

## 三种H<sub>2</sub>受体拮抗剂诱导鼠胃壁细胞H<sub>2</sub>受体脱敏的比较

李玲, 罗和生, 刘艳

李玲, 罗和生, 刘艳, 武汉大学人民医院消化内科 湖北省武汉市 430060

通讯作者: 罗和生, 430060, 湖北省武汉市解放路238号, 武汉大学人民医院消化内科. luotang@public.wh.hb.cn

电话: 027-88041919

收稿日期: 2005-06-30 接受日期: 2005-07-15

### Differences among desensitization of histamine H<sub>2</sub> receptor induced by three H<sub>2</sub> receptor antagonists on rat gastric parietal cells

Ling Li, He-Sheng Luo, Yan Liu

Ling Li, He-Sheng Luo, Yan Liu, Department of Gastroenterology, Renmin hospital of Wuhan University, Wuhan 430060, Hubei Province, China

Correspondence to: Professor He-Sheng Luo, Department of Gastroenterology, Renmin Hospital of Wuhan University, 238 Jiefang road, Wuhan 430060, Hubei Province, China. luotang@public.wh.hb.cn

Received: 2005-06-30 Accepted: 2005-07-15

### Abstract

**AIM:** To investigate the differences of the desensitization of the histamine H<sub>2</sub> receptor induced by three H<sub>2</sub> receptor antagonists on the gastric parietal cells in rats.

**METHODS:** The gastric parietal cells were isolated by pronase digestion and then divided into three groups: cimetidine, ranitidine and famotidine treatment group. The activity of the H<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATPase was detected by H<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATPase kit after the cells were treated with different concentrations of the antagonists for different times.

**RESULTS:** Significant changes of the H<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATPase activity were observed after the cells were treated with different concentrations of the antagonists at different times. The activities of H<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATPase were significantly higher in famotidine group at 1, 2, and 4 h (589.34±2.7, 812.82±8.35, 637.15±4.59) than those in ranitidine (169.38±93.64, 343.46±44.88, 234.07±4.72) and cimetidine (118.42±5.91, 110.62±1.28, 102.43±3.44) group ( $P < 0.01$ ). The activity in ranitidine group was markedly higher than that in cimetidine group at 2 and 4 h. Famotidine increased the activities of H<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATPase significantly at the concentrations of 10 and 100 mg/L (178.21±20.38, 225.65±16.41) as compared with ranitidine and cimetidine did (70.88±21.44,

128.03±8.22; 123.62±4.32, 125.40±7.45) ( $P < 0.01$ ).

At the concentration of 1000 mg/L, both famotidine and ranitidine increased the activity of H<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATPase obviously as compared with cimetidine did (233.44±6.24, 131.58±11.50 vs 109.88±0.69,  $P < 0.01$ ,  $P < 0.05$ ).

**CONCLUSION:** Three H<sub>2</sub> receptor antagonists can induce different desensitization of the H<sub>2</sub> receptor, among which famotidine induces the strongest and cimetidine does the weakest.

**Key Words:** Desensitization; H<sub>2</sub> receptor; H<sub>2</sub> receptor antagonist; H<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATPase

Li L, Luo HS, Liu Y. Differences among desensitization of histamine H<sub>2</sub> receptor induced by three H<sub>2</sub> receptor antagonists on rat gastric parietal cells. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2005;13(17):2145-2147

### 摘要

**目的:** 研究3种H<sub>2</sub>受体拮抗剂对鼠胃粘膜壁细胞H<sub>2</sub>受体脱敏的诱导能力。

**方法:** 用酶消化法分离壁细胞后分为西咪替丁, 雷尼替丁和法莫替丁3组, 检测不同时间、不同浓度的H<sub>2</sub>受体拮抗剂对各组壁细胞H<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATP酶活力的影响。

**结果:** 不同时间、不同药物浓度干预后, 各组细胞酶活力均发生显著变化。法莫替丁组细胞酶活力在1、2、4 h时(589.34±2.7, 812.82±8.35, 637.15±4.59)均明显高于雷尼替丁组(169.38±93.64, 343.46±44.88, 234.07±4.72)和西咪替丁组(118.42±5.91, 110.62±1.28, 102.43±3.44,  $P < 0.01$ ), 而雷尼替丁组在2、4 h时才与西咪替丁组有显著性差异( $P < 0.01$ )。在10、100 mg/L条件下, 法莫替丁组细胞酶活力(178.21±20.38, 225.65±16.41)均明显高于雷尼替丁组(70.88±21.44, 128.03±8.22)和西咪替丁组(123.62±4.32, 125.40±7.45,  $P < 0.01$ ), 当浓度增高至1000 mg/L法莫替丁、雷尼替丁组均明显高于西咪替丁组(233.44±6.24, 131.58±11.50 vs 109.88±0.69,  $P < 0.01$ ,  $P < 0.05$ )。

**结论:** 三种H<sub>2</sub>受体拮抗剂对壁细胞H<sub>2</sub>受体脱敏的诱导能力存在一定的差别, 其中法莫替丁最强, 西咪替丁最弱。

**关键词:** 脱敏; H<sub>2</sub>受体; H<sub>2</sub>受体拮抗剂; H<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATP酶

李玲, 罗和生, 刘艳. 三种H<sub>2</sub>受体拮抗剂诱导鼠胃壁细胞H<sub>2</sub>受体脱敏的比较. *世界华人消化杂志* 2005;13(17):2145-2147

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/13/2145.asp>

## 0 引言

受体脱敏<sup>[1]</sup>(desensitization)是指使用受体激动剂后,细胞或组织对激动剂的敏感性下降,可能是机体的一种自我保护机制.组胺H<sub>2</sub>受体是G蛋白耦联受体家族中的一员,该家族大多存在脱敏现象.H<sub>2</sub>受体在体内分布广泛,虽有多项研究显示多种细胞均存在H<sub>2</sub>受体脱敏现象,但大多集中在人白血病HL-60细胞和U937细胞上<sup>[2-5]</sup>,利用脱敏和耐受进行检索,目前尚未看到关于胃壁细胞H<sub>2</sub>受体的相关研究.我们针对三种H<sub>2</sub>受体拮抗剂对壁细胞H<sub>2</sub>受体脱敏的作用进行了研究.

## 1 材料和方法

**1.1 材料** SPF级♂健康SD大鼠4只,体质量150-200 g,由武汉大学医学院实验动物中心提供.链霉蛋白酶(pronase),Roche公司;Percoll,Pharmacia公司;EDTA、DTT、HEPES及BSA,Amresco公司;Ham's F12/DMEM, Gibco公司;FBS, Hyclone合资公司;西咪替丁、雷尼替丁和法莫替丁均为市售针剂;H<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATP酶试剂盒,南京建成生物工程研究所.缓冲液:A<sub>1</sub>液:NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0.5 mmol/L, Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 1.0 mmol/L, NaHCO<sub>3</sub> 20 mmol/L, NaCl 80 mmol/L, KCl 5.0 mmol/L, HEPES 50 mmol/L, glucose 11 mmol/L, BSA 10 g/L, EDTA 2.0 mmol/L, 调节pH值7.4. A<sub>2</sub>液: A<sub>1</sub>液中去掉EDTA, 加入CaCl<sub>2</sub> 1.0 mmol/L, MgCl<sub>2</sub> 1.5 mmol/L, 调节pH值7.4. A<sub>3</sub>液: A<sub>1</sub>液中去掉EDTA、BSA, 加入CaCl<sub>2</sub> 1.0 mmol/L, MgCl<sub>2</sub> 1.5 mmol/L, DTT 1.0 mmol/L, 调节pH值7.4. 消化液: pronase溶于A<sub>1</sub>液中, 1 g/L. Percoll: 用A<sub>3</sub>液配成40%和60%. 细胞培养液: Ham's F12/DMEM, 调节pH值在7.1-7.3, 过滤除菌后分装备用. 细胞干预液: 用细胞培养液分别配制10, 100, 1000 mg/L西咪替丁, 雷尼替丁和法莫替丁, 调节pH值7.4后过滤初菌.

**1.2 方法** 将大鼠处死后剖腹取胃, 放入生理盐水中, 在胃底作一小切口, 用玻璃棒将胃翻转并用生理盐水清洗, 然后在幽门部结扎制成胃囊, 注入消化酶并放入A<sub>1</sub>液中, 置于37℃消化90 min. 将胃囊放入A<sub>2</sub>液中, 用磁力搅拌器搅拌60 min, 收集细胞后离心. 沉淀用A<sub>3</sub>液洗涤后制成细胞悬液, 与Percoll按密度顺序置于离心管中, 离心20 min后收集壁细胞. 用含有FBS100 mL/L的细

胞培养液制成细胞悬液并接种到培养瓶中, 时差贴壁培养30 min后取出细胞并离心, 再用无血清的细胞培养液重新制成细胞悬液, 接种到培养瓶中<sup>[6,7]</sup>. 实验分为两部分. (1) 时间对壁细胞H<sub>2</sub>受体脱敏的影响: 调节细胞浓度为1×10<sup>9</sup>/L并分为西咪替丁、雷尼替丁和法莫替丁3组, 先用100 mg/L干预液孵育细胞, 各组孵育时间均分为0, 1, 2和4 h, 孵育结束后用A<sub>3</sub>液洗涤细胞, 再加入100 mg/L干预液, 1 h后测定细胞酶活力; (2) 浓度对壁细胞H<sub>2</sub>受体脱敏的影响: 分组方法同前, 先用干预液孵育细胞2 h, 各组干预液浓度均分为0, 10, 100和1000 mg/L四种, 然后用A<sub>3</sub>液洗涤细胞, 再加入100 mg/L干预液, 2 h后测定细胞酶活力. 按照H<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATP酶试剂盒使用说明, 测定各组细胞的吸光度并计算H<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATP酶活力, 以每小时每毫克组织蛋白的ATP酶分解ATP产生1 μmol无机磷的量为一个ATP酶活力单位[μmol Pi/(mg prot·hour)].

**统计学处理** 采用SPSS 12.0统计软件进行统计学分析, 数据用mean±SD表示, 组间差异和两两比较分别用F检验和LSD, SNK检验.

## 2 结果

**2.1 时间对壁细胞H<sub>2</sub>受体脱敏的影响(表1)** 经过不同时间干预后, 各组细胞酶活力均发生显著变化, 在3种干预时间下, 法莫替丁组细胞酶活力均明显高于雷尼替丁组和西咪替丁组, 雷尼替丁组则在干预时间延长至2 h或4 h时才与西咪替丁组有显著性差异. 表明3种H<sub>2</sub>受体拮抗剂在相同干预时间下对壁细胞H<sub>2</sub>受体脱敏的诱导能力不同, 导致干预后3者的抑酸作用出现不同程度的减弱, 其中法莫替丁的诱导能力最强, 因此干预后抑酸作用最弱, 其次为雷尼替丁, 西咪替丁则最弱.

**2.2 浓度对壁细胞H<sub>2</sub>受体脱敏的影响(表2)** 经过不同浓度干预后, 各组细胞酶活力均发生显著变化, 在10, 100 mg/L条件下, 法莫替丁组细胞酶活力均明显高于雷尼替丁组和西咪替丁组, 当浓度增高至1000 mg/L雷尼替丁组、法莫替丁组均明显高于西咪替丁组. 表明3种H<sub>2</sub>受体拮抗剂在相同干预浓度下对壁细胞H<sub>2</sub>受体脱敏的诱导能力不同, 导致干预后3者的抑酸作用出现不同程度的减弱, 其中法莫替丁的诱导能力最强, 并随浓度增加而增强, 雷尼替丁与西咪替丁则相对较弱.

表1 壁细胞H<sub>2</sub>受体经H<sub>2</sub>受体拮抗剂干预后H<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATP酶的活力(mean±SD)

药物	0 h	1 h	2 h	4 h
西咪替丁	4.18±0.32	118.42±5.91	110.62±1.28	102.43±3.44
雷尼替丁	1.42±0.42	169.38±93.64	343.46±44.88 <sup>b</sup>	234.07±4.72 <sup>b</sup>
法莫替丁	0.63±0.02	589.34±2.70 <sup>bd</sup>	812.82±8.35 <sup>bd</sup>	637.15±4.59 <sup>bd</sup>
F	—	68.22	522.18	12685.50

<sup>b</sup>P<0.01 vs 西咪替丁组; <sup>d</sup>P<0.01 vs 雷尼替丁组; 0 h为实测值. [μmol Pi/(mg prot·hour)], 余组 = (各组酶活力实测值/0 h组实测值均值) × 100%.

表2 壁细胞H<sub>2</sub>受体经H<sub>2</sub>受体拮抗剂干预2 h后H<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATP酶的活力(mean±SD)

药物	0 mg/L	10 mg/L	100 mg/L	1000 mg/L
西咪替丁	3.69±0.15	123.62±4.32	125.40±7.45	109.88±0.69
雷尼替丁	3.27±0.19	70.88±21.44 <sup>a</sup>	128.03±8.22	131.58±11.50 <sup>a</sup>
法莫替丁	1.92±0.14	178.21±20.38 <sup>bd</sup>	225.65±16.41 <sup>bd</sup>	233.44±6.24 <sup>bd</sup>
F	—	29.00	74.87	228.35

<sup>a</sup>P<0.05, <sup>b</sup>P<0.01 vs 西咪替丁组; <sup>d</sup>P<0.01 vs 雷尼替丁组; 0 mg/L为实测值. 余组 = (各组酶活力实测值/0 mg/L组实测值均值) × 100%.

### 3 讨论

胃壁细胞上的H<sub>2</sub>受体活化后,通过胞内第二信使活化壁细胞H<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATP酶,分泌胃酸.西咪替丁、雷尼替丁和法莫替丁等H<sub>2</sub>受体拮抗剂能够诱导胃壁细胞H<sub>2</sub>受体出现脱敏现象.在相同干预条件下,各组细胞酶活力变化(百分比)均呈上升趋势,但上升幅度各不相同,其中法莫替丁组最高,其次为雷尼替丁组,西咪替丁组则相对较低,说明法莫替丁对脱敏的诱导能力最强,导致干预后细胞对其敏感性最低,再次加入法莫替丁作用于细胞时,其抑酸效果显著降低,壁细胞H<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATP酶活力明显上升,雷尼替丁的诱导能力次之,西咪替丁则最弱.

自H<sub>2</sub>受体拮抗剂问世以来,人们对三代药物的抑酸作用进行了许多比较,发现西咪替丁起效较快,而法莫替丁的抑酸强度及维持时间较长,雷尼替丁则居中<sup>[8-10]</sup>.结合本次研究结果对三种H<sub>2</sub>受体拮抗剂的抑酸作用和脱敏能力进行排序,均为法莫替丁>雷尼替丁>西咪替丁,可能与药物的结构、理化性质有关.三种H<sub>2</sub>受体拮抗剂均是对组胺的咪唑环或者侧链进行某种程度的改造而诞生的,西咪替丁的结构主要为咪唑环以及侧链的胍基胍,雷尼替丁主要为呋喃环和侧链的硝基烯炔基团,法莫替丁则主要为噻唑环和侧链的硫酰胺乙炔基团.其中碱性芳杂环结构是H<sub>2</sub>受体与配体结合的关键,且碱性越强,药物作用越强.H<sub>2</sub>受体第3、第5跨膜区各有一个天冬氨酸残基,其酸性较强,且在H<sub>2</sub>受体与配体结合中具有关键作用.基于结构决定功能的原理假设:咪唑环、呋喃环和噻唑环,一方面可能与天冬氨酸发生某种反应,引导受体与配体结合,发挥抑酸作用;另一方面则可能导致天冬氨酸变性,干预后再次加入H<sub>2</sub>受体拮抗剂时,天冬氨酸尚未复性,受配体无法结合,细胞即出现脱敏,而且本次研究中法莫替丁组胃壁细胞H<sub>2</sub>受体脱敏更明显,雷尼替丁组则在干预条件增加至一定程度时才与西咪替丁组存在显著性差异,可能是由于咪唑环、呋喃环和噻唑环的碱性呈递增趋势,引起天冬氨酸变性程度及复性难易程度也呈递增趋势所致.

目前虽有关于H<sub>2</sub>受体拮抗剂耐受的报道,但机制不

明,可能与H<sub>2</sub>受体脱敏有关<sup>[11,12]</sup>.但是药物在体内代谢过程十分复杂,除了受药物本身结构及理化性质的影响外,还与肝细胞色素P450酶系统有关,西咪替丁能够抑制该系统,雷尼替丁对其影响较小,法莫替丁则对其无影响.

### 4 参考文献

- 1 戴体俊.受体研究的若干进展.国外医学·麻醉学与复苏分册 2001;22:272-273
- 2 Shayo C, Legnazzi BL, Monczor F, Fernandez N, Riveiro ME, Baldi A, Davio C. The time-course of cyclic AMP signaling is critical for leukemia U-937 cell differentiation. *Biochem Biophys Res Commun* 2004;314:798-804
- 3 Legnazzi BL, Shayo C, Monczor F, Martin ME, Fernandez N, Brodsky A, Baldi A, Davio C. Rapid desensitization and slow recovery of the cyclic AMP response mediated by histamine H<sub>2</sub> receptors in the U937 cell line. *Biochem Pharmacol* 2000;60:159-166
- 4 Smit MJ, Leurs R, Shukrula SR, Bast A, Timmerman H. Rapid desensitization of the histamine H<sub>2</sub> receptor on the human monocytic cell line U937. *Eur J Pharmacol* 1994;288:17-25
- 5 Brodsky A, Davio C, Shayo C, Legnazzi BL, Barbosa M, Lardo M, Morelli A, Baldi A, Avalos JCS, Rivera E. Forskolin induces U937 cell line differentiation as a result of a sustained cAMP elevation. *Eur J Pharmacol* 1998;350:121-127
- 6 乔伟丽,张咏梅,阎长栋,王琳.改良的大鼠胃黏膜壁细胞分离方法.徐州医学院学报 2004;24:242-243
- 7 陈蕾,黄威权,孙绪德,吕宝真,蒲若蕾.大鼠胃壁细胞的分离及培养.第四军医大学学报 2002;23:769-771
- 8 Katsu K, Yabe S. Comparison of gastric mucosal surface pH response times after intravenous administration of histamine<sub>2</sub>-receptor antagonists. *Clinical Therapeutics* 1995;17:433-440
- 9 Chassany O, Bergmann JF, Simoneau G, Blanc LE, Segrestaa JM, Caulin C. The comparative effects of single intravenous doses of cimetidine, ranitidine, famotidine, and omeprazole on intragastric pH. *Current Therapeutic Research* 1996;57:159-167
- 10 Olsen KM, Hiller FC, Ackerman BH, Landwehr KC, Pedro GS. Effect of single intravenous doses of histamine<sub>2</sub>-receptor antagonists on volume and pH of gastric acid secretions in critically ill patients. *Current Therapeutic Research* 1995;56:756-768
- 11 钟碧慧,袁育红,陈湖,林金坤,胡品津.24小时胃内酸度监测评价多种抑酸剂静脉使用对十二指肠溃疡患者的抑酸效果.中华消化杂志 1999;19:315-317
- 12 Labenz J, Peitz U, Leusing C, Tillenburg B, Blum AL, Borsch G. Efficacy of primed infusions with high dose ranitidine and omeprazole to maintain high intragastric pH in patients with peptic ulcer bleeding: a prospective randomised controlled study. *Gut* 1997;40:36-41

编辑 潘伯荣 审读 张海宁