

# 小鼠尾动脉条应用于 $\alpha$ 肾上腺素受体 激动剂、拮抗剂和钙拮抗剂的研究

石成璋 李锡明 刘云 张均田

(中国医学科学院药物研究所, 北京 100050)

近年内, 国外一些学者已证明大鼠尾动脉存在突触后 $\alpha_1$ 和 $\alpha_2$ 肾上腺素受体, 并对此两种亚型的生理性质进行了研究、比较。目前, 大鼠尾动脉条已广泛用于 $\alpha_1$ 及 $\alpha_2$ 受体激动剂和拮抗剂以及钙拮抗剂的生理和药理学研究<sup>(1, 2)</sup>。该方法需将动脉剪成螺旋条, 制做比较复杂。为易于掌握, 我们在制备方法上进行了改进。随后, 设计和建立了小鼠尾动脉条实验模型。本文重点介绍小鼠尾动脉实验方法的优点及其应用范围, 冀能在国内得到推广应用。

## 材 料 和 方 法

**动物** Wistar 大鼠 250 ± 40 g; 昆明种小鼠 22 ± 4 g, 雌雄不拘。

**主要试剂和药品** 1. Krebs-Henseleit 溶液(其组成分别为: KCl 4.96, NaCl 119, CaCl<sub>2</sub> 2.52, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 1.17, MgSO<sub>4</sub>·7 H<sub>2</sub>O 1.13, 葡萄糖 10, NaHCO<sub>3</sub> 25 mmol/L, pH 7.4); 2. 血管加压素(AVP), 加拿大 Alberta 大学生理系惠赠, 以生理盐水配成 1 μg/ml 贮存于 0°C, 用时稀释成 4.6 × 10<sup>-8</sup> mol/L; 3.  $\alpha_1$  和  $\alpha_2$  受体激动剂苯福林(phenylephrine)和可乐宁(clonidine)系 Sigma 和中国药品生物制品检定所产品; 4.  $\alpha_1$  和  $\alpha_2$  受体拮抗剂哌唑嗪(prazosin)和育享宾(yohimbine)系北京制药工业研究所和 Sigma 产品。5. 钙拮抗剂尼莫地平(nimodipine)和钙激动剂(Bay K 8644)由西德拜耳公司惠赠, 戊脉安(varapamil)和地尔硫草(diltiazem)分别购自连云港制药厂和日本田边制药厂; 去甲肾上腺素(NE)系天津和平制药厂产品。

**实验装置** 系作者自行设计, 由本所仪电工厂制做。该装置由浴管、灌流系统、保温系统和放大记录系统组成。浴管位于装置的中心部位, 容积 100 μl, 血管条悬挂其中; 灌流系统置于装置的顶部, 包括进液口、出液口、给药口、进气口、出气口及与传感器相连的联接口; 保温系统系利用超级恒温水浴, 将 39°C 温水通过浴管夹层, 使浴管内温度保持在 37°C; 放大记录系统由换能器与台式平衡记录仪直接相连。记录仪量程 2 mV, 纸速 4 mm/min。

**离体血管制备** 给小鼠、大鼠 ip 乌拉坦 0.8 g/kg, 麻醉后, 剥去尾皮, 分离出尾动脉。剪去血管外层筋膜, 在靠近尾尖部截取 0.7 ~ 1 cm 长的一段血管, 然后在血管两侧斜切数刀, 切口的角度为 60°, 拉直即成一麻花状动脉条。用丝线结扎动脉条两端, 上端与 LW-力位移传感器相连, 静息张力为 0.8 g; 下端系于浴管下部, 通入 95% O<sub>2</sub> + 5% CO<sub>2</sub> 混合气。平衡 30 ~ 60 min 后可开始实验, 一般在 4 ~ 5 h 内保持良好收缩反应。

**药物作用的检测** 用微量注射器抽取 100 μl  $\alpha$ 肾上腺素受体激动剂或钙激动剂经给药口

注入浴管, 1 或 2 min 后, 洗去药物, 观察记录血管条收缩反应。待药物作用完成消失后, 再试另一浓度。以血管条收缩百分率为纵座标, 药物浓度为横座标作图, 画出量-效曲线并求  $ED_{50}$ 。待试药物若为拮抗剂, 量-效曲线右移, 由此可求出  $PA_2$ 。

### 实验结果

#### 一. 小鼠尾动脉条对 NE, AVP 和 Bay k 8644 的收缩反应

$1 \times 10^{-8}$  mol/L NE,  $4.6 \times 10^{-8}$  mol/L AVP 和  $1 \times 10^{-8}$  mol/L Bay k 8644 均能引起血管条收缩。其作用强度依次为  $NE > AVP > Bay\ k\ 8644$ 。除 Bay k 8644 外, NE 和 AVP 均存在明显的量-效关系(见表 1)。

Tab 1. Contraction of isolated mouse tail artery induced by three calcimn agonists

Drug	Drug concentration(mol/L)						
	$1 \times 10^{-8}$	$5 \times 10^{-8}$	$1 \times 10^{-7}$	$1 \times 10^{-6}$	$4.6 \times 10^{-8}$	$6.9 \times 10^{-8}$	$9.2 \times 10^{-8}$
	Contraction (%)						
NE	20	40	86	100			
Bay K 8644	66	83	83	100			
AVP					44	67	100

#### 二. 小鼠尾动脉条对 $\alpha$ 受体激动剂的收缩反应

NE 兼有激动  $\alpha_1$  和  $\alpha_2$  受体的作用, 故引起血管条强烈收缩,  $ED_{50} = 2.4 \times 10^{-7}$  mol/L。 $\alpha_1$  和  $\alpha_2$  受体激动剂苯福林和可乐宁的作用强度相近, 但弱于 NE。它们的  $ED_{50}$  分别为  $1.3 \times 10^{-6}$  和  $1 \times 10^{-6}$  mol/L。苯福林可迅速引起血管收缩, 但作用短暂; 可乐宁引起的血管收缩反应出现较慢, 但维持时间较久。

#### 三. $\alpha_1$ 和 $\alpha_2$ 受体拮抗剂哌唑嗪和育亨宾对苯福林和可乐宁引起小鼠尾动脉条收缩的抑制作用

$\alpha_1$  和  $\alpha_2$  受体拮抗剂哌唑嗪和育亨宾在  $10^{-6}$  mol/L 时, 可使  $\alpha_1$  和  $\alpha_2$  受体激动剂苯福林和可乐宁量-效曲线明显右移(图 1), 表明它们对血管收缩的抑制作用系通过与  $\alpha_1$  和  $\alpha_2$  受体的竞争性结合, 从而抑制或减弱了两种激动剂引起的血管收缩。

#### 四. 三类钙拮抗剂对 NE 引起血管收缩的拮抗作用

结果表明, 双氢吡啶类钙拮抗剂尼莫地平在  $10^{-6}$  mol/L 时, 对 NE, AVP 和

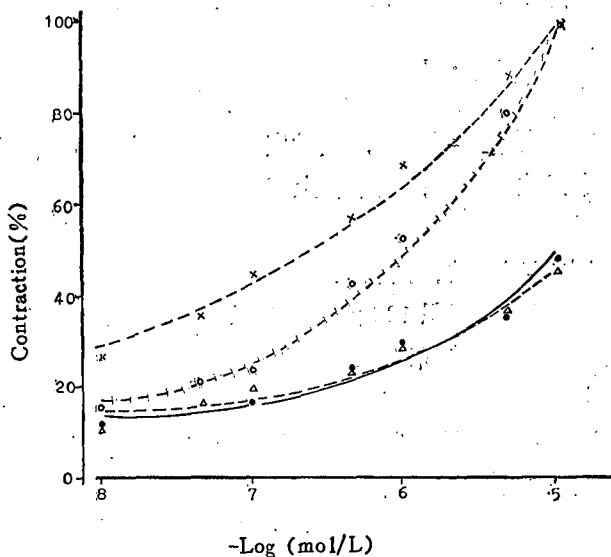


Fig 1. Effects of prazosin on phenylephrine and effects of yohimbine on clonidine induced contraction of isolated mouse tail artery preparation (n=4). ○—○ Phenylephrine; ●—● Phenylephrine+prazosin; ×---× Clonidine; △---△ Clonidine+yohimbine.

Bay k 8644 引起的血管收缩都有明显抑制作用, 其  $IC_{50}$  分别为 69, 46 和 97%。另两类钙拮抗剂戊脉安和地尔硫草对 NE 引起血管收缩的  $IC_{50}$  分别为  $2.4 \times 10^{-7}$  和  $2 \times 10^{-7}$  mol/L, 二者作用强度相近。

### 五. 用不同制备方法制成的大、小鼠尾动脉条对药物敏感性的比较

沿  $60^\circ$  将大鼠尾动脉剪成螺旋条, 而小鼠尾动脉条的制备方法如前所述。在盛有两种制备的浴管中加入相同的一系列浓度的 NE, 记录该两种血管条的收缩幅度。从表 2 结果可见, NE 引起大、小鼠尾动脉条收缩的作用强度十分近似, 说明用不同方法制备的大、小鼠尾动脉条对 NE 反应的敏感性完成一致。大、小鼠尾动脉制备对高  $K^+$  和 Bay K 8644 收缩血管的敏感性也大致相同。

Tab 2. Effect of NE on rat tail artery strips compared with mouse tail artery strips

Tail artery	Contractile response (%) to NE				ED <sub>50</sub> (mol/L)
	$1 \times 10^{-8}$	$5 \times 10^{-8}$	$1 \times 10^{-7}$	$1 \times 10^{-6}$	
	(Drug concentration, mol/L)				
Mouse	20	40	87	100	$6 \times 10^{-8}$
Rat	21	39	82	100	$6.5 \times 10^{-8}$

## 讨 论

国外越来越多的报告<sup>(1~3)</sup>认为, 大鼠尾动脉存在突触后  $\alpha_1$  和  $\alpha_2$  肾上腺素受体。我们的实验证明, 选择性作用于  $\alpha_1$  和  $\alpha_2$  受体的激动剂苯福林和可乐宁均可引起小鼠尾动脉条收缩, 而它们各自的拮抗剂哌唑嗪和育亨宾可使量-效曲线明显右移。NE 兼有激动  $\alpha_1$  和  $\alpha_2$  受体的作用, 故收缩血管的活性最强。放射配体结合试验证明, 小鼠尾动脉制备仅与  $^3H$  哌唑嗪和  $^3H$  可乐宁, 而不与  $^3H$ -QNB 和  $^3H$ -spiperone 结合, 这些结果有助于说明小鼠尾动脉确实存在突触后  $\alpha$  肾上腺素受体两种亚型, 也为离体小鼠尾动脉条取代大鼠尾动脉条用于药物筛选提供了实验依据。实际上, 离体小鼠尾动脉条用以取代大鼠尾动脉条具有许多优点。其一, 大、小鼠尾动脉条制备对所试各种药物的收缩反应完全相同, 但小鼠尾动脉条用于实验, 平衡时间短, 可较早开始检测。其二, 将大鼠尾动脉制成螺旋条, 制备困难, 对肌纤维损伤严重, 而制备小鼠尾动脉条的方法简便、快速和对肌纤维损伤较小。其三, 小鼠易得并可节省经费。

大、小鼠尾动脉的收缩, 主要是由于血管平滑肌细胞外钙离子快速流入细胞内造成; 其次, 细胞内钙库释放钙离子也可引起血管收缩<sup>(4,5)</sup>。NE、苯福林和可乐宁激动  $\alpha$  受体, 开放受体调控性钙通道, 引起钙内流; 高  $K^+$  和 Bay K 8644 使电压依赖性钙通道开启, 造成钙内流; AVP 可能是通过细胞内钙离子释放引起血管收缩。实验表明, 三类钙拮抗剂尼莫地平、地尔硫草和戊脉安对上述几种药物引起的血管收缩均有抑制作用, 但因它们的作用机制有所不同, 对各种激动剂引起血管收缩的抑制程度各有异同, 说明此模型不但对钙拮抗剂的筛选十分有用, 而且通过药物间协同, 拮抗试验, 有助于初步阐明药物作用机制。此外, 使用无钙缓冲液冲洗, 进而采用 EDTA 吸附掉细胞外钙离子的实验, 可以分析出所试药物是阻止胞外钙内流还是抑制内钙释放。作者实验室利用此法已筛选近百种钙拮抗剂, 实践证明此法操作简便、灵敏、重复性好。但因尾动脉十分细小, 操作时宜十分细心、谨慎, 用力过度即易断

裂。药物浓度要适宜, 如浓度过高, 血管条可能出现不可逆性收缩或松弛。

**关键词** 小鼠尾动脉;  $\alpha$ -肾上腺素能受体激动剂和拮抗剂; 钙拮抗剂

### 参 考 文 献

1. Abe K, et al. Pharmacological and electrophysiological discrimination of contractile responses to selective  $\alpha_1$ - and  $\alpha_2$ -adrenoceptor agonists in rat tail artery. *Jpn J Pharmacol* 1987; 45:249.
2. McGrath JC, et al. Evidence for more than one type of post-junctional  $\alpha$ -adrenoceptor. *Biochem Pharmacol* 1982;31:467.
3. Sastre A, et al. Relation between alpha adrenergic receptor occupation and contractile response: radioligand and physiologic studies in canine aorta. *J Pharmacol Exp Ther* 1984; 229: 887.
4. Fleckenstein A. *Calcium Antagonism in Heart and Smooth muscle*. New York: John Wiley & Sons, 1983: 225~227.
5. Fleckenstein A. Calcium antagonists and calcium agonists: fundamental criteria and classification. In: Fleckenstein A. ed. *Cardiovascular Effects of Dihydropyridine Type Calcium Antagonists and agonists*. Berlin: Springer-Verlag, 1984:3~31.

## APPLICATION OF MOUSE TAIL ARTERY FOR THE STUDY OF ALPHA ADRENOCEPTOR AGONISTS AND ANTAGONISTS AND CALCIUM ANTAGONISTS

CZ Shi, XM Li, Y Liu and JT Zhang

(Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Medical Sciences, Beijing 100050)

**ABSTRACT** Isolated mouse tail artery strip was used for the study of  $\alpha_1$ -,  $\alpha_2$ -adrenoceptor agonists and antagonists. NA ( $\alpha_1$  and  $\alpha_2$  agonist) was shown to have greater activity in contracting tail artery. Phenylephrine ( $\alpha_1$  agonist) and clonidine ( $\alpha_2$  agonist) exhibited the same contractile action but much weaker than NA. Prazosin ( $\alpha_1$  antagonist) and yohimbine ( $\alpha_2$  antagonist) greatly diminished the contraction induced by phenylephrine and clonidine. These results indicate that mouse tail artery is rich in postsynaptic  $\alpha_1$ - and  $\alpha_2$ -adrenoceptor. In addition, mouse tail artery preparation was shown to be a useful tool for screening calcium agonists and antagonists. This model has advantages of being simple and easy to prepare, short equilibrium time and more economic in comparison with the helical strips of isolated rat tail artery.

**Key words** Mouse tail artery;  $\alpha$ -Adrenoceptor agonists and antagonists; Calcium antagonists