

## 综述

# 嘌呤能神经-平滑肌传递过程中血小板衍生生长因子受体 $\alpha$ 阳性细胞的作用

黄旭, 陆红丽, 许文燮\*

上海交通大学基础医学院解剖与生理学系, 上海 200240

**摘要:** 在生理条件下, 消化道的运动主要受肠神经系统(enteric nervous system, ENS)的调节。长期以来, 神经系统如何将信息传递给平滑肌的机制尚不完全清楚, 研究者们认为自主神经末梢在平滑肌层形成许多曲张体(varicosity), 其中含有神经递质, 当神经兴奋到达曲张体时, 可以触发递质释放并直接扩散到平滑肌膜上, 与相应受体结合引起平滑肌反应。近10年来, 随着对消化道间质细胞的形态、分布特征及功能的研究进展, 人们对神经信息向平滑肌传递的机制有了新的认识。目前认为, Cajal间质细胞(interstitial cell of Cajal, ICC)和血小板衍生生长因子受体 $\alpha$ 阳性(platelet-derived growth factor receptor  $\alpha$  positive, PDGFR $\alpha^+$ )细胞可通过缝隙连接与平滑肌细胞形成合胞体, 介导神经与平滑肌之间的信息传递。其中, 嘌呤能神经递质可与PDGFR $\alpha^+$ 细胞上的P2Y1受体结合, 激活小电导钙激活钾通道(small-conductance calcium-activated potassium channel, SK3), 使PDGFR $\alpha^+$ 细胞超极化, 继而这种电活动通过PDGFR $\alpha^+$ 细胞与平滑肌之间的电耦联传递给平滑肌, 引起平滑肌的超极化和舒张。本文重点综述了近10年关于嘌呤能抑制性神经如何将信息传递给消化道平滑肌的理论演变过程。

**关键词:** 血小板衍生生长因子受体 $\alpha$ 阳性细胞; 嘌呤能神经; 小电导钙激活钾通道; 平滑肌

**中图分类号:** R333; Q48

## Role of platelet-derived growth factor receptor $\alpha$ positive cells in purinergic inhibitory nerve-smooth muscle transmission

HUANG Xu, LU Hong-Li, XU Wen-Xie\*

Department of Anatomy and Physiology, Shanghai Jiao Tong University College of Basic Medicine, Shanghai 200240, China

**Abstract:** Under physiological conditions, the motility of smooth muscle in digestive tract is mainly regulated by enteric nervous system (ENS). However, how neural signal is transmitted to smooth muscle is not fully understood. Autonomic nerve endings in the smooth muscle layer form large number of varicosities which contain neurotransmitters. It was considered that nerve pulses arriving at the varicosities may cause the release of neurotransmitters, which may diffuse to the smooth muscle cells to induce contractile or relaxant responses. Over the past decade, a new understanding of the neurotransmission between ENS and smooth muscle has emerged, which emphasizes the role of a functional syncytium consisting of the interstitial cells of Cajal (ICC), the platelet-derived growth factor receptor  $\alpha$  positive (PDGFR $\alpha^+$ ) cells and the smooth muscle cells. Within the syncytium, purine neurotransmitters bind to P2Y1 receptors on PDGFR $\alpha^+$  cells, activating small-conductance calcium activated potassium channel (SK3) to hyperpolarize PDGFR $\alpha^+$  cells, and thus hyperpolarize smooth muscle cells through gap junction, resulting in relaxation of smooth muscle. In this paper, we review the research progress in the field of inhibitory purinergic neurotransmission in the gastrointestinal tract.

**Key words:** platelet-derived growth factor receptor  $\alpha$  positive cell; purinergic nerve; small-conductance calcium activated potassium channel; smooth muscle

Received 2019-09-12 Accepted 2020-01-02

Research from the corresponding author's laboratory was supported by grants from the National Natural Science Foundation of China (No. 31671192, 31571180, 31871158).

\*Corresponding author. Tel: +86-21-34205639; E-mail: wenxiexu@sjtu.edu.cn

众所周知, 胃肠道运动除受外来的交感和副交感神经支配外, 还接受肠神经系统 (enteric nervous system, ENS) 的调节。构成 ENS 的主要成分是分布在消化道纵行肌和环形之间的肌间神经丛 (myenteric plexus), 也称为欧氏神经丛 (Auerbach's plexus), 其中包含传入神经元、中间神经元和传出神经元等, 它们负责调节胃肠道的运动, 保证正常的消化和吸收功能<sup>[1-4]</sup>。肠神经对消化道平滑肌运动调节包括兴奋性和抑制性调节, 兴奋性调节主要是由兴奋性运动神经元通过释放兴奋性神经递质, 如乙酰胆碱、P 物质等增加平滑肌细胞的兴奋性, 而抑制性调节则由抑制性运动神经元通过释放抑制性神经递质, 如 NO、ATP、ADP 和  $\beta$ -烟酰胺腺嘌呤二核苷酸 ( $\beta$ -nicotinamide adenine dinucleotide,  $\beta$ -NAD) 等嘌呤 (purines) 能递质降低平滑肌细胞的兴奋性。在神经信息传递过程方面, 消化道平滑肌与骨骼肌机制完全不同, 神经对骨骼肌的支配是通过运动单位的精细调节, 即运动神经末梢与骨骼肌肌纤维之间通过神经-肌肉接头把神经信息传递给骨骼肌。而支配消化道平滑肌的神经末梢则形成许多膨大的曲张体 (varicosity), 其中包含有神经递质, 但是在该结构当中没有发现类似骨骼肌那样的神经-肌肉接头, 因此研究者们认为曲张体释放的神经递质是以扩散的方式到达平滑肌发挥作用的。但随着消化道两种间质细胞即 Cajal 间质细胞 (interstitial cell of Cajal, ICC) 和血小板衍生生长因子受体  $\alpha$  阳性 (platelet-derived growth factor receptor  $\alpha$  positive, PDGFR $\alpha^+$ ) 细胞分布和功能的深入研究, 人们对于神经信息在肠神经和平滑肌之间的传递有了新的认识<sup>[5]</sup>。研究显示, 在电镜下, 肠神经末梢的曲张体周围紧紧围绕着两种间质细胞——ICC 和 PDGFR $\alpha^+$  细胞<sup>[6]</sup>, 而且这两种间质细胞分别通过缝隙连接与平滑肌细胞形成电耦联 (electric coupling), 这种平滑肌、ICC 和 PDGFR $\alpha^+$  细胞组成的结构被称为 SIP 合胞体 (SIP syncytium)<sup>[5]</sup>。因此, 目前普遍认为自主神经对平滑肌的神经信息传递主要是通过这两种间质细胞介导的, 其中, 嘌呤能抑制性神经主要通过 PDGFR $\alpha^+$  细胞介导。本文重点综述嘌呤能抑制性神经对消化道平滑肌的传递机制以及在结肠传输功能调节中嘌呤能神经-PDGFR $\alpha^+$  细胞-平滑肌相关机制的意义。

## 1 消化道嘌呤能递质和受体

### 1.1 嘌呤递质和受体

自主神经介导的消化道平滑肌抑制效应 (膜电

位超极化或松弛) 不被肾上腺素能或胆碱能神经拮抗剂阻断, 这些神经被称为非肾上腺素能非胆碱能 (nonadrenergic or noncholinergic, NANC) 神经, 这些神经释放的递质称为 NANC 递质<sup>[7]</sup>。肠神经中主要 NANC 抑制性神经有一氧化氮能神经, 递质为 NO; 嘌呤能神经, 递质为 ATP、ADP 和  $\beta$ -NAD 等嘌呤类物质; 以及肽能神经<sup>[8,9]</sup>, 主要神经递质是血管活性肠肽 (vasoactive intestinal polypeptide, VIP) 等。自从 Burenstock 等<sup>[10]</sup>于 1970 年提出, ATP 或相关的嘌呤物质为消化道抑制性神经递质以来, 由于很长时间没有理想的药理学特异性的拮抗剂, 很难证实嘌呤类递质对胃肠平滑肌的抑制作用。嘌呤能受体主要分为两大家族<sup>[11]</sup>: 其一是 P1 受体, 配体为 ATP; 其二是 P2 受体, 配体为 ADP。P2 受体根据信号转导机制不同又分为两类, 本身为配体门控通道的 P2X 受体, 以及作为 G-蛋白耦联受体 (G-protein coupled receptors, GPCRs) 的 P2Y 受体。目前 P2X 受体有 7 个亚型 (P2X1~P2X7), 而 P2Y 受体有 8 个亚型 (P2Y1, P2Y2, P2Y4, P2Y6, P2Y11~P2Y14) 已被纯化出来。以往研究通过使用嘌呤能非选择性阻断剂苏拉明 (suramin) 和 PPADS (pyridoxal phosphate-6-azophenyl-2',4'-disulfonic acid) 证实了嘌呤类物质参与胃肠道功能, 包括突触神经-平滑肌传递和分泌等功能<sup>[12,13]</sup>(图 1)。

### 1.2 嘌呤能受体的作用

电场刺激 (electric field stimulation, EFS) 抑制性神经可诱发平滑肌的超极化和舒张反应, 例如, 给予离体胃肠平滑肌 EFS 时, 抑制性运动神经元可产生河豚毒素 (tetrodotoxin, TTX) 敏感的动作电位, 从而引发抑制性神经递质的释放。随后, 在平滑肌上可以记录到抑制性接点电位 (inhibitory junction potential, IJP), 这使得平滑肌产生以电生理为基础的机械性舒张或自发性收缩的抑制。在平滑肌上发生的 IJP 有两个时相, 首先是快速超极化的接点电位 (fast inhibitory junction potential, fIJP), 紧接着出现缓慢超极化的接点电位 (slow inhibitory junction potential, sIJP), 这是由于 EFS 使抑制性运动神经元释放不同的抑制性递质所致<sup>[14]</sup>。这种 EFS 诱发的双相 IJP 是在消化道不同部位平滑肌非常普遍的电生理反应, 在绝大多数实验动物 (小鼠、大鼠和豚鼠) 和人类胃肠组织中, fIJP 对一氧化氮合酶 (nitric oxide synthase, NOS) 抑制剂基本上不敏感, 而对苏拉明和 PPADs 部分敏感<sup>[10]</sup>。然而, 这些拮抗剂对嘌呤

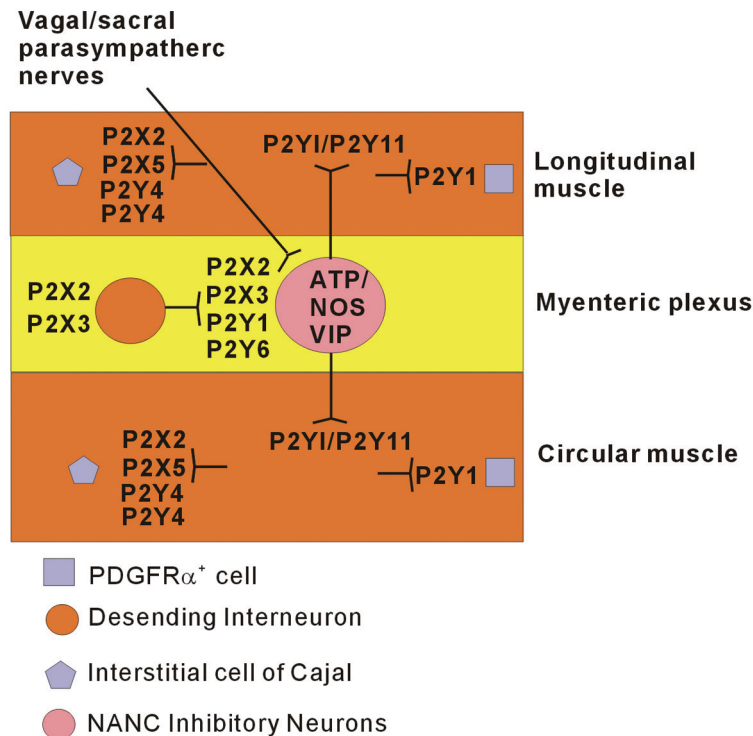


图 1. 嘌呤能受体对胃肠平滑肌抑制性调节及其分布

Fig. 1. Distribution and inhibitory regulation of purinergic receptors in the gastrointestinal smooth muscles. Purinergic nerves can stimulate inhibitory motor neurons through descending intermediate neurons in the myenteric plexes, while extrinsic nerve such as vagal nerve can stimulate inhibitory nerve directly, regulating smooth muscle contraction. NANC: nonadrenergic or noncholinergic; PDGFR $\alpha^+$ : platelet-derived growth factor receptor  $\alpha$  positive; NOS: nitric oxide synthase; VIP: vasoactive intestinal polypeptide.

能受体缺乏选择性，无法证明何种嘌呤能受体参与嘌呤神经传递过程<sup>[15, 12]</sup>。

以往认为嘌呤能神经对消化道平滑肌的抑制性传递是直接作用于平滑肌细胞膜上的嘌呤能受体，然后通过胞内机制使平滑肌超极化<sup>[16, 17]</sup>。但是最近10余年的研究使人们对于嘌呤能神经对消化道平滑肌调控的信息传递过程有了清晰的认识。采用新的选择性强的受体阻断剂和药理学实验手段的研究证实，在众多的嘌呤能受体中，主要是P2Y1受体介导嘌呤能神经对消化道平滑肌的传递过程。研究表明，在动物和人胃肠道平滑肌上，P2Y1受体阻断剂如MRS2179、MRS2279和MRS2500能阻断嘌呤能递质或EFS嘌呤能神经引起的抑制效应<sup>[16]</sup>。Gallego等和Hwang等<sup>[18, 19]</sup>在基因修饰的小鼠结肠平滑肌上证实了敲除P2Y1后嘌呤能神经递质引起的fIJP消失，而这一现象不局限于结肠，在胃和盲肠等其他胃肠组织中也能观察到<sup>[20]</sup>。Baker等<sup>[21]</sup>在小鼠的结肠平滑肌也做了类似的工作，即通过P2Y1<sup>-/-</sup>敲除小鼠来检测是否是P2Y1受体参与嘌呤

神经传递，结果显示P2Y1<sup>-/-</sup>小鼠IJP的快速成分缺失，而LNNA(L-NG-nitro-arginine)敏感的IJP持续存在。

### 1.3 参与抑制性神经传递的嘌呤能受体分布

几十年来，ATP一直被认为是嘌呤能神经递质，而平滑肌细胞被认为是抑制神经传递的主要靶点，随着胃肠道间质细胞形态和功能特征研究的深入，这个观点逐渐受到质疑，焦点在于嘌呤能受体P2Y1是否存在于平滑肌细胞。Kurahashi等<sup>[22]</sup>比较了平滑肌细胞和间质细胞——PDGFR $\alpha^+$ 细胞对几种嘌呤化合物的反应，结果显示ATP超极化PDGFR $\alpha^+$ 细胞，但去极化平滑肌细胞，而ATP对PDGFR $\alpha^+$ 细胞的超极化反应被P2Y1阻断剂MRS2500所阻断，同样P2Y1激动剂也超极化PDGFR $\alpha^+$ 细胞，此反应可被MRS2500阻断。P2Y1激动剂在PDGFR $\alpha^+$ 细胞（而非平滑肌细胞）中诱发的大幅度超极化反应与嘌呤能神经向平滑肌传递过程中产生的IJP完全一致。PDGFR $\alpha^+$ 细胞和平滑肌细胞对嘌呤递质的反应表明，PDGFR $\alpha^+$ 细胞才是嘌呤能神经传递的靶点，而不是平滑肌细胞。



## 2 PDGFR $\alpha$ <sup>+</sup>细胞/小电导钙敏感钾通道(small conductance calcium-activated potassium channel, SK3)在嘌呤能神经传递中的重要角色

### 2.1 PDGFR $\alpha$ <sup>+</sup>细胞的P2Y1在嘌呤能抑制性传递中的作用

和胃肠运动有关的间质细胞主要包括 ICC 和 PDGFR $\alpha$ <sup>+</sup> 细胞, 而 ICC 功能早就被人们所熟悉, 其中肌间 ICC (myenteric ICC, ICC-MY) 主要扮演胃肠平滑肌自动节律性运动的起搏细胞, 而肌内 ICC (intramuscular ICC, ICC-IM) 则介导自主神经对平滑肌的信息传递。血小板衍生生长因子 (platelet-derived growth factors, PDGFs) 存在于动物的上皮细胞、内皮细胞和成纤维细胞中, 对细胞的增殖、存活和迁移起着重要作用。PDGFs 由 4 种亚型 (A、B、C 和 D) 组成, 其受体有  $\alpha$  和  $\beta$  两个亚型。胃肠道 PDGFR $\alpha$ <sup>+</sup> 成纤维细胞被称为 PDGFR $\alpha$ <sup>+</sup> 细胞<sup>[6]</sup>。无论 ICC-IM 还是 PDGFR $\alpha$ <sup>+</sup> 细胞, 在消化道平滑肌中均广泛分布<sup>[23]</sup>, 它们主要围绕神经末梢的曲张体分布, 因此可能参与肠神经对平滑肌的信息传递。嘌呤能递质与 P2Y1 受体结合后, 可引起平滑肌细胞产生 fIJP, 即平滑肌的超极化, 以往一直认为, fIJP 是由于平滑肌细胞膜上的 SK 通道激活引起的<sup>[24, 25]</sup>。近年来, Baker 等<sup>[21]</sup> 的研究显示, P2Y1 受体主要在胃肠道肌层中的 PDGFR $\alpha$ <sup>+</sup> 细胞膜上表达, 即嘌呤能递质是与 PDGFR $\alpha$ <sup>+</sup> 细胞膜上的 P2Y1 结合, 最终引起平滑肌细胞产生 fIJP, 继而发生舒张。因此, 嘌呤能神经对平滑肌的抑制性传递中, PDGFR $\alpha$ <sup>+</sup> 细胞是介导信息传递的关键细胞。

### 2.2 PDGFR $\alpha$ <sup>+</sup>细胞的SK通道在嘌呤能抑制性传递中的作用

那么, PDGFR $\alpha$ <sup>+</sup> 细胞上的 P2Y1 与嘌呤神经递质结合后如何引起 PDGFR $\alpha$ <sup>+</sup> 细胞超极化继而诱发平滑肌产生超极化和舒张呢? 研究表明, PDGFR $\alpha$ <sup>+</sup> 细胞表达 *P2ry1* 和 *Kcnn3* 基因, 这些基因的转录在 PDGFR $\alpha$ <sup>+</sup> 细胞远比肌层的其他类型的细胞丰富得多<sup>[26, 27]</sup>, 说明 PDGFR $\alpha$ <sup>+</sup> 细胞除了高表达 P2Y1 外, 还高表达 SK3。Kurahashi 等<sup>[26]</sup> 的研究进一步证实, PDGFR $\alpha$ <sup>+</sup> 细胞对嘌呤神经递质的反应是超极化反应, 使细胞膜 K<sup>+</sup> 的平衡电位产生驱动作用, 表明这种反应是由 K<sup>+</sup> 电导激活所致。而且, 所有的嘌呤能神经递质拟似化合物 (ATP 和  $\beta$ -NAD)、嘌呤能神经递质的初级代谢物 (ADP 和 ADPR) 和选择性

P2Y1 激动剂 (MRS2365) 都能超极化 PDGFR $\alpha$ <sup>+</sup> 细胞。PDGFR $\alpha$ <sup>+</sup> 细胞超极化的大小和速率表明, 这些细胞内 SK 通道的电流密度很高, 而平滑肌细胞内 SK 通道转录水平要低得多。功能实验也表明, SK3 的激动剂 CyPPA 只引起平滑肌细胞轻度超极化<sup>[26]</sup>, 进一步证实了 SK 通道在平滑肌细胞上的低表达。

### 2.3 P2Y1激活SK3

研究显示, 在嘌呤能运动神经刺激过程中, 还可观察到平滑肌中 Ca<sup>2+</sup> 的持续下降, 这与 PDGFR $\alpha$ <sup>+</sup> 细胞发生超极化反应后可将这一反应通过缝隙连接传递给平滑肌细胞, 从而抑制平滑肌电压依赖性钙通道的开放, 减少平滑肌细胞 Ca<sup>2+</sup> 内流观点是一致的<sup>[21]</sup>。药理学实验结果显示, PDGFR $\alpha$ <sup>+</sup> 细胞上表达的 SK3 通道电流被 Apamin 阻断, 同时嘌呤能递质引起的 fIJP 也对 Apamin 敏感, 因此, PDGFR $\alpha$ <sup>+</sup> 细胞上高表达的 P2Y1 受体和 SK3 通道共同参与了嘌呤能递质在平滑肌上产生的 fIJP<sup>[25–28]</sup>。嘌呤能神经末梢释放的递质 ATP 或  $\beta$ -NAD 等首先与 PDGFR $\alpha$ <sup>+</sup> 细胞上的 P2Y1 受体结合, P2Y1~P2Y11 与 G 蛋白 G<sub>q/11</sub> 耦联, P2Y12~P2Y14 与 G 蛋白 G<sub>i/o</sub> 耦联。P2Y1 受体耦联 G 蛋白 G<sub>q/11</sub> 并激活磷脂酶 C (phospholipase C, PLC), 使胞内 IP3 增加, 刺激细胞内钙库释放 Ca<sup>2+</sup>, 激活 SK3 通道引起 PDGFR $\alpha$ <sup>+</sup> 细胞的超极化<sup>[29]</sup>。以上的实验证据表明, 嘌呤能神经对平滑肌的抑制性传递的主要靶点不是平滑肌细胞, 而是 PDGFR $\alpha$ <sup>+</sup> 细胞, 而 PDGFR $\alpha$ <sup>+</sup> 细胞高表达的 P2Y1 和 SK3 在其中起着关键作用。

## 3 嘌呤能神经-PDGFR $\alpha$ <sup>+</sup>细胞在结肠传输中的作用

结肠是消化道的末端, 主要功能是吸收水和电解质及通过肠内微生物合成维生素, 如维生素 B 和维生素 K, 完成消化和吸收后, 食物残渣形成粪便暂时贮存并排出体外。结肠把粪便从结肠近端向远端输送运动称为结肠传输 (colonic transit), 结肠传输的主要运动形式是结肠移行性复合收缩运动 (colonic migrating motor complexes, CMMCs), 主要受肠神经的支配。目前的研究表明, 肠神经对平滑肌运动的调节, 主要通过 SIP, 即平滑肌和两种间质细胞——ICC-IM 和 PDGFR $\alpha$ <sup>+</sup> 细胞组成的合胞体 (syncytium) 介导。胆碱能神经通过 ICC 介导结肠 CMMC 的形成和维持, 而一氧化氮能神经则通过 ICC 上的 ANO1 通道介导 CMMC 幅度和频率的抑

制性调节, 嘌呤能神经通过 PDGFR $\alpha$ <sup>+</sup> 细胞上的 P2Y1 受体和 SK3 通道介导 CMMC 幅度和频率的抑制性调节<sup>[30, 31]</sup>。由此可见, 两种间质细胞功能发生改变或受损都会导致消化道平滑肌动力异常, 因此, 有关 SIP 合胞体功能与胃肠动力之间关系的研究受到了广泛关注。

### 3.1 糖尿病慢传输性便秘与PDGFR $\alpha$ <sup>+</sup>细胞

在小鼠结肠, 上述两种间质细胞分布有明显的特点, PDGFR $\alpha$ <sup>+</sup> 细胞在近端分布少, 远端分布多, 从近端到远端呈递增性分布, 而 ICC 则在近端分布多, 远端分布少, 从近端到远端呈递减性分布<sup>[32]</sup>。这种分布特性有助于从结肠近端至远端之间形成压力梯度, 保证正常的结肠传输和排便功能, 如果某些疾病改变了间质细胞的分布规律必然导致结肠传输功能紊乱。糖尿病患者常伴有各种胃肠症状, 如腹泻、胃轻瘫、慢性便秘和大便失禁<sup>[33]</sup>, 在这些症状中, 慢传输性便秘是糖尿病最常见的胃肠道症状, 严重影响患者的生活质量<sup>[34]</sup>, 但是其机制仍不明确。一些可能的机制涉及自主神经病变和 ICC 的丢失<sup>[35-37]</sup>。本研究组最近的研究表明, 糖尿病小鼠结肠长度明显增加, 离体结肠传输速度明显减慢, 在平滑肌组织中 PDGFR $\alpha$ 、SK3 和 P2Y1 受体的 mRNA 和蛋白表达明显增加。在收缩实验中, 糖尿病小鼠结肠平滑肌对 SK3 激动剂和拮抗剂 (CYPPA 和 Apamin) 以及 P2Y1 的激动剂和拮抗剂 (MRS2365 和 MRS2500) 反应更加敏感, 细胞内记录显示, EFS 诱导的 fIJP 在糖尿病小鼠结肠平滑肌的振幅明显大于对照组, 糖尿病小鼠结肠平滑肌膜电位对 SK3 激动剂和拮抗剂以及 P2Y1 激动剂和拮抗剂的反应更加敏感。这些结果提示, 糖尿病小鼠结肠嘌呤能神经递质 / PDGFR $\alpha$ /P2Y1/SK3 信号通路明显上调, 也就是结肠平滑肌 PDGFR $\alpha$ <sup>+</sup> 细胞数量增多和功能亢进可能介导糖尿病小鼠结肠的慢传输性便秘<sup>[38]</sup>。进一步的研究证实, 糖尿病小鼠结肠平滑肌组织 PDGFR $\alpha$  和细胞增殖指标 Ki67 共表达增多, 在全细胞和核提取物中, FOXO3 蛋白的表达也显著增加, 磷酸化 FOXO3 蛋白的表达则显著降低。FOXO3 可与 PDGFR $\alpha$  启动子上的一个位点结合, 当用 FOXO3 短发夹 RNA (ShRNA) 抑制 NIH 细胞内 FOXO3 表达时, PDGFR $\alpha$  的基础表达显著降低。这些结果提示, 糖尿病诱导的结肠 PDGFR $\alpha$ <sup>+</sup> 细胞增殖是由 FOXO3 上调所介导的, 而 PDGFR $\alpha$ <sup>+</sup> 细胞增殖可能成为糖尿病所致结肠转运障碍临床治疗的

新靶点<sup>[39]</sup>。

### 3.2 炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)与PDGFR $\alpha$ <sup>+</sup>细胞

在下消化道的各种疾病中, 由克罗恩病和溃疡性结肠炎 (ulcerative colitis, UC) 组成的 IBD 发病率逐年上升, 表现为严重的结构和功能紊乱。然而, 在所有功能改变中, 结肠运动障碍是比较复杂并且机制没有完全阐明的<sup>[40]</sup>。本研究组的研究结果表明, 在小鼠结肠炎模型中, 结肠组织除了产生明显的炎症反应外, 其传输功能发生明显紊乱, 如 CMMC 节律和幅度明显紊乱, 两种间质细胞表达均减少, 结肠炎小鼠结肠对 ANO1 和 SK3 通道阻断剂反应明显减弱。结肠炎小鼠结肠的 ICC/ANO1 和 PDGFR $\alpha$ /SK3 表达均减少。我们认为结肠炎小鼠结肠传输功能障碍与两种间质细胞损伤程度不同有关, 即 NO-ICC-ANO1-SMC 和嘌呤能 -P2Y1-SK3-SMC 信号通路功能损伤程度不同, 导致结肠动力和传输障碍表现也不同<sup>[32, 40]</sup>。总之, 在糖尿病引起慢传输性便秘和结肠炎引起结肠传输障碍中, PDGFR $\alpha$ <sup>+</sup> 细胞增殖或数量减少都会影响嘌呤能抑制性神经的传递效果, 最终影响结肠传输功能。因此, 在结肠动力障碍疾病发病机制研究中, PDGFR $\alpha$ <sup>+</sup> 细胞是研究结肠动力和传输功能的新靶点。

### 3.3 先天性巨结肠(congenital megacolon, Hirschsprung's disease, HD)与PDGFR $\alpha$ <sup>+</sup>细胞

近年来, 很多研究尝试阐明 HD 患者结肠动力障碍的机制, 但无论是病变部位还是扩张段动力障碍的机理, 都没有明确的理论共识和新的突破。大量的基础研究和临床研究普遍认为<sup>[41-43]</sup>, HD 患者结肠传输障碍的原因是狭窄段神经节细胞 (ganglion cell) 的缺失而导致的持续紧张性收缩, 引起梗阻。既然 ICC 和 PDGFR $\alpha$ <sup>+</sup> 细胞介导神经对平滑肌的信息传递, 那么就可以从功能上阐明, 无神经节细胞结肠段是否因 ICC 和 PDGFR $\alpha$ <sup>+</sup> 细胞之间的功能失衡导致了该段平滑肌的紧张性收缩。最近的很多研究<sup>[44-51]</sup> 也涉及 ICC 和 PDGFR $\alpha$ <sup>+</sup> 细胞与狭窄段结肠动力障碍之间的关系, 但基本停留在两种细胞的表达层面上, 即 HD 患者狭窄段 ICC 和 PDGFR $\alpha$ <sup>+</sup> 细胞均明显减少, 但没有功能实验证据能够说明这两种细胞的减少为何引起狭窄段平滑肌的紧张性收缩。

## 4 小结

消化道运动受外来神经和肠神经的支配, 在正

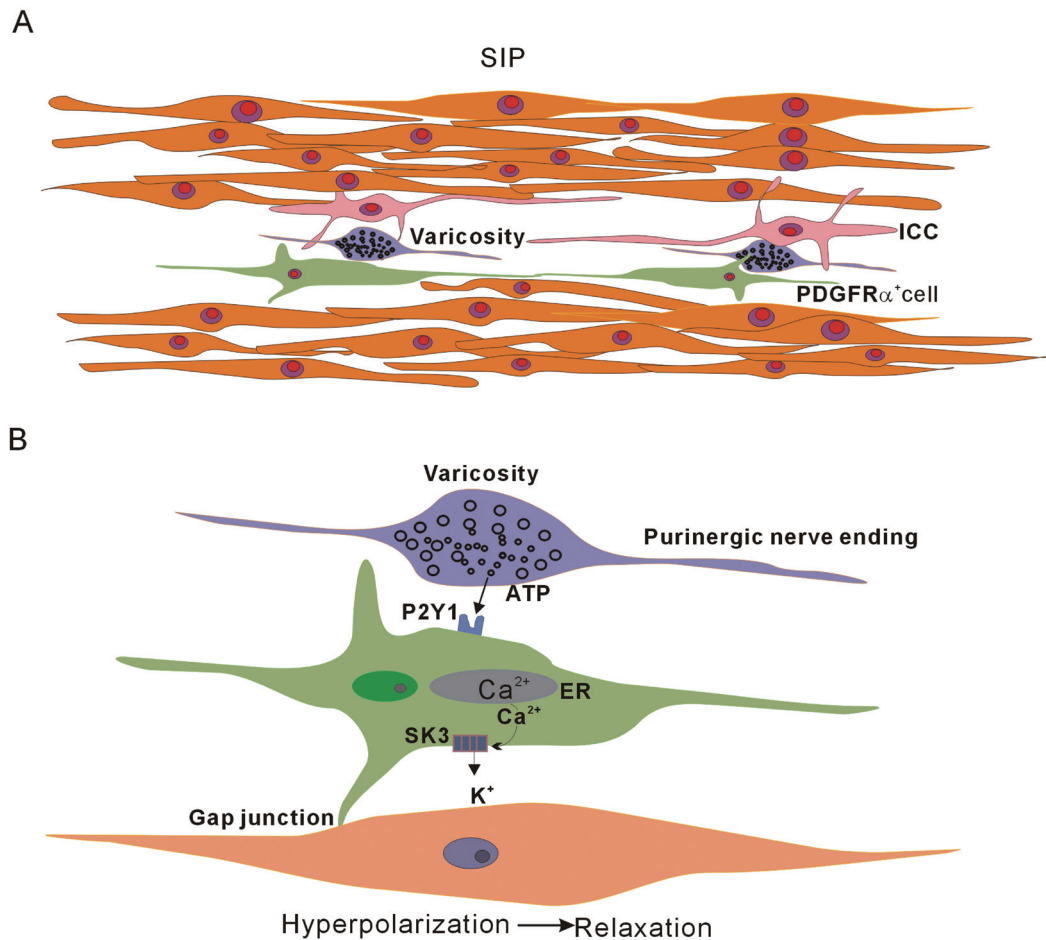


图 2. 嘌呤能神经-平滑肌传递过程示意图

Fig. 2. Schematic diagram of neurotransmission from purinergic nerve to smooth muscles. *A*: Schematic diagram of SIP syncytium formed by smooth muscle cell, ICC and PDGFR $\alpha$ <sup>+</sup> cells through gap junction. *B*: Schematic diagram of neurotransmission from purinergic nerve to SIP syncytium through PDGFR $\alpha$ <sup>+</sup> cells. ICC: interstitial cell of Cajal; PDGFR $\alpha$ <sup>+</sup>: platelet-derived growth factor receptor  $\alpha$  positive; SK3: small-conductance calcium activated potassium channel; ER: endoplasmic reticulum.

常生理条件下, 肠神经起主导作用。其中, 胆碱能神经主要参与兴奋性调节, 如发动消化道平滑肌移行性复合运动 (migrating motor complex, MMC), 而抑制性调节主要由一氧化氮能神经和嘌呤能神经参与。目前对肠神经的抑制性运动神经传递机制, 尤其嘌呤能抑制性运动神经元对消化道平滑肌的传递机制的研究进展很快。其中最突出的是嘌呤能神经对平滑肌的抑制作用是通过 PDGFR $\alpha$ <sup>+</sup> 细胞介导的, 而平滑肌细胞和 PDGFR $\alpha$ <sup>+</sup> 细胞之间通过缝隙连接形成电耦联。PDGFR $\alpha$ <sup>+</sup> 细胞上表达嘌呤能 P2Y1 受体和 SK3 通道, 嘌呤能神经释放的递质首先与 P2Y1 结合 (GPCR), 使细胞内钙离子浓度瞬间增加, 进而激活 SK3 通道产生 fLJP, 这种电活动可通过电耦联传递给平滑肌细胞, 引起平滑肌的超极化和舒张 (图 2)。作为嘌呤能抑制性运动神经传递的关键

细胞, PDGFR $\alpha$ <sup>+</sup> 细胞在正常结肠近端和远端有着规律的分布, 即从近端到远端呈递增性分布, 当结肠产生炎症或在继发病变如糖尿病等情况下, PDGFR $\alpha$ <sup>+</sup> 细胞分布和功能均发生改变, 导致结肠动力和传输功能异常。因此, PDGFR $\alpha$ <sup>+</sup> 细胞成为了研究和防治结肠动力和传输障碍性疾病的新靶点。

### 参考文献

- 1 Burnstock G, Campbell G, Bennett M, Holman ME. Inhibition of the smooth muscle on the taenia coli. *Nature* 1963; 200: 581–582.
- 2 Bennett MR. Transmission from intramural excitatory nerves to the smooth muscle cells of the guinea-pig taenia coli. *J Physiol* 1966; 185: 132–147.
- 3 Waterman SA, Costa M. The role of enteric inhibitory motoneurons in peristalsis in the isolated guinea-pig small intes-



- tine. *J Physiol* 1994; 477: 459–468.
- 4 Spencer NJ, Smith TK. Simultaneous intracellular recordings from longitudinal and circular muscle during the peristaltic reflex in guinea-pig distal colon. *J Physiol* 2001; 533: 787–799.
  - 5 Sanders KM, Ward SM, Koh SD. Interstitial cells: Regulators of smooth muscle function. *Physiol Rev* 2014; 94: 859–907.
  - 6 Ishikawa K, Komuro T, Hirota S, Kitamura Y. Ultrastructural identification of the c-kit-expressing interstitial cells in the rat stomach: a comparison of control and Ws/Ws mutant rats. *Cell Tissue Res* 1997; 289: 137–143.
  - 7 Bult H, Boeckxstaens GE, Pelckmans PA, Jordaens FH, Van-Maercke YM, Herman AG. Nitric oxide as an inhibitory non-adrenergic non-cholinergic neurotransmitter. *Nature* 1990; 345: 346–347.
  - 8 Grasa L, Gil V, Gallego D, Martín MT, Jiménez M. P2Y1 receptors mediate inhibitory neuromuscular transmission in the rat colon. *Br J Pharmacol* 2009; 158: 1641–1652.
  - 9 Bitar KN, Said SI, Weir GC, Saffouri B, Makhoul GM. Neural release of vasoactive intestinal peptide from the gut. *Gastroenterology* 1980; 79: 1288–1294.
  - 10 Burnstock G, Campbell G, Satchell D, Smythe A. Evidence that adenosine triphosphate or a related nucleotide is the transmitter substance released by non-adrenergic inhibitory nerves in the gut. *Br J Pharmacol* 1970; 40: 668–688.
  - 11 Jimenez M, Clave P, Accarino A, Gallego D. Purinergic neuromuscular transmission in the gastrointestinal tract; functional basis for future clinical and pharmacological studies. *Br J Pharmacol* 2014; 171: 4360–4375.
  - 12 Xue L, Farrugia G, Sarr MG, Szurszewski JH. ATP is a mediator of the fast inhibitory junction potential in human jejunal circular smooth muscle. *Am J Physiol* 1999; 276: G1373–G1379.
  - 13 Hoyle CH, Knight GE, Burnstock G. Suramin antagonizes responses to P2-purinoceptor agonists and purinergic nerve stimulation in the guinea-pig urinary bladder and taenia coli. *Br J Pharmacol* 1990; 99: 617–621.
  - 14 Lang RJ. Do “fibroblast-like cells” intercede during enteric inhibitory motor neurotransmission in gastrointestinal smooth muscles? *J Physiol* 2011; 589: 453–454.
  - 15 Vigne P, Pacaud P, Loirand G, Breittmayer JP, Frelin C. PPADS inhibits P2Y1 purinoceptors in rat brain capillary endothelial cells and in rat ileal myocytes by an indirect mechanism. *Biochem Biophys Res Commun* 1998; 244: 332–335.
  - 16 Crist JR, He XD, Goyal RK. Both ATP and the peptide VIP are inhibitory neurotransmitters in guinea-pig ileum circular muscle. *J Physiol* 1992; 447: 119–131.
  - 17 Goyal RK. Evidence for beta-nicotinamide adeninedinucleotide as a purinergic, inhibitory neurotransmitter in doubt. *Gastroenterology* 2011; 141: e27–e28.
  - 18 Gallego D, Gil V, Martínez-Cutillas M, Mañé N, Martín MT, Jiménez M. Purinergic neuromuscular transmission is absent in the colon of P2Y1 knocked out mice. *J Physiol* 2012; 590: 1943–1956.
  - 19 Hwang SJ, Blair PJ, Durnin L, Mutafova-Yambolieva V, Sanders KM, Ward SM. P2Y1 purinoceptors are fundamental to inhibitory motor control of murine colonic excitability and transit. *J Physiol* 2012; 590: 1957–1972.
  - 20 Gil V, Martinez-Cutillas M, Mane N, Martin MT, Jimenez M, Gallego D. P2Y<sub>1</sub> knockout mice lack purinergic neuromuscular transmission in the antrum and cecum. *Neurogastroenterol Motil* 2013; 25: e170–e182.
  - 21 Baker SA, Hennig GW, Ward SM, Sanders KM. Temporal sequence of activation of cells involved in purinergic neurotransmission in the colon. *J Physiol* 2015; 593: 1945–1963.
  - 22 Kurahashi M, Mutafova-Yambolieva V, Koh SD, Sanders KM. Platelet-derived growth factor receptor- $\alpha$ -positive cells and not smooth muscle cells mediate purinergic hyperpolarization in murine colonic muscles. *Am J Physiol Cell Physiol* 2014; 307: C561–C570.
  - 23 Mitsui R, Komuro T. Direct and indirect innervation of smooth muscle cells of rat stomach, with special reference to the interstitial cells of Cajal. *Cell Tissue Res* 2002; 309: 219–227.
  - 24 Vogalis F, Goyal RK. Activation of small conductance Ca<sup>2+</sup>-dependent K<sup>+</sup> channels by purinergic agonists in smooth muscle cells of the mouse ileum. *J Physiol* 1997; 502(Pt 3): 497–508.
  - 25 Koh SD, Dick GM, Sanders KM. Small-conductance Ca<sup>2+</sup>-dependent K<sup>+</sup> channels activated by ATP in murine colonic smooth muscle. *Am J Physiol* 1997; 273(6 Pt 1): C2010–C2021.
  - 26 Kurahashi M, Zheng H, Dwyer L, Ward SM, Koh SD, Sanders KM. A functional role for the “fibroblast-like cells” in gastrointestinal smooth muscles. *J Physiol* 2011; 589: 697–710.
  - 27 Peri LE, Sanders KM, Mutafova-Yambolieva VN. Differential expression of genes related to purinergic signaling in smooth muscle cells, PDGFR-positive cells and interstitial cells of Cajal in the murine colon. *Neurogastroenterol Motil* 2013; 25: e609–e620.
  - 28 Baker SA, Hennig GW, Salter AK, Kurahashi M, Ward SM, Sanders KM. Distribution and Ca<sup>2+</sup> signalling of fibroblast-like (PDGFR<sup>+</sup>) cells in the murine gastric fundus. *J Physiol* 2013; 591: 6193–6208.
  - 29 Abbracchio MP, Burnstock G, Boeynaems JM. International

- Union of Pharmacology LVIII: update on the P2Y G protein-coupled nucleotide receptors: from molecular mechanisms and pathophysiology to therapy. *Pharmacol Rev* 2006; 58: 281–341.
- 30 Mañé N, Gil V, Martínez-Cutillas M, Clavé P, Gallego D, Jiménez M. Differential functional role of purinergic and nitrenergic inhibitory cotransmitters in human colonic relaxation. *Acta Physiol (Oxf)* 2014; 212: 293–305.
- 31 Cobin CA, McKechnie M, Brookfield RJ, Hannigan K, Keef KD. Comparison of inhibitory neuromuscular transmission in the *Cynomolgus* monkey IAS and rectum: special emphasis on differences in purinergic transmission. *J Physiol* 2018; 596: 5319–5341.
- 32 Lu C, Huang X, Lu HL, Liu SH, Zang JY, Li YJ, Chen J, Xu WX. Different distributions of interstitial cells of Cajal and platelet-derived growth factor receptor- $\alpha$  positive cells in colonic smooth muscle cell/interstitial cell of Cajal/platelet-derived growth factor receptor- $\alpha$  positive cell syncytium in mice. *World J Gastroenterol* 2018; 24: 4989–5004.
- 33 Maleki D, Locke GR 3rd, Camilleri M, Zinsmeister AR, Yawn BP, Leibson C, Melton LJ 3rd. Gastrointestinal tract symptoms among persons with diabetes mellitus in the community. *Arch Intern Med* 2000; 160: 2808–2816.
- 34 Bytzer P, Talley NJ, Hammer J, Young LJ, Jones MP, Horowitz M. GI symptoms in diabetes mellitus are associated with both poor glycemic control and diabetic complications. *Am J Gastroenterol* 2002; 97: 604–611.
- 35 Kashyap P, Gomez-Pinilla PJ, Pozo MJ, Cima RR, Dozois EJ, Larson DW, Ordog T, Gibbons SJ, Farrugia G. Immunoreactivity for An1 detects depletion of Kit-positive interstitial cells of Cajal in patients with slow transit constipation. *Neurogastroenterol Motil* 2011; 23: 760–765.
- 36 Maxton DG, Whorwell PJ. Functional bowel symptoms in diabetes – the role of autonomic neuropathy. *Postgrad Med J* 1991; 67: 991–993.
- 37 Vinik AI, Maser RE, Mitchell BD, Freeman R. Diabetic autonomic neuropathy. *Diabetes Care* 2003; 26: 1553–1579.
- 38 Song NN, Lu HL, Lu C, Tong L, Huang SQ, Huang X, Chen J, Kim YC, Xu WX. Diabetes-induced colonic slow transit mediated by the up-regulation of PDGFR $\alpha$ <sup>+</sup> cells/SK3 in streptozotocin-induced diabetic mice. *Neurogastroenterol Motil* 2018; DOI: 10.1111/nmo.13326.
- 39 Lu HL, Zhang CM, Song NN, Lu C, Tong L, Huang X, Kim YC, Chen J, Xu WX. Colonic PDGFR $\alpha$  overexpression accompanied forkhead transcription factor FOXO3 up-regulation in STZ-induced diabetic mice. *Cell Physiol Biochem* 2017; 43: 158–171.
- 40 Lu C, Lu H, Huang X, Liu S, Zang J, Li Y, Chen J, Xu W. Colonic transit disorder mediated by downregulation of interstitial cells of Cajal/anoctamin-1 in dextran sodium sulfate-induced colitis mice. *J Neurogastroenterol Motil* 2019; 25(2): 316–331.
- 41 Obermayr F, Hotta R, Enomoto H, Young HM. Development and developmental disorders of the enteric nervous system. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2013; 10: 43–57.
- 42 Le Douarin NM, Teillet MA. The migration of neural crest cells to the wall of the digestive tract in avian embryo. *J Embryol Exp Morphol* 1973; 30: 31–48.
- 43 Goldstein AM, Hofstra RM, Burns AJ. Building a brain in the gut: development of the enteric nervous system. *Clin Genet* 2012; 83: 307–316.
- 44 Langer JC, Rollins MD, Levitt M, Gosain A, DeLa Torre L, Kapur RP, Cowles RA, Horton J, Rothstein DH, Doldstein AM. Guidelines for the management of postoperative obstructive symptoms in children with Hirschsprung disease. *Pediatr Surg Int* 2017; 33: 523–536.
- 45 Coyle D, O'Donnell AM, Puri P. Altered distribution of small-conductance calcium-activated potassium channel SK3 in Hirschsprung's disease. *J Pediatric Surg* 2015; 50: 1659–1664.
- 46 Yang S, Dong F, Li D, Sun H, Wu B, Sun T, Wang Y, Shen P, Ji F, Zhou D. Persistent distention of colon damages interstitial cells of Cajal through Ca<sup>2+</sup>-ERK-AP-1-miR-34c-SCF deregulation. *J Cell Mol Med* 2017; 9: 1881–1892.
- 47 Coyle D, Kelly DAM, O'Donnell AM, Gillick J. Use of anoctamin 1 (ANO1) to evaluate interstitial cells of Cajal in Hirschsprung's disease. *Pediatr Surg Int* 2016; 32: 125–133.
- 48 Tomuschat C, O'Donnell AM, Coyle D, Prui P. Reduced expression of voltage-gated Kv11.1 (hERG) K<sup>+</sup> channels in aganglionic colon in Hirschsprung's disease. *Pediatr Surg Int* 2016; 32: 9–16.
- 49 Gfroerer S, Rolle U. Interstitial cells of Cajal in the normal human gut and in Hirschsprung's disease. *Pediatr Surg Int* 2013; 29: 889–897.
- 50 Rolle U, Piotrowska AP, Nemeth L, Puri P. Altered distribution of interstitial cells of Cajal in Hirschsprung disease. *Arch Pathol Lab Med* 2002; 126: 928–933.
- 51 O'Donnell AM, Puri P. Deficiency of Purinergic P2Y1 receptors in aganglionic intestine in Hirschsprung's disease. *Pediatr Surg Int* 2008; 24(1): 77–80.