

· 论 著 ·

钩藤碱对猪冠状动脉平滑肌舒缩作用的影响及其机制*

李鹏云, 杨 艳, 程 俊, 刘智飞, 裴 杰, 周 文, 曾晓荣[△]

(泸州医学院心血管医学研究所, 四川泸州 646000)

摘要:目的 观察钩藤碱对离体猪冠状动脉血管的作用,并探讨其作用机制。方法 采用血管环张力测定技术及全细胞穿孔膜片钳技术分别观察钩藤碱对离体猪冠状动脉血管环张力的影响以及对大电导钙激活钾通道(BK_{Ca})的作用。结果 血管环张力实验显示钩藤碱能够明显舒张[(89.94±1.18)%, n=7]高钾(40 mmol/L)去极化所致的冠状动脉血管收缩,而 K⁺通道阻断剂四乙基胺(TEA)不能抑制钩藤碱的舒血管作用,提示 K⁺通道几乎不参与钩藤碱对猪冠状动脉血管的舒张。在全细胞穿孔膜片钳模式下,钩藤碱(100 μmol/L)可显著抑制猪冠状动脉平滑肌细胞的 BK_{Ca}通道[(48.22±4.24)%, n=6],BK_{Ca}通道介导的自发性瞬时外向电流(STOCs)的幅度和频率也分别下降了(45.74±6.26)%和(87.98±6.39)%(n=5)。结论 钩藤碱可明显舒张猪冠状动脉血管,而对全细胞 BK_{Ca}通道具有明显的抑制作用,K⁺通道的激活在钩藤碱的舒血管机制中所起的作用不大。

关键词:钩藤属;钾通道,钙激活;肌,平滑,血管;冠状动脉

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2012.16.001

文献标识码:A

文章编号:1671-8348(2012)16-1561-03

Mechanism of Rhynchophylline-induced relaxation in porcine coronary artery*

Li Pengyun, Yang Yan, Cheng Jun, Liu Zhiwei, Pei Jie, Zhou Wen, Zeng Xiaorong[△]

(Department of Electrophysiology, Institute of Cardiovascular, Luzhou Medical College, Luzhou, Sichuan 646000, China)

Abstract: Objective To examine the effect of rhynchophylline (Rhy) on porcine coronary artery rings and to investigate the mechanism involved. **Methods** The isometric tension of coronary arterial rings taken from porcine hearts was measured and its response to Rhy(100 μmol/L) was studied. The effect of Rhy on BK_{Ca} currents was observed by whole-cell perforated patch clamp configuration. **Results** Rhy(100 μmol/L) significantly antagonized[(89.94±1.18)%, n=7] the coronary artery tension increase precontracted with KCl(40 mmol/L), K⁺ channels blocker TEA(10 mmol/L) failed to prevent the relaxation effect of Rhy. Under the perforated whole-cell patch-clamp configuration, Rhy(100 μmol/L) significantly inhibited BK_{Ca} currents[(48.22%±4.24%, n=6)]. The mean amplitude and frequency of spontaneous transient outward currents(STOCs) or transient BK_{Ca} currents were also remarkably inhibited by (45.74±6.26)% and (87.98±6.39)%(n=5), respectively. **Conclusion** Rhy relaxes recontracted porcine coronary artery; K⁺ channel activation is almost not involved in coronary artery relaxation induced by Rhy.

Key words: uncaria; potassium channels, calcium-activated; muscle, smooth, vascular; coronary

钩藤,性甘寒,具有清热平肝、熄风镇痉之功效,是著名平肝熄风代表方“天麻钩藤饮”的主药之一。现代药理学研究证明钩藤具有扩张外周血管、降压、抑制心肌肥厚、负性肌力及负性频率的作用^[1],临床上主要用于治疗高血压、癫痫等心脑血管和中枢神经系统疾病。中药化学研究证明钩藤碱是中药钩藤的主要有效活性成分之一^[2],其药理学活性与钩藤近似,具有显著的抗高血压和神经保护作用^[3]。目前采用动物模型研究表明,钩藤碱抗高血压效应主要与其舒血管活性相关,但钩藤碱对冠状动脉血管的舒缩作用及其离子通道机制的研究目前未见报道。

大电导钙激活钾通道(large conductance calcium-activated potassium channel, BK_{Ca})是血管舒缩活动调节中的重要靶点。相对少量 BK_{Ca}通道的激活就可造成细胞膜超极化,间接抑制 L 型电压依赖性钙通道(L-type voltage-dependent calcium channel, L-VDCCs)活动,从而负反馈调节平滑肌的舒张^[4]。近年来的进一步研究发现,细胞内肌质网上簇集分布的兰诺定受体(ryanodine receptors, RyRs)的协调开放激活 BK_{Ca}通道产生的自发性瞬时外向电流(spontaneous transient outward currents, STOCs)是生理状态下 BK_{Ca}通道发挥负反馈调控的基础^[5]。

有研究发现在内面向外式膜片下,钩藤碱(60 μmol/L)可

激活平滑肌细胞的 BK_{Ca}通道^[6-7]。而钩藤碱在全细胞模式或组织水平能否引起 BK_{Ca}开放增加,目前未见报道。本研究以猪冠状动脉为研究对象,采用血管环张力测定技术及全细胞穿孔膜片钳技术,探讨钩藤碱对血管张力的调节,以及全细胞模式下钩藤碱对平滑肌细胞 BK_{Ca}的影响。

1 材料与方法

1.1 药品与试剂 钩藤碱(纯度≥98%,中药固体制剂制造技术国家工程研究中心提供,批号 1266-070214)、清蛋白、木瓜蛋白酶、H 型胶原酶、透明质酸酶、二硫苏糖醇(dithiothreitol, DTT)、羟乙基哌嗪乙磺酸(hydroxyethyl piperazine ethanesulfonic acid, HEPES)、乙二醇四乙酸酯(ethylene glycol tetraacetate, EGTA)、四乙基胺(tetraethylammonium, TEA)、二性霉素 B、蝎毒素(ibetioxin, IbTX)均购自 Sigma 公司,余为国产分析纯试剂。

1.2 主要实验溶液 台式液:NaCl 127 mmol/L, KCl 5.9 mmol/L, MgCl₂ 1.2 mmol/L, CaCl₂ 2.4 mmol/L, 葡萄糖 12.0 mmol/L, HEPES 10.0 mmol/L, pH 7.4(NaOH)。无钙台式液除不含 CaCl₂外,其余成分与台式液一致。除特殊注明外,采用以下记录 BK_{Ca}通道电流的电极内液和浴液。电极内液:K-天冬氨酸 110 mmol/L, KCl 30 mmol/L, NaCl 10 mmol/L, MgCl₂ 1 mmol/L, EGTA 0.05 mmol/L, HEPES 10 mmol/L,

二性霉素 B 200 $\mu\text{g}/\text{mL}$, pH 7.2 (KOH); 浴液: NaCl 134 mmol/L, CaCl_2 1.8 mmol/L, MgCl_2 1 mmol/L, KCl 6 mmol/L, 葡萄糖 10 mmol/L, HEPES 10 mmol/L, pH 7.4 (NaOH)。酶液 1 为含 0.86 g/L 木瓜蛋白酶、2.0 g/L 清蛋白、1.5 g/L DTT 的无钙台式液; 酶液 2 为含 1.24 g/L H 型胶原酶、1.5 g/L 透明质酸酶及 1.5 g/L 清蛋白的无钙台式液。

1.3 离体猪冠状动脉血管环张力实验 屠宰场处死猪后, 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。分离出左冠状动脉前降支(内径约 1~2 mm, 壁厚约 0.5 mm), 放入盛有台式液的器皿中, 仔细剔除血管壁上的脂肪、纤维组织和外膜, 注意尽量减少对组织的损伤。将分离出的冠状动脉血管剪成长约 0.5 cm 的血管环, 浸入台式液中 4 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱保存备用。实验时, 将血管环固定在通 95% O_2 和 5% CO_2 , 37 $^{\circ}\text{C}$ 的恒温浴槽中, 通过张力换能器与多道生理记录仪输入端相连, 将血管环张力传递至 Powerlab 生物信号采集处理系统。冠状动脉血管前负荷 1 g, 平衡 60 min 并间隔 20 min 更换台式液, 待基线平稳后开始实验。标本稳定后, 加入高浓度的 KCl 溶液, 使肌槽内终浓度为 40 mmol/L, 引起冠状动脉环发生最大收缩, 稳定 10~15 min。在此基础上观察钩藤碱对血管张力的影响。实验开始前所有动脉环用 40 mmol/L KCl 多次刺激, 当标本对刺激稳定时, 即相邻连续两次同样的刺激所引起的收缩幅度差别小于 10% 时, 且在此基础上 10 $\mu\text{mol}/\text{L}$ 乙酰胆碱所引起的舒张幅度小于 20%, 可认为内皮去除。之后用新鲜的台式液换洗后开始正式实验, 观察药物干预的作用。

1.4 参照文献[8]报道的方法。 将外膜和纤维、脂肪组织剔除干净的血管置于预冷台式液中, 纵向剖开血管后用细小的棉签在其内膜面轻轻来回摩擦几下以去除内皮, 之后将其斜行剪成 2 mm \times 5 mm 的条块。将组织块放入酶液 1, 在 37 $^{\circ}\text{C}$ 恒温水箱内振荡消化 15~20 min 左右, 将组织取出转入酶液 2 中继续消化 8~10 min, 之后取出组织置于无钙台式液中用吸管轻轻吹打, 吸取细胞悬液于倒置相差显微镜下进行观察, 如能找到 4~5 个细胞/低倍视野, 且细胞膜完整光滑, 折光性好, 即可中止消化。细胞悬液于 4 $^{\circ}\text{C}$ 保存备用。

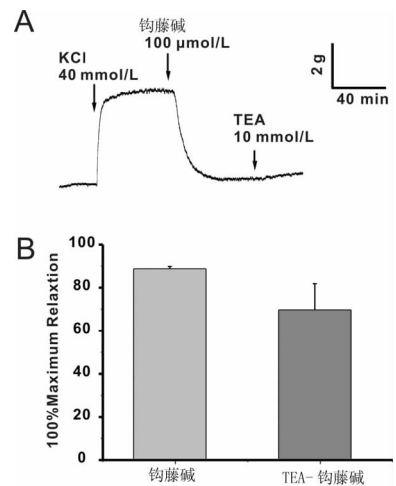
1.5 BK_{Ca} 通道电流的记录 实验在室温下 (20~25 $^{\circ}\text{C}$) 进行, 将分离所得的冠状动脉平滑肌细胞置于倒置相差显微镜台的浴槽中, 将灌有电极液的微管电极固定于电极夹持器上, 给予电极内一定正压, 用微电极操纵器控制微管电极浸入浴液, 发放振幅 1 mV、波宽 40 ms 的矩形脉冲作为参考脉冲, 检测电极尖端阻抗并观察封接形成过程, 调节放大器“V-COMP”旋钮补偿液接电位为零。操纵微推进器使电极尖端贴附在细胞表面, 在示波器上可见应答电流(参考脉冲振幅)减少, 稍加负压 (10~20 cmH $_2\text{O}$) 即可见应答电流下降直至为零, 电流噪声随之减小, 表明高阻封接形成(阻抗高达 10 G Ω 以上), 即形成细胞贴附式膜片 (cell-attached patch)。调节 C-fast 进行快电容补偿。在此基础上, 二性霉素 B 在细胞膜片上逐渐穿孔形成全细胞构型, 补偿串联电阻使其最小化(一般小于 10 M Ω), 同时调节 C-slow 进行慢电容补偿, 之后即可对细胞实行电压钳制。用一小的超极化电压方波脉冲测定全细胞膜电容引起的电流瞬变; 保持电位 (holding potential, HP) -60 mV, 阶跃超极化到 -65 mV, 方波持续时间 20 ms, 以此计算细胞膜电容 (membrane capacitance, Cm)。全细胞 BK_{Ca} 通道电流采用阶跃方波除极或斜坡除极脉冲引出。阶跃方波脉冲方案: HP: -60 mV, 从 -50 mV 以 10 mV 阶跃除极至 +70 mV, 脉冲时程 400 ms。斜坡脉冲方案: HP: -60 mV, 斜坡从 -80 mV 以

0.028 V/s 的速度除极至 +70 mV。电流信号经膜片钳放大器 (CEZ-2300) 放大, 1 kHz 低通滤波, 经 12 位 A/D、D/A 转换器 (Digidata 1322A, Axon Instrument, USA), 在专用软件 PCLAMP (Version 10.1, Axon Instrument, USA) 支持下记录储存于计算机。采样频率为 10 kHz, 采样方式为 Clampex 下的 Episodic stimulation。

1.6 统计学处理 采用 SPSS11.0 软件进行统计学分析, 实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间比较采用 *t* 检验, $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 钩藤碱对猪冠状动脉血管张力的影响 平衡约 1 h 血管张力稳定后, 在恒温浴槽中加入 40 mmol/L KCl, 见图 1A, 血管张力即刻显著增加, 张力基本稳定后在台式液中直接加入 100 $\mu\text{mol}/\text{L}$ 钩藤碱, 观察到 KCl 诱发的血管张力增加几乎完全被抑制, 20 min 后血管张力约下降了 89.94% \pm 1.18% ($P = 0.003$, $n = 7$), 随后浴槽中加入 K^+ 通道阻断剂 10 mmol/L TEA 并不能抑制钩藤碱引起的血管舒张 ($P = 0.148$, $n = 4$); 平行实验中采用 10 mmol/L TEA 阻断 K^+ 通道后, 钩藤碱仍能显著降低血管张力 75.95% \pm 13.41% ($P = 0.026$, $n = 5$), 提示 K^+ 通道在钩藤碱的舒张血管机制中所起的作用不大, 见图 1B。



A: 钩藤碱 (100 $\mu\text{mol}/\text{L}$) 明显降低 KCl (40 mmol/L) 预收缩引起的血管张力增加, 随后 K^+ 通道阻断剂 TEA (10 mmol/L) 不能对抗血管的舒张。B: 柱状图显示未用 TEA 预处理组和 TEA 预处理组钩藤碱引起的血管舒张无明显差异。

图 1 钩藤碱对血管环张力的影响

2.2 BK_{Ca} 通道的基本特性 本实验采用二性霉素 B 穿孔的全细胞膜片钳技术记录猪冠状动脉平滑肌细胞 BK_{Ca} 通道。给予小的超极化脉冲引出瞬变电流, 计算出细胞膜电容为 (20.74 \pm 5.58) pF ($n = 20$)。用阶跃方波及斜坡除极脉冲引出的外向电流见图 2A 和 2B。电流随着膜电位的增加而增加, 具有一定的外向整流特性, 在较高除极电压时电流呈现大噪声样特征。在观察的 2 h 内, 记录的电流未发现“rundown”现象。同时实验中观察到 STOCs 随机性地叠加到全细胞 BK_{Ca} 电流上。 BK_{Ca} 通道特异性阻断剂蝎毒素 (iberiotoxin, IbTX) 200 nmol/L 几乎完全抑制 BK_{Ca} 宏观电流及其上叠加的 STOCs ($n = 5$) (图 2B 和 2D)。单个 STOC 呈不对称的钟型, 快速上升 [上升时间 = (15.02 \pm 0.89) ms], 缓慢衰减 [衰减时间 = (31.72 \pm 1.86) ms]。图 2C 显示了在不同钳制电压下的全细胞 STOCs 图形: 当细胞膜的钳制电压在 -60 mV 时, STOCs 仅有少数出现; 随着细胞膜去极化程度的增大 (-50 ~

-10 mV),可观察到 STOCs 的幅度和频率均明显增加。

2.3 钩藤碱对 BK_{Ca} 宏观电流及 STOCs 的影响 实验中观察 BK_{Ca} 宏观电流基本稳定后,细胞外给予钩藤碱,使其终浓度为 100 μmol/L。约 10 min 后可观察到全细胞 BK_{Ca} 宏观电流明显减小,见图 3A。在 +60 mV, BK_{Ca} 宏观电流较加药前明显抑制了 (48.22±4.24)% (P=0.024, n=6),加药前、后记录到的 BK_{Ca} 宏观电流密度分别为 (15.36±4.31) pA/pF 和 (7.52±1.98) pA/pF。加药前后电流变化的电流-电压关系曲线 (I-V curves) 见图 3C。同时,实验中也观察到钩藤碱 (100 μmol/L) 明显抑制猪冠状动脉平滑肌细胞 STOCs 的活性,使其幅度 (Amplitude) 和频率 (Frequency) 分别下降了 (45.74±6.26)% (P=0.018, n=5) 和 (87.98±6.39)% (P=0.032, n=5)。

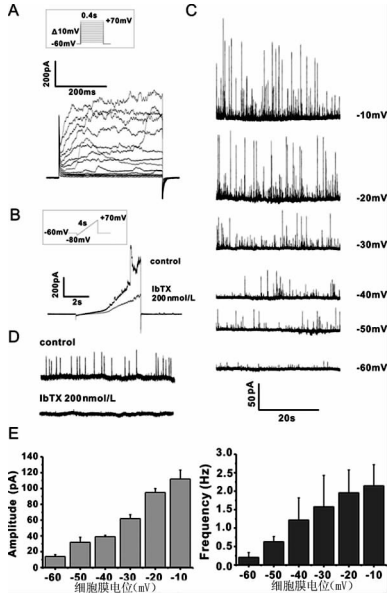


图 2 猪冠状动脉平滑肌细胞 BK_{Ca} 宏观电流及 STOCs
A: 阶跃方波除极脉冲刺激引出的 BK_{Ca} 宏观电流, STOCs 自发性叠加到 BK_{Ca} 宏观电流上。B: 斜坡除极脉冲刺激引出的 BK_{Ca} 宏观电流, BK_{Ca} 的特异性阻断剂 IbTX (200 nmol/L) 几乎完全抑制 BK_{Ca} 电流。C: STOCs 的幅度和频率随钳制电位的增加而显著增加。D: IbTX (200 nmol/L) 完全抑制 STOCs 的活性。E: STOCs 的幅度和频率具有明显的电压依赖性 (n=7)。

3 讨论

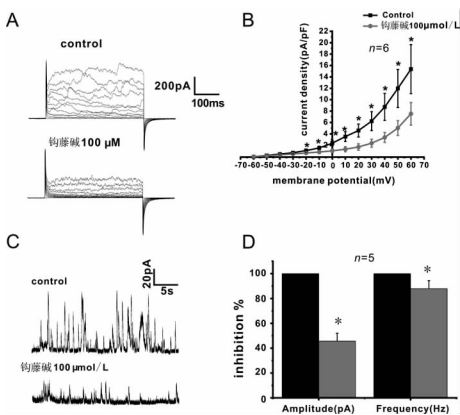
血管平滑肌的舒缩活动受诸多因素的影响,包括神经调节、体液调节和肌源性调节。在上述调节机制中,离子通道起着非常重要的作用。电压依赖性钙通道和钾通道在调控血管舒缩活动中发挥重要的作用。Ca²⁺ 通道的抑制和 K⁺ 通道的激活均可导致血管舒张^[9]。其中, BK_{Ca} 是血管平滑肌细胞上广泛存在的一类 K⁺ 通道,携带约 70%~80% 的外向电流,在调节冠状动脉血流量中起着举足轻重的作用。

血管环张力实验表明, K⁺ 通道阻断剂 TEA 不能抑制钩藤碱的血管舒张效应,提示 K⁺ 通道在钩藤碱对猪冠状动脉血管的舒张机制中参与的成分很少。目前已经明确, KCl 引起血管收缩主要与细胞膜的去极化引起 L-VDCCs 开放,进而使 [Ca²⁺]_i 增加触发兴奋收缩耦联有关。因此,本组推测钩藤碱对血管的舒张作用可能与血管平滑肌的 L-VDCCs 相关^[3]。如已有报道在离体家兔主动脉条,钩藤碱明显减少 KCl (40 mmol/L) 溶液所致的 Ca²⁺ 内流量,提示钩藤碱可能为一种钙拮抗剂^[10]。Wang 等^[11] 研究发现钩藤碱可直接抑制大鼠心室肌细胞的钙通道。Zhang 等^[12] 在血管环方面的研究也提示钩藤碱对血管的舒张作用可能与 L-VDCCs 相关;另外,高浓度的钩藤碱 (>100 μmol/L) 可抑制咖啡因和环匹阿尼酸 (cyclopiazonic acid, CPA) 诱导的血管收缩。以上研究结果提示钩藤碱的血管舒张效应主要与影响钙转运功能 (包括外钙内流和胞内钙释放) 有关。

实验中采用全细胞穿孔膜片钳技术,首先,观察了猪冠状动脉平滑肌细胞 BK_{Ca} 及 STOCs 的基本特性。与以往研究结果类似^[8],猪冠状动脉平滑肌细胞的 BK_{Ca} 及 STOCs 具有明显的电压依赖性,两者均可被 BK_{Ca} 特异性阻断剂 IbTX 阻断,从而证实 STOCs 是由 BK_{Ca} 激活产生的。其次,研究了钩藤碱对猪冠状动脉平滑肌细胞 BK_{Ca} 及 STOCs 的作用。实验中发现钩藤碱 (100 μmol/L) 可明显抑制全细胞 BK_{Ca} 及 STOCs,洗脱后电流不能完全恢复。而开丽和王中峰^[6] 研究发现,在内面向外式膜片下,钩藤碱可浓度依赖性地激活大鼠肺动脉平滑肌细胞的 BK_{Ca},主要通过增加 BK_{Ca} 的开放概率,降低通道开放时间。刘书宏等^[7] 也报道钩藤碱可激活人肠系膜动脉平滑肌细胞 BK_{Ca} 单通道活性。研究结果的差异可能与以下几个因素有关:(1) 采用的记录方式不同。内面向外模式主要用于研究通道的动力学特性。在此模式下记录 BK_{Ca} 单通道电流时,电压钳制的仅是一小片细胞膜,细胞内环境已发生了很大的改变,缺少了细胞内一些信号分子及信号通路的调控。而全细胞模式下,电压钳制的是整个细胞膜,相对接近于细胞的生理状态,在此模式下记录到的 BK_{Ca} 电流属于宏观电流 (macroscopical current),在一定条件下是整个细胞上 BK_{Ca} 通道活动形成的总和电流。(2) 不同记录模式下细胞内游离 Ca²⁺ 的浓度不同, BK_{Ca} 通道对 Ca²⁺ 的敏感性可能也存在差异。(3) BK_{Ca} 活性受到细胞内很多内源性信号分子的调控^[13]。因而在全细胞模式下,钩藤碱对 BK_{Ca} 活性的调节过程中是否涉及一些内源性的信号分子,还需要进一步的证实。

本实验通过膜片钳技术证实,钩藤碱可明显抑制 BK_{Ca} 宏观电流。结合血管环的实验结果表明,钩藤碱在整体动物或组织器官水平上表现的舒张血管、降压的作用可能主要与 Ca²⁺ 通道抑制有关,进而引起细胞 [Ca²⁺]_i 下降, BK_{Ca} 的激活减少。然而,目前关于钩藤碱的研究还仅仅局限于单体或有效成分,但中药应用以复方为主,多味中药往往协同作用,且中药复方在体内代谢复杂,有效成分也是复杂多样,因(下转第 1566 页)

图 3 钩藤碱明显抑制猪冠状动脉平滑肌细胞 BK_{Ca} 宏观电流及 STOCs



A: 钩藤碱 (100 μmol/L) 显著抑制 BK_{Ca} 宏观电流。B: 加药前、后的电流-电压关系曲线 (I-V curves), 钩藤碱 (100 μmol/L) 明显抑制不同电压 (-20 mV 到 +70 mV) 下的 BK_{Ca} 宏观电流 (n=6)。C 和 D: 实验中记录到的钳制电位在 0 mV 的 STOCs, 钩藤碱 (100 μmol/L) 明显抑制 STOCs 的幅度和频率。

图 3 钩藤碱明显抑制猪冠状动脉平滑肌细胞 BK_{Ca} 宏观电流及 STOCs

- 与调控[J]. 中国骨伤, 2009, 22(2): 156-159.
- [2] 葛广勇, 赵建宁, 刘刚. 膝骨性关节炎模型的分期特征[J]. 中国临床康复, 2006, 10(4): 47-49.
 - [3] Kuroki H, Nakagawa Y, Mori K, et al. Acoustic stiffness and change in plug cartilage over time after autologous osteochondral grafting: correlation between ultrasound signal intensity and histological score in a rabbit model[J]. Arthritis Res Ther, 2004, 6(6): 492-504.
 - [4] Pelletier JP, Lascau-Coman V, Jovanovic D, et al. Selective inhibition of inducible nitric oxide synthase in experimental osteoarthritis is associated with reduction in tissue levels of catabolic factors [J]. J Rheumatol, 1999, 26(9): 2002-2014.
 - [5] 施桂英, 栗占国. 关节炎诊断与治疗[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2009: 14-21.
 - [6] 柴本甫, 汤雪明. 骨关节炎股骨头肉芽组织的超微结构研究[J]. 中华骨科杂志, 1991, 11(1): 40-42.
 - [7] Buckwalter JA, Martin JA. Osteoarthritis[J]. Adv Drug Deliv Rev, 2006, 58(2): 150-167.
 - [8] 杨丰建, 俞永林, 夏军, 等. 基质金属蛋白酶-1/13 与信号通路激酶 ERK1/2 在兔骨关节炎软骨中的表达[J]. 老年医学与保健, 2007, 13(6): 338-342.
 - [9] Dahlberg L, Billingham RC. Selective enhancement of collagenase-mediated cleavage of resident type II collagen in cultured osteoarthritic cartilage and arrest with a synthetic inhibitor that spares collagenase 1(matrix metalloproteinase 1) [J]. Arthritis Rheum, 2000, 43(3): 673-682.
 - [10] Mitchell PG, Magna HA, Reeves LM, et al. Cloning, expression, and type II collagenolytic activity of matrix metalloproteinase-13 from human osteoarthritic cartilage[J]. J Clin Invest, 1996, 97(3): 761-768.
 - [11] Elliott S, Hays E, Mayor M, et al. The triterpenoid CDDO inhibits expression of matrix metalloproteinase-1, matrix metalloproteinase-13 and Bcl-3 in primary human chondrocytes[J]. Arthritis Res Ther, 2003, 5(5): 285-291.
 - [12] 刘志翔, 张柳. 基质金属蛋白酶和骨关节炎的研究进展[J]. 华北煤炭医学院学报, 2007, 9(3): 330-332.
 - [13] 杨丰建, 俞永林, 乔健, 等. 兔骨关节炎模型的建立以及关节炎软骨组织中 MMP-1/-13 的表达[J]. 复旦学报: 医学版, 2007, 34(4): 563-567.
 - [14] 张超, 王旭, 姜建元, 等. MMP-1, 13 mRNA 和 DDR2 表达与关节软骨退变的关系[J]. 复旦学报: 医学版, 2007, 34(1): 126-128.
 - [15] 南登崑. 康复医学[M]. 4 版. 北京: 人民卫生出版社, 2008: 122-124.
 - [16] Fu SC, Shum WT, Hung LK, et al. Low-intensity pulsed ultrasound on tendon healing: a study of the effect of treatment duration and treatment initiation [J]. Am J Sports Med, 2008, 36(9): 1742-1749.
 - [17] 石秀秀, 朱文, 唐金树, 等. 超声波配合康复治疗肘外伤的临床疗效研究[J]. 中国骨肿瘤骨病, 2008, 7(2): 108-110.
 - [18] 胥方元, 何成松, 余茜, 等. 超声波结合股四头肌肌力训练治疗老年膝关节炎[J]. 中华物理医学与康复杂志, 2003, 25(9): 541-543.
 - [19] 杨大鉴, 胥方元, 马路, 等. 超声波结合股四头肌肌力训练治疗老年膝骨关节炎[J]. 中国临床康复, 2005, 9(26): 252-254.

(收稿日期: 2011-10-08 修回日期: 2011-12-22)

(上接第 1563 页)

此, 纯粹单体的研究并不能很好地说明中药复方的药理作用机制, 应用膜片钳技术研究确切有效的中药复方, 从细胞、分子水平阐述其作用机制, 为中药复方研究开辟一条新思路, 将极大地拓展中药开发的前景。

参考文献:

- [1] 何昱, 洪筱坤, 王智华. 钩藤及其有效成分的药理研究进展[J]. 上海中医药杂志, 2003, 37(11): 57-60.
- [2] 石京山, 余俊先, 陈修平, 等. 钩藤总碱、钩藤碱和异钩藤碱的药理作用[J]. 中国药理学报: 英文版, 2003, 24(2): 97-101.
- [3] Zhou J, Zhou S. Antihypertensive and neuroprotective activities of rhynchophylline: The role of rhynchophylline in neurotransmission and ion channel activity[J]. J Ethnopharmacol, 2010, 132(1): 15-27.
- [4] Hill MA, Yang Y, Ella SR, et al. Large conductance, Ca^{2+} -activated K^{+} channels (BK_{Ca}) and arteriolar myogenic signaling [J]. FEBS Lett, 2010, 584(10): 2033-2042.
- [5] Cheng H, Lederer WJ. Calcium sparks [J]. Phys Rev, 2008, 88(4): 1491-1545.
- [6] 开丽, 王中峰. 钩藤碱对大鼠肺动脉平滑肌细胞钙激活钾通道的影响[J]. 中国药理学与毒理学杂志, 1999, 13(1): 33-36.
- [7] 刘书宏, 曾晓荣, 尹雷. 钩藤碱对人体肠系膜动脉平滑肌细胞大电导钙激活钾通道的影响[J]. 四川生理科学杂志, 2007, 29(3): 97-99.
- [8] Cai F, Li PY, Yang Y, et al. Characteristic of spontaneous transient outward potassium currents in vascular smooth muscle cells of porcine coronary artery [J]. Acta Physiol Sin, 2007, 59(1): 27-34.
- [9] Ledoux J, Werner ME, Brayden JE, et al. Calcium-activated potassium channels and the regulation of vascular tone [J]. Physiology, 2006, 21(1): 69-78.
- [10] 黄燮南, 石京山, 谢笑龙, 等. 钩藤碱和异钩藤碱对 ^{45}Ca 转运的影响[J]. 中国药理学通报, 1993, 9(6): 428-430.
- [11] Wang XL, Zhang LM, Hua Z. Blocking effect of rhynchophylline on calcium channels in isolated rat ventricular myocytes [J]. Acta Pharmacol Sin, 1994, 15(2): 115-118.
- [12] Zhang WB, Chen CX, Sim SM, et al. In vitro vasodilator mechanisms of the indole alkaloids rhynchophylline and isorhynchophylline, isolated from the hook of Uncaria rhynchophylla (Miquel) [J]. Naunyn Schmiedeberg Arch Pharmacol, 2004, 369(2): 232-238.
- [13] Hou S, Heinemann SH, Hoshi T. Modulation of BK_{Ca} channel gating by endogenous signaling molecules [J]. Physiology, 2009, 24(1): 26-35.

(收稿日期: 2011-10-07 修回日期: 2011-12-12)