

基于 SIRT1-ERK1/2 通路研究白藜芦醇对环孢菌素 A 诱导高血压的作用及机制

王 川^{1,2}, 王钰莹¹, 王 婷¹, 史永恒^{1,2}, 刘继平^{1,2}, 王 斌^{1,2}, 卫 昊^{1,2}, 刘 航^{3*}

1. 陕西中医药大学药学院, 陕西 咸阳 712046

2. 陕西省中医药管理局 中药药效机制与物质基础重点实验室, 陕西 咸阳 712046

3. 陕西中医药大学附属医院, 陕西 咸阳 712000

摘 要: **目的** 研究白藜芦醇对环孢菌素 A (cyclosporine A, CsA) 诱导高血压的作用及其机制。**方法** 采用离体血管培养技术和微血管张力描记技术研究 CsA 对 5-羟色胺 (5-hydroxytryptamine, 5-HT) 介导的平滑肌收缩量效曲线变化。大鼠 sc CsA 诱导血压升高, 给予白藜芦醇进行干预, 研究白藜芦醇对血压的影响; 采用微血管张力描记观察 5-HT 引起的动脉收缩量效曲线的变化; 采用 Western blotting 检测 5-HT_{1B} 受体、沉默信息调节因子 1 (sirtuin 1, SIRT1)、细胞外信号调节激酶 1/2 (extracellular regulated kinase 1/2, ERK1/2) 蛋白表达。**结果** 离体血管培养结果表明, 白藜芦醇通过激活 SIRT1-ERK1/2 通路抑制 CsA 诱导的收缩。动物实验表明白藜芦醇可以显著降低 CsA 引起的血压升高 ($P < 0.05$ 、 0.01); 抑制 5-HT 引起的收缩反应 ($P < 0.05$ 、 0.01); 降低 5-HT_{1B} 受体和 p-ERK1/2 蛋白表达 ($P < 0.05$ 、 0.01), 增加 SIRT1 蛋白表达 ($P < 0.01$)。**结论** 白藜芦醇通过 SIRT1-ERK1/2 信号通路下调 5-HT 受体, 从而抑制 CsA 诱导的高血压。

关键词: 白藜芦醇; 高血压; 环孢菌素 A; 5-羟色胺; 沉默信息调节因子 1

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2022)09-2723-08

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2022.09.015

Effect and mechanism of resveratrol on cyclosporin A-induced hypertension based on SIRT1-ERK1/2 pathway

WANG Chuan^{1,2}, WANG Yu-ying¹, WANG Ting¹, SHI Yong-heng^{1,2}, LIU Ji-ping^{1,2}, WANG Bin^{1,2}, WEI Hao^{1,2}, LIU Hang³

1. College of Pharmacy, Shaanxi University of Chinese Medicine, Xianyang 712046, China

2. Key Laboratory of Pharmacodynamics and Material Basis of Chinese Medicine, Shaanxi Administration of Traditional Chinese Medicine, Xianyang 712046, China

3. Affiliated Hospital of Shaanxi University of Chinese Medicine, Xianyang 712000, China

Abstract: **Objective** To study the effect and mechanism of resveratrol on cyclosporine A (CsA) induced hypertension. **Methods** *In vitro* organ culture and myograph were used to study CsA induced vasoconstrictions mediated by 5-hydroxytryptamine (5-HT) receptor. Rats were sc CsA to induce blood pressure increased, and resveratrol was given for intervention to study the effect of resveratrol on blood pressure; Microvascular tonometry was used to observe the changes in dose-response curve of arterial contraction caused by 5-HT; Western blotting was used to detect 5-HT_{1B} receptor, sirtuin 1 (SIRT1) and extracellular regulated kinase 1/2 (ERK1/2) protein expressions. **Results** The results of isolated blood vessel culture showed that resveratrol inhibited CsA-induced contraction by activating SIRT1-ERK1/2 pathway. Animal experiments showed that resveratrol could significantly reduce the increase in blood pressure caused by CsA ($P < 0.05$, 0.01); Inhibited the contractile response caused by 5-HT ($P < 0.05$, 0.01); Decreased the expressions of 5-HT_{1B} receptor and p-ERK1/2 protein ($P < 0.05$, 0.01), and increased the protein expression of SIRT1 ($P < 0.01$). **Conclusion** Resveratrol can inhibit CsA-induced hypertension by down-regulating 5-HT receptor through SIRT1-ERK1/2 signaling pathway.

收稿日期: 2022-01-18

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81800401); 陕西省科技厅一般项目——社会发展领域 (2022SF-207, 2022SF-435); 大学生创新创业训练计划项目 (S202010716021, S202010716024); 陕西中医药大学学科创新团队 (2019-YL13)

作者简介: 王 川 (1987—), 男, 副教授, 博士研究生, 主要从事心血管疾病的发病及防治研究。E-mail: wangchuan@sntcm.edu.cn

***通信作者:** 刘 航 (1983—), 男, 主管中药师, 主要从事中药制剂工艺研究。E-mail: 497240346@qq.com

Key words: resveratrol; hypertension; cyclosporin A; 5-hydroxytryptamine; sirtuin1

环孢菌素 A (cyclosporine A, CsA) 是临床上常用于预防器官移植排斥的免疫抑制剂, 可防止器官移植患者体内的免疫排斥, 在器官移植治疗中发挥了重要的作用^[1-2]。目前临床上 CsA 也被用于治疗类风湿性关节炎、再生障碍性贫血等自身免疫性疾病^[3-6]。伴随着 CsA 的广泛使用, 也暴露出较多的不良反应, 高血压是 CsA 重要的不良反应, 临床研究表明使用 CsA 的肾脏移植患者中高血压发生率高达 20%~25%^[7-8]。CsA 可以引起人和动物的血压升高, 然而其机制尚不清楚^[9-10]。

5-羟色胺 (5-hydroxytryptamine, 5-HT) 是一种内源性的神经递质, 5-HT 可以引起血管收缩, 通过激活 5-HT_{1B} 等受体介导血管收缩^[11]。研究表明, 在蛛网膜下腔出血、脑缺血以及高血压等病变中, 5-HT_{1B} 受体的表达上调^[12-13]。临床上化学药虽然降压效果显著、疗效肯定, 但仍有部分患者血压不能得到有效的控制, 也会产生一些严重的不良反应, 如利尿降压药可引起电解质紊乱, 血管紧张素转换酶抑制剂引起干咳, 钙通道阻滞剂引起心率失常, α 受体阻滞剂引起体位性低血压等^[14-15]。某些中药单体、中药提取物和中药复方等均可降低血压, 降压作用缓和, 且可以改善各类症状^[16-17]; 在降压的同时, 还具有改善微循环、调血脂、抗氧化、保护血管内皮、调节血管活性物质等多重作用, 具有广阔的应用前景。

白藜芦醇多存在于藜芦、虎杖、葡萄、花生等植物中, 属于一种多酚类天然化合物, 不仅有较强的心血管保护作用, 还具有抗炎、抗氧化、抗菌、抗肿瘤、抗衰老和抗神经退行性疾病等重要的药理作用^[18-21]。研究表明, 白藜芦醇可以舒张血管、降低血压^[22-23]。然而, 白藜芦醇对 CsA 引起的高血压作用及其机制尚不清楚。本研究通过离体动脉培养模型和 CsA 诱导大鼠高血压模型, 探究白藜芦醇对大鼠血压的影响及其相关机制, 为 CsA 引起的高血压的预防和治疗提供新的思路与依据。

1 材料

1.1 动物

SPF 级雄性 SD 大鼠, 体质量 (200±20) g, 6~8 周龄, 由西安交通大学实验动物中心提供, 实验动物生产 (使用) 许可证号 SCXK (陕) 2020-001。动物饲养于陕西中医药大学中药药理实验室, 室温 (23±2) °C, 光照周期为 12 h, 饲养期间动物自由

进食饮水。动物实验经陕西中医药大学伦理委员会批准 (批准号 SUCMDL20201119001)。

1.2 药品与试剂

CsA (批号 S17068)、白藜芦醇 (批号 S30630, 质量分数为 98%) 购自上海源叶生物科技有限公司; 5-HT (批号 Slcf8396)、乙酰胆碱 (acetyl choline, ACh, 批号 BCBX5660)、细胞外调节蛋白激酶 1/2 (extracellular regulated protein kinase 1/2, ERK1/2) 特异性抑制剂 U0126 (批号 19826)、Triton X-100 (批号 T8787) 购自美国 Sigma 公司; 5HT_{1B} 受体抗体 (批号 AB13896)、沉默信息调节因子 1 (sirtuin 1, SIRT1) 抗体 (批号 AB12193) 购自英国 Abcam 公司; ERK1/2 (批号 4695S)、磷酸化 ERK1/2 (phosphorylated ERK1/2, p-ERK1/2) 抗体 (批号 4370S) 购自美国 CST 公司; β -actin 抗体 (批号 66009-1-Ig) 购自武汉博士德生物工程有限公司; HRP 标记的山羊抗兔二抗 (批号 A0280) 购自上海碧云天生物技术有限公司; 青霉素/链霉素溶液 (批号 J190033) 购自美国 HyClone 公司。

1.3 仪器

CODA 动物无创血压测量系统 (美国 Kent 公司); DMT 630M 型离体微血管张力测定系统 (丹麦 DMT 公司); CO₂ 培养箱 (美国 Thermo Fisher Scientific 公司); 肌张力描记记录系统 (澳大利亚 ADI 公司); 电泳仪、转膜仪、凝胶成像系统 (美国 Bio-Rad 公司)。

2 方法

2.1 肠系膜动脉血管离体培养

SD 大鼠断颈处死, 无菌条件下迅速分离出大鼠肠系膜, 浸泡于经滤过除菌并预冷的 Na⁺-PSS 缓冲液 (119 mmol/L NaCl、15 mmol/L NaHCO₃、4.6 mmol/L KCl、1.2 mmol/L MgCl₂、1.2 mmol/L NaH₂PO₄、1.5 mmol/L CaCl₂ 和 5.5 mmol/L 葡萄糖) 中, 于体视显微镜下分离出肠系膜动脉, 0.1% Triton X-100 血管内灌注 10 s, 去除血管内皮, 肠系膜动脉剪成 2 mm 的动脉环, 放入 24 孔培养板内进行培养, 每孔加入 1 mL 不含血清的 DMEM 高糖培养基, 在培养基中加入 CsA (1×10^{-6} 、 1×10^{-5} mol/L) 或二甲基亚砜 (dimethyl sulfoxide, DMSO) 或 U0126 (1×10^{-6} mol/L) 或白藜芦醇 (1×10^{-5} 、 1×10^{-4} mol/L)。培养板置于 37 °C、5% CO₂ 的培养箱内,

培养 24 h。

2.2 离体培养的肠系膜血管收缩功能检测

将 5 mL Na^+ -PSS 加入恒温离体浴槽内, 并将含 95% O_2 和 5% CO_2 的混合气体不断通入浴槽内, 将分离的动脉环穿入 2 根 20 μm 的金属丝, 其中一根金属丝与可调节预张力的张力微调装置相连, 另一根连接张力换能器。固定好的动脉环平衡 40 min 后, 每 15 分钟施加 0.5 mN 的预张力, 直至 2 mN, 加入 60 mmol/L K^+ -PSS 缓冲液 (119 mmol/L KCl、15 mmol/L NaHCO_3 、4.6 mmol/L KCl、1.2 mmol/L MgCl_2 、1.2 mmol/L NaH_2PO_4 、1.5 mmol/L CaCl_2 和 5.5 mmol/L 葡萄糖) 检验动脉环收缩活性, 若动脉环在 2 次 K^+ -PSS 缓冲液中的收缩幅度均大于 5 mN 并且 2 次收缩差异低于 10% 时, 该动脉环用于后续实验, 使用 ACh 检测动脉环内皮是否完全去除。将 5-HT 受体特异性激动剂 5-HT 按浓度累加法的方式, 由低至高浓度 ($1 \times 10^{-8} \sim 1 \times 10^{-4}$ mmol/L) 依次加入 DMT 浴槽中来观察大鼠血管收缩功能^[24]。

2.3 动物分组、给药和造模

24 只 SD 大鼠随机分为对照组、模型组和白藜芦醇低、高剂量 (75、150 mg/kg) 组, 每组 6 只。除对照组 sc 大豆油外, 其余各组 sc CsA (25 mg/kg); 各给药组再 ig 相应药物, 对照组 ig 等体积 0.5% 羧甲基纤维素钠^[9,25], 1 次/d, 连续 21 d。

2.4 大鼠无创血压测量

每周采用 CODA 无创血压仪测量系统记录大鼠清醒状态下尾动脉的收缩和舒张压, 每个时间点重复测量 15~30 次, 取其平均值。

2.5 大鼠肠系膜血管收缩功能检测

给药 21 d 后, 大鼠处死, 迅速取出肠系膜动脉, 浸入预冷的 Na^+ -PSS 缓冲液中, 于显微镜下快速剥离肠系膜动脉周围黏附组织, 将分离的肠系膜动脉剪切成长约 2 mm 的动脉环, 使用离体肌张力记录系统检测动脉张力的变化。

2.6 Western blotting 检测 5HT_{1B} 受体、ERK1/2、p-ERK1/2 和 SIRT1 蛋白表达

取大鼠肠系膜动脉, 加入 RIPA 裂解液提取总蛋白, 采用 BCA 法检测样品蛋白含量, 制备的蛋白样品经 10% 十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳, 转至 PVDF 膜, 于含 5% 脱脂牛奶的 TBST 中室温封闭 2 h, 分别加入相应一抗, 4 $^{\circ}\text{C}$ 孵育过夜; 加入二抗, 室温孵育 1 h, 洗膜后用 ECL 发光试剂显影, 检测目标条带的灰度值, 分析相关蛋白表达。

2.7 统计学处理

实验数据用 $\bar{x} \pm s$ 来表示。收缩性激动剂在动脉环上引起的收缩用 60 mmol/L K^+ 引起的收缩值百分数表示, $E_{\max}$ 是激动剂产生的最大收缩值, EC_{50} 值表示达到 50% 最大收缩时激动剂的浓度, pEC_{50} 值使用 GraphPad Prism 8 进行非线性回归分析得出。采用单因素方差分析 (One-Way ANOVA) 进行多组数据间的比较。

3 结果

3.1 CsA 对 5-HT 受体介导的收缩反应的影响

为了研究不同浓度的 CsA 对 5-HT 收缩的影响, 将 CsA (1×10^{-6} 、 1×10^{-5} mol/L)^[26] 分别与离体动脉血管共培养 24 h, 梯度累加法加入 5-HT, 获得累积浓度-反应曲线见图 1, 不同浓度的 CsA 均显著增强肠系膜动脉收缩功能, 收缩量效曲线明显左移。与 DMSO 组相比, 1×10^{-5} mol/L CsA 可以明显增强 5-HT 的收缩作用, $E_{\max}$ 明显升高 ($P < 0.05$ 、0.01)。

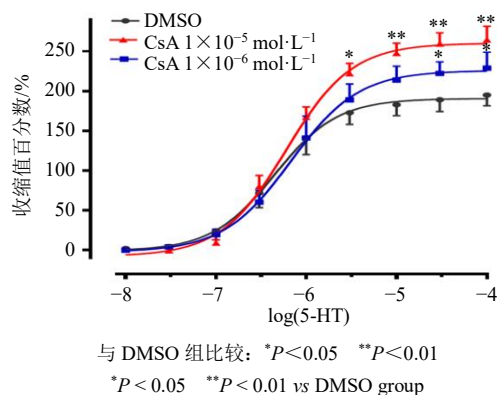


图 1 CsA 对 5-HT 介导的收缩反应的影响 ($n = 3$)

Fig. 1 Effect of CsA on contraction response induced by 5-HT ($n = 3$)

3.2 U0126 对 5-HT 受体介导的收缩反应的影响

为了考察 ERK1/2 通路是否参与了 CsA 诱导的肠系膜动脉收缩增强, 在培养时加入特异性 ERK1/2 信号通路抑制剂 U0126 (1×10^{-6} mol/L) 与 CsA 共培养 24 h^[24], 结果如图 2-A 所示, 与 CsA 组相比, U0126 可以显著抑制 5-HT 诱导的收缩反应 ($P < 0.05$ 、0.01); Western blotting 结果 (图 2-B) 显示, 与 DMSO 组比较, CsA 组 p-ERK1/2/ERK1/2 蛋白表达水平显著升高 ($P < 0.01$); 与 CsA 组比较, U0126 显著抑制 p-ERK1/2/ERK1/2 蛋白表达 ($P < 0.01$)。表明 ERK1/2-丝裂原活化蛋白激酶 (mitogen-activated protein kinase, MAPK) 信号通路可能参与了 CsA 引起的血管收缩。

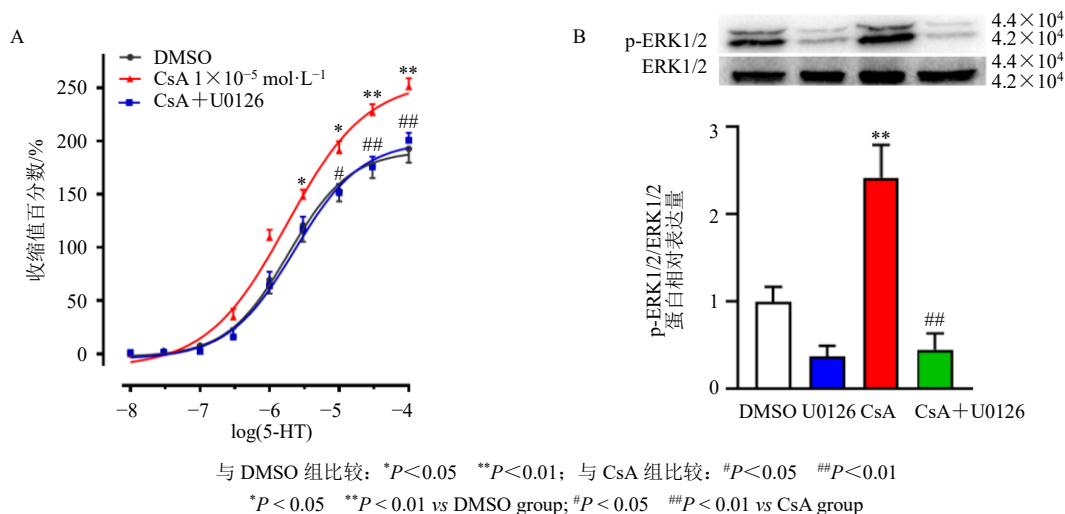


图2 ERK1/2 抑制剂 U0126 对 5-HT 受体介导收缩反应 (A) 及 p-ERK1/2/ERK1/2 蛋白表达 (B) 的影响 ($n = 3$)
Fig. 2 Effect of ERK1/2 inhibitor U0126 on contraction response induced by 5-HT (A) and p-ERK1/2/ERK1/2 protein expressions (B) ($n = 3$)

3.3 白藜芦醇对 5-HT 受体介导的收缩反应的影响

为了研究白藜芦醇对 CsA 诱导的血管平滑肌收缩功能的影响, 将白藜芦醇 (1×10^{-5} 、 $1 \times 10^{-4} \text{ mol/L}$) 与 CsA 共培养 24 h。如图 3-A 所示, 与 CsA 相比, 白藜芦醇显著抑制 5-HT 诱导的收缩反应 ($P < 0.01$); Western blotting 结果 (图 3-B) 显示, CsA 显著降低 SIRT1 蛋白表达水平 ($P < 0.05$), 而白藜芦醇 ($1 \times 10^{-4} \text{ mol/L}$) 可以显著上调 SIRT1 蛋白表达水平 ($P < 0.05$)。提示白藜芦醇可能通过激活 SIRT1 通路抑制 CsA 诱导的收缩。

3.4 白藜芦醇对 CsA 诱导大鼠血压的影响

为了研究白藜芦醇对 CsA 诱导的高血压大鼠收缩压和舒张压的影响, 在给药前和给药期间平均每周测血压 1 次。如图 4 所示, 给药前 (第 0 周) 各组大鼠收缩压和舒张压均无显著性差异; 给药 1 周后, 给予 CsA 后大鼠收缩压和舒张压均升高, 与对照组相比, 第 3 周模型组收缩压和舒张压均有显著性差异 ($P < 0.01$); 与模型组相比, 第 3 周白藜芦醇高剂量组大鼠收缩压与舒张压均显著降低 ($P < 0.05$ 、 0.01)。

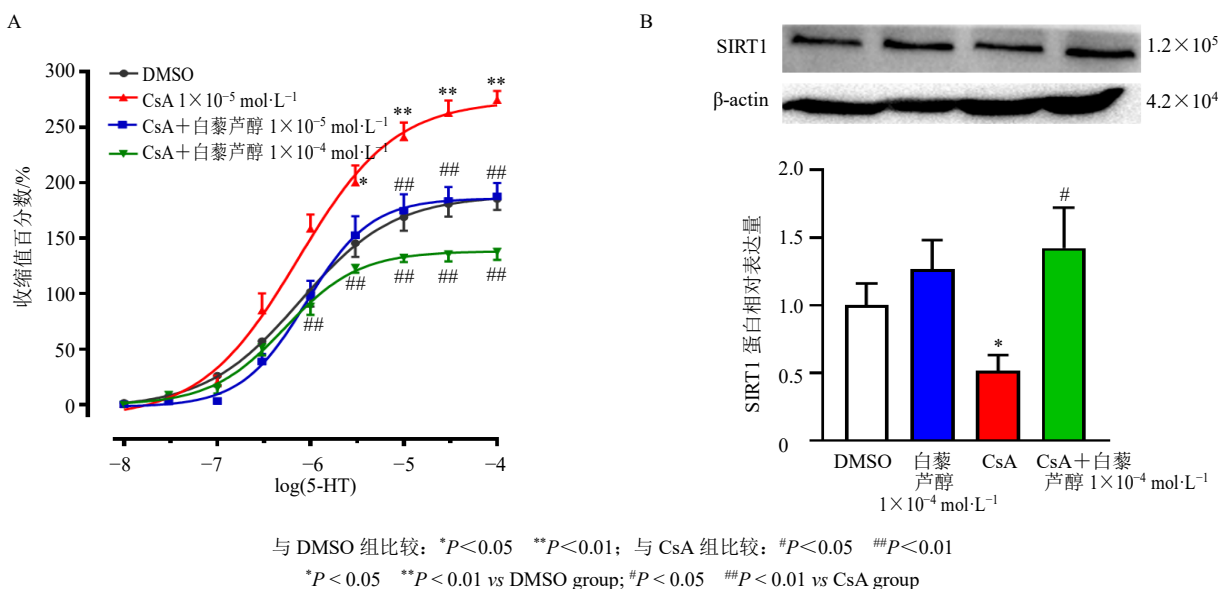


图3 白藜芦醇对 5-HT 受体介导的收缩反应 (A) 及 SIRT1 蛋白表达 (B) 的影响 ($n = 3$)
Fig. 3 Effect of resveratrol on contraction response induced by 5-HT (A) and SIRT1 protein expression (B) ($n = 3$)

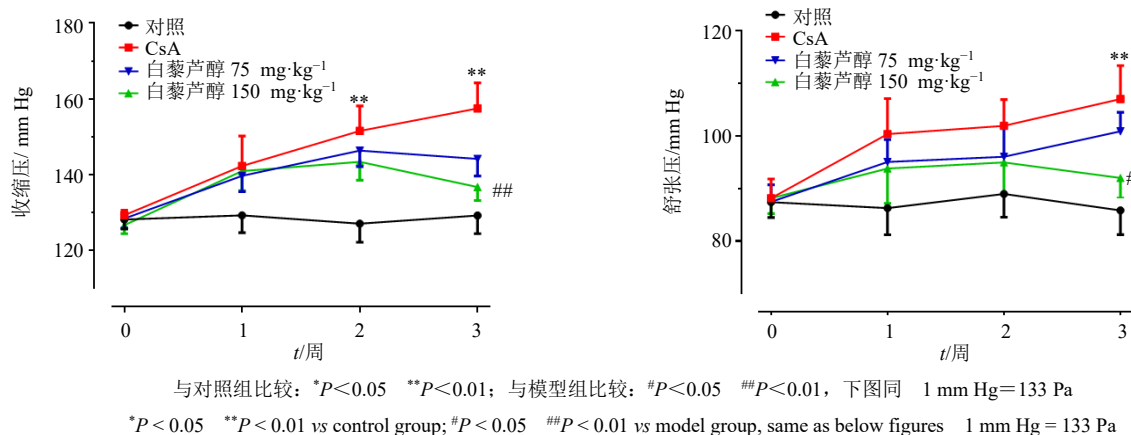


图4 白藜芦醇对CsA诱导大鼠血压的影响 (n=6)

Fig. 4 Effect of resveratrol on blood pressure in CsA-induced rats (n=6)

3.5 白藜芦醇对5-HT介导的收缩反应和5-HT_{1B}受体蛋白表达的影响

如图5-A和表1所示,与对照组比较,模型组5-HT介导的大鼠肠系膜动脉收缩反应明显增强 ($P < 0.01$), $E_{\max}$ 显著升高 ($P < 0.01$);与模型组比较,白藜芦醇高剂量组显著抑制血管收缩反应量效曲线

($P < 0.01$), $E_{\max}$ 显著降低 ($P < 0.01$),表明白藜芦醇可以抑制CsA引起的血管收缩。Western blotting结果(图5-B)表明,与对照组比较,模型组5-HT_{1B}受体蛋白表达水平明显升高 ($P < 0.01$);与模型组比较,白藜芦醇高剂量组5-HT_{1B}受体蛋白表达水平显著降低 ($P < 0.05$)。

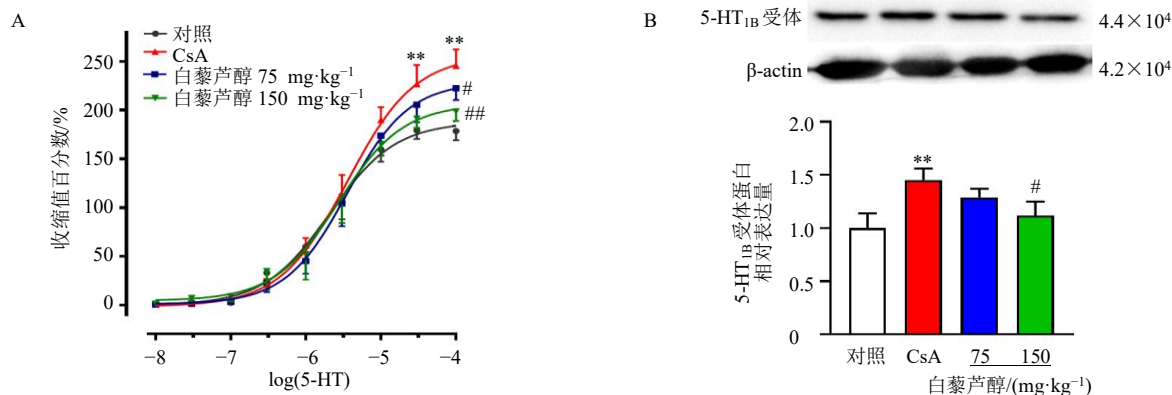


图5 白藜芦醇对5-HT介导的血管收缩反应(A)和5-HT_{1B}受体蛋白表达(B)的影响 (n=6)

Fig. 5 Effect of resveratrol on vasoconstrictor response induced by 5-HT (A) and 5-HT_{1B} receptor protein expression (B) (n=6)

表1 白藜芦醇对5-HT诱导动脉环收缩的 $E_{\max}$ 和 pEC_{50} 的影响 ($\bar{x} \pm s$, n=6)

Table 1 Effect of resveratrol on $E_{\max}$ and pEC_{50} of 5-HT-induced arterial ring contraction ($\bar{x} \pm s$, n=6)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	$E_{\max}/\%$	pEC_{50}
对照	—	187.90 ± 11.06	5.680 ± 0.098
模型	—	256.30 ± 16.85**	5.440 ± 0.098*
白藜芦醇	75	228.80 ± 16.12#	5.450 ± 0.100
	150	206.20 ± 17.29##	5.570 ± 0.130#

与对照组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$; 与模型组比较: # $P < 0.05$ ## $P < 0.01$

$P < 0.01$

* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ vs control group; # $P < 0.05$ ## $P < 0.01$ vs

model group

3.6 白藜芦醇对大鼠肠系膜动脉SIRT1、p-ERK1/2和ERK1/2蛋白表达的影响

为了研究SIRT1和ERK1/2通路是否参与了白藜芦醇降低大鼠肠系膜动脉高反应性的过程,检测了SIRT1和p-ERK1/2蛋白表达,如图6所示,与对照组比较,模型组SIRT1蛋白表达水平显著降低 ($P < 0.01$), p-ERK1/2/ERK1/2蛋白表达水平显著升高 ($P < 0.01$);与模型组比较,白藜芦醇高剂量组SIRT1蛋白表达水平显著升高 ($P < 0.01$),白藜芦醇低、高剂量组p-ERK1/2/ERK1/2蛋白表达水平均显著降低 ($P < 0.05$, 0.01),表明SIRT1和ERK1/2-

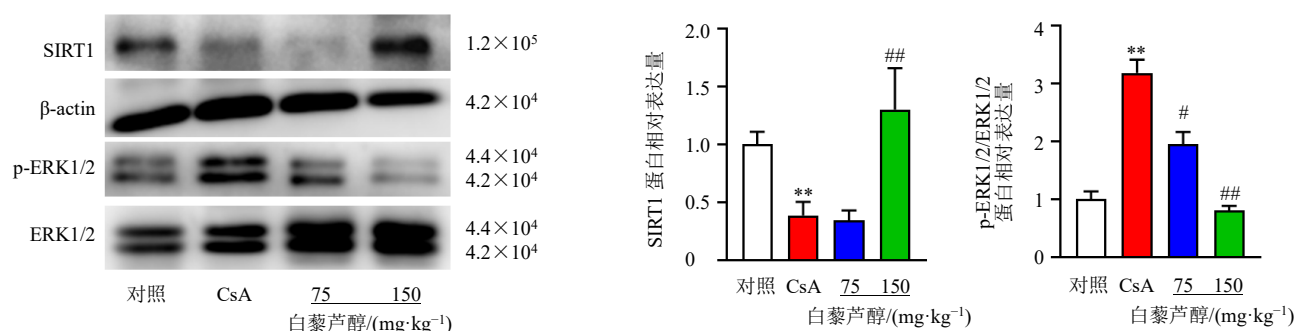


图 6 白藜芦醇对大鼠肠系膜动脉 SIRT1、p-ERK1/2 和 ERK1/2 蛋白表达的影响 ($n = 6$)

Fig. 6 Effect of resveratrol on SIRT1, p-ERK1/2 and ERK1/2 protein expressions in mesenteric artery of rats ($n = 6$)

MAPK 信号通路可能参与了白藜芦醇抑制 CsA 上调 5-HT_{1B} 受体引起的血管收缩。

4 讨论

高血压是 CsA 临床使用中最常见的不良反应，高血压会促使左心室肥大、动脉粥样硬化、心力衰竭，高血压也通常会导致移植器官存活率大幅度下降，甚至可能导致死亡^[27-28]，因此，需要积极地干预 CsA 引起的高血压。白藜芦醇是一种多酚类化合物和植物抗毒素，作为 SIRT1 的激动剂，具有较好的抗氧化、抗炎、抗血小板聚集、调节脂质代谢、舒张血管、防止心肌纤维化和心室肥厚及电生理效应等作用，从而发挥对心血管系统的保护作用^[18]。白藜芦醇对自发性高血压、血管紧张素 II 引起的高血压模型、肾性高血压模型和同型半胱氨酸引起的高血压等许多动物模型均具有降压作用^[29-31]。然而，白藜芦醇对 CsA 引起高血压的影响未见报道。本研究通过离体血管培养技术考察了白藜芦醇对 CsA 诱导的血管收缩功能的影响，并通过 CsA 诱导大鼠高血压模型考察了白藜芦醇对大鼠血压的影响，从大鼠肠系膜动脉平滑肌收缩功能和蛋白表达阐述了白藜芦醇降低 CsA 引起高血压的作用机制。研究结果表明，CsA 可显著升高大鼠血压，增强肠系膜动脉平滑肌的 5-HT 受体介导的收缩反应，该现象可能与 CsA 上调 5-HT 受体相关。白藜芦醇可以降低 CsA 诱导的高血压，并且抑制 CsA 引起的血管高反应性和减少 5-HT_{1B} 蛋白的表达，白藜芦醇可能通过激活 SIRT1、抑制 ERK1/2 通路减弱血管收缩作用从而降压。

高血压病理状况下血管平滑肌收缩性受体明显上调，使血管对激动剂产生高反应性；下调血管平滑肌收缩性受体能够降低血管的高反应性，从而降低血压^[32-33]。研究发现，5-HT 诱导的急性血管收缩

主要由 5-HT_{1B} 受体介导，而长期暴露于 5-HT 可通过激活 5-HT_{1B} 受体引起肺动脉高压，自发性高血压大鼠动脉平滑肌细胞上的 5-HT 受体表达增强^[34-35]。在血管收缩功能研究中，白藜芦醇可以显著降低 5-HT 诱导的大鼠肠系膜动脉收缩，Western blotting 结果显示白藜芦醇显著下调大鼠肠系膜动脉 5-HT_{1B} 受体的表达，提示白藜芦醇通过下调血管平滑肌上的 5-HT 受体表达，降低血管高反应性，从而降低血压。

MAPK 信号通路能够调控细胞内多种生物信号转导。ERK1/2 信号通路将信息从细胞表面传递到细胞内，再转导到细胞核，激活转录因子，介导生物学效应^[36-37]。研究表明，吸烟与低密度脂蛋白等危险因素损伤动脉平滑肌，激活 ERK1/2 信号转导通路介导的转录和翻译机制，合成新的 5-HT 受体，使动脉血管平滑肌 5-HT 受体表达上调，导致动脉血管敏感性增强，呈高反应性^[38-39]。U0126 是 ERK1/2 通路特异性抑制剂，阻断丝裂原活化的细胞外信号调节激酶 1/2 (mitogen-activated extracellular signal-regulated kinase 1/2, MEK1/2) 激活，抑制下游 ERK1/2 激酶激活。CsA 增强血管收缩的作用及上调 5-HT 受体的表达可以被 ERK1/2 通路抑制剂 U0126 抑制，表明 CsA 上调 5-HT 受体的作用可能与 ERK1/2 信号通路有关。激活 SIRT1 可以降低血压，研究表明 SIRT1 的激活可以保护血管，降低血管的收缩作用，从而降低血压^[40]。SIRT1 激活剂白藜芦醇能够通过 SIRT1 介导的信号转导途径改善高血压。本研究结果表明，CsA 抑制 SIRT1 表达，激活 ERK1/2 信号通路，而白藜芦醇可以激活 SIRT1，抑制 ERK1/2 通路而降低血管高反应性。

综上所述，本研究发现白藜芦醇能够激活 SIRT1，抑制 ERK1/2 信号通路，下调 5-HT 受体的

表达,改善肠系膜动脉高反应性,降低CsA引起的高血压。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Molnar A O, Fergusson D, Tsampalieros A K, *et al.* Generic immunosuppression in solid organ transplantation: Systematic review and meta-analysis [J]. *BMJ*, 2015, 350: h3163.
- [2] Ruggenti P, Cravedi P, Gotti E, *et al.* Mycophenolate mofetil versus azathioprine in kidney transplant recipients on steroid-free, low-dose cyclosporine immunosuppression (ATHENA): A pragmatic randomized trial [J]. *PLoS Med*, 2021, 18(6): e1003668.
- [3] Mousavi-Hasanzadeh M, Bagheri B, Mehrabi S, *et al.* Sirolimus versus cyclosporine for the treatment of pediatric chronic immune thrombocytopenia: A randomized blinded trial [J]. *Int Immunopharmacol*, 2020, 88: 106895.
- [4] Mittal N, Loughran Jr T, Rivers A. T-cell large granular lymphocytic leukemia successfully treated with oral cyclosporine in a child: Case report and review of literature [J]. *Pediatr Blood Cancer*, 2020, 67(12): e28487.
- [5] Fervenza F C, Appel G B, Barbour S J, *et al.* Rituximab or cyclosporine in the treatment of membranous nephropathy [J]. *N Engl J Med*, 2019, 381(1): 36-46.
- [6] Kvien T K, Zeidler H K, Hannonen P, *et al.* Long term efficacy and safety of cyclosporin versus parenteral gold in early rheumatoid arthritis: A three year study of radiographic progression, renal function, and arterial hypertension [J]. *Ann Rheum Dis*, 2002, 61(6): 511-516.
- [7] MacDonald A S. Impact of immunosuppressive therapy on hypertension [J]. *Transplantation*, 2000, 70(11 Suppl): SS70-SS76.
- [8] Taler S J, Textor S C, Canzanello V J, *et al.* Cyclosporin-induced hypertension: Incidence, pathogenesis and management [J]. *Drug Saf*, 1999, 20(5): 437-449.
- [9] Wang Q S, Liang C, Jiang S, *et al.* NaHS or lovastatin attenuates cyclosporine A-induced hypertension in rats by inhibiting epithelial sodium channels [J]. *Front Pharmacol*, 2021, 12: 665111.
- [10] Mangray M, Vella J P. Hypertension after kidney transplant [J]. *Am J Kidney Dis*, 2011, 57(2): 331-341.
- [11] Rasmussen M N P, Hornbak M, Larsen S S, *et al.* Permanent distal occlusion of middle cerebral artery in rat causes local increased ETB, 5-HT_{1B} and AT₁ receptor-mediated contractility downstream of occlusion [J]. *J Vasc Res*, 2013, 50(5): 396-409.
- [12] Ansar S, Eftekhari S, Waldsee R, *et al.* MAPK signaling pathway regulates cerebrovascular receptor expression in human cerebral arteries [J]. *BMC Neurosci*, 2013, 14: 12.
- [13] Wang H, Gao X Y, Rao F, *et al.* Mechanism of contractile dysfunction induced by serotonin in coronary artery in spontaneously hypertensive rats [J]. *Naunyn Schmiedeberg Arch Pharmacol*, 2020, 393(11): 2165-2176.
- [14] Alhawassi T M, Krass I, Pont L G. Antihypertensive-related adverse drug reactions among older hospitalized adults [J]. *Int J Clin Pharm*, 2018, 40(2): 428-435.
- [15] Rende P, Paletta L, Gallelli G, *et al.* Retrospective evaluation of adverse drug reactions induced by antihypertensive treatment [J]. *J Pharmacol Pharmacother*, 2013, 4(Suppl 1): S47-S50.
- [16] Xie M T, Tao W L, Wu F J, *et al.* Anti-hypertensive and cardioprotective activities of traditional Chinese medicine-derived polysaccharides: A review [J]. *Int J Biol Macromol*, 2021, 185: 917-934.
- [17] Zhang S, Bai X, Chen Z L, *et al.* Qiju Dihuang Decoction for hypertension: A systematic review and meta-analysis [J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2020, 2020: 9403092.
- [18] Gal R, Deres L, Toth K, *et al.* The effect of resveratrol on the cardiovascular system from molecular mechanisms to clinical results [J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(18): 10152.
- [19] Parsamanesh N, Asghari A, Sardari S, *et al.* Resveratrol and endothelial function: A literature review [J]. *Pharmacol Res*, 2021, 170: 105725.
- [20] Su C F, Jiang L, Zhang X W, *et al.* Resveratrol in rodent models of Parkinson's disease: A systematic review of experimental studies [J]. *Front Pharmacol*, 2021, 12: 644219.
- [21] 王丽娟, 史惠蓉. 白藜芦醇通过调控 SIRT1 抑制卵巢癌细胞生长及 Wnt 信号通路的研究 [J]. *中草药*, 2019, 50(3): 675-680.
- [22] Bomfim G H S, Musial D C, Méndez-López I, *et al.* Chronic resveratrol consumption prevents hypertension development altering electrophysiological currents and Ca²⁺ signaling in chromaffin cells from SHR rats [J]. *Cell Signal*, 2020, 76: 109811.
- [23] Pryszazhna O, Wolhuter K, Switzer C, *et al.* Blood pressure-lowering by the antioxidant resveratrol is counterintuitively mediated by oxidation of cGMP-dependent protein kinase [J]. *Circulation*, 2019, 140(2): 126-137.
- [24] Zheng J P, Cheng Z A, Jiang J Y, *et al.* Cyclosporin A upregulates ETB receptor in vascular smooth muscle via activation of mitogen-activating protein kinases and NF-

- κB pathways [J]. *Toxicol Lett*, 2015, 235(1): 1-7.
- [25] Chen Y L, Liu H H, Zhang H M, *et al.* The sirt1/NF-κB signaling pathway is involved in regulation of endothelin type B receptors mediated by homocysteine in vascular smooth muscle cells [J]. *Biomed Pharmacother*, 2016, 84: 1979-1985.
- [26] Zheng J P, Zhang X M, Wang H, *et al.* Vasomotor dysfunction in the mesenteric artery after organ culture with cyclosporin A [J]. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*, 2013, 113(6): 370-376.
- [27] Nishiyama A, Kobori H, Fukui T, *et al.* Role of angiotensin II and reactive oxygen species in cyclosporine A-dependent hypertension [J]. *Hypertension*, 2003, 42(4): 754-760.
- [28] Maeda H, Sakamoto K, Kashiwabara H, *et al.* Effect of hypertension, hyperlipidemia and cyclosporine A therapy on long-term renal allograft survival [J]. *Transplant Proc*, 1996, 28(3): 1633-1634.
- [29] Chen H E, Lin Y J, Lin I C, *et al.* Resveratrol prevents combined prenatal N^G-nitro-L-arginine-methyl ester (L-NAME) treatment plus postnatal high-fat diet induced programmed hypertension in adult rat offspring: Interplay between nutrient-sensing signals, oxidative stress and gut microbiota [J]. *J Nutr Biochem*, 2019, 70: 28-37.
- [30] Javkhedkar A A, Quiroz Y, Rodriguez-Iturbe B, *et al.* Resveratrol restored Nrf2 function, reduced renal inflammation, and mitigated hypertension in spontaneously hypertensive rats [J]. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 2015, 308(10): R840-R846.
- [31] Cao X, Luo T, Luo X, *et al.* Resveratrol prevents AngII-induced hypertension via AMPK activation and RhoA/ROCK suppression in mice [J]. *Hypertens Res*, 2014, 37(9): 803-810.
- [32] Touyz R M, Alves-Lopes R, Rios F J, *et al.* Vascular smooth muscle contraction in hypertension [J]. *Cardiovasc Res*, 2018, 114(4): 529-539.
- [33] Brinks H L, Eckhart A D. Regulation of GPCR signaling in hypertension [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2010, 1802(12): 1268-1275.
- [34] Watanabe S, Matsumoto T, Ando M, *et al.* Multiple activation mechanisms of serotonin-mediated contraction in the carotid arteries obtained from spontaneously hypertensive rats [J]. *Pflugers Arch*, 2016, 468(7): 1271-1282.
- [35] Sun T, Wang J, Huang L H, *et al.* Antihypertensive effect of formononetin through regulating the expressions of eNOS, 5-HT_{2A/1B} receptors and α₁-adrenoceptors in spontaneously rat arteries [J]. *Eur J Pharmacol*, 2013, 699(1/2/3): 241-249.
- [36] Zhang Y P, Edvinsson L, Xu C B. Up-regulation of endothelin receptors induced by cigarette smoke: Involvement of MAPK in vascular and airway hyper-reactivity [J]. *Sci World J*, 2010, 10: 2157-2166.
- [37] Xu C B, Sun Y, Edvinsson L. Cardiovascular risk factors regulate the expression of vascular endothelin receptors [J]. *Pharmacol Ther*, 2010, 127(2): 148-155.
- [38] Cao L, Zhang Y P, Cao Y X, *et al.* Secondhand smoke exposure causes bronchial hyperreactivity via transcriptionally upregulated endothelin and 5-hydroxytryptamine 2A receptors [J]. *PLoS One*, 2012, 7(8): e44170.
- [39] Tang H X, Lin J, Xu C B, *et al.* Minimally modified low-density lipoprotein upregulates mouse mesenteric arterial 5-HT_{1B} receptor *in vivo* via activation of the JAK2/STAT3 pathway [J]. *Microvasc Res*, 2022, 139: 104260.
- [40] Zhou L, Zhang S, Bolor-Erdene E, *et al.* NAMPT/SIRT1 attenuate Ang II-induced vascular remodeling and vulnerability to hypertension by inhibiting the ROS/MAPK pathway [J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2020, 2020: 1974265.

[责任编辑 李亚楠]