- 9 Bodmer J L, Burns K, Schneider P, et al. TRAMP, a novel apoptosis-mediating receptor with sequence homology to tumor necrosis factor receptor 1 and Fas (Apo-1/CD95). *Immunity*, 1997, 6(1): 79~88
- 10 Pan G H, O'Rourke K, Chinnaiyan A M, et al. The receptor for the cytotoxic ligand TRAIL. *Science*, 1997, 276(4): 111~113

(1999-01-18 收稿, 1999-06-23 收修改稿)

痛稳素(nocistatin)在疼痛调制中的作用

赵承水 孙瑞卿 李冰山 王韵 罗非

王晓民 张肇康^④ 韩济生^{*}

(北京医科大学神经科学研究所, 北京 100083; ^④Phoenix Pharmaceutical Inc., Mountain View, CA, USA. * 联系人)

摘要 采用甩尾潜伏期作为伤害感受的指标, 用 von Frey 纤维测量机械性痛觉超敏(allodynia), 观察给大鼠脑室注射(i. c. v.) 痛稳素(nocistatin)能否逆转孤啡肽(orphanin FQ)的抗吗啡镇痛作用, 以及脑室注射或脊髓蛛网膜下腔注射(i. t.) 痛稳素能否影响神经源性痛大鼠的机械性痛觉超敏。结果表明, 脑室注射痛稳素不影响大鼠的甩尾潜伏期, 也不影响吗啡镇痛, 脑室注射或脊髓蛛网膜下腔注射痛稳素也不影响神经损伤侧后肢的缩足阈值。然而, 脑室注射痛稳素能显著逆转孤啡肽的抗吗啡镇痛作用。由此得出痛稳素在脑水平能逆转孤啡肽的抗吗啡镇痛作用, 而在脑和脊髓水平均不抑制神经源性痛的机械性痛觉超敏。

关键词 吗啡 孤啡肽 痛稳素 痛觉过敏 痛觉超敏 神经源性痛

外周神经损伤常产生神经源性痛, 表现为痛觉过敏(痛刺激引起的异常增强的痛反应)、痛觉超敏(非痛刺激引起的痛反应)和自发性疼痛(无明显刺激而产生的痛反应)。目前神经源性痛的机制不清, 也缺乏有效的治疗。有报道说, 给小鼠脊髓蛛网膜下腔注射孤儿阿片受体(orphan opioid receptor-like receptor) ORL₁ 的内源性激动剂孤啡肽, 能引起痛觉过敏和痛觉超敏^[1,2], 因而称其为痛敏素(nociceptin)。但 Mogil 及其同事^[3,4] 证明, 给小鼠脑室注射孤啡肽并不引起痛觉过敏和痛觉超敏, 但能拮抗全身应用吗啡的镇痛作用, 也能拮抗阿片介导的应激性镇痛及 μ , κ 和 δ 阿片受体介导的镇痛, 因而是一种抗阿片物质。我们发现, 给大鼠脑室注射孤啡肽确能拮抗全身应用吗啡的镇痛作用, 也能拮抗阿片介导的电针镇痛^[5]。最近有人报道, 孤啡肽前体中含有另外一种生物活性肽痛稳素^[6], 在小鼠它能抑制脊髓蛛网膜下腔注射孤啡肽引起的痛觉过敏和痛觉超敏^[6,7]。本研究的目的是在结扎了 L5 和 L6 脊神经所致的神经源性痛大鼠身上观察, 痛稳素本身是否有抑制痛敏的作用? 抑或它只是对抗了孤啡肽的抗阿片作用。

1 材料与方法

() 材料。实验动物为体重 200~250 g 的雌性 SD 大鼠。孤啡肽和痛稳素为美国 Phoenix Pharmaceutical Inc 产品。盐酸吗啡为中国青海制药厂产品。药物均溶于无菌生理盐水(NS)中。吗啡浓度为 2 mg/mL, 孤啡肽浓度为 1.6 μ g/ μ L, 痛稳素浓度由其注药剂量及注药体

积而定(见后).

()大鼠神经源性痛模型的制备及侧脑室和脊髓蛛网膜下腔插管. 按 Kim 和 Chang 报道的方法结扎大鼠右侧 L5 和 L6 脊神经^[8]. 术后 7 d 给大鼠侧脑室放置不锈钢管, 或术后 11 d 向脊髓蛛网膜下腔放置 PE-10 管^[5]. 两种注药途径的药液体积均为 10 μ L, 注药时间 10~15 s, 每只鼠只注药一次.

()伤害感受的测定. 以辐射热引起甩尾的方法测定甩尾反应潜伏期(TFL), 代表大鼠的伤害感受的阈值^[9]. 注药前每隔 5 min 测定 1 次 TFL, 共测 3 次, 取其平均值作为基础痛阈. 室温保持在(20 $\pm$ 1) $^{\circ}$ C.

()痛觉超敏的测定. 按文献[10]方法, 用一系列标准化的塑料细纤维(von Frey 纤维)刺激大鼠右侧后肢足底中部, 观察缩足反应, 再应用 Dixon 报道的方法推算出 50% 缩足的阈值, 用以测订机械性痛觉超敏. 用药前测定一次. 用药后每 10 min 测定一次, 共 5 次. 用下面的公式将数据转换为可能的最大效应百分率(MPE), 用以显示药物对机械性痛觉超敏的影响.

$$\text{MPE} = (\text{反应值} - \text{对照值}) / (15 - \text{对照值}) \times 100\%$$

上式中的反应值代表用药后的 50% 缩足阈值, 对照值代表用药前的 50% 缩足阈值, 15 是本法可能达到的最大 50% 缩足阈值.

()统计分析. 数据均以均值 $\pm$ 标准误表示. 组间差异应用双因素方差分析和 Duncan 检验. $P < 0.05$ 表示统计有显著性差异.

2 结果

2.1 脑室注射痛稳素不影响大鼠基础痛阈

给 7 组大鼠(每组 9~10 只)脑室注射 NS(10 μ L) 或痛稳素(各组剂量分别为每只大鼠 0.005, 0.05, 0.5, 5, 50 或 500 ng, 10 μ L), 注药后每 10 min 测定 1 次 TFL, 共 6 次. 注射痛稳素与注射 NS 后的 TFL 相比, 没有显著差异(数据未列出). 结果表明, 脑室注射痛稳素既不产生镇痛, 也不产生痛觉过敏.

2.2 脑室注射痛稳素不影响吗啡镇痛

给 7 组大鼠(每组 11~16 只)皮下注射吗啡 6 mg/kg. 注药后每 10 min 测定 1 次 TFL, 共测定 9 次. 第 3 次测定后, 选出甩尾潜伏期增加 $> 100\%$ 的大鼠, 给予脑室注射 NS(5 μ L) 加 NS(5 μ L), 或痛稳素(各组剂量分别为每只大鼠 0.005, 0.05, 0.5, 5, 50 或 500 ng, 5 μ L) 加 NS(5 μ L), 继续每 10 min 测定一次 TFL, 至第 9 次. 结果见表 1. 在 NS 加 NS 对照组, 吗啡使 TFL 增加的时程超过 90 min. 脑室注射痛稳素不改变吗啡诱导的 TFL 增加. 结果表明, 脑室注射痛稳素对吗啡镇痛不产生显著影响.

表 1 脑室注射痛稳素对吗啡镇痛的影响^{a)}

痛稳素/ng	例数	均值 $\pm$ 标准误
0	16	123.9 $\pm$ 9.20
0.005	11	122.0 $\pm$ 5.49
0.05	13	111.3 $\pm$ 11.68
0.5	12	109.0 $\pm$ 13.63
5	12	109.5 $\pm$ 13.27
50	15	101.2 $\pm$ 15.93
500	13	118.6 $\pm$ 12.74

a) 吗啡的镇痛作用以应用吗啡(6 mg/kg, sc)后第 40~90 min 的甩尾潜伏期升高百分数的平均值表示

2.3 脑室注射痛稳素逆转孤啡肽的抗吗啡镇痛作用

与上类似, 给另外7组吗啡镇痛大鼠(每组11~16只)脑室注射孤啡肽(每只8 μg , 5 μL)加NS (5 μL), 或孤啡肽(每只8 μg , 5 μL)加痛稳素(各组剂量分别为每只大鼠0.005, 0.05, 0.5, 5, 50或500 ng, 5 μL), 每10 min测定1次TFL, 至第9次. 结果见图1. 与NS加NS对照组相比,

图1 痛稳素逆转孤啡肽抗吗啡镇痛作用的
剂量-效应曲线

以注射吗啡后第40~90 min的甩尾潜伏期升高百分数的平均值表示吗啡(6 mg/kg)的镇痛作用. ■、□和□分别代表NS+NS组、孤啡肽+NS组和孤啡肽+痛稳素(0.005~500 ng)组. ##表示与NS+NS组相比, $P < 0.01$; *和**分别表示与孤啡肽+NS组相比, $P < 0.05$ 和 $P < 0.01$.

图2 脑室注射(a)或脊髓蛛网膜下腔注射(b)痛稳素对神经源性痛大鼠的机械性痛觉超敏没有影响

脑室注射孤啡肽能使吗啡镇痛作用减弱43% ($P < 0.01$)。而脑室注射痛稳素(0.05~500 ng)则能逆转孤啡肽的抗吗啡镇痛作用,其剂量-效应曲线呈钟形,最有效剂量为每只大鼠0.5 ng。

2.4 脑室或脊髓蛛网膜下腔注射痛稳素不影响神经源性痛大鼠的机械性痛觉超敏

L5和L6脊神经结扎后第12 d,结扎侧后肢的50%缩足阈值为(1.9 ± 0.64) g,显著低于假手术组的(13.6 ± 0.8) g ($P < 0.01$),此时给8组大鼠(每组4~7只)脑室注射或脊髓蛛网膜下腔注射痛稳素(各组剂量分别为每只大鼠0.05, 0.5或5 ng, 10 μ L)或NS(10 μ L),注射痛稳素与注射NS后的%MPE相比,没有显著差异。结果表明,脑室注射或脊髓蛛网膜下腔注射痛稳素不影响神经源性痛的机械性痛觉超敏,结果见图2。

3 讨论

痛稳素与孤啡肽来自同一前体物质,是同一基因的不同产物^[6]。Okuda & Ashitaka 等人^[6,7]发现,小鼠脊髓蛛网膜下腔注射孤啡肽能诱发痛觉过敏和痛觉超敏,这种作用可被痛稳素逆转,说明来自同一前体的两种小肽具有功能上的拮抗作用。据目前所知,痛稳素不能与孤儿阿片受体ORL₁发生特异性结合,但与小鼠脑及脊髓制备的细胞膜具有高亲和力和饱和趋势^[6],似提示痛稳素有其专一的受体。

痛稳素是否确有抗孤啡肽的作用,应该从不同角度加以验证。前面已经讲过,对孤啡肽本身的作用存在着不同的看法。有人认为孤啡肽在小鼠有痛敏作用^[1,2],该作用可被痛稳素逆转^[6,7]。然而,我们在大鼠身上进行的实验表明,孤啡肽并不引起痛敏,而是在脑内对抗了阿片的镇痛作用^[5],这种抗阿片作用是否能被痛稳素所对抗?本工作的实验结果给予了肯定的回答,从而支持了Okuda & Ashitaka 等人提出关于痛稳素对抗孤啡肽作用的假说。

Okuda & Ashitaka 等人^[6]的报告还指出,痛稳素不仅能对抗小鼠脊髓蛛网膜下腔注射孤啡肽引起的痛觉过敏和痛觉超敏,也能对抗脊髓蛛网膜下腔注射前列腺素E₂和前列腺素F₂诱发的痛觉过敏和痛觉超敏,这就引起了一个疑问,痛稳素是否对各种途径引起的痛觉过敏和痛觉超敏具有普遍的抑制作用?我们的实验结果给予了否定的回答,至少对大鼠脊神经结扎引起的痛觉超敏没有明显的对抗作用。

总之,我们的工作结果表明,痛稳素有较特异的对抗孤啡肽作用。因为它既不影响基础痛阈,也不影响吗啡镇痛,也不影响神经损伤性痛觉超敏,只是选择性地对抗孤啡肽的抗阿片效应。这些结果对进一步阐明痛稳素的作用机制,可能有所帮助。

致谢 本工作为国家自然科学基金(批准号:39770848, 39830160)和美国国立卫生研究院基金(DA03983)资助项目。

参 考 文 献

- 1 Hara N, Minami T, Okuda Ashitaka E, et al. Characterization of nociceptin hyperalgesia and allodynia in conscious mice. *Br J Pharmacol*, 1997, 121: 401~408
- 2 Okuda Ashitaka E, Tachibana S, Houtani T, et al. Identification and characterization of an endogenous ligand for opioid receptor homologue ROR-C: Its involvement in allodynic response to innocuous stimulus. *Mol Brain Res*, 1996, 43: 96~104
- 3 Mogil J S, Grisel J E, Zhang G E, et al. Functional antagonism of μ -, δ - and κ -opioid antinociception by orphanin FQ. *Neurosci Lett*, 1996, 214: 1~4
- 4 Mogil J S, Grisel J E, Reinscheid T K, et al. Orphanin FQ is a functional anti-opioid peptide. *Neuroscience*, 1996, 75: 333~337
- 5 Tian J H, Xu W, Fang Y, et al. Bidirectional modulatory effect of orphanin FQ on morphine-induced analgesia: antagonism in brain

<https://engine.scichina.com/doi/10.1360/csb1999-44-22-2429>

- and potentiation in spinal cord. *Br J Pharmacol*, 1997, 120: 676~ 680
- 6 Okuda Ashitaka E, Minami T, Tachibana S, et al. Nocistatin, a peptide that blocks nociceptin action in pain transmission. *Nature*, 1998, 392: 286~ 289
- 7 Minami T, Okuda Ashitaka E, Nishiuchi Y, et al. Anti-nociceptive responses produced by human putative counterpart of nocistatin. *Br J Pharmacol*, 1996, 124: 1016~ 1018
- 8 Kim S H, Chung J M. An experimental model for peripheral neuropathy produced by segmental spinal nerve ligation in the rat. *Pain*, 1992, 50: 355~ 363
- 9 Liu S X, Luo F, Shen S, et al. Relationship between the analgesic effect of electroacupuncture and CCK-8 content in spinal perfusate in rats. *Chinese Science Bulletin*, 1999, 44(3): 240~ 243
- 10 Chaplan S R, Bach F W, Pogrel J W, et al. Quantitative assessment of tactile allodynia in the rat paw. *J Neurosci Meth*, 1994, 53: 55~ 63

(1999-04-01 收稿, 1999-07-13 收修改稿)

化学风化作用中的微量元素地球化学 ——以江西龙南黑云母花岗岩风化壳为例

马英军 刘丛强

(中国科学院地球化学研究所环境地球化学国家重点实验室, 贵阳 550002)

摘要 对江西龙南黑云母花岗岩风化壳中常量元素、微量元素和 REE 的含量、分布及迁移规律的研究发现: 风化过程中的主要矿物学变化为长石 $\rightarrow$ 蒙脱石, 伊利石 $\rightarrow$ 高岭石, 埃洛石 $\rightarrow$ 硅铝土. 活动性元素为 Na, Ca, Si, P, V, U, Sr, 而 Ti, Al, Fe, Sc, Th, Zr, Hf 保持稳定. 除 Zr/Hf, Nb/Ta, Th/Sc, Zr/Nb 和 Sm/Nd 外, 其他微量元素比值都发生了变化. REE 和 Y 在剖面内重新分布, 风化样品稀土配分模型在继承母岩特征的同时, 发生了一系列分异. 总体而言, 化学风化程度是影响风化剖面中矿物成分、主要和微量元素含量、分布的关键因素, 在根据沉积物矿物和微量元素分布研究源区特征时, 应充分考虑到源岩化学风化的程度.

关键词 花岗岩风化壳 化学风化作用 微量元素 江西龙南

细粒碎屑沉积物(岩)中的稀土分布特征和微量元素比值早已被广泛用于示踪物源区成分、环境特征乃至地壳成分演化^[1]. 风化作用产生的碎屑和溶解物是沉积物的物质来源, 因此沉积记录的完美解释离不开对化学风化过程的深入理解^[2~4]. 而且, 通过风化剖面 and 古土壤还可以了解过去的土壤和气候条件^[5] 以及大气和地球演化的历史^[1,6,7].

我国南方广泛分布的红土风化壳, 是进行风化过程研究不可多得的天然场所. 近 20 年来, 围绕这类风化壳(尤其是风化壳离子吸附型稀土矿床)已开展了大量工作^[8~11]. 本文以江西龙南黑云母花岗岩风化壳为例, 系统研究了花岗岩化学风化过程中的矿物成分变化, 常、微量元素迁移、分异规律及其机理, 以期能为地表微量元素(尤其是 REE)循环、尤其是风化与沉积关系的研究提供借鉴.