

刺蒺藜通过瘦素介导的 JAK2/STAT3 通路对肥胖性高血压大鼠肾脏的影响

孟宪卿¹, 姜月华¹, 吴 赛², 杨传华^{1*}

1. 山东中医药大学附属医院, 山东 济南 250014

2. 山东中医药大学第一临床学院, 山东 济南 250011

摘要: **目的** 研究刺蒺藜超微粉通过瘦素介导的 JAK2/STAT3 通路对肥胖性高血压大鼠肾脏影响的机制。**方法** 由高脂饮食诱导肥胖性高血压大鼠模型, 随机分为替米沙坦组 (8 只, 3.4 mg/kg), 刺蒺藜组 (8 只, 17.2 mg/kg), 模型组 (8 只, 生理盐水 2 mL/d), 另设普通饲料喂养的 10 只大鼠为对照组 (生理盐水 2 mL/d), 共给药 12 周, 定期记录检测大鼠血压、体质量, 实验结束时检测大鼠血脂水平, ELISA 法检测大鼠血清血管紧张素 II (Ang II)、 β_2 微球蛋白 (β_2 -MG) 和瘦素 (Lep) 的水平, HE 染色观察大鼠肾脏及脂肪组织的形态学变化, 免疫组化法检测各组大鼠肾脏 AT1 和 LepR 水平; qRT-PCR 法和 Western blotting 法检测大鼠肾脏 JAK、STAT 的 mRNA 和蛋白水平的改变。**结果** 经药物干预 12 周后, 各组肥胖性高血压大鼠血清循环 AngII、 β_2 -MG 和 Lep 水平显著下降 ($P < 0.05$), 免疫组化显示, 与模型组比较, 刺蒺藜组肾脏 LepR1 蛋白分布密度显著增加 ($P < 0.05$)。RT-PCR 及 Western blotting 显示, 与模型组比较, 刺蒺藜组肾脏的 JAK、STAT 的 mRNA 和蛋白表达降低 ($P < 0.05$)。**结论** 刺蒺藜通过调控瘦素介导的 JAK2/STAT3 通路, 改善瘦素抵抗, 治疗肥胖性高血压。

关键词: 刺蒺藜; 肥胖性高血压; 瘦素; JAK2/STAT3 通路; 血管紧张素 II

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2017)03-0539-07

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2017.03.019

Pharmacodynamic and pharmacological effect of *Tribulus terrestris* on kidney of rats with obesity-related hypertension through leptin mediated JAK2/STAT3 pathway

MENG Xian-qing¹, JIANG Yue-hua¹, WU Sai², YANG Chuan-hua¹

1. Affiliated Hospital of Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250014, China

2. Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250011, China

Abstract: **Objective** To observe the effect and explore the mechanism of *Tribulus terrestris* (TT) on kidney of rats with obesity-related hypertension through leptin mediated JAK2/STAT3 pathway. **Methods** To establish the model of rats with obesity-related hypertension by high-fat diet. The model rats were randomly divided into three groups: TT group (eight rats, 17.2 g/kg), Telmisartan group (eight rats, 3.4 mg/kg), and model group (eight rats, normal saline 2 mL/d). Rats were ig given drugs or saline for 12 weeks. The body weights and blood pressure were measured regularly. At the end of the study, the rats were sacrificed and the levels of serum lipid and angiotensinII (AngII) and β_2 -microglobulin (β_2 -MG) were determined by ELISA. Morphological changes of adipose tissue and kidney were observed by HE staining. The density of LepR in kidney was observed by immunohistochemical staining. Levels of mRNA and protein expression of JAK2 and STAT3 in kidney were determined by quantitative real-time PCR (qRT-PCR) and Western blotting. **Results** Both body weights and blood pressure of TT group were decreased ($P < 0.05$). The levels of serum TG, TC, and LDL-C of TT group were decreased significantly ($P < 0.05$). Kidney morphology of TT group was improved obviously and the size of lipocyte decreased. The levels of serum Ang II, Lep, and β_2 -MG of TT group decreased significantly ($P < 0.05$). The density of LepR in kidney of TT group decreased significantly ($P < 0.05$). The mRNA and protein expression of JAK2 and STAT3 in kidney of TT group was decreased significantly ($P < 0.05$). **Conclusion** TT improves the leptin resistance of the obesity-related hypertensive rats mainly through JAK2/STAT3 pathway.

Key words: obesity-related hypertension; *Tribulus terrestris* L.; leptin; JAK2/STAT3 signaling pathway; angiotensin II

收稿日期: 2016-08-17

基金项目: 泰山学者岗位建设资金资助 (#2012-55); 山东省科技发展计划项目 (2014GSF119011); 山东省自然科学基金自主 (ZR2014HL096)

作者简介: 孟宪卿 (1981—), 女, 山东德州人, 主治医师, 博士, 从事中医心系疾病研究。

*通信作者 杨传华 (1962—), 男, 二级教授, 主任医师, 泰山学者。Tel: (0531)68616956 E-mail: yang_chuanhua@hotmail.com

肥胖性高血压,即肥胖相关性高血压(obesity-related hypertension)是指由肥胖的各种因素导致的高血压。现代研究显示:身体脂肪含量与血压呈正相关,体质量指数(BMI)每增加 3 kg/m^2 ,4年内发生高血压的风险增加 $50\%\sim 57\%$ ^[1]。肥胖的本质是摄食/能耗失衡,脂肪组织分泌的瘦素(leptin)在肥胖性高血压中发挥重要的作用。生理情况下,瘦素具有抑制摄食、增加能量消耗、抑制脂肪合成、促进脂肪分解的作用;肥胖时,血清瘦素水平升高,机体对瘦素的摄食等代谢作用产生了抵抗,而对瘦素引起交感活性增强等作用仍然保留,即选择性瘦素抵抗(leptin resistance),这是瘦素升高血压的重要机制之一^[2-3]。因此,消除选择性瘦素抵抗,是治疗肥胖性高血压的重要治疗靶点之一。目前现代医药治疗作用有限,中医药治疗有广泛的开发前景。刺蒺藜 *Tribul terrestris* L. 为蒺藜科蒺藜属植物,其果实为传统中药,具有散风、明目、下气行血、补肾益精之功效^[4],现代药理研究表明刺蒺藜具有降压作用^[5-6]。因此,本研究以肾脏为靶器官, JAK2/STAT3 为靶点通路,研究刺蒺藜治疗肥胖性高血压的作用及其机制,为肥胖性高血压的中医药治疗及对刺蒺藜这味“古药”的应用,提供新的思路和坚实的实验数据支撑。

1 材料

1.1 药品与试剂

刺蒺藜超微粉(由山东中医药大学附属医院中药实验室制备);替米沙坦(德国勃林格殷格药业有限公司生产,批号 H20090416);SYBR Green I Master PCR 试剂盒(10559520),购于美国罗氏公司;PCR 扩增试剂盒、反转录试剂盒,购于大连 Takara 生物工程有限公司;一抗稀释液、过硫酸胺(AP)、蛋白上样缓冲液、蛋白裂解液(RIPA)、ECL 化学发光试剂盒(P0018),购于上海碧云天生物技术有限公司;PVDF 膜,购于美国 Millipore 公司;血管紧张素 II (Ang II) ELISA 检测试剂盒(A25364-09)、瘦素(Lep) ELISA 检测试剂盒(L36247-09)、 β_2 微球蛋白(β_2 -MG)检测试剂盒(B52136-09),上海博蕴生物科技有限公司;免疫组化染色试剂盒(SP-0023),购于北京博奥森公司。

1.2 动物与饲料

SPF 级 8 周龄雄性 Wistar 大鼠 70 只,体质量(180 ± 15)g,济宁鲁抗集团提供,动物合格证 scxk(鲁)2013-0001;动物房光照时间 12 h,温度在 $20\sim$

$24\text{ }^{\circ}\text{C}$,湿度 60%。

基础饲料配方:玉米 30%、小麦 31%、豆粕 20.8%、麦麸 10%、鱼粉 6%、酵母粉 1%、骨粉 1%、盐 0.02%、多维生素 0.02%、鱼肝油 0.01%。高脂高营养饲料配方:普通饲料 60%、猪油 12%、蔗糖 5%、奶粉 5%、花生粉 5%、鸡蛋 10%、麻油 1%、食盐 2%,自购原材料,由济宁鲁抗集团加工制作^[7]。

1.3 仪器

自动脱水机(TP1020)、石蜡包埋机(EG1150H)、轮旋式切片机(LEICA RM2016),德国 LEICA 公司;全自动病理组织切片仪(PHY-III),常州中威电子仪器有限公司;电热恒温干燥箱(GZX-DH, 400-S-II),上海跃进医疗仪器厂;ST8 型低速自动平衡离心机,美国 Thermo Scientific 公司;5424R 型高速冷冻离心机,德国 Eppendorf 公司;微量移液器,美国 Thermo Scientific 公司;BFM-YT 6B 贝利微粉机,济南贝利粉技术工程有限公司。

2 方法

2.1 动物模型的制备、分组与给药

Wistar 大鼠适应性喂养 1 周后,完全随机单因子设计法分为对照组($n=10$)和高脂饲料组($n=60$)。对照组喂以常规基础饲料,高脂饲料组给予高脂饮食 25 周,从中选取体质量、血压均超过对照组平均值 25%的大鼠作为肥胖性高血压大鼠模型,高脂饲料组大鼠共 24 只纳入实验。其余淘汰大鼠过量麻醉处死。成模大鼠随机分为 3 组:模型组、刺蒺藜组和替米沙坦组,每组 8 只大鼠。自 26 周开始各组大鼠 ig 给予相应药物干预 12 周。干预方法:根据课题组前期预试验^[8],刺蒺藜超微粉的最佳剂量为生药 17.2 g/kg ,每日给药 1 次,因本研究重在观察刺蒺藜治疗肥胖性高血压的机制,故本研究仅设置最佳剂量组,以替米沙坦作为阳性对照药物。替米沙坦组大鼠,给予溶解于生理盐水中的替米沙坦。对照组与模型组给予等剂量生理盐水,每日 1 次。3 组成模大鼠,给药期间继续给予高脂饮食;对照组大鼠给予普通饲料。

药物剂量选择参考文献报道^[9],按体质量折算给药等效剂量。大鼠的替米沙坦临床等效剂量为 3.4 mg/kg 。2 种药物均溶于适量的生理盐水。对照组给以相同容积的生理盐水,为每天 2 mL/只 。

2.2 标本收集与指标测定

观察各组大鼠一般状况,监测血压、体质量。

实验末, 3%戊巴比妥钠 (30 mg/kg) ip 麻醉大鼠, 下腔静脉取血, 分离血清, 进行血脂测定 (血脂测定委托山东中医药大学附属医院检验科检测), 应用酶联免疫法 (ELISA) 检测大鼠血清中 Lep、Ang II 及 β_2 -MG 水平。取左肾组织、脂肪组织, 保存于 4%多聚甲醛液中, 用于常规病理观察, 右肾放入 -70°C 冰箱保存进行实时荧光定量 PCR (qRT-PCR) 和 Western blotting 检测。

2.3 肾组织主动脉病理检查

实验末, 将肾组织及脂肪组织, 于 4%多聚甲醛固定, 石蜡包埋切片, 切片厚度 4 μm , 苏木素-伊红 (HE) 染色, 脱水, 透明, 中性树胶封片, 普通光学显微镜下观察肾脏组织的形态学改变。

2.4 免疫组织化学法观察 Lep 受体 (LepR) 的表达

左肾石蜡包埋, 切片厚度 4 μm , 常规脱蜡, 3%的 H_2O_2 室温 10 min 消除内源性过氧化物酶, 5% BSA 室温封闭 30 min, 滴加兔抗大鼠 AT1R 和一抗 (1:200 倍稀释), 湿盒内 4°C 孵育过夜, PBS 洗 5 min $\times$ 5 次, 滴加羊抗兔 IgG 二抗, 室温孵育 60 min, PBS 洗 5 min $\times$ 5 次, 滴加 SABC, 室温 30 min, PBS 漂洗, DAB 显色, 镜下控制显色时间, 苏木素复染, 脱水透明中性树胶封片。PBS 代替一抗作为阴性对照, 以棕黄色颗粒沉积者判定为阳性。

2.5 qRT-PCR 检测

建立 20 μL PCR 反应体系: 2 $\times$ Master Mix 10.0 μL 、水 6.0 μL 、引物 2.0 μL 、cDNA 2.0 μL 。qRT-PCR 反应条件: 95°C 预变性 5 s; 95°C 变性 10 s, 60°C 退火 10 s, 72°C 延伸 10 s, 扩增 45 个循环; 95°C 变性 5 s, 65°C 延伸 60 s, 97°C 酶瞬间灭活; 40°C 冷却 10 s。数据采用 $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$ 法分析, 通过 $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$ 直接计算出模型组与对照组间对应基因的表达差异。引物序列见表 1。

2.6 Western blotting 检测

右肾以 PIPA 裂解液提取组织蛋白。12% SDS-PAGE 电泳, 样品上样量 50 μg , 电转印至 PVDF 膜, 5%脱脂奶的 PBS-T 室温封闭 1 h。弃封闭液, 不洗, 加入适当稀释度的相应一抗 (兔抗大鼠 AT1、兔抗大鼠 TGF- β 1, 均 1:300 稀释), 以 β -actin 为内参, 4°C 孵育过夜。次日 1 $\times$ PBS-T 洗涤 5 min $\times$ 5 次, 加入山羊抗兔 IgG 二抗 (1:20 000) 室温孵育 1 h, 1 $\times$ PBS-T 洗涤 5 min $\times$ 5 次。ECL 显色, Fluor Chem Q 下曝光, 条带进行半定量分析。

表 1 引物序列

Table 1 Sequences of primer

名称	引物序列	扩增产物大小/bp
AT1	正向: 5'-CAGCCGTCATCTACCGAAAC-3' 反向: 5'-GAACACGAAGCCCAGAATGT-3'	134
Jak2	正向: 5'-GTATGCTCCCGAATCCTTGA-3' 反向: 5'-TCTGCCCTTGTTTATCATTGC-3'	158
Stat3	正向: 5'-CGCCACTCTGGTGTTCATA-3' 反向: 5'-CAGGAAGCTTGATTCTTCG-3'	115
LepR	正向: 5'-GCCTCGCTCTACTCCACAGA-3' 反向: 5'-AACCTCAGCATTCAGGGCTA-3'	122
β -actin	正向: 5'-CGTTGACATCCGTAAAGA-3' 反向: 5'-AGCCACCAATCCACACAG-3'	150

2.7 统计学方法

采用 SPSS 19.0 软件进行统计分析, 计量结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示。两组比较采用 t 检验; 多组比较采用单因素方差分析 (One-way ANOVA) 以及 LSD 或 S-N-K 法, 如果方差不齐, 则用 Games-Howell 分析。

3 结果

3.1 刺蒺藜干预后大鼠血压及体质量变化

3.1.1 各组大鼠体质量的变化 每 2 周记录体质量及血压数据, 对照组大鼠体质量在达到 650~700 g 后维持稳定、不再增长。与模型组比较, 替米沙坦组及刺蒺藜组大鼠, 体质量均有所下降, 尤其在用药前 2 周时下降显著 ($P < 0.05$); 第 12 周末, 与替米沙坦组比较, 刺蒺藜组大鼠体质量下降更为显著 ($P < 0.05$)。结果见表 2。

3.1.2 各组大鼠血压变化 给药干预后各组大鼠血压比较见表 3。与对照组相比, 模型组收缩压与舒张压一直维持在较高的水平 ($P < 0.05$); 替米沙坦组 0~4 周血压轻度下降, 4~6 周时血压显著下

表 2 各组大鼠体质量变化 ($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Changes of body weight of rats in each group ($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量/ (g $\cdot$ kg $^{-1}$)	动物/ 只	体质量/g	
			给药前	给药 12 周
对照	—	10	675.28 $\pm$ 21.89	688.68 $\pm$ 21.24
模型	—	8	843.51 $\pm$ 62.59*	925.85 $\pm$ 45.71*
刺蒺藜	17.2	8	844.56 $\pm$ 50.61*	781.43 $\pm$ 34.32 Δ^{Δ}
替米沙坦	0.003 4	8	842.63 $\pm$ 58.25*	825.66 $\pm$ 44.58* Δ

与对照组比较: * $P < 0.05$; 与模型组比较: $\Delta P < 0.05$; 与替米沙坦组比较: $\Delta^{\Delta} P < 0.05$, 下同

* $P < 0.05$ vs control group; $\Delta P < 0.05$ vs model group; $\Delta^{\Delta} P < 0.05$ vs Telmisartan group, same as below

降, 6~8 周平稳下降, 第 10 周时血压逐渐稳定, 从第 4 周开始, 收缩压与舒张压较模型组相比有统计学意义 ($P<0.05$); 用药后, 刺蒺藜组大鼠血压下降幅度较小, 呈现持续缓慢降低态势, 第 6 周开始, 与模型组大鼠比较, 收缩压、舒张压下降有统计学意义 ($P<0.05$); 刺蒺藜组与替米沙坦组大鼠比较血压下降幅度小, 实验结束时, 2 组血压有差异 ($P<0.05$)。替米沙坦组与对照组比较, 大鼠收

缩压、舒张压均无统计学差异 ($P>0.05$)。

3.2 刺蒺藜干预后血脂水平变化

实验末, 模型组大鼠血清 TC、TG、LDL 等水平明显升高, HDL 水平无明显差异; 药物干预后, 与模型组大鼠比较, 刺蒺藜组与替米沙坦组大鼠血清 TC、TG、LDL 均有不同程度降低 ($P<0.05$), 且刺蒺藜组比替米沙坦组大鼠血脂降低更明显 ($P<0.05$)。见表 4。

表 3 各组大鼠收缩压和舒张压变化 ($\bar{x} \pm s$)

Table 3 Changes of blood pressure of rats in each group ($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	动物/只	收缩压/mmHg		舒张压/mmHg	
			给药前	给药 12 周	给药前	给药 12 周
对照	—	10	135.13±12.69	136.85±11.96	100.86±9.62	104.47±12.69
模型	—	8	171.82±11.42*	180.75±12.55*	133.47±12.54*	133.64±11.26*
刺蒺藜	17.2	8	173.56±15.43*	158.64±11.45* [△]	133.56±12.34*	116.75±12.71* [△]
替米沙坦	0.003 4	8	170.59±12.18*	143.28±12.45 [△]	134.54±13.28*	104.39±11.64 [△]

1 mmHg=0.133 kPa

1 mmHg = 0.133 kPa

表 4 各组大鼠血脂变化 ($\bar{x} \pm s$)

Table 4 Changes of blood pressure of rats in each group ($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	动物/只	TC/(mmol·L ⁻¹)	TG/(mmol·L ⁻¹)	HDL-C/(mmol·L ⁻¹)	LDL-C/(mmol·L ⁻¹)
对照	—	10	1.51±0.23	0.88±0.19	0.51±0.08	0.26±0.02
模型	—	8	2.12±0.20*	1.21±0.23*	0.42±0.05	0.48±0.05*
刺蒺藜	17.2	8	1.76±0.19* [△]	0.98±0.15* [△]	0.48±0.07	0.37±0.04* [△]
替米沙坦	0.003 4	8	1.89±0.28* [△]	1.13±0.17* [△]	0.44±0.05	0.42±0.04* [△]

3.3 干预后大鼠血清学指标变化

实验末, 与对照组比较, 模型组大鼠血清 Ang II、Lep 及 β_2 -MG 均升高 ($P<0.05$); 与模型组比较, 刺蒺藜组与替米沙坦组大鼠血清 Ang II、Lep 及 β_2 -MG 均降低 ($P<0.05$); 替米沙坦组大鼠 AngII 降低更显著 ($P<0.05$)。见表 5。

3.4 干预后大鼠肾脏及血管形态学变化

3.4.1 大鼠肾脏病理变化 模型组大鼠肾脏部分

肾小球高度扩张, 肾小球毛细血管扩张, 球囊间隙增宽, 个别肾小球变性坏死萎缩, 部分肾小管扩张, 动脉血管内皮增生、玻璃样变和空泡变性, 管壁内蛋白分泌 (蛋白管型)。与模型组大鼠比较, 替米沙坦组与刺蒺藜组大鼠肾脏肾小球变性明显减轻, 血管内皮增生减轻。见图 1。

3.4.2 大鼠脂肪病理变化 与对照组相比, 模型组大鼠脂肪细胞明显变大, 脂肪组织间隙可见有炎性细胞

表 5 各组大鼠血清 Ang II、Lep 及 β_2 -MG 变化 ($\bar{x} \pm s$)

Table 5 Changes of Ang II, Lep, and β_2 -MG in serum of rats in each group ($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	动物/只	Ang II/(ng·L ⁻¹)	Lep/(ng·mL ⁻¹)	β_2 -MG/(ng·L ⁻¹)
对照	—	10	154.22±17.13	2.74±0.28	23.68±1.59
模型	—	8	192.44±15.27*	4.36±0.31*	30.43±2.94*
刺蒺藜	17.2	8	163.44±12.12* [△]	3.12±0.35* [△]	25.73±2.16* [△]
替米沙坦	0.003 4	8	158.48±15.36* [△]	2.98±0.34 [△]	24.57±1.65* [△]

浸润, 刺蒺藜组与替米沙坦组大鼠脂肪细胞与模型组比较脂肪细胞变小, 且刺蒺藜组大鼠更为显著。见图 2。

3.5 免疫组织化学法测定肾脏 AT1、LepR 蛋白分布

对照组大鼠肾脏 AT1 蛋白分布集中在血管周围, 与对照组大鼠相比, 模型组大鼠 AT1 蛋白表达显著增加 ($P<0.05$); 刺蒺藜组与替米沙坦组大鼠肾脏 AT1 蛋白表达较模型组下降 ($P<0.05$)。大鼠

LepR 蛋白分布在肾组织细胞中; 与对照组大鼠相比, 模型组大鼠 LepR 蛋白表达增加显著 ($P<0.05$); 刺蒺藜组与替米沙坦组大鼠肾脏 LepR 蛋白表达较模型组下降 ($P<0.05$)。见表 6。

3.6 大鼠肾脏 AT1、JAK2、STAT3 和 LepR 的 mRNA 的表达

与对照组比较, 模型组大鼠肾脏 AT1、JAK2、

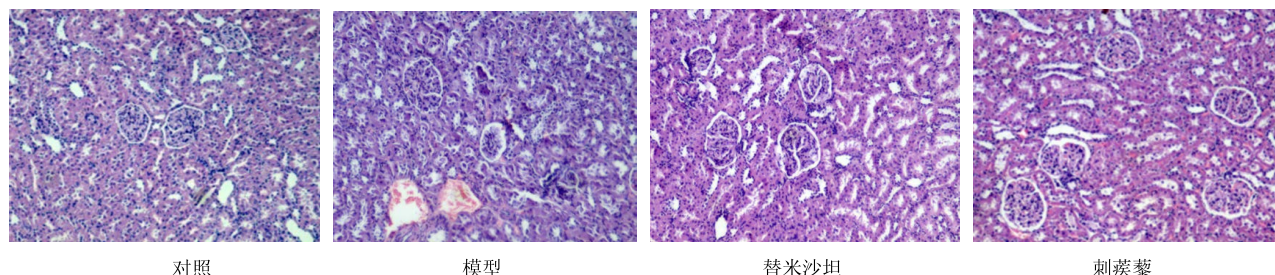


图 1 各组大鼠肾脏 HE 染色结果

Fig. 1 HE staining results of kidney of rats in each group

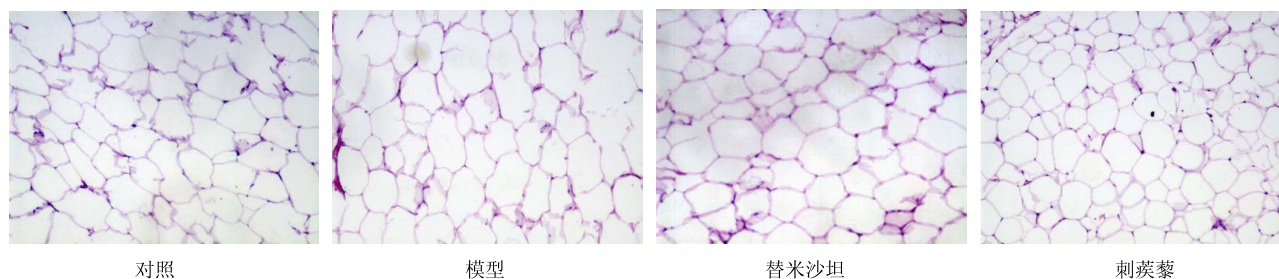


图 2 各组大鼠脂肪 HE 染色结果

Fig. 2 HE staining results of lipid of rats in each group

表 6 各组大鼠肾脏 AT1、LepR 蛋白定量 ($\bar{x} \pm s$)

Table 6 AT1 and LepR protein in kidney of rats in each group ($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	动物/只	AT1	LepR
对照	—	10	0.21±0.01	0.22±0.04
模型	—	8	0.36±0.04*	0.34±0.01*
刺蒺藜	17.2	8	0.31±0.02* [△]	0.28±0.03* [△]
替米沙坦	0.003 4	8	0.25±0.02* [△]	0.3±0.02 [△]

STAT3、LepR 的 mRNA 表达增加 ($P<0.05$), 与模型组比较, 刺蒺藜组 AT1、JAK2、STAT3 及 LepR 的 mRNA 表达减少 ($P<0.05$)。见表 7。

3.7 大鼠肾脏 JAK2、SATAT3 的蛋白表达

与对照组比较, 模型组大鼠肾脏 JAK2 和蛋白表达增加, 与模型组比较, 刺蒺藜组大鼠肾脏 JAK2 和蛋白表达降低, 见图 3。

表 7 各组大鼠肾脏 AT1、LepR、JAK2 及 STAT3 基因表达 ($\bar{x} \pm s$)

Table 7 Gene expression of AT1, LepR, JAK2, and STAT3 in kidney of rats in each group ($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	动物/只	AT1	LepR	JAK2	STAT3
对照	—	10	1.01±0.24	1.42±0.35	1.35±0.53	1.45±0.74
模型	—	8	3.03±0.31*	4.11±0.56*	6.87±0.44*	3.01±0.85*
刺蒺藜	17.2	8	1.56±0.35* [△]	2.41±0.28* [△]	3.39±0.45* [△]	1.66±0.23* [△]
替米沙坦	0.003 4	8	1.23±0.10* [△]	3.01±0.34* [△]	5.68±0.59* [△]	2.23±0.38* [△]

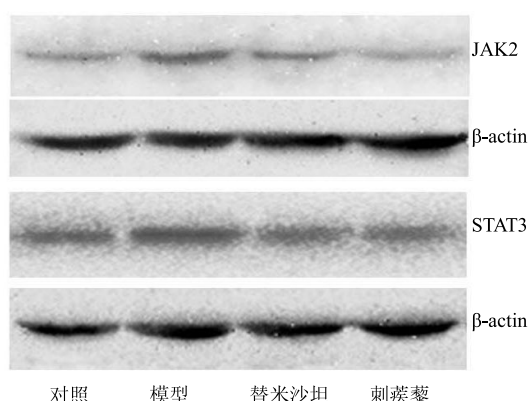


图 3 各组大鼠肾脏 JAK2 和 STAT3 蛋白表达

Fig. 3 Protein expression of JAK2 and STAT3 in kidney of rats in each group

4 讨论

瘦素在肥胖性高血压发病机制中起重要作用，瘦素是由肥胖基因编码的蛋白质，主要由白色脂肪细胞分泌和产生^[10]，瘦素有调节能量代谢，糖代谢，促进生长发育，参与免疫/炎症反应等多种生物学效应^[11]。瘦素合成的多少主要取决于脂肪细胞体积的大小，当脂肪细胞体积减小时，瘦素的合成和分泌亦减少^[12]。LepR 分布广泛，主要于脑、心、肾脏等组织中表达，瘦素与瘦素受体结合后引发细胞内信号转导机制非常复杂，其中 JAK/STAT 通路是主要途径，在瘦素调整能量代谢方面不可或缺^[13]。

肥胖患者体内的瘦素水平升高，下丘脑中瘦素的代谢效应（降低食欲，减轻体质量）受到抵抗，而其对于心血管、肾脏等外周组织器官的效应得以保留，即选择性瘦素抵抗，这是肥胖引起高血压的重要机制之一^[14]。研究显示，瘦素水平与 AngII 具有显著相关性。邱宁岩等^[15]检测了 91 名高血压患者及 67 名血压正常者的血清瘦素水平、肾素活性（PRA）及 AngII，发现高血压组患者血清瘦素与 BMI、PRA、AngII 和收缩压呈正相关。说明瘦素可以通过激活 RAAS 系统升高血压。

因为肥胖性高血压复杂的病理机制及现代药物治疗的单一性，针对本病的治疗现代医学并无“指南”可循。而中医中药可以发挥多靶点多途径的治疗优势，并借鉴前人研究成果，积累了丰富的经验，如：叶伊琳等^[16]用肉桂通过下调脂肪组织的 Toll 样受体表达来治疗肥胖性高血压大鼠。

杨传华教授根据近三十年的临床、科研经验，针对肥胖性高血压的治疗，提出“痰湿壅盛为

外在表现，肝失疏泄为加剧因素，肾虚失调为内在原因”的病机本质^[17]，选取刺蒺藜作为治疗本病的要药，临床上取得良好效果。刺蒺藜是一味传统中药，可以平肝补肾，祛风明目。《本草纲目》曰：蒺藜味苦性温，其性宣通，利肝肾。深入挖掘本草学文献，还可以发现刺蒺藜具有轻身减肥、化湿祛痰、活血化瘀等作用。现代药理研究也表明，刺蒺藜具有降压、利尿，抗氧化强身健体等功效。

实验末，与对照组比较，模型组大鼠体态肥胖，血脂水平升高，血压升高，大鼠腹部脂肪细胞增大，血清 Lep、AngII 水平明显升高（ $P < 0.05$ ）；肾脏 LepR、AT1、JAK2 和 STAT3 的 mRNA 和蛋白表达明显上调；说明高脂饲料饮食诱导的肥胖模型大鼠存在选择性瘦素抵抗及 RAAS 过度激活，符合肥胖性高血压的基本病理机制。本研究显示，肥胖性高血压大鼠血清升高的 Lep 与肾脏升高的 LepR 结合，通过 JAK2/STAT3 通路，引起瘦素外周的作用增强。同时说明肥胖性高血压大鼠 RAAS 系统的过度激活与肾脏局部 RAS 激活有关。

大鼠血清中 β_2 -MG 升高， β_2 -MG 是体内有核细胞产生的一种小分子球蛋白，是反应早期高血压肾功能损伤的良好指标^[18]，肾脏病理亦显示肥胖性高血压大鼠出现肾脏损伤。

刺蒺藜干预后，大鼠体质量减轻，血压降低，血脂水平降低，血清中 Lep、AngII 及 β_2 -MG 降低（ $P < 0.05$ ）；大鼠肾脏的 LepR、AT1、JAK2 和 STAT3 的 mRNA 及蛋白表达降低（ $P < 0.05$ ），说明刺蒺藜可以减少肾脏 LepR 的表达，抑制 JAK2/STAT3 通路反应，降低肾脏对循环瘦素的敏感性，减轻选择性瘦素抵抗，降低血压，保护肾脏。同时，本研究结果为刺蒺藜的这一味“古老”的中药理论研究及临床应用提供了“新的”方法与思路。

参考文献

- [1] Yach D, Stuckler D, Brownell K D. Epidemiologic and economic consequences of the global epidemics of obesity and diabetes [J]. *Nat Med*, 2006, 12(1): 62-66.
- [2] Zhang Y, Proenca R, Maffei M, et al. Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue [J]. *Nature*, 1994, 372(6505): 425-432.
- [3] Hallas J L, Gajiwala K S, Maffei M, et al. Weight-reducing effects of the plasma protein encoded by the obese gene [J]. *Science*, 1995, 269(5233): 543-546.
- [4] 金京玲, 金哲洙, 任东鲜, 等. 刺蒺藜果实中两种甾体皂苷的分离与鉴定 [J]. *中草药*, 2000, 31(2): 90-91.

- [5] 陈永志, 姜月华, 孟宪卿, 等. 刺蒺藜及其有效成分治疗心血管疾病研究进展 [J]. 吉林中医药, 2016, 36(3): 316-319.
- [6] 郭金昊, 姜月华, 杨传华, 等. 刺蒺藜对老年自发性高血压大鼠胸主动脉血管重塑的影响 [J]. 中医杂志, 2016, 57(11): 957-961.
- [7] 孙志, 张中成, 刘志诚. 营养性肥胖动物模型的实验研究 [J]. 中国药理学通报, 2002, 18(4): 466-467.
- [8] Jiang Y H, Yang C H, Li W, *et al.* Aqueous extracts of *Tribulus terrestris* protects against oxidized LDL-induced endothelial dysfunction [J]. *Chin J Integr Med*, 2016, 22(3): 192-200.
- [9] 徐叔云. 药理实验方法学 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2012.
- [10] He Y, Chen H, Quon M J, *et al.* The mouse obese gene [J]. *J Biol Chem*, 1995, 270(48): 28887-28891.
- [11] Sobhahi I, Bado A, Vissuzaine C, *et al.* Leptin secretin and leptin receptor in the human stomach [J]. *Gastroenterology*, 2000, 118(4): 178-183.
- [12] Boden G, chen X, Mozzoli M, *et al.* Effect of fasting on serum leptin in normal human subjects [J]. *J Chin Endocrinol Metab*, 1996, 81(9): 3419-3423.
- [13] Arias-Alvarez M, Garcla-Garcla R M, Torres-Rovira L, *et al.* Influence of leptin on *in vitro* maturation and steroidogenic secretion of cumulus-oocyte complexes through JAK2/STAT3 and MEK1/2 pathways in the rabbit model [J]. *Reproduction*, 2010, 139(3): 523-532.
- [14] Mark A L, Corria M L G. Selective leptin resistance: a new concept in leptin physiology with cardiovascular implications [J]. *J Hypert*, 2002, 20: 1245-1250.
- [15] 邱宁岩, 包丽华, 傅煜, 等. 瘦素、RAAS 与高血压的关系 [J]. 标记免疫分析与临床, 2014, 21(3): 225-228.
- [16] 叶伊琳, 李莉, 张敏敏, 等. 肉桂对高脂饮食诱导的肥胖性高血压大鼠症状的改善及 Toll 样受体的影响 [J]. 中国老年学杂志, 2013, 33(3): 606-608.
- [17] 杨传华, 陆峰, 谭奇纹. 从肝脾肾论治高血压 [M]. 天津: 天津科学技术出版社, 2013.
- [18] 陈玉宏. 观察不同程度高血压患者血清 β 2-MG 和 GA-L 水平变化 [J]. 首都医药, 2014, 6(12): 36-38.