

牛甲状旁腺素 1-34 舒张兔主动脉的作用

曾湘平、杨武、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 与硝苯啶、维拉帕米相似, 牛甲状旁腺素 1-34 (bPTH₁₋₃₄)能拮抗 BAY k 8644 诱发的兔主动脉条收缩(IC₅₀ = 0.95 μmol/L), 也降低其基础张力(IC₅₀ = 48 μmol/L), 但对去甲肾上腺素引起的收缩影响很弱, 推测其主要作用于电压敏感性钙通道, 影响 Ca²⁺的跨膜内流而调节平滑肌张力, 作用强度 bPTH₁₋₃₄ > 硝苯啶 > 维拉帕米。

关键词 甲状旁腺激素 1-34; BAY k 8644; 硝苯啶; 维拉帕米; 钙; 主动脉; 血管平滑肌

甲状旁腺素 (parathyroid hormone, PTH) 可减少外周血管阻力, 降低动脉血压, 增加输出量^(1,2)。PTH 亦直接舒张由多种缩血管剂引起的离体血管收缩⁽²⁻⁴⁾。我们以往的研究发现 PTH 的作用可能与其对 Ca²⁺运动的影响有关。

本实验选用钙通道激动剂 BAY k 8644 作血管收缩剂, 将 bPTH₁₋₃₄ (含牛 PTH 氨基末端 34 个氨基酸的合成肽段, 具 PTH 全肽的基本生物活性) 与已知的钙通道拮抗剂硝苯啶 (nifedipine, Nif) 和维拉帕米 (verapamil, Ver) 比较, 探讨了 bPTH₁₋₃₄ 舒张血管的特点及可能机理。

5

H₂N-Ala-Val-Ser-Glu-Ile-Gln-Phe-Met-His-

10 15

Asn-Leu-Gly-Lys-His-Leu-Ser-Ser-Met-Glu-

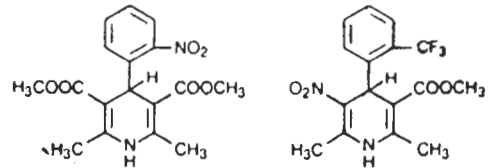
20 25

Arg-Val-Glu-Trp-Leu-Arg-Lys-Lys-Leu-Gln-

30 34

Asp-Val-His-Asn-Phe

Bovine parathyroid hormone 1-34

(bPTH₁₋₃₄)

Nifedipine

BAY k 8644

材 料 和 方 法

bPTH₁₋₃₄ 为 Sigma 公司产品, 分子量 4108.7。BAY k 8644 系 Bayer 药厂产品。Nif 为 Sigma 公司产品。Ver 系天津中药制药二厂供给。去甲肾上腺素 (NE) 为美国 Serra Fein-biochemica 公司产品。其余试剂均为 AR 级。

新西兰兔, ♀♂兼用, 体重 2±0.5 kg, 颈总动脉放血处死后取胸主动脉, 剪成 30×3 mm 之螺旋肌条, 置 37℃ 的 Krebs 溶液, 平衡 90 min, 每 15 min 换液一次, 通 95% O₂ + 5% CO₂, pH 7.5±0.1, 负荷 0.5 g。无钙条件用不含 Ca²⁺ 并加 EDTA 1 mmol/L 的 Krebs 溶液平衡 10 min。张力变化经机械-电换能器输入生理平衡记录仪。

结 果

BAY k 8644 收缩血管的特点 在正常 Krebs 溶液中, BAY k 8644 对离体兔主动脉条表现双相作用, 在 1-1000 nmol/L 范围内收缩血管, 强度与剂量相关, 约 1 μmol/L 时达最大效应 (计作 100%), ED₅₀ 0.1 μmol/L, r = 0.98。浓度大于 2 μmol/L 收缩作用逐渐降低, 在 30 μmol/L 时可使先前由较小剂量 BAY k 8644 诱发的收缩完全舒张。

在含 EDTA 的无 Ca²⁺ Krebs 溶液中, BAY

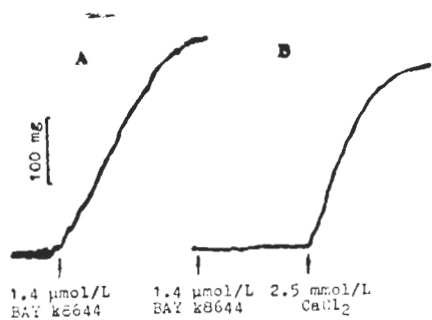


Fig 1. Effects of BAY k 8644 on rabbit isolated aortic strip in normal (A) or Ca^{2+} -free (B) Krebs solutions.

k 8644 不引起收缩, 此时加入 CaCl_2 收缩迅速出现(图 1)。

bPTH₁₋₃₄ 血管效应的特点 bPTH₁₋₃₄ 可明显对抗 BAY k 8644 诱发的收缩, 预先给予 bPTH₁₋₃₄, 既降低肌条的基础张力, 亦减少 BAY k 8644 的收缩幅度。后于 BAY k 8644 给药, bPTH₁₋₃₄ 可使已收缩的血管出现一定程度的舒张(图 2)。

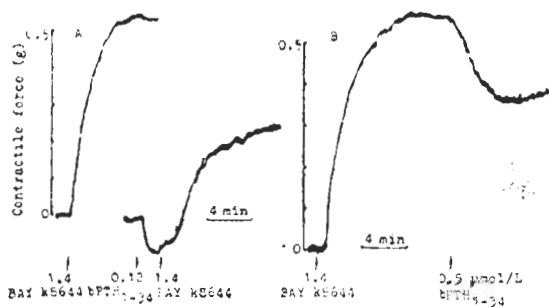


Fig 2. (A) Inhibition effect of bPTH₁₋₃₄ on both the basal tension and contraction induced by BAY k 8644 in rabbit isolated aortic strips. (B) A typical recording of the relaxation of aortic strips to bPTH₁₋₃₄ following the contraction induced by BAY k 8644.

bPTH₁₋₃₄ 降低基础张力和对抗 BAY k 8644 收缩的作用均呈剂量依赖关系(图 3), 用 logit 法处理, IC_{60} 分别为 $48 \mu\text{mol/L}$ ($r=0.94$) 和 $0.95 \mu\text{mol/L}$ ($r=0.94$)。

bPTH₁₋₃₄ 与 Nif, Ver 舒血管作用的比较 bPTH₁₋₃₄ 与 Nif, Ver 均舒张 BAY k 8644 诱发

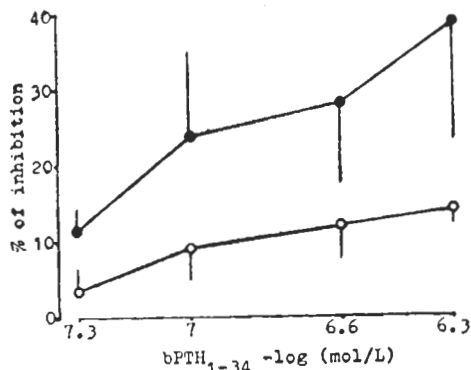


Fig 3. Inhibition of BAY k 8644-induced contraction of rabbit isolated aortic strips by bPTH₁₋₃₄ (●), and of the basal tension of the strips by bPTH₁₋₃₄ (○). All p values <0.01 vs control of $1.4 \mu\text{mol/L}$ BAY k 8644 or basal tension in the absence of bPTH₁₋₃₄.

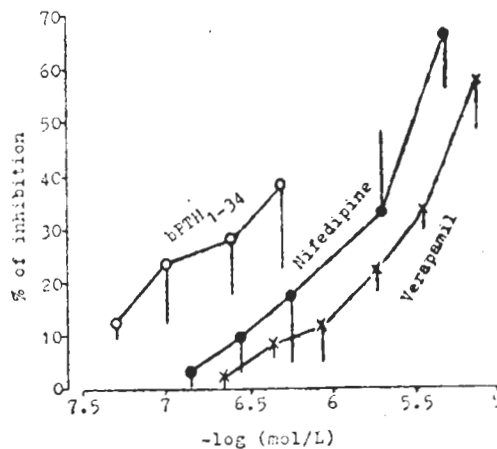


Fig 4. Inhibition of $2.8 \mu\text{mol/L}$ BAY k 8644-induced contraction of rabbit isolated aortic strips by bPTH₁₋₃₄, nifedipine and verapamil. $n=4-6$, $\bar{x} \pm \text{SD}$.

的主动脉条收缩, 三者量-效曲线的形状相似, 效价强度 $\text{bPTH}_{1-34} > \text{Nif} > \text{Ver}$, IC_{50} 分别为 $0.95 \mu\text{mol/L}$ ($r=0.94$), $2.8 \mu\text{mol/L}$ ($r=0.98$) 及 $5.0 \mu\text{mol/L}$ ($r=0.88$)(图 4)。

Nif 对 BAY k 8644 剂量-效应曲线的影响表现为竞争性抑制关系。与 Nif 不同的是, bPTH₁₋₃₄ 使 BAY k 8644 的量-效应曲线下移, 最大收缩反应降低, 虽提高 BAY k 8644 的剂量亦不能克服 bPTH₁₋₃₄ 的抑制而重新达到最大效应。经用双倒数作图法处理, 可见 bPTH₁₋₃₄

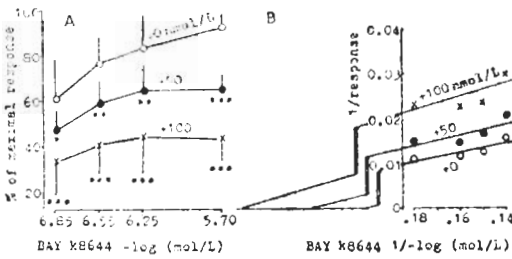


Fig 5. (A) Contraction of rabbit isolated aortic strips induced by BAY k 8644 plus bPTH₁₋₃₄ 0, 50 or 100 nmol/L in normal Krebs solution. n = 4-5, $\bar{x} \pm SD$. **p < 0.05, ***p < 0.01 vs control. (B) Double-reciprocal plots

使 BAY k 8644 的最大收缩效应和 ED₅₀ 均减小, 表现为反竞争性抑制关系(图 5)。

bPTH₁₋₃₄ 和 Nif 对 NE 诱发收缩的抑制作用均很弱(图 6)。经在同一肌条上给药前后均作 NE 阳性对照, 以排除肌条随时间过程的反应性变化。

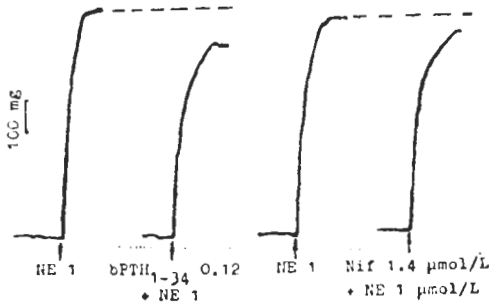


Fig 6. Effects of bPTH₁₋₃₄ and nifedipine on norepinephrine-induced isometric contraction of rabbit isolated aortic preparation.

讨 论

BAYk 8644 为 Nif 的结构类似物。BAY k 8644 开放电压敏感性钙通道(PSC), 加强心肌和血管平滑肌收缩, 其作用可被 Nif 竞争性对抗^(6,7)。本实验观察到, BAY k 8644 在 1-1000 nmol/L 范围内浓度相关地诱发主动脉条收缩, 并完全依赖于细胞外 Ca²⁺。bPTH₁₋₃₄ 明显拮抗 BAY k 8644 的作用, 但对 NE 收缩影响很小。一般认为, NE 开启受体调节钙通道(ROC)或释放细胞内钙而导致收缩⁽⁸⁾。bPTH₁₋₃₄

的上述特点表明其主要作用于 PSC 而非 ROC 和胞内钙源。

有报告, 多种组织的钙通道上存在二氢吡啶类。Ver 和硫氮唑酮(diltiazem)的特异结合位点⁽⁹⁾, 图 5 可见, bPTH₁₋₃₄ 对 BAY k 8644 表现反竞争性抑制(uncompetitive inhibition)特点⁽¹⁰⁾, 推测通道蛋白上可能也存在 PTH 的特异结合位点, 并以一定方式与二氢吡啶受体发生变构联系, 前者与配基的结合改变了后者的亲和力及内在活性。

bPTH₁₋₃₄ 降低主动脉基础张力。已知血管平滑肌静息张力的保持与胞膜 Na⁺/Ca²⁺ 交换、钙泵-ATP 酶和渗漏通道(leak channel)的功能活动有关⁽¹¹⁾, PTH 如何影响上述功能仍不清楚。

本实验测得 bPTH₁₋₃₄ 松弛兔主动脉条的阈浓度约为 10 nmol/L, 大于 Pang 等⁽¹²⁾在大鼠尾动脉和 Suzuki 等⁽⁴⁾在牛、猪和人脑血管观察到的结果(0.1-1nmol/L), 后者接近于 PTH 生理血浆浓度, 可能由于中小血管, 尤其是阻力血管对血管活性剂更为敏感。

综上所述, 推测 PTH 可能通过影响细胞钙通道活动而调节血管张力。构效关系研究表明, PTH 升血钙和降压作用是可分的, 降压活性部位仅为 24-28 肽段^(13,14)。因而有可能找到保留降压作用而去除对血钙影响的一类小分子肽。

参 考 文 献

- 1 Ellison DH, McCaig DA. Structural prerequisites for the hypotensive action of parathyroid hormone. *Am J Physiol* 1984; 246 : F 551
- 2 Pang PKT, Tenner TE Jr, Yee JA, Yang MCM, Janssen HF. Hypotensive action of parathyroid hormone preparations on rats and dogs. *Proc Natl Acad Sci USA* 1980; 77 : 675
- 3 Schleiffer R, Berthelot A, Gairard A. Action of parathyroid extract on arterial blood pressure and on contraction and ⁴⁵Ca exchange in isolated aorta of the rat. *Eur J Pharmacol* 1979; 58 : 163

- 4 Suzuki Y, Lederis K, Huang M, LeBlanc FE, Rorstad OP. Relaxation of bovine, porcine and human brain arteries by parathyroid hormone. *Life Sci* 1983; 33 : 2497
- 5 杨武、于小鹏、高慧英、王振纲。牛甲状旁腺素片段 1—34 对 calcimycin 诱发大鼠输精管收缩的抑制作用。中国药理学报 1985; 6 : 278
- 6 Schramm M, Thomas G, Towart R, Franckowiak G. Novel dihydropyridines with positive inotropic action through activation of Ca^{2+} channels. *Nature* 1983; 303 : 535
- 7 Preuss KC, Gross GJ, Brooks HL, Warltier DC. Slow channel calcium activators, a new group of pharmacological agents. *Life Sci* 1985; 37 : 1271
- 8 Saida K., van Breemen C. Characteristics of the norepinephrine-sensitive Ca^{2+} store in vascular smooth muscle. *Blood Vessels* 1984; 21 : 43
- 9 Bolger GT, Gengo PJ, Luckowski EM, Siegel H, Triggie DJ, Janis RA. High affinity binding of calcium channel antagonist to smooth and cardiac muscle. *Biochem Biophys Res Commun* 1982; 104 : 1604
- 10 Smith EL, Hill RL, Lehman IR, Lefkowitz RJ, Handler P, White A. *Principles of biochemistry : General aspects*. 7th ed. NY : McGraw-Hill, 1983 : 194-8
- 11 Schramm M, Towart R. Modulation of calcium channel function by drugs. *Life Sci* 1985; 37 : 1843
- 12 Pang PKT, Yang MCM, Shew R, Tenner TE Jr. The vasorelaxant action of parathyroid hormone fragments on isolated rat tail artery. *Blood Vessels* 1985; 22 : 57
- 13 Sham JSK, Kenny AD, Pang PKT. Cardiac actions and structure-activity relationship of parathyroid hormone on isolated frog atrium. *Gen Comp Endocrinol* 1984; 55 : 373
- 14 Pang PKT, Yang MCM, Keutmann HT, Kenny AD. Structure activity relationship of parathyroid hormone: separation of the hypotensive and hypercalcemic properties. *Endocrinology* 1983; 112 : 284

Acta Pharmacologica Sinica 1988 Jul, 9 (4) : 330-333

Relaxation effect of bovine parathyroid hormone 1-34 on rabbit aorta

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

ABSTRACT Bovine parathyroid hormone 1-34 (bPTH₁₋₃₄) was studied in rabbit isolated aortic strips. It was found that bPTH₁₋₃₄ lowered the basal tension of the aortic strips (IC₅₀ 48 μmol/L). Like nifedipine and verapamil, bPTH₁₋₃₄ inhibited the contraction induced by BAY k 8644 (1.4 μmol/L) with an IC₅₀ value of 0.95 μmol/L. In contrast, its inhibition of contraction

induced by norepinephrine was weak. It is suggested that bPTH₁₋₃₄ reduces the tension in vascular smooth muscle by acting mainly on potential sensitive calcium channels to decrease calcium transmembrane influx.

KEY WORDS parathyroid hormone 1-34; BAY k 8644; nifedipine; verapamil; calcium; aorta; vascular smooth muscle