

世界华人消化杂志®

**WORLD CHINESE
JOURNAL OF DIGESTOLOGY**

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

2003 年 11 月 15 日 第 11 卷 第 11 期 (Volume 11 Number 11)



11/2003

ISSN 1009-3079



9 771009 307001

名誉总编辑

潘伯荣

总编辑

马连生

World Journal of Gastroenterology 被 SCI®-E, Research Alert®, Current Contents®/Clinical Medicine, Journal Citation Reports® Index Medicus, MEDLINE, Chemical Abstracts, EMBASE/Excerpta Medica 收录。2002 年 JCR® 报告 WJG 影响因子 2.532。世界华人消化杂志® 被 Chemical Abstracts, EMBASE/Excerpta Medica 收录。2001 年中国科技期刊引证报告: 世界华人消化杂志® 影响因子 3.733, WJG 影响因子 2.920。

世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

● 目 次 ● 2003 年 11 月 15 日 第 11 卷 第 11 期 (总第 115 期)

述 评	<p>1661 创办具有中国特色的国际先进水平的 WJG: 2004 年由月刊改为半月刊 马连生, 潘伯荣, 马景云, 徐家祚, 应协中, 王先林, 陆汉明, 夏华向, 张建中, 苏勤, 任师颜, 朱立, 朱丽虹, 吕有勇</p> <p>1665 细胞分化与食管鳞状细胞癌 孔建平, 刘芝华, 吴昊</p> <p>1670 轮状病毒致病机制研究进展 王大燕, 王健伟, 于修平, 洪涛</p>
肝 癌	<p>1674 小鼠甲胎蛋白基因的克隆真核表达载体构建及表达鉴定 田耕, 马继林</p> <p>1677 原发性肝细胞癌中 PITG 和 c-myc 基因表达的研究 金中元, 程瑞雪, 郑长黎, 郑晖</p> <p>1682 肝细胞癌变过程中 cyclin D1 的异常表达与端粒酶活性的相关分析及意义 李宝杰, 王新红, 曲波</p> <p>1686 HCC 合并阻塞性黄疸 ERCP164 例 樊彪, 潘亚敏, 沈丽, 胡冰, 吴萍, 王书智, 周岱云</p>
基础研究	<p>1690 巨噬细胞 Smad4 反义基因转移及对细胞外基质合成的抑制作用 徐新保, 冷希圣, 何振平, 梁志清</p> <p>1694 冷冻保存再灌注期间离体肝组织内氧自由基及 $[Ca^{2+}]_i$ 对 p38MAPK 激活的影响 王西, 田伏洲, 汤礼军, 张晓璋</p> <p>1699 大黄素对大鼠结肠环行平滑肌细胞 $[Ca^{2+}]_i$ 的影响 马涛, 齐清会, 简序, 费乃昕</p> <p>1703 大肠癌细胞可产生趋化因子 IP-10 杨春康, 陈道达, 田源, 张景辉</p> <p>1706 干扰素对野生型 p53 转染的结肠癌细胞株 SW480 的影响 张桂英, 徐美华, 谢兆霞, 何春梅</p> <p>1711 大鼠胃黏膜损伤修复时早期应答基因 c-Jun 及 c-met 的表达 姚永莉, 徐波, 宋子刚, 张万岱</p>
临床研究	<p>1715 功能性消化不良患者症状分型、胃排空功能、胃肠激素水平的相关性 唐红卫, 黄裕新, 徐海峰, 高巍, 周润锁, 尚磊, 王庆莉, 高峰, 安晓丽</p> <p>1720 肝硬化患者血清和腹水 CA125 升高 肖文斌, 刘玉兰</p> <p>1723 α-2b 干扰素治疗慢性乙型肝炎的前瞻性研究 熊锦华, 胡大荣, 张成平, 范公愚, 刘勇, 闻炜</p>
焦点论坛	<p>1727 胃干细胞 王天德, 展玉涛</p> <p>1730 肠道干细胞 姜佳丽, 王虹, 展玉涛</p> <p>1732 胃肠道间质瘤干细胞 王虹, 展玉涛</p> <p>1735 肝性干细胞 展玉涛, 任继萍</p> <p>1738 肝脏干细胞 展玉涛, 毕泰山</p> <p>1740 胰腺干细胞 姜佳丽, 万小平, 张敏, 展玉涛</p>
文献综述	<p>1743 乙型肝炎病毒 e 抗原阴性慢性乙型肝炎患者抗病毒治疗 董青, 成军</p> <p>1749 HGF/SF、c-met 基因信号异常与胃肠道恶性肿瘤 李宏武, 单吉贤</p> <p>1752 幽门螺杆菌对胃激素的影响 郭玉, 郭霞, 姚希贤</p> <p>1755 胃癌组织生长抑素及其受体的表达与 EGF、VEGF 的影响 李秋萍, 徐军全, 李红梅, 张利华</p> <p>1760 结、直肠癌临床病理分期系统及其临床意义 卿三华</p> <p>1764 铂佐剂机制及其纳米化前景 何萍, 吕凤林, 任建敏, 何凤慈</p> <p>1769 RNA 干扰的抗病毒效应 李中, 范学工</p> <p>1773 Peutz-Jeghers 综合征 赵喜荣, 康进春, 吕有勇</p> <p>1777 食管癌中的等位基因缺失 李洁, 刘芝华</p> <p>1782 溃疡性结肠炎发病机制及其研究进展 周琦, 林平, 潘慧, 梅林</p> <p>1787 蛋白酶激活受体-2 与胃癌疾病的研究进展 朱雄伟, 王强, 温光保, 李兆申</p>
研究快报	<p>1793 轮状病毒胃肠炎与表皮生长因子关系初步研究 吴建森, 姚英民</p> <p>1794 尿毒症患者透析前后胃肌电活动的研究 武立群, 王虹, 顾清, 张悦, 李松扬</p> <p>1796 消炎痛和幽门螺杆菌在胃溃疡致病中的相互作用研究 迟晶, 赵金满, 于继红, 傅宝玉</p> <p>1797 原发性肝癌乙型肝炎病毒 mRNA 的表达及其意义 陈晓晓, 刘颖斌, 时开同, 彭淑娟, 彭承宏, 史留斌, 沈宏伟</p> <p>1800 MDM2 基因扩增和蛋白表达与胃癌相关性的研究 孙利平, 李岩, 张宁, 姜乃佳, 付伟, 薛一雷</p> <p>1802 HBsAg 疫苗对非溶细胞性和溶细胞性细胞免疫应答的影响 熊一力, 贾彦征, 施理, 张宜俊</p>

研究快报

- 1804 P27kip1、CyclinE 和 CyclinA 在胃癌中的表达及意义 金顺花, 朴熙雄, 金海峰, 朴凤顺, 许强
1807 血管紧张素 II 对大鼠 HSC 合成 PAI-I 的影响及 NO 的干预作用 张磊, 李定国, 尤汉宇, 刘清华, 宗喜华, 陆汉明

临床经验

- 1809 TTF1 在正常及损伤胃黏膜中的表达改变 任建林, 卢维正, 王琳, 陈建民, 施华芳, 叶震世, 吴艳环, 钟燕, 林进江, 林琛, 潘金水, 罗金燕
1811 肝性脊髓病 8 例 王春平, 冯永毅, 苏淑慧, 李迎新, 彭晓君
1812 直肠癌前哨淋巴结检测 102 例 魏寿江, 王树树, 赵国刚, 侯华芳
1814 功能性消化不良患者胃排空障碍与胃肠激素的关系 何美蓉, 宋子刚, 何春容
1816 上消化道流行病学研究 黄中平
1818 胃液抗 Hp IgA 测定对 Hp 根除治疗效果的判断 谢勇, 吕农华, 黄德强, 陈江, 徐泽, 王崇文
1820 原发性十二指肠癌 16 例 谢磊, 刘之武, 王志川
1822 丙型肝炎病毒母婴传播及羊水、乳汁和唾液的作用 王占英, 牛美智, 曹学强, 李颖, 乔光彦
1824 十二指肠癌 120 例 吴江, 邓长生
1825 乙肝病毒感染相关原发性肝癌 320 例 苏淑慧, 王春平, 李迎新, 冯永毅
1827 胆管癌组织 p53 和血管内皮生长因子表达与血管生成的相关性研究 陈勇军, 俞亚红, 丁志强
1830 奥曲肽治疗肠梗阻 25 例 张长青, 张荣珍, 吴伟岗, 黄贵毅
1832 理学检查慢性胃十二指肠炎 280 例 谭允熙, 李增芬, 谭汇泉
1835 艾滋病患者中 HCV、HBV 及 HGV 的感染状况 骆嘉社, 桂希恩, 庄柯
1837 胆心反射及胆心综合征的诊治 卫洪波, 汪壮流, 杨柳, 李文胜, 陈勇, 唐秋林
1839 陕西部分农村 0-18 月婴幼儿肠道内微生物菌群状况研究 孙晓魁, 刘黎明, 郝炳华, 杨文方, 贾梅, Acheson K
1841 糖尿病患者胆囊排空功能与胃肠激素的关系 王艳军, 徐永泉, 林艳, 李士星
1843 慢性小肠性腹泻中的 IBS 吴杰, 邓昊, 贾贵贵, 陈时
1844 矿区居民幽门螺杆菌感染状况及危险因素分析 雷静静, 周力, 谭玉洁, 杨斌, 刘星峰, 杜纪恩
1848 直视微创胆道手术 52 例 姜伟青, 周建明, 陆军

病例报告

- 1851 分体联合手术治疗小儿原发性门静脉海绵样变 1 例 方艳华, 朱新勇, 方石岗
1852 马内非青霉素 1 例 尹雯, 汪光强, 郑晓平, 彭国林
1853 胰性胸膈 8 例 王平, 崔彦, 古敏, 刘子沛, 李锐鸣
1855 胃移植术后回肠结肠并出血、梗阻 1 例报告 金红旭, 张雪峰, 王正强

读者来信

- 1698 徐新保
1705 Ferenc SZALAY

封面故事

- 1664 复方健脾胃散 II 期临床研究方案讨论会在福州举行

世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

- 吴阶平 题写封面刊名
陈可冀 题写版权刊名
(月刊)
创刊 1993-01-15
改刊 1998-01-25
出版 2003-11-15
原名 新消化病学杂志

- 总编辑 陈可冀
黄家骝
黄志强
廖介寿
刘耕陶
袁法强
汤树敏
王宝恩
虎北超
关益超
关成中

- 社长兼编辑 马进荣
中文编辑 潘伯荣
王理晖
英文编辑 朱丽红
排版 廖少华
校对 李天华

编辑 世界华人消化杂志编辑委员会

030001, 山西省太原市迎泽西街 77 号
E-mail: wjcd@wjgnet.com

出版 世界胃肠病学杂志社

100023, 北京市 2345 信箱
E-mail: wjcd@wjgnet.com
http://www.wjgnet.com
电话 010185381892
传真 010185381893

印刷 北京科德印刷厂

发行 国内 北京报刊发行局
国外 中国图书贸易总公司
(100044, 北京 399 信箱)

订购 全国各地邮局

邮购 世界胃肠病学杂志社发行部
(100023, 北京市 2345 信箱)

电话: 010185381892
传真: 010185381893

2003 年版权归世界胃肠病学杂志社所有

本刊已被国内外

检索系统收录

美国《化学文摘(CA)》
荷兰《医学文摘/医学文摘(EM)》
俄罗斯《文摘杂志(PJ)》
中国科技论文统计与分析
中国学术期刊文摘
中国中医药信息资源网
中国生物医学文献光盘数据库
《中文科技资料目录(医药卫生)》
中国生物医学期刊目录数据库
中国医学文摘外科学分册(英文版)
中国医学文摘内科学分册(英文版)

特别声明

本刊刊登的所有文章不代表世界胃肠病学杂志社和本刊编委会的观点, 除非特别声明。本刊如有印刷质量问题, 请向本刊编辑部联系。

ISSN 1009-3079
CN 14-1260/R

邮发代号 82-262
国外代号 M 4481

国内定价 每册 24.00 元 全年 288.00 元

广告经营许可证
1401004001

大黄素对大鼠结肠环行平滑肌细胞 $[Ca^{2+}]_i$ 的影响

马涛, 齐清会, 简序, 费乃昕

马涛, 齐清会, 简序, 费乃昕, 天津医科大学总医院 天津市 300052
马涛, 男, 1972-02-19 生, 湖北省公安县人, 汉族, 1994 年天津医科大学本科毕业, 2002 年天津医科大学博士毕业, 助理研究员, 从事胃肠动力学研究。国家自然科学基金资助, No. 30171198
项目负责人: 齐清会, 300052, 天津市和平区鞍山道 154 号, 天津医科大学总医院中西医结合外科。qiqinghui@tpt.tj.cn
电话: 022-60362584
收稿日期: 2003-01-12 接受日期: 2003-07-15

Effects of emodin on intracellular Ca^{2+} signaling in the circular smooth muscle cells of rat colon

Tao Ma, Qing-Hui Qi, Xu Jian, Nai-Xin Fei

Tao Ma, Qing-Hui Qi, Xu Jian, Nai-Xin Fei, Department of Surgery, General Hospital of Tianjin Medical University, Tianjin 300052, China
Supported by the National Natural Science Foundation of China, No. 30171198
Correspondence to: Dr. Qing-Hui Qi, Department of Surgery, General Hospital of Tianjin Medical University, Tianjin 300052, China. qiqinghui@tpt.tj.cn
Received: 2003-01-12 Accepted: 2003-07-15

Abstract

AIM: To investigate whether emodin has any effects on circular smooth muscle cells of rat colon and to examine the underlying mechanisms.

METHODS: Smooth muscle cells were isolated from the circular muscle layers of Wistar rat colon and cell length was measured by computerized image micrometry. Intracellular Ca^{2+} ($[Ca^{2+}]_i$) signaling was studied in smooth muscle cells using Ca^{2+} indicator Fluo-3 AM by laser-scanning confocal microscopy.

RESULTS: Emodin dose-dependently induced smooth muscle cells contraction, caused a large, transient increase in $[Ca^{2+}]_i$ followed by a sustained elevation in $[Ca^{2+}]_i$. Emodin-induced increase in $[Ca^{2+}]_i$ was unaffected by nifedipine, a voltage-gated Ca^{2+} -channel antagonist, and the sustained phase of rising of $[Ca^{2+}]_i$ was attenuated by extracellular Ca^{2+} removal with EGTA solution. Inhibiting Ca^{2+} release from ryanodine-sensitive intracellular stores by ryanodine reduced the peak increase in $[Ca^{2+}]_i$. However, the application of heparine, an antagonist of IP_3R , nearly abolished the peak increase in $[Ca^{2+}]_i$ induced by emodin.

CONCLUSION: Emodin has direct excitatory effect on circular smooth muscle cells from rat colon and its effect is mediated through Ca^{2+} -dependent pathways. Furthermore, emodin-induced peak $[Ca^{2+}]_i$ increase may be attributable to the Ca^{2+} release from IP_3 sensitive stores, which promotes Ca^{2+} release from ryanodine-sensitive stores through

CICR mechanism. Additionally, Ca^{2+} influx from extracellular medium contributes to the sustained increase in $[Ca^{2+}]_i$.

Ma T, Qi QH, Jian X, Fei NX. Effects of emodin on intracellular Ca^{2+} signaling in the circular smooth muscle cells of rat colon. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2003;11(11):1699-1702

摘要

目的: 观测大黄素对Wistar大鼠结肠环行平滑肌细胞胞质游离钙水平($[Ca^{2+}]_i$)的影响, 并探讨机制。

方法: 酶解法分离结肠环行平滑肌细胞, 分别采用图像分析系统和激光扫描共聚焦显微镜观测细胞长度和 $[Ca^{2+}]_i$ 的变化。

结果: 大黄素可收缩大鼠结肠环行平滑肌细胞, 也可浓度依赖性升高 $[Ca^{2+}]_i$; 大黄素作用后, $[Ca^{2+}]_i$ 迅速升高达到峰值($[Ca^{2+}]_{iPeak}$), 而后下降至平台期($[Ca^{2+}]_{iSustain}$, 仍高于静息值)。Nifedipine对大黄素的钙动员作用没有明显影响, EGTA明显降低 $[Ca^{2+}]_{iSustain}$ 。Heparine 几乎完全抑制 $[Ca^{2+}]_{iPeak}$, Ryanodine 明显抑制 $[Ca^{2+}]_{iPeak}$ 。

结论: 大黄素通过升高 $[Ca^{2+}]_i$ 收缩结肠环行平滑肌细胞。大黄素升高 $[Ca^{2+}]_i$ 的机制为: 活化 IP_3 受体释放细胞内钙, 进一步以CICR方式促进RyR受体开放, 共同作用升高 $[Ca^{2+}]_i$, 细胞外钙内流参与平台期 $[Ca^{2+}]_i$ 的升高。

马涛, 齐清会, 简序, 费乃昕. 大黄素对大鼠结肠环行平滑肌细胞 $[Ca^{2+}]_i$ 的影响. 世界华人消化杂志 2003;11(11):1699-1702

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/11/1699.asp>

0 引言

大黄素属于蒽醌类化合物, 广泛存在于大黄、番泻叶等中药的根、皮等部位^[1-3]。靳珠华 et al^[4]证实大黄素可促进离体肠道平滑肌条收缩, 杨文修 et al^[5, 6]发现大黄素可升高豚鼠结肠带平滑肌细胞 $[Ca^{2+}]_i$ 。但大黄素对胃肠道平滑肌细胞是否有直接收缩作用及其发挥作用的机制尚有待于研究。因此, 我们观测大黄素对大鼠结肠环行平滑肌细胞长度及 $[Ca^{2+}]_i$ 的影响, 探讨大黄素的作用机制。

1 材料和方法

1.1 材料 大黄素(emodin)、HEPES、DMEM、II型胶原酶、大豆胰蛋白酶抑制剂、saponin、heparine、ryanodine、nifedipine等购自Sigma, Fluo-3 AM 购自

Molecular probes, 余试剂均为国产分析纯购自天津市翰洋生物公司. 称取适量大黄素, 先用0.01 mol/L NaOH溶解, 然后用DMEM培养基稀释至1 $\mu\text{mol/L}$, 调整pH值为7.4, 无菌过滤分装, 4 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱保存, 使用前稀释至相应浓度.

1.2 方法 (1)结肠环行平滑肌细胞分离: 取Wistar大鼠远端结肠约5 cm, 刮去黏膜, 解剖显微镜下剥离环行肌, 将肌组织剪成约1-2 mm^3 , 置于10 mL含1 g/L II型胶原酶、0.1 g/L 大豆胰蛋白酶抑制剂的消化液中37 $^{\circ}\text{C}$ 连续孵育1 h, 30 min时更换消化液1次, 50目筛网过筛, 收集部分消化的组织用不含酶的HEPES缓冲液冲洗, 然后振荡20 min, 30次/min, 收集自由脱落的细胞供实验用. 台盼蓝染色确定细胞活力达90%以上符合实验要求. 将细胞浓度调整为 $5 \times 10^6/\text{L}$. (2)平滑肌细胞收缩的测定: 取0.25 mL细胞悬液, 加入相应浓度的实验试剂. 1 min后加入25 g/L 戊二醛终止反应. 应用Cmais2000图像分析系统随机测定50个细胞的长度. 收缩反应的计算公式为: 收缩变化百分数 = (用药组平均长度 - 对照组平均长度) / 对照组平均长度 $\times 100\%$. (3)平滑肌细胞 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 测定: 将平滑肌细胞接种于预包被L-多聚赖氨酸的盖玻片, 离心促进细胞贴壁, 37 $^{\circ}\text{C}$ 温箱孵育60 min后, 加入终浓度7.5 $\mu\text{mol/L}$ Fluo-3 AM和0.2 g/L F-127的HEPES缓冲液. 37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育30 min, HEPES缓冲液冲洗3次, 37 $^{\circ}\text{C}$ 继续孵育20 min. 装入Chamber Slide上机检测. 间隔10 s收集荧光强度图像, 观测200 s, 于60 s末加入大黄素. $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 变化以荧光强度相对值表示. 其中峰值 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ ($[\text{Ca}^{2+}]_{i\text{Peak}}$)由包括峰值在内3时间点的测定值确定, 平台期 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ ($[\text{Ca}^{2+}]_{i\text{Sustain}}$)由平台期3个时间点的测定值确定.

统计学处理 数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用Student t test方法进行统计处理. $P < 0.05$ 提示差别存在显著性.

2 结果

2.1 大黄素对结肠环行平滑肌细胞长度和 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 的影响 倒置显微镜下, 分离的结肠环行平滑肌细胞呈梭形, 长度各异, 有的处于舒张状态, 有的则处于不同的收缩状态下. 细胞的长度54-129 μm , 平均81.3 μm (图1). 使用5, 10, 25, 50, 100 $\mu\text{mol/L}$ 大黄素作用后, 分别测定50个平滑肌细胞长度, 并计算收缩百分数, 结果表明大黄素可收缩平滑肌细胞, 并表现为浓度依赖关系, 50 $\mu\text{mol/L}$ 浓度时收缩反应达峰值($17.3 \pm 3.5\%$) (图2). 静息状态下, 平滑肌细胞胞质的平均荧光强度值(FI)为 54.2 ± 6.2 . 5, 10, 25, 50, 100 $\mu\text{mol/L}$ 大黄素均可升高胞质 $[\text{Ca}^{2+}]_i$, 峰值平均荧光强度值分别为 62.5 ± 5.6 , 79.3 ± 6.3 , 89.6 ± 5.5 , 142.3 ± 8.6 , 133.5 ± 4.8 (图3). 动态观测50 $\mu\text{mol/L}$ 大黄素对 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 的影响, 可发现大黄素作用后 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 短时间内迅速升高达到峰值, 后下降至平台期(图4).

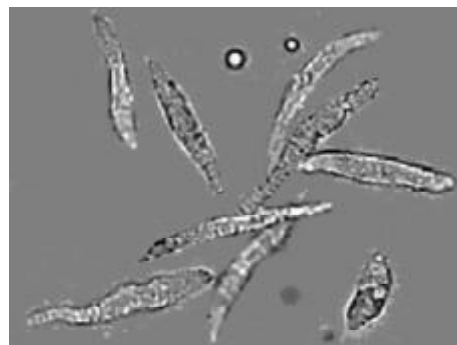


图1 游离平滑肌细胞呈梭形, 长度不一.

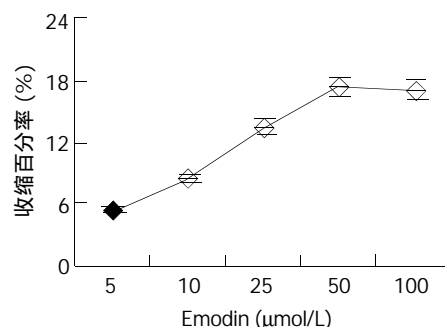


图2 大黄素收缩大鼠结肠环行平滑肌细胞的量效曲线.

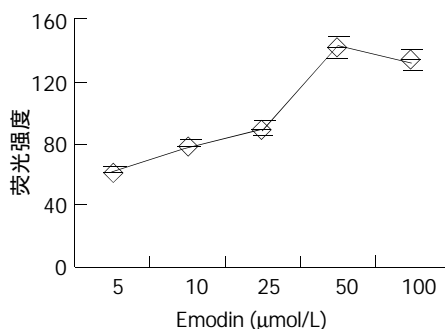


图3 大黄素影响大鼠结肠环行平滑肌细胞 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 的量效曲线.

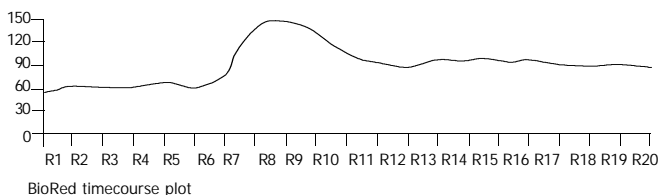


图4 大黄素影响大鼠结肠环行平滑肌细胞 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 的动态图.

2.2 Nifedipine和EGTA对大黄素钙动员的影响 Nifedipine (L型钙通道抑制剂, 1 $\mu\text{mol/L}$)作用10 min后, 加入50 $\mu\text{mol/L}$ 大黄素, 观测 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 的动态变化. 结果表明Nifedipine对大黄素引起的 $[\text{Ca}^{2+}]_{i\text{Peak}}$ 和 $[\text{Ca}^{2+}]_{i\text{Sustain}}$ 均无明显影响. EGTA(钙螯合剂, 2 mmol/L)对大黄素作用的 $[\text{Ca}^{2+}]_{i\text{Peak}}$ 也没有明显影响, 但降低了 $[\text{Ca}^{2+}]_{i\text{Sustain}}$ (71.2 ± 6.5) ($P < 0.05$, 图5).

2.3. Heparin和ryanodine对大黄素钙动员的影响 因为heparin无法穿透细胞膜, 因此在加用heparin前, 用saponin处理细胞, 使heparin可进入细胞内. Heparin (IP3受体拮抗剂, 10 mg/L)和ryanodine (RyR受体拮抗剂,

0.1 $\mu\text{mol/L}$)与平滑肌细胞孵育 30 min 后, 加入 50 $\mu\text{mol/L}$ 大黄素, 观测 $[Ca^{2+}]_i$ 的动态变化. 结果表明 heparine 作用后 $[Ca^{2+}]_i$ (81.3 \pm 6.5)明显降低, 下降达 42.9 % ($P < 0.05$), ryanodine 作用后 $[Ca^{2+}]_i$ (107.5 \pm 7.7)也明显降低, 下降达 24.4 % ($P < 0.05$, 图 6).

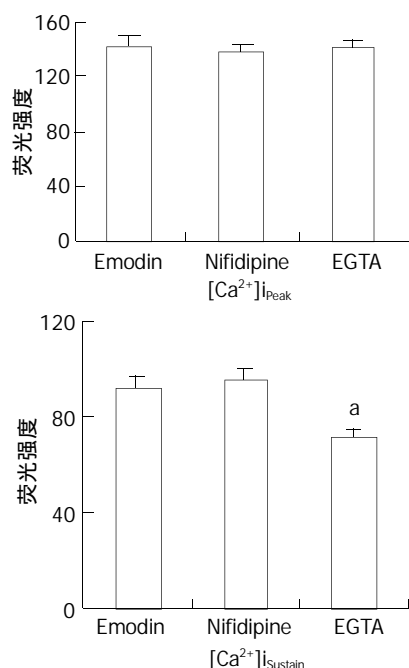


图5 Nifedipine 和 EGTA 对大黄素钙作用的影响 ($^aP < 0.05$).

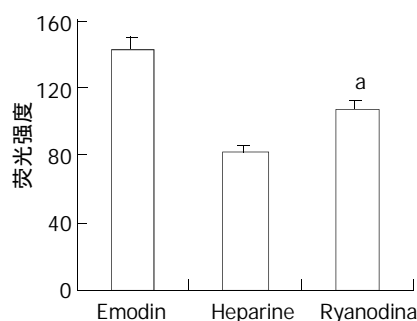


图6 Heparin 和 ryanodine 对大黄素作用 $[Ca^{2+}]_i$ 的影响. $^aP < 0.05$ vs 大黄素组相比; $^bP < 0.01$ vs Ryanodine 组相比.

3 讨论

研究证实, 大黄素具有促进胃肠运动的作用^[3-6]. 我们首次从细胞水平证实大黄素可直接作用于结肠环行平滑肌细胞, 引起收缩. 表明大黄素的促动力作用可通过肌原性作用实现. $[Ca^{2+}]_i$ 是决定平滑肌细胞收缩或舒张的关键性因素, $[Ca^{2+}]_i$ 升高后与 CaM 结合, 活化 Ca^{2+} /CaM 依赖性 MLCK 收缩平滑肌细胞^[7-11]. 靳珠华 et al^[4]通过肌条收缩试验证实大黄素的促动力作用与钙离子有关. 杨文修 et al^[3,5,6]发现大黄素可升高豚鼠结肠带平滑肌细胞 $[Ca^{2+}]_i$. 我们的实验也证实大黄素可剂量依赖性升高大鼠结肠环行平滑肌细胞的 $[Ca^{2+}]_i$. 进一步观测 50 $\mu\text{mol/L}$ 的大黄素对 $[Ca^{2+}]_i$ 的动态影响, 发现大黄素作用后, $[Ca^{2+}]_i$ 迅速升高达到峰值, 并持续维持于较高的水平(图 4).

$[Ca^{2+}]_i$ 的调节是一个复杂的调节体系, $[Ca^{2+}]_i$ 的升

高可源于细胞外钙内流和/或细胞内钙释放^[7-11]. 细胞外钙通过细胞膜上的钙通道进入细胞内, 其中 L- 钙通道是细胞外钙内流的主要通道^[12-15]. Nifedipine 是细胞膜 L- 钙通道的特异性抑制剂, 可抑制经由 L- 钙通道的细胞外钙内流. 在我们的实验中, 使用 nifedipine 抑制 L- 钙通道的活性对大黄素的钙动员作用没有影响, 表明 L- 钙通道不参与大黄素的钙动员作用; EGTA 是一种钙螯合剂, 可结合游离的钙离子. 使用 EGTA 螯合细胞外钙后, 使 $[Ca^{2+}]_i$ 明显降低, 表明在 $[Ca^{2+}]_i$ 升高的平台期有细胞外钙内流, 但钙内流的通道还有待于进一步研究.

肌质网是平滑肌细胞的细胞内钙贮存库, 已证实肌质网上存在着两种钙释放通道: IP₃ 受体和 RYR 受体^[16-19]. 研究表明 IP₃ 受体开放依赖于 IP₃ 产生并与之结合^[16-18], 而 RYR 受体的激动剂尚不清楚, 但已证实 RYR 受体可通过钙诱导钙释放(CICR)的方式参与 $[Ca^{2+}]_i$ 的调节^[19, 20-25], 所谓 CICR 是指细胞外钙内流或 IP₃ 受体开放释放钙可激活 RYR 受体开放进一步释放细胞内钙^[26-30]. 我们使用的 ryanodine 和 heparine 分别是 RYR 受体和 IP₃ 受体的特异性拮抗剂, 可特异性抑制 RYR 受体和 IP₃ 受体的活性. 我们的结果表明, 使用 ryanodine 抑制 RYR 受体活性, IP₃ 受体功能正常时, $[Ca^{2+}]_i$ 明显降低; 而抑制 IP₃ 受体活性, RYR 受体功能正常时, $[Ca^{2+}]_i$ 几乎被完全抑制, 与 ryanodine 作用时 $[Ca^{2+}]_i$ 相比, $[Ca^{2+}]_i$ 也明显降低($P < 0.05$). 表明 IP₃ 受体介导的钙释放可能是大黄素钙动员作用的关键, 而 RYR 受体的激活依赖于 IP₃ 受体的开放. 因此我们推测大黄素作用后首先通过 IP₃ 受体开放释放细胞内钙, 进一步以 CICR 方式激活 RYR 受体, 共同作用升高 $[Ca^{2+}]_i$.

总之, 我们的实验证实大黄素通过钙依赖性机制收缩大鼠结肠环行平滑肌细胞. 大黄素升高 $[Ca^{2+}]_i$ 的机制为: 活化 IP₃ 受体释放细胞内钙, 进一步以 CICR 方式促进 RYR 受体活化, 共同作用升高 $[Ca^{2+}]_i$, 在 $[Ca^{2+}]_i$ 升高的平台期有细胞外钙内流, 但钙内流的通道有待于进一步研究.

4 参考文献:

- Lee HZ. Effects and mechanisms of emodin on cell death in human lung squamous cell carcinoma. *Br J Pharmacol* 2001; 134:11-20
- 祁虹. 大黄素的抗炎作用. *中草药* 1999;30:522-524
- 杨文修, 王津, 李俊英, 余奕, 许文胜. 大黄素升高豚鼠结肠带细胞 $[Ca^{2+}]_i$ 的特征和 GDP 的抑制作用. *生物物理学报* 2001;17: 165-169
- 靳珠华, 马德录, 林秀珍, 李锡铭. 大黄素对豚鼠离体肠管作用的影响. *中国中西医结合杂志* 1994;14:429-430
- 李俊英, 杨文修, 胡文卫, 王津, 金正根, 王新宇, 许文胜. 大黄素对豚鼠结肠带平滑肌细胞钾通道活性的影响. *药学报* 1998; 33:321-325
- 杨文修, 于海鹰, 许文胜, 于琦, 李俊英. 大黄素对肠道平滑肌细胞作用的离子机制. *基础医学与临床* 1999;11:67
- Sanders KM. Invited review. Mechanisms of calcium handling in smooth muscles. *J Appl Physiol* 2001;91:1438-1449
- Jacques D, Sader S, El-Bizri N, Chouffani S, Hassan G, Shbaklo

- H. Neuropeptide Y induced increase of cytosolic and nuclear Ca^{2+} in heart and vascular smooth muscle cells. *Can J Physiol Pharmacol* 2000;78:162-172
- 9 Bolton TB, Prestwich SA, Zholos AV, Gordienko DV. Excitation-contraction coupling in gastrointestinal and other smooth muscles. *Annu Rev Physiol* 1999;61:85-115
- 10 Makhlof GM, Murthy KS. Signal transduction in gastrointestinal smooth muscle. *Cell Signal* 1997;9:269-276
- 11 Fan J, Byron KL. Ca^{2+} signalling in rat vascular smooth muscle cells: a role for protein kinase C at physiological vasoconstrictor concentrations of vasopressin. *J Physiol* 2000;524(Pt 3):821-831
- 12 Poteser M, Wakabayashi I, Rosker C, Teubl M, Schindl R, Soldatov NM, Romanin C, Groschner K. Crosstalk between voltage-independent Ca^{2+} channels and L-type Ca^{2+} channels in A7r5 vascular smooth muscle cells at elevated intracellular pH: evidence for functional coupling between L-type Ca^{2+} channels and a 2-APB-sensitive cation channel. *Circ Res* 2003;92:888-896
- 13 Furutani H, Zhang XF, Iwamuro Y, Lee K, Okamoto Y, Takikawa O, Fukao M, Masaki T, Miwa S. Ca^{2+} entry channels involved in contractions of rat aorta induced by endothelin-1, noradrenaline, and vasopressin. *J Cardiovasc Pharmacol* 2002;40:265-276
- 14 Elble RC, Ji G, Nehrke K, DeBiasio J, Kingsley PD, Kotlikoff MI, Pauli BU. Molecular and functional characterization of a murine calcium-activated chloride channel expressed in smooth muscle. *J Biol Chem* 2002;277:18586-18591
- 15 Amberg GC, Koh SD, Perrino BA, Hatton WJ, Sanders KM. Regulation of A-type potassium channels in murine colonic myocytes by Phosphatase activity. *Am J Physiol Cell Physiol* 2001;281:2020-2028
- 16 White C, McGeown JG. Regulation of basal intracellular calcium concentration by the sarcoplasmic reticulum in myocytes from the rat gastric antrum. *J Physiol* 2000;529(Pt 2):395-404
- 17 Carl A, Lee HK, Sanders KM. Regulation of ion channels in smooth muscles by calcium. *Am J Physiol* 1996;271(1 Pt 1):C9-34
- 18 McCarron JG, Flynn ER, Bradley KN, Muir TC. Two Ca^{2+} entry pathways mediate InsP_3 -sensitive store refilling in guinea-pig colonic smooth muscle. *J Physiol* 2000;525(Pt 1):113-124
- 19 Takeuchi M, Watanabe J, Horiguchi S, Karibe A, Katoh H, Baba S, Shinozaki T, Miura M, Fukuchi M, Kagaya Y, Shirato K. Interaction between L-type Ca^{2+} channels and sarcoplasmic reticulum in the regulation of vascular tone in isolated rat small arteries. *J Cardiovasc Pharmacol* 2000;36:548-554
- 20 van Helden DF, Imtiaz MS, Nurgaliyeva K, Von der Weid P, Dosen PJ. Role of calcium stores and membrane voltage in the generation of slow wave action potentials in guinea-pig gastric pylorus. *J Physiol* 2000;524(Pt 1):245-265
- 21 Flynn ER, Bradley KN, Muir TC, McCarron JG. Functionally separate intracellular Ca^{2+} stores in smooth muscle. *J Biol Chem* 2001;276:36411-36418
- 22 Kotlikoff ML, Wang YX, Xin HB, Ji G. Calcium release by ryanodine receptors in smooth muscle. *Novartis Found Symp* 2002;246:108-119
- 23 Ji G, Barsotti RJ, Feldman ME, Kotlikoff MI. Stretch-induced calcium release in smooth muscle. *J Gen Physiol* 2002;119:533-544
- 24 Collier ML, Ji G, Wang Y, Kotlikoff MI. Calcium-induced calcium release in smooth muscle: loose coupling between the action potential and calcium release. *J Gen Physiol* 2000;115:653-662
- 25 Henkel CC, Asbun J, Ceballos G, del Carmen Castillo M, Castillo EF. Relationship between extra and intracellular sources of calcium and the contractile effect of thiopental in rat aorta. *Can J Physiol Pharmacol* 2001;79:407-414
- 26 Somlyo AP, Somlyo AV. The sarcoplasmic reticulum: then and now. *Novartis Found Symp* 2002;246:258-268
- 27 Chambers P, Neal DE, Gillespie JJ. Ryanodine receptors in human bladder smooth muscle. *Exp Physiol* 1999;84:41-46
- 28 Hisamitsu T, Ohata H, Kawanishi T, Iwamoto T, Shigekawa M, Amano H, Yamada S, Momose K. A mechanism of Ca^{2+} release from Ca^{2+} stores coupling to the $\text{Na}^{+}/\text{Ca}^{2+}$ exchanger in cultured smooth muscle cells. *Life Sci* 2001;69:2775-2787
- 29 Mohanty MJ, Li X. Stretch-induced Ca^{2+} release via an IP (3)-insensitive Ca^{2+} channel. *Am J Physiol Cell Physiol* 2002;283:456-462
- 30 Zhang Y, Paterson WG. Role of Ca^{2+} -activated Cl^{-} channels and MLCK in slow IJP in opossum esophageal smooth muscle. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2002;283:104-114



Published by **Baishideng Publishing Group Inc**
7901 Stoneridge Drive, Suite 501, Pleasanton,
CA 94588, USA
Fax: +1-925-223-8242
Telephone: +1-925-223-8243
E-mail: bpgoffice@wjgnet.com
<http://www.wjgnet.com>



ISSN 1009-3079

