



垂体腺苷酸环化酶激活多肽 (PACAP) 的研究概况

作者:岳双明 周安国 王之盛等 期号:2007年第11期

摘要 垂体腺苷酸环化酶激活多肽 (PACAP) 属于促胰液素胰高血糖素/VIP家族的新成员, 最初发现其对大鼠垂体细胞腺苷酸环化酶 (AC) 具有高激活作用。随着研究的深入, 发现其具有多种生物功能, 文中就其影响动物对营养物质的消化, 动物的繁殖性能, 动物的能量平衡和动物的免疫系统做简要概述。

关键词 PACAP; 动物; 营养物质消化; 繁殖; 能量平衡; 免疫系统

中图分类号 S811.3

Research advance of pituitary adenylate cyclase activating polypeptide

Yue Shuangming, Zhou An' guo, Wang Zhisheng, Liu Huifang

Abstract Pituitary adenylate cyclase activating polypeptide belongs to the secretin/glucagons/VIP family, it can stimulate cAMP formation in pituitary cells, it acts many kinds of biological functions, This article is about PACAP affects the digestion of nutrition, animals production and maintains animals energy balance and animal immune system and soon.

Key words PACAP; animals; nutrition digestion; reproduction; energy balance; immune system

垂体腺苷酸环化酶激活多肽 (Pituitary adenylate cyclase activating polypeptide, PACAP) 是Miyata等1989年在寻找新的下丘脑促性腺激素时从羊下丘脑中发现的一种具有广泛生物活性的多肽, 因其对大鼠垂体细胞腺苷酸环化酶 (AC) 的高激活作用而得名。随后的研究发现PACAP及其免疫样反应物在动物神经中枢和外周神经系统中广泛存在, 且具有多种重要的生物学功能, 包括可能参与对神经系统、消化系统、呼吸系统、心血管系统、生殖系统等的调节功能。本文就其在动物生产方面的应用做一综述。

1 PACAP的一级结构

到目前为止已经在各类动物中发现了PACAP的存在。PACAP有两种结构形式: PACAP38和PACAP27。Miyata等用脉冲式液相序列分析弄清了PACAP38的氨基酸序列, PACAP38由38个氨基酸残基组成, 由于其氨基端28个氨基酸残基中有68%与血管活性肠肽 (VIP) 同源, 所以PACAP被认为是促胰液素胰高血糖素/VIP家族的新成员。它与VIP一样, 是一种多效性肽。PACAP27具有PACAP38氨基端的27个氨基酸残基。PACAP38第28位氨基酸——甘氨酸跟随着两个碱性氨基酸, 此处可能是PACAP38裂解产生PACAP27的部位。组织中PACAP27的含量要比PACAP38少得多, 一般仅占PACAP总量的10%或更少, 不同组织中两者的比例不尽相同, 两者的氨基酸序列见图1。

PACAP38:

His-Ser-Asp-Gly-Ile-Phe-Thr-Asp-Ser-Tyr-Ser-Arg-Tyr-Arg-Lys-Gln-Met-Ala-Val-Lys-Lys-Tyr-Leu-Ala-Ala-Val-Leu-Gly-Lys-Arg-Try-Lys-Gln-Arg-Val-Lys-Asn-Lys-NH₂

PACAP27:

His-Ser-Asp-Gly-Ile-Phe-Thr-Asp-Ser-Tyr-Ser-Arg-Tyr-Arg-Lys-Gln-Met-Ala-Val-Lys-Lys-Tyr-Leu-Ala-Ala-Val-Leu-NH₂

图1 PACAP38和PACAP27的氨基酸序列

2 不同动物间PACAP基因的同源性

从不同种属动物PACAP基因的氨基酸序列分析来看, PACAP基因显示出了高度的保守性, 预示着不同种属动物的PACAP基因可能由一个共同的祖先进化而来, 在从原索动物向脊椎动物进化过程中PACAP的核酸和氨基酸序列在胰高血糖素/VIP家族中是最保守的, 在迄今研究的所有哺乳动物中PACAP38氨基酸序列完全一致。

被囊动物、鱼类、两栖类和鸟类PACAP38氨基酸序列与哺乳类PACAP38有95%以上的同源性。PACAP27在被囊动物神经腺中被发现, 这暗示PACAP可能也是原索动物的神经肽类激素。蛙和鸡的PACAP仅有一个氨基酸的变更 (Val36→Ile), 而cDNA中仅一个核苷酸不同, 从鲢鱼和不同种类的鲑鱼PACAP cDNA不难发现, 鱼类PACAP38与哺乳类PACAP38有很高的同源性, 仅在C端有3~4个氨基酸不同 (大约89%~92%的氨基酸序列相同), 而氨基端的27个氨基酸非常保守。

3 PACAP在动物体内的分布

3.1 中枢神经系统分布

PACAP样免疫反应物在哺乳动物脑上的分布已有较多的报道。Ghatei等用放射免疫测定技术研究了PACAP样免疫反应物在人和大鼠脑内的分布, 发现下丘脑的含量最高, 下丘脑外的其它脑区, 如尾壳核、丘脑和垂体后叶等含量也很高。在外周感觉神经节, 也有PACAP免疫反应阳性胞体存在。根据文献报道, 各种哺乳动物脑内PACAP样免疫反应物的分布相似。

PACAP样免疫反应物在鱼类中枢神经系统的分布已有少量报道。在欧洲鳗鲡、日本腾 (Stargazer, Uranoscopus Japonicus) 和赤鱼工 (Stingray, Dasyatis akejei) 的脑以及金鱼的脑垂体上均有PACAP样免疫反应阳性胞体的存在。

3.2 周围器官

哺乳动物的PACAP主要存在于支配呼吸系统、消化系统、内分泌系统等的神经纤维中, 在肺和胃肠道也见于局部的神经元胞体内。此外, PACAP样免疫反应物还见于肾上腺髓质、肾上腺素细胞以及淋巴组织等的淋巴细胞。Leung等用RT-PCR方法检测了PACAP mRNA在金鱼不同组织的分布情况, 发现PACAP mRNA表达水平在脑、脑垂体、精巢、肠和肾上很高; 而在肝脏、心脏和卵巢上很

会员登录

用户名:

密码:

验证码: 3828

相关文章

- 乳铁蛋白肽的研究现状及进展...
- 禽胰多肽研究进展
- 酪蛋白磷酸肽 (CPPs) 对肉仔...
- 双酶复合水解谷朊粉制备小肽...
- 改进Tricine-SDS-PAGE法分析...
- 小肽转运蛋白 (PepT1) 的活性...
- 小肽饲料营养价值及评价方法...
- 二肽PEPT1吸收方式通过b0, +...
- 禽胰多肽对肉鸡增重及内分泌...
- 虫肽蛋白在南美白对虾饲料中...
- 派肽威 (Peptiva) 对肉仔鸡赖氨...

合作伙伴



低；而在鳃上没有检测到PACAP mRNA。

4 PACAP受体

PACAP受体(PACAP receptor, PACAP-R)属于G蛋白偶联的7次跨膜受体,已被克隆。目前PACAP受体可分为三种:分别是PAC1-R、VPAC1-R和VPAC2-R。而PAC1-R又根据其其与PACAP27和PACAP38亲和力的不同分为两个亚型,即A亚型和B亚型。A亚型与PACAP27和PACAP38的亲合力相似,对前者的亲合力略高些;B亚型则主要与PACAP38结合,它与PACAP38的亲合力要比PACAP27高100~1 000倍。PAC1-R对PACAP的亲合力高,对VIP的亲合力低;而VPAC1-R和VPAC2-R对VIP和PACAP的亲合力都很高。VPAC1-R可介导PACAP、VIP激活腺苷酸环化酶和磷脂酶C的跨膜信号转导途径;而VPAC2-R主要介导腺苷酸环化酶的激活;PAC1-R可介导腺苷酸环化酶、磷脂酶C和Ca²⁺三种信号转导机制,可能与PAC1-R基因表达几种具有不同信号转导特性的拼接变体有关。

5 PACAP的生物学功能

5.1 对动物胃酸分泌和胃肠运动的影响

解剖学研究表明,在神经中枢(CNS)和背侧运动核(DMN)中发现了大量PACAP免疫神经元,DMN中包含了大量由迷走神经发出的细胞体,这些细胞体是影响胃神经支配的重要物质。Krowicki等通过实验发现,向DMN中注射PACAP38能增加胃内压和平滑肌收缩,同时解剖学还在不同种类动物(鸡、小鼠、大鼠、猪等)的胃肠道中发现了PACAP免疫样神经元及其受体的存在。

PACAP对胃肠道有众多的生理功能,如通过刺激PAC1-R而刺激胃酸的分泌,通过迷走神经调节胃运动和胃排空速度等。Mungan等将PACAP注射到有意识的大鼠和有胃瘘管的大鼠静脉中,发现PACAP在降低采食量的同时,减少了大鼠胃液、胃酸和胃蛋白酶的分泌,并显著抑制五肽胃泌素和组胺的促胃液分泌功能。P. Li等通过离体鼠胃灌流实验也得到类似的结果。

但也有不同的报道,给麻醉大鼠中枢注射PACAP27和PACAP38均能显著刺激胃酸和胃蛋白酶分泌,且存在着剂量依赖效应,PACAP38刺激胃分泌能力比PACAP27强1.5~2倍,同时PACAP38显著提高了五肽胃泌素的促胃分泌功能。而静脉注射相同剂量的PACAP38和PACAP27对胃分泌没有影响。然而如果对试验鼠分别进行中枢或静脉注射阿托品、PACAP6-38(PACAP抗体),切断迷走神经等前处理后发现PACAP促胃分泌的功能受到抑制,表明PACAP可能通过作用PACAP受体和迷走神经通路来调节胃液的分泌。Makoto Ozawa等研究了中枢和外周注射PACAP38对麻醉大鼠的胃动力、胃内压力、胃排空速度的影响,结果发现中枢和静脉注射PACAP38在10 min内增加胃内压,而10 min后静脉注射组胃内压下降。中枢注射(脑室注射或脑池注射)PACAP38能提高胃动力且存在剂量依赖性,但其降低胃排空速度,切除迷走神经或中枢注射0.5 mg/kg的阿托品能消除这种作用,而静脉注射PACAP38降低胃运动性和胃排空速度并存在剂量依赖性。然而腹腔注射PACAP38对胃动力、胃内压、胃排空没有影响,其原因可能是注射剂量没有达到影响胃排空和胃内压的有效剂量。这些实验数据都表明PACAP很可能通过影响胃酸分泌和胃排空,而引起内脏器官的机械性刺激并传递饱感信号来调节动物的采食。

5.2 对动物能量维持作用

众所周知,胰岛素对动物能量利用具有调节作用,而口服葡萄糖和摄食后的胰岛素分泌受多种因素的调节,神经类物质和肠激素在餐后胰岛素的早期分泌起决定性作用,这些物质包括垂体腺苷酸环化酶激活多肽(PACAP)、血管活性肠肽(VIP)、胰高血糖素类似肽1(GLP-1)、胆囊收缩素(CCK)等。在胰腺,PACAP集中分布于胰内神经节和围绕血管的外分泌组织单个神经元中。胰腺神经节中的PACAP控制着副交感神经和胆碱能神经元,在胰腺和胰岛素产生细胞(D细胞)内存在PAC1和VPAC2两种PACAP受体。大量试验发现PACAP对胰岛素分泌起调节作用,有试验证明中枢或腹腔注射PACAP能直接刺激胰岛素的分泌从而降低血糖浓度。同时Filipsson等发现静脉注射1.3 nmol/kg的PACAP27或PACAP38和葡萄糖(1 g/kg)都能刺激由葡萄糖诱导的胰岛素分泌,血浆中的胰岛素量显著增加,且两种肽的刺激作用是等同的。在体外试验中,Bertrand等通过立体兔的灌流试验发现PACAP同样能刺激胰岛素的分泌,Tornöe等也得到了类似的结果。

Filipsson等研究了内源PACAP对胰岛素分泌是否有作用,通过试验发现,被分离的新鲜小鼠胰岛中有大量的曲张型神经纤维表达了PACAP免疫样反应物,而培养了48 h的胰岛没有发现PACAP免疫样反应物,高浓度(11.1 mmol/l)和低浓度(3.3 mmol/l)都能刺激胰岛素的分泌,但新鲜离体胰岛反应要强于细胞培养的胰岛。同时他们发现,在新鲜离体胰岛中PACAP特有的抗血清能极显著降低葡萄糖诱导的促胰岛素作用,但这种血清对细胞培养的胰岛没有作用。目前认为PACAP调节胰岛素分泌可能与以下几点有关:①副交感神经对摄食时早期胰岛素分泌有重要的作用,摄食时PACAP从神经末梢释放,这些释放的PACAP增强胰岛B细胞对血糖的直接调节作用;②通过激活PACAP特殊受体PAC1-R来调节胰岛素的分泌;③PACAP对胰岛素分泌的调节与代谢状况和个体的年龄有关。这些试验说明了无论是外源还是内源PACAP都能扩大由血糖诱导的促胰岛素分泌作用。因此,我们可以看到PACAP通过对胰岛素分泌的调节作用来维持体内的糖平衡从而维持动物能量平衡。

5.3 对动物繁殖的影响

研究表明,PACAP在动物繁殖方面也起着重要作用。PACAP及其免疫样反应物在生殖器官(睾丸和卵巢)中大量分布,PACAP38在睾丸中的含量最高。有研究者发现,精母细胞和精细胞与PACAP38、PACAP27、VIP或dbc AMP共同培养后,可以明显增加精母细胞的蛋白质合成和分泌,但精细胞蛋白质的合成和分泌则可被PACAP、VIP或dbc AMP明显抑制,说明PACAP能够调节精母细胞和精细胞的细胞内蛋白质合成和分泌。

J. P. Chang等通过试验发现,在金鱼垂体灌流试验中,5 min内输入100 nmol PACAP能快速诱导垂体细胞II型促性腺素(GTH-II)的分泌,同时在静止培育组10 nmol PACAP能显著增加GTH-II的分泌。同时还有试验发现,PACAP能刺激催乳素和促黄体生成素的生成,在卵巢颗粒层细胞培养过程中,PACAP还调节促性腺素诱导的黄体激素的蓄积。

Romanelli试验表明:通过细胞膜的Na⁺流动而导致细胞膜的去极化过程与PACAP的作用关系极为密切,PACAP38是通过一种新的PACAP受体亚型或传导途径来刺激成年大鼠间质细胞分泌睾酮。Arnaud Lacombe等以基因缺失小鼠为对象研究了PACAP对睾酮浓度的影响,试验发现基因缺失的4月龄小鼠血浆中睾酮浓度显著低于野生型小鼠,这可能与其精囊腺的重量也显著低于野生型小鼠有关。随着年龄的增长睾酮浓度逐渐减少,野生型小鼠随着年龄的增长睾酮浓度明显下降,但是基因缺失的小鼠随着年龄的增长其睾酮浓度在一段时间内维持不变。这表明缺失PACAP可能推迟睾丸的老化。

还有试验发现,卵巢上存在PACAP38免疫样反应物,PACAP38及其免疫样反应物可以增加卵巢PGE₂、孕酮和皮质酮的分泌,环氧化酶(COX)可以中和PACAP38增加PGE₂、孕酮和皮质酮的能力,磷脂酶C(AC)的抑制剂也有中和作用,但不能减少PGE₂的增加,表明PACAP38可能先诱导PGE₂的增加,PGE₂再作用于AC,诱导卵巢孕酮和皮质酮分泌增加。同时PACAP也能刺激卵巢细胞中cAMP和雌二醇的积累,孕酮的分泌作用比VIP和GnRH强,同时PACAP38诱导cAMP积累的能力比PACAP27强,说明卵巢颗粒细胞上存在大量PACAP38特殊受体。

Daniels D等研究表明,PAC1-R和VPAC2-R分布于大脑的特殊区域包括丘脑腹内侧核,其与雌性动物的性行为相关。Norihiro Shintani等以基因缺失的雌性小鼠为试验对象,通过测定其生育力、交配行为、母性行为(sniffing、nesting、crouching、pup retrieval)来了解PACAP对动物繁殖的作用,PACAP基因缺失小鼠生育力降低(胎仔数低),其交配频率和间隔存在着明显差异(0~8次/4周),然而野生型小鼠的交配行为是连续进行的(2~3次/4周),基因缺失小鼠表现异常的生理活动这也可能影响其母性行为,Sniffing、nesting、pup retrieval行为与野生型小鼠没有差异,crouching行为(反射性的照料和护理活动)的次数显著低于野生型小鼠。这些试验都表明PACAP及其受体对动物的繁殖有重要的作用。

5.4 PACAP在免疫和抗炎中的作用

PACAP在体内外对小胶质细胞、巨噬细胞、淋巴细胞、嗜中性粒细胞通过不同的机制产生作用,在体外可以抑制内毒素诱导巨噬细胞、小胶质细胞产生促炎因子、炎症趋化因子,抑制呼吸道和血管的平滑肌紧张性,调节炎症细胞的活性,抑制中性粒细胞的趋化作用。

Tutasunc等发现PACAP38(10⁻⁶ mol/l)可刺激原代培养的大鼠垂体前叶细胞释放IL-6,而其它促垂体激素如GRH和TRH没有该作用,VIP只有在较高浓度才有效,同时PACAP可以增强IL-10的基因表达和释放。

Carmen Martinez等研究了PACAP受体与其抗炎作用的关系,在该试验中他使用了PACAP受体敲除(PAC1^{-/-})小鼠,结果发现,由注射内毒素(LPS)(400、600、1 000 μg)引起的死亡率PAC1^{-/-}小鼠要高于野生型小鼠,同时他们还发现野生型小鼠的存活时间是PAC1^{-/-}小鼠的2倍。同时给野生型小鼠腹部注射PACAP38还能够抑制IL-6和肿瘤坏死因子(TNF-α)的释放,并具有时间依赖效应。但对于PAC1^{-/-}小鼠PACAP虽然能显著降低由LPS引起的TNF-α浓度,但是不能抑制IL-6的释放。这一结果表明,PACAP抑制由LPS诱导的IL-6的产生主要是通过绑定巨噬细胞中的PAC1-R来介导的。

Wojciech Bik等试验发现,腹腔单独注射PACAP38后腹腔粒细胞活性只是在注射后2 h内轻微减少,然后又恢复到对照值。但是当LPS和PACAP同时注射后,腹腔粒细胞活性相对于单独注射组明显下降直到LPS再无影响。单独腹腔注射LPS时,2 h后显著增加

了血浆中TNF- α 、IL-6和皮质酮的浓度,而且它同时降低了血浆中TSH、GH和睾酮的浓度但是对T3和T4的浓度没有影响,LPS+PACAP38注射组的TNF- α 浓度相对于LPS注射组显著降低,同时血浆中的皮质酮浓度也降低,但是注射后2 h内T4和GH浓度显著升高,而LH、FSH、PRL和TSH的浓度没有明显变化。这表明PACAP38能调节由LPS引起的极性炎症,是免疫和内分泌反应的调节因子。AgnieszkaBaranowska-Bik等得到了类似的结果,但是他认为在极性炎症期间,虽然PACAP38是免疫和内分泌反应的调节因子但其作用是短效的。

Mario Delgado等发现PACAP减少了外周T淋巴细胞和T细胞杂交瘤激活诱导的细胞死亡(AICD),且这种抑制作用都是通过VPAC1和VPAC2受体来调节的。同时PACAP与受体结合后能够抑制转移生长因子(TGF)- β 1诱导的细胞凋亡,PACAP的拮抗物PACAP6-38则可以阻断其抑制效应,表明PACAP作为抗炎反应剂,存在于淋巴细胞的微环境中,通过特殊受体PAC1调节T淋巴细胞的凋亡过程从而在机体的免疫反应中发挥重要作用。

5.5 对动物的其它生理作用

5.5.1 PACAP作为一种血管调节剂,具有明显的扩血管作用

PACAP样免疫反应神经分布在血管周围,尤以小动脉周围更丰富。在血管壁上存在PACAP受体,这些形态学研究发现PACAP在局部血流的调节中起着重要作用。在从肱动脉注入PACAP后测定前臂血流的人体试验中显示PACAP能使前臂血流明显增加。将PACAP注入皮肤(10-12 mol/点)后的血管扩张效应可持续6 h,而注入相同剂量的CGRP或VIP,血管扩张效应仅持续2 h。静脉注入PACAP可引起麻醉大鼠剂量依赖性血压下降,PACAP38的降压效应与VIP相当,而PACAP27的降压效应仅是VIP的1/3。

Warren等观察到PACAP具有舒张家兔离体主动脉的作用,且强度是VIP的100倍。他们认为PACAP是一种作用持续、不依赖内皮的强效血管扩张剂。Kastner等对人和猪冠状动脉的研究结果也证明了这点。而Cardell却发现PACAP对豚鼠肺动脉、主动脉的扩血管作用在去除内皮时丧失殆尽。在体外试验也证实PACAP具有扩血管降压作用,但PACAP的血管扩张作用是直接作用还是通过cAMP水平提高而产生的间接作用尚不明确。

5.5.2 神经递质和神经调质

PACAP除了分布在下丘脑外,还广泛地分布于中枢神经系统的其它部位及周围神经系统。因此它可能是一种新的神经递质或神经调质。生理试验证明,椎管内注入PACAP能引起由C-纤维(脊髓背角的神经纤维)激发的屈曲反射明显的长时抑制。刺激内脏大神经可引起肾上腺灌流液中PACAP增加。有报道表明,PACAP存在于大鼠感觉神经系统中,并与CGRP和SP共存,红辣椒素处理能使含PACAP纤维减少。这些资料提示PACAP可能是一个新的感觉神经递质。在呼吸系统,PACAP可调节气道阻力和肺局部血流,其对支气管的扩张作用需要Na⁺-K⁺-ATP酶激活。PACAP也可能与乙酰胆碱共存,有可能PACAP调节着乙酰胆碱的释放,修饰乙酰胆碱,起着神经调质的作用。

5.5.3 影响胰腺外分泌的功能

Mungan等以2.5、5和10 nmol/kg的剂量进行PACAP38和PACAP27的试验,并与等摩尔剂量相比较。从游离大鼠十二指肠中收集不含有胃酸和胆汁的十二指肠液,测定淀粉酶和总蛋白含量。结果发现这两种分子形式的PACAP刺激胰淀粉酶和蛋白的分泌,且具有剂量依赖性。用PACAP27 10 nmol/kg较同剂量VIP所引起的淀粉酶刺激作用大2倍,比PACAP38大4倍。PACAP27和PACAP38均能促进HCO₃⁻的分泌。

PACAP对游离大鼠胰腺腺泡引起剂量依赖性的淀粉酶分泌增加,在淀粉酶分泌时相的初始段,PACAP刺激的胰腺腺泡分泌的淀粉酶比VIP刺激分泌的淀粉酶明显增多,而它们对细胞内cAMP的增加几乎一样。大鼠静脉注入PACAP亦引起剂量依赖性淀粉酶分泌增加;还可促进胰腺腺泡脂肪酶的释放,与CCK、VIP、carbachol的功能同用对促胰腺分泌有相加作用。这些发现提示PACAP调节胰腺外分泌的功能。

6 结语

综上所述,PACAP是一种新的具有多种生物活性的多肽。其生物学功能是多方面的,目前对PACAP在动物摄食方面的研究绝大多数都是由国外学者完成的,国内的研究很少。但通过这些研究,我们对于PACAP有了比较清楚的认识。PACAP在动物体内发挥着不可忽视的作用,由于动物体内的激素发挥其生理功能的作用机制十分复杂,而且对于PACAP的作用一部分是根据其在组织器官中的分布所推导出来的,缺乏实际的研究证据,所以我们必须意识到,尽管对于PACAP的研究已经经历了20多年,而且仍在进行中,但在该研究领域还存在着一些有待研究的问题,因此以后的研究可以从以下几方面入手:①进一步研究PACAP的分子结构,探明影响其生物学功能的结构区段。②PACAP可通过不同的受体或不同的作用通路发挥其生物学效应,因此继续研究PACAP及其受体在体内的分布,在不同组织或细胞中的作用机理及其在生理条件下的基因表达与调控,将有助于其更好地在畜牧业中的应用。③将PACAP的研究扩展到生产动物上。生产动物的各种生理功能的重要性毋庸置疑,然而相对于啮齿动物而言,生产动物的研究相对较少,而PACAP在家畜上几乎没有报道。④探索PACAP运用于动物生产的可能性。

(参考文献50篇,刊略,需者可函索)

(编辑:刘敏跃,lm-y@tom.com)

...评论...

发表
评论

*40字以内

提交

重置