

甲状旁腺激素段片对离体豚鼠气管的松弛作用

阎应举 (青岛医学院药理学教研室, 青岛 266012)

May C M YANG, Alexander D KENNY, Peter K T PANG

(Dept Pharmacology and Therapeutics, Texas Tech University Health Sciences Center, Lubbock TX 79430, USA)

提要 包括 N-末端 1-34 氨基酸的甲状旁腺激素段片。不论按人型氨基酸顺序 [hPTH-(1-34)] 或牛型氨基酸顺序 [bPTH-(1-34)] 合成的甲状旁腺激素 (PTH) 对豚鼠气管均有松弛作用。在 8 位和 18 位上以己氨酸 (nor-leucine) 取代蛋氨酸 (methionine) 不影响 bPTH-(1-

34) 的作用性质。但氧化其蛋氨酸后, 则 bPTH-(1-34) 不再对气管产生松弛作用。氧化取代蛋氨酸的同类物不影响此肽对气管的松弛作用。心得安不能阻断 bPTH-(1-34) 的作用。PTH 对气管的松弛作用可能与 cAMP 有关。

1983年3月2日收稿 1983年9月28日修回
1982年4月22日在 66th Annual Meeting of Federation of American Societies for Experimental Biology, New Orleans LA 宣读

关键词 甲状旁腺激素; 1-甲基-3-异丁黄嘌呤; 咪唑; 豚鼠气管

甲状旁腺激素(PTH)能升高血钙和降低血

中磷酸盐,对犬可降血压⁽¹⁾。近年来研究了 PTH 对血管^(2,3)、子宫^(4,5)、胃肠道⁽⁶⁾等平滑肌的作用。但它对气管平滑肌的作用则未见报道。为此,我们研究了 PTH 对豚鼠气管的作用。

材料和方法

Hartley 豚鼠(♀♂兼用)35只。以精饲料饲养至少4d。

bPTH-(1-34),hPTH-(1-34)及 PTH 同类物,购自 Peninsula Laboratories 与 Beckman Bioproducts。

根据文献⁽⁷⁾方法制备气管螺旋条,悬于10ml Krebs-Ringer 溶液的 Sawyer-Bartlestone 浴管中,通入95% O₂+5% CO₂,37°C。气管条的基础张力为0.7g。用 Grass 记录仪和 Statham 换能器记录气管条的张力和收缩力。平衡至少1h再进行实验。再次进行实验时,需以 Krebs-Ringer 溶液于30min内冲洗4次。药物均用0.9%盐水溶解(盐水本身对气管条的张力无影响)。浴管内加入组胺1μg/ml后均能引起气管条收缩,其平均收缩力0.9±0.03g(150次实验)。每一气管条用药4-5次。在实验过程中未发现快速减敏现象。

实验共分6组。1) PTH 段片 PTH-(1-34)对气管的作用。共三种段片,两种为牛型顺序肽制品[bPTH-(1-34)],一种为人型顺序肽制品[hPTH-(1-34)]。2) PTH-(1-34)氧化处理后对豚鼠气管的作用。3)以己氨酸取代蛋氨酸,同时在34位上的苯丙氨酸为酪氨酸所取代的 PTH,称为[NLe⁸,NLe¹⁸,Tyr³⁴]-bPTH-(1-34)的同类物进行实验。4)比较经氧化处理的和未经氧化处理的同类物对豚鼠气管的作用。5)研究心得安对异丙肾上腺素和 PTH 的气管松弛作用的影响。6)观察磷酸二酯酶抑制剂1-甲基-3-异丁基黄嘌呤和磷酸二酯酶兴奋剂咪唑对bPTH-(1-34)作用的影响。上述药物均在用bPTH-(1-34)前5min加入浴管中。

计算出 PTH 对组胺引起张力增加的气管

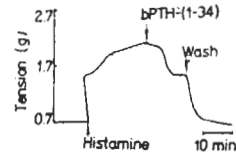


Fig 1. Effect of bPTH-(1-34) 0.24 μM on guinea pig trachea strips constructed by histamine 1 μg/ml *in vitro*.

条所产生的松弛作用的 $\bar{x} \pm SD$ 。并绘成曲线图或矩形图。每一数据为4-8次实验的平均数。以配对 t 测验测定两组间的统计学意义。

结果

bPTH-(1-34)对豚鼠气管螺旋条均有松弛作用。它对气管条松弛作用见图1。

bPTH-(1-34)与 hPTH-(1-34)产生相似的对数剂量反应曲线(见图2)。

未经氧化处理的 bPTH-(1-34) 5 U/ml 或 0.12 μM 时,可产生明显的气管松弛作用。然而经过氧化处理的 bPTH-(1-34)用量达到 0.24 μM 时也无气管松弛作用。

[NLe⁸,NLe¹⁸,Tyr³⁴]-bPTH-(1-34)对气管仍保存松弛作用,其对数剂量反应曲线与 bPTH-(1-34)相似。

[NLe⁸,NLe¹⁸,Tyr³⁴]-bPTH-(1-34)经过氧化处理未影响它对气管的松弛作用,但以 0.12 μM 与未经氧化处理的同类物比较其松弛气管的作用则略有减弱。

异丙肾上腺素在剂量 4 nM 时,对组胺引

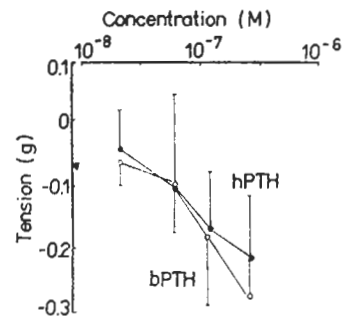


Fig 2. Responses of guinea pig trachea strips *in vitro* to hPTH-(1-34) and bPTH-(1-34). The strips were constructed by histamine 1 μg/ml.

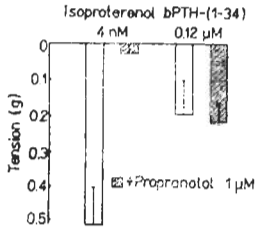


Fig 3. Effects of propranolol on isoproterenol- and bPTH-(1-34)-induced relaxation of guinea pig trachea strips contracted with histamine $1 \mu\text{g/ml}$ *in vitro*.

起的呈收缩状态的豚鼠气管有显著松弛作用。应用较大剂量($0.12 \mu\text{M}$)的 bPTH-(1-34)产生较弱的气管松弛作用,而且心得安 $1 \mu\text{M}$ 基本上对消了异丙肾上腺素的作用,但 $1 \mu\text{M}$ 的心得安则不能对抗 bPTH-(1-34)的作用(见图 3)。

磷酸二酯酶抑制剂 MIX $0.1 \mu\text{M}$ 能明显地加强 bPTH-(1-34)的作用;而磷酸二酯酶兴奋剂咪唑 1mM 则明显抑制 bPTH-(1-34)的作用。

讨 论

近年来发现 PTH 对大鼠子宫角、大鼠尾动脉螺旋条及大鼠胃肠道平滑肌条^(4,8,8)等平滑肌有松弛作用。已知以上各种组织均为肾上腺素能靶组织,心得安能有效地阻断异丙肾上腺素对这些组织的作用,但心得安不能阻断 PTH 对上述组织的作用。据此,我们推测 PTH 可能松弛豚鼠气管螺旋条为另一种 β -肾上腺素能靶组织。本工作采用了三种来源不同的 PTH 制品,它们对豚鼠气管的松弛作用和其对数剂量曲线均相同。因为不可能在三种合成成品中均含有同等数量、同样性质的杂质,故可断定 PTH 肽类具有气管松弛作用。

曾发现 PTH 的血管扩张作用与升高血钙作用无关⁽⁹⁾。当 bPTH-(1-34)氧化后其血管扩张作用消失时,其升高血钙的作用仍然存在。本工作发现氧化的 bPTH-(1-34)也失去对豚鼠气管的松弛作用。还发现,两个蛋氨酸被己氨酸取代的 bPTH-(1-34)同类物[NLe⁸,NLe¹⁸,

Tyr³⁴]-bPTH-(1-34),其气管松弛作用与 bPTH-(1-34)相似。这提示两个蛋氨酸本身对气管松弛作用并非必需。我们认为这两个蛋氨酸被氧化可能引起此肽分子的变化,从而阻断了其对豚鼠气管的松弛作用。至于过氧化氢氧化是否也影响对松弛气管所需的其他氨基酸?根据我们过去的实验,除了 8 位和 18 位上这两个蛋氨酸外无其他氨基酸受到氧化的影响。同时本工作又发现经氧化蛋氨酸被己氨酸取代的同类物,也不影响此同类物的气管松弛作用。假若氧化除这两个蛋氨酸以外的其他与气管松弛作用有关的其他氨基酸,则可以想像经过氧化处理的同类物,将失去其松弛气管的功能。心得安不能阻断 bPTH-(1-34)的作用,因此可认为 PTH 的作用不是通过 β -肾上腺素能机制。但 PTH 与异丙肾上腺素对平滑肌有类似的作用,值得进一步研究两者具有类似的后受体(post-receptor)机制的问题。

已知 PTH 能增加细胞内的 cAMP⁽¹⁰⁾。本工作未测定豚鼠气管中的 PTH,但发现磷酸二酯酶抑制剂 MIX 可增强 PTH 的作用。磷酸二酯酶兴奋剂咪唑能减弱 PTH 的作用。这与 PTH 对平滑肌的作用可能涉及到细胞内 cAMP 的观点是一致的。进一步研究腺苷酸环化酶系统在气管组织中的直接作用,对阐明 PTH 松弛气管作用与 cAMP 的关系的本质是必要的。

致谢 得到 American Heart Association Grant 81794 部分资助。

参 考 文 献

- Collip JB, Clark EP. *J Biol Chem* 1925; 64:133
- Handler P, Cohn DV. *Am J Physiol* 1952; 169: 188
- Charbon GA. *Acta Physiol Pharmacol Neerl* 1966; 14:52
- Pang PKT, Shew RL, Sawyer WH. *Life Sci* 1981; 28:1317
- Shew RL, Pang PKT. Parathyroid hormone and uterine contraction. In: Oguro C, Pang PKT, eds. *Comparative endocrinology of calcium regulation*. Tokyo: Jpn Sci Soc Press, 1982: 213-9

- 6 Yang MCM, Kenny AD, Pang PKT. Effect of parathyroid hormone on contraction of gastrointestinal tract in rat. In: Lofts B, ed. *Proceeding IX International Symposium on Comparative Endocrinology*. Hong Kong; Univ of Hong Kong Press, 1982
- 7 Constantine JW. *J Pharm Pharmacol* 1965;17:384
- 8 Pang PKT, Yang MCM, Kenny AD, Tenner TE Jr. *Clin Exp Hypertens* 1982 A4:189-99
- 9 Pang PKT, Yang MCM, Keutmann HT, Kenny AD. *Endocrinology* 1983;112:284
- 10 Goltzman D. Biochemical mode of action of parathyroid hormone. In: DeGroot LJ, et al, eds. *Endocrinology*; vol 2. 1st ed. NY:Grune & Stratton, 1979:631-6

Acta Pharmacologica Sinica 1984 Sep; 5 (3) : 198-201

PARATHYROID HORMONE FRAGMENTS RELAX GUINEA PIG TRACHEA IN VITRO

YAN Ying-ju (Dept Pharmacology, Qingdao Medical College, Qingdao 266012),

May C M YANG, Alexander D KENNY, Peter K T PANG

(Dept Pharmacology and Therapeutics, Texas Tech University Health Sciences Center, Lubbock TX 79430, USA)

ABSTRACT Synthetic bovine parathyroid hormone (PTH) fragment containing the N-terminal 1-34 amino acids, bPTH-(1-34), relaxed the guinea pig trachea constricted with histamine *in vitro*. Peptides with bovine and human sequences produced similar effects. Substitution of methionine at positions 8 and 18 by norleucine did not affect this property of bPTH-(1-34). However, after the methionines were oxidized by treating the peptide with hydrogen peroxide, the peptide no longer produced a relaxation in the trachea. Oxidation of the methionine-replaced analog did not affect the action of the peptide on the trachea. It seems that the methionines *per se* are dispensable, but

once oxidized the conformation of the molecule is sufficiently altered to affect its ability to relax the trachea. Propranolol which blocks the relaxing action of isoproterenol did not inhibit the bPTH-(1-34) effect. This action of PTH on the trachea may be related to cAMP since iso-buteryl-methyl-xanthine (a phosphodiesterase inhibitor) potentiates and imidazole (a phosphodiesterase stimulator) inhibits the trachea relaxing action of bPTH-(1-34).

KEY WORDS parathyroid hormones; 1-methyl-3-isobutyl-xyanthine; imidazole; guinea pig trachea