

六经头痛片对离体大鼠主动脉收缩及三叉神经降钙素基因相关肽表达的影响

邸志权^{1,2}, 安梦培^{1,2}, 朱晓丹³, 冯玥^{1,2}, 霍璇^{1,2}, 付合明^{1,2}, 胡金芳^{1,2*}, 申秀萍^{1,2*}

1. 天津药物研究院新药评价有限公司, 天津 300301

2. 天津市新药非临床评价技术工程中心, 天津 300301

3. 天津中新药业集团股份有限公司隆顺榕制药厂, 天津 300457

摘要: 目的 观察六经头痛片对大鼠离体血管平滑肌收缩活动及三叉神经降钙素基因相关肽(CGRP)表达的影响。方法 制备大鼠离体主动脉血管环, 采用麦氏浴槽法观察六经头痛片对血管平滑肌收缩活动的影响; 培养三叉神经节组织, 观察六经头痛片对三叉神经节 CGRP 表达的影响。结果 六经头痛片可以减弱 KCl 及去甲肾上腺素(NE)引起的胸主动脉环收缩反应, 对 KCl 收缩的半数抑制浓度(IC₅₀)为 0.97 mg/mL, 对 NE 收缩的 IC₅₀ 为 0.55 mg/mL。而且, 六经头痛片在 1.4、0.14 mg/mL 时可明显减少离体培养 24、48 h 后三叉神经节 CGRP 阳性细胞的数量($P < 0.05$)。结论 六经头痛片既可以对抗血管平滑肌的收缩, 又可以降低三叉神经具有扩张血管作用的 CGRP 的量, 说明六经头痛片具有稳定血管舒缩的作用。

关键词: 六经头痛片; 偏头痛; 三叉神经; 降钙素基因相关肽; 速激肽受体 1

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2017)20-4192-06

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2017.20.010

Effects of Liujing Toutong Tablets on isolated vascular smooth muscle and expression of calcitonin gene-related peptide in trigeminal

DI Zhi-quan^{1,2}, AN Meng-pei^{1,2}, ZHU Xiao-dan³, FENG Yue^{1,2}, HUO Xuan^{1,2}, FU He-ming^{1,2}, HU Jin-fang^{1,2}, SHEN Xiu-ping^{1,2}

1. Tianjin Institute of Pharmaceutical Research New Drug Evaluation Co., Ltd., Tianjin 300301, China

2. Tianjin Engineering Research Center of Drug Preclinical Assessment Technology, Tianjin 300301, China

3. Tianjin Zhongxin Pharmaceutical Group Co., Ltd., Longshunrong Pharmaceutical, Tianjin 300457, China

Abstract: Objective To investigate the effects of Liujing Toutong Tablets (LTT) on isolated vascular smooth muscle and the expression of calcitonin gene-related peptide (CGRP) in trigeminal. **Methods** Rats' thoracic aorta and trigeminal were isolated to investigate the exact effect by measuring the contractile response of vascular and the expression of CGRP in trigeminal. **Results** The LTT could reduce the quantity of positive CGRP cells expressed in trigeminal ($P < 0.05$) and weaken the contractile response of thoracic aorta induced by KCl and NE, and the IC₅₀ is 0.97 mg/mL and 0.55 mg/mL, respectively. **Conclusion** LTT could inhibit contractile response of vascular smooth muscle, meantime, reduce the quantity of positive CGRP cells expressed in trigeminal. The results show that LTT can stabilize vascular systaltic property.

Key words: Liujing Toutong Tablets; migraine; trigeminal; calcitonin gene related peptide; tachykinin receptor 1

偏头痛是一种原发性头痛, 发作时疼痛剧烈, 难以治愈, 给病人带来很大痛苦, 并且一直存在诊断率和治愈率过低、发病原因不明的问题。六经头痛片是国家二级中药保护品种, 由白芷、辛夷、藁本、川芎、葛根、细辛、女贞子、茺蔚子、荆芥穗油

组成, 具有疏风活络、止痛利窍的功效。主治全头痛、偏头痛及局部头痛, 临床效果显著, 但治疗偏头痛的机制尚不清楚。现代药理学研究表明细辛非挥发性提取物具有抗炎镇痛作用^[1-2], 细辛中所含的β-细辛醚能降低高脂血症大鼠脑组织中内皮素(ET)

收稿日期: 2017-04-28

基金项目: 国家科技重大专项(2015ZX09501004); 天津市科技计划项目(16PTGCCX00090)

作者简介: 邸志权(1982—), 男, 副研究员, 硕士, 从事药理、毒理学研究。Tel: (022)84845264 E-mail: dizq@tjpr.com

*通信作者 胡金芳, 副研究员。Tel: (022)84845248 E-mail: hujf@tjpr.com

申秀萍, 研究员。Tel: (022)84845266 E-mail: shenxp@tjpr.com

及神经肽 Y (NYP) 的量, 升高脑降钙素基因相关肽 (CGRP) 浓度, 舒张血管, 改善组织血液供应^[3]; 白芷中欧前胡素和异欧前胡素的量丰富, 具有显著的镇痛及舒张血管作用^[4]; 茺蔚子中含有的汉黄芩素具有解痉作用, 槲皮素具有扩张冠脉的作用, β -谷甾醇有预防血栓的作用^[5], 茺蔚子总碱和水苏碱对离体子宫有兴奋作用^[6]; 葛根水煎剂、酒浸膏、总黄酮及葛根素均具有明显的扩血管作用^[7]; 藁本挥发油具有扩张血管^[8]、解热镇痛^[9]的作用。前期研究发现六经头痛片可以显著降低硝酸甘油致偏头痛模型大鼠血清的扩血管因子 CGRP 和一氧化氮 (NO) 水平, 升高缩血管因子 ET 水平, 这似乎与以上几味中药单用的扩血管作用相反, 因而有必要明确六经头痛片整体对血管的舒张或收缩作用, 以及对 CGRP 的上调或下调作用。本研究观察六经头痛片对离体主动脉及三叉神经 CGRP 表达的影响, 进一步探讨六经头痛片治疗偏头痛的确切机制。

1 材料

1.1 仪器

JZ301 型微张力换能器 (北京新航兴业科贸有限公司); MP-150 多导生理信号记录仪、DA100C 通用放大器、LDF100C 激光多普勒血流模块、TSD145 激光多普勒针式探头 (Biopac 公司); HSS-1B 型离体器官恒温装置 (成都仪器厂); TS100 荧光倒置显微镜 (日本 Nikon 公司); Olympus BX51 显微镜、Olympus BX51 显微镜 (日本奥林巴斯光学株式会社); 樱花 IVS-410 型推拉式切片机 (日本大和光机工业株式会社)。

1.2 药品与试剂

六经头痛片 (批号 DK12444), 天津中新药业集团股份有限公司隆顺榕制药厂提供; 正天丸 (批号 1503005H), 华润三九医药股份有限公司; CGRP 抗体 (批号 101125)、TACR1 抗体 (批号 11P131+132)、SABC 兔 IgG-POD 试剂盒 (批号 11D08D11)、DAB 显色试剂盒 (批号 11D20C22), 购自博士德生物工程有限公司。

1.3 实验动物

SPF 级 SD 大鼠 (用于主动脉培养), 体质量 180~200 g, 动物质量合格证编号 11400700130941; SPF 级 SD 大鼠 (用于三叉神经培养), 体质量 70~90 g, 动物质量合格证编号 11400700167804, 均购自北京维通利华实验动物技术有限公司, 许可证号 SCXK (京) 2012-0001。饲养于天津药物研究院新

药评价有限公司动物实验楼 (屏障环境, AAALAC 认证), 实验动物使用许可证号 SYXK (津) 2011-0005。实验室温度 20~26 °C, 湿度 40%~70%, 12 h 明暗光照, 不少于每小时 15 次全新风的换气次数。给予 SPF 级大小鼠维持饲料, 饮水瓶直接灌装 1T/h 型多重微孔滤膜滤过系统制备的无菌水 (四级滤过, 紫外灭菌) 供动物自由饮用。

2 方法

2.1 大鼠胸主动脉分离培养及活动测定

SD 大鼠 1%戊巴比妥钠麻醉, 迅速取出胸主动脉, 置于预冷、预氧饱和的 Kerbs-Henseleit 中漂洗, 剪除血管周围的脂肪和结缔组织, 剪成 1 cm 长的血管环, 一端固定于装有 20 mL Kerbs-Henseleit 液的麦氏浴槽中, 另一端通过张力换能器连接生物信号放大采集系统 MP-150 多导生理信号记录仪。浴槽内通入 95% O₂、5% CO₂ 的混合气, 施加前负荷 2 g, 37 °C 下平衡 40~60 min, 期间每隔 20 min 换液 1 次, 待主动脉环稳定后, 分别加入终浓度 40 mmol/L 的 KCl 或终浓度 1×10^{-6} mol/L 的去甲肾上腺素 (NE), 记录主动脉环的收缩活动, 待主动脉收缩稳定后, 不同通道由低到高依次加入六经头痛片水溶液, 使终质量浓度分别为 0.356、0.712、1.780、3.560 mg/mL, 正天丸水溶液终质量浓度分别为 0.3、0.6、1.5、3.0 mg/mL, 记录主动脉环的活动变化。测定各药物组主动脉环给药前及给药后收缩幅度的平均值, 计算抑制率。

抑制率 = (给药前收缩幅度值 - 给药后收缩幅度值) / (给药前收缩幅度值 - 基础值)

2.2 三叉神经组织培养

SD 大鼠, 体质量 70~90 g, 1%戊巴比妥钠麻醉后, 在 75%乙醇中浸泡消毒 3 min, 断头处死, 用止血钳沿枕骨大孔处逐层剥开颅骨、颞骨, 刮掉大脑、小脑暴露三叉神经, 轻轻剪断 3 个感觉根取出神经节, 在预冷的 PBS 中剔除神经节周围的血管、脂肪、神经鞘膜等结缔组织成乳白色为止。取 24 孔培养板, 设置 DMEM 培养液 (含 1%双抗, 不含血清, 下同) 作为对照组, 含六经头痛片 1.4、0.14、0.014 mg/mL 的 DMEM 培养液分别作为六经头痛片高、中、低剂量组。每孔含培养液 2 mL, 均只放入 1 个神经节, 每组设 3 个复孔。37 °C 恒温、5% CO₂、饱和湿度培养箱中培养, 每 24 小时更换培养液 1 次。

2.3 HE 染色和免疫组化染色

三叉神经节分别离体培养 12、24、48 h 后将其

浸入含 4%多聚甲醛的 PBS 缓冲液过夜后,石蜡包埋,切片。进行常规 HE 染色和免疫组化染色,检测 CGRP 及 TACR1 的表达。免疫组化染色步骤如下:(1)切片常规脱蜡;(2)3% H₂O₂ 室温孵育 10 min,蒸馏水洗涤 3 次;(3)将切片浸入 0.01 mol/L 枸橼酸缓冲液(pH 6.0),微波炉加热至沸腾后断电,间隔 5~10 min,反复 2 次。冷却后 PBS 洗涤 2 次;(4)滴加 5% BSA 封闭液,室温孵育 20 min;(5)分别滴加 50 倍稀释的一抗(兔 IgG),4 °C 过夜;(6)滴加生物素化山羊抗兔 IgG,37 °C 孵育 20 min,PBS 洗涤 3 次;(7)滴加 SABC,37 °C 孵育 20 min,PBS 洗涤 4 次;(8)滴加显色剂,室温下显色,镜下控制反应时间,蒸馏水洗涤;(9)苏木素轻度复染,脱水透明封片。普通光镜观察并拍照。测量并计算 CGRP 阳性反应细胞数、平均吸光度和累积吸光度。

2.4 统计学方法

采用 SPSS 16.0 软件系统进行统计分析,结果用 $\bar{x} \pm s$ 描述。满足正态分布时,方差齐时,组间比较采用单因素方差分析(ANOVA);方差不齐时,

使用 Dunnett's T3 检验;不满足正态分布时,则使用非参数检验。

3 结果

3.1 对 KCl 或 NE 诱导的主动脉环收缩的拮抗作用

结果显示(表 1),终浓度 40 mmol/L 的 KCl 或终浓度 1×10^{-6} mol/L 的 NE 均可引起胸主动脉环的收缩,由低到高依次加入不同终质量浓度的正天丸或六经头痛片后,主动脉环的收缩幅度显著降低,且随着药物质量浓度的增加,抑制率随之增大,以药物不同质量浓度的对数(X)对抑制率(Y)进行线性回归,得到六经头痛片的回归方程分别为 $Y=115.28 X+51.485, R^2=0.980 0$ (KCl); $Y=96.852 X+74.986, R^2=0.973 2$ (NE),正天丸的回归方程分别为 $Y=52.065 X+38.722, R^2=0.985 2$ (KCl); $Y=96.943 X+69.529, R^2=0.976 9$ (NE);分别计算出正天丸及六经头痛片对 KCl、NE 引起主动脉环收缩拮抗的半数抑制浓度(IC₅₀),正天丸对 KCl 收缩的 IC₅₀ 为 1.65 mg/mL,对 NE 收缩的 IC₅₀ 为 0.63 mg/mL;六经头痛片对 KCl 收缩的 IC₅₀ 为 0.97 mg/mL,对 NE 收缩的 IC₅₀ 为 0.55 mg/mL。

表 1 六经头痛片对 KCl 或 NE 引起的大鼠胸主动脉环收缩的影响 ($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Effects of LTT on contractile response of thoracic aorta caused by KCl or NE ($\bar{x} \pm s$)

药物	$\rho/$ (mg·mL ⁻¹)	抑制率/%		药物	$\rho/$ (mg·mL ⁻¹)	抑制率/%	
		KCl (n=6)	NE (n=7)			KCl (n=6)	NE (n=7)
正天丸	0.3	12.34 ± 9.25	12.82 ± 8.56	六经头痛片	0.356	6.68 ± 3.61	25.05 ± 16.88
	0.6	27.68 ± 18.41	56.64 ± 27.91		0.712	26.31 ± 12.94	69.99 ± 22.87
	1.5	43.92 ± 50.47	未检测		1.780	76.41 ± 23.97	未检测
	3.0	66.19 ± 38.25	113.19 ± 46.33		3.560	120.28 ± 28.34	125.60 ± 34.94

3.2 对三叉神经 CGRP 表达的影响

HE 染色结果显示(图 1),取材、切片均得到目标部位,可用于后续检测。免疫组化结果显示(典型图片见图 2),与对照组比较,六经头痛片各质量浓度对离体培养 12 h 后三叉神经节 CGRP 阳性细胞数量影响不显著,而经 1.4、0.14 mg/mL 六经头痛

片作用 24、48 h 后三叉神经节 CGRP 阳性细胞数量明显减少。对图像进一步分析统计,结果(图 3)显示 1.4、0.14 mg/mL 六经头痛片作用 24、48 h 后 CGRP 阳性反应细胞百分比和累积吸光度均显著低于对照组(P<0.05)。结果表明,六经头痛片能够抑制三叉神经节细胞因营养物质缺乏等刺激所导致的 CGRP 表达上调。

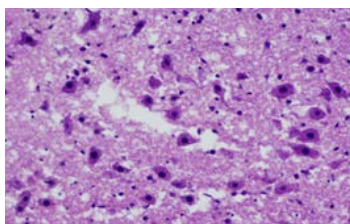


图 1 三叉神经节 HE 染色结果

Fig. 1 Result of HE staining of trigeminal ganglion

4 讨论

血管源学说认为颅内动脉收缩引起先兆,然后颅外血管扩张,血管周围组织产生血管活性物质,导致无菌性炎症而诱发头痛。该学说可以很好地解释偏头痛各期的临床特点。1990 年 Olsen^[10]进一步发展了血管源学说,提出先兆型和无先兆型偏头痛是血管痉挛程度不同的同一疾病。他们测量了

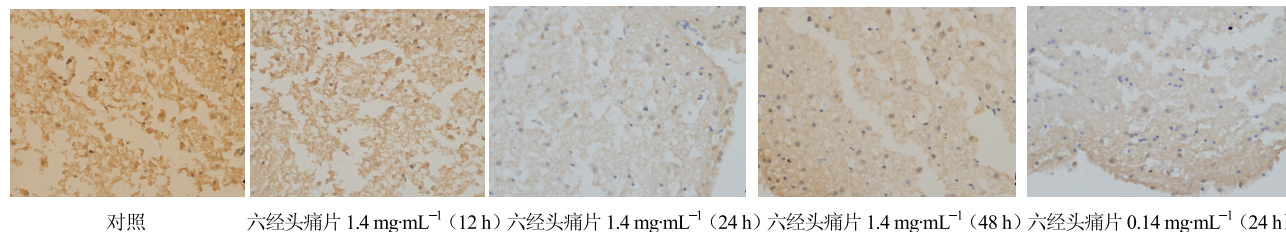


图 2 三叉神经节 CGRP 蛋白免疫组化结果

Fig. 2 Immunohistochemical staining of CGRP in trigeminal ganglion

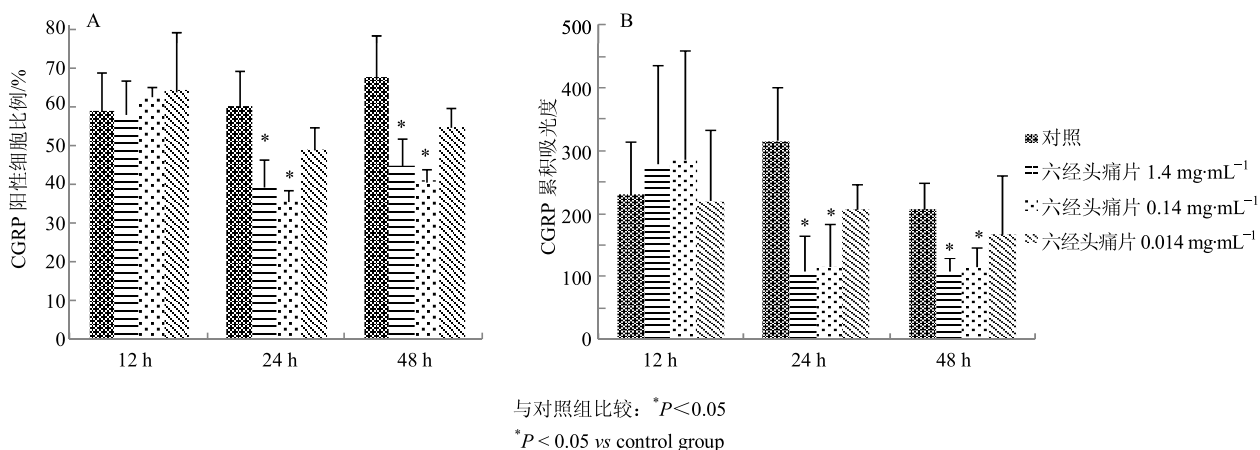


图 3 各组大鼠三叉神经节离体培养 12、24、48 h 后 CGRP 阳性细胞百分比 (A) 和累积吸光度 (B)

Fig. 3 Number of positive expression (A) and integrated optical density (B) of CGRP in trigeminal ganglion after 12, 24, and 48 h *in vitro* cultured

典型偏头痛发作全程的区域脑血流 (rCBF) 变化, 发现当 rCBF 急剧下降时出现先兆, 继之出现头痛, 在头痛初期 rCBF 仍处于短暂的低值, 此期约维持 2 h 左右, 接着 rCBF 迅速增加, 在头痛缓解后 rCBF 仍处于短暂的持续性增加。CGRP 具有强烈的扩张血管作用, 并能加强速激肽促毛细血管通透性, 血浆蛋白渗出的作用, 并参与神经源性炎症的产生, 由此刺激三叉颈复合体, 将上述信息传至丘脑和皮质产生疼痛感^[11]。因而, CGRP 释放和由此产生的神经性炎症被认为是偏头痛疼痛的病理生理基础。CGRP 在偏头痛发病中的重要作用已经广泛得到临床和实验研究结果的支持。例如, Goadsby 等^[12]发现偏头痛发作时颈静脉血 CGRP 显著增高, 但周围静脉血 CGRP 无明显变化; 无先兆偏头痛患者缓解期外周血中 CGRP 水平也增高^[13]; 外源性 CGRP 可引起脑动脉扩张, 促使硬脑膜肥大细胞脱颗粒并释放组胺, 促进脑膜血管渗漏参与神经源性炎症^[14]; 给予外源性 CGRP 可诱导偏头痛患者出现偏头痛样发作^[15]。CGRP 舒血管作用的机制目前已有 2 种较明确的解释^[16]: CGRP 作用于内皮细胞上的受体, 通过 cAMP 途径增加细胞内 Ca²⁺浓度, 上调 NOS

产生 NO 而舒张平滑肌。在另一方面, CGRP 也可能通过前列环素 (PGI₂), 活化 cAMP/蛋白激酶 A (PKA) 途径发挥舒血管作用。CGRP 也可不经过内皮直接作用于血管平滑肌细胞 (VSMC) 上的受体, 通过 cAMP 活化 PKA 或通过活化三磷酸腺苷 (ATP) 敏感的钾通道 (K⁺-ATP), 促进 K⁺外流, 抑制 Ca²⁺内流, 最终减少细胞内游离 Ca²⁺浓度, 产生舒张效应。当三叉神经节及其纤维受刺激后, 可引起神经肽类物质释放增加, 这些活性物质如物质 P、速激肽 A 通过激活速激肽受体 (TACR1) 参与痛觉传递、增加血管壁通透性、促使平滑肌收缩等多种生理功能^[17-18]。偏头痛患者于头痛间歇期血浆中 SP 的量即有升高, 头痛发作时血浆 SP 的量较间歇期更高^[19]。

胸主动脉管壁中有多层弹性膜和大量弹性纤维, α 肾上腺素能受体分布明确, 且具有取材容易, 标本均一性好, 操作中不易损伤血管内皮层的特点, 是研究大鼠血管张力的常用取材部位^[20]。血管平滑肌细胞是血管壁的主要成分之一, 是决定血管活性和血管构型的重要因素。其收缩和舒张决定着血管壁的紧张性, 从而调节血流阻力和动脉血压^[21]。众所周知, 血管的收缩是血管平滑肌细胞内 Ca²⁺浓度

增加诱发的,而细胞内 Ca^{2+} 浓度取决于细胞外 Ca^{2+} 内流和细胞内 Ca^{2+} 释放。KCl 能使血管平滑肌细胞上的电压依赖性钙通道 (potential dependent Ca^{2+} channel, PDC) 开放, NE 则主要打开受体操纵性钙通道 (receptor operated Ca^{2+} channel, ROC) [22]。血管对 NE 的收缩反应: (1) 由 NE 作用于平滑肌上 α 受体, 激活细胞膜上的 Ca^{2+} 通道使 Ca^{2+} 流入膜内, 同时使 Ca^{2+} 库的 Ca^{2+} 释出, 提高细胞内 Ca^{2+} 浓度, 而使平滑肌收缩; (2) NE 作用于血管内皮细胞, 使之释放内皮缩血管因子 (EDCF), 引起血管收缩, 同时还可提高血管平滑肌对收缩反应的敏感性 [23-25]。

NE 是 α 受体激动剂, 属 ROC 激活剂, 作用于血管平滑肌 α_1 受体, 促进钙通道开放, Ca^{2+} 内流增加和细胞内储存 Ca^{2+} 释放, 使细胞内 Ca^{2+} 增加, 从而引起血管平滑肌收缩。细胞外高钾使平滑肌细胞膜去极化, 主要是激活细胞膜上电压依赖性钙通道, 促使 Ca^{2+} 内流增加, Ca^{2+} 增加而引起血管平滑肌的收缩。同时流入细胞内的 Ca^{2+} 与位于肌浆网膜的兰尼定受体结合, 促使肌浆网的 Ca^{2+} 大量释放至胞浆内, 即 Ca^{2+} 引起的钙释放 (CICR), Ca^{2+} 进一步升高, 血管收缩增强 [26]。

本实验证明, 六经头痛片对血管收缩有解痉作用。作用机制方面, 本实验观察到六经头痛片对 KCl 和 NE 诱导的离体大鼠胸主动脉收缩均有明显的抑制作用, 并呈现剂量-效应正相关, 推测六经头痛片既作用于血管平滑肌细胞膜上的 α 受体, 又作用于 L 型电压依赖性钙通道, 抑制 Ca^{2+} 内流, 从而松弛血管平滑肌, 且拮抗 NE 的缩血管作用所需的药物浓度较拮抗 KCl 的缩血管作用所需的药物浓度更低。研究过程中发现六经头痛片对三叉神经 TACR1 的表达并无明显影响, 但可以显著降低 CGRP 的表达, 因此六经头痛片并非是通过 TACR1 的途径治疗偏头痛的。综上所述, 六经头痛片既可以拮抗血管收缩, 又可以通过降低三叉神经 CGRP 的表达以防止血管过度扩张, 阻止神经炎症。

参考文献

[1] 张晓燕, 龚苏晓, 游飞翔, 等. 基于 GC-MS 的六经头痛片挥发性化学成分研究 [J]. 中草药, 2016, 47(21): 3787-3794.
[2] 熊玉兰, 荆宇, 尚明英, 等. 细辛非挥发性提取物抗炎镇痛作用研究 [J]. 中国中药杂志, 2009, 34(17): 2252-2257.

[3] 陈奕芝, 方若鸣, 魏刚, 等. 石菖蒲挥发油、 β -细辛醚对高血脂症大鼠血管舒缩与抗血小板聚集的作用 [J]. 中国中西医结合杂志, 2004, 24(S1): 16-18.
[4] 杨小花, 胡晓. 欧前胡素与异欧前胡素的药理学研究进展 [J]. 南昌大学学报: 医学版, 2012, 52(3): 95-97.
[5] 常影. 茺蔚子化学成分及药理研究 [J]. 吉林中医药, 2008, 28(3): 207-208.
[6] 潘思源, 常英, 魏路香. 茺蔚子总碱和水苏碱收缩离体小鼠子宫的比较 [J]. 中草药, 1998, 29(10): 687-688.
[7] 范礼理, 曾贵云, 周远鹏, 等. 葛根的药理研究 II: 葛根黄酮对犬冠脉循环、心脏血流动力学和心肌代谢的作用 [J]. 中华医学杂志, 1975, 55(10): 724-727.
[8] Ko W C, Liao C C, Shih G H, et al. Relaxant effects of butylidenephthalide in isolated dog blood vessels [J]. *Planta Med*, 2002, 68(1): 1004-1009.
[9] 沈雅琴, 陈光娟, 马树德. 藜本中性油的镇静、镇痛、解热、抗炎作用 [J]. 中西医结合杂志, 1987, 7(12): 738-740.
[10] Olsen T S. Migraine with and without aura: the same disease due to cerebral vasospasm of different intensity a hypothesis based on CBF studies during migraine [J]. *Headache*, 1990, 30(5): 269-272.
[11] 王玉洁, 付峻, 藜慕慧, 等. 偏头痛 [J]. 国外医学: 脑血管疾病分册, 2004, 12(1): 19-30.
[12] Goadsby P J, Edvinsson L, Ekman R. Vasoactive peptide release in the extracerebral circulation of humans during migraine headache [J]. *Ann Neurol*, 1990, 28(2): 183-187.
[13] Ashina M, Bendtsen L, Jensen R, et al. Evidence for increased plasma levels of calcitonin gene-related peptide in migraine outside of attacks [J]. *Pain*, 2000, 86(1/2): 133-138.
[14] Durham P L, Russo A F. New insights into molecular actions of serotonergic antimigraine drugs [J]. *Pharmacol Therapeutics*, 2002, 94(1/2): 77-92.
[15] Brain S D, Poyner D R, Hill R G. CGRP receptors: A headache to study, but will antagonists prove therapeutic in migraine? [J]. *Trends Pharmacol Sci*, 2002, 23(2): 51-53.
[16] Wimalawansa S J. Calcitonin gene-related peptide and its receptors: Molecular genetics, physiology, pathophysiology, and therapeutic potentials [J]. *Endocr Rev*, 1996, 17(5): 533-585.
[17] Maggi C A. The mammalian tachykinin receptors [J]. *General Pharmacol*, 1995, 26(5): 911-944.
[18] Maggi C A. Tachykinin receptors and airway pathophysiology [J]. *Eur Respir J*, 1993, 6(5): 735-742.

- [19] 方 玲, 慕容慎行, 张志坚, 等. 偏头痛患者血浆 P 物质与神经激肽 A 的变化 [J]. 卒中与神经疾病, 1997(3): 20-22.
- [20] 陈佳颖, 龙 跃, 吴飞翔, 等. 还原型谷胱甘肽对阻塞性黄疸大鼠胸主动脉收缩与舒张功能的影响 [J]. 中华麻醉学杂志, 2014, 34(7): 863-868.
- [21] 张小郁, 李文广, 郑天珍, 等. 葡萄籽中原花青素对实验动物主动脉收缩和血小板聚集的影响 [J]. 中国应用生理学杂志, 2005, 21(4): 383-386.
- [22] 汪 海, 路新强, 张雁芳, 等. 吡那地尔和硝苯地平对大鼠离体血管的作用 [J]. 中国药理学与毒理学杂志, 1997, 11(3): 229-230.
- [23] 吴士清, 周明正, 朱 俭. EDRF 对 NE 引起的大鼠主动脉缩血管效应的作用 [J]. 中国药理学通报, 1997, 13(3): 235-238.
- [24] 郭竹英, 饶曼人. 高血压左室肥厚大鼠血管内皮的去留对 NE 和 Ach 反应的研究 [J]. 中国药理学通报, 1996, 12(2): 178-181.
- [25] 朱 莉. 血管平滑肌细胞的钙通道 [J]. 国外医学: 心血管疾病分册, 1995, 22(6): 323-326.
- [26] 吕宝璋, 卢 运, 安明榜. 受体学 [M]. 合肥: 安徽科学技术出版社, 2000.