基础研究 文章编号:0253-3626(2009)04-0428-04

P 物质对胃肠感觉传入功能的影响

邓丽君,李 静,陆 杰
(重庆医科大学基础医学院生理学教研室,重庆 400016)

【摘 要】目的:研究 P 物质对胃肠感觉传入冲动的影响及其机制。方法:将 40 只 SD 大鼠分成 5 组:正常对照组(NS)、SP 小剂量组(75ng/kg)、中剂量组(150 ng/kg)、大剂量组(300ng/kg)及 spantide Ⅱ+SP 组。应用电生理方法,观察各组注射前后膈下迷走神经传入自发放电以及扩胃诱发放电的变化情况。结果:SP 中、大剂量组膈下迷走神经传入自发放电均增强($P<0.05$),大剂量组扩胃诱发传入放电减少($P<0.05$);先给予 spantide Ⅱ后再给予 SP,SP 对膈下迷走神经传入自发放电和胃扩张诱发传入放电的效应均消失。结论:静脉注射 SP 对膈下迷走神经传入自发放电具有兴奋作用,并表现为剂量依赖性;SP 对扩胃诱发传入放电具有抑制作用;这些效应可能均通过神经激呔 -1 受体 NK1 受体介导产生。

【关键词】P 物质;迷走神经;神经激呔 -1 受体;胃扩张
【中国图书分类法分类号】R338;R338.8 【文献标识码】A 【收稿日期】2008-05-19

Effect of substance P on sensation afferent function of gastrointestinal tract

DENG Li-jun, et al
(*Department of Physiology, College of Basic Medicine, Chongqing Medical University*)

【Abstract】*Objective*: To study the effect of substance P on sensation afferent of gastrointestinal tract and the corresponding mechanism. *Methods*: Forty SD rats were divided into 5 groups: control group, low dosage SP group (75 ng/kg), middle dosage SP group(150ng/kg), high dosage SP group (300 ng/kg) and spantideII + SP group. The electrophysiological method was used to record the change of spontaneous and gastric distention-induced afferent discharge of subdiaphragmatic vagus nerve in each group. *Results*: Intravenous SP (150 ng/kg, 300 ng/kg) caused significantly increasing effect on the spontaneous afferent discharge ($P<0.05$), high dosage SP caused decreasing effect on the gastric distention-induced afferent discharge of subdiaphragmatic vagus nerve ($P<0.05$). Spantide Ⅱ + SP significantly inhibited the effect of SP mentioned above. *Conclusion*: SP elicits excitatory effect on the spontaneous afferent discharge, and the effect may show dose dependent on SP. SP elicits inhibitory effect on gastric- distention induced discharge of subdiaphragmatic vagus nerve. The action of exogenous SP afferent discharge of subdiaphragmatic vagus nerve is possibly mediated by NK1 receptor distributed in the stomach.

【Key words】Substance P; Vagus nerve; Neurokinin-1 receptor; Gastric distention

P 物质(Substance P,SP)是一种广泛分布于消化系统、中枢及外周神经系统的脑肠肽,参与机体多种生理功能的调控,特别对胃肠功能具有重要的调节作用。迷走神经是调节胃肠功能的主要神经。近年来国内外着重从 SP 中枢作用通过迷走神经传出路径来调节胃肠功能进行研究[1],对迷走神经传入冲动与 SP 作用之间的关系研究较少。不少研究者选择颈部迷走神经干研究迷走传入放电[2],因为手术及其记录方便,缺点是它含有的成分十分复杂,它除了传导胃肠道信息外,来自心血管、肺、气管等脏器的传入和传出冲动也混杂其中。由于膈下迷走神经主要是支配胃和小肠,所以记录膈下迷走神经放电对了解 SP 与胃肠道的神经支配之间的联系更具说服力。目前对常见的胃肠动力障碍疾病如肠易激综合征发病机制的研究,也正朝着迷走神经传入与 SP 关系展开[3]。因此,本课题主要采用电生理的方法,以观察膈下迷走神经传入自发放电和扩胃诱发放电变化情况,探讨外源性 SP 对膈下迷走神经传入冲动的影响及其作用机理。

1 材料与方法

1.1 试剂来源

Substance P 购于 Sigma 公司,spantide Ⅱ购于 Biomol 公司,它们均用生理盐水配置成需要浓度备用。

作者简介:邓丽君(1982-),女,硕士,
研究方向:神经生理学。
通讯作者:陆 杰,男,教授,E-mail: mrlujie49@163.com。

1.2 实验动物及分组

健康 Sprague-Dawley(SD)大鼠 40 只,体重 200 ~ 300 g,雌雄不拘,由重庆医科大学实验动物中心提供。实验前禁食 24 h,自由饮水。40 只大鼠分成 5 组(n=8):对照组(NS)、小剂量(75 ng/kg,SP-L)、中剂量(150 ng/kg,SP-M)、大剂量(300 ng/kg,SP-H) 组及 spantideII+SP 组。所有药物均以“弹丸”(bolus)方式注入动物体内。

1.3 实验方法

大鼠以 20%乌拉坦腹腔注射麻醉(20% Urethane,6ml/kg 体重)。颈部正中切开,气管插管,备人工呼吸用。一侧颈静脉插管输液,备注射药物用。腹部剑突下皮肤正中切口,于胃大弯膜部作切口, 将扩张用的水囊经胃大弯切口置入胃体部。实验时向水囊内注水 2 ml ~ 3 ml(0.5 ml/s)扩张胃,并维持扩张状态 20 s 作为对胃壁机械感受器的刺激。在上腹部食道根部分离出膈下迷走神经前支,并用镊子夹伤神经中枢端。用双极铂金丝电极(直径 0.3 mm,极间距 2 mm)钩上神经前支,引导膈下迷走神经的传入电活动,神经周围用温石蜡油保温并防止神经干燥。引导的电位输入 AVB—11 生物电放大器放大后,在 VC—10 型记忆示波器上显示,并用 DAB—1100 直方图仪的 Windows-discriminator 选择综合电位中的一类电位, 作脉冲计数直方图处理。将神经放电直方图用 RJG—4022 记录仪记录,BI—2000 图像分析系统计算记录到的直方图面积。

整个实验中动物肛温保持在 38℃左右,并持续监测心电。手术操作完成后,各项指标在稳定 15 min 后进行记录作为对照。

1.4 统计学处理

实验数据用均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,采用 SPSS10.0 统计软件做处理,用单向方差分析和 t 检验进行统计分析,P<0.05 为有统计学意义。

2 结 果

2.1 SP 对膈下迷走神经自发传入放电的影响

静脉注射中、大剂量的 SP 后,膈下迷走神经自发传入放电逐渐增多。中剂量组在注射后 5 min 放电开始增强(P<0.05),15 min 达到高峰,之后放电逐渐减少,30 min 仍未恢复到对照水平。大剂量组膈下迷走神经传入放电多于中剂量组,注射后即刻放电增强(P<0.05),15 min 达到最高峰,20 min 后放电减少,观察结束时未恢复到对照水平。小剂量组自发放电无显著变化。中、大剂量组传入放电均明显强于小剂量组(表 1、图 1)。

2.2 SP 对膈下迷走神经扩胃诱发传入放电的影响

本实验用扩胃时膈下迷走神经诱发传入放电的面积, 减去膈下迷走神经自发传入放电的面积,所得的放电面积的差, 来反映 SP 对扩胃诱发膈下迷走神经放电的影响。

结果显示,静脉注射大剂量 SP 后,膈下迷走神经诱发传入放电减少,于 5 min 开始降低(P<0.05),20min 达到最低,之后逐渐恢复,30 min 未恢复到对照水平。而小、中剂量组与对照相比,扩胃诱发放电无显著变化。但中剂量组在 10~30 min 出现下降的波动,没有统计学意义(表 2)。

2.3 SP 及其拮抗剂对膈下迷走神经自发传入放电的影响

静脉注射 SP 300 ng/kg 后即刻放电增强(P<0.05),15 min 达到最高峰,20 min 后放电减少, 观察结束时未恢复到对照水平。

先静脉注射 SP 的受体拮抗剂 spantide Ⅱ 300 ng/kg,5 min 后再注射 SP 300 ng/kg,由 SP 引起膈下迷走神经自发传入放电的变化不再出现,观察的 30 min 内,放电稳定,没有较大波动(图 2)。

2.4 SP 及其拮抗剂对膈下迷走神经扩胃诱发传入放电的影响

静脉注射 SP 300 ng/kg 后, 膈下迷走神经诱发传入放电减少,于 5min 开始降低(P<0.05),20 min达到最低,之后逐渐恢复,30 min 未恢复到对照水平。

静脉注射 SP 受体拮抗剂 spantide Ⅱ 300 ng/kg 5 min 后再注射 SP,观察的 30 min 内膈下迷走神经诱发传入放电比较稳定,没有明显的变化,5~20 min 时,放电略有波动,但没有统计学意义(P>0.05)(图 3)。

表 1 不同剂量 SP 对膈下迷走神经自发传入放电的影响($\bar{x} \pm s$,mm²)

组别	注药前	0 min	5 min	10 min	15 min	20 min	25 min	30 min
对照组	2 326 ± 166	2 311 ± 155	2 262 ± 189	2 326 ± 170	2 393 ± 141	2 397 ± 169	2 348 ± 184	2 371 ± 153
SP-L	2 309 ± 278	2 365 ± 166	2 447 ± 331	2 449 ± 224	2 454 ± 190	2 502 ± 201	2 532 ± 267	2 521 ± 187
SP-M	2 351 ± 202	2 520 ± 220	2 888 ± 179^{abc}	3 447 ± 313^{abc}	3 813 ± 278^{abc}	3 446 ± 305^{abc}	3 474 ± 245^{abc}	3 449 ± 204^{abc}
SP-H	2 279 ± 251	2 858 ± 367^{abcd}	3 439 ± 266^{abcd}	4 038 ± 320^{abcd}	4 316 ± 364^{abcd}	4 016 ± 337^{abcd}	3 613 ± 333^{abcd}	3 211 ± 307^{abc}

组间:a: P<0.05,与对照组比较; b: P<0.05,与 SP-L 组比较; d: P<0.05,与 SP-M 组比较;组内:c: P<0.05,与注药前比较

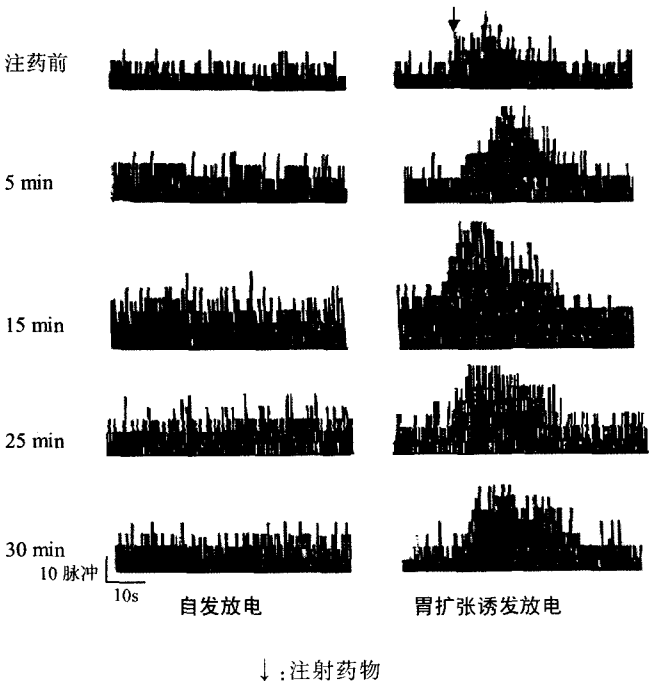


图 1 SP-H 对膈下迷走神经自发以及诱发传入放电的影响

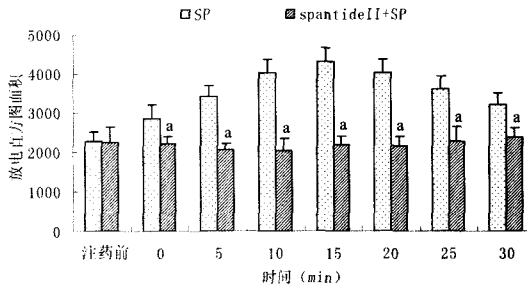
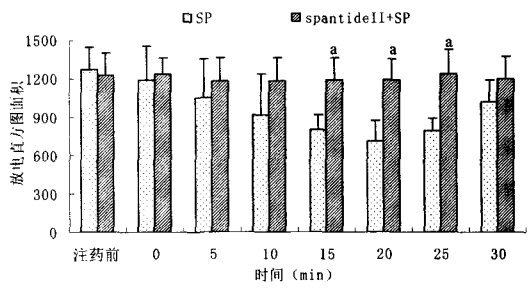


图 2 SP 及其受体拮抗剂对膈下迷走神经自发传入放电的影响（$\bar{x} \pm s$,mm²）



a: $P<0.05$，与 SP 组比较

图 3 SP 及其受体拮抗剂对膈下迷走神经诱发传入放电的影响（$\bar{x} \pm s$,mm²）

表 2 不同剂量 SP 对膈下迷走神经诱发传入放电的影响（$\bar{x} \pm s$,mm²）

组别	注药前	0 min	5 min	10 min	15 min	20 min	25 min	30 min
对照组	1 283 ± 224	1 316 ± 179	1 296 ± 305	1 243 ± 255	1 238 ± 255	1 193 ± 192	1 210 ± 273	1 219 ± 298
SP-L	1 265 ± 229	1 309 ± 376	1 277 ± 414	1 237 ± 345	1 154 ± 230	1 199 ± 307	1 246 ± 372	1 176 ± 357
SP-M	1 262 ± 248	1 298 ± 311	1 237 ± 413	1 158 ± 302	1 014 ± 291	944 ± 340	1 126 ± 217	1 135 ± 205
SP-H	1 272 ± 170	1 195 ± 259	1 054 ± 303^{c}	914 ± 322^{abc}	800 ± 114^{abc}	706 ± 165^{abc}	790 ± 105^{abcd}	1 017 ± 178^{c}

组间：a. $P<0.05$，与对照组比较；b. $P<0.05$，与 SP-L 组比较；d. $P<0.05$，与 SP-M 组比较；组间：c. $P<0.05$，与注药前比较

3 讨 论

SP 不仅是脑肠肽，也是神经肽中速激肽家族的重要成员。作为胃肠激素，它不仅存在于肠神经系统的神经元内，还有少部分存在于肠道粘膜层嗜铬细胞内。SP 在胃肠道的广泛分布，其主要的生物学效应表现为促进胃肠道平滑肌收缩，抑制胃酸、胆汁分泌，调节胃肠局部血流等。它的这些功能的发挥有赖于迷走神经的存在，胃肠感受器信号主要通过迷走神经纤维中的 75%的感觉传入纤维传到中枢神经系统，通过孤束核与脑的其他结构联系调节胃肠功能的。

我们在实验中发现，静脉注射不同剂量 SP 后，膈下迷走神经自发传入放电和扩胃诱发传入放电的变化相反，前者放电在中、大剂量呈逐渐增强，表现为剂量依赖性，中、大剂量 SP 对迷走神经自发传入放电的兴奋程度明显强于小剂量 SP，并且随着 SP 剂量的增加，放电增加出现的时间也提早，中剂量 SP 在给药后 5 min 出现明显兴奋，而大剂量 SP 在给药后即刻就出现兴奋，提示 SP 对迷走神经传入自发放电具有兴奋程度和时效的双重剂量依赖性；而后者放电仅大剂量是减弱的，表现 SP 对扩胃诱发传入放电具有抑制效应。我们的实验结果与前人的研究具有相同之处，Shachar 等[2]证实了胃扩张及胃窦收缩增强均能增加颈迷走神经干传入放电，这是没有 SP 作用时扩胃诱发放电的变化情况，这样的效应与本实验的部分结果是一致的，但他们并没记录膈下迷走神经传入放电情况，这是与本实验不同处。

SP 对胃肠运动具有增强和抑制的效应,但均需与速激肽受体结合,才能发挥各种生物学效应。速激肽受体有 3 种亚型,包括神经激肽-1 受体(NK-1R)、NK-2R 和 NK-3R。神经化学和药理学证明 NK-1R 大量位于肠肌间神经丛的硝基能神经元,还有一部分存在于胃肠道的 cajal 间质细胞(Interstitial cells of Cajal,ICC)和少数的平滑肌细胞[4-6];NK-2R 主要分布在胃肠道的平滑肌细胞;NK-3R 主要分布在神经元上。它们均能与 SP 相结合,但亲和力不同。spantide Ⅱ作为一种高选择性、高效能的 NK-1R 受体拮抗剂[7],我们实验中观察到预先使用 SP 受体拮抗剂 spantide Ⅱ后,完全阻断了 SP 的作用,膈下迷走神经自发和诱发传入放电效应均消失,提示 SP 的作用是通过 NK-1R 受体发挥的,从而推测 NK-2R、NK-3R 在 SP 作用时可能没有发挥明显效应。至于 SP 对膈下迷走神经自发传入放电的兴奋效应,其主要机制可能与迷走神经传入纤维末端的 cajal 间质细胞有关,它既是胃肠道运动的起搏细胞,也是迷走神经传入末端感受器。SP 与ICC 上的 NK-1R 结合,激活了迷走神经纤维的末端感受器,使其自发传入放电增多,表现出兴奋效应。SP 对扩胃诱发的传入放电的抑制效应,其原因可能是胃扩张时,SP 激活了肠神经元,尤其是肠肌层硝基能抑制性神经元上的 NK-1R,它通过释放 NO,使胃肠平滑肌舒张[8]。这与 Luciano 等[9]研究兔的离体结肠首次发现 NK-1R 受体介导了肠蠕动的抑制效应具有相似处。因 NK-1R 主要存在于硝基能神经元上,SP 与其结合后,表现为胃壁的舒张效应,胃壁顺应性增加,导致胃内压下降,减弱了扩胃对胃壁机械感受器的刺激效应,同时也抵消了 SP 与 ICC 上 NK-1R 结合发挥的效应,所以最终表现为 SP 对膈下迷走神经扩胃诱发传入放电的抑制作用。至于中小剂量的诱发传入放电没有显著变化,这很可能与扩胃时 SP 还不足以激活硝基能神经元上的 NK-1R,从而未表现出明显的抑制效应,因为本实验中也注入了更大剂量 SP 600 ng/kg,观察到扩胃下 SP 诱发放电的作用比SP 300 ng/kg 减低,提示这与 SP 的剂量密切相关。

本实验通过静脉注入 SP 后,观察到 SP 对膈下迷走神经自发传入放电具有兴奋效应,而对扩胃诱发传入放电具有抑制效应,这均是 SP 与 NK-1R 受体相互作用发挥的不同效应,至于 NK-2R、NK-3R 对胃肠运动的作用尚不清楚,及它们在胃肠道的定位对胃肠运动的影响都有待进一步研究。目前已证实,胃肠道疾病,如急性胰腺炎[10]、消化性溃疡、肠易激综合征等不同程度伴有 SP 含量和合成的改变,表明 SP 在它们的发病机理中都具有重要作用,故推测 SP 受体拮抗剂作为治疗胃肠疾病新药具有重要的临床意义,为胃肠道疾病的诊断和治疗提供新的思路。

参 考 文 献

[1] 于 瑞,曲瑞瑶,王 伟.侧脑室注射 P 物质对大鼠胃电 - 机械活动的影响[J]. 基础医学与临床,2003,23(1):80-84.

[2] Peles S,Petersen J,Aviv R,et al. Enhancement of antral contractions and vagal afferent signaling with synchronized electrical stimulation[J]. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol,2003,285(3): 577-585.

[3] 王巍峰,杨云生,孙 刚,等.肠易激综合征大鼠 P 物质能神经通路的改变[J]. 世界华人消化杂志,2005,13(2):214-218.

[4] Lavin S T,Southwell B R,Murphy R,et al. Activation of neurokinin1 receptor on interstitial cells of Cajal of the guinea-pig small intestine by substance P[J]. Histochem Cell Biol,1998,110(3):263-271.

[5] Southwell B R,Furness J B. Immunohistochemical demonstration of the NK1 tachykinin receptor on muscle and epithelia in guinea pig intestine[J]. Gastroenterology,2001,120(5):1140-1151.

[6] Schmidt P T,Holst J J. Tachykinins in regulation of gastric motility and secretion[J]. Cell Mol Life Sci,2000,57(4):579-588.

[7] Babu R J,Kikwai L,Jaiani L T,et al. Percutaneous absorption and anti-inflammatory effect of a substance P receptor antagonist: spantide Ⅱ [J]. Pharm Res,2004,21(1):108-113.

[8] Mul è F,Amato A,Vannucchi M G,et al. Role of NK1 and NK2 receptors in mouse gastric mechanical activity[J]. Br J Pharmacol,2006,147(4): 430-436.

[9] Onori L,Aggio A,Taddei G,et al. Peristalsis regulation by tachykinin NK1 receptors in the rabbit isolated distal colon[J]. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol,2003,285(2):325-331.

[10] Ramnath R D,Bhatia M. Substance P treatment stimulates chemokine synthesis in pancreatic acinar cells via the activation of NF-kappaB [J]. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol,2006,291(6):1113-1119.

(责任编辑:冉明会)