

冯静, 张贤春. 复方天麻蜜环糖肽片对原发高血压大鼠 T 淋巴细胞亚群、早期肾损伤及 AT1R/Smad3 蛋白作用机制研究 [J]. 中国比较医学杂志, 2022, 32(3): 38-45.

Feng J, Zhang XC. Mechanism of compound Gastrodia honey cyclic glycopeptide tablets in T lymphocyte subsets, early kidney damage and AT1R/Smad3 proteins in essential hypertensive rats [J]. Chin J Comp Med, 2022, 32(3): 38-45.

doi: 10. 3969/j.issn.1671-7856. 2022. 03. 006

复方天麻蜜环糖肽片对原发高血压大鼠 T 淋巴细胞亚群、早期肾损伤及 AT1R/Smad3 蛋白作用机制研究

冯 静, 张贤春*

(海口市人民医院, 海口 570208)

【摘要】 目的 探究复方天麻蜜环糖肽片对原发性高血压大鼠 T 淋巴细胞亚群、早期肾损伤及 AT1R/Smad3 蛋白的作用。**方法** 本实验共分为 3 组, 正常组(NC 组)、模型组(SHR 组)和药物组(TMGT 组)。分别比较 3 组大鼠不同时间的血压变化; 3 组大鼠外周血 T 淋巴细胞亚群用流式细胞仪进行检测比较; 3 组大鼠血清中的炎症因子 IL-6 和 TNF- α 含量用 ELISA 进行检测比较; 3 组大鼠早期肾组织损伤情况用 HE 染色和 PAS 染色观察比较; 3 组大鼠肾组织中 AT1R/Smad3 蛋白和 mRNA 表达分别用蛋白质印迹法和 RT-PCR 法进行检测比较。**结果** 于给药后 2、4 和 8 周时 NC 组大鼠相比较, SHR 组大鼠的尾动脉压升高($P < 0.05$); 和 SHR 组大鼠相比, TMGT 组大鼠的尾静脉收缩压在给药后 2、4 和 8 周时得到了显著降低($P < 0.05$)。SHR 组大鼠 CD4⁺/CD8⁺ 比值较 NC 组显著升高($P < 0.05$); 干预后的 TMGT 组 CD4⁺/CD8⁺ 比值明显低于 SHR 组($P < 0.05$)。SHR 组大鼠血清中 IL-6 和 TNF- α 含量较 NC 组明显升高($P < 0.05$); 和 SHR 组大鼠血清中 IL-6 和 TNF- α 含量相比, TMGT 组显著降低($P < 0.05$)。SHR 组大鼠肾组织较 NC 组损伤严重, 肾小球肥大且基底膜增厚, 大量肾小球变为空泡, 毛细血管狭窄且出现闭塞; 干预后的 TMGT 组大鼠肾组织较 SHR 组得到了明显的改善。和 NC 组相比, SHR 组大鼠肾组织中 Smad3 和 AT1R 蛋白及 mRNA 表达显著增加($P < 0.05$); 干预后的 TMGT 组大鼠肾组织中 Smad3 和 AT1R 蛋白及 mRNA 表达较 SHR 组均显著降低($P < 0.05$)。**结论** 复方天麻蜜环糖肽片可有效调节高血压大鼠 T 淋巴细胞亚群, 改善机体的免疫功能, 缓解高血压导致的早期肾损伤, 同时抑制肾组织中的 Smad3 和 AT1R 蛋白表达, 进而对高血压疾病进行治疗。

【关键词】 复方天麻蜜环糖肽片; 原发性高血压; T 淋巴细胞亚群; 早期肾损伤; AT1R/Smad3 蛋白

【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856 (2022) 03-0038-08

Mechanism of compound Gastrodia honey cyclic glycopeptide tablets in T lymphocyte subsets, early kidney damage and AT1R/Smad3 proteins in essential hypertensive rats

FENG Jing, ZHANG Xianchun*

(Haikou People's Hospital, Haikou 570208, China)

【Abstract】 Objective To explore the effects of compound Gastrodia honey cyclic glycopeptide tablets on T lymphocyte subsets, early renal injury, and angiotensin II receptor type 1 (AT1R)/Smad3 proteins in essential hypertensive rats. **Methods** The study was divided into three groups: normal (NC), model (SHR) and drug (TMGT)

[基金项目] 海南省卫生计生行业科研项目(20A200118)。

[作者简介] 冯静(1984—), 女, 本科, 主治医师, 研究方向: 内科学-老年病科的相关研究, 全科医学。E-mail: fengjing8404@163.com

[通信作者] 张贤春(1979—), 男, 本科, 副主任医师, 研究方向: 全科医学。E-mail: zhangxianchun30@163.com

groups. Changes in blood pressure, T lymphocyte subsets in peripheral blood, IL-6 and TNF- α in serum, pathology in renal tissue, AT1R/Smad3 protein expression were assessed. Expression of AT1R/Smad3 mRNA was detected. **Results** Compared with the NC group, tail artery pressure in the SHR group was increased at 2, 4 and 8 weeks after administration ($P < 0.05$). However, no significant difference was found between SHR and TMGT groups at week 0 ($P < 0.05$). At 2, 4 and 8 weeks after administration, systolic blood pressure of the tail artery in the SHR group was significantly higher than that in the NC group, and the tail vein of the TMGT group was systolic after treatment. Blood pressure in the SHR group was significantly lower than that in the SHR group ($P < 0.05$). The ratio of CD4⁺/CD8⁺ cells in the SHR group was significantly higher than that in the NC group ($P < 0.05$). The ratio of CD4⁺/CD8⁺ cells in the TMGT group was significantly lower than that in the SHR group after treatment ($P < 0.05$). Compared with the NC group, the serum levels of IL-6 and TNF- α in the SHR group were increased significantly ($P < 0.05$) and those in the TMGT group were decreased significantly ($P < 0.05$). Renal tissue of the SHR group was more seriously damaged than that of the NC group with glomerular hypertrophy and basement membrane thickening, a large number of glomeruli became vacuoles, capillary stenosis and occlusion. After treatment, renal tissue of the TMGT group was significantly improved compared with that of the SHR group. Compared with the NC group, protein and mRNA expression of Smad3 and AT1R in renal tissue of the SHR group was increased significantly ($P < 0.05$) and that of Smad3 and AT1R in renal tissue of the TMGT group was decreased significantly ($P < 0.05$). **Conclusions** Compound Gastrodia honey cyclic glycopeptide tablets effectively regulate T lymphocyte subsets, improve immune functions, alleviate early renal injury caused by hypertension, and inhibit the expression of Smad3 and AT1R proteins in renal tissue to treat hypertension.

【Keywords】 compound Gastrodia honey cyclic glycopeptide tablets; essential hypertension; T lymphocyte subsets; early lung injury; AT1R/Smad3 protein

原发性高血压 (spontaneous hypertension, EH) 具有高致残率、高死亡率,严重者会导致心血管疾病的发生^[1]。原发性高血压在临床上主要表现为体循环动脉压的增高,同时伴有器官功能或器质性损害,严重的高血压患者导致脑卒中等疾病的发生^[2]。目前,高血压患者随着社会生活节奏的加快而逐年增加,有数据统计发现,我国目前为止高血压患者的患病率高达 25%。原发性高血压的发病机制相对复杂,目前尚没有文献明确的报道。近些年研究显示,血管的炎性反应和内皮损伤介导着高血压疾病的发生、发展^[3]。还有学者研究发现,在高血压患者的血管壁内有大量的炎症反应,并且在高血压的发生中这种炎症反应起主导作用^[4]。目前我国主要通过研究 CD4⁺T 淋巴细胞亚群来反应原发性高血压的炎症免疫反应,虽有很多的文献报道,但 CD4⁺T 淋巴细胞亚群在高血压疾病中的作用机制还不是十分清楚。血管紧张素 II 会和它的受体之一 zAng II 1 型受体 (angiotensin II type 1 receptor, AT1R) 相结合,进而让血管发生收缩,释放大量的醛固酮,增加细胞增生,这些不良效应主要由 AT1R 所介导^[5]。有文献报道显示,在高血压患者的血清中发现了 AT1R 抗体,因此推测机体的免疫功能介导高血压疾病的发生^[6]。Smad (small mother against decapentaplegic) 蛋白是转化生长因子

(TGF) 信号通路中重要的细胞内作用底物,其中 Smad3 是其中的一种亚型^[7]。现有研究显示,TGF/Smad 信号通路在心血管疾病中的发生发展过程中发挥重要的作用,Smad 蛋白从基因转录水平参与调控心血管疾病的发生发展过程^[8],但 AT1R、Smad3 在高血压中的表达还尚不清楚。复方天麻蜜环糖肽片是一种生物重要复方制剂,主要提取于天麻蜜环菌、黄芪和当归中,可以有效防止眩晕,且对舒筋活血有一定的效果,复方天麻蜜环糖肽片不仅服用方便,不良反应也相对较小^[9-10]。目前,还没有复方天麻蜜环糖肽片对高血压作用的相关报道,本文旨在探究复方天麻蜜环糖肽片对原发性高血压大鼠 T 淋巴细胞亚群、早期肾损伤及 AT1R、Smad3 蛋白表达的影响。

1 材料和方法

1.1 实验动物

大鼠购自浙江中医药大学动物实验中心 [SCXK(浙)2017-0015],所有大鼠饲养在海南医学院 [SYXK(琼)2019-0008]。40 只 SHR 大鼠,20 只 Wistar-Kyoto (WKY) 大鼠,所有大鼠皆为 SPF 级、雄性,8 周龄,体重 180~200 g。所有大鼠均饲养在统一的动物房内,保证环境清洁,且室内温度保持在 23℃~25℃,相对湿度保持在 45%~50%,动物实验

过程经海口市人民医院动物实验伦理委员会批准(20120LL077),本次实验符合 3R 原则。

1.2 主要试剂与仪器

山西康欣药业有限公司生产的复方天麻蜜环糖肽片(批准文号:H14022944);美国 Assay Biotechnology 公司生产的 AT1R 抗体和 Smad3 抗体;美国 BD 公司生产的 CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺检测试剂盒。上海奥尔科技生物科技有限公司生产的大鼠无创血压测量分析系统;日本奥林巴斯株式会社生产的 BH2 型光学显微镜。

1.3 实验方法

1.3.1 动物分组与造模

20 只 WKY 大鼠作为正常组(NC 组)、40 只 SHR 大鼠分为模型组(SHR 组)和药物组(TMGT 组),每组 20 只。将 1 g 复方天麻蜜环糖肽片用生理盐水稀释成 3 mL 复方天麻蜜环糖肽溶液, TMGT 组大鼠给予 1 g/kg 天麻蜜环糖肽溶液灌胃干预,每天 3 次,连续干预 8 周;NC 组大鼠和 SHR 组大鼠均给予等量的生理盐水灌胃干预,每天 3 次,连续干预 8 周。

1.3.2 动物血压测量

在给药干预后 0、2、4 和 8 周时,分别测量 NC 组、SHR 组和 TMGT 组大鼠的尾动脉收缩压。在测量时先把无创血压检测仪进行预热,在大鼠的根部套上血压计的充气尾,在大鼠处于安静状态时,对大鼠的血压进行测量,每组大鼠分别测量 3 次,取平均值。

1.3.3 流式细胞仪检测外周血 T 淋巴细胞亚群

分别麻醉 NC 组、SHR 组和 TMGT 组大鼠,采集大鼠腹主动脉血液 3 mL,离心处理后,弃掉上清液,将 PBS 溶液加入其中进行稀释,充分混匀后,在淋巴细胞分离液上铺满液体,离心后把中间的白层膜部分取出,再次离心后,把上清液弃掉,重悬细胞制备成淋巴细胞悬液。将悬液放置在测定管中,分别设为空白管和对照管,在管中加入 CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺荧光抗体,轻摇测定管混匀,在室温环境中孵育,20 min 后再次用 PBS 溶液重悬,最后对 T 淋巴细胞亚群进行检测。

1.3.4 ELISA 检测血清中 IL-6、TNF- α 的含量

分别取 NC 组、SHR 组和 TMGT 组大鼠的腹主动脉血,2000 r/min 的速度离心 5 min,取出离心后的上清液,分别测量各组大鼠血清中 IL-6、TNF- α 的含量。

1.3.5 肾组织病理学观察

采用 HE 染色和 PAS 染色切片法,处死 3 组大鼠后取出肾组织,将制备好的切片组织放置在图像分析仪上,分别观察 NC 组、SHR 组和 TMGT 组大鼠肾组织的病理变化。

1.3.6 Western blot 检测肾组织中 AT1R、Smad3 蛋白表达

分别取 NC 组、SHR 组和 TMGT 组大鼠 50 mg 肾组织,用 Western blot 裂解液裂解后用玻璃均浆器在冰上对组织进行研磨,30 min 后以 12000 r/min 的速度离心 5 min,取上清液,蛋白浓度用 BCA 法进行检测,在每孔中加入 50 μ g 蛋白样品,根据蛋白浓度计算样本体积。把浓缩的 SDS-PAGE 缓冲液加入到上清液中,加热上清液,5 min 后在预制的胶孔中把蛋白样本加入,在封闭的环境中孵育。1 h 后加入一抗,TBST 溶液将蛋白样品清洗 3 次,凝胶成像系统曝光成像,进一步分析。

1.3.7 RT-PCR 检测 Smad3 和 AT1R 蛋白表达

分别取 NC 组、SHR 组和 TMGT 组大鼠 50 mg 肾组织,用 TRIzol 裂解液将组织裂解,而后提取组织中总的 RNA。分别检测肾组织中 AT1R、Smad3 mRNA 的表达。引物序列:AT1R 上游引物:5'-GAGAGGATTCGTGGCTTGAG-3',下游引物:5'-TAAGTCAGCCAAGGCGAGAT-3';Smad3 上游引物:5'-CCTGGCTACCTGAGTGAAGATG-3',下游引物:5'-AGTAGGAGATGGAGCACCAAAAC-3'。扩增条件:95 $^{\circ}$ C 预变性 2 min;95 $^{\circ}$ C 预变性 15 s;60 $^{\circ}$ C 退火 1 min,共计 40 个循环。AT1R、Smad3 mRNA 相对表达量用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法进行计算。

1.4 统计学方法

应用 SPSS 20.1 软件对 NC 组、PT 组和 miR-223 组的数据进行分析。用平均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)的形式表示 3 组间的数据,3 组间的数据比较用单因素方差法进行检验,两组间比较采用 LSD-*t* 进行检验;以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组大鼠尾动脉收缩压测量比较

和 NC 组大鼠相比,SHR 组和 TMGT 组大鼠给药后 0 周尾动脉收缩压均明显升高($P < 0.05$),但给药后 0 周 SHR 组和 TMGT 组大鼠尾动脉收缩压没有明显的变化($P > 0.05$)。和 NC 组相比,SHR 组在给药后 2、4 和 8 周时大鼠尾动脉收缩压显著升高

($P<0.05$); 和 SHR 组给药后 2、4 和 8 周时大鼠尾动脉收缩压相比, TMGT 组大鼠均得到显著抑制($P<0.05$), 见表 1。

2.2 各组大鼠外周血 CD4⁺和 CD8⁺细胞表达频率及 CD4⁺/CD8⁺比值

NC 组大鼠外周血 CD4⁺细胞表达频率为(63.21 ± 2.13), CD8⁺细胞表达频率为(34.21 ± 1.65); SHR 组大鼠外周血 CD4⁺(81.15 ± 2.62)细胞表达频率较 NC 组显著升高($P<0.05$), CD8⁺(25.33 ± 1.96)细胞表达频率较 NC 组显著降低($P<0.05$); 干预后的 TMGT 组大鼠外周血 CD4⁺(66.73 ± 1.57)细胞表达频率较 SHR

组显著降低, CD8⁺(32.76 ± 2.35)细胞表达频率较 SHR 组显著升高($P<0.05$)。和 NC 组大鼠 CD4⁺/CD8⁺比值(1.62 ± 0.15)相比较, SHR 组大鼠 CD4⁺/CD8⁺比值(2.26 ± 0.31)显著升高($P<0.05$); 干预后的 TMGT 组大鼠的 CD4⁺/CD8⁺比值(1.85 ± 0.12)较 SHR 组显著降低($P<0.05$), 见图 1 和图 2。

2.3 血清中 IL-6、TNF-α 含量比较

和 NC 组大鼠血清中炎症因子 IL-6 和 TNF-α 含量相比较, SHR 组大鼠显著升高($P<0.05$); 和 SHR 组相比, TMGT 组大鼠血清中 IL-6 和 TNF-α 含量显著降低($P<0.05$), 见表 2 和图 3。

表 1 各组大鼠不同时间尾动脉收缩压测量比较($\bar{x}\pm s$, $n=20$)

Table 1 Comparison of tail artery systolic blood pressure in different groups at different time				
组别 Groups	0 周 0 week	2 周 2 weeks	4 周 4 weeks	8 周 8 weeks
NC 组 NC group	143.36±3.98	148.71±4.06	148.64±3.87	147.32±3.14
SHR 组 SHR group	162.78±2.71*	189.42±3.77*	192.76±3.65*	190.31±3.27*
TMGT 组 TMGT group	163.99±2.46*	168.25±2.46*#	167.33±2.18*#	165.54±2.49*#
F	275.1	676.8	890.3	1044.0
P	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001

注: 与 NC 组相比, * $P<0.05$; 与 SHR 组相比, # $P<0.05$ 。
Note. Compared with NC group, * $P<0.05$. Compared with SHR group, # $P<0.05$.

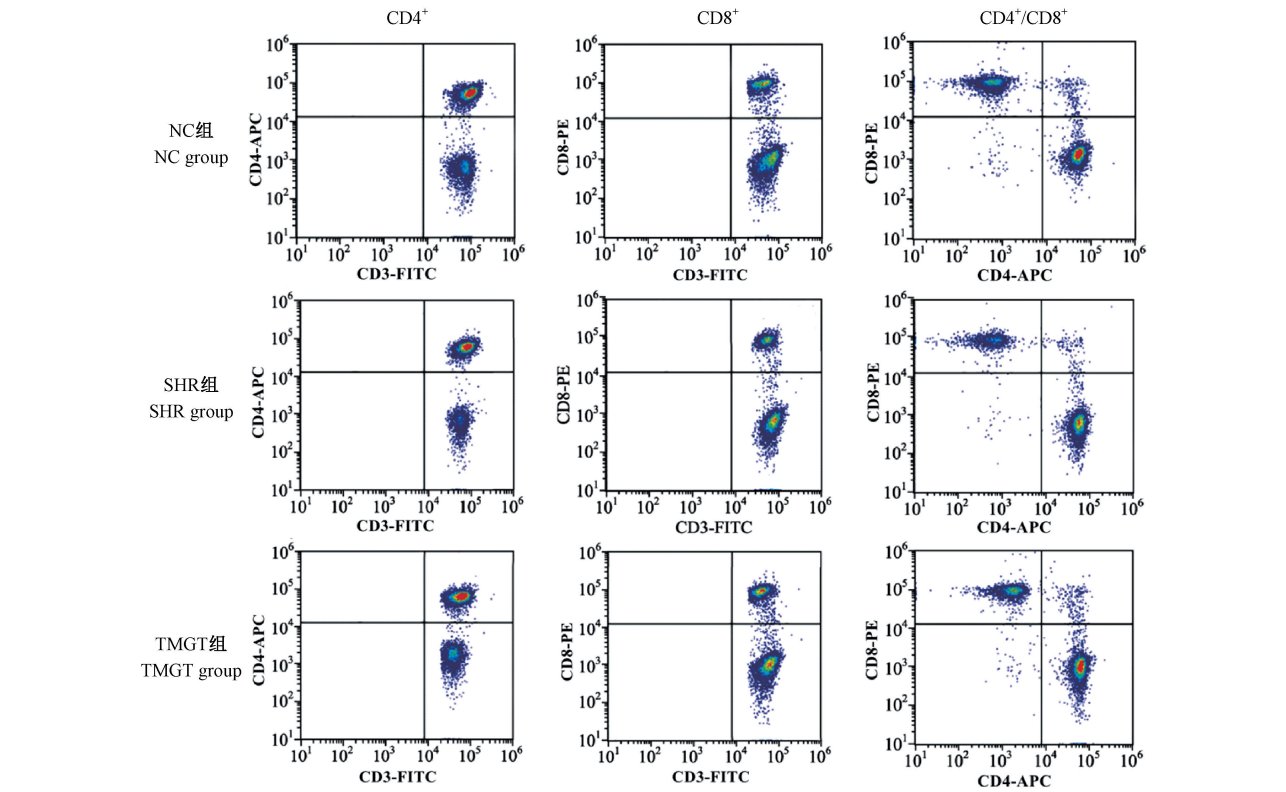


图 1 流式细胞仪检测各组大鼠外周血 CD4⁺和 CD8⁺细胞表达频率及 CD4⁺/CD8⁺比值
Figure 1 Expression frequency of CD4⁺ and CD8⁺ cells and the ratio of CD4⁺/CD8⁺ in peripheral blood of rats in each group were detected by flow cytometry

2.4 三组大鼠肾组织病理学变化比较

和 NC 组大鼠肾组织比,SHR 组大鼠肾小球明显增大,基底膜增厚且肾小球出现大量的空泡,毛细血管明显狭窄,且出现闭塞;和 SHR 组大鼠肾组织比,TMGT 组肾组织得到了明显的改善,见图 4。

2.5 各组大鼠肾组织中 Smad3 和 AT1R 蛋白表达比较

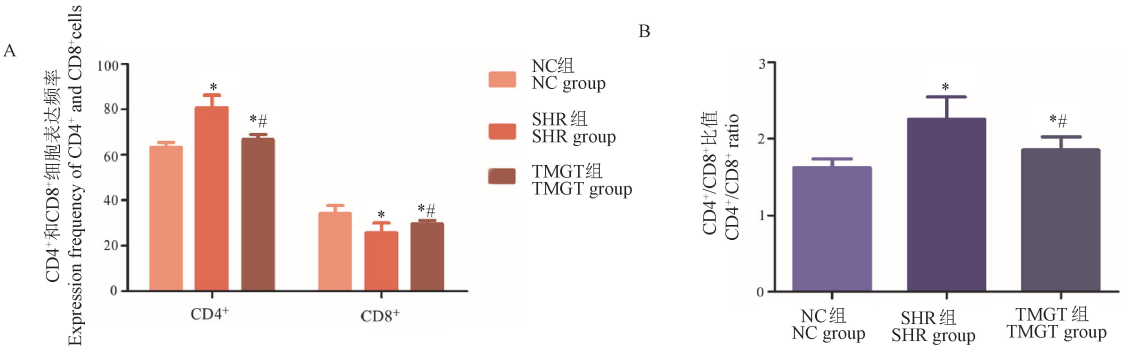
和 NC 组大鼠肾组织中 Smad3 和 AT1R 蛋白表达相比较,SHR 组均显著增加($P<0.05$);和 SHR 组相比,TMGT 组大鼠肾组织中 Smad3 和 AT1R 蛋白表达均显著降低($P<0.05$),见图 5。

表 2 各组大鼠血清中 IL-6、TNF- α 含量比较($\bar{x}\pm s$, $n=20$)

Table 2 Comparison of IL-6 and TNF- α in serum of rats in each group

组别 Groups	IL-6 (pg/mL)	TNF- α (pg/mL)
NC 组 NC group	2.83 $\pm$ 0.41	282.41 $\pm$ 51.73
SHR 组 SHR group	3.96 $\pm$ 1.02 *	1455.92 $\pm$ 111.34 *
TMGT 组 TMGT group	3.17 $\pm$ 0.87 *#	376.12 $\pm$ 89.76 *#
F	10.26	1103.00
P	0.0002	<0.0001

注:与 NC 组相比, * $P<0.05$;与 SHR 组相比, # $P<0.05$ 。
Note. Compared with NC group, * $P<0.05$. Compared with SHR group, # $P<0.05$.

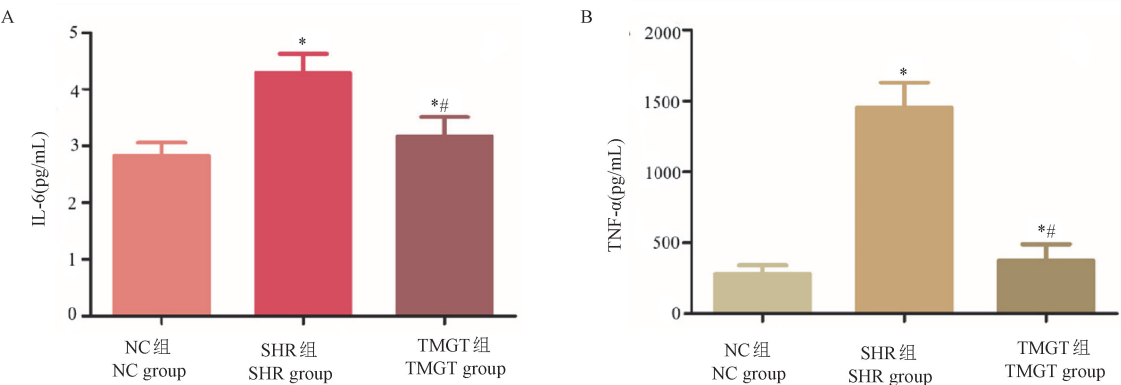


注:与 NC 组相比, * $P<0.05$;与 SHR 组相比, # $P<0.05$ 。

图 2 各组大鼠外周血 CD4⁺和 CD8⁺细胞表达频率及 CD4⁺/CD8⁺ 比值比较

Note. Compared with NC group, * $P<0.05$. Compared with SHR group, # $P<0.05$.

Figure 2 Comparison of the expression frequency of CD4⁺ and CD8⁺ cells and the ratio of CD4⁺/CD8⁺ in peripheral blood in each group of rats

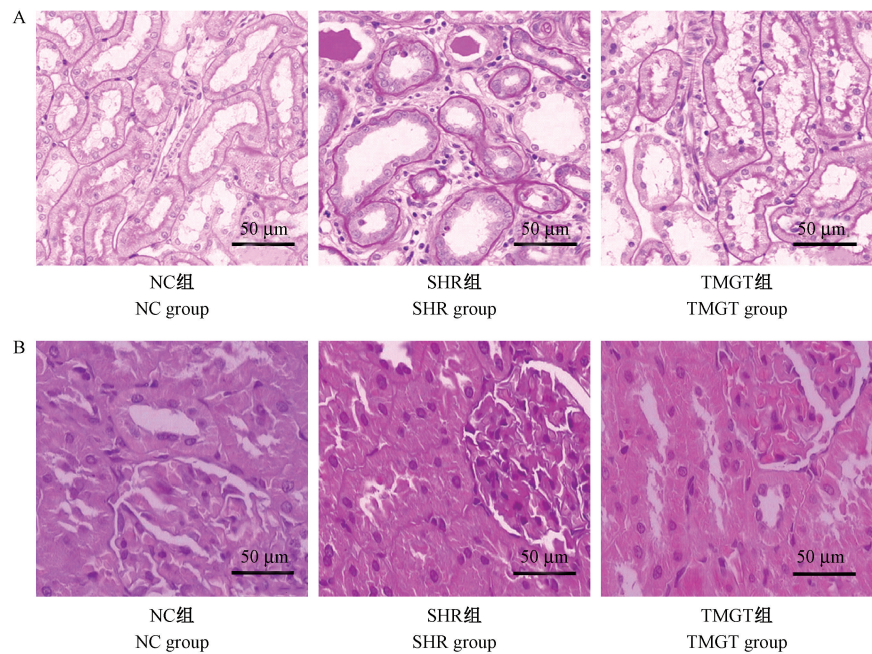


注:与 NC 组相比, * $P<0.05$;与 SHR 组相比, # $P<0.05$ 。

图 3 各组大鼠血清中 IL-6 和 TNF- α 含量比较

Note. Compared with NC group, * $P<0.05$. Compared with SHR group, # $P<0.05$.

Figure 3 Comparison of IL-6 and TNF- α in serum of rats in each group

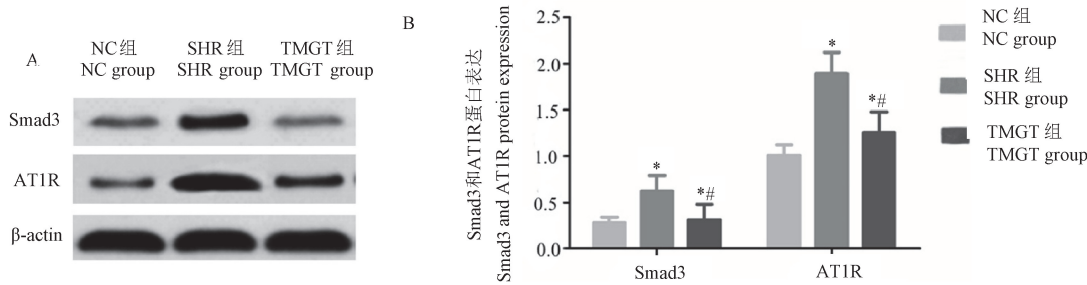


注:A:大鼠肾组织 HE 染色;B:大鼠肾组织 PAS 染色。

图 4 各组大鼠肾组织 HE 染色和 PAS 染色

Note. A, HE staining of rat kidney tissue. B, PAS staining of rat kidney tissue.

Figure 4 HE staining and PAS staining of rat kidney tissues in each group



注:A:3 组大鼠肾组织中 Smad3 蛋白和 AT1R 蛋白表达;B:3 组大鼠肾组织中 Smad3 蛋白和 AT1R 蛋白表达比较。与 NC 组相比, * $P < 0.05$;与 SHR 组相比, # $P < 0.05$ 。

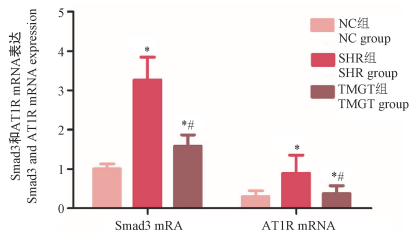
图 5 各组大鼠肾组织中 Smad3 蛋白和 AT1R 蛋白表达

Note. A, Expression of Smad3 protein and AT1R protein in renal tissue of three groups of rats. B, Comparison of the expression of Smad3 protein and AT1R protein in renal tissue of three groups of rats. Compared with NC group, * $P < 0.05$. Compared with SHR group, # $P < 0.05$.

Figure 5 Expression of Smad3 protein and AT1R protein in renal tissue in each group of rats

2.6 各组大鼠肾组织中 Smad3 和 AT1R mRNA 表达比较

NC 组大鼠肾组织中 Smad3 和 AT1R mRNA 分别为 (1.01 ± 0.10) 和 (0.27 ± 0.02) ; SHR 组大鼠肾组织中 Smad3 mRNA (3.27 ± 1.21) 和 AT1R mRNA (0.89 ± 0.05) 较 NC 组均显著增加 ($P < 0.05$); 和 SHR 组相比, TMGT 组大鼠肾组织中 Smad3 mRNA (1.58 ± 0.23) 和 AT1R mRNA (0.34 ± 0.03) 显著降低 ($P < 0.05$), 见图 6。



注:与 NC 组相比, * $P < 0.05$;与 SHR 组相比, # $P < 0.05$ 。

图 6 各组大鼠肾组织中 Smad3 和 AT1R mRNA 表达比较

Note. Compared with NC group, * $P < 0.05$. Compared with SHR group, # $P < 0.05$.

Figure 6 Comparison of Smad3 and AT1R mRNA expression in renal tissue of rats in each group

3 讨论

高血压是一种慢性的炎症反应,其发病机制和很多因素都有密切关系,例如遗传基因、肾素-血管紧张素-醛固酮系统的激活、胰岛素抵抗及血管内皮功能受损等,以上因素均可导致机体的免疫功能发生紊乱^[11]。研究发现,免疫功能在高血压疾病中起主导作用,高血压发生时,在血管周围常发现大量的炎症反应,在机体中炎症免疫发生作用,增加趋化因子的表达,升高黏附因子的含量,同时增加超氧化物的释放,从而加强机体的氧化应激反应^[12]。炎症免疫系统会降低血管的舒张功能,召集大量的内皮细胞,包括 T 淋巴细胞等,增加内皮细胞的数量且增强细胞的粘附性,进而升高血压^[13]。文献显示,炎症免疫失调介导着高血压的发生发展,高血压的患病率会随着炎症因子的增加而增加^[14]。可见,免疫炎症反应参与者高血压的发生、发展。天麻为兰科植物,其干燥块茎为常用名贵中药,其具有很高的药用价值和经济价值。蜜环菌隶属于担子菌亚门伞菌目白磨科蜜环菌属。蜜环菌是天麻生长发育的基础,为天麻的生长发育提供养分。有研究发现,复方天麻蜜环糖肽片可提高外周动脉血管的顺应性,让大脑的血量得到增加,与此同时也加强了中央血管的顺应性,进而达到降低血压的效果^[15]。本实验结果显示,SHR 组大鼠尾静脉收缩压较 NC 组显著升高,在复方天麻蜜环糖肽片干预后大鼠的动脉收缩压得到明显抑制,提示复方天麻蜜环糖肽片可有效改善高血压大鼠血管的舒缩功能,进而实现降压的目的。

T 淋巴细胞参与着高血压疾病的发生发展,在高血压发生时,活化的 T 淋巴细胞向肾及外周血管迁移,可见调节免疫系统和高血压的发生密切相关。本研究发现,SHR 组大鼠外周血 CD4⁺/CD8⁺淋巴细胞的比值较 NC 组明显升高,说明机体内的 T 淋巴细胞数量发生异常变化,导致免疫系统失衡,让机体处于免疫抑制状态。经过复方天麻蜜环糖肽片干预后大鼠的 CD4⁺/CD8⁺淋巴细胞比值得到明显抑制,可见复方天麻蜜环糖肽片对高血压大鼠的 T 淋巴细胞的数量进行调节,改善机体的免疫系统,进而调节机体的血压处于正常状态。张小娟等^[16]通过对高血压患者临床研究证实,给予复方天麻蜜环糖肽片的观察组患者的治疗效果明显好于给予非洛地平缓释片联合缬沙坦的对照组患者,以

复方天麻蜜环糖肽片对辅助治疗高血压的效果显著。近些年有学者研究发现和高血压有关的炎症标记物有 IL-6、TNF- α 等,本研究结果发现,SHR 组大鼠血清中 IL-6、TNF- α 含量显著高于 NC 组,复方天麻蜜环糖肽片干预后高血压患者血清中炎症因子 IL-6、TNF- α 含量均得到明显抑制,可见复方天麻蜜环糖肽片在高血压发生中有效调控 IL-6、TNF- α 促炎因子,进而发挥良好的抗炎效果。丁东新等^[17]研究发现,老年原发性高血压患者血清中有大量炎症因子 IL-6、TNF- α 标记物,且炎症标记物和血压的严重程度成正相关。

血管紧张素 II 是 RAS 最重要的血管活性物质,主要通过 AT1R、AT2R 来实现多种生理调节作用。血管紧张素 II 通过 AT1R 在循环系统内发挥着收缩血管、调节血压和水钠平衡等作用,而通过 AT2R 受体调节扩血管的同时抑制肾小球旁细胞肾素合成^[18]。Smad 可分为 Smad1~Smad8,其中 Smad3 对受体有一定的调节作用。有研究发现,激活 smad 蛋白可通过转录抑制 PPAY- γ 的表达,降低 PPAY- γ 对血管的保护作用,进而加重肺动脉高压的发生。本研究显示,SHR 组大鼠组织中 Smad3 和 AT1R 蛋白及相对表达量均高于 NC 组大鼠,Smad3 升高说明高血压大鼠肾受损,给予复方天麻蜜环糖肽片干预后高血压大鼠肾组织中 Smad3 和 AT1R 蛋白及相对表达量得到明显抑制,提示复方天麻蜜环糖肽片可抑制 Smad3 和 AT1R 蛋白表达,进而延缓高血压性肾病的进程。伊林等^[19]研究发现,当归可能通过其有效成分藁本内酯对血压有干预作用,可能通过 AT1R 靶点发挥作用。李撵萍^[20]研究发现,复方天麻蜜环糖肽片联合硝苯地平对高血压患者起有效的治疗效果,并且无严重的不良反应发生,值得临床使用。

综上所述,复方天麻蜜环糖肽片可有效调节高血压大鼠 T 淋巴细胞亚群,改善机体的免疫功能,缓解高血压导致的早期肾损伤,同时抑制肾组织中的 Smad3 和 AT1R 蛋白表达,进而对高血压疾病进行治疗。

参考文献:

- [1] Fu YS, Lue SI, Lin SY, et al. *Plantago asiatica* seed extracts alleviated blood pressure in Phase spontaneous hypertension rats [J]. *Molecules*, 2019, 24(9): 1734.
- [2] Gonzalez-Vicente A, Saez F, Monzon CM, et al. Thick ascending limb sodium transport in the pathogenesis of hypertension [J].

- Physiol Rev, 2019, 99(1): 235-309.
- [3] Donertas B, Zubcevic J. Gut microbiota and neuroinflammation in pathogenesis of hypertension: A potential role for hydrogen sulfide [J]. Pharmacol Res, 2020, 43(7): 597-608.
- [4] Serkan G, Gkaslan O, Emin D, et al. Role of aortic stiffness and inflammation in the etiology of young-onset hypertension [J]. Turk J Med Sci, 2019, 49(6): 1748-1753.
- [5] Xing J, Tian HF, Tang XQ, et al. Kinetics of T lymphocyte subsets and B lymphocytes in response to immunostimulants in flounder (*Paralichthys olivaceus*): implications for CD4⁺ T lymphocyte differentiation [J]. Sci Rep, 2020, 10(1): 13827.
- [6] 黄晓燕, 高宏, 艾尼瓦尔·吾买尔. 半夏白术天麻汤对自发性高血压大鼠血管内皮因子及 AT1R 表达的影响 [J]. 中国药师, 2020, 23(4): 609-613.
- [7] 杨亚, 陈鹏, 戴红卫, 等. 大鼠正畸牙移动过程中转化生长因子- β /Smad 信号通路相关蛋白质在 Malassez 上皮剩余细胞的表达变化 [J]. 国际口腔医学杂志, 2019, 46(3): 28-34.
- [8] 陈方旭, 米焱, 王彩丽. TGF- β /Smad、p38MAPK 及 JNK/SAPK 信号通路在糖尿病肾病发生发展中作用机制的研究进展 [J]. 山东医药, 2019, 59(9): 106-109.
- [9] 徐静, 徐梦怡, 周俊山. 复方天麻蜜环糖肽片联合倍他司汀治疗老年良性位置性眩晕的疗效观察 [J]. 现代药物与临床, 2018, 33(10): 2525-2528.
- [10] 王玉红, 刘晖, 邹小琼, 等. 复方天麻蜜环糖肽片联合长春西汀治疗后循环缺血性眩晕的临床观察 [J]. 广东医学院学报, 2019, 37(1): 35-37.
- [11] 张楠, 吴嘉, 李卓玲, 等. 原发性高血压患者血清补体 C1q 水平及其对心血管疾病发生风险的评估价值 [J]. 临床检验杂志, 2019, 37(4): 287-289.
- [12] Baev VM, Vagapov TF, Shmeleva SA. Severe parasympathictonia in men with hypertension is accompanied by an increase in the chronic venous diseases' signs [J]. Russ J Cardiol, 2019, 24(1): 52-55.
- [13] 马文娟, 孙丽君, 赵世刚. 瑞舒伐他汀对家族性高胆固醇血症患者血脂水平和颈动脉内膜中层厚度及血管内皮舒张功能的影响 [J]. 中国医药, 2019, 14(1): 65-68.
- [14] 李立峰, 邢同生, 赵存马. 阿托伐他汀钙片联合厄贝沙坦治疗伴高胆固醇高血压病人的临床效果及对心肌缺血标志物和炎症因子的影响 [J]. 中西医结合心脑血管病杂志, 2020, 18(3): 497-500.
- [15] 刘涛, 刘维红. 养血清脑颗粒联合复方天麻蜜环糖肽片治疗脑动脉硬化症的临床研究 [J]. 现代药物与临床, 2016, 31(12): 1891-1895.
- [16] 张小娟, 王炳华, 王文英, 等. 高血压患者应用复方天麻蜜环糖肽片辅助治疗的临床分析 [J]. 现代诊断与治疗, 2015, 26(24): 5545-5546.
- [17] 丁东新, 薛冰, 沈琪, 等. 老年原发性高血压患者 TNF- α 、IL-6 水平与血压、颈动脉粥样硬化的关系 [J]. 同济大学学报(医学版), 2013, 34(5): 61-64.
- [18] 吕宏娟, 康晓敏. Toll 样受体 2 在血管紧张素 II 致高血压小鼠心肌纤维化中的作用 [J]. 中华老年心脑血管病杂志, 2014, 16(8): 860-862.
- [19] 伊琳, 王利红, 纪禄凤, 等. 藜芦内酯对自发性高血压大鼠 AT1R 基因表达的影响 [J]. 中兽医医药杂志, 2018, 37(4): 9-12.
- [20] 李攀萍. 复方天麻蜜环糖肽联合硝苯地平治疗高血压随机平行对照研究 [J]. 实用中医内科杂志, 2016, 30(11): 66-68.

[收稿日期] 2021-01-19