

• 实验研究 •

本文引用: 卿 俊, 刘平安, 鄢 然, 刘慧萍, 雷晓明, 黄家威, 管 聘, 刘惠敏, 刘 婷, 唐佳倩, 张国民. 天麻钩藤饮对自发性高血压大鼠血管重塑的抑制作用及对 NOX2/ROS 通路、内质网应激的影响[J]. 湖南中医药大学学报, 2024, 44(12): 2150–2156.

天麻钩藤饮对自发性高血压大鼠血管重塑的抑制作用及对 NOX2/ROS 通路、内质网应激的影响

卿 俊^{1,2}, 刘平安¹, 鄢 然¹, 刘慧萍¹, 雷晓明¹, 黄家威³, 管 聘², 刘惠敏⁴,
刘 婷¹, 唐佳倩¹, 张国民^{1*}

1. 湖南中医药大学, 湖南 长沙 410208; 2. 湖南省中西医结合医院, 湖南 长沙 410006;
3. 南宁市中医医院, 广西 南宁 530000; 4. 湖南中医药大学第一附属医院, 湖南 长沙 410007

〔摘要〕目的 研究天麻钩藤饮对自发性高血压大鼠(spontaneously hypertensive rats, SHR)血管重塑的抑制作用及机制。方法 将大鼠随机分为正常对照组、模型组、厄贝沙坦组和天麻钩藤饮组。给药过程中每周测量大鼠尾动脉压; 给药 4 周后, HE 染色检测胸主动脉组织情况, 测量与计算内膜-中层厚度(intima-media thickness, IMT)、内膜-中层厚度/管腔直径(lumen diameter, LD), 同时扫描电镜检查组织形态变化; 免疫组织化学测定 NADPH 氧化酶 2(NADPH oxidase 2, NOX2)、C/EBP 同源蛋白(C/EBP homologous protein, CHOP)、葡萄糖调节蛋白 78(glucose-regulating protein 78, GRP78)蛋白的表达情况; ELISA 测定血浆中活性氧(reactive oxygen species, ROS)含量。结果 (1)尾动脉压检测: 与正常对照组比较, 模型组大鼠收缩压均显著升高($P<0.05$); 与模型组比较, 给药第 1 周起各治疗组大鼠收缩压均下降($P<0.05$)。 (2)胸主动脉组织形态学检测: 扫描电镜可见模型组胸主动脉壁较正常对照明显增厚; 与模型组比较, 各治疗组胸主动脉壁厚度均降低。HE 染色观察可见正常对照组胸主动脉血管结构正常, 未见动脉管壁增生; 模型组胸主动脉壁明显增厚, 单位面积细胞核数量增多; 与模型组比较, 各治疗组胸主动脉壁厚度、单位面积细胞核数量均减少。与正常对照组比较, 模型组胸主动脉 IMT、IMT/LD 增加($P<0.05$); 与模型组比较, 各治疗组胸主动脉 IMT、IMT/LD 下降($P<0.05$)。 (3)免疫组织化学检测胸主动脉中 NOX2、CHOP、GRP78 蛋白表达水平: 与正常对照组比较, 模型组血管壁 NOX2、CHOP、GRP78 蛋白表达水平显著上升($P<0.05$); 与模型组比较, 各治疗组血管壁 NOX2、CHOP、GRP78 蛋白表达均下降($P<0.05$)。 (4)ELISA 测定血浆中 ROS 含量: 与正常对照组比较, 模型组大鼠血浆中 ROS 含量显著上升($P<0.05$); 与模型组比较, 各治疗组 ROS 含量显著下降($P<0.05$)。结论 天麻钩藤饮在降压的同时抑制血管重塑, 其机制可能与抑制 NOX2/ROS 通路介导的内质网应激有关。

〔关键词〕天麻钩藤饮; 高血压; 血管重塑; NOX2/ROS 通路; 内质网应激

〔中图分类号〕R285.5

〔文献标志码〕A

〔文章编号〕doi:10.3969/j.issn.1674-070X.2024.12.002

Inhibitory effects of Tianma Gouteng Drink on vascular remodeling and its impact on NOX2/ROS pathway and endoplasmic reticulum stress in SHR

QING Jun^{1,2}, LIU Ping'an¹, YAN Ran¹, LIU Huiping¹, LEI Xiaoming¹, HUANG Jiawei³,
GUAN Pin², LIU Huimin⁴, LIU Ting¹, TANG Jiaqian¹, ZHANG Guomin^{1*}

1. Hunan University of Chinese Medicine, Changsha, Hunan 410208, China; 2. Hunan Provincial Hospital of Integrated Chinese and Western Medicine, Changsha, Hunan 410006, China; 3. Nanning Hospital of Traditional Chinese Medicine, Nanning, Guangxi 530000, China; 4. The First Hospital of Hunan University of Chinese Medicine, Changsha, Hunan 410007, China

〔收稿日期〕2024-05-24

〔基金项目〕国家自然科学基金面上项目(81973920); 湖南省中医药研究院一般课题(202025); 湖南省教育厅科学研究青年项目(21B0378); 湖南省自然科学基金-医卫行业联合基金项目(2024JJ9466); 湖南省中医药科研计划重点项目(E2022007); 湖南省教育厅科学研究重点项目(22A0260); 湖南省研究生科研创新项目(CX20220821, CX20230836, CX20230827); 湖南中医药大学研究生科研创新项目(2023CX111, 20213747); 长沙市 2022 年度指导性科技计划项目(kzd22005); 湖南省教育厅科学研究项目(20A385)。

〔通信作者〕* 张国民, 男, 博士, 教授, 博士研究生导师, E-mail: 834095773@qq.com。

[Abstract] Objective To explore the inhibitory effects and related mechanism of Tianma Gouteng Drink on vascular remodeling in spontaneously hypertensive rats (SHR). **Methods** The rats were randomized into normal control, model, irbesartan, and Tianma Gouteng Drink groups. The rat tail artery pressure was measured weekly during administration. After 4 weeks of administration, the tissue of the thoracic aorta was examined by HE staining; intima-media thickness (IMT) of the thoracic aorta was measured and the IMT/lumen diameter (LD) ratio was calculated; the morphological changes of the thoracic aorta were examined by scanning electron microscopy. Immunohistochemical analysis was performed to determine the protein expressions of NADPH oxidase 2 (NOX2), C/EBP homologous protein (CHOP), and glucose-regulating protein 78 (GRP78) in the thoracic aorta. ELISA was used to determine the plasma levels of reactive oxygen species (ROS). **Results** (1) Tail artery pressure measurement: Compared with normal control group, the systolic blood pressure of rats in model group was significantly higher ($P<0.05$); compared with model group, the systolic blood pressure of rats in all treatment groups decreased from the first week of administration ($P<0.05$). (2) Histomorphological examination of the thoracic aorta: Scanning electron microscopy revealed that the wall of the thoracic aorta in model group was significantly thicker than that in normal control group; compared with model group, the thickness of the thoracic aortic wall was reduced in all treatment groups. HE staining showed that the vascular structure of the thoracic aorta in normal control group was normal, with no evidence of arterial wall proliferation; in model group, the wall of the thoracic aorta was significantly thickened, and the number of nuclei per unit area increased; compared with model group, both the thickness of the thoracic aortic wall and the number of nuclei per unit area were reduced in all treatment groups. Compared with normal control group, the IMT and IMT/LD of the thoracic aorta in model group increased ($P<0.05$); compared with model group, the IMT and IMT/LD of the thoracic aorta decreased in all treatment groups ($P<0.05$). (3) Immunohistochemical determination of NOX2, CHOP, and GRP78 protein expression levels in the thoracic aorta: Compared with normal control group, the protein expression levels of NOX2, CHOP, and GRP78 in the vascular wall of model group were significantly higher ($P<0.05$); compared with model group, the protein expression levels of NOX2, CHOP, and GRP78 in the vascular wall decreased in all treatment groups ($P<0.05$). (4) ELISA measurement of plasma ROS level: Compared with normal control group, plasma ROS level in model group significantly increased ($P<0.05$); compared with model group, ROS levels of all treatment groups significantly decreased ($P<0.05$). **Conclusion** Tianma Gouteng Drink can inhibit vascular remodeling while lowering blood pressure, and its mechanism may be related to the inhibition of endoplasmic reticulum stress mediated by NOX2/ROS pathway.

[Keywords] Tianma Gouteng Drink; hypertension; vascular remodeling; NADPH oxidase 2/reactive oxygen species pathway; endoplasmic reticulum stress

高血压是全球面临的重大心脑血管疾病之一,血管重塑为高血压发生发展过程中血管的结构和功能发生一系列病理改变的结果,同时又是高血压不断进展及靶器官损害的重要危险因素^[1]。新近研究发现内质网应激与血管重塑发生发展密切相关,内质网应激不仅影响血管内皮功能,促进血管平滑肌异常增生,亦可导致细胞外基质降解紊乱^[2-3]。内质网应激又受上游 NADPH 氧化酶 2 过氧化物酶(NADPH oxidase 2, NOX2)/活性氧(reactive oxygen species, ROS)通路调节,NOX2 催化产生的 ROS 作为信号分子,是介导内质网应激的重要因素^[4-5]。因此,我们推测 NOX2/ROS 通路介导的内质网应激参与高血压血管重塑发生机制,有待实验证实。

肝阳上亢证为高血压患者主要证型,血管重塑主要考虑兼夹瘀血阻滞证^[6]。天麻钩藤饮为治疗高血压的经典名方,方中天麻、钩藤平肝息风兼通络,

为君。石决明重镇平肝潜阳,加强平肝息风之力;川牛膝引血下行,兼活血利水,共为臣药。杜仲、桑寄生补益肝肾以培本;栀子、黄芩清肝降火,以折其亢阳;益母草助川牛膝活血利水之效,以利平肝阳;首乌藤、朱茯神宁心安神,均为佐药。诸药合用,共奏平肝潜阳、活血通络之效。实验证实天麻钩藤饮的降压疗效,并能改善血管内皮功能^[7],但该方干预高血压及血管重塑的机制有待进一步研究。本研究以自发性高血压大鼠(spontaneously hypertensive rats, SHR)为研究对象,天麻钩藤饮进行干预,探讨该方对 SHR 胸主动脉血管重塑及 NOX2/ROS 通路、内质网应激的影响。

1 材料

1.1 动物来源

SPF 级 WKY 大鼠,雄性,7 周龄,8 只[北京维通利华实验动物技术有限公司,许可证号:SCXK(京)

2021-0006];SPF 级 SHR, 雄性, 7 周龄, 24 只[北京维通利华实验动物技术有限公司, 许可证号: SCXK(京)2021-0006]。饲养条件: 温度 20~26 ℃, 湿度 40%~70% 的 SPF 级环境中, 自由饮食饮水。本研究经湖南中医药大学伦理委员会批准(伦理审批号 2022041701)

1.2 实验试剂

一抗: NOX2(批号: DF6520)购自江苏亲科生物研究中心有限公司; CHOP(批号: 15204-1-AP)、GRP78(批号: 66574-1-Ig)均购自武汉三鹰生物技术有限公司。二抗: 辣根酶标记山羊抗兔 IgG(H+L)(批号: ZB-2301)购自北京中杉金桥生物技术有限公司。ROS 荧光法测试盒(批号: E-BC-K138-F)购自武汉伊莱瑞特生物科技股份有限公司。柠檬酸钠(批号: S116311)购自上海阿拉丁生化科技股份有限公司。柠檬酸(批号: 77-92-9)购自天津市大茂化学试剂厂。牛血清白蛋白 V(BSA)(批号: A8020)、伊红染色液(批号: G1100)、Scott 蓝化液(批号: G1865)均购自北京索莱宝科技有限公司。苏木素染液(批号: ZLI-9610)购自北京中杉金桥生物技术有限公司。DAB 显色试剂盒(批号: CW0125M)、中性树脂胶(批号: CW0136)均购自江苏康为世纪生物科技股份有限公司。超净高级封片胶(批号: YZB)购自江苏贝索生物工程有限公司。

1.3 主要设备

小动物无创血压仪(型号: BP2010AUL)购自北京软隆生物技术有限公司; 扫描电镜(型号: FEI Quanta250)购自美国菲达康有限责任公司; 离子溅射仪(型号: 108Auto)购自英国 Cressington 公司; 组织脱水机(型号: KD-TS3S1)购自浙江省金华市科迪仪器设备有限公司; 石蜡包埋机(型号: HistoCore Arcadia)、切片机(型号: HistoCore BIOCUT)、摊片机(型号: Leica HI1210)均购自德国 Leica 公司; 全自动酶标仪(型号: WD-2012B)购自北京市六一仪器厂; 显微镜(型号: BX43)购自日本 OLYMPUS 公司; 电热恒温培养箱(型号: DHP-9082B)购自上海一恒科学仪器有限公司; 高速冷冻离心机(型号: TGL-16.5M)购自上海卢湘仪离心机仪器有限公司。

2 实验方法

2.1 分组

WKY 大鼠作为正常对照组。SHR 随机平均分

为 3 组: 模型组、厄贝沙坦组、天麻钩藤饮组。

2.2 试剂配制

天麻钩藤饮液: 药物购自湖南省中西医结合医院门诊中药房, 成人每日用量为天麻 9 g, 川牛膝、钩藤各 12 g, 石决明 18 g, 栀子、杜仲、黄芩、益母草、桑寄生、首乌藤、朱茯神各 9 g, 生药总量为 114 g, 成人按 60 kg 计算, 大鼠等效剂量计算为 114 g/60 kg×6.3=11.97 g/kg。药品制备: 将所有中药放入煎药罐中浸泡 1 h, 武火煮沸后改文火继续煎煮 1 h, 将煎煮所得药液倒出, 加入与第一次煎煮同等体积纯水继续煎煮 1 h, 将两次所得药液搅拌混合, 所得混合液按照生药含量 1.197 g/mL 浓缩, 待中药药液冷却后放入冰箱冷藏。大鼠灌胃剂量 10 mL/kg。

厄贝沙坦液: 厄贝沙坦片 150 mg/片(杭州赛诺菲安万特民生制药有限公司, 国药准字 J20030113), 成人每日用量 150 mg, 大鼠等效剂量为 15.75 mg/kg。取厄贝沙坦片用研钵捻碎后加入纯水, 配制成 1.575 mg/mL 的药液。大鼠灌胃剂量 10 mL/kg。

2.3 动物给药及处理

动物适应性饲养 1 周后, 厄贝沙坦组每日灌胃 10 mL/kg 厄贝沙坦液, 天麻钩藤饮组每日灌胃 10 mL/kg 天麻钩藤饮液, 正常对照组及模型组每日灌胃等量生理盐水。连续灌胃 4 周, 处死前每周进行血压测量。4 周后, 丙泊酚麻醉后大鼠下腔静脉采血收集血清, 置低温冻存。其后处死大鼠, 取胸主动脉于 4% 多聚甲醛中固定, 或匀浆低温冻存备用。

2.4 指标检测

2.4.1 大鼠尾动脉压测定 大鼠置于 BP2010AUL 型小动物无创血压检测仪保定器内, 保定器温度调整为 37 ℃, 血压仪传感器套于大鼠尾巴距尾根部约 2 cm 处, 等待示数稳定, 无创血压仪开始自动检测血压, 每只大鼠重复 3 次测试, 取 3 次检测平均收缩压。药物干预前及干预后每周测量一次大鼠尾动脉压。

2.4.2 扫描电镜 固定好的样本经 0.1 mol/L 磷酸盐缓冲液(pnospnate buffered saline, PBS)(pH 7.4)漂洗 3 次, 每次 15 min。0.1 mol/L PBS(pH 7.4)配制 1% 锇酸室温避光固定 1~2 h, 0.1 mol/L PBS(pH 7.4)漂洗 3 次, 每次 15 min; 组织依次入 30%、50%、70%、80%、90%、95%、100% 乙醇中, 每次 15 min, 乙酸异戊酯 15 min 进行脱水处理; 脱水处理好的样本放入临

界点干燥仪内进行干燥;之后样本进行导电处理;样本紧贴于导电碳膜双面胶上放入离子溅射仪样品台上进行喷金 30 s 左右;扫描电子显微镜下观察采图。

2.4.3 HE 染色 已固定好的组织样本经 75%、85%、95% I、95% II、100% I、100% II 乙醇溶液脱水各 60 min,放入二甲苯 I、II 透明各 45 min,再放入石蜡 I、石蜡 II、石蜡 III 透蜡各 50~60 min,石蜡包埋,切片。将石蜡切片进行烤片,然后脱蜡,水化。将已入蒸馏水后的切片放入苏木素染液中染色 3 min,盐酸乙醇分化液分化 15 s,稍水洗,蓝化液返蓝 15 s,流水冲洗,伊红染色 3 min,流水冲洗,脱水,封片,镜检。此外,进行采图及测算,于显微镜下观察并采图,每组选取 16 张圆形或类圆形切片,使用软件 image pro plus 6.0 测量 IMT 并计算 IMT/LD。

2.4.4 免疫组织化学检测 已固定好的组织样本经 75%、85%、95% I、95% II、100% I、100% II 乙醇溶液脱水各 60 min,放入二甲苯 I、II 透明各 45 min,再放入石蜡 I、石蜡 II、石蜡 III 透蜡各 50~60 min,石蜡包埋,切片。将石蜡切片进行烤片,然后脱蜡,水化。接着将切片放入切片架中,加入抗原修复液(柠檬酸缓冲液),高压锅加热煮沸,放入切片煮 5 min,歇 5 min,再煮 5 min,离开热源自然冷却,弃去抗原修复液;将切片用 PBS 淋洗;加入新鲜配制的 3%过氧化氢溶液,以去除内源性过氧化物酶,室温孵育 10 min,PBS 充分淋洗。弃掉组织多余的 PBS,在玻片上滴加 5%牛血清白蛋白(bovine serum albumin, BSA),37 °C 封闭 30 min。弃掉组织多余的封闭液,不洗,每张玻片滴加足够量的稀释好的一抗;4 °C 孵育过夜。再加入辣根酶标记山羊抗兔 IgG(H+L)(1/100),37 °C 孵育 30 min,PBS 充分淋洗。显色复染 DAB 显色 3~5 min,在显微镜下掌握染色程度,PBS 或自来水冲洗 1 min;苏木精复染 3 min,盐酸酒精分化,返蓝;自来水冲洗 1 min,脱水、透明、封片、镜检。

2.4.5 血浆 ROS 检测 每孔加入 100 μ L 的血浆,加入 100 μ L 稀释好的 ROS 荧光探针。设置激发波长 502 nm,发射波长 530 nm 检测荧光值。

2.5 统计学分析

应用 SPSS 27.0 软件进行统计分析。所有实验

重复 3 次,定量结果采用“ $\bar{x} \pm s$ ”表示。两组之间定量数值比较采用独立样本 t 检验,多组之间定量数值比较采用单因素方差分析,两两比较采用 S-N-K 法。以检验水准 $\alpha=0.05$, $P<0.05$ 表示差异有显著统计学差异。

3 结果

3.1 尾动脉压检测

与正常对照组比较,模型组大鼠收缩压均显著升高($P<0.05$);与模型组比较,给药第 1 周起各治疗组大鼠收缩压均下降($P<0.05$)。详见图 1。

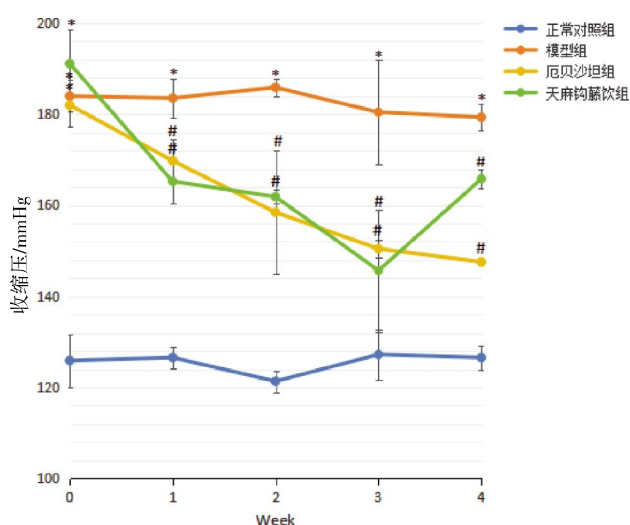


图 1 各组大鼠收缩压曲线图

Fig.1 Systolic blood pressure curves of rats in each group

注:与正常对照组比较,* $P<0.05$;与模型组比较,# $P<0.05$ 。

3.2 扫描电镜

扫描电镜观察各组大鼠胸主动脉形态,正常对照组胸主动脉壁结构正常,未见动脉管壁增生,模型组胸主动脉壁明显增厚。与模型组比较,各治疗组胸主动脉壁厚度均降低。详见图 2。

3.3 HE 染色

HE 染色观察各组大鼠胸主动脉结构,正常对照组胸主动脉血管结构正常,未见动脉管壁增生;模型组胸主动脉壁明显增厚,单位面积细胞核数量增多;与模型组比较,各治疗组胸主动脉壁厚度降低、单位面积细胞核数量减少。详见图 3。

3.4 形态学指标检测

与正常对照组比较,模型组胸主动脉 IMT、IMT/LD 增加($P<0.05$);与模型组比较,各治疗组胸主动脉 IMT、IMT/LD 下降($P<0.05$)。详见表 1。

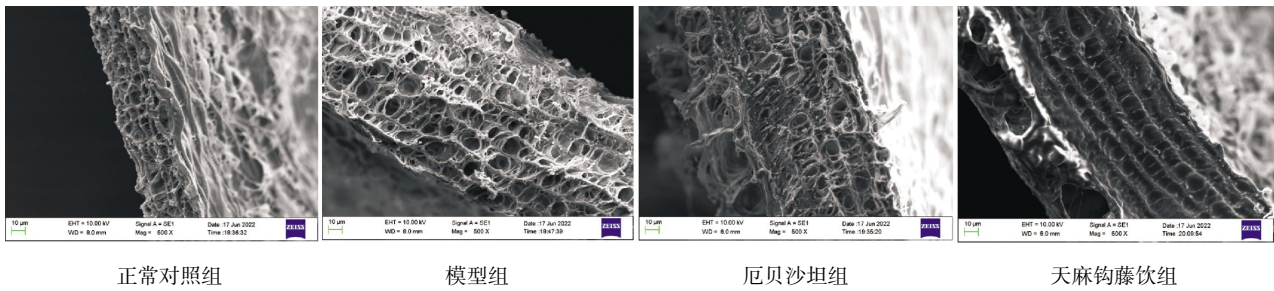


图 2 各组大鼠胸主动脉扫描电镜结果(×500)

Fig.2 Scanning electron microscopic results of the thoracic aorta in each group (×500)

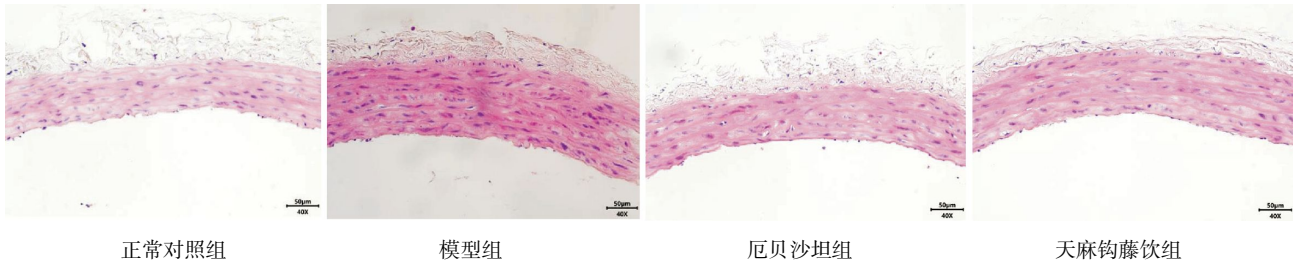


图 3 各组大鼠胸主动脉 HE 染色(×40)

Fig.3 HE staining of the thoracic aorta in each group (×40)

表 1 各组大鼠胸主动脉 IMT、IMT/LD 比较

Table 1 Comparison of IMT and IMT/LD of the thoracic aorta among various groups

分组	n	IMT/ μm	IMT/LD/%
正常对照组	8	41.39 $\pm$ 2.18	3.35 $\pm$ 0.42
模型组	8	50.51 $\pm$ 4.01*	4.29 $\pm$ 0.66*
厄贝沙坦组	8	43.75 $\pm$ 2.52 [#]	3.58 $\pm$ 0.28 [#]
天麻钩藤饮组	8	44.88 $\pm$ 4.37 [#]	3.66 $\pm$ 0.39 [#]

注:与正常对照组比较,* $P<0.05$;与模型组比较,[#] $P<0.05$ 。

3.5 免疫组织化学检测

与正常对照组比较,模型组大鼠胸主动脉血管壁 NOX2、GRP78、CHOP 蛋白表达水平上升($P<0.05$);与模型组比较,各治疗组血管壁 NOX2、GRP78、CHOP 蛋白表达水平均下降($P<0.05$)。详见图 4。

3.6 血浆 ROS 检测

与正常对照组比较,模型组大鼠血浆中 ROS 含量明显上升($P<0.05$);与模型组比较,各治疗组 ROS 含量明显下降($P<0.05$)。详见图 5。

4 讨论

高血压血管重塑是血管对各种刺激的复杂的动态反应过程,发生发展机制复杂,内质网应激可能是其中重要病理环节之一。内质网应激可以影响内皮

细胞的迁移、增殖和血管新生能力,使血管内皮结构完整性和功能受损^[8-9]。内质网应激亦能促进血管平滑肌细胞的凋亡与表型转化,导致血管壁增厚^[3]。此外,在椎间盘退变中,内质网应激破坏细胞外基质的合成和降解平衡,在血管中可能改变血管壁的结构和力学特性^[10]。上述研究表明内质网应激可能是血管重塑的促进因素。本实验中,SHR 血压不断升高,胸主动脉组织单位细胞数增多、紊乱,管壁增生、增厚,发生了血管重塑,血管壁上 GRP78 及 CHOP 蛋白表达增加。GRP78 在内质网应激时表达上调,为内质网应激的标志物。CHOP 为内质网应激中介导细胞凋亡的重要因子。GRP78 及 CHOP 蛋白均表达上调证实内质网应激参与高血压血管重塑的发生与发展。

内质网应激由上游的 NOX2/ROS 通路介导。NOX 是广泛存在于体内组织和器官中的膜蛋白,是体内 ROS 的主要及唯一直接来源。NOX2 是首个发现的 NOX 家族蛋白,主要位于血管壁上^[11]。NOX2 利用亚单位 NADPH 作为电子供体,催化氧分子还原一个电子生成 O_2^- ,进而催化生成 H_2O_2 、HOCl、ONOO⁻等 ROS,造成细胞内氧化还原状态的失衡,最终导致氧化应激^[12-13]。NOX2 催化产生的 ROS 作为信号分子,参与血管壁上内质网应激等诸多生理

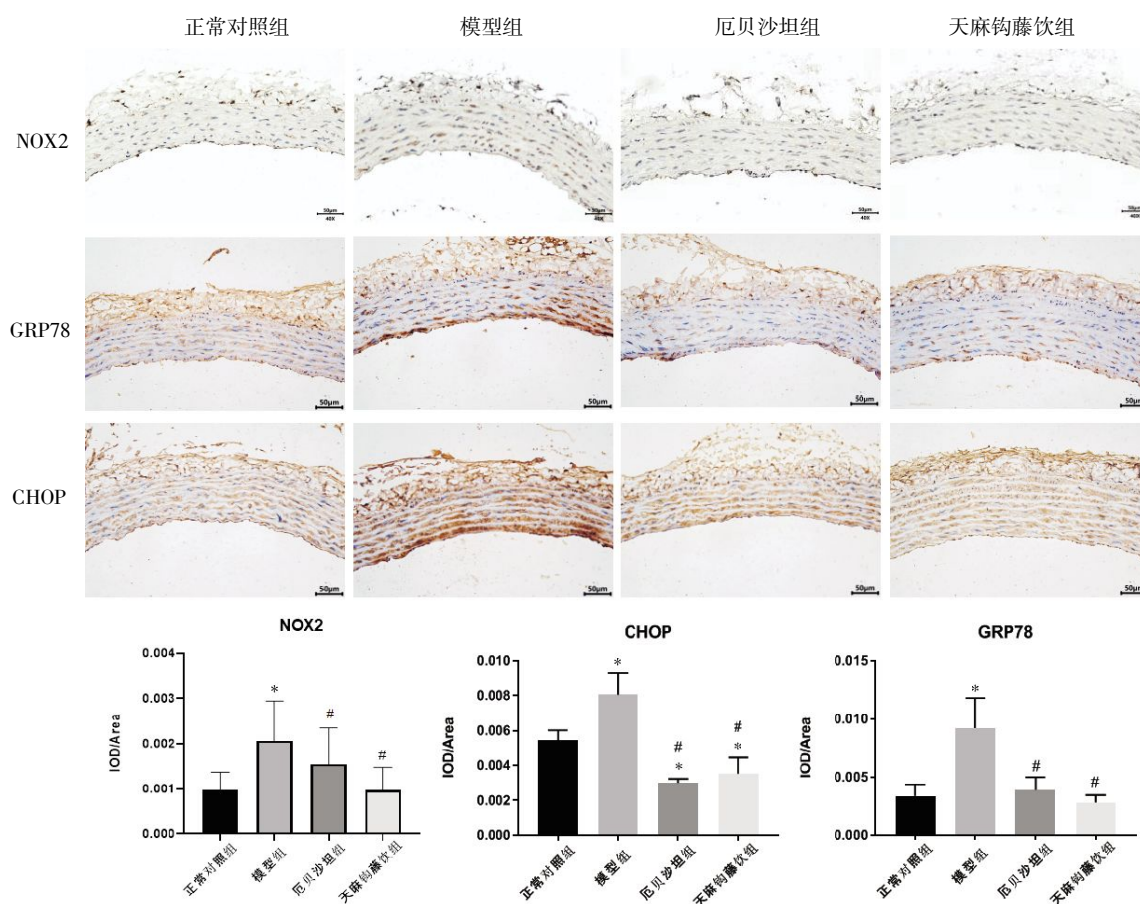


图 4 各组大鼠胸主动脉免疫组织化学检测

Fig.4 Immunohistochemical determination of the thoracic aorta in each group

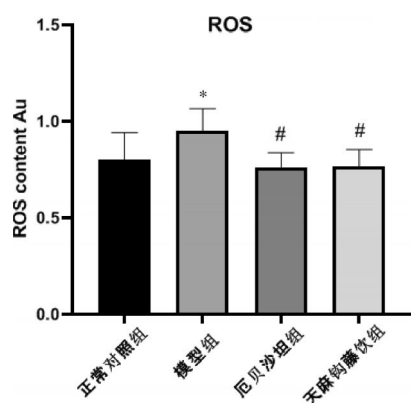
注:与正常对照组比较,* $P<0.05$;与模型组比较,# $P<0.05$ 。

图 5 血浆 ROS 含量

Fig.5 Plasma ROS levels

注:与正常对照组比较,* $P<0.05$;与模型组比较,# $P<0.05$ 。

病理环节的调节^[14]。氧化应激可损伤内质网中的蛋白质,干扰其正确折叠和加工,引发内质网应激。过量的 ROS 干扰内质网中的二硫键形成,影响蛋白质的构象,触发内质网应激相关的信号通路。氧化应激与内质网应激相互影响,参与高血压血管重塑^[15]。此外,ROS 还可能通过影响钙离子平衡等机制,进

一步加重内质网的应激状态^[16]。综上,NOX2/ROS 通路可能介导内质网应激从而导致血管重塑。本实验中,SHR 血压升高、胸主动脉血管重塑及内质网应激关键蛋白升高的同时,血管壁上 NOX2 表达上调,ROS 含量明显升高,表明 NOX2/ROS 通路与内质网应激密切相关,NOX2/ROS 通路介导的内质网应激可能是血管重塑的发生发展机制之一。但是因为缺乏关键蛋白 NOX2 的特异性抑制组作为对照,尚不能完全证实上述机制,本课题组后续拟在体外细胞实验中采用沉默 NOX2 基因等方法进一步研究论证。

高血压多归属于中医学“眩晕”范畴,而对高血压血管重塑无相应病名及确切描述,被认为是高血压并发的脉络病症。肝阳上亢为高血压患者主要病机,血管重塑者主要兼夹瘀血阻络^[6]。天麻钩藤饮作为眩晕病要方,主要由天麻、钩藤、石决明、栀子、黄芩、川牛膝、杜仲、益母草、桑寄生、首乌藤、朱茯神组成,共奏平肝潜阳、活血通络之效。研究证实天麻钩

藤饮可改善阴虚阳亢证患者中医症候与控制血压^[17-18],此外尚可调节血管内皮功能^[7]。但天麻钩藤饮在高血压及高血压血管重塑中的具体作用机制有待进一步研究。本实验中,天麻钩藤饮能降低 SHR 的血压,同时下调胸主动脉管壁上 NOX2 表达,使 ROS 产生减少,继而降低血管壁上内质网应激关键蛋白 CHOP 与 GRP78 的表达,从而抑制血管重塑。上述结果表明天麻钩藤饮可能通过抑制 NOX2/ROS 通路介导的内质网应激,达到逆转高血压血管重塑的作用。

综上所述,天麻钩藤饮降压的同时能抑制血管重塑,可能是通过抑制 NOX2/ROS 通路介导的内质网应激实现的,为高血压血管重塑机制的研究和天麻钩藤饮作用靶点的探讨提供了新的实验依据。

参考文献

- [1] RIZZONI D, AGABITI-ROSEI C, CIUCEIS C D. State of the art review: Vascular remodeling in hypertension [J]. *American Journal of Hypertension*, 2023, 36(1):1-13.
- [2] ZHANG X, XU P, LIN B, et al. Chimonanthus salicifolius attenuated vascular remodeling by alleviating endoplasmic reticulum stress in spontaneously hypertensive rats[J]. *Food Funct*, 2022, 13(11): 6293-6305.
- [3] WANG L L, REN Z T, WU L, et al. HRD1 reduction promotes cholesterol-induced vascular smooth muscle cell phenotypic change via endoplasmic reticulum stress[J]. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 2024, 479(11): 3021-3036.
- [4] KATSEFF A, ALHAWAJ R, WOLIN M S. Redox and inflammatory signaling the unfolded protein response, and the pathogenesis of pulmonary hypertension[J]. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 2021, 1304: 333-373.
- [5] NI Y J, ZHANG J, ZHU W J, et al. Echinacoside inhibited cardiomyocyte pyroptosis and improved heart function of HF rats induced by isoproterenol via suppressing NADPH/ROS/ER stress[J]. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, 2022, 26(21): 5414-5425.
- [6] 陈乙菲, 隋殿军. 基于 CaN/NFAT 信号途径探讨血府逐瘀汤控制大鼠颈总动脉球囊损伤后血管内膜增生的实验研究[J]. *中药材*, 2020, 43(5): 1226-1231.
- [7] 周巍, 赵英强, 李甜, 等. 天麻钩藤饮对高血压前期大鼠血管内皮功能及 miRNA 表达影响的研究[J]. *山西中医*, 2023, 39(8): 57-60.
- [8] CUNARD R. Endoplasmic reticulum stress, a driver or an innocent bystander in endothelial dysfunction associated with hypertension?[J]. *Current Hypertension Reports*, 2017, 19(8): 1-11.
- [9] YU B, YUAN C C, CHEN J N, et al. TMAO induces pyroptosis of vascular endothelial cells and atherosclerosis in ApoE-/- mice via MBOAT2-mediated endoplasmic reticulum stress [J]. *Biochimica et Biophysica Acta Molecular and Cell Biology of Lipids*, 2024, 1869(8): 559-590.
- [10] CHEN Y, LI B X, XU Y, et al. Sal003 alleviated intervertebral disc degeneration by inhibiting apoptosis and extracellular matrix degradation through suppressing endoplasmic reticulum stress pathway in rats[J]. *Frontiers in Pharmacology*, 2023, 14(10): 3389-3402.
- [11] PECCHILLO CIMMINO T, AMMENDOLA R, CATTANEO F, et al. NOX dependent ROS generation and cell metabolism[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2023, 24(3): 2086-2101.
- [12] BIAN Z H, YU H B, HU X R, et al. Tocovid attenuated oxidative stress and cognitive decline by inhibiting amyloid- β -induced NOX2 activation in Alzheimer's disease mice[J]. *Journal of Alzheimer's Disease*, 2024, 99(s1): S23-S33.
- [13] XU J, WU S N, WANG J F, et al. Oxidative stress induced by NOX2 contributes to neuropathic pain via plasma membrane translocation of PKC ϵ in rat dorsal root ganglion neurons[J]. *Journal of Neuroinflammation*, 2021, 18(1): 106-122.
- [14] KONIOR A, SCHRAMM A, CZESNIKIEWICZ-GUZIŁ M, et al. NADPH oxidases in vascular pathology[J]. *Antioxidants & Redox Signaling*, 2014, 20(17): 2794-2814.
- [15] CAMARGO L L, WANG Y, RIOS F J, et al. Oxidative stress and endoplasmic reticular stress interplay in the vasculopathy of hypertension[J]. *The Canadian Journal of Cardiology*, 2023, 39(12): 1874-1887.
- [16] JIA L N, MA T W, LV L Y, et al. Endoplasmic reticulum stress mediated by ROS participates in cadmium exposure-induced MC3T3-E1 cell apoptosis[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2023, 25(1): 4517-4529.
- [17] 陈芳. 天麻钩藤饮联合硝苯地平控释片治疗高血压疗效观察[J]. *内蒙古中医药*, 2024, 43(3): 26-28.
- [18] 丁丽, 张闻东, 朱涛, 等. 天麻钩藤饮联合耳穴埋豆治疗原发性高血压肝阳上亢证的临床观察[J]. *中华中医药杂志*, 2020, 35(8): 4238-4241.

(本文编辑 苏维)