

褪黑素在诱发肠系膜动脉舒张过程中对 BK_{Ca} 通道的直接作用机制

李珊珊, 吴迎

(北京体育大学运动与体质健康教育部重点实验室, 北京市 100084)

[关键词] 褪黑素; 血管舒张; 大电导钙激活钾通道

[摘要] **目的** 探讨褪黑素(MT)在诱导血管舒张过程中对大电导钙激活钾通道(BK_{Ca}通道)的直接作用机制。**方法** 选用8周龄雄性Wistar大鼠,麻醉后取肠系膜动脉,分别采用微血管张力测定和单通道膜片钳技术检测褪黑素及其受体对血管张力和血管平滑肌细胞BK_{Ca}通道门控特性的影响。**结果** (1)褪黑素本身对血管张力没有显著影响,但是可引起去甲肾上腺素(NE)激动的肠系膜动脉呈浓度依赖性舒张,这种舒张作用可以被褪黑素受体MT1/MT2阻断剂2-苯基-N-乙酰色胺(Luz)和BK_{Ca}通道特异性阻断剂iberiotoxin(IbTX)不同程度地抑制,其中IbTX抑制作用更显著。(2)单通道膜片钳贴附式结果显示,褪黑素可引起肠系膜动脉平滑肌细胞BK_{Ca}通道的开放概率、平均开放时间显著增加,平均关闭时间显著降低;Luz可显著抑制褪黑素对BK_{Ca}通道的激活作用。(3)单通道膜片钳内面向外模式结果同样显示,褪黑素可引起BK_{Ca}通道的开放概率、平均开放时间显著增加,平均关闭时间显著降低。**结论** 褪黑素可诱发肠系膜动脉血管舒张,其中,褪黑素直接或通过受体作用间接激活平滑肌细胞BK_{Ca}通道可能是其作用机制之一。

[中图分类号] R363

[文献标识码] A

The direct mechanism of melatonin on the BK_{Ca} channel in its inducing relaxation of mesenteric arteries

LI Shan-Shan, WU Ying

(Key Laboratory of Physical Fitness and Exercise, Ministry of Education, Beijing Sport University, Beijing 100084, China)

[KEY WORDS] Melatonin; Vasodilatation; BK_{Ca} channels

[ABSTRACT] **Aim** To explore the direct mechanism of melatonin (MT) on the large-conductance calcium-activated potassium channel (BK_{Ca} channel) in its inducing relaxation of mesenteric arteries. **Methods** Eight-week-old male Wistar rats were selected, the mesenteric arteries were removed. The mesenteric artery tension was measured by microvessel tension test, and the gating characteristics of BK_{Ca} channel in vascular smooth muscle cells were examined by single channel patch clamp technique. **Results** (1) MT had no significant effect on vascular tension, but it caused dose-dependent vascular relaxation in mesenteric arteries which were induced by norepinephrine (NE). The relaxation could be inhibited by luzindole (Luz) and iberiotoxin (IbTX), and the inhibition of IbTX was more intense. (2) The results of cell-attached patch clamp recordings revealed that MT significantly increased the open probability of BK_{Ca} channel and the average opening time, significantly reduced the average closing time; Luz significantly inhibited the activation of BK_{Ca} channel. (3) The results of inside-out patch clamp recordings showed that MT increased the open probability and the average opening time of BK_{Ca} channel and decreased the average closing time significantly. **Conclusion** MT activates the BK_{Ca} channels of smooth muscle cells in mesenteric arteries directly or indirectly through the receptor, which may be one of the important mechanisms underlying the inducing of MT on mesenteric arteries.

褪黑素(melatonin, MT)是由松果体分泌的一种内源性吲哚类激素,能够调控昼夜节律,除此之外,

[收稿日期] 2017-05-10

[修回日期] 2017-07-31

[基金项目] 北京市自然科学基金(5172023)

[作者简介] 李珊珊,博士研究生,研究方向为运动和心血管生理学,E-mail为124914818@qq.com。通讯作者吴迎,讲师,研究方向为运动和心血管生理学,E-mail为wuying@bsu.edu.cn。

还参与许多生理系统的调节,包括神经系统^[1]、心血管系统^[2]以及能量代谢系统^[3]等。其中,在对心血管系统的调控中,MT可以通过清除自由基、降低血压、抑制胆固醇合成、改善内皮功能、调控血压等多个方面提高心血管系统机能,防止动脉粥样硬化、高血压等多种心血管疾病^[4-6]。目前,已有研究表明,MT可以通过其受体作用,介导内皮细胞调节一氧化氮释放,引起血管收缩^[7]或舒张^[8],同时,还可以以非受体方式降低血压^[9-10]。MT受体分为核受体和膜受体两种,其中,介导血管舒缩活动的主要是膜受体的两种亚型MT1和MT2,二者已经被鉴定均是G蛋白耦联受体^[11]。血管舒缩活动除了受内皮影响之外,平滑肌细胞也起到了至关重要的作用,其中,大电导钙激活钾通道(large-conductance calcium-activated potassium channels, BK_{Ca})的激活是平滑肌舒张过程中重要的环节之一。平滑肌细胞去极化收缩时,膜上的Ca²⁺通道开放, Ca²⁺内流引起胞内Ca²⁺浓度升高,激活BK_{Ca}通道,引起细胞膜超级化从而使平滑肌细胞舒张^[12]。最新研究表明,MT是一种脂溶性物质,可以通过简单扩散的方式在几秒内快速进入或离开细胞^[13]。因此,MT是否可以不通过受体激活的信号通路而直接作用于BK_{Ca}通道,调节血管的舒缩活动,目前尚未有定论。本研究旨在探讨MT在诱导血管舒张过程中对BK_{Ca}通道的作用机制,进一步了解MT在调控血压中发挥的作用,为动脉粥样硬化、高血压等心血管疾病的防治提供新的理论依据。

1 材料和方法

1.1 实验动物

8周龄雄性Wistar大鼠,体重200±20 g,由北京维通利华实验动物技术有限公司提供。分笼饲养,自由饮食饮水,温度控制在24℃左右,以国家标准啮齿类动物常规饲料喂养。

1.2 药品和试剂

MT、去甲肾上腺素(norepinephrine, NE)、2-苯基-N-乙酰色胺(luzindole, Luz)、iberiotoxin(IbTX)、L-NAME、牛血清白蛋白、DDT、胶原酶F、胶原酶I-S、EGTA、HEPES购自Sigma公司,木瓜蛋白酶购自Worthington Biochemical公司,其余均为国产试剂。

1.3 离体微血管张力测定

大鼠腹腔注射戊巴比妥钠(100 mg/kg)麻醉,开腹腔取肠系膜动脉,置于冰Krebs缓冲液中,去除

脂肪组织,取第2~3级肠系膜动脉,剪成2 mm血管环,用钨丝固定于DMT(Danish Myo Technology公司,丹麦)浴槽中,分别与调节标尺和张力学换器相连,调节基础张力在1 mN左右,平衡10 min。Krebs缓冲液成分:NaCl 132 mmol/L, KCl 5 mmol/L, NaH₂PO₄ 1.2 mmol/L, MgCl₂ 1.2 mmol/L, CaCl₂ 2.5 mmol/L,葡萄糖 11.2 mmol/L, NaHCO₃ 13.5 mmol/L和EDTA 0.025 mmol/L。

待张力稳定后,用60 mmol/L KCl预收缩血管,用以评定血管活性,并以此作为100%最大收缩张力。加入一氧化氮合酶(eNOS)抑制剂N ω -硝基-L-精氨酸甲酯(L-NAME, 100 μ mol/L),之后分为三组:(1)用NE(10⁻⁵ mol/L)预收缩血管达到平台后,按浓度梯度加入MT(10⁻⁷~10⁻³ mol/L)。(2)加入BK_{Ca}通道阻断剂IbTX(10⁻⁸ mol/L)后,再用NE(10⁻⁵ mol/L)预收缩血管达到平台后,按浓度梯度加入MT(10⁻⁷~10⁻³ mol/L)。(3)加入MT1/MT2受体阻断剂Luz(2 \times 10⁻⁶ mol/L)后,再用NE(10⁻⁵ mol/L)预收缩血管达到平台后,按浓度梯度加入MT(10⁻⁷~10⁻³ mol/L)。

1.4 肠系膜动脉平滑肌细胞分离

大鼠麻醉后取肠系膜动脉,置于不含Ca²⁺的冰生理盐水缓冲液I(PSS I)中,剥离脂肪组织,取第2~3级肠系膜动脉,剪成0.5~1 mm的组织片,静置10 min,转移至含有木瓜蛋白酶(Papain, 0.3 g/L)、牛血清白蛋白(BSA, 1 g/L)和DDT(dithiothreitol, 1 g/L)的PSS I中,于37℃消化30 min,然后再转移至含有胶原酶TypeF(1.5 g/L)、TypeI-S(1 g/L)的PSS I中,于37℃消化20 min。然后将组织用PSS II洗涤3~4次,并用钝头胶头滴管轻轻吹打20~30次,制备成细胞悬浮液,于4℃保存备用。PSS I成分:NaCl 137 mmol/L, KCl 5.6 mmol/L, MgCl₂ 1 mmol/L, HEPES 10 mmol/L, Glucose 10 mmol/L, 硝普钠 0.03 mmol/L, NaOH调pH至7.4。PSS II成分:NaCl 137 mmol/L, KCl 5.6 mmol/L, MgCl₂ 1 mmol/L, HEPES 10 mmol/L, Glucose 10 mmol/L, Na₂HPO₄ 0.2 mmol/L, NaH₂PO₄ 0.4 mmol/L(通99.9% O₂ 40 min), NaOH调pH至7.3~7.4。

1.5 BK_{Ca}通道电流记录

将细胞悬浮液置于浴槽中,静置贴壁15 min。记录电极(BF150-86-10, Sutter Instrument, USA; ID: 0.86 mm, OD: 1.50 mm)采用垂直拉制仪(PC10, Narishige, Japan)进行两步拉制,并用抛光仪(MF-830, Narishige, Japan)进行抛光,充满溶液

时电阻为 10~15 M Ω 。

实验分别采用膜片钳贴附式和内面向外模式进行单通道记录。电极内灌入电极内液,置于电极夹持器上,给予一定正压后,入液。当电极贴到细胞表面时,给予负压,电流下降为一条直线时,即形成高阻封接,此时可进行膜片钳贴附式记录。在内面向外模式中,还需将电极轻轻提起,暴露在空气中数秒后再入液,此时可进行膜片钳内面向外记录。使用 Axon700B 放大器放大电流,以 10 kHz 采样,并用 8 极 Bessel 滤波器以 2 kHz 进行滤波。

在贴附式和内面向外膜片钳记录模式中,细胞内外液均为对称性高 K⁺(145 mmol/L)溶液。浴液成分为 KCl 45 mmol/L, K-Asp 100 mmol/L, EGTA 1 mmol/L, HEPES 10 mmol/L, Glucose 5 mmol/L, KOH 调 pH 至 7.4。加入 CaCl₂ 以控制浴液中的游离 Ca²⁺ 浓度,通过 WinMAXC 软件(Chris Patton, Stanford University)计算。电极内液成分为 KCl 100 mmol/L, K-Asp 45 mmol/L, EGTA 1 mmol/L, HEPES 10 mmol/L, Glucose 5 mmol/L, KOH 调 pH 至 7.4。

1.6 统计学处理方法

统计数据采用 $\bar{x}\pm s$ 表示,应用 SPSS 18.0 统计软

件、Clampfit10.0、GraphPad Prism 进行数据处理和统计分析。统计方法采用单因素方差分析,然后进行多重比较的 Tukey 事后检验或配对 *t* 检验,显著性水平 $P<0.05$ 时,结果具有统计学意义。

2 结果

2.1 MT 对肠系膜动脉血管反应性的影响

在对照组中,加入 L-NAME(100 μ mol/L)后,以 NE(10^{-5} mol/L)激动血管收缩达到最大后,MT(10^{-7} ~ 10^{-3} mol/L)可引起血管呈浓度依赖性舒张;在 NE 之前加入 IbTX(10^{-8} mol/L),MT(10^{-7} ~ 10^{-3} mol/L)引起血管呈浓度依赖性舒张,与对照组相比,其舒张幅度下降显著($P<0.01$),说明在 MT 引起血管舒张过程中,BK_{Ca} 通道在其中起到了重要的作用;在 NE 之前加入 Luz(2×10^{-6} mol/L),MT(10^{-7} ~ 10^{-3} mol/L)引起血管呈浓度依赖性舒张,与对照组相比,其舒张幅度显著下降($P<0.05$),说明 MT 引起血管舒张过程中,一定程度上是通过 MT1/MT2 受体作用的(图 1)。

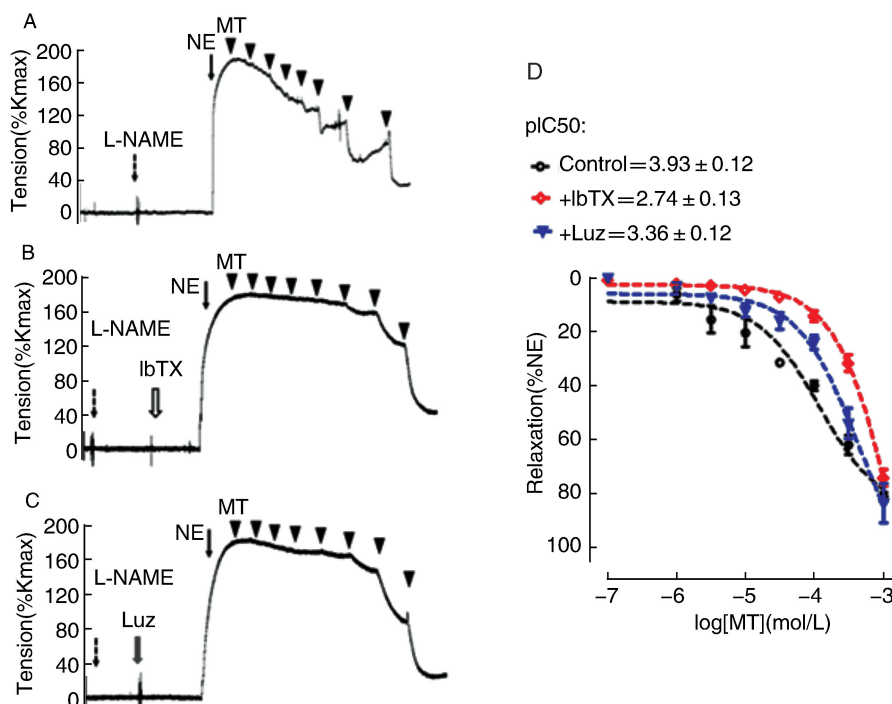


图 1. MT 对肠系膜动脉血管反应性的影响 ($n=8$) A 为加入 L-NAME 后,用 NE 激动血管收缩后按浓度递增给予 MT 后测得的张力实测图;B 为加入 L-NAME 后,再加入 IbTX,用 NE 激动血管收缩后按浓度递增给予 MT 后测得的张力实测图;C 为加入 L-NAME 后,再加入 Luz,用 NE 激动血管收缩后按浓度递增给予 MT 后测得的张力实测图;D 为不同药物作用下,NE 激动后肠系膜动脉对 MT 的舒张反应曲线统计图,纵坐标 relaxation(%NE)代表以 NE(10^{-5} mol/L)为 100%最大反应,pIC50 代表达到 50%抑制效果时,药物的平均有效浓度的负对数,表示血管对药物的敏感程度。

Figure 1. The effect of melatonin on mesenteric artery response ($n=8$)

2.2 MT 对单通道膜片钳贴附式下 BK_{Ca} 通道的门控特性影响

与对照组(无 MT)相比,100 μmol/L MT 刺激下 BK_{Ca} 通道的电导没有显著变化,在 MT 之前加入 Luz (2×10⁻⁶ mol/L) 发现,无论是对照组(无 MT)还是 100 μmol/L MT 组, BK_{Ca} 通道的电导亦没有显著差异(表 1)。说明无论是 MT 还是 Luz 对 BK_{Ca} 通道的电导均没有显著影响。

与对照组(无 MT)相比,100 μmol/L MT 刺激下 BK_{Ca} 通道的开放概率(P_o)、平均开放时间(T_o)均有显著增加(P<0.01),平均关闭时间(T_c)有显著降低(P<0.01),说明 MT 对 BK_{Ca} 通道具有激活作用。与对照组(无 MT)相比,100 μmol/L MT+Luz 组 BK_{Ca} 通道的开放概率(P_o)、平均开放时间(T_o)均有显著

增加(P<0.01),平均关闭时间(T_c)有显著降低(P<0.01);而与 100 μmol/L MT 组相比,100 μmol/L MT+Luz 组 BK_{Ca} 通道的开放概率(P_o)显著降低(P<0.01),平均关闭时间(T_c)有显著增加(P<0.01),说明 MT 在一定程度上是通过其受体作用而增加 BK_{Ca} 通道的活性(图 2)。

表 1. 贴附式模式下 MT 及其受体阻断剂 Luz 对 BK_{Ca} 通道电导的影响(pS)

Table 1. The effect of MT and its receptor blocker Luz on BK_{Ca} channel conductance in cell-attached patch clamp(pS)

MT (μmol/L)	(-) Luz (n=8)	(+) Luz (n=8)
0	270.8±24.5	268.6±25.8
100	281.2±27.8	272.3±24.7

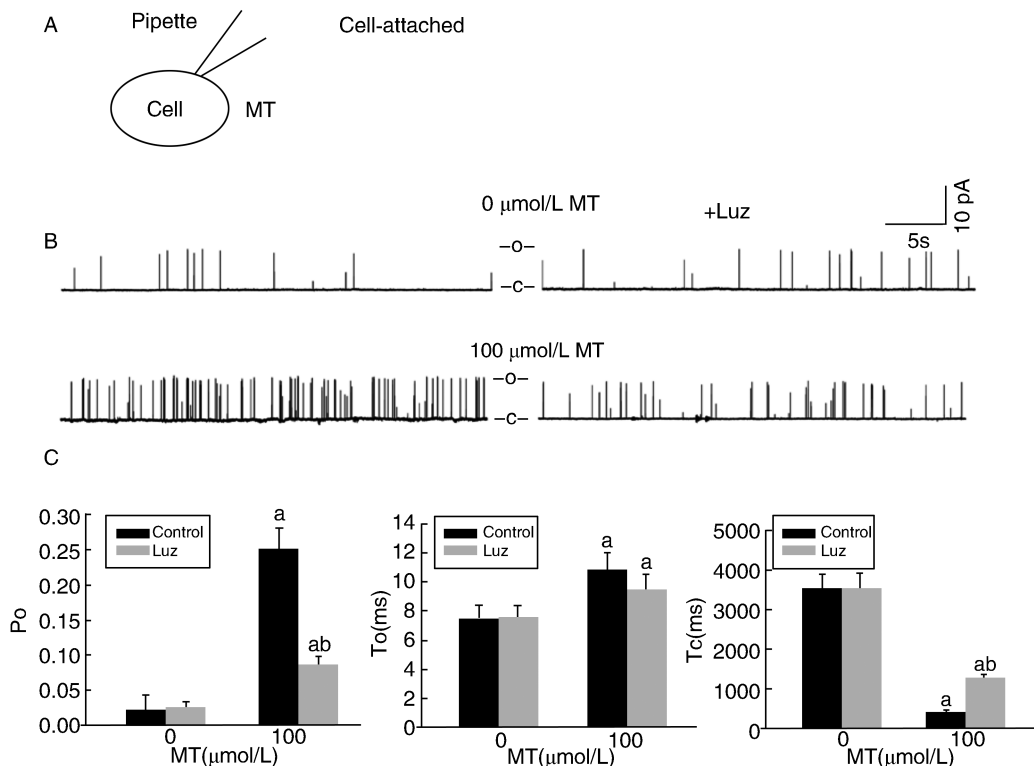


图 2. 单通道贴附式模式下 MT 和 Luz 对 BK_{Ca} 通道门控特性的影响 (n=8) A 为膜片钳贴附式记录模式示意图; B 为在对称性高 K⁺ 溶液 (145 mmol/L), [Ca²⁺]_{free} 为 0.1 μmol/L, 钳制电压为 -40 mV 的情况下, MT 和 Luz 的加入对 BK_{Ca} 通道门控特性的影响; C 为 MT 和 Luz 作用下 BK_{Ca} 通道的开放概率 (P_o)、平均开放时间 (T_o)、平均关闭时间 (T_c) 直方图。a 为 P<0.01, 与对照组(无 MT)相比; b 为 P<0.01, 与 100 μmol/L MT 组相比。

Figure 2. The effect of MT and Luz on gating characteristics of BK_{Ca} channels in cell-attached patch clamp (n=8)

2.3 MT 对单通道膜片钳内面向外模式下 BK_{Ca} 通道的门控特性影响

与对照组(无 MT)相比,100 μmol/L MT 刺激下 BK_{Ca} 通道的电导没有显著变化,开放概率 (P_o)、平均开放时间 (T_o) 显著增加 (P<0.01), 平均关闭时间

(T_c) 显著降低 (P<0.01), 说明 MT 对 BK_{Ca} 通道的电导均没有显著影响, 但是对 BK_{Ca} 通道的活性具有显著影响, 可以不通过受体介导的信号通路而直接作用于 BK_{Ca} 通道, 使 BK_{Ca} 通道活性增加 (图 3)。

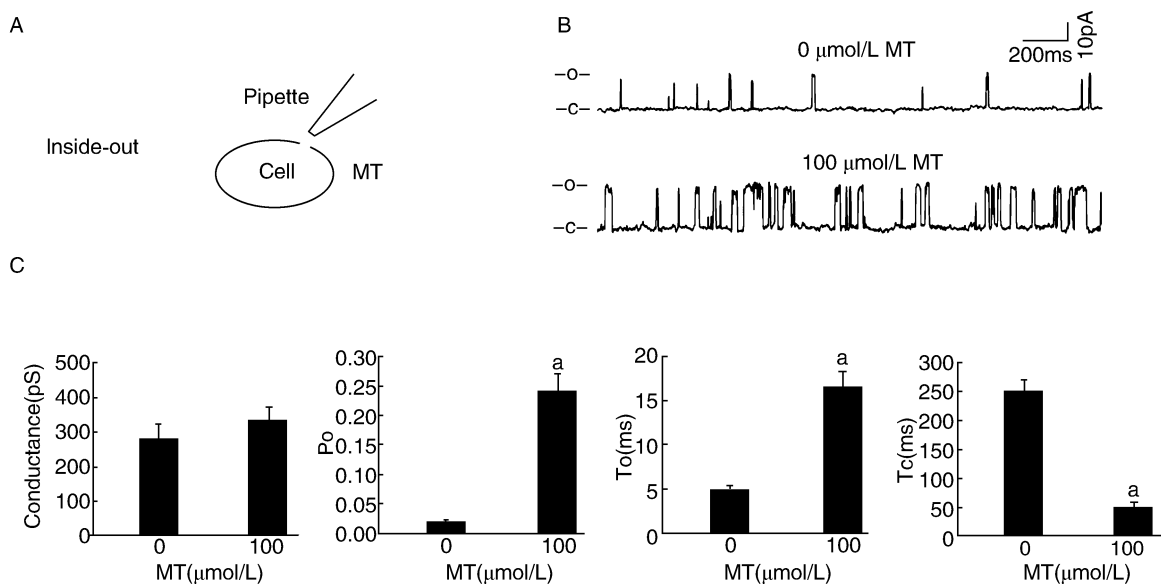


图 3. 单通道内面向外模式下 MT 对 BK_{Ca} 通道门控特性的影响 ($n=8$) A 为膜片钳内面向外记录模式示意图; B 为在对称性高 K⁺ 溶液 (145 mmol/L)、[Ca²⁺]_{free} 为 0.1 μmol/L、钳制电压为 -40 mV 的情况下, MT (100 μmol/L) 对 BK_{Ca} 通道电流的影响; C 为 MT 作用下 BK_{Ca} 通道的电导、开放概率 (P_o)、平均开放时间 (T_o)、平均关闭时间 (T_c) 直方图。a 为 $P<0.01$, 与对照组 (无 MT) 相比。

Figure 3. The effect of MT on gating characteristics of BK_{Ca} channels in inside-out patch clamp ($n=8$)

3 讨论

褪黑素 (MT) 是由松果体分泌的一种能调控多种生理机能的吲哚类激素。已有研究表明, MT 可以通过结合受体 MT1/MT2, 激活相关信号通路, 调控血管的舒缩活动。本研究最新发现, MT 还可以不经过受体激活的信号通路, 直接作用于 BK_{Ca} 通道, 引起平滑肌细胞舒张, 进而使血管舒张。

本研究显示, 抑制 eNOS 后, MT 可以引起 NE 激动的肠系膜动脉呈浓度依赖性舒张, 加入 Luz 后, MT 引起的肠系膜动脉浓度依赖性舒张幅度显著下降, 浓度剂量曲线右移, 说明 MT 可以诱导肠系膜动脉平滑肌细胞舒张, 且这种诱导作用一定程度上是通过 MT 受体作用的。此外, 在 NE 激动肠系膜动脉血管收缩之前, 加入 IbTX, MT 引起的血管舒张幅度与对照组相比显著下降, 且与 +Luz 组相比也呈显著下降趋势, 浓度剂量曲线在三组中位于最右侧, 这说明在 MT 诱导的肠系膜动脉平滑肌细胞舒张过程中, BK_{Ca} 通道在其中起到了重要的作用, 同时发现, MT 通过 BK_{Ca} 通道诱导肠系膜动脉平滑肌细胞舒张并不完全是通过受体介导的。综合过去的研究, Weekley 等人^[14-15] 在对 SD 大鼠主动脉、乳牛的肺动脉的研究中发现, MT 可以引起 30 mmol/L KCl 激动的动脉血管呈浓度依赖性舒张, 这与本研究结果一致。同样, Ting 等^[16] 人的研究也发现, 高浓度 MT

可以引起血栓素激动的猪冠状动脉、肺动脉或结肠边缘动脉收缩幅度下降。然而, Geary 等^[17] 人在对大鼠尾动脉的研究中却发现, 100 nmol/L 的 MT 可以增强 NE 激动的尾动脉收缩, 并且在 BK_{Ca} 通道开放剂 NS1619 存在的情况下, 100 nmol/L MT 可以显著抑制 BK_{Ca} 通道活性。Geary 等^[18] 人在对大鼠的脑动脉进行离体血管压力直径检测中发现, MT 以浓度依赖的方式减小脑动脉管腔直径, 并且这种效应可被 Luz 所抑制。Doolen 等人^[19] 在对大鼠的尾动脉研究中发现, MT 的两种受体 MT1 和 MT2 介导的作用并不相同。MT 与 MT1 结合, 可抑制 cAMP 和 PKA 水平, 从而抑制 BK_{Ca} 通道的激活, 引起血管收缩反应; MT 与 MT2 结合, 可诱导磷脂酰肌醇-4,5-二磷酸水解, 产生三磷酸肌醇和二酰基甘油, 使胞内钙增多, 从而激活 BK_{Ca} 通道, 引起血管舒张反应^[20]。因此, MT 引起不同的血管产生相反反应的原因可能是激活了不同的受体导致的。

为了进一步验证这一发现, 本研究进行了单通道膜片钳实验。在贴附式中发现, 加入 100 μmol/L MT 后, 与对照组 (无 MT) 相比, BK_{Ca} 通道的开放概率和平均开放时间显著增加, 平均关闭时间显著下降, 说明 MT 可以显著增加 BK_{Ca} 通道的活性。而在对照 + Luz 组, 与对照组相比, BK_{Ca} 通道的开放概率、平均开放时间和平均关闭时间均无显著变化, 说明 MT 受体阻断剂 Luz 对 BK_{Ca} 通道的活性没有影响。

与 MT 组相比, MT+Luz 组的开放概率显著降低, 平均关闭时间显著增加, 说明 MT 对 BK_{Ca} 通道的激活作用在一定程度上是通过其受体 MT1 或 MT2 作用的。而与对照组相比, MT+Luz 组的开放概率、平均开放时间显著增加, 平均关闭时间显著降低, 说明 Luz 并没有完全抑制 MT 对 BK_{Ca} 通道的激活作用, 除受体介导的信号通路之外, MT 可能还有其他途径激活 BK_{Ca} 通道。

有文献报道称, MT 是一种脂溶性物质, 其膜通透性非常高^[21]。Yu 等^[13]人比较了活细胞中 MT 和 5-羟色胺(5-HT)的质膜通透性, 利用吲哚胺的光学吸收、荧光和氧化能力以及相似模型化合物的脂质溶解度和已知通透性来估计渗透系数, 发现 MT 膜通透性远远高于 5-HT, 并且可以通过简单扩散的方式在几秒钟内通过细胞膜进入细胞。由此推测, MT 除了通过受体介导的信号通路激活 BK_{Ca} 通道之外, 是否可以直接对 BK_{Ca} 通道起到激活作用。为了验证以上猜想, 本研究又采用了单通道膜片钳内面向外模式记录 BK_{Ca} 通道的电流情况。与对照组(无 MT)相比, 100 μmol/L MT 可以显著增加 BK_{Ca} 通道的开放概率和平均开放时间, 显著降低 BK_{Ca} 通道的平均关闭时间, 说明 MT 可以不经受体介导的信号通路而直接激活 BK_{Ca} 通道。

综上所述, MT 可以诱导肠系膜动脉呈现浓度依赖性舒张, 其中, BK_{Ca} 通道在其中起到了至关重要的作用; MT 可以直接或者通过与其受体 MT1/MT2 结合间接激活 BK_{Ca} 通道, 引起血管舒张, 降低高血压、动脉粥样硬化等心血管疾病的发病风险。

[参考文献]

- [1] Peled N, Shorer Z, Peled E, et al. Melatonin's effect on seizures in children with severe neurologic deficit disorders [J]. *Epilepsia*, 2001, 42(9): 1 208-210.
- [2] Vazan R, Beder I, Syk J. Melatonin and the heart[J]. *Cesk Fysiol*, 2004, 53(1): 29-33.
- [3] Agil A, Navarro-Alarcon M, Ruiz R, et al. Beneficial effects of melatonin on obesity and lipid profile in young Zucker diabetic fatty rats [J]. *J Pineal Res*, 2011, 50(2): 207-212.
- [4] 周玉成. 褪黑素与动脉粥样硬化[J]. *国外医学.老年医学分册*, 2006, 27(1): 9-12.
- [5] Tain YL, Hsieh CS, Lin IC, et al. Effects of maternal L-citrulline supplementation on renal function and blood pressure in offspring exposed to maternal caloric restriction; the impact of nitric oxide pathway[J]. *Nitric Oxide*, 2010, 23(1): 34-41.
- [6] Tain YL, Lee WC, Hsu CN, et al. Asymmetric dimethylarginine is associated with developmental programming of adult kidney disease and hypertension in offspring of streptozotocintreated mothers [J]. *PLoS ONE*, 2013, 8(2): e55420.
- [7] Weekley LB. Effects of melatonin on pulmonary and coronary vessels are exerted through perivascular nerves[J]. *Clin Auton*, 1993, 3(1): 45-47.
- [8] Anwar MM, Meki AR, Rahma HH. Inhibitory effects of melatonin on vascular reactivity: possible role of vasoactive mediators[J]. *Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol*, 2001, 130(3): 357-367.
- [9] Tan DX, Hardeland R, Manchester LC, et al. Cyclic-3-hydroxymelatonin (C3HOM), a potent antioxidant, scavenges free radicals and suppresses oxidative reactions[J]. *Curr Med Chem*, 2014, 21(13): 1 557-565.
- [10] Tan DX, Manchester LC, Burkhardt S, et al. N1-acetyl-N2-formyl-5-methoxykynuramine, a biogenic amine and melatonin metabolite, functions as a potent antioxidant[J]. *FASEB J*, 2001, 15(12): 2 294-296.
- [11] Dubocovich ML. Melatonin receptors: are there multiple subtypes [J]? *Trends Pharmacol Sci*, 1995, 16(2): 50-56.
- [12] Shimizu S, Yokoshiki H, Sperelakis N, et al. Role of voltage-dependent and Ca²⁺-activated K⁺ channels on the regulation of isometric force in porcine coronary artery[J]. *J Vasc Res*, 2000, 37(1): 16-25.
- [13] Yu H, Dickson EJ, Jung SR, et al. High membrane permeability for melatonin[J]. *J Gen Physiol*, 2016, 147(1): 63-76.
- [14] Weekley LB. Influence of melatonin on bovine pulmonary vascular and bronchial airway smooth muscle tone [J]. *Clin Auton Res*, 1995, 5(1): 53-56.
- [15] Weekley LB. Melatonin-induced relaxation of rat aorta: interaction with adrenergic agonists[J]. *J Pineal Res*, 1991, 11(1): 28-34.
- [16] Ting N, Thambyraja A, Sugden D, et al. Pharmacological studies on the inhibitory action of melatonin and putative melatonin analogues on porcine vascular smooth muscle[J]. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol*, 2000, 361(3): 327-333.
- [17] Geary GG, Duckles SP, Krause DN. Effect of melatonin in the rat tail artery: role of K⁺ channels and endothelial factors [J]. *Br J Pharmacol*, 1998, 123(8): 1 533-540.
- [18] Geary GG, Krause DN, Duckles SP. Melatonin directly constricts rat cerebral arteries through modulation of potassium channels[J]. *Am J Physiol*, 1997, 273(2): 1 530-536.
- [19] Doolen S, Krause DN, Dubocovich ML, et al. Melatonin mediates two distinct responses in vascular smooth muscle[J]. *Eur J Pharmacol*, 1998, 345(1): 67-69.
- [20] Paulis L, Simko F. Blood pressure modulation and cardiovascular protection by melatonin: potential mechanisms behind[J]. *Physiol Res*, 2007, 56(6): 671-684.
- [21] Simonneau V, Ribelayga C. Generation of the melatonin endocrine message in mammals: a review of the complex regulation of melatonin synthesis by norepinephrine, peptides, and other pineal transmitters[J]. *Pharmacol Rev*, 2003, 55(2): 325-395.

(此文编辑 许雪梅)