

P2Y 受体介导大鼠胃体环行肌收缩反应的药理学特点

王 秒^{1,2}, 任雷鸣^{1*}

(1. 河北医科大学药学院药理学研究室, 河北 石家庄 050017; 2. 华北制药集团新药研发公司, 河北 石家庄 050015)

摘要: 观察大鼠离体胃体环行肌和胃底环行肌不同的药理学特征, 分析核苷及核苷酸类物质诱发胃体环行肌收缩反应的作用特点和受体机制。制备大鼠离体胃体环行肌和胃底环行肌标本, 利用受体药理学技术观察药物诱发的收缩反应。在胃体环行肌 KCl 所致收缩反应与胃底环行肌无显著性差别; 但是, CCh 收缩胃体环行肌的 EC_{50} 值 $[(0.45 \pm 0.15) \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}]$ 显著高于胃底环行肌 $[(0.20 \pm 0.09) \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}]$, $P < 0.01$ 。5-HT 和 His 收缩两种标本的 EC_{50} 值无显著差异 ($P > 0.05$); 但是, 在胃体环行肌 5-HT 和 His 产生收缩反应的 $E_{\max}$ 值 $[(0.81 \pm 0.26) \text{ 和 } (0.88 \pm 0.27) \text{ g}]$ 显著小于胃底环行肌 $[(2.67 \pm 0.61) \text{ 和 } (1.90 \pm 0.68) \text{ g}]$, $P < 0.01$ 。在预收缩胃体环行肌, ATP $(0.1 \sim 3\ 000 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1})$ 诱发浓度依赖性收缩反应, 未见舒张反应; 在预收缩胃底环行肌标本, 同浓度 ATP 诱发先舒张后收缩的双相反应, 并呈浓度依赖性。ATP、UTP、ADP、2-MeSATP 和 α, β -MeATP 浓度依赖性诱发大鼠胃体环行肌收缩反应, 2-MeSATP 的 EC_{50} 值为 $(7.2 \pm 5.2) \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 比 Ach $[(3.47 \pm 1.20) \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}]$ 低 500 倍; 各药物产生收缩反应的效价序列为: 2-MeSATP $\gg$ ADP $>$ ATP = UTP $>$ α, β -MeATP $\gg$ 腺苷。酚妥拉明、普萘洛尔、阿托品及河豚毒素不影响 ATP 和 UTP 诱发的胃体环行肌收缩反应。研究结果表明, 大鼠胃体环行肌的药理学特征明显不同于胃底环行肌; 核苷酸类物质通过某种特殊的 P2Y 受体介导胃体环行肌收缩反应, 是调节胃体环行肌收缩功能的重要介质。

关键词: 胃体; 胃底; 环行肌; 核苷酸; P2 受体

中图分类号: R962.2

文献标识码: A

文章编号: 0513-4870 (2009) 05-0473-07

Pharmacological characteristics of contractile responses regulated by P2Y receptors in circular smooth muscle of the rat gastric body

WANG Miao^{1,2}, REN Lei-ming^{1*}

(1. Department of Pharmacology, School of Pharmacy, Hebei Medical University, Shijiazhuang 050017, China;
2. Research and Development Drug Company, North China Pharmaceutical Corporation, Shijiazhuang 050015, China)

Abstract: This study is to observe the difference in pharmacological characteristics between circular smooth muscles of rat isolated gastric body and gastric fundus, and to investigate the effects of nucleoside and nucleotide on circular smooth muscle of the rat gastric body and the involved receptors. Circular muscle strips of the rat gastric body and gastric fundus were prepared, and contractile responses to agonists were investigated with a technique of drug-receptor interaction in functional system. There was no significant difference between the circular muscle strips of the gastric body and gastric fundus in the responses to KCl, and no difference in EC_{50} values of contractile responses for 5-HT and His between the two kinds of preparations ($P > 0.05$). However, $E_{\max}$ values of contractile responses to 5-HT and His $[(0.81 \pm 0.26) \text{ 和 } (0.88 \pm 0.27) \text{ g}]$ in gastric body were significantly smaller than those in gastric fundus $[(2.67 \pm 0.61) \text{ 和 } (1.90 \pm 0.68) \text{ g}]$, $P < 0.01$, and EC_{50} value of CCh produced contractile response $[(0.45 \pm 0.15) \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}]$ in gastric body was significantly higher than that in gastric fundus $[(0.20 \pm 0.09) \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}]$, $P < 0.01$. In precontracted circular muscle strips of the gastric body, ATP $(0.1 \sim 3\ 000 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1})$ produced only a contractile response concentration-dependently, but the same concen-

收稿日期: 2008-11-13.

基金项目: 河北省自然科学基金资助项目 (C2006000802).

*通讯作者 Tel: 86-311-86266405, Fax: 86-311-85917887, E-mail: ren-leiming@263.net

tration of ATP induced a biphasic response (relaxation followed by a contraction) in precontracted circular muscle strips of the gastric fundus. ATP, UTP, ADP, 2-MeSATP and α, β -MeATP produced contractile responses concentration-dependently in circular muscle strips of the rat gastric body. The EC_{50} value for 2-MeSATP [$(7.2 \pm 5.2) \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$] was about 500 times lower than that for Ach [$(3.47 \pm 1.20) \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$]. The rank order of potency for the contraction was 2-MeSATP $\gg$ ADP $>$ ATP = UTP $>$ α, β -MeATP $\gg$ adenosine. The contractile responses to ATP and UTP were not significantly affected by phentolamine, propranolol, atropine or tetrodotoxin. In conclusion, there is a significant difference in pharmacological characteristics between the circular smooth muscles of the rat gastric body and gastric fundus and nucleotides might be important mediators responsible for the contraction via a specific P2Y receptor in circular smooth muscle of the rat gastric body.

Key words: gastric body; gastric fundus; circular muscle; nucleotide; P2 receptor

1996年 Otsuguro 等^[1]报道, 在 Wistar 大鼠离体近端胃环行肌标本, ATP 激动 P2Y 受体诱发收缩反应, 在预收缩条件下 ATP ($1 \sim 1\,000 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) 激动 P2X 受体诱发舒张反应; 同时发现, UTP 作用于一种新型的 P2 受体诱发近端胃环行肌产生收缩反应; 核苷及核苷酸类物质在大鼠近端胃环行肌标本诱发收缩反应的强度序列为 2-MeSATP $\gg$ ATP $\geq$ UDP = UTP $\gg$ α, β -MeATP $>$ 腺苷。2005年 Wang 等^[2]报道, 在 Wistar 大鼠离体胃体环行肌标本, ATP 产生浓度依赖性收缩反应; 但是, 在高钾预收缩条件下 ATP ($1 \sim 1\,000 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) 未诱发舒张反应。有文献报道, 按照生理功能可将胃分为近端胃和远端胃, 近端胃包括胃底和胃体上部, 远端胃包括胃体下部和胃窦, 两者以胃中间横带为界^[3, 4]; 近端胃负责液体的排空, 而远端胃主要影响固体食物的排空^[5]。上述两项有关 ATP 对 Wistar 大鼠近端胃环行肌和胃体环行肌的不同研究结果提示, 大鼠胃底环行肌对核苷及核苷酸类物质的反应可能与大鼠胃体环行肌不同。另一方面, 乙酰胆碱 (acetylcholine, Ach) 和 5-羟色胺 (5-hydroxytryptamine, 5-HT) 是胃组织的经典神经递质, 例如 5-HT₁ 受体激动药舒马曲坦使健康受试者的胃底平滑肌舒张, 增加胃的顺应性^[6]; 昂丹司琼可通过阻断胃壁 5-HT₃ 受体, 提高功能性消化不良患者餐后胃的顺应性^[7]。胃肠组织肥大细胞释放的组胺 (histamine, His) 对胃肠道炎症、肿瘤等疾病的发生具有重要意义^[8]。因此, 作者在本研究中首先观察了氨甲酰胆碱 (carbachol, CCh)、His、5-HT 和 KCl 诱发大鼠胃体环行肌及胃底环行肌收缩反应的药理学特征; 在此基础上, 进一步分析了核苷及核苷酸类物质介导大鼠胃体环行肌收缩反应的受体机制。

材料与方

药品与仪器 三磷酸腺苷 (adenosine triphosphate, ATP)、二磷酸腺苷 (adenosine diphosphate, ADP)、

三磷酸尿苷 (uridine 5'-nucleotide, UTP)、2-methylthio ATP (2-MeSATP)、 α, β -methylene ATP (α, β -MeATP)、腺苷 (adenosine)、河豚毒素 (tetrodotoxin, TTX)、酚妥拉明 (phentolamine)、普萘洛尔 (propranolol)、阿托品 (atropine)、组胺 (histamine, His) 及罂粟碱 (papaverine), 均由 Sigma 公司提供; 乙酰胆碱 (acetylcholine, Ach) 购自军事医学科学院毒物药物研究所; 氨甲酰胆碱 (carbachol, CCh) 由 ABCR GmbH & Co. KG 公司提供; 5-羟色胺 (5-HT) 购自 Kasei Kogyo Co. Ltd 公司。ERT-884 四道生理记录仪, 由河南开封友林电子有限公司提供。

实验动物 Wistar 大鼠, 雄性, 体重 200~300 g, 由河北医科大学实验动物中心提供。

标本制备 实验前将大鼠禁食 24 h, 饮水不限。实验时皮下注射乌拉坦 ($1.5 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$) 麻醉大鼠, 经颈动脉放血处死大鼠, 迅速取出全胃。沿胃大弯打开胃, 在改良的 Krebs-Henseleit (K-H) 液中漂洗干净。改良的 K-H 液成分 ($\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$): NaCl 133, KCl 4.7, NaH_2PO_4 1.35, NaHCO_3 16.3, MgSO_4 0.61, 葡萄糖 7.8, CaCl_2 2.52。将胃内面朝上, 固定于盛有石蜡的培养皿中, 培养皿中充满 K-H 液, 并持续供给 95% O_2 和 5% CO_2 的混合气体; 用眼科剪仔细剪除黏膜后, 沿环行肌纤维方向切取胃体中部和胃底环行肌标本, 标本长 8 mm, 宽 2 mm^[2, 5, 9]。用丝线将肌条的一端固定于 L 型支架, 另一端连接于张力换能器; 标本固定在盛有 37 °C K-H 液的肌槽中。给肌条施予 1 g 的前负荷^[1, 2], 肌条的等长收缩活动记录于四道生理记录仪; 每 15 min 换一次 K-H 液, 标本平衡 1 h 后给予 Ach ($3 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) 3 次, 待反应稳定后开始正式实验。实验过程中不再调整负荷, 此时张力为基础张力。

CCh、5-HT、His 和 KCl 对大鼠胃体环行肌和胃底环行肌的作用 建立 CCh ($0.0001 \sim 30 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)、5-HT ($0.0001 \sim 30 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)、His ($0.01 \sim 300 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)

及 KCl ($1 \sim 75 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$) 累积给药诱发收缩反应的量效曲线。每个标本均给予上述 4 种药物; 其中 KCl 于实验结束前给予, 以比较不同标本的肌源性反应性; CCh、5-HT 以及 His 的给药顺序采用拉丁方设计, 以排除给药顺序对实验结果的影响。前一药物的量效曲线完成后, 充分冲洗标本, 休息 45 min 后再给予下一个药物。收缩反应均以实测值 (g) 表示。

ATP 对预收缩大鼠胃体环行肌和胃底环行肌的作用 以 EC_{50} 浓度的 Ach 预收缩大鼠胃体环行肌 ($3 \text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) 和胃底环行肌 ($1 \text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$), 待标本收缩反应稳定后, 采用非累积给药法观察 ATP ($0.1 \sim 3\ 000 \text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) 的反应。反复冲洗标本 1 h 后, 再观察累积给予罂粟碱 ($0.1 \sim 100 \text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) 的舒张反应。以 Ach 的预收缩反应为 100% 计算药物的反应百分率。

核苷及核苷酸对大鼠胃体环行肌的作用 采用非累积给药法^[2, 10]在肌槽中分别加入 ATP ($0.01 \sim 300 \text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)、UTP ($0.01 \sim 100 \text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)、ADP ($0.01 \sim 100 \text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)、2-MeSATP ($0.000\ 1 \sim 0.3 \text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)、 α, β -MeATP ($0.01 \sim 30 \text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) 和腺苷 ($0.1 \sim 100 \text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)^[10, 11], 记录各药物的收缩反应量效曲线。一个标本只给予一种药物。为观察各激动剂在实验过程中是否发生脱敏现象, 首先给予约 EC_{70} 浓度的该药物, 记录收缩反应后反复冲洗 1 h, 再观察该药的量效反应。给药时, 低于 EC_{70} 浓度的给药间隔为 20 min, 高于 EC_{70} 浓度的给药间隔为 45 min。以 Ach ($3 \text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) 的收缩反应为 100% 计算药物的反应百分率。

α 受体、 β 受体和 M 胆碱受体阻断药对 ATP 和 UTP 诱发大鼠胃体环行肌收缩反应的影响 观察 ATP ($0.1 \sim 300 \text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) 或 UTP ($0.01 \sim 30 \text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) 诱发大鼠胃体环行肌收缩反应的非累积量效曲线后, 反复冲洗标本 30 min; 向浴槽中加入酚妥拉明 ($1 \text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)、普萘洛尔 ($1 \text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) 和阿托品 ($1 \text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)^[12, 13], 20 min 后重复观察 ATP 或 UTP 的非累积量效曲线。对照组给予等体积蒸馏水替代上述受体阻断药。一个标本只给予一种激动药 (ATP 或 UTP)。以 Ach ($3 \text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) 的收缩反应为 100% 计算药物的反应百分率。

TTX 对 ATP 和 UTP 诱发大鼠胃体环行肌收缩反应的影响 观察 ATP ($30 \text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) 或 UTP ($3 \text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) 诱发大鼠胃体环行肌收缩反应, 反复冲洗 30 min 后加入 TTX ($0.1 \text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)^[14], 20 min 后再次加入同等浓度的 ATP 或 UTP。对照组给予等容积蒸馏水替代 TTX。一个标本只给予一种激动药 (ATP 或 UTP)。以 Ach ($3 \text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) 的收缩反应为 100% 计算药物的反应百分率。

统计学处理 采用加权回归法^[11]: $\log[E / (E_{\max} - E)] = \log C - \log K$ (E : 收缩反应; $E_{\max}$: 最大收缩反应; C : 激动剂的浓度; K : 解离常数), 计算各药物的 EC_{50} 值。药物间的比较采用双因素方差分析, 当 F 值有显著性 ($P < 0.05$) 时, 采用 Bonferroni's test 比较相应各剂量间的差异。各激动剂的 $E_{\max}$ 值和 EC_{50} 浓度间的显著性差异采用非配对 t 检验。TTX 使用前药物反应的显著性差异使用配对 t 检验。

结果

1 CCh、5-HT、His 和 KCl 对大鼠胃体环行肌和胃底环行肌的作用

在胃体环行肌和胃底环行肌, CCh、5-HT、His 及 KCl 产生浓度依赖性收缩反应。在两种标本, CCh 所致收缩反应的 $E_{\max}$ 相同 ($P > 0.05$, 表 1); 但其 EC_{50} 值 [$(0.45 \pm 0.15) \text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$] 在胃体环行肌显著高于胃底环行肌 [$P < 0.01$, $(0.20 \pm 0.09) \text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$]。在胃体环行肌, 5-HT 和 His 产生收缩反应的 $E_{\max}$ 值 [(0.81 ± 0.26) 和 $(0.88 \pm 0.27) \text{ g}$], 显著小于胃底环行肌 [(2.67 ± 0.61) 和 $(1.90 \pm 0.68) \text{ g}$, $P < 0.01$]。在两种标本, 5-HT 和 His 产生收缩反应的 EC_{50} 值相同 ($P > 0.05$), KCl 所致收缩反应无显著性差异 ($P > 0.05$), 见表 1 和图 1。

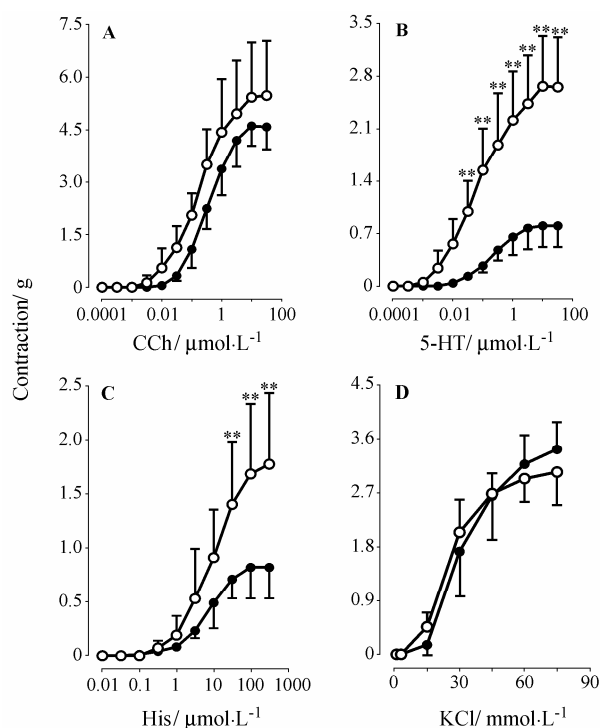


Figure 1 Contractile responses to CCh (A), 5-HT (B), His (C) and KCl (D) in circular muscle strips of the rat isolated gastric fundus (○) and gastric body (●). $n = 8$, $\bar{x} \pm s$. ** $P < 0.01$ vs circular muscle strips of the rat isolated gastric body

Table 1 Contractile responses to CCh, 5-HT and His in circular muscle strips of the rat isolated gastric body and gastric fundus

Drug	Gastric body		Gastric fundus	
	$E_{\max}/g$	$EC_{50}/\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$	$E_{\max}/g$	$EC_{50}/\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$
CCh	4.94 ± 0.62	$0.45 \pm 0.15^{**}$	5.55 ± 1.51	0.20 ± 0.09
5-HT	$0.81 \pm 0.26^{**}$	0.16 ± 0.07	2.67 ± 0.61	0.12 ± 0.08
His	$0.88 \pm 0.27^{**}$	8.88 ± 4.50	1.90 ± 0.68	12.49 ± 7.05

$n = 8$, $\bar{x} \pm s$. $^{**}P < 0.01$ vs gastric fundus group

2 ATP对预收缩大鼠胃体环行肌和胃底环行肌的作用

Ach ($0.01 \sim 300 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) 诱发胃体环行肌和胃底环行肌收缩反应的 $E_{\max}$ 值为 (3.38 ± 1.06) 和 (4.37 ± 0.94) g ($P > 0.05$), EC_{50} 值为 (3.47 ± 1.20) 和 (1.34 ± 0.54) $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ($P < 0.01$, $n = 6$)。 EC_{50} 浓度 (3 和 $1 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) 的 Ach 可使胃体环行肌和胃底环行肌产生稳定的收缩反应。在 Ach 预收缩胃体环行肌标本, ATP ($0.1 \sim 3\,000 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) 诱发浓度依赖性收缩反应, 未见舒张反应; 罂粟碱诱发浓度依赖性舒张反应 (图 2)。在 Ach 预收缩胃底环行肌标本, 同浓度 ATP 诱发先舒张后收缩的双相反应, 两者均随药物浓度增加而增强; ATP 诱发的最大舒张反应为 36% (图 2)。在两种标本上, 罂粟碱诱发的舒张反应相同 ($P > 0.05$, 图 2)。

3 核苷及核苷酸对大鼠胃体环行肌的作用

ATP、UTP、ADP、2-MeSATP 和 α, β -MeATP 均浓度依赖性诱发大鼠胃体环行肌收缩反应, 腺苷仅在高浓度 ($100 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) 时引起微弱的收缩反应 (图 3)。各药物引起收缩反应的 EC_{50} 值分别为 ATP [$(2.26 \pm 0.60) \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, $n = 6$]、UTP [$(1.57 \pm 0.50) \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$,

$n = 6$]、ADP [$(0.69 \pm 0.27) \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, $n = 6$]、2-MeSATP [$(7.2 \pm 5.2) \text{nmol}\cdot\text{L}^{-1}$, $n = 5$] 和 α, β -MeATP [$(4.29 \pm 0.90) \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, $n = 5$]。各激动药引起收缩反应的效价序列为 2-MeSATP $\gg$ ADP $>$ ATP = UTP $>$ α, β -MeATP $\gg$ 腺苷。在建立量效曲线前 ATP ($30 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)、UTP ($3 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)、ADP ($3 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)、2-MeSATP ($0.03 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) 和 α, β -MeATP ($3 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) 所诱发的大鼠胃体环行肌收缩反应分别为 (89.4 ± 20.2) %、(110.4 ± 14.5) %、(73.5 ± 14.6) %、(94.3 ± 10.5) % 和 (16.3 ± 6.5) %, 与建立量效曲线过程中同浓度各药物所诱发的收缩反应 [ATP (90.6 ± 6.4) %、UTP (108.6 ± 18.4) %、ADP (76.8 ± 8.4) %、2-MeSATP (95.2 ± 16.0) % 和 α, β -MeATP (22.2 ± 12.8) %] 无显著差异 ($P > 0.05$, $n = 5 \sim 6$), 表明各药物在建立量效曲线过程中未发生脱敏现象。

4 α 受体、 β 受体和 M 胆碱受体阻断药对 ATP 和 UTP 诱发大鼠胃体环行肌收缩反应的影响

ATP 或 UTP 浓度依赖性诱发大鼠胃体环行肌收缩反应。溶剂对 ATP 或 UTP 诱发的环行肌收缩反应量效曲线无明显影响 ($P > 0.05$, 图 4); α 受体阻断药酚妥拉明、 β 受体阻断药普萘洛尔和 M 胆碱受体阻断药阿托品三者共同预处理标本 20 min 后, ATP 或 UTP 诱发的环行肌收缩反应量效曲线无明显改变 ($P > 0.05$, 图 4)。

5 TTX 对 ATP 和 UTP 所致大鼠胃体环行肌收缩反应的影响

对照组中, 溶剂对 ATP ($30 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) 和 UTP ($3 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) 诱发的收缩反应无显著影响 ($P > 0.05$)。实

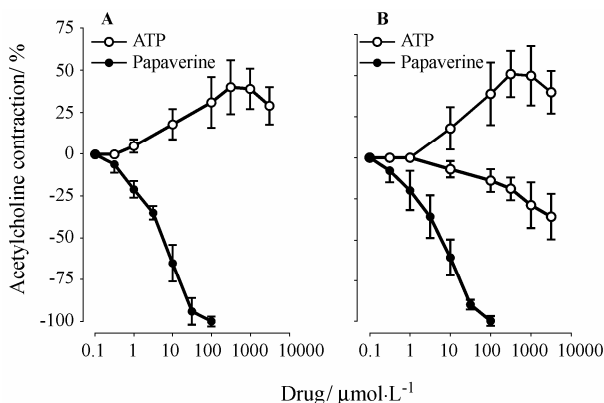


Figure 2 Responses to ATP (○) and papaverine (●) in circular muscle strips of the rat isolated gastric body (A) and gastric fundus (B) ($n = 8$, $\bar{x} \pm s$). The precontraction to $3 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ Ach in circular muscle strips of the rat gastric body was (1.02 ± 0.22) g and that to $1 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ Ach in circular muscle strips of the rat gastric fundus was (1.34 ± 0.25) g

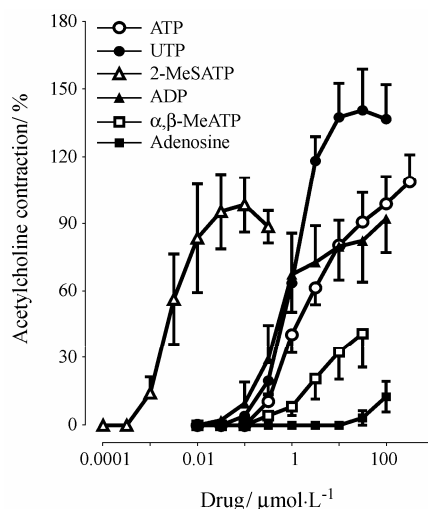


Figure 3 Contractile responses to ATP (○), UTP (●), 2-MeSATP (Δ), ADP ($\blacktriangle$), α, β -MeATP ($\square$) and adenosine ($\blacksquare$) in circular muscle strips of the rat gastric body ($n = 5 \sim 6$, $\bar{x} \pm s$). Ach ($3 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) induced contraction [(0.94 ± 0.23) g, $n = 35$] was calculated as 100%

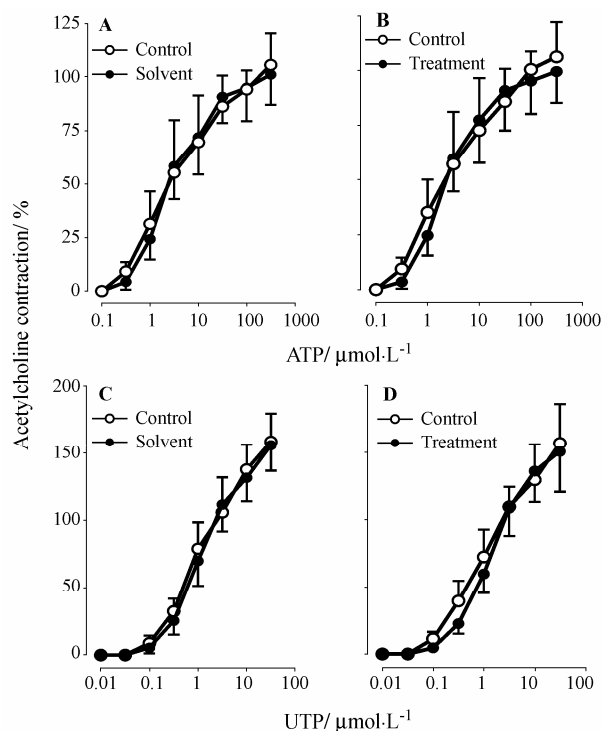


Figure 4 Effects of solvent and a combination of phentolamine ($1 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$), propranolol ($1 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) and atropine ($1 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) on concentration-response curves for ATP (A, B) and UTP (C, D) in circular muscle strips of the rat gastric body ($n = 6$, $\bar{x} \pm s$). Ach ($3 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) induced contraction [$(0.96 \pm 0.18) \text{ g}$, $n = 24$] was calculated as 100%

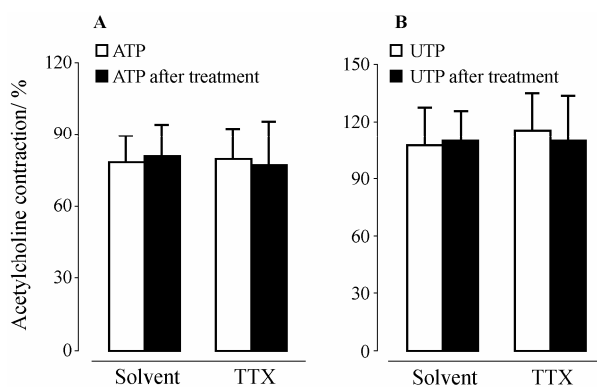


Figure 5 Effects of solvent and tetrodotoxin (TTX, $0.1 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) on contractile responses to ATP ($30 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, A) and UTP ($3 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, B) in circular muscle strips of the rat gastric body ($n = 5-6$, $\bar{x} \pm s$). Ach ($3 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) induced contraction [$(1.00 \pm 0.20) \text{ g}$, $n = 22$] was calculated as 100%

验组中, TTX ($0.1 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) 预处理标本前、后, ATP ($30 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) 诱发胃体环行肌收缩反应为 $(81.6 \pm 9.1) \%$ 和 $(84.4 \pm 9.2) \%$ ($P > 0.05$, $n = 6$); 同浓度 TTX 预处理标本前、后, UTP ($3 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) 诱发胃体环行肌收缩反应为 $(104.0 \pm 17.4) \%$ 和 $(114.2 \pm 23.8) \%$ ($P > 0.05$, $n = 6$)。见图 5。

讨论

CCh 诱发大鼠胃体环行肌收缩反应的 E_{max} 值与胃底环行肌无显著差异, 但是 CCh 诱发大鼠胃体环行肌收缩反应的 EC_{50} 值显著高于胃底环行肌; 5-HT 和 His 诱发收缩反应的 EC_{50} 值在两种标本间无显著差异, 但两者收缩胃体环行肌的 E_{max} 值约为胃底环行肌 E_{max} 值的 30% 和 46%。研究结果表明, 胃体环行肌中介导收缩效应的功能性组胺受体和 5-羟色胺受体的亚型与胃底环行肌无明显差别, 但受体的分布密度可能不同。另一方面, 有文献报道人胃底环行肌和胃底纵行肌^[15]以及小鼠胃底平滑肌和胃窦平滑肌^[16]中存在不同的 M 胆碱受体亚型介导 Ach 和 CCh 诱发的收缩反应; Ach 诱发人胃体环行肌收缩反应的 pD_2 值显著小于胃体纵行肌; CCh 对小鼠胃组织 M_3 受体的 pD_2 值显著高于 M_2 受体。本实验中, Ach 和 CCh 诱发大鼠胃底环行肌收缩的 EC_{50} 值均显著小于胃体环行肌 ($P < 0.01$); 故推测 Wistar 大鼠胃体环行肌中介导收缩效应的功能性 M 胆碱受体亚型可能不同于胃底环行肌, 确切的机制还有待进一步使用选择性受体阻断药进行分析。KCl 常常作为衡量平滑肌标本中肌纤维含量的药物, 用以标化受体激动药的收缩效应^[17]; 本研究中, KCl 诱发的胃体环行肌和胃底环行肌收缩反应未呈现明显差异, 进一步证明上述 M 胆碱受体、组胺受体和 5-羟色胺受体介导两种标本收缩反应的差异与标本中肌纤维含量的多寡无关。

Otsuguro 等^[1]报道, 在 Wistar 大鼠离体近端胃环行肌标本, ATP 激动 P2Y 受体诱发收缩反应, 在预收缩条件下 ATP ($1 \sim 1000 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) 激动 P2X 受体诱发舒张反应。为了验证大鼠胃体环行肌的药理学特征明显不同于胃底环行肌这一假说, 作者利用 Ach 预收缩标本, 观察了 ATP ($0.1 \sim 3000 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) 的作用。在预收缩胃底环行肌, ATP 诱发明显的舒张反应, ATP 诱发的最大舒张反应为 36%, 与文献^[1]报道一致; 但是, 在预收缩胃体环行肌, ATP 未产生舒张反应, 反而诱发浓度依赖性收缩反应。因此, 作者推测 Otsuguro 等^[1]报道的近端胃环行肌标本可能是大鼠胃底环行肌标本。

上述研究结果表明, 大鼠胃体环行肌中调节平滑肌功能的受体种类或受体密度明显不同于胃底环行肌。由于大鼠胃体环行肌对核苷及核苷酸类物质的反应尚无文献报道, 作者进一步观察了 ATP、UTP、ADP、2-MeSATP、 α 、 β -MeATP 对大鼠胃体环行肌的作用, 并与 Ach 诱发收缩反应的效应强度进行了对比。

据文献报道, P2 受体对胃肠道收缩功能发挥重要的调节作用, 核苷及核苷酸类物质通过 P2X 受体介导猫结肠环行肌收缩反应^[17]以及小鼠结肠纵行肌收缩反应^[18]。本研究发现, 核苷及核苷酸类物质均浓度依赖性诱发大鼠胃体环行肌收缩反应, 药物诱发收缩反应的效价序列为 2-MeSATP >> ADP > ATP = UTP > α, β -MeATP >> 腺苷; 该序列与文献^[1]报道的大鼠近端胃环行肌基本相同, 但该序列与文献^[19]报道的经典 P2 受体亚型对激动药的效价序列明显不同。腺苷是 P1 受体的选择性激动药, 而 ATP 及其类似物是 P2 受体的选择性激动药^[11, 20], 本研究中 ATP 及其类似物均诱发明显的收缩反应, 而腺苷仅在高浓度时诱发微弱的收缩反应, 说明核苷及核苷酸类物质诱发的收缩反应通过 P2 受体介导。 α, β -MeATP 择性作用于 P2X₁ 和 P2X₃ 受体^[21]; 本研究中 α, β -MeATP 的收缩效应远远小于 ATP、UTP、ADP 和 2-MeSATP。依据文献^[19], 在 P2X₁₋₇ 受体的激动药效价序列中, ADP 和 UTP 均不是激动药, 2-MeSATP 的作用也不会 >> ATP, 提示核苷及核苷酸类物质诱发的收缩反应没有 P2X 受体的参与。在该文献的 8 个 P2Y 受体的激动药效价序列中, 虽然 P2Y₁、P2Y₁₂ 和 P2Y₁₃ 受体具有 ADP > ATP 的特点, 但是 UTP 无效且 2-MeSATP 的作用 $\leq$ ADP; 此外, UTP 仅是 P2Y₂、P2Y₄ 和 P2Y₆ 受体的强效激动药, 而 2-MeSATP 不是这 3 种受体的激动药; 同时, ADP、UTP 和 2-MeSATP 亦不是 P2Y₁₁ 和 P2Y₁₄ 受体的激动药^[19]。因此, 作者推测本研究中核苷酸类物质可能作用于一种特殊的 P2Y 受体, 介导胃体环行肌收缩反应。令人意外的是, 2-MeSATP 诱发大鼠胃体环行肌收缩反应的 EC₅₀ 值为 $(7.2 \pm 5.2) \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$; 该浓度远远低于胃肠道经典神经介质 Ach 诱发收缩反应的 EC₅₀ 值 $[(3.47 \pm 1.20) \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}]$ 。但是, 应该注意 2-MeSATP、ATP 和 UTP 在胃体环行肌诱发收缩反应的最大值约为 Ach 诱发收缩反应 E_{max} 值的 1/3 至 1/2。上述研究结果表明, 核苷酸类物质是大鼠胃体环行肌收缩反应的重要介质, ATP 及其类似物可能通过某种特殊的 P2Y 受体介导大鼠胃体环行肌收缩反应。酚妥拉明、普萘洛尔和阿托品不影响 ATP 和 UTP 的收缩反应, 说明 α 受体、 β 受体和 M 胆碱受体可能未参与核苷酸诱发的胃体环行肌收缩反应。此外, 本研究中大鼠胃体环行肌标本去除了黏膜组织; TTX 亦不影响 ATP 和 UTP 诱发的收缩反应。因此, 可以推论核苷酸类物质是直接作用于胃体平滑肌的特异性受体而发挥作用^[22]。本研究结果提示核苷酸类物质通过某种特殊的 P2Y 受体介导胃体环行

肌收缩反应, 是调节胃体环行肌收缩功能的重要介质。深入研究核苷酸类物质对胃肠平滑肌的作用及其机制, 对于开拓新型促胃动力药物的研究具有重要意义。

References

- [1] Otsuguro K, Ito S, Ohta T, et al. Influence of purines and pyrimidines on circular muscle of the rat proximal stomach [J]. *Eur J Pharmacol*, 1996, 317: 97–105.
- [2] Wang M, Zhao D, Zhao QH, et al. Effects of adenosine triphosphate on motility of isolated gastric smooth muscle in rats [J]. *Chin Pharmacol Bull* (中国药理学通报), 2005, 21: 351–355.
- [3] Zhou L. Function of gastric motility [M] // Zhou L, Ke MY. *Gastrointestinal Motility: Basic and Clinical* (胃肠动力学: 基础与临床). Beijing: Science Press, 1999: 509.
- [4] Ke MY, Gu CM, Jiang YX, et al. Gastro-pyloro-duodenal motor cooperation in patients with dyspepsia [J]. *Acta Acad Med Sin* (中国医学科学院学报), 2000, 22: 241–245.
- [5] Parkman HP, Harris AD, Krevsky B, et al. Gastrointestinal motility and dysmotility: an update on techniques available for evaluation [J]. *Am J Gastroenterol*, 1995, 90: 869–892.
- [6] Tack J, Coulie B, Wilmer A, et al. Influence of sumatriptan on gastric fundus tone and on the perception of gastric distension in man [J]. *Gut*, 2000, 46: 468–473.
- [7] Marzio L, Cappello G, Grossi L, et al. Effect of the 5-HT₃ receptor antagonist, ondansetron, on gastric size in dyspeptic patients with impaired gastric accommodation [J]. *Dig Liver Dis*, 2008, 40: 188–193.
- [8] Haas HL, Sergeeva OA, Selbach O. Histamine in the nervous system [J]. *Physiol Rev*, 2008, 88: 1183–1241.
- [9] Milenov K, Golenhofen K. Differentiated contractile responses of gastric smooth muscle to substance P [J]. *Pflügers Archiv*, 1983, 397: 29–34.
- [10] Matharu MS, Hollingsworth M. Purinoceptors mediating relaxation and spasm in the rat gastric fundus [J]. *Br J Pharmacol*, 1992, 106: 395–403.
- [11] Ren LM, Zhang M. Distribution of functional P2X₁-like receptor in rabbit isolated regional arteries [J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2002, 23: 721–726.
- [12] Hotta S, Morimura K, Ohya S, et al. Ryanodine receptor type 2 deficiency changes excitation-contraction coupling and membrane potential in urinary bladder smooth muscle [J]. *J Physiol*, 2007, 582: 489–506.
- [13] Gallego D, Hernández P, Clavé P, et al. P2Y₁ receptors mediate inhibitory purinergic neuromuscular transmission in the human colon [J]. *Am J Physiol*, 2006, 291: G584–G594.

- [14] Zhao D, Ren LM. Non-adrenergic inhibition at prejunctional sites by agmatine of purinergic vasoconstriction in rabbit saphenous artery [J]. *Neuropharmacology*, 2005, 48: 597–606.
- [15] Guo ZD, Li Z, Ruan Y, et al. Distribution of muscarinic receptors of different of affinities in smooth muscle of human stomach [J]. *Acta Pharmacol Sin*, 1991, 12: 180–183.
- [16] Kitazawa T, Hashiba K, Cao J, et al. Functional roles of muscarinic M₂ and M₃ receptors in mouse stomach motility: studies with muscarinic receptor knockout mice [J]. *Eur J Pharmacol*, 2007, 554: 212–222.
- [17] Venkova K, Milne A, Krier J. Contractions mediated by α_1 -adrenoceptors and P₂-purinoceptors in a cat colon circular muscle [J]. *Br J Pharmacol*, 1994, 112: 1237–1243.
- [18] Giaroni C, Knight GE, Ruan H-Z, et al. P₂ receptors in the murine gastrointestinal tract [J]. *Neuropharmacology*, 2002, 43: 1313–1323.
- [19] Burnstock G. Pathophysiology and therapeutic potential of purinergic signaling [J]. *Pharmacol Rev*, 2006, 58: 58–86.
- [20] Fredholm BB, Abbracchio MP, Burnstock G, et al. Nomenclature and classification of purinoceptors [J]. *Pharmacol Rev*, 1994, 46: 143–156.
- [21] King BF, Knowles ID, Burnstock G, et al. Investigation of the effects of P₂ purinoceptor ligands on the micturition reflex in female urethane-anaesthetized rats [J]. *Br J Pharmacol*, 2004, 142: 519–530.
- [22] Ishiguchi T, Takahashi T, Itoh H, et al. Nitrgergic and purinergic regulation of the pylorus [J]. *Am J Physiol*, 2000, 279: G740–747.

2009 年全国药物化学学术会议通知

由中国药学会药物化学专业委员会主办, 武汉大学承办的 2009 年全国药物化学学术会议定于 2009 年 10 月 10~13 日在湖北省武汉市召开。这是一次药物化学的学术盛会, 将为我国的药物化学研究者提供一个良好的交流机会, 诚邀您踊跃投稿和参会。本次会议将邀请海内外著名专家作专题报告, 分析研讨国际药物化学技术发展趋势和前沿动向, 交流展示国内药物化学研究新成果、新进展、新技术、新经验。会议期间将颁发中国药学会-SERVIER 青年药物化学奖以及大会优秀论文奖。盛情邀请各高校、科研院所以及企事业单位的各界同仁光临 2009 年药物化学学术研讨会。

联系人:

周海兵 (027-68759586, zhouhb@whu.edu.cn)

传真: 027-68759850

网址: <http://www.2009cmc-wuhan.org>