

丘脑下部促黄体素释放激素

中国科学院北京动物研究所内分泌室多肽激素组

在极为复杂的生殖过程中,垂体功能的重要性,早已为大家所熟悉。而垂体前叶促性腺激素受到丘脑下部激素的控制,是在最近几年来才研究较多,而且进展很快。本文综合国际上有关丘脑下部促黄体素释放激素的研究资料,和国内研究情况,作一简单的介绍。早在1945年英国的哈里斯(Harris)根据生理实验提出,丘脑下部的神经细胞,分泌一些化学物质,控制垂体前叶的活动。但确实分泌那些化学物质,直至最近几年,才得到了若干种的分离纯化。目前已经知道在丘脑下部至少有10种释放和抑制激素,它们都是多肽激素,分别控制垂体各种激素的分泌活动。根据对天然释放激素的研究,其中有些已测定分子结构,并能人工合成,成为内分泌领域的重大进展之一。由于这类激素容易大量合成,种属差异性小,所以在医学临床和畜牧业上的应用将会展开新的一页。近年来对促黄体素释放激素研究很多,主要原因之一,是由于它关系到控制人类生殖问题,包括治疗不育和节制生育两个方面,有人称此激素为“生殖的枢纽”。

促黄体素释放激素以“LRF”或“LRH”来代表,“RF”是代表释放因子,“RH”是代表释放激素,而“L”是代表垂体促黄体素。由于天然的和合成的十肽促黄体素释放激素,能刺激垂体前叶促黄体素和促滤泡素的释放,因此有人建议取名为促黄体素释放激素/促滤泡素释放激素(LH-RH/FSH-RH)。

一、促黄体素释放激素的分离、结构和合成

在60年代科学工作者经过很大努力,用十六万五千个猪的丘脑下部为原料,经由12步分离和提取程序,获得了有高活性的纯品,经过分析,知道它是由10个氨基酸组成,其排列次序是:(吡咯环)谷-组-色-丝-酪-甘-亮-精-脯-甘(酰胺)。在阐明了结构后,很快就进行了人工合成,不仅合成了天然的十肽促黄体素释放激素,而且也合成了大量具有不同活性的促黄体素释放激素的类似物。

二、促黄体素释放激素的生理作用

(一)刺激垂体释放促黄体素和促滤泡素 实验证

明天然和合成的十肽促黄体素释放激素,对人和各种动物(包括大白鼠、豚鼠、金黄地鼠、鸡、羊、牛、猪、猴、鱼等)都有效应。一般在注射15分钟后,血液中促黄体素就升至高峰,30分钟后血液中促滤泡素升至高峰。不论那种途径给药都有作用,但给药方式不同,所用剂量也不同。例如,对人采用口服、滴鼻和阴道内给药,剂量高,一般为毫克水平;静脉、肌肉和皮下注射所需剂量就低,一般在毫微克水平和微克水平。

(二)刺激垂体促黄体素和促滤泡素的合成作用 在离体雌性大白鼠垂体前叶培养中,加入微克量的猪促黄体素释放激素,每天两次,连续三天,可观察到促黄体素和促滤泡素的释放量明显增加,垂体组织和它的培养液中的这两种激素总量超过了对照组。在培养液中加入氘标记氨基酸葡萄糖,并掺入促黄体素的量也明显增加,显示出有新合成的激素。实验表明,促黄体素释放激素,不仅刺激垂体促黄体素和促滤泡素的释放,而且诱导这两种促性腺激素的合成。此外,用电子显微镜观察,在促黄体素释放激素作用下,大白鼠垂体促性腺激素细胞的分泌颗粒增加,这也证明了它的合成作用。

(三)刺激排卵 实验证明天然的和合成的促黄体素释放激素,能刺激某些闭经妇女和各种动物(金黄地鼠、辜酮不育鼠、兔、羊、鸡、水貂和鱼等)排卵,在20多年前,有人用电刺激兔丘脑下部的腹侧,其卵巢就产生大的滤泡,并排卵。这现象被认为是电刺激激发了丘脑下部促黄体素释放激素的释放。从而引起垂体促黄体素和促滤泡素的分泌,使卵巢滤泡成熟而排卵。这一假设为人工注射促黄体素释放激素激发兔排卵而得到证实。对新生5天之内雌性大白鼠,一次注射丙酸辜酮(50微克—1.25毫克),当性成熟后诱发成为持续发情而不排卵的动物。这种动物所受的损伤是阻断了排卵前促黄体素释放激素从丘脑下部正中隆起的释放。在给这种动物注射不同剂量的促黄体素释放激素后,52头辜酮不育鼠中有27头排卵,而不注射释放激素的对照动物则没有排卵,它们的卵巢含有很多滤泡,但没有黄体。

合成的促黄体素释放激素也可诱导羊排卵。在动情期静脉注射50微克促黄体素释放激素,虽然血液中促黄体素和促滤泡素可以增加,但不排卵。当给静脉注射150微克或300微克促黄体素释放激素,则在

2—5 天内排卵, 排卵的发生是与促黄体素增加的程度有关。

此外, 给鸡静脉注射 5—20 微克促黄体素释放激素, 也能促使鸡早熟排卵。我们在鱼类的繁殖季节, 用适当剂量的合成的促黄体素释放激素, 即可催情排卵, 并孵化成苗, 同样, 我们在水貂上试用也有同样效用。

在各种动物试验中指示, 不同种动物对促黄体素释放激素诱发排卵的敏感性不同, 使大白鼠产生 100% 排卵的最低有效剂量是 1 微克(3.7 微克/每公斤体重), 金黄地鼠是 0.01 微克(0.11 微克/每公斤体重), 兔是 2.5 微克(0.88 微克/每公斤体重), 由此说明金黄地鼠最敏感, 兔其次, 大鼠较差。

(四) 促进精子形成 雄性大白鼠去掉垂体, 再把垂体移至肾脏被膜下, 然后用促黄体素释放激素处理, 在给药后二个月精子生成明显有所促进, 而对照组辜丸组织严重退化。给无精子病人注射促黄体素释放激素 6 个月。也可使精子数量增加。

(五) 性类固醇激素对促黄体素释放激素作用的影响 很多实验证明, 促黄体素释放激素和性类固醇激素在调节垂体前叶分泌促黄体素和促滤泡素方面起着重要的作用。这个调节作用很复杂, 而对控制生育有重要意义, 但到现在还不能完全阐明。

性类固醇激素主要是指卵巢分泌的孕激素和雌激素, 睾丸分泌的雄性激素。去卵巢的大白鼠, 给口服避孕药(含雌激素和孕激素) 1—20 毫克, 不能抑制促黄体素释放激素刺激垂体释放促黄体素和促滤泡素的作用。在用避孕药后, 使血浆促黄体素降低至基础水平的 1/3 后, 再给促黄体素释放激素, 血浆促黄体素恒定地升高 3—13 倍。这些实验说明性类固醇激素并不能阻断促黄体素释放激素刺激垂体释放促黄体素和促滤泡素的作用。但是在正常雌大白鼠, 先给较大剂量孕酮(25 毫克), 48 小时后从颈动脉注射或垂体内灌注促黄体素释放激素, 就会降低其作用, 但并不能完全阻断其作用。同样, 给动情期兔注射孕酮, 可部分阻止促黄体素释放激素引起的促排卵作用。如在兔的实验中, 实验前不用孕酮处理, 则垂体灌注 0.2 微克促黄体素释放激素, 都出现排卵反应, 在给促黄体素释放激素前 15—19 小时, 用 2 毫克孕酮处理, 则仅有 6 只排卵, 当促黄体素释放激素剂量增加到 1 微克时, 则可不受孕酮影响而排卵。雌激素的作用与孕酮作用不同, 小剂量雌激素对正常雌大白鼠, 可以增加其垂体对促黄体素释放激素的敏感性。如在羊的实验中, 给乏情期母羊注射 250 微克或 500 微克苯甲酸雌二醇, 20 小时后再给 30 微克促黄体素释放激素, 则血液中促黄体素大量增加, 实验结果说明雌激素能部分增加促黄体素的释放。总之, 垂体对促黄体素释放激素的反应, 和继之而引起的促黄体素和促滤泡素水平变化, 可能是由于类固醇激素水平的改变而产生。

三、促黄体素释放激素类 似物的研究

1971 年以来, 国外已合成了大量的与天然十肽促黄体素释放激素结构非常相似的化合物。合成类似物的主要目的是研究促黄体素释放激素的分子结构和功能的关系。拮抗物可以成为天然促黄体素释放激素的抑制物, 进而抑制或减少垂体释放促黄体素和促滤泡素, 对临床节制生育, 有可能开辟出一条新途径。目前虽然已合成了数百种类似物, 有的活性很强, 也有的有抑制作用, 但还没有找到一种理想的可以应用到节制人生育的拮抗物, 这方面, 有待进一步探索。

激素活性与其分子结构之间的关系, 是十分错综复杂的, 但是从目前已合成的大量类似物的结构和功能研究中, 初步得到一些规律认为: (1) 在分子氨基末端环化的羧基酰胺, 对促使垂体释放促黄体素和促滤泡素, 有重要作用; (2) 分子中组氨酸的咪唑基, 不是关系到具有活性的本质问题, 但有助于活性的提高; (3) 分子中丝氨酸的羟基, 对活性并不重要, 去掉丝氨酸的类似物仍有活性; (4) 分子中亮氨酸的侧链, 有助于与细胞膜上的受体结合; (5) 分子中精氨酸的胍基对促黄体素释放激素的活性有重要意义; (6) 激素分子整个链的长短, 在与受体结合的程度, 起着重要作用。

四、促黄体素释放激素的 作用原理

为了更有效地应用促黄体素释放激素, 去控制人类生育和提高经济动物的繁殖, 必然要了解促黄体素释放激素, 在生物体内是如何作用的。综合国外在这方面的研究, 可分为三个方面的内容:

(一) 促黄体素释放激素在体内的代谢途径 用氘标记纯化的促黄体素释放激素, 给雌性大白鼠注射 1 个微居里, 发现它从循环系统中消失很快而分布到有关组织中, 注射后 60 分钟, 尿中只有 15% 的放射活性, 在松果体, 垂体前叶, 垂体后叶放射活性积累最高, 而在丘脑下部和肌肉组织中并无积累。由于促黄体素释放激素作用于垂体, 可以预料放射活性作用在这一器官, 但在松果腺中为什么有显著积累? 有人推测在丘脑下部和松果腺之间, 有某种形式的负反馈作用, 目前已经知道松果腺能产生抗促性腺激素的物质, 而且证明抗促性腺激素物质的作用部位是在丘脑下部正中隆起。这说明了松果腺与丘脑下部有关系, 但两者在复杂的生殖过程中究竟是什么关系, 需要进一步研究。

(二) 促黄体素释放激素与环-磷酸腺苷的关系 大白鼠垂体前叶体外培养, 每毫升培养液中加入 20 毫

微克人工合成促黄体素释放激素,在90分钟后发现细胞内环-磷酸腺苷浓度增加,同时促黄体素和促滤泡素量也增加,3½小时后,环-磷酸腺苷的积累量,较对照组高三倍。实验还证明了环-磷酸腺苷的增加是由于垂体促黄体素和促滤泡素的分泌细胞中腺苷环酶被激活,而不是抑制了分解环-磷酸腺苷的磷酸二酯酶的活性。这样明确了丘脑下部促黄体素释放激素作用于垂体释放促黄体素和促滤泡素,是通过腺苷环酶和环-磷酸腺苷系统来调节的。

(三)促黄体素释放激素与垂体的结合部位 用氘标记的促黄体素释放激素作试验,证明了大白鼠垂体细胞膜上,确有与促黄体素释放激素结合的专一受体。还证明了垂体细胞膜有两种促黄体素释放激素的受体,一种是亲和作用高的受体,一种是亲和作用低的受体。为什么要有两种受体?低亲和作用受体的生物学作用又是什么?这些问题还都是不清楚的。

五、促黄体素释放激素的临床研究

早在1968年,国外已有人用天然的丘脑下部促性腺释放激素,进行临床研究。当1971年人工合成获得成功,促黄体素释放激素的临床研究就更广泛的开展起来。主要包括两个方面:(一)用于诊断丘脑下部和垂体功能;(二)用于治疗女性和男性的不孕症。

在诊断方面,给促黄体素释放激素后,测定血液中促黄体素和促滤泡素量的变化,作为判断丘脑下部和垂体病变的依据。例如给患性腺机能减退病人静脉注射促黄体素释放激素,第一次试验是一次注射激素,血液中促黄体素和促滤泡素都明显增加,但增加量不超过正常人的基础水平。第二次试验每天肌肉注射激素,然后给静脉注射一针,则其血液中促黄体素和促滤泡素水平,与第一次试验后的水平相同,这个试验结果说明患者对外源促黄体素释放激素反应很小,说明患者的疾病不仅因长期缺乏释放激素,而且还因丘脑下部和垂体都有病。另一试验测定无月经妇女的垂体功能,分析这种病人有四种类型;I型病人血液促黄体素水平正常,给促黄体素释放激素后,血液促黄体素显著上升,给诱导排卵药克罗咪芬(cloimiphene)后,排卵者占80%,此型病人垂体功能正常。II型病人血液

促黄体素水平也正常,给促黄体素释放激素后,血液促黄体素增加量较I型病人低,给诱导排卵药克罗咪芬后,排卵者只占14%,此型病人垂体功能不太正常。III型病人血液促黄体素水平很低,给促黄体素释放激素后,血液促黄体素增加量很少,给诱导排卵药克罗咪芬后,极少有排卵反应,此型病人垂体功能不正常。IV型病人血液促黄体素水平很高,给促黄体素释放激素后,没有稳定反应,给诱导排卵药克罗咪芬和绒毛膜促性腺激素后,不排卵,此型病人不仅垂体功能不正常,卵巢功能也不正常。

这样的方法是诊断丘脑下部、垂体、卵巢功能的一种重要的方法。

促黄体素释放激素在治疗不育症方面有一定效果,下面举几个病例来说明:一名患继发性闭经症妇女,给静脉灌注促黄体素释放激素24小时,几天内确诊排卵并怀孕。13名因丘脑下部疾病引起不排卵的病人,用促黄体素释放激素治疗,不论用静脉灌注或用肌肉注射,有6名治疗后引起排卵,其中2名怀孕。4名无精子病人,给促黄体素释放激素治疗6个月,其中3名病人精子数量增加。有6名精液缺乏和精子量少的病人,给促黄体素释放激素治疗,其中3名治疗后精子数量增加。从上述治疗结果看,促黄体素释放激素,在治疗男性或女性不孕症方面,有一定疗效。

此外,在这里还值得提到的是促黄体素释放激素抗体的临床应用,已有一些希望。因为它的抗血清已在兔、豚鼠上得到。用雄兔进行试验,促黄体素释放激素的抗体,可使兔睾丸萎缩,睾丸重量减少,睾丸精细管萎缩,精子不能生成,垂体中促黄体素量减少。这种纯化的动物促黄体素释放激素的抗血清,能否在人用作避孕新途径,尚需考虑其安全问题。

总之,丘脑下部促黄体素释放激素的特点是:具有高活性,较易大量合成,种间差异性较小,分子小,不致在体内产生抗体而使它疗效递减,它能促使体内自身调整,可避免副作用。因此,它将在医学临床和经济动物繁殖方面的应用,将具有新的广阔的前景。如果一旦找到它的拮抗物,那么在人的节制生育方面的研究,也将开辟一条新途径。随着对丘脑下部促黄体素释放激素的作用原理,结构与功能等方面的深入研究,必将有利于阐明复杂的生殖过程的内在规律性,以利于更有成效地控制人类生殖和促进经济动物的繁殖。