

5-羟色胺与多巴胺系统相互作用的研究

刘兴党 林祥通

(上海医科大学华山医院 上海 201108)

匡琴芳 国毓智

吴春英

(上海欣科药业公司 上海 201108)

(无锡核医学国家重点实验室 无锡 214063)

摘要 2 β -甲酯基-3 β -(4-碘苯基)托烷(β -CIT)与多巴胺转运蛋白(DAT)、5-羟色胺转运蛋白(5-HTT)亲和力几乎相等,因此可用5-HT重摄取抑制剂氯米帕明来研究5-HT系统与DA系统间的相互作用。用过氧乙酸氧化碘标记法制备 ^{125} I- β -CIT。用不同剂量盐酸氯米帕明(0.25、0.5、1、1.5、2、2.5mg)研究对 ^{125} I- β -CIT脑内结合的影响,及同一剂量盐酸氯米帕明(1mg/0.4mL双蒸水)对 ^{125} I- β -CIT在脑内动态分布影响的结果表明:过氧乙酸氧化碘标记法标记率为54.70% $\pm$ 9.81%,反应时间为20—30min。HPLC及萃取分离纯化后的放化纯度(RCP)为99.33% $\pm$ 0.15%。不同剂量盐酸氯米帕明对 ^{125} I- β -CIT脑内结合的影响:注射盐酸氯米帕明小鼠的脑干、海马、大脑额叶、顶叶、颞叶、枕叶皮质对 ^{125} I- β -CIT摄取的%ID/g、T/CB-1值均比对照组低,且含5-HTT较多的区域的脑干、海马、额叶组织的%ID/g与对照组有显著性差异($P<0.01$)。纹状体区摄取 ^{125} I- β -CIT的%ID/g、T/CB-1值均比对照组高。实验中盐酸氯米帕明使小鼠脑对 ^{125} I- β -CIT摄取量均减少,除盐酸氯米帕明注射量2mg外,与对照组相比均有显著性差异($P<0.01$)。同一剂量盐酸氯米帕明对 ^{125} I- β -CIT在小鼠的脑皮质、海马,尤其脑干在不同时间点的%ID/g、T/CB-1值几乎均比对照组低,而纹状体(T/CB)-1值均比对照组高。5-HT重摄取抑制剂盐酸氯米帕明使 ^{125} I- β -CIT与DAT的结合增强,盐酸氯米帕明可使脑对 ^{125} I- β -CIT摄取量减少,其机理尚不清楚。此实验结果尚未见国外报道。

关键词 多巴胺转运蛋白(DAT), ^{125} I- β -CIT, 5-羟色胺转运蛋白(5-HTT), 氯米帕明

中图分类号 R817.1

5-羟色胺(5-HT)系统的功能与多巴胺(DA)系统的功能是密切相关的。2 β -甲酯基-3 β -(4-碘苯基)托烷(β -CIT)是一种可卡因衍生物,能与多巴胺转运蛋白(DAT)、5-羟色胺转运蛋白(5-HTT)、肾上腺素能转运蛋白(NET)等特异性结合^[1,2]。其中, β -CIT与DAT、5-HTT亲和力几乎相等,因此可用5-HT重摄取抑制剂氯米帕明来研究5-HT系统与DA系统间的相互作用。这将对于一些精神神经疾病机理的研究有重要价值。

1 材料与方法

1.1 材料

主要化学试剂为 β -CIT前体物,美国RBI公司;实验动物用昆明小鼠,雄性,体重23g左右。

1.2 方法

1.2.1 ^{125}I - β -CIT的制备。采用过氧乙酸氧化碘标记法。室温下,将 β -CIT前体物2—4 $\mu\text{g}/10\mu\text{L}$ 、0.5mol/L磷酸缓冲液150 μL 和 Na^{125}I 18.5—37MBq加入同一试管,最后加入过氧乙酸0.32%/100 μL 开始反应。约20—25min后加入10%亚硫酸氢钠100 μL 终止反应。反应液加入饱和碳酸氢钠1mL,调反应体系pH至碱性,乙醚1mL $\times$ 3萃取,过无水硫酸钠柱,氮气吹干,加无水乙醇溶解,测放化纯度(RCP)。

1.2.2 不同剂量盐酸氯米帕明对 ^{125}I - β -CIT脑内结合的影响。小鼠随机分组,每组小鼠($n=5$)分别于腹膜下注射不同剂量的盐酸氯米帕明(0、1.78、3.56、7.12、10.67、14.24、17.8mmol/L),5min后尾静脉注射 ^{125}I - β -CIT约0.055MBq/0.2mL双蒸水。对照组小鼠腹膜下注射0.4mL双蒸水后再注射 ^{125}I - β -CIT,均于 ^{125}I - β -CIT注射后2h将小鼠断颈处死,取脑组织,称重量,测放射性计数,计算并比较实验组与对照组的%ID/g及特异摄取率[(感兴趣组织放射性计数-小脑的放射性计数)/小脑放射性计数]即(T/CB)-1。

1.2.3 同一剂量盐酸氯米帕明对 ^{125}I - β -CIT在脑内动态分布的影响。每组小鼠($n=5$)腹膜下注射盐酸氯米帕明1mg/0.4mL双蒸水,5min后尾静脉注射 ^{125}I - β -CIT约0.055MBq/0.2mL双蒸水,对照组小鼠腹膜下注射0.4mL双蒸水后再注射 ^{125}I - β -CIT。分别于注射 ^{125}I - β -CIT后5、15、30、45、60min,2、4、6、8h将小鼠断颈处死,取脑组织标本,称重量,测放射性计数,计算并比较实验组与对照组标本的%ID/g及T/CB-1。

2 结果

2.1 ^{125}I - β -CIT的制备

过氧乙酸氧化碘标记法标记率为 $54.70\% \pm 9.81\%$,反应时间为20—30min。RCP为 $99.33\% \pm 0.15\%$ 。

2.2 不同剂量盐酸氯米帕明对 ^{125}I - β -CIT脑内结合的影响

图1、2显示注射盐酸氯米帕明小鼠的脑干(BS)、海马(H)、大脑额叶(FC)、顶叶(PC)、

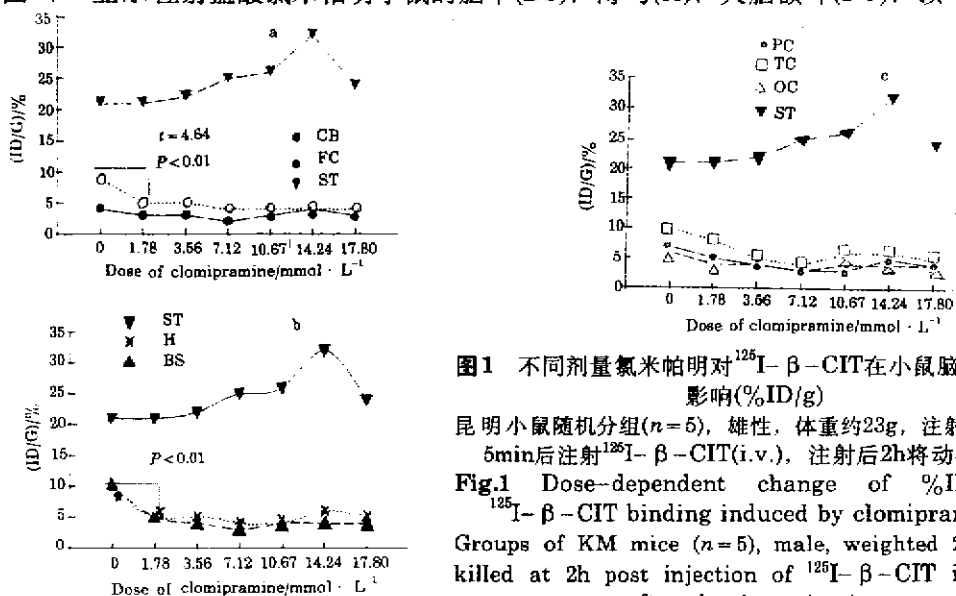


图1 不同剂量氯米帕明对 ^{125}I - β -CIT在小鼠脑内分布的影响(%ID/g)

昆明小鼠随机分组($n=5$),雄性,体重约23g,注射氯米帕明5min后注射 ^{125}I - β -CIT(i.v.),注射后2h将动物处死
Fig.1 Dose-dependent change of %ID/g in ^{125}I - β -CIT binding induced by clomipramine
Groups of KM mice ($n=5$), male, weighted 23g, were killed at 2h post injection of ^{125}I - β -CIT i.v. 5min after clomipramine i.p.

颞叶(TC)、枕叶皮质(OC)对 ^{125}I - β -CIT摄取的%ID/g、T/CB-1值均比对照组低,且含5-HTT较多的区域的脑干(BS)、海马(H)、额叶组织的%ID/g与对照组比较有显著性差异($P<0.01$),而顶叶、颞叶、枕叶皮质的%ID/g与对照组的差异不显著。

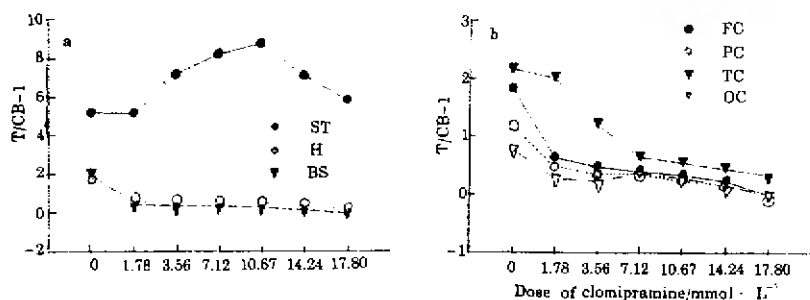


图2 不同剂量的氯米帕明对 ^{125}I - β -CIT在小鼠脑内分布的影响(T/CB-1)
昆明小鼠随机分组($n=5$), 雄性, 体重约23g, 注射氯米帕明5min后注射 ^{125}I - β -CIT(i.v.), 注射后2h将动物处死

Fig.2 Dose-dependent change of T/CB-1 in ^{125}I - β -CIT binding induced by clomipramine
Groups of KM mice ($n=5$), male, weighted 23g, were killed at 2h post injection of ^{125}I - β -CIT i.v. 5min after clomipramine i.p.

注射盐酸氯米帕明小鼠的纹状体区摄取 ^{125}I - β -CIT的%ID/g、T/CB-1值均比对照组高。盐酸氯米帕明注射量在0.25—2mg范围内, 纹状体对 ^{125}I - β -CIT摄取呈剂量依赖性增加, 盐酸氯米帕明注射量为2mg时, 纹状体(ST)的%ID/g、T/CB-1值与对照组有显著性差异($P<0.05$), 当盐酸氯米帕明注射量增至2.5mg, 纹状体摄取 ^{125}I - β -CIT的%ID/g、T/CB-1值增高不明显, 但仍大于对照组。注射盐酸氯米帕明后, 小脑组织对 ^{125}I - β -CIT摄取的%ID/g、T/CB-1值与对照组相比无明显差异。

注射盐酸氯米帕明后, 小鼠脑对 ^{125}I - β -CIT摄取量均减少, 除盐酸氯米帕明注射量2mg(14.24mmol/L)外, 与对照组相比均有显著性差异($P<0.01$)(图3)。

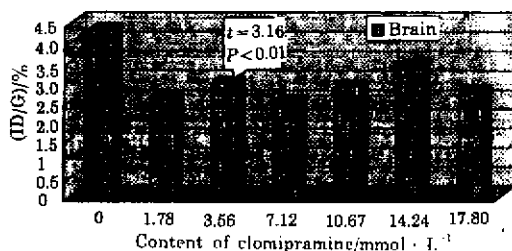


图3 氯米帕明对脑摄取 ^{125}I - β -CIT量的影响(%ID/g)

不同剂量(14.24mmol/L除外)的氯米帕明使脑摄取 ^{125}I - β -CIT的量, 与对照组相比, 有显著性差异

Fig.3 Effect of clomipramine on KM mice brain uptake of ^{125}I - β -CIT

Varied dose of clomipramine except for the dose of 14.24mmol/L had significant differences ($P<0.01$) in brain uptake of ^{125}I - β -CIT compared with controls

2.3 同一剂量盐酸氯米帕明对 ^{125}I - β -CIT在脑内动态分布的影响

注射盐酸氯米帕明小鼠的脑皮质、海马, 尤其脑干在不同时间点的 $\% \text{ID/g}$ 、 T/CB-1 值几乎均比对照组低, 而纹状体 T/CB-1 值均比对照组高(图4、5)。

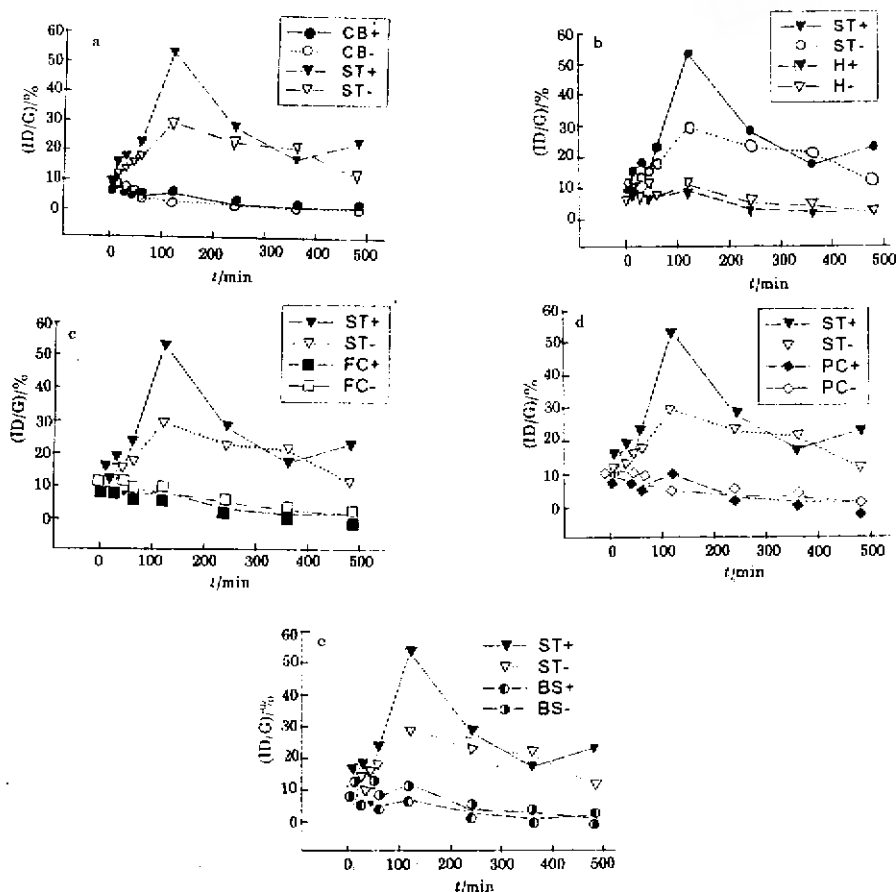
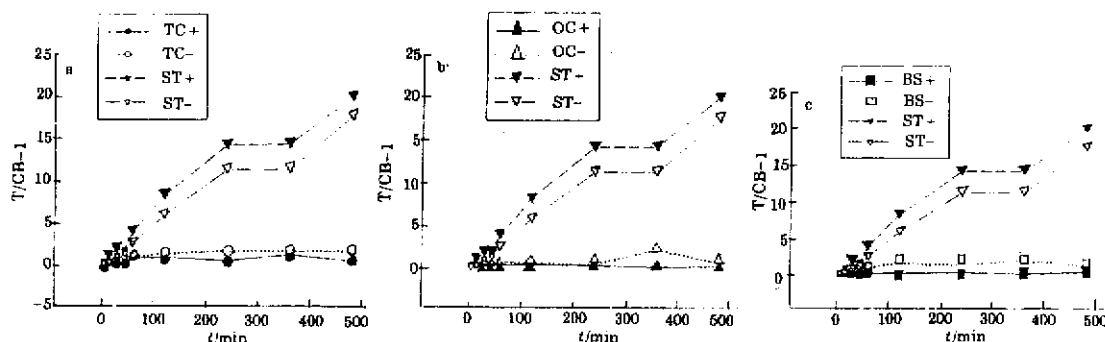


图4 氯米帕明对 ^{125}I - β -CIT在小鼠脑内动态分布的影响($\% \text{ID/g}$)

+ 注射氯米帕明, - 不注射氯米帕明

Fig.4 $\% \text{ID/g}$ change in ^{125}I - β -CIT binding induced by clomipramine

+ With clomipramine, - Without clomipramine



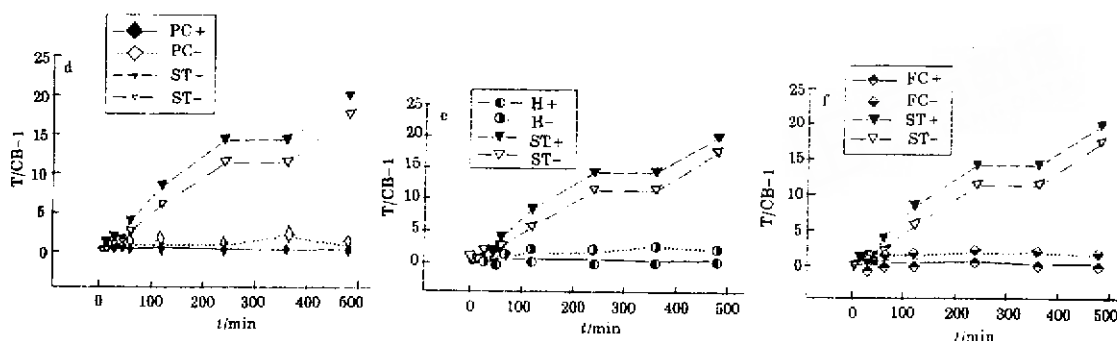


图5 氯米帕明对 ^{125}I - β -CIT在小鼠脑内动态分布的影响($T/BC-1$)
+ 注射氯米帕明, - 不注射氯米帕明
Fig.5 $T/BC-1$ change in ^{125}I - β -CIT binding induced by clomipramine
+ With clomipramine, - Without clomipramine

3 讨论

许多研究显示5-HT系统的功能与DA系统的功能是密切相关的。解剖学研究发现富有5-HT神经元的中脑缝核神经纤维投射到纹状体和黑质区, 电生理和神经化学研究显示这种投射主要起抑制作用。含5-HT的纤维可抑制纹状体细胞的激活, 5-HT可抑制色氨酸羟化酶的活性及纹状体突触小体中DA的释放, 但也有5-HT使DA释放增加的报道。

^{125}I - β -CIT与5-HTT、DAT的亲合力几乎相等, 它在体内、体外既与5-HTT结合又与DAT结合。脑干、海马、额叶皮质是 ^{125}I - β -CIT与5-HTT结合的代表区域, 纹状体是 ^{125}I - β -CIT与DAT结合的代表区域。本实验观察到治疗抑郁症的药物, 5-HT重摄取抑制剂盐酸氯米帕明使脑干等区域对 ^{125}I - β -CIT的摄取减少, 使纹状体区对 ^{125}I - β -CIT的摄取增加, 这可能是盐酸氯米帕明阻断了 ^{125}I - β -CIT与5-HTT的结合, 使 ^{125}I - β -CIT与DAT的结合相对增多了, 且盐酸氯米帕明使 ^{125}I - β -CIT的人脑量明显减少, 但纹状体区对 ^{125}I - β -CIT的摄取仍高于对照组。因此可以说5-HT重摄取抑制剂盐酸氯米帕明使 ^{125}I - β -CIT与DAT的结合增强。用此方法可探讨机体5-HT、DA系统相互作用及其异常^[3,4]。

盐酸氯米帕明对小脑的摄取无明显影响, 这说明小脑含5-HTT、DAT的量很小, 因此可以用小脑的放射性摄取作为非特异性摄取。

本实验结果显示盐酸氯米帕明可使脑对 ^{125}I - β -CIT摄取量减少, 但机理尚不清楚。

国外研究发现抑郁症、自杀、强迫观念等精神性疾病与5-HT异常有关。 ^{123}I - β -CIT SPECT初步研究显示, 抑郁症、自杀、强迫观念等患者的大脑皮质, 尤其额叶皮质放射性减低或接近本底水平, 提示5-HTT减低。焦虑患者则表现为额叶皮质放射性明显增高^[5]。尸解发现PD患者纹状体5-HTT明显减少。

目前, 已用PET显像进行黑质-纹状体DA、 γ -氨基丁酸(GABA)、乙酰胆碱等系统相互作用的研究。对于各种神经生理及精神疾病状态下神经递质间的相互作用的异常了解尚不多。本研究可作为一种方法来了解5-HT、DA系统间的相互作用, 另外, 该实验提示我们

今后临床对患者进行 ^{123}I - β -CIT SPECT显像时, 要注意患者有无盐酸氯米帕明等药物治疗史。患者的情绪、疼痛等因素对 ^{123}I - β -CIT SPECT显像结果亦有影响。

参 考 文 献

- 1 Neumeyer J L, Tamagnan G, WANG S, *et al.* J Med Chem, 1996, 39:543-548
- 2 Neumeyer J L, WANG S, GAO Y, *et al.* J Med Chem, 1994, 37:1558-1561
- 3 Fujita M, Takatoku K, Matoba Y, *et al.* Eur J Nucl Med, 1996, 23:431-436
- 4 Fujita M, Takatoku K, Matoba Y, *et al.* Eur J Nucl Med, 1997, 24:403-408
- 5 Kuikka J T, Tiihonen J, Bergstrom K A, *et al.* Eur J Nucl Med, 1995, 22:346-350

A study on the interaction between serotonin and dopamine system

LIU Xingdang LIN Xiangtong

(HuaShan Hospital, Shanghai Medical University, Shanghai 201108)

KUANG Qinfang GUO Yuzhi

(Shanghai Syncor Pharmaceutical Co. Ltd, Shanghai 201180)

WU Chunying

(State Key Laboratory of Nuclear Medicine, Wuxi 214063)

Abstract

To investigate the effect of serotonin uptake inhibitor, clomipramine, on binding of dopamine transporter ligand ^{125}I - β -CIT in mouse brain. Dose-dependant changes in ^{125}I - β -CIT specific binding induced by clomipramine were studied in the striatum (rich in DAT), frontal cortex and brain stem (rich in 5-HTT). Changes in the time-activity curves of ^{125}I - β -CIT specific binding after clomipramine injection were also examined. The specific binding of ^{125}I - β -CIT in brain stem, hippocampus, frontal cortex was inhibited significantly (vs controls $P<0.01$), while the binding in the striatum was greater than controls. The binding in brain stem, frontal cortex and hippocampus were inhibited at all time points (from 5 minutes to 8h), while the binding in the striatum were enhanced from 5min to 8h except at 6h. Enhancement of ^{125}I - β -CIT binding in the striatum after clomipramine treatment indicates there was the possibility of interaction between serotonin and dopamine system. The uptake of ^{125}I - β -CIT in brain is reduced by clomipramine administration and this result has not yet reported in literatures.

Key words Dopamine transporter(DAT), ^{125}I - β -CIT, Serotonin transporter (5-HTT), Clomipramine