

# 大鼠、豚鼠和兔中枢神经系统阿片受体个体发育的放射自显影比较

王虹、叶淑贞、李桂芬、池志强 (中国科学院上海药物研究所, 上海 200031)

**提要** 用放射自显影和灰片灰度等级测定观察比较大鼠、豚鼠和兔中枢神经系统阿片受体 $\mu$ 、 $\delta$ 和 $\kappa$ 亚型的个体发育。 $\mu$ 受体的出现一般早于 $\delta$ 和 $\kappa$ 受体。纹状体和脊髓是阿片受体出现较早、密度较高的部位。海马结构和小脑中的受体亚型和分布区域存在明显的种属差异。大脑皮层的阿片受体最晚发育成熟。

**关键词** 内啡肽受体; 个体发生; 放射自显影术; [ $^3\text{H}$ ]羟甲芬太尼; [ $^3\text{H}$ ](D-Ala<sup>2</sup>, MePhe<sup>4</sup>, Gly-ol<sup>5</sup>)脑啡肽; [ $^3\text{H}$ ](D-Ala<sup>2</sup>, D-Leu<sup>5</sup>)脑啡肽; [ $^3\text{H}$ ]依托啡; 中枢神经系统; 种特异性

大鼠、豚鼠和兔中枢神经系统(CNS)阿片受体的成年特性已有所了解<sup>(1-8)</sup>。大鼠CNS阿

片受体 $\mu$ 和 $\delta$ 亚型的个体发育已有报道<sup>(9-11)</sup>, 但对豚鼠了解甚少<sup>(12)</sup>, 对兔还无报道。目前也未见在这3种动物CNS内同时观察 $\mu$ 、 $\delta$ 和 $\kappa$ 受体个体发育的报道。本文用高选择性 $\mu$ 受体配体[ $^3\text{H}$ ]羟甲芬太尼(ohmefentanyl, F7302)<sup>(13)</sup>和[ $^3\text{H}$ ](D-Ala<sup>2</sup>, MePhe<sup>4</sup>, Gly-ol<sup>5</sup>)脑啡肽(DAGO)标记 $\mu$ 受体; 选择性 $\delta$ 受体配体[ $^3\text{H}$ ](D-Ala<sup>2</sup>, D-Leu<sup>5</sup>)脑啡肽(DADLE)标记 $\delta$ 受体(封闭 $\mu$ ); 广谱的阿片受体配体[ $^3\text{H}$ ]依托啡标记 $\kappa$ 受体(封闭 $\mu$ 和 $\delta$ ), 较全面地观察了纹状体、海马、脊髓和小脑阿片受体亚型的个体发育。

## 材料与 方法

**动物繁殖** Sprague-Dawley 大鼠 2 ♀ + 1 ♂ 合笼交配, 阴道涂片法确定受孕日期。大鼠胚胎期约 22 d, 哺乳期约 21 d。从胚胎期 (embryonic days, E), 出生后 (postnatal days, P) 到成年共取 12 个年龄组 (E 12, E 14, E 16, E 18, E 20, P 0, P 4, P 8, P 12, P 16, P 20, 成年)。每组大鼠 2 只。非成年组为同胞。成年组 ♂, 6-9 月龄。

豚鼠 2 ♀ + 1 ♂ 合养, 自 d 9 (性周期的后半期) 起计算 E, d 9 = E 0。豚鼠胚胎期约 67 d, 哺乳期约 15 d。共取 12 个年龄组 (E 30, E 40, E 45, E 55, E 65, P 0, P 2, P 5, P 10, P 15, P 20, 成年)。每组豚鼠 2 只。E 各组为同胞。成年组 ♂, 6-9 月龄。

新西兰种兔每天 8:00-10:00 交配。交配后的母兔每周称体重 1 次, 以确定是否受孕。交配之日为 E 0。兔胚胎期约 31 d, 哺乳期约 45 d。共取 13 个年龄组 (E 16, E 20, E 24, E 28, E 30, P 0, P 5, P 10, P 15, P 20, P 30, P 40, 成年)。每组兔 2 只。E 16-P 0, 每组为同胞。成年组 ♀, 约 10 月龄。

**受体结合和放射自显影** 将 E 各组母体断头剖腹, 取胎仔头部。将 P 各组 and 成年组动物断头取脑。脑组织在干冰内放置 1 h 以上, 在 -18 至 -20°C 的切片机 (DWQ-81 型, 中科院上海药物所制造) 内作 10 μm 冠状切片, 融贴在涂有明胶 (3 g 明胶 + 0.3 g 铬矾/L 水) 的载玻片上, -50°C 贮存 1-10 d。

脑切片用预孵育法<sup>(5,10)</sup>, 以抑制内源性阿片肽的活性。然后分别与标记 μ、δ 和 κ 受体的同位素溶液孵育 30 min, 22-26°C。用冰冷的 Tris-HCl 170 mmol/L 缓冲液 (pH 7.6) 洗涤 2 次, 每次 3-5 min, 以中止反应并洗去非特异性结合的配体。蒸馏水洗涤 2 次, 洗去缓冲液。标记 μ 受体, 大鼠用 [<sup>3</sup>H]F 7302 1 nmol/L (2.18 TBq/mmol, 中科院上海药物所和中科院上海原子核所合成)。豚鼠和兔用 [<sup>3</sup>H]DAGO

2 nmol/L (2.22 TBq/mmol, Amersham)。标记 δ 受体用 [<sup>3</sup>H]DADLE 2 nmol/L (1.85 TBq/mmol, Amersham) + 盐酸吗啡 30 nmol/L (青海制药厂)。标记 κ 受体用 [<sup>3</sup>H]依托啡 1 nmol/L (1.48 TBq/mmol, 上海医科大学) + 盐酸吗啡 30 nmol/L + DADLE 100 nmol/L (Peninsula Lab)。盐酸吗啡和 DADLE 用以封闭 μ 和 δ 受体, 其浓度参照文献 (5,14)。上述同位素溶液中分别另加入 F 7302 1 μmol/L (中科院上海药物所合成), 盐酸吗啡 2 μmol/L, DADLE 2 μmol/L 和依托啡 1 μmol/L (中科院上海药物所合成), 与相邻的脑切片在同一条件下孵育, 作为 μ、δ 和 κ 受体的非特异性结合。

孵育后的脑切片在暗室内与对 [<sup>3</sup>H] 敏感的感光胶片 (氟片, CP-1 型, 中科院感光化学研究所) 紧贴, 在 4°C 避光干燥处曝光 10 (大鼠和豚鼠) 或 14 wk (兔)。显影 (Kodak D-19 b 显影液) 3 min, 18-20°C。定影 (F-5 酸性坚膜定影液) 8 min, 室温。流水冲洗 1 h 以上。氟片晾干后作灰度等级测定用。脑切片分别作 HE 和焦油紫染色, 以确定氟片显示的受体结合在脑内的解剖部位。

**灰度等级 (gray scale) 测定和灰度级 (gray level) 计算** 用 Hamamatsu 光导摄像系统 (photonics k k Model C 1000) 测定氟片的灰度等级。该系统专门设计用于与数字或模拟计算机联用, 有 256 个灰度等级。将氟片置于 X 射线观察灯前, 调节适当的光强, 摄像头将图象摄入, 经视频放大和灰度等级处理, 在监视器上还原出经过处理后的目标象。灰度等级的取值原则是被测部位约有 1/3 区域达到该值以上。将在同一条件下测得的图象与本底两个灰度等级之间的差值作为图象的灰度级, 实验结果以“总结合 - 非特异性结合 = 特异性结合 (灰度级)”来表示。

## 结 果

**大鼠** 纹状体和伏隔核 (图 1 A) 的 μ 受体 E 16 刚出现时呈均匀分布。P 0 开始纹状体出现不均匀分布, 到 P 4 形成了清晰的与成年相

似的斑块和条纹状分布, 斑块均匀地分散在纹状体内, 条纹沿胼胝体下纹状体的背外侧边缘分布. 伏隔核始终为均匀分布(图2 A,B). 纹状体的 $\mu$ 受体密度从E 16 到成年变化不大, E 16 已达成成年值的 97%. 从E 20 开始, 伏隔核受体密度大于纹状体.  $\delta$ 受体从E 20 出现至成年,

都呈弥散样的均匀分布, 纹状体外 1/3 部分受体密度相对高些(图2 C). 灰度级在 P 8 前较低, P 8 后上升很快, P 20 达最高值, 成年时略有下降.  $\kappa$ 受体自 P 0 出现, 始终为均匀分布, 灰度级上升较缓慢.

海马结构(图1 B)的 $\mu$ 受体在 P 0 出现均匀分布, P 4 可见在 CA 1, CA 2 和 CA 3 区的海马锥体层和腔隙分子层及齿状回分子层出现较多的 $\mu$ 受体. P 16 后 CA 4 区也有受体出现. 整个海马结构中以 CA 3 区的锥体层和腔隙分子层密度最高(图2 D). 灰度级呈缓慢增加, P 16 开始与成年水平相当.  $\delta$ 受体在海马结构中含量很少, P 20 后略微可见在 CA 1, CA 2 和 CA 3 区的锥体层和腔隙分子层有一些受体分布(图2 E).  $\kappa$ 受体密度略高于 $\delta$ 受体, 成年分布与 $\mu$ 受体很相似.

小脑内 $\mu$ 、 $\delta$ 和 $\kappa$ 三种受体均极少.

脊髓(图1 C)内 $\mu$ 受体于E 16 出现, 均匀分布在灰质内. P 0 开始背角胶质区密度高于其他区域. 灰度级在 P 16 时最高(图2 F, G).  $\delta$ 受体密度较低, 且分布较均匀.  $\kappa$ 受体 P 4 出现, P 12 开始形成背角胶质高密度区, 灰度级略高于 $\delta$ 受体.

大脑皮层的 $\mu$ 受体 P 0 出现, 在各层中分布均匀. 从 P 12 和 P 20 开始, 受体更多地集中于 I 和 IV 层(图2 B, D).  $\delta$ 受体在 P 20 后 II, III 和 V 层的受体多于其他层(图2 C, E).  $\kappa$ 受体在成年时 I 层受体略多于其他层, 分布较均匀.

**豚鼠** 纹状体和伏隔核(图1 D)处的 $\mu$ 受体 E 30 时已存在, 分布均匀. E 45 时纹状体呈略为可见的斑块分布, P 0 开始斑块很清晰, 且较多地集中在纹状体内侧(图2 H). 自 E 40 起伏隔核受体密度高于纹状体. 从 E 30 至成年, 纹状体和伏隔核的灰度级在 E 45 和 P 0-P 20 期间有两个高峰, 而 E 30, E 65 和成年这三点构成了两个高峰的谷底. 伏隔核和纹状体的 P 0 值分别是 E 65 的 2.2 和 2.0 倍, P 20 值分别是成年的 1.7 和 1.6 倍.  $\delta$ 受体从 E 45

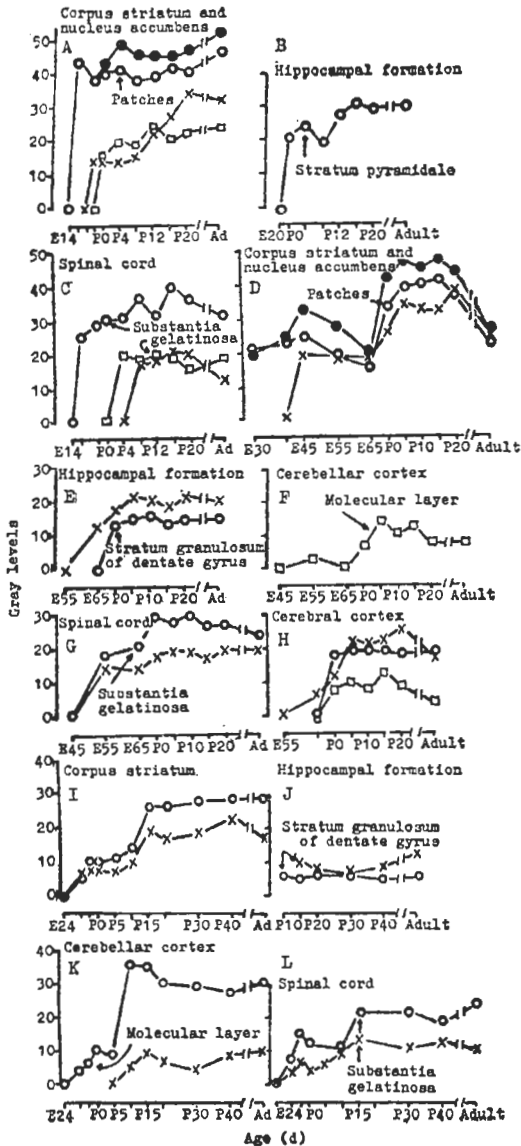


Fig 1. Quantitation by gray levels of development of opioid receptor densities. A-C, Rats; D-H, Guinea pigs; I-L, Rabbits. n=2 animals.  $\circ$ :  $\mu$ -binding sites.  $\bullet$ :  $\mu$ -binding sites in nucleus accumbens.  $\times$ :  $\delta$ -binding sites.  $\square$ :  $\kappa$ -binding sites. E, embryonic d. P, postnatal d.

出现至成年,始终为均匀分布,纹状体外侧部密度稍高些(图2 I)。E 65前受体密度几乎无变化,E 65后快速增加,P 5-P 20为高峰期,成年值下降。P 5值是E 65的1.9倍,P 20值是成年的1.5倍。 $\kappa$ 受体密度很低,图象淡而均匀。

海马结构(图1 E)的 $\mu$ 受体P 0在齿状回颗粒层出现,海马锥体层有少量分布(图2 J)。从P 0到成年,灰度值无太大变化,数值较低。 $\delta$ 受体E 65出现,密集在海马CA 1和CA 2的锥体层、辐射层和腔隙分子层,在锥体层和辐射层之间有一条很细的空白带,受体密度很低(图2 K)。P 5后CA 1和CA 2区的密度逐渐降低,CA 3和CA 4区的锥体层和腔隙分子层受体有所增加。成年时受体分布在海马锥体层、腔隙分子层及CA 1和CA 2区的辐射层。海马CA 3和CA 4区的辐射层和齿状回 $\delta$ 受体较少。从E 65到成年,整个海马灰度级有所增加,但CA 1和CA 2区略有下降。 $\kappa$ 受体在齿状回颗粒层略有分布,受体密度很低。

小脑皮层(图1 F)内的 $\mu$ 和 $\delta$ 受体极少, $\kappa$ 受体自E 55出现,P 2可见受体密度在分子层最高,颗粒层次之,白质最少(图2 L)。

脊髓(图1 G)内 $\mu$ 受体在E 55刚出现时均等地分布在灰质内。E 65形成背角胶质的高密度区域(图2 M)。灰度级在P 0-P 10间较高,以后稍下降,成年值为P 0的82%。 $\delta$ 受体E 55出现,分布较均匀。 $\kappa$ 受体密度低于 $\mu$ 和 $\delta$ 受体。

大脑皮层(图1 H)的 $\mu$ 受体E 55在皮层有均匀分布。P 0时I和IV层的高密度区开始形成。P 0后IV层的灰度值基本无变化(图2 H, J)。 $\delta$ 受体E 55出现,E 65后V和VI层受体密度比其他层高(图2 I, K)。 $\kappa$ 受体E 55在皮层出现,P 0起V和VI层密度增加。

兔纹状体(图1 I)的 $\mu$ 受体E 28出现,直至成年始终是均匀分布(图2 N)。灰度级在P 0前略有增加,P 0-P 10增加了40%,P 10-P 15增加了89%,P 15值已达成年的91%。

$\delta$ 受体与 $\mu$ 受体同时出现,也呈均匀分布(图2 O)。受体密度增加与 $\mu$ 受体相似,但数值低于 $\mu$ 受体。灰度级在P 0-P 10仅增加了25%,P 10-P 15则增加了98%。

海马结构(图1 J)的 $\mu$ 受体在刚出现时为均匀分布。P 10至成年,受体集中在齿状回颗粒层(图2 P)。 $\delta$ 受体P 0时呈均匀分布,P 15开始齿状回颗粒层和海马锥体层受体多于其他层,颗粒层密度最高(图2 Q)。灰度级成年时最高,且高于 $\mu$ 受体。

小脑皮层(图1 K)的 $\mu$ 受体E 28出现,均匀分布在皮层中。E 30起分子层受体密度增大,P 10后可清楚地看到 $\mu$ 受体在分子层最多,颗粒层次之,白质最少(图2 R)。灰度级在出生前略有增加,出生后增加很快,P 10值是P 0的3.4倍,是E 28的8倍。P 10后下降了约16%,这一水平持续到成年。 $\delta$ 受体P 10出现,受体密度约为 $\mu$ 受体的1/3。成年时可见受体在分子层和颗粒层分布大致均等,白质中没有。

脊髓(图1 L)处 $\mu$ 受体E 28可见。P 15出现背角胶质的受体高密度区(图2 S)。E 28-E 30,仅相隔2 d,灰度级增加了1倍,P 0下降,P 15时再次上升,达到成年值的89%。 $\delta$ 受体与 $\mu$ 受体相似,也是E 28出现,P 15形成背角胶质的高密度区。灰度级E 30是E 28的1.8倍,P 0-P 15增加较快,P 15值是P 0的4.2倍。

大脑皮层的 $\mu$ 受体出现于E 30,在各层中都有少而均匀的分布。P 5和P 15开始分别可见I和IV层受体多于其他层,P 40以后这一特征才较为明显。成年时可见 $\mu$ 受体在I和IV层较多,但仅局限于扣带回(图2 N, P)。 $\delta$ 受体在E 30刚出现时为均匀分布,P 15后出现II, III和V层的两条高密度带,中间的IV层受体密度较低。这一分布特征遍布皮层的各个区域,且密度很高,与 $\mu$ 受体在皮层的分布形成了鲜明的对照(图2 O, Q)。

兔 $\kappa$ 受体的发育情况因受实验条件限制,

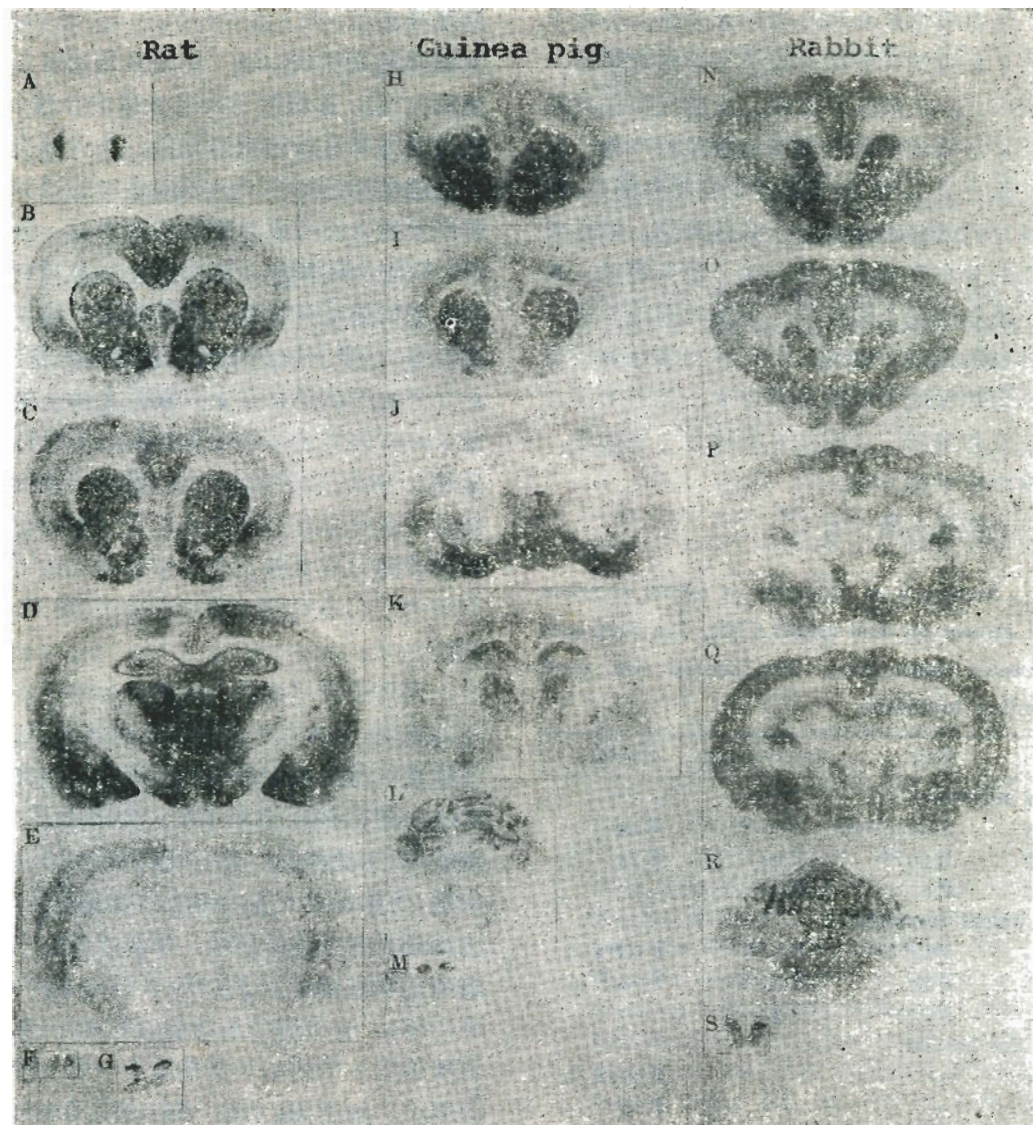


Fig 2. Autoradiograms of ontogeny of opioid receptors in rat, guinea pig and rabbit CNS. Coronal sections (10  $\mu$ m) were exposed to  $^3\text{H}$ -sensitive films for 10 (rats and guinea pigs) or 14 (rabbits) wk at 4°C. Differences in "darkness" between figures do not necessarily represent the quantitative differences. A-G: Rats. H-M: Guinea pigs. N-S: Rabbits. A, E 16/ $\mu$ . B, Adult/ $\mu$ . C, Adult/ $\delta$ . D, Adult/ $\mu$ . E, Adult/ $\delta$ . F, E 16/ $\mu$ . G, P 20/ $\mu$ . H, P 0/ $\mu$ . I, P 15/ $\delta$ . J, P 10/ $\mu$ . K, P 0/ $\delta$ . L, P 2/ $\kappa$ . M, P 0/ $\mu$ . N, Adult/ $\mu$ . O, Adult/ $\delta$ . P, Adult/ $\mu$ . Q, Adult/ $\delta$ . R, P 10/ $\mu$ . S, P 30/ $\mu$ .

未作观察。

**3种动物各脑区的比较** 纹状体是阿片受体密度最高, 出现最早的部位之一。 $\mu$ 、 $\delta$ 和 $\kappa$ 受体刚出现时都呈均匀分布, 以后大鼠和豚鼠的 $\mu$ 受体逐步形成斑块分布。阿片受体在海马结构的出现普遍晚于纹状体, 大鼠海马中主要是 $\mu$ 受体, 豚鼠和兔 $\mu$ 和 $\delta$ 都有,  $\delta$ 多于 $\mu$ 。

分布上大鼠 $\mu$ 受体主要位于海马锥体层和腔隙分子层及齿状回分子层, 其中CA 3处密度最高, 兔的 $\mu$ 和 $\delta$ 及豚鼠的 $\mu$ 受体主要在齿状回颗粒层, 兔 $\delta$ 受体在海马锥体层也有少量分布。豚鼠 $\delta$ 受体分布在锥体层、腔隙分子层及CA1和CA2区的辐射层。3种动物小脑的情况截然不同, 大鼠阿片受体极少, 豚鼠有较多的 $\kappa$

受体,兔有丰富的 $\mu$ 和少量的 $\delta$ 受体。分布上豚鼠的 $\kappa$ 和兔的 $\mu$ 受体都是分子层密度较高,颗粒层次之,白质几乎没有。大脑皮层在种系发生上是脊椎动物进化到高级阶段的产物,在个体发生上是CNS中最晚发育成熟的部位。阿片受体在此处的出现也晚于其他部位,具有成年特征的分布直到接近成年时才较为明显。 $\mu$ 受体主要集中在I和IV层,大鼠和豚鼠的这一特征遍布皮层各个区域,兔只在扣带回处较明显。大鼠和兔的 $\delta$ 受体主要在II, III和V层,豚鼠在V和VI层。大鼠的 $\kappa$ 受体在I层略多,豚鼠集中在V和VI层。

上述结果总结于表1。

Tab 1. Summary of ontogeny of opioid receptors in rat, guinea pig and rabbit CNS. The first ages are receptor appearance. The second are adult distribution formation.

	Rat	Guinea pig	Rabbit
<b>Corpus striatum</b>			
$\mu$	E16 <sup>(9)</sup> , P4 <sup>(9)</sup>	E 30, P0	E 28
$\delta$	E 20 <sup>(9)</sup>	E 45	E 28
$\kappa$	P 0	P 0	
<b>Hippocampal formation</b>			
$\mu$	P0, P 4 <sup>(10)</sup>	P0, P0	P 0, P 10
$\delta$	P 20	E 65, P 10	P 10, P 15
$\kappa$	Adult	P 2	
<b>Cerebellar cortex</b>			
$\mu$	—	—	E 28, E 30
$\delta$	—	—	P 10
$\kappa$	—	E 55, P 2	
<b>Spinal cord</b>			
$\mu$	E 16, P0	E 55, E 65	E 28, P15
$\delta$	P 8	E55	E 28, P 15
$\kappa$	P 4, P 12	P0	
<b>Cerebral cortex</b>			
$\mu$	P0, P12-P 20	E 55, P0	E 30, P5-P15
$\delta$	P8, P20	E 55, E65	E30, P15
$\kappa$	Adult	E 55, P0	

## 讨 论

若将胚胎期等分为早、中、晚三个阶段,豚鼠的阿片受体出现最早,属中期;大鼠次之,为中晚期;家兔最晚,临近出生。大鼠和豚鼠

同属啮齿目,但二者神经系统的发育相差甚远。大鼠胚胎期短(22 d),神经系统发育主要在出生后完成。豚鼠胚胎期是大鼠的3倍(67 d),出生前神经系统已相当完善,其大脑皮层发育在胚胎中期已相当于大鼠出生时的程度<sup>(12)</sup>。兔种系发生上比大鼠与豚鼠的关系远,但胚胎期(31 d)与大鼠相近,根据出生后发育的外观现象,如何时耳壳竖起,眼睛睁开,毛长齐,会爬行等,似乎其神经系统的发育与大鼠较接近。由于阿片受体是存在于突触膜上的一类蛋白大分子,在发育过程中神经细胞一系列的发生、迁移、分化、成熟和死亡现象很可能与阿片受体在数量和分布上的变化有关。我们认为大鼠、豚鼠和兔阿片受体发生上时间的先后不同似应归结为它们各自神经系统发育完善的程度不同。

阿片受体从出现到达到成年水平的方式,总的来说,兔 $\mu$ 和 $\delta$ 受体的发育变化过程相似,受体密度出生前略有增加,出生后增加较快,P 15一般已接近成年水平。豚鼠有些部位(如纹状体) $\mu$ 受体先出现,有些(如海马) $\delta$ 受体先出现,受体密度大多在出生后期高于成年期。大鼠总是 $\mu$ 受体先出现,但密度变化较复杂,既有出现后迅速达到成年水平的(如纹状体的 $\mu$ 受体),也有出生后逐渐达到成年水平的(如纹状体的 $\delta$ 受体)。 $\kappa$ 受体除在 $\mu$ 和 $\delta$ 受体缺乏的部位,如豚鼠小脑,一般出现得较晚。

在研究阿片受体个体发育的早期,很多实验都得出结论,认为受体的 $K_d$ 值不随年龄而变化。1985年对大鼠脑内阿片受体亚型分别加以研究后,发现 $\delta$ 受体的 $K_d$ 值P 7后下降,逐渐接近成年水平<sup>(15)</sup>。在本实验中,大鼠纹状体 $\delta$ 受体的灰度级P 8前基本无变化,P 8后快速上升。脊髓内的 $\delta$ 受体P 8出现。已知腺苷酸环化酶可促进大鼠 $\delta$ 受体与DADLE的结合,而该酶活性直至P 7后才可测得。综合上述实验结果,我们推测大鼠 $\delta$ 受体在胚胎和P7前以与DADLE结合较弱的构型存在。P7后腺苷酸环化酶出现,该酶诱导 $\delta$ 受体构型发生

变化, 与 DADLE 的结合增强, Kd 值降低, 在受体数量增加和结合力增强的双重因素作用下, 出现了 P 8 后灰度级的快速上升。

大鼠、豚鼠和兔都是研究阿片受体的常用动物, 不论在受体分布还是神经系统发育方面都有较明显的种属差异。选择这 3 种动物作阿片受体发育过程的比较, 除了能从发育生物学的角度进一步认识阿片受体的本质外, 受体的发生反过来又揭示了神经系统发育的某些特点, 并为神经药理学研究提供了药物作用最佳时机的一些参照依据。

**致谢** 中国科学院上海分院测试计算中心 孙炳荣同志和中国科学院上海光机所伍树东和陈仲裕同志提供光导摄像系统, 并帮助建立了测试条件。

### 参 考 文 献

- 1 Atweh SF, Kuhar MJ. Autoradiographic localization of opiate receptors in rat brain. I. Spinal cord and lower medulla. *Brain Res* 1977; 124 : 53
- 2 Atweh SF, Kuhar MJ. Autoradiographic localization of opiate receptors in rat brain. III. The telencephalon. *Ibid* 1977; 134 : 393
- 3 Meunier JC, Zajac JM. Cerebellar opiate receptors in lagomorphs. Demonstration, characterization and regional distribution. *Ibid* 1979; 168 : 311
- 4 Foote RW, Maurer R. Autoradiographic localization of opiate  $k$ -receptors in the guinea pig brain. *Eur J Pharmacol* 1982; 85 : 99
- 5 Goodman RR, Snyder SH.  $k$  opiate receptors localized by autoradiography to deep layers of cerebral cortex: Relation to sedative effects. *Proc Natl Acad Sci USA* 1982; 79 : 5703
- 6 Robson LE, Foote RW, Maurer R, Kosterlitz HW. Opioid binding sites of the  $k$ -type in guinea-pig cerebellum. *Neuroscience* 1984; 12 : 621
- 7 Gouarderes C, Cros J, Quirion R. Autoradiographic localization of mu, delta and kappa opioid receptor binding sites in rat and guinea pig spinal cord. *Neuropeptides* 1985; 6 : 331
- 8 Meunier JC, Kouakou Y, Puget A, Moisand C. Multiple opiate binding sites in the central nervous system of the rabbit. Large predominance of a mu subtype in the cerebellum and characterization of a kappa subtype in the thalamus. *Mol Pharmacol* 1983; 24 : 23
- 9 Kent JL, Pert CB, Herkenham M. Ontogeny of opiate receptors in rat forebrain: Visualization by *in vitro* autoradiography. *Dev Brain Res* 1982; 2 : 487
- 10 Unnerstall JR, Molliver ME, Kuhar MJ, Palacios JM. Ontogeny of opiate binding sites in the hippocampus, olfactory bulb and other regions of the rat forebrain by autoradiographic methods. *Ibid* 1983; 7 : 157
- 11 Kirby ML. Development of opiate receptor binding in rat spinal cord. *Brain Res* 1981; 205 : 400
- 12 Clendeninn NJ, Petraitis M, Simon EJ. Ontological development of opiate receptors in rodent brain. *Ibid* 1976; 118 : 157
- 13 Xu H, Chen J, Chi ZQ. Ohmefentanyl—a new agonist for  $\mu$ -opiate receptor. *Sci Sin[B]* 1985; 28 : 504
- 14 Slater P, Patel S. Autoradiographic localization of opiate  $\kappa$  receptors in the rat spinal cord. *Eur J Pharmacol* 1983; 92 : 159
- 15 Spain JW, Roth BL, Coscia CJ. Differential ontogeny of multiple opioid receptors ( $\mu$ ,  $\delta$  and  $\kappa$ ). *J Neurosci* 1985; 5 : 584

*Acta Pharmacologica Sinica* 1988 May, 9 (3) : 205-212

## Comparison of ontogenies of opioid receptors in rat, guinea pig and rabbit CNS by autoradiography

WANG Hong, YE Shu-Zhen, LI Gui-Fen, CHI Zhi-Qiang

(Shanghai Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 200031)

**ABSTRACT** The ontogeny of opioid receptors in rat CNS from E<sub>12</sub> to adult at 12

ages, in guinea pig from E<sub>30</sub> to adult at 12 ages and, in rabbit from E<sub>16</sub> to adult

at 13 ages were studied by autoradiography and gray scale measurement.  $\mu$ -binding sites labeled with [ $^3\text{H}$ ]ohmefentanyl or [ $^3\text{H}$ ](D-Ala<sup>2</sup>, MePhe<sup>4</sup>, Gly-ol<sup>5</sup>)enkephalin usually appeared earlier than  $\delta$ -binding sites labeled with [ $^3\text{H}$ ](D-Ala<sup>2</sup>, D-Leu<sup>6</sup>)enkephalin ( $\mu$ -binding was suppressed) and  $\kappa$ -binding sites labeled with [ $^3\text{H}$ ]etorphine ( $\mu$ - and  $\delta$ -binding were suppressed). Corpus striatum and spinal cord were the regions where opioid receptors appeared earlier with their densities higher than other regions. There were apparent species differences of the receptor sub-

types and receptor distributions in hippocampal formation and in cerebellum. Cerebral cortex was the area in which opioid receptors reached the adult level later than other regions.

**KEY WORDS** endorphin receptors; ontogeny; autoradiography; [ $^3\text{H}$ ]ohmefentanyl; [ $^3\text{H}$ ](D-Ala<sup>2</sup>, MePhe<sup>4</sup>, Gly-ol<sup>5</sup>)enkephalin; [ $^3\text{H}$ ](D-Ala<sup>2</sup>, D-Leu<sup>6</sup>)enkephalin; [ $^3\text{H}$ ]etorphine; central nervous system; species specificity