

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2020.10.001  
文章编号: 1005-8982(2020)10-0001-05

基础研究·论著

## 替米沙坦对野百合碱诱导大鼠肺动脉高压的影响及机制研究\*

苗少一, 郭迪, 杨闪闪, 王春林, 赵文飞, 李宏云, 冯永海  
(郑州大学第五附属医院 呼吸与危重症医学科, 河南 郑州 450052)

**摘要: 目的** 探讨替米沙坦激活的过氧化物酶体增殖物激活受体  $\gamma$  (PPAR $\gamma$ ) 对大鼠肺动脉高压的影响及其机制。**方法** 皮下注射野百合碱复制大鼠肺动脉高压模型, 将大鼠分为模型组、治疗组、干预组及对照组。治疗组每天给予替米沙坦 10 mg/kg 灌胃处理, 模型组不予治疗, 干预组在治疗组基础上给予 GW9662 5 mg/kg 腹腔注射。3 周后取材, 测量各组大鼠右心室收缩压 (RVSP), 肺动脉平均压 (mPAP), 计算右心室肥大指数 (RVHI), 苏木精-伊红染色观察肺动脉炎症反应情况, 酶联免疫吸附试验检测肺组织匀浆中 TNF- $\alpha$ 、IL-6、单核细胞趋化蛋白-1 (MCP-1) 水平, Western blotting 检测 PPAR $\gamma$  表达差异。**结果** 4 组 mPAP、RVSP 及 RVHI 比较, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ), 模型组较对照组高 ( $P < 0.05$ ), 治疗组、干预组较模型组低 ( $P < 0.05$ ), 干预组 RVHI 高于治疗组 ( $P < 0.05$ )。模型组和干预组 PPAR $\gamma$  相对表达量较对照组降低 ( $P < 0.05$ ), 治疗组较模型组升高 ( $P < 0.05$ )。模型组、治疗组、干预组 MCP-1、IL-6 及 TNF- $\alpha$  水平较对照组升高 ( $P < 0.05$ ), 治疗组、干预组较模型组降低 ( $P < 0.05$ ), 干预组较治疗组升高 ( $P < 0.05$ )。**结论** 替米沙坦对野百合碱诱导的大鼠肺动脉高压有预防作用, 可能与其激活 PPAR $\gamma$ , 抑制炎症反应有关。

**关键词:** 高血压, 肺性; 过氧化物酶体增殖物激活受体; 炎症

**中图分类号:** R543.2

**文献标识码:** A

## Effect and mechanism of telmisartan on monocrotaline-induced pulmonary hypertension in rats\*

Shao-yi Miao, Di Guo, Shan-shan Yang, Chun-lin Wang, Wen-fei Zhao, Hong-yun Li, Yong-hai Feng  
(Department of Respiratory and Critical Medicine, the Fifth Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou, Henan 450052, China)

**Abstract: Objective** To investigate the effect of telmisartan-activated peroxisome proliferator-activated receptor  $\gamma$  (PPAR $\gamma$ ) on the inflammatory response of rat pulmonary hypertension. **Methods** The rat pulmonary hypertension model was constructed by subcutaneous injection of monocrotaline. The rats were divided into pulmonary hypertension model group, telmisartan treatment group, GW9662 intervention group and blank control group. The treatment group was given telmisartan (10 mg/kg) daily, and the model group was not treated. The intervention group was given GW9662 (5 mg/kg) intraperitoneally on the basis of telmisartan (10 mg/kg) per day. After 3 weeks, the right ventricular systolic pressure, the mean pulmonary artery pressure, the right ventricular hypertrophy index, the pulmonary inflammatory response were observed by HE staining, the levels of TNF- $\alpha$ , IL-6 and MCP-1 in lung tissue homogenate were detected by ELISA, and the expression of PPAR $\gamma$  was detected by Western blot. **Results** There were significant differences in mPAP, RVSP and RVHI levels among the four groups ( $P < 0.05$ ), higher in the model group than in the control group ( $P < 0.05$ ), lower in the treatment group and the

收稿日期: 2019-11-19

\* 基金项目: 河南省医学科技攻关计划项目 (No: 201503133)

[通信作者] 李宏云, E-mail: lhyhxk@163.com; Tel: 13938435526

intervention group than in the model group ( $P < 0.05$ ), and higher in the intervention group than in the treatment group ( $P < 0.05$ ). The relative expression of PPAR  $\gamma$  in the model group and the intervention group was lower than that in the control group ( $P < 0.05$ ), and that in the treatment group was higher than that in the model group ( $P < 0.05$ ). The levels of MCP-1, IL-6 and TNF -  $\alpha$  in the model group, the treatment group and the intervention group were higher than those in the control group ( $P < 0.05$ ), the treatment group and the intervention group were lower than those in the model group ( $P < 0.05$ ), and the intervention group were higher than those in the treatment group ( $P < 0.05$ ). **Conclusions** The preventive effect of telmisartan on monocrotaline-induced pulmonary hypertension in rats may be related to its inhibition of inflammatory response by activation of PPAR $\gamma$ .

**Keywords:** pulmonary arterial hypertension; ppar gamma; inflammation

肺动脉高压指肺动脉压异常升高的一种病理生理状态,其发病机制复杂,尚未完全明确,其中动脉型肺动脉高压(pulmonary hypertension, PH)是最主要类型之一<sup>[1]</sup>。有研究表明,炎症和免疫失衡在肺动脉高压发病中具有重要作用<sup>[2-3]</sup>。替米沙坦是一种特异性血管紧张素 II 受体(AT<sub>1</sub>型)拮抗剂,是目前临床治疗高血压的常用药物<sup>[4]</sup>。已有研究报道替米沙坦可以抑制野百合碱诱导肺动脉高压大鼠肺动脉周围炎症,发挥其肺血管保护作用<sup>[5]</sup>。过氧化体增殖物激活受体  $\gamma$  (peroxisome proliferator-activated receptor- $\gamma$ , PPAR- $\gamma$ ) 是重要的细胞分化转录因子,在脂肪组织、血管平滑肌组织高度表达,具有调节脂肪代谢和炎症、免疫及细胞分化的作用<sup>[6]</sup>。替米沙坦具有 PPAR- $\gamma$  激活作用,本研究通过复制野百合碱诱导大鼠肺动脉高压模型,探讨替米沙坦激活 PPAR- $\gamma$  对肺动脉高压大鼠炎症反应的影响。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验动物

健康雄性清洁级大鼠[SCXK(豫)2017-0001] 32 只,体重 180 ~ 200 g,由郑州大学动物实验中心提供,在郑州大学第五附属医院中心试验室按标准饲料喂养。

### 1.2 试剂与仪器

野百合碱、GW9662 购自美国 MCE 公司,替米沙坦购自德国勃林格殷翰药厂,大鼠 IL-6、单核细胞趋化蛋白-1(monocyte chemotactic protein 1, MCP-1)和 TNF- $\alpha$  酶联免疫吸附试验测定(enzyme linked immunosorbent assay, ELISA)试剂盒购自武汉博士德公司, BL-420E 生物机能实验系统购自成都泰盟科技公司。

### 1.3 动物分组及模型复制

将 32 只大鼠随机分为对照组、模型组、治疗组

及干预组,每组 8 只。对照组皮下注射生理盐水 1 次;模型组皮下注射野百合碱 60 mg/kg 1 次,生理盐水灌胃 3 周。模型组皮下注射野百合碱 60 mg/kg 1 次,复制当日起即开始替米沙坦 10 mg/(kg·d)灌胃 3 周。干预组在治疗组基础上腹腔注射 GW9662 5 mg/(kg·d) 3 周。

### 1.4 血流动力学

干预 3 周后使用 BL-420E 生物机能实验系统,通过右心导管检查测定右心室收缩压(right ventricular systolic pressure, RVSP)和肺动脉平均压(mean pulmonary arterial pressure, mPAP),分离心脏并计算右心室肥大指数(right ventricular hypertrophy index, RVHI)。

### 1.5 肺组织病理学

在左肺门处横剖,4%多聚甲醛固定肺组织,常规脱水,石蜡包埋,连续切片 5  $\mu$ m 厚,行苏木精-伊红(HE)染色,中性树胶封片,光学显微镜下观察各组大鼠肺泡及肺动脉的病理学变化。

### 1.6 ELISA 检测炎症因子

收集各组大鼠肺组织 100 mg,加 1ml 生理盐水制备肺组织匀浆,4 $^{\circ}$ C、120 000 r/min 离心 10 min,取上清液,BCA 法测定蛋白浓度,严格按照试剂盒操作步骤进行检验,酶标仪在 450 nm 波长处检测吸光度值,计算肺组织中 TNF- $\alpha$ 、IL-6 及 MCP-1 蛋白水平。

### 1.7 Western blotting 检测肺组织 PPAR- $\gamma$ 表达

取各组肺组织标本,按照试剂盒说明书提取标本总蛋白及核蛋白。Bradford 法测定蛋白含量。取等量蛋白进行 SDS-PAGE 电泳,将分离后的蛋白转移至 PVDF 膜,加入一抗(PPAR- $\gamma$ ),4 $^{\circ}$ C 孵育过夜,洗膜后室温孵育 1 h,洗膜后 ECL 化学发光显影,以  $\beta$ -actin 为内参,实验重复 3 次。

### 1.8 统计学方法

数据分析采用 SPSS 17.0 软件统计,计量资料

以均数 ± 标准差 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示, 比较用方差分析, 进一步两两比较用 Tukey 法,  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 各组大鼠 mPAP、RVSP 和 RVHI 比较

各组大鼠 mPAP、RVSP 及 RVHI 比较, 经方差分析, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ), 进一步两两比较, 模型组较对照组高 ( $P < 0.05$ ), 治疗组、干预组较模型组低 ( $P < 0.05$ ), 干预组 RVHI 高于治疗组 ( $P < 0.05$ )。治疗组与干预组 mPAP、RVSP 比较, 差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。见表 1。

### 2.2 各组大鼠肺动脉 HE 染色结果

对照组大鼠肺部结构大致正常, 肺泡较完整, 肺动脉管腔较大, 血管平滑肌较均匀, 管壁结构清楚, 管壁及其周围较少炎症细胞浸润 (图 1A)。模型组大鼠肺部结构有不同程度破坏, 肺泡结构紊乱, 肺泡壁

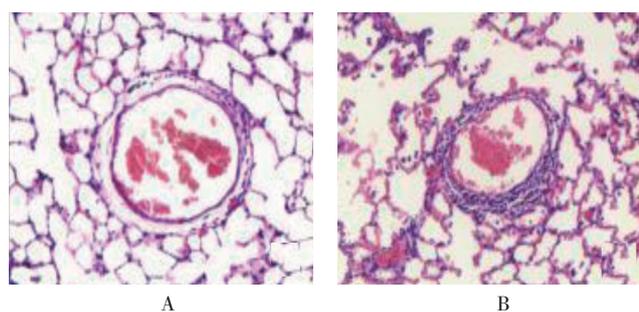
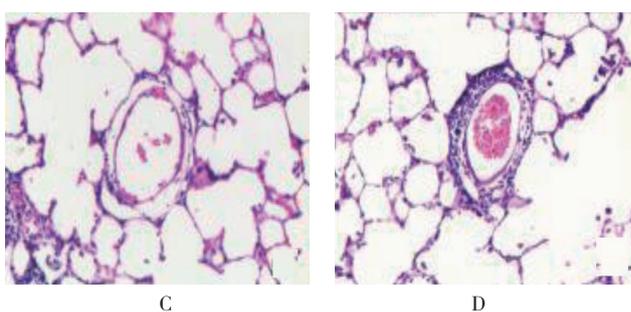


表 1 各组大鼠 mPAP、RVSP 和 RVHI 比较  
( $n = 8, \bar{x} \pm s$ )

组别	mPAP/mmHg	RVSP/mmHg	RVHI
对照组	12.36 ± 3.40	41.56 ± 5.71	0.24 ± 0.02
模型组	38.23 ± 4.95 <sup>①</sup>	68.27 ± 4.86 <sup>①</sup>	0.39 ± 0.02 <sup>①</sup>
治疗组	25.98 ± 4.58 <sup>①②</sup>	53.53 ± 8.39 <sup>①②</sup>	0.30 ± 0.01 <sup>①②</sup>
干预组	27.50 ± 5.45 <sup>①②</sup>	54.48 ± 8.64 <sup>①②</sup>	0.35 ± 0.02 <sup>①②③</sup>
F 值	41.552	19.271	103.478
P 值	0.000	0.000	0.000

注: ①与对照组比较,  $P < 0.05$ ; ②与模型组比较,  $P < 0.05$ ; ③与治疗组比较,  $P < 0.05$ 。

变薄或断裂, 肺动脉有不同程度增生, 平滑肌明显增生肥厚, 管腔狭窄, 管壁及其周围可见较多炎症细胞浸润 (图 1B)。治疗组肺动脉管壁轻度增厚, 动脉周围可见少量炎症细胞浸润 (图 1C); 与之相比, 干预组肺动脉周围炎症细胞浸润明显增多 (图 1D)。



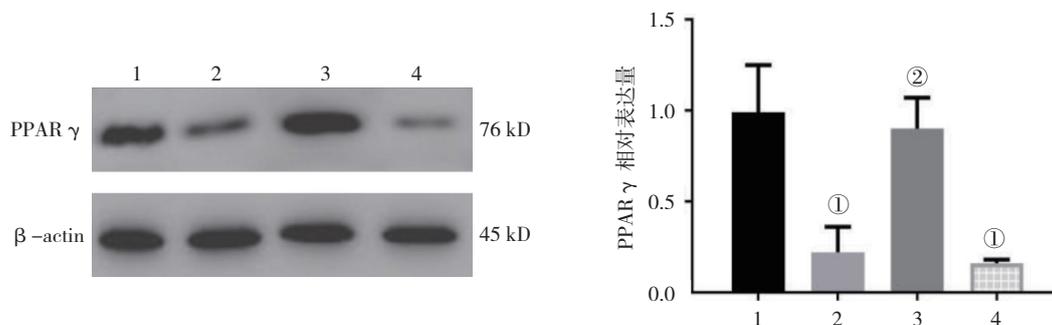
A: 对照组; B: 模型组; C: 治疗组; D: 干预组。

图 1 各组肺动脉病理切片 (HE 染色 × 100)

### 2.3 各组大鼠肺组织 PPAR-γ 相对表达量比较

对照组、模型组、治疗组及干预组大鼠肺组织 PPAR-γ 相对表达量分别为 (0.991 ± 0.226)、(0.227 ± 0.141)、(0.906 ± 0.173) 和 (0.168 ± 0.029),

经方差分析, 差异有统计学意义 ( $F = 50.021, P = 0.000$ )。进一步两两比较经 Tukey 法, 模型组和干预组较对照组降低 ( $P < 0.05$ ), 治疗组较模型组升高 ( $P < 0.05$ )。见图 2。



1: 对照组; 2: 模型组; 3: 治疗组; 4: 干预组。①与对照组比较,  $P < 0.05$ ; ②与模型组比较,  $P < 0.05$ 。

图 2 各组大鼠肺组织 PPAR-γ 相对表达量比较

### 2.4 各组大鼠炎症因子水平比较

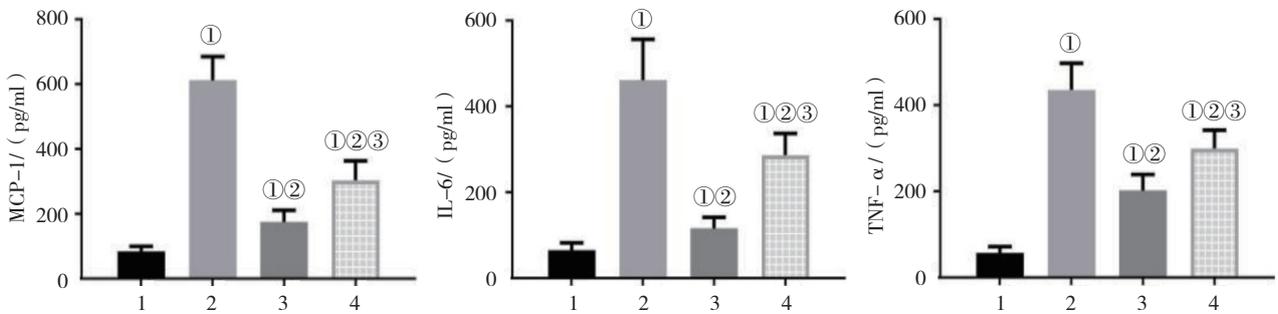
各组大鼠 MCP-1、IL-6 及 TNF- $\alpha$  水平比较, 经方差分析, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。进一步

两两比较, 模型组、治疗组、干预组较对照组升高 ( $P < 0.05$ ), 治疗组、干预组较模型组降低 ( $P < 0.05$ ), 干预组较治疗组升高 ( $P < 0.05$ )。见表 2 和图 3。

表 2 各组大鼠 MCP-1、IL-6、TNF- $\alpha$  水平比较 ( $n=8$ , pg/ml,  $\bar{x} \pm s$ )

分组	MCP-1	IL-6	TNF- $\alpha$
对照组	83.52 $\pm$ 16.15	65.01 $\pm$ 17.45	56.53 $\pm$ 14.98
模型组	612.43 $\pm$ 73.56 <sup>①</sup>	461.40 $\pm$ 95.11 <sup>①</sup>	435.86 $\pm$ 62.04 <sup>①</sup>
治疗组	175.28 $\pm$ 35.49 <sup>①②</sup>	115.87 $\pm$ 25.67 <sup>①②</sup>	201.62 $\pm$ 37.82 <sup>①②</sup>
干预组	303.42 $\pm$ 60.31 <sup>①②③</sup>	286.67 $\pm$ 50.59 <sup>①②③</sup>	299.70 $\pm$ 42.40 <sup>①②③</sup>
F 值	161.472	82.315	112.216
P 值	0.000	0.000	0.000

注: ①与对照组比较,  $P < 0.05$ ; ②与模型组比较,  $P < 0.05$ ; ③与治疗组比较,  $P < 0.05$ 。



1: 对照组; 2: 模型组; 3: 治疗组; 4: 干预组。①与对照组比较,  $P < 0.05$ 。②与模型组比较,  $P < 0.05$ ; ③与治疗组比较,  $P < 0.05$ 。

图 3 各组大鼠 MCP-1、IL-6、TNF- $\alpha$  水平比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

### 3 讨论

本研究中野百合碱注射 3 周后, 模型大鼠肺动脉平滑肌明显增厚, 管腔狭窄, 管壁周围单核细胞浸润明显, 证实野百合碱肺动脉高压大鼠模型复制成功。

有研究表明, 炎症反应在肺动脉高压病理改变的形成中发挥关键作用, 炎症细胞的浸润、迁移和聚集影响肺组织基质重构、胶原沉积及血管平滑肌细胞的增生和迁移, 最终导致肺动脉的重构, 进一步加重肺血管阻力<sup>[7]</sup>。有研究发现肺动脉高压患者的肺动脉丛状病损血管周围有 T 细胞、B 细胞及巨噬细胞等炎症细胞浸润<sup>[8]</sup>。炎症细胞可通过分泌多种细胞因子, 如 IL-1、IL-6、IL-18、MCP-1 及 TNF- $\alpha$  等, 参与炎症反应和肺血管的重组过程<sup>[2]</sup>。

血管紧张素 II 受体阻滞剂已成为治疗心血管疾病如高血压和代谢紊乱的安全、有效的一线临床药物。有研究指出, 替米沙坦可通过其血管紧张素 II 受体 1 型拮抗作用抑制血管肥大、重构、细胞增殖等<sup>[9]</sup>。此外, 替米沙坦还具有抗炎和抗氧化的作用<sup>[10]</sup>。在 GUO

等<sup>[5]</sup> 研究中替米沙坦显著降低了野百合碱肺动脉高压大鼠肺组织炎症因子水平, 并可减轻肺小动脉周围炎症, 与本研究结果一致。然而其抗炎机制尚不完全清楚, 本研究在治疗组中加入 PPAR- $\gamma$  特异性阻断剂 GW9662 后, 发现替米沙坦抗炎作用受到抑制, 提示替米沙坦可能通过抑制 PPAR- $\gamma$  发挥其抗炎作用, 通过抑制肺小动脉周围炎症反应, 改善肺动脉重构, 降低肺动脉压力。

PPAR  $\gamma$  是依赖配体激活的转录因子, 属于核内激素受体超家族, 其对胰岛素敏感组织的糖、脂肪的调节作用已被研究证实<sup>[11-12]</sup>。近年来发现, 其还在基因转录层面上调控多种炎症介质表达, 从而具有抗炎和免疫调节作用<sup>[13]</sup>。RASHID 等<sup>[14]</sup> 的研究发现, 正常肺组织中 PPAR- $\gamma$  受体表达较广泛, 而肺动脉高压患者的肺血管中 PPAR- $\gamma$  基因及蛋白表达明显减少。本研究中, 野百合碱可以导致肺组织中 PPAR- $\gamma$  表达下调, 而替米沙坦可以有效上调 PPAR- $\gamma$  的表达。由此笔者推测, 替米沙坦治疗肺动脉高压的机制

可能与上调 PPAR- $\gamma$  表达从而抑制肺动脉炎症反应有关, 但其机制中是否包括通过上调 PPAR- $\gamma$  从而抑制 MMP-9、血管紧张素 II 受体 1 型 mRNA 等表达, 继而抑制肺动脉平滑肌细胞的增殖, 仍需要进一步研究。LI 等<sup>[15]</sup> 研究发现 PPAR- $\gamma$  激动剂可以降低野百合碱诱导的肺血管重构, 提示 PPAR- $\gamma$  可能是一个潜在的肺动脉高压治疗靶点。

综上所述, 替米沙坦可有效降低野百合碱诱导的大鼠肺动脉高压, 减轻肺血管重构, 其作用机制可能与上调 PPAR- $\gamma$  表达, 从而抑制肺小动脉炎症有关。高 PPAR- $\gamma$  受体活性与血管紧张素 II 受体 1 型拮抗双重作用的新型血管紧张素受体阻滞类药物或将成为研究热点。

#### 参 考 文 献:

- [1] GALIÈ N, HUMBERT M, VACHIERY J L, et al. Erratum: 2015 ESC/ERS guidelines for the diagnosis and treatment of pulmonary hypertension[J]. European Respiratory Journal, 2015, 46(6): 1855-1856.
- [2] RABINOVITCH M, GUIGNABERT C, HUMBERT M, et al. Inflammation and immunity in the pathogenesis of pulmonary arterial hypertension[J]. Circulation research, 2014, 115(1): 165-175.
- [3] de JESUS PEREZ V A. Molecular pathogenesis and current pathology of pulmonary hypertension[J]. Heart Failure Reviews, 2016, 21(3): 239-257.
- [4] PODZOLKOV V I, TARZIMANOVA A I. Telmisartan in the treatment of hypertensive patients[J]. Ter Arkh, 2017, 89: 110-113.
- [5] GUO J, LIU C. Protective effects of telmisartan in a rat model of pulmonary arterial hypertension[J]. Exp Clin Cardiol, 2014, 20: 2429-2437.
- [6] 李雨萌, 孔灵菲. PPAR- $\gamma$ —治疗 COPD 的新靶点 [J]. 国际呼吸杂志, 2017, 37(14): 1087-1090.
- [7] PRICE L C, WORT S J, PERROS F, et al. Inflammation in pulmonary arterial hypertension[J]. Chest, 2012, 141(1): 210-221.
- [8] NICOLLS M R, VOELKEL N F. The roles of immunity in the prevention and evolution of pulmonary arterial hypertension[J]. American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine, 2017, 195(10): 1292-1299.
- [9] 刘蕾, 李敏, 党夏薇, 等. 替米沙坦改善肥胖大鼠瘦素的促血管重构作用 [J]. 中华高血压杂志, 2018, 26(6): 526-534.
- [10] OLA M S, AL-DOSARI D, ALHOMIDA A S. Role of oxidative stress in diabetic retinopathy and the beneficial effects of flavonoids[J]. Current Pharmaceutical Design, 2018, 24(19): 2180-2187.
- [11] MIRZA A Z, ALTHAGAFI I I, SHAMSHAD H. Role of PPAR receptor in different diseases and their ligands: physiological importance and clinical implications[J]. Eur J Med Chem, 2019, 166: 502-513.
- [12] HUANG S, ZHU B, CHEON I S, et al. PPAR- $\gamma$  in macrophages limits pulmonary inflammation and promotes host recovery following respiratory viral infection[J]. Journal of Virology, 2019, 93(9): DOI: 10.1128/JVI.00030-19.
- [13] NOBS S P, NATALI S, POHLMEIER L, et al. PPAR- $\gamma$  in dendritic cells and T cells drives pathogenic type-2 effector responses in lung inflammation[J]. Journal of Experimental Medicine, 2017, 214(10): 3015-3035.
- [14] RASHID J, ALOBAIDA A, AL-HILAL T A, et al. Repurposing rosiglitazone, a PPAR- $\gamma$  agonist and oral antidiabetic, as an inhaled formulation, for the treatment of PAH[J]. Journal of Controlled Release, 2018, 280: 113-123.
- [15] LI H, LU W, CAI W W, et al. Telmisartan attenuates monocrotaline-induced pulmonary artery endothelial dysfunction through a PPAR- $\gamma$  dependent PI3K/Akt/eNOS pathway[J]. Pulmonary Pharmacology & Therapeutics, 2014, 28(1): 17-24.

(李科 编辑)

本文引用格式: 苗少一, 郭迪, 杨闪闪, 等. 替米沙坦对野百合碱诱导大鼠肺动脉高压的影响及机制研究 [J]. 中国现代医学杂志, 2020, 30(10): 1-5.