

DOI: 10.13288/j.11-2166/r.2015.03.017

蛋白酶激活受体 2 在“肺合大肠”生理机制中作用的实验研究

刘 声¹, 杨国旺¹, 郭霞珍², 刘晓燕², 王笑民^{*}

(1. 首都医科大学附属北京中医医院, 北京市东城区美术馆后街 23 号, 100010; 2. 北京中医药大学基础医学院)

摘要 目的 探讨蛋白酶激活受体 2 (PAR-2) 在“肺合大肠”生理机制中的作用。方法 将 30 只 SD 大鼠随机分为空白对照组、肺生理性激活组、结肠生理性激活组, 每组 10 只。肺生理性激活组采用雾化吸入 1% PAR-2 激活剂反肉桂酰-亮-异亮-甘-精-亮-鸟- 酰胺] (tc-LIGRLO) 溶液建立肺生理性激活大鼠模型; 结肠生理性激活组采用结肠内灌入 1% tc-LIGRLO 溶液建立结肠生理性激活大鼠模型。观察各组大鼠肺与结肠功能、肺与结肠迷走神经放电活动、支气管与结肠平滑肌张力及收缩频率。结果 肺生理性激活组碳末推进率、结肠平滑肌张力及收缩频率较空白对照组明显增高, 激活后 10 min 时迷走神经放电活动较激活前降低 ($P < 0.05$)。结肠生理性激活组气道阻力和肺动态顺应性较空白对照组明显改善, 支气管平滑肌张力及收缩频率明显下降, 激活后 10、15 min 迷走神经放电较激活前升高 ($P < 0.05$)。结论 通过刺激支气管或结肠 PAR-2, 可使相合脏腑的功能发生改善, 说明 PAR-2 可能在“肺合大肠”生理机制中起着维持肺与结肠气机通降功能的作用。

关键词 蛋白酶激活受体 2; 肺合大肠; 迷走神经; 平滑肌张力

“肺合大肠”是指肺与大肠之间的相互关联和影响, 肺具有肃清的功能, 大肠具有传导糟粕的功能, 二者均反映了金气沉降之性。同时, 肺与大肠在生理上相互影响, 肺气肃降有助于大肠通降功能的正常发挥, 而大肠传导正常, 腑气通畅, 亦有助于维持肺的肃降功能。肺与大肠气机正常通降, 是维持肺与大肠正常功能及其关联的重要一环。本研究通过观察肺与结肠蛋白酶激活受体 2 (PAR-2) 生理性激活对肺与结肠平滑肌功能、迷走神经反馈调节及肺与结肠功能的影响, 探讨“肺合大肠”的内在机制。

1 材料

1.1 实验动物

雄性 SD 大鼠 30 只, 体重 (180 ± 20) g, 清洁级, 购自北京维通利华实验动物技术有限公司, 实验动物许可证号: SCKX (京) 2008-0001。

1.2 主要试剂

PAR-2 激活剂反肉桂酰-亮-异亮-甘-精-亮-鸟-

酰胺] (tc-LIGRLO) 购于美联 (西安) 生物科技有限公司, 货号: G021158; 乌拉坦购于山东齐鲁兴华制药有限公司, 批号: H37022259。

1.3 主要仪器

ACS-3C 天平 (广州中山市新和基科技发展有限公司)、WH-203 超声雾化器 (广州粤华医疗器械有限公司)、双极引导电极及支架及 SMUP-PC 生物信号处理系统 (上海医科大学生理教研室研制)、张力换能器 (北京众实迪科技发展有限公司)、小动物肺功能仪 (千任医疗系沪上专业医疗器械公司)。

2 方法

2.1 动物分组及模型制备

将 30 只 SD 大鼠采用随机数字表法分为空白对照组、肺生理性激活组、结肠生理性激活组, 每组 10 只。造模方法参照文献 [1-2], 用生理盐水将 tc-LIGRLO 配制成 1% 溶液, 大鼠雾化吸入 1% tc-LIGRLO 2 h 制备成 PAR-2 肺生理性激活动物模型; 大鼠结肠内灌入 1% tc-LIGRLO 溶液 4 ml, 保留 30 min, 制备成 PAR-2 结肠生理性激活动物模型。

基金项目: 国家自然科学基金 (81273614)

* 通讯作者: ntxm@sina.com, 13051272736

2.2 检测大鼠肺与结肠功能

肺功能检测: 用 25% 乌拉坦(4 ml/kg) 腹腔注射麻醉, 切开颈部皮肤, 机械钝性分离皮下组织并暴露气管, 在环状软骨下切倒“T”型切口, 进行气管插管。用小动物肺功能仪检测大鼠潮气量、气流速度和跨肺压, 然后换算成气道阻力和肺顺应性^[9]。

结肠功能检测: 采用碳末推进率试验, 在大鼠麻醉后, 在腹中线切口取出部分盲肠, 从回盲部注入碳末, 把盲肠轻轻送回腹腔, 1h 后处死大鼠, 剪取结肠, 将结肠拉成直线, 测量肠管长度为结肠全长, 从回盲部至碳末前沿为碳末推进长度, 计算碳末推进率 = 碳末推进长度/结肠全长 × 100%。

2.3 检测迷走神经放电活动

参照文献 [4], 在喉头与胸骨间沿颈正中线切开, 找到左侧颈动脉鞘后, 分离出迷走神经左肺丛, 检测肺迷走神经放电活动; 同时上腹部正中线切口, 在上腹部食道根部分离出膈下迷走神经腹腔支, 检测结肠的迷走神经放电活动。以丝线在中间结扎, 以两组双极铂电极分别与迷走神经近中枢端和远端相接触, 记录各组大鼠激活前 (0 min) 及激活后 5、10、15 min 放电信号。

2.4 检测平滑肌张力

取出支气管和结肠用台氏液将管道内容物冲洗干净, 将支气管和结肠剪成 1.5 ~ 2 cm 小段。管道一端用线结扎, 另一端挂在标本钩上, 放入浴槽中, 接张力换能器, 检测平滑肌张力^[9]。

2.5 统计学方法

采用 SPSS 11.5 统计软件进行数据分析, 计量资料采用($\bar{x} \pm s$) 表示, 组间比较用单因素方差检验。

3 结果

3.1 各组大鼠支气管与结肠平滑肌张力比较

表 1 示, 与空白对照组比较, 肺生理性激活组

结肠平滑肌张力与收缩频率均明显增高 ($P < 0.05$); 表 2 示, 与空白对照组比较, 结肠生理性激活组支气管平滑肌张力与收缩频率均明显下降 ($P < 0.05$)。

表 1 肺生理性激活组大鼠结肠平滑肌张力与收缩频率与空白对照组比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	张力 (g)	收缩频率 (次/min)
空白对照组	10	2.37 ± 0.25	3.50 ± 0.15
肺生理性激活组	10	3.27 ± 0.13*	5.30 ± 2.24*

注: 与空白对照组比较, * $P < 0.05$

表 2 结肠生理性激活组大鼠支气管平滑肌张力与收缩频率比较

组别	鼠数	张力 (g)	收缩频率 (次/min)
空白对照组	10	3.47 ± 0.22	2.41 ± 0.14
结肠生理性激活组	10	2.31 ± 0.20*	1.71 ± 0.04*

注: 与空白对照组比较, * $P < 0.05$

3.2 各组大鼠肺与结肠功能比较

表 3 示, 与空白对照组比较, 肺生理性激活组碳末推进率明显增高 ($P < 0.05$), 结肠生理性激活组气道阻力和肺动态顺应性明显降低 ($P < 0.05$)。

3.3 各组大鼠肺与结肠迷走神经放电活动比较

表 4 示, 结肠生理性激活组迷走神经肺丛放电活动在各时间点持续增高, 在 10、15 min 时与 0 min 比较差异具有统计学意义 ($P < 0.05$); 肺生理性激活组迷走神经腹腔支放电活动, 在 10 min 时与 0 min 比较差异具有统计学意义 ($P < 0.05$)。

4 讨论

蛋白酶激活受体 (PARs) 属于 G 蛋白偶联受体家族成员, 它可通过介导细胞外信号调节激酶信号转导通路, 引起细胞核反应, 激活多种细胞转录

表 3 各组大鼠肺与结肠功能比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	碳末推进率 (%)	气道阻力 [cmH ₂ O / (L · s)]	肺动态顺应性 (ml/cmH ₂ O)
空白对照组	10	55.37 ± 3.25	2.68 ± 0.26	0.395 ± 0.01
肺生理性激活组	10	70.27 ± 8.13*		
结肠生理性激活组	10		2.33 ± 0.11*	0.283 ± 0.02*

注: 与空白对照组比较, * $P < 0.05$

表 4 肺生理性激活组和结肠生理性激活组大鼠各时间点迷走神经放电活动比较 (次/s, $\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	0 min	5 min	10 min	15 min
肺生理性激活组	10	30.9 ± 2.3	28.3 ± 2.0	25.7 ± 3.0*	30.3 ± 2.2
结肠生理性激活组	10	30.3 ± 2.6	31.5 ± 3.3	40.6 ± 3.9*	48.6 ± 3.9*

注: 与本组 0 min 比较, * $P < 0.05$

因子。体内几乎所有细胞都有不同类型 PARs 的存在与表达,其生理功能非常广泛,其中 PAR-2 遍布于胃肠道和呼吸道表面,激活后直接影响呼吸道和肠道动力,主要效应是引起平滑肌收缩,PAR-2 生理性激活后结肠平滑肌张力增强,肠推进率明显增高;但呼吸道平滑肌与之相反,呈现舒张反应,这可能因迷走神经反馈机制参与其中;而肺 PAR-2 生理性激活后,迷走神经放电活动未发生明显改变或有下降趋势,因此引起肠道蠕动适度增强^[4]。

本实验结果显示,通过激活 PAR-2,肺生理性激活组碳末推进率、结肠平滑肌张力与收缩频率明显增高,迷走神经腹腔支放电活动改变不明显;结肠生理性激活组气道阻力和肺动态顺应性明显改善,支气管平滑肌张力与收缩频率均明显下降,迷走神经肺丛放电活动在各时间点持续增高。可见,通过刺激呼吸道或大肠表面的 PAR-2,可以使相合脏或相合腑的功能发生向好的改变,加强了肺与大肠的联系。因此,PAR-2 在维持肺与大肠气机的正常“通降”上发挥着重要作用,成为维持肺与大肠

肠相互关联的重要一环。

参考文献

- [1] Shinto K, Tsoumada S, Shiozawa Z. Decreased sympathetic out-flow to muscles in patients with cervical spondylosis [J]. Acta Neurol Scand, 1997, 96(4): 241-246.
- [2] Su X, Camerer E, Hamilton JR, et al. Protease-activated receptor-2 activation induces acute lung inflammation by neuropeptide-dependent mechanisms [J]. J Immune, 2005, 175(4): 2598-2605.
- [3] 管彩虹, 刘进. 冬虫夏草对 COPD 模型大鼠肺功能及 Th1/Th2 的影响 [J]. 浙江中西医结合杂志, 2008, 6(18): 334-337.
- [4] 路秀英, 杨贵贞. 膈下迷走神经切断降低 LPS 所致大鼠发热及室旁核神经元放电频率 [J]. 中国应用生理学杂志, 2002, 4(17): 337-339.
- [5] 马燕梅, 徐冰琦, 王飞健. 丁酸钠对兔离体回肠运动的影响 [J]. 福建畜牧兽医, 2009, 31(6): 1-3.
- [6] Cullen JJ, Doty RC, Ephgrave KS, et al. Changes in intestinal transit and absorption during endotoxemia are dose dependent [J]. J Surg Res, 1999, 81(1): 81-86.

Experimental Study on the Activity of Protease-Activated Receptor 2 in the Physiological Mechanism of Lung being Related to Large Intestine Theory

LIU Sheng¹, YANG Guowang¹, GUO Xiazhen², LIU Xiaoyan², WANG Xiaomin¹

(1. Beijing Hospital of Traditional Chinese Medicine, Capital Medical University, Beijing, 100010; 2. School of Preclinical Medicine, Beijing University of Chinese Medicine)

ABSTRACT Objective To study the activity of protease-activated receptor 2 (PAR-2) in the physiological mechanism of lung being related to large intestine theory. **Methods** Totally 30 SD rats were randomly assigned to control group, pulmonary physiological activation (PPA) group, colon physiological activation (CPA) group, 10 rats in each. The PPA group inhaled PAR-2 activator, 1% trans-cinnamoyl-Leu-Ile-Gly-Arg-Leu-Orn- [amide] (tc-LIGRLO) solution to make PPA rat models; the CPA group were used 1% tc-LIGRLO solution by colon administration to make CPA rat models. The pulmonary and colon functions, firing activity of vagus nerve, muscular tension and contraction frequency of the bronchus and colonic smooth muscle were observed. **Results** The carbon particle propelling rate, muscular tension and contraction frequency of the colonic smooth muscle in the PPA group was significantly higher than the control group, while the firing activity of vagus nerve reduced 10 min after activation ($P < 0.05$). The airway resistance and lung dynamic compliance of the CPA group was better than the control group, with the muscular tension and contraction frequency of the bronchial smooth muscle declining and the firing activity of vagus nerve ascending 10 min and 15 min after activation ($P < 0.05$). **Conclusion** By stimulating PAR-2 on the bronchus or colon, the function of organs related to one another could be improved, which indicated that PAR-2 may act by regulating qi movements of the lung and large intestines in the physiological mechanisms of lung being related to large intestine theory.

Keywords protease-activated receptor 2; lung being related to large intestine theory; vagus nerve; muscular tension of smooth muscle

(收稿日期: 2013-09-13; 修回日期: 2014-04-22)

编辑: 洪 涛