

M₂蕁鹼接受器參與辣椒素引起大鼠抑心與降壓作用

蔡緻怡 吳季瑾 李昆澤 黃基礎*

國立臺灣師範大學生命科學系

(收稿日期：2005.4.7，接受日期：2005.5.2)

摘 要

在我們最近一連串的研究中，給予大鼠辣椒素後會引起反射，促使呼吸暫停 (apnea)、抑心 (bradycardia) 與降壓作用 (hypotension)，抑心效應可能是辣椒素引起的中樞反射作用，也有可能是直接作用於心肌細胞接受器。大鼠心肌細胞上有各種蕁鹼接受器亞型，活化M₂會引起抑心與降壓作用，而活化M₁則心跳變快、心肌收縮力增強。本實驗的目的是要研究蕁鹼接受器M₂可能參與辣椒素處理後所引起的抑心與降壓作用。以Wistar雄性大鼠為實驗動物，腹腔注射urethane (1.2 g/kg) 麻醉後，進行氣管、股動脈插管及通向右心房入口的右頸靜脈插管。由微量注射針筒注射 0.625 與 1.25 μg/kg的辣椒素 (i.v.)，以引起心跳變慢與血壓下降，切斷迷走神經或投予非專一性蕁鹼接受器拮抗劑atropine (2.5 與 5 mg/kg, i.v.) 可明顯降低辣椒素所誘發的抑心與降壓作用。預先處理M₂接受器拮抗劑 (gallamine triethiodide, 0.4 與 1.6 mg/kg, i.v.)，可有效阻斷辣椒素引起的抑心與降壓作用，但M₁接受器拮抗劑 (pirenzepine, 12.5 與 50 μg/kg, i.v.) 則無顯著影響。這些結果顯示，M₂接受器確實參與辣椒素所誘發的抑心與降壓作用。

關鍵詞：辣椒素，抑心，降壓作用，蕁鹼接受器M₂，大鼠

緒 言

肺部的訊息主要是經由迷走神經傳入中樞神經系統，依其構造與性質，支配肺的迷走傳入神經可分為三類，分別為快速適應接受器 (rapidly adapting receptors; RARs)、慢速適應接受器 (slowly adapting receptors; SARs) 及肺C纖維 (pulmonary C-fibers) (Widdicombe, 2001; Ho *et al.*, 2001)。這些受器與其感覺神經是同一細胞，也就是接受器是感覺神經的末梢，前兩種接受器的感覺神經具有髓鞘，主要功能是接受肺部的機械性刺激如肺塌陷或充氣而脹大 (Sant'Ambrogio and Widdicombe, 2001; Schelegle and Green, 2001)；相對地，肺C纖維不具髓鞘，主要作用是接受肺的化學性刺激，如煙、刺激性氣體 (Ho *et al.*, 2001) 或臭氧 (Lai and Kou, 1998; Ho and Lee, 1998)，內生性的發炎物質如緩激素及前列腺素，也會激活肺C纖維 (Ho *et al.*, 2000)；實驗室常用辣椒素 (capsaicin)

來刺激肺C纖維 (Lu *et al.*, 2002; Lee *et al.*, 2003)。肺C纖維受到刺激後，一方面會在週邊引發軸突反射 (axon reflex)，促使其神經末梢釋放快肽 (tachykinin)，如substance P、neurokinin A和 neurokinin B，分別與呼吸道上的NK₁、NK₂、NK₃接受器結合，造成支氣管緊縮、呼吸道黏液分泌增加、微血管擴張和血漿外滲等現象，一般稱之為神經性發炎 (neurogenic inflammation) 症狀(Barnes, 2000)；另一方面則經由C纖維將訊息傳入延腦的孤獨徑核 (the nucleus of the tractus solitarius; NTS)，經中樞整合後引起肺化學反射 (pulmonary chemoreflex)，其症狀包括呼吸暫停(apnea)、抑心 (bradycardia) 與降壓 (hypotension) 反應 (Wang *et al.*, 1996; Lai and Kou, 1998)。我們最近發現將辣椒素注入右頸靜脈，經循環進入肺，除引起肺化學反射性反應外，還會抑制與上呼吸道暢通有關的腦神經活動，如舌下神經吸氣活動降低 (Lee *et al.*, 2003)，喉返神經外展支吸氣活動受到抑制，相對地，喉返神經內收支的

*通訊作者：黃基礎 (Ji-Chuu Hwang); FAX: 886-2-29312904; E-mail: jchwang@cc.ntnu.edu.tw

呼吸活動卻增強，且提前於吸氣時開始活動，暗示聲門可能關閉 (Lu *et al.*, 2002; 2005) 推測這些反應可能是要避免個體吸入更多的刺激性物質。

心跳主要是受到交感神經與副交感神經的調控。刺激交感神經會使其節後神經末梢釋放正腎上腺素，作用於突觸後的腎上腺素接受器 (adrenoceptors) 使心跳變快。而副交感神經興奮則釋放乙醯膽鹼 (acetylcholine) 作用於心肌的蕁鹼接受器 (muscarinic cholinergic receptors)，引起抑心作用 (Berne and Levy, 1997)。大鼠心肌上的蕁鹼接受器有五種亞型，分別為M₁、M₂、M₃、M₄及M₅接受器 (Caulfield and Birdsall, 1998)，活化M₂與M₄接受器可經由PTX-sensitive G_{i/o}蛋白質降低腺核苷酰素 (adenylyl cyclase) 的活性，打開鉀離子孔道，使鉀離子流出，而活化M₁、M₃與M₅接受器則會經由G_{q/11}蛋白質，進一步藉由活化磷酸酯解酶C (phospholipase C; PLC)、磷酸酯解酶A₂ (phospholipase A₂) 與磷酸酯解酶D (phospholipase D)，去打開鈣離子孔道 (Felder, 1995)。這五種亞型接受器在大鼠心肌上的分布，以M₂所佔比例最高 (Krejčí and Tuček, 2002)，活化M₂接受器會降低心跳 (Stengel *et al.*, 2000)，而興奮M₁接受器則會加快心跳 (Hardouin *et al.*, 2002)。利用基因剔除技術，使小鼠缺乏各種亞型，證明M₁與M₂接受器的確參與心跳的調控 (Hardouin *et al.*, 2002; Bymaster *et al.*, 2001; Fisher *et al.*, 2004; Stengel *et al.*, 2000)，但M₃與M₄接受器則否 (Bymaster *et al.*, 2001; Fisher *et al.*, 2004; Stengel *et al.*, 2000)。顯示M₁與M₂接受器對調節心跳可能扮演重要角色。

綜合上述文獻，蕁鹼接受器對於心跳扮演著重要的調控功能，而辣椒素引起抑心與降壓反應的機制目前並不清楚，這種反應與M₁及M₂接受器有何關係也不明確，因此本研究的目的便在探討蕁鹼接受器是否參與辣椒素所誘發的抑心與降壓反應，並進一步探討M₁接受器與M₂接受器在抑心與降壓反應中所扮演的角色。

材料與方法

動物手術

雄性Wistar大白鼠購自台大動物中心，飼養

於國立台灣師範大學生命科學系動物房內，溫度調控在 25 ± 1 °C，食物與水任由動物取食。實驗手術與過程等步驟經國立台灣師範大學動物管理小組核定。

選體重 300 至 400 公克的大鼠，實驗時，秤其體重，以 urethane (1.2 g/kg) 進行腹腔麻醉，待大鼠昏睡後，將之仰臥並固定於小手術台上，以肛溫計量測體溫，並以保溫墊或 60 瓦燈泡維持體溫於 37 ± 1 °C，接著進行氣管插管，兩側股動脈插管以測量血壓，再進行右頸靜脈插管，管端推至右心房入口處，右頸靜脈插管接微量注射針筒 (Hamilton microsyringe) 以注射辣椒素，如此，辣椒素可經右頸靜脈插管直接進入肺循環以興奮支配肺的感覺纖維，由其中以 C 纖維為主。

血壓訊號的記錄

將股動脈插管連接到液體壓力轉換器 (MLT0380 BP transducer, PowerLab ADInstrument Pt., Ltd., NSW, Australia) 使血壓訊號轉換成電訊號，經由前置放大器 (preamplifier, Grass 7D1) 與 DC 放大器 (Grass, 7DA K) 將訊號放大，並藉由 Powerlab 系統將心跳與血壓訊號，一方面顯示於電腦螢幕，一方面則將之紀錄在電腦的硬碟。

藥物配製

辣椒素 (capsaicin, Tocris, UK) 以 80 % 的生理食鹽水、10 % Tween 80 溶劑 (Hanawa) 與 10 % 的 95% 酒精 (Nihon Shiyaku) 溶解，配製成 0.5 mg/ml 的 stock 溶液，實驗時依動物體重稀釋，使每公斤體重的動物接受 1.25 µg (0.01 ml) 或 0.625 µg (0.005 ml) 的辣椒素。非專一性蕁鹼接受器拮抗劑 (atropine, Sigma)、專一性M₁蕁鹼接受器拮抗劑 (pirenzepine dihydrochloride, Sigma) 與專一性M₂蕁鹼接受器拮抗劑 (gallamine triethiodide, Sigma) 皆以生理食鹽水溶解並配製成 stock 溶液，實驗時才依體重稀釋成所要的濃度。

實驗設計

本研究的實驗設計分成五個部分：第一，將辣椒素裝入微量注射針筒，分為低劑量 (0.625 µg/kg) 與高劑量 (1.25 µg/kg) 兩種劑

量，觀察辣椒素對於抑心與降壓反應的影響。辣椒素從右頸靜脈插管注入，方法是將辣椒素裝入Hamilton注射器，連右頸靜脈插管，辣椒素注入的體積恰好停留在插管內，之後，則推入0.5 ml的生理食鹽水，這樣的注射量剛好可將辣椒素推入，隨血液經心臟流入肺，以刺激肺的迷走感覺神經如C纖維。這兩劑量的注射順序是隨機，相間隔40分鐘以避免過度反應 (Lu *et al.*, 2002, 2005; Lee *et al.*, 2003)。本部份實驗之目的為觀察辣椒素對於抑心與降壓反射是否呈現劑量反應關係，對照是注射同體積的溶劑或稱vehicle。第二，以第一部份實驗所用的高劑量辣椒素 (1.25 $\mu\text{g}/\text{kg}$) 興奮肺的感覺纖維，40分鐘後，剪斷兩側頸迷走神經，隨即再注入同劑量辣椒素，比較切斷迷走神經前、後辣椒素對於抑心與降壓的影響，目的是要確定迷走神經對於辣椒素誘發抑心與降壓反應所扮演的角色。第三，觀察非專一性蕁鹼接受器拮抗劑 (atropine) 是否會減弱辣椒素對抑心與降壓作用的影響。實驗過程是先於頸靜脈注射辣椒素，記錄抑心與降壓反應的變化，40分鐘後，於頸靜脈插管隨機注入2.5或5 mg/kg的阿多平，接著再注射同劑量辣椒素。第四實驗設計是先將辣椒素 (1.25 $\mu\text{g}/\text{kg}$) 注入肺循環，40分鐘後，再由頸靜脈隨機注入不同劑量的gallamine triethiodide (0.4或1.6 mg/kg)，隨後立即注入同劑量的辣椒素，這個實驗的目的是，研究專一性M₂蕁鹼接受器拮抗劑是否參與辣椒素引起抑心與降壓作用。第五實驗與第四相同，僅蕁鹼接受器拮抗劑換為pirenzepine，這是一種專一性M₁亞型接受器拮抗劑，所選用的pirenzepine兩種劑量分別是12.5與50 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ，目的是擬探究M₁亞型接受器有無參與辣椒素所引起的抑心與降壓作用。

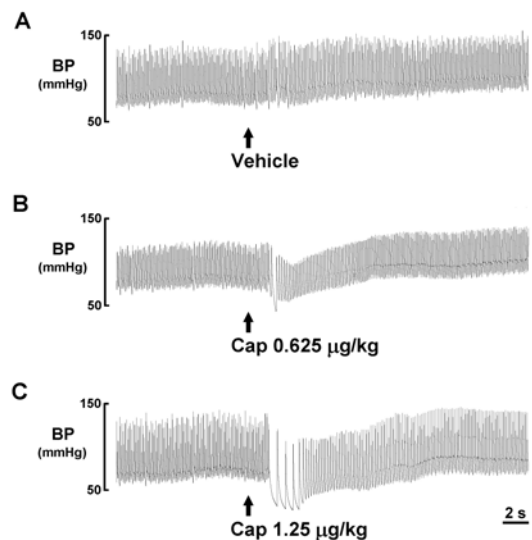
資料分析與統計方法

心跳與血壓的資料經由Powerlab系統中的Data pad模組擷取並分析，所得結果以多重比較方法(multiple comparisons)分析，先以單向變異數分析(one-way ANOVA)分析 (Wallenstein *et al.*, 1980)，若顯著再以Student-Newman-Keuls test 檢測不同劑量辣椒素以及不同處理是否會影響辣椒素所引起的抑心與降壓反應，以 $p < 0.05$ 為顯著水準。

結果

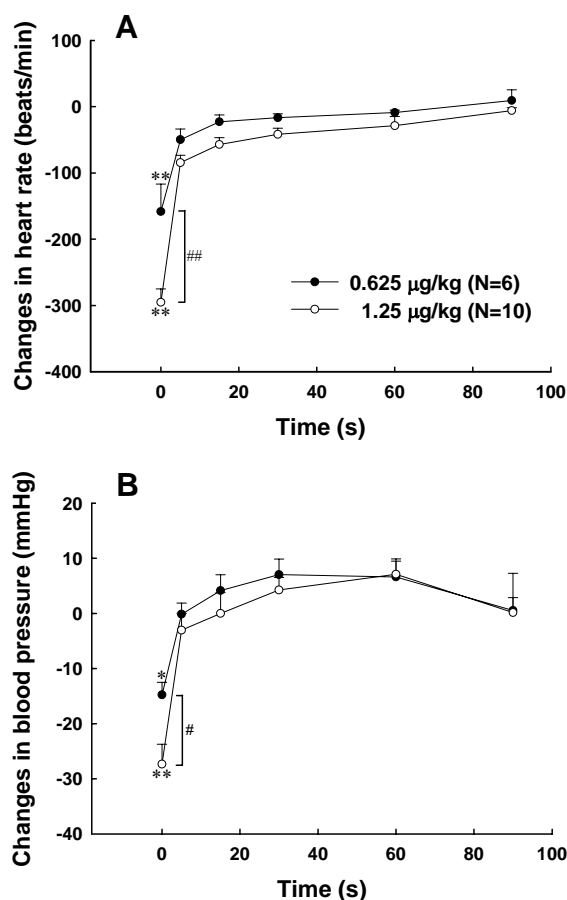
辣椒素引起抑心與降壓作用

低劑量 (0.625 $\mu\text{g}/\text{kg}$) 或高劑量 (1.25 $\mu\text{g}/\text{kg}$) 辣椒素都能引起明顯的抑心與降壓反應 (圖一 B 與 C)，而右頸靜脈注射辣椒素溶劑對心跳與血壓沒有明顯的影響 (圖一 A)。低劑量辣椒素會促使心跳下降 158.4 ± 41.5 次/分鐘 (圖二 A, $p < 0.05$, $N=6$)，血壓降低 14.8 ± 2.3 mmHg (圖二 B, $p < 0.05$, $N=6$)；高劑量辣椒素則會使心跳與血壓分別下降 295.3 ± 20.3 次/分鐘 (圖二 A, $p < 0.05$, $N=10$)、 27.3 ± 3.6 mmHg (圖二 B, $p < 0.01$, $N=10$)。心跳與血壓的反應在辣椒素注射後五秒很快恢復 (圖二 A 與 B)。高劑量辣椒素所引起的抑心與降壓作用比低劑量辣椒素誘發的反應較明顯 (圖二, $p < 0.01$)，顯示抑心與降壓作用是與辣椒素的濃度有關，為獲得較明確的抑心與降壓作用，接下來的實驗，都選擇高劑量辣椒素來進行。



■一、辣椒素引起抑心與降壓作用。低劑量 (0.625 $\mu\text{g}/\text{kg}$, B) 與高劑量 (1.25 $\mu\text{g}/\text{kg}$, C) 辣椒素都會引起明顯的抑心與降壓作用，而溶劑 (A) 則不影響心跳與血壓。BP 表示血壓；向上箭頭表示注射辣椒素的時間。

Figure 1. Capsaicin administration produced bradycardia and hypotension. Low (0.625 $\mu\text{g}/\text{kg}$, panel B) and high (1.25 $\mu\text{g}/\text{kg}$, panel C) doses of capsaicin administration evoked bradycardia and hypotension while vehicle did not produce any effect on heart rate and blood pressure (panel A). BP represents blood pressure; Upward arrow indicates capsaicin administration.

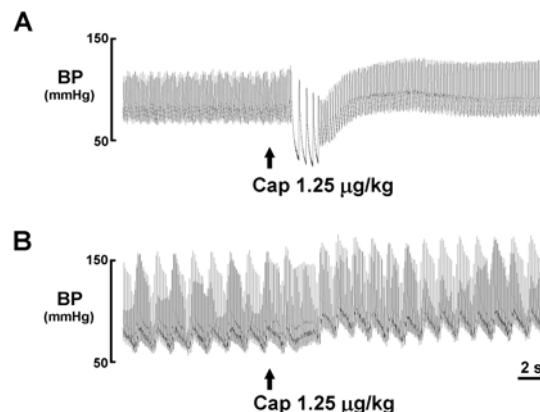


圖二、 辣椒素引發抑心 (A) 與降壓作用 (B) 的時間反應。高與低劑量的辣椒素都能立即引起明顯的抑心與降壓作用，高劑量所引起的作用較低劑量辣椒素強，不論低與高劑量所引起的反應都於五秒鐘後恢復。*: $p < 0.05$, **: $p < 0.01$ (與控制組比較)。#: $p < 0.05$, ###: $p < 0.01$ (與同時時間點的低劑量辣椒素相比)。N代表所觀察的動物數。

Figure 2. Time responses of mean heart rate (A) and blood pressure (B) to capsaicin administration. Low and high doses of capsaicin administration produced an immediate and significant decrease of mean heart rate and blood pressure, which were recovered to control within 5 seconds. The extent of bradycardia and hypotension induced by high dose capsaicin was much larger than that by low dose of capsaicin. *: $p < 0.05$, **: $p < 0.01$ compared with control. #: $p < 0.05$, ###: $p < 0.01$ compared with low doses of capsaicin treatment. N; animal numbers observed.

迷走神經是辣椒素引起抑心與降壓作用不可缺的因素

迷走神經切斷前，高劑量辣椒素會誘發明顯的抑心與降壓作用 (圖三 A)，兩側迷走神經切斷後，同劑量辣椒素就不會再引起明顯的抑心與降壓作用 (圖三 B)。這部分實驗共觀察六隻動物，都相當一致，迷走神經切斷前，高劑量 (1.25 µg/kg) 辣椒素使平均心跳速率下降



圖三、 兩側迷走神經切對對辣椒素引起抑心與降壓作用的影響。高劑量辣椒素 (1.25 µg/kg) 引起的抑心與降壓作用 (A) 會因兩側迷走神經切斷後而完全被阻斷量的辣椒素就不再引起抑心與降壓作用 (B)。BP 表示血壓；向上箭頭表示注射辣椒素的時間。

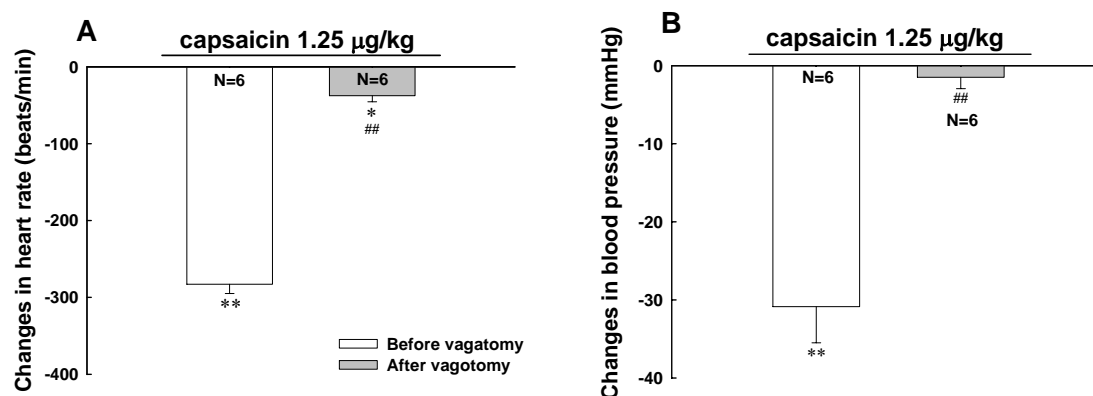
Figure 3. Effect of bilateral vagotomy on the response of bradycardia and hypotension induced by capsaicin administration. Bradycardia and hypotension (panel A) evoked by high dose (1.25 µg/kg) of capsaicin was totally abolished after bilateral cervical vagotomy (panel B). BP represented blood pressure; Upward arrow indicated capsaicin administration. N; animal numbers observed.

282.2 ± 12.1 次/分鐘 (圖四 A 左, $p < 0.01$, N=6)，迷走神經切斷後，同劑量辣椒素只能使平均心跳下降 37.7 ± 7.9 次/分鐘 (圖四 A 右, N=6)。同樣地，辣椒素引起的降壓作用，在迷走神經切斷前會使平均血壓下降 30.9 ± 4.6 mmHg (圖四 B 左, $p < 0.01$, N=6)，而兩側迷走神經切斷後，僅使之下降 1.5 ± 1.5 mmHg (圖四 B 右, N=6)。迷走神經切斷後，明顯使辣椒素的抑心與降壓效應大為減弱 (圖四, $p < 0.01$)。

各種蕁鹼接受器拮抗劑對辣椒素引起抑心與降壓作用的影響

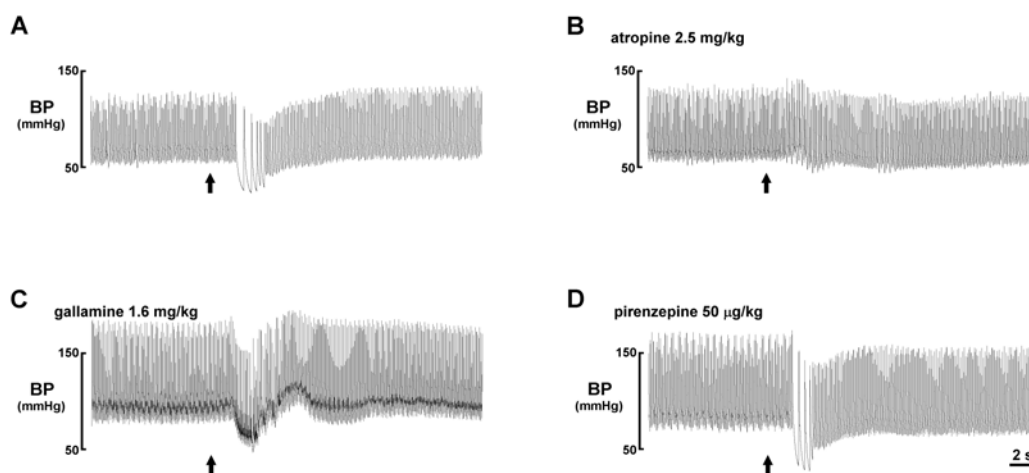
阿多平 (atropine) 對辣椒素引起抑心與降壓作用的影響

阿多平為廣泛性的蕁鹼接受器拮抗劑，注射 atropine 可有效阻斷辣椒素興奮後所引起的抑心與降壓作用 (圖五 B)。Atropine 為蕁鹼接受器的非專一性拮抗劑，未處理前，辣椒素 (1.25 µg/kg) 使心跳降低 306.2 ± 31.7 次/分鐘，若預先處理高 (2.5 mg/kg, N=3) 與低 (5 mg/kg, N=3) 劑量阿多平，心跳分別降低了 40.9



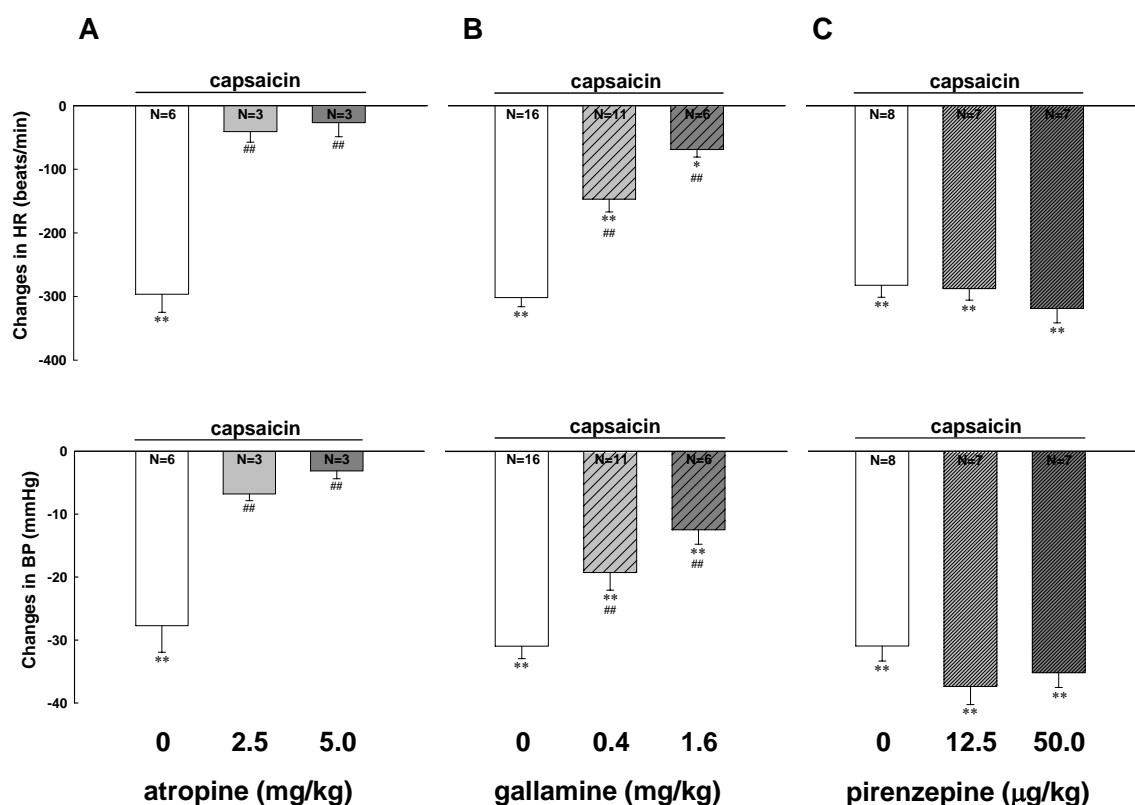
圖四、迷走神經切斷前後辣椒素引起抑心與降壓平均值。切斷兩側迷走神經可有效降低辣椒素 (1.25 μg/kg) 所引起的抑心 (A) 與降壓 (B) 作用，雖然如此，辣椒素在切斷迷走神經後仍會引起明顯的抑心作用，惟心跳下降程度遠低於切斷前的反應。*: $p < 0.05$, **: $p < 0.01$ (與控制組比較)。##: $p < 0.01$ (與切斷迷走神經前辣椒素的作用相比)。N代表所觀察的動物數。

Figure 4. Mean value of bradycardia and hypotension induced by capsaicin administration before and after vagotomy. Bilateral vagotomy significantly attenuated the response of bradycardia and hypotension to capsaicin administration. Nevertheless, heart rate was still significantly decreased by capsaicin administration after vagotomy. *: $p < 0.05$, **: $p < 0.01$ compared with control before bilateral vagotomy. ##: $p < 0.01$ comparison of the response to capsaicin treatment before and after vagotomy. N; animal numbers observed.



圖五、預先處理蕈鹼接受器拮抗劑會影響辣椒素誘發抑心與降壓作用。辣椒素可引起明顯的抑心與降壓作用 (A)，會因為預先處以 atropine (B，這是一種非專一性蕈鹼接受器拮抗劑) 或 gallamine triethiodide (C，一種專一性 M_2 接受器拮抗劑) 而被明顯阻斷，但卻不會被預先給予專一性 M_1 蕈鹼接受器拮抗劑 (pirenzepine) 所阻斷 (D)。BP 表示血壓；向上箭頭表示注射辣椒素的時間。

Figure 5. Effect of pretreatment of varied muscarinic receptor antagonists on bradycardia and hypotension induced by capsaicin administration. Capsaicin producing bradycardia and hypotension (A) could be blocked by atropine, a non-selective muscarinic receptor antagonist (B), or by gallamine triethiodide, a selective muscarinic M_2 receptor antagonist (C), whereas was not blocked by pirenzepine, a selective muscarinic M_1 receptor antagonist (D). BP represents blood pressure; Upward arrow indicates capsaicin injection.



圖六、不同蕈鹼接受器拮抗劑對辣椒素誘發抑心與降壓反應的影響。低與高劑量的蕈鹼接受器拮抗劑，非專一性的阿多平(atropine) (A) 或是專一性gallamine triethiodide (B)，都可以明顯地阻斷辣椒素 (capsaicin) 所引起的抑心與降壓作用，然而，專一性M₁蕈鹼接受器拮抗劑 (pirenzepine) 對於辣椒素引起的抑心與降壓作用卻沒有顯著的影响。*: p<0.05, **: p<0.01 (與控制組比較)。#: p<0.05, ###: p<0.01 (與未預先處理蕈鹼接受器拮抗劑的辣椒素作用相比)。

Figure 6. Effects of varied muscarinic receptor antagonist on mean responses of bradycardia and hypotension to capsaicin administration. Low and high doses of atropine, a non-selective muscarinic receptor antagonist, and of gallamine triethiodide, a selective M₂ muscarinic receptor antagonist, could block the response of bradycardia and hypotension evoked by capsaicin administration. However, low and high doses of pirenzepine, a selective M₁ muscarinic receptor antagonist, did not influence capsaicin-induced bradycardia and hypotension. *:p<0.05, **:p<0.01 compared with the control before pretreatment of muscarinic receptor antagonist. #:p<0.05, ###: p<0.01 compared with the values of capsaicin treatment without pretreatments of muscarinic receptor antagonist. N; animal numbers observed.

± 16.5 次/分鐘與 26.6 ± 22.1 次/分鐘。阿多平也會明顯減弱辣椒素的降壓作用，所以，阿多平處理前，辣椒素使血壓下降了 27.1 ± 4.9 mmHg，可是，若事先給予高與低劑量阿多平，辣椒素的降壓作用分別降了 6.8 ± 1.1 mmHg 與 3.14 ± 1.2 mmHg (圖六 A)，不過，這兩種劑量的阿多平對辣椒素引起的抑心與降壓作用的影響沒有顯著差異。

Gallamine triethiodide 對辣椒素引起抑心與降壓作用的影響

Gallamine triethiodide是M₂接受器阻斷劑，可明顯減低辣椒素所引起之抑心與降壓作用。

隨機地預先處理兩濃度的gallamine triethiodide (0.4 與 1.6 mg/kg)，低濃度的gallamine triethiodide (0.4 mg/kg) 可以明顯減低辣椒素的抑心與降壓作用，心跳由原本每分鐘降 302.6 ± 14.5 次，減弱到只降了 147.5 ± 20.0 次 (圖六 B, p<0.01, N=11); 血壓由下降 30.6 ± 2.0 mmHg 變為只能降低 19.1 ± 2.8 mmHg而已 (圖六 B, p<0.01, N=11); 高濃度的gallamine triethiodide (1.6 mg/kg, N=6) 對辣椒素的影響是，抑心與降壓作用程度分別改變為下降 69.2 ± 11.8 次/分鐘 (圖六 B, p<0.05, N=6) 與下降 12.3 ± 2.3 mmHg (圖六 B, p>0.01, N=6)。

Pirenzepine 對辣椒素引起抑心與降壓作用的影響

實驗時，是先以辣椒素處理，然後給予兩種濃度專一性M₁接受器拮抗劑 (pirenzepine)，這兩種劑量是 12.5 與 50 μg/kg，之後，再給予相同劑量的辣椒素，以評估在M₁接受器拮抗劑處理前後，辣椒素所引起的抑心與降壓作用有無不同，結果顯示M₁接受器拮抗劑無法有效降低辣椒素所引發的反應 (圖六C, p>0.05, N=7)。

討 論

本實驗所得結果顯示辣椒素處理所引起的抑心與降壓作用主要是經由活化M₂接受器所導致，而M₁接受器並不參與。

辣椒素從右頸靜脈注入，隨血液流經右心房到肺以刺激分布於肺的 C 纖維是常用的技術 (Coleridge *et al.*, 1992; Belvisi, 2003)，肺 C 纖維興奮後會引起所謂的肺化學反射，其特徵是呼吸暫停、抑心與降壓作用，在呼吸恢復時，常出現呼吸加快、呼吸體積減少等生理現象 (Coleridge and Coleridge, 1986)，辣椒素到達肺，不僅會刺激 C 纖維，還會刺激少數的 Aδ 纖維 (Belvisi, 2003; Ho *et al.*, 2001)，惟這兩種傳入神經的影響並不相同，興奮肺 C 纖維會抑制呼吸，而興奮 Aδ 纖維卻是增強呼吸，由於所見到的結果是呼吸暫停且恢復後的呼吸型態是淺而快，所以，一般多認為辣椒素是興奮肺的 C 纖維為主，為方便計，本研究乃常以辣椒素興奮肺的 C 纖維稱之，我們實驗室最近所得的結果也相似 (Lu *et al.*, 2002, 2005; Lee *et al.*, 2003)。

在肺化學反射性反應的同時當中，心跳變慢，血壓降低，一般都認為是可以減緩有害的刺激氣體散佈到全身，可是心跳變慢的機制並不十分了解。心跳主要受到心臟迷走傳出神經的調控，刺激心臟迷走傳出神經可以引起明顯的抑心作用。而心臟迷走傳出神經依據傳導速率的不同可分為B神經元與C神經元，B神經元的細胞體來自疑核 (nucleus ambiguus; NA)，而C神經元的細胞體則來自背側迷走神經運動核 (dorsal vagal motor nucleus; DVMN) (Nosaka *et al.*, 1982)。本實驗結果顯示辣椒素引起抑心作用可被M₂接受器拮抗劑所阻斷，這樣

的結果暗示肺C纖維興奮所引起的反射性抑心作用，可能是興奮了疑核與背側迷走神經運動核所引起，這樣的結果與Jones等 (1998) 以及Wang等 (2000) 的看法相同，他們認為肺C纖維活化後會興奮疑核與背側迷走神經核的心臟迷走神經節前神經元 (cardiac vagal preganglionic neurons; CVPNs)，進而經由迷走神經引起抑心作用。而肺C纖維活化後所引起的降壓作用除了由於心跳變慢所導致之外，辣椒素誘發周邊血管擴張 (Coleridge *et al.*, 1992; Coast *et al.*, 1989) 以及交感神經活性下降 (Allen *et al.*, 1994)，也會引起降壓作用。

切斷兩側迷走神經可明顯降低辣椒素所引起的抑心與降壓作用，原因是切斷後，肺 C 纖維的刺激訊號無法經由迷走神經傳入中樞，從另一個角度來看，兩側迷走神經切斷後，也無法將心臟迷走神經節前神經元興奮的訊息傳出到心臟，問題是切斷兩側迷走神經後，卻無法完全阻斷辣椒素所引起的抑心作用，這可能是肺 C 纖維受到辣椒素的作用後，會釋放快肽 (tachykinin) 直接刺激副交感節後神經元，可能因而促使心跳變慢 (Hardwick *et al.*, 1997; Hoover, 1990; Chang *et al.*, 2000)，此外，辣椒素也會直接作用於節律點，降低房室結 (atrioventricular node; AV node) 與竇房節 (sinoatrial node; SA node) 去極化的速率以及動作電位的強度，並延長動作電位再極化的時間 (Cheng *et al.*, 2003; Li *et al.*, 2004)，進而使心跳速率下降。

乙醯膽鹼接受器分為尼古丁接受器與蕁鹼接受器，尼古丁接受器主要位於神經肌連結以及自主神經節後神經元 (Cooper *et al.*, 2003)。哺乳動物的心肌富含蕁鹼接受器，這些接受器用以接受副交感神經所釋放的乙醯膽鹼 (Dhein *et al.*, 2001)。本實驗利用廣泛性的蕁鹼接受器拮抗劑可以有效阻斷辣椒素所引起的抑心與降壓作用，顯示蕁鹼接受器的確參與辣椒素所引起的反射性抑心與降壓作用。大鼠心肌具有五種亞型 (M₁、M₂、M₃、M₄及M₅) 的蕁鹼接受器 (Caulfield and Birdsall, 1998)，M₂接受器活化後會導致心跳與心肌收縮力的下降 (Hartzell, 1988)，但M₁接受器興奮後則有促進心跳與血壓上升的作用 (Hardouin *et al.*, 2002)，推測M₁接受器可能具有避免心跳過度降低的調節作用

(Sharma, 1997)。本實驗利用專一性M₂接受器拮抗劑可明顯降低辣椒素所引起的抑心與降壓反應，但專一性M₁接受器拮抗劑不影響抑心與降壓的反應，說明肺C纖維受到辣椒素活化後主要經由M₂接受器的活化達到抑心與降壓的作用，而M₁接受器並不參與調節辣椒素誘發的抑心與降壓作用。

本實驗將辣椒素直接注入右頸動脈，隨血液流入右心房與右心室後流到肺，因此，辣椒素也可能會興奮心臟的C纖維而引起所謂Bezold-Jarisch反射，促使抑心作用 (Schultz, 2001)。因此，辣椒素所興奮的C纖維不論是位於心臟或是肺臟，都會引起抑心作用。C纖維受到辣椒素的刺激而興奮時，將訊息傳到延腦的孤獨徑核，然後再從孤獨徑核傳到疑核與背側迷走神經運動核，這樣的神經網路非常複雜，Evans等(2003)最近以電生理與藥理學技術，證明刺激迷走傳入神經，有兩個徑路傳到疑核與背側迷走神經運動核，其一是藉由麩胺酸興奮心臟迷走神經節前神經元，其所引起的興奮性突觸後電流，會因高濃度辣椒素破壞C纖維而降低，惟引起興奮作用的延遲時間(latency)不會因為C纖維破壞而有所改變；另一徑路是以GABA去抑制心臟迷走神經節前神經元，這個徑路所引起的抑制性突觸後電流也會因C纖維破壞而降低，但是刺激引起抑制作用的延遲時間(latency)會因為C纖維破壞而延長，顯示抑制作用的神經徑路可能比促進作用的徑路複雜很多，他們認為抑制作用的神經徑路可能是肺伸張受器(pulmonary stretch receptors)興奮引起的。本研究所得結果與Evans等所得之興奮性神經路是一致的，暗示以辣椒素興奮C纖維，無論是位於心臟或肺，可能是藉由麩胺酸神經徑路，來促使投射到心臟的副交感神經，以加強其輸出活動，然後才引起抑心與降壓作用。

總之，辣椒素注入右頸靜脈，可能興奮分布於肺部的C纖維，將訊息傳入中樞神經系統，藉由興奮疑核與背側迷走神經運動核，而增強了副交感神經輸出，所釋放的乙醯膽鹼作用於蕈鹼接受器M₂亞型，因而引起抑心與降壓作用。

誌謝

本研究承蒙國科會經費贊助(計畫編號NSC91-2320-B-003-002)，始得完成，僅此致最高謝意。

參考文獻

- Allen DA, Schertel ER, Weisbrode SE and Myerowitz PD. 1994. Acute lung injury isolated to an in situ lung preparation causes sustained reflex cardiovascular depression in dogs. *J. Appl. Physiol.* 77(4):1850-7.
- Barnes PJ. 2000. Neurogenic inflammation in the airways. *Respir. Physiol.* 125:145-154.
- Belvisi MG. Sensory nerves and airway inflammation: role of A δ and C-fibers. *Pulm. Pharmacol. Ther.* 16: 1-7, 2003.
- Berne RM and Levy MN. 1997. *Cardiovascular physiology*. 7th. Mosby, Missouri.
- Bymaster FP, Carter PA, Zhang L, Falcone JF, Stengel PW, Cohen ML, Shannon HE, Gomeza J, Wess J and Felder CC. 2001. Investigations into the physiological role of muscarinic M₂ and M₄ muscarinic and M₄ receptor subtypes using receptor knockout mice. *Life Sci.* 68(22-23):2473-9.
- Caulfield, MP and Birdsall NJ. 1998. International union of pharmacology. XVII. Classification of muscarinic acetylcholine receptors. *Pharmacol. Rev.* 50(2):279-290.
- Cheng YP, Wang YH, Cheng LP and He RR. 2003. Electrophysiologic effects of capsaicin on pacemaker cells in sinoatrial nodes of rabbits. *Acta. Pharmacol. Sin.* 24(8):826-30.
- Chang Y, Hoover DB, Hancock JC and Smith FM. 2000. Tachykinin receptor subtypes in the isolated guinea pig heart and their role in mediating responses to neurokinin A. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 294(1):147-54.
- Coleridge HM, Coleridge JC, Green JF and Parsons GH. 1992. Pulmonary C-fiber stimulation by capsaicin evokes reflex cholinergic bronchial vasodilation in sheep. *J. Appl. Physiol.* 72(2):770-8.
- Coleridge HM and Coleridge JCG. Reflexes evoked from tracheobronchial tree and lungs. In *Handbook of Physiology: The Respiratory System. Control of Breathing*. Bethesda, MD: Am Physiol Soc, 1986, sect. 3, vol. II. pt. 1, chapt. 12, p. 395-429.

- Coast JR, Romeo RM and Cassidy SS. 1989. Diaphragmatic vasodilation elicited by pulmonary C-fiber stimulation. *Respir. Physiol.* 75(3):279-88.
- Cooper JR, Bloom FE, Roth RH. 2003. *The biochemical basis of neuropharmacology*. 8th. Oxford, New York.
- Dhein S, van Koppen CJ and Brodde OE. 2001. Muscarinic receptors in the mammalian heart. *Pharmacol. Res.* 44(3):161-182.
- Evans C., Baxi S, Neff R, Venkatesan P, and Mendelowitz D. 2003. Synaptic activation of cardiac vagal neurons by capsaicin sensitive and insensitive sensory neurons. *Brain Res.* 979: 210–215.
- Fisher JT, Vincent SG, Gomeza J, Yamada M and Wess J. 2004. Loss of vagally mediated bradycardia and bronchoconstriction in mice lacking M₂ or M₃ muscarinic acetylcholine receptors. *FASEB J.* 18(6):711-3.
- Felder CC. 1995. Muscarinic acetylcholine receptors: signal transduction through multiple effectors. *FASEB J.* 9(8):619-25.
- Hardouin SN, Richmond KN, Zimmerman A, Hamilton SE, Feigl EO and Nathanson NM. 2002. Altered cardiovascular responses in mice lacking the M₁ muscarinic acetylcholine receptor. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 301(1): 129-37.
- Hardwick JC, Mawe GM and Parsons RL. 1997. Tachykinin-induced activation of non-specific cation conductance via NK₃ neurokinin receptors in guinea-pig intracardiac neurones. *J. Physiol.* 504.1:65-74.
- Hartzell HC. 1988. Regulation of cardiac ion channels by catecholamines, acetylcholine and second messenger systems. *Prog. Biophys. Mol. Biol.* 52:165–247.
- Ho CY and Lee LY. 1998. Ozone enhances excitabilities of pulmonary C fibers to chemical and mechanical stimuli in anesthetized rats. *J. Appl. Physiol.* 85(4): 1509-1515.
- Ho CY, Gu Q, Lin YS and Lee LY. 2001. Sensitivity of vagal afferent endings to chemical irritants in the rat lung. *Respir. Physiol.* 127:113-124.
- Ho CY, Gu Q, Hong JL and Lee LY. 2000. Prostaglandins E₂ enhances chemical and mechanical sensitivities of pulmonary C fiber in the rat. *Am. J. Respir. Crit. Care. Med.* 162:528-533.
- Hoover DB. 1990. Effects of substance P on rate and perfusion pressure in the isolated guinea pig heart. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 252:179-184.
- Jones JF, Wang Y and Jordan D. 1998. Activity of C fibre cardiac vagal efferents in anaesthetized cats and rats. *J. Physiol.* 507(3):869-80.
- Krejčí A and Tuček S. 2002. Quantitation of mRNAs for M₂ to M₅ subtypes of muscarinic receptors in rat heart and brain cortex. *Mol. Pharmacol.* 61(6):1267-1272.
- Lai CJ and Kou YR. 1998. Stimulation of vagal pulmonary C fibers by inhaled wood smoke in rats. *J. Appl. Physiol.* 84(1):30-36.
- Lee KZ, Lu IJ, Ku LC, Lin JT, Hwang JC. 2003. Response of respiratory-related hypoglossal nerve activity to capsaicin-induced pulmonary C-fiber activation in the rat. *J Biomed Sci* 10:706-717
- Li Q, Wu YM and He RR. 2004. Electrophysiological effects of capsaicin on spontaneous activity of rabbit atrioventricular node cells. *Sheng Li Xue Bao.* 56(2):248-52.
- Lu IJ, Ku LC, Lin JT, Lee KZ, Hwang JC. 2002. Pulmonary C-fiber activation enhances respiratory-related activities of the recurrent laryngeal nerve in rats. *Chinese J. Physiol.* 45:143-154
- Lu IJ, Lee KZ, Lin JT, Hwang JC. 2005. Capsaicin administration inhibits the abducent branch but excites the thyroarytenoid branch of the recurrent laryngeal nerves in the rat. *J. Appl. Physiol.* 98: 1646-1652.
- Mutoh T, Joad JP and Bonham AC. 2000. Chronic passive cigarette smoke exposure augments bronchopulmonary C-fiber inputs to nucleus tractus solitarius neurons and reflex output in young guinea-pigs. *J. Physiol.* 523:223-233.
- Nosaka S, Yasunaga K and Tamai S. 1982. Vagal cardiac preganglionic neurons: distribution, cell types, and reflex discharges. *Am. J. Physiol.* 243(1):R92-8.
- Sant’Ambrogio G and Widdicombe J. 2001. Reflexes from airway rapidly adapting receptors. *Respir. Physiol.* 125:33-45.
- Schelegle ES and Green JF. 2001. An overview of the anatomy and physiology of slowly adapting pulmonary stretch receptors. *Respir.*

- Physiol. 125:17-31.
- Schultz H D. 2001. Cardiac vagal chemosensory afferents. Function in pathophysiological states, *Ann. NY Acad. Sci.* 940: 59–73.
- Sharma VK, Colecraft HM, Rubin LE, and Sheu SS. 1997. Does mammalian heart contain only the M₂ muscarinic receptor subtype? *Life Sci.* 60:1023-1029.
- Stengel PW, Gomeza J, Wess J, Cohen ML. 2000. M₂ and M₄ receptor knockout mice: muscarinic receptor function in cardiac and smooth muscle in vitro. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 292(3):877-85.
- Wallenstein S, Zucker CL, Fleiss JL. 1980. Some statistical methods useful in circulation research. *Circ. Res.* 47:1-9.
- Wang AL, Blackford TL and Lee LY. 1996. Vagal bronchopulmonary C fiber and acute ventilatory responses to inhaled irritants. *Respir. Physiol.* 104:231-239.
- Wang Y, Jones JF, Jeggo RD, de Burgh Daly M, Jordan D, Ramage AG. 2000. Effect of pulmonary C-fibre afferent stimulation on cardiac vagal neurones in the nucleus ambiguus in anaesthetized cats. *J. Physiol.* 526(1):157-65.
- Widdicombe J. 2001. Airway receptors. *Respir. Physiol.* 125:3-15.

Muscarinic M₂ Receptor Mediates Bradycardia and Hypotension Induced by Capsaicin Administration in the Rat

Chih-Yi Tsai, Chi-Chin Wu, Kun-Ze Lee, Ji-Chuu Hwang*

Department of Life Science, National Taiwan Normal University
Taipei, Taiwan

(Received: 7 April 2005, accepted: 2 May 2005)

ABSTRACT

We have recently observed that capsaicin administration could produce cardiopulmonary chemoreflex reflex, characterized as apnea, bradycardia and hypotension. Bradycardia might be caused by a central-mediated reflex or by directly acting on receptors on the cardiac cells. There are varied muscarinic receptor subtypes on the cardiac cells. Activation of M₂ receptors has been demonstrated to produce decreases in the heart rate while excitation of M₁ receptors has been shown to increase the heart rate. In the present study, we investigated whether muscarinic M₂ receptors might centrally mediate the bradycardia and hypotension response caused by capsaicin-induced activation of pulmonary C-fibers. Male rats of the Wistar strain were used. A tracheostomy and a catheterization of the femoral artery were performed after anesthetization with urethane (1.2 g/kg, i.p.). Another catheter was advanced to close to the entrance of the atrium via the right jugular vein for capsaicin delivery. Capsaicin administration (0.625 and 1.25 µg/kg, i.v.) produced significant decreases in heart rate and blood pressure, which was substantially attenuated by the bilateral vagotomy or pretreatment of atropine (2.5 and 5 mg/kg, i.v.), a nonspecific muscarinic receptor antagonist. The bradycardia and hypotension caused by capsaicin administration was blocked by gallamine triethiodide (0.4 and 1.6 mg/kg, i.v.), an M₂ receptor antagonist, but was not blocked by the pretreatment of pirenzepine (12.5 and 50 µg/kg, i.v.), an M₁ receptor antagonist. These results suggest that activation of M₂ receptors might play a role in bradycardia and hypotension evoked by capsaicin-induced activation of pulmonary C-fibers.

Keywords: capsaicin, bradycardia, hypotension, muscarinic M₂ receptors, rat