

- [18] Kamada H. et al., 1986, *Plant Cell Reports*, 5: 239—242.
- [19] Jung J., Tepfer D., 1987, *Plant Science*, 50: 145—151.
- [20] Mano Y. et al., 1986, *Agric. Biol. Chem.*, 50: 2715—2722.
- [21] Tepfer D., 1983, *Molecular Genetics of the Bacteria-Plant Interaction* (A. Pühler ed.). New York, Spring-Verlag, pp. 248—258.
- [22] Paul H. et al., 1987, *Plant Cell Reports*, 6: 379—381.
- [23] Ooms G. et al., 1984, *Plant Science Letter*, 35: 169—173.
- [24] He Y. K. 1989, Beijing International Conference on Biotechnology, pp. 174.
- [25] Mugnier J., Mosse B., 1987, *Phytopathology*, 77 (7): 1045—1050.
- [26] Mugnier J., 1987, *Phytopathology*, 77(4): 539—542.

P 物质免疫调节作用的研究现状

童 强 葛锡锐

(中国科学院上海细胞生物学研究所)

近年来,人们日益认识到神经系统与免疫系统之间存在着密切的联系^[1],它们相互影响,相互调节。在此过程中,神经肽起了重要作用。现在已知具有免疫调节功能的神经肽包括:P物质、血管活性肠肽、生长激素释放和抑制因子、 β -内啡肽、脑啡肽、促肾上腺皮质激素、生长激素等等。本文将着重论述P物质的免疫调节作用的研究进展^[2]。

一、P 物质

P物质(substance P, SP), 1931年由瑞典学者 Von Euler 和 Graddum 发现。1971年, Chang 等人定出 SP 为十一肽,其氨基酸顺序为: Arg-Pro-Lys-Pro-Gln-Gln-Phe-Phe-Gly-Leu-Met-NH₂。

SP 广泛存在于脊椎动物的中枢及外周神经组织中,并在哺乳类、鱼类、蛙类等肠道中存在。在脊椎中和外周的自主传入、传出神经以及C-类感觉神经纤维中,都有 SP 存在。SP 在神经系统中的功能还不很清楚,但有证据表明,SP 在对痛觉等伤害性刺激的感觉传递中起作用^[3]。

一系列研究表明:SP 具有广泛的功能^[3]。它能促进外周动脉血管扩张、降低血压;刺激

平滑肌收缩;刺激唾液腺、胰腺分泌;利尿、促钠排泄。SP 还能促进人垂体分泌催乳素和生长激素。其他与免疫有关的功能将在后面详述。

SP 属于一类叫速激肽(Tachykinin)的家族。该族结构上的共同点是它们羧基端氨基酸顺序为: Phe-X-Gly-leu-Met-NH₂, 其中 X 是芳香族或带分枝的脂肪族氨基酸。该族包括:章鱼涎肽(eledosin), 南美蟾蜍皮肤肽(physaellamin), 澳洲蟾蜍皮肤肽(Uperolein), Kassinin, 此外还有:从脊髓等神经组织中发现的K物质(Substance K, 又名 Neuromedin L, Neurokinin A, Neurokinin α) 和 Neurokinin B (又名 Neurokinin β , Neuromedin K), 新近又发现了 Neuropeptide K。

产生 SP 的前体分子为前速激肽原(Preprotachykinin), 通过 cDNA 克隆研究发现该类前体分子有 3 种, 它们来源于 α 、 β 、 γ 3 种 mRNA, 而这 3 种 mRNA 是同一个基因的 mRNA 经不同拼接而形成的。 α 型的 mRNA 只编码 SP, β 型编码 SP、SK 及 Neuropeptide

本文的写作和发表受到本所研究生办公室吕幼翔同志的支持和帮助,特此志谢。

K, γ 型编码 SP 及 SK^[4]。

二、SP 对速发型超敏反应的调节^[5]

在脊髓背根神经元合成的 SP, 90% 沿着无髓鞘感觉神经元转运到外周神经末梢, 当受到伤害性刺激(如烫伤)或由于局部组织炎症而释放, 进而引起一系列效应。

肥大细胞往往接近于感觉神经末梢, 实验发现, 较高浓度的 P 物质在体外能刺激肥大细胞释放组胺和白细胞三烯 C₄、B₄ 等, 但 SP 不能刺激嗜碱性细胞释放组胺。肥大细胞释放的介质, 能引起一系列生理效应。SP 可通过肥大细胞吸引嗜酸性与嗜中性细胞浸润^[6]。SP 作用于肥大细胞的机制与 IgE 不同, 因为 SP 不需要胞外 Ca⁺⁺ 的存在, 也不能被事先脱敏 (prior desensitization) 所阻断^[7]。

除了通过肥大细胞介导, SP 本身也能直接作用于某些组织引起一系列生理效应, 如: 促平滑肌收缩, 增加毛细血管通透性, 刺激肠、肺、鼻上皮分泌等。

这种直接和间接作用是通过 SP 分子的不同部分来实现的: SP 的 C 端与肥大细胞反应引起间接效应而 N 端引起直接效应^[7]。

三、SP 对炎症和组织修复的作用

在炎症部位, 神经末梢释放 SP, 使局部 SP 浓度升高, 不仅如此, Weinstock 等^[8]报道了小鼠血吸虫引起的肉芽肿中的嗜伊红细胞本身就能产生 SP。释放的 SP 导致血管舒张, 组织液渗出, 血管通透性增加, 便于效应细胞向炎症部位集聚。

SP 能激活单核样和多形核白细胞的趋化效应, 并促使巨噬细胞合成并释放花生四烯酸代谢产物: 前列腺素 E₂、白细胞三烯 C₄, Thromboxane B₂ 等; 降低细胞膜上 5'-核苷酸酶活性(该酶起抑制巨噬细胞活性的功能); 促使分泌溶酶体酶 ADGase(β -D-2-acetamido-2-deoxyglucosidase)^[9]。

此外, SP 能增加人嗜中性细胞和小鼠巨

噬细胞的吞噬作用, SP 还可增强巨噬细胞对肿瘤细胞增殖的抑制作用^[10]。

SP 刺激人单核细胞趋化效应的半效应浓度(EC₅₀)约为 1×10^{-13} Mol/L, 该作用可被 D-氨基酸 SP 类似物(analog)阻断, 但不受 SP 拮抗物(antagonist): 甲酰甲硫氨酰亮氨酰苯丙氨酸(fMLP)影响, 相反, SP 对多形核白细胞的效应与 fMLP 受体有关, 其 EC₅₀ 约为 1×10^{-6} mol/L。^[8]

SP 对组织修复的影响反映在 SP 能增加平滑肌细胞, 成纤维母细胞和内皮细胞的增殖^[11]。

四、SP 对免疫功能的影响

SP 具有对细胞免疫与体液免疫的调节功能。

SP 能刺激人外周血中 T 淋巴细胞增殖, 促进³H-胸苷和³H-亮氨酸的掺入, EC₅₀ 约为 1×10^{-9} mol/L^[12]。

Stanisz 等人发现^[13], 在 ConA 共刺激下, SP 能促进小鼠脾脏、派伊尔结(payer's patch)、肠系膜淋巴结中的淋巴细胞增殖, 增加 IgA 的产生, 在派伊尔结中 IgA 的增加达 300%。

R. Hart 等人发现^[14] SP 能增加人外周血单核样细胞的 IgM 及 IFN- γ 的分泌。在十二指肠组织培养中, 10^{-9} Mol/L 及 10^{-12} mol/L SP 能促进 IgM、IgA、IgG 以及 IFN- γ 的分泌。

10^{-7} Mol/L SP 对人血 B 淋巴细胞在 SpA (金黄色葡萄球菌蛋白 A) 刺激下 IgG 的产生有影响^[15]。

Helme 等人^[16] 用辣椒素(Capsaicin, 能损伤初级传入神经, 使其中多种神经肽含量减少, 包括 SP) 处理新生大鼠, 6—12 周后检查局部淋巴结对皮下注射 SRBC 的应答, 用间接空斑实验发现特异性抗体分泌细胞减少了 80%, 但如果抗原注射后, 在抗原注射位置进行 4 小时 SP 皮下灌注(1×10^{-5} mol/L), 则抗体应答可得到恢复, SP₆₋₁₁ 具有相同的能力。

Wozniak 等发现^[17], SP 能激活人嗜中性细胞增强 ADCC(抗体介导的细胞毒性), 在 10^{-4} mol/L 浓度, 最大效应由 4.7% 增至 33.4%

在脾脏中, SP 的受体主要集中在红白髓交界的抗原俘获区(antigen-trapping marginal Zone)^[18], 在粘膜相关的(mucosa-associated)淋巴样组织中, SP 受体主要在淋巴结皮质区表达, 该处是抗原俘获与处理的地方^[19]。SP 受体在淋巴样组织中的这种分布, 提示 SP 可能在免疫系统中参与感受功能(sensory function)的控制。

五、SP 与细胞因子及某些疾病的关系

近来的一些实验表明, SP 能影响细胞因子(Cytokines)的产生。

M. Lotz 等人^[20]发现 SP、SK 及 SP_{4-11} 都能够促使人外周血单核细胞分泌白细胞介素 IL-1、IL-6, 及肿瘤坏死因子 TNF- α , 还有干扰素 IFN- α ^[21]。

Kimball 等人^[22]发现, 小鼠巨噬细胞系 p 388 D 1 在 SP、SK 及 Neurokinin B 和 SP_{4-11} 刺激下, 可产生 IL-1 或类似 IL-1 的活性物质。张惠华等也证实^[10], SP 在 10^{-7} — 10^{-9} mol/L 有显著增强小鼠腹腔巨噬细胞分泌 IL-1 的作用。

在人十二指肠组织培养中, SP 能使 PWM 引起的 IL-1 分泌减少, 而 IL-2, IL-2 受体活性增强^[23]。

众所周知, 细胞因子具有广泛而重要的生物学功能。SP 能诱导细胞因子的产生, 为 SP 的某些功能提供了解释。

我们在这里着重谈谈 SP 在关节炎发病过程中的作用^[22]。

Levine 等发现^[24], SP 能加重大鼠的关节炎, 而 Lotz 等发现^[25], SP 能刺激类风湿症的滑液细胞释放前列腺素 E_2 和胶原酶。关节炎患者的关节中含 SP 的神经纤维密度增加,

SP 浓度增加, 同时巨噬细胞也比正常密集。而 SP 能诱导巨噬细胞产生 IL-1, 暗示 SP 可能是通过 IL-1 来影响关节炎的发病的。因为关节炎患者滑液中 IL-1 水平升高, 而 IL-1 被认为是引起关节炎发病及其慢性病变的一个主要介质^[26], IL-1 由巨噬细胞或滑液细胞产生, 能刺激成纤维母细胞增殖, 释放前列腺素 E_2 和胶原酶。

六、SP 受体在细胞上的分布及其结合特性

为了研究 SP 的分布特性, 人们使用放射性同位素标记的 SP(¹²⁵I-SP 和 ³H-SP)以及荧光素标记 SP。

用荧光激活细胞分离器(FACS)研究发现, SP 与 20%左右的人外周血 T 淋巴细胞结合, 在 SP 结合的 T 淋巴细胞中, T 辅助细胞约占 18%, T 杀伤-抑制细胞约占 10%, 用 ¹²⁵I-SP 测出其与入外周血淋巴细胞 SP 受体结合的解离常数 K_D 为 $1-2 \times 10^{-9}$ mol/L, 平均每个 T 细胞上约有 7000 个受体分子, 竞争结合实验表明 SP C 端的 Gly-Leu-Met-NH₂ 是主要结合部位^[27]。

此外, 人外周血 B 淋巴细胞、单核细胞、血小板均无与 SP 的明显结合^[27]。但人 B 淋巴瘤细胞样细胞系 IM-9, 与 SP 有很强的结合(该细胞系也表达胰岛素与生长激素的受体), 实验显示每个 IM-9 细胞上约有 22600 个 SP 受体, 其解离常数 K_D 为 6×10^{-10} mol/L^[28], Hartung 定出豚鼠巨噬细胞上 SP 受体 K_D 约为 2×10^{-8} mol/L^[9]。而在平滑肌细胞上, K_D 约为 5×10^{-10} mol/L, 而受体密度为每细胞 40000—50000 个^[11]。

Stanisz 等用 FACS 研究 SP 受体在小鼠脾脏及派伊尔结上的分布^[29], 发现两处的 T、B 淋巴细胞都能与 SP 结合, 而派伊尔结淋巴细胞与 SP 结合的比例是 68%, 明显高于脾脏的 40%的结合率。两个器官中大部分 T 细胞能与 SP 结合, 而且 T 辅助细胞与 T 抑制-杀伤细胞

与SP结合的比例也基本相同,¹²⁵I-SP结合实验显示,脾淋巴细胞上SP受体数(每细胞约195个受体)要少于派伊尔结(每细胞约750个受体),但解离常数都相似, K_D 约为 6.8×10^{-10} mol/L。

七、SP受体的结构特性

目前人们认为,对速激肽类,存在三种受体: NK_1 型受体(其结合能力 $SP > SK > Neurokinin B$); NK_2 型受体(结合能力 $SK > Neurokinin B > SP$); NK_3 型受体(结合能力 $Neurokinin B > SK > SP$)^[30]。SP主要是结合 NK_1 型受体。

Payan等人用¹²⁵I-SP及抗SP受体单抗来研究在淋巴母细胞系IM-9上SP受体的生化性质,发现¹²⁵I-SP和抗SP受体单抗与IM-9膜蛋白的116 KD, 72 KD, 58 KD和33 KD组分特异性结合^[28,31]。有关实验结果表明:SP受体在细胞中快速合成并加上糖基,而SP能抑制该过程^[32]。

一些实验结果表明,配体与SP受体结合后,通过G-蛋白介导激活磷酸肌醇特异的磷脂酶C,引起磷脂酰肌醇4,5-二磷酸的水解增加^[33,34]。

近来,日本京都大学Nakanishi实验室的工作,使我们对速激肽受体的认识深入了一步,继成功地克隆并分析了牛SK受体cDNA顺序之后,他们又分析了大鼠SP受体的cDNA顺序^[35],发现由cDNA顺序推测的SP受体由407个氨基酸残基构成,分子量为46385道尔顿。比较SP受体与SK受体发现它们有48%的同源性,它们都属于G-蛋白相关的受体家族,从结构上推测都具有7段疏水跨膜区域,并与G-蛋白相互作用。Andrew等也报道了相同的结果^[36]。

以上我们介绍了SP的多方面的免疫调节作用,可以看出,这个研究领域的工作还刚刚起步,尤其是关于SP在免疫调节中的确切作用与作用机制还有待阐明。我们相信,这些问题的解决以及神经免疫学的发展,将不仅使我

们了解神经系统与免疫系统的相互作用,而且对我们全面深入地认识神经系统和免疫系统的功能提供很大帮助。

摘 要

本文介绍了当前神经免疫学研究的一个方面——对P物质的免疫调节作用的研究进展,着重论述了P物质对速发性超敏反应的调节、对炎症和组织修复的影响,对免疫功能的作用,以及P物质对细胞因子的产生及某些疾病的关系。并介绍了P物质受体在细胞表面的分布、解离常数、受体的结构及作用机制的研究进展。

参 考 文 献

- [1] Payan, D. G. et al., 1986., *Adv. Immunol.*, 39: 299.
- [2] McGillis, J. P., 1987, *Fed. Pro.*, 46(1): 196.
- [3] Pernow, B., 1983, *Pharmacol. Rev.*, 35(2).
- [4] Krause, J. E. et al., 1987, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 84: 881.
- [5] Goetzl, E. J. et al., 1985, *J. Immunol.*, 135(2) Suppl: 802 s.
- [6] Matsuda, H. et al., 1989, *J. Immunol.*, 142(3): 427.
- [7] Foreman, J. C. and C. C. Jordan, 1983, *Agents Actions*, 13: 105.
- [8] Weinstock, J. V. et al., 1988, *J. Immunol.*, 141(3): 961.
- [9] Hartung, H. P. et al., 1986, *J. Immunol.* 136(15): 3856.
- [10] 张惠华, 陈慰峰, 1989, *中国免疫学杂志*, 5(2): 75.
- [11] Payan, D. G., 1985, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 130: 104.
- [12] Payan, D. G. et al., 1983, *J. Immunol.*, 131: 1613.
- [13] Stanisiz, A. M. et al., 1986, *J. Immunol.*, 136(1): 152.
- [14] Hart, R. et al., 1989, *Immunology Letters*, 23: 199.
- [15] Laurenzi, M. A. et al., 1989, *Scand. J. Immunol.*, 30: 695.
- [16] Helme, R. D. et al., 1987, *J. Immunol.*, 139(10): 3470.
- [17] Wozniak, A. et al., 1989, *Immunology*,

- 68: 359.
- [18] Wiedermann, C. J. 1986, *Blood*, 68: 1398.
- [19] Wiedermann, C. J., 1987, *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 496: 205.
- [20] Lotz, M. et al., 1988, *Science*, 241: 1218.
- [21] Wagner, F. et al., 1987, *Regul. Pept.*, 19: 355.
- [22] Kimball, E. S. et al., 1988, *J. Immunol.* 141 (10): 3564.
- [23] Hart, R. et al., 1988, *Immunol. Letters*, 19: 133.
- [24] Levine, J. D. et al., 1984, *Science*, 226: 547.
- [25] Lotz, M. et al., 1987, *Science*, 235: 893.
- [26] Dinarello, C. A., 1986, *J. Clin. Invest.*, 77: 1734.
- [27] Payan, D. G. et al., 1984, *J. Clin. Invest.*, 74: 1532.
- [28] Payan, D. G. et al., 1986, *J. Biol. Chem.*, 261: 14321.
- [29] Stanisiz, A. M. et al., 1987, *J. Immunol.*, 139 (3): 749.
- [30] Quirion, R. and T. V. Dam, 1988, *Regul. Pept.*, 22: 18.
- [31] Organist, M. L. et al., 1987, *J. Immunol.*, 139 (9): 305.
- [32] Organist, M. L. et al., 1988, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 151 (1): 535.
- [33] Mantyh, P. W. et al., 1984, *Nature*, 309: 795.
- [34] MacDonald, S. G. and N. D. Boyd, 1989, *J. Neurochem.* 53: 264.
- [35] Yokada, Y. et al., 1989, *J. Biol. Chem.*, 264 (30): 17649.
- [36] Andrew, D. et al., 1990, *Science*, 247: 958.

非洲爪蟾 *Xenopus laevis* 卵母细胞中的 Vgl mRNA—— 一种重要的母体 RNA

张遵义 毛铭廷

(西北师范大学生物系)

两栖类卵母细胞, 在其发育过程中积累了大量的 RNA 及蛋白质。这些 RNA 和蛋白质对成熟卵受精后的早期胚胎发育起着相当重要的作用^[1]。由于它们在卵母细胞中的分布各异, 受精后, 通过细胞分裂将它们分配至不同的细胞中, 这些细胞也由此获得了不同的发育潜能。同时, 也开始产生了不同细胞之间的相互作用, 组织乃至器官的形成就基于这些不同发育潜能的细胞以及它们的相互作用。胚胎发育早期, 不同的细胞得到了特异的发育能力, 由此形成形态各异的组织及器官原基。在以后的发育中, 这些细胞仍保持各自的命运安排。这种不同区域细胞的发育差别, 与存在于卵母细胞动、植物半球的母体因子(RNA 及蛋白质)有关。荷兰学者 Nieuwkoop 及其合作者们结果表明, 中胚层的出现是通过囊胚期预定外胚

层和植物半球卵黄团的诱导作用而实现的^[2]。这种诱导作用同样可以追溯到卵母细胞动、植物半球的差异。已有证据说明动物半球的细胞对于中胚层诱导信号有反应能力, 而植物半球的细胞则与产生这类诱导物质有关^[3,4]。因此搞清楚定位于卵母细胞的细胞质中, 决定细胞分化命运的母体因子所具有的分子性质是极有意义的。

1985年, Melton等^[5,6]发现了一类定位于卵母细胞植物半球的母体 mRNA, 称为 Vgl mRNA。这种 mRNA 编码的产物类似于 β -转化生长因子(TGF- β), 后者对细胞分化有多方面的作用^[7]。Vgl mRNA 在卵子发生期间合成并贮存于卵母细胞中, 直到原肠早期发生降解, 因而可认为它与这期间的发育有关。其次, Vgl mRNA 在成熟卵母细胞中以半月形