

吴茱萸次碱通过调控表皮生长因子受体活化抑制高血压心肌肥大

严秋江¹, 范秀晶¹, 杨妍², 杨水源², 梁金成², 曾泗宇^{2*}

(1. 广州医科大学附属第三医院心胸外科内二区, 广东 广州 510000; 2. 广东省第二人民医院药学部, 广东 广州 510317)



曾泗宇, 医学博士、副主任药师, 广东省第二人民医院药学部副主任, 学术兼职包括广东省药理学学会 TDM 专业委员会委员, 广东省药学会用药评价与临床科研专业委员会委员, 广东省药理学学会经済学专业委员会委员, 广东省药学会医院药学专业青年委员会常委;《中南医学科学杂志》《生命的化学》等国内期刊审稿专家。研究方向为心血管重构的机制研究及药物研发, 主持和参与国家和省部级课题 8 项, 发表学术论文 30 余篇, 其中被 SCI 收录论文 10 余篇。

摘要: 探讨抑制表皮生长因子受体(EGFR)活化是否调控中药单体药吴茱萸次碱的抗高血压心肌肥大效应及其机理。以腹主动脉缩窄(AAC)介导的高血压大鼠为研究对象,观察吴茱萸次碱对高血压心肌肥大、心肌炎症反应以及左心室中 EGFR 和细胞外调节蛋白激酶 1/2(ERK1/2)活性的影响。结果显示,吴茱萸次碱能显著抑制 AAC 介导的高血压心肌肥大、心肌炎症反应以及 EGFR、ERK1/2 活化。并且,选择性 EGFR 抑制剂 AG1478 能改善 AAC 介导的高血压心肌肥大和心肌炎症反应,抑制 ERK1/2 活化。结果提示,吴茱萸次碱通过抑制 EGFR 活化改善 AAC 介导的高血压大鼠心肌肥大,其机制与其抑制 ERK1/2 活化和心肌炎症反应有关。

关键词: 吴茱萸次碱; 高血压心肌肥大; 表皮生长因子受体; 炎症反应; 细胞外调节蛋白激酶 1/2
中图分类号:R544.1 文献标识码:A

Rutaecarpine against hypertensive cardiac hypertrophy via inhibiting epidermal growth factor receptor activation

YAN Qiujiang¹, FAN Xiujing¹, YANG Yan², YANG Shuiyuan², LIANG Jincheng², ZENG Siyu^{2*}

(1. Cardiology Zone II of Department of Cardiothoracic Surgery, the Third Affiliated Hospital of Guangzhou Medical University, Guangzhou 510000, Guangdong, China; 2. Department of Pharmacy, Guangdong Second Provincial General Hospital, Guangzhou 510000, Guangdong, China)

Abstract: To explore whether inhibiting epidermal growth factor receptor (EGFR) regulates the beneficial role of rutaecarpine in hypertensive cardiac hypertrophy. Abdominal artery constriction (AAC)-induced hypertensive rats were adopted to explore the effects of rutaecarpine on hypertensive cardiac hypertrophy, cardiac inflammation, and the activity of EGFR and extracellular signal regulated kinase (ERK1/2). Results indicated that rutaecarpine significantly attenuated hypertensive cardiac hypertrophy and cardiac inflammation, as well as the activity of EGFR and ERK1/2 in the left ventricle of AAC-induced hypertensive rats. Moreover, treating with selective EGFR inhibitor AG1478 alleviated hypertensive cardiac hypertrophy and cardiac inflammation, and it caused a marked reduction in ERK1/2 activity in the left ventricle of

收稿日期:2020-05-28;修回日期:2020-06-07

基金项目:广东省科技计划项目(2016A020226005);广东省自然科学基金项目(2015A030310076).

* 通信作者, E-mail:cosmo81@qq.com.

AAC-induced hypertensive rats. In summary, rutaecarpine improves hypertensive cardiac hypertrophy through inhibition of EGFR activation via inhibiting ERK1/2 activity and cardiac inflammation.

Key words: rutaecarpine; hypertensive cardiac hypertrophy; epidermal growth factor receptor; cardiac inflammation; extracellular signal regulated kinase

高血压是常见的心血管疾病。心肌肥大是高血压发展为心力衰竭的基本机制,其发生发展与神经内分泌系统(如交感神经系统、肾素-血管紧张素-醛固酮系统)及表皮生长因子受体功能失调有关。尽管血管紧张素转化酶抑制剂、血管紧张素 II 受体拮抗剂、钙拮抗剂等已用于心力衰竭的治疗,但心衰患者病死率仍居高不下。因此,抑制高血压心肌肥大,对阻止或延缓高血压发展为心力衰竭具有重要的临床价值。

广东是我国传统中药吴茱萸(包括芸香科植物吴茱萸和疏毛吴茱萸)的重要产地。文献报道,吴茱萸次碱作为吴茱萸的活性单体,可剂量依赖性地降低肾性高血压大鼠血压,其机制与其刺激降钙素基因相关肽的释放有关^[1]。研究显示,吴茱萸次碱可抑制异丙肾上腺素介导的左心室心肌肥大^[2]。课题组前期研究显示,吴茱萸次碱可抑制腹主动脉缩窄(abdominal artery constriction, AAC)介导的高血压大鼠的心肌肥大,其机理涉及 NADPH 氧化酶 Nox4-活性氧-解整合素金属蛋白酶 17 通路^[3]。上述研究表明中药单体药吴茱萸次碱具有抗高血压心肌肥大效应,但其机理尚未完全阐述清楚。表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, EGFR)活化与高血压心肌肥大的发生发展密切相关,但尚未揭示其与吴茱萸次碱的抗高血压心肌肥大效应的关系。本研究拟以 AAC 介导的高血压大鼠为研究对象,阐明吴茱萸次碱对高血压引起的心肌肥大的抑制作用及其相关机制。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

吴茱萸次碱和选择性 EGFR 抑制剂 AG1478 分别购自成都曼斯特生物科技有限公司和 D&C Chemicals。RNA 提取试剂盒、逆转录试剂盒和实时定量聚合酶链反应试剂盒购自宝生物工程(大连)有限公司,基因引物购于上海生物工程技术有限公司。p-EGFR 抗体和 EGFR 抗体购于 Abcam 公司,细胞外调节蛋白激酶 1/2 (extracellular signal regulated kinase, ERK1/2)的磷酸化和非磷酸化抗体购于 Cell Signaling Technology 公司。白介素 1 β (in-

terleukin 1 β , IL-1 β)、白介素 6 (interleukin 6, IL-6) 和肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor α , TNF- α) 的酶联免疫吸附实验 (Enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA) 试剂盒购于武汉华美生物工程有限公司。

1.2 AAC 介导的高血压大鼠模型的构建

SPF 级健康雄性 Sprague-Dawley (SD) 大鼠 75 只(体重 180 ~ 220 g),购于中山大学动物实验中心。参照课题组前期方法^[4]完成了 AAC 介导的高血压大鼠模型的构建,假手术组 (Sham) 组大鼠除未造成腹主动脉狭窄外,其他与手术组操作相同。术后三天连续腹腔注射庆大霉素预防感染;术后 1 天内有 10% 大鼠死亡,补做手术以确保每组动物数量为 10 只。吴茱萸次碱处理分组如下:假手术组, AAC 模型组, AAC+吴茱萸次碱低剂量 (20 mg/kg) 组 [AAC+Rut (L)], AAC+吴茱萸次碱高剂量 (40 mg/kg) 组 [AAC+Rut (H)], 术后第 2 天开始灌胃给药,连续给药 4 周。EGFR 选择性抑制剂 AG1478 分组如下:假手术组, AAC 模型组, AAC + AG1478 (20mg/kg) 组,术后第 2 天开始腹腔注射给药,连续给药 4 周。

1.3 心肌肥大相关参数的检测

用异氟烷 (2%) 吸入麻醉大鼠并剃除胸部毛,然后在心脏乳头肌水平用 M 型超声心动图成像检测(探头频率为 8.5 MHz)左室前壁厚度 (left ventricular anterior wall thickness, LVAW)、左室后壁厚度 (left ventricular posterior wall thickness, LVPW)、左室舒张末期内径 (Left ventricular internal diameter during diastole, LVIDd)、左室收缩末期内径 (Left ventricular internal diameter during systole, LVIDs) 等心脏参数。

行超声心动图检查后,用 3% 戊巴比妥钠 (45 mg/kg, 临用前现配) 腹腔注射麻醉大鼠,然后将连通压力传感器的导管(充满肝素)插入至左心室;连接的 BL-420S 生物信号记录仪连续记录 5 min 血压。取一段平稳的血压曲线,通过生理分析软件记录主动脉收缩压 (Aosp)、主动脉舒张压 (Aodp)、左室内压最大上升和下降速率 (maximal ascending and declining rate of left ventricular pressure, dp/dt_{max}) 和心率 (heart rate, HR)。随后腹腔静脉注射氯化钾注

射液(2M)以确保大鼠心脏停留于舒张期,迅速打开胸腔,取出心脏;用预冷的 PBS 溶液充分灌注并冲洗出心腔残血,然后用电子天平称心脏重量(heart weight, HW)和左心室重量(left ventricular weight, LVW),分别计算心重体重比(HW/BW)、左心室重指数(LVW/BW)。

1.4 实时定量聚合酶链反应

剪取 15 ~ 20 mg 大鼠心肌组织放入 EP 管中,用手术剪将组织剪成小块,加入 1 mL Trizol 后用组织匀浆机将组织匀碎,4 °C, 12 000 g 离心 10 min,转移上清至一新 EP 管中,然后按照试剂盒操作步骤提取总 RNA 以及进行逆转录和实时定量聚合酶链反应。脑利尿肽(brain natriuretic peptide, BNP)、β-肌球蛋白重链(myosin heavy chain β, β-MHC)、IL-1β、IL-6 和 TNF-α, 及内参 GADPH 等基因引物见表 1。

表 1 实时定量聚合酶链反应的引物序列

基因	引物序列
脑利尿肽	上游引物:5'-ATGCAGAAGCTGCTGGAGCTGATA-3' 下游引物:5'-TTGTAGGGCCTTGCTCTTTGAGA-3'
β-肌球蛋白重链	上游引物:5'-GACAACGCCTATCAGTACATG-3' 下游引物:5'-TGGCAGCAATAACAGCAAAA-3'
白介素 1β	上游引物:5'-TCCTCTGTGACTCGTGGAT-3' 下游引物:5'-TCAGACAGCAGGAGCATT-3'
白介素 6	上游引物:5'-TCCTACCCCACTTCCAATGCTC-3' 下游引物:5'-TTG GATGCTCTTGGTCTTAGCC-3'
肿瘤坏死因子 α	上游引物:5'-TGGCGTGTTCATCCGT TCTC-3' 下游引物:5'-CCCAGAGCCACAATTCCCTT-3'
GADPH	上游引物:5'-ATCAAGAAGGTGCTGAAG CA-3' 下游引物:5'-AAGGTGGAAGAATGGGAGTTG-3'

1.5 蛋白质免疫印迹法

剪取 15 ~ 20 mg 大鼠心肌组织放入 EP 管中,用手术剪将组织剪成小块,加入蛋白裂解液和苯甲基磺酰氟(PMSF),然后提取组织蛋白并检测 EGFR 和 ERK1/2 的磷酸化蛋白水平和总蛋白水平,具体方法见课题组前期研究方法^[4]。

1.6 酶联免疫吸附实验

ELISA 检测大鼠心肌组织中促炎症因子 IL-1β、IL-6 和 TNF-α,具体方法见课题组前期研究方法^[5]。

1.7 统计学分析

数据均以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,用 SPSS 23.0 统计软件进行分析。两样本统计学分析采用 *t* 检验,多样本统计学分析采用单因素方差分析。利用 Graphpad prism7.0 软件作统计图。当 *P* < 0.05 时,认为差异具有统计学意义。

2 结 果

2.1 吴茱萸次碱对 AAC 介导的高血压大鼠血压的影响

术前各组大鼠收缩压无明显差异;同假手术组比较,术后 4 周 AAC 组大鼠主动脉收缩压和主动脉舒张压显著增加(表 2)。上述结果提示,AAC 介导的高血压大鼠模型构建成功。吴茱萸次碱干预 4 周后,AAC 介导的高血压大鼠主动脉收缩压、主动脉舒张压显著降低。上述研究证实了吴茱萸次碱对 AAC 介导的高血压大鼠的降压效应。

2.2 吴茱萸次碱对 AAC 介导的高血压大鼠心肌肥大的影响

同 Sham 组比较,术后 4 周,高血压大鼠左室前壁厚度(LVAW)、左室后壁厚度(LVPD)、HW/BW、LVW/BW 以及左心室 BNP 和 β-MHC 表达水平显著增加,提示 AAC 介导的高血压大鼠发生了明显的心室肥厚。同 AAC 组比较,吴茱萸次碱低剂量组和高剂量组均可显著降低左室前壁厚度(LVAW)、左室后壁厚度(LVPD)、HW/BW、LVW/BW 以及左心室 BNP 和 β-MHC 表达水平(表 3)。因此,吴茱萸次碱能显著削弱 AAC 介导的高血压大鼠心肌肥大。

2.3 吴茱萸次碱对 AAC 介导的高血压大鼠左室中 EGFR 和 ERK1/2 活化的影响

同 Sham 组比较,高血压模型组大鼠左心室 EGFR 和 ERK1/2 磷酸化水平显著增加;给予低剂量和高剂量的吴茱萸次碱干预 4 周,均能显著降低 AAC 介导的高血压大鼠左心室 EGFR 和 ERK1/2 磷酸化水平(图 1)。

2.4 吴茱萸次碱对 AAC 介导的高血压大鼠左心室炎症反应的影响

同 Sham 组比较,AAC 介导的高血压大鼠左心室中促炎症因子 IL-1β、IL-6 和 TNF-α 的 mRNA 水平和蛋白水平显著增加;同高血压模型组比较,低剂量和高剂量的吴茱萸次碱处理 4 周后,AAC 介导的高血压大鼠左心室中促炎症因子 IL-1β、IL-6 和 TNF-α 表达显著下降(图 2)。因此,吴茱萸次碱能显著改善高血压大鼠心肌炎症反应。

2.5 选择性 EGFR 抑制剂 AG1478 削弱 AAC 介导的高血压大鼠左心室肥大

术前各组大鼠收缩压无明显差异,术后 4 周 AAC 大鼠主动脉收缩压和主动脉舒张压均显著增加,而选择性 EGFR 抑制剂 AG1478 干预 4 周并未明显改变 AAC 大鼠血压,但能降低 AAC 介导的高

血压大鼠左室前壁厚度 (LVAW)、左室后壁厚度 (LVPD)、HW/BW、LVW/BW 以及左心室 BNP 和 β -MHC mRNA 的表达水平 (表 4)。上述结果表明, EGFR 抑制通过不依赖血压调控的方式改善高血压介导的心肌肥大。

2.6 AG1478 抑制 AAC 介导的高血压大鼠左室炎症反应和 ERK1/2 活化

同 Sham 组比较, AAC 介导的高血压大鼠左心

室中促炎症因子 IL-1 β 、IL-6 和 TNF- α 的 mRNA 水平和蛋白水平以及 ERK1/2 活性显著增加;同 AAC 组比较, AG1478 处理 4 周能显著降低 AAC 介导的高血压大鼠左心室中上述参数 (图 3 和图 4)。因此, 抑制 EGFR 活化能显著削弱 AAC 介导的高血压大鼠心肌炎症反应和 ERK1/2 活化。

表 2 吴茱萸次碱对 AAC 介导的高血压大鼠血流动力学参数的影响

参数	假手术组	AAC 模型组	AAC+Rut(L)	AAC+Rut(H)
AoSP (mmHg)	122 \pm 8.6	182 \pm 8.7 ^a	136 \pm 8.5 ^b	130 \pm 7.2 ^b
AoDP (mmHg)	82 \pm 6.4	110 \pm 8.2 ^a	92 \pm 7.9 ^b	86 \pm 7.5 ^b
Heart rate (beats/min)	355 \pm 21.4	384 \pm 24.8	354 \pm 24.9	366 \pm 27.2
dp/dt _{max} (mmHg/s)	4.95 \pm 0.23	3.53 \pm 0.19 ^a	4.39 \pm 0.15 ^b	4.54 \pm 0.17 ^b
dp/dt _{min} (mmHg/s)	-4.83 \pm 0.27	-3.35 \pm 0.19 ^a	-4.42 \pm 0.21 ^b	-4.61 \pm 0.27 ^b

与假手术组比较, ^a P <0.05; 与 AAC 模型组比较, ^b P <0.05 (n =10)

表 3 吴茱萸次碱对 AAC 介导的高血压大鼠心肌肥大的影响

参数	n	假手术组	AAC 模型组	AAC+Rut(L)	AAC+Rut(H)
LVAWd (mm)	10	1.61 \pm 0.10	2.25 \pm 0.19 ^a	1.77 \pm 0.08 ^b	1.65 \pm 0.11 ^b
LVAWs (mm)	10	2.47 \pm 0.20	3.57 \pm 0.37 ^a	2.84 \pm 0.22 ^b	2.63 \pm 0.19 ^b
LVPWd (mm)	10	1.65 \pm 0.13	2.41 \pm 0.25 ^a	2.03 \pm 0.09 ^b	1.89 \pm 0.09 ^b
LVPWs (mm)	10	2.62 \pm 0.13	3.78 \pm 0.31 ^a	3.07 \pm 0.20 ^b	2.81 \pm 0.17 ^b
HW/BW	6	1.89 \pm 0.11	2.87 \pm 0.20 ^a	2.25 \pm 0.17 ^b	2.13 \pm 0.15 ^b
LVW/BW	6	1.64 \pm 0.10	2.69 \pm 0.19 ^a	2.07 \pm 0.13 ^b	1.87 \pm 0.14 ^b
BNP mRNA	3	1.0 \pm 0	2.75 \pm 0.19 ^a	1.74 \pm 0.15 ^b	1.39 \pm 0.09 ^b
β -MHC mRNA	3	1.0 \pm 0	2.47 \pm 0.21 ^a	1.69 \pm 0.09 ^b	1.42 \pm 0.07 ^b

与假手术组比较, ^a P <0.05; 与 AAC 模型组比较, ^b P <0.05

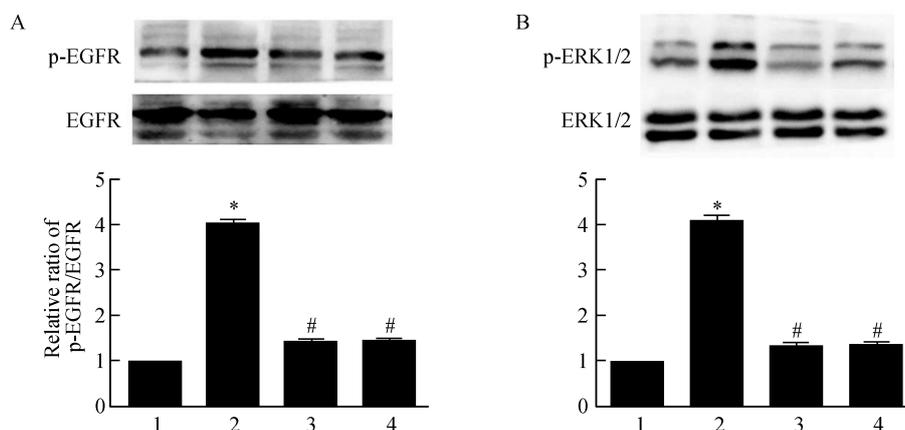


图 1 吴茱萸次碱抑制 AAC 介导的高血压大鼠左室 EGFR 和 ERK1/2 活化

1:假手术组;2:AAC 模型组;3:AAC+Rut(L);4:AAC+Rut. A:EGFR 磷酸化水平;B:ERK1/2 磷酸化水平

与假手术组比较, ^{*} P <0.05; 与 AAC 模型组比较, [#] P <0.05 (n =3)

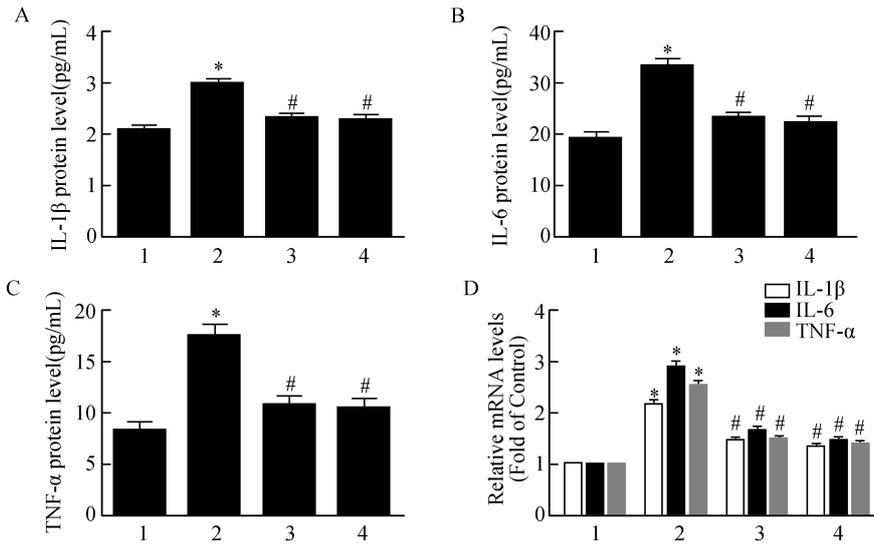


图 2 吴茱萸次碱削弱 AAC 介导的高血压大鼠心肌炎症反应

1: 假手术组; 2: AAC 模型组; 3: AAC+Rut(L); 4: AAC+Rut(H). A-C: 左心室促炎症因子 IL-1β(A)、IL-6(B) 和 TNF-α(C) 蛋白水平 (n=6); D: 左心室促炎症因子 IL-1β、IL-6 和 TNF-α 的 mRNA 水平 (n=3) 与假手术组比较, * P<0.05; 与 AAC 模型组比较, # P<0.05

表 4 选择性 EGFR 抑制剂对 AAC 介导的高血压大鼠血流动力学参数和心肌肥大的影响

参数	n	假手术组	AAC 模型组	AAC+AG1478
AoSP (mmHg)	10	121±9.0	180±10.3 ^a	172±8.9 ^b
AoDP (mmHg)	10	84±7.2	112±7.9 ^a	104±7.5 ^b
Heart rate (beats/min)	10	350±19.4	386±22.3	360±22.9
dp/dt _{max} (mmHg/s)	10	4.91±0.20	3.55±0.17 ^a	4.41±0.17 ^b
dp/dt _{min} (mmHg/s)	10	-4.87±0.22	-3.41±0.19 ^a	-4.47±0.25 ^b
LVAWd (mm)	10	1.64±0.13	2.35±0.21 ^a	1.73±0.08 ^b
LVAWs (mm)	10	2.49±0.19	3.53±0.30 ^a	2.89±0.20 ^b
LVPWd (mm)	10	1.67±0.11	2.47±0.27 ^a	2.13±0.12 ^b
LVPWs (mm)	10	2.63±0.13	3.81±0.27 ^a	3.11±0.20 ^b
HW/BW	6	1.87±0.13	2.93±0.22 ^a	2.31±0.17 ^b
LVW/BW	6	1.67±0.10	2.65±0.17 ^a	2.12±0.11 ^b
BNP mRNA	3	1.0±0	2.83±0.21 ^a	1.72±0.12 ^b
β-MHC mRNA	3	1.0±0	2.52±0.17 ^a	1.69±0.09 ^b

与假手术组比较, ^aP<0.05; 与 AAC 模型组比较, ^bP<0.05

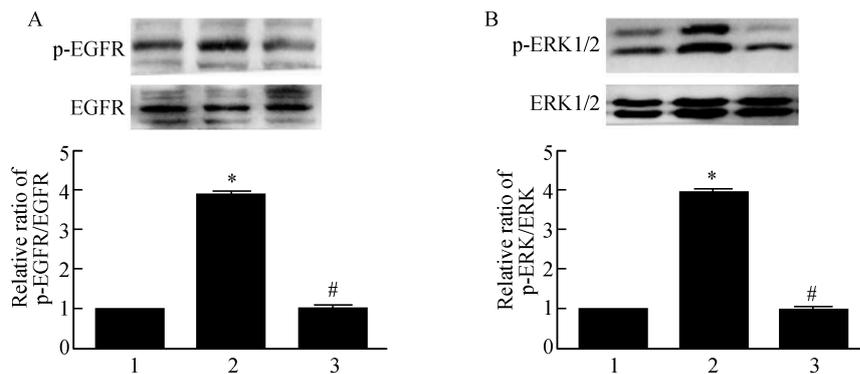


图 3 选择性 EGFR 抑制剂 AG1478 降低 AAC 介导的高血压大鼠左心室 ERK1/2 磷酸化水平

1: 假手术组; 2: AAC 模型组; 3: AAC+AG1478. A: EGFR 磷酸化水平; B: ERK1/2 磷酸化水平.

与假手术组比较, * P<0.05; 与 AAC 模型组比较, # P<0.05 (n=3)

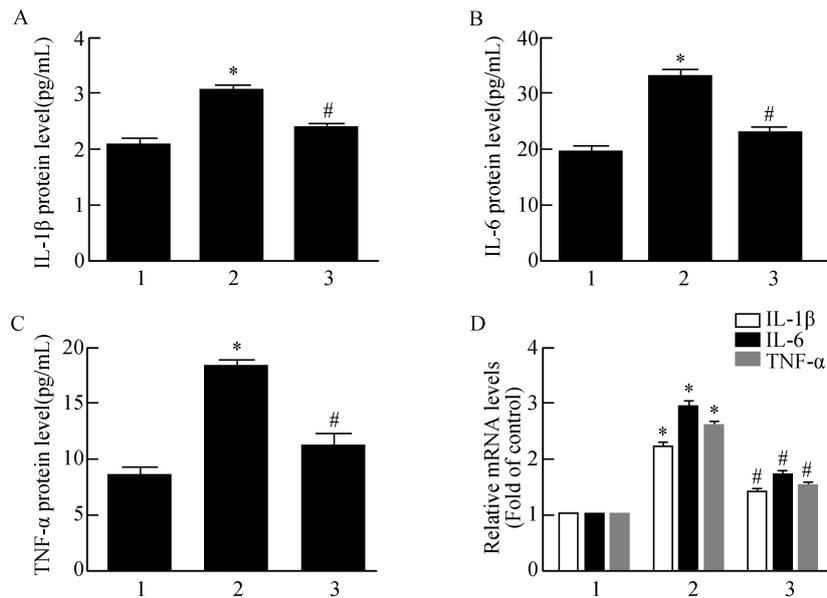


图4 选择性 EGFR 抑制剂 AG1478 抑制 AAC 介导的高血压大鼠心肌炎症反应

1:假手术组;2:AAC 模型组;3:AAC+AG1478. A-C:左心室促炎症因子 IL-1 β (A)、IL-6(B)和 TNF- α (C)蛋白水平($n=6$); D:左心室促炎症因子 IL-1 β 、IL-6 和 TNF- α 的 mRNA 水平($n=3$).与假手术组比较,* $P<0.05$;与 AAC 模型组比较,# $P<0.05$

3 讨 论

本研究发现,(1)吴茱萸次碱能显著改善 AAC 介导的高血压大鼠心肌肥大和心肌炎症反应;(2)吴茱萸次碱能抑制 AAC 介导的高血压大鼠左心室 EGFR 和 ERK1/2 的活化;(3)抑制 EGFR 能改善 AAC 介导的高血压大鼠心肌肥大和心肌炎症反应,抑制 ERK1/2 活化。

EGFR 与高血压心肌肥大的发生发展密切相关。靶向敲除平滑肌细胞中 EGFR 并不能改变小鼠收缩压,但能降低外周血管阻力、舒张压和平均动脉压^[6]。我们的研究结果显示,抑制 EGFR 未能降低 AAC 介导的高血压大鼠收缩压和舒张压。这说明 EGFR 活化在生理条件下,能调控外周血管阻力,但在病理条件下并不能改变血压。课题组前期在原代培养的乳鼠心肌细胞中研究发现,EGFR 活化可促进血管紧张素 II 介导的心肌肥大^[7]。体内研究发现,EGFR 抑制剂能显著改善血管紧张素 I 介导的高血压心肌肥大^[8]。此外,心脏局部注射慢病毒包被的 EGFR shRNA 能显著削弱自发性高血压大鼠心肌肥大^[9]。体内研究证据与本研究结果一致:选择性 EGFR 抑制剂 AG1478 显著削弱了 AAC 介导的高血压大鼠左心室肥大。上述研究表明,EGFR 是诱导高血压心肌肥大的重要机制,且其调控不依赖血压改变。

ERK1/2 在心肌肥大的发生发展中起重要作用。研究表明 MEK1 通过直接诱导 L-苏氨酸-谷氨酸-酪氨酸模序磷酸化而激活 ERK1/2。MEK1 转基因小鼠模型发现,生理条件下 MEK1 通过 ERK1/2 活化诱导代偿性心肌肥大^[10],提示一定程度的 ERK1/2 活化对维持心肌生理功能的必要性。在胸主动脉缩窄介导的高血压小鼠模型中,ERK2 基因敲除可显著削弱高血压心肌肥大^[11],但 Nicole HP 等^[12]报道截然不同的结果:ERK1/2 基因抑制并不能抑制胸主动脉缩窄介导的高血压心肌肥大。这种差异可能是由于基因敲除方法不同造成的。研究表明,通过干扰 ERK 二聚体形成而抑制细胞核内 ERK1/2 信号通路,从而削弱高血压心肌肥大^[13]。因此,ERK1/2 长期以来被认为是促高血压心肌肥大的重要蛋白。本研究结果显示,吴茱萸次碱能显著改善 AAC 介导的高血压大鼠心肌肥大及左心室 EGFR、ERK1/2 的活化;且抑制 EGFR 能抑制 AAC 介导的高血压大鼠心肌肥大及 ERK1/2 活化。故吴茱萸次碱通过抑制 EGFR-ERK1/2 通路削弱 AAC 介导的高血压心肌肥大。

流行病学研究显示,高血压患者循环中 C 反应蛋白(c-reactive protein,CRP)、IL-1 β 、IL-6 和 TNF- α 等炎症因子表达水平明显升高,且循环中 CRP、IL-6 表达与血压水平呈正相关,说明高血压是一个炎症性疾病^[14]。在血管紧张素 II 和高盐诱导的高血压小鼠中,IL-6 体内敲除可抑制心室功能紊乱、心肌炎

症和纤维化^[15]。IL-6 注射可诱导大鼠左心室肥大, 增加室壁硬度和心肌间质胶原容积分数^[16]。Lai NC 等则报道截然不同的结果: IL-6 敲除并不影响胸主动脉缩窄介导的高血压小鼠心室重构^[17]。上述结果的差异可能是由于高血压模型和基因敲除的方法不同所导致。TNF- α 敲除可抑制血管紧张素 II 和胸主动脉狭窄介导的高血压小鼠心肌肥大和炎症反应, 改善心室功能^[18-19]。系统敲除 IL-1 β 显著改善了主动脉狭窄介导的高血压心肌肥大^[20]。上述研究表明, 以 IL-1 β 、IL-6 和 TNF- α 为关键因子的炎症反应是高血压心肌肥大发生发展的重要机制。本研究结果显示, 吴茱萸次碱和选择性 EGFR 抑制剂 AG1478 均能显著改善 AAC 介导的高血压大鼠心肌肥大和心肌炎症反应。

综上所述, 中药单体药吴茱萸次碱能通过抑制 EGFR 活化显著改善 AAC 介导的高血压大鼠心肌肥大, 其机制可能与其抑制 ERK1/2 活化和心肌炎症反应有关。这将为吴茱萸次碱作为高血压心肌肥大的治疗药物提供了进一步的理论依据和实验基础。

参考文献:

- [1] QIN XP, ZENG SY, LI D, et al. Calcitonin gene-related peptide-mediated depressor effect and inhibiting vascular hypertrophy of rutaecarpine in renovascular hypertensive rats [J]. *J Cardiovasc Pharmacol*, 2007, 50(6):654-9.
- [2] LI JZ, PENG J, XIAO L, et al. Reversal of isoprenaline-induced cardiac remodeling by rutaecarpine via stimulation of calcitonin gene-related peptide production [J]. *Can J Physiol Pharmacol*, 2010, 88(10):949-59.
- [3] ZENG SY, YANG L, LU HQ, et al. Rutaecarpine prevents hypertensive cardiac hypertrophy involving the inhibition of Nox4-ROS-ADAM17 pathway [J]. *J Cell Mol Med*, 2019, 23(6):4196-207.
- [4] 曾泗宇, 周长华, 兰树敏, 等. NADPH 氧化酶 Nox4 调控非诺贝特的抗高血压心肌肥大效应 [J]. *中国动脉硬化杂志*, 2016, 24(6):557-60.
- [5] CHEN X, ZENG S, ZOU J, et al. Rapamycin attenuated cardiac hypertrophy induced by isoproterenol and maintained energy homeostasis via inhibiting NF- κ B activation [J]. *Mediators Inflamm*, 2014, 2014:868753.
- [6] SCHREIER B, RABE S, SCHNEIDER B, et al. Loss of epidermal growth factor receptor in vascular smooth muscle cells and cardiomyocytes causes arterial hypotension and cardiac hypertrophy [J]. *Hypertension*, 2013, 61(2):333-40.
- [7] ZENG S, CHEN X, CHEN SR, et al. Upregulation of Nox4 promotes angiotensin II-Induced epidermal growth factor receptor activation and subsequent cardiac hypertrophy by increasing ADAM17 expression [J]. *Can J Cardiol*, 2013, 29(10):1310-9.
- [8] PENG K, TIAN X, QIAN Y, et al. Novel EGFR inhibitors attenuate cardiac hypertrophy induced by angiotensin II [J]. *J Cell Mol Med*, 2016, 20(3):482-94.
- [9] BREA MS, DIAZ RG, ESCUDERO DS, et al. Silencing of epidermal growth factor receptor reduces Na⁺/H⁺ exchanger 1 activity and hypertensive cardiac hypertrophy [J]. *Biochem Pharmacol*, 2019, 170:113667.
- [10] BUENO OF, DE WINDT LJ, TYMITZ KM, et al. The MEK1-ERK1/2 signaling pathway promotes compensated cardiac hypertrophy in transgenic mice [J]. *EMBO J*, 2000, 19(23):6341-50.
- [11] ULM S, LIU W, ZI M, et al. Targeted deletion of ERK2 in cardiomyocytes attenuates hypertrophic response but provokes pathological stress induced cardiac dysfunction [J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2014, 72(100):104-16.
- [12] PURCELL NH, WILKINS BJ, YORK A, et al. Genetic inhibition of cardiac ERK1/2 promotes stress-induced apoptosis and heart failure but has no effect on hypertrophy in vivo [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2007, 104:14074-9.
- [13] TOMASOVIC A, BRAND T, SCHANBACHER C, et al. Interference with ERK-dimerization at the nucleocytoplasmic interface targets pathological ERK1/2 signaling without cardiotoxic side-effects [J]. *Nat Commun*, 2020, 11(1):1733.
- [14] CROWLEY SD. The cooperative roles of inflammation and oxidative stress in the pathogenesis of hypertension [J]. *Antioxid Redox Signal*, 2014, 20(1):102-20.
- [15] GONZALEZ GE, RHALEB NE, D'AMBROSIO MA, et al. Deletion of interleukin-6 prevents cardiac inflammation, fibrosis and dysfunction without affecting blood pressure in angiotensin-high salt-salt hypertension [J]. *J Hypertens*, 2015, 33(1):144-52.
- [16] MELENDEZ GC, MCLARTY JL, LEVICK SP, et al. Interleukin 6 mediates myocardial fibrosis, concentric hypertrophy, and diastolic dysfunction in rats [J]. *Hypertension*, 2010, 56(2):225-31.
- [17] LAI NC, GAO MH, TANG E, et al. Pressure overload-induced cardiac remodeling and dysfunction in the absence of interleukin 6 in mice [J]. *Lab Invest*, 2012, 92:1518-26.
- [18] SUN M, CHEN M, DAWOOD F, et al. Tumor necrosis factor- α mediates cardiac remodeling and ventricular dysfunction after pressure overload state [J]. *Circulation*, 2007, 115(11):1398-407.
- [19] SRIRAMULA S, HAQUE M, MAJID DS, et al. Involvement of tumor necrosis factor- α in angiotensin II-mediated effects on salt appetite, hypertension, and cardiac hypertrophy [J]. *Hypertension*, 2008, 51(5):1345-51.
- [20] HONSHO S, NISHIKAWA S, AMANO K, et al. Pressure-mediated hypertrophy and mechanical stretch induces IL-1 release and subsequent IGF-1 generation to maintain compensative hypertrophy by affecting Akt and JNK pathways [J]. *Circ Res*, 2009, 105:1149-58.

(本文编辑:秦旭平)