

研究论文

## 三磷酸肌醇对猪冠状动脉平滑肌细胞大电导钙激活钾通道的作用

蔡 芳, 曾晓荣, 杨 艳\*, 刘智飞, 李妙龄, 周 文, 裴 杰

泸州医学院心肌电生理学研究室, 泸州 646000

**摘 要:** 应用膜片钳单通道电流记录技术, 研究三磷酸肌醇( trisphosphate inositol,  $IP_3$ ) 对猪冠状动脉平滑肌细胞大电导钙激活钾通道( large-conductance  $Ca^{2+}$ -activated potassium channels, BK channels ) 的作用。结果显示: 在内面向外式(inside-out)膜片下,  $IP_3$  (10~50  $\mu\text{mol/L}$ )可以浓度依赖性地增加通道的开放概率, 而对电流幅值无明显影响, 开放概率的增加是通过明显缩短平均关闭时间实现的( $n=11$ ,  $P<0.01$ ) ; 洗去药物后通道活性可以恢复到对照水平;  $IP_3$  对通道的激活作用不随时间而衰减;  $IP_3$  的降解产物对通道没有明显的激活作用。结果表明: 在 inside-out 膜片下,  $IP_3$  能够激活猪冠状动脉平滑肌细胞 BK 通道。

**关键词:** 大电导钙激活钾通道; 1,4,5- 三磷酸肌醇; 冠状动脉; 平滑肌细胞; 膜片钳技术

**中图分类号:** Q463; R331.3+8

## Effect of $IP_3$ on BK channels of porcine coronary artery smooth muscle cells

CAI Fang, ZENG Xiao-Rong, YANG Yan\*, LIU Zhi-Fei, LI Miao-Ling, ZHOU Wen, PEI Jie

*Institute of Myocardial Electrophysiology, Luzhou Medical College, Luzhou 646000, China*

**Abstract:** D-myo-inositol 1,4,5-trisphosphate ( $IP_3$ ) plays an important role in signal transduction. It releases  $Ca^{2+}$  from intracellular sites, which activates the  $Ca^{2+}$ -dependent channels such as large-conductance  $Ca^{2+}$ -activated potassium channels (BK channels). The present study was therefore designed to determine if the activity of BK channels in porcine coronary artery smooth muscle cells was increased by  $IP_3$ . Using the inside-out patch-clamp technique, the activity of single BK channels was recorded in porcine coronary artery smooth muscle cells. In excised inside-out membrane patches,  $IP_3$  (10~50  $\mu\text{mol/L}$ ) enhanced the open probability ( $P_o$ ) of BK channels in a dose-dependent manner in the intracellular side of inside-out patches and its effect was almost completely abolished by washout. The open-state probability of the BK channels increased from a control level of  $0.0402 \pm 0.0152$  to  $0.1365 \pm 0.0212$  (20  $\mu\text{mol/L}$   $IP_3$ ) and  $0.1865 \pm 0.0175$  (30  $\mu\text{mol/L}$   $IP_3$ ).  $IP_3$  decreased the mean close time markedly, but had no effect on the amplitude of BK channels. The activation of  $IP_3$  on BK channels did not decline. The metabolite of  $IP_3$  had no obvious effect on BK channels. This study provides evidence that  $IP_3$  activates BK channels in porcine coronary artery smooth muscle cells in a dose-dependence manner.

**Key words:** large-conductance calcium-activated potassium channels; inositol 1,4,5-trisphosphate; coronary artery; smooth muscle cells; patch-clamp techniques

大电导钙激活钾通道( large-conductance  $Ca^{2+}$ -activated potassium channels, BK channels)在血管平滑肌细胞膜上分布广泛<sup>[1,2]</sup>, 它在调节血管平滑肌张力中起着重要作用。BK 通道被激活后可使细胞膜超极化, 继而通过抑制 L 型钙通道,降低胞内钙浓度而

引起平滑肌舒张, 呈现一种负反馈调节机制<sup>[3]</sup>。国内外作者的研究表明大量的舒血管物质包括中药丹参酮 IIA 磺酸钠<sup>[4]</sup>、西药硝苯地平<sup>[5]</sup>、激素及血管活性物质<sup>[6,7]</sup>、第二信使(cGMP、cAMP)<sup>[8]</sup>和  $Mg^{2+}$ <sup>[9]</sup>都是通过作用于血管平滑肌细胞膜上的BK通道来发挥其

Received 2004-11-10 Accepted 2005-03-28

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 30370527)

\*Corresponding author. Tel: +86-830-3160619; Fax: +86-830-3161222; E-mail: wyangyan@yahoo.com.cn

舒血管效应的, 此过程中的信号转导机制日益受到研究者的重视。目前已知, 许多胞外刺激信号都可作用于细胞膜产生在信号转导过程起重要作用的第二信使三磷酸肌醇(D-*myo*-inositol 1,4,5-trisphosphate,  $IP_3$ ),  $IP_3$  介导钙由钙库释放, 从而激活诸多钙依赖过程。国外研究表明在胃肠平滑肌, 抑制性神经递质作用于细胞膜, 引起  $IP_3$  依赖机制的胞内钙释放, 可导致  $K_{Ca}$  通道激活引起超级化<sup>[10-12]</sup>; 在鼠门静脉平滑肌细胞<sup>[13]</sup>、豚鼠冠状动脉平滑肌细胞<sup>[14]</sup>、鼠脑动脉平滑肌细胞<sup>[15]</sup>  $IP_3$  可诱发瞬时外向  $K^+$  电流, 此电流是由  $K_{Ca}$  通道开放所介导。此外,  $IP_3$  还可与淋巴细胞<sup>[16]</sup>、大鼠蒲肯野细胞<sup>[17]</sup>、大鼠心肌细胞膜<sup>[18]</sup>上的受体直接结合激活一种钙通道。这些研究都表明  $IP_3$  与细胞膜上的离子通道之间存在着一定的内在联系。 $IP_3$  是否对冠状动脉血管平滑肌上的 BK 通道也产生作用, 从而调节冠脉血流量是非常有意义的基础研究。本文应用膜片钳单通道电流记录技术, 研究了  $IP_3$  对冠状动脉平滑肌细胞上 BK 通道的作用。

## 1 材料和方法

**1.1 主要溶液与试剂** 台式液(mmol/L): NaCl 127、KCl 5.9、 $MgCl_2$  1.2、 $CaCl_2$  2.4、glucose 12、Hepes 10, pH7.4 (NaOH)。无钙台式液除不含  $CaCl_2$  外, 其余成分与台式液一致。记录  $I_{K_{Ca}}$  ( $K_{Ca}$  电流) 电极内液(mmol/L): KCl 100、K-Asp 40、Hepes 10、 $CaCl_2$  1, pH7.2~7.4 (KOH)。记录  $I_{K_{Ca}}$  浴液(mmol/L): KCl 40、K-Asp100、Hepes 10、EGTA 1、 $CaCl_2$  0.55, 游离钙浓度为  $1 \times 10^{-7}$  mol/L, pH7.4 (KOH)。酶(mg/ml): 白蛋白 10、A 型胶原酶 2.0、A 型弹力蛋白酶 0.5, 用无钙台式液溶解于小瓶内<sup>[19]</sup>。溶液中游离钙离子浓度通过下列公式计算:  $[Ca^{2+}]_{add} = (1 + K'([EGTA] + [Ca^{2+}]_{free})) \times [Ca^{2+}]_{free} / (1 + [Ca^{2+}]_{free} \times K')$  公式中  $[Ca^{2+}]_{add}$  为加入浴液  $CaCl_2$  浓度,  $[Ca^{2+}]_{free}$  为加入的  $CaCl_2$  与 EGTA 整合后溶液中游离钙浓度,  $[EGTA]$  为 EGTA 的浓度,  $K'$  为钙和 EGTA 的表面结合常数,  $K' = 10^{7.1}$  (pH=7.2, 22 )。

$IP_3$  (D-*myo*-inositol 1,4,5-trisphosphate, hexasodium salt)、白蛋白、A 型胶原酶、A 型弹力蛋白酶、Hepes、EGTA、TEA、门冬氨酸均购自 Sigma 公司, 余为国产分析纯。

**1.2  $IP_3$  溶液的配制及给药方法**  $IP_3$  用冰冷三蒸

水配置成 2 和 20 mmol/L 的母液, 然后用 100  $\mu$ l 的 EP 管分别分装成 50  $\mu$ l/ 管的小包装冻存, 3 d 内使用。加药时取母液 10~60  $\mu$ l 加入含 2 ml 溶液的浴槽中, 使  $IP_3$  的终浓度达到需要的水平, 药物在 3 min 左右可扩散均匀, 加药后 3 min 开始记录, 每次记录 30 s, 文中所用数据均是加药后 3 min 记录的。用不含  $IP_3$  的浴液灌流 15~20 min 洗去药物, 观察通道恢复情况。

**1.3 冠状动脉平滑肌细胞急性酶分离** 参照文献所报道的方法并进行改良<sup>[19]</sup>。在屠宰场处死猪(100~150 kg)后, 迅速取出心脏并用生理盐水冲洗淤血, 冷冻保存后立即送往实验室。从主动脉窦口处找到冠状动脉起始部, 剪下其左前降支及旋支, 放入盛有台式液的器皿中, 剔除血管壁上的脂肪组织和纤维组织, 剪去外膜, 再剖开血管去除内膜, 并斜行剪成 2 mm  $\times$  5 mm 的组织块后将其放入酶液, 在 37  $^{\circ}$ C 恒温水浴振荡箱内振荡消化 25 min 左右, 取组织块置于盛有无钙台式液的小瓶中, 用吸管缓慢吹打, 吸细胞悬液于显微镜下进行观察, 待视野中出现较多细胞时停止消化, 将细胞悬液滴于铺满小盖玻片的培养皿中, 静置于 4  $^{\circ}$ C 冰箱中保存备用。待细胞贴壁后, 将盖玻片用溶液清洗, 洗去保存液后再移至浴槽内进行试验。

**1.4 钙激活钾通道单通道电流记录** 采用 inside-out 膜片钳单通道记录技术, 在室温(25  $^{\circ}$ C)下进行记录, 通过倒置相差显微镜(IX71, Olympus, Japan)进行观察。玻璃微管电极由拉制机(PP-83, Narishige, Japan)两步拉制而成, 热抛光后电极尖端涂以液体状硅酮树脂, 充灌电极液后尖端阻抗为 5~7 M $\Omega$ 。通道电流经膜片钳放大器(CEZ-2300, Nihon Kohden, Japan)放大, 经 12 位 A/D、D/A 转换器(Digidata-1322A, Axon Instruments, USA)后, 用 pClamp 软件(version 9.0, Axon instrument, USA)的 Clampex 程序下的 gap-free 方式采样, 1 kHz 滤波后储存于计算机中, 采样频率为 50 kHz。

**1.5 数据处理及统计分析** 实验所得数据采用 pClamp 软件进行分析处理, 经分析程序 Clampfit 自动测量通道开放概率(open probability,  $P_o$ ), 电流幅度值(amplitude), 平均开放时间(open time)和平均关闭时间(close time), 然后用 Clampfit 统计处理程序作电流幅度全点直方图(all-points histogram) 和开放概率直方图, 并进行电流幅度全点直方图的 Gaussian 拟合。采用 Sigmaplot 9.0 作图并进行各种

曲线拟合, 采用 SPSS10.0 软件进行统计学分析, 两组间比较采用  $t$  检验, 结果以  $\text{mean} \pm \text{SD}$  表示,  $P < 0.05$  为有显著性差异。

## 2 结果

### 2.1 通道的基本特性

本实验采用 inside-out 膜片方式记录急性酶分离的猪冠状动脉平滑肌细胞膜上的单通道电活动。在对称性高钾溶液中通道的电流电压成线性关系, 电

导值为  $(240.53 \pm 7.98) \text{ pS}$ , 反转电位为  $(-0.427 \pm 0.337) \text{ mV}$  ( $n=25$ ), 表现出明显的电压依赖性和大电导的特性(图 1); 改变电极液和浴液钾离子浓度, 记录电流的  $I-V$  曲线能很好地用 Goldman-Hodgkin-Katz 钾离子选择性方程<sup>[20]</sup>进行拟合且在计算的理论值附近反转, 表明通道活动呈高度的钾离子选择性(图 2); 通道开放概率随浴液钙离子浓度的增加而增加, 呈明显的钙离子浓度依赖性(图 3); 胞外 TEA  $1 \text{ mmol/L}$  可以完全阻断通道活动。这些特性

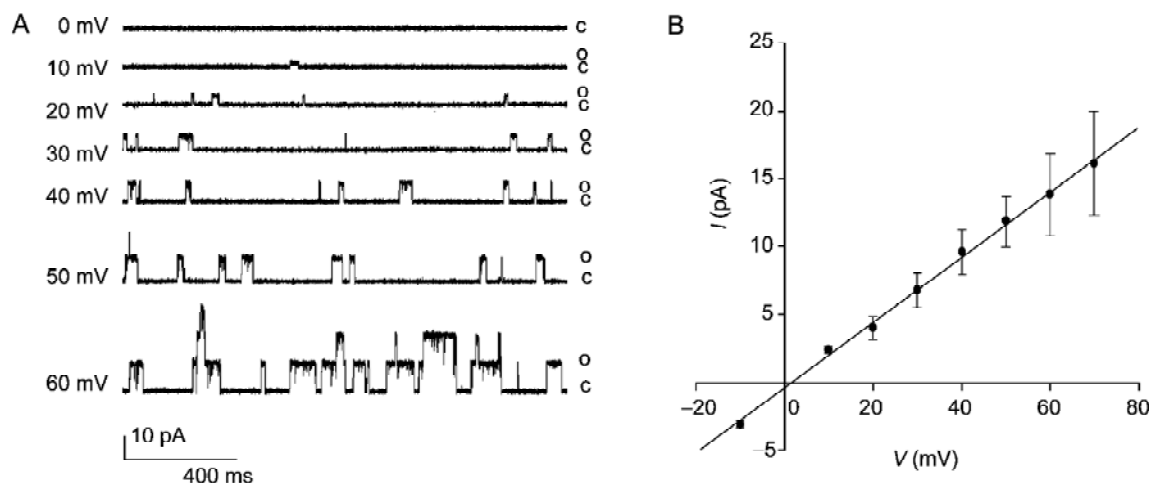


图 1. 猪冠状动脉平滑肌细胞 BK 通道的电导和电压依赖性

Fig. 1. Conductance and voltage dependence of BK channels on porcine coronary artery smooth muscle cells. A: Representative single channel current traces showing voltage dependence of BK channels in an inside-out patch. Pipette:  $140 \text{ mmol/L K}^+$ ,  $1 \text{ mmol/L [Ca}^{2+}]$ . Bath:  $140 \text{ mmol/L K}^+$ ,  $1 \times 10^{-7} \text{ mol/L [Ca}^{2+}]$ . B: Current-voltage relationship curve. Value of the single channel conductance is  $(240.53 \pm 7.98) \text{ pS}$ . Line was fitted by line-regression equation with SigmaPlot 9.0 software.

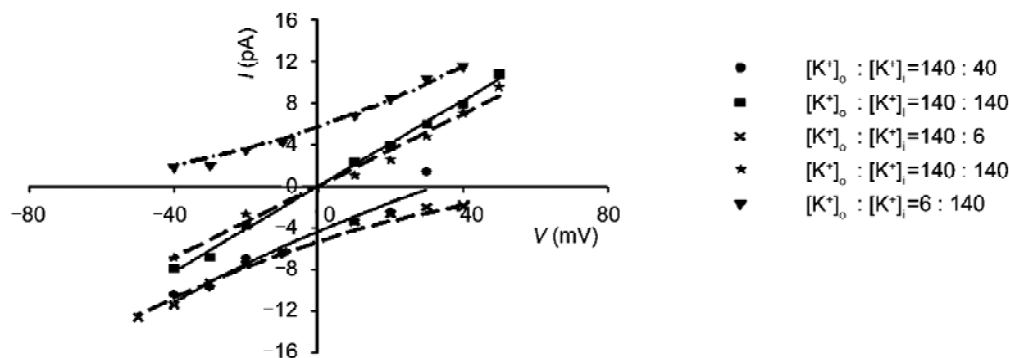


图 2. 猪冠状动脉平滑肌细胞 BK 通道的钾离子选择性

Fig. 2.  $\text{K}^+$  selectivity of BK channels.  $[\text{Ca}^{2+}]_{\text{free}} = 5 \times 10^{-7} \text{ mol/L}$ . Data comes from three cells, and pipette/bath  $\text{K}^+$  gradients are indicated above. The calculated  $\text{K}^+$  equilibrium potentials for  $\text{K}^+$  gradients ( $\text{K}_o / \text{K}_i$ ) were  $0 \text{ mV}$  for  $140/140 \text{ mmol/L K}^+$ ,  $32.6 \text{ mV}$  for  $140/40 \text{ mmol/L K}^+$ ,  $-82 \text{ mV}$  for  $6/140 \text{ mmol/L K}^+$ , respectively. The measure currents in these gradients reverse near theoretical values. Line was fitted by Goldman-Hodgkin-Katz equation for  $\text{K}^+$ :  $I = (P_k * F^2 V_m / RT) ([\text{K}^+]_i * \exp(VF/RT) - [\text{K}^+]_o) / \exp(VF/RT) - 1$  with SigmaPlot 9.0 software, where  $P_k$  is the apparent permeability for  $\text{K}^+$ ,  $V_m$  is the membrane potential,  $F/RT = 38.3$ .

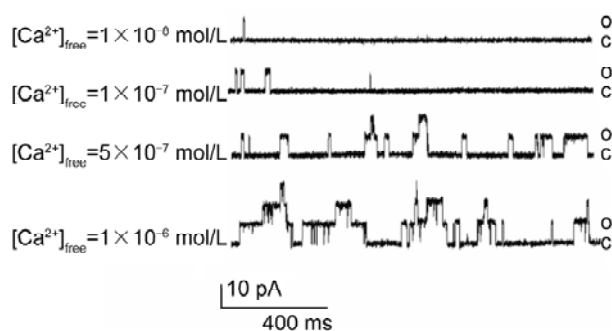


图 3. 猪冠状动脉平滑肌细胞 BK 通道的钙离子依赖性

Fig. 3. Effect of  $[Ca^{2+}]_i$  on BK channels. The  $P_o$  of BK channels enhanced along with the increase of  $[Ca^{2+}]_i$ .  $[K^+]_o:[K^+]_i=140:140$  mmol/L.  $V_m=+40$  mV.

与已报道的猪冠脉平滑肌细胞膜上 BK 通道特性相似。

## 2.2 IP<sub>3</sub> 对 BK 通道的作用

实验所用 IP<sub>3</sub> 为水溶性六钠盐, 不能穿透细胞膜, 故仅采用 inside-out 膜片方式进行研究, 溶液为对称性高钾液( $[K^+]_o:[K^+]_i=140:140$  mmol/L), 溶液中游离钙离子浓度为  $1 \times 10^{-7}$  mol/L, 记录在不同钳制电位下的电流活动, 分析在相同电压下 IP<sub>3</sub> 对 BK 通道的作用。

### 2.2.1 Inside-out 膜片上, IP<sub>3</sub> 对 BK 通道的作用

Inside-out 膜片上, 向溶液加入不同浓度的 IP<sub>3</sub>, 使其终浓度分别为 5  $\mu$ mol/L, 通道开放概率没有明显变化, 加药前为  $0.0316 \pm 0.0095$ , 加药后为  $0.0331 \pm 0.0145$  ( $n=7$ ,  $P>0.05$ ,  $V_m=+40$  mV)。膜电位为 +40 mV, 向溶液加入不同浓度的 IP<sub>3</sub>, 其终浓度分别为 10、20、30、40、50  $\mu$ mol/L 时, 通道开放概率逐渐增加, 具有浓度依赖性(图 4),

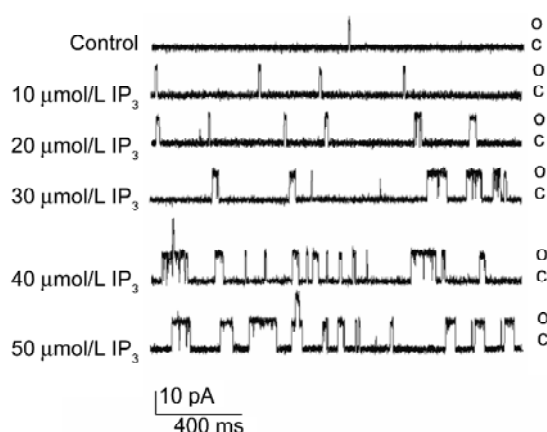


图 4. IP<sub>3</sub> 对 BK 通道的激活作用

Fig. 4. Effect of IP<sub>3</sub> on BK channels in an inside-out patch at +40 mV in symmetric high K<sup>+</sup> solution. IP<sub>3</sub> (10~50  $\mu$ mol/L) in the bath solution enhanced the open probability ( $P_o$ ) of BK channels in a dose-dependent manner and had no effect on the amplitude of BK channels.

通道的电流幅值无明显变化。加 IP<sub>3</sub> 20  $\mu$ mol/L 后 3、5 和 15 min 记录数据显示, 通道开放概率分别为  $0.1408 \pm 0.0190$ 、 $0.1243 \pm 0.0242$ 、 $0.1366 \pm 0.0224$  ( $n=4$ ,  $P>0.05$ ,  $V_m=+40$  mV), IP<sub>3</sub> 对通道的激活作用不随时间的延长而衰减。

Inside-out 膜片上膜电位 +40 mV 时加 IP<sub>3</sub> 前和加 IP<sub>3</sub> 20、30  $\mu$ mol/L 后记录的电流做通道开放概率直方图(图 5)显示通道开放概率逐渐增加, 做电流幅度全点直方图, 并对电流幅度全点直方图进行 Gaussian 拟合(图 6), 可见通道的电流幅度变化不明显, 而关闭时间数减少, 开放事件数增加, 图 6B、C 可见通道二水平的开放, 但事件数很少, 无法拟合。

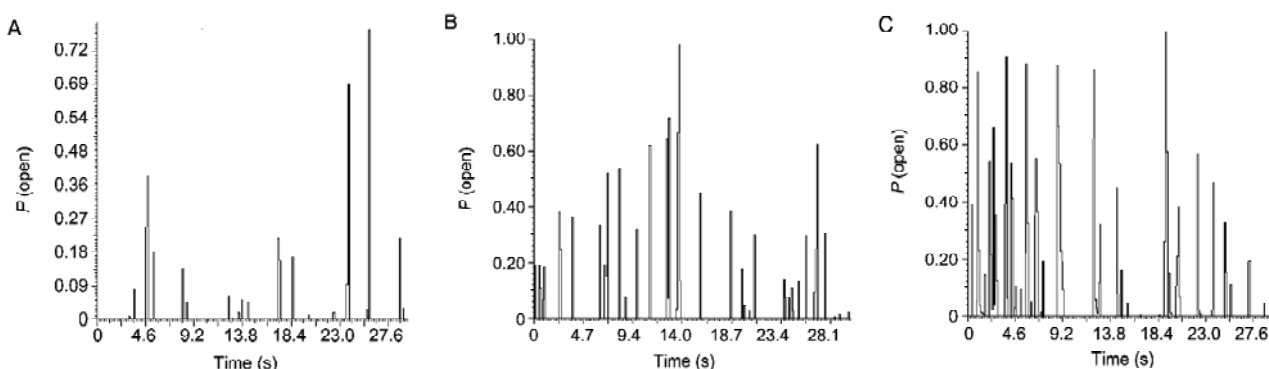


图 5. 加 IP<sub>3</sub> 前后通道电流开放概率直方图

Fig. 5. Histogram of  $P_o$  of the BK channels. It showed the different concentrations of IP<sub>3</sub> increased  $P_o$  of the BK channels in an inside-out patch. The open events enhanced along with the increase of  $[IP_3]$ .

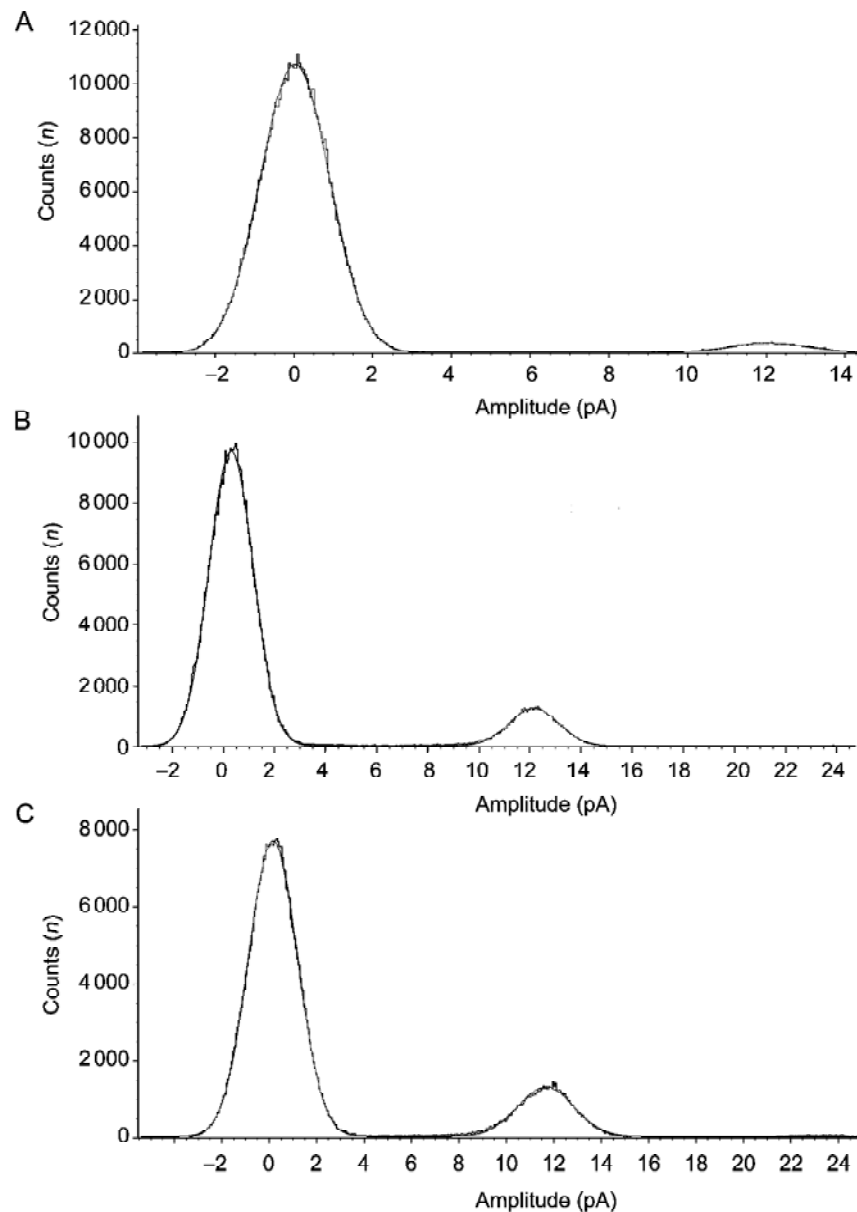


图 6. 加  $\text{IP}_3$  前后通道电流幅度直方图 Gaussian 拟合

Fig. 6. All-point histogram of current amplitude with the same patch, fitted with Gaussian equation. A: 0  $\mu\text{mol/L}$   $\text{IP}_3$  group. B: 20  $\mu\text{mol/L}$   $\text{IP}_3$  group. C: 30  $\mu\text{mol/L}$   $\text{IP}_3$  group.  $\text{IP}_3$  had no effect on the amplitude of BK channels, but the open events were enhanced and the close events decreased in B and C.

对膜电位 +40 mV,  $\text{IP}_3$  终浓度为 20、30  $\mu\text{mol/L}$  时的数据进行统计(表 1), 通道开放概率由未加  $\text{IP}_3$  对照组的  $0.0402 \pm 0.0152$  分别增加为  $0.1365 \pm 0.0212$ 、 $0.1865 \pm 0.0175$ ; 加入  $\text{IP}_3$  后, 通道的电流幅度无明显变化;  $\text{IP}_3$  对通道的平均开放时间也无显著影响; 通道平均关闭时间明显缩短, 由未加  $\text{IP}_3$  对照组的 285.83 ms 分别缩短为 89.90 ms、56.97 ms。说明在此模式下  $\text{IP}_3$  能增加通道的开放概率, 主要是通过缩短平均关闭时间实现的。  $\text{IP}_3$  的作用是可逆的, 洗脱药物后通道活动可以恢复到对照水平。洗

去  $\text{IP}_3$  后, 通道活性可以恢复。

### 2.2.2 Inside-out 膜片上, $\text{IP}_3$ 降解产物对 BK 通道的作用

$\text{IP}_3$  (D-myo-inositol 1,4,5-trisphosphate, hexasodium salt) 很容易降解, 其水溶液降解更明显。在配制过程中严格控制实验条件, 用冰水配制然后迅速分装, 冰冻保存, 仍然发现  $\text{IP}_3$  配置成水溶液 3 d 后药效明显下降。本实验在严格控制配制和保存条件的基础上, 使用 3 d 内配制的  $\text{IP}_3$  水溶液观察  $\text{IP}_3$  作用。  $\text{IP}_3$  配制成水溶液一星期后对 BK 通道没有作用, 加  $\text{IP}_3$  30  $\mu\text{mol/L}$  前后通道的开放概率分别为

表 1.  $IP_3$  对 BK 通道的作用Table 1. Effect of  $IP_3$  on BK channels ( $V_m=+40$  mV,  $n=11$ )

$IP_3$ ( $\mu\text{mol/L}$ )	Po	Amp (pA)	To (ms)	Tc (ms)
0	$0.0402 \pm 0.0152$	$10.89 \pm 0.65$	$10.34 \pm 6.50$	$285.83 \pm 199.01$
20	$0.1365 \pm 0.0212^*$	$11.21 \pm 0.80$	$10.83 \pm 5.42$	$89.90 \pm 52.07^*$
30	$0.1865 \pm 0.0175^{**}$	$11.15 \pm 0.99$	$10.64 \pm 6.34$	$56.97 \pm 40.25^{**}$

Mean  $\pm$  SD. The patch number of each group was 10. \* $P<0.01$  vs the 0  $\mu\text{mol/L}$   $IP_3$  group, \*\* $P<0.01$  vs the 20  $\mu\text{mol/L}$   $IP_3$  group. Po, open probability; Amp, amplitude of the current; To, open time; Tc, close time.

$0.0299 \pm 0.0155$  和  $0.0317 \pm 0.0153$  ( $n=9$ ,  $P>0.05$ ,  $V_m=+40$  mV), 即  $IP_3$  的降解产物对 BK 通道没有作用。此 9 例膜片与 2.2.1 中 7 例加 5  $\mu\text{mol/L}$   $IP_3$  的膜片和 11 例加 20、30  $\mu\text{mol/L}$   $IP_3$  的膜片以及加  $IP_3$  前的通道开放概率经两独立样本均数比较, 结果均为  $P>0.05$ , 认为三组数据之间无统计学差异。

### 3 讨论

有研究表明在人角质细胞<sup>[21]</sup>、*Xenopus* 肾小管上皮细胞株<sup>[22]</sup>、大鼠巨噬细胞<sup>[23]</sup>等细胞上  $IP_3$  能激活钙依赖性通道如一种钾离子通道和一种非选择性阳离子通道, 提示胞内钙释放及随后的钙依赖性通道的激活是一个普遍的转导机制, 此过程中卡律蝎毒素敏感的钾电流(BK 电流)是细胞膜超极化的基础。在胃肠 SMC, 抑制性神经递质可通过膜上  $P_{2y}$  受体(一种 G 蛋白耦联的嘌呤受体)激活导致经由 PLC 和  $IP_3$  依赖机制的钙释放产生钙火花, 激活  $K_{Ca}$  通道致胃肠 SMC 舒张<sup>[10-12]</sup>。而在血管 SMC, 普遍的观点认为胞外钙内流激活肌浆网上的 RyR 产生钙火花, 从而激活 BK 通道介导血管舒张是血管 SMC 维持血管张力的一种负反馈机制<sup>[24]</sup>; 仅有少量文献报道在血管 SMC 上  $IP_3$  诱发的胞内钙释放可以激活细胞膜上的大电导钙激活钾通道, 如大鼠脑基底动脉<sup>[25]</sup>、大鼠脑动脉<sup>[15]</sup>、豚鼠冠状动脉<sup>[14]</sup>。另外在质膜上还存在  $IP_3$  敏感的受体或离子通道, 例如淋巴细胞<sup>[16]</sup>和培养的大脑蒲肯野细胞中<sup>[17]</sup>  $IP_3$  诱导的钙内流由质膜上  $IP_3$  受体介导; 成年大鼠心肌细胞上表达有纤维母细胞激活的钙渗透性通道, inside-out 膜片钳实验揭示  $IP_3$  可增加这种钙渗透性通道的开放, 提示它可能是此过程的第二信使<sup>[18]</sup>。这些研究结果表明  $IP_3$  与细胞膜上的离子通道有着诸多复杂的联系。

本文研究数据表明 inside-out 膜片上  $IP_3$  对猪冠状动脉平滑肌细胞 BK 通道有激活作用, 具有浓度依赖性和可逆性,  $IP_3$  的代谢产物对此通道没有作用。本研究中  $IP_3$  浓度为 10~50  $\mu\text{mol/L}$ , 与文献报

道的 inside-out 膜片钳实验中  $IP_3$  激活钙渗透性通道所采用浓度 10、100  $\mu\text{mol/L}$  基本一致。在经过通透处理的培养或新鲜分离的猪冠状动脉平滑肌细胞<sup>[26,27]</sup>,  $IP_3$  释放胞内钙的半数最大有效浓度接近 1  $\mu\text{mol/L}$ , 本实验中的  $IP_3$  浓度高于此浓度, 因此推测  $IP_3$  可能不是通过释放胞内钙产生钙火花从而激活 BK 通道, 而可能是直接作用于 BK 通道内口使其激活; 或者是  $IP_3$  直接激活细胞膜上  $IP_3$  依赖的钙通道使胞外钙内流, 致局部钙浓度瞬时增加从而间接激活 BK 通道(此过程类似钙火花的效应)。关于  $IP_3$  对 BK 通道激活作用的具体机制还需进一步研究。

### 参考文献

- 1 Yang Y (杨艳), Shui QL, Zeng XR, Liu ZF, Zhou W, Li ML. Effects of neferine on potassium channels in guinea pig ventricular cells and porcine coronary artery smooth muscle cells. Chin J Clin Pharmacol (中国药理学及毒理学杂志) 2000; 14 (6): 405-410 (Chinese, English abstract).
- 2 Zeng XR (曾晓荣), Yang Y, Liu ZF. Voltage-dependent and  $Ca^{2+}$ -activated potassium channel in primary cultured smooth muscle cells from porcine coronary artery. J Luzhou Med Coll (泸州医学院学报) 2001; 24(5): 415-423 (Chinese, English abstract).
- 3 Leblanc N, Wan X, Leung PM. Physiological role of  $Ca^{2+}$ -activated and voltage-dependent  $K^+$  channels currents in rabbit coronary myocytes. Am J Physiol 1994; 266: C1523-C1537.
- 4 Zhang J (张洁), Zeng XR, Yang Y, Liu ZF. Effect of sodium tanshinone A sulfonate on calcium-activated potassium channels of cultured smooth muscle cells of porcine coronary artery. J Luzhou Med Coll (泸州医学院学报) 2000; 23(5): 380-383 (Chinese, English abstract).
- 5 Kishi Y, Watanabe T, Makita T, Sakita S, Watanabe R, Ashikaga T, Numano F. Effect of nifedipine on cyclic GMP turnover in cultured coronary smooth muscle cells. J Cardiovasc Pharmacol 1995; 26(4): 590-595.
- 6 Han GC (韩桂春), White RE. The activation of  $BK_{Ca}$  channel in porcine coronary vascular smooth muscle cells induced by

- dopamine and its signal transduction. *Chin J Appl Physiol* (中国应用生理学杂志) 2000; 16(1): 33-36 (Chinese, English abstract).
- 7 Wei ZD (魏宗德), Wang WY, Ying LH, Yang Y, Zeng XR. The effect of  $\text{PGE}_1$  on calcium-activated potassium channels from normal human mesentery. *J Luzhou Med Coll* (泸州医学院学报) 2001; 24(5): 370-372 (Chinese, English abstract).
  - 8 Chai Q (柴强), Zeng XR. Effect of cGMP on calcium-activated potassium channels in primary cultured porcine coronary artery smooth muscle cells. *Acta Physiol Sin* (生理学报) 1998; 50(1) 115-119 (Chinese, English abstract).
  - 9 He J (贺军), Zeng XR, Yang Y. The elementary research of the active effect of  $\text{Mg}^{2+}$  on calcium-activated potassium channels of smooth muscle cells of porcine coronary artery. *J Luzhou Med Coll* (泸州医学院学报) 1999; 22(3): 194-196 (Chinese, English abstract).
  - 10 Kong ID, Koh SD, Sanders KM. Purinergic activation of spontaneous transient outward currents in guinea pig taenia colonic myocytes. *Am J Physiol* 2000; 278: C352-C362.
  - 11 Wade GR, Sims SM. Muscarinic stimulation of tracheal smooth muscle cells activates large-conductance  $\text{Ca}^{2+}$ -dependent  $\text{K}^+$  channel. *Am J Physiol* 1993; 265: C658-C665.
  - 12 Vogalis F, Goyal RK. Activation of small conductance  $\text{Ca}^{2+}$ -dependent  $\text{K}^+$  channels by purinergic agonists in smooth muscle cells of the mouse ileum. *J Physiol* 1997; 502: 497-508.
  - 13 Kitamura K, Xiong Z, Teramoto N, Kuriyama H. Role of inositol trisphosphate and protein kinase C in the spontaneous outward current modulated by calcium release in rabbit portal vein. *Pflugers Arch* 1992; 421: 539-551.
  - 14 Ganitkevich V, Isenberg G. Isolated guinea pig coronary smooth muscle cells. Acetylcholine induced hyperpolarization due to sarcoplasmic reticulum calcium release activating potassium channels. *Circ Res* 1990; 67: 525-528.
  - 15 Jaggar JH, Nelson MT. Differential regulation of  $\text{Ca}^{2+}$  sparks and  $\text{Ca}^{2+}$  waves by UTP in rat cerebral artery smooth muscle cells. *Am J Physiol* 2000; 279(5): C1528-C1539.
  - 16 Kuno M, Gardner P. Ion channels activated by inositol 1,4,5-trisphosphate in plasma membrane of human T-lymphocytes. *Nature* 1987; 326: 301-304.
  - 17 Kuno M, Maeda N, Mikoshiba K.  $\text{IP}_3$ -activated calcium-permeable channels in the inside-out patches of cultured cerebellar Purkinje cells. *Biochem Biophys Res Commun* 1994; 199: 1128-1135.
  - 18 Merle PL, Usson Y, Robert-Nicoud M, Verdet J. Basic FGF enhances calcium permeable channel openings in adult rat cardiac myocytes: implication in the bFGF-induced increase of free  $\text{Ca}^{2+}$  content. *J Mol Cell Cardiol* 1997; 29(10): 2687-2698.
  - 19 Maik G, Christian R, Rostislav B, Friedrich CL, Hermann H.  $\text{K}^+$  currents in human coronary artery smooth muscle cells. *Circ Res* 1996; 78: 676-688.
  - 20 Sand P, Rydqvist B. The low conductance  $\text{K}^+$  channel in human colonic crypt cells has a voltage-dependent permeability not affected by  $\text{Mg}^{2+}$ . *Life Sci* 2002; 71(8): 855-864.
  - 21 Koegel H, Alzheimer C. Expression and biological significance of  $\text{Ca}^{2+}$ -activated ion channels in human keratinocytes. *FASEB J* 2001; 15: 145-154.
  - 22 Mori M, Hosomi H, Nishizaki T, Kawahara K, Okada Y. Calcium release from intracellular stores evoked by extracellular ATP in a *Xenopus* renal epithelial cell line. *J Physiol* 1997; 502: 365-373.
  - 23 Somasundaram B, Mahaut-Smith MP. A novel monovalent cation channel activated by inositol triphosphate in the plasma membrane of rat megakaryocytes. *J Biol Chem* 1995; 270: 16638-16644.
  - 24 Nelson MT, Cheng H, Rubart M, Santana LF, Bonev AD, Knot HJ, Lederer WJ. Relaxation of arterial smooth muscle by calcium sparks. *Science* 1995; 270: 633-637.
  - 25 Kim CJ, Weir BK, Macdonald RL, Zhang H. Erythrocyte lysate releases  $\text{Ca}^{2+}$  from  $\text{IP}_3$ -sensitive stores and activates  $\text{Ca}^{2+}$ -dependent  $\text{K}^+$  channels in rat basilar smooth muscle cells. *Neurol Res* 1998; 20(1): 23-30.
  - 26 Suematsu E, Hirata M, Hashimoto T, Kuriyama H. Inositol 1, 4,5-trisphosphate release  $\text{Ca}^{2+}$  from intracellular store sites in skinned single cells of porcine coronary artery. *Biochem Biophys Res Commun* 1984; 120: 481-485.
  - 27 Yamamoto T, Van Breemen C. Inositol 1,4,5-trisphosphate release  $\text{Ca}^{2+}$  from skinned cultured smooth muscle cells. *Biochem Biophys Res Commun* 1985; 130: 270-274.