

## 研究论文

# 内向整流钾通道阻滞剂BaCl<sub>2</sub>引起大鼠冠状动脉收缩的机制

范芳文, 贺泽芳, 石萌, 杨蓉, 侯晓敏, 刘宇, 张明升\*

山西医科大学基础医学院药理学教研室, 太原 030001

**摘要:** 为了探讨内向整流钾通道(inward rectifier K<sup>+</sup> channels, K<sub>ir</sub>)阻滞剂BaCl<sub>2</sub>引起大鼠冠状动脉(rat coronary artery, RCA)收缩的作用机制, 本研究采用离体微血管环张力记录法观察BaCl<sub>2</sub>引起的RCA收缩对细胞内Ca<sup>2+</sup> ([Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub>)释放和细胞外Ca<sup>2+</sup> ([Ca<sup>2+</sup>]<sub>o</sub>)内流的依赖性, 并通过抑制剂实验探讨其作用机制。结果显示, 静息状态下, BaCl<sub>2</sub> (0.1~1.0 mmol/L)浓度依赖性地收缩离体RCA, 最大收缩幅度为(5.69 ± 1.07) mN, 与KCl (60 mmol/L)收缩幅度相近; BaCl<sub>2</sub>在无钙液中所引起的收缩占其总收缩的(35.44 ± 6.72)%, 复钙进一步引起(64.56 ± 5.94)%的收缩; 钙通道阻滞剂硝苯地平(0.3 μmol/L)、环氧合酶抑制剂吲哚美辛(100 μmol/L)、细胞外信号调节激酶ERK1/2抑制剂PD98059 (10 μmol/L)和氯通道阻滞剂尼氟灭酸(100 μmol/L)分别使BaCl<sub>2</sub>引起的RCA最大收缩幅度降低(87.82 ± 5.43)% (*P* < 0.01)、(73.23 ± 5.47)% (*P* < 0.01)、(75.69 ± 7.94)% (*P* < 0.01)和(83.24 ± 7.69)% (*P* < 0.01)。上述实验结果表明, BaCl<sub>2</sub>引起RCA收缩依赖于[Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub>释放和[Ca<sup>2+</sup>]<sub>o</sub>内流, 并提示该过程与增加前列腺素类物质合成、钙通道和氯通道激活及ERK1/2通路有关。

**关键词:** 氯化钡; 内向整流钾通道; 冠状动脉; 前列腺素类; 氯通道; 钙离子; ERK1/2通路

**中图分类号:** R322

## Mechanisms underlying rat coronary arterial vasoconstriction induced by blockade of inward rectifier potassium channels with BaCl<sub>2</sub>

FAN Fang-Wen, HE Ze-Fang, SHI Meng, YANG Rong, HOU Xiao-Min, LIU Yu, ZHANG Ming-Sheng\*

Department of Pharmacology, Shanxi Medical University, Taiyuan 030001, China

**Abstract:** In order to explore the mechanisms underlying the vasoconstriction induced by blockade of inward rectifier K<sup>+</sup> channels (K<sub>ir</sub>) with BaCl<sub>2</sub>, myogenic tone of isolated rat coronary artery (RCA) was recorded with wire myograph. The dependence of BaCl<sub>2</sub>-induced contraction on intracellular Ca<sup>2+</sup> ([Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub>) release and extracellular Ca<sup>2+</sup> ([Ca<sup>2+</sup>]<sub>o</sub>) influx was studied by Ca<sup>2+</sup> deprivation and restoration. The mechanisms underlying BaCl<sub>2</sub>-induced RCA contraction were investigated with specific inhibitors. BaCl<sub>2</sub> (0.1–1.0 mmol/L) contracted isolated RCA in a concentration-dependent manner and the maximal contraction was (5.69 ± 1.07) mN, nearly equal to contraction induced by 60 mmol/L KCl. The contractions induced by BaCl<sub>2</sub> in Ca<sup>2+</sup>-free solution and by followed restoration of 2.5 mmol/L Ca<sup>2+</sup> accounted for (35.44 ± 6.72)% and (64.56 ± 5.94)%, respectively. Calcium channel blocker nifedipine (0.3 μmol/L), cyclooxygenase inhibitor indomethacin (100 μmol/L), ERK1/2 inhibitor PD98059 (10 μmol/L) and chloride channel blocker niflumic acid (100 μmol/L) pretreatment depressed the BaCl<sub>2</sub>-induced maximal contraction by (87.82 ± 5.43)% (*P* < 0.01), (73.23 ± 5.47)% (*P* < 0.01), (75.69 ± 7.94)% (*P* < 0.01) and (83.24 ± 7.69)% (*P* < 0.01), respectively. These results demonstrate that BaCl<sub>2</sub> induces vasoconstriction in RCA by enhancing both [Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub> release and [Ca<sup>2+</sup>]<sub>o</sub> influx, and suggest that increase of prostanoids synthesis, activation of calcium channels and chloride channels, as well as ERK1/2 pathway may be involved in this process.

**Key words:** BaCl<sub>2</sub>; inward rectifier K<sup>+</sup> channels; coronary artery; prostanoids; chloride channels; Ca<sup>2+</sup>; ERK1/2 pathway

Received 2016-10-19 Accepted 2017-02-07

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 81603111) and the Doctoral Foundation of Shanxi Medical University, China (No. 03201510).

\*Corresponding author. Tel: +86-351-4135172; E-mail: 4156589@sina.com

内向整流钾离子通道 (inward rectifier  $K^+$  channels,  $K_{ir}$ ) 是由七个亚家族 ( $K_{ir1.x}$ ~ $K_{ir7.x}$ ) 共同构成的超家族<sup>[1]</sup>, 广泛分布于人体和各种动物的组织中, 是存在于血管平滑肌上的主要钾通道类型之一, 因其电压与电流的关系存在内向整流特性而得名。 $K_{ir}$  通道活性对于静息膜电位的维持以及动作电位时程的调控起着重要作用<sup>[2]</sup>。当  $K_{ir}$  受抑时, 血管平滑肌膜电位降低, 肌张力增高。 $BaCl_2$  通过选择性抑制  $K_{ir}$  使血管平滑肌细胞发生去极化, 进而激活 L-型电压依赖性钙通道 (L-type voltage-gated  $Ca^{2+}$  channels, LVGCs), 使  $Ca^{2+}$  内流增加, 最终引起血管收缩<sup>[3]</sup>。通过研究肾血管对  $BaCl_2$  的反应得知,  $K_{ir}$  在维持血管平滑肌正常肌张力和介导体内多种生物活性物质的血管效应方面起着重要作用<sup>[4]</sup>。膜片钳实验提示, 内皮素和血管紧张素等体内缩血管物质通过抑制冠状动脉血管平滑肌细胞  $K_{ir}$  电流而增高冠状动脉阻力<sup>[5,6]</sup>。不同部位血管具有不同的生物学特征, 冠状动脉尤其特殊<sup>[7]</sup>, 澄清冠状动脉的生物学特征是精准治疗心脏自身血管性疾病的前提。血管平滑肌收缩是一个极其复杂的过程, 有许多离子通道、合成酶和蛋白激酶参与。但到目前为止,  $K_{ir}$  受抑或关闭是如何引起细胞膜去极化、某些离子通道活性发生改变、细胞内钙浓度增高, 最终引起冠状动脉收缩? 其中很多环节尚不完全清楚。因此, 本文采用离体微血管环张力测定技术, 通过观察选择性抑制剂对  $BaCl_2$  所致正常大鼠冠状动脉 (rat coronary artery, RCA) 收缩的影响, 探讨  $K_{ir}$  受抑引起冠状动脉收缩的机制, 为了解  $K_{ir}$  对冠状动脉血管张力的调节机制及临床上治疗相关疾病提供基础研究参考。

## 1 材料与方法

**1.1 实验动物** 正常成年雄性 Sprague-Dawley (SD) 大鼠, 体重 200~250 g, 由山西医科大学实验动物中心提供。动物许可证号: SCXK (晋) 2015-0001。动物均饲养于山西医科大学 SPF 级动物房, 饲养环境为温度 22~25 °C, 湿度 40%~60%, 光照 12 h, 自由饮食饮水。受试动物自购回后喂养 2 周用于实验。动物实验操作遵照山西医科大学实验动物使用规则进行, 并经过山西医科大学实验动物使用伦理委员会批准, 符合国家《实验动物管理条例》。

**1.2 药品与设备**  $BaCl_2$ 、环氧合酶 (cyclooxygenase, COX) 抑制剂吲哚美辛 (indomethacin, Indo)、细胞

外信号调节激酶 (ERK1/2) 抑制剂 PD98059、LVGC 阻滞剂硝苯地平 (nifedipine, Nife)、氯通道阻滞剂尼弗灭酸 (niflumic acid, NFA)、乙酰胆碱 (acetylcholine, ACh) 购自美国 Sigma 公司。二甲基亚砜 (DMSO) 及其他试剂均为市售分析纯 (购自天津市北辰方正化学试剂厂)。

离体微血管环张力记录仪 Multi Myography System (丹麦 DMT 公司); PowerLab 生物信号采集分析系统及张力换能系统 (澳大利亚埃德仪器国际贸易有限公司); 解剖显微镜 (日本 Nikon 公司); PHS-3C 精密 pH 计 (上海雷磁); Sartorius BS124S 精密天平 (北京赛多利斯); HW-1000 超级恒温水浴箱 (成都泰盟科技有限公司)。

**1.3 溶液配制** 正常生理盐溶液 (PSS) 成分为 (mmol/L): NaCl 118, KCl 4.7,  $MgCl_2$  1.2,  $KH_2PO_4$  1.2,  $NaHCO_3$  10, 葡萄糖 11,  $CaCl_2$  2.5, Hepes 10。60 mmol/L 高钾 PSS 成分为 (mmol/L): NaCl 62.7, KCl 60,  $MgCl_2$  1.2,  $KH_2PO_4$  1.2,  $NaHCO_3$  10, 葡萄糖 11,  $CaCl_2$  2.5, Hepes 10。无钙 PSS 液为正常 PSS 液中不含钙, 其他成分均与正常 PSS 液相同。Nife、Indo、PD98059、NFA 均用 DMSO 溶解, DMSO 在浴槽中的终浓度 < 0.1%。其余未注明者均用正常 PSS 溶解。本文所述浓度均为浴槽内的终浓度。

**1.4 离体 RCA 环制备** SD 大鼠腹腔注射戊巴比妥钠 (40 mg/kg), 断头, 放血处死, 即刻取出心脏, 置于 4 °C 预冷且用 95%  $O_2$  + 5%  $CO_2$  混合气体饱和的 PSS 中。将心脏转移至培养皿中, 在解剖显微镜下沿右心室打开心腔, 小心剥离室间隔支、室壁支以及前降支。将分离好的 RCA (直径 150~260  $\mu m$ ) 剪成长度约为 2 mm 的血管环, 使用两根直径为 40  $\mu m$  的钢丝固定于浴槽中, 通过逆时针旋转螺旋测微尺, 调整跨壁压。具体方法以及血管环前负荷设置参考文献<sup>[8]</sup>。

### 1.5 $BaCl_2$ 对静息状态离体 RCA 血管张力的影响

待血管环在浴槽 (5 mL PSS, 37 °C 恒温, pH 7.40) 中稳定 1 h 后, 将浴槽中液体更换为同体积 60 mmol/L KCl, 血管环即刻发生收缩反应, 当收缩达坪台后, 用 ACh (0.01 mmol/L) 对其进行舒张。连续刺激血管环三次, 当三次收缩幅度均  $\geq 2$  mN 且收缩或舒张幅度差异  $\leq 10\%$  时, 认为该血管环活性和反应性良好, 可用于实验<sup>[9]</sup>。静息状态下, 向浴槽内依次加入累积浓度  $BaCl_2$  (0.1, 0.3 和 1.0 mmol/L)。每次加入时, 待前一个浓度达到收缩坪台后再加下

一个浓度,记录 RCA 张力变化,最后以 60 mmol/L KCl 引起的收缩幅度为 100%,绘制 BaCl<sub>2</sub> 的浓度-效应曲线图。

**1.6 BaCl<sub>2</sub> 收缩 RCA 对细胞外钙 ([Ca<sup>2+</sup>]<sub>o</sub>) 内流和细胞内钙 ([Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub>) 释放的依赖性** 用 60 mmol/L KCl 检测 RCA 反应性,当该收缩可重复时,观察 RCA 对 0.3 mmol/L BaCl<sub>2</sub> 的收缩反应。待 RCA 恢复静息张力,30 min 后,用含有 1.0 mmol/L EGTA 的无钙 PSS 液洗脱 3 次,再用不含有 EGTA 的无钙 PSS 液洗脱 3 次,并孵育 20 min。继而观察 RCA 对 0.3 mmol/L BaCl<sub>2</sub> 的收缩反应,待该收缩相对稳定时,将 PSS 中 Ca<sup>2+</sup> 浓度恢复到 2.5 mmol/L,记录复钙前后 BaCl<sub>2</sub> 的收缩幅度。以 60 mmol/L KCl 引起的收缩幅度为 100%,分别计算复钙前后 BaCl<sub>2</sub> 引起的收缩幅度。

**1.7 抑制剂对 BaCl<sub>2</sub> 收缩的影响** 确认 RCA 对 BaCl<sub>2</sub> 反应可重复后,分别观察以下抑制剂对 BaCl<sub>2</sub> 收缩的影响:LVGC 阻滞剂 Nife (0.3 μmol/L)、氯通道阻滞剂 NFA (10, 30, 100 μmol/L)、COX 抑制剂

Indo (10, 30, 100 μmol/L)、ERK1/2 抑制剂 PD98059 (1, 3, 10 μmol/L)。分别用抑制剂预孵 30 min,观察预孵前后 RCA 对 BaCl<sub>2</sub> (0.1, 0.3 和 1.0 mmol/L) 的收缩反应。以 60 mmol/L KCl 引起的收缩幅度为 100%,分别计算预孵不同浓度的抑制剂前后 BaCl<sub>2</sub> 引起的收缩幅度。

**1.8 统计学处理** 实验数据以 mean ± SD 表示,采用 SPSS 19.0 进行统计学分析。采用 Graph Prism 6 进行统计学图表绘制。本文结果为同一个血管环上的自身前后对照研究,数据统计分析采用配对样本 *t* 检验。*P* < 0.05 时认为差异具有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 BaCl<sub>2</sub>对RCA静息张力的影响

静息状态下, BaCl<sub>2</sub> (0.1~1.0 mmol/L) 浓度依赖性地引起 RCA 收缩,最大收缩幅度 ( $E_{max}$ ) 为 (5.69 ± 1.07) mN ( $n = 10$ ),相当于 60 mmol/L KCl 收缩幅度 [(5.48 ± 1.21) mN] 的 (104.56 ± 10.15)%,其  $EC_{50}$  为 0.34 mmol/L (图 1A 和 1B)。

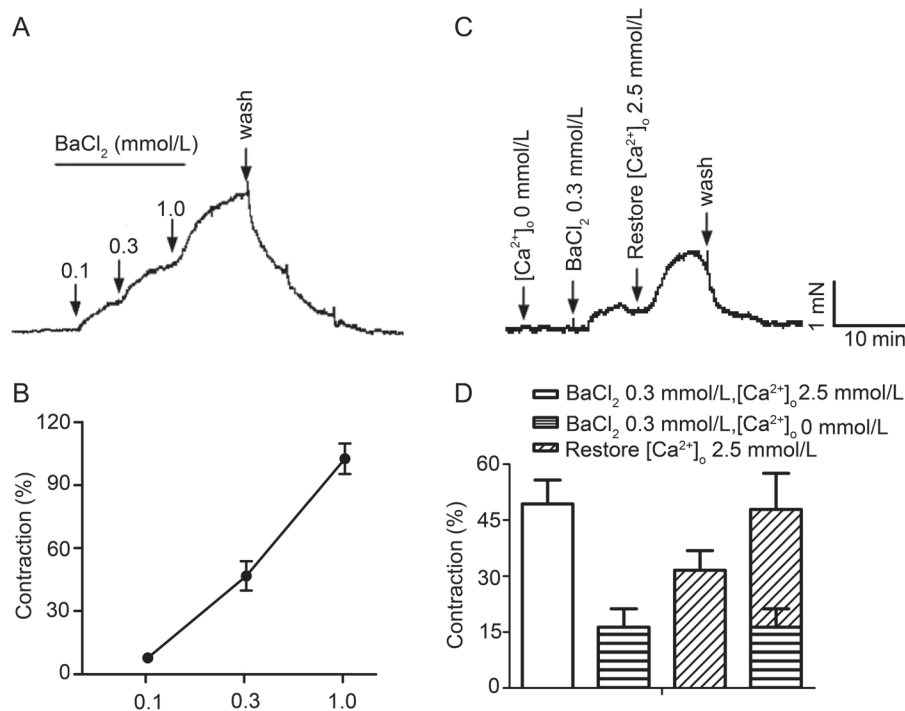


图 1. BaCl<sub>2</sub>对离体大鼠冠状动脉的收缩作用及其对细胞内外Ca<sup>2+</sup>的依赖性

Fig. 1. Vasoconstrictive effect of BaCl<sub>2</sub> and its dependence on intra/extracellular Ca<sup>2+</sup> in isolated rat coronary artery (RCA). A: Original tension trace of BaCl<sub>2</sub>-induced contraction in isolated RCA. B: Concentration-contraction curve of BaCl<sub>2</sub> in isolated RCA. C: Original recording of BaCl<sub>2</sub>-induced contraction in [Ca<sup>2+</sup>]<sub>o</sub>-depleted solution followed by restoration of 2.5 mmol/L [Ca<sup>2+</sup>]<sub>o</sub>. D: Collective data of C. Tension changes were expressed as percentages of the contraction induced by 60 mmol/L KCl. Data are presented as mean ± SD,  $n = 10-12$ .

## 2.2 BaCl<sub>2</sub>收缩RCA对细胞内外钙的依赖性

在正常 PSS 液中, BaCl<sub>2</sub> (0.3 mmol/L) 引起 RCA 的收缩幅度为 (3.06 ± 0.98) mN, 相当于 60 mmol/L KCl 引起收缩幅度的 (49.32 ± 6.46)%。在无钙液中, 其收缩幅度为 (1.02 ± 0.26) mN, 占 BaCl<sub>2</sub> 引起的总收缩的 (35.44 ± 6.72)%。复钙 2.5 mmol/L 后, RCA

继续收缩, 张力增加 (2.04 ± 0.54) mN, 占 BaCl<sub>2</sub> 引起的总收缩的 (64.56 ± 5.94)% (图 1C 和 1D)。

## 2.3 Nife和NFA对BaCl<sub>2</sub>引起RCA收缩的影响

为探讨 BaCl<sub>2</sub> 引起 RCA 收缩与离子通道的关系, 我们观察了 LVGC 阻滞剂 Nife 和氯通道阻滞剂 NFA 对 BaCl<sub>2</sub> 引起 RCA 收缩的影响。Nife (0.3

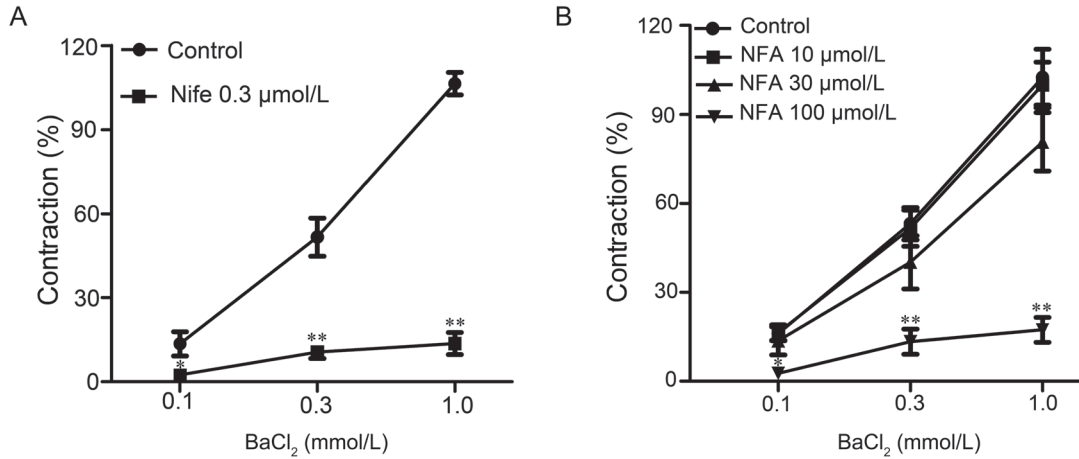


图 2. Nife和NFA对BaCl<sub>2</sub>引起离体大鼠冠状动脉收缩的抑制作用

Fig. 2. Inhibitory effect of Nife (A) and NFA (B) on BaCl<sub>2</sub>-induced contraction in isolated rat coronary artery (RCA). Nife (0.3 μmol/L) or NFA (10, 30 or 100 μmol/L) was added to the bath 30 min before BaCl<sub>2</sub> (0.1–1.0 mmol/L) addition. Contractions were expressed as percentages of the contraction induced by 60 mmol/L KCl. Data are presented as mean ± SD,  $n = 10$ , \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$  vs control.

μmol/L) 显著抑制 BaCl<sub>2</sub> 引起的 RCA 收缩, 对 BaCl<sub>2</sub> 引起的最大收缩的抑制率为 (87.82 ± 5.43)% ( $n = 10$ ,  $P < 0.01$ ) (图 2A)。NFA (10, 30, 100 μmol/L) 浓度依赖性地使 BaCl<sub>2</sub> 浓度 - 效应曲线右移, 并抑制最大效应。NFA (100 μmol/L) 对 BaCl<sub>2</sub> 引起的最大收缩的抑制率为 (83.24 ± 7.69)% ( $n = 10$ ,  $P < 0.01$ ), IC<sub>50</sub> 为 56.34 μmol/L (图 2B)。0.1% DMSO 对 BaCl<sub>2</sub> 引起 RCA 收缩无显著性影响。

## 2.4 Indo和PD98059对BaCl<sub>2</sub>引起RCA收缩的影响

为了进一步探讨 BaCl<sub>2</sub> 引起 RCA 收缩的机制, 我们观察了 COX 抑制剂 Indo 和 ERK1/2 通路抑制剂 PD98059 对 BaCl<sub>2</sub> 引起 RCA 收缩的影响。Indo (10, 30, 100 μmol/L) 浓度依赖性地使 BaCl<sub>2</sub> 浓度 - 效应曲线右移, 并抑制最大效应。Indo (100 μmol/L) 对 BaCl<sub>2</sub> 引起的最大收缩的抑制率为 (73.23 ± 5.47)% ( $n = 10$ ,  $P < 0.01$ ), IC<sub>50</sub> 为 93.42 μmol/L (图 3)。

PD98059 (1, 3, 10 μmol/L) 浓度依赖性地使 BaCl<sub>2</sub> 浓度 - 效应曲线右移, 并抑制 BaCl<sub>2</sub> 引起的收缩最大效应。3 和 10 μmol/L PD98059 分别使最大收缩降

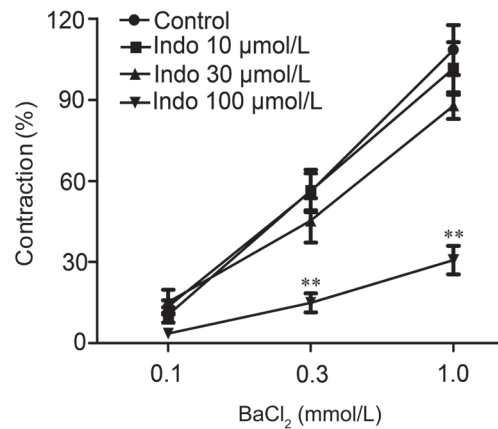


图 3. 吲哚美辛对BaCl<sub>2</sub>引起离体大鼠冠状动脉收缩的抑制作用

Fig. 3. Inhibitory effect of indomethacin on BaCl<sub>2</sub>-induced contraction in isolated rat coronary artery (RCA). Indo (10, 30 or 100 μmol/L) was added to the bath 30 min before BaCl<sub>2</sub> (0.1–1.0 mmol/L) addition. Contractions were expressed as percentages of the contraction induced by 60 mmol/L KCl. Data are presented as mean ± SD,  $n = 10$ . \*\* $P < 0.01$  vs control.

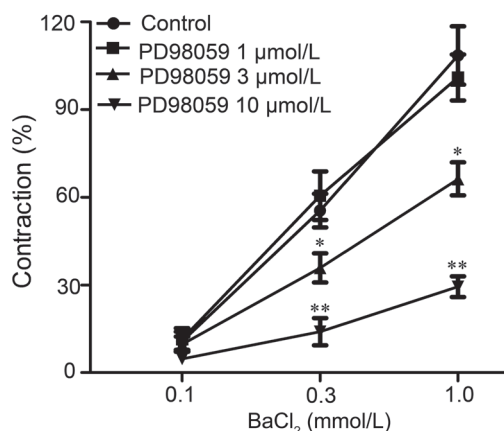


图 4. PD98059对BaCl<sub>2</sub>引起离体大鼠冠状动脉收缩的抑制作用

Fig. 4. Inhibitory effect of PD98059 on the contraction induced by BaCl<sub>2</sub> in isolated rat coronary artery (RCA). PD98059 (1, 3 or 10 μmol/L) was added to the bath 30 min before BaCl<sub>2</sub> (0.1–1.0 mmol/L) addition. Contractions were expressed as percentages of the contraction induced by 60 mmol/L KCl. Data are presented as mean ± SD,  $n = 10$ . \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$  vs control.

低 ( $40.62 \pm 5.29\%$ ) ( $n = 10$ ,  $P < 0.05$ ) 和 ( $75.69 \pm 7.94\%$ ) ( $n = 10$ ,  $P < 0.01$ ), 其  $IC_{50}$  为  $4.58 \mu\text{mol/L}$  (图 4)。

### 3 讨论

$K_{ir}$ 通道是分布于血管平滑肌上主要的钾通道类型之一, 主要参与稳定细胞膜电位和动作电位复极末期, 与细胞的兴奋性密切相关。 $K_{ir}$ 通道多存在于冠状动脉、脑动脉、肾动脉等直径较小的血管<sup>[4]</sup>, 在血管平滑肌收缩和舒张活动中起重要作用。细胞外  $K^+$  在一定范围内增高 ( $5 \sim 15 \text{ mmol/L}$ ) 可通过激活  $K_{ir}$  而引起血管舒张反应<sup>[10]</sup>; 而一些内源性缩血管物质如内皮素-1<sup>[5]</sup>和血管紧张素<sup>[6]</sup>可以通过抑制  $K_{ir}$  而产生血管收缩效应。在一定浓度范围内,  $Ba^{2+}$  选择性抑制  $K_{ir}$  而收缩血管<sup>[11,12]</sup>, 然而其具体作用机制尚不明确。

钙离子作为细胞内重要的第二信使之一, 广泛参与机体的各种生物活动。 $[Ca^{2+}]_i$  升高是多种缩血管因素引起血管平滑肌收缩的共同现象。本研究结果表明, 静息状态下,  $BaCl_2$  可以浓度依赖性地引起 RCA 收缩,  $BaCl_2$  引起 RCA 收缩所需的  $[Ca^{2+}]_i$  增高至少有两个机制, 即促进  $[Ca^{2+}]_i$  释放和增加  $[Ca^{2+}]_o$  跨细胞膜内流。在无钙 PSS 中,  $BaCl_2$  收缩 RCA, 说明  $BaCl_2$  可以动员  $[Ca^{2+}]_i$ , 但此相收缩呈

一过性且收缩幅度较小, 复钙后 RCA 继续持续收缩。这是因为血管平滑肌细胞内贮存  $Ca^{2+}$  能力有限, 要引起持续收缩必须有  $[Ca^{2+}]_o$  内流的持续补充。为进一步探讨  $BaCl_2$  对  $Ca^{2+}$  的动员机制, 本文还观察了 LVGCs 阻滞剂 Nife 对  $BaCl_2$  引起 RCA 收缩的影响。Nife 对  $BaCl_2$  引起的 RCA 收缩的抑制作用很强, 在 Nife 存在时,  $BaCl_2$  收缩强度显著弱于  $BaCl_2$  在无钙液中所引起的收缩。这一方面提示  $BaCl_2$  收缩主要依赖于  $[Ca^{2+}]_o$  内流, 另一方面还提示 Nife 可能有其他的细胞内作用点, 如抑制细胞内磷酸二酯酶<sup>[13]</sup>。

花生四烯酸是人体中一种重要的脂肪酸, 是合成前列腺素类、血栓素类以及白三烯类等生物活性物质的直接前体<sup>[14]</sup>。花生四烯酸在 COX 的作用下产生前列腺素类物质。内源性前列腺素类物质很多, 它们对体内许多生物现象具有重要的调节作用。本研究结果显示, Indo 可以抑制  $BaCl_2$  引起的 RCA 收缩作用, 说明前列腺素类物质参与了  $BaCl_2$  引起的 RCA 收缩。

氯通道是位于细胞膜上的一类重要的阴离子通道, 广泛参与细胞的多种功能调节过程, 包括细胞电活动调节、增殖分化、细胞内 pH 调节、血管平滑肌收缩等过程。NFA 为钙敏感的氯通道 (calcium-activated  $Cl^-$  channel, CaCC) 阻滞剂<sup>[15]</sup>。文献报道, CaCC 电流增强可以引起血管平滑肌细胞收缩<sup>[16]</sup>, 提示氯通道在维持血管平滑肌张力中发挥重要作用。目前已知 CaCC 和  $K_{ir}$  通道均参与肌张力的调控, 但这两种通道之间的关系并不清楚。本研究结果显示, NFA 使  $BaCl_2$  引起的 RCA 收缩的幅度降低了 83.24%。由此推测,  $K_{ir}$  通道和 CaCC 之间可能存在相互作用, 共同参与血管平滑肌张力的维持和调节。

ERK1/2 激酶是丝裂原活化蛋白激酶 (mitogen-activated protein kinase, MAPK) 家族成员之一, 是将信号从表面受体传导至细胞核的关键<sup>[17]</sup>。ERK1/2 被磷酸化激活后, 可以促进某些基因的转录和表达, 与细胞的增殖、分化等多种生物学反应密切相关。文献报道, 当预先给予大鼠大脑中动脉不同张力前负荷时, PD98059 可以通过作用于 LVGC 而影响大鼠大脑中动脉的收缩<sup>[18]</sup>。本文结果显示, PD98059 (10 μmol/L) 抑制  $BaCl_2$  引起的 RCA 收缩作用, 提示 ERK1/2 通路可能通过影响 LVGC 而参与  $BaCl_2$  引起的 RCA 收缩。

综上所述, 本研究提示,  $BaCl_2$  阻滞  $K_{ir}$  而引起

的 RCA 收缩与前列腺素类物质、氯通道、 $[Ca^{2+}]_i$  内流和  $[Ca^{2+}]_i$  释放以及 ERK1/2 通路有关, 至于这些因素之间的相互因果关系目前并不清楚, 尚需进一步研究。总之, 本文对了解  $K_{ir}$  对 RCA 肌源性反应的调节及治疗  $K_{ir}$  相关的冠状动脉功能障碍性疾病具有一定的参考价值。

\*                      \*                      \*

**致谢:** 感谢山西医科大学教师张轩萍、李洁、陈敏、牛龙刚在整个实验过程中给予的技术指导; 感谢山西医科大学研究生李卫萍、景宜馨、宋奇颖、郭鹏美、董苗苗、董丽娜在 DMT 仪器使用、动物处理以及实验方法上给予的帮助。

### 参考文献

- 1 Kuang Q, Purhonen P, Hebert H. Structure of potassium channels. *Cell Mol Life Sci* 2015; 72(19): 3677–3693.
- 2 Ko EA, Han J, Jung ID, Park WS. Physiological roles of  $K^+$  channels in vascular smooth muscle cells. *J Smooth Muscle Res* 2008; 44(2): 65–81.
- 3 Dick GM, Tune JD. Role of potassium channels in coronary vasodilation. *Exp Biol Med (Maywood)* 2010; 235(1): 10–22.
- 4 Chilton L, Smirnov SV, Loutzenhiser K, Wang X, Loutzenhiser R. Segment-specific differences in the inward rectifier  $K^+$  current along the renal interlobular artery. *Cardiovasc Res* 2011; 92(1): 169–177.
- 5 Park WS, Han J, Kim N, Youm JB, Joo H, Kim HK, Ko JH, Earm YE. Endothelin-1 inhibits inward rectifier  $K^+$  channels in rabbit coronary arterial smooth muscle cells through protein kinase C. *J Cardiovasc Pharmacol* 2005; 46(5): 681–689.
- 6 Park WS, Kim N, Youm JB, Warda M, Ko JH, Kim SJ, Earm YE, Han J. Angiotensin II inhibits inward rectifier  $K^+$  channels in rabbit coronary arterial smooth muscle cells through protein kinase Calpha. *Biochem Biophys Res Commun* 2006; 341(3): 728–735.
- 7 Tian X, Hu T, Zhang H, He L, Huang X, Liu Q, Yu W, He L, Yang Z, Yan Y, Yang X, Zhong TP, Pu WT, Zhou B. Vessel formation. *De novo* formation of a distinct coronary vascular population in neonatal heart. *Science* 2014; 345(6192): 90–94.
- 8 Niu LG, Liu Y, Hou XM, Cui LJ, Li JT, Zhang XP, Zhang MS. Extracellular acidosis contracts coronary but neither renal nor mesenteric artery via modulation of  $H^+$ ,  $K^+$ -AT-Pase, voltage-gated  $K^+$  channels and L-type  $Ca^{2+}$  channels. *Exp Physiol* 2014; 99(7): 995–1006.
- 9 Liu Y, Niu LG, Cui LJ, Hou XM, Li JT, Zhang XP, Zhang MS. Hesperetin inhibits rat coronary constriction by inhibiting  $Ca^{2+}$  influx and enhancing voltage-gated  $K^+$  channel currents of the myocytes. *Eur J Pharmacol* 2014; 735: 193–201.
- 10 Chilton L, Loutzenhiser R. Functional evidence for an inward rectifier potassium current in rat renal afferent arterioles. *Circ Res* 2001; 88(2): 152–158.
- 11 Xu RW, Zhao YF, Chen C. Growth hormone-releasing peptide-2 reduces inward rectifying  $K^+$  currents via a PKA-cAMP-mediated signalling pathway in ovine somatotropes. *J Physiol* 2002; 545(2): 421–433.
- 12 So EC, Lo YC, Chen LT, Kao CA, Wu SN. High effectiveness of triptolide, an active diterpenoid triepoxide, in suppressing  $K_{ir}$ -channel currents from human glioma cells. *Eur J Pharmacol* 2014; 738: 332–341.
- 13 Norman JA, Ansell J, Phillips MA. Dihydropyridine  $Ca^{2+}$  entry blockers selectively inhibit peak I cAMP phosphodiesterase. *Eur J Pharmacol* 1983; 93(1–2): 107–112.
- 14 Sacerdoti D, Pesce P, Di Pascoli M, Brocco S, Cecchetto L, Bolognesi M. Arachidonic acid metabolites and endothelial dysfunction of portal hypertension. *Prostaglandins Other Lipid Mediat* 2015; 120: 80–90.
- 15 Sanders KM, O'Driscoll K, Leblanc N. Pharmacological properties of native CaCCs and TMEM16A. *Channels* 2014; 8(6): 473–474.
- 16 Hubner CA, Schroeder BC, Ehmke H. Regulation of vascular tone and arterial blood pressure: role of chloride transport in vascular smooth muscle. *Pflugers Arch* 2015; 467(3): 605–614.
- 17 Roskoski R Jr. ERK1/2 MAP kinases: structure, function, and regulation. *Pharmacol Res* 2012; 66(2): 105–143.
- 18 Lagaud GJ, Lam E, Lui A, van Breemen C, Laher I. Nonspecific inhibition of myogenic tone by PD98059, a MEK1 inhibitor, in rat middle cerebral arteries. *Biochem Biophys Res Commun* 1999; 257(2): 523–527.