

# 滋阴潜阳方对肾性高血压大鼠外周血淋巴细胞 AT1受体介导的IP<sub>3</sub>, DAG的影响

李媛媛<sup>1,2</sup>, 刘娜<sup>3</sup>, 廖圣宝<sup>3</sup>, 戴敏<sup>1,2\*</sup>

- (1. 安徽中医药大学药学院, 合肥 230038;  
2. 新安医学教育部省部共建重点实验室, 合肥 230038;  
3. 皖南医学院, 安徽芜湖 241002)

**[摘要]** **目的:**探讨高血压神经-内分泌-免疫调节的内在机制和滋阴潜阳方作用的可能环节。**方法:**SD大鼠120只,复制二肾一夹高血压大鼠模型(2K1C-RHR),假手术组大鼠右肾动脉只分离不狭窄;取模型成功大鼠分为模型组、滋阴潜阳方高、中、低剂量组(32, 16, 8 g·kg<sup>-1</sup>)、氯沙坦钾组(0.005 g·kg<sup>-1</sup>)及天麻钩藤颗粒组(1.5 g·kg<sup>-1</sup>),连续ig给药4周。采用无创血压测量仪观察其对血压的影响,放射性免疫法检测血浆血管紧张素II(Ang II)含量变化,Western blotting法测定各组大鼠外周血淋巴细胞血管紧张素1型受体(AT1R)和兔抗磷酸化蛋白激酶C(p-PKC)的表达水平变化,ELISA法测定各组大鼠外周血淋巴细胞内三磷酸肌醇(IP<sub>3</sub>),二酰甘油(DAG)以及血清中白细胞介素-4(IL-4),白细胞介素-6(IL-6)含量变化。**结果:**与假手术组比较,模型组大鼠血压明显升高,大鼠血浆Ang II水平明显升高,大鼠外周血淋巴细胞AT1R,p-PKC蛋白的表达明显升高,外周血淋巴细胞内IP<sub>3</sub>,DAG含量明显升高,血清中IL-4,IL-6的含量明显升高,均具有统计学差异( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ );与模型组比较,滋阴潜阳方高、中、低剂量组均能显著降低模型大鼠血压水平( $P < 0.01$ ),滋阴潜阳方中、低剂量组能够降低大鼠血浆Ang II水平( $P < 0.05$ ),高剂量组能够降低肾性高血压大鼠外周血淋巴细胞AT1R,p-PKC蛋白的表达水平( $P < 0.01$ ,  $P < 0.05$ ),同时高剂量组能够明显降低外周血淋巴细胞内IP<sub>3</sub>,DAG( $P < 0.01$ ,  $P < 0.01$ )以及血清中IL-4,IL-6的含量( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ )。**结论:**肾性高血压病的发病机制可能与外周血淋巴细胞AT1R的过度表达,以及胞内磷脂酰肌醇信号通路的激活有关;滋阴潜阳方可以从多环节抑制信号通路的激活,对高血压的神经、内分泌、免疫功能发挥整体调节作用。

**[关键词]** 滋阴潜阳方; 血压; 血管紧张素II; 外周血淋巴细胞; 血管紧张素1型受体

**[中图分类号]** R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2015)06-0140-05

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.2015060140

**Effect of Ziyin Qianyang Formula on IP<sub>3</sub>, DAG Mediated by AT1 Receptors in Renal Hypertensive Rats' Peripheral Blood Lymphocytes** LI Yuan-yuan<sup>1,2</sup>, LIU Na<sup>3</sup>, LIAO Sheng-bao<sup>3</sup>, DAI Min<sup>1,2\*</sup> (1. College of Pharmacy Anhui University of Chinese Medicine, Hefei 230038, China; 2. Key Laboratory of Xin'an Medicine, Ministry of Education, Hefei 230038, China; 3. Wannan Medical College, Wuhu 241002, China)

**[Abstract]** **Objective:** To explore the immuno-neurologic regulation of renal hypertensive and its inherent law, and to investigate the mechanisms of curing and systemic regulating effect of Ziyin Qianyang formula. **Method:** Renal hypertension rats (RHR) model was established by two kidney one clip (2K1C) and 2K1C-RHR were divided into six groups: the model group, the high-, medium-, low- dose Ziyin Qianyang formula groups (32, 16, 8 g·kg<sup>-1</sup>), the losartan potassium group (0.005 g·kg<sup>-1</sup>) and the Tianma Gouteng particles group (1.5 g·kg<sup>-1</sup>). Drugs were given by intragastric administration for 4 weeks. The blood pressure was measured by a non-invasive blood pressure monitor. The contents of plasma angiotensin II (Ang II) were detected by radioimmunity method. The protein levels of angiotensin II type 1 receptor (AT1R) and rabbit-anti protein kinase C (p-PKC) were detected by Western blotting. The contents of inositol triphosphate (IP<sub>3</sub>) and diacylglycerol (DAG) in

**[收稿日期]** 20141011(010)

**[基金项目]** 安徽省教育厅自然科学研究重点项目(Kj2010A202)

**[第一作者]** 李媛媛,在读硕士,从事中药药理研究,Tel:13645605576,E-mail:li.yuan.yuan-2007@163.com

**[通讯作者]** \*戴敏,博士,教授,博士生导师,从事中药心血管药理研究,Tel:0551-68129122,E-mail:daiminliao@163.com

peripheral blood lymphocytes and the levels of interlenkin-4 (IL-4), IL-6 in the blood serum of RHR were detected using ELISA. **Result:** Compared with the model group, Ziyin Qianyang formula could decrease blood pressure of RHR significantly ( $P < 0.01$ ). The medium-, low-dose Ziyin Qianyang formula could decrease the concentration of plasma Ang II ( $P < 0.05$ ). The high-, medium-dose Ziyin Qianyang formula could decrease the concentration of AT1R and p-PKC in peripheral blood lymphocytes of rats ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ). The high-dose Ziyin Qianyang formula could decrease the concentration of IP3 and DAG ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ) in peripheral blood lymphocytes and the levels of IL-4, IL-6 in blood serum of RHR ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ). **Conclusion:** The renal hypertensive may be related to the excessive expression of AT1R in peripheral blood lymphocytes and the activation of IP3/DAG signaling pathway, where Ziyin Qianyang formula could exert immuno-neurologic regulation action.

[**Key words**] Ziyin Qianyang formula; blood pressure; angiotensin II; peripheral blood lymphocytes; angiotensin II type 1 receptors

临床研究显示高血压病是一种低度炎症性疾病<sup>[1]</sup>,其患者体内均出现不同程度的神经免疫功能紊乱,神经免疫调节为高血压病中西医结合研究提供了新思路。作为神经、内分泌和免疫三大系统的产物和沟通彼此之间联系的信息物质,细胞因子、神经肽、激素的有关研究成为高血压病研究的热点。但高血压病神经内分泌系统与免疫系统功能整合的结合点在哪里。鉴于淋巴细胞是免疫系统基本功能单位,血管紧张素 II (angiotensin II, Ang II) 是肾素血管紧张素醛固酮系统 (renin-angiotensin-aldosterone system, RAAS) 的关键因子,淋巴细胞表面已发现有血管紧张素 II 型 1 受体 (angiotensin II type 1 receptors, AT1R), 且二肾一夹高血压大鼠模型 (two kidney one clip hypertensive rat model, 2K1C-RHR) 淋巴细胞的 AT1 mRNA 表达水平异常<sup>[2]</sup>。笔者提出如下假说:淋巴细胞 AT1R 可在高血压病的发病过程中作为 RAAS 与免疫系统功能整合的结合点。而该受体也作为滋阴潜阳法发挥整体调节作用的特异性靶点。

滋阴潜阳方以“阴虚为本,阳亢为标”为组方依据<sup>[3]</sup>,在降压的同时对机体的内分泌免疫具有一定的调节作用<sup>[4]</sup>。本研究从神经免疫调节功能整合的角度,以淋巴细胞信号转导为切入点,在既往研究 2K1C-RHR 淋巴细胞 AT1R mRNA 表达的基础上,研究 AT1R 介导的信号转导途径、机制以及滋阴潜阳方对此的影响。从分子(受体)及细胞信号转导水平更深入的探明神经、内分泌及免疫三大系统在高血压病理进程中发挥整合作用的机制和滋阴潜阳法发挥整体调节的作用靶点,用现代技术诠释中医治法丰富的科学内涵有着十分重要的意义。

## 1 材料

1.1 动物 健康清洁级 SD 大鼠, (160 ± 20) g, 雄

性, 120 只, 由苏州工业园区爱尔麦特科技有限公司提供, 合格证号 SCXK(苏)2009-0001。

1.2 药物及试剂 滋阴潜阳方:地黄、熟地黄各 15 g, 何首乌、钩藤各 20 g, 牡蛎、石决明各 30 g (药材由南京医药合肥天星有限公司提供, 由安徽中医药大学药学院生药系周建理教授鉴定分别为参科地黄 *Rehmannia glutinosa* 的干燥块根及炮制加工品, 蓼科何首乌 *Polygonum multiflorum* 的干燥块根, 茜草科钩藤 *Uncaria rhynchophylla* 的干燥带钩茎枝, 牡蛎科近江牡蛎 *Ostrea rivularis* 的贝壳, 鲍科杂色鲍 *Haliotis diversicolor* 的贝壳)。采用水煎法浓缩为每毫升药液含生药 1.6 g, 置 4 °C 冰箱备用, 临用前用蒸馏水配制成高、中、低剂量, 分别为 1.6, 0.8, 0.4 g · mL<sup>-1</sup>; 氯沙坦钾片 (杭州默沙东制药有限公司, 批号 J009104), 用蒸馏水配制成 0.25 g · L<sup>-1</sup> 混悬液备用; 天麻钩藤颗粒 (成都九芝堂金鼎药业有限公司, 批号 140306), 用蒸馏水配制成 0.15 g · mL<sup>-1</sup> 溶液备用; Ang II 放免分析测定试剂盒 (北京北方生物技术研究所, 批号 20140511), 三磷酸肌醇 (inositol 1, 4, 5-triphosphate, IP3, 酶联免疫分析试剂盒, 批号 201406), 二酰甘油 (diacylglycerol, DAG, 酶联免疫分析试剂盒, 批号 201406), 白细胞介素-4 (interleukin-4, IL-4, 酶联免疫分析试剂盒, 批号 201405), 白细胞介素-6 (interleukin-6, IL-6, 酶联免疫分析试剂盒, 批号 201405), 试剂盒均购自上海源叶生物科技有限公司; 大鼠外周血淋巴细胞分离液 (天津市灏洋生物制品科技有限责任公司, 批号 140402), 兔抗 AT1R 抗体 (批号 130823W), 兔抗磷酸化蛋白激酶 C (phosphorylated protein kinase C, p-PKC) 抗体 (批号 137171W), 辣根酶标记山羊抗兔 IgG (批号 20140607), 抗体均购自美国 Bioworld Technology 公司。

**1.3 仪器** 0.25 mm-U 型银夹(上海奥尔科特生物科技有限公司), ALC-NIBP 型无创血压测量仪(上海奥尔科特生物科技有限公司), GC-2016 型  $\gamma$  放射免疫计数器(科大创新股份有限公司中佳分公司), Multiskan MK3 型多波长酶标测定仪(美国热电公司), X1R 型离心机(美国热电公司)。

## 2 方法

**2.1 肾性高血压大鼠模型建立及给药方案** 利用 U 型银夹夹住大鼠右肾总动脉, 建立二肾一夹肾性高血压大鼠模型<sup>[5]</sup>, 假手术组大鼠右肾动脉只分离不狭窄。术后连续 4 d *ip* 硫酸庆大霉素注射液(0.05 mL/只), 常规饲养, 于第 4 周末测血压, 参照造模前后收缩压绝对值  $\geq 160$  mmHg, 且上升 20 mmHg 确定为模型复制成功。模型成功率约为 70%。取模型成功大鼠 72 只随机分为 6 组, 即模型组、氯沙坦钾组(0.005 g·kg<sup>-1</sup>)、天麻钩藤颗粒组(1.5 g·kg<sup>-1</sup>)、滋阴潜阳方高、中、低(32, 16, 8 g·kg<sup>-1</sup>)剂量组, 每组 12 只(其中用于体内实验 8 只, 淋巴细胞体外实验 4 只)。各给药组每天上、下午各 *ig* 给药 1 次, 假手术组与模型组均以蒸馏水 *ig*, 给药容积为 10 mL·kg<sup>-1</sup>, 连续给药 4 周。

**2.2 血压测定** 每 4 周测量血压 1 次。每次操作均在安静环境下, 将大鼠放入动物测试仪箱内预热 5~10 min, 待脉波稳定后连续测量 3 次, 取收缩压(SBP)平均值作为血压值。

**2.3 血浆中 Ang II 含量测定** 末次给药 1 h 后, 各组大鼠用 3.5% 水合氯醛麻醉, 腹主动脉取血 2 mL, 置于 EDTA 抗凝管(预先加入 20  $\mu$ L 0.34 mol·L<sup>-1</sup> 8-羟基喹啉硫酸盐和 10  $\mu$ L 0.32 mol·L<sup>-1</sup> 二巯基丙醇)中, 将试管口封好后上下颠倒数次, 混匀后即刻放入冰水浴中 2 h, 取出 2 500 r·min<sup>-1</sup> 离心 7 min, 分离血浆, 按 Ang II 放射免疫试剂盒说明书要求测定血浆 Ang II 含量。

**2.4 大鼠外周血淋巴细胞分离及培养** 用一次性采血针腹主动脉取血 5 mL, 置于肝素钠抗凝管中, 后用无菌吸管加入等体积的生理盐水, 使血液等倍稀释, 再吸取等体积的大鼠外周血淋巴细胞分离液置于 15 mL 无菌离心管底部, 将离心管倾斜 45 度, 将稀释血液在距离分离液界面上 1 cm 处沿试管壁缓慢加至分离液上面, 温度 18~20  $^{\circ}$ C, 1 850 r·min<sup>-1</sup> 离心 20 min<sup>[6]</sup>。用无菌吸管轻轻插入白膜层, 沿离心管周围吸取中间乳白絮状层于另一离心管中, 用 Hanks 液洗涤 3 次, 温度 18~20  $^{\circ}$ C, 1 800 r·min<sup>-1</sup> 离心 10 min, 将分离得到的单个核细胞沉淀

用含 10% 胎牛血清的 RPMI-1640 培养基重悬后置于 37  $^{\circ}$ C, 5% CO<sub>2</sub> 细胞培养箱中 24 h, 使单核细胞黏附于培养瓶底, 收集培养基, 1 800 r·min<sup>-1</sup> 离心 10 min 得外周血淋巴细胞。并用台盼蓝法检查分离细胞的活性。

**2.5 外周血淋巴细胞 AT1R, p-PKC 表达** 末次给药 1 h 后, 各组大鼠用 3.5% 水合氯醛麻醉, 腹主动脉取血, 置于肝素钠抗凝管中, 按 2.4 项下分离外周血淋巴细胞, 用 Hanks 缓冲液反复洗涤 3 次, 离心, 收集沉淀细胞, 用 RIPA 裂解液裂解淋巴细胞, 12 000 r·min<sup>-1</sup> 离心 15 min, 收集上清液。按 Western blotting 操作步骤, 结果采用凝胶成像系统扫描后, 以特异性条带浓度与面积的乘积为有效值。

**2.6 外周血淋巴细胞内 IP<sub>3</sub>, DAG 含量测定** 末次给药 1 h 后, 各组大鼠用 3.5% 水合氯醛麻醉, 腹主动脉取血, 置于肝素钠抗凝管中, 按 2.4 项下分离外周血淋巴细胞, 用 Hanks 缓冲液反复洗涤 3 次, 离心, 收集沉淀细胞, 加入 100  $\mu$ L PBS 缓冲液, 混匀, 反复冻融 3 次, 12 000 r·min<sup>-1</sup> 离心 15 min, 收集上清液, 分别按 IP<sub>3</sub>, DAG 酶联免疫分析试剂盒说明书要求测定 IP<sub>3</sub>, DAG 含量。

**2.7 血清中 IL-4, IL-6 含量测定** 末次给药 1 h 后, 各组大鼠用 3.5% 水合氯醛麻醉, 腹主动脉取血 3 mL, 置于干燥洁净试管中, 室温静置 2 h 后, 1 500 r·min<sup>-1</sup> 离心 15 min, 分离血清, 分别按 IL-4, IL-6 酶联免疫分析试剂盒说明书要求测定 IL-4, IL-6 含量。

**2.8 统计学分析** 采用 SPSS 17.0 软件包进行显著性分析, 所有数据以  $\bar{x} \pm s$  表示, 各组组间差异比较采用单因素方差分析, 以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 3 结果

**3.1 对肾性高血压大鼠收缩压的影响** 与假手术组比较, 造模 4 周后, 模型大鼠的收缩压均显著升高, 具有统计学意义( $P < 0.01$ ); 各组血压值均符合实验要求, 表明肾性高血压模型复制成功。给药 4 周后(即第 8 周血压), 滋阴潜阳方高、中、低剂量组以及氯沙坦钾组、天麻钩藤颗粒组血压值均明显降低, 具有统计学意义( $P < 0.01$ )。见表 1。

**3.2 对肾性高血压大鼠血浆 Ang II 的影响** 与假手术组比较, 模型组血浆 Ang II 含量明显升高( $P < 0.05$ ); 与模型组比较, 滋阴潜阳方中、低(16, 8 g·kg<sup>-1</sup>)剂量组能明显降低血浆中 Ang II 含量( $P < 0.05$ ); 天麻钩藤颗粒组中血浆 Ang II 含量有下降趋势, 但差异无统计学意义。见表 2。

表 1 滋阴潜阳方对肾性高血压大鼠收缩压的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 8$ )

Table 1 Effects of Ziyin Qianyang formula on systolic of renal hypertensive rats ( $\bar{x} \pm s, n = 8$ )

组别	剂量/ $g \cdot kg^{-1}$	收缩压/mmHg		
		第 0 周	第 4 周	第 8 周
假手术	-	138.87 ± 1.84	138.44 ± 4.02	139.96 ± 4.71
模型	-	136.53 ± 1.73	172.95 ± 6.13 <sup>2)</sup>	169.30 ± 5.02 <sup>2)</sup>
氯沙坦钾	0.005	136.31 ± 3.72	167.18 ± 6.41	147.82 ± 4.44 <sup>4)</sup>
天麻钩藤颗粒	1.5	134.98 ± 4.86	167.41 ± 4.73	149.39 ± 6.38 <sup>4)</sup>
滋阴潜阳方	32	134.27 ± 6.10	166.93 ± 8.45	146.77 ± 1.25 <sup>4)</sup>
	16	139.07 ± 3.96	167.29 ± 4.69	150.35 ± 8.34 <sup>4)</sup>
	8	135.55 ± 2.18	167.03 ± 8.45	152.33 ± 5.13 <sup>4)</sup>

注:与假手术组比较<sup>1)</sup>  $P < 0.05$ , <sup>2)</sup>  $P < 0.01$ ;与模型组比较<sup>3)</sup>  $P < 0.01$ , <sup>4)</sup>  $P < 0.01$ (表 2~4,图 1 同)。

表 2 滋阴潜阳方对肾性高血压大鼠血浆中 Ang II 的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 8$ )

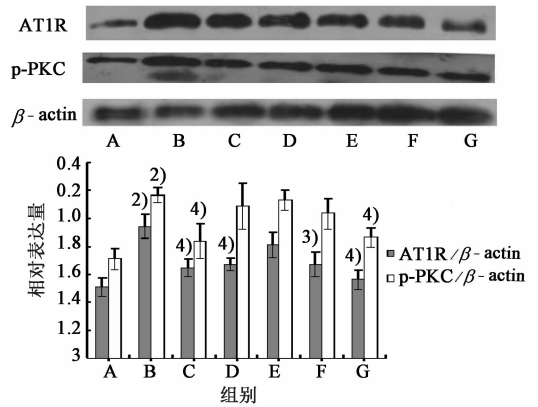
Table 2 Effects of Ziyin Qianyang formula on plasma Ang II of renal hypertensive rats ( $\bar{x} \pm s, n = 8$ )

组别	剂量/ $g \cdot kg^{-1}$	Ang II/ $ng \cdot L^{-1}$
假手术	-	909.15 ± 341.89
模型	-	1 248.35 ± 85.77 <sup>1)</sup>
氯沙坦钾	0.005	1 343.68 ± 127.22
天麻钩藤颗粒	1.5	1 038.95 ± 264.37
滋阴潜阳方	32	1 172.94 ± 324.00
	16	852.66 ± 328.76 <sup>3)</sup>
	8	924.42 ± 265.40 <sup>3)</sup>

**3.3 对肾性高血压大鼠外周血淋巴细胞 AT1R, p-PKC 蛋白水平的影响** 与假手术组比较,模型组 AT1R, p-PKC 蛋白的相对表达量明显升高 ( $P < 0.01$ );与模型组比较,滋阴潜阳方高剂量组、氯沙坦钾组 AT1R, p-PKC 蛋白的相对表达量水平均显著降低 ( $P < 0.01$ )。见图 1。

**3.4 对肾性高血压大鼠外周血淋巴细胞内 IP3, DAG 水平的影响** 与假手术组比较,模型组中淋巴细胞内的 IP3, DAG 含量明显升高 ( $P < 0.01$ );与模型组比较,滋阴潜阳方高剂量组和氯沙坦钾组、天麻钩藤颗粒组能够明显降低淋巴细胞内 IP3 和 DAG 的含量 ( $P < 0.01$ )。见表 3。

**3.5 对肾性高血压大鼠血清 IL-4, IL-6 的影响** 与假手术组比较,模型组血浆 IL-4, IL-6 含量均明显升高 ( $P < 0.01$ );与模型组比较,滋阴潜阳方高、中剂量组能明显降低血清中 IL-4, IL-6 含量 ( $P < 0.01$ ,  $P < 0.05$ )。见表 4。



A. 假手术组; B. 模型组; C. 氯沙坦钾  $0.005 g \cdot kg^{-1}$  组; D. 天麻钩藤颗粒  $1.5 g \cdot kg^{-1}$  组; E. 滋阴潜阳方  $8 g \cdot kg^{-1}$  组; F. 滋阴潜阳方  $16 g \cdot kg^{-1}$  组; G. 滋阴潜阳方  $32 g \cdot kg^{-1}$  组

图 1 滋阴潜阳方对肾性高血压大鼠外周血淋巴细胞 AT1R, p-PKC 蛋白水平的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 4$ )

Fig. 1 Effects of Ziyin Qianyang formula on AT1R and p-PKC in peripheral blood lymphocytes of renal hypertensive rats ( $\bar{x} \pm s, n = 4$ )

表 3 滋阴潜阳方对肾性高血压大鼠外周血淋巴细胞内 IP3 和 DAG 的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 4$ )

Table 3 Effects of Ziyin Qianyang formula on IP3 and DAG in peripheral blood lymphocytes of renal hypertensive rats ( $\bar{x} \pm s, n = 4$ )

组别	剂量/ $g \cdot kg^{-1}$	IP3/ $\mu g \cdot L^{-1}$	DAG/ $pmol \cdot L^{-1}$
假手术	-	8.63 ± 1.23	27.05 ± 3.89
模型	-	19.57 ± 2.31 <sup>2)</sup>	51.87 ± 3.2 <sup>2)</sup>
氯沙坦钾	0.005	7.58 ± 0.90 <sup>4)</sup>	24.69 ± 2.80 <sup>4)</sup>
天麻钩藤颗粒	1.5	12.59 ± 1.29 <sup>4)</sup>	32.29 ± 1.42 <sup>4)</sup>
滋阴潜阳方	32	12.32 ± 1.74 <sup>4)</sup>	34.03 ± 0.92 <sup>4)</sup>
	16	16.29 ± 5.27	38.13 ± 6.90 <sup>4)</sup>
	8	20.59 ± 1.47	55.31 ± 3.32

表 4 滋阴潜阳方对肾性高血压大鼠血清 IL-4, IL-6 水平的影响  
( $\bar{x} \pm s, n = 8$ )

Table 4 Effects of Ziyin Qianyang formula on serum of IL-4 and IL-6 of renal hypertensive rats( $\bar{x} \pm s, n = 8$ )

组别	剂量/g·kg <sup>-1</sup>	IL-4/ng·L <sup>-1</sup>	IL-6/ng·L <sup>-1</sup>
假手术	-	55.93 ± 8.30	83.28 ± 16.30
模型	-	90.87 ± 7.05 <sup>2)</sup>	135.74 ± 22.41 <sup>2)</sup>
氯沙坦钾	0.005	83.17 ± 9.00	112.79 ± 10.20 <sup>3)</sup>
天麻钩藤颗粒	1.5	74.67 ± 6.04 <sup>4)</sup>	115.91 ± 19.75
滋阴潜阳方	32	64.34 ± 5.31 <sup>4)</sup>	98.69 ± 15.27 <sup>4)</sup>
	16	78.65 ± 12.97 <sup>3)</sup>	95.12 ± 16.02 <sup>4)</sup>
	8	86.58 ± 8.67	128.56 ± 19.24

#### 4 讨论

高血压的病因与遗传、饮食、应激、肥胖等相关,但发病机制尚未阐明,目前公认的有交感神经系统活性亢进、水钠潴留、RAAS 系统激活、内皮功能异常等<sup>[7]</sup>。而近年来的研究资料表明,固有免疫和适应性免疫在高血压的发生发展过程中发挥重要作用<sup>[8]</sup>。但从整体角度出发,神经-内分泌系统和免疫系统之间应该会相互联系、相互影响。所以从分子生物学角度寻找出神经-内分泌-免疫系统之间的整合点并探讨中药治疗的作用机制有着重要意义。研究结果表明 0.25 mm U 型银夹夹住大鼠右肾动脉后,导致模型组大鼠右肾缺血,血压明显升高,血液循环中的 Ang II 明显升高,同时外周血淋巴细胞内 AT1R 过度表达,说明模型大鼠体内出现神经内分泌免疫紊乱。Ang II 作为 RAAS 的主要活性肽,通过淋巴细胞膜表面的 AT1R 调节免疫应答,影响细胞因子的产生和释放<sup>[9]</sup>。而滋阴潜阳方高、中、低剂量组(32, 16, 8 g·kg<sup>-1</sup>)均能显著降低模型大鼠的血压水平,中、低剂量组能够降低和改善模型大鼠血浆 Ang II 水平,高、中剂量组能够降低外周血淋巴细胞膜上 AT1R 的过度表达。提示滋阴潜阳方的降压可能机制之一是通过降低血浆 Ang II 含量,抑制外周血淋巴细胞膜上 AT1R 的过度表达,调节神经内分泌免疫功能。

与此同时 2K1C-RHR 外周血淋巴细胞内信号转导分子 IP3 和 DAG 水平显著升高,表明外周血淋巴细胞内的 IP3/DAG 信号通路被激活,内质网里的钙离子释放,同时 2K1C-RHR 外周血淋巴细胞内 PKC 磷酸化水平显著升高,下游信号分子进一步激活。激活后的外周血淋巴细胞可以直接或间接刺激其他细胞释放细胞因子<sup>[8]</sup>,导致模型大鼠体内 IL-4, IL-6 水平升高,而 IL-4 可以促进血管平滑肌 DNA

合成及增殖,使血管壁增厚,管腔狭窄;IL-6 可以引起血管内皮功能失调,进而增加外周血管阻力,导致血压进一步升高;或者募集其他炎性细胞富集于动脉血管周围的脂肪组织<sup>[10]</sup>,引起前炎性反应,促进高血压的进展,从而加剧血管重构及高血压心肌纤维化,导致血管和肾脏功能受损<sup>[8,11]</sup>。而滋阴潜阳方可以从多环节抑制外周血淋巴内磷脂酰肌醇信号通路的激活,抑制炎症因子释放,降低血压,保护靶器官。研究结果提示高血压的发病机制可能与 Ang II 触发了由外周血淋巴细胞 AT1R 介导的 G 蛋白信号转导途径即 IP3 和(或)DAG 双信号通路有关,进而影响机体免疫应答。AT1R 可能是高血压神经-内分泌-免疫网络功能整合的重要节点,也是滋阴潜阳方发挥降压作用的可能靶点。

#### [参考文献]

[1] 张继业. 炎症、免疫与高血压[J]. 心脑血管病防治, 2012, 12(1): 1-5.

[2] 廖圣宝, 丁荣光, 丁俐丽, 等. 滋阴降火饮对实验性高血压大鼠淋巴细胞 Ang II 受体 mRNA 表达的影响[J]. 中国中药杂志, 2002, 27(7): 531-534.

[3] 廖圣宝, 戴敏, 刘光伟. 二肾一夹高血压大鼠模型中医症候属性的探讨及药物作用观察[J]. 中国中医基础杂志, 2003, 9(2): 34-37.

[4] 刘自兵, 张新芳, 廖圣宝. 滋阴潜阳法对肾性高血压大鼠神经免疫调节的影响[J]. 安徽中医学院院报, 2005, 24(3): 32-34.

[5] 王文靖, 潘毅, 杨涛. 两肾一夹型高血压大鼠模型的改良及评价[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(1): 203-205.

[6] 郑雪莲, 李园, 徐定远, 等. AEP 大鼠外周血淋巴细胞的分离及其影响因素的探讨[J]. 四川医学, 2007, 28(11): 1195-1196.

[7] 张梅, 葛志明, 卜培莉. KAPLAN 临床高血压[M]. 8 版. 济南: 山东科学技术出版社, 2004: 55-102.

[8] 赵讚. T 细胞免疫与高血压的研究进展[J]. 心血管研究进展, 2012, 33(1): 28-31.

[9] Simon M R, Engel D E, Weinstock J V. Angiotensin II suppression of human mononuclear cell reactivity is associated with enhanced OKT8<sup>+</sup> lymphocyte thymidine incorporation[J]. Immuno Pharmacol, 1986, 8: 289-293.

[10] Ernesto L, Schiffrin C M. The immune system: role in hypertension[J]. Can J Cardiol, 2012, 6(9): 2-6.

[11] Michael J Ryan. An update on immune system activation in the pathogenesis of hypertension[J]. Hypertension, 2013, 62: 226-230.

[责任编辑 周冰冰]