

分 移植前对其中的一小部分造血细胞扩增,这样将大大提高造血祖细胞数,增强短期重建造血功能,未扩增部分的UCB又充分保证了干细胞的长期造血功能。Kogler提到他在一例患细菌感染的急性白血病患者身上实施了该方案,移植效果非常好。UCB具有高于骨髓及成人外周血的HSC成分,以及资源丰富、免疫排斥反应弱等特点<sup>[10]</sup>。目前,全世界已有500多例UCB干细胞移植成功的病例。随着采集、分离、体外扩增等技术的进步,相信UCB在临床的应用上将有更加广阔的前景。

【参考文献】

[1] Appelbaum FR. Allogenic hematopoietic stem cell transplantation for acute leukemia[J]. *Semi Oncol*, 1997, 24: 114-1231.

[2] Gluckman E, Broxmeyer HE, Auerbach AD, et al. Hematopoietic reconstitution in a patient with Fanconi's anemia by means of umbilical cord blood from an HLA-identical sibling[J]. *N Engl J Med*, 1989, 321: 1174-1178.

[3] 陆华中. 脐血干细胞移植的应用与研究进展[J]. *国外医学-儿科学分册*, 1998, 25(4): 175-178.

[4] 黄慧. 外周血造血干细胞移植的研究进展[J]. *广州医药*, 2001, 32(2): 1-2.

[5] Kiss J E, Rybka W B, Winkelstein A et al. Relationship of

CD34+ cell dose to early and late hematopoiesis following autologous peripheral blood stem cell transplantation[J]. *Bone Marrow Transplant*, 1997, 19(4): 303.

[6] Kurtzberg J, Graham TW, Casei J, et al. The use of umbilical Cord blood in mismatched related and unrelated hematopoietic stem cell transplantation[J]. *Blood Cells*, 1994, 20: 275-284.

[7] 黄绍良. 儿童脐血造血干细胞移植的进展与对策[J]. *中华儿科杂志*, 2001, 39(10): 577-578.

[8] Kurtzberg J, Laughlin M, Graham ML, et al. Placental blood as a source of hematopoietic stem cells for transplantation into unrelated recipients[J]. *N Engl J Med*, 1996, 335: 157-166.

[9] Xu R, Reems JA. Unibilical cord blood progeny cells that retain CD34+ phenotype after ex vivo expansion have less engraftment potential than unexpanded CD34+ cells[J]. *Transfusion*, 2001, 41: 213-218.

[10] Will AM. Umbilical cord blood transplantation[J]. *Arch Dis Child*, 1999, 80(1): 3-6.

(收稿日期 2005-07-17)

## μ 阿片受体的研究进展

崔凤侠 王利江 王宏伟 高大昕  
(承德医学院, 河北 承德 067000)

【关键词】μ 阿片受体 亚型 结构和功能 镇痛机制

【中图分类号】R392.11 【文献标识码】A 【文章编号】1004-6879(2005)04-0346-03

临床上常用的吗啡等阿片类镇痛药具有严重的耐受性和成瘾性,深入研究阿片受体的结构特征和作用机制,对于开发新型的镇痛药物具有重要意义。人类对阿片受体的研究已有20多年的历史。1992年以来,已成功克隆出μ、δ、κ三种阿片受体,本文就μ阿片受体的结构、功能及其镇痛机制做一综述。

### 1 μ阿片受体的基因克隆

Chen等<sup>[1]</sup>首先从大鼠脑cDNA文库克隆了μ阿片受体,该受体由398个氨基酸残基组成。人的μ阿片受体也已成功克隆,含有400个氨基酸残基,与大鼠的μ受体有95%的同源性。杂交研究显示,人的μ受体DNA位于6号染色体的q<sup>24-25</sup>和3号染色体的q<sup>2d.2</sup>。在μ受体中有5个潜在的N-糖基化位点(而δ和κ受体中只有2个)这意味着μ受体具有不同于δ和κ受体的表观分子量,并且在糖基化过程中具有组织特异性。在中脑和纹状体中观察到高水平的μ受体mRNA的表达,而脑皮层则表达量很低。原位杂交也显示μ受体mRNA呈非均一分布,在基底神经节中的高水平表达暗示了该受体在运动控制中的作用。在丘脑中观察到了高水平的μ受体mRNA,这很可能是μ型受体激动剂调节脑中疼痛传导的分子结构基础。

通过RNase保护分析也发现,μ受体mRNA在许多脑区如丘脑、脑皮质和纹状体中明显存在。COS-7细胞中表达的μ受体与μ型选择性配体的亲和力很高,而与δ和κ型选择性配体的亲和力较低。克隆的μ受体介导毛喉毒素刺激的cAMP形成抑制,揭示其与腺苷酸环化酶偶联。RNA印记显示大鼠脑中μ受体mRNA的长度大于10kb<sup>[2]</sup>。

### 2 μ阿片受体亚型

Pasternak等用<sup>3</sup>H标记放射性配基进行受体结合研究实验,发现纳洛酮能抑制放射性配基结合于μ<sub>1</sub>受体结合位点。体内研究表明,其能够选择性拮抗吗啡诱导的镇痛反应,不能对抗呼吸抑制和躯体依赖作用,因此提出μ受体可能存在μ<sub>1</sub>和μ<sub>2</sub>两种亚型。μ受体选择性肽DAMGQ(d-Ala<sup>2</sup>, N-Me-Phe<sup>4</sup>, Gly-oI<sup>5</sup>-enkephalin)与MOR(μ opioid receptor)缺陷小鼠膜提取物不产生结合反应<sup>[3]</sup>,但与μ<sub>1</sub>、μ<sub>2</sub>受体亲和力都很高,提示μ<sub>1</sub>、μ<sub>2</sub>均由MOR编码<sup>[4]</sup>。最近研究发现一些新型的μ受体。在吗啡6位有取代基的吗啡类似物,如6-β-葡萄糖醛酸化吗啡、海洛因、6-乙酰吗啡等,都是新型μ阿片受体的激动剂,但吗啡本身却不能和这些新型的μ受体发挥作用。将6-β-葡萄糖醛酸

化吗啡、海洛因用于  $\mu$  受体基因敲除的小鼠,仍可产生抗伤害性反应,但吗啡却无效。说明 6- $\beta$ -葡萄糖醛酸化吗啡、海洛因是通过选择表达  $\mu$  受体基因产物发挥抗伤害作用的。此外, RT-PCR 技术也探测到,在  $\mu$  受体基因敲除的小鼠中,仍有外显子 2 和外显子 3 的表达产物。这些都证实了新型  $\mu$  受体的存在。

### 3 $\mu$ 阿片受体的结构特点和功能

**3.1  $\mu$  阿片受体与配体特异性结合的区域** 配体 DAMGO 或 PL017 对  $\mu$  受体具有高亲和力,PL017 是对  $\mu$  受体具有专一性的激动剂,而 CTOP 是对  $\mu$  受体具有专一性的拮抗剂。将  $\mu$  受体的 TM1-5 导入  $\delta$  受体,形成  $\mu_{15}\delta$  嵌合体,DAMGO 和脱氢吗啡对这个嵌合体的亲和力与  $\mu$  受体相似,而 PL017 的亲和力下降。提示虽然 PL017 是  $\mu$  受体激动剂,但其受体结合部位与其他的激动剂不同。研究显示,第一个细胞外环(EL-1)是识别 DAMGO 的必需部位<sup>[5]</sup>,而  $\mu/\kappa$  嵌合体研究显示,第三个细胞外环(EL-3)是 DAMGO 结合所必需的<sup>[6]</sup>。利用  $\mu/\delta$  嵌合体对  $\mu$  受体不同激动剂的亲和力研究显示,TM 内氨基酸的空间取向会影响选择性配基的亲和性,而非选择性配基如挨托啡  $\delta$  受体序列代替  $\mu$  受体相应序列或反向构成嵌合体,则不影响亲和性<sup>[7]</sup>。同样的嵌合体实验还可以揭示,拮抗剂和选择性激动剂在  $\mu$  受体内的结合位点都不相同。这一点,在受体磷酸化方面的研究也进一步得到证实。

**3.2  $\mu$  阿片受体调节 G 蛋白的功能** 运用神经肿瘤细胞 SH-SY5Y 进行研究提示, $\mu$  阿片受体抑制酰基环化酶通过 Go 蛋白,但从 CHO 细胞中稳定表达的  $\mu$  阿片受体激活多个 Gi/Go 的能力与阿片受体的密度无关。GPCRs 的分子动态模型提示,激动剂结合导致 TM 区的运动。突变模型的分析提示, TM6 和 TM7 的分子运动是转导激动剂信号到羧基尾端的 IL-3 或近跨膜部分的关键,这两个功能区对于激活 G 蛋白起决定作用<sup>[8]</sup>。阿片受体拮抗剂和激动剂是竞争结合受体的,但前者由于空间阻遏不能诱导受体的构型变化。伴随受体嵌合体的全序列测定,运用 Taq 酶产生受体片段引入 TM4 的一个点突变显示,拮抗剂结合到这些突变体上产生激动剂才出现的构型变化。这个点突变是将 TM4 上的 Ser 突变为 Leu, Ser 是形成氢键能力较强的氨基酸,而 Leu 在这方面的活性最小。拮抗剂阻断 G 蛋白的激活的主要束缚力就是氢键。所以,在 TM4 上, Ser 转变为 Leu,解除了由拮抗剂阻断 G 蛋白的激活的束缚。同样原因,在 TM2 中保守的 Asp 和 TM7 中的 Asn 形成离子键,这时如果将 TM2 中的 Asp 转变为 Asn,则可以完全去除激动剂调节 G 蛋白的能力。此作用可被 TM7 中 Asn 转变为 Asp 的突变所逆转。

### 4 $\mu$ 阿片受体的镇痛机制

吗啡是分离出来的第一个阿片类药物,在体外优先选择  $\mu$  受体,在体内  $\mu$  受体也是吗啡作用的主要靶受体,介导镇痛等多种生理作用。用高选择性的  $\mu$  受体激动剂 [<sup>3</sup>H]-DAGQ [Tyr-D-Gly-MepheNH(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>OH] 进行放射配体测定,观察大鼠吗啡成瘾后  $\mu$  受体数量的变化,同时用 RT-PCR 方法观察  $\mu$  受体的基

因表达情况,揭示成瘾大鼠的下丘脑、额叶皮质、海马和纹状体内的  $\mu$  受体表现了不同程度的下调, $\mu$  受体的基因表达也有不同程度的下降<sup>[9]</sup>。阿片受体的下调主要有两种机制,即受体的表达下降和受体的内容<sup>[10]</sup>。受体的下调可能是机体对长期应用吗啡的一种适应性调节,但这种下调将导致内源性阿片肽系统的功能发生紊乱。所以,在停用吗啡或应用拮抗剂以后,大鼠表现出一系列的戒断症状。而受体的下调与基因表达的下降有关。

$\mu$  阿片受体与其它的 GPCRs 相似,受激动剂长期作用后会减少。最新研究模型发现,  $\beta$ -arrestin 与磷酸化受体结合,与 G 蛋白竞争接触位点,进而终止受体功能。另有报道,激动剂诱导阿片受体磷酸化与激动剂诱导的受体脱敏有关<sup>[11]</sup>, DAMGO 诱导的受体脱敏是由于  $\mu$  阿片受体部位磷酸化引起的。由突变受体的研究资料也得出相同的结论。对于 GPCRs,内涵体里的受体是磷酸化的、敏感的、再生的,提示  $\mu$  阿片受体脱敏时间延迟可能与受体再生有关。

通过对孪生、家族和继承性研究提示:药物滥用的敏感性可能与遗传因素有关。编码 hMOR 的基因是研究这个问题的一个很好的候选基因。hMOR 基因的等位基因的变化,对阿片介导的镇痛潜力和强度方面,以及在慢性治疗时的耐受方面的影响更加显著<sup>[12]</sup>。

### 【参考文献】

- [1] Chen Y, Mestek A, Liu J, et al. Molecular cloning and functional expression of a  $\mu$ -opioid receptor from rat brain[J]. Mol Pharmacol, 1993, 44: 8.
- [2] 刘威,段海清.阿片受体的研究进展[J].生物技术通讯, 2003, 14(3): 231-234.
- [3] Loh HH, Liu H, Cavalli A, et al.  $\mu$ -opioid receptor knockout in mice: effects on ligand-induced analgesia and morphine lethality[J]. Mol Brain Res, 1998, 54: 321-326.
- [4] 孟爱民,刘景生.阿片受体功能研究进展[J].中国神经免疫学和神经病学杂志, 2002, 9(3): 180-182.
- [5] Minami M, Pnogi T, Nakagawa T, et al. DAMGO a  $\mu$ -opioid receptor selective ligand distinguishes between  $\mu$ - and  $\kappa$ -opioid receptors at the different region from that for the distinction between  $\mu$ - and  $\kappa$ -opioid receptor[J]. FEBS Lett, 1995, 364: 23-27.
- [6] Xue JC, Chen C, Zhu J, et al. The third extracellular loop of the mu opioid receptor is important for agonist selectivity [J]. J Biol Chem, 1995, 270: 12977-12979.
- [7] Law PY, Lob HH. Regulation of opioid receptor activity[J]. J Pharm Exper Ther, 1999, 289(2): 607-624.
- [8] 郭庆民,孟爱民,刘景生.  $\mu$  阿片受体功能调节[J].中国药理学通报, 2000, 16(6): 601-605.
- [9] 孙雪峰,王新华,傅强,等.吗啡成瘾大鼠四个脑区  $\mu$  阿片受体的变化[J].第二军医大学学报, 2002, 23(2): 150-152.
- [10] 纪家涛,王新华,由振东,等.吗啡成瘾大鼠模型的建立

[J].第二军医大学学报,1997;18(1):

regulatory and intronic sequences[J].J Mol Med,1998,76:525-532.

[11] Yu Y,Zhang L,Yin X et al. Mu opioid receptor phosphorylation, desensitization, and ligand efficacy[J]. J Biol Chem, 1997, 272: 28869-28874.

(收稿日期 2005-07-11)

[12] Birgit W, Margret RH. The human  $\mu$ opioid receptor gene 5'

## 痤疮与雄激素关系的研究进展

于中蛟(陆洁段昕所 审校)

(承德医学院附属医院,河北承德 067000)

【关键词】痤疮;雄激素;发病机制

【中图分类号】R758.73 【文献标识码】A 【文章编号】1004-6879(2005)04-0348-03

痤疮是毛囊皮脂腺单位的慢性炎症性疾病,其发病与多种因素有关。性激素分泌异常及皮脂腺功能亢进,毛囊皮脂腺导管角化异常,毛囊内微生物、炎症及免疫反应等均参与痤疮的发病过程。从二十世纪四十年代初 Hamilton 第一次提出“男性激素样物质”参与了痤疮的发病以来,雄激素与痤疮的关系一直受到众多学者的关注,至今已有大量有关报道,但各家研究结果不一。本文就二者间关系的研究进展综述如下。

### 1 雄激素的来源及其代谢

雄激素主要有睾酮(testosterone, T)、二氢睾酮(dihydrotestosterone, DHT)、脱氢异雄酮(dehydroisoandrosterone, DHIA)和雄烯二酮(androstenedione, AD)。各种雄激素中,以二氢睾酮的生物活性最强,其次为睾酮,其余的雄激素生物活性都很弱。睾丸间质细胞分泌的雄激素主要为睾酮。在间质细胞的线粒体内,胆固醇经羟化、侧链裂解形成孕烯醇酮,再经17 $\beta$ -羟化并脱去侧链,形成脱氢表雄酮(dehydroepiandrosterone, DHEA)并进一步转变为睾酮。肾上腺皮质网状带分泌的性激素主要有脱氢表雄酮及硫酸脱氢异雄酮(dehydroepiandrosterone-sulfate, DHEAS)等雄激素,还分泌微量雌激素和孕激素。肾上腺皮质为女性雄激素的主要来源,尽管卵巢也分泌脱氢表雄酮、雄烯二酮及睾酮,但循环中雄激素主要来源于肾上腺。少量雄激素为正常女性的阴毛、腋毛、肌肉及全身发育所必需。此外,脱氢表雄酮及硫酸脱氢表雄酮在皮肤代谢中也产生睾酮。睾酮是主要的循环雄激素,睾酮在血液中以结合和游离两种状态存在。性激素结合球蛋白(sex hormone-binding globulin, SHBG)可结合80%~85%的睾酮,二者的结合具有高亲和力,结合的睾酮无生物活性。当性激素结合球蛋白浓度下降时,游离睾酮增多,其生物活性提高。而性激素结合球蛋白浓度增高时伴随睾酮结合状态的增加,使游离的有生物活性的睾酮浓度下降。雄激素能够使肝脏中产生的性激素结合球蛋白数量减少,雌激素则使之增多,因此,雌激素水平及活性的增高能间接降低有生物活性的睾酮浓度,降低雄激素作用。游离睾酮透过皮脂腺细胞膜进入皮脂腺细胞,在细胞内5 $\alpha$ -还原酶(5 $\alpha$ -reductase, 5 $\alpha$ -R)作用下,转化为二氢睾酮,二氢睾酮与具有高亲和力的特异性胞浆雄激素受体蛋白(androgen receptor protein, AR)结合,这种雄激素受体复合物移至细胞核内,激活DNA控制中心,导致调控因子的生物合成及释放,调节皮脂腺的增生和功能。

### 2 雄激素与痤疮发病的关系

雄激素在痤疮的发病中起重要作用,是通过刺激皮脂腺细胞增生分泌以及皮脂腺导管角化异常堵塞管腔而发生的。Iwata等<sup>[1]</sup>应用切除睾丸的山羊进行了皮脂腺与睾酮关系的研究,发现皮脂腺大小、分泌程度和皮脂腺导管上皮细胞角化程度与血清睾酮水平变化呈正相关。然而,痤疮患者体内雄激素水平增高是仅表现在靶器官、靶组织中,还是在血清中也有升高?痤疮发病与具体哪种雄激素关系最为密切等,均有不同的报道。

痤疮患者体内雄激素水平较非痤疮人群升高,这在很多研究中已经证实<sup>[2,3,4]</sup>。Steinberger E等<sup>[5]</sup>对139名痤疮妇女进行血清睾酮水平测定,结果90%的患者高于正常平均值,多数伴有不同程度的排卵功能减低。方栩等<sup>[6]</sup>用放免法检测了71例痤疮患者,结果发现男女痤疮患者的血清睾酮水平均显著高于正常对照组。

也有学者研究发现,血清中雄激素水平升高不明显,而痤疮患者皮肤组织中二氢睾酮较正常对照组明显增高,认为痤疮的发生不是因为血液循环雄激素过多,而是皮肤组织中雄激素的代谢紊乱所致<sup>[7]</sup>。Thiboutot等<sup>[8]</sup>发现,在痤疮易患部位的皮脂腺细胞中,非痤疮患者17 $\beta$ -羟化类固醇脱氢酶(17 $\beta$ -HSD)的氧化活性明显高于痤疮患者,面部皮脂腺细胞中的17 $\beta$ -羟化类固醇脱氢酶还原活性高于非面部皮脂腺细胞。Thiboutot等<sup>[9]</sup>还发现,面部皮脂腺内5 $\alpha$ -还原酶活性高于非痤疮好发部位的皮脂腺内5 $\alpha$ -还原酶活性。Aramatsu等<sup>[10]</sup>发现,睾酮抑制下肢的皮脂腺细胞增殖,而刺激面部皮脂腺细胞增殖,二氢睾酮能刺激上述两个部位皮脂腺细胞的增殖,但对面部皮脂腺细胞的作用更强。这种部位上的差异可解释为什么身体不同部位对痤疮具有不同的易感性。巫毅等<sup>[11]</sup>对35例年龄在13岁~35岁的男女痤疮患者研究发现,痤疮患者血中睾酮和雌二醇水平变化不显著,而男女痤疮患者损害区及无损害区皮肤组织中二氢睾酮的含量明显高于正常对照组。进一步说明了男女痤疮患者均有皮肤组织内睾酮向二氢睾酮转化的增多。

雄激素在痤疮患者皮损中如何具有高水平,是通过血流通达局部,还是局部组织自行产生?为了解决这一问题,Fritsch