

精神分裂症患者脑脊液中内源性苯环利定样活性物质的含量¹

周光钊、龚大为、陆明康²、张樑栋²、姚景莉³、陆费汉倩³、高 慧、张安中 (上海医科大学神经生物学教研室, 上海 200032; ²上海精神卫生中心, 上海 200030; ³上海医科大学神经学教研组, 上海 200032)

提要 本文利用放射受体测定法测量精神分裂症和共济失调患者脑脊液中内源性苯环利定样活性物质(EPS)含量。结果发现精神分裂症患者脑脊液中EPS含量明显低于对照组; 共济失调患者脑脊液中EPS含量明显高于对照组。结果提示, EPS参与精神分裂症的病理生理过程, 并与运动功能有关。

关键词 苯环利定; 脑脊髓液; 放射配位体测定; 精神分裂症; 共济失调

1987年2月20日收稿 1988年5月27日接受

¹ 本文为中国科学院科学基金资助课题 No 3860990

苯环利定(phencyclidine, PCP)在五十年代曾被作为一个有前途的麻醉药应用于临床、但继而发现它能产生典型的精神分裂症症状而被淘汰, 现仅供兽医应用⁽¹⁾。在人和动物脑内有PCP受体^(2,3)。人额皮层中PCP受体密度最高, 海马次之; 大鼠以海马最高, 皮层次之⁽²⁾, 这种分布和它与精神活动有关一致。PCP受体被确认后, 国内外学者已分别从猪脑⁽⁴⁾和人脑⁽⁵⁾中提取到内源性PCP样活性物

质(endogenous phencyclidine-like substances, EPS)。

我们曾首次从人脑脊髓液(CSF)中提取到具有很强活性的EPS⁽⁶⁾。由于PCP对精神活动、血管和运动功能等有很强的药理效应,我们利用放射受体分析法,测定精神分裂症患者和共济失调患者脑脊髓液中EPS含量变化,以期观察EPS在精神分裂症和共济失调等疾病中所起的作用。

材 料 和 方 法

药品和标本 [³H]PCP (1776 GBq/mmol) 购自美国 New England Nuclear 公司, PCP 由本院药理学系药化教研组合成。12 名精神分裂症患者 11 女, 1 男, 平均年龄为 35 ± SD 7 岁 (26-49), 除 1 人外, 其余 11 人病程均长达 8-19 年。按照美国诊断统计手册第Ⅲ版 (Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, DSM-III) 诊断为精神分裂症, 属偏执型和未分化型有 10 人, 2 人为情感衰退型精神分裂症。10 名患外周神经炎或脊髓病变的神经科病人 (无任何精神活动异常, 也未曾服用过有关精神药物) 作为对照组, 6 男 4 女, 平均年龄为 40 ± 13 岁 (19-58)。

采集 CSF 当天, 病人静坐或静卧 0.5 h 以上, 于上午 8:30-9:30 进行腰穿手术。收集管事先放入干冰中冷却, CSF 直接滴入收集管, 同时用干冰保护, 置 -40℃, 然后冰冻干燥待测。

柱层析 CSF 干粉用适量 HAc 0.5 mol/L 复溶, 经 Sephadex G-25 fine 柱 (1.2 × 60 cm) 分离。利用 LKB 自动收集仪共收集 22 管, 每管 3 ml, 洗脱液为 HAc 0.5 mol/L, 流速 12 ml/h, 用 [³H]PCP 受体结合法测定活性, 在 17-21 管有一较大活性峰, 将 17-19 管合并后冰冻干燥待测, 20-21 管为盐峰。

脑匀浆制备 ♂ Sprague-Dawley 大鼠 175 ± 25 g, 断头, 剔除小脑和脑干后称重, 放在冰冷的 Tris-HCl 缓冲液 5 mmol/L 中漂洗

几次, 然后置于 1:50 (wt:vol) 冰冷的 pH 7.6 的 Tris-HCl 缓冲液 5 mmol/L 中, 用 Tekmar 匀浆器匀浆 15-20 s, 4℃ 18 000 × g 离心 10 min, 弃上清液, 沉淀用含有 KCl 100 mmol/L 的 Tris-HCl 缓冲液 5 mmol/L 混匀, 孵育 30 min 后, 4℃, 30 000 × g 离心 20 min。沉淀用 1:70 (wt:vol) Tris-HCl 缓冲液 5 mmol/L 洗两次, 4℃, 30 000 × g 离心 20 min, 弃上清液, 沉淀置 -20℃。临用前用含有蔗糖 50 mmol/L 的冰冷的 Tris 缓冲液 5 mmol/L 混匀, 稀释蛋白浓度至 8 mg/300 μl。每次测定时受体均新鲜制备。

[³H]PCP 受体结合试验 每个孵育管中包含 [³H]PCP 8.0 nmol/L, 新鲜制备大鼠突触膜匀浆 8 mg (湿重) 和待测样品或不同浓度非标记 PCP, 最终孵育体积为 500 μl。标准曲线各点均做 3 复管, IC₅₀ 为 442 ± 166 nmol/L。非特异结合通过加 PCP 50 μmol/L 测得, 总结合不加非标记 PCP。特异结合 cpm 为总结合 cpm 减去非特异结合 cpm。结合试验在冰浴中进行。样品孵育 45 min 后取出经 Whatman GF/C 玻璃纤维滤膜快速减压抽滤, 滤膜事先浸泡在 0.05% polyethylenimine 中 2 h, 抽滤时用冰冷的 Tris 缓冲液 5 mmol/L 快速冲洗两次, 每次 6 ml, 滤膜用红外线灯烘干, 然后放入盛有 5 ml 闪烁液 (TP 0.3%, POPOP 0.03%) 的计数杯中, 由 Beckman 液体闪烁计数器测

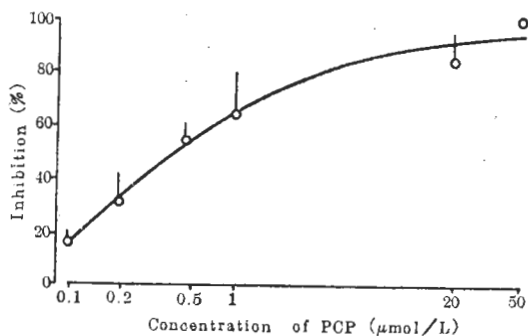


Fig 1. Standard curve of [³H]PCP (phencyclidine). IC₅₀ 442 ± 166 nmol/L, n = 5 expts, $\bar{x} \pm SD$.

定放射性(Fig 1)。所有待测样品均用适量 Tris 10 mmol/L 溶液调节 pH 至 7.0-7.6, 并由 Beckman system E-4 A 电介质分析仪测定孵育管中 Na^+ , K^+ 和 Cl^- 的浓度, 以排除 pH 和盐对受体结合试验的影响。

结 果

EPS 洗脱组分及活性 CSF 经 Sephadex G-25 fine 后, 利用受体结合试验, 观察到 17-21 管有一较大抑制峰, 其中 17-19 管为活性峰, 20-21 管为包含盐的组分(Fig 2)。

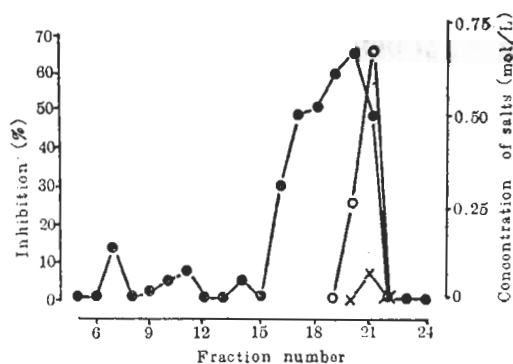


Fig 2. Active peaks and salt peaks screened by [^3H]PCP binding assay and salt analyzer respectively; (\bullet), [^3H]PCP binding displacing activity; (\circ) and (\times), concentration of Na^+ and K^+ .

精神分裂症患者与对照组腰穿 CSF 中 EPS 含量 由 Tab 1 可见精神分裂症患者 CSF 中 EPS 含量明显低于对照组, 分别为 187 ± 158 和 492 ± 224 pmol/ml CSF, ($p < 0.01$)。情感衰退型精神分裂症患者 CSF 中 EPS 含量明显高于对照组以及偏执型 + 未分化型, 相差均非常显著, $p < 0.01$ (表 1)。两例共济失调患者 CSF 中 EPS 含量明显高于对照组, $p < 0.01$, 参见表 1。

讨 论

精神分裂症病人 EPS 含量降低提示它与精神分裂症的病理生理过程有关。很多神经递质在脑室和脊髓 CSF 中含量不一, EPS 在从

Tab 1. Average contents of endogenous phencyclidine-like substances (EPS) in cerebrospinal fluid (CSF) of 10 schizophrenic patients and 10 patients with neurological diseases (control group). $\bar{x} \pm \text{SD}$. *** $p < 0.01$, vs control group, ††† $p < 0.01$ vs both control group and paranoid and undifferentiated group.

Patients	n	EPS (pmol/ml CSF)
Neurological Diseases		
Control	10	492 ± 224
Ataxia	2	$1422 \pm 288^{***}$
Schizophrenia		
Paranoid & undifferentiated	10	$187 \pm 158^{***}$
Deteriorated	2	$1158 \pm 115^{\dagger\dagger\dagger}$

脑室流经各脑区, 最后下至脊髓过程中会发生很多生理生化变化, 如吸收、降解等, 因此含量减少。此外精神分裂症病人由于长期服用抗精神病药物也可能引起 EPS 含量变化。原先我们还认为这些病人的病程除 1 人外, 均长达 8-19 yr, 可能因为脑萎缩, 脑室扩大引起 EPS 含量减少。经华山医院放射科 X 线断层扫描(CT), 除 2 人仅有轻度脑室扩大, 其它 10 人均在正常范围。2 人精神活动全面衰退, 对外界事物无明确反应, 表情呆板。病程长达 11 和 14 yr 的精神分裂症患者, CSF 中 EPS 含量很高, 它提示不同分型的精神分裂症发病机理可能不同, 值得注意。

共济失调患者 CSF 中 EPS 含量较对照组高, 提示 EPS 参与运动功能。我们曾给大鼠 ip PCP, 10 min 后即见大鼠呈醉酒态, 爬行时出现共济失调现象⁽⁷⁾, 支持这一结果。

由于情感障碍型病例和共济失调病例太少, 需作更多测定。

参 考 文 献

- Hollister LE. Pharmacology and toxicology of psychotomimetics. In: Hoffmeister F, Stille G, eds. *Psychotropic agents*. Berlin: Springer, 1982: 31-44. (Born GVR, Farah A, Herken H, Welch AD, eds. *Handbook of experimental pharmacology*; vol 55/III)

- 2 Sircar R, Zukin SR. Characterization of specific sigma opiate/phencyclidine (PCP)-binding sites in the human brain. *Life Sci* 1983; 33 (Suppl 1) : 259
- 3 Vincent JP, Kartalovski B, Geneste P, Kamenka JM, Lazduński M. Interaction of phencyclidine ("angel dust") with a specific receptor in rat brain membranes. *Proc Natl Acad Sci USA* 1979; 76 : 4678
- 4 Quirion R, DiMaggio DA, French ED, et al. Evidence for an endogenous peptide ligand for the phencyclidine receptor. *Peptides* 1984; 5 : 967
- 5 Lu WX, Lai QH, Lu RL, et al. An endogenous ligand from human brains for the phencyclidine receptor. *Chin J Physiol Sci* 1986; 2: 98
- 6 Zhou GZ, Gong DW, Jiang CC, et al. An endogenous ligand from human cerebrospinal fluid for the phencyclidine receptors. *Acta Pharmacol Sin* 1987; 8 : 110
- 7 周光钊、姜沧海、殷绍辉、孙庆葵。苯环利定对大鼠各脑区强啡肽 1-17 和强啡肽 1-8 免疫活性含量的影响。中国药理学报 1986; 7 : 491

Acta Pharmacologica Sinica 1988 Nov; 9 (6) : 515-518

Contents of endogenous phencyclidine-like substances in cerebrospinal fluid of schizophrenic patients¹

ZHOU Guang-Zhao, GONG Da-Wei, LU Ming-Kang², ZHANG Liang-Dong², YAO Jing-Li³, LU-FEI Han-Qian³, GAO Hui, ZHANG An-Zhong

(Department of Neurobiology, Shanghai Medical University, Shanghai 200032; ²Shanghai Mental Health Centre, Shanghai 200030; ³Department of Neurology, Shanghai Medical University, Shanghai 200032)

ABSTRACT The contents of endogenous phencyclidine-like substances (EPS) in the cerebrospinal fluid (CSF) of schizophrenic and ataxic patients were measured by a radioligand assay. The CSF of 10 schizophrenic patients and 10 non-schizophrenic patients (control group) suffering from peripheral neuritis, myelopathy, muscle-atrophy of the limbs and serious migraines were run through a Sephadex G-25 fine column. Fractions 17-19 were pooled and lyophilized for radioligand assaying. The results showed that the average content of EPS in CSF of schizophrenic patients was 187 pmol/ml CSF, a value which was lower than that of the control group (492

pmol/ml CSF, $p < 0.01$). The average content of the EPS (1159 pmol/ml CSF) in the CSF of 2 deteriorated patients and the average content of the EPS (1422 pmol/ml CSF) in the CSF of 2 ataxic patients were markedly higher than that of the control group ($p < 0.01$). This suggests that EPS may be involved in the pathophysiological process in schizophrenia and that it may play a role in locomotion.

KEY WORDS phencyclidine; cerebrospinal fluid; radioligand assay; schizophrenia; ataxia

¹Project supported by the Science Fund of the Chinese Academy of Sciences, No 3860990