

强啡肽对离体动脉电场刺激诱发收缩的抑制效应

孙凤艳 张安中 张玲妹 于桂华

(上海第一医学院针刺原理研究室, 神经药理组, 上海 200032)

提要 强啡肽为阿片受体 κ 亚型的内源性激动剂, 对电场刺激离体血管的收缩呈强大抑制效应, 可被纳洛酮部分翻转。其它阿片受体亚型激动剂(μ 或 δ 受体)则作用较弱或无作用。强啡肽不影响血管的基础张力, 对 NE 引起的血管收缩无明显影响, 说明它激活血管上的 κ 型阿片受体, 以突触前调节的形式, 抑制交感神经末梢释放 NE, 从而发挥对血管的抑制效应。

关键词 血管; 内啡肽受体; 脑啡肽; 强啡肽; 去甲肾上腺素

内源性阿片样肽(简称内阿片肽)参与血压的调节过程。一般认为, 其作用部位主要在中枢。最近, 我们用放射受体分析法显示血管上有阿片受体, 且以 κ 型为主⁽¹⁾。为了了解血管上的阿片受体兴奋后将产生何种效应, 我们采用离体兔耳中心动脉及狗肠系膜上动脉进行了研究。

方 法

棒击兔头致死, 取耳中心动脉, 浸入 Krebs 液(通 95% O_2 + 5% CO_2 , pH 7.4), 去除周围组织, 取 4-5 mm 长, 在营养液内穿入两根直径为 28 dmm 的不锈钢丝。一根不锈钢丝固定在电极板上, 另一根用线连接到张力换能器上。将电极板置入 4 ml 浴槽内, $37 \pm 0.5^\circ C$, 持续通 95% O_2 + 5% CO_2 。负荷 0.5 g。

狗 iv 戊巴比妥钠 30 mg/kg 麻醉, 取肠系膜上动脉第二分枝动脉, 血管的制备方法同兔。负荷 1 g。

平衡 2.5-3.0 h 后, 电刺激(25-30 V, 波宽 1 ms, 5-6 Hz, 串长 1000 ms, 每隔 2.5 min 刺激一次), 或去甲肾上腺素(0.25-0.5 μM)

引起血管收缩, 通过自动平衡记录仪描记。

浴槽内加入 40 μl 药液, 记录给药前后电刺激引起的血管收缩反应。

纳洛酮(NAL)和 Etorphine(ET)上海第一医学院药化教研室合成。重酒石酸去甲肾上腺素注射液(NE)上海第十制药厂出品。Dynorphin₁₋₁₃(D_{1-13})由日本东京科技大学久保田和彦教授惠赠。Metorphamide (MT)由美国 Peninsula Labs. 张肇康博士惠赠。D-ala²-D-leu⁵-enkephalin (DADLE)和 D-ala²-met⁵-enkephalin (DAME)购自 Peninsula Labs. 以上药物均用蒸馏水稀释。用药后观察 5-10 min, 用 $37^\circ C$ 新鲜的营养液冲洗 3 次, 休息 10 min 再进行下一次实验。

每次加药量为 40 μl , 占浴槽体积的 1%, 浴槽内药物实际浓度相当于加入药液浓度的 1%。文中与图中均以最终浓度表示。

结 果

阿片受体亚型激动剂对血管电场刺激收缩的影响 图 1 A 显示 D_{1-13} 和 ET 对兔耳中心动脉电场刺激收缩的抑制作用。 D_{1-13} 用 0.001, 0.01, 0.1, 1 μM 时, 其抑制率分别为 7, 32, 51, 98%, 抑制收缩达 50% 时所需浓度(IC_{50})为 85 nM。ET 0.001-1 μM 时, 其抑制率均在 19-35%, IC_{50} 大于 1 μM 。

图 1 B 显示 D_{1-13} 和 ET 对狗肠系膜上动脉电场刺激收缩的抑制作用。 D_{1-13} 0.01, 0.1, 1 μM 时, 其抑制率分别为 5, 27, 70%, IC_{50} 为 0.51 μM 。ET 的抑制率分别为 18, 42, 67%, IC_{50} 为 0.32 μM 。

D_{1-13} , ET, DAME, DADLE 和 MT 在 1 μM 时, 对兔耳动脉电场刺激收缩的抑制率分

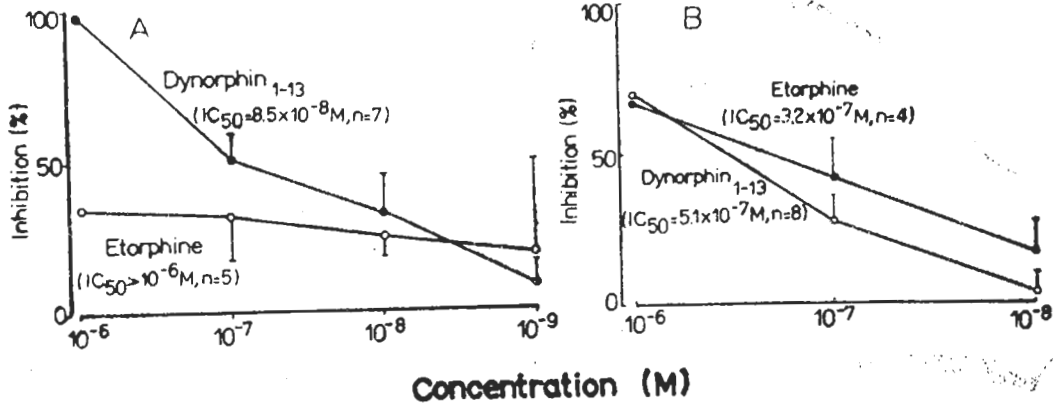


Fig 1. Inhibitory effects of dynorphin₁₋₁₃ and etorphine on contraction of rabbit ear arteries (A) and dog mesenteric arteries (B) induced electrically

别为($\bar{x} \pm SD$): $85 \pm 24\%$ ($p < 0.001$), $35 \pm 5\%$ ($p < 0.001$), $50 \pm 29\%$ ($p < 0.05$), $26 \pm 43\%$ ($p > 0.05$)和 $31 \pm 38\%$ ($p > 0.05$); 对狗肠系膜上动脉的抑制率为 D_{1-13} : $59 \pm 27\%$ ($p < 0.001$), ET : $60 \pm 43\%$ ($p < 0.001$)和 MT : $58 \pm 28\%$ ($p < 0.01$), 而 $DADLE$ 和 $DAME$ 无抑制效应, 反而有加强收缩力的趋势, 但统计不显著, 以上激动剂的 IC_{50} 见表 1。

阿片受体拮抗剂 NAL 对 D_{1-13} , $DAME$ 和 MT 抑制血管收缩的翻转率分别为 23% ($p < 0.05$), 57% ($p < 0.05$)和 75% ($p < 0.001$)。图 3 是 D_{1-13} 对血管电场刺激收缩的抑制效应及 NAL 的部分拮抗作用的记录图。

D_{1-13} 对去甲肾上腺素收缩血管的作用 D_{1-13} ($5 \mu M$)不能预防, 也不能翻转 NE (0.05 – $0.4 \mu M$)引起的血管收缩。

讨 论

本文报告 κ 受体激动剂 D_{1-13} ⁽²⁾、 δ 受体

激动剂 $DAME$ 和 $DADLE$ ⁽³⁾, 内源性 μ 受体激动剂 MT ⁽⁴⁾及广谱配基 ET 对离体血管的效应。对兔耳动脉, D_{1-13} 的抑制效应最强、 $DAME$ 中等、 MT 和 $DADLE$ 无明显作用; 而对狗肠系膜动脉, 也是 D_{1-13} 的抑制效应最强、 MT 中等, $DADLE$ 和 $DAME$ 则无明显作用。由此可见, 兔耳动脉上有 κ 和 δ 受体, 基本没有 μ 受体; 狗肠系膜动脉上有 κ 和 μ 受体, 基本没有 δ 受体。从这两种血管来看, 尽管部位不同或动物的种类不同, 但其阿片受体均以 κ 型为主, 这与放射受体分析所得结果⁽¹⁾一致。

NAL 对抗几种阿片肽对血管作用的效价依次为 $MT > DAME > D_{1-13}$ 。这与 NAL 和各种阿片受体亚型的亲和力依次为 $\mu > \delta > \kappa$ 相符。

在放射受体分析中, $DADLE$ 不取代 [3H] ET 与兔血管突触膜的结合。本实验中, $DADLE$ 也不影响兔血管的收缩, 提示兔血管上没有能与 $DADLE$ 结合的 δ 受体。然而, $DAME$ 明显

Tab 1. Concentrations for 50% inhibition of the electrical stimulation contraction of the blood vessels. $\bar{x} \pm SD$ (μM)

Inhibitors	Rabbit ear artery	Dog mesenteric artery
Dynorphin ₁₋₁₃	0.085 ± 0.023 (n=7)	0.51 ± 0.26 (n=8)
Etorphine	>1 (n=5)	0.32 ± 0.14 (n=4)
DAME	1 (n=5)	>1 (n=6)
DADLE	>1 (n=6)	>1 (n=6)
Metorphamide	>1 (n=3)	1 (n=7)

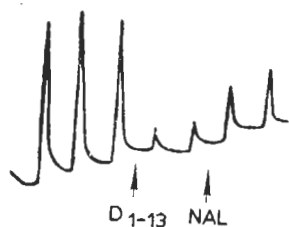


Fig 2. Effect of dynorphin₁₋₁₃ on stimulation (25 V, 5-6 Hz, trains of 5 pulses, 1 ms in pulse for 2.5 min) induced contraction of dog mesenteric artery and its response to naloxone. The final concentrations of dynorphin₁₋₁₃ (D₁₋₁₃) and naloxone (NAL) were 1 μ M

抑制兔血管的收缩, NAL 部分拮抗其作用。DADLE 和 DAME 均为 δ 受体激动剂, 但它们对血管表现截然不同的作用。看来, 仅用简单的“ δ 受体”来概括这两个脑啡肽的作用点是不够的, 很可能它们都有各自的作用点。

值得注意的是 ET 在 1 nM 时已表现类似 D₁₋₁₃ 的抑制效应, 但其剂量-反应曲线极为平坦(图 1), 即使浓度高达 1 μ M 也仅抑制 36%, 而 D₁₋₁₃ 在此浓度下的抑制达 98%, 如将 ET 的给药顺序颠倒(即先给 1 μ M), 也不明显改变其剂量-反应曲线的斜率, 因此, 还不能以快速耐受来解释此现象。ET 对 κ 、 δ 、 μ 型

阿片受体都有强大活性。其中 δ 或 μ 受体被激活后, 对血管的作用与 κ 受体的作用可能不同, 甚至相互拮抗。本实验中, 低浓度 ET 对兔耳动脉的抑制作用可能是激活 κ 受体的结果, 浓度增高时, 抑制效应不相应提高, 可能是受到 μ 或 δ 受体作用的对抗。我们在实验中曾观察到 DADLE 对血管有加强收缩的趋势支持了这一设想。

以上结果说明内阿片肽有直接抑制血管收缩的作用, 我们又研究了它的作用部位发现, 肾上腺素能 α -受体阻断剂酚妥拉明可取消外源性 NE 和电场刺激引起的血管收缩, 而 D₁₋₁₃ 仅抑制电场刺激诱发的血管收缩, 但不影响外源性 NE 引起的血管收缩效应。提示 D₁₋₁₃ 很可能是通过突触前调制的形式, 抑制交感神经末梢释放 NE, 从而抑制血管的收缩效应。

参 考 文 献

- 1 Sun FY, Yu GH, Zhang AZ. *Acta Pharmacol Sin* 1983; 4: 97
- 2 Chavkin C, James IF, Goldstein A. *Science* 1982; 215: 413
- 3 Zhang AZ, Chang JK, Pasternak GW. *Life Sci* 1981; 28: 2829
- 4 Weber E. International Narcotic Research Conference (Abstract) 1983; p 1

Acta Pharmacologica Sinica 1984 Dec; 5 (4): 245-248

INHIBITORY EFFECTS OF DYNORPHIN ON ELECTRIC FIELD STIMULATION INDUCED CONTRACTION OF BLOOD VESSELS IN VITRO

SUN Feng-yan, ZHANG An-zhong, ZHANG Lin-mei, YU Gui-hua

(Dept Acupuncture Research, Laboratory of Neuropharmacology, Shanghai First Medical College, Shanghai 200032)

ABSTRACT The direct effects of opioid peptides on blood vessels were observed on rabbit ear arteries and dog mesenteric arteries isolated. The contraction of rabbit ear arteries induced

by electric field stimulation was markedly inhibited by dynorphin₁₋₁₃, a kappa agonist, with an IC₅₀ of 0.085 μ M (n=7). D-ala²-met⁵-enkephalin was less effective (IC₅₀ = 1 μ M, n =

5), and D-ala²-D-leu⁵-enkephalin, a delta agonist, or metorphamide, a mu agonist, was ineffective with concentration as high as 1 μ M (n = 6 and 3, respectively). The stimulation-induced contraction of dog mesenteric arteries was reduced by dynorphin₁₋₁₃ (IC₅₀ = 0.51 μ M, n = 8) and metorphamide (IC₅₀ = 1 μ M, n = 7), but was not affected by D-ala²-met⁵-enkephalin or D-ala²-D-leu⁵-enkephalin under concentrations up to 1 μ M (n = 6 and 5, respectively).

Naloxone reversed effects of these opioid peptides with very different potencies, the order of the potencies was: metorphamide > D-ala²-met⁵-enkephalin > dynorphin.

Dynorphin₁₋₁₃ (5 μ M, n = 11) did not al-

ter the basal tension of blood vessels, nor the contraction induced by norepinephrine (0.05–0.4 μ M), both contractions were markedly inhibited by phentolamine, an α -adrenergic blocker.

These results suggest that opioids can directly act on opiate receptors (mainly kappa subtype) of blood vessel. Dynorphin reduces the stimulation-induced contraction of blood vessels probably by a presynaptic inhibition of norepinephrine release from nerve terminals.

KEY WORDS blood vessel; endorphin receptor; enkephalins; dynorphin; norepinephrine