

文章编号:1001-6880(2015)6-0986-04

蛇床子素对离体肺动脉环的作用

何观虹,滕振霞,姚丽*

哈尔滨医科大学药学院生药学教研室,哈尔滨 150081

摘要:为了研究蛇床子素对离体肺动脉的作用,本研究游离人及健康 SD 大鼠的肺动脉血管和 SD 大鼠的肠系膜动脉血管,剪成长约 3 mm 的血管环,观察不同浓度的蛇床子素对人和大鼠离体肺动脉以及大鼠肠系膜动脉收缩的作用。结果表明蛇床子素(10^{-9} ~ 10^{-5} mol/L)对人和大鼠苯肾上腺素预收缩的肺动脉具有浓度依赖性的舒张作用,对大鼠肠系膜动脉和正常的肺动脉无舒张作用。证实蛇床子素可舒张人和大鼠离体肺动脉环,其舒张作用具有浓度依赖性和组织特异性。

关键词:蛇床子素;肺动脉高压;肺动脉环

中图分类号:R93

文献标识码:A

DOI:10.16333/j.1001-6880.2015.06.008

Effect of Osthole on Isolated Pulmonary Arteries

HE Guan-hong, TENG Zhen-xia, YAO Li *

Department of Pharmacognosy, College of Pharmacy, Harbin Medical University, Harbin 150081, China

Abstract: To study the effect of osthole on isolated pulmonary arteries by using force-electricity transducers, pulmonary arteries isolated from human beings and healthy SD rats and mesenteric arteries from SD rats were cut into rings (about 3 mm in length) and observed the response of artery contraction to different doses of osthole. The results showed that osthole (10^{-9} ~ 10^{-5} mol/L) relaxed phenylephrine-precontracted isolated pulmonary arteries of both human beings and rats in a dose-dependent manner, but not mesenteric arteries and normal pulmonary arteries. Therefore, osthole relaxed human and rat isolated pulmonary arteries in a dose-dependent manner and was tissue specific.

Key words: osthole; pulmonary arterial hypertension; pulmonary arterial rings

肺动脉高压 (Pulmonary Artery Hypertension, PAH) 是仅次于冠心病和高血压的第三类常见心血管疾病,发病率和死亡率都很高。尽管强有力的治疗肺动脉高压的靶分子药物不断问世,但其死亡率仍高达 50%。因而寻求抗 PAH 新药是目前亟待解决的问题。蛇床子素(Osthole)又名甲氧基欧芹酚或欧芹酚甲醚,是从伞形科蛇床属植物蛇床子的果实中提取的一种香豆素类成分。现代药理研究发现其具有抗心律失常,抗炎,抗肿瘤,抗血栓,降低血压,雌激素样作用等多种生物活性^[1-3],对参与体循环的胸主动脉的舒张作用已被证实^[4],但对肺循环系统肺动脉的作用尚未阐明。本实验旨在阐明蛇床子素对肺动脉的舒张作用。

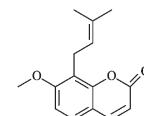


图 1 蛇床子素的化学结构

Fig. 1 Chemical structure of osthole

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 组织准备

人肺组织来自三个接受肺叶切除术或全肺切除术的肺癌患者(一男两女,平均年龄为 48.2 ± 0.8 岁,经医院医学伦理委员会批准及患者知情同意),手术前超声心动图显示每个患者的心功能正常,患者没有肺动脉高压,为了抗感染和抗血栓形成,在手术前患者接受头孢菌素和低分子量肝素治疗,切下肺组织后,从肺组织中分离出肺动脉,将肺动脉切成长 3 mm 的血管环。

收稿日期:2014-12-22 接受日期:2015-04-02

基金项目:国家自然基金青年项目(81302764);高等学校博士学科点专项科研基金新教师类资助课题(20122307120011);黑龙江省自然基金(QC2011C021);黑龙江省大学生创新创业训练项目(2013)

* 通讯作者 Tel:86-451-86660227; E-mail:yaoli197966@tom.com

1.1.2 实验动物

四十只成年雄性 SD 大鼠(200 ± 20 g),由哈尔滨医科大学动物中心提供。经动物保健和使用委员会(IACUC)认证,合格证号:20001024。SD 大鼠饲养于本院动物房。

1.1.3 药物与试剂

蛇床子素(纯度:99%)购自中国药品生物制品检定所,批号:110822-200305。苯肾上腺素(phenylephrine, PE)购自 Sigma 公司,批号:116K1492。Krebs-Henseleit (K-H) 含 (mmol/L): NaCl 118, KCl 4.7, CaCl₂ 2.5, MgSO₄ 1.2, NaH₂PO₄ 1.2, NaHCO₃ 20.0, 葡萄糖 11.1。其他试剂均为国产分析纯。

1.1.4 主要仪器设备

肌肉张力换能器(Jz101,高碑店市新航机电设备有限公司);生物信号采集处理系统(Medlab-U-6.0,南京美易科技有限公司),体式解剖显微镜(SMZ-168,Motic)。

1.2 方法

1.2.1 肺动脉血管和肠系膜动脉血管的分离

将大鼠麻醉,从大鼠胸腔和腹腔中分别取出肺和肠,将大鼠的肺和肠分别浸入 4 ℃ 含 95% O₂ 和 5% CO₂ 混合气体预饱和的 Krebs 溶液中,在解剖显微镜下分离出肺动脉血管和肠系膜动脉血管,并且剥除血管周围的结缔组织,然后分别将血管剪成长为 3 mm 的血管环。将血管环悬挂在钨丝上后,把张力传感器置于盛有 2 mL 含 95% O₂、5% CO₂ 混合气的 Krebs 溶液恒温(37 ℃)浴槽中。

1.2.2 正常肺动脉血管环与肠系膜动脉血管环的张力测定

给予动脉环 0.3 g 的基础张力,平衡 30 ~ 40 min。用 1 μM 苯肾上腺素(PE)对血管环进行预收缩,张力稳定后,向组织浴槽中逐渐加入浓度为 10⁻⁹ ~ 10⁻⁵ M 的蛇床子素,观察张力变化,记录 5 min,作出浓度-张力曲线。

1.2.3 离体预收缩血管环的张力测定

采用 1 μM PE 对血管环进行预收缩,血管收缩稳定后,向组织浴槽中加入浓度为 10⁻⁹ ~ 10⁻⁵ M 的蛇床子素,观察血管张力,记录 5 min,作浓度-张力曲线。为了保证组织活力,实验结束后,所有的血管环必须用 PE 进行收缩,验证活性。

1.3 统计学处理

采用 SPSS 软件对数据进行统计,数据用($\bar{X} \pm S$)

表示,多组平均数比较采用单因素方差分析,利用 t 检验进行多组间比较,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 实验结果

2.1 蛇床子素对人离体肺动脉血管环的作用

研究证实,蛇床子素离体胸主动脉血管环具有舒张作用,但其对人的肺动脉血管是否具有相同作用尚未被证实。本实验结果显示,蛇床子素对人的正常离体肺动脉血管环无舒张作用(图 2B, $n = 3$),而累积浓度的蛇床子素(10^{-9} ~ 10^{-5} M)对 PE 预收缩的人离体肺动脉血管环有扩张作用(图 2, $n = 3$)。当蛇床子素的浓度大于 1 μM 时可产生显著的血管舒张作用,当蛇床子素的浓度为 10 μM 时,血管环能够最大限度的舒张到 $87.14 \pm 4.89\%$ ($P < 0.01$, $n = 3$),表明蛇床子素的血管舒张作用具有浓度依赖性。

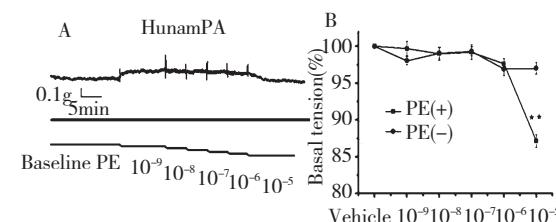


图 2 蛇床子素对人的离体正常及预收缩肺动脉血管环的作用

Fig. 2 Effect of osthole on human pulmonary arteries (PA) rings precontracted with or without phenylephrine (1 μM)

Note: A:蛇床子素对苯肾上腺素预收缩的人肺动脉环的作用;B:蛇床子素舒张苯肾上腺素预收缩离体人肺动脉环($n = 3$,与空白对照组相比, ** $P < 0.01$)

Note: A:Effect of osthole on human PA rings precontracted with phenylephrine; B:Osthole relaxed human isolated PA rings precontracted with phenylephrine [$n = 3$, ** $P < 0.01$ vs PE(-)]

2.2 蛇床子素对大鼠离体的肺动脉血管环的作用

蛇床子素对大鼠正常离体肺动脉血管环无舒张作用(图 3A 和 B),然而,对 PE 预收缩的大鼠离体肺动脉血管有浓度依赖性的舒张作用(图 3A 和 B)。当蛇床子素的浓度大于 1 μM 时可产生显著的血管舒张作用,当浓度为 10 μM 时,血管环能够最大限度的舒张到 $69.5 \pm 6.4\%$ ($P < 0.01$, $n = 8$)。蛇床子素的 EC₅₀ 为 3.01 ± 0.64 μM。

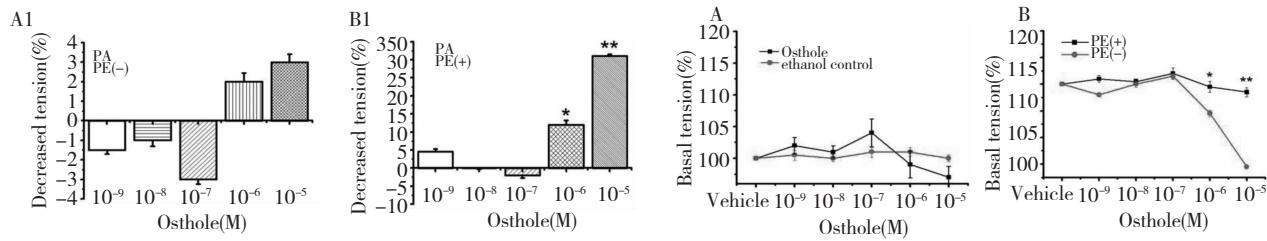


图3 蛇床子素对大鼠的离体正常及预收缩肺动脉血管环的作用

Fig. 3 Effects of osthole on PA rings precontracted with or without phenylephrine (1 μ M)

注:A:累积剂量的蛇床子素(10^{-9} ~ 10^{-5} M)对大鼠正常离体肺动脉环无收缩或舒张作用;B:蛇床子素对苯肾上腺素预收缩大鼠肺动脉环的作用。浓度大于 10^{-6} M时,累积剂量的蛇床子素对预收缩肺动脉环有舒张作用($n=8$,与空白对照组相比, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$)

Note: A: Cumulative dosing of osthole (10^{-9} - 10^{-5} M) did not produce any significant constrictions or relaxation in pulmonary artery rings; B: The effect of osthole on phenylephrine-induced vasoconstriction in PAs. Cumulative dosing of osthole elicited significant relaxation at concentrations higher than 10^{-6} M [$n=8$ and 10, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs PE (-)]

2.3 蛇床子素对大鼠离体的肠系膜动脉血管环的作用

为了探讨蛇床子素对体循环肠系膜动脉的作

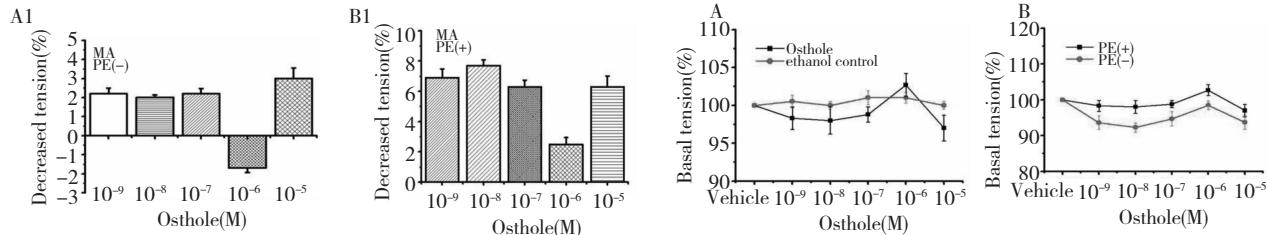


图4 蛇床子素对大鼠正常与预收缩肠系膜动脉血管环的作用

Fig. 4 Vascular effects of osthole on mesenteric artery rings precontracted with and without phenylephrine (1 μ M).

注:累积剂量的蛇床子素(10^{-9} ~ 10^{-5} M)对大鼠正常离体肺动脉环(A)或苯肾上腺素预收缩肺动脉环(B)无收缩或舒张作用($n=8$)

Note: Cumulative dosing of osthole (10^{-9} - 10^{-5} M) did not produce any significant constriction or relaxation in normal mesenteric arteries (MAs) (A) and phenylephrine-induced contractive MAs (B) ($n=8$)

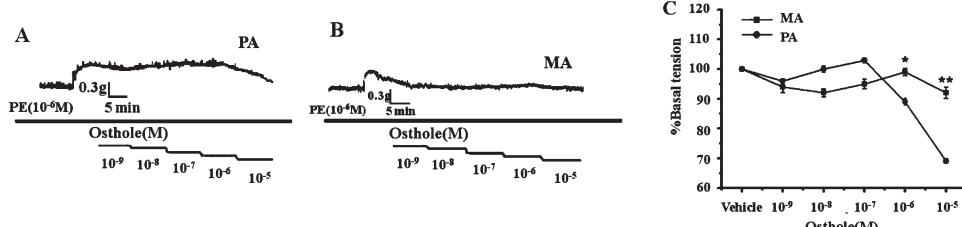


图5 蛇床子素对预收缩的肺动脉血管环和肠系膜动脉血管环的作用比较

Fig. 5 Response comparison of PA and MA rings precontracted with phenylephrine (1 μ M) to osthole

注:A:蛇床子素(10^{-9} ~ 10^{-5} M)对预收缩肺动脉血管环的作用;B:蛇床子素(10^{-9} ~ 10^{-5} M)对预收缩肠系膜动脉血管环的作用;C:1 μ M及10 μ M的蛇床子素对离体肺动脉血管环的作用与对肠系膜动脉血管环的作用差异显著($n=8$,与肺动脉血管环组相比, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$)

Note: A: Representative recording showed the effect of osthole (10^{-9} - 10^{-5} M) on the pre-contracted PA rings; B: Representative recording showed the effect of osthole (10^{-9} - 10^{-5} M) on the pre-contracted MA rings; C: PA rings dilatate to osthole at 1 μ M and 10 μ M and the response to osthole was significantly different from that in MA rings. The response was expressed as a percentage of the active tension originally generated by 1 μ M phenylephrine ($n=8$, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs PA).

果提示,蛇床子素对人及鼠离体的肺动脉血管有浓度依赖性的血管舒张作用,对大鼠离体肠系膜动脉血管环无此作用。

3 讨论

肺血管收缩是肺动脉高压的病理机制之一,蛇床子素对肺动脉的舒张作用及其机制是治疗肺动脉高压的关键,目前尚无相关报道。本研究首次证明蛇床子素能够舒张人和大鼠的离体肺动脉环。

值得关注的是累积剂量($10^{-9} \sim 10^{-5}$ M)的蛇床子素对鼠离体肠系膜动脉无血管舒张作用,提示蛇床子素可维持心血管功能的稳定性。肠系膜动脉和胸主动脉都属于体循环血管,蛇床子素可舒张胸主动脉而对肠系膜动脉无影响可能与血管结构、蛇床子素的剂量、血管活性介质的不同有关。

苯肾上腺素(PE)是通过胞内肌浆网中 Ca^{2+} 释放及胞外 Ca^{2+} 内流而引发血管收缩的^[5]。在本实验中,蛇床子素对正常的人和大鼠的离体肺动脉血管均无舒张作用,而能抑制 PE 引起的血管收缩,提示其作用机制可能与抑制肌浆网中 Ca^{2+} 释放或离子通道有关,有待进一步研究。

本实验首次证明:累积剂量($10^{-9} \sim 10^{-5}$ M)的蛇床子素对人和大鼠离体的收缩的肺动脉环有浓度依赖性的舒张作用,且具有组织特异性。

参考文献

- Ding D, Wei S, Song Y, et al. Osthole exhibits anti-cancer property in rat glioma cells through inhibiting PI3K/Akt and MAPK signaling pathways. *Cell Physiol Biochem*, 2013, 32: 1751-1760.
- Yang D, Gu T, Wang T, et al. Effects of osthole on migration and invasion in breast cancer cells. *Biosci Biotechnol Biochem*, 2010, 74: 1430-1434.
- Zimecki M, Artym J, Cisowski W, et al. Immunomodulatory and anti-inflammatory activity of selected osthole derivatives. *Z Naturforsch C*, 2009, 64: 361-368.
- Ko FN, Wu TS, Liou MJ, et al. Vasorelaxation of rat thoracic aorta caused by osthole isolated from *Angelica pubescens*. *Eur J Pharmacol*, 1992, 219: 29-34.
- Nelson MT, Quayle JM. Physiological roles and properties of potassium channels in arterial smooth muscle. *Am J Physiol*, 1995, 268: C799-822.

(上接第 1129 页)

- Demirhan E, et al. A modelling study on kefir grain biomass growth: Influence of various minerals. *Int J Dairy Technol*, 2011, 64: 402-407.
- Dogan M. Rheological behaviour and physicochemical properties of kefir with honey. *J Verbr Lebensm*, 2011, 6: 327-332.
- Dimitrelia G, et al. Effect of incubation temperature and caseinates on the rheological behaviour of kefir. *Procedia Food Sci*, 2011, 1: 583-588.
- Zhang Z (张喆), et al. Fermentation technology of oat and milk with the Tibetan mushroom. *China Brewing* (中国酿造), 2009, 212: 160-164.
- Yue C (岳春), et al. The research of Tibetan kefir fermenting wort drink. *China Brewing* (中国酿造), 2012, 31: 183-187.
- Oliveira Leite AM, et al. Microbiological, technological and therapeutic properties of kefir: a natural probiotic beverage. *Brazilian J Microbiol*, 2013, 44, 2: 341-349.
- Yuan YL (袁祎琳), et al. Production and quality analysis of Tibetan kefir milk slice. *Trans CSAE* (农业工程学报), 2013, 11: 278-285.