

丹氏鰐(*Zacco temminki*)黑色素细胞 肾上腺素受体的研究

余 国 勇

(华东师范大学生物系 上海 200062)

摘要 本文报道了丹氏鰐(*Zacco temminki*)黑色素细胞肾上腺素受体的特性。实验在 60 条鱼上进行, 分别在 4—11 月随机抽采体侧黑色斑纹处的鱼鳞。使用苯肾上腺素、甲氧明、肾上腺素、去甲肾上腺素、 α_2 苯甲唑啉、可乐啉等受体激动剂, 以及柯楠次硷、育享宾等受体拮抗剂, 分析其受体特性。发现黑色素细胞颗粒凝结的肾上腺素受体为 α_2 型, 而颗粒扩散的肾上腺素受体为 β_1 型或与 β_2 型混合型。

关键词 黑色素细胞 激动剂 拮抗剂 亚型 受体

变温脊椎动物的体色变化是由于皮肤中的色素细胞的运动所致, 是色素颗粒在细胞内凝结和扩散的结果。它受神经系统和内分泌系统调节。研究表明, 多数鱼类色素细胞受肾上腺素能神经(交感神经节后纤维)支配, 其递质属去甲肾上腺素, 当其作用于 α 受体时, 色素颗粒产生凝结(藤井良三等, 1986)。而鱼黑色素细胞的凝结和扩散, 则是分别由递质作用于 α 型和 β 型肾上腺素能受体所致(伊贺哲郎等, 1980、1983)。本实验将进一步研究引起色素颗粒凝结和扩散的这两种受体的亚型。

1 材料和方法

实验用 60 条丹氏鰐, 采集于日本海岛根县松江市的淡水河中, 体长 7—13cm。

生理盐水溶液: NaCl 128mmol/L, KCl 2.6mmol/L, CaCl₂ 1.8mmol/L, Tris-HCl 缓冲液 5mmol/L,

pH = 7.2 (R)

KCl 溶液: 1/7.5mol/L KCl (K)

实验用药物:

去甲肾上腺素(Noradrenaline, NA)

心得安(Propranolol, PRO)

苯肾上腺素(Phenylephrine, PHE)

羟甲异丁肾上腺素(Salbutamol, SAL)

可乐啉(Clonidine, CLO)

柯楠次硷(Corynanthine, COR)

美托洛尔(Methoxamine, MET)

丁氧胺(Butoxamine, BUT)

肾上腺素(Adrenaline, A)

异丙肾上腺素(Isoprenaline, ISO)

甲氧胺(Methoxamine, MEX)

苯苄胺(Phenoxybenzamine, PB)

苯甲唑啉(Naphazoline, NAP)

育享宾(Yohimbine, YOH)

多丁胺(Dobutamine, DOB)

以上药物均系 Signe 公司(USA)产品, 药物稀释液均用生理盐水溶液, 室温 18.0—25.0℃。

1.1 药物对黑色素细胞的作用

取鱼体两侧黑色条纹处鱼鳞数枚, 浸入注满生理盐水的液槽中, 在解剖显微镜下将其分开。取一枚固定于载玻片上, 15min 后镜检。首先, 用毛细吸管抽完水槽中的全部生理盐水, 迅速注入 KCl 溶液, 黑色素细胞逐渐凝结, 3min 后呈完全凝结状态。其次, 再抽去全部 KCl 溶液, 换注生理盐水, 黑色素细胞又开始扩散, 12min 后恢复原来完全扩散状态。最后按

收稿日期: 1995-08-08, 修回日期: 1996-03-25

下列顺序加用实验药物,观察色素细胞的活 动。即: *

药物: R → K → R → 10^{-9} mol/L NA → 10^{-8} mol/L NA 10^{-4} mol/L
Min: 15 3 12 6 6 6

1.2 拮抗剂对黑色素细胞的作用

药物: R → K → R → 拮抗剂 → 5×10^{-7} mol/L NA 10^{-4} mol/L
Min: 15 3 12 6 6 6

1.2.1 前处理法(NA 在拮抗剂前使用)

药物: R → K → R → 5×10^{-7} mol/L NA → 拮抗剂 10^{-4} mol/L
Min: 15 3 12 6 6 6

1.2.2 共存法(拮抗剂合并 NA)

药物: R → K → R → 拮抗剂 + 5×10^{-7} mol/L NA 10^{-4} mol/L
Min: 15 3 12 6 6 6

2 结 果

黑色素细胞因 K⁺刺激而产生颗粒凝结,其凝结反应主要是由于 K⁺促使支配神经末梢释放 NA,NA 介导 NA 受体而产生的。图 1A 显示,加入苯苄胺(PB),凝结反应完全被抑制;B 显示加入心得安(PP)则无影响,苯苄胺为 α 受体阻断剂,而心得安则为 β 受体阻断剂。可见,这一凝结反应的受体为 α 型。

图 2 为黑色素颗粒与肾上腺素激动剂浓度的关系,由图可见,肾上腺素 α_2 受体激动剂 NAP、NA、A 在较低的浓度时,即可导致细胞黑色素颗粒的凝结,而肾上腺素 α_1 受体激动剂 MEX、PHE 和 CLO 要在较高浓度时才能引起黑色素颗粒的凝结,它们导致黑色素颗粒凝结的效率为: NAP > NA > A > CLO > MEX > PHE > ISO。

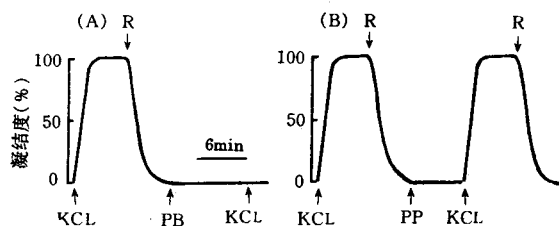


图 1 丹氏蠼黑色素细胞 kcl 凝结反应及 α 拮抗剂(A)、 β 拮抗剂(B)的作用

PB: 苯苄胺(10^{-6} mol/L) PP: 心得安(10^{-8} mol/L)

* → 为实验药替换, 为不同浓度的药物。

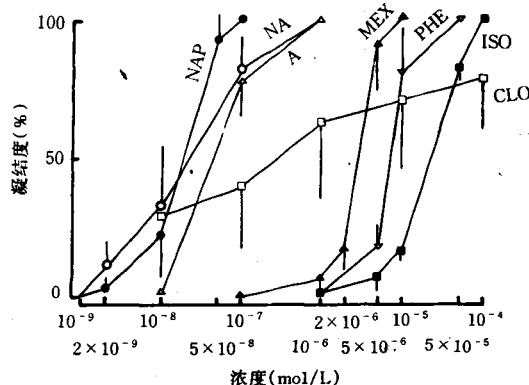


图 2 不同种类的肾上腺素受体激动剂与黑色素细胞颗粒凝结的关系,平均值与标准差(n=10)

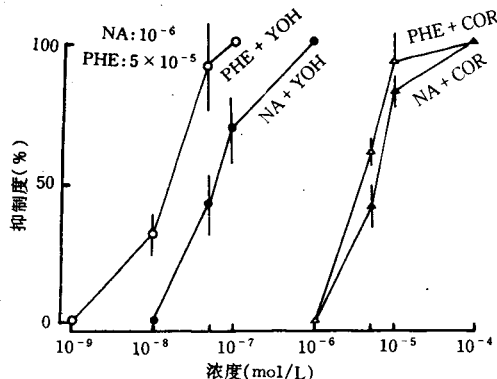


图 3 受体拮抗剂对黑色素颗粒凝结的作用,平均值与标准差(n=10)

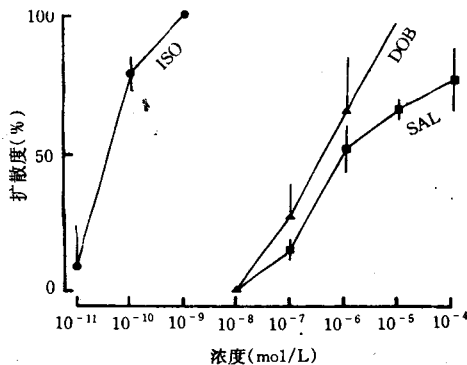


图4 β 激动剂对丹氏黑色素颗粒的扩散作用,
平均值和标准差 ($n=10$)

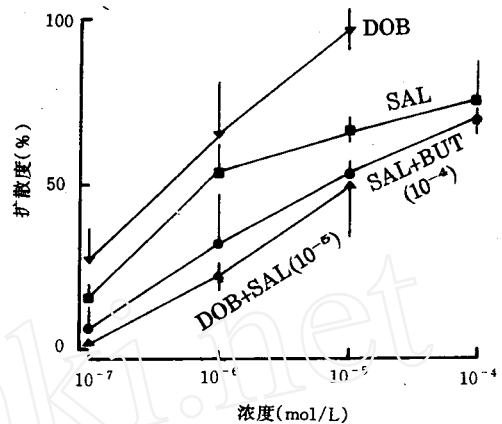


图6 β 激动剂 DOB、ISO 对黑色素颗粒扩散反应的作用及 BUT、SAL 拮抗剂的影响

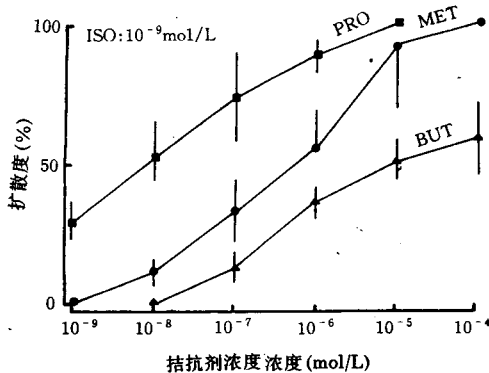


图5 心得安对黑色素颗粒扩散反应的作用及 β 受体拮抗剂的影响

图3是以NA合并 α_1 、 α_2 阻断剂,进行共存法凝结抑制试验的结果。由图可见, α_2 阻断剂YOH较 α_1 阻断剂COR更为有效,说明引起丹氏黑色素颗粒凝结的 α 受体为 α_2 亚型。

图4为 β 激动剂对黑色素颗粒扩散作用的影响。由图可见,激动剂ISO作用最为显著,其次是DOB和SAL。

BUT为 α_2 的阻断剂,它的浓度比 β_1 阻断剂PRO浓度高10倍,即在 10^{-4} mol/L时,其扩散度也仅达到60%见图5。由此可见,黑色素颗粒扩散的 β 受体很可能为 β_2 亚型或者为 β_1 与 β_2 的混合型见图6。

3 讨论与小结

使用氯化钾或儿茶酚胺类药物可引起鱼黑色素细胞颗粒的凝结反应。采用肾上腺素能受体特异性阻断剂实验证明,此肾上腺素能受体为 α 型(伊贺哲郎等,1980)。Andersson(1984)和森下(1988)等,分别使用肾上腺素能受体 α_1 和 α_2 的激动剂、阻断剂,对数种硬骨鱼类黑色素细胞肾上腺素能受体性质研究证实,上述 α 型受体属 α_2 亚型。本实验继伊贺哲郎后进一步证明,引起丹氏黑色素细胞颗粒凝结的受体也属 α_2 亚型。

伊贺哲郎(1977)曾证明,引起丹氏黑色素颗粒扩散的肾上腺素能受体为 β 型。森下(1988)分别采用相应的受体激动剂、阻断剂,对日本五种淡水鱼的 β 型受体分类的研究证实,这五种硬骨鱼类的肾上腺素能受体属 α_2 亚型。而片山(1990)对*Tridentigen*, *Obsurus*黑色素颗粒扩散的肾上腺素能 β 型受体研究表明,它为 β_1 和 β_2 混合型(18.6%:81.4%)。本实验在鱼上所得结果与片山的报道极为相似。

α_2 肾上腺素能受体,通过调节抑制性G蛋白(Gi),去抑制触媒亚基的腺苷酸环化酶的活性,使细胞内cAMP浓度降低,色素细胞产生凝结。反之,通过调节兴奋性G蛋白(GS),激活腺苷酸环化酶的活力,细胞内cAMP浓度增

高,色素颗粒产生扩散。我们推测,丹氏蠟黑色素细胞肾上腺素能 α_2 受体是通过上述活动实现其生理功能的。

参 考 文 献

- 1 Iga, T., K. Yamada and M. Iwakiri Adrenergic receptors mediating pigment dispersion in leucophores of a teleost, *Oryzias latipes*. *Mem. Fac. Lit Sci, Shimane Univ, Nat. Sci.* 1977, **11**: 63—72.
- 2 Iga, T. and A. Matsuno Scale melanophores of *Zacco temmincki*: a preparation suitable for physiological or pharmacological studies on fish melanophores, *Zool. Mag.* 1980, **89**: 227—234.
- 3 Iga, T. Basic properties of beta adrenergic receptors mediating melanosome dispersion of melanophores in a cyprinid fish *Zacco temmincki*. *Comp. Biochem. Physiol.* 1983, **76C**: 297—303.
- 4 Andersson, R.G.G., J.O. Karlsson and N. Grundstrom Adrenergic nerves and alpha2-adrenoceptor system regulating melanosome aggregation within fish melanophores. *Acta Physiol. Scand*, 1984, **121**: 173—179.
- 5 Fujii, R. and N. Oshima Control of chromatophore movements in teleost fishes. *Zool. Sci.* 1986, **3**: 13—47.
- 6 森下 文浩 魚類色素胞のアドレナリン性受容体のサブタイプ. *動物生理学*, 1988, **5**(2): 41—49.
- 7 Katayama, H., F. Morishita, O. Matsushima et al. Coexistence of β_1 - and β_2 -adrenoceptors in the melanophore of the goby *Trentius obscurus*. *Pigment Cell Res.* 1990, **3**: 192—199.
- 8 Oshima, N. M. Hayakawa and M. Sugimoto The involvement of calmodulin in motile activities of fish chromatophores. *Comp. Biochem. Physiol.*, 1990, **97C**: 33—36.
- 9 Fujii, R., H. Wakatabi and N. Oshima Inositol 1, 4, 5-trisphosphate signals the motile response of fish chromatophores—I aggregation of pigment in the telapia melanophore. *J. Exp. Zool.* 1991, **259**: 9—17.

ADRENERGIC RECEPTORS STUDIES ON MELANOPHORES OF *ZACCO TEMMINKI*

YU Guoyong

(Department of Biology, East China Normal University Shanghai 200062)

ABSTRACT This paper is the first report about the characteristics of the adrenergic receptors on melanophores of *Zacco temmincki*. The experiment was conducted on 60 individual fishes. The scales at lateral mela-striate were picked up randomly in April and November respectively. The agonists: Phenylephrine, Methoxamine, Adrenaline, Noradrenaline, α_2 -Naphazoline, Clonidine, and the antagonists: Corynanthine, Yohimbine, were used to analysis the receptor characteristics. We discovered that within the melanophores, α_2 type of adrenergic receptor relates to the conglutination of melanosome, and β_1 or β_1 / β_2 mixed type of adrenergic receptor relates to the dispersion of melanosome.

Key words Melanophore Agonist Antagonist Subtype Receptor