

学术动态

麻醉性镇痛药研究动向

韩 济 生

(北京医学院 生理教研室)

国际麻醉性镇痛药研究学会 (International Narcotic Research Conference, INRC) 是一个专业性较强的学术组织。1975 年以来每年举行一次年会。1984 年年会是作为第九届国际药理学会 (1984 年 7 月 29 日至 8 月 4 日, 伦敦) 的卫星会议, 于 7 月 22~27 日在剑桥举行。到会 300 余人, 宣读论文 65 篇, 张贴论文 240 篇。现将会议中的一些主要进展报道如下。

(一) 吗啡耐受问题

会议第一天为纪念 HOJ Collier 在研究吗啡耐受和成瘾问题上的贡献, 特举行专题讨论会。Collier 和 Roy 于 1974 年提出, 前列腺素 E(PGE) 可激活某些神经元内腺苷酸环化酶(AC), 促进 cAMP 生成, 引起神经元兴奋。吗啡则抑制 AC 的活性, 对神经元起抑制作用。多次应用吗啡后, AC 活性代偿性增强, 因而吗啡的作用减弱 (耐受)。突然撤药或给阿片拮抗剂时 AC 的活性更强, 出现戒断症状。用甲基黄嘌呤增加细胞内的 cAMP, 也可模拟戒断症状。这一学说为吗啡的药理作用、耐受和成瘾机制提供了一整套统一的解释。

已知除吗啡外, 肾上腺素受体、毒蕈碱样受体和腺苷受体受激动时也可引起 cAMP 系统的类似变化。实验结果表明, 吗啡戒断时出现的湿狗样效应确可被阿片类药物、可乐宁和毒蕈碱样药物所对抗, 从而支持 Collier 等的论点。

与 Collier 的推测相反, 近年的资料倾向于认为耐受与戒断可以有不同的机制。R Schulz 指出, 小鼠输精管和神经母细胞瘤与胶质细胞杂交细胞(NG 细胞)可产生对吗啡的耐受, 却不出现戒断现象。又如 mu 受体激动剂长期用药产生耐受时, 应用 kappa 受体激动剂并不产生交叉耐受; 但 mu 激动剂撤药时引起的戒断症状, 却可由 kappa 激动剂加以缓解。深入研究表明, 阿片类药物作用于阿片受体后需通过调节单位 Ni 对 AC 起抑制作用; 当用百日咳毒素抑制 Ni 后, 吗啡受体与 AC 之间失去偶联, 吗啡的作用即降低 (耐受)。而用纳洛酮阻断阿片受体后出现的戒断症状, 需有调节单位 N_s 作为中介; 应用霍乱毒素抑制 N_s 时, 虽然耐受现象依然存在, 但不出现戒断症状。

不仅耐受与戒断有不同机制, 不同的戒断症状也可有不同的机制。DR Jasinski 指出, 长期应用丙烯吗啡和环唑新, 停药时可出现自主神经系统戒断症状, 但无主观不适; 可乐宁可抑制吗啡戒断时出现的自主神经系统戒断症状, 但不能缓解主观不适和搜寻药物的行为。RA North 发现单个蓝斑细胞和豚鼠回肠 (GPI) 神经丛神经元可产生吗啡耐受但无戒断表现; 但与 GPI 神经丛相连的神经元则可出现戒断现象 (强烈兴奋)。因此认为强烈戒断现象有赖神经元之间突触联系的存在。

对于吗啡耐受还可有一种与以上截然不同的解释, 即长期给药激起体内一种对抗因素的

生成,这种对抗因素被称为抗阿片物质,包括胆囊收缩素(CCK)、ACTH等。我们的工作表明,将CCK的抗体注入大鼠脑室或脊髓蛛网膜下腔可以翻转吗啡耐受,说明CCK功能过盛可能是引起吗啡作用减弱的部分原因。以上这些资料对于Collier提出的简单模型是一种重要的发展。

我们曾提出,长期电针可引起机体对自身释放的内源性吗啡样物质(内啡素)产生耐受。实际上在正常生理情况下循环血中的内啡素已可使机体产生一定的耐受。Kiang等指出,去垂体后或用地塞米松抑制ACTH/ β -内啡肽释放时,机体对吗啡的敏感性(心率减慢反应)明显增强。因此,关于“耐受”的概念似有从纯药理领域扩展到生理领域的趋势。

(二) 强啡肽的研究进展

在已知的三类阿片肽中,强啡肽及与强啡肽基因有关的肽类是讨论最多的课题。主要进展如下。

1. 脑内的亮啡肽一部分可能来自强啡肽 已知脑啡肽前体中亮啡肽与甲八肽的比例是1:1。但Zamir等发现,在黑质、海马、垂体后叶中,亮啡肽的含量远多于甲八肽。损毁苍白球后,黑质中强啡肽B和亮啡肽含量增加25%,而甲八肽含量不变。提示在黑质、海马等强啡肽丰富的部位,亮啡肽可以由强啡肽前体转变而来。

2. 脑内强啡肽能神经通路 Fallon等同时应用免疫荧光组化和逆行示踪法证明,从内侧尾壳核、杏仁核和下丘脑,有下行强啡肽能纤维到达黑质;从黑质还有强啡肽能纤维返回到杏仁核。这些神经通路的生理意义尚待研究。

3. 脊髓内强啡肽镇痛 Jhamandas等验证了韩济生等1982年在INRC上的报告,给大鼠脊髓蛛网膜下腔注射强啡肽₍₁₋₁₃₎,30分钟后大鼠甩尾阈显著延长。该效应不能被小剂量(1 mg/kg)纳洛酮所对抗。但他们又发现,注射后150分钟痛阈再次升高,后者易被纳洛酮所对抗。这一迟发效应的机制尚不了解。

Spampinato等的资料表明,给大鼠尾根电刺激(0.2~0.4 mA)10分钟,可使脊髓内强啡肽免疫活性增高一倍。短暂的电刺激脚底所引起的镇痛可被kappa受体拮抗剂Mr 2266所对抗。这都说明强啡肽可能参与应激镇痛。

4. 强啡肽与脊髓损伤 Cox等发现,大鼠脊髓受打击性外伤的部位强啡肽含量显著升高。损伤后一天强啡肽升高的程度与运动障碍的严重程度相平行。他们还发现,脊髓蛛网膜下腔插管的大鼠,脊髓中强啡肽含量增加50%。这一发现也许有助于解释一个未明原理的现象,即大鼠脊髓蛛网膜下腔插管的第1~2天注射强啡肽有很强的镇痛效果,一周后再注射镇痛作用即大减。可能是由于插管带来的慢性损伤引起脊髓内强啡肽的生成和释放增多,因而使脊髓对强啡肽产生了一定程度的耐受。

5. 强啡肽抑制儿茶酚胺释放 牛肾上腺髓质嗜铬细胞上有kappa受体,应用强啡肽₍₁₋₁₃₎或kappa受体激动剂U 50,488可明显抑制乙酰胆碱引起的儿茶酚胺的释放。考虑到肾上腺髓质细胞中儿茶酚胺与强啡肽共存的事实,上述抑制作用似乎是构成了一种负反馈机制,限制儿茶酚胺的过度释放。

6. 心脏中的强啡肽 HW Kosterlitz实验室的Weihe等测定心脏中的吗啡样物质(高压液相层析分离,小鼠输精管检定),发现心室肌中的内啡素全部来自强啡肽前体,心房中的内啡素极大部分来自强啡肽前体。心房中甲啡肽与亮啡肽之比是1:7,提示此处的亮啡肽主要来自强啡肽前体。心脏中的强啡肽是否也抑制儿茶酚胺的释放,值得研究。

7. 强啡肽与精神分裂症 张安中等报告,精神分裂症病人脑脊液中强啡肽₍₁₋₈₎的含

量显著低于对照组（非精神分裂症病人），强烈提示强啡肽参与精神分裂症发病机理的可能性。

8. Kappa 受体作用机制 现已明确强啡肽作用于 kappa 受体。mu 和 kappa 激动剂都能引起兔输精管细胞超极化，但其机制不同。前者是增加 K^+ 的通透性，后者可能是降低了 Ca^{2+} 的通透性。

(三) 内啡素与免疫功能

这是一个新兴的极有兴趣的研究领域，但到目前为止确切可靠的资料还不很多。

Fischer 等报告，生理浓度的 β -内啡肽即可促进人血液中颗粒细胞的运动，包括无定向运动和趋化性游走。Ruff 等研究了人血液中的单核细胞穿过微孔膜的能力，发现 β -内啡肽、强啡肽₍₁₋₁₃₎ 和 D 甘₂，D 亮₅ 脑啡肽 (DADLE) 都可促进单核细胞的趋化性游走能力。半数有效量 (ED_{50}) 在 10^{-12} M 左右。上述作用可被纳洛酮 10^{-8} M 所对抗。单核细胞活动能力的增加可能与伤口的愈合、T 细胞和 B 细胞的繁殖和激活、甚至中枢神经突触的形成等有关。

Wybran 以及 Plotnikoff 等报告，人血液与脑啡肽温孵后，T 细胞玫瑰花斑（活动的淋巴细胞）数增多，天然杀伤活力加强。对于癌症病人的血液也有同样的作用，即使原来免疫功能已降低的病人也仍有效。Murgo 等报告， Zn^{2+} 可以加强脑啡肽激活淋巴细胞的能力。

在上述报告中一些较普遍地存在的问题是实验结果波动大，缺乏剂量效应关系，纳洛酮对抗作用不明确。因此其真正的规律性当待阐明。

(四) 几种新的内啡素

1. Metorphamide 1983 年美国的 E Weber 等和日本的 H Watsuo 等分别发现了这一新肽，甲硫脑啡肽-精⁶-精⁷-缬⁸-NH₂，被分别命名为 metorphamide 或 adrenorphin，这是从哺乳类中枢神经系统 (CNS) 中发现的第一个 C 末端酰胺化的阿片肽。对 mu 受体有高亲和力，很可能是内源性的 mu 激动物。在 CNS 中的分布很广泛，以嗅球中含量最高，也存在于肾上腺嗜铬细胞中。许绍芬等研究了它的药理作用，包括镇痛 (μ_1)、抑制呼吸 (μ_2)、减慢心率 (μ_2) 等。

2. Amidorphin A Herz 实验室 BR Seizinger 等从牛肾上腺中分离出另一个 C 端酰胺化的阿片肽，为 F 化合物的前 26 个氨基酸残基，其 C 末端甘氨酸转变为酰胺基。此肽在肾上腺内含量极高，也存在于脑和垂体中。

3. Synenkephalin (SE) 在脑啡肽前体的 N 端有 70 个氨基酸组成的肽链，被称为 SE。它本身不是阿片肽，而是在前体加工过程中形成的一个产物。一旦形成后即不再继续被酶解，因此可作为脑啡肽释放的一个指示物。血液和脑脊液中每检得一分子 SE，即表明有一个分子的前脑啡肽原已被加工，或可能有四个分子的脑啡肽已被释出。

4. Melorphin A Goldstein 报告，应用两种不同的吗啡抗体作放射免疫测定，从牛脑和垂体中检出了吗啡样活性。这种物质不被肽酶所水解，也不被酸和碱所破坏，看来不属于肽类。高压液相层析分出 A、B 两个峰，B 峰与 mu 受体的亲和力为吗啡的 9.6 倍，有可能是一种内源性 mu 受体激动物。在脑内的分布以延桥脑最高，下丘脑其次，其它部位较少。作者认为这可能是一种非肽类的内啡素，详情正在作进一步研究。我们曾多次建议以“内啡素”作为内源性吗啡样物质的总称，这一概念“包括阿片肽以及可能存在的非肽类吗啡样物质”。Goldstein 的最新报道更令人感到应用这一广阔概念的必要性。

(五) 阿片受体的分离纯化

1. 常规的亲和层析法 纽约大学、爱因斯坦医学院和加州(旧金山)大学等实验室继续从事阿片受体的分离纯化工作。所用的方法大体相同,只是溶脱受体时所用的清洁剂(如 Triton X-100 或洋地黄皂甙)、亲和层析时所用的阿片受体配基(如 6-琥珀酰吗啡衍生物或用一种新合成的 μ 受体激动剂 hybromet 等)以及洗脱条件(如纳洛酮以及高浓度的 NaCl 等)有所不同。Maneckjee 等和 Cho 等提纯的 μ 受体,分子量在 10 万左右,Itzhak 等从豚鼠的小脑(只含 Kappa 受体)提取的 Kappa 受体分子量在 40 万左右,都保留着与相应配基的结合能力。伦敦大学的 Demoion-Mason 等指出,在有 Mg^{2+} 的条件下溶脱的受体易聚合成超大分子,后者易与阿片肽结合,而在无 Mg^{2+} 有 Na^+ 的条件下,受体解聚成小片,易与阿片生物碱相结合。这说明在不同的实验条件下,同一种受体也可以表现出不同的结果。

2. 抗原抗体结合法提纯阿片受体 Bidlack 等用部分提纯的阿片受体制成单克隆抗体,再用这一抗体来提纯受体蛋白。Schulz 等首先制备出能识别所有已知阿片肽(包括亮啡肽)的单克隆抗体(3-E 7)。再用此抗体作为抗原,制备出“抗抗体”(anti-idiotypic antibody)。后者与阿片肽结构有相似之处,因此可用以提纯阿片受体。这两种方法都还处于初创时期,未臻成熟。此外,抗原抗体结合反应是否会比受体与配基的结合具有更高的亲和力和特异性,也尚待证明。

(六) 阿片受体分布规律及其拮抗剂的研究

1. 阿片受体的中枢分布规律 C Gouärderes 等几组学者根据放射自显影及放射受体分析等技术测得大鼠阿片受体的中枢分布,似有下列规律,即从脑到脊髓的颈、胸、腰骶段, κ 受体逐渐增多,而 μ 和 δ 受体逐渐减少。上述阿片受体的分布规律对于理解各种阿片肽的中枢镇痛机理可能有所帮助。

Chavkins 等的资料表明, CNS 中阿片肽与阿片受体的分布不一定完全匹配。例如海马 CA 1 区有很多强啡肽,却缺乏 κ 受体,那里的强啡肽是作用于 μ 受体而发挥作用的。

2. 几种新的阿片受体特异性拮抗剂

(1) μ 受体 β -FNA 被认为是 μ 受体的不可逆拮抗剂。豚鼠回肠标本经与 β -FNA 温孵后冲洗一小时,吗啡的 IC_{50} 上升 10 倍,而 κ 受体激动剂 U 50,488 的 IC_{50} 不变,说明了这一点。但新近的受体结合试验表明, β -FNA 对 μ 受体结合力的抑制是部分地可逆的。

(2) δ 受体 ICI 174,864 被认为是 δ 受体的特异性拮抗剂。在小鼠输精管标本上,能使 δ 激动剂 DPDPE 的剂效曲线平行右移,但不影响 μ 激动剂 DAGO 的作用。但 A Cowan 等发现,在扭体和甩尾等整体动物试验中,ICI 174,864 并不能显著地对抗 DPDPE 的作用。

美国国立卫生院的 Jacobson 等合成了新的 μ 拮抗剂 NIH 10235 和 δ 拮抗剂 NIH 10236,以及可同时阻断 μ 和 δ 受体的 NIH 10358。

(3) Kappa 受体 PS Portoghese 等提出一种新的 κ 拮抗剂 TENA。在豚鼠回肠标本上,它使 κ 激动剂 EKC 的 IC_{50} 提高 19.6 倍,吗啡的 IC_{50} 只提高 4.2 倍, δ 激动剂 DADLE 的作用不受明显影响。TENA 与目前已知的 κ 拮抗剂 Mr 2266 相比有更高的特异性。

必须指出,任何一种受体激动剂或拮抗剂其特异性或选择性都是相对的。例如 DPDPE 在大剂量下也可作用于豚鼠回肠上的 μ 受体。一种药物的药理作用是它作用于多种受体的

总结果。例如 buprenorphin 对 mu 受体起激动作用, 对 kappa 受体却起对抗作用。这种复杂情况如果单用放射受体分析法是很难加以区分的。

(七) 研究阿片肽更新率的尝试

测定肽类神经介质的更新率还没有成熟的方法, 一些作者正在从下列途径进行尝试, (1) 用生化方法或用组化方法 (cDNA 在位杂交法) 测定 mRNA 的含量变化。(2) 测定组织中某些阿片肽及其前体的相对比例。(3) 测定代谢酶的活性。(4) 测定释放出的肽的量, 包括其前体及代谢产物。

Akil 等用上述方法证明: (1) 急性应激时 β -内啡肽前体 (前阿黑皮素, POMC) 的加工过程加速, 慢性应激时则 mRNA 的生成加速。(2) 电刺激大鼠脚底 30 分钟, β -内啡肽的生成加速, 含量增多, 与此同时皮质酮对 β -内啡肽系统的负反馈作用显著减弱。(3) 慢性应激时垂体前叶和中间叶 POMC 增多, 氟哌啶只使中间叶 POMC 增生, 盐负荷则主要影响视上核巨细胞强啡肽系统。这方面的研究技术正在飞跃发展中, 预期将有较大的进展。

本次会议的论文将在 Neuropeptide 杂志上分期发表。1985 年的 INRC 将在美国波士顿附近的 Cape Cod 举行。