

引用:左丽婉,张艺,田卫杰,刘春华,熊向晖.基于NF- κ B信号通路探讨晕清降压方治疗肥胖相关性高血压痰瘀互结证大鼠的作用机制[J].中医导报,2025,31(3):24-29,64.

基于NF- κ B信号通路探讨晕清降压方治疗肥胖相关性高血压痰瘀互结证大鼠的作用机制*

左丽婉¹, 张 艺², 田卫杰¹, 刘春华¹, 熊向晖¹

(1.湖南中医药大学第二附属医院, 湖南 长沙 410005;

2.重庆市涪陵区中医院, 重庆 408000)

[摘要] 目的:探究晕清降压方对肥胖相关性高血压模型大鼠核因子 κ B(NF- κ B)炎症信号通路的影响。方法:从60只SD雄性大鼠中随机选取8只分为空白组,其余大鼠采用小剂量链脲佐菌素+高盐高脂饲料喂养+慢性束缚应激构建肥胖相关性高血压痰瘀互结证模型,根据随机数字表法将造模成功的40只雄性SD大鼠分为模型组、替米沙坦组及晕清降压方低、中、高剂量组,每组8只。晕清降压方低、中、高剂量组分别给予晕清降压方[10.0 g/(kg·d)、20.0 g/(kg·d)、40.0 g/(kg·d)]灌胃;替米沙坦组予替米沙坦片[3.5 mg/(kg·d)]灌胃;空白组及模型组大鼠给予蒸馏水[10 mL/(kg·d)]灌胃,1次/d,连续4周。测定各组大鼠血压、体质量、血脂、空腹血糖;使用酶联免疫吸附测定法检测血清脂多糖(LPS)水平;免疫印迹(Western blotting)法检测结肠组织髓分化因子88(MyD88)、p65、磷酸化NF- κ B抑制蛋白(p-I κ B)、p-p65蛋白表达;实时PCR法检测结肠组织白介素-1 β (IL-1 β) mRNA、肿瘤坏死因子- α (TNF- α) mRNA、IL-18 mRNA表达水平;苏木精-伊红(HE)染色观察大鼠肝脏及结肠病理形态。结果:与空白组相比,模型组大鼠体质量及血压升高($P<0.05$),总胆固醇(TC)、甘油三酯(TG)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)、空腹血糖(FBG)升高($P<0.05$),高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)降低($P<0.05$),血清LPS水平升高($P<0.01$),结肠MyD88、p-I κ B、p-p65、p65蛋白表达显著升高($P<0.05$),结肠IL-1 β mRNA、TNF- α mRNA、IL-18 mRNA表达升高($P<0.01$),肝脏可见广泛散在的肝细胞脂肪变性,结肠组织结构紊乱。与模型组比较,替米沙坦组及晕清降压方各剂量组大鼠体质量及血压均降低($P<0.05$),LDL-C、FBG均降低($P<0.05$),HDL-C升高($P<0.05$),晕清降压方高剂量组TG及LPS降低($P<0.01$);与模型组相比,晕清降压方低、中、高剂量组大鼠结肠MyD88、p-I κ B、p-p65、p65蛋白表达显著下降($P<0.01$),结肠组织IL-1 β mRNA、TNF- α mRNA、IL-18 mRNA表达显著下降($P<0.05$)。结果:晕清降压方治疗肥胖相关性高血压的可能通过降低血清LPS水平,介导NF- κ B通路,改善炎症,进而达到降压减重、调节糖脂代谢的作用。

[关键词] 肥胖相关性高血压;痰瘀互结证;晕清降压方;替米沙坦;NF- κ B信号通路;肠道炎症;大鼠

[中图分类号] R285.5 [文献标识码] A [文章编号] 1672-951X(2025)03-0024-06

DOI:10.13862/j.cn43-1446/r.2025.03.005

Effect of Yunqing Jiangya Decoction (晕清降压方) on NF- κ B Pathway in Rats with Obesity-Related Hypertension of Phlegm-Blood Stasis Syndrome

ZUO Liwan¹, ZHANG Yi², TIAN Weijie¹, LIU Chunhua¹, XIONG Xianghui¹

(1.The Second Affiliated Hospital of Hunan University of Chinese Medicine, Changsha Hunan 410005, China;

2.Chongqing Fuling District Hospital of Traditional Chinese Medicine, Chongqing 408000, China)

[Abstract] Objective: To investigate the effects of Yunqing Jiangya decoction on NF- κ B inflammatory signaling pathway in obesity-related hypertension model rats with phlegm-blood stasis syndrome. Methods: A total of 8 rats were selected as control group from 60 male Sprague-Dawley (SD) rats, and the remaining rats subjected to a combination of low-dose STZ, high-salt high-fat diet, and chronic restraint stress to establish a hypertensive

*基金项目:湖南省自然科学基金药联合项目(2022JJ80021);湖南省中医药科研计划重点项目(C2022013);湖南中医药大学校级科研项目(2023YF02)。

通信作者:刘春华,女,教授,研究方向为中西医结合防治心血管疾病

obese rat model with phlegm-blood stasis syndrome. The 40 male SD model rats were further randomized into model group, telmisartan group, low-dose Yunqing Jiangya Decoction group, medium-dose Yunqing Jiangya decoction group, and high-dose Yunqing Jiangya decoction group, 8 rats in each group. Rats in the low, medium, and high-dose Yunqing Jiangya decoction groups received oral gavage of low dose [10.0 g/(kg·d)], medium dose [20.0 g/(kg·d)], and high dose [40.0 g/(kg·d)] of Yunqing Jiangya decoction, respectively, while the telmisartan group received telmisartan at a dose of 3.5 mg/(kg·d). The control group and model group received distilled water [10.0 mL/(kg·d)] by oral gavage. Treatment was administered once daily for four weeks. Blood pressure, body mass, blood lipid and fasting blood glucose were measured in each group, and the levels of LPS in serum were assessed using ELISA. Western blotting was used to evaluate the expression of Myeloid differentiation primary response protein 88 (MyD88), p65, p-IkB, p-p65 in colonic tissue. Real-time PCR was employed to determine the expression levels of IL-1 β mRNA, TNF- α mRNA and IL-18 mRNA in colonic tissue. The pathological morphology of liver and colon were observed by hematoxylin-eosin (HE) staining. Results: Compared with control group, the body weight and blood pressure of rats increased in model group ($P<0.05$). The level of TC, TG, LDL-C and FBG increased in model group ($P<0.05$), while level of HDL-C decreased in model group ($P<0.05$). The level of LPS in serum increased in model group ($P<0.01$). Compared with control group, the expressions of MyD88, p-IkB, p-p65 and p65 in colon tissue increased in model group ($P<0.05$). Compared with control group, the expression of IL-1 β mRNA, TNF- α mRNA and IL-18 mRNA increased in model group ($P<0.01$). Compared with control group, widespread scattered hepatocellular steatosis was seen in the liver, and the colonic tissue structure was disturbed in model group. Compared with model group, body weight and blood pressure decreased in telmisartan group and the low-dose, medium-dose and high-dose of Yunqing Jiangya Decoction groups ($P<0.05$). Compared with model group, level of LDL-C and FBG decreased in telmisartan group and the low-dose, medium-dose and high-dose of Yunqing Jiangya decoction groups ($P<0.05$), while level of HDL-C increased in telmisartan group and the low-dose, medium-dose and high-dose of Yunqing Jiangya decoction groups ($P<0.05$). The level of TG and LPS in serum decreased in the high-dose Yunqing Jiangya decoction group ($P<0.01$). Compared with model group, the expression of MyD88, p-IkB, p-p65 and p65 in colon tissue decreased in the low-dose, medium-dose and high-dose Yunqing Jiangya decoction group ($P<0.01$), and the expression of IL-1 β mRNA, TNF- α mRNA and IL-18 mRNA in colon tissue decreased in low-dose, medium-dose and high-dose Yunqing Jiangya decoction group ($P<0.05$). Results: Yunqing Jiangya decoction can reduce blood pressure and body weight, regulate glucose and lipid metabolism in obesity-related hypertension rats with phlegm-blood stasis syndrome. its mechanism may be related to reducing circulating LPS levels, mediating NF- κ B pathway, and ameliorating inflammation.

[Keywords] obesity-related hypertension; phlegm-blood stasis syndrome; Yunqing Jiangya decoction; telmisartan; NF- κ B signaling pathway; intestinal Inflammation; rat

高血压是全球最普遍的导致早死亡及残疾的重要公共卫生问题之一^[1],肥胖将增加高血压、糖尿病及心脑血管意外等疾病的患病风险^[2]。超重或肥胖人群患高血压的风险为正常人群的3.21倍^[3],而在中国45岁或以上的高血压患者中,近2/3属于肥胖相关的高血压(obesity-related hypertension, OBH)^[4]。OBH的发生机制涉及多方面,包括交感神经兴奋、肾素-血管紧张素-醛固酮系统(RAAS)激活、脂肪因子过度刺激、胰岛素抵抗、炎症激活等^[5-6]。

核因子 κ B(nuclear factor kappa-B, NF- κ B)通路是经典的炎症信号通路,参与了OBH的发生发展^[7-8]。脂多糖(lipopolysaccharides, LPS)是肠道微生物的代谢产物之一,循环LPS水平与血压呈正相关,在动物实验中常用于诱导血管炎症及内皮功能障碍^[7]。目前现代医学尚未发现能够同时发挥降压及减重双重疗效的药物,而中医药具有多靶点、多途径、多功效的

优势,在疾病的治疗方面具有独特优势。课题组前期研究发现:晕清降压方在临床及动物研究中均显示了对抗代谢性高血压的直接或间接效果^[9-11]。因此,本研究通过建立肥胖相关性高血压痰瘀互结证大鼠模型,对比治疗前后大鼠血压、血糖、血脂水平,观察晕清降压方对大鼠血清LPS水平、结肠组织NF- κ B通路相关蛋白及促炎因子表达的影响,探讨晕清降压方治疗肥胖相关性高血压的作用机制。

1 材料与方法

1.1 实验动物 60只SPF级6周龄雄性SD大鼠,体质量180~220 g,由湖南斯莱克景达实验动物有限公司提供,动物生产许可证号:SCXK(湘)2019-0004,质量合格证编号:430727231101448445。动物饲养于湖南中医药大学动物实验中心SPF级动物房,饲养温度:20~24℃,湿度:50%~70%,大鼠适应性喂养7 d后进行实验。本研究经湖南中医药大学实验动物伦理委

员会批准,批准号:LLBH-202303240003。

1.2 饲料配方 普通饲料由湖南中医药大学动物实验中心提供,配方如下:小麦19%,玉米38%,麸皮14%,豆粕12%,鱼粉8%,鸡蛋3%,其他成分6%。北京科澳协力饲料有限公司提供高脂高盐饲料,配方如下:猪油18.0%,蛋黄粉8.0%,胆固醇2.0%,胆盐0.2%,食盐4.0%,普通饲料67.8%。

1.3 实验药物 晕清降压方由白参10 g,葛根45 g,薄荷10 g,青钱柳30 g,绞股蓝15 g,鬼箭羽10 g,山楂10 g,泽泻10 g,白术10 g,天麻10 g,钩藤10 g,红景天15 g组成,药物来自于湖南中医药大学第二附属医院中药房。设置人标准体质量为60 kg,大鼠/成人换算系数为6.18^[2],晕清降压方中剂量生药剂量为20 g/(kg·d),低、高剂量生药剂量分别为10 g/(kg·d)、40 g/(kg·d),据此制成晕清降压方低、中、高各剂量组药液^[13]。替米沙坦购自北京福元医药股份有限公司,规格:40 mg/片,批号:42303039,将其配制成3.5 mg/(kg·d)的药液。将以上药液放入冰箱冷藏,灌胃前将其加热至37℃。

1.4 主要试剂与仪器 链脲佐菌素(Streptozotocin, STZ)(美国Sigma公司,批号:WXBFO057V);大鼠脂多糖(LPS)试剂盒(批号:AF20230823)、苏木素染液(批号:20230715)、髓分化因子88(MyD88)多克隆抗体(批号:20230715)、NF-κB抑制蛋白-α(IκB-α)(磷酸化Tyr42)多克隆抗体(批号:20230715)、NF-κB-p65(磷酸化Ser276)多克隆抗体(批号:20230715)、NF-κB-p65多克隆抗体(批号:20230715)及IκB-α 抗体(批号:20230715)均购自湖南艾方生物科技有限公司。

脱水机(武汉俊杰电子有限公司,型号:JJ-12J);包埋机(武汉俊杰电子有限公司,型号:JB-P5);组织摊片机(浙江省金华市科迪仪器设备有限公司,型号:KD-P);荧光定量PCR仪器(美国Applied Biosystems公司,型号:ABI7500);涡旋振荡仪(海门其林贝尔仪器制造有限公司,型号:QL-902);离心机(德国Eppendorf公司,型号:Centrifuge5415D);血糖仪(江苏鱼跃医疗设备股份有限公司);无创血压计(北京软隆生物技术有限公司,型号:BP-2010A)。

1.5 造模方法 从60只雄性SD大鼠中随机选择8只大鼠作为空白组,并喂食普通饲料;其余大鼠在禁食12 h后,用1%的STZ溶液按20 mg/kg进行腹腔注射,喂食高脂高盐饲料,并每日使用医用橡皮膏束缚大鼠双后肢,持续悬挂1 h,使其出现烦躁不安等现象,慢性束缚刺激持续5周。在造模第7周末,观察大鼠舌象、毛发颜色,检测血压、体质量、血脂等指标,根据参考文献确认造模是否成功^[14](收缩压≥150 mm Hg(1 mm Hg=0.133 kPa)、体质量增加、血脂代谢异常、肝脏脂肪样变、活动减少、精神萎靡、舌质紫暗、皮毛光亮度减退、皮毛颜色变黄等)。

1.6 分组及给药 将造模成功的40只雄性SD大鼠根据随机数字表法分为模型组、替米沙坦组及晕清降压方低、中、高剂量组,每组8只;替米沙坦组予替米沙坦药液[3.5 mg/(kg·d)]灌胃,晕清降压方低、中、高剂量组分别予以中药药液[10.0、20.0、40.0 g/(kg·d)]灌胃,空白组和模型组大鼠则予蒸馏水[10 mL/(kg·d)]灌胃,每天灌胃1次,灌胃时间4周。

1.7 检测指标及方法

1.7.1 体质量、血压、血脂、血糖 分别于造模完成后0、1、2、

3、4周的每周同一日上午,在安静状态下使用无创血压计对各组大鼠进行连续3次血压测量,取平均值进行记录;同时使用体质量秤对各组大鼠进行体质量称量。完成末次给药后,大鼠禁食12 h后行尾静脉采血,采用血糖测量仪进行空腹血糖测量;禁食12 h后行腹主动脉采血检测血脂总胆固醇(TC)、甘油三酯(TG)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)及低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)。

1.7.2 组织病理学观察 将石蜡包埋的肝脏组织及结肠组织间断均匀切片,切片厚度为4 μm,脱蜡复水后对其进行苏木精-伊红(HE)染色,光镜下观察组织病理学变化。

1.7.3 酶联免疫吸附测定法(ELISA)法检测大鼠血清LPS水平 取各组大鼠血清,按照试剂盒说明书进行制备标准品及待测样品。空白孔、标准品孔、待测样品孔上样,37℃温育1 h;弃去液体,加洗涤液洗涤,孔内加入显色液混匀,在37℃避光条件下孵育15 min,加终止液终止反应。酶标仪450 nm波长上机测定各孔的光密度(OD值)。

1.7.4 免疫印迹法(Western blotting)检测结肠NF-κB信号通路相关蛋白的表达水平 取各组结肠组织20 mg进行研磨,加入200 μg蛋白裂解液后继续研磨,室温孵育2 min,14 000×g离心2 min后提取总蛋白。使用BCA试剂盒检测蛋白浓度,加载蛋白样品20 μg,进行电泳及转膜,以5% TBST脱脂奶粉配置封闭液封闭1 h,一抗4℃过夜,二抗(1:10 000)采用5%脱脂牛奶,37℃孵育1 h后凝胶成像系统中曝光,内参蛋白为β-actin,计算蛋白表达量。

1.7.5 实时荧光定量PCR法检测结肠中白介素-1β(IL-1β) mRNA、IL-18 mRNA、肿瘤坏死因子-α(TNF-α) mRNA表达 取结肠组织30 mg,采用总RNA提取进行样本RNA提取,采用HiScript III 1st Strand cDNA Synthesis Kit (+gDNA wiper)进行cDNA反转录。以β-actin为内参,将获得的cDNA按照RT-PCR试剂盒说明书进行扩增,每个样本设3个复孔,采用2^{-ΔΔCT}法进行数据分析。引物序列见表1。

表1 QT-PCR 引物序列

目的基因	引物序列(5'-3')	扩增产物长度/bp
IL-1β	上游:GGGATGATGACGACCTGCTA	150
	下游:CCACTTGTGGCTTATGTTCTG	
TNF-α	上游:TGAACCTCGGGGTGATCGGT	115
	下游:GGCTACGGGCTTGTCACCTCG	
IL-18	上游:GAATCAGACCACTTTGGCAGA	98
	下游:AACACAGGCGGGTTTCTTTT	
β-actin	上游:AGAGGGAAATCGTGCGTGA	114
	下游:CATTGCCGATAGTGATGACCT	

1.8 统计学方法 采用Graphpad Prism 9.4.1及SPSS 22.0统计软件对数据进行分析处理。数据采用“均数±标准差”(x±s)形式表示。所有数值均为多组间比较,若满足方差齐性则采用单因素方差分析,并选择LSD法进行两两比较;若不满足方差齐性,则采用Welch检验并选择Tamhane's T2法进行两两比较。P<0.05为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 各组大鼠体质量变化 与空白组比较,模型组大鼠体质

量呈持续增长趋势,差异有统计学意义($P<0.05$);药物干预后2周,替米沙坦组及晕清降压方各剂量组的大鼠体重均低于模型组($P<0.05$),且晕清降压方各剂量组大鼠体重均低于替米沙坦组($P<0.05$)。(见表2)

表2 各组大鼠体重质量变化 ($\bar{x}\pm s, g$)

组别	n	0周	1周	2周	3周	4周
空白组	8	432.75±13.61	455.25±13.60	478.88±10.13	502.50±12.27	521.88±9.09
模型组	8	493.50±10.49 ^a	508.38±9.18 ^a	528.75±8.33 ^a	541.88±7.85 ^a	550.75±10.04 ^a
替米沙坦组	8	492.88±13.13 ^a	495.25±9.66 ^b	493.75±9.24 ^b	489.50±10.60 ^b	485.25±8.51 ^b
晕清降压方低剂量组	8	492.00±11.58 ^a	498.13±11.14	484.13±9.03 ^{bc}	475.13±10.91 ^{bc}	472.25±9.27 ^{bc}
晕清降压方中剂量组	8	492.75±10.04 ^a	496.63±11.34 ^b	480.88±6.18 ^{bc}	472.38±8.12 ^{bc}	465.13±6.56 ^{bc}
晕清降压方高剂量组	8	492.13±12.48 ^a	495.25±11.65 ^b	478.50±8.94 ^{bc}	468.88±8.89 ^{bc}	458.88±10.26 ^{bc}

注:与空白组比较,^a $P<0.05$;与模型组比较,^b $P<0.05$;与替米沙坦组比较,^c $P<0.05$ 。

2.2 各组大鼠血压变化 与空白组比较,模型组大鼠收缩压及舒张压一直处于较高水平($P<0.05$);与模型组比较,替米沙坦组及晕清降压方低、中、高剂量组大鼠的收缩压和舒张压呈稳定下降趋势($P<0.05$),且晕清降压方组血压改善情况与剂量呈正相关。(见表3~4)

表3 各组大鼠收缩压变化 ($\bar{x}\pm s, mm\ Hg$)

组别	n	0周	1周	2周	3周	4周
空白组	8	134.25±4.27	131.38±6.91	133.75±5.47	132.75±4.33	133.25±4.89
模型组	8	169.13±6.62 ^a	172.13±5.33 ^a	173.38±6.59 ^a	172.75±7.00 ^a	174.75±4.62 ^a
替米沙坦组	8	168.88±8.43 ^a	157.88±5.06 ^b	146.75±6.30 ^b	136.63±7.41 ^b	134.88±7.26 ^b
晕清降压方低剂量组	8	168.63±5.90 ^a	163.25±7.46 ^b	156.13±5.49 ^{bc}	149.00±5.37 ^{bc}	146.25±5.47 ^{bc}
晕清降压方中剂量组	8	167.75±7.13 ^a	157.00±7.09 ^b	148.38±5.60 ^b	145.13±7.34 ^{bc}	140.38±5.42 ^b
晕清降压方高剂量组	8	169.13±6.51 ^a	153.25±6.27 ^b	145.13±6.29 ^b	143.38±6.30 ^{bc}	135.75±5.47 ^b

注:与空白组比较,^a $P<0.05$;与模型组比较,^b $P<0.05$;与替米沙坦组比较,^c $P<0.05$ 。

表4 各组大鼠舒张压变化 ($\bar{x}\pm s, mm\ Hg$)

组别	n	0周	1周	2周	3周	4周
空白组	8	84.13±3.80	85.13±4.29	83.38±4.98	83.63±4.00	84.13±4.58
模型组	8	114.25±6.50 ^a	116.88±5.19 ^a	113.25±6.50 ^a	114.88±7.88 ^a	113.75±6.92 ^a
替米沙坦组	8	114.88±6.96 ^a	93.75±8.05 ^b	85.25±6.16 ^b	80.75±5.26 ^b	76.13±6.15 ^b
晕清降压方低剂量组	8	115.38±4.00 ^a	108.25±8.92 ^{bc}	98.25±8.12 ^{bc}	94.25±7.83 ^{bc}	92.38±5.18 ^{bc}
晕清降压方中剂量组	8	115.50±7.73 ^a	98.75±8.89 ^b	89.88±5.11 ^b	85.25±3.85 ^b	81.63±4.87 ^b
晕清降压方高剂量组	8	113.75±7.03 ^a	94.63±5.90 ^b	87.88±5.22 ^b	81.25±6.00 ^b	77.50±6.05 ^b

注:与空白组比较,^a $P<0.05$;与模型组比较,^b $P<0.05$,与替米沙坦组比较,^c $P<0.05$ 。

2.3 各组大鼠血脂、空腹血糖变化 与空白组比较,模型组大鼠TC、TG、LDL-C、FBG显著升高($P<0.05$),HDL-C显著降

低($P<0.05$);与模型组相比,替米沙坦及晕清降压方干预降低了大鼠血糖($P<0.05$),且晕清降压方各剂量组血脂及血糖的改善效果与药物浓度呈正相关。(见表5)

表5 各组大鼠血脂、血糖变化 ($\bar{x}\pm s, mmol/L$)

组别	n	TC	TG	HDL-C	LDL-C	FBG
空白组	8	1.69±0.13	0.85±0.10	0.60±0.07	0.31±0.05	5.19±0.62
模型组	8	2.38±0.20 ^a	1.31±0.20 ^a	0.40±0.08 ^a	0.53±0.09 ^a	8.58±0.97 ^a
替米沙坦组	8	2.16±0.15 ^b	1.13±0.19 ^b	0.57±0.07 ^b	0.42±0.07 ^b	5.66±0.89 ^b
晕清降压方低剂量组	8	2.33±0.17	1.29±0.16	0.48±0.06 ^{bc}	0.45±0.08 ^b	6.79±0.84 ^{bc}
晕清降压方中剂量组	8	2.17±0.13 ^b	1.21±0.15	0.55±0.07 ^b	0.43±0.05 ^b	5.94±0.82 ^b
晕清降压方高剂量组	8	2.10±0.14 ^b	1.14±0.20 ^b	0.58±0.08 ^b	0.40±0.06 ^b	5.31±0.82 ^b

注:与空白组比较,^a $P<0.05$;与模型组比较,^b $P<0.05$ 。

2.4 各组大鼠肝脏组织病理染色 空白组大鼠肝细胞排列整齐,未见明显脂肪变性;模型组肝组织切片内可见广泛散在的肝细胞脂肪变性,胞质内可见大小不一的圆形空泡;替米沙坦组及晕清降压方各剂量组肝细胞脂肪样变情况较模型组有不同程度改善,而晕清降压方高剂量组改善情况最佳。(见图1)

2.5 各组大鼠血清LPS水平变化 与空白组比较,模型组大鼠血清LPS显著升高($P<0.01$);与模型组比较,替米沙坦组及晕清降压方中剂量组大鼠血清LPS水平下降,但未见明显差异($P>0.05$),晕清降压方高剂量组大鼠血清LPS水平显著降低($P<0.01$)。(见表6)

表6 各组大鼠血清 LPS 水平 ($\bar{x}\pm s, EU/L$)

组别	n	LPS
空白组	8	424.33±48.97
模型组	8	618.27±22.56 ^a
替米沙坦组	8	586.06±10.51
晕清降压方低剂量组	8	557.25±41.43
晕清降压方中剂量组	8	532.50±63.78
晕清降压方高剂量组	8	386.14±35.51 ^{bc}

注:与空白组比较,^a $P<0.05$;与模型组比较,^b $P<0.05$;与替米沙坦组比较,^c $P<0.05$ 。

2.6 各组大鼠结肠NF- κ B通路蛋白表达比较 与空白组比较,模型组大鼠结肠MyD88、p-I κ B、p-p65、p65蛋白表达显著升高($P<0.05$);与模型组比较,替米沙坦组及晕清降压方低、中、高剂量组大鼠结肠MyD88、p-I κ B、p-p65、p65蛋白表达显著下降($P<0.05$);与替米沙坦组比较,清降压方低、中、高剂量组大鼠结肠MyD88、p-I κ B、p-p65、p65蛋白表达显著下降($P<0.05$)。(见表7)

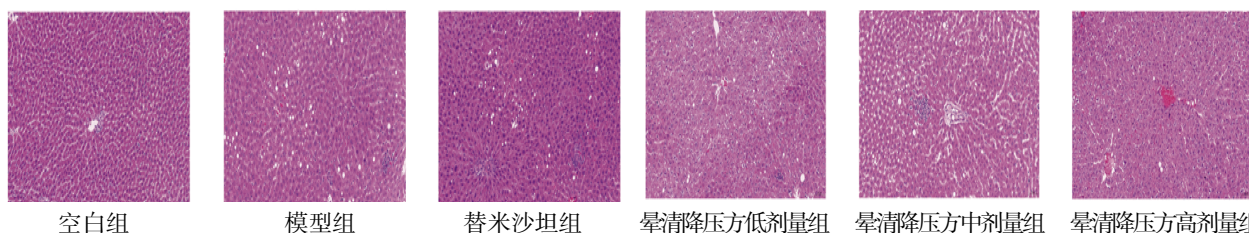
图1 各组大鼠肝脏 HE 染色 ($\times 200$)

表7 各组大鼠结肠NF-κB通路蛋白相对表达量比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	MyD88	p-IκB	p-p65	p65
空白组	8	0.17±0.01	0.32±0.02	0.45±0.02	0.65±0.02
模型组	8	0.81±0.04 ^a	0.77±0.03 ^a	0.74±0.04 ^a	1.02±0.03 ^a
替米沙坦组	8	0.63±0.02 ^b	0.62±0.03 ^b	0.69±0.02 ^b	0.90±0.02 ^b
晕清降压方低剂量组	8	0.59±0.03 ^{bc}	0.54±0.04 ^{bc}	0.62±0.02 ^{bc}	0.87±0.01 ^{bc}
晕清降压方中剂量组	8	0.33±0.02 ^{bc}	0.51±0.05 ^{bc}	0.56±0.02 ^{bc}	0.81±0.05 ^{bc}
晕清降压方高剂量组	8	0.25±0.02 ^{bc}	0.49±0.03 ^{bc}	0.48±0.01 ^{bc}	0.73±0.02 ^{bc}

注:与空白组比较,^a $P<0.05$;与模型组比较,^b $P<0.05$;与替米沙坦组比较,^c $P<0.05$ 。

2.7 各组大鼠结肠组织病理变化 空白组大鼠肠黏膜结构完整,肠黏膜绒毛结构完整,排列整齐;模型组大鼠肠黏膜结构破坏,肠黏膜绒毛结构严重受损,可见炎症细胞;替米沙坦组及晕清降压方低、中、高剂量组肠黏膜结构较完整,较模型组有明显改善。(见图2)

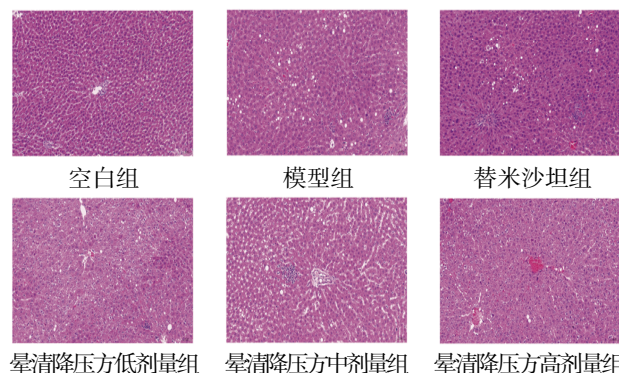


图2 各组大鼠结肠组织病理变化 (HE,×100)

2.8 各组大鼠结肠IL-1β mRNA、TNF-α mRNA、IL-18 mRNA表达比较 与空白组比较,模型组大鼠结肠组织IL-1β mRNA、TNF-α mRNA、IL-18 mRNA表达显著升高($P<0.05$);与模型组比较,替米沙坦组及晕清降压方低、中、高剂量组大鼠结肠组织IL-1β mRNA、TNF-α mRNA、IL-18 mRNA表达均显著降低($P<0.05$);与替米沙坦组比较,晕清降压方中、高剂量组大鼠结肠组织TNF-α mRNA表达降低($P<0.05$),晕清降压方高剂量组大鼠结肠组织IL-18 mRNA表达降低($P<0.05$)。(见表8)

表8 各组大鼠结肠IL-1β mRNA、TNF-α mRNA、IL-18 mRNA相对表达量比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	IL-1β mRNA	TNF-α mRNA	IL-18 mRNA
空白组	8	1.01±0.14	1.00±0.10	1.00±0.09
模型组	8	1.39±0.20 ^a	1.76±0.18 ^a	1.45±0.15 ^a
替米沙坦组	8	1.23±0.07 ^b	1.60±0.12 ^b	1.31±0.16 ^b
晕清降压方低剂量组	8	1.20±0.10 ^b	1.47±0.11 ^b	1.23±0.09 ^b
晕清降压方中剂量组	8	1.15±0.18 ^b	1.31±0.12 ^{bc}	1.19±0.13 ^b
晕清降压方高剂量组	8	1.09±0.17 ^b	1.19±0.20 ^{bc}	1.14±0.16 ^{bc}

注:与空白组比较,^a $P<0.05$;与模型组比较,^b $P<0.05$;与替米沙坦组比较,^c $P<0.05$ 。

3 讨 论

随着生活水平提高,社会饮食习惯也发生改变。高盐、高脂、高糖等精加工食品出现在大众面前,伴随而来的不良饮食习惯导致了各种代谢性疾病的发生。无论肥胖先发于高血

压亦或者继发于高血压,均可称为OBH,属于代谢综合征的一种类型。

OBH属中医学“眩晕”“脂浊”等范畴,多因后天饮食不节、嗜食肥甘,痰浊内生,有碍脾胃运化,影响气机升降,气行不畅,使得痰湿愈加留滞不化,外溢肌肤内存五脏而成肥胖;痰湿壅盛,上扰清阳,或阻滞气机,气血运行不畅,瘀血内生,痰瘀胶结,上犯清窍,故发为眩晕。本课题组认为“脾失健运、痰瘀内生”是其主要病机,并确立了“健脾益气、化痰祛浊”的治法及晕清降压方组成。晕清降压方是刘春华教授以《证治准绳·类方》之补气运脾方为基础,根据多年临床经验加减而成的经验方。本方以角药白参、绞股蓝、青钱柳为君药,白参、绞股蓝两药入脾经,具有补益气血、健运脾气之功;青钱柳清热解毒,生津止渴。葛根、白术、山楂、泽泻、鬼箭羽为臣药。葛根可升举阳气,清阳升而脑窍得养,浊阴降则脑窍轻灵,故眩晕自止;白术为“脾脏补气健脾第一要药”,具有健脾燥湿之功效;山楂健脾消食,化脂祛瘀;泽泻淡渗利水,祛湿浊;鬼箭羽活血化瘀。五药共达辅助君药健脾补气、升清降浊、化痰祛瘀之目的。佐天麻、钩藤以平抑肝阳,兼息风、化痰,红景天补气活血化痰。以善清利头目之薄荷为使,载药上行而通利上窍。

不良的饮食习惯是导致OBH的重要因素,长期高脂饮食可通过改变肠道微生物群结构造成肠道菌群失调^[15]。近年来多项研究表明,肥胖及高血压人群中普遍存在肠道菌群紊乱^[16-17],后者导致肠道微生物的有害代谢产物如LPS水平升高。肠道是微生物定居的重要场所,主要由革兰氏阴性菌构成,LPS是革兰氏阴性菌细胞外膜中具有促炎特性的一种成分^[18-19],因此LPS水平的升高往往代表着肠道微生物的移位^[20]。高血压将导致肠道通透性增高,进而促进了有害代谢产物的移位,并有可能进一步增加肠道通透性,形成恶性循环^[21]。肠道通透性与结肠中紧密连接蛋白(tight junction, TJ)密切相关^[22]。TJ减少将造成肠道通透性增高,肠道完整性受损,肠道微生物及其产物LPS从肠道向外周移位,导致高内毒素血症,增加血脂异常、胰岛素抵抗及各种心血管疾病发生的几率^[23]。LPS经肝脏吸收入血,与Toll样受体4(Toll-like receptors 4, TLR4)结合,通过MyD88激活下游NF-κB信号通路,增加促炎因子IL-1β、IL-6及TNF-α的释放,诱导炎症反应^[24-26]。慢性炎症与肥胖及高血压存在着密切联系^[27]。研究发现超重及肥胖人群中的促炎因子如IL-1β、IL-6、IL-18、TNF-α等水平升高^[28-29],高血压患者IL-6、IL-18、TNF-α水平显著升高^[30],而IL-6及TNF-α可导致胰岛素抵抗^[31],后者为OBH的发生机制之一。IL-1β、TNF-α通过作用于MyD88促进IκB磷酸化,激活NF-κB通路^[32],导致滚雪球式的正反馈调节,更进一步促进了炎症发展。

本研究建立了肥胖相关性高血压痰瘀互结证大鼠模型,评价晕清降压方对肥胖相关性高血压的降压、减重及调节糖脂代谢的疗效,并检测了用药前后大鼠结肠NF-κB通路相关蛋白、血清LPS水平、促炎因子的表达。结果显示:模型组大鼠血清LPS水平升高,结肠MyD88、p-IκB、p65蛋白表达水平显著增加,促炎因子IL-1β、TNF-α、IL-18表达增加;与模型组相比,晕清降压方高剂量组大鼠结肠MyD88、p-IκB蛋白表达显著减少,促炎因子表达减少,OBH大鼠体质量、血压、糖脂代谢的改善程度与晕清降压方浓度呈正相关。

综上,晕清降压方可通过降低血清LPS水平,介导NF- κ B通路抑制促炎因子释放,改善炎症,发挥降压减重、改善糖脂代谢的功效,进而达到治疗OBH的目的。OBH的发生机制复杂,课题组后续将继续探讨其他可能途径。

参考文献

- [1] MILLS K T, BUNDY J D, KELLY T N, et al. Global disparities of hypertension prevalence and control: A systematic analysis of population-based studies from 90 countries[J]. *Circulation*, 2016, 134(6): 441–450.
- [2] PULGARÓN E R. Childhood obesity: A review of increased risk for physical and psychological comorbidities[J]. *Clin Ther*, 2013, 35(1): A18–A32.
- [3] 付姣姣, 瞿述根, 巫文威, 等. 高血压家族史与超重/肥胖对高血压患病交互作用[J]. *中国公共卫生*, 2019, 35(10): 1326–1329.
- [4] ZHANG Y, ZHANG W Q, TANG W W, et al. The prevalence of obesity-related hypertension among middle-aged and older adults in China[J]. *Front Public Health*, 2022, 10: 865870.
- [5] LANDSBERG L, ARONNE L J, BEILIN L J, et al. Obesity-related hypertension: Pathogenesis, cardiovascular risk, and treatment: A position paper of the obesity society and the American society of hypertension [J]. *Obesity (Silver Spring)*, 2013, 21(1): 8–24.
- [6] HALL M E, COHEN J B, ARD J D, et al. Weight-loss strategies for prevention and treatment of hypertension: A scientific statement from the American heart association[J]. *Hypertension*, 2021, 78(5): e38–e50.
- [7] GRYLLS A, SEIDLER K, NEIL J. Link between microbiota and hypertension: Focus on LPS/TLR4 pathway in endothelial dysfunction and vascular inflammation, and therapeutic implication of probiotics[J]. *Biomed Pharmacother*, 2021, 137: 111334.
- [8] KANG Y B, KANG X, YANG H, et al. *Lactobacillus acidophilus* ameliorates obesity in mice through modulation of gut microbiota dysbiosis and intestinal permeability[J]. *Pharmacol Res*, 2022, 175: 106020.
- [9] 蔡雷, 刘春华, 刘芳, 等. 晕清降压方对代谢性高血压部分代谢组分的影响[J]. *湖南中医药大学学报*, 2016, 36(12): 42–44.
- [10] 刘飞. 基于TRPM8通路探讨晕清降压方对肥胖型代谢性高血压大鼠肠系膜动脉平滑肌细胞的效应机制[D]. 长沙: 湖南中医药大学, 2022.
- [11] 韩晗. “晕清降压方”对痰瘀互结型代谢性高血压患者TNF- α 和IL-6水平的影响[D]. 长沙: 湖南中医药大学, 2018.
- [12] 汤家铭, 陈民利. 医学实验动物学[M]. 北京: 中国中医药出版社, 2012.
- [13] 王斌, 宋增杰, 裴磊, 等. 益气化痰阻萎方通过调控PI3K/AKT信号通路缓解慢性萎缩性胃炎的实验研究[J]. *浙江中医药大学学报*, 2023, 47(10): 1123–1128.
- [14] 刘信校. 肥胖相关性高血压痰瘀互结证动物模型的建立与评价[D]. 长沙: 湖南中医药大学, 2021.
- [15] MACHATE D J, FIGUEIREDO P S, MARCELINO G, et al. Fatty acid diets: Regulation of gut microbiota composition and obesity and its related metabolic dysbiosis[J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(11): 4093.
- [16] LI J, ZHAO F Q, WANG Y D, et al. Gut microbiota dysbiosis contributes to the development of hypertension[J]. *Microbiome*, 2017, 5(1): 14.
- [17] SANTACRUZ A, COLLADO M C, GARCÍA-VALDÉS L, et al. Gut microbiota composition is associated with body weight, weight gain and biochemical parameters in pregnant women[J]. *Br J Nutr*, 2010, 104(1): 83–92.
- [18] RAETZ C R H, WHITFIELD C. Lipopolysaccharide endotoxins[J]. *Annu Rev Biochem*, 2002, 71: 635–700.
- [19] MOHAMMAD S, THIEMERMANN C. Role of metabolic endotoxemia in systemic inflammation and potential Interventions[J]. *Front Immunol*, 2020, 11: 594150.
- [20] DI VINCENZO F, DEL GAUDIO A, PETITO V, et al. Gut microbiota, intestinal permeability, and systemic inflammation: A narrative review[J]. *Intern Emerg Med*, 2024, 19(2): 275–293.
- [21] CANI P D, AMAR J, IGLESIAS M A, et al. Metabolic endotoxemia initiates obesity and insulin resistance [J]. *Diabetes*, 2007, 56(7): 1761–1772.
- [22] CHENG B, DU M Y, HE S X, et al. Inhibition of platelet activation suppresses reactive enteric glia and mitigates intestinal barrier dysfunction during sepsis[J]. *Mol Med*, 2022, 28(1): 127.
- [23] SCHOELER M, CAESAR R. Dietary lipids, gut microbiota and lipid metabolism[J]. *Rev Endocr Metab Disord*, 2019, 20(4): 461–472.
- [24] LAI J L, LIU Y H, LIU C, et al. Indirubin inhibits LPS-induced inflammation via TLR4 abrogation mediated by the NF- κ B and MAPK signaling pathways [J]. *Inflammation*, 2017, 40(1): 1–12.
- [25] ZHOU P J, LI Z Y, XU D D, et al. Cepharanthine hydrochloride improves cisplatin chemotherapy and enhances immunity by regulating intestinal microbes in Mice[J]. *Front Cell Infect Microbiol*, 2019, 9: 225.
- [26] ANWAR M A, SHAH M, KIM J, et al. Recent clinical trends in Toll-like receptor targeting therapeutics [J]. *Med Res Rev*, 2019, 39(3): 1053–1090.
- [27] CALCATERRA V, REGALBUTO C, PORRI D, et al. Inflammation in obesity-related complications in children: The protective effect of diet and its (下转第64页)

归方程来拟合因素与响应值之间的函数关系,能够准确表示试验设计与优化结果,且准确度高、可预测性强。本研究通过建立综合评分与关键工艺参数的数学模型,并运用该模型预测最佳工艺为:70%乙醇提取2次,每次1 h。验证试验结果与预测值比较,其误差均小于5%,说明利用Box-Behnken响应面法设计提取工艺稳定可靠,可为工业化生产提供一定的参考。

参考文献

- [1] 蔡曼妮,韩向阳,黄咏东,等.石榴皮多酚对食管癌EC9706细胞的增殖及凋亡影响[J].中成药,2022,44(3):932-936.
- [2] 范高福,胥振国,戴若萌,等.基于网络药理学研究石榴皮抗菌作用机制[J].中国现代应用药学,2022,39(1):48-54.
- [3] 高凡,朱明芳,杨逸璇,等.石榴皮多酚乳膏抑制NLRP3炎性小体抗炎抗痤疮的机制研究[J].湖南中医药大学学报,2021,41(7):1003-1009.
- [4] 鹿欣雨,高敏,李海燕,等.石榴皮提取物通过抑制炎症和氧化应激改善小鼠结肠炎[J].山西医科大学学报,2024,55(1):50-56.
- [5] 白杰,何灵,周鹏,等.石榴皮鞣质对慢性结肠炎小鼠保护作用机制研究[J].中国临床药理学杂志,2021,37(11):1341-1345.
- [6] 冯甜,刘盟,程路峰,等.基于凋亡和自噬途径的石榴皮多酚对人前列腺癌PC3细胞的抑制作用机制研究[J].中国药房,2020,31(16):1978-1983.
- [7] 汪鹏,徐树辉,吴桂冰,等.石榴皮多酚提取物联合二甲双胍对2型糖尿病小鼠模型的治疗作用[J].四川医学,2023,44(7):683-688.
- [8] 白云霞,宋晓玲,渠弼,等.基于HPLC指纹图谱结合灰色关联度与聚类分析对不同产地石榴皮质量评价研究[J].中国药理学杂志,2021,56(1):68-74.
- [9] 刘月程,耿雪,蒋海强,等.基于UPLC-Q-ExactiveOrbitrap MS结合分子网络的炮制前后石榴皮化学成分分析[J].中药材,2023,46(2):338-348.
- [10] 唐荣,魏欣,马江,等.基于CiteSpace科学知识图谱分析石榴皮研究现状及热点[J].中草药,2023,54(12):3949-3961.
- [11] 常占瑛,刘桂花,王梅,等.新疆石榴皮HPLC指纹图谱研

究[J].中国中医药信息杂志,2019,26(4):74-77.

- [12] 江晓泉,杨文宁,森慕黎,等.基于多成分序贯代谢的石榴皮中枢神经系统保护作用物质基础研究[J].质谱学报,2022,43(3):312-325.
- [13] 陈鹏,周本宏.石榴皮鞣质的化学成分及生物活性研究进展[J].中国药师,2019,22(7):1329-1333.
- [14] 范高福,韦梦强,吴丹,等.RP-HPLC法同时检测石榴皮3种多酚类提取物含量研究[J].长春师范大学学报,2023,42(6):133-138.
- [15] 王京龙,史磊,郑丹丹,等.石榴皮半仿生提取工艺的优化[J].中成药,2021,43(6):1404-1409.
- [16] 常占瑛,刘桂花,古丽巴合尔·卡吾力,等.响应面优化石榴皮安石榴苷提取工艺及其抗氧化活性研究[J].食品研究与开发,2020,41(22):100-107.
- [17] 任增超,张妍,李景,等.石榴皮中多酚成分提取工艺的研究[J].现代食品,2021,27(7):100-102.
- [18] 刘迪,李婧,宋晓宇,等.石榴皮安石榴苷提取工艺及抗氧化活性研究[J].食品研究与开发,2017,38(1):14-18.
- [19] 陈振东,施洋,张晓霞,等.层次分析法结合响应面法优化黄芩汤的提取工艺[J].中医药导报,2023,29(1):45-49.
- [20] 王艾琳,谢瑜,王青,等.多指标综合评价结合层次分析法探讨防风不同炮制工艺[J].中医药导报,2023,29(4):30-34.
- [21] 王艾琳,谢瑜,王青,等.多指标综合评价结合层次分析法优化防风炭炮制工艺研究[J].中医药导报,2023,29(5):48-52.
- [22] 付艳,周涛,许清清,等.基于熵权法和层次分析法优选天麻趁鲜切制方法[J].中草药,2024,55(5):1493-1501.
- [23] 陈振东,施洋,樊登峰,等.层次分析法结合响应面法优化新疆一枝蒿的提取工艺[J].药物流行病学杂志,2023,32(4):426-433.
- [24] 孙水根,耿赛龙,羊健,等.基于层次分析法综合评分优选芪灵消积颗粒的提取工艺[J].中国药师,2022,25(10):1740-1745.
- [25] 李喆,刘博男,张超,等.多指标综合评价结合层次分析法优化酸枣仁炒制工艺[J].中成药,2020,42(8):2089-2094.

(收稿日期:2024-08-03 编辑:蒋凯彪)

(上接第29页) potential role as a therapeutic agent [J]. Biomolecules, 2020, 10(9): 1324.

- [28] WANG T T, HE C Q. Pro-inflammatory cytokines: The link between obesity and osteoarthritis[J]. Cytokine Growth Factor Rev, 2018, 44: 38-50.
- [29] AGUIRRE-GARCÍA M M, AMEDEI A, HERNÁNDEZ-RUIZ P, et al. Cytokine and microbiota profiles in obesity-related hypertension patients[J]. Front Cell Infect Microbiol, 2023, 13: 1325261.
- [30] HE B, JI D P, ZHANG B. Hypertension and its correlation with autonomic nervous system dysfunction, heart rate

variability and chronic inflammation[J]. Blood Press, 2024, 33(1): 2405156.

- [31] KOJTA I, CHACIŃSKA M, BŁACHNIO-ZABIELSKA A. Obesity, bioactive lipids, and adipose tissue inflammation in insulin resistance[J]. Nutrients, 2020, 12(5): 1305.
- [32] JOHNSON Z I, SCHOEPLIN Z R, CHOI H, et al. Disc in flames: Roles of TNF- α and IL-1 β in intervertebral disc degeneration[J]. Eur Cell Mater, 2015, 30: 104-116; discussion 116-117.

(收稿日期:2024-10-16 编辑:李海洋)