

# 甲状旁腺素 1-34 对兔主动脉钙流动和 6-酮-前列腺素 $F_{1\alpha}$ 释放的影响

曾湘平、程锦轩、王振纲 (中国医学科学院基础医学研究所药理室, 北京 100005)

**提要** 甲状旁腺素 1-34(bPTH<sub>1-34</sub>)明显抑制高 KCl 和 BAY k-8644 开放电压敏感性钙通道引起的主动脉条  $^{45}\text{Ca}^{2+}$  内流, 这可能是其舒血管效应的主要机理。bPTH<sub>1-34</sub> 对  $^{45}\text{Ca}^{2+}$  流出未见明显影响。它在产生血管舒张的浓度范围内对 6-keto-PGF<sub>1 $\alpha$</sub>  释放无显著性影响, 提示 bPTH<sub>1-34</sub> 的血管效应可能与 PGI<sub>2</sub> 无关。

**关键词** 半甲状旁腺素 1-34; BAY k-8644; 硝苯啶; 维拉帕米; [ $^{45}\text{Ca}$ ]氯化钙; 6-酮-前列腺素  $F_{1\alpha}$ ; 主动脉

甲状旁腺素(parathyroid hormone, PTH)能对抗由钙通道激动剂 BAY k-8644 引起的兔主动脉收缩, 具有钙通道拮抗剂样的舒血管特点<sup>(1)</sup>。PTH 的舒血管效应可能与影响 cAMP 代谢和  $\text{Ca}^{2+}$  的跨膜流动有关<sup>(2,3)</sup>。

多数钙通道拮抗剂能减少血管平滑肌细胞的  $\text{Ca}^{2+}$  内流<sup>(4,5)</sup>。为了进一步探讨 PTH 的舒血管机理及其与钙拮抗剂作用的异同, 本文比较测定了两者对  $^{45}\text{Ca}^{2+}$  跨膜流动的影响, 由于 PGI<sub>2</sub> 是血管内皮细胞产生的一种重要的舒血

管因子<sup>(1)</sup>。作者还观测了 bPTH<sub>1-34</sub> 对主动脉条释放 PGI<sub>2</sub> 的稳定代谢产物 6-酮-前列腺素  $F_{1\alpha}$ (6-keto-PGF<sub>1 $\alpha$</sub> )的影响, 以确定 PGI<sub>2</sub> 在 PTH 舒血管作用中的可能意义。

## 材 料 和 方 法

$^{45}\text{CaCl}_2$  和 [ $^3\text{H}$ ]6-keto-PGF<sub>1 $\alpha$</sub>  均为 Amersham 公司产品, 比活度分别为 0.074 和 14.6 GBq/mg; 6-keto-PGF<sub>1 $\alpha$</sub>  标准品系 Upjohn 公司产品; 6-keto-PGF<sub>1 $\alpha$</sub>  特异性抗体(工作滴度为 1:2000)由本室与中国人民解放军 301 医院, 中国科学院动物所协作制得; 其余试剂均为 AR 级。

**主动脉条  $^{45}\text{Ca}^{2+}$  交换测定** 按文献(6)核素法略加改进: 取兔主动脉, 剪成重约 20 mg, 长度为 2.5 cm 的纵形肌条, 置于生理盐水溶液(NS)并通 100% O<sub>2</sub>, 37°C 平衡 60 min, 每 15 min 换液一次。Ca<sup>2+</sup> 内流测定中, 将肌条加所试药物或高 KCl NS(将 NaCl 换成等当量 KCl)平衡 10 min, 加入  $^{45}\text{CaCl}_2$  37 kBq/2 ml, 37°C 温育 10 min, 立即移入预冷的含 EGTA

2 mmol/L 的 5 ml 无  $\text{Ca}^{2+}$  NS 中 45 min, 以中止反应并去除肌条表面吸附的  $^{45}\text{Ca}^{2+}$ 。肌条用滤纸吸干, 精确称重, 加 0.4 ml,  $\text{NaCl}$  (1 mol/L), 沸水浴消化 20 min. 冷却后加甲苯闪烁液 7 ml, 无水乙醇 4 ml, 在 Beckman LS-8000 型液闪仪上测定 cpm 数。

$\text{Ca}^{2+}$  流出实验中, 肌条在含  $^{45}\text{CaCl}_2$  37 kBq/2 ml 的 NS 中  $37^\circ\text{C}$  温育 60 min. 用预冷的无  $\text{Ca}^{2+}$  EGTA 2 mmol/L 的 NS 洗两次, 然后置于含药物的无  $\text{Ca}^{2+}$  NS 1 ml 中  $37^\circ\text{C}$  温育 10 min, 测定温育液中的 cpm 数。

按下式计算每克湿组织  $\text{Ca}^{2+}$  流动量 (nmol/g):

$$\frac{\text{肌条或温育液之 cpm}}{\text{肌条湿重 (g)}} \times \frac{\text{温育液中 } \text{CaCl}_2 \text{ 量 (nmol/ml)}}{\text{温育液中 } ^{45}\text{CaCl}_2 \text{ 量 (cpm/ml)}}$$

**主动脉条 6-keto-PGF<sub>1α</sub> 释放量测定** 取主动脉肌条置于 Hepes 缓冲液中,  $37^\circ\text{C}$  平衡 60 min, 每 15 min 换液一次。分置各肌条并分别加 Hepes 液 1 ml 及所试各药物 (BAY k-8644 1.4  $\mu\text{mol/L}$ , bPTH<sub>1-34</sub> 1.25  $\mu\text{mol/L}$ , 硝苯啶 1.4  $\mu\text{mol/L}$ ), THZ-82 型恒温振荡器  $37^\circ\text{C}$  振荡 30 min. 取血管条精确称重。温育液加 HCl 1 mol/L 0.1 ml 酸化, 样品提取和测定按 6-keto-PGF<sub>1α</sub> 放射免疫方法 (RIA)<sup>(7)</sup> 进行, 测定回收率为 90% 以上。

## 结 果

**bPTH<sub>1-34</sub> 对  $\text{Ca}^{2+}$  内流的影响** 在有  $^{45}\text{CaCl}_2$  37 kBq/2 ml 的 NS 缓冲液中, 用高  $\text{K}^+$  ( $\text{KCl}$  145 mmol/L) 和 BAY k-8644 1.4  $\mu\text{mol/L}$  均促进  $\text{Ca}^{2+}$  内流, 在 5-10 min 曲线基本达到平衡状态 (图 1)。

在生物测定中具有明显舒血管效应的 bP-TH<sub>1-34</sub> (0.12  $\mu\text{mol/L}$ ), 硝苯啶 (0.14  $\mu\text{mol/L}$ ) 和维拉帕米 (0.2  $\mu\text{mol/L}$ ), 本实验结果表明均能对抗高  $\text{K}^+$  ( $\text{KCl}$ ) 诱发的  $\text{Ca}^{2+}$  内流 (图 2)。

同时它们对抗 BAY k-8644 诱发的  $\text{Ca}^{2+}$  内

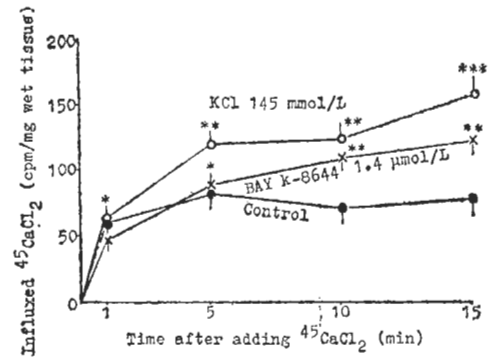


Fig 1. Time-effect curves of  $^{45}\text{CaCl}_2$  influx with  $\text{KCl}$ , BAY k-8644 in isolated rabbit aortic strips. Drugs were added to NS 10 min before  $^{45}\text{CaCl}_2$  adding.  $n=4$  expts,  $\bar{x}\pm\text{SD}$ , \* $p>0.05$ , \*\* $p<0.05$ , \*\*\* $p<0.01$ .

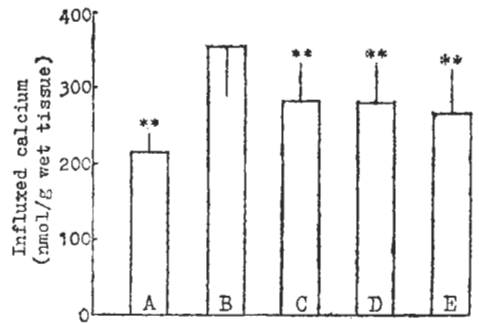


Fig 2. Contents of influxed calcium of isolated rabbit aortic strips after incubation for 10 min with saline (A) or  $\text{KCl}$  145 mmol/L (B-E). (C) + bPTH<sub>1-34</sub> 0.12  $\mu\text{mol/L}$ , (D) + nifedipine 0.14  $\mu\text{mol/L}$ , (E) + verapamil 0.2  $\mu\text{mol/L}$ .  $n=4-6$  expts in duplicate,  $\bar{x}\pm\text{SD}$ . \*\* $p<0.05$  vs (B).

流作用也具有显著性意义 (BAY k-8644 0.14  $\mu\text{mol/L}$ ,  $302\pm 41$  nmol/g 组织,  $n=4$ ; BAY k-8644 0.14  $\mu\text{mol/L}$  + bPTH<sub>1-34</sub> 0.12  $\mu\text{mol/L}$ ,  $190\pm 40$  nmol/g 组织,  $n=4$ ,  $p<0.01$ ; BAY k-8644 0.14  $\mu\text{mol/L}$  + 硝苯啶 0.14  $\mu\text{mol/L}$ ,  $211\pm 50$  nmol/g 组织,  $n=4$  即四次实验,  $p<0.05$ ). bPTH<sub>1-34</sub>, 硝苯啶和维拉帕米对无诱导剂存在时的基础  $\text{Ca}^{2+}$  交换均无明显影响。

**对  $\text{Ca}^{2+}$  流出的影响** BAY k-8644, bPTH<sub>1-34</sub>, 硝苯啶和维拉帕米对预先用  $^{45}\text{CaCl}_2$  溶液温育后的主动脉条的  $\text{Ca}^{2+}$  流出均未见明显影响 (见表 1)。

Tab 1. Effects of bovine parathyroid hormone 1-34 (bPTH<sub>1-34</sub>), nifedipine, verapamil and BAY k-8644 on Ca<sup>2+</sup> efflux from rabbit aorta strips. Strips were incubated in saline (NS) with <sup>45</sup>CaCl<sub>2</sub> (37 kBq/2 ml) for 60 min, then washed with O-Ca<sup>2+</sup> NS + EGTA 2 mmol/L for 10 min for 2 times and exposed to each drug dissolved in O-Ca<sup>2+</sup> NS + EGTA 2 mmol/L for 10 min. n = 4-6 expts,  $\bar{x} \pm SD$ , \*p > 0.05

Drugs ( $\mu\text{mol/L}$ )	cpm/mg tissue	nmol/g tissue
Control	37 $\pm$ 6	126 $\pm$ 21
bPTH <sub>1-34</sub> (0.12)	32 $\pm$ 8	108 $\pm$ 26*
Nifedipine(0.14)	29 $\pm$ 8	99 $\pm$ 29*
Verapamil(0.2)	32 $\pm$ 12	109 $\pm$ 41*
BAY k-8644(0.14)	34 $\pm$ 2	116 $\pm$ 8*

### 对主动脉条 6-keto-PGF<sub>1 $\alpha$</sub> 释放的影响

用 RIA 方法测观 BAY k-8644 (1.4  $\mu\text{mol/L}$ ), bPTH<sub>1-34</sub>(1.25  $\mu\text{mol/L}$ ) 和硝苯啶(1.4  $\mu\text{mol/L}$ ) 对主动脉条在 Hepes 温育液中反应 30 min 6-keto-PGF<sub>1 $\alpha$</sub>  含量的影响。结果表明 BAY k-8644 为 94  $\pm$  31 ng/g 组织, bPTH 1-34 81  $\pm$  40 ng/g 组织, 硝苯啶为 141  $\pm$  20 ng/g 组织, 三者 (n = 4) 与对照组(117  $\pm$  40 ng/g 组织) 比较 p > 0.05。

bPTH<sub>1-34</sub> 低浓度 0.1  $\mu\text{mol/L}$  时, 测得 6-keto-PGF<sub>1 $\alpha$</sub>  值 115  $\pm$  41 ng/g 组织, 高浓度 1.25  $\mu\text{mol/L}$  时, 测得 6-keto-PGF<sub>1 $\alpha$</sub>  值 81  $\pm$  40 ng/g 组织, 对照组为 117  $\pm$  40 ng/g 组织, n = 4 即 4 次实验, p > 0.05, 结果无显著性差异。

### 讨 论

bPTH<sub>1-34</sub> 对实验动物的降压效应与肾上腺素  $\alpha$  和  $\beta$  受体, M 胆碱受体, 组胺 H<sub>1</sub>, H<sub>2</sub> 受体, 前列腺素受体等血管活性物质的特异受体无关, 推测为其直接作用于血管平滑肌<sup>(8,9)</sup>。其舒血管效应表现为钙拮抗剂样特点<sup>(1)</sup>。

用本文方法测得 bPTH<sub>1-34</sub> 抑制 BAY k-8644 和高 K<sup>+</sup>KCl 诱发的 Ca<sup>2+</sup> 内流结果与杨等的报告<sup>(2)</sup>一致。而高 KCl 和 BAY k-8644 均被认为是通过开放电压敏感性钙通道促进 Ca<sup>2+</sup>

内流的。值得注意的是 PTH 对 Ca<sup>2+</sup> 在细胞膜上的跨膜流动具有选择性作用<sup>(10)</sup>。

结果还表明: bPTH<sub>1-34</sub> 在产生舒血管作用的浓度范围内, 6-keto-PGF<sub>1 $\alpha$</sub>  释放量降低不显著(p > 0.05), 提示 PGI<sub>2</sub> 在 bPTH<sub>1-34</sub> 舒血管效应中可能不起作用。杨等<sup>(2)</sup>观察到, bPTH<sub>1-34</sub> 在去除内皮细胞层的血管条上仍具有完全的舒血管反应, 也表明 bPTH<sub>1-34</sub> 的舒血管效应与 PGI<sub>2</sub> 的关系甚微。

总之, PTH 在增加血钙的同时改变了机体各器官组织对 Ca<sup>2+</sup> 的利用。在血管, 减少 Ca<sup>2+</sup> 的跨膜内流可能是 PTH 舒张血管的主要机理。而 PTH 对主动脉 PGI<sub>2</sub> 的影响甚小, 似乎无重要意义。

致谢 本室段金虹同志参加部分工作

### 参 考 文 献

- 1 Pang PKT, Hong BS, Yen L, Yang MCM. Parathyroid hormone: a specific potent vasodilator. *Contrib Nephrol* 1984; 41 : 137
- 2 Yang MCM, Pang PKT. Vascular action of parathyroid hormone. In: Oguro T, Pang PKT, eds. *Comparative endocrinology of calcium regulation*. Tokyo: Jap Sci Soc Press, 1982 : 219-24
- 3 Huang M, Hanley DA, Rorstad OP. Parathyroid hormone stimulates adenylate cyclase in rat cerebral microvessels. *Life Sci* 1983; 32 : 1009
- 4 Deth R, Breemen CV. Relative contributions of Ca<sup>2+</sup> influx and cellular Ca<sup>2+</sup> release during drug-induced activation of the rabbit aorta. *Pflugers Arch* 1974; 348 : 13
- 5 Preuss KC, Gross GJ, Brooks HL, Warltier DC. Slow channel calcium activators, a new group of pharmacological agents. *Life Sci* 1985; 37 : 1271
- 6 Cauvin C, Saida K, Breemen CV. Extracellular Ca<sup>2+</sup> dependence and diltiazem inhibition of contraction in rabbit conduit arteries and mesenteric resistance vessels. *Blood Vessel* 1984; 21 : 23
- 7 史以庆, 李振甲, 马魁榕, 程锦轩, 杨梅芳, 王振纲. 6-酮-前列腺素 F<sub>1 $\alpha$</sub>  放射免疫分析法. *中国医学科学院学报* 1986; 8 : 310
- 8 Pang PKT, Tenner TE, Yee JA, Yang M,

- Janssen HF. Hypotensive action of parathyroid hormone preparations on rat and dogs. *Proc Natl Acad Sci USA* 1980; 77 : 675
- 9 Yang MCM, Tenner TE, Pang PKT. Lack of histamine involvement in parathyroid hormone hypotension action. *Pharmacology* 1981; 22 : 305
- 10 Bolger GT, Gengo PJ, Luchowski EM, Siegel H, Triggie DJ, Janis RA. High affinity binding of a calcium channel antagonist to smooth and cardiac muscle. *Biochem Biophys Res Commun* 1982; 104 : 1604
- 11 史以庆. 花生四烯酸及其代谢物的生理与药理. *生理科学进展* 1985; 16 : 362

*Acta Pharmacologica Sinica* 1988 May, 9 (3) : 224-227

## Effect of bovine parathyroid hormone 1-34 on calcium flux and 6-keto-PGF<sub>1α</sub> release of rabbit aorta

ZENG Xiang-Ping, CHENG Jin-Xuan, WANG Zhen-Gang (Department of Pharmacology, Institute of Basic Medical Sciences, Chinese Academy of Medical Sciences Beijing, 100005)

**ABSTRACT** The vasoactive mechanism of bovine parathyroid hormone 1-34 (bPTH<sub>1-34</sub>) was investigated as compared with nifedipine and verapamil. bPTH<sub>1-34</sub> inhibited significantly <sup>45</sup>Ca influx of rabbit aorta through potential sensitive channel opened by high potassium (KCl 145 mmol/L group 360 ± 74 nmol/g wet tissue, KCl 145 mmol/L + bPTH<sub>1-34</sub> 0.12 μmol/L group 275 ± 50 nmol/g wet tissue, n = 4, p < 0.05) and BAY k-8644 (BAY k-8644 0.14 μmol/L group 302 ± 41 nmol/g wet tissue, BAY k-8644 0.14 μmol/L + bPTH<sub>1-34</sub> 0.12 μmol/L group 190 ± 40 nmol/g wet tissue, n = 4, p < 0.01), which may be the main vasodilative mechanism of bPTH<sub>1-34</sub>. The action of bPTH<sub>1-34</sub> on calcium efflux was not observed. The effect of the above drugs

on the release of 6-keto-PGF<sub>1α</sub> was not consistent with that on vessel relaxation. Within the extent of concentration producing vessel relaxation, bPTH<sub>1-34</sub> did not increase the release of 6-keto-PGF<sub>1α</sub> (control group 117 ± 40 ng/g wet tissue, bPTH<sub>1-34</sub> 1.25 μmol/L group 81 ± 40 ng/g wet tissue, n = 4, p > 0.05). It is suggested that there is no relationship between metabolism of PGI<sub>2</sub> and vasodilation of bPTH<sub>1-34</sub>.

**KEY WORDS** bovine parathyroid hormone 1-34; BAY k-8644; nifedipine; verapamil; <sup>45</sup>CaCl<sub>2</sub>; 6-keto-PGF<sub>1α</sub>; aorta

Project supported by National Natural Science Foundation of China, No 85-173