

心血管活性多肽的分子内调控

Intramolecular Regulation of Cardiovascular Bioactive Peptides

汤 健 唐朝枢 陈光慧 周爱儒 王 宪 马大龙 韩启德 张肇康

(北京医科大学心血管研究所 北京 100083)

编者按 北京医科大学心血管研究所8位教授联名向本刊专门投递的《心血管活性多肽的分子内调控》一文,在国内外首次提出并阐述了“分子内调节功能”的学术新观点。这一新观点、新理论,是在当代医学科学、生命科学最新成果的基础上,又通过他们自己系列的严谨实验和探索,发现并提出的。如果他们的这一发现,在今后的研究和实验中进一步得到证实和发展,则可能是生命科学领域意义深远的又一重要发现。他们将此文投在《科技导报》这本综合性刊物上发表,是期望不仅在医学科学界,而且也在生命科学界和其它相关学界引起关注,并在国内把这一课题的研究引向深入,以求中国科学家最终在生命科学的这一重要领域上,作出我们应有的贡献。在此,我们一方面向读者推介此文,一方面也诚挚地感谢8位教授作者对本刊的支持。

随此篇之后,本期在“探索”栏内还刊出了另外三篇有关生命科学的文章。我国科坛杰出新秀贺福初研究员在《发展进化理论的新尝试》一文中,就进化理论作了有重要创见的新研究,提出了“发育相关进化”、“协同进化”、“协调进化”和“减速进化现象”的新学术论点,还提出了基因起源的分子偶联学说,这些都是作者在其本人及国内外同行实证性工作基础上,从分子水平上探讨进化理论的新努力、新进展,值得一读。

另一篇是张声闰、陈静两位主任医师《关于经络本质和机制的探讨》一文。此文不似前两文,不是在针对性实验基础上提出的新观点,而是从学科交叉的角度出发,结合现代分数维学科的成果,提出的关于经络存在和运行方式的一种新假说。这虽是一篇假说性探索文章,但作者所引证的,所交叉联系、联想的,仍不失其科学的严谨性。因此,此篇从分数维,到生命体的间隙维,到体液—间隙维构成的贯通全生命体调节系统,即经络系统的假说,对已列入我国“攀登”科学计划的经络研究来说,可能也具有某种潜在科学启示性的价值,希望能引起读者的兴趣。

最后一篇是姚孝明的《细胞通讯机制假说》。此文也是一篇分析、推演亦颇为严谨的探索文章,读后能感到某种科学启示价值。

作为第一批读者,我们隐约感到,似乎这4篇文章之间也有某种科学的“相关性”、“协同性”,故借本刊“百期”之佳机,在《探索》栏下一并推出,以飨读者。

摘要: 本文以肾上腺髓质素为例,在国际国内最先提出:同一心血管活性多肽的前体分子或活性分子内部,存在阴阳调节的现象,称为分子内调节。这种分子内调节不仅表现在前体分子不同的多肽片段之间,亦表现在酶解片段对活性片段的“反馈”作用,表现在同一分子作用于不同类型受体所产生的相互拮抗效应。这种分子内调节在众多活性多肽中具有普遍性和重要的生理和病理生理意义。它是机体自稳态调节的一个重要组成部分,是机体内调节体系的深化和发展。

生物机体的自稳态是生物赖以生存的基本条件。生物体内存在着十分完备和精细的调控体系,包括经典的神经与体液调节,组织之间、细胞之间、分子之间的调节。近年来大量实验揭示,在同一多肽分子内部、不同的片段之间亦存在相互调节的现象,我们称为分子内调节(Intramolecular regulation)。这种分子内调节在心血管活性多肽的众多成员中可能具有普遍性和重要的生理与病理生理意义。本文以肾上腺髓质素(Adrenomedullin)为例,阐述分子内调控的现象。

一、肾上腺髓质素的分子结构

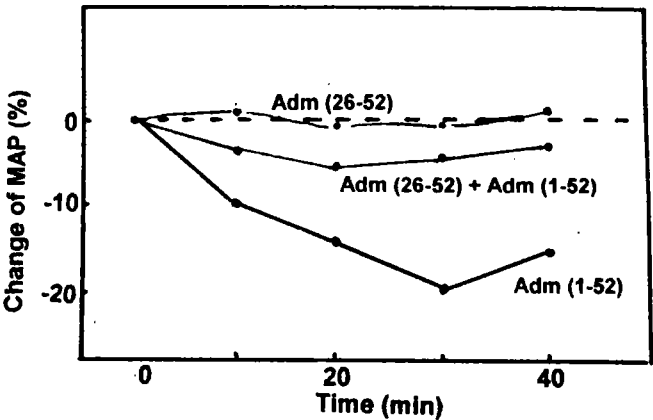
肾上腺髓质素是1993年(Kitamura)发现的一种心血管活性多肽,其前体分子由185个氨基酸组成,N端为21个氨基酸的信号肽。既往认为肾上腺髓质素的活性片段是其前体分子中自95至146位氨基酸组成的肽链,称为肾上腺髓质素(Adm1—52),其中16至21个氨基酸之间有两个二硫键,形成一个环状结构。Adm(1—52)具有强大的舒张血管、降低血压和抑制血管平滑肌细胞增殖的作用,它可作为循环激素和局部旁/自分泌物质参与机体血压的平衡调节^{[1]~[8]}。近年来的研究发现,在肾上腺髓质素前体分子中N末端的22—42位氨基酸肽链^[9],C末端的153至185位氨基酸肽链亦具有生物活性^[13]。即使在Adm(1—52)肽链之内,亦可分为不同的肽段,具有不同的生物活性。这些同一肾上腺髓质素前体分子内,不同肽段之间存在着相互调节的现象。(见封面图)

二、肾上腺髓质素活性分子 Adm(1—52)内的调节

人和猪Adm(1—52)由52个氨基酸组成。在人第40位氨基酸为Asn,在猪为Gly。大鼠Adm由50个氨基酸组成,它比人和猪少两个氨基酸,此外尚有6个氨基酸与人和猪Adm不同。但在16至21个氨基酸之间都有一个由6个氨基酸组成的环状结构。我们发现,若去除Adm(1—52)N端的12个或16个氨基酸的Adm—Adm(13—52)和Adm(16—52),仍可保持Adm(1—52)的基本生物活性;若去除N端的21个氨基酸以后,Adm(1—52)的基本活性便丧失^{[5],[26]},而且这些残留的C末端肽链—Adm(22—52),Adm(26—52)和Adm(34—52),不仅不具有Adm(1—52)的降压作用,它们还可以拮抗Adm(1—52)的舒张血管作用,可作为Adm(1—52)降压作用的内源性阻断剂(图1)。

Adm(1—52)N端的1—21和16—21肽段,包括两个二硫键之间的环状结构,它与Adm(1—52)

的功能完全不同,具有收缩血管和升高血压的作用。但若去除Adm(1—21)C端的6个氨基酸所组成的环状结构,所构成的单链多肽(Adm1—12),则可阻断Adm1—21、Adm16—21以及Adm前体(153—185)的降压作用。因此Adm1—12可视为Adm升压作用的内源性拮抗剂^{[10],[14]}。在Adm(1—52)分子中存在着分子内的调节现象,它既含有降压作用的肽段如Adm1—52、Adm13—52等,又含有升压作用的肽段如Adm1—22、Adm16—22;既含有降压作用阻断剂的肽段如Adm22—52、Adm26—52和Adm34—52,又含有升压作用阻断剂的肽段如Adm1—12等。因此在Adm(1—52)同一分子内,存在着降压和升压的阴阳调节机制。而且在阴(降压)中有阳(升压)的效应;在阳中又有阴的成分。



Adrenomedullin (26-52) Blocks The Depressing Effect of Adrenomedullin (1-52)

图1 肾上腺髓质素(26—52)阻断肾上腺髓质素(1—52)的降压作用

Adm	肾上腺髓质素
Change of MAP	血压变化%
Time(min)	时间(分)

三、肾上腺髓质素前体 ProAdm (1—185)分子内调节

在肾上腺髓质素前体分子的N和C末端还存在两个活性片段—ProAdm(22—42或N—20)和PreAdm(153—185),它们是肾上腺髓质素前体酶解后的两种活性成分。我们和其它一些实验室均发现,Adm(153—185)不仅可以对抗Adm(1—52)和ProAdm(22—42)的降压及抑增殖作用,而且自身还具有强大升压作用,故将这一片段称为肾上腺髓质升压素(Adrenotensin),它与Adm(1—52)在功能上相互对抗^[13]。(见封二图1)

肾上腺髓质素前体22—42(N—20)可以抑制交感神经,具有降低血压的作用。给麻醉大鼠静脉注射ProAdm22—42,可以明显降低外周血管阻力

和动脉血压,增加输出量和加强 Adm(1—52)的作用^[12](图2)。因此,有人称这一片段为 Prodepin。由此可见,在 Pro Adm 前体分子中,Pro Adm(95—146)即 Adm(1—52),是主要活性片段,发挥舒张血管和降低血压作用,而 Pro Adm 的 N 端多肽片段 ProAdm(22—42)可以加强 Adm(1—52)的作用,但 C 端多肽 ProAdm(153—185)则可以对抗 Adm(1—52)的效应。说明在肾上腺髓质素前体分子内亦存在阴阳调节的作用。

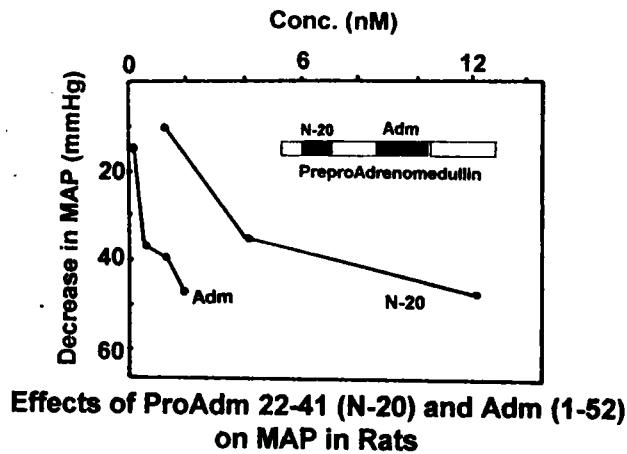


图2 前体降压素(N—20)与肾上腺髓质素(Adm)对大鼠血压的协同作用

Conc(um) 浓度
Decrease in MAP(mmHg) 平均动脉血压的降低(毫米汞柱)
Preproadrenomedullin 肾上腺髓质素前体原

四、肾上腺髓质素不同受体的相互拮抗作用

Adm(1—52)可能具有不同的受体。我们发现,Adm(1—52)作用在外周可以引起血管内皮衍化舒张因子(EDRF)的释放,产生强大的舒张血管和降低血压的作用;而作用于中枢受体,则可通过兴奋交感神经,促进儿茶酚胺的释放,产生收缩血管和升高血压的效应^{[5]~[7]}(图3)。这提示,同一种分子作用于不同部位的受体,可产生相互拮抗的生物学效应。这亦可看成是同一分子阴阳调节的另一种表现形式。

五、心血管活性多肽分子内调节的普遍性与多样性

心血管活性多肽分子内调控不仅存在于肾上腺髓质素,在其它许多活性多肽分子内亦存在着分子内调控的现象,具有普遍性。我们曾经报告降钙素基因相关肽(CGRP 1—37)具有强大的舒张血管和降低血压的作用,而它的一个片段(CGRP 8—37),则可阻断 CGRP 1—37 的降压作用;我们还曾

报告,纤维蛋白具有促进凝血的作用,而其降解的片段肽 6A,则可抑制纤维蛋白的促凝血的作用。

血管紧张素是一种经典的重要心血管活性多肽。血管紧张素 I 可以通过 ACE 形成血管紧张素 II,而具有强大的缩血管、升血压和促进血管平滑肌细胞增殖的作用;但是,近年来发现血管紧张素 I 和 II 亦可以通过内肽酶,形成血管紧张素(1—7),可以舒张血管,降低血压、拮抗血管紧张素 II 的作用。此外,血管紧张素 III(2—8)、IV(3—8)亦有舒张血管的效应。这些血管紧张素 1—7、2—8 和 3—8 都是血管紧张素 II 的不同肽段^{[15]~[18]}。

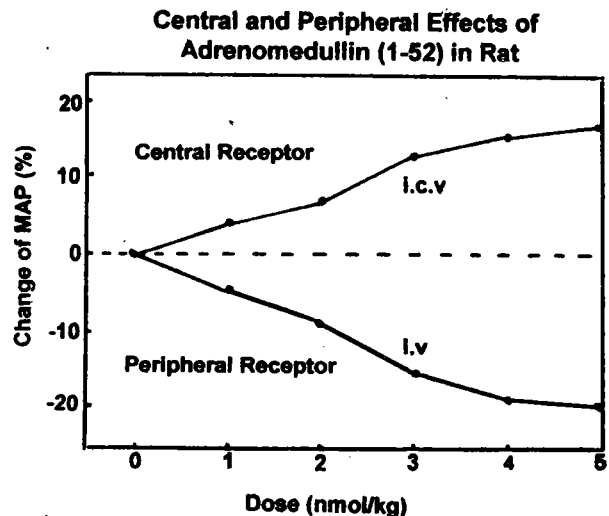


图3 肾上腺髓质素中枢与外周的拮抗作用

Change of MAP(%) 平均动脉血压的变化
Dose (nMol/kg) 剂量(毫微克分子/公斤体重)
Central Receptor 中枢受体
Peripheral Receptor 外周受体
i. c. v 侧脑室注射
i. v 静脉注射

γ 心钠素是 α 心钠素的前体分子,它由 126 个氨基酸组成,具有利钠利尿和舒张血管的作用,它亦可降解成不同的肽段,其中 99—126 氨基酸片段为 α 心钠素,是心钠素的主要活性形式;1—30 氨基酸片段可以延长心钠素的作用、抑制心钠素的降解,亦称为长效心钠素(Long active ANP);31—67 氨基酸肽段,具有舒张血管的作用,可以增强心钠素的利钾利尿活性,又称为利钾尿肽(Kaliuretic peptide);5—126 氨基酸肽段,具有更强的利尿作用,并可延长心钠素的半衰期,称为尿钠素(Urodilatin),此外,去除 α 心钠素 N 和 C 末端的单链多肽,只留下环状多肽(α ANP 7—23),它可增加细胞内游离 Ca^{2+} 的浓度,从而可以拮抗 α 心钠素的作用(19—22,27)。除了上述这些活性多肽以外,阿片肽的前体、神经肽酪氨酸等心血管活性多肽亦存在着分子内调控的现象。

心血管活性多肽分子内调控具有多样性的特征,它不仅表现在同一前体分子内不同片段之间的

相互作用如肾上腺髓质素等;亦表现为同一分子降解产物的反馈效应如肽 6A 对纤维蛋白的作用;还包括同一分子、同一肽链,作用于不同受体亚型所产生相互拮抗的作用。例如 α 心钠素作用于 A 型受体可引起利钠利尿的生物活性,作用于 C 型受体,可以促进心钠素的降解,对抗和减弱心钠素的作用^[20];又例如内皮素-1 可以作用于 A 型受体,引起血管的收缩,促进血管平滑肌细胞增殖,而作用于 B 型受体,则可以促进一氧化氮的生成,产生舒张血管、抑制血管平滑肌细胞增殖、对抗内皮素-1 的作用^{[23]~[25]}。又例如血管紧张素 II 作用于 I 型受体(AT1)产生缩血管作用,作用于 II 型受体(AT2),则引起血管舒张,对抗血管紧张素 II 的缩血管效应。这种同一分子,作用于不同受体,产生相互对立和拮抗的两种效应,亦是分子内调节的一种普遍现象,是同一分子自我调节、自我限制的一种重要的机制。

因此,心血管活性多肽分子内调节的形式是多样的,可以表现为同一分子不同肽片段的相互作用、酶解片段对底物的作用,以及不同受体相互作用等几种方式。

六、心血管活性多肽分子内调控的病理生理意义

肾上腺髓质素在高血压的发病过程中可能具有重要的病理生理作用。我们实验室曾经报告,自发性高血压的大鼠,肾脏和血管平滑肌细胞中肾上腺髓质素前体的 mRNA 表达明显低于正常血压的大鼠。在原发性高血压的患者血浆中肾上腺髓质素前体(153—185)浓度亦明显降低,提示肾上腺髓质素前体基因表达降低,可能是高血压发病的一个重要原因。但是我们和一些实验室亦发现,在原发性高血压时,Adm(1—52)不仅不降低,反而升高(见封二图 2)。这种矛盾的现象可能是肾上腺髓质素分子内调节的结果。最近我们发现,肾上腺髓质素前体(153—185)和 Adm(1—52)具有交互抑制的现象,Pro Adm(153—185)可以抑制血管内 Adm(1—52)的分泌;而 Adm(1—52)又可抑制血管内 ProAdm(153—185)的释放(见封二图 3)。高血压时 ProAdm 基因表达降低,ProAdm(153—185)合成和分泌减少,可以促进 Adm(1—52)的分泌,从而使血浆 Adm(1—52)水平升高,这可能是一种抗高血压的代偿反应。应用 ACE 1 治疗高血压时,不仅血管紧张素 II 生成减少,血管紧张素 I 升高,它还可以促进血管紧张素(1—7)的生成,对抗高血压。敲除内皮素的基因,血压不仅不降低,反而升高,这可能是因为敲除内皮素基因以后,内皮素生成减少,内皮素通过 A 型受体的升压作用消除了,通过 B 型受

体的降压作用亦消失了的缘故。由于心血管活性多肽前体分子含有不同的活性片段,同一分子内部又有相互调节的作用,因此,我们研究某一种心血管活性多肽在心血管病发病中的意义,不仅要观察某一种活性成分的变化,亦应该注重与这一活性成分相关的分子内调节机制和不同肽段的相对变化才更有意义。

心血管活性多肽分子内调控是机体自稳态调节的一个重要组成部分,是整体—组织—细胞—分子和基因—转录—翻译—翻译后表达系统调节的一个交汇点。分子内调节是机体内调节体系的深化和发展,具有重要的生理和病理意义。它不仅可以更深刻地揭示体内生理功能的调节规律,深入了解疾病的发病机理,同时亦可以帮助我们发现更多内源性活性成分,指导新药物设计,进行更有效的疾病防治。这种分子内调节的现象可能不仅存在于多肽和蛋白质分子内,在 mRNA 和非肽类的分子内,亦可能存在这一现象,如 mRNA 5' 端上游对基因表达的调控,3' 端对 mRNA 稳定性的调节等,又如儿茶酚胺代谢中所形成的多巴胺、肾上腺素和去甲肾上腺素的作用等。过去我们多注意分子与分子之间的调节,而对同一分子内部的调节却注意不够。我们愿意提出这一观点,供大家研究、参考和修正。虽然目前对分子内调节的规律、方式和机理的研究还不深入,认识亦很肤浅,但我们深信这一理论的揭示,将会有力地促进我们对人体调节系统和疾病发病机理的认识。

主要参考文献

- [1]赵东、汤键:肾上腺髓质素降压机制的探讨 生理学报 1995 47:218—224
- [2]Tian Q. Tang J. et al: Adrenomedullin is a potentially anti-Hypertensive peptide. Am. J. Hypertension 1994 7:135A—144A
- [3]Tian Q. Tang S. C. Tang J. et al: Vasodilator effect of Adrenomedullin on SHR. Can. J. Physiol 1995;73:1065—1069
- [4]宋良文、魏英杰、唐朝枢等:肾上腺髓质素降压素的作用及其组织分布 生理学报 1995 47:403
- [5]Wei Y. J. Tang J. et al: Effect of Adrenomedullin on Cardiovascular System and the correspondent mechanism. Chinese J. Hypertension 1995 4:11
- [6]Wei Y. J Tang J et al: The central distribution of Adrenomedullin and its effects. Chinese Med Sci J. 1996 11:1—7
- [7]Wei YJ. Tang J et al: Hemodynamic effects of Adrenomedullin in anesthetized rats. Biological Signals 1995 4:338
- [8]Katamurak. ETo. T et al: Cloning and characterization of cDNA encoding a precursor for human adrenomedullin. BBRC 1993. 194:720—725
- [9]Lippton H. Chang J. K. et al: Prodepin a new pro-

- duct of Adrenomedullin gene has systemic vasodilator activity. Life Sci 1994 54: PL409—PL412
- [10] Watanabe TX; Adrenomedulin. BBRC 1996 219: 59—63
- [11] Ichiki Y. Kitamura K. Kangana K. et al; Distribution and characterization of Immunoreactive Adrenomedullin in porcine Tissue and isolation of Adrenomedullin (26—52) and Adrenomedullin (34—52) from porcine Duodenum J. Biochem 1995 118:765—770
- [12] Shimosava T. ICO Y.; Proadrenomedullin NH₂—terminal 20 peptide inhibition NA overflow from nerve endings. J. Clin. Invest 1995 96: 1672—1676
- [13] Gumusel B. Chang J. K et al; Adrenotensin. Life Sci 1995 57:87—90
- [14] Eguchi S. Hirata Y et al; Structure—activity relationship of Adrenomedullin. Endocrinology 1994 135:2454—2458
- [15] Mahon. J. M. Carr RD et al; Angiotensin (1—7) is an antagonist of angiotensin II Receptor. J Hypertension 1994 12:1377—1381
- [16] Benter IF; Ferrario CM; Antihypertensive actions of Angiotensin (1—7). Am. J. Physiol 1995 269:H313—319
- [17] Dzan VJ; Molecular biology of Angiotensin receptor. J. Hypertension. 1994 12:51—54
- [18] Inagami T; Molecular biology of Angiotensin receptor. J. Hypertension. 1994 12:595—510
- [19] Gardner. D, G; Molecular biology of ANP. Trends cardiovasc Med 1994 4:159—164
- [20] Fuller. F. et al; ANP clearance receptor. J. B. C. 1988 263:9395—9397
- [21] 汤健、谢翠薇; 心钠素 北医大协和医大联合出版社 1989
- [22] Chiou. S Vesely DL. Kaliuretic peptide; the most potent inhibitory of Na⁺—K⁺ ATPase of the Atrial Natriuretic peptides. Endocrinology 1995. 136:2033—2037
- [23] 汤健、唐朝枢; 内皮素 北医大协和医大联合出版社 1994
- [24] Luscher TF et al; Molecular and cellular biology of Endothelin and its Receptors. J. Hypertension. 1993 11:121—1266
- [25] Iwasaki S et al; ET receptor subtype B mediates autoinduction of ET—1. JBC 1995 51:91—102
- [26] Hao QZ. Chang J. K et al; An Adrenomedullin fragment retains the systemic vasodilator activity of human ADM. Life Sci 1994 54:265—270
- [27] Vesely D. L Giordano A. T; Atrial Natriuretic Peptides and Cyclic Guanosine Monophosphate Metabolism Am J Med Sci 1995(4):143—149

(责任编辑 王宏章)

(上接第 61 页)

布局要因地制宜,向节水型工业倾斜。省下来的水,既可以扩大灌溉面积,又可用于支援城乡生产及群众生活用水。

6. 兴建下游蓄水工程

在黄河中游干流兴建一批综合利用的水利工程,是改变黄河断流造成的下游水资源紧缺的有效措施。目前黄河中游干流小浪底、万家寨水利工程正在建设之中,距工程建成投入使用仍需较长的时间。而在下游兴建平原水库或利用现有的防洪工程将非汛期入海的 100 多亿 m³ 水资源调蓄起来,则可以弥补黄河下游用水高峰期水量的不足。

下游山东境内的东平湖水库和南、北展宽区工程均为减轻黄河洪水灾害的分蓄洪区,共可蓄水 10—15 亿 m³,都可在不影响防洪的前提下改建为平原水库蓄水,使防洪和兴利结合起来,对缓解山东春季断流的水危机起很大的作用。其次,可以利用大小河道、坑塘和湖泊调蓄河水。地处黄河三角洲的东营市可利用地广人稀的优势大力兴建平原水库。

7. 跨流域调水防止黄河断流

根据沿黄各省区提出的 2000 年利用黄河水资源的规划,共计需要黄河供水 747 亿 m³,超出黄河

可供水量一倍以上,满足此方案需要两条黄河才能胜任,显然是目前黄河有限的水资源办不到的。

从长远考虑,南水北调工程早日付诸实现是解决黄河水资源供需矛盾的重大战略措施。南水北调西线、中线和东线三项调水工程分别从长江的上、中、下游向北调水,年平均调水量 700 亿 m³,基本上可解决西北、华北地区与黄河流域的水资源短缺问题。但是修建这些工程不仅要消耗大量人力、财力,而且还可能导致我国水系的紊乱,可能引起流域生态系统的变化。且南水北调工程总体完成,大约需要 50 年或更长一点的时间,因而这项对策只能视为一项长期战略。

黄河断流的原因客观上是由于水资源有限,但是黄河水资源的管理机制不完善,“多龙管水”,缺乏水资源有效的统一管理,缺乏水量的统一调配等人为因素则是造成黄河断流的最主要的原因。改变目前黄河断流的状况不仅需要水利部门的努力,而且需要社会各界的关注、配合与支持。黄河作为中华民族的象征,理应是源远流长的。

(责任编辑 蔡德诚)