

物清除不彻底,呕吐物中的 HP污染了周围物体,那么儿童的手指接触到后,就可造成感染。但此项假设缺乏细菌培养和 PCR检测的证据

利用 PCR技术在猪和猫中也分离检测出了 HP,这些动物同人类的关系密切,也可将 HP传染给人类。有人发现,苍蝇身上也携带着 HP<sup>[27]</sup>,虽然目前缺乏进一步的证明,但如果确是如此,那么这将是主要的传染源之一。

总之,HP的传染是比较复杂的,可能是多方面因素共同作用的结果,在研究这些问题时,PCR法是一项不可缺少的高效工具。

### 参 考 文 献

- 1 Talor KN. Epidemiol J Blaser Rev, 1991; 13: 42-59
- 2 Clayton CL et al. J Clin Microbiol, 1992; 30: 192-200
- 3 Van Zwet AA et al. J Clin Microbiol, 1993; 31: 1918-1920
- 4 Foxall PA et al. J Clin Microbiol, 1992; 30: 739-741
- 5 Hammar M et al. J Clin Microbiol, 1992; 30: 54-58
- 6 Nedenskov-Sorensen P et al. J Infect Dis, 1990; 161: 365-370
- 7 Schutze K et al. Gut, 1995; 36: 831-833
- 8 Clayton CL et al. J Clin Microbiol, 1993; 31: 1420-1425
- 9 Hurtado A et al. Res Microbiol, 1994; 145(8): 585-594
- 10 Marten H et al. J Clin Microbiol, 1992; 30(1):

- 54-58
- 11 Valentine JL et al. J Clin Microbiol, 1991; 29(4): 689-695
- 12 Kleanthous H et al. Ital J Gastrienterol, 1991; 23(suppl. 2): 32-34
- 13 Banatvala N et al. Microb Ecol Health Dis, 1994; 7: 1-8
- 14 Ferguson DA Jr et al. J Clin Microbiol, 1993; 31(10): 2802-2804
- 15 Musich PR et al. Clin Pathol, 1995; 48(7): 662-666
- 16 Genta RM et al. Hum Pathol, 1994; 25: 221-226
- 17 Bernander S et al. Eur J Clin Microbiol Infect Dis, 1993; 12: 282-285
- 18 Von Recklinghausen G et al. Int J Med Microbiol Virlo Parasitol Infect Dis, 1994; 281: 102-106
- 19 Kawamata O et al. Biochem Biophys Res Commun, 1996; 219(1): 266-272
- 20 Chuanfu LI et al. Digestive Dis Sci, 1990; 41(11): 2142-2149
- 21 Westblom TU et al. Clin Infect Dis, 1993; 16(3): 367-371
- 22 Westblom TU. Immunol Invest, 1997; 26: 163-174
- 23 Thomas JE et al. Lancet, 1992; 340: 1194-1195
- 24 Kelly SM et al. Gastroenterology, 1994; 107: 1671-1674
- 25 Robert R et al. J Clin Microbiol, 1994; 32(4): 1123-1126
- 26 Axon ATR. Aliment Pharmacol Ther, 1995; 9: 585-588
- 27 Grubel P et al. J Clin Microbiol, 1997; 35(6): 1300-1303

(收稿日期: 1998-06-19)

## 血管活性肠肽受体研究现状

华西医科大学附一院核医学科(成都, 610041) 史育红 谭天秩

**摘 要:** 血管活性肠肽(VIP)是由 28个氨基酸组成的多肽,结构上属胰泌素-胰高血糖素多肽家族。血管活性肠肽受体广泛分布于人和动物的多种组织器官上。现代分子生物学方法证明,该类受体有两种亚型,即 VIP1和 VIP2型受体。通过对其分布、结构与功能、染色体定位及受体激动剂和拮抗剂的研究,将有助于阐明其与某些疾病的关系,并建立一种对疾病尤其是恶性肿瘤具有诊断和治疗价值的新技术。

**关键词:** 血管活性肠肽 血管活性肠肽受体

血管活性肠肽是一种由 28 个氨基酸组成的肽类物质,1902年由 Said 首次从猪小肠分离纯化,因其明显的扩血管作用而命名为血管活性肠肽(VIP)。后来发现,其在循环、免疫、生殖、消化系统以及中枢、外周神经系统中都有广泛分布,所以被认为是脑肠肽的一种。VIP由 170 个氨基酸的前激素原剪切而来,它与 PHI、PACAR、GHRH 及促胰液素的结构相似,属于胰泌素、胰高血糖素家族。近年来越来越多的研究显示,VIP 在正常及肿瘤细胞的增殖分化中起重要的调控作用,已有学者将其归为生长因子一类。

## 1 VIP受体的分布及生理功能

VIP通过其受体发挥生理功能。VIP受体广泛分布于人和动物的多种组织器官上。根据受体的分布及受体与配体亲和力的差异,将其分为两大类:VIP1受体和VIP2受体。VIP1受体主要分布于外周组织如肺、小肠、肝、脾、胰腺、主动脉,在中枢神经系统中主要分布于中脑,而在其它脑区中分布极少。VIP2受体的分布较VIP1受体更为广泛,几乎在所有的组织中都有分布,如小肠、脾、胰岛、肾、睾丸、卵巢等,但在肝脏和主动脉中没有VIP2受体的表达。中枢神经系统中广泛存在VIP2受体,如海马、垂体、松果体、脑干<sup>[1]</sup>,因此有人认为VIP2受体应被称为神经内分泌VIP受体。

VIP1受体与VIP2受体的药理学性质也有差异。尽管两者都可被VIP、PHI、PACAP38和PACAP27激活,但激活VIP2受体所需的配体浓度明显高于VIP1受体。通过促胰液素可以更好地对两者进行分类,因为VIP2受体对促胰液素的亲和力极低,而VIP1受体则反之。另外,还可通过受体对拮抗剂亲和力的差异来帮助分型。VIP及其受体分布的广泛性,因此其介导的生物学活性也多种多样,包括:(1)扩张血管,降低血压;(2)松弛非血管平滑肌;(3)刺激肠液分泌

并抑制其吸收作用;(4)刺激胰分泌水、碳酸氢盐及胆汁;(5)抑制胃酸分泌;(6)升高血钙;(7)刺激糖原及脂肪分解,使血糖及脂肪酸升高;(8)刺激生长激素、黄体生成素、胰高血糖素和生长抑素释放;(9)刺激肥大细胞分泌组胺及血小板凝集素,促进T淋巴细胞的转化及增殖;(10)调节细胞增殖分化;(11)与摄食睡眠有关<sup>[2]</sup>。

## 2 VIP受体的结构和功能

### 2.1 VIP受体结构

VIP受体的整个分子包括三个部分:N-末端胞外域,含N-糖基化位点;跨膜域,含七个疏水的跨膜片段;C-末端胞浆域。以人类的VIP受体为例,人VIP1受体由457个氨基酸组成,分子量为52ku,四个可能的糖基化位点为Asn<sup>58</sup>、Asn<sup>59</sup>、Asn<sup>100</sup>、Asn<sup>290</sup>,可能的Ser/Thr磷酸化位点位于C-末端胞浆域及膜内环,在N-末端有八个半胱氨酸残基可能与受体和配体的结合有关<sup>[4]</sup>。人类VIP2受体由438个氨基酸组成,分子量为49.5ku,三个可能的糖基化位点为Asn<sup>58</sup>、Asn<sup>88</sup>、Asn<sup>92</sup>,可能的Ser/Thr磷酸化位点也位于C-末端胞浆域及膜内环<sup>[5]</sup>。VIP1和VIP2受体具有49%的同源性。

### 2.2 信号传递机制

VIP与其受体结合后,通过一系列信号传递途径发挥其生理作用。

#### 2.2.1 cAMP依赖的蛋白激酶途径

这是VIP通过其受体发挥生理作用的主要途径。VIP与受体结合后,首先激活腺苷酸环化酶(AC),催化ATP转化为cAMP,cAMP随之激活cAMP依赖性蛋白激酶A(PKA),PKA又可使胞内多种蛋白质磷酸化,产生生理效应<sup>[2]</sup>,尤其是在细胞的增殖分化中有重要作用。

#### 2.2.2 肌醇磷脂途径

VIP与受体结合后,首先与G-蛋白偶联并使之激活。在磷脂酶C(PLC)作用下,磷酸

肌醇二磷酸水解为肌醇三磷酸 (IP<sub>3</sub>)和乙酰甘油 (DAG)。IP<sub>3</sub>的增加引起胞内钙离子释放, DAG则可激活蛋白激酶 C (PKC)<sup>[1,6]</sup>。

PKC和钙离子-钙调蛋白依赖性的丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶及酪氨酸激酶的激活,使胞内相应的蛋白质磷酸化,最终产生生理效应。

### 2.2.3 鸟氨酸脱羧酶多胺途径

多胺是与正常及肿瘤组织的增生能力和多种细胞内反应途径均有重要关联的生物活性胺。VIP与其受体结合后,引起多胺合成限速酶 (ODC)的表达增强及活性增加,提高多胺合成,从而使 DNA合成增加,促进细胞的增殖。但另一方面,高浓度的VIP却可抑制ODC的活性<sup>[7]</sup>。

### 2.2.4 VIP的核受体

在人结肠腺癌细胞系 HT29细胞中已证实有VIP核受体的存在<sup>[8]</sup>。VIP与其核受体结合后,可能是通过 ras途径激活相应的蛋白激酶及转录因子而引起细胞内一系列磷酸化偶联反应。VIP抑制胃癌、结肠腺癌中癌基因 C-myc的表达即可能通过此途径,但目前尚无直接证据。

最近有学者报道, VIP还可通过依赖 cAMP 的丝裂原激活蛋白激酶 (MAPK)来发挥作用<sup>[9]</sup>。

### 2.3 重组受体

目前在受体结构研究中广泛采用了重组受体。在哺乳动物细胞中表达的VIP受体与天然细胞中的非常相似,因此它不仅为受体结构研究提供了丰富的来源,还有利于不同种属不同组织间受体 cDNA克隆的直接比较。例如,在中国仓鼠卵母细胞 (CHO)中稳定表达的重组人类VIP1受体,其  $K_a$  值为  $0.41 \text{ nm}$ ,  $B_{\text{max}}$  为  $1.62 \text{ pmol/mg}$ 。VIP与受体结合,促使 cAMP增加。采用免疫荧光技术还可观察到受体的内在化。这种CHO中表达的VIP1型受体为我们进一步研究人类VIP1型受体介导的生理功能及药理学特性提供了有效的手段。利用定点突变技术,在

COS-7细胞中表达了重组受体,发现人类VIP受体N末端胞外域高度保守的 Asp<sup>60</sup>、Trp<sup>73</sup>、Gly<sup>108</sup>对受体与VIP的结合至关重要。Hashimoto等人利用VIP受体和PACAP受体的嵌合体研究表明, VIP受体氨基末端胞外域跨膜域1与2及第一胞外环对于受体与VIP的高选择性结合至关重要,而第三胞外环和其附近的结构域对VIP识别受体具有重要意义<sup>[10]</sup>。利用人类重组VIP受体定点突变技术还发现, VIP1和VIP2受体N末端结构域的保守性谷氨酸对于VIP的结合至关重要。VIP2受体包含两个与VIP结合密切相关的保守氨基酸 Ile<sup>31</sup>和 Thr<sup>274</sup>,但VIP1受体中这两个氨基酸的突变缺失却对功能无影响。这一发现提示我们可以设计出一种区别受体亚型的选择性药物。

### 3 VIP受体的基因结构与染色体定位

目前对VIP1型受体的这方面研究较多,结果也较为明确。人类VIP1受体的基因全长大约为22kb,由13个外显子和12个内含子组成。13个外显子的长度由42bp到1479bp不等,其中外显子1、2、3、4编码N-末端胞外域,外显子5编码跨膜域1(TM1),外显子6编码跨膜域2(TM2),外显子7编码跨膜域3(TM3)及跨膜域4(TM4)的一部分,外显子8编码跨膜域4的另一部分,外显子9和10共同编码跨膜域5(TM5),外显子11编码跨膜域6(TM6)和跨膜域7(TM7)的一部分,外显子12编码TM7域的另一部分,外显子13编码其余部分。采用荧光原位杂交技术发现,人类VIP1受体基因定位于3号染色体短臂(3p22),而3p23-21区可能有一种肿瘤抑制基因。HVR1在肺组织中的高表达及其基因定位于与小细胞肺癌相关的区域,可能表明此受体与肿瘤的发生有一定关系<sup>[11]</sup>。

人类VIP2受体定位于7q36.3区,而大鼠的该受体定位于12号染色体F2区。

HV R2受体基因恰位于颅面缺陷性前脑无裂畸型 3(HPE3)位点存在的区域<sup>[12]</sup>。

尽管人们对VIP受体的起源及分子进化尚未完全研究清楚,但VIP及其受体广泛存在于哺乳动物体内已是公认的事实。由于VIP的一级结构在哺乳动物中相当保守而VIP受体具有种属及组织特异性,可知VIP受体的进化快于VIP。随着研究的深入,人们在鸡、鸽、牛蛙、鲑鱼和蜥蜴体内都发现了类似VIP受体2~6跨膜域的cDNA片段。最近,有学者从金鱼的脑cDNA库中获得了第一个非哺乳动物的全长VIP受体cDNA并在COS-7细胞中表达,它可以与VIP和PACAP特异性结合。这一发现有助于我们研究VIP及VIP受体在脊椎动物中的分子进化历程并探索它们的起源。

#### 4 VIP受体与临床

由于VIP受体在中枢和外周组织中分布的广泛性和其介导的生理功能的多样性,提示了它与某些疾病有一定相关,并进一步引出了它在临床诊断及治疗中的价值。有学者提出可能的应用前景包括:(1)治疗支气管哮喘;(2)增加局部血供,用于治疗阳痿、冠心病、高血压及左心室心衰;(3)用于早期鉴别诊断不同类型白血病及髓性白血病治疗后复发。但是研究最多、最为深入的是VIP受体在多种实体性肿瘤诊断与治疗方面的应用。大量的体外结合研究已表明,多种肿瘤组织细胞膜上具有高密度与高亲和力的VIP受体表达,包括胃肠道胰腺肿瘤、小细胞肺癌、脑膜瘤、多种病理类型的乳腺癌、神经母细胞瘤等高发性或高死亡率肿瘤。

1995年,Reubi等人对339例涉及17种肿瘤、病理类型多达23种的肿瘤患者组织切片进行了体外放射自显影,结果发现VIP受体在绝大多数的人体肿瘤中都有表达,并证实与SST受体相比,VIP受体更为常见<sup>[13]</sup>。这些结果都为VIP受体显像定位体内肿瘤

提供了依据。

1993年,Virgolin等人首次将<sup>123</sup>I-VIP受体显像应用于临床,证明该方法在定位胃肠道肿瘤方面明显优于已成熟的SST受体显像。这为胃肠道VIP受体阳性肿瘤的诊断提供了一种全新而有效的方法。最近,Virgolin等人又利用<sup>123</sup>I-VIP受体显像对169例病人进行了研究,结果如表1<sup>[14]</sup>。

表1 肿瘤的<sup>123</sup>I-VIP受体显像结果

肿瘤	阳性数	受检总数	检出率(%)
<b>胰腺腺瘤</b>			
原发或复发灶	16/18		89
肝转移	15/16		94
<b>结直肠腺瘤</b>			
原发或复发灶	11/12		92
肝转移	21/25		84
肺转移	3/6		50
淋巴结转移	4/5		80
<b>胃腺癌</b>			
原发或复发灶	10/10		100
肝转移	3/4		75
淋巴结转移	2/2		100
肠道类癌(原发)	15/17		88
胰岛素瘤(原发)	8/10		80

表1结果进一步证实VIP受体显像定位原发或复发胃肠道胰腺肿瘤、内分泌瘤及其肝转移灶具有十分广阔的应用前景。

研究证明,VIP通过VIP受体可调节肿瘤细胞的生长,这一点提示我们可以利用VIP受体的拮抗剂来抑制肿瘤细胞的生长,从而达到治疗肿瘤的目的。如采用VIP受体的拮抗剂VIP hybrid可明显抑制乳腺癌细胞的增殖,拮抗VIP引起的c-fos与c-myc的表达<sup>[15]</sup>。在非小细胞肺癌细胞系NCI-H1299中,另一种VIP受体拮抗剂(SN)VIP hybrid可明显拮抗VIP引起的cAMP增加,从而抑制非小细胞肺癌增殖<sup>[16]</sup>。因此,对VIP受体拮抗剂的深入研究可能为乳腺癌

非小细胞肺癌等肿瘤的治疗提供一种新手段。

分子生物学技术的发展加速了对 VIP 及其受体的研究进程,特别是重组受体技术的应用,为我们研究受体的结构提供了丰富的受体源,而对 VIP受体空间结构研究的深入,将有助于揭示一些与 VIP有关疾病的发病机制,为我们设计 VIP受体的激动剂和拮抗剂奠定基础。

### 参 考 文 献

- 1 Usdin TB et al. Endocrinology, 1994; 135: 2662-2680
- 2 Sami S et al. Vasoactive Intestinal Peptide, 1982, Raven Press Books, Ltd.
- 3 Marc L et al. Ann NY Acad Sci, 1988; 527: 296-313
- 4 Sreedharan SP et al. Biochem Biophys Res Commun, 1993; 193(2): 546-553
- 5 Adamou JI et al. Biochem Biophys Res Commun, 1995; 209(2): 385-392
- 6 Sreedharan SP et al. Biochem Biophys Res Commun, 1994; 203(1): 141-148
- 7 Tu D et al. Endocrinology, 1992; 131(3): 1188-1194
- 8 Omary MB et al. Science, 1987; 238: 1578-1580
- 9 Villalba M et al. J Neurosci, 1997; 17(1): 88-90
- 10 Hashimoto B et al. Mol Pharmacol, 1997; 51(1): 128-135
- 11 Sunil P et al. Proc Natl Acad Sci USA, 1995; 92: 2939-2943
- 12 Mackay M et al. Genomics, 1996; 37(3): 345-353
- 13 Reubi JC et al. J Nucl Med, 1995; 36(10): 1846-1853
- 14 Virgolin I et al. Nucl Med Biol, 1996; 23(6): 685-692
- 15 Zia H et al. Cancer Res, 1996; 56(15): 3486-3489
- 16 Moody TW et al. Life Sci, 1997; 61(17): 1657-1666

(收稿日期: 1998-05-10)

## 多巴胺受体在免疫系统中的表达、意义及其相关的免疫调节作用

华西医科大学附一院核医学科(成都, 610041) 曹国祥综述 谭天秩审校

**摘 要:** 综述了近年来多巴胺受体在人外周血淋巴细胞和胸腺皮质中的表达及其意义,同时也引述了中枢神经系统多巴胺 D1样受体介导的免疫调节的有关实验结果,旨在为这方面的进一步研究提供理论依据。

**关键词:** 多巴胺受体 淋巴细胞 免疫调节

多巴胺是一种内源性神经递质,它通过多巴胺受体调控椎体外系的运动功能、精神活动、脑垂体激素的分泌和心血管功能;另外还参与中枢催吐、胃肠道功能、眼内压和视网膜信息传递的调控;最近的研究还发现,多巴胺通过多巴胺受体有可能参与机体的免疫调节<sup>[1]</sup>。本文综述近年来免疫系统中多巴胺受体的表达、意义及其相关免疫调节的研究

### 1 多巴胺受体分类、结构及功能简介

#### 1.1 多巴胺受体的分类

现有的研究<sup>[2]</sup>表明:多巴胺受体可粗分为多巴胺 D1样受体和多巴胺 D2样受体,其中多巴胺 D1样受体又可分为多巴胺 D1受体和多巴胺 D5受体两种亚型;多巴胺 D2样受体又可分为多巴胺 D2、D3和 D4受体三