

·实验研究·

本文引用: 黄秋锦, 席建元, 刘秀梅, 陈邦第, 曾 勇, 陈偶英. 基于 P2Y11/cAMP/PKA 信号通路探讨复方钩藤降压片通过干预 SHR 炎症改善左心室肥厚的作用[J]. 湖南中医药大学学报, 2025, 45(5): 779-786.

基于 P2Y11/cAMP/PKA 信号通路探讨复方钩藤降压片 通过干预 SHR 炎症改善左心室肥厚的作用

黄秋锦¹, 席建元², 刘秀梅¹, 陈邦第², 曾 勇^{2*}, 陈偶英^{1*}

1. 湖南中医药大学, 湖南 长沙 410208; 2. 湖南中医药大学第一附属医院, 湖南 长沙 410007

[摘要] 目的 探究复方钩藤降压片通过调节嘌呤能受体 P2Y11 亚型/环磷酸腺苷(cAMP)/蛋白激酶 A(PKA)信号通路干预自发性高血压大鼠(SHR)炎症水平,改善左心室肥厚(LVH)的作用。方法 将 60 只 SHR 随机分为模型组(10 mL/kg 无菌水灌胃+10 mL/kg 生理盐水腹腔注射)、复方钩藤降压片组(10 mL/kg 复方钩藤降压片混悬液灌胃+10 mL/kg 生理盐水腹腔注射)、缬沙坦组(10 mL/kg 缬沙坦混悬液灌胃+10 mL/kg 生理盐水腹腔注射)、抑制剂组(10 mL/kg 无菌水灌胃+10 mL/kg NF340 储备液腹腔注射)、激动剂组(10 mL/kg 无菌水灌胃+10 mL/kg NF546 储备液腹腔注射),每组 12 只;另设 12 只 WKY 大鼠为对照组(10 mL/kg 无菌水灌胃+10 mL/kg 生理盐水腹腔注射)。均连续干预 8 周。监测大鼠尾动脉收缩压;计算心脏质量指数(HMI)、左心室质量指数(LMVI);Western blot 法检测心肌组织中 P2Y11、p-PKA、白细胞介素-10(IL-10)蛋白表达水平;RT-PCR 法检测 cAMP、PKA、IL-10 mRNA 表达水平;免疫组化法检测心肌组织中 P2Y11、IL-10 的阳性表达水平;ELISA 法检测血清 IL-10 水平。结果 与对照组比较,模型组尾动脉收缩压及 HMI、LMVI 水平均升高($P<0.01$);心肌组织 P2Y11、p-PKA、IL-10 蛋白及 cAMP、PKA、IL-10 mRNA 表达水平, P2Y11、IL-10 阳性表达水平,血清 IL-10 含量均降低($P<0.01$)。与模型组比较,复方钩藤降压片组尾动脉收缩压及 HMI、LMVI 水平降低($P<0.01$);心肌组织 P2Y11、p-PKA、IL-10 蛋白及 cAMP、PKA、IL-10 mRNA 表达水平, P2Y11、IL-10 阳性表达水平,血清 IL-10 含量均升高($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。与模型组比较,缬沙坦组尾动脉收缩压及 HMI、LMVI 水平降低($P<0.01$);心肌组织 P2Y11、IL-10 蛋白及 cAMP、IL-10 mRNA 表达水平,血清 IL-10 含量均升高($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。与模型组比较,激动剂组 LMVI 水平降低($P<0.05$);心肌组织 P2Y11、p-PKA、IL-10 蛋白及 cAMP、PKA、IL-10 mRNA 表达水平, P2Y11、IL-10 阳性表达水平,血清 IL-10 含量均升高($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。结论 复方钩藤降压片可能通过上调 P2Y11 受体激活 cAMP/PKA 信号通路表达,改善 SHR 慢性炎症状态,从而降低 SHR 收缩压并改善左心室肥厚。

[关键词] 自发性高血压;复方钩藤降压片;尾动脉收缩压;左心室肥厚;P2Y11/cAMP/PKA 信号通路

[中图分类号]R285.5

[文献标志码]A

[文章编号]doi:10.3969/j.issn.1674-070X.2025.05.001

Effects of Fufang Gouteng Jiangya Tablet on alleviating left ventricular hypertrophy by intervening inflammation in SHR based on P2Y11/cAMP/PKA signaling pathway

HUANG Qiuji¹, XI Jianyuan², LIU Xiumei¹, CHEN Bangdi², ZENG Yong^{2*}, CHEN Ouying^{1*}

1. Hunan University of Chinese Medicine, Changsha, Hunan 410208, China;

2. The First Hospital of Hunan University of Chinese Medicine, Changsha, Hunan 410007, China

[Abstract] **Objective** To explore the effects of Fufang Gouteng Jiangya Tablet (FFGTJYT) on alleviating left ventricular

[收稿日期]2024-10-12

[基金项目]国家自然科学基金项目(82104842);湖南省中医药科研计划项目(D2022086);湖南省教育厅科学研究重点项目(22A0268);长沙市自然科学基金项目(kq2208190);中药粉体与创新药物省部共建国家重点实验室资助项目(2022FTKFJJ05)。

[通信作者]* 陈偶英,女,博士,教授,博士研究生导师,E-mail:1577554027@qq.com;曾 勇,男,博士,主治医师,E-mail:781920555@qq.com。

hypertrophy (LVH) by intervening inflammation through the purinergic receptor P2Y11 subtype/cyclic adenosine monophosphate (cAMP)/protein kinase A (PKA) signaling pathway in spontaneously hypertensive rats (SHRs). **Methods** Sixty SHRs were randomly divided into model group (intra-gastric administration of sterile water 10 mL/kg+intraperitoneal injection of saline 10 mL/kg), FFGTJYT group (intra-gastric administration of FFGTJYT suspension 10 mL/kg+intraperitoneal injection of saline 10 mL/kg), valsartan group (intra-gastric administration of valsartan suspension 10 mL/kg+intraperitoneal injection of saline 10 mL/kg), inhibitor group (intra-gastric administration of sterile water 10 mL/kg+intraperitoneal injection of NF340 reserve solution 10 mL/kg), and agonist group (intra-gastric administration of sterile water 10 mL/kg+intraperitoneal injection of NF546 reserve solution 10 mL/kg), with 12 rats in each group. Another 12 WKY rats were set as the control group (intra-gastric administration of sterile water 10 mL/kg+intraperitoneal injection of saline 10 mL/kg). All interventions were administered continuously for 8 weeks. Systolic blood pressure of tail artery of the rats was monitored. Heart mass index (HMI) and left ventricular mass index (LVMI) were calculated. Western blot was used to check the protein expression levels of P2Y11, p-PKA, and interleukin-10 (IL-10) in myocardial tissue. RT-PCR was used to examine the mRNA expression levels of cAMP, PKA, and IL-10. Immunohistochemistry was used to determine the positive expression levels of P2Y11 and IL-10 in myocardial tissue. ELISA was used to measure the serum content of IL-10. **Results** Compared with the control group, the model group showed significantly increased systolic blood pressure of tail artery, HMI, and LVMI ($P<0.01$). The protein expression levels of P2Y11, p-PKA, and IL-10 in myocardial tissue, as well as the mRNA levels of cAMP, PKA, and IL-10, the positive expression levels of P2Y11 and IL-10, and the serum level of IL-10 significantly decreased ($P<0.01$). Compared with the model group, the FFGTJYT group showed significant reductions in systolic blood pressure of tail artery, HMI, and LVMI ($P<0.01$). There was also a significant increase in the protein expression levels of P2Y11, p-PKA, and IL-10, positive expression levels of P2Y11 and IL-10, and serum content of IL-10 in myocardial tissue ($P<0.05$ or $P<0.01$). Compared with the model group, the valsartan group showed decreased systolic blood pressure of tail artery, HMI, and LVMI ($P<0.01$), and increased protein expression levels of P2Y11 and IL-10, mRNA expression levels of cAMP and IL-10, and serum content of IL-10 in myocardial tissue ($P<0.05$ or $P<0.01$). Compared with the model group, the agonist group had a lower LVMI expression ($P<0.05$), and increased protein expression of P2Y11, p-PKA, and IL-10, mRNA levels of cAMP, PKA, and IL-10, positive expression of P2Y11 and IL-10, and serum content of IL-10 ($P<0.05$ or $P<0.01$). **Conclusion** FFGTJYT can alleviate the chronic inflammatory state of SHR by upregulating the expression of P2Y11 receptor and activating the cAMP/PKA signaling pathway, thereby reducing the systolic blood pressure and alleviating LVH.

[**Keywords**] spontaneous hypertension; Fufang Gouteng Jiangya Tablet; systolic blood pressure of tail artery; left ventricular hypertrophy; P2Y11/cAMP/PKA signaling pathway

高血压是全球心血管疾病发病和死亡的主要且可预防的风险因素^[1]。2018年,我国成人高血压患病率达27.5%^[1],其中高血压合并左心室肥厚(left ventricular hypertrophy, LVH)的发病率>50%^[2]。LVH是心律失常、充血性心力衰竭、猝死和脑卒中等疾病的独立危险因素,伴LVH的高血压患者心血管事件发生率是不伴LVH患者的6~10倍^[3]。

长期低水平慢性炎症已被证实与心血管疾病密切相关^[4]。环磷酸腺苷(cyclic AMP, cAMP)/蛋白激酶A(protein kinase A, PKA)信号通路与炎症反应密切相关,嘌呤能受体P2Y11亚型可激活该信号通路的表达,研究表明P2Y11受体可能成为心血管疾病新的治疗靶点^[5]。本实验以自发性高血压大鼠(spontaneously hypertensive rat, SHR)和WKY大鼠为实

验对象,通过观察尾动脉收缩压,心脏质量指数(heart mass index, HMI)、左心室质量指数(left ventricular mass index, LVMI)及P2Y11/cAMP/PKA信号通路相关指标变化,研究复方钩藤降压片(专利号:CN102068605A)基于P2Y11/cAMP/PKA信号通路干预SHR炎症进而改善左心室肥厚的作用。

1 材料

1.1 实验动物

60只SPF级14周龄雄性SHR、12只SPF级14周龄雄性WKY大鼠均购于北京维通利华实验动物技术有限公司,动物许可证号:SCXK(京)2016-006。动物饲养于湖南中医药大学实验动物中心,温度18~20℃,湿度65%~70%,自由进食、饮水,实验

动物环境设施合格证号:SYXK(湘)2015-0003。本研究严格按照动物伦理的要求进行麻醉、取材等,符合湖南中医药大学动物实验基本伦理要求,伦理批号:LLBH-202309200002。

1.2 主要药物

复方钩藤降压片及缬沙坦胶囊根据成人临床用药量,按照成人体质量 70 kg折合大鼠等效剂量,计算公式:(动物体质量/人的体质量) \times 人用量 $\times 8.65^{[6]}$ 。复方钩藤降压片(批号:20180602,规格:0.4 g/片)由湖南中医药大学第一附属医院制剂科生产,配制成 86.4 mg/mL 混悬液。缬沙坦胶囊(规格:80 mg/粒)由北京诺华制药有限公司生产,国药准字:H20040217,配制成 0.72 mg/mL 混悬液。NF340(P2Y11 受体阻断剂,批号:M29114,规格:20 mg)购自美国 AbMole Bioscience 公司,配制成 10 μ mol/L 储备液^[7]。NF546(P2Y11 受体激动剂,批号:M27619,规格:20 mg)购自美国 AbMole Bioscience 公司,配制成 10 μ mol/L 储备液^[7]。

1.3 主要试剂与仪器

白细胞介素-10(interleukin-10, IL-10)ELISA试剂盒 48T(英国 Abcam 公司,批号:2207R16);动物细胞和组织总蛋白提取试剂盒(武汉三鹰生物技术有限公司,批号:RS0024);山羊抗兔 IgG、GAPDH 单克隆抗体(2B8)、Trizol(美国 Thermo Fisher Scientific 公司,批号:B2001、B2901、15596026);mRNA 逆转录试剂盒、miRNA 逆转录试剂盒(北京康为世纪生物科技有限公司,批号:CW2569、CW2141)。

微量高速离心机(长沙湘智离心机仪器有限公司,型号:TG16W);恒温摇床(上海赫田科学仪器有限公司,型号:HT-111B);酶标仪(深圳雷杜生命科学股份有限公司,型号:RT-6100);荧光成像系统(美国 LI-COR Biosciences 公司,型号:Odyssey DLX);手掌离心机(江苏科析仪器有限公司,型号:XK-400);荧光定量 RCP 仪(美国 Thermo Fisher Scientific 公司,型号:PikoReal96);电泳仪(北京六一生物科技有限公司,型号:DYY-2C);精密 pH 计(上海仪电科学仪器股份有限公司,型号:PHS-3C);生物样品均质仪(杭州奥盛仪器有限公司,型号:BioPrep-24)。

2 方法

2.1 动物分组及给药方法

按照随机数字表法将 60 只 SHR 随机分为

5 组,每组 12 只,即模型组(10 mL/kg 无菌水灌胃+10 mL/kg 生理盐水腹腔注射)、复方钩藤降压片组(10 mL/kg 复方钩藤降压片混悬液灌胃+10 mL/kg 生理盐水腹腔注射)、缬沙坦组(10 mL/kg 缬沙坦混悬液灌胃+10 mL/kg 生理盐水腹腔注射)、抑制剂组(10 mL/kg 无菌水灌胃+10 mL/kg NF340 储备液腹腔注射)、激动剂组(10 mL/kg 无菌水灌胃+10 mL/kg NF546 储备液腹腔注射);另取 12 只 WKY 大鼠设置为对照组(10 mL/kg 无菌水灌胃+10 mL/kg 生理盐水腹腔注射)。所有分组每天在固定时间干预 1 次,共干预 8 周。干预期间以无创尾动脉血压测量分析系统每周测 1 次血压并称量大鼠体质量,根据体质量调整试剂的剂量。

2.2 HMI、LVMI 计算

末次给药后,迅速取出大鼠心脏,根据计算公式:HMI=心脏重量/体质量,LVMI=左心室重量/体质量,计算大鼠 HMI、LVMI。

2.3 Western blot 法

根据心肌组织质量加入 10 倍体积的裂解液(含 1% PMSF),匀浆,室温孵育 1~2 min 后,16 000 $\times g$ 离心 1~2 min,取上清,即得总蛋白。孵育一抗(P2Y11、PKA、IL-10 多克隆抗体,5%TBST 牛奶 1:1 000 稀释),4 $^{\circ}$ C 过夜。第 2 天室温放置 20 min, TBST 洗涤 3 次,每次 5 min。远红外荧光二抗(山羊抗兔 IgG, 5%TBST 牛奶 1:10 000 稀释)37 $^{\circ}$ C 孵育 1 h, TBST 洗涤 4 次,每次 5 min。显影,超灵敏多色荧光成像分析系统分析条带灰度值。

2.4 RT-PCR 法

Trizol 提取心肌组织总 RNA,紫外分光光度计测定 RNA 浓度,在 260 nm 与 280 nm 处测其吸光度值,并计算其纯度。按照试剂盒说明书步骤逆转录合成 cDNA,在 NCBI 上搜索目的基因的序列,运用 Primer 5.0 软件设计引物,以 GAPDH 为内参,2- $\Delta\Delta C_t$ 法计算各组心肌 cAMP、PKA、IL-10 的表达水平。相应引物序列由北京擎科生物科技有限公司合成。详见表 1。

2.5 免疫组化法

取在 4%多聚甲醛溶液中固定的心肌组织,经液体石蜡进行包埋后,4 μ m 切片,二甲苯脱蜡,不同浓度乙醇梯度脱水,一抗孵育(4 $^{\circ}$ C 过夜),二抗孵育(室温 30 min),DAB 显色,复染,脱水封片。光学显微镜下观察 P2Y11、IL-10 的蛋白表达情况,并用

表 1 各基因引物序列

Table 1 Gene primer sequences

| 基因 | 正向序列(5'—3') | 反向序列(5'—3') | 产物长度/bp |
|-------|----------------------|----------------------|---------|
| cAMP | TGTGAGGTTCCGACTGAAGG | CGTCACATACCCCTGTCAGT | 110 |
| PKA | AGCAGGAGAGCCTGAAAGAG | TTCCACCACTTCGACTTCGT | 220 |
| IL-10 | TGCTTCAGCTTACCACCTT | GACGTATCTTCGGATGCACT | 79 |
| GAPDH | ACAGCAACAGGCTGGTGGAC | TTCAAGCGACGTGGGACTTT | 252 |

ImageJ 软件对所取图片进行定量分析,测出平均光密度(average optical density, AOD)值。

2.6 ELISA 法

严格按照试剂盒说明书的步骤操作,检测各组大鼠血清中 IL-10 的含量。制作标准曲线后,根据样本吸光度,通过回归方程计算出对应的样品浓度。

2.7 统计学分析

使用 SPSS 26.0 进行数据处理,计量资料以“ $\bar{x} \pm s$ ”表示,各组间比较采用方差分析(ANOVA),组间两两比较采用最小显著差值法(LSD)。以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

3 结果

3.1 复方钩藤降压片对大鼠尾动脉收缩压的影响

与对照组比较,模型组尾动脉收缩压升高($P < 0.01$)。与模型组比较,复方钩藤降压片组及缬沙坦组尾动脉收缩压均降低($P < 0.01$)。与复方钩藤降压片组及缬沙坦组比较,抑制剂组及激动剂组尾动脉收缩压均升高($P < 0.01$)。与抑制剂组比较,激动剂组尾动脉收缩压降低($P < 0.05$)。详见图 1。

3.2 复方钩藤降压片对大鼠 HMI、LVMI 的影响

与对照组比较,模型组 HMI、LVMI 升高($P < 0.01$)。与模型组比较,复方钩藤降压片组及缬沙坦组 HMI、

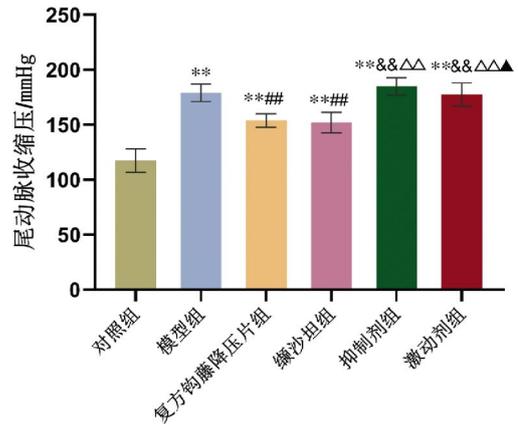
图 1 各组大鼠尾动脉收缩压比较($\bar{x} \pm s, n=12$)

Fig.1 Comparison of systolic blood pressure of tail artery among different groups of rats ($\bar{x} \pm s, n=12$)

注:与对照组比较,** $P < 0.01$;与模型组比较,# $P < 0.01$;与复方钩藤降压片组比较,§ $P < 0.01$;与缬沙坦组比较,△ $P < 0.01$;与抑制剂组比较,▲ $P < 0.05$ 。

LVMI 均降低($P < 0.01$),激动剂组 LVMI 降低($P < 0.05$)。与复方钩藤降压片组比较,抑制剂组 HMI、LVMI 均升高($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),激动剂组 LVMI 升高($P < 0.01$)。与缬沙坦组比较,抑制剂组及激动剂组 HMI、LVMI 均升高($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。与抑制剂组比较,激动剂组 HMI、LVMI 均降低($P < 0.01$)。详见图 2。

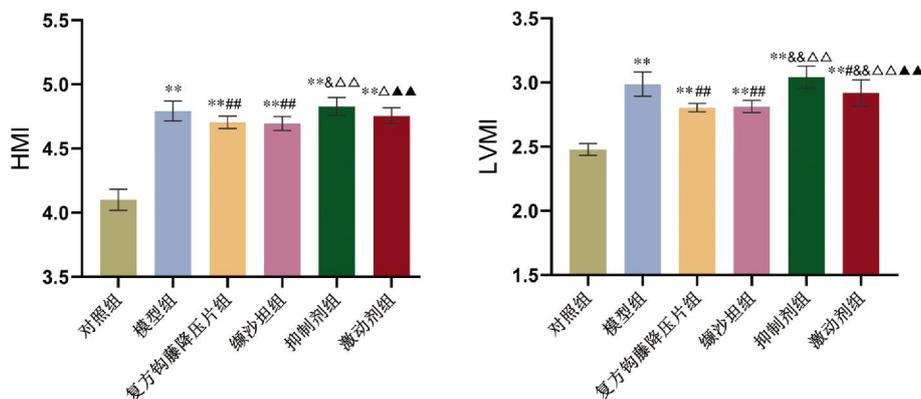
图 2 各组大鼠 HMI、LVMI 比较($\bar{x} \pm s, n=12$)

Fig.2 Comparison of HMI and LVMI among different groups of rats ($\bar{x} \pm s, n=12$)

注:与对照组比较,** $P < 0.01$;与模型组比较,# $P < 0.05$,# $P < 0.01$;与复方钩藤降压片组比较,§ $P < 0.05$,§ $P < 0.01$;与缬沙坦组比较,△ $P < 0.05$,△ $P < 0.01$;与抑制剂组比较,▲ $P < 0.01$ 。

3.3 复方钩藤降压片对大鼠心肌组织 P2Y11、p-PKA、IL-10 蛋白表达水平的影响

与对照组比较,模型组心肌组织 P2Y11、p-PKA、IL-10 蛋白表达水平均降低($P<0.01$)。与模型组比较,复方钩藤降压片组及激动剂组 P2Y11、p-PKA、IL-10 蛋白表达水平均升高($P<0.05$ 或 $P<0.01$),缬沙坦组 P2Y11、IL-10 蛋白表达水平均升高($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。与复方钩藤降压片组及缬沙坦组比较,抑制剂组 P2Y11、p-PKA、IL-10 蛋白表达水平均降低($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。与抑制剂组比较,激动剂组 P2Y11、p-PKA、IL-10 蛋白表达水平均升高($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。详见图 3—4。

3.4 复方钩藤降压片对大鼠心肌组织 cAMP、PKA、IL-10 mRNA 表达水平的影响

与对照组比较,模型组心肌组织 cAMP、PKA、IL-10 mRNA 表达水平均降低($P<0.01$)。与模型组比较,复方钩藤降压片组、激动剂组 cAMP、PKA、IL-10 mRNA 表达水平均升高($P<0.05$ 或 $P<0.01$),缬沙

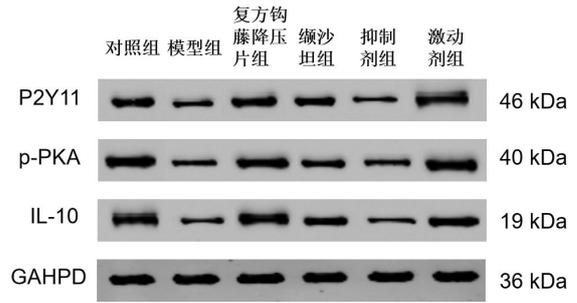


图 3 各组大鼠心肌组织 P2Y11、p-PKA、IL-10 电泳图
Fig.3 Electrophoretogram of P2Y11, p-PKA, and IL-10 in myocardial tissues in each group of rats

坦组 cAMP、IL-10 mRNA 表达水平均升高($P<0.05$)。与复方钩藤降压片组及缬沙坦组比较,抑制剂组 cAMP、PKA、IL-10 mRNA 表达水平均降低($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。与缬沙坦组比较,激动剂组 PKA 水平升高($P<0.05$)。与抑制剂组比较,激动剂组 cAMP、p-PKA、IL-10 mRNA 表达水平均升高($P<0.01$)。详见图 5。

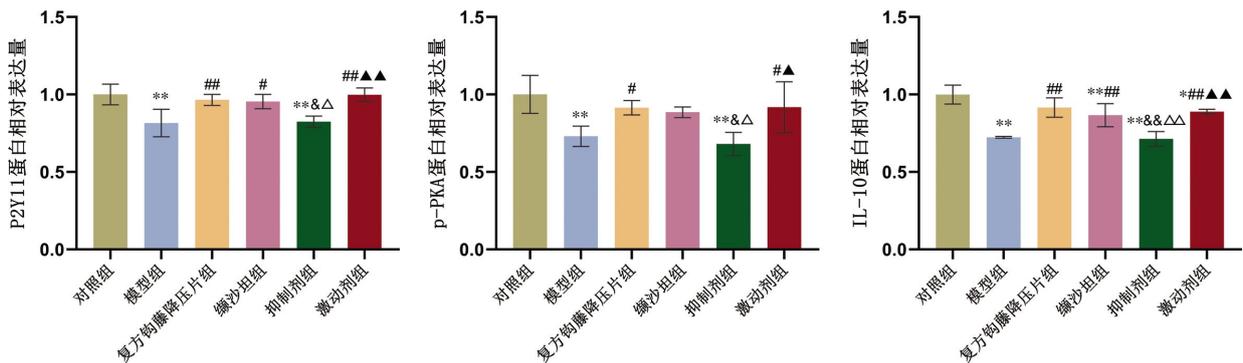


图 4 各组大鼠心肌组织 P2Y11、p-PKA、IL-10 蛋白表达水平比较($\bar{x}\pm s, n=12$)

Fig.4 Comparison of protein expression levels of P2Y11, p-PKA, and IL-10 in myocardial tissues among different groups of rats ($\bar{x}\pm s, n=12$)

注:与对照组比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$;与模型组比较,# $P<0.05$,## $P<0.01$;与复方钩藤降压片组比较,§ $P<0.05$,§§ $P<0.01$;与缬沙坦组比较,△ $P<0.05$,△△ $P<0.01$;与抑制剂组比较,▲ $P<0.05$,▲▲ $P<0.01$ 。

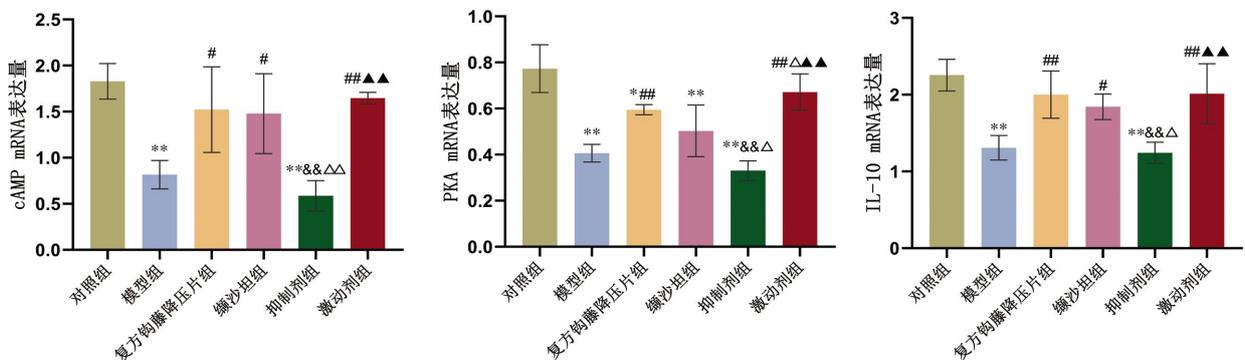


图 5 各组大鼠心肌组织 cAMP、PKA、IL-10 mRNA 表达水平比较($\bar{x}\pm s, n=12$)

Fig.5 Comparison of expression levels of cAMP, PKA, and IL-10 mRNA in myocardial tissues among different groups of rats ($\bar{x}\pm s, n=12$)

注:与对照组比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$;与模型组比较,# $P<0.05$,## $P<0.01$;与复方钩藤降压片组比较,§§ $P<0.01$;与缬沙坦组比较,△ $P<0.05$,△△ $P<0.01$;与抑制剂组比较,▲▲ $P<0.01$ 。

3.5 复方钩藤降压片对大鼠心肌组织 P2Y11、IL-10 阳性表达水平的影响

与对照组比较,模型组心肌组织 P2Y11、IL-10 阳性表达水平均降低($P<0.01$)。与模型组比较,复方钩藤降压片组、激动剂组 P2Y11、IL-10 阳性表达水平均升高($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。与复方钩藤降压片组比较,抑制剂组 P2Y11、IL-10 阳性表达水平均降低($P<0.05$)。与缙沙坦组比较,抑制剂组 P2Y11 阳性表达水平降低($P<0.05$),激动剂组 IL-10 阳性表达水平升高($P<0.05$)。与抑制剂组比较,激动剂组 P2Y11、IL-10 阳性表达水平均升高($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。见表 2、图 6—7。

3.6 复方钩藤降压片对大鼠血清 IL-10 含量的影响

与对照组比较,模型组血清 IL-10 含量下降($P<0.01$)。与模型组比较,复方钩藤降压片组、缙沙坦组、激动剂组血清 IL-10 含量均升高($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。与复方钩藤降压片组及缙沙坦组比较,抑制剂组 IL-10 含量均降低($P<0.01$)。与抑制剂组比较,激动剂组 IL-10 含量升高($P<0.01$)。详见图 8。

4 讨论

左心室是持续高血压状态损伤的主要结构之一,而 LVH 既是高血压的标志性改变,也是心血管

表 2 各组大鼠心肌组织 P2Y11、IL-10 阳性表达水平比较($\bar{x}\pm s, \%, n=12$)

Table 2 Comparison of positive expression levels of P2Y11 and IL-10 in myocardial tissues among different groups of rats ($\bar{x}\pm s, \%, n=12$)

| 组别 | P2Y11 | IL-10 |
|----------|------------------------------------|---------------------------------|
| 对照组 | 15.82±5.97 | 15.55±4.59 |
| 模型组 | 0.95±0.78** | 0.29±0.22** |
| 复方钩藤降压片组 | 9.04±1.86 [#] | 6.66±4.17** [#] |
| 缙沙坦组 | 8.48±2.15 | 4.25±1.33** |
| 抑制剂组 | 0.68±0.71** ^{&\Delta} | 0.09±0.09** ^{&} |
| 激动剂组 | 10.40±8.34 ^{*▲} | 10.48±4.56 ^{##\Delta▲} |

注:与对照组比较,** $P<0.01$;与模型组比较,* $P<0.05$,[#] $P<0.01$;与复方钩藤降压片组比较,[&] $P<0.05$;与缙沙坦组比较,^{\Delta} $P<0.05$;与抑制剂组比较,[▲] $P<0.05$,^{▲▲} $P<0.01$ 。

疾病不良结局的重要危险因素^[3]。高血压患者的血流动力学改变及神经内分泌因素导致了 LVH 的发生^[8],逆转心脏、血管的不良重塑是高血压治疗的重要目标^[9]。

近期研究对慢性炎症在心血管疾病长期发展中起到的作用愈发重视,高血压状态下血管内皮细胞受损,可促进释放多种促炎因子及抗炎因子,抗炎因子如 IL-10 可降低炎症损伤,减少心脏重构^[10]。cAMP/PKA 信号通路与心肌等组织器官的纤维化及炎症反应密切相关,同时广泛参与神经系统的保护、再

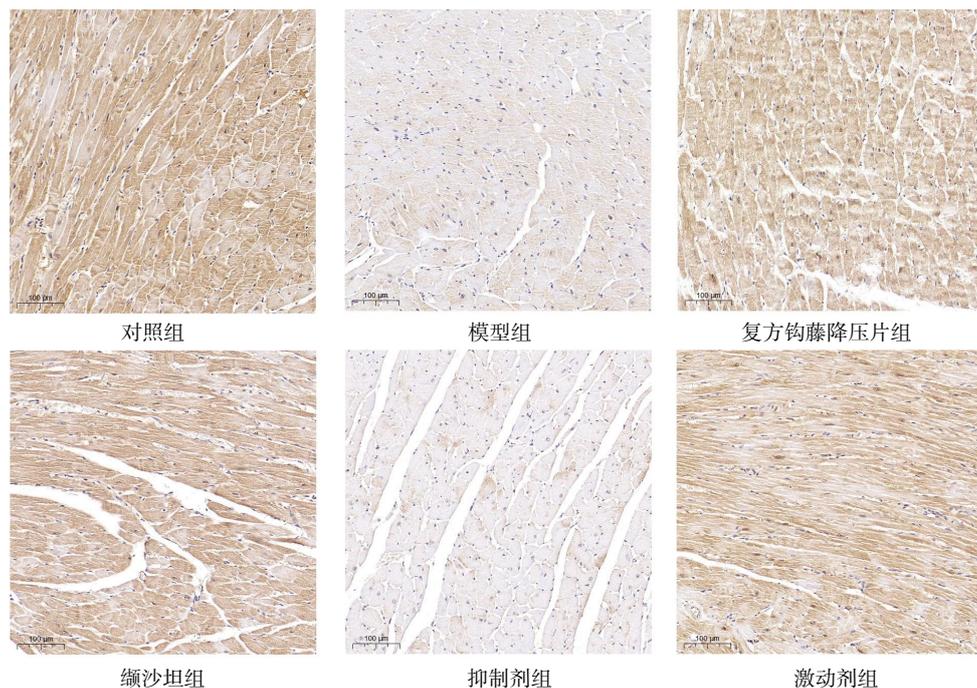


图 6 各组大鼠心肌组织 P2Y11 免疫组化结果($\times 20$)

Fig.6 Immunohistochemical results of P2Y11 in myocardium tissues in each group of rats ($\times 20$)

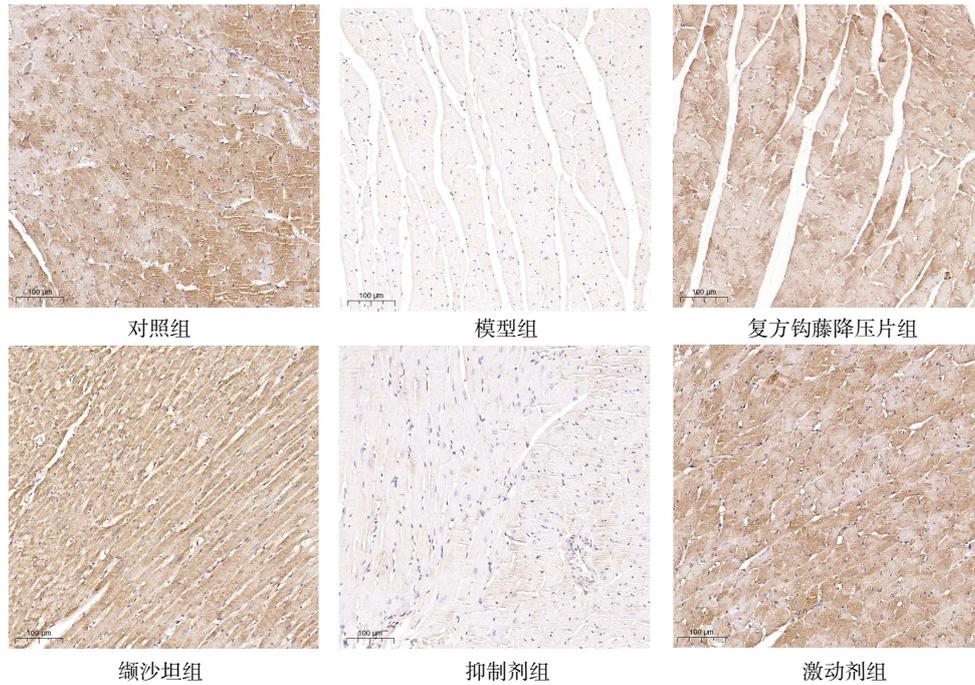


图 7 各组大鼠心肌组织 IL-10 免疫组化结果(x20)

Fig.7 Immunohistochemical results of IL-10 in myocardium in each group of rats (x20)

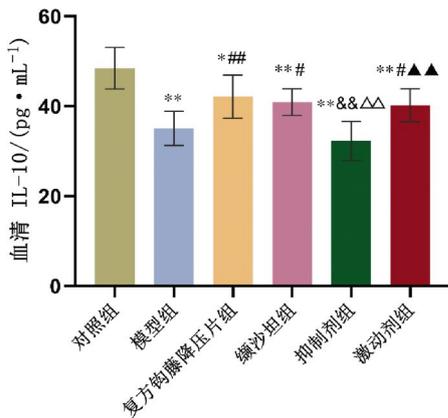


图 8 各组大鼠血清 IL-10 含量比较($\bar{x} \pm s, n=12$)

Fig.8 Comparison of serum IL-10 content among different groups of rats ($\bar{x} \pm s, n=12$)

注:与对照组比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$;与模型组比较,[#] $P < 0.05$,^{##} $P < 0.01$;与复方钩藤降压片组比较,^{##} $P < 0.01$;与缬沙坦组比较,^{△△} $P < 0.01$;与抑制剂组比较,^{▲▲} $P < 0.01$ 。

生、修复及学习和情绪等过程,该通路的激活可抑制炎症的发生^[11]。

cAMP 是细胞内重要的第二信使,由腺苷酸环化酶(adenylate cyclase, AC)催化三磷酸腺苷(adenosine triphosphate, ATP)生成。在炎症过程中,ATP 会大量释放并堆积于受累组织,进而激活各种嘌呤能受体,包括 P2Y11 受体^[12]。P2Y11 受体作为嘌呤能受体家族的一员,是目前唯一已知的可介导细胞内 cAMP 升高的 ATP 受体,其广泛分布于与心血管疾病相关

的细胞类型中,如心肌细胞、内皮细胞、成纤维细胞、免疫细胞等,通过 Gα 亚基引起 cAMP 的堆积,触发 cAMP/PKA 信号通路传导^[13]。有研究表明,可应用 NF546 激动 P2Y11 受体,从而降低心肌细胞中的氧化应激,改善血管紧张素 II 诱导的血管内皮障碍,抑制成纤维细胞增殖^[14]。以上研究提示,P2Y11 受体可能成为心血管疾病的潜在治疗靶点。

张景岳在《景岳全书·卷十七·眩运》中结合前人思想提出“无虚不能作眩”,“虚”为高血压发病之根,常见肝肾阴虚、气血亏虚等病机,久则或虚热煎灼血液或血行无力而成“瘀”,肝阳偏亢或气血不顺又可生“风”,扰动清阳。复方钩藤降压片由钩藤、川芎、麦冬等药物组成,是在长期临床实践中总结、精简而成的经验方,针对高血压左心室肥厚“虚、瘀、风”的病因病机^[15],立养阴柔肝、活血通络为法,全方补肝肾之阴虚,通瘀阻之血脉,制上亢之肝风。龙红萍等^[16]基于 UPLC-Q-TOF-MS/MS 技术,分析鉴定复方钩藤降压片中含有大量黄酮类、生物碱类、单萜类、甾体及有机酸类等成分。前期研究证实,复方钩藤降压片可显著降低 SHR 血压,干预左心室肥厚进程,具有抑制肾素-血管紧张素-醛固酮系统、改善血管内皮功能等效应,并可通过稳定细胞膜、上调三羧酸循环底物水平、改善氧化应激等途径恢复肥大心肌细胞的正常形态,同时对同属于 G 蛋白偶联受体家

族的 P2Y6 受体表现出抑制作用^[17-20]。

本研究旨在探究复方钩藤降压片对 P2Y11/cAMP/PKA 信号通路的调节作用,实验结果表明,复方钩藤降压片对 SHR 尾动脉收缩压及 HMI、LVMI 水平具有良好的调控作用;与模型组相比,复方钩藤降压片组 SHR 心肌组织中 P2Y11 受体及 cAMP、p-PKA/PKA 表达水平均明显上升,心肌组织及血清中 IL-10 含量升高。综上所述,复方钩藤降压片可能通过上调 P2Y11 受体水平,激活 cAMP/PKA 信号通路,改善 SHR 心肌组织炎症状态,从而对 SHR 左心室重构起到一定调节作用,而复方钩藤降压片能否通过其他位点调控 cAMP/PKA 信号通路还有待进一步研究。

参考文献

- [1] 中国高血压防治指南修订委员会, 高血压联盟(中国), 中国医疗保健国际交流促进会高血压病学分会, 等. 中国高血压防治指南(2024 年修订版)[J]. 中华高血压杂志(中英文), 2024, 32(7): 603-700.
- [2] YILDIZ M, OKTAY A A, STEWART M H, et al. Left ventricular hypertrophy and hypertension[J]. Progress in Cardiovascular Diseases, 2020, 63(1): 10-21.
- [3] ĐORĐEVIĆ D B, KORAČEVIĆ G P, ĐORĐEVIĆ A D, et al. Hypertension and left ventricular hypertrophy[J]. Journal of Hypertension, 2024, 42(9): 1505-1515.
- [4] FRANCISCO V, PINO J, GONZALEZ-GAY M A, et al. Adipokines and inflammation: Is it a question of weight?[J]. British Journal of Pharmacology, 2018, 175(10): 1569-1579.
- [5] CABOU C, MARTINEZ L O. The interplay of endothelial P2Y receptors in cardiovascular health: From vascular physiology to pathology[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2022, 23(11): 5883.
- [6] 黄继汉, 黄晓晖, 陈志扬, 等. 药理试验中动物间和动物与人体间的等效剂量换算[J]. 中国临床药理学与治疗学, 2004, 9(9): 1069-1072.
- [7] BOURGUIGNON T, BENOIST L, CHADET S, et al. Stimulation of murine P2Y11-like purinoreceptor protects against hypoxia/reoxygenation injury and decreases heart graft rejection lesions[J]. Journal of Thoracic And Cardiovascular Surgery, 2019, 158(3): 780-790.
- [8] 陈艳霞, 钟若英. 原发性高血压左心室肥厚影响因素的研究进展[J]. 中国医药科学, 2022, 12(24): 51-54, 124.
- [9] NWABUO C C, VASAN R S. Pathophysiology of hypertensive heart disease: Beyond left ventricular hypertrophy[J]. Current Hypertension Reports, 2020, 22(2): 11.
- [10] GOSWAMI S K, RANJAN P, DUTTA R K, et al. Management of inflammation in cardiovascular diseases[J]. Pharmacological Research, 2021, 173: 105912.
- [11] YAN J, ZHANG Y M, YU H R, et al. GPSM1 impairs metabolic homeostasis by controlling a pro-inflammatory pathway in macrophages[J]. Nature Communications, 2022, 13(1): 7260.
- [12] ANDERSEN L L, HUANG Y Q, URBAN C, et al. Systematic P2Y receptor survey identifies P2Y11 as modulator of immune responses and virus replication in macrophages[J]. The EMBO Journal, 2023, 42(23): e113279.
- [13] PIOLLET M, STURZA A, CHADET S, et al. P2Y11 agonism prevents hypoxia/reoxygenation-and angiotensin II-induced vascular dysfunction and intimal hyperplasia development[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2021, 22(2): 855.
- [14] LEDDEROSE C, BROMBERGER S, SLUBOWSKI C J, et al. Frontline Science: P2Y11 receptors support T cell activation by directing mitochondrial trafficking to the immune synapse[J]. Journal of Leukocyte Biology, 2021, 109(3): 497-508.
- [15] 侯雅竹, 姚红旗, 王贤良, 等. 基于 2943 例高血压病患者的中医证候特征分析[J]. 中华中医药杂志, 2020, 35(9): 4590-4593.
- [16] 龙红萍, 易健, 蔺晓源, 等. 基于 UPLC-ESI-Q-TOF-MS/MS 技术的复方钩藤降压片化学成分分析[J]. 中药新药与临床药理, 2023, 34(3): 396-403.
- [17] 曾勇, 王顺民, 田争, 等. 复方钩藤降压片对自发性高血压大鼠肾动脉超微结构及 MMP-2/TIMP-2、MMP-9/TIMP-1 的影响[J]. 时珍国医国药, 2023, 34(5): 1068-1071.
- [18] 简维雄, 肖隋熙, 刘培, 等. 复方钩藤降压片对高血压大鼠左心室肥厚干预的代谢组学研究[J]. 北京中医药大学学报, 2018, 41(8): 655-662.
- [19] 曾勇, 谭超, 唐陆军, 等. 复方钩藤降压片对 SHR 心肌 IL-6 及 MMP-9 表达的影响[J]. 中华中医药学刊, 2018, 36(10): 2358-2361.
- [20] 李霞, 曾勇, 张稳. 复方钩藤降压片调节 TLR4/NF-κB 信号通路对自发性高血压大鼠炎症状态的影响[J]. 湖南中医药大学学报, 2019, 39(2): 168-172.

(本文编辑 周旦)