

食管肠神经系统调控的研究进展

张晓艳, 谢鹏雁

■背景资料

食管拥有一个丰富的内在神经元网络, 分布于黏膜下层和环肌纵肌之间。食管的活动有赖于肠神经系统(ENS)的调控协调作用。由于肠道神经系统具有明显的自律性、节律性、稳定性、可调性, 其又被称为“肠脑”或“微型脑”(little brain)。肠神经系统的神经元中有许多种神经递质, 如一氧化氮、血管活性肠多肽、垂体腺苷酸环化酶激活多肽、降钙素基因相关肽、一氧化氮等。多种神经递质共同作用调节了食管的功能。

张晓艳, 中国人民解放军空军总医院干部病房5区 北京市 100142

谢鹏雁, 北京大学第一医院消化内科 北京市 100034

作者贡献分布: 本综述由张晓艳整理完成; 谢鹏雁审核。

通讯作者: 张晓艳, 100142, 北京市海淀区阜成路30号, 中国人民解放军空军总医院干部病房5区, zhangxiaoyan1024@263.net

收稿日期: 2008-12-30 修回日期: 2009-02-04

接受日期: 2009-02-09 在线出版日期: 2009-03-18

Research progress of enteric nervous system in esophagus

Xiao-Yan Zhang, Peng-Yan Xie

Xiao-Yan Zhang, Section 5, Ward of Cadre Care, Air Force General Hospital of Chinese PLA, Beijing 100142, China
Peng-Yan Xie, Department of Gastroenterology, the First Hospital of Beijing University, Beijing 100034, China

Correspondence to: Dr. Xiao-Yan Zhang, Section 5, Ward of Cadre Care, Air Force General Hospital of Chinese PLA, Beijing 100142, China. zhangxiaoyan1024@263.net

Received: 2008-12-30 Revised: 2009-02-04

Accepted: 2009-02-09 Published online: 2009-03-18

Abstract

The functions of esophageal peristalsis and contraction were regulated and controlled by both neural and humoral system at all levels. Esophageal function depends on coordination of all the effectors regulated by enteric nervous system (ENS). Esophageal neurons are generally divided into two groups: the excitatory neurons and the inhibitory neurons. They regulate the tone, peristalsis and contraction of esophagus by interaction of various neurotransmitters. This article reviews recent research advancement of ENS in esophagus.

Key Words: Esophagus; Enteric nervous system; Neurotransmitter

Zhang XY, Xie PY. Research progress of enteric nervous system in esophagus. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2009; 17(8): 790-797

摘要

食管受到各级神经系统及体液的调控, 而完成蠕动与收缩功能。食管的活动有赖于肠神经系统(enteric nervous system, ENS)的调控协调作

用。食管存在着兴奋性神经元和抑制性神经元两种, 他们通过多种神经递质相互作用而决定食管的紧张度、蠕动与收缩。对食管神经机制的理解及研发新型药物治疗食管功能紊乱和胃食管反流有重要意义。本文综述近十年来食管脑神经系统的研究进展。

关键词: 食管; 肠神经系统; 神经递质

张晓艳, 谢鹏雁. 食管肠神经系统调控的研究进展. 世界华人消化杂志 2009; 17(8): 790-797

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/17/790.asp>

0 引言

食管拥有一个丰富的内在神经元网络, 分布于黏膜下层(如meissner丛)和环肌纵肌之间(如auerbach丛)。肠神经系统(enteric nervous system, ENS)通过迷走神经和胸腔神经节中的肾上腺能神经节接受来自中枢神经系统的指令并向中枢系统传导信息。即使是在与中枢神经系统分离的情况下, 肠神经系统也能产生平滑肌部分的次级蠕动^[1]。由于肠道神经系统具有明显的自律性、节律性、稳定性、可调性, 其又被称为“肠脑”或“微型脑”(little brain)^[2]。肠神经系统的神经元中有许多种神经递质, 如一氧化氮、血管活性肠多肽、垂体腺苷酸环化酶激活多肽、降钙素基因相关肽、一氧化氮等。多种神经递质共同作用调节了食管的功能。本文综述了近年来食管肠神经系统研究的结果, 为进一步防治食管动力性疾病, 如反流性食管炎、贲门失弛缓症等, 提供了新的策略。

1 食管体部上段横纹肌部分的脑神经系统特点

大部分人认为这段横纹肌是“经典”的骨骼肌纤维组成, 食管横纹肌的神经支配最近研究表明为协同神经支配, 即迷走神经和肠神经元共同支配, 前者是通过疑核神经元神经输出引起胆碱能迷走运动神经元顺次兴奋, 激活了位于横纹肌纤维运动终板上的烟碱受体而完成的^[3-4]; 后者可表达神经元型一氧化氮合酶(neuronal nitric oxide

■同行评议者

伊力亚尔·夏合丁, 教授, 新疆医科大学第一附属医院胸外科; 王小众, 教授, 福建医科大学附属协和医院消化内科

synthase, nNOS)、血管活性肠多肽(vasoactive intestinal polypeptide, VIP)、降钙素基因相关肽(calcitonin gene-related peptide, CGRP)、神经肽Y(neuropeptide Y, NPY)和促生长激素神经肽(galanin, GAL), 从而调整了神经肌肉的信息传递^[5-7]。同时胆碱能对肠神经元也可通过疑核运动终板作用而增强影响, 作为对背部运动神经核输出的补充^[5]。研究表明, 肠源性神经纤维与食管横纹肌接触于专门的位点, 并且食管的收缩呈“从头到尾”的顺序, 发生于胆碱能运动终板对于神经控制食管肌肉的起明确功能之后, 这点不同于食管平滑肌部分的非特异性的“延续效应(hangover)”^[5]。

在鼠的研究中, CGRP存在于疑核的背群中, 疑核的背群主要传出神经支配食管的横纹肌, 含CGRP的交感神经运动神经元包含乙酰胆碱(acetylcholine, Ach)并且在其作用下可使乙酰胆碱受体合成增加, 说明了食管运动性交感神经元中, CGRP和ACh是协同递质^[8]。在鼠食管, NADPH-硫辛酰胺脱氢酶-阳性的神经纤维与运动终板相关联并延伸至肠肌从神经节, 这说明肠神经元广泛的(可能是硝基能性)共同支配的食管的横纹肌纤维, 为肠神经元共同支配横纹肌的提供了新证据^[7,9]。用双倍免疫组织化学染色显示鼠食管横纹肌运动终板是由CGRP免疫活性的轴突与一氧化氮合酶(nitric oxide synthase, NOS)和GAL免疫活性纤维共同支配^[5,8]。平均起来, 91%的NOS末端是具有GAL免疫活性的。通过认定CGRP末端的存在, NOS-免疫活性的纤维显示存在于在67%的端板。切断左边迷走神经和喉上神经, 并用15 d的时间使末端退化, 这造成CGRP纤维的缺失, 但不影响横纹肌NOS-免疫活性的纤维的密度。食管肠肌从神经节NOS-免疫活性的神经细胞体其中74%是GAL免疫活性的。由此, 可推导出NOS/GAL纤维发源于食管壁的神经节。食管壁没有CGRP-免疫活性的神经细胞体存在^[5]。CGRP-免疫活性的细胞在正常黏膜中很稀少, 但在食管炎的黏膜中则显著增加。食管的黏膜上皮内的郎格罕氏细胞含有可以充当免疫调节剂的CGRP^[10]。

然而, 尽管免疫组织化学的发现高度提示硝基能自主性神经调节(通过肠神经元)横纹肌收缩, 仍然不能证明一氧化氮(nitric oxide, NO)介导了横纹肌的活动^[11]。把整个拥有迷走神经网络(包括环路神经网络)食管切断, 并放在已氧化的Krebs-Ringer缓冲液的器官池中, 应用一

个力转换器测量纵向方向的收缩度。横纹肌的反应数量并不受VIP和GAL的影响, 而他们引起了平滑肌反应的抑制; 应用外源性的NO-供体减少了平滑肌收缩的1.6%, 但是对横纹肌的收缩并无显著的影响。因此, 这些免疫组织学上的发现起在生理学上的关系仍然不清楚^[11]。

2 食管体部下段平滑肌部分的脑神经系统特点

食管体下段平滑肌的周围神经支配为植物性的, 迷走神经胸前分支节前纤维末梢在食管周围形成神经丛(periesophageal plexus)并进入食管壁, 与肠间丛神经元形成突触联合^[12]其后再发出节后纤维支配平滑肌。支配食管的交感神经多源于胸髓T₅T₆中侧柱细胞体, 末梢终止于食管肌间丛。交感神经或迷走神经兴奋及其递质去甲肾上腺素或乙酰胆碱都会引起食管黏膜肌层的收缩。

食管平滑肌反应是多种神经递质的作用结果。应用选择性拮抗剂可以分离出食管的兴奋因子和抑制因子, 这一点可以支持上述假说。最初的抑制作用可能部分由包含VIP的神经元参与, 这种神经元是存在于食管体的。神经元(尤其是对河豚毒素敏感的神经元)介导的松弛可以部分由VIP抗血清阻滞, 而对“关闭”收缩的收缩力和期间无影响, 阿托品可以抑制“关闭”收缩^[13]。NO与神经肽如VIP, CGRP和GAL共存; 但很少与NPY和P物质(substance P, SP)共存, 提示神经元对食管蠕动的控制可能是通过释放NO及其他抑制性神经肽, 例如, CGRP, GAL, VIP, 而不是通过兴奋性物质的作用, 如NPY和SP^[14]。

NO与食管的抑制性神经元相关。NO由L-精氨酸在NO合成酶的催化下产生, 并存在于肠肌层中^[15]。NO合成酶抑制剂减少了离体食管环肌(circular muscle, CM)“关闭”收缩的潜伏期和振幅, 亦减少了离体食管对吞咽产生的收缩的潜伏期和振幅^[16]。吞咽可引起食管纵肌(longitudinal muscle, LM)收缩从而使食管缩短。然而在离体实验中, NO并不对食管纵肌有收缩作用, 而是对于收缩前组织有抑制作用。NOS在吞咽时引起的活体食管的缩短的抑制作用可能是继发于他对食管环肌收缩性的作用^[17]。NOS抑制剂减少了收缩潜伏期的梯度, 所以食管平滑肌对吞咽的收缩反应几乎是同时的。在活体中注入重组人类血红蛋白, 可以通过与NO结合而使其失活, 从而参与了食管的活动, 如LES松弛及突发性食管的痉挛^[18]。这些研究表明内源性NO或相关的化合物参与协调了吞咽与逐渐收缩

■研究前沿

速激肽类通过介导胃肠中的非肾上腺素能非胆碱能(NANC)而导致的胃肠运动兴奋, 但是他们在食管蠕动中的作用仍然不清楚。

■相关报道

研究表明,肠源性神经纤维与食管横纹肌接触于专门的位点,并且食管的收缩呈“从头到尾”的顺序,发生于胆碱能运动终板对于神经控制食管肌肉的起明确功能之后,这点不同于食管平滑肌部分的非特异性的“延续效应”。

之间的潜伏期,从而参与协调了整个食管体的蠕动^[17-18]。此外,过氧化物根 O_2^- 结合NO后形成了过氧化亚硝酸盐,抑制了NO生物活性。应用抗氧化物酶抑制剂,可使由神经介导的食管环肌收缩潜伏期和“关闭”应答显著缩短,提示了食管壁内神经存在抗氧化物酶,可能在调节由NO介导的食管神经肌肉信息传递中起重要作用^[19]。这些酶在阻滞酸引起食管黏膜损伤中亦起了一种显著作用^[20-21]。

速激肽类(tachykinins)通过介导胃肠中的非肾上腺素能非胆碱能(non-adrenergic non-cholinergic, NANC)而导致的胃肠运动兴奋,但是他们在食管蠕动中的作用仍然不清楚。速激肽类引起了环肌和纵肌浓度依赖性的紧张性减低,并且神经激肽受体也参加了这一作用。速激肽类引起的人食管体环肌收缩是通过了激活神经激肽受体所致。这一过程可被磷阿米酮敏感酶调节。引起人食管收缩运动的主要神经递质为ACh,速激肽类通过作用于神经激肽受体而引起人食管体环肌收缩,提示了除了胆碱能途径还有其他的兴奋性机制在起作用^[22]。

3 下食管括约肌神经递质的研究

下食管括约肌(lower esophageal sphincter, LES)位于胃食管结合处(esophagogastric junction, EGJ),解剖学上,LES毗邻胃小弯处为半环肌纤维而毗邻胃大弯处为纵向肌纤维。LES解剖学上的特征决定了神经支配及神经递质的分布不对称,并由此产生了不对称性压力分布图^[23]。LES紧张度主要源于并依靠于平滑肌特性,其通过L型钙离子通道完成;而LES压力可以被肠运动神经元、交感神经和副交感神经以及神经递质调控。下食管括约肌的兴奋主要是由ACh介导的。ACh无论是对活体或离体的LES都具有兴奋作用,并且这种兴奋可以被阿托品所阻断。NPY和SP同样参与了LES的兴奋。LES的松弛是由多种神经递质相互影响而产生的。在食管末端的肠肌层神经元中共存着NOS、VIP、CGRP等,这也支持了多种神经递质共同支配LES松弛这一机制^[23]。而LES无论兴奋性神经元还是抑制性神经元,均与Cajal间质细胞有密切联系,参与神经信号的传递。下面将分别叙述存在于LES的主要神经递质及Cajal间质细胞。

3.1 乙酰胆碱 ACh是LES的最主要的兴奋性神经递质。许多的实验证明了无论是在离体还是活体情况下,ACh均可引起LES环肌和纵向肌的兴

奋^[24]。乙酰胆碱能神经元大部分位于LES的左侧壁,右侧壁由轴突支配,这可能是LES左侧压力较右侧为高的原因^[25]。LES肌纤维胆碱能的收缩均为 M_3 受体介导的^[26]。 M_1 受体主要存在于肌间神经丛内,胃肠道平滑肌内含量很少^[27]。 M_2 受体在人食管平滑肌内表达最多,但几乎不介导其收缩反应^[28]。 M_4 受体在平滑肌中作用很少,敲出 M_4 受体基因的小鼠胃底平滑肌对卡巴胆碱反应与野生小鼠无差异,可以排除其作用^[29]。阿托品是 M_3 受体的拮抗剂,但目前仍未发现高选择的拮抗剂,不能通过药理学方法证明 M_5 受体的作用^[30]。ACh对LES的作用主要是通过 M_3 受体激活磷脂酶C,产生三磷酸肌醇(inositol triphosphate, IP3)而发挥作用的。ACh和IP3对LES的兴奋依赖于细胞内 Ca^{2+} 的释放和 Ca^{2+} -钙调蛋白(Ca^{2+} -calmodulin, CaM)依赖途径的激活作用。而小剂量ACh或IP3通过蛋白激酶C(protein kinase C, PKC)介导途径维持LES静息压。在LES从PKC-依赖途径向CaM-依赖途径的转换是通过细胞内钙离子浓度调节的^[31]。

3.2 速激肽类 速激肽类通过速激肽NK2受体途径参与了LES的收缩。神经肽Y及P物质均属于速激肽类神经递质。速激肽类神经递质通过L型钙离子通道而使肌细胞膜去极化,引起LES的收缩^[23]。研究表明,在人、猪、狗LES中,VIP和NPY由相同的神经元合成,储存在相同的轴突末梢,同时释放作用于括约肌细胞^[32]。NPY对电刺激、神经介导的纵行肌收缩产生剂量依赖性抑制,提示了NPY可能作用于突触前来抑制胆碱能传输。NPY可以抑制八肽缩胆囊素引起的食管肌肉收缩,并且这种抑制作用与NO无关^[9]。肽药理学作用提示NPY起到了调节平滑肌紧张度的作用。食管失弛缓症者LES含有NPY和SP的神经纤维减少;而在食管裂孔疝和胃食管返流患者的标本中,可以观察到很多的NYP纤维。证明了NPY在LES调节中起到了重要的作用^[33]。

SP免疫相关性神经纤维在豚鼠和猫的食管下端中数量很多,在肠肌丛和黏膜下丛分布较多,在环肌和纵向肌及黏膜也有分布。免疫组化学证明,SP存在于迷走神经末梢的分支中^[34]。电刺激猪的迷走神经使LESP升高了8倍,同时SP的分泌明显改变^[35]。SP对猫食管环状肌的作用:不仅增加了平滑肌的收缩并且加强了其对电刺激的反应。上述研究结果支持了生理学研究上提出的迷走神经传入纤维在食管蠕动起到的效应器的作用是通过释放SP完成的这一理论,食管

末端SP可能作为对化学伤害感受刺激的神经递质, 加强食管平滑肌的收缩反应^[34].

3.3 NO 是主要的LES抑制性神经递质, 他通过介导NANC引起LES的松弛和反弹性收缩. LES中的nNOS是NO的酶源^[23]. nNOS的生物活性依赖于 Ca^{2+} 和钙调蛋白, 由其产生的NO主要起神经递质和第二信使作用. 许多体内体外研究表明, 应用了NOS抑制剂抑制了NOS使神经元介导的LES松弛受阻. 很多神经递质与NO一起共同参与了LES的松弛. 然而到目前为止, 只有ATP或相关嘌呤及蜂毒明肽敏感神经递质被证明与NO参与了LES的松弛^[35]. ATP通过蜂毒明肽敏感- Ca^{2+} 活化- K^{+} 钾通道影响了快速抑制性神经肌肉接头电位(inhibitory junction potentials, IJPs), NO通过cGMP途径而不是AMP依赖性蛋白激酶(cAMP-dependent protein kinase, PKG)途径介导了另一部分的快速IJPs, 以及缓慢IJPs^[36].

NO作为支配LES神经中抑制性神经肽能神经递质能引起LES松弛, 其机制: 目前认为一方面NO可能是一过性食管下端括约肌舒张(transient lower esophageal sphincter relaxation, TLESR)的启动因子, NO具有脂溶性, 能通过生物膜迅速扩散, 他被合成后不储存于突触颗粒中而是立即释放, 到达靶细胞不作用于细胞表面受体而是与细胞内的鸟苷酸环化酶结合并提高该酶活力使细胞内环磷酸鸟苷(cyclic guanosine monophosphate, cGMP)生成增多, 降低细胞内钙离子浓度或对钙离子的敏感性, 引起肌肉松弛, LES松弛及“关闭”反应^[35-36]; 另一方面使依赖cGMP的蛋白激酶活性上升, 促使蛋白磷酸化使肌肉松弛, 从而使LES松弛; 此外NO又是一种炎性递质, 可与超氧化物反应产生过氧亚硝酸盐, 后者可加速脂类和巯基化合物的氧化反应, 引起食管急慢性炎症反应, 造成食管黏膜的损伤.

在食管不同功能部分, NOS神经纤维的分布密度不同. 含有NOS的神经纤维存在于肠肌丛, 黏膜下丛和肌黏膜丛^[37]. NOS神经纤维约有69%分布在肠肌丛^[9]. 在环肌层, NOS的神经纤维在食管体上段分布的很多, 朝向LES处有显著减少; 在纵肌层和纵肌方向的肌黏膜中, NOS的神经纤维在胃食管括约肌处大量分布, 并向横纹肌和平滑肌交界处显著减少^[14]. NOS神经纤维约有30%-40%存在于壁内神经节及其延伸的神经纤维束中. 在壁内神经节中的无NOS免疫活性的神经细胞的间隙中, 存在着NOS免疫活性

神经细胞以束状形式存在并最终膨大形成末端神经. 穿过食管壁各层的血管旁伴行有含免疫活性的神经纤维-血管周围丛. 这说明: NO参与神经传导并控制食管的蠕动、紧张度及TLESR. 食管下段的一些氮能神经纤维可促进感觉运动功能^[37].

应用NO合酶阻滞剂NG-甲基-L-精氨酸(L-Arginine, L-NMMA)研究人类内源性NO对吞咽的影响, 可以发现L-NMMA灌注显著减少收缩期间并且加快起始传播速度但是并不改变收缩的幅度, 而且这一作用可以被NOS底物L-精氨酸转复. LES静息状态的紧张度可以因为灌注了L-NMMA而显著的提高, 这些效应都可以被L-精氨酸逆转. 提示了在人类, 内源性的NO参与, 至少是部分参与, 食管下段部分和LES运动的生理调节^[38]. 一些LES迷走神经抑制性通路神经节阻滞剂如阿托品、六甲胺和5-甲氧二甲胺可以显著对抗由于吞咽和刺激迷走神经引起的LES松弛, 但是却不能影响由于气囊膨胀引起的LES松弛. NOS抑制剂, N-硝基-L-精氨酸甲基酯, 显著的抑制了由于刺激迷走神经, 吞咽及气囊膨胀引起的LES松弛, 而且这一作用可以被L-精氨酸转复. 这些研究表明, 气囊诱导的LES松弛通过壁内丛途径, 而不是像迷走神经抑制性途径那样通过神经节传递信息. 然而无论何种刺激引起的LES松弛, 最后的递质都是NO^[39]. 在活体或离体中, 急性的酒精作用抑制了LES的收缩性. 乙醇显著的减少了LES紧张度并不由NO介导, 而乙醇增强了LES的“打开”松弛反应是NO介导的. 内毒素脂多糖可引起LES基本状态剂量依赖型抑制, 并且由于刺激NANC而增强了LES松弛, 其原因可能是因为nNOS及其产物NO活性的增加^[40].

也有观点认为LES环肌的收缩机制与纵肌不同, 环肌主要不是由于NO的抑制性神经元的作用, 而是由于胆碱能神经兴奋关闭所致^[41].

3.4 CO 内源性CO和NO类似, 是近年研究证实的重要的生物调节物质, 具有传递细胞间信息、调节细胞功能的作用. CO也参与了LES的松弛. 血红素氧合酶(haem oxygenase, HO)可在应激或损伤条件下诱导产生CO, CO是一种弥散的气体信使分子, 可以传递生理学信息, 从而具有抗炎、抗凋亡、抗增生作用^[42-44]. 在猫的LES中, 对产生CO的HO的定位, 发现HO的免疫活性定位在黏膜下丛和肠肌丛神经细胞胞体中, 并且大约50%含有HO免疫活性的肠肌丛神经细胞胞

■应用要点

在食管存在着兴奋性神经元和抑制性神经元两种, 他们通过多种神经递质相互作用而决定食管的紧张度、蠕动与收缩. 对食管神经机制的理解及研发新型药物治疗食管功能紊乱和胃食管反流有重要意义.

■同行评价

本文较全面综述了食管肠神经系统的作用与功能,有一定临床意义。

体同时也包含有NOS和VIP免疫活性。HO的免疫活性也定位在于神经纤维,分散于平滑肌及动脉内膜的非神经细胞中,并且类似于NO,在分离的LES环形平滑肌,CO产生浓度依赖性的舒张。这种舒张伴随着cGMP的上升,而不是环磷酸苷(cyclic adenosine monophosphate, cAMP),CO通过可溶性鸟苷酸环化酶-环磷酸鸟苷途径,通过胞内肌浆网钙离子的释放,使平滑肌细胞舒张,肌肉松弛。舒张平滑肌HO基因缺失可引起平滑肌持续痉挛,外源性CO则能恢复平滑肌的正常反应^[45]。这种松弛反应可以被亚甲蓝降低,河豚毒素对其没有作用。反复的暴露于CO下,会造成渐进性的松弛作用减低。CO还可以调节肠道平滑肌的电活动,通过平滑肌细胞内cGMP生成,激活平滑肌细胞的K⁺通道,增加整个细胞的外向电流,引起膜电位超极化。CO可能参与了VIP,组氨酸异亮氨酸肽(peptide histidine isoleucine, PHI)和垂体腺苷酸环化酶激活多肽(pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide, PACAP)介导的松弛,因为抑制CO合成酶HO会直接导致这些肽类引起的松弛反应的改变,使其产生的浓度依赖性曲线的右侧移位^[45]。总之,HO的免疫活性定位在猫LES的神经、非神经细胞。LES可以产生CO和CO对环形平滑肌的松弛作用提示:CO起到外周信使作用。

NO和CO是近年发现的生物活性物质,具有传递生物信息等多种生物学功能,可以协同传递,而且NO/NOS和CO/HO有交互作用。已有报道,在多种组织或培养的细胞中NO能诱导HO-1 mRNA和蛋白的表达;依赖于NO的平滑肌松弛反应与CO有关,CO可增加肠道平滑肌对NO作用的敏感性,在CO缺失下NO并不能发挥效应;诱导型一氧化氮合酶(inducible Nitric Oxide Synthase, iNOS)可促成溃疡形成,HO则可使溃疡愈合^[46],细胞外信号调节激酶的活化通过iNOS可引起细胞死亡,HO-1则可以保护细胞。最近研究表明,应激或损伤诱导HO-1的表达可清除自由基,抑制iNOS表达,保护肠道免受多种类型的损伤^[47-49]。

3.5 血管活性肠多肽、组氨酸异亮氨酸肽、垂体腺苷酸环化酶激活多肽 在LES中,VIP神经元有65%与NOS神经元共存于肌肠丛神经元,LES黏膜下丛也存在含VIP的神经元^[23]。VIP是一种介导LES松弛的抑制性神经递质,通过调整平滑肌活动而使LES松弛,应用VIP抗血清可以抑制LES松弛。电刺激离体的LES肌肉可以使LES松

弛并且释放VIP^[13]。因电刺激或烟碱作用引起的猫LES快速松弛是由NO始动的,而这种松弛缓慢恢复至正常状态主要是由于VIP或类VIP肽的释放^[50]。贲门失迟缓症是一种神经肌肉紊乱,其特征为对于吞咽的反射,食管体缺乏蠕动LES松弛不能。这种疾病的LES处缺乏VIP神经,而且对于VIP的刺激突触后的受体(D-2DA受体)反应障碍^[51]。这也支持了VIP作为LES的一种抑制性神经递质而存在。反流性食管炎常伴有LES松弛,研究表明在有炎症反应的食管黏膜神经中含有VIP的神经选择性的增加了约3-4倍^[52]。

除了VIP外,还有其他神经递质参与LES松弛^[50]。PHI与VIP由同一前体产生,结构上同源并且存在相同的神经元中。在LES中,VIP和PHI都产生耐-河豚毒素剂量依赖性松弛,而且两者具有相同的强度。经PHI抗血清处理的平滑肌束,LES松弛减少了20%-30%,而且对VIP导致的松弛没有作用。上述说明了PHI可能参与电刺激导致的LES松弛^[13]。PACAP是一种首先从绵羊下丘脑提发现的新的类VIP肽^[53]。PACAP前体的后-转译过程中产生了两种生物活性分子PACAP38和PACAP27,其免疫相关神经细胞体及神经纤维也可在猫和人的LES环状平滑肌层中大量发现^[54]。PACAP对LES的松弛作用不如VIP,他在功能上的作用尚未明确。

与NO不同,这些抑制性的肽刺激cAMP,并增加cAMP的浓度,通过了cAMP而不是cGMP参与了LES松弛的调节。VIP引起的LES松弛与时间依赖性的1, 4, 5-IP₃减少及cAMP水平增加相关^[13,23,36]。

3.6 降钙基因相关肽 CGRP是一种抑制性的神经递质参与了LES的松弛。CGRP在猫的LES主要存在于大的神经束膜中,这种神经束膜从肌内板穿过,并且穿过环肌层,到达黏膜下和黏膜处的神经。CGRP免疫活性和NOS免疫活性定位于介导蠕动性收缩和LES松弛的肠肌丛神经中,并且CGRP与SP在血管神经纤维协同定位分布于食管环肌和LES中^[56]。CGRP直接作用LES,使其松弛,减少食管蠕动的幅度和延长反应的潜伏期,他对LES的抑制作用比降钙素强300倍,比VIP强400倍。外源性CGRP的作用可被CGRP拮抗剂CGRP8-37所抑制,表现为“关闭”收缩反应幅度增加及潜伏期缩短,且LES基础压力增加。CGRP8-37不会抑制LES的松弛及食管的收缩。N-硝基L-精氨酸不能消除CGRP产生的松弛。CGRP-LI神经穿过食管肌肉黏膜层并且也穿过

鳞状上皮到达食管腔,提示了CGRP可能起了感觉功能作用^[56]。

3.7 促生长激素神经肽 GAL免疫相关神经纤维和神经元存在食管括约肌的肠肌层和黏膜下丛。GAL使LES基础张力增加并减弱NANC神经介导的松弛^[57]。GAL对括约肌基础张力的影响常常通过直接作用于肌细胞而完成的,其内在机制尚未阐明。研究表明,GAL可引起LESP浓度依赖性上升,且不被阿托品拮抗,并可使LES上1-5 cm处收缩潜伏期缩短^[57]。而Lichtenslein *et al*^[58]报道,GAL对基础状态下的LES无作用,但可抑制由直接或间接收缩剂引起的收缩,而对VIP引起的LES松弛无作用,纳洛酮可逆转GAL的作用。

3.8 生长激素抑制素 生长激素抑制素(somatostatin, SS)可以通过抑制肌间胆碱能神经元释放ACh,从而增加抑制性神经元的活动。SS能选择性抑制LES中的兴奋性神经元、VIP,而不是抑制基础LESP。SS已经被证实能阻止人进食引起的TLESR^[59]。SS类似物奥曲肽(octreotide)能增加LES基础压力,但目前还没有确切的相关报道^[60]。

3.9 Cajal间质细胞 食管下端存在着一种特殊的间质细胞壁内的Cajal间质细胞(interstitial cells of Cajal, ICC),免疫组织化学染色和电镜研究发现,ICC与神经元细胞的关系十分密切,无论与兴奋性还是抑制性神经元(包括:胆碱能、NO、VIP、SP等)有密切联系,从而参与神经信号的传递。同时还发现,这些类型的ICC与平滑肌特别是环形肌细胞的接触也较紧密,说明神经元信号传至ICC后,再作用于平滑肌细胞的通路存在结构基础^[61]。

在食管远端,ICC存在于环形肌和纵形肌内;而在黏膜下丛未发现ICC。贲门失弛缓症患者中的LES高压和损害性松弛时可看到硝基能神经通路的功能失调,LES处ICC数目减少或缺如,特别是晚期患者很难看到ICC,ICC与神经末梢膨胀体的密切接触消失,ICC内线粒体减少,很少看见滑面内质网^[62-63]。

ICC在神经传递中的作用并不十分明确。有人对缺乏ICC的W/W^v小鼠研究发现,尽管NOS阳性神经元和神经纤维均正常,由于ICC缺乏,LES对外源性NO刺激的反应消失^[64]。研究还注意到ICC内有NOS阳性产物表达,推测其意义可能为:(1)神经冲动传至ICC后可促其产生NO,作用于平滑肌细胞,产生松弛效应。(2)ICC内NOS产生NO后,使细胞内Ca²⁺浓度增加,将抑制性神经信号放大。(3)神经末梢释放递质作用于ICC,

控制NO产生,从而控制神经信号输入^[65]。ICC在兴奋性神经元信号传递中也有作用,肠运动神经元释放的ACh与ICC结合,通过ICC与平滑肌细胞的缝隙连接,产生兴奋性连接电位(excitatory junction potential, EJP)。使平滑肌细胞产生去极化。ICC缺如的平滑肌对电神经刺激(通过ACh释放产生EJP)的反应明显减弱。依据从上述研究提出的观点:神经元末梢、IC-IM、平滑肌细胞形成了基本功能单位,包括神经递质释放、介导、传递、最后产生机械效应^[65]。也有实验表明,nNOS(-/-)小鼠类似于失弛缓症一样存在着LES的高压和损伤性松弛;而缺乏ICC的W/W(v)小鼠LES为低压并无损伤性松弛,从而提出了ICC在硝基能神经传递中并不起主要作用的观点^[66]。即使W/W(v)小鼠在缺乏ICC的情况下,食管神经-肌肉仍可完成收缩运动,可能通过神经递质作用于平滑肌细胞来实现这一过程的;而ICC的缺乏,可能与食管下端括约肌基础压力升高及增加食管自主性运动相关^[67]。

4 结论

食管神经支配由中枢神经系统、周围神经系统及肠神经系统三方面组成,共同作用调控了食管的功能。而肠神经系统中的各类神经及其递质的关系复杂,一直是多年来研究的热点。还有很多研究较少的食管内存在的神经元及神经递质,本文未加以一一阐述,例如神经降压肽、蛙皮素、促皮质激素释放激素受体1免疫阳性神经元、钙视网膜蛋白等,其机制及作用有待进一步深入研究。随着食管肠神经系统的基础研究不断进展,将为更好的解决临床食管动力性疾病提供了理论基础和实验依据。

5 参考文献

- 1 Sarna SK, Daniel EE, Waterfall WE. Myogenic and neural control systems for esophageal motility. *Gastroenterology* 1977; 73: 1345-1352
- 2 Wood JD, Alpers DH, Andrews PL. Fundamentals of neurogastroenterology. *Gut* 1999; 45 Suppl 2: II6-II16
- 3 Fryszak T, Zenker W, Kantner D. Afferent and efferent innervation of the rat esophagus. A tracing study with horseradish peroxidase and nuclear yellow. *Anat Embryol (Berl)* 1984; 170: 63-70
- 4 Barone FC, Lombardi DM, Ormsbee HS 3rd. Effects of hindbrain stimulation on lower esophageal sphincter pressure in the cat. *Am J Physiol* 1984; 247: G70-G78
- 5 Neuhuber WL, Eichhorn U, Wörl J. Enteric co-innervation of striated muscle fibers in the esophagus: just a "hangover"? *Anat Rec* 2001; 262: 41-46
- 6 Kuramoto H, Kawano H, Sakamoto H, Furness

- JB. Motor innervation by enteric nerve fibers containing both nitric oxide synthase and galanin immunoreactivities in the striated muscle of the rat esophagus. *Cell Tissue Res* 1999; 295: 241-245
- 7 Neuhuber WL, Wörl J, Berthoud HR, Conte B. NADPH-diaphorase-positive nerve fibers associated with motor endplates in the rat esophagus: new evidence for co-innervation of striated muscle by enteric neurons. *Cell Tissue Res* 1994; 276: 23-30
 - 8 Mizuguchi S, Ohno T, Hattori Y, Kamata K, Arai K, Saeki T, Saigenji K, Hayashi I, Kuribayashi Y, Majima M. Calcitonin gene-related peptide released by capsaicin suppresses myoelectrical activity of gastric smooth muscle. *J Gastroenterol Hepatol* 2005; 20: 611-618
 - 9 Huang SC. Functional CCK-A and Y2 receptors in guinea pig esophagus. *Regul Pept* 2000; 88: 55-60
 - 10 Singaram C, Sengupta A, Stevens C, Spechler SJ, Goyal RK. Localization of calcitonin gene-related peptide in human esophageal Langerhans cells. *Gastroenterology* 1991; 100: 560-563
 - 11 Storr M, Geisler F, Neuhuber WL, Schusdziarra V, Allescher HD. Characterization of vagal input to the rat esophageal muscle. *Auton Neurosci* 2001; 91: 1-9
 - 12 Breuer C, Neuhuber WL, Wörl J. Development of neuromuscular junctions in the mouse esophagus: morphology suggests a role for enteric coinnervation during maturation of vagal myoneural contacts. *J Comp Neurol* 2004; 475: 47-69
 - 13 Park SY, Youm JH, Jung KC, Sohn UD. Inhibitory effect of hypochlorous acid on lower esophageal sphincter tone relaxation by vasoactive intestinal peptide. *Arch Pharm Res* 2008; 31: 1552-1558
 - 14 Christensen J, Fang S, Rick GA. NADPH-diaphorase-positive nerve fibers in smooth muscle layers of opossum esophagus: gradients in density. *J Auton Nerv Syst* 1995; 52: 99-105
 - 15 Fang S, Christensen J. Distribution of NADPH diaphorase in intramural plexuses of cat and opossum esophagus. *J Auton Nerv Syst* 1994; 46: 123-133
 - 16 Richards WG, Stamler JS, Kobzik L, Sugarbaker DJ. Role of nitric oxide in human esophageal circular smooth muscle in vitro. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1995; 110: 157-164
 - 17 Sifrim D, Lefebvre R. Role of nitric oxide during swallow-induced esophageal shortening in cats. *Dig Dis Sci* 2001; 46: 822-830
 - 18 Murray JA, Ledlow A, Launspach J, Evans D, Loveday M, Conklin JL. The effects of recombinant human hemoglobin on esophageal motor functions in humans. *Gastroenterology* 1995; 109: 1241-1248
 - 19 Thomas RM, Fang S, Leichus LS, Oberley LW, Christensen J, Murray JA, Ledlow A, Conklin JL. Antioxidant enzymes in intramural nerves of the opossum esophagus. *Am J Physiol* 1996; 270: G136-G142
 - 20 Naya MJ, Pereboom D, Ortego J, Alda JO, Lanas A. Superoxide anions produced by inflammatory cells play an important part in the pathogenesis of acid and pepsin induced oesophagitis in rabbits. *Gut* 1997; 40: 175-181
 - 21 Leichus LS, Thomas RM, Murray JA, Conklin JL. Effects of oxygen radicals and radical scavenging on opossum lower esophageal sphincter. *Dig Dis Sci* 1997; 42: 592-596
 - 22 Krysiak PS, Preiksaitis HG. Tachykinins contribute to nerve-mediated contractions in the human esophagus. *Gastroenterology* 2001; 120: 39-48
 - 23 Farré R, Sifrim D. Regulation of basal tone, relaxation and contraction of the lower oesophageal sphincter. Relevance to drug discovery for oesophageal disorders. *Br J Pharmacol* 2008; 153: 858-869
 - 24 Korsapati H, Babaei A, Bhargava V, Mittal RK. Cholinergic stimulation induces asynchrony between the circular and longitudinal muscle contraction during esophageal peristalsis. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2008; 294: G694-G698
 - 25 Tian ZQ, Liu JF, Wang GY, Li BQ, Wang FS, Wang QZ, Cao FM, Zhang YF. Responses of human clasp and sling fibers to neuromimetics. *J Gastroenterol Hepatol* 2004; 19: 440-447
 - 26 Muinuddin A, Naqvi K, Sheu L, Gaisano HY, Diamant NE. Regional differences in cholinergic regulation of potassium current in feline esophageal circular smooth muscle. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2005; 288: G1233-G1240
 - 27 James AN, Ryan JP, Crowell MD, Parkman HP. Regional gastric contractility alterations in a diabetic gastroparesis mouse model: effects of cholinergic and serotonergic stimulation. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2004; 287: G612-G619
 - 28 Preiksaitis HG, Krysiak PS, Chrones T, Rajgopal V, Laurier LG. Pharmacological and molecular characterization of muscarinic receptor subtypes in human esophageal smooth muscle. *J Pharmacol Exp Ther* 2000; 295: 879-888
 - 29 Woolley ML, Carter HJ, Gartlon JE, Watson JM, Dawson LA. Attenuation of amphetamine-induced activity by the non-selective muscarinic receptor agonist, xanomeline, is absent in muscarinic M4 receptor knockout mice and attenuated in muscarinic M1 receptor knockout mice. *Eur J Pharmacol* 2009; 603: 147-149
 - 30 刘洪瑞, 郭政东, 韩雪松, 王海波, 李智. 应用m_5A ChR-G_(11α)融合蛋白鉴别M₅受体亚型的特异性药物. *中国药理学通报* 2006; 22: 917-921
 - 31 Kang HY, Lee TS, Lee YP, Lee DW, La HO, Song HJ, Sohn UD. Interaction of calmodulin- and PKC-dependent contractile pathways in cat lower esophageal sphincter (LES). *Arch Pharm Res* 2001; 24: 546-551
 - 32 Tsumori T, Ando A, Domoto T, Oki M, Nakamura T. Coexistence of vasoactive intestinal polypeptide and neuropeptide Y immunoreactivity within axon terminals in the canine and human lower esophageal sphincter: electron microscopy by a double immunogold labeling procedure. *Acta Anat (Basel)* 1994; 149: 272-278
 - 33 Mosley RG, Reichelderfer M, Sengupta A, Singaram C. Innervation of an esophageal ectatic submucosal blood vessel in achalasia and a comparison with normals. *Am J Gastroenterol* 1994; 89: 1874-1879
 - 34 Kressel M, Radespiel-Tröger M. Anterograde tracing and immunohistochemical characterization of potentially mechanosensitive vagal afferents in the esophagus. *J Comp Neurol* 1999; 412: 161-172
 - 35 Jensen SL, Aggestrup S, Fahrenkrug J, Schaffalitzky de Muckadell OB, Sánchez Almeyra R. [Electric stimulation of the autonomic nervous system and vasoactive intestinal peptide and substance P release on the lower esophageal sphincter] *Acta*

- Gastroenterol Latinoam* 1990; 20: 131-136
- 36 Imaeda K, Cunnane TC. Electrophysiological properties of inhibitory junction potential in murine lower oesophageal sphincter. *J Smooth Muscle Res* 2003; 39: 119-133
 - 37 Rodrigo J, Uttenthal LO, Peinado MA, Esteban FJ, Fernández AP, Serrano J, Martínez de Velasco J, Santacana M, Bentura ML, Martínez-Murillo R, Pedrosa JA. Distribution of nitric oxide synthase in the esophagus of the cat and monkey. *J Auton Nerv Syst* 1998; 70: 164-179
 - 38 Konturek JW, Thor P, Lukaszyk A, Gabryelewicz A, Konturek SJ, Domschke W. Endogenous nitric oxide in the control of esophageal motility in humans. *J Physiol Pharmacol* 1997; 48: 201-209
 - 39 Sidhu AS, Triadafilopoulos G. Neuro-regulation of lower esophageal sphincter function as treatment for gastroesophageal reflux disease. *World J Gastroenterol* 2008; 14: 985-990
 - 40 Fan YP, Chakder S, Gao F, Rattan S. Inducible and neuronal nitric oxide synthase involvement in lipopolysaccharide-induced sphincteric dysfunction. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2001; 280: G32-G42
 - 41 L'Heureux MC, Muinuddin A, Gaisano HY, Diamant NE. Feline lower esophageal sphincter sling and circular muscles have different functional inhibitory neuronal responses. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2006; 290: G23-G29
 - 42 Nakao A, Kaczorowski DJ, Sugimoto R, Billiar TR, McCurry KR. Application of heme oxygenase-1, carbon monoxide and biliverdin for the prevention of intestinal ischemia/reperfusion injury. *J Clin Biochem Nutr* 2008; 42: 78-88
 - 43 Pachori AS, Smith A, McDonald P, Zhang L, Dzau VJ, Melo LG. Heme-oxygenase-1-induced protection against hypoxia/reoxygenation is dependent on biliverdin reductase and its interaction with PI3K/Akt pathway. *J Mol Cell Cardiol* 2007; 43: 580-592
 - 44 Pae HO, Oh GS, Choi BM, Chae SC, Kim YM, Chung KR, Chung HT. Carbon monoxide produced by heme oxygenase-1 suppresses T cell proliferation via inhibition of IL-2 production. *J Immunol* 2004; 172: 4744-4751
 - 45 Xue L, Farrugia G, Miller SM, Ferris CD, Snyder SH, Szurszewski JH. Carbon monoxide and nitric oxide as coneurotransmitters in the enteric nervous system: evidence from genomic deletion of biosynthetic enzymes. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2000; 97: 1851-1855
 - 46 Guo JS, Cho CH, Wang WP, Shen XZ, Cheng CL, Koo MW. Expression and activities of three inducible enzymes in the healing of gastric ulcers in rats. *World J Gastroenterol* 2003; 9: 1767-1771
 - 47 Tamion F, Richard V, Renet S, Thuilleux C. Protective effects of heme-oxygenase expression against endotoxic shock: inhibition of tumor necrosis factor- α and augmentation of interleukin-10. *J Trauma* 2006; 61: 1078-1084
 - 48 姜柳琴, 林琳. 血红素加氧酶/一氧化碳体系在胃肠道的作用. *世界华人消化杂志* 2006; 14: 1612-1616
 - 49 Inoue K, Takahashi T, Uehara K, Shimizu H, Ido K, Morimatsu H, Omori E, Katayama H, Akagi R, Morita K. Protective role of heme oxygenase 1 in the intestinal tissue injury in hemorrhagic shock in rats. *Shock* 2008; 29: 252-261
 - 50 Park SY, Youm JH, Jung KC, Sohn UD. Inhibitory effect of hypochlorous acid on lower esophageal sphincter tone relaxation by vasoactive intestinal peptide. *Arch Pharm Res* 2008; 31: 1552-1558
 - 51 Shin CY, Lee YP, Song HJ, Je HD, Sohn UD. Cyclic AMP dependent down regulation in the relaxation of smooth muscle cells of cat esophagitis. *Arch Pharm Res* 2007; 30: 715-722
 - 52 Kim SH, Youm JH, Lee DK, Park SY, Shin CY, Ryu JS, La HO, Song HJ, Min YS, Sohn UD. Effect of hydrogen peroxide on VIP-induced relaxation of the cat lower esophageal sphincter. *Arch Pharm Res* 2007; 30: 1419-1425
 - 53 Newton M, Kamm MA, Soediono PO, Milner P, Burnham WR, Burnstock G. Oesophageal epithelial innervation in health and reflux oesophagitis. *Gut* 1999; 44: 317-322
 - 54 Vaudry D, Gonzalez BJ, Basille M, Yon L, Fournier A, Vaudry H. Pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide and its receptors: from structure to functions. *Pharmacol Rev* 2000; 52: 269-324
 - 55 Gonzalez BJ, Basille M, Vaudry D, Fournier A, Vaudry H. [Pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide] *Ann Endocrinol (Paris)* 1998; 59: 364-405
 - 56 Uc A, Murray JA, Conklin JL. Effects of calcitonin gene-related peptide on opossum esophageal smooth muscle. *Gastroenterology* 1997; 113: 514-520
 - 57 Rattan S, Tamura W. Role of galanin in the gastrointestinal sphincters. *Ann N Y Acad Sci* 1998; 863: 143-155
 - 58 Lichtenstein GR, Reynolds JC, Ogorek CP, Parkman HP. Localization and inhibitory actions of galanin at the feline lower esophageal sphincter. *Regul Pept* 1994; 50: 213-222
 - 59 Straathof JW, Tieleman S, Lamers CB, Masclee AA. Effect of somatostatin on lower esophageal sphincter characteristics in man. *Scand J Gastroenterol* 2000; 35: 910-915
 - 60 Holloway RH. Systemic pharmacomodulation of transient lower esophageal sphincter relaxations. *Am J Med* 2001; 111 Suppl 8A: 178S-185S
 - 61 Brooks JC, Zambreau L, Godinez A, Craig AD, Tracey I. Somatotopic organisation of the human insula to painful heat studied with high resolution functional imaging. *Neuroimage* 2005; 27: 201-209
 - 62 Kilic A, Luketich JD, Landreneau RJ, Owens SR, Krasinskas AM, Schuchert MJ. Alterations in the density of interstitial cells of Cajal in achalasia. *Dig Dis Sci* 2008; 53: 1488-1492
 - 63 Gockel I, Bohl JR, Eckardt VF, Junginger T. Reduction of interstitial cells of Cajal (ICC) associated with neuronal nitric oxide synthase (n-NOS) in patients with achalasia. *Am J Gastroenterol* 2008; 103: 856-864
 - 64 Vannucchi MG. Receptors in interstitial cells of Cajal: identification and possible physiological roles. *Microsc Res Tech* 1999; 47: 325-335
 - 65 Wang XY, Sanders KM, Ward SM. Intimate relationship between interstitial cells of cajal and enteric nerves in the guinea-pig small intestine. *Cell Tissue Res* 1999; 295: 247-256
 - 66 Huizinga JD, Reed DE, Berezin I, Wang XY, Valdez DT, Liu LW, Diamant NE. Survival dependency of intramuscular ICC on vagal afferent nerves in the cat esophagus. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2008; 294: R302-R310
 - 67 Farré R, Wang XY, Vidal E, Doménech A, Pumarola M, Clave P, Huizinga JD, Jiménez M. Interstitial cells of Cajal and neuromuscular transmission in the rat lower oesophageal sphincter. *Neurogastroenterol Motil* 2007; 19: 484-496