

右归丸对肾阳虚高脂血症大鼠 JAK/STATs 通路的实验探讨

赵敏, 徐安莉*, 陈会敏, 周艳艳

(湖北中医药大学 基础医学院, 武汉 430065)

[摘要] **目的:**通过大剂量肌注氢化可的松复制肾阳虚高脂血症大鼠模型,并给予右归丸干预,观察右归丸对于模型大鼠酪氨酸蛋白激酶 2(JAK2),信号转导子和转录激活子 3(STAT3)和肝 X 受体 α (LXR α)蛋白和基因表达的影响,探讨 JAK2/STAT3 信号转导通路与肾阳虚大鼠血脂异常的相关性。**方法:**SD 大鼠 60 只分为正常组、模型组、右归丸组(2.43 g·kg⁻¹),利用大剂量 im 氢化可的松制作肾阳虚大鼠模型,正常组不造模,模型组造模并给予生理盐水,右归丸组造模给予右归丸混悬液 ig,检测血清脂类物质甘油三酯(TG),胆固醇(TC),低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C),高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)含量,免疫组化检测肝组织 LXR α 蛋白表达,RT-PCR 检测实验大鼠肝组织 JAK2,STAT3 和 LXR α 基因的表达。**结果:**与正常组比较,模型组大鼠血清中 TG,TC,LDL-C 含量显著升高($P < 0.01$),HDL-C 含量显著降低($P < 0.01$);与模型组比较,右归丸组大鼠血清中 TG,TC,LDL-C 含量显著下降($P < 0.01$),HDL-C 含量显著升高($P < 0.01$)。与正常组比较,模型组肾阳虚高脂血症大鼠肝内 LXR α 蛋白表达明显增加($P < 0.05$),JAK2,STAT3 和 LXR α 基因表达增加($P < 0.05$);与模型组比较,右归丸组大鼠肝内 LXR α 蛋白表达明显减少($P < 0.05$),JAK2,STAT3 和 LXR α 基因表达减少($P < 0.05$)。**结论:**肌注氢化可的松制作的肾阳虚高脂血症模型可能是通过上调了 JAK2/STAT3 信号转导通路中的 JAK2,STAT3 和 LXR α 蛋白和基因而影响了血液中甘油三酯和胆固醇的代谢,右归丸可能通过抑制 JAK2/STAT3 信号转导通路中相关细胞因子蛋白和基因的表达来降低模型大鼠血液中脂类的含量。

[关键词] 酪氨酸蛋白激酶 2; 信号转导子和转录激活子 3; 肝 X 受体 α ; 高脂血症; 右归丸

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2015)21-0108-05

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2015210108

Experimental Study of Yougui Wan on JAK/STATs Pathway in Kidney-yang Deficiency and Hyperlipidemia Rats ZHAO Min, XU An-li*, CHEN Hui-min, ZHOU Yan-yan (*Basic Medical College, Hubei University of Chinese Medicine, Wuhan 430065, China*)

[Abstract] **Objective:** To establish kidney-yang deficiency and hyperlipidemia rat models through high dose of hydrocortisone injection, with intervention by Yougui Wan, observe the effects of Yougui Wan on janus activated kinase signaltransducer 2 (JAK2), signal transducer and activator of transcription 3 (STAT3) and liver X receptor α (LXR α) protein and gene expression in model rats, and to study the relationship between JAK2/STAT3 signal transduction pathway and blood lipid abnormality of kidney-yang deficiency rats. **Method:** Sixty SD rats were divided into normal group, model group, Yougui Wan group (2.43 g·kg⁻¹). Kidney-yang deficiency rat models were made using high dose hydrocortisone injections. Normal control rats were not modeled. The rats in model group were modeled and received normal saline. Rats in Yougui Wan group were modeled and received Yougui Wan suspension ig. Triglycerides (TG), total cholesterol (TC), low-density lipoprotein cholesterol (LDL-C), and high density lipoprotein cholesterol (HDL-C) contents were detected. Immunohistochemistry was done to detect LXR α protein expression in liver tissues, and RT-PCR was used to detect the expressions of JAK2, STAT3 and LXR α in rat liver tissues. **Result:** Compared with the normal control group, the contents of TG, TC, LDL-C in serum of model group and Yougui Wan group rats were increased significantly ($P < 0.01$), HDL-C content was

[收稿日期] 20140924(003)

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81102529)

[第一作者] 赵敏,博士,讲师,从事中医基础理论及五脏相关研究,Tel:027-68890124,13437155626,E-mail:zhaomin1113@163.com

[通讯作者] * 徐安莉,博士,副教授,从事生物化学教学及中西医结合基础研究,Tel:027-68890124,18971248188,E-mail:xuanli113@sina.com.cn

significantly decreased ($P < 0.01$). Compared with the model group, the contents of TG, TC, LDL-C in serum of Yougui Wan group were decreased significantly ($P < 0.01$), and HDL-C content was significantly increased ($P < 0.01$). Compared with normal control group, the expression of LXR α protein in kidney-yang deficiency rats of model group was significantly increased ($P < 0.05$) in the liver, and JAK2, STAT3 and LXR α gene expressions were increased ($P < 0.05$). Compared with the model group, the expression of LXR α protein in rat liver of Yougui Wan group was significantly decreased ($P < 0.05$), and JAK2, STAT3 and LXR α gene expressions were decreased ($P < 0.05$). **Conclusion:** The kidney-yang deficiency and hyperlipidemia rat models made by hydrocortisone intramuscular injections may affect blood triglycerides and cholesterol metabolism through up-regulating JAK2, STAT3 and LXR α proteins and genes in pathways transduced by JAK2/STAT3 signals. Yougui Wan may reduce the content of lipid in model rats by inhibiting expression of related cytokines proteins and genes in pathways transduced by JAK2/STAT3 signals.

[**Key words**] janus tyrosine kinase 2; signal transducer and activator of transcription 3; liver X receptor α ; hyperlipidemia; Yougui Wan

高脂血症是导致动脉粥样硬化及心脑血管疾病的重要危险因素之一,严重威胁人们的健康和生命,因此能有效地控制和预防高脂血症的产生,对于预防心脑血管疾病的发生,具有重要的理论价值和现实意义。目前临床对于高脂血症的防治措施标准不一,治疗效果不尽人意,按照中医急则治其标,缓则治其本的原则,高脂血症应从该病的发病机制出发,寻求疾病的发病根源,指导临床医师从疾病的本源上有效地治疗和预防该病的发生。右归丸通过温补肾阳,激发肾主气化的功能,促进瘀血与痰湿的有效分解来改善血中脂代谢的状态,从而起到降脂的作用。右归丸组方中的鹿角胶、肉桂、附子、杜仲、当归有明显的强心、抗心肌缺血缺氧及扩张血管的作用,对垂体-肾上腺皮质系统有兴奋作用。近年来研究十分活跃的 JAK/STAT 信号通路与细胞生长、增殖、分化关系尤为密切,该信号通路在胆固醇、甘油三酯和脂肪酸及脂肪细胞分化过程中作为关键转录调控途径参与代谢反应^[1],本实验以大剂量肌注氢化可的松复制肾阳虚高脂血症大鼠模型,以 JAK/STAT 信号通路为切入点,探讨与肾阳虚与实验大鼠高脂血症的相关性,并观察右归丸对肾阳虚高脂血症模型大鼠各指标的影响。

1 材料

1.1 动物 8 周龄 SD 大鼠,60 只,雄性,体重(200 ± 20) g,SPF 级,由华中科技大学同济医学院实验动物中心提供,动物合格证号 SCXK(鄂)2004-0007。

1.2 药物及试剂 氢化可的松注射液(批号 11072512,上海现代哈森药业有限公司),右归丸(批号 120203,河南宛西制药股份有限公司),药物

由鹿角胶、肉桂、制附子、菟丝子、山茱萸、杜仲、枸杞子、熟地黄、山药、当归组成。临用时取出,溶于双蒸水中,配成含成药 0.243 g·mL⁻¹ 的混悬液。无水乙醇(批号 10009218,国药集团),二甲苯(批号 10023418,国药集团),苏木素(批号 H9627,美国 Sigma 公司),免疫组化试剂盒(批号 PV-9000,北京中杉金桥生物技术有限公司),DAB 显色试剂盒(批号 AR1022,武汉博士德生物工程有限公司),甘油三酯(TG)试剂盒、总胆固醇(TC)试剂盒、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)试剂盒、低高密度脂蛋白胆固醇试剂盒(LDL-C),均购自北京北化康泰有限公司;肝 X 受体 α (LXR α ,批号 ab41902,英国 Abcam 公司),Trizol(批号 15596-018,美国 Invitrogen 公司),cDNA 第一链合成试剂盒(批号 #K1622,立陶宛 Fermentas 公司),SYBR Green/Flourescein qPCR Master Mix (2X,批号 #K0242,立陶宛 Fermentas 公司),Ex TaqTM(批号 DRR100A,日本 AKARA 公司),DL2000 DNA Marker(批号 D501A,日本 TAKARA 公司),DL15000 DNA Marker(批号 D502A,日本 TAKARA 公司)。

1.3 仪器 RM 2235 型轮转式切片机(德国 Leica 公司),E100 型生物显微镜(日本尼康公司),DHG 9203A 型电热恒温鼓风干燥箱(上海精宏实验设备有限公司),Eco 型实时荧光定量 PCR 仪(美国 Illumina 公司),752 型紫外分光光度计(上海舜宇恒科学仪器有限公司),HW-SY11-KP2 型电热恒温水浴锅(北京市长风仪器仪表有限公司),AJY-0501 型超级纯水仪(重庆艾科浦公司),LP115 型 pH 计(德国 Metter-Toledo GmbH 公司),CPA 型电子天平(北京赛多利斯仪器系统有限公司),EDC-810 型 PCR 仪(东胜创新

生物科技有限公司), JY300 型水平电泳仪(北京君意东方电泳设备有限公司), JY02S 型紫外分析仪(北京君意东方电泳设备有限公司)。

2 方法

2.1 分组和给药方法 60 只 SD 大鼠, 随机分为正常组、模型组、右归丸组, 每组 20 只。除正常组外, 其余 40 只大鼠进行造模, 造模采用肌注氢化可的松复制肾虚高脂血症大鼠模型^[2]。正常组大鼠每天上午 8:00 *im* 生理盐水 5 mL·kg⁻¹, 其余组大鼠每天上午 8:00 *im* 氢化可的松 5 mL·kg⁻¹ (药物浓度为 5 g·L⁻¹), 持续 15 d。从第 16 天开始, 右归丸组 *ig* 右归丸混悬液 10 mL·kg⁻¹, 其余组实验大鼠生理盐水 10 mL·kg⁻¹, 持续 30 d。

2.2 指标检测

2.2.1 实验大鼠血清 TG, TC, HDL, LDL 检测 断头取血法取血, 按照试剂盒说明进行操作。

2.2.2 免疫组化检测 LXR α 蛋白 切片脱蜡, 利用微波完成抗原修复, 用甲醇或蒸馏水稀释成 30% 过氧化氢溶液室温孵育 15 min, 以阻断内源性过氧化物酶, PBS 冲洗。将稀释好的一抗滴加在组织上, 放置于 4 °C 湿盒中孵育过夜。然后用吸水纸擦干切片后滴加聚合物辅助剂, 37 °C 恒温箱孵育。再滴加辣根过氧化物酶标记二抗 IgG 多聚体, 37 °C 恒温箱孵育, 加显色剂显色, 出现棕黄色或棕褐色颗粒为阳性信号, 用自来水冲洗切片终止显色。采用 Harris 苏木素复染, 水洗后用 1% 的盐酸乙醇分化, 再用自来水洗返蓝。乙醇依次脱水, 中性树胶封片。利用光镜观察免疫组化染色部位, 以细胞核或胞浆出现淡黄至深棕色颗粒, 且染色强度高于背景的非特异性染色为阳性结果。用 PBS 液替代一抗作为阴性对照。实验大鼠免疫组化图片中 LXR α 蛋白阳性反映产物呈棕黄色。本实验应用图像采集系统分析各组大鼠常规免疫染色后 LXR α 的蛋白表达图片, 所得平均灰度值反映其阳性细胞蛋白表达的强弱。

表 1 右归丸对大鼠血清 TG, TC, HDL, LDL 含量的影响 ($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Effects of Yougui Wan on TG, TC, HDL, LDL in rats serum ($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	n	TG/mmol·L ⁻¹	TC/mmol·L ⁻¹	HDL-C/mmol·L ⁻¹	LDL-C/mmol·L ⁻¹
正常	-	20	1.151 ± 0.132	1.459 ± 0.557	1.254 ± 0.117	1.289 ± 0.568
模型	-	14	2.027 ± 0.348 ¹⁾	4.543 ± 1.676 ¹⁾	0.575 ± 0.243 ¹⁾	2.727 ± 0.659 ¹⁾
右归丸	2.43	15	1.430 ± 0.557 ³⁾	2.418 ± 0.245 ³⁾	0.832 ± 0.774 ³⁾	1.741 ± 0.449 ³⁾

注: 与正常组比较¹⁾ $P < 0.01$; 与模型组比较²⁾ $P < 0.05$, ³⁾ $P < 0.01$ (表 2 ~ 3 同)。

3.2 对大鼠肝组织 LXR α 蛋白表达的影响 与正常组比较, 模型组大鼠 LXR α 的平均灰度值显著升

2.2.3 RT-PCR 检测 JAK2, STAT3 和 LXR α 的表达 根据 Genbank 已发表的大鼠 JAK2, STAT3 和 LXR α 以及 β -actin c-DNA 序列, 利用 Primer Premier 5.0 软件和 Oligo6 软件进行同源相关性比较, 选择同源性较高的区域设计 JAK2, STAT3 和 LXR α 扩增引物。引物由武汉巴菲尔生物技术有限公司合成, 序列如下: β -actin 上游引物 5'-CACGATGGAGGGCCGGACTCATC-3', β -actin 下游引物 5'-TAAAGACCTCTATGCCAACACAGT-3', 产物长度 240 bp; JAK2 上游引物 5'-AGATATGCAAGGGCATGGAG-3', JAK2 下游引物 5'-GTCAAGGATTCGGGAGCATA-3', 产物长度 205 bp; STAT3 上游引物 5'-TCACTTGGGTGGAAAAGGAC-3', STAT3 下游引物 5'-TGGGAATGTCAGGGTAGAGG-3', 产物长度 174 bp; LXR α 上游引物 5'-AGACATCGCGGAGGTACAAC-3', LXR α 下游引物 5'-TGCAGAGAAGATGCTGATGG-3', 产物长度 200 bp。PCR 反应体系: 2 × SYBR-Green10 μ L, 模板 1 μ L, 上下游引物各 0.5 μ L, 重复 3 次。PCR 反应条件: 95 °C 预变性 30 min 后, 95 °C 变性 15 s, 60 °C 退火 5 s, 72 °C 延伸 15 s, 循环 40 次。反应完成后, 软件将自动进行数据分析, 调整基线, 计算 Threshold cycle (C_t 值)。利用比较阈值法^[2]来分析实时定量 RT-PCR 结果。

2.3 统计学分析 利用 SPSS 19.0 软件包进行统计学分析处理, 计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 两组间比较进行 *t* 检验, 多组均数间两两比较采用方差分析, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 对血清 TG, TC, HDL, LDL 含量的影响 与正常组比较, 模型组中大鼠血清 HDL-C 含量降低 ($P < 0.01$), TG, TC, LDL-C 含量升高 ($P < 0.01$); 与模型组比较, 右归丸组大鼠血清 HDL-C 含量升高 ($P < 0.01$), TG, TC, LDL-C 含量降低 ($P < 0.01$)。见表 1。

高 ($P < 0.01$); 与模型组比较, 右归丸组大鼠 LXR α 的平均灰度值明显降低 ($P < 0.05$)。见表 2。

表 2 右归丸对大鼠 LXR α 阳性细胞的平均灰度值的影响 ($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Effects of Yougui Wan on average gray level of LXR α positive cells in rat ($\bar{x} \pm s$)

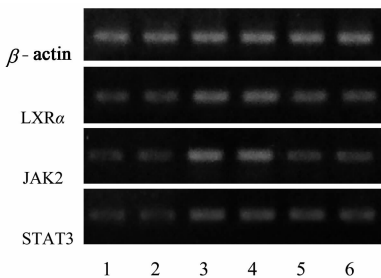
组别	剂量/g·kg ⁻¹	n	LXR α
正常	-	20	63.16 ± 4.75
模型	-	14	105.28 ± 2.06 ¹⁾
右归丸	2.43	15	91.73 ± 1.22 ²⁾

3.3 对大鼠肝组织 JAK2, STAT3, LXR α mRNA 表达的影响 与正常组比较, 模型组大鼠肝组织 JAK2, STAT3, LXR α 的 mRNA 的表达显著升高 ($P < 0.01$); 右归丸组大鼠肝组织 JAK2, STAT3, LXR α mRNA 的表达明显升高 ($P < 0.05$); 与模型组比较, 右归丸组大鼠肝组织 JAK2, STAT3, LXR α mRNA 的表达显著降低 ($P < 0.01$)。见表 3, 图 1。

表 3 右归丸对大鼠肝组织 JAK2, STAT3, LXR α mRNA 表达的影响 ($\bar{x} \pm s$)

Table 3 Effects of Yougui Wan on JAK2, STAT3, LXR α mRNA in rat liver tissue ($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	n	JAK2	STAT3	LXR α
正常	-	20	1.01 ± 0.01	1.05 ± 0.03	1.02 ± 0.19
模型	-	14	12.26 ± 0.15 ¹⁾	9.04 ± 0.58 ¹⁾	4.37 ± 0.68 ¹⁾
右归丸	2.43	15	3.10 ± 0.13 ³⁾	3.64 ± 0.23 ³⁾	2.27 ± 0.38 ³⁾



1, 2. 正常组; 3, 4. 模型组; 5, 6. 右归丸组

图 1 右归丸对大鼠肝组织 JAK2, STAT3, LXR α mRNA 表达的影响

Fig. 1 Effects of Yougui Wan on JAK2, STAT3, LXR α mRNA in rat liver tissue

4 讨论

JAK/STATs 是细胞内一条重要的信号转导途径, 它参与细胞生长、存活、凋亡、应激及分化的过程。最近有报道提示 JAK/STATs 通路可以通过 Leptin 通路对脂肪进行调控^[3]。

JAK 是一类胞质内非受体型可溶性酪氨酸蛋白激酶, JAK 激活受体胞质内段特定酪氨酸残基磷酸化为 STAT 提供着位点, STAT 是一种能与 DNA 结

合的蛋白家族, 与酪氨酸磷酸化信号通路偶联, 发挥转录调控作用^[4]。本实验通过免疫组化和 RT-PCR 检测大鼠肝组织 JAK2, STAT3 的蛋白及基因表达发现, 模型组大鼠肝组织 JAK2, STAT3 基因的表达最强, 正常组大鼠肝组织 JAK2, STAT3 基因表达最弱, 笔者推测肾阳虚高脂血症模型大鼠 JAK/STATs 通路被激活。

LXRs 属于核受体超家族成员, LXRs 是一些可通过结合配体激活的转录因子, 属核受体超家族成员, 其靶组织为肝脏、脂肪和肌肉等。LXR 的同分异构体有 2 种, 为 LXR α 和 LXR β 。其中 LXR β 表达广泛, 而 LXR α 只特异性在肝脏、脂肪组织、肾、脾组织中高表达, 实验表明敲除小鼠 LXR α /LXR β 基因就明显出现 SREBP1c 和脂肪酸合成酶的表达低下^[5-6]。在对小鼠和仓鼠应用 LXRs 激动剂 T0901317 后, 发现该激动剂能显著增加血浆中的甘油三酯及肝细胞内甘油三酯的含量^[7-8]。

LXR α 激活后, 维甲酸 X 受体 (LXR/RXR) 异构体结合于 SREBP1-c 的靶基因上游的肝 X 受体应答元件 (LXRE) 上后促进 SREBP1-c 的转录^[9], 使 SREBP-1c mRNA 和核蛋白都有所增加, 固醇调控元件结合蛋白 (SREBPs) 是膜结合转录因子, 是碱性螺旋-环-螺旋-亮氨酸拉链转录因子家族 (bHLH-Zip) 成员^[10], SREBP1-c 的靶基因包括乙酰辅酶 α 羧化酶 (ACC) 基因, HMGCoA 合成酶基因, HMGCoA 还原酶基因, 脂肪酸合成酶 (FAS) 基因, 脱羧酶基因, 这些靶酶合成增加, 导致血甘油三酯合成增加, 脂肪沉积于肝脏^[11], SREBP 同时也增强了 LDL 受体 (LDLR) 的表达, LDLR 介导了从血液脂蛋白的胆固醇的吸收^[12]。

本次实验选择肝脏组织作为靶组织研究 LXR α 蛋白及其信号调控通路在脂代谢中的作用, 试验结果表明, 模型组大鼠肝组织 LXR α 蛋白和基因的表达最强, 右归丸组大鼠肝组织 LXR α 蛋白和基因表达有所减弱, 正常组大鼠肝组织 LXR α 蛋白和基因表达最弱, 笔者推测模型大鼠可能通过激活 JAK/STATs 通路, 而激活了 LXR α 及其下游的相关靶基因。

实验结果显示, 右归丸组大鼠肝内 JAK2, STAT3 基因的表达和 LXR α 蛋白和基因的表达低于模型组大鼠, 笔者推测右归丸可能是通过抑制 JAK/STATs 通路从而抑制 LXR α 蛋白在肝脏的表达, 进而起到调节血脂的功能, 这可能是右归丸治疗肾阳虚大鼠高脂血症的机制, 为笔者预防和治疗高

脂血症提供新的靶点。

[参考文献]

[1] 陈浩,苏伟,龚少愚,等. JAK/STAT、SOCS 信号转导通路与动脉粥样硬化研究进展[J]. 中国老年学杂志, 2013, 33(24):6348-6350.

[2] 徐安莉,周艳艳,赵敏,等. 两种高脂血症动物模型的比较[J]. 时珍国医国药, 2014, 25(1):138-139.

[3] 王文正,赵素梅,高士争. Leptin 介导的 JAK/STAT 信号通路对脂类代谢调节的研究进展[J]. 中国细胞生物学学报, 2011, 33(5):584-589.

[4] 张巍,陈品林,杜丽,等. JAK2 结构及其功能研究进展[J]. 海南大学学报:自然科学版, 2009, 25(1):87-90.

[5] Toth Julia I, Datta Shrimati, Athanikar Jyoti N, et al. Selective coactivator interactions in gene activation by SREBP-1a and 1c [J]. Mol Cell Biol, 2004, 24(18):8288-8300.

[6] Berge K E, Tian H, Graf G A, et al. Accumulation of dietary cholesterol in sitosterolemia caused by mutations in adjacent ABC transporters [J]. Science, 2000, 290

(5497):1771-1775.

[7] Schwartz K, Lawn R M, Wade D P. ABC 1 gene expression and ApoA-I-mediated cholesterol efflux are regulated by LXR [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2000, 274(3):794-802.

[8] Chiang J Y, Kimmel R, Stroup D. Regulation of cholesterol 7 alpha-hydroxylase gene (CYP 7 A 1) transcription by the liver orphan receptor (LXRalpha) [J]. Gene, 2001, 262(1/2):257-265.

[9] 丁涛. 附子的现代药理研究与临床新用 [J]. 中医学报, 2012, 19(12):1630-1631.

[10] Cha Ji Young, Repa Joyce J. The liver Xreceptor (LXR) and hepaticlipogenesis. The carbohydrate-response element-binding protein isatargetgene of LXR[J]. J Biol Chem, 2007, 282(1):743-751.

[11] 刘洪,许惠琴. 山茱萸及其主要成分的药理学研究进展[J]. 南京中医药大学学报, 2003, 19(4):254-256.

[12] 刘静,濮智颖,李爱玲,等. 杜仲叶黄酮降血脂及抗氧化作用的研究 [J]. 安徽农业科学, 2010, 38(11):5631-5632.

[责任编辑 周冰冰]

《中国实验方剂学杂志》声明

本刊近期发现有某些网站使用类似本刊网站的域名,冒用本刊名义,骗取审稿费及版面费。

现本刊郑重声明:①<http://www.syfjxzz.com> 为本刊唯一域名,其他域名均非本刊。

②本刊不会以任何名义收取任何审稿费。

③投稿成功后,为确保稿件安全请与责任编辑电话联系。

对于假冒本刊名义、侵犯本刊权利的不正当行为,本刊将通过法律程序进行维权。