隐性遗传肌营养不良症的肌肉病理	潘瑞福等 (153)
血清丙酮酸激酶在神经肌肉疾病中的诊断价值	沈定国 陈 燕 (158)
进行性肌营养不良症红细胞膜 Na^+K^+ATP 酶的研究	沈定国 董 伟 (169)
假肥大型进行性肌营养不良症红细胞膜电子自旋共振研究	沈定国等 (176)
急性脑血栓形成患者的微循环研究	陈文俊等 (181)
前列腺素与脑血管病 (摘要)	高素荣 (191)

脑死亡(摘要).....	陈清棠 (193)
缺血性、出血性卒中时血小板聚集功能的研究.....	孟家眉 沈正萱 (197)
短暂性脑缺血发作的病因与治疗进展.....	李大年 (206)
放射性核素脑血管造影对颈动脉系统短暂性脑缺血发作的初步观察.....	李大年等 (211)
脑动脉栓塞的病理与临床.....	林世和等 (214)
脑胶质瘤患者的免疫功能研究.....	索敬贤等 (219)
脑瘤异常脑电图的机理探讨.....	宰春和等 (227)
轻微脑功能失调儿童的流行学、临床和生化实验室研究.....	沈渔邨等 (240)
针刺镇痛的临床神经生理与生化基础探讨.....	陈公白等 (252)
脊髓腔加神经干、压痛点电针对顽固性剧烈腰腿痛的治疗.....	刘锡民等 (261)
边缘叶癫痫.....	翟书涛 (268)
文化与跨文化精神病学.....	何慕陶 (270)
瑞士、英国老年精神卫生近况.....	张继志 (272)
强迫症和恐怖症的心理治疗.....	赵耕源等 (273)
综合医院开展“心理咨询”100例小结.....	赵耕源等 (277)
高硬度室温硫化硅橡胶修补颅骨缺损的研究.....	刘明铎等 (281)
甲状腺机能亢进性肌病(附47例报告).....	姚荣尹等 (289)
中枢性尿崩症153例的临床诊断分析.....	林延德等 (292)

内啡素研究的某些进展

北京医学院生理教研室 韩 济 生

自从1975年Hughes等发现两种脑啡肽(甲啡肽, MEK; 亮啡肽, LEK)以来, 陆续发现存在于体内具有阿片样作用的肽类物质不下二十余种(1)。Simon曾建议用endorphins一词泛指内源性吗啡样肽, 中文译为内啡肽。但以后此名称多用作 β -趋脂素(β -LPH)分子中的特定片段如 β -内啡肽(31肽, β -EP)、 δ -内啡肽(27肽)、 γ -内啡肽(17肽)、 α -内啡肽(16肽)等的总称, 而不包括脑啡肽、强啡肽等在内(2)。毫无疑问, 内源性阿片(吗啡)样物质(endogenous opiate(morphine)-like Substances, 简称内啡素OLS)应该是较完善的名称, 即使将来出现非肽类的阿片样物质也可包括在此概念之内。阿片样肽(Opioid peptides, 简称阿片肽)是指其作用可被纳洛酮特异性对抗的肽类物质。这些名词目前在国际文献中尚未统一, 中文名称以何者为宜有待进一步商榷。本文暂用内啡素一词。

对内啡素生物合成、释放和降解的研究近年来取得了一些突破性的进展。本文拟就此作概略介绍。

内 啡 素 的 生 成

用重组DNA技术研究内啡素的前体(3~5) 肽类递质或激素的生成通常是先合成一个大的肽链作为前体, 然后经水解酶加工, 裂解生成有生物活性的较小的肽。整个过程包括①DNA转录生成前mRNA, ②转录后加工成为成熟的mRNA, ③mRNA由核内进入胞浆, 经微粒体翻译成肽的前体, ④经翻译后加工成为递质或激素, ⑤在此过程中经一系列细胞内转运, 最后储存于囊泡或分泌颗粒中以备释放。

前体的结构一般可分三部分: N端有一段18~25个疏水氨基酸组成的“指令序列”, 这是微粒体根据mRNA传来的指令首先合成的部分, 在此基础上合成整个前体, 称为“前激素原”(pre-prohormone), 后者在进入高尔基器后脱去指令序列, 成为“激素原”(Prohormone)。激素原中除活性肽段外尚具有一些无活性的部分。活性肽段的位置可以在前体的N端(如血管紧张素), C端(如 β -EP), 或在中间部分(如ACTH和脑啡肽), 这些活性肽段通常被碱性氨基酸对所分隔, 胰蛋白酶样水解酶在碱性氨基酸的羧端将其切断, 然后再经羧肽酶 β 样水解酶的作用将羧端碱性氨基酸移去, 并加必要的分子改造(包括加入某些功能基团), 而成为肽类递质或激素。由于翻译后加工是一个包括很多酶解步骤的复杂过程, 必然会产生很多中间产物, 而每个以脑啡肽为N端的肽都有一定的阿片样活性, 这就使内啡素前体的研究长期以来处于一种“盲人摸象”的境况。

重组DNA(基因工程)技术的发展给内啡素前体的研究带来了革命性的变革。巨大的

进展发生于1981年的7月至10月,在这三个月内世界上有三个实验室(美国的Herbert⁽⁶⁾和Udenfriend⁽⁷⁾和日本的Numa⁽⁸⁾领导的实验室)几乎同时搞清了脑啡肽前体的结构,而于次年正式发表。探索了六年之久的课题,三个月内就得到了圆满解决⁽⁵⁾。

应用重组DNA技术研究脑啡肽前体,第一步要选取一种含有大量脑啡肽mRNA的组织。Herbert实验室的Comb等选用人的嗜铬细胞瘤⁽⁶⁾, Udenfriend实验室的Gubler等⁽⁷⁾、Numa实验室的Noda等⁽⁸⁾则选用牛的肾上腺髓质。在反转录酶的作用下由脑啡肽mRNA制备出脑啡肽的互补DNA(cDNA)。采用细菌质粒(Plasmid)的DNA环作为载体(Vector),将此cDNA完整地插入,构成一个重组DNA环,再使之感染大肠杆菌,繁殖而生成一系列cDNA克隆,由于组织中所含脑啡肽mRNA只占全部mRNA的1%左右,由此制备出的与脑啡肽相对应的cDNA克隆最多也只能占全部克隆的1%,有时甚至要从十万个样品中才能选出所需的样品,如果说完整地插入cDNA是本法的技术难点,那么选取cDNA克隆就是本法最费时的步骤⁽⁵⁾。

选取cDNA一般用两种方法⁽⁴⁾。一是克隆杂交,即根据脑啡肽的氨基酸序列人工合成一段与之相应的mRNA,并予以放射标记形成一个核酸探针,后者可与质粒中的脑啡肽cDNA发生特异性结合,而用放射自显影法加以显示。二是杂交翻译法。即从克隆中分离出质粒DNA,将其结合于硝酸纤维素膜上。将此膜与mRNA混合物共孵。只有与cDNA相匹配的mRNA才会与膜相结合,其它mRNA均可被洗去。将此mRNA洗脱后在一个蛋白质合成系统中翻译成肽,然后用脑啡肽抗血清进行放射免疫测定加以识别。

有了cDNA克隆,可用它作为特殊的杂交探针来研究mRNA的结构,进而定出前体的氨基酸序。根据现有的方法,含1000个碱基的mRNA或cDNA序列可在几天内加以确定,而用蛋白质化学方法分析肽类的氨基酸顺序,每天只能定出少数氨基酸残基。因此,基因工程的应用使内啡素前体的研究从一个耗日费时的蛋白质化学问题转变成为一个快速解决的核酸化学问题,从而大大加速了研究进程。

目前所知的内啡素绝大部分都可归入下列三个前体系统,即前脑啡肽A系统,前脑啡肽B系统和前阿黑皮素系统。但也有一些内啡素如 β -酪啡肽(β -Casimorphin),蛙皮阿皮肽,脑新肽(NAGA)⁽³⁰⁾等未能包括入这三个前体系统。

前脑啡肽A系统^(6~10)以牛肾上腺髓质为mRNA来源而获得的脑啡肽前体(前脑啡肽A)含263个氨基酸,从人嗜铬细胞瘤分出的含267个氨基酸。两者都含有6个MEK, 1个LEK序列。但如果碱性氨基酸对是酶解的信号,则应生成4个MEK, 1个LEK,此外尚有2个以MEK为N端的小肽,即甲七肽(MEK—精⁶—苯丙⁷, MERF)和甲八肽(ME—N—精⁶—甘⁷—亮⁸, MERGL)。实际上,从牛肾上腺髓质分离出的还有由上述活性肽段和一些无活性部分组成的较大的肽链,如F肽在N端和C端各含一个MEK(34肽), E肽则在N端含MEK, C端含LEK(25肽)。E肽的C端在发生不同程度水解后又可产生22肽, 20肽, 12肽等。值得注意的是,人和牛的F肽构成有五个氨基酸的差别,而E肽则两者完全相同,因此有人推测E肽或其片断可能具有特定的生理功能。有资料提示,它可能是 μ 受体的专一性激动剂⁽¹¹⁾。

根据前体酶解的规律得知:(1)并非每个碱性氨基酸对的部位必然发生酶解,(2)在赖氨酸精氨酸等组成的碱性氨基酸对中,以精—精键最不易被酶解,(3)在非碱性氨基酸对

处也有可能被酶解,因此,不能根据前脑啡肽A的顺序断言在任何组织中测得的MEK和LEK必须符合4:1或6:1的比例。

从牛肾上腺中发现的前啡肽A的片断在牛脑中也都存在,因此推测脑内的脑啡肽前体与肾上腺的相同。但从脑内分得的肽段较短,即水解较完全,而从肾上腺中分离得的肽段一般较长。可能是因前体在肾上腺分泌颗粒中停留的时间较短,水解不充分,因比有不成熟的产物释出。

前脑啡肽B(前强啡肽)系统^[9,10] Numa实验室在发表关于强啡肽前体氨基酸构成的论文中把强啡肽的前体称为前脑啡肽B^[12],将脑啡肽前体称为前脑啡肽A。但Hughes(1983)建议将强啡肽前体称为前强啡肽,以免与可能存在而目前尚未发现的其它脑啡肽前体相混淆^[8]。

以牛的下丘脑为mRNA来源而获得的强啡肽前体含256个氨基酸。该前体中不含MEK序列,但在C端1/3部份含有3个LEK序列,分别由碱性氨基酸对与其它部分分隔。值得注意的是三个LEK中有二个其C端为不易酶解的精—精键,因比就产生了以LEK为N端的不同长度的肽段。

(1) α -新内啡肽:这是以赖氨酸结尾的10肽。当水解失去末端碱性氨基酸后形成 β -新内啡肽。因比有人认为 α -新内啡肽可能是一种半成品。

(2) 强啡肽(强啡肽A):这是以LEK为N端的17肽(前体209—225),活性部分主要在N端13个氨基酸。当C端经不同程度水解后,可产生强啡肽1—8,及其它片段。这些短肽在组织中的含量较高,但活性较弱而短暂。

(3) 强啡肽B(Rimorphin):这是以LEK为N端的13肽(前体228—240),是1982年Goldstein^[13]和Udenfriend^[14]两个实验室同时发现的,Goldstein将其命名为强啡肽B(并将原先该实验室发现的强啡肽改称为强啡肽A),Udenfriend将其命名为Rimorphin(罗氏实验室Roche Institute吗啡肽)。在此肽的C端还有16个氨基酸残基,有人认为强啡肽B连同C端16肽(到达前强啡肽最末端)组成一个29肽(前体228—256)而发挥作用,但尚未获得确切证明。

(4) 4K强啡肽(强啡肽32):强啡肽A(17肽)与强啡肽B(13肽)以精—精键相隔。如果此键未被切断则形成32个氨基酸组成的4K强啡肽(前体209—240)或24个氨基酸组成的强啡肽1—24(前体209—232)。

关于前强啡肽是否能水解生成LEK,尚难加以肯定。

前阿黑皮素(POMC)系统^[10,15] 前阿黑皮素是包括265个氨基酸的糖蛋白(分子量31K),因其能产生阿片样肽(β -EP),黑色细胞刺激素(MSH)和促皮质激素(ACTH)而得名。生物活性肽段主要位于C端,包括ACTH(39肽)和 β -趋脂素(β -LPH, 91肽),其间以赖精键相隔。 β -趋脂素的C端31肽即为 β -EP,这也是前阿黑皮素的羧末端。随着 β -EP羧端发生不同程度的水解可形成 β -EP_{1~27}(δ -EP), β -EP_{1~26}, β -EP_{1~17}(γ -EP)和 β -EP_{1~16}(d -EP)等等,但并不生成MEK。

POMC存在于垂体(主要是中间叶,其次前叶),脑(主要是下丘脑)和外周组织(如胃、胰等)。同一前体在不同的组织中可加工生成不同的产物^[15,16]。

(1) 垂体:在大鼠垂体中 β -EP样免疫活性物质存在于中间叶的全部细胞和前叶的

部分细胞,后叶则不存在。在垂体前叶POMC主要生成ACTH和 β -LPH,一部分 β -LPH又裂解而生成 β -EP。ACTH和 β -EP虽然来自同一前体,但免疫组化观察表明它们有可能分别存在于不同的细胞内。在垂体中间叶, β -LPH含量很少,主要被酶解而生成 β -EP_{1~31},_{1~27},_{1~26},以及各自的N-乙酰化物。ACTH则被进一步加工成 α -MSH(13肽)和促皮质激素样中间样肽(CLIP,22肽)。

值得注意的是, β -EP的水解产物(_{1~27},_{1~26})阿片样活性极低, β -EP及其水解产物的乙酰化物则不具有阿片样活性,但当用 β -EP放射免疫测定时它们都可被测出。这是解释放射测定结果时必须加以考虑的因素。

人的垂体不含中间叶。垂体中含 β -EP和少量 δ -EP,不含 β -EP_{1~26},也不存在乙酰化物。

(2) 脑:含 β -EP的神经元胞体主要位于下丘脑弓状核,其轴突伸向各脑区,但不到脊髓。下丘脑含大量 β -EP;中脑和杏仁核除 β -EP外,有 β -EP_{1~27},_{1~26},但无乙酰化物;脑干、四叠体背部和海马所含的主要是无活性的乙酰化物^[15]。这种差别说明在脑的不同部位POMC的加工过程有所不同,也可能是因为加工需要较长时间。含POMC的囊泡在由胞体向末梢转运的过程中逐渐被水解和乙酰化,因此离下丘脑越远处代谢产物越多。

(3) 外周组织:大鼠胃窦和胰中都含有 β -EP免疫活性物质,包括 β -EP_{1~31},_{1~27},_{1~26},及相应的乙酰化物,有些乙酰化产物的酪氨酸还被O位硫酸化。胃窦主要含 β -EP,并与胃泌素共存于同一细胞内;胰脏主要含 β -EP_{1~27},_{1~26}以及无阿片样活性的代谢产物^[15]。

内啡素生成过程的调节

控制基因表达^[9,16] 肾上腺皮质激素在反馈性地抑制垂体前叶细胞释放ACTH的同时,也抑制POMC基因的表达。摘除大鼠肾上腺6—10小时,垂体前叶POMC mRNA猛增10倍。去肾上腺7天后给地塞米松则使前叶POMC mRNA减少30—50倍。皮质激素和地塞米松的作用是通过经典的胞浆/胞核皮质激素受体而实现的。垂体中间叶不存在这种受体,因此皮质激素对中间叶无控制作用。

多巴胺在抑制垂体中间叶释放POMC激素的同时也抑制POMC基因的表达。给多巴胺受体激动剂Ergocryptin使中间叶POMC mRNA减少2~3倍,给多巴胺拮抗剂氟哌啶则使POMC mRNA增加4—6倍。这种变化在给药6小时即可测出。多巴胺受体只存在于中间叶,特别是生乳素细胞上,这可解释何以多巴胺对前叶的POMC基因表达没有影响。多巴胺的作用可能是通过细胞内cAMP增多而实现的。

由上可知,由于激素环境的不同,同一种基因在不同的细胞中可受到不同的控制,通过在位杂交组化技术,已有可能直接观察细胞内特定的mRNA。例如前叶中含POMC mRNA的细胞约占细胞总数的5%,去肾上腺后这一比例提高,每个细胞中所含的mRNA量也增多。

控制翻译后加工^[9,17] 翻译后加工包括加糖、磷酸化、硫酸化、形成双硫桥、N乙

酰化、C端酰胺化、不同程度的水解等等。这些变化可分别在内质网、高尔基器和囊泡成分泌颗粒中进行。当囊泡脱离高尔基器后,由于质子泵的启动,使囊泡内pH降低。可能为某些加工酶创造了适宜的环境。

水解酶包括胰蛋白酶样水解酶(在碱性氨基酸右侧切断)、羧肽酶B样水解酶(移去C端碱性氨基酸)、糜蛋白酶样水解酶(在非碱性氨基酸部位切断肽链)等。此外还从垂体和脑内分离出一种包括五种蛋白质的水解酶复合物,分子量在700K左右,具有胰蛋白酶、糜蛋白酶等多种功能。在不同种族不同组织不同发育阶段,这些酶的量可能有差别。但一个成熟的个体在不同环境条件下这些酶的活性是否会发生变化,从而使同一前体生成不同的产物,这是一个具有生理和病理意义的问题。例如,强啡肽1~17(k受体的长效激动剂)有可能水解生成强啡肽1~8(k受体的短效激动剂),甚至生成LEK(δ 受体激动剂)。如果存在后一可能性,则组织中的LEK将来自两种不同的前体系统。

底物分子的变化也可影响酶的作用。例如去甲肾上腺素可促使脑啡肽前体或强啡肽前体中的LEK序列发生O位硫酸化,使水解酶难以发挥作用。

加工过程的改变肯定会影响组织中内啡素的含量,问题是这种变化可在多快的速度下进行?应用多巴胺拮抗剂6小时垂体中间叶POMC mRNA即明显增加,对翻译后加工酶的影响可能较此为快,但目前尚无直接证据加以说明。

对内啡素生成调节的深入研究可能有助于解释目前难以理解的一些现象,例如MEK和LEK可分别存在于两种神经元,MEK和甲七肽的分布不完全一致等等。

内 啡 素 的 释 放

如果组织中所含的肽具有递质或激素作用,则应能在适当的条件下释放出来,这可用不同的标本进行观察。

(1)离体实验:用电刺激或高钾环境引起组织片中的肽释放。但在这种人为条件下也可能有一些不成熟的产物释放出来(9)。

(2)在体实验:测定脑脊液或脑灌注液中的肽含量。

(3)测定组织中同位素标记肽的含量:用脑室注射[^3H]酪氨酸的方法标记内啡素,在技术上有一定的困难,只有不到十万分之一的量被结合入MEK和LEK(9)。这是与前脑啡肽A的mRNA在组织中的含量较低相一致的。

(4)测定组织中肽含量:若合成速度恒定,释放增多将使组织中含量减少。但实际上,合成和运输的速度也可发生变化,因此含量不一定降低。如电击大鼠脚底造成应激,下丘脑 β -EP释放增多,含量降低。但电休克在引起镇痛的同时,下丘脑和边缘系统脑啡肽含量升高。电针刺激也可使脑内 β -EP和脑啡肽含量增高,并与镇痛效果呈正相关关系(18,19)。

(5)更新率测定:目前还没有特异的抑制内啡素合成的药物。环己亚胺和嘌呤霉素作为一般的微粒体抑制剂有不少副作用,应用降解酶抑制剂是研究内啡素更新的另一途径,将在下文讨论。

(6)用药理学阻断法推测肽类递质的释放:如果某种生理效应能被纳洛酮阻断,表明

该对有内啡素释放。但此法不能鉴别释放出而起作用的是何种阿片样肽。1981年,德国 Herz实验室(20)和本实验室(21)分别报告,用脑内微量注射特定内啡素的抗体阻断某种生理效应,以确定是何种内啡素参与作用。例如在家兔中脑导水管周围灰质(PAG)注射 β -EP抗体(21,22),MEK抗体(22)或P物质抗体(23),均可削弱电针镇痛,注射强啡肽抗体则无效(23);在脊髓性网膜下腔注射MEK抗体(22,24)强啡肽A抗体或强啡肽B抗体(23)均可削弱针刺镇痛效果,注射 β -EP抗体则无效(22)。与纳洛酮阻断受体法相比,微量注射抗体法可对不同的内啡素进行剖析,从而获得更确切的信息,预期此法将在今后得到更广泛的应用(9)。

根据目前所知,应激、疼痛、脑内刺激等均可引起中枢内啡素释放,但以针刺最为有效。在各种化学刺激中,京都肽(酪—精)是引起脑啡肽释放的有效刺激物。P物质和吗啡也有促脑啡肽释放的作用。

内 啡 素 的 降 解

酶促降解可能是内啡素作用于阿片受体后终止其生理效应的主要途径。近年来对脑啡肽酶解过程的研究已取得了较好的成绩。

脑啡肽的降解酶 肽酶的特点是作用于某一肽键,对整个肽分子并无特异要求。因此一种肽可被多种酶水解,一种酶可作用于多种肽。目前已知有五类酶可使脑啡肽降解(9,25)。

降 解 酶	降 解 产 物	抑 制 剂
氨 肽 酶	T+G-G-F-M	Bestatin, puromycin
氨 二 肽 酶	T-G+G-F-M	?
“脑啡肽酶”	T-G-G+F-M	Thiorphan
ACE	T-G-G+F-M	Captopril
羧 肽 酶 A	T-G-G-F+M	DPA

注: T酪氨酸, G甘氨酸, F苯丙氨酸, M甲硫氨酸

(1) 氨肽酶: 将 [^3H -酪氨酸] 脑啡肽与组织共孵, 所产生的代谢产物主要是 [^3H]-酪氨酸, 提示氨肽酶起主要作用, 从各种组织, 各种亚细胞成份分离出的氨肽酶性质各不相同, 但都属于金属离子肽酶。Bestatin能把酶分子上的金属(可能是锌)络合使之失活, 因此是该酶的强效抑制剂。嘌呤霉素也有类似作用, 但效价较低。

(2) 氨二肽酶: 又称“脑啡肽酶 β ”, 目前尚无特异的抑制剂。

(3) “脑啡肽酶”: 这是从脑的突触膜片中分离而得的羧基二肽酶。将膜片与脑啡肽共孵, 25%的代谢产物为T-G-G和F-M。Thiorphan和磷酸甘-苯丙二肽钾盐(KPLP)为该酶的强效抑制剂。

(4) 血管紧张素转换酶 (ACE): ACE也是一种羧二肽酶, 可水解血管紧张素 I、缓激肽、脑啡肽等。Captopril是其特异抑制剂。

(5) 羧肽酶 A: 可在羧端移除非碱性氨基酸。D-苯丙氨酸 (DPA) 对此酶有抑制作用, 但效价不高。

在组织培养液中同时加入 Bestatin 和 Thiophan, 可使刺激释出的脑啡肽免遭酶解而得到 100% 回收 (25)。

改变脑啡肽分子结构防止酶解 这是设计脑啡肽类似物增强其药理效应的基本原理, 例如甘²用 D-丙氨酸代替, 甘³-苯丙⁴分别予以甲基化, 甲硫⁵或亮⁵的酰胺化等等。人工合成的脑啡肽类似物阿片样作用最强的是 [D-丙², 甲-苯丙⁴, 甲硫-(O)-醇⁵]-脑啡肽, 脑室注射的镇痛作用 (甩尾阈) 较吗啡强 1000 倍 (1)。天然的阿片样肽中只有蛙皮阿片肽含有 D-型氨基酸 (酪¹-D-丙²-苯丙³-甘⁴-酪⁵-脯⁶-丝⁷NH₂), 其阿片样活性为已知内啡素中之最强者 (1)。

降解酶的脑区和亚细胞定位 脑啡肽降解酶的生理重要性不仅决定于在试管内的酶解效率, 还视其在组织内的分布 ① 是否与底物肽的分布一致, ② 是否与阿片受体的分布一致, ③ 是否位于突触膜上 (与膜结合者水解神经肽的效率)。在以上五种酶中, 只有“脑啡肽酶”符合这三个条件, 提示突触释放的脑啡肽可能主要由该酶加以水解。在体研究脑内啡肽的降解产物主要是 T-G-G 和 T-G, 也支持这一设想。

脑室 (脑内) 注射肽酶抑制剂的作用

(1) 加强外源性脑啡肽的作用: Bestatin 或 Thiophan 均可加强脑室注射脑啡肽镇痛作用, 两药合用, 增强作用更为明显。Captopril 则无效。

(2) 肽酶抑制剂本身的镇痛作用: 用小鼠热板—跳跃、嘶叫、扭体反应为指标, Bestatin 和 Thiophan 都有镇痛作用, 但用热板—舔脚和甩尾为指标并不表现镇痛 (25)。我们发现给家兔脑室注射 Bestatin 或 Thiophan 均可引起镇痛, 并可被静脉注射小剂量纳洛酮 (0.125 mg/kg) 所对抗 (26)。并进一步证明家兔伏核内注射 Bestatin 引起的镇痛可被 MEK 抗体所对抗, 说明肽酶抑制剂增强了紧张性释放的 MEK 的镇痛作用。

(3) 加强了刺激释放的脑啡肽的镇痛作用: 电针刺激是引起内啡素释放的有效手段, 近年来发现吗啡的镇痛作用一部分也是通过释放内啡素而实现的, 我们发现, 给家兔或大鼠脑室或脑内 (中脑导水管周围灰质、伏核、杏仁核) 注射 Bestatin, Thiophan, Captopril 或 DPA, 可显著加强电针和吗啡的镇痛作用 (26~29)。这种加强作用可被纳洛酮所阻断, 表明是通过内啡素而实现的。值得注意的是, Captopril 加强电针镇痛可被甲七肽抗体所对抗 (28), 表明 ACE 在酶解甲七肽方面可能起主要作用。

几种降解酶抑制剂的联合应用, 可能给脑啡肽更新 (利用) 率的研究提供可能性。

小 结

电子放大器、电子显微镜、免疫学技术的引入, 曾为神经科学的发展立下巨大功勋, 而基因工程技术将给神经科学发展带来的促进作用, 目前尚难加以估量 (3, 4)。

与生物合成方面的进展相比,内啡素释放和降解的研究相对较为迟缓。同时,试管内获得的结果有待在整体内进行检验,这方面,合理应用特异的降解酶抑制剂^[25],配合应用特异抗体微量注射法^[20~22],可能是检验内啡素生理功能的有力杠杆。

参 考 文 献

- [1] Morley JS: Brit Med Bull 39: 5, 1983
- [2] Hughes J, Kosterlitz HW: Brit Med Bull 39: 1, 1983
- [3] Bloom FE: Trends in Neurosciences (TINS) 5: 295, 1982
- [4] Milner RJ: TINS 5: 297, 1982
- [5] Rossier J: TINS 5: 180, 1982
- [6] Comb M, et al: Nature 295: 663, 1982
- [7] Gubler U, et al: Nature 295: 206, 1982
- [8] Noda M, et al: Nature 295: 202, 1982
- [9] Hughes J: Brit Med Bull 39: 17, 1983
- [10] Holtt V: TINS 6: 24, 1983
- [11] Holtt V, et al: Life Sci 31: 1883, 1982
- [12] Kakidani H, et al: Nature 298: 245, 1982
- [13] Fischli W, et al: Proc Natl Acad Sci USA 79: 5435, 1982
- [14] Kilpatrick DL, et al: Life Sci 31: 1849, 1982
- [15] Smyth DG: Brit Med Bull 39: 25, 1983
- [16] Roberts JL, et al: TINS 5: 314, 1982
- [17] Brownstein MJ: TINS 5: 318, 1982
- [18] 陈启顺等: 针刺研究 7: 36, 1982
- [19] 谢翠微等: 生理学报 待发表
- [20] Schulz R, et al: Nature 294: 7⁵7, 1981
- [21] 谢国玺等: 针刺研究 6: 278, 1981
- [22] Han JS, et al: Adv Biochem Psychopharmacol 33: 369, 1982
- [23] 谢国玺等: 科学通报, 待发表
- [24] 谢国玺等: 科学通报 27: 1273, 1983
- [25] Schwartz JC: TINS 6: 45, 1983
- [26] 周仲福等: 生理学报, 待发表
- [27] 张媛贞等: 科学通报 26: 1523, 1981
- [28] 韩济生等: 动物学报 27: 133, 1981
- [29] 费宏等: 北医学报, 待发表
- [30] 潘小平等: 针刺研究 7: 77, 1982

精神分裂症的某些生物学标志

上海第一医学院精神医学教研室

镇 爽

上海市精神卫生研究所

确立一个疾病单元可以按以下三种途径：临床症状，某些肯定的生化或生理指标和肯定的病因学。医学科学就是按这样三个阶段发展的，开始时仅按症状学进行诊断，以后则逐渐通过生化和物理检查而予诊断。由于精神活动的高度复杂性，人们对精神活动的本质尚未阐明，这必然给我们对进一步阐明精神病的病因带来不少困难。目前缺乏一个有效的实验室手段来诊断精神病。近年来由于基础科学、神经生化和精神药理学等方面的迅速发展，使我们有可能从生物学角度探索精神分裂症患者体内的某些异常变化，这种“特征性”的异常改变，一般称为“生物学标志”。它主要包括以下几个方面：

一、精神生化：脑脊液中GABA系统、血小板对5-HT摄入转运过程、尸检脑内NE代谢的改变

二、酶学：血小板MAO

三、膜的特性：锂盐：红细胞膜内外锂比例及运转过程、精神分裂患者红细胞膜磷脂组份的改变

四、受体：脑内DA受体

五、内分泌：DST、生长激素、内啡肽

六、生理标志：EEG，脑诱发电位，REM；眼球追视运动；植物神经功能

七、白血球组织相容性抗原（HLA）

八、电子计算机脑断层扫描（CT）

总的来讲，这些生物学标志可以分为生理功能和解剖形态两大方面。这两方面的表现既是独立的，又是相互联系的。现就两个“生物学标志”——MAO活力和CT为例，对其相联系的有关问题作一评述。

MAO活力

体内许多物质如多巴胺、5-羟色胺、去甲肾上腺素以及两种内源性致幻剂（苯乙胺和二甲基色胺）都会影响人的精神活动，并且都通过单胺氧化酶（MAO）代谢而灭活。血小板中MAO与脑内MAO有类似的理化特性，故测定血小板MAO活力在某程度上反映了脑内MAO活力。自从1972年Murphy及Wyatt首先报告慢性精神分裂症患者血小板MAO活力减低以后，引起了人们对MAO研究的极大关注。70年代后半期国外在这方面的报告颇多，近年来国内亦有人在这方面作了研究，但意见不一。

迄今国内外50多篇有关精神分裂症与MAO关系的报告中，约2/3以上认为至少有一亚

型组的精神分裂症患者血小板MAO活力是降低的(平均降低30%)。不少人认为只有偏执型或/和幻觉型精神分裂症患者MAO活力是降低的。亦有认为MAO活力减低预示疗效较差,或随精神分裂症缺损状态加重而降低。

测定精神分裂症患者体内5-羟色胺、去甲肾上腺素、色胺、二甲基色胺和苯乙胺,发现均较正常人明显增高。支持了他们体内MAO活力降低的可能。但有人作了这样实验,给患者静注多巴胺时,反而导致MAO活力急性代偿性增高(Zis, 1981),提示MAO具有反馈性控制胺类代谢作用。从遗传学角度来看, Wyatt (1973)早就指出患精神分裂症的单卵双生子与其非同病的对偶者体内MAO活力之间高度相关,而双卵双生子则否。有人发现患者的一组亲属中MAO活力最低;精神分裂症患者MAO活力比家庭中其他人员MAO活力为低;有阳性精神病家族史的精神分裂症患者比没有家族史患者MAO活力为低。

血小板MAO活力是否是精神分裂症患者的特异性生物学标志?要回答这个问题,首先要看有哪些因素可影响MAO活力。

有人对同一个体,测定其不同时期内的MAO活力时,发现差异可达15~20%, Delici等(1981)曾对1例慢性紧张型精神分裂症患者作了停药一年长期随访MAO活力(每月测定一次),发现其活力变化范围可相差二倍。Belmaker等(1974)发现正常月经周期变化时MAO活力也可相差20%左右,排卵时MAO达高峰,排卵后雌激素和黄体酮达高峰时,MAO活力降到最低值。Wise等(未发表资料)认为男性和女性一样,MAO活力有波动性,但未见MAO活力有昼夜节律改变。

值得一提的是2—3年来许多文献中讨论了精神药物对MAO活力的影响: Meltzer (1982)认为使用抗精神病药物后使周围血液内年老的、比重较小的血小板所占比例增多,在相同离心速度时,收集血小板的数量有差异,还有认为精神药物本身或者当其阻断DA受体后的代谢产物,对血小板MAO起部分抑制作用。凡此种种可使精神药物减低MAO活力约15—23%。可是我院孙氏的研究,发现精神药物反而使MAO活力增高。

Karson (1982)发现急性葡萄糖负荷试验亦可使慢性精神分裂症患者MAO活力减低,正常人则否。在其他病理状态时,如妊娠毒血症、甲亢、有核巨红细胞性贫血、营养不良、糖尿病、酒中毒、麻醉药成瘾、双相抑郁症等均可影响MAO活力。

从实验室角度来看,提取血小板时不同离心速度,测定MAO时所用底物的不同(人脑中MAO为A型和B型,血小板中MAO为B型,它们所需用的底物是不同的。)、底物的浓度的差异,均可影响测量结果。

我认为为了确定MAO对精神分裂症病理过程的生物学意义,今后实验设计时,在临床上除考虑诊断标准化以外,更应考虑多种应激及精神药物对其影响。值得研究精神分裂症患者各种组织中MAO的变化:脑组织中含A型和B型MAO,血小板、淋巴细胞、粒细胞、骨骼肌细胞含B型MAO,皮肤成纤维细胞中含A型MAO。对含MAO的细胞可进行体外细胞培养,然而研究其活性改变,这将有助于从遗传学角度研究MAO特性。

CT 研究

自从1976年Johnstone首先报告慢性精神分裂症病人CT检查发现脑室扩大以后,1979

年后在美国,1980年后在日本均进行了大量研究。迄今有关这方面的文献至少有40篇以上。总的讲来,慢性精神分裂症患者脑CT检查可见下列改变:1.大脑萎缩,包括脑室扩大、皮质沟变深、Sylvian裂或大脑半球间裂增宽。2.小脑蚓部萎缩。3.大脑非对称性改变。4.额叶放射性密度减低。Weinberger作了大量CT研究以后肯定此种解剖学改变与ECT和病程长短无关。

经研究发现脑室扩大者多见情感淡漠,兴趣缺失、意志减退、阻抑、言词减少等阴性症状。他们病前适应能力较差。心理测验异常者较多。相当多的患者具有不肯定的神经系统体征,对药物治疗效果较差。

观察脑CT改变与MAO、HLA的关系,发现MAO活力高低与脑室大小(VBR)之间关系不大。但MAO活力低者脑CT检查时可见更多的异常非对称性改变和HLA-A₂抗原频度增高。Luchins等(1979)发现美国患精神分裂症的黑人有脑萎缩者HLA-A₂频度没有增加,不伴有脑萎缩者HLA-A₂频度增加。

从解剖结构来看,侧脑室周围是视丘和边缘系统,此外还有许多与生物胺有关的或富于胺类的传导索。大多数抗精神病药通过阻断DA受体而达到治疗作用。Corlsson(1973)认为 α -甲基-对酪氨酸(AMPT)由于具有阻断DA、NE的产生,因此能加强抗精神病药物的疗效,后来Nasrallah等(1980)发现7例用AMPT治疗无效的病人中,6例具有脑室扩大。提示了脑室扩大的精神分裂症患者体内可能没有DA代谢障碍,因此对阻断DA系统的药物缺乏疗效。

Jeste(1981)将阿扑吗啡(DA激动剂)注射给精神分裂症患者,发现症状无变化的患者均有脑室扩大,症状有变化(好转或恶化)患者的脑室均正常。Angrist等(1980)也报告有“阳性”精神症状的慢性精神分裂症患者对精神药物治疗的疗效较好,而苯丙胺对他们更易引起症状的恶化。Kleinman等(未发表资料)观察了精神分裂症体内催乳激素浓度与精神病理学严重程度(BPRS计分)之间的关系。发现脑室没有扩大的精神分裂症患者催乳激素(PRL)与BPRS计分呈反比,脑室扩大的无此相关。

由于大多数研究均认为精神分裂症是一组异质性疾病,所以如果根据CT检查结果(有无脑室扩大),至少可以把目前我们诊断的精神分裂症分成二型:一型有脑室扩大而无DA功能障碍,另一型没有脑室扩大但有DA功能障碍。如果再结合其他生化(如MAO活力),生理(眼球追视运动),免疫(HLA)等指标,可望对精神分裂症本质将取得进一步了解。

精神分裂症的多巴胺假说

上海第一医学院精神病学教研室

徐韬元

上海市精神病防治院

自从五十年代初期发现氯丙嗪等精神药物并在临床上取得显著疗效以来,人们进一步对这类药的作用机制及精神分裂症的生物学机制方面做了很多研究工作,研究的重点结果之一,就是提出了精神分裂症的多巴胺假说。

*

*

*

为了便于说明多巴胺假说,简单复习一下现有的有关多巴胺(dopamine, DA)的知识。

DA是儿茶酚胺的一种,是脑内的主要神经递质之一。DA的合成过程如下:

酪氨酸 $\xrightarrow{\text{酪氨酸羟化酶}}$ 多巴 $\xrightarrow{\text{芳香族左旋氨基酸脱羟酶}}$ 多巴胺 $\xrightarrow{\text{多巴胺}\beta\text{羟化酶}}$ 去甲肾上腺素。

DA的降解过程如下:

多巴胺 $\xrightarrow{\text{单胺氧化酶}}$ 高香草酸
多巴胺 $\xrightarrow{\text{儿茶酚氧位甲基移位酶}}$ 高香草酸

DA在突触前神经末梢内合成并储存,当神经末梢接到冲动时,DA移向突触间隙,与突触后膜的DA受体相结合,即完成突触间(两神经元之间)的传导。受体有很高的特异性,例如DA能激活的受体,去甲肾上腺素就不能激活。氯丙嗪及其他抗精神病药的作用据说是阻断DA的突触后膜受体,因而阻断了其传导作用。脑内多巴胺能通路主要有四条:(1)黑质纹状体通路:从黑质至尾状核、壳核及苍白球;(2)中脑边缘系统通路:从腹被盖区至伏隔核与杏仁核;(3)中脑皮质通路:从腹被盖区至额叶皮质;(4)结节漏斗通路:与神经内分泌功能有关。

*

*

*

精神分裂症的多巴胺假说原来是来自这样一些论据:(1)作为DA的间接促动剂(agonist)的苯丙胺,可以在正常人中引起类似急性偏执型精神分裂症的症状;(2)DA促动剂可以使分裂症病人的症状恶化;(3)能够阻断脑的多巴胺能传递活动的药物可以治疗精神分裂症;(4)抗精神病药物的临床效价与其抗多巴胺能的强度密切相关。

多巴胺假说引起了人们很大的兴趣,进行了不断的论证,兹将这方面的较新研究简单介绍如下:

1.尸体脑内DA与高香草酸(HVA)的研究:如前介绍,HVA是DA的主要代谢产物,因此也间接反映了DA的情况。有些人研究了精神分裂症及对照组的尸体脑,发现在某些部

位DA及HVA的含量均有显著增高,但另外一些人的研究却认为与对照组相似。由于被研究的分裂症患者生前都用过抗精神病药物,而这类药物对DA的合成及转化都可能产生影响,因而即使有阳性发现,也不能贸然作出结论。个别的报告使用生前未服过抗精神病药的患者的尸体脑做研究,并与对照组比较,未能发现两组标本的DA与HVA的含量有明显差异。因此尸体脑的研究未能能为多巴胺假说提供充分支持。

2.脑脊液内HVA的研究:这一研究是用来估计中枢DA神经元的活动程度的。在多巴胺的几个主要通路中,黑质纹状体通路被认为是CSF的HVA的主要来源,但中脑边缘系统通路和中脑皮质通路却被认为与精神分裂症最有关系,这就影响了分裂症患者CSF的HVA的研究的价值。对许多停药二周后的分裂症患者的CSF的HVA测定表明,其含量与对照组无明显差别。但如将患者根据Schneider的一级症状的多少分为两组,则两组之间有一定差别。有些研究说明,精神分裂症的预后不良者以及一级症状丰富者CSF中的HVA偏低,有明显家族史者以及病前的性心理不健全者HVA偏高。

3.多巴胺β羟化酶(DBH)的研究:DA通过DBH的作用合成去甲肾上腺素,所以DBH的研究也与多巴胺假说有关。有人在精神分裂症的尸体脑中发现DBH的活力降低,但其他人的研究不能证实这一发现。在血浆DBH的活力测定研究方面也有同样的分歧的看法。有人研究了12对单卵孪生儿的血浆DBH的活力,其中一半有分裂症,一半无分裂症,发现分裂症组的活力明显降低,并认为这种情况是遗传决定的。

4.单胺氧化酶(MAO)和儿茶酚氧位甲基移位酶(COMT)的研究:DA通过这两种酶降解成为HVA,因此精神分裂症这两种酶的变化与多巴胺假说很有关系。有人(Wyatt et al, 1980)复习了32个研究报告,其中22个报告发现慢性精神分裂症患者血小板MAO活力有明显下降,但急性分裂症则无此现象。有人指出这种下降尤多见于有幻觉及妄想者。但是血小板MAO活力下降可由抗精神病药物引起,亦可见于正常人,所以不能认为是分裂症的特殊现象。另外,有人研究了分裂症患者尸体脑的活力,发现与对照组并无区别。关于COMT的研究也有类似的情况,即有人发现有活力下降,而别人都不能证实这一点。又上述22个MAO活力下降的报告中,下降最大的一组平均下降值仅68%。

5.突触后受体的研究:给动物以长期的抗精神病药处理后,可引起其突触后DA受体的超过敏现象(Supersensitivity),许多人因而研究了分裂症患者尸体脑的DA受体的情况。在美国,五个实验室的报告里四个报导有此现象,但另外的报告则不能证实这一点。可能存在两种类型的DA受体(D_1 及 D_2),也可能这种超过敏现象是抗精神病药物作用的结果。这方面还在进行深入的研究。

6.神经内分泌的研究:如果分裂症患者脑内存在着全面的DA活动过度,那么当然也可能影响下视丘脑垂体系的多巴胺功能,这里的DA活动过度可刺激生长激素(GH)的分泌及抑制催乳素(Prolactin)的释放。许多研究表明,急性慢性精神分裂症患者血浆中的基础催乳素含量与对照组无明显差异,GH的水平也不增高。在15个研究报告中,只有3个发现有催乳素降低或GH升高现象。利用DA促动剂研究精神分裂症患者的下视丘脑垂体功能变化,发现如使用左旋多巴或苯丙胺来研究,则结果很不一致,不能说明问题;如使用阿朴吗啡,则可见较一致的GH升高,而催乳素则无明显变化,因此有人认为用催乳素作为测定指标较不可靠。但长期使用抗精神病药物的慢性精神分裂症患者的GH反映不敏感(即GH升高不

明显)。当然,即使证实了下视丘脑垂体系统的DA活动过度,也并不一定说明DA的其他主要通路也有活动过度现象。

7.用影响多巴胺功能药物所做的临床研究:许多药物可以改变多巴胺能活力,其中用DA促动剂做的研究较多。有人复习了24个这方面的研究报告(Haracz,1982),其中有7个研究发现在给病人换用或加用左旋多巴后,病人的退缩行为有所改善,但基本精神症状无甚变化,这一结果虽与多巴胺假说不一致,但亦可用DA的增加部份抵销了抗精神病药的抑制作用或增加了去甲肾上腺素的作用(使病人活跃起来)来解释。22个研究中有12个研究发现在使用了DA促动剂后精神症状恶化,主要是“阳性”症状恶化,其中有两个报告认为这不是原来疾病的恶化,而是左旋多巴引起的中毒性精神病。另有三、四个报告认为DA促动剂在某些情况下可改善精神分裂症的症状。也有个别报告认为口服苯丙胺对分裂症症状并无影响,这可能与选择了长期住院的慢性病人作为研究对象有关。

MAO抑制剂在理论上要提高DA的活力,引起分裂症的恶化。有人复习了14个这方面的研究(Brenner and Shopsin,1980),共包括了281例只用MAO抑制剂治疗的慢性精神分裂症患者,结果发现71%病人症状无变化,26%症状改善(主要是“阴性”症状改善),仅3%症状恶化。这一结果与DA假说不符合。有人认为这可能是对MAO的抑制作用不足之故,因为根据动物实验及临床研究,要85%以上的MAO功能受抑制,方能在行为方面表现出来。也有人认为这是由于慢性衰退病人对药物反应已不敏感之故。

所谓精神分裂症的多巴胺假说,是指认为精神分裂症主要与多巴胺能系统相性的或持续性的活动过度有关。上述大量资料表明,这一假说虽有一定的根据,但进一步的研究却发现“漏洞”越来越多,其原因可能是多方面的,例如:(1)精神分裂症是一组异源性疾病,因此不能以一种机制来解释;(2)即使是某一特殊类型的精神分裂症,也可能是由生物、社会、心理各方面的因素综合作用引起的,因此不能单用生物学方面的某一因素来解释。

有关资料表明,精神分裂症病人至少可分为两组,一组“阳性”症状较明显,对药物反应较好,较易用DA假说解释;一组以“阴性”症状为主,疗效较差,较难用DA假说来解释。因此目前的精神科实验室研究者,也都很重视病人的临床指标。