# 丁苯酞对自发性高血压大鼠心肌损伤的影响研究

苗永利[1]，梁　娟[2]，张艳国[1]
（1. 邯郸市第一医院急诊科，河北邯郸 056001；2. 邯郸市第一医院心内四科，河北邯郸 056001）

**摘要：目的** 探究丁苯酞（butylphthalide，NBP）对自发性高血压大鼠（spontaneously hypertensive rat，SHR）心肌损伤的影响，并探讨其对核因子（nuclear factor，NF）-κB/NOD 样受体热蛋白结构域（NOD-like receptor pyrin domain containing，NLRP）3 通路的调控作用。**方法** 将 SHR 分为模型组、卡托普利（captopril，Cap）组、低中高剂量 NBP（20、40、80 mg/kg）组，食用油溶解后灌胃给药，每组 7 只；另选取 7 只雄性 Wistar-Kyoto 大鼠作为对照组，对照组和模型组均给予等量的食用油。给药 5 周后，称量体质量、左心室重量，计算左心室重量指数；测量收缩压、舒张压、左室舒张末压；苏木精 - 伊红染色观察心脏组织病理学变化；酶联免疫吸附试验检测透明质酸（hyaluronic acid，HA）和Ⅲ型胶原 *N* 端肽（type Ⅲ collagen *N*-terminal peptide，P Ⅲ NP）水平；定量反转录聚合酶链反应和蛋白免疫印迹检测 NF-κB/NLRP3/ 白介素（interleukin，IL）-1β 信使 RNA（messenger RNA，mRNA）和蛋白水平。**结果** 与对照组相比，模型组心肌纤维广泛溶解、排列紊乱，间质受损，心脏组织中 HA、PIIINP、NF-κB、NLRP3、IL-1β mRNA 及蛋白水平均显著升高（$P < 0.01$）；与模型组相比，Cap 组、低中高剂量 NBP 组大鼠心肌损伤改善，HA、PIIINP、NF-κB、NLRP3、IL-1β mRNA 及蛋白水平显著降低（$P < 0.01$）。**结论** NBP 可能通过抑制 NF-κB/NLRP3/IL-1β 通路表达来减轻 SHR 心肌纤维化及炎症损伤程度，从而达到保护心脏的作用。

**关键词：**丁苯酞；自发性高血压大鼠；心肌损伤；核因子 -κB；NOD 样受体热蛋白结构域 3；白介素 -1β
**中图分类号：**R285.5　　**文献标志码：**A　　**文章编号：**1672-9188（2023）03-0229-08
DOI：10.13683/j.wph.2023.03.006



# Study on the therapeutic effects of butylphthalide on myocardial injury in spontaneously hypertensive rats

MIAO Yongli[1], lIANG Juan[2], ZHANG Yanguo[1]
(*1. Department of Emergency, Handan First Hospital, Handan 056001, Hebei Province, China;*
*2. Department of Cardiology Four, Handan First Hospital, Handan 056001, Hebei Province, China*)

**Abstract:** ***Objective*** To investigate the effects of butylphthalide（NBP） on myocardial injury in spontaneously hypertensive rats（SHR） and its regulation on nuclear factor（NF）-κB/NOD-like receptor pyrin domain containing（NLRP） 3 pathway. ***Methods*** SHR were divided into model group, captopril（Cap） group and low, medium and high dose NBP（20, 40, 80 mg/kg） groups. After dissolving the drugs with edible oil, the rats were given by gavage（7 rats/group）. Seven male Wistar-Kyoto rats were selected as the control group, both control group and model group were given the same amount of edible oil. After 5 weeks of administration, the body weight and left ventricular weight were measured, and the left ventricular mass index was calculated. Systolic blood pressure, diastolic blood pressure, left ventricular end diastolic pressure were measured. Hematoxylin-eosin staining was used to observe the pathological changes of the heart. Enzyme-linked immunosorbent assay was used to detecte the levels of hyaluronic acid（HA） and type Ⅲ collagen *N*-terminal peptide（PⅢNP）. Quantitative reverse transcription polymerase chain reaction and western blot were used to detect the messenger RNA（mRNA） and protein levels of NF-κB/NLRP3/IL-1β. ***Results*** Compared with the control group, myocardial

**收稿日期：**2021-12-09；**修回日期：**2022-12-12
**作者简介：**苗永利，主治医师，研究方向：急诊科疾病的诊治。
**基金项目：**河北省医学科学研究重点课题计划（20160026）

fibers in the model group were widely dissolved, arranged disorderly, and interstitial was damaged, the mRNA and protein levels of HA, PⅢNP, NF-κB, NLRP3 and IL-1β in heart tissue were significantly increased（$P<0.01$）. Compared with the model group, the myocardial injury was improved in Cap group and low, medium and high dose NBP groups, the mRNA and protein levels of HA, PⅢNP, NF-κB, NLRP3 and IL-1β were significantly decreased（$P<0.01$）. ***Conclusions*** NBP may reduce the degree of myocardial fibrosis and myocardial inflammatory damage in SHR by inhibiting the expression of NF-κB/NLRP3/IL-1β pathway, so as to protect the heart.

**Key words:** butylphthalide; spontaneously hypertensive rat; myocardial injury; nuclear factor-κB; NOD-like receptor pyrin domain containing 3; interleukin-1β



高血压是一种临床常见的慢性非传染性疾病，是以动脉血压持续升高为特征的心血管综合征，是我国心脑血管疾病的主要危险因素[1]。研究显示，高血压可通过诱导炎症小体NOD样受体热蛋白结构域（NOD-like receptor pyrin domain containing，NLRP）3的表达，促进白介素（interleukin，IL）-1β的释放，引起心脏组织中巨噬细胞炎性浸润，最终导致心脏组织损伤和纤维化[2—3]。由于目前尚缺乏心脏纤维化的有效疗法，因此需要研究潜在的治疗药物及靶标。

丁苯酞（butylphthalide，NBP）是一种从芹菜籽中提取的化合物，可有效降低高血压脑出血患者的动态血压，减轻脑组织周围水肿[4—5]。此外，NBP还可通过降低血清肿瘤坏死因子（tumor necrosis factor，TNF）-α、IL-6等炎症因子水平，改善心脏骤停（cardiac arrest，CA）复苏后家兔的炎症反应和脑损伤[6]。因此，推测NBP可能具有减轻炎症所致心脏纤维化的作用。核因子（nuclear factor，NF）-κB被认为是调节炎症反应的重要因子，活化的NF-κB能够促进TNF-α表达，激活NLRP3炎症小体的形成，参与炎症反应[7—8]。有学者认为，抑制NF-κB/NLRP3/IL-1β通路激活可减轻自发性高血压大鼠（spontaneously hypertensive rat，SHR）心肌组织炎症反应，并起到降血压的作用[2]。因此，本研究基于SHR模型，探究了NBP对SHR心肌损伤及NF-κB/NLRP3通路的影响，以期为治疗自发性高血压所造成的心肌损伤提供进一步的参考。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

#### 1.1.1 动物

13周龄无特定病原体级雄性SHR 35只，同周龄雄性Wistar-Kyoto（WKY）大鼠7只，体质量143～182 g，由北京维通利华实验动物技术有限公司提供，生产证号为SCXK（京）2016-0006，于本院科研中心动物室饲养，使用许可证号为：SYXK（冀）2016-0045。温度保持25 ℃，湿度为60%。

#### 1.1.2 药品及试剂

NBP（0.1 g×24粒，20150323，石药集团恩必普药业有限公司）；卡托普利（captopril，Cap）（25 mg×100 s/盒，32023731，常州制药厂有限公司）；透明质酸（hyaluronic acid，HA）（上海广锐生物科技有限公司）；Ⅲ型胶原*N*端肽（type Ⅲ collagen *N*-terminal peptide，P Ⅲ NP）（武汉菲恩生物科技有限公司）；兔抗鼠NF-κB、NLRP3及IL-1β一抗（货号ab145954、ab263899、ab200478，Abcam公司），羊抗兔免疫球蛋白EnVison二抗（货号7074P2，美国CST公司），逆转录试剂盒、聚合酶链式反应（polymerase chain reaction，PCR）试剂及Taq DNA聚合酶（Fermentas公司）；Trizol试剂（美国Invitrogen公司）；荧光定量试剂盒（大连TaKaRa公司）；苏木精-伊红（hematoxylin-eosin，HE）染色试剂盒（德国默克公司）；BCA试剂盒（美国赛默飞公司）；考马斯亮蓝试剂盒（上海康朗生物科技有限公司）。

**1.1.3** 实验设备

无创血压测量仪（CODA7m，Kent Scientific 公司）；GIS-500 凝胶成像仪（1708195，上海艾研生物科技有限公司）；CS-400B 全自动生化仪（HC01400124，上海寰熙医疗器械）；CX43 光学显微镜（济南欧莱博电子商务有限公司）；SDS-PAGE 电泳仪（JY-SCZ2+、JY-ZY5，北京君意生物科技有限公司）。

**1.2** 方法

**1.2.1** 动物模型的分组、剂量设置及给药方法

所有大鼠适应性观察喂养 1 周，7 只 WKY 大鼠作为对照组，SHR 随机分为模型组、Cap 组、低中高剂量 NBP 组，每组各 7 只。参考文献 [9] 低中高剂量 NBP 组用 NBP 灌胃（将 NBP 稀释于食用大豆油中制成 8 mg/ml 的 NBP 溶液备用，剂量分别为 20 mg/kg、40 mg/kg、80 mg/kg），参考文献 [10]Cap 用食用大豆油溶液稀释，按照 10.5 mg/kg 浓度给药，一日 1 次，持续 5 周，对照组和模型组给予等量的食用大豆油。

**1.2.2** 左心功能检测及 HE 染色观察大鼠心脏组织病理学变化

给药 5 周后的大鼠以 1% 戊巴比妥钠 0.4 ml/100 g 腹腔注射麻醉，麻醉生效后，称取大鼠体质量，然后从颈总动脉插管至左心室，测量左心室血压，然后迅速取出心脏，用预冷的生理盐水冲洗干净，滤纸吸干；沿房室交界处剪去心房，沿室间隔剪去右心室，保留室间隔和左心室肌，滤纸吸干后称取左心室重量（left ventricular mass，LVM），计算左心室重量指数（left ventricular mass index，LVMI = LVM/ 体质量）。取大鼠左心尖约 100 mg 组织样本放入 4% 多聚甲醛溶液固定，制备石蜡切片，在二甲苯中固定 30 min，随后在质量分数为 100%、95%、85%、75% 的乙醇溶液中分别脱水 5 min；蒸馏水冲洗后，加入苏木素染色 10 min，随后置于 1% 盐酸 5 s 后，蒸馏水进行冲洗。滴加伊红染液进行复染 5 min，在不同浓度的乙醇溶液中脱水 2 min，加入二甲苯进行透明处理，滴加中性树脂封片，置于光学显微镜下进行观察。

**1.2.3** 大鼠左心室 HA、P Ⅲ NP 含量的测定

用手术剪剪取大鼠心肌组织 50 ～ 60 mg 加入 1 ml 磷酸盐缓冲液，研磨成匀浆，4 ℃低速离心 10 min，取上清液。BCA 法测定待测样品中总蛋白浓度。用磷酸盐缓冲液将总蛋白浓度稀释为 0.2 μg/μl，然后按照 HA、P Ⅲ NP 试剂盒说明进行操作检测。

**1.2.4** 定量反转录 PCR（quantitative reverse trans-criptase-mediated polymerase chain reaction，qRT-PCR）检测大鼠心脏组织中 NF-κB/NLRP3 及 IL-1β 信使 RNA（messenger RNA，mRNA）水平

大鼠处死后取心脏组织约 100 mg，按照 TRIzol 法提取总 RNA，分光光度计测总 RNA 纯度及浓度，根据逆转录试剂盒说明将 RNA 反转录为互补 DNA。参照 SYBR Premix Ex Taq TM 试剂盒说明书进行 qRT-PCR 反应，反应体系为 20 μl：2×SYBR Mix 10 μl，$H_2O$ 8 μl，上下游引物各 0.5 μl，模板 1 μl。反应条件为：95 ℃预变性 5 min，95 ℃变性 10 s、60 ℃退火 30 s，72 ℃ 2 min，40 个循环，72 ℃延伸 10 min。以 *GAPDH* 基因为内参，采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 方法计算心脏组织中 NF-κB、NLRP3 及 IL-1β mRNA 相对

**表 1 qRT-PCR 引物**

**Table 1 Primers for qRT-PCR**

| 基因 | 正向引物5'-3' | 反向引物5'-3' |
|---|---|---|
| *NF-κB* | TCAAGCCTAAGGCCTTAAGG | GAACCTGGCAATCCTGAAGA |
| *NLRP3* | CGTGGAGAACCTGACCGC | CTCCAGAGCCCTGGTGCG |
| *IL-1β* | TGAAGCAGCTATGGCAACTG | CTGCCTTCCTGAAGCTCTTG |
| *GAPDH* | GGAGCGAGATCCCTCCAAAAT | GGCTGTTGTCATACTTCTCATGG |

表达量。

**1.2.5** 蛋白免疫印迹（western blot，WB）检测大鼠心脏组织中 NF-κB、NLRP3 及 IL-1β 蛋白表达

取大鼠心脏组织约 100 mg 剪碎，添加蛋白裂解液置于冰上 30 min，离心后收集上清液，参照 BCA 试剂盒测定心脏组织中蛋白总浓度，配制 10% 分离胶、5% 浓缩胶，取 50 μg 蛋白上样，待蛋白样品刚进入浓缩胶时电压设置为 80 V，进入分离胶后，电压升高至 120 V，电泳结束后，将目的条带凝胶切除，目的蛋白凝胶转移到 PVDF 膜上，加入 5% 脱脂牛奶室温下进行 1 h 封闭，TBST 溶液清洗后，加入一抗（NF-κB、NLRP3 及 IL-1β 抗体，稀释倍数 1 ∶ 500），4 ℃过夜，TBST 清洗后加入 NF-κB/NLRP3 及 IL-1β 羊抗兔免疫球蛋白 G 二抗（稀释倍数 1 ∶ 10 000），室温下孵育 2 h，TBST 清洗后 ECL 显色后置于凝胶成像仪中观察各组蛋白表达情况。实验采用 Image J 软件对 WB 条带进行采集分析，并计算目的条带与相应内参 GAPDH 的比值。

**1.3** 统计学分析

实验数据采用 SPSS22.0 软件进行统计，均符合正态分布，计量资料以（$\bar{x}\pm s$）表示，多组间比较采用单因素方差分析，组内有差异进一步采用 LSD-$t$ 法进行检验，当 $P<0.05$ 为差异有统计学意义；两两比较时使用 Bonferroni 方法对显著性水平 α 进行调整，当 $P<0.01$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1** NBP 对各组大鼠血压的影响

与对照组相比，模型组大鼠收缩压和舒张压均升高（$P<0.01$）；与模型组相比，低中高剂量 NBP 组及 Cap 组收缩压和舒张压均降低（$P<0.01$）；与 Cap 组相比，低中剂量 NBP 组大鼠收缩压和舒张压均升高（$P<0.01$），高剂量 NBP 组收缩压和舒张压差异无统计学意义（$P>0.05$），见表 2。

**表 2 NBP 一日 1 次，连续经口灌胃 5 周对各组大鼠血压的影响**

**Table 2 Effects of NBP on blood pressure of rats in each group after oral gavage for 5 weeks, once a day**

| 组别 | 收缩压/mmHg | 舒张压/mmHg |
|---|---|---|
| 对照组（$n$=7） | 135.42±13.73 | 86.14±7.35 |
| 模型组（$n$=7） | 196.13±21.61* | 151.76±18.43* |
| 低剂量 NBP 组（$n$ = 7） | 185.43±20.14$^{\#\&}$ | 148.75±16.48$^{\#\&}$ |
| 中剂量 NBP 组（$n$ = 7） | 168.47±16.79$^{\#\&}$ | 126.16±14.84$^{\#\&}$ |
| 高剂量 NBP 组（$n$ = 7） | 153.74±15.42$^{\#}$ | 115.46±11.36$^{\#}$ |
| Cap 组（$n$ = 7） | 149.76±14.11$^{\#}$ | 103.49±10.49$^{\#}$ |
| $F$ 值 | 12.423 | 24.573 |
| $P$ 值 | <0.001 | <0.001 |

注：与对照组比较，*$P$<0.01；与模型组比较，$^{\#}P$<0.01；与Cap组比较，$^{\&}P$<0.01。

Note: *vs* the control group, *$P$<0.01; *vs* the model group, $^{\#}P$<0.01; *vs* the Cap group, $^{\&}P$<0.01.

**2.2** NBP 对各组大鼠 LVMI 的影响

与对照组相比，模型组大鼠左室舒张末压（left ventricular end-diastolic，LVEDP）、LVMI 均升高（$P<0.01$）。与模型组相比，低中高剂量 NBP 组及 Cap 组大鼠 LVEDP、LVMI 均降低（$P<0.01$）。与 Cap 组相比，低中剂量 NBP 组大鼠 LVEDP、LVMI 均升高（$P<0.01$），高剂量 NBP 组差异无统计学意义（$P>0.05$），见表 3。

**表 3 NBP 一日 1 次，连续经口灌胃 5 周对各组大鼠 LVMI 的影响**

**Table 3 Effects of NBP on LVMI of rats in each group after oral gavage for 5 weeks, once a day**

| 组别 | LVEDP/mmHg | LVMI |
|---|---|---|
| 对照组（$n$=7） | 11.89±2.35 | 0.23±0.04 |
| 模型组（$n$=7） | 26.73±3.68* | 0.35±0.09* |
| 低剂量 NBP 组（$n$ = 7） | 19.76±2.41$^{\#\&}$ | 0.31±0.08$^{\#\&}$ |
| 中剂量 NBP 组（$n$ = 7） | 15.84±2.16$^{\#\&}$ | 0.28±0.05$^{\#\&}$ |
| 高剂量 NBP 组（$n$ = 7） | 12.03±2.31$^{\#}$ | 0.24±0.04$^{\#}$ |
| Cap 组（$n$ = 7） | 11.76±2.19$^{\#}$ | 0.23±0.03$^{\#}$ |
| $F$ 值 | 37.956 | 4.830 |
| $P$ 值 | <0.001 | 0.002 |

注：与对照组比较，*$P$<0.01；与模型组比较，$^{\#}P$<0.01；与Cap组比较，$^{\&}P$<0.01。

Note: *vs* the control group, *$P$<0.01; *vs* the model group, $^{\#}P$<0.01; *vs* the Cap group, $^{\&}P$<0.01.

**2.3** NBP 对各组大鼠左心室形态学的影响

对照组大鼠心肌纤维排列有序、心肌细胞结构

完整，胞浆染色均匀。细胞核正常，核仁清晰。模型组大鼠心肌组织出现分离、萎缩，心肌纤维溶解、排列紊乱、界限不清、间质水肿等。低中剂量 NBP 组大鼠心肌纤维排列较整齐，界限逐渐清晰，少数心肌纤维排列紊乱，有部分间质水肿；高剂量 NBP 及 Cap 组大鼠心肌纤维与对照组相似，心肌纤维排列有序，核仁清晰，见图 1。

**2.4** NBP 对各组大鼠左心室 HA、P Ⅲ NP 含量的影响

与对照组相比，模型组大鼠左心室组织中 HA、P Ⅲ NP 均升高（$P < 0.01$）。与模型组相比，低中高剂量 NBP 组及 Cap 组大鼠 HA、P Ⅲ NP 均降低（$P < 0.01$）。与 Cap 组相比，低中剂量 NBP 组大鼠 HA、PIIINP 均升高（$P < 0.01$），高剂量 NBP 组差异无统计学意义（$P > 0.05$），见表 4。

**2.5** 各组大鼠心脏组织中 NF-κB、NLRP3 及 IL-1β mRNA 水平的检测

与对照组相比，模型组大鼠心脏组织中 NF-κB、NLRP3 及 IL-1β mRNA 水平均升高（$P < 0.01$）。与模型组相比，低中高剂量 NBP 组及 Cap 组大鼠 NF-κB、NLRP3 及 IL-1β mRNA 水平均减低（$P < 0.01$）。与 Cap 组相比，低中剂量 NBP 组 NF-κB、NLRP3 及

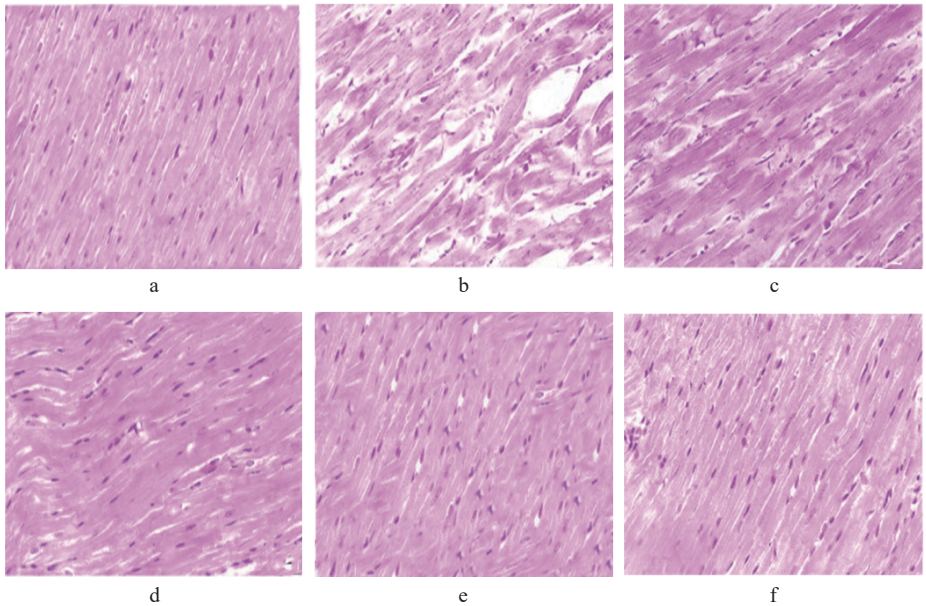
**表 4 NBP 一日 1 次，连续经口灌胃 5 周对各组大鼠左心室 HA、PIIINP 含量的影响**

**Table 4 Effects of NBP on the content of HA and PIIINP in the left ventricle of rats in each group after oral gavage for 5 weeks, once a day**

| 组别 | HA/ng·ml$^{-1}$ | PIIINP/nmol·L$^{-1}$ |
|---|---|---|
| 对照组（$n$=7） | 7.95±1.03 | 6.16±0.91 |
| 模型组（$n$=7） | 13.69±2.06* | 14.16±2.42* |
| 低剂量 NBP 组（$n$ = 7） | 11.48±1.86$^{\#\&}$ | 12.48±2.05$^{\#\&}$ |
| 中剂量 NBP 组（$n$ = 7） | 9.83±1.61$^{\#\&}$ | 10.43±1.78$^{\#\&}$ |
| 高剂量 NBP 组（$n$ = 7） | 8.65±1.26$^{\#}$ | 8.06±1.04$^{\#}$ |
| Cap 组（$n$ = 7） | 8.35±1.08$^{\#}$ | 7.89±0.95$^{\#}$ |
| $F$ 值 | 14.634 | 24.347 |
| $P$ 值 | <0.001 | <0.001 |

注：与对照组比较，*$P$<0.01；与模型组比较，$^{\#}P$<0.01；与Cap组比较，$^{\&}P$<0.01。

Note: *vs* the control group, *$P$<0.01; *vs* the model group, $^{\#}P$<0.01; *vs* the Cap group, $^{\&}P$<0.01.




注：a：对照组；b：模型组；c：低剂量 NBP 组；d：中剂量 NBP 组；e：高剂量 NBP 组；f：Cap 组。

Note: a: control group; b: model group; c: low dose NBP group; d: middle dose NBP group; e: high dose NBP group; f: Cap group.

**图 1 NBP 一日 1 次，连续经口灌胃 5 周对各组大鼠左心室形态学的影响**（×200）

**Figure 1 Effects of NBP on left ventricular morphology of rats in each group after oral gavage for 5 weeks, once a day**（×200）

IL-1β mRNA 水平均升高（$P < 0.01$）；高剂量 NBP 组差异无统计学意义（$P > 0.05$），见表 5。

**表 5 各组大鼠一日 1 次，连续经口灌胃 5 周其心脏组织中 NF-κB/NLRP3 及 IL-1β mRNA 水平的检测**

**Figure 5 The mRNA levels of NF-κB/NLRP3 and IL-1β in heart tissues of each group rats after oral gavage for 5 weeks, once a day**

| 组别 | NF-κB/GAPDH | NLRP3/GAPDH | IL-1β/GAPDH |
|---|---|---|---|
| 对照组（$n$=7） | 1.02±0.14 | 1.00±0.12 | 1.02±0.13 |
| 模型组（$n$=7） | 3.81±0.64* | 2.85±0.31* | 4.38±0.45* |
| 低剂量 NBP 组（$n$ = 7） | 2.85±0.42$^{\#\&}$ | 1.74±0.22$^{\#\&}$ | 3.25±0.31$^{\#\&}$ |
| 中剂量 NBP 组（$n$ = 7） | 2.02±0.38$^{\#\&}$ | 1.52±0.16$^{\#\&}$ | 2.41±0.28$^{\#\&}$ |
| 高剂量 NBP 组（$n$ = 7） | 1.52±0.31$^{\#}$ | 1.26±0.15$^{\#}$ | 1.32±0.21$^{\#}$ |
| Cap 组（$n$ = 7） | 1.45±0.24$^{\#}$ | 1.15±0.14$^{\#}$ | 1.21±0.16$^{\#}$ |
| $F$ 值 | 50.356 | 83.983 | 163.443 |
| $P$ 值 | <0.001 | <0.001 | <0.001 |

注：与对照组比较，*$P$<0.01；与模型组比较，$^{\#}P$<0.01；与Cap组比较，$^{\&}P$<0.01。

Note: *vs* the control group, *$P$<0.01; *vs* the model group, $^{\#}P$<0.01; *vs* the Cap group, $^{\&}P$<0.01.

### 2.6 各组大鼠心脏组织中 NF-κB/NLRP3 及 IL-1β 蛋白表达水平

与对照组相比，模型组大鼠心脏组织中 NF-κB、NLRP3 及 IL-1β 蛋白水平均升高（$P < 0.01$）。与模型组相比，低中高剂量 NBP 组及 Cap 组 NF-κB、NLRP3 及 IL-1β 水平均减低（$P < 0.01$）。与 Cap 组相比，低中剂量 NBP 组 NF-κB、NLRP3 及 IL-1β 蛋白水平均升高（$P < 0.01$），高剂量 NBP 组差异无统计学意义（$P > 0.05$），见表 6 和图 2。

**表 6 各组大鼠一日 1 次，连续经口灌胃 5 周对其心脏组织中 NF-κB/NLRP3 及 IL-1β 蛋白表达水平的影响**

**Figure 6 Effects of oral gavage on expression levels of NF-κB/NLRP3 and IL-1β in heart tissue of rats in each group once a day for 5 weeks**

| 组别 | NF-κB | NLRP3 | IL-1β |
|---|---|---|---|
| 对照组（$n$=7） | 1.05±0.07 | 0.85±0.09 | 0.29±0.05 |
| 模型组（$n$=7） | 1.68±0.18* | 1.45±0.18* | 0.95±0.14* |
| 低剂量 NBP 组（$n$ = 7） | 1.52±0.15$^{\#\&}$ | 1.35±0.16$^{\#\&}$ | 0.75±0.22$^{\#\&}$ |
| 中剂量 NBP 组（$n$ = 7） | 1.31±0.13$^{\#\&}$ | 1.12±0.13$^{\#\&}$ | 0.61±0.13$^{\#\&}$ |
| 高剂量 NBP 组（$n$ = 7） | 1.16±0.11$^{\#}$ | 0.96±0.12$^{\#}$ | 0.51±0.12$^{\#}$ |
| Cap 组（$n$ = 7） | 1.13±0.09$^{\#}$ | 0.91±0.11$^{\#}$ | 0.43±0.09$^{\#}$ |
| $F$ 值 | 26.308 | 23.269 | 21.218 |
| $P$ 值 | <0.001 | <0.001 | <0.001 |

注：与对照组比较，*$P$<0.01；与模型组比较，$^{\#}P$<0.01；与Cap组比较，$^{\&}P$<0.01。

Note: *vs* the control group, *$P$<0.01; *vs* the model group, $^{\#}P$<0.01; *vs* the Cap group, $^{\&}P$<0.01.

## 3 讨论

SHR 来源于 Wistar 京都种大鼠，这种大鼠能自

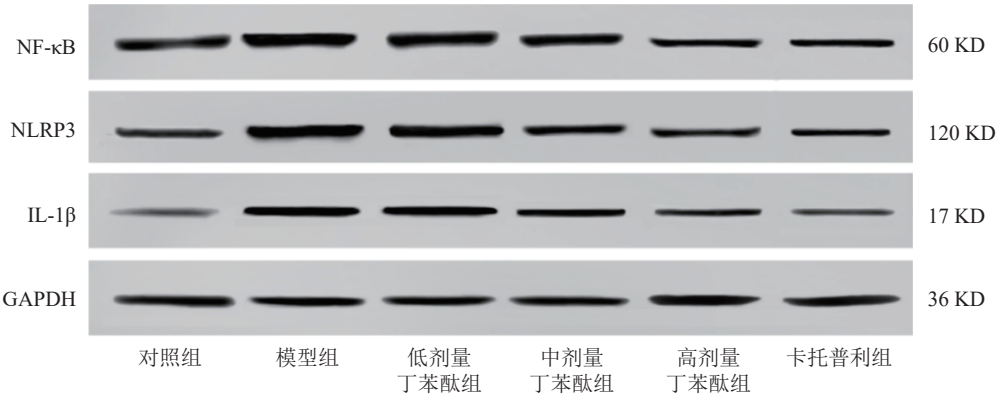



**图 2 各组大鼠一日 1 次，连续经口灌胃 5 周其心脏组织中 NF-κB/NLRP3 及 IL-1β 蛋白表达**

**Figure 2 The expression of NF-κB/NLRP3 and IL-1β in heart tissues of rats in each group were orally administered once a day for 5 weeks**

发形成高血压，而不需要任何诱因就产生高血压并发症，其高血压性血管病变与人类十分相似，是研究高血压发病机制和筛选降压药物较为理想的动物模型[11]。高血压是普通人群中最常见的可改变的危险因素之一，与心血管疾病发病率和死亡率的增加密切相关，且独立于年龄和性别。事实上，高血压水平与主要心血管结局风险的增加有关，包括心肌梗死（myocardial infarction，MI）、心力衰竭（heart failure，HF）等心血管疾病[12]。鉴于人口的逐步老龄化，心血管疾病、代谢危险因素以及合并症的患病率日益增加，早期发现和及时控制血压是降低心血管疾病发病率和死亡率的关键。

研究显示，心肌组织中 NF-κB、TNF-α、IL-1β 等炎症因子水平过高可导致心肌纤维化改变，而心肌纤维化是心室重构的重要病理基础，且可反映高血压靶器官损伤情况[13]。NF-κB/NLRP3 通路可调控多种促炎细胞因子如 IL-1β、IL-18 等的成熟和分泌，与包括高血压在内的多种心血管系统疾病的发生发展有关[2]。NBP 是芹菜籽的提取物，能够扩张血管，具有降血压的作用，是临床治疗高血压的常用药[14]。研究结果显示，NBP 可通过激活 NF E2 相关因子 2（nuclear factor erythroid 2-related factor 2，Nrf2）/ 抗氧化反应元件（anti-oxidative response element，ARE）信号通路来改善慢性 HF 大鼠心功能，抑制氧化应激及心肌细胞凋亡，改善心肌损伤[15]。还有研究发现，NBP 可改善 HF 大鼠心肌纤维化及心功能[16]。本研究显示，NBP 可显著降低 SHR 血压，改善心肌肥厚，促进心脏恢复；病理学结果也显示，NBP 组随药物剂量的升高，大鼠心肌组织分离、萎缩，心肌纤维溶解、间质水肿现象得到改善，心肌纤维排列逐渐整齐，界限逐渐清晰。提示 NBP 可有效减轻 SHR 心肌纤维化程度，改善心肌损伤。

HA 是一种主要的大分子黏性糖胺聚糖，是心肌细胞外基质的重要构成部分，当心肌细胞受损时，HA 的合成量增加，降解量减少[17]。研究显示，Ⅲ型胶原在大鼠心肌成纤维细胞纤维化过程中合成明显增加，抑制Ⅲ型胶原的表达可显著改善大鼠心肌成纤维细胞纤维化[18]。NLRP3 是炎症小体的重要成员之一，负责炎症反应的激活，介导 IL-1β 的裂解和激活，从而导致一个复杂的细胞反应网络，引发局部或全身炎症反应[19]。在 MI 小鼠模型中，NF-κB 抑制剂可减轻脂多糖诱导的心肌细胞 NLRP3 的升高和细胞死亡，激活 NF-κB/NLRP 通路将加剧心脏纤维化及心脏重构[20]。因此，探究心脏的病理性损害，可能与心脏炎症反应及心肌纤维化病变密切相关。本研究显示，NBP 组大鼠较模型组大鼠心脏组织中 HA、P Ⅲ NP、NF-κB、NLRP3 及 IL-1β mRNA 和蛋白水平均降低，而高剂量组上述指标较 Cap 组差异无统计学意义。提示 NBP 可能通过抑制 NF-κB/NLRP3/IL-1β 信号通路，降低 SHR 心脏组织 HA、P Ⅲ NP 的表达，改善 SHR 心脏炎症反应及纤维化水平，达到保护心脏、防止心脏损伤的效果。

## 4 结论

综上所述，NBP 可能通过抑制 NF-κB/NLRP3/IL-1β 通路，改善 SHR 心脏纤维化程度，进而减缓 SHR 心脏损伤进程，达到保护心脏的作用。但本研究并未设计通路抑制剂进行验证，有待后续深入研究。

## 参考文献：

[1] 庞明洋, 李婷, 丁翔, 等. 血清补体 1q 水平对原发性高血压患者并发心血管疾病的评估价值[J]. 中国心血管病研究, 2020, 18(5): 418-423.

[2] 翟昌明, 鲁放, 张双, 等. 三草降压汤对自发性高血压大鼠心脏 NF-κB/NLRP3/IL-1β 信号通路的影响[J]. 环球中医药, 2019, 12(8): 1143-1148.

[3] 叶雲, 周至品. NLRP3 炎症小体与高血压病的相关性研究[J]. 大众科技, 2020, 22(3): 68-71.

[4] 石磊, 李纬. 丁苯酞治疗急性缺血性脑卒中的临床效果[J]. 河南医学研究, 2019, 28(2): 97-99.

[5] 黄会芳, 林郁宵. 丁苯酞对高血压脑出血患者血肿周围水肿及动态血压的影响[J]. 中国综合临床, 2018, 34(6): 536-540.

[6] 杨虹, 成静, 陈芳, 等. 丁苯酞对家兔心脏骤停复苏后炎症

反应和脑损伤的作用[J]. 中国急救医学, 2019, 39(8): 793-797.

[7] 雷莉妍, 王瑞成, 周瑞, 等. 基于 NF-κB 通路的芒果苷干预脂多糖诱导的细胞炎症作用机制研究[J]. 中国中西医结合杂志, 2019, 39(5): 597-602.

[8] An Y, Zhang H, Wang C, *et al*. Activation of ROS/MAPKs/NF-κB/NLRP3 and inhibition of efferocytosis in osteoclast-mediated diabetic osteoporosis[J]. FASEB J, 2019, 33(11): 12515-12527.

[9] 周菲, 张敬文, 王卫. 丁苯酞对大鼠心肌缺血再灌注损伤的预防作用及机制研究[J]. 中国药房, 2017, 28(25): 3518-3521.

[10] 胡小勤, 邓家刚, 杜正彩, 等. 芒果苷联合葛根素对自发性高血压大鼠心脏炎性损伤的协同保护作用[J]. 中国实验方剂学杂志, 2017, 23(9): 146-151.

[11] 雷爽, 苗竞, 韩新民, 等. 安神定志灵对自发性高血压大鼠前额叶、纹状体多巴胺和去甲肾上腺素含量的影响[J]. 辽宁中医杂志, 2017, 44(2): 411-416.

[12] Calvillo L, Gironacci MM, Crotti L, *et al*. Neuroimmune crosstalk in the pathophysiology of hypertension[J]. Nat Rev Cardiol, 2019, 16(8): 476-490.

[13] 姚敏, 李大祥, 谢忠稳. 茶叶主要特征性化合物抗心血管炎症研究进展[J]. 茶叶科学, 2020, 40(1): 1-14.

[14] 赵秋兰, 邢金梅, 崔秀卿, 等. 氨氯地平联合丁苯酞治疗老年高血压病合并急性脑梗死的效果观察[J]. 中国医院用药评价与分析, 2019, 19(6): 705-707.

[15] 钟斌, 冉苒. 丁苯酞对慢性心力衰竭大鼠心功能, 氧化应激及心肌细胞凋亡的影响[J]. 现代医学, 2020, 48(5): 563-568.

[16] 顾珺一. 丁苯酞对大鼠心脏功能作用研究[D]. 通辽: 内蒙古民族大学, 2019.

[17] Ding HY, Xie YN, Dong Q, *et al*. Roles of hyaluronan in cardiovascular and nervous system disorders[J]. J Zhejiang Univ Sci B, 2019, 20(5): 428-436.

[18] 卓小桢, 刘懿, 李娜, 等. 白藜芦醇通过 TGF-$\beta_1$/Smad3 信号通路抑制心肌成纤维细胞中AngⅡ诱导的Ⅰ/Ⅲ型胶原合成[J]. 西安交通大学学报, 2018, 213(4): 525-529.

[19] Zhang L, Mosoian A, Schwartz ME, *et al*. HIV infection modulates IL-1β response to LPS stimulation through a TLR4-NLRP3 pathway in human liver macrophages[J]. J Leukoc Biol, 2019, 105(4): 783-795.

[20] Krishnan SM, Ling YH, Huuskes BM, *et al*. Pharmacological inhibition of the NLRP3 inflammasome reduces blood pressure, renal damage, and dysfunction in salt-sensitive hypertension[J]. Cardiovasc Res, 2019, 115(4): 776-787.

（编辑：刘玲玲）