维普资讯 http://www.cqvip.com



文章编号:0253-3626(2003)04-0417-04

# 促胰液素抑制胃扩张引起膈下迷走神经传入放电的电生理研究

陆 杰[1], 赵 瑛[2], 黄仲荪[1]

(1.重庆医科大学基础医学院生理学教研室,重庆 400046,2.重庆师范学院,重庆 400017)

【摘 要】目的:探讨促胰液素对扩胃-迷走传入放电反应的影响。方法:实验在 Wistar 大鼠上进行,记录扩张胃引起的膈下迷走传入放电的变化,观察静脉注射不同剂量促胰液素、十二指肠灌注 HCl 和静脉注射兔促胰液素抗血清后再灌注 HCl 对迷走传入放电的影响。结果:不同剂量的促胰液素(2.5,5.0 和 10pmol/kg/h)静脉注射对扩胃-迷走传入放电反应的影响不同,2.5pmol/kg/h($n=6$)没有明显作用,5.0pmol/kg/h($n=7$)对扩胃-迷走传入放电反应有明显抑制($P<0.01$),10pmol/kg/h($n=7$)出现抑制作用快而持久。但 10min 后 5.0 与 10pmol/kg/h 之间无统计学意义。十二指肠灌注 HCl 可以引起内源性促胰液素释放由此也引起胃扩张-迷走传入反应的抑制($n=8$,$P<0.01$)以 20min 后作用更明显。在观察的 35min 期间一直保持抑制效应。用兔促胰液素抗血清(titer=1:1,000,000)0.1ml iv.20~40min 后上述 HCl 的抑制效应消失($n=8$,$P<0.01$)。结论:迷走神经传入冲动在促胰液素对胃扩张的抑制中发挥了重要作用。

【关键词】促胰液素;促胰液素抗血清;迷走神经;胃扩张

【中国图书分类法分类号】R338.1 【文献标识码】A 【收稿日期】2002-12-13

# Secretin inhibits vagal afferent nerve discharge in response to gastric distension in rats

*LU Jie, et al*

(*Department of Physiology, College of Basic Medicine, Chongqing Medical University*)

【Abstract】 *Objective*: To study the effect of secretin on subdiaphragmatic vagal afferent response by gastric distension. Methods: Experiments were performed on anesthetized rats. The sensory impulses of subdiaphragmatic vagal nerve were recorded using a window discriminator. Through a midline abdominal incision, a polyethylene cannula (1.0mm ID) for duodenal infusion was inserted into the proximal duodenum 0.5mm distal to the pylorus. Another cannula was placed into jejunum 20 cm distal to the ligament of Treitz. Gastric distension was produced by injecting saline at 37℃ into a small balloon via a polyvinyl tube. *Results*: Intravenous injection of secretin in a dose of 5.0 pmol/kg/h inhibited significantly the response of afferent discharges induced by gastric distension($n=7$, $P<0.05$), while lower dose secretin (2.5pmol/kg/h iv.) failed to affect this response. The vagal afferent were further suppressed when the dose of secretin was increased to 10pmol/kg/h ($n=7$,$P<0.01$). The inhibitory effect of 10 pmol/kg/h was earlier and larger than 5.0 pmol/kg/h($P<0.05$), but no significance was demonstrated after 10 min ($P>0.05$). It showed that exogenous secretin in a dose of 5.0pmol/kg/h, in the physiological dose range, played an inhibitory effect. 0.03N HCl was infused intraduodenally at 9 ml/h for 20 min in anesthetized rats with gastric cannulas, ligation of the pylorus, respectively. 0.1 ml of a rabbit antisecretin serum (titer=1:1,000,000) was injected intravenously in a bolus 20~40min before HCl was administered. During the duodenal infusion of 0.03N HCl the gastric distension-vagal afferent responses were suppressed significantly. ($n=8$, $P<0.05$). It was reversed by antisecretin serum ($P<0.01$). *Conclusion*: These observations provide a direct electrophysiological evidence that vagal afferent pathway plays an important role in the gastric-distension inhibition by exo- & endogenous secretin.

【Key words】 Secretin; Antisecretin serum; Vagal nerve; Gastric distension

众所周知,促胰液素对胃酸分泌和胃的运动具有很强的抑制作用。有实验依据表明,迷走传入冲动在其中发挥了重要作用[1,2]。不少作者[3~5]也利用切断颈迷走神经干、辣椒素损伤迷走神经传入功能后,记录颈迷走神经干、颈结状神经节细胞的电活动证实了促胰液素与迷走传入冲动间的紧密关系。不少作者选择颈部迷走神经作为研究对象,因为手术

作者介绍:陆 杰(1949- ),男,副教授,
主要研究方向:神经生理学

基金项目:重庆市卫生局科技基金资助(99-2044)。

维普资讯 http://www.cqvip.com



及记录方便，缺点是它除了传导胃肠道信息外，也混有来自心血管、肺、气管等脏器的传入和传出冲动，即它含有的成份十分复杂。本实验选择膈下迷走神经细支作为电生理直接观察对象，研究了外源性和内源性促胰液素对扩胃－迷走传入放电反应的影响。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

促胰液素、兔促胰液素抗血清(titer = 1:1000000)抗体均由美国罗彻斯特大学医学中心消化和肝病中心惠赠，促胰液素用 20% 小牛血清白蛋白配置成 2.5pmol、5pmol、10pmol 备用。

### 1.2 方法

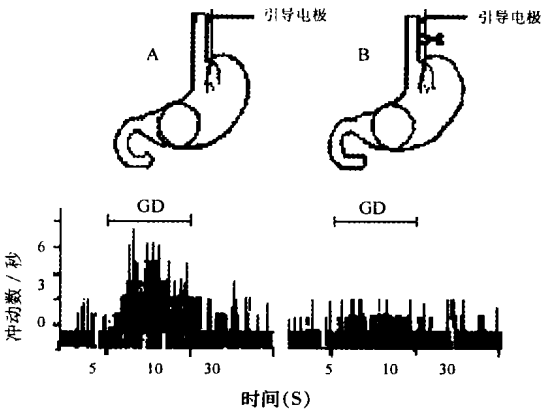
实验在 Wistar 大鼠上进行，动物重 230～330g，雌雄不拘，实验前 24～36h 禁食、供水。用氨基甲酸乙酯腹腔注射麻醉(20% Urethane 0.7ml/100g 体重)。颈部正中切开，气管插管，备人工呼吸用。一侧颈静脉插管输液，备注射药物用。腹部正中切开，胃大弯开孔，插入带有气囊的塑管，向气囊内注入温水 1.5ml 扩张胃。十二指肠上部近幽门处开口插管，按文献[4]方法和剂量灌注 0.9% NaCl 作为对照，灌注 0.03N HCl 诱发内源性促胰液素分泌，距幽门约 20cm 的空肠插入一塑管作引流用。在上腹部食道根部分离出膈下迷走神经前支，在双目显微镜下小心分离前支中小分支，并用镊子夹伤迷走神经中枢端 利用双极铂金丝电极(直径 0.3mm，极间距 2mm)钩上迷走神经细支，引导传入电活动，神经周围用温石蜡油保温防干；引导的电位输入 AVB－11 生物电放大器(Nihon Kohden, Japan, 下同)放大后在 VC－10 记忆示波器显示，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。然后将迷走神经的放电与直方图一起，用 RJG－4002 记录仪记录。必要时连续摄影记录。放电频率变化用 $\bar{x} \pm s$ 表示，结果用 $t$ 检验和方差分析进行统计学处理。

整个实验中动物肛温保持在 38℃ 左右，并持续监测心电。

## 2 结 果

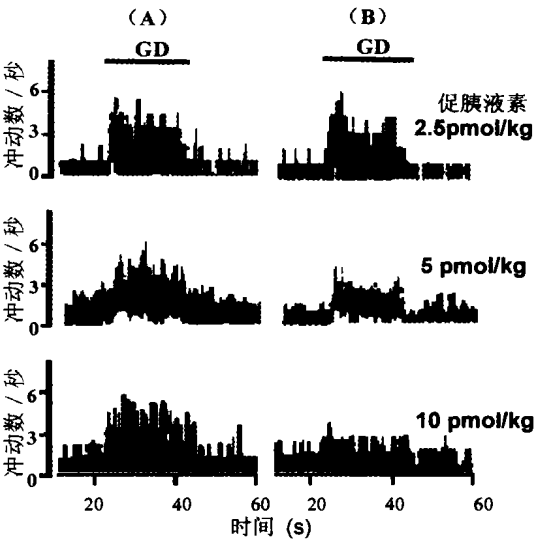
### 2.1 扩张胃对膈下迷走传入纤维电活动的影响

在未扩张胃前，可记录到膈下迷走神经传入纤维呈束状的放电活动；向气囊内注入 0.5ml 水扩张胃(GD)即可使迷走放电增多，且随注入量的增多放电增多；在注入 3ml 左右时放电幅度达最大。如果夹伤迷走神经外周端，则扩胃－迷走传入放电消失(图 1)。



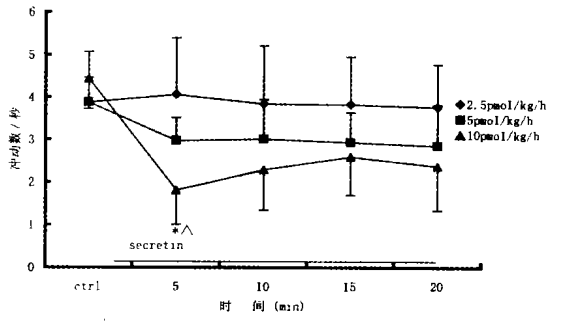

A. 对照 B. 夹伤迷走神经外周端后

**图 1 扩张胃对膈下迷走传入纤维电活动的影响**




A. 对照 B. 静脉注射促胰液素后 10min

**图 2 促胰液素对扩胃－迷走传入放电反应的影响**




$P<0.05$，同对照比 $\triangle P<0.05$，■比▲；

**图 3 促胰液素对扩胃－迷走传入放电反应的影响**

### 2.2 静脉注射促胰液素对扩胃－迷走传入放电反应的影响

不同剂量的促胰液素静脉注射后未观察到迷走传入自发放电有明显影响，而对扩胃－迷走传入放

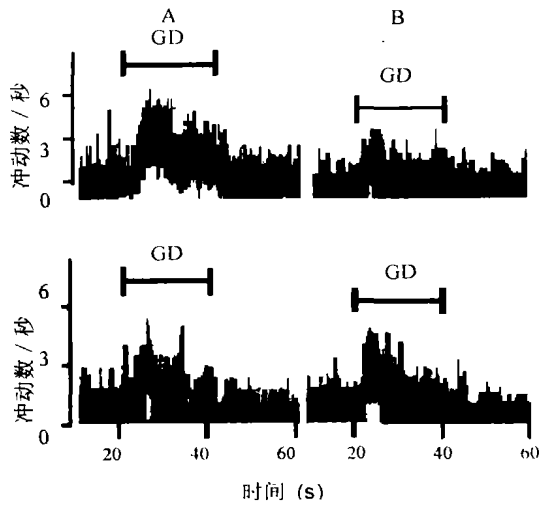
维普资讯 http://www.cqvip.com



电反应的影响则不同，2.5pmol/kg($n=6$)注入量在观察的30min内没有明显作用，5.0 pmol/kg($n=7$)剂量注射后5min即出现对扩胃－迷走传入放电反应有明显抑制($P<0.01$)，10pmol/kg($n=7$)出现抑制作用快而持久。但10min后5.0与10pmol/kg之间无统计学意义(图2、3)。

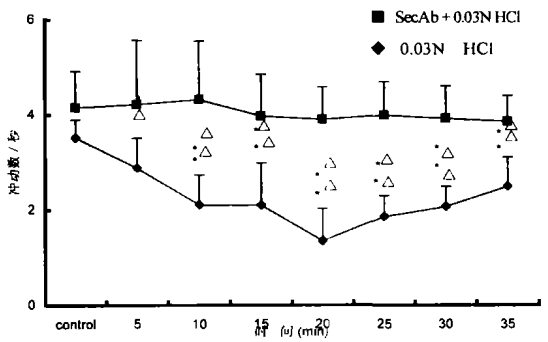
静脉注射等量20%小牛血清白蛋白在观察的30min内，扩胃－迷走传入放电反应未见明显变化。

2.3 十二指肠灌注HCl及静脉注射兔促胰液素抗血清对扩胃－迷走传入放电反应的影响




A.0.9%NaCl(id) B.0.03N HCl(上)及SecAb+0.03N HCl(下)

**图4 酸化十二指肠及静脉注射促胰液素抗血清对扩胃－迷走神经放电的影响**




$^{*}P<0.05$ $^{**}P<0.01$ 同对照比

$^{\triangle}P<0.05$ $^{\triangle\triangle}P<0.01$ ■比◆

**图5 酸化十二指肠及静脉注射促胰液素抗血清对扩胃－迷走神经放电的影响**

十二指肠灌注(id)0.9%NaCl对迷走传入放电无影响(图4A)，而灌注HCl可以引起内源性促胰液素释放由此也引起胃扩张－迷走传入反应的抑制(图4B上)($n=8$, $P<0.01$)，抑制作用以灌注HCl 20min后更明显。在观察的35min期间一直保持抑制效应。用兔促胰液素抗血清(SecAb, titer = 1:1000000)0.1ml静脉注射后20～40min上述HCl的抑制效应消失($n=8$, $P<0.01$)。(图4B下、图5)

## 3 讨 论

促胰液素是第一个被发现的胃肠激素，由27个氨基酸组成，系小肠S细胞在盐酸的作用下分泌。促胰液素能促进胃肠、胰腺、肝胆管的水及电解质分泌，增强CCK的作用和胰酶的分泌，使胰腺外分泌细胞增生肥大，使细胞内的DNA和蛋白质含量增加，增强营养胰外分泌部的效应，能抑制胃酸的分泌和胃肠运动。

以往人们已认识到迷走神经与促胰液素的相互关系可能有二：一是促胰液素的作用受迷走神经传出冲动加强；二是促胰液素的释放受迷走神经的控制[6]。但这都是迷走神经的传出效应，近来很多学者已注意到促胰液素的作用可能与迷走神经的传入有关[1～5]，但无直接的电生理证据表明迷走神经的传入冲动参与了促胰液素调节胃功能的活动。本实验通过用水囊扩张胃作为对胃壁的机械刺激模拟食物对胃的充盈作用使迷走传入冲动增多，再经静脉注射促胰液素或经十二指肠灌注HCl诱发促胰液素的分泌，了解外源性及内源性促胰液素对扩张胃时迷走传入冲动增多的影响，本实验提供了迷走神经的传入冲动参与促胰液素调节胃功能的直接证据。

实验中用水囊(0.5～3ml)扩充胃引起膈下迷走放电增加，此指标比较恒定。扩胃与迷走传入放电增加的反应之间存在一定的量－效关系[7]。本实验记录的是迷走神经的传入冲动，其依据是通过切夹法将膈下迷走神经干近胃端损伤(保持迷走神经干中枢端完整即传出冲动仍能到达记录电极)后，上述扩胃反应即消失，由此证明实验中记录的迷走神经放电是一种传入冲动。

实验中观察到不管是外源性还是内源性促胰液素对迷走传入自发放电均无明显影响而对扩张胃引起迷走传入放电增加却有明显抑制作用，表明促胰液素可能不是直接作用于迷走神经纤维抑制其传入冲动，而是通过抑制胃的机械感受器(或抑制了感受器的换能作用)，从而使迷走传入冲动抑制。促胰液素是否对胃壁内神经丛神经元活动有直接抑制作

维普资讯 http://www.cqvip.com



用,还有待进一步实验证实。

(致谢 本研究获得美国纽约州 Rochester 大学医学中心消化和肝病中心 William Y. Chey 教授及李平教授在药品和技术上的大力支持,在此致以衷心感谢!)

## 参 考 文 献

[1] Li P, Chang TM, Chey WY. Neuronal regulation of the release and action of secretin releasing peptide and secretin[J]. Am J Physiol, 1995; 269: G305 - G312.

[2] Li Y, Owyang CH. Secretin at physiological doses inhibits gastric motility via a vagal afferent pathway[J]. Am J Physiol, 1995; 268: G1012 - 1016.

[3] Y Li, JX Zhu, Chung Owyang, et al. Secretin stimulates vagal nodose ganglia and cfos expression in rat brain stem[J]. Gastroenterology, 1999; 116(4): Part2. G2767.

[4] P Li, Chang TM, Chey WY. Secretin inhibits gastric acid secretion via a vagal afferent pathway in rats[J]. Am J Physiol, 1998; 275: G22 - 28.

[5] Raybould HE, Holzer HH. Secretin inhibits gastric emptying in rats via a capsaicin - sensitive vagal afferent pathway[J]. Eur. J. Pharmacol, 1993; 250: 165 - 167.

[6] 王志均,主编. 胃肠激素[M]. 北京:科学出版社, 1985: 129.

[7] Mathis C, Moran TH, Schwartz GJ. Load - sensitive rat gastric vagal afferents encode volume but not gastric nutrients [J]. Am J Physiol, 1998; 274: 280 - 286.

(上接第 416 页)基发生改变,据文献报道[5],可能的原因有:(1)所采用的 H. pylori 菌种不同;(2)H. pylori 具有转化能力,能够通过已死亡的 H. pylori DNA 转化而致基因组发生重排导致基因变异。(3)由 H. pylori 菌株间的变异引起。不同的患者感染的 H. pylori 具有其特殊的限制性片段长度多态性(RFLP)谱型,尤其是不同地区差别更加明显,通常有好几个片段的差异,但其高度的同源性又决定了不同菌株间编码蛋白的主要抗原决定簇的一致性,从而保证了重组载体的表达。(4)PCR 扩增所致的错配现象。我们采用的原核表达载体 pET32a(+)中,含有 T7 启动子和转录终止信号以及大肠杆菌的 TrxA 基因。外源基因经多克隆位点插入后,可与 TrxA 一起融合表达。融合表达的外源蛋白与硫氧还蛋白不仅提高了表达产物的稳定性,而且由于 Mr 增大,用 SDS - PAGE 更容易分析鉴定。由于载体 pET32a(+)表达的 6 个组氨酸可与 Ni - NTA 琼脂糖树脂中的 $Ni^{2+}$ 结合,容易对表达产物进行纯化。

总之,本实验采用 PCR 技术获得了特异性的 H. pylori HspA 编码基因,并进行了序列分析,为制备特异性的核酸探针,重组表达 HspA 及基因工程疫苗的进一步研究奠定了重要的实验基础。

## 参 考 文 献

[1] Vandenplas Y. Helicobacter pylori infection[J]. World J Gastroenterol, 2000; 6(1): 20 - 31.

[2] Meyer JM, Silliman NP, Dixon CA, et al. Helicobacter pylori and early duodenal ulcer status post - treatment: a review [J]. Helicobacter, 2001; 6(1): 84 - 92.

[3] Casella G, Buda CA, Maisano R, et al. Complete regression of primary gastric MALT - lymphoma after double eradication Helicobacter pylori therapy: role and importance of endoscopic ultrasonography[J]. Anticancer Res, 2001; 21(2B): 1499 - 1502.

[4] Gocyk W, Niklinski T, Olechnowicz H, et al. Helicobacter pylori, gastrin and cyclooxygenase - 2 in lung cancer [J]. Med Sci Monit, 2000; 6: 1085 - 1092.

[5] Jiang Z, Huang AL, Wang PL. A study of recombinant protective H. pylori antigen [J]. W J G, 2002; 8: 308 - 311.

[6] Satin B, Del Giudice G, Della Bianca V, et al. The neutrophil - activating protein (HP - NAP) of Helicobacter pylori is a protective antigen and a major virulence factor[J]. J Exp Med, 2000; 191: 1467 - 1476.

[7] Kim BO, Shin SS, Yoo YH, et al. Peroral immunization with Helicobacter pylori adhesin protein genetically linked to cholera toxin A2B subunits[J]. Clin Sci (Lond), 2001; 100: 291 - 298.

[8] Kotloff KL, Sztein MB, Wasserman SS, et al. Safety and immunogenicity of oral inactivated whole - cell Helicobacter pylori vaccine with adjuvant among volunteers with or without subclinical infection[J]. Infect Immun, 2001; 69: 3581 - 3590.

[9] Todoroki I, Joh T, Watanabe K, et al. Suppressive effects of DNA vaccines encoding heat shock protein on Helicobacter pylori - induced gastritis in mice[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2000; 277: 159 - 163.