

## 外源性乙酰胆碱对离体豚鼠气管平滑肌张力的影响

梅林、阎敬初 (军事医学科学院药理毒理研究所, 北京 100800)

**提要** 外源性ACh兴奋豚鼠气管平滑肌的肾上腺素能神经末梢上N<sub>1</sub>受体,使NE释放,导致平滑肌松弛。此效应可由N<sub>1</sub>受体激动药(DMPP)模拟,可被干扰肾上腺素能神经传递的药物(利血平和普萘洛尔)和神经冲动传递的药物(TTX)所阻断。气管不同部位对ACh和DMPP反应敏感不同。本文说明外源性ACh可以影响豚鼠气管肾上腺素能神经递质释放,调节气管平滑肌张力。

**关键词** 豚鼠; 气管; 胆碱能纤维; 肾上腺素能纤维; 乙酰胆碱; 去甲肾上腺素; 烟碱受体; 肾上腺素能β受体

我们以离体豚鼠气管标本评价药物抗毒蕈碱样作用时发现外源性乙酰胆碱(ACh)在一定量阿托品存在的条件下可使豚鼠气管平滑肌张力降低。豚鼠气管平滑肌细胞上有M受体和β受体,分别受胆碱能神经和肾上腺素能神经支配<sup>(1)</sup>。前者兴奋使平滑肌收缩,后者兴奋则产生松弛效应。ACh为何能松弛气管平滑肌? Burn等曾提出胆碱联系假说,认为儿茶酚胺类递质由内源性ACh介导释放<sup>(2)</sup>。我们考虑外源性ACh引起的气管平滑肌松弛作用也可能通过肾上腺素能神经间接产生。本实验探讨

外源性ACh松弛豚鼠气管平滑肌的可能机理。

### 材料和方 法

豚鼠,体重256±SD 37g,♀♂兼用,击昏,放血,取气管,按文献(3)方法剪成螺旋形,制成上下两段标本。一端固定于盛有38℃通氧的Krebs-Henseleit营养液(10ml)浴槽,另一端与YL-1型机械电换能器(5g,6V)联接,标本负荷1g,给药前标本稳定1h以上,其间每15min换液一次。标本张力变化用LM-6B型描笔式记录仪(成都仪器厂)和XWT-164型(大华仪器厂)、XWT-200型(滁州无线电厂)台式平衡记录仪记录。给药后连续冲洗3次,每次给药间隔50min以上。

实验用药:溴化乙酰胆碱(ACh,上海试剂三厂),阿托品(Carnegie Chemicals),六甲溴铵(C<sub>6</sub>,Sigma),筒箭毒碱(dTC,Charles Druce),普萘洛尔(原名心得安,北京制药厂),利血平(天津市人民制药厂),去甲肾上腺素(NE,天津市和平制药厂),1,1-dimethyl-4-phenyl-piperazinium(DMPP, Sigma), tri-

methyl phenylammonium(TMPA,上海试剂厂),河豚毒素(TTX,河北省水产研究所)。药物溶于 Krebs-Henseleit 液。

## 结 果

### ACh 的气管平滑肌松弛效应和药物的影响

#### 1. ACh 气管平滑肌松弛效应的特点

ACh 单次或累积给药均使豚鼠气管平滑肌张力增加,  $ED_{50} = 6.59 \mu\text{mol/L}$ 。在  $0.2 \mu\text{mol/L}$  阿托品存在下 ACh ( $0.02-0.4 \mu\text{mol/L}$ ) 使气管平滑肌产生收缩效应之前出现短暂的松弛效应,肌张力变化曲线先下降,然后渐上升,可以高于基线水平(图 1, A)。ACh 松弛气管平滑肌效应有以下特点: 1) 在阿托品存在时出现; 2) 效应短暂,常为 2-4 min; 3) ACh 在  $0.02-0.4 \mu\text{mol/L}$  浓度范围内松弛效应与 ACh 浓度成正比( $n = 12$ ); 4) 不能累积, ACh 累积给药时仅第一剂量 ACh 产生松弛效应,累加的 ACh 不能使松弛作用加大,相反只能使收缩效应累加; 5) 有一定的气管部位差异和个体差异,气管上段对 ACh 松弛效应较下段敏感;个别标本同样条件下却无 ACh 松弛效应。

2. 普萘洛尔和利血平对 ACh 松弛效应的影响 为确定 ACh 松弛效应与肾上腺素能神经的关系,观察了  $\beta$  受体阻断药普萘洛尔和干扰肾上腺素能神经递质储存的药物利血平对此效应的影响。普萘洛尔( $1.69 \mu\text{mol/L}$ ) 完全阻断 ACh 气管松弛效应,在溶液中加入普萘洛尔 5 min 后 ACh 不再产生松弛效应,只产生收缩效应( $n = 17$ ) (见图 1, B)。用利血平 ( $5 \text{ mg/kg im}$ ) 处理动物 24 h 后取气管制作标本,发现 ACh 对这种标本不产生松弛效应 ( $n = 12$ )。说明 ACh 松弛豚鼠气管平滑肌效应是通过肾上腺素能神经元间接产生的。在 ACh 作用下肾上腺素能神经元释放 NE, 后者作用于气管平滑肌  $\beta$  受体产生松弛效应。

3. 烟碱受体(N受体)阻断药对 ACh 气管松弛效应的影响 在 ACh 给药前 5 min 于浴液中加入  $C_6$  或 dTC, 两药  $10 \mu\text{mol/L}$  完全阻断

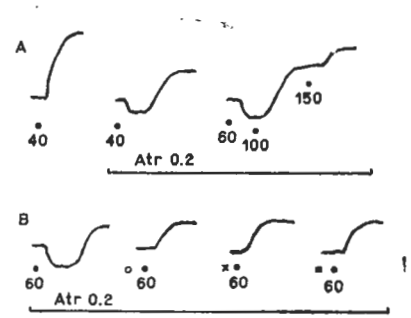


Fig 1. Responses of guinea pig trachea to ACh (●) in the absence and presence of atropine (Atr,  $0.2 \mu\text{mol/L}$ ) in A. Effects of propranolol (○,  $1.7 \mu\text{mol/L}$ ), hexamethonium (×,  $10 \mu\text{mol/L}$ ) and tubocurarine (■,  $10 \mu\text{mol/L}$ ) on responses to ACh (●) in the presence of atropine ( $0.2 \mu\text{mol/L}$ ) in B. Antagonists were added 5 min before ACh retest. Final bath concentrations ( $\mu\text{mol/L}$ ) of ACh are indicated below dots.

ACh 气管松弛效应,对 ACh 收缩效应没有明显影响(图 1, B)。提示 ACh 作用于 N 受体使肾上腺素能神经释放 NE。

#### $N_1$ 受体和 $N_2$ 受体激动药松弛气管平滑肌效应和药物的影响

1. DMPP 和 TMPA 松弛气管平滑肌的效应 N 受体分  $N_1$  和  $N_2$  受体两型。观察 DMPP 和 TMPA ( $N_2$  受体激动药)<sup>(4)</sup> 对豚鼠气管平滑肌张力的影响,以确定 ACh 通过哪一型 N 受体使 NE 释放。从图 2 A 可见  $50 \mu\text{mol/L}$  DMPP 模拟 ACh 产生松弛效应, TMPA 此浓度不能产生或产生微弱的松弛效应,浓度增加 20 倍达  $1 \text{ mmol/L}$  时效应远小于  $50 \mu\text{mol/L}$  DMPP。溶液中有阿托品 ( $0.1 \mu\text{mol/L}$ ) 时 DMPP 松弛效应加大,说明 DMPP 不仅使 NE 释放,还兴奋副交感节后神经元使平滑肌收缩抵消部分松弛效应。当阿托品阻断 M 受体后, DMPP 松弛效应更为明显。以下实验除特殊说明外,溶液中含有阿托品 ( $0.1 \mu\text{mol/L}$ )。

DMPP 松弛气管平滑肌效应具 ACh 效应类似特点,如持时短暂、不能累积、有量效关系及气管上下段间有差异等。以  $60 \mu\text{mol/L}$  NE 产生的松弛效应为 100%, 算得 DMPP 松弛气管上、下段  $ED_{50}$  分别为  $66.4 \mu\text{mol/L}$  (95%置

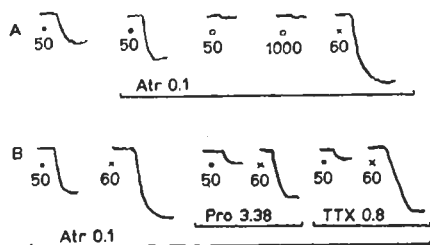


Fig 2. Responses of guinea pig trachea to 1,1-dimethyl-4-phenyl-piperazinium (DMPP) (●), trimethyl phenylammonium (TMPA) (○), and norepinephrine (NE) (×), in the absence and presence of atropine (Atr, 0.1 μmol/L) in A. Effects of propranolol (3.38 μmol/L) and tetrodotoxin (TTX 0.8 μmol/L) on responses to DMPP and TTX were added 5 min before DMPP and NE retest. Final bath concentrations (μmol/L) agonists are indicated below dots.

信限为 60.4-72.9) 和 0.33 mmol/L (0.25-0.45), TMPA 松弛效应弱, 浓度为 1 mmol/L 时对气管上段的松弛效应仅为  $4 \pm 6\%$ , 不能计算  $ED_{50}$  (见图 3)。说明 ACh 松弛气管平滑肌

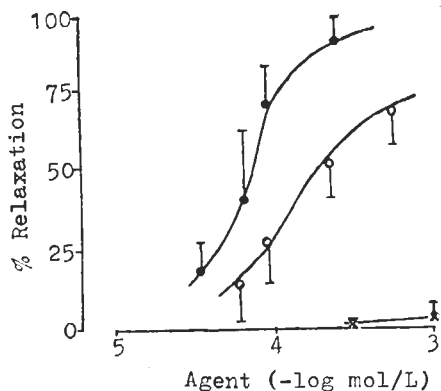


Fig 3. Concentration-response curve of guinea pig trachea upper (●, n=6) and lower (○, n=3) segments to DMPP and to TMPA (×).  $p < 0.05$ ,  $\bar{x} \pm SD$

的机理与  $N_1$  受体有关。图 4 示不同浓度阿托品对 50 μmol/L DMPP 气管松弛效应的影响, DMPP 效应在阿托品浓度为 0.01-0.1 μmol/L 时最大。阿托品浓度较低 (0.01-0.1 μmol/L) 时 DMPP 使副交感神经节后纤维兴奋引起的收缩效应不能完全消除, 故松弛效应不能完全

表现出来; 至于阿托品浓度较大时 (10-100 μmol/L), DMPP 效应降低的原因尚不清楚。是否属于阿托品的非抗M作用的干扰或 DMPP 效应存在M受体依赖性有待研究。

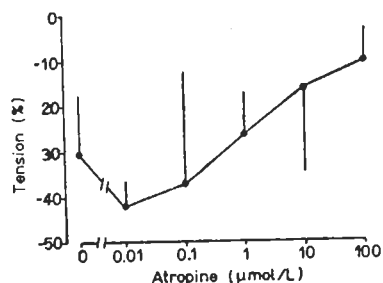


Fig 4. Effects of atropine on relaxant responses of guinea pig trachea upper segments to DMPP (50 μmol/L).  $n = 8$ ,  $\bar{x} \pm SD$

2. 药物对 DMPP 气管松弛效应的影响  
干扰肾上腺素能神经传递的药物对 DMPP 松弛效应也有阻断作用。图 5 为不同浓度普萘洛尔对 DMPP 50 μmol/L 和 NE 60 μmol/L 气管松弛效应的影响, 普萘洛尔 3.38 μmol/L 抑制 DMPP 效应  $78 \pm 21\%$ , 10 μmol/L 时完全阻断其效应; 抑制 NE 松弛效应的浓度相对较高, 3.38 μmol/L 仅抑制 NE 效应  $22 \pm 12\%$ , 67.8 μmol/L 完全阻断。NE 不仅兴奋 β 受体还可兴奋 α 受体, 普萘洛尔阻断 β 受体后, NE 使气管平滑肌收缩, 这种收缩效应可被 α 受体阻断药酚妥拉明阻断。因此, 豚鼠气管平滑肌除 β

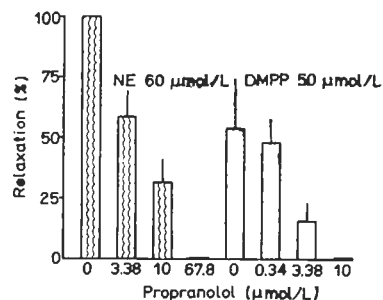


Fig 5. Effects of propranolol on relaxation of guinea pig tracheal upper segments to DMPP (50 μmol/L) and NE (60 μmol/L). Final bath concentrations μmol/L of propranolol are given below columns.  $n = 4$ ,  $\bar{x} \pm SD$

受体外还有兴奋性  $\alpha$  受体, 与文献(5)相符。DMPP 对利血平处理(方法同前)动物气管也不能产生松弛效应。以上结果说明 DMPP 松弛气管平滑肌效应的机理与 ACh 相同, 即作用于肾上腺素能神经末梢  $N_1$  受体使 NE 释放, 后者兴奋平滑肌细胞  $\beta$  受体产生松弛效应。

我们观察到  $Na^+$  通道阻断药 TTX  $0.8 \mu\text{mol/L}$  明显抑制 DMPP ( $0.2-0.6 \text{ mmol/L}$ ) 的气管松弛效应, 抑制率为  $88 \pm 16\%$  ( $n=7$ )。同样浓度 TTX 对 NE 松弛效应无明显影响。

## 讨 论

当神经冲动传递到肾上腺素能神经末梢时使  $Na^+$  内流, 内源性 ACh 释放, 后者作用于胞内受体使 NE 释放<sup>(2,6)</sup>。我们实验证明, 外源性 ACh 松弛豚鼠气管平滑肌的机理是 ACh 作用于肾上腺素能神经末梢  $N_1$  受体使 NE 释放, NE 作用  $\beta$  受体使气管平滑肌松弛。所谓外源性 ACh 是相对肾上腺素能神经元内存在的 ACh 而言的。支配豚鼠气管平滑肌的胆碱能神经和肾上腺素能神经不仅与平滑肌细胞紧密相贴, 它们两者间的关系也非常紧密<sup>(1)</sup>。这是两种功能不同的神经相互调节和协调的基础。支气管肾上腺素能神经已证明对胆碱能神经张力有抑制作用<sup>(7)</sup>。本实验结果提示胆碱能神经对肾上腺素能神经有兴奋作用, 胆碱能神经释放的 ACh 一方面作用于 M 受体使平滑肌收缩, 另一方面作用于肾上腺素能神经末梢  $N_1$  受体使 NE 释放, 引起气管松弛效应从而调节气管平滑肌张力。刺激迷走神经不仅使豚鼠气管平滑肌收缩还产生松弛效应, 有人认为这是迷走神经中混杂的儿茶酚胺能神经纤维兴奋的缘故<sup>(8)</sup>。实际上, 这可能是胆碱能神经调节肾上腺素能神经活动的一个证据。

豚鼠气管肾上腺素能神经密度分布不同, 上段大于下段, 因此气管不同部位对 ACh 或 DMPP 松弛效应的敏感性不同, 上段气管较下段敏感, 肾上腺素能神经末梢  $N_1$  受体兴奋后通过什么环节使 NE 释放还有争论。有人认为

与离子通道开放有关,  $N_1$  受体兴奋后引起扩布性电位变化<sup>(9)</sup>。但也有相反的意见<sup>(10)</sup>。据 TTX 对 DMPP 效应的影响, 可以认为  $N_1$  受体兴奋使 NE 释放的过程中有  $Na^+$  通道开放的因素参与。

气管平滑肌细胞上除胆碱能受体和肾上腺素能受体外还有组织胺受体和嘌呤受体<sup>(11,12)</sup>, 肽类递质(如 VIP)<sup>(13)</sup>和多巴胺等对肌张力也有影响。但是, 介导抑制性效应的受体只有  $\beta$  受体、嘌呤受体和 VIP 受体等。据上述药物对 ACh 和 DMPP 松弛效应的影响, 我们认为外源性 ACh 引起的气管平滑肌松弛效应是通过肾上腺素能神经间接产生的。

致谢 实验得到韩树芬和董华进同志帮助

## 参 考 文 献

- 1 Jones TR, Kannan MS, Daniel EE. Ultrastructural study of guinea pig trachea smooth muscle and its innervation. *Can J Physiol Pharmacol* 1980; 58 : 947
- 2 Burn JH, Rand MJ. Sympathetic postganglionic mechanism. *Nature* 1959; 184 : 163
- 3 Constantine JW. The spirally cut tracheal strip preparation. *J Pharm Pharmacol* 1965; 17 : 384
- 4 Mayer SE. Neurohumoral transmission and the autonomic nervous system. In: Gilman AG, Goodman LS, Gilman A, eds. *The pharmacological basis of therapeutics*, 6th ed. NY: Macmillan, 1980; 56-90
- 5 Fleisch JH, Maling HM, Brodie BB. Evidence for existence of alpha-adrenergic receptors in the mammalian trachea. *Am J Physiol* 1970; 218 : 596
- 6 Burn JH, Rand MJ. Acetylcholine in adrenergic transmission. *Annu Rev Pharmacol* 1965; 5 : 163
- 7 Grundstrom N, Andersson GG, Wikberg JES. Investigation on possible presynaptic effect of adenosine and noradrenaline on cholinergic neurotransmission in guinea pig trachea. *Acta Pharmacol Toxicol* 1981; 49 : 158
- 8 Hammarstrom M, Sjostrand NO. Pathways for excitatory and inhibitory innervation to the guinea pig tracheal smooth muscle. *Experientia* 1979; 35 : 64

- 9 Jones TR, Lefcoe NM, Hamilton JT. Studies of the action of nicotine in guinea pig tracheal smooth muscle: interaction with beta-adrenoceptor antagonists. *Eur J Pharmacol* 1980; 67 : 53
- 10 Toda N. Nicotine-induced relaxation in isolated canine cerebral arteries. *J Pharmacol Exp Ther* 1975; 193 : 376
- 11 Carswell H, Nahorski SR. Distribution and characteristics of histamine H<sub>1</sub>-receptors in guinea pig airways identified by [<sup>3</sup>H]mepyramine. *Eur J Pharmacol* 1982; 81 : 301
- 12 Satchell D. Nonadrenergic, noncholinergic nerves in mammalian airways: their function and the role of purine. *Comp Biochem Physiol [C]* 1982; 72 C : 189
- 13 Hand JM, Laravuso RB, Will JA. Relaxation of isolated guinea pig trachea, bronchi and pulmonary arteries produced by vasoactive intestinal peptide. *Eur J Pharmacol* 1984; 98 : 279
- 14 Koga Y, Downes H, Taylor SM. Direct and indirect actions of dopamine on tracheal smooth muscle. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* 1980; 315 : 15

*Acta Pharmacologica Sinica* 1987 Mar, 8 (2) : 105-109

## Effects of exogenous acetylcholine on tension of smooth muscle in isolated guinea pig trachea

MEI Ling, YAN Jing-Chu

(Institute of Pharmacology & Toxicology, Academy of Military Medical Sciences, Beijing 100800)

**ABSTRACT** Effects of ACh and 6 related drugs on smooth muscle tension of isolated spirally-cut guinea pig trachea were studied. ACh (0.02–0.4 mmol/L) induced a slight, transient and dose-dependent relaxation before contraction of guinea pig trachea in the presence of atropine (0.2 μmol/L). This relaxant effect was blocked by propranolol (1.7 μmol/L) and *in vivo* pretreatment of guinea pig with reserpine (5 mg/kg, im) 24 h before making preparations. This suggested the involvement of adrenergic nerves in it. It was mimicked by DMPP (1,1-dimethyl-4-phenyl-piperazinium), a selective N<sub>1</sub> agonist (ED<sub>50</sub> = 38.0 μmol/L, for upper segments). However, the relaxant effect induced by TMPA (trimethyl phenylammonium 1 mmol/L) a selective agonist for N<sub>2</sub>

receptors, was only 3.83% of the maximum of DMPP. Tetrodotoxin (0.8 μmol/L) inhibited the relaxant effect of DMPP by 87.98% but not that of norepinephrine. All these results showed that exogenous ACh relaxed guinea pig trachea by inducing the release of norepinephrine from adrenergic terminals via stimulating N<sub>1</sub> receptors on them. It was strongly suggested that cholinergic nerves modulate the release of neurotransmitters from adrenergic nerves and relax the smooth muscle tension of guinea pig trachea.

**KEY WORDS** guinea pigs; trachea; cholinergic fibers; adrenergic fibers; acetylcholine; norepinephrine; nicotinic receptors; beta-adrenergic receptors