

李玲,武建利,李珊,等. 苦参碱对妊娠高血压大鼠内皮损伤和 JAK2/STAT3/SOSC1 信号通路的影响 [J]. 中国比较医学杂志, 2022, 32(10): 91-97.

Li L, Wu JL, Li S, et al. Effect of matrine on endothelial injury and the JAK2/STAT3/SOSC1 signaling pathway in rats with pregnancy-induced hypertension [J]. Chin J Comp Med, 2022, 32(10): 91-97.

doi: 10.3969/j.issn.1671-7856.2022.10.011

苦参碱对妊娠高血压大鼠内皮损伤和 JAK2/STAT3/SOSC1 信号通路的影响

李玲*, 武建利, 李珊, 曲广第

(新疆医科大学第一附属医院产科, 乌鲁木齐 830054)

【摘要】 目的 探讨苦参碱对妊娠高血压(PIH)大鼠内皮损伤及酪氨酸蛋白激酶 2/信号转导子和转录激活子 3/细胞因子信号转录抑制因子 1(JAK2/STAT3/SOSC1)信号通路的影响。方法 将 60 只孕鼠随机分成正常对照组、模型对照组、低剂量苦参碱组、高剂量苦参碱组、硫酸镁组,每组 12 只。正常对照组之外的各组孕鼠在妊娠第 12 天通过灌胃 50 mg/kg 亚硝基左旋精氨酸甲酯构建 PIH 大鼠模型。在妊娠第 16 天,低、高剂量苦参碱组分别灌胃 50、100 mg/kg 苦参碱,硫酸镁组灌胃 100 mg/kg 硫酸镁,正常对照组和模型对照组则灌胃等体积的生理盐水。分别使用大鼠无创血压计和考马斯亮蓝法检测各组孕鼠妊娠第 16 天(给药前)、第 17 天、第 21 天的尾动脉血压及 24 h 尿蛋白含量;酶联免疫分析试剂盒检测血清中超氧化物歧化酶(SOD)、丙二醛(MDA)、肿瘤坏死因子 α (TNF- α)、白细胞介素(IL)-6、IL-10、内皮素(ET)、血栓素 B2(TXB2)、一氧化氮(NO)、6-酮前列腺素 F1 α (6-keto-PGF1 α)水平;蛋白免疫印迹法检测大鼠胎盘组织中 JAK2、p-JAK2、STAT3、p-STAT3、SOSC1 蛋白表达水平。结果 妊娠第 17、21 天,模型对照组孕鼠血压、24 h 尿蛋白含量明显高于正常对照组($P < 0.05$),低、高剂量苦参碱组孕鼠血压、24 h 尿蛋白含量明显比模型对照组低($P < 0.05$)。与正常对照组比较,模型对照组大鼠血清中 SOD、IL-10、NO 和 6-keto-PGF1 α 水平降低,MDA、TNF- α 、IL-6、ET 和 TXB2 以及胎盘组织中 p-JAK2/JAK2、p-STAT3/STAT3、SOSC1 蛋白水平升高($P < 0.05$);与模型对照组相比,低、高剂量苦参碱组 SOD、IL-10、NO 和 6-keto-PGF1 α 依次增加,MDA、TNF- α 、IL-6、ET 和 TXB2 以及胎盘组织中 p-JAK2/JAK2、p-STAT3/STAT3、SOSC1 蛋白水平依次降低($P < 0.05$);与硫酸镁组相比,高剂量苦参碱组上述指标均无明显改变($P > 0.05$)。结论 苦参碱降低 PIH 模型大鼠血压、尿蛋白含量、炎症反应及氧化应激水平,抑制 JAK2、STAT3 磷酸化及 SOSC1 蛋白表达,进而缓解 PIH 大鼠内皮损伤。

【关键词】 苦参碱;酪氨酸蛋白激酶 2;信号转导子和转录激活子 3;细胞因子信号转录抑制因子 1;妊娠高血压;内皮损伤

【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856 (2022) 10-0091-07

Effect of matrine on endothelial injury and the JAK2/STAT3/SOSC1 signaling pathway in rats with pregnancy-induced hypertension

LI Ling*, WU Jianli, LI Shan, QU Guangdi

(Department of Obstetrics, the First Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, Urumqi 830054, China)

【Abstract】 **Objective** To investigate the effect of matrine on endothelial injury and the Janus-activated kinase 2/signal transducer and activator of transcription 3/suppressor of cytokine signaling-1 (JAK2/STAT3/SOSC1) signaling

【基金项目】新疆维吾尔自治区自然科学基金资助项目(2020D01C244)。

【作者简介】李玲(1975—),女,硕士研究生,副主任医师,研究方向:妊娠期高血压疾病。E-mail:liling2244@163.com

pathway in rats with pregnancy-induced hypertension (PIH). **Methods** Sixty pregnant rats were randomly separated into normal control group, model control group, low dose matrine group, high dose matrine group and magnesium sulfate group, with 12 rats in each group. Pregnant rats in each group except the normal control group were intragastrically administered 50 mg/kg nitroso-L-arginine methyl ester on day 12 of pregnancy to establish a PIH rat model. On day 16 of pregnancy, low and high dose matrine groups were administered intragastrically with 50 and 100 mg/kg matrine, respectively, the magnesium sulfate group was administered intragastrically with 100 mg/kg magnesium sulfate, and normal and model control groups were administered intragastrically with an equal volume of saline. A rat non-invasive sphygmomanometer and Coomassie blue staining were used to assess tail artery blood pressure and the 24 h urine protein content of pregnant rats in each group on day 16 (before administration), day 17 and day 21 of pregnancy. Enzyme-linked immunoassays were used to determine the levels of superoxide dismutase (SOD), malondialdehyde (MDA), tumor necrosis factor- α (TNF- α), interleukin (IL)-6, IL-10, endothelin (ET), thromboxane B2 (TXB2), nitric oxide (NO), and 6-keto-prostaglandin F1 α (6-keto-PGF1 α). Western blot was used to measure JAK2, p-JAK2, STAT3, p-STAT3 and SOSC1 protein expression in rat placental tissue. **Results** On the days 17 and 21 of pregnancy, blood pressure and the 24 h urine protein content of pregnant rats in the model control group were significantly higher than those in the normal control group ($P < 0.05$), and blood pressure and the 24 h urine protein content of pregnant rats in low and high dose matrine groups were significantly lower than those in the model control group ($P < 0.05$). Compared with the normal control group, serum levels of SOD, IL-10, NO and 6-keto-PGF1 α in the model control group were lower, and MDA, TNF- α , IL-6, ET and TXB2 levels and p-JAK2/JAK2, p-STAT3/STAT3 and SOSC1 protein expression in placental tissue were higher ($P < 0.05$). Compared with the model control group, SOD, IL-10, NO and 6-keto-PGF1 α in low and high dose matrine groups were increased sequentially, and MDA, TNF- α , IL-6, ET and TXB2 levels and p-JAK2/JAK2, p-STAT3/STAT3, and SOSC1 protein expression in placental tissue were decreased sequentially ($P < 0.05$). Compared with the magnesium sulfate group, the above indicators in the high dose matrine group showed no significant changes ($P > 0.05$). **Conclusions** Matrine decreases blood pressure, urinary protein content, inflammatory responses, and oxidative stress, inhibits JAK2 and STAT3 phosphorylation and SOSC1 protein expression, and then alleviates endothelial injury in PIH rats

【Keywords】 matrine; Janus-activated kinase 2; signal transducer and activator of transcription 3; suppressor of cytokine signaling-1; pregnancy-induced hypertension; endothelial injury

妊娠高血压 (pregnancy-induced hypertension, PIH) 是影响女性妊娠过程正常进行的重要疾病, 其病发率高, 临床上 PIH 患者在妊娠 20 周以后常出现血压异常升高、尿蛋白增高等症状, 不仅会损伤孕妇的脑、心、肾等器官, 还是导致胎儿和产妇死亡的重要原因^[1]。研究表明, 妊娠早期胎盘相对灌注不足可能导致胎盘异常释放抗血管生成因子进入母体循环, 致使孕妇和胎儿发生血管内皮损伤, 进而引发高血压^[2]。而 PIH 也会导致胎盘组织缺血缺氧, 进而使孕妇体内的炎症应答机制被激活, 造成血管内皮功能障碍^[3]。此外, 过度的氧化应激也会导致血管内皮功能障碍, 从而诱发炎症反应和氧化应激, 加快 PIH 进展^[4]。一些理论认为内皮功能障碍是 PIH 的诱因, 因为内皮功能受损会破坏胎盘的生理过程, 导致抗血管生成因子释放进入母体循环, 从而导致内皮细胞损伤^[5-6]。相关文献显示, 酪氨酸蛋白激酶 2 (janus activated kinase 2, JAK2)/信

号转导子和转录激活子 3 (signal transducer and activator of transcription 3, STAT3) 信号通路在细胞生长分化和免疫方面起重要作用, 细胞因子信号转录抑制因子 1 (suppressor of cytokine signaling-1, SOSC1) 是一种细胞因子生物活性的内源性抑制剂, 其通过 JAK/STAT 信号通路传导^[7]。已有研究表明, JAK2/STAT3/SOSC1 通路的抑制与 PIH 血管内皮细胞分泌功能有关^[8]。苦参碱是一种生物碱, 主要提取自苦参等豆科植物中, 药理作用广泛。目前关于苦参碱在抗肿瘤方面的研究较多^[9], 近年来发现其在治疗血管损伤方面也有一定的效果^[10]。然而, 到目前为止并未有研究报道苦参碱对 PIH 的影响。硫酸镁是临床上常用的缓解 PIH 的药物, 其能够减轻患者的痉挛症状, 调节器官的血液灌注情况, 故常用作 PIH 研究的阳性药物^[11]。因此, 本研究将制备 PIH 大鼠模型, 以硫酸镁为阳性对照, 探讨苦参碱对 PIH 大鼠内皮损伤的影响以及可能的分子机制。

1 材料和方法

1.1 实验动物

SPF 级 SD 雄性大鼠 30 只(7~8 周龄,280~320 g)和雌性大鼠 60 只(7~8 周龄,220~270 g)均购自上海市公共卫生临床中心[SCXK(沪)2020-0002]。所有 SD 大鼠均饲养在新疆医科大学第一附属医院动物房内[SYXK(新)2018-0003]。本研究的动物实验均获得本院动物伦理委员会批准(K2007-05),且所有实验步骤均严格按照国际疼痛研究协会的动物保护原则进行,并按实验动物使用的 3R 原则给予人道的关怀。

1.2 主要试剂与仪器

亚硝基左旋精氨酸甲酯(L-NAME)购自美国 Sigma 公司(批号:N5751);硫酸镁购自河北武罗药业有限公司(批号:国药准字 H13022977);苦参碱,纯度 $\geq 98\%$,购自成都瑞芬思生物科技有限公司(批号:K-002);内皮素(ET)ELISA 检测试剂盒购自北京百奥莱博科技有限公司(批号:ARB13558);超氧化物歧化酶(SOD)、丙二醛(MDA)ELISA 试剂盒购自上海研谨生物科技有限公司(批号:YOYO、F12630);血栓素 B2(TXB2)、6 酮前列腺素 F 1α (6-keto-PGF 1α)、一氧化氮(NO)ELISA 检测试剂盒购自上海乔羽生物科技有限公司(批号:QY-SE2052、QY-SX1804、QY-WN1888);肿瘤坏死因子 α (TNF- α)、白细胞介素(IL)-6、IL-10 ELISA 检测试剂盒购自美国 Abcam 公司(批号:ab236712、ab234570、ab214566);JAK2、p-JAK2、STAT3、p-STAT3、SOCS1 抗体购自美国 CST 公司(批号:74987、66245、9139、4113、68631)。大鼠无创血压计购自上海玉研科学仪器有限公司(型号:STARR MouseOx Small Animal Vit);多功能酶标仪购自华泰和合(北京)商贸有限公司(型号:4200 酶标仪);分光光度计购自上海光学仪器一厂(型号:722)。

1.3 实验方法

1.3.1 PIH 大鼠模型的构建与给药方法

SD 大鼠适应性饲养 1 周后,将雌雄大鼠按照 1:2 的比例关在同一个笼子里进行交配。次日,收集雌性大鼠的阴道分泌物,若在显微镜下观察到精子的存在,则视为大鼠的怀孕日。将 60 只孕鼠随机分成 5 组,即正常对照组、模型对照组、低剂量苦参碱组、高剂量苦参碱组、硫酸镁组,每组 12 只孕鼠。

正常对照组除外,其余各组孕鼠在妊娠第 12 天,通过连续 1 周灌胃 50 mg/kg L-NAME 构建 PIH 大鼠模型^[12],若孕鼠 16 d 的血压比造模前的血压增加量 ≥ 20 mmHg,尿蛋白 $\geq (+)$ 时,则表示造模成功^[13]。在妊娠第 16 天,低、高剂量苦参碱组分别灌胃 50、100 mg/kg 苦参碱(依据朱新业等^[14]的研究和前期预实验确定),硫酸镁组灌胃 100 mg/kg 硫酸镁^[15],正常对照组和模型对照组则灌胃等体积的生理盐水,每天 1 次,连续 6 d^[16]。

1.3.2 各组孕鼠血压和 24 h 尿蛋白含量的检测

从妊娠第 12 天开始,每天检测使用大鼠无创血压计检测各组孕鼠的尾动脉血压并收集其 24 h 内的尿液,采用考马斯亮蓝法检测其尿蛋白含量。分别记录妊娠第 12 天(造模前)、第 16 天(给药前)、第 17、21 天的血压和上述时间的 24 h 尿蛋白含量。

1.3.3 ELISA 检测各组孕鼠血清中相关因子的水平

将各组妊娠至 21 d 的孕鼠麻醉后,经尾静脉取血,将其收集在抗凝管中,离心后取上清液,使用 ELISA 试剂盒检测 SOD、MDA、TNF- α 、IL-6、IL-10、ET、TXB2、NO、6-keto-PGF 1α 水平。

1.3.4 蛋白免疫印迹法检测胎盘组织内 JAK2/STAT3/SOCS1 信号通路相关蛋白表达

各组孕鼠给药结束后,立即使用 40 mg/kg 体积分数为 1%戊巴比妥钠进行麻醉,并进行剖宫产,取出胎盘组织。从胎盘组织中提取总蛋白,使用 BCA 试剂盒检测其浓度,然后将等量的样品与加样缓冲液均匀混合,进行聚丙烯酰胺凝胶电泳,结束后转膜,1 h 后用牛血清白蛋白封膜;加入一抗 JAK2、p-JAK2、STAT3、p-STAT3、SOCS1 或 β -actin,均稀释 1000 倍,次日,加入二抗,接着孵育 1 h,再添加 ECL 发光试剂,使用 Image 软件对显影的条带灰度值进行分析。

1.4 统计学方法

符合正态分布的计量数据用平均数 \pm 标准差($\bar{x}\pm s$)表示,采用 SPSS 23.0 进行分析,多组间比较行单因素方差分析,进一步两两比较使用 Turkey 事后检验;采用重复测量的方法比较各组孕鼠妊娠第 12、16、17、21 天的血压和 24 h 尿蛋白含量差异, $P < 0.05$ 认为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 苦参碱对各组孕鼠不同时期血压的影响

与正常对照组比较,模型对照组大鼠妊娠第 16、17、21 天的血压明显升高 ($P < 0.05$);与模型对照组比较,低、高剂量苦参碱组大鼠妊娠第 17、21 天的血压依次降低 ($P < 0.05$),而高剂量苦参碱组大鼠妊娠第 17、21 天的血压与硫酸镁组没有明显差异 ($P > 0.05$);在妊娠第 16 天时(给药前),各组大鼠血压变化差异无统计学意义 ($P > 0.05$),见表 1。

2.2 苦参碱对各组孕鼠不同时期 24 h 尿蛋白含量的影响

各组大鼠妊娠第 12 天时(造模前)的 24 h 尿蛋白含量差异不明显,不具有统计学意义 ($P > 0.05$);模型对照组大鼠妊娠第 16、17、21 天的 24 h 尿蛋白含量显著高于正常对照组 ($P < 0.05$);低、高剂量苦参碱组、硫酸镁组大鼠妊娠第 17、21 天的 24 h 尿蛋白含量显著低于模型对照组 ($P < 0.05$),且随着苦参碱剂量的增加,大鼠 24 h 尿蛋白含量依次降低 ($P < 0.05$),见表 2。

2.3 苦参碱对各组孕鼠氧化应激的影响

模型对照组与正常对照组比较,SOD 含量显著下降,MDA 含量显著升高 ($P < 0.05$);与模型对照组比较,低、高剂量苦参碱组大鼠 SOD 含量依次升高,MDA 含量依次降低 ($P < 0.05$),而 SOD 与 MDA 在高剂量苦参碱组与硫酸镁组中的含量差异不明显 ($P > 0.05$),见表 3。

表 1 苦参碱对各组孕鼠不同时期血压的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 12, \text{mmHg}$)

Table 1 Effect of matrine on blood pressure of pregnant rats in different periods

组别 Groups	第 12 天 D12	第 16 天 D16	第 17 天 D17	第 21 天 D21
正常对照组 Normal control group	108.12 ± 7.15	109.59 ± 7.08	110.48 ± 7.21	110.91 ± 6.53
模型对照组 Model control group	109.42 ± 8.51	136.94 ± 6.89 ^a	138.63 ± 6.94 ^a	152.34 ± 7.75 ^a
低剂量苦参碱组 Low dose matrine group	109.78 ± 7.92	135.53 ± 6.92 ^a	124.61 ± 7.12 ^{ab}	121.46 ± 7.42 ^{ab}
高剂量苦参碱组 High dose matrine group	110.26 ± 8.16	135.48 ± 6.94 ^a	112.74 ± 7.34 ^{bc}	106.57 ± 7.48 ^{bc}
硫酸镁组 Magnesium sulfate group	111.32 ± 8.23	135.59 ± 7.03 ^a	112.52 ± 7.65 ^{bc}	104.61 ± 7.23 ^{bc}

注:与正常对照组比较,^a $P < 0.05$;与模型对照组比较,^b $P < 0.05$;与低剂量苦参碱组比较,^c $P < 0.05$ 。下表同。

Note. Compared with normal control group, ^a $P < 0.05$. Compared with model control group, ^b $P < 0.05$. Compared with low dose matrine group, ^c $P < 0.05$. The same in the following tables.

表 2 苦参碱对各组孕鼠不同时期 24 h 尿蛋白含量的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 12, \text{mg}$)

Table 2 Effects of matrine on 24 h urinary protein content in pregnant rats at different periods

组别 Groups	第 12 天 D12	第 16 天 D16	第 17 天 D17	第 21 天 D21
正常对照组 Normal control group	6.26 ± 0.65	6.19 ± 0.65	6.22 ± 0.69	6.34 ± 0.58
模型对照组 Model control group	6.42 ± 0.59	8.87 ± 0.46 ^a	9.01 ± 0.58 ^a	8.47 ± 1.56 ^a
低剂量苦参碱组 Low dose matrine group	6.54 ± 0.71	8.83 ± 0.45 ^a	7.86 ± 0.64 ^{ab}	7.36 ± 0.63 ^b
高剂量苦参碱组 High dose matrine group	6.52 ± 0.69	8.79 ± 0.51 ^a	6.54 ± 0.67 ^{bc}	6.42 ± 0.54 ^{bc}
硫酸镁组 Magnesium sulfate group	6.36 ± 0.68	8.77 ± 0.49 ^a	6.48 ± 0.62 ^{bc}	6.19 ± 0.51 ^{bc}

2.4 苦参碱对各组孕鼠炎症反应的影响

模型对照组与正常对照组相比,TNF- α 、IL-6 水平提高,IL-10 水平降低 ($P < 0.05$)。低、高剂量苦参碱组和硫酸镁组与模型对照组相比,TNF- α 、IL-6 水平下降,IL-10 水平上升 ($P < 0.05$),不同剂量苦参碱组的指标差异显著 ($P < 0.05$),而高剂量苦参碱组与硫酸镁组中的 TNF- α 、IL-6、IL-10 含量无显著变化 ($P > 0.05$),见表 4。

2.5 苦参碱对各组孕鼠血管内皮细胞中活性物质的影响

与正常对照组相比,模型对照组孕鼠血清 ET 和 TXB2 增加、NO 和 6-keto-PGF1 α 减少,且差异有统计学意义 ($P < 0.05$);与模型对照组相比,低、高剂量苦参碱组孕鼠血清 ET 和 TXB2 呈剂量依赖性降低、NO 和 6-keto-PGF1 α 呈剂量依赖性升高 ($P < 0.05$),而高剂量苦参碱组与硫酸镁组中的上述指标差异不大 ($P > 0.05$),见表 5。

2.6 苦参碱对各组孕鼠胎盘组织中 JAK2/STAT3/SOSC1 信号通路蛋白表达的影响

模型对照组 p-JAK2/JAK2 与 p-STAT3/STAT3 值及 SOSC1 蛋白水平明显高于正常对照组 ($P < 0.05$);与模型对照组相比,低、高剂量苦参碱组 p-JAK2/JAK2 与 p-STAT3/STAT3 值及 SOSC1 蛋白水平依次下降,表现为剂量依赖性 ($P < 0.05$),而高剂量苦参碱组与硫酸镁组中蛋白表达水平均无显著差异 ($P > 0.05$),见图 1 和表 6。

表 3 苦参碱对各组孕鼠氧化应激的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 12$)

Table 3 Effects of matrine on oxidative stress of pregnant rats in each group

组别 Groups	SOD (U/mL)	MDA (mmol/mL)
正常对照组 Normal control group	113.25±12.21	1.81±0.29
模型对照组 Model control group	79.13±8.84 ^a	4.15±0.51 ^a
低剂量苦参碱组 Low dose matrine group	95.46±10.03 ^{ab}	2.96±0.46 ^{ab}
高剂量苦参碱组 High dose matrine group	108.34±11.56 ^{bc}	1.84±0.24 ^{bc}
硫酸镁组 Magnesium sulfate group	109.21±11.67 ^{bc}	1.82±0.26 ^{bc}

表 4 苦参碱对各组孕鼠炎症反应的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 12$)

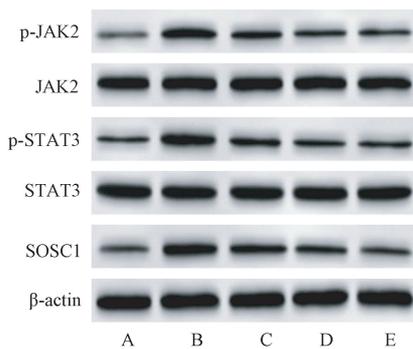
Table 4 Effects of matrine on inflammatory response of pregnant rats in each group

组别 Groups	TNF- α (pg/mL)	IL-6 (pg/mL)	IL-10 (pg/mL)
正常对照组 Normal control group	136.48±32.13	133.75±3.68	281.57±41.35
模型对照组 Model control group	265.69±28.42 ^a	239.42±18.49 ^a	154.63±31.46 ^a
低剂量苦参碱组 Low dose matrine group	183.74±21.36 ^{ab}	193.54±26.13 ^{ab}	223.17±39.24 ^{ab}
高剂量苦参碱组 High dose matrine group	138.25±24.45 ^{bc}	137.57±17.51 ^{bc}	276.62±40.15 ^{bc}
硫酸镁组 Magnesium sulfate group	137.64±23.28 ^{bc}	135.82±15.24 ^{bc}	278.98±41.23 ^{bc}

表 5 苦参碱对各组孕鼠血管内皮细胞中活性物质的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 12$)

Table 5 Effects of matrine on active substances in vascular endothelial cells of pregnant rats in each group

组别 Groups	ET (pg/mL)	NO (pg/mL)	TXB2 (pg/mL)	6-keto-PGF1 α (pg/mL)
正常对照组 Normal control group	2.65±0.41	28.34±3.53	405.61±33.48	584.74±45.12
模型对照组 Model control group	6.97±0.95 ^a	14.65±2.89 ^a	649.74±51.65 ^a	371.35±39.48 ^a
低剂量苦参碱组 Low dose matrine group	3.89±0.64 ^{ab}	21.36±3.04 ^{ab}	523.57±48.62 ^{ab}	456.34±41.57 ^{ab}
高剂量苦参碱组 High dose matrine group	2.73±0.52 ^{bc}	27.95±3.12 ^{bc}	436.41±43.15 ^{bc}	569.45±43.96 ^{bc}
硫酸镁组 Magnesium sulfate group	2.71±0.49 ^{bc}	28.11±3.23 ^{bc}	435.24±41.34 ^{bc}	574.63±45.78 ^{bc}



注: A: 正常对照组; B: 模型对照组; C: 低剂量苦参碱组; D: 高剂量苦参碱组; E: 硫酸镁组。

图 1 各组孕鼠胎盘组织中 JAK2/STAT3/SOSC1 信号通路蛋白免疫印迹图

Note. A, Normal control group. B, Model control group. C, Low dose matrine group. D, High dose matrine group. E, Magnesium sulfate group.

Figure 1 Western blot of JAK2/STAT3/SOSC1 signaling pathway in placental tissues of pregnant rats in each group

表 6 苦参碱对各组孕鼠胎盘组织中 JAK2/STAT3/SOSC1 信号通路蛋白表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 12$)

Table 6 Effects of matrine on protein expression of JAK2/STAT3/SOSC1 signaling pathway in placental tissues of pregnant rats in each group

组别 Groups	p-JAK2/ JAK2	p-STAT3/ STAT3	SOSC1/ β -actin
正常对照组 Normal control group	0.24±0.09	0.33±0.08	0.27±0.09
模型对照组 Model control group	0.63±0.15 ^a	0.67±0.18 ^a	0.60±0.12 ^a
低剂量苦参碱组 Low dose matrine group	0.45±0.08 ^{ab}	0.48±0.09 ^{ab}	0.43±0.08 ^{ab}
高剂量苦参碱组 High dose matrine group	0.32±0.06 ^{bc}	0.35±0.06 ^{bc}	0.31±0.06 ^{bc}
硫酸镁组 Magnesium sulfate group	0.31±0.05 ^{bc}	0.33±0.04 ^{bc}	0.29±0.05 ^{bc}

3 讨论

PIH 的主要并发症是血管内皮损伤和功能障碍,对产妇和围产儿都有非常严重的影响^[17]。其临床表现主要是妊娠后期孕妇血压的持续升高和尿蛋白含量的增多。硫酸镁是目前临床上用来缓解 PIH 疾病的一种药物,既能有效的降低孕妇的血压,又不会对胎儿的血压和健康产生影响,故硫酸镁经常被用作 PIH 大鼠实验的阳性对照^[18]。本研究发现,通过灌胃 L-NAME 制备的 PIH 模型大鼠妊娠第 17、21 天的血压及 24 h 尿蛋白含量均明显升高($P < 0.05$),这与通过皮下注射 L-NAME 构建的 PIH 模型大鼠的结果类似^[19],提示 PIH 大鼠造模成功,可进行深入研究。

苦参碱是四环素-喹诺列齐啉类生物碱,是提取自苦参的活性物质,有清热、利尿、抗病毒、抗肿瘤等作用^[20]。国内外研究显示,苦参碱不仅可以减轻缺血再灌注大鼠心肌损伤,还对缺氧/复氧诱导的大鼠心脏微血管内皮细胞凋亡有保护作用^[21-22]。苦参碱可通过降低 MDA 含量及 TNF- α 等促炎因子水平、提高 SOD 含量发挥其抗氧化和抗炎作用^[23-24]。ET、TXB₂、NO 和 6-keto-PGF₁ α 由血管内皮细胞分泌而来,是血管活性标志物,与血管平滑肌细胞增殖的调节和血管张力有关。ET 是调节血压的一种收缩因子,其过量表达使得内皮通透性增加,致使胎盘受损^[25]。NO 参与调节妊娠期血管舒张和反应性,其含量的下降可引发高血压。TXB₂ 和 6-keto-PGF₁ α 分别为 TXA₂ 和前列腺素 2 (PGI₂) 的代谢稳定形式,正常情况下,二者是一种相互拮抗、相互作用的动态平衡关系,是保持机体血压正常的基础,但在原发性高血压患者中 TXB₂ 显著上调,6-keto-PGF₁ α 显著下调,二者的平衡关系被打破^[26]。本研究发现低、高剂量苦参碱及硫酸镁干预均可显著降低 PIH 大鼠的血压和 24 h 尿蛋白含量、减缓血管受损(ET、TXB₂ 含量降低,NO、6-keto-PGF₁ α 含量升高),提示苦参碱可以明显改善 PIH 大鼠血压、尿蛋白,降低血管受损程度。

据报道 PIH 与氧化应激,血管内皮损伤、胎盘营养不良等因素有关^[27]。孕妇早期身体上出现的炎症对孕妇不会造成影响,只是一种生理应激反应。子痫是 PIH 疾病的一种,在其孕妇胎盘或血清中的炎症因子水平比正常孕妇高出许多^[28]。在 PIH 大鼠中,MDA 水平上升,SOD 活性下降,进而使

大鼠体内的氧化应激损伤加重^[13,29]。机体过度的氧化应激诱发炎症因子的表达,TNF- α 、IL-6 是促进炎症的细胞因子,IL-10 是抵抗炎症的细胞因子。魏双燕等^[30]发现在 PIH 大鼠血清中 TNF- α 、IL-6 显著上调,IL-10 显著下调。JAK2/STAT3/SOSC1 信号通路与炎症的发生有关^[31]。而近年的研究发现,JAK2/STAT3 通路在 PIH 模型大鼠体内被激活,JAK2、STAT3 磷酸化水平的增高诱导 SOSC1 蛋白表达,当使用 JAK2 抑制剂 A490 处理后,上述蛋白表达水平均被减弱,PIH 症状也得到缓解^[8]。本研究发现 PIH 大鼠组织中 JAK2、STAT3 磷酸化及 SOSC1 蛋白表达水平、血清炎症反应(TNF- α 、IL-6 水平升高,IL-10 水平降低)及氧化应激水平(MDA 含量升高,SOD 含量降低)明显升高,提示 PIH 的发生机制可能与炎症反应、氧化应激受损有关。而低、高剂量苦参碱及硫酸镁干预均可降低炎症反应,提高抗氧化应激水平,抑制 JAK2、STAT3 磷酸化及 SOSC1 蛋白表达水平,表明苦参碱可以减轻 PIH 大鼠炎症反应,抑制 JAK2、STAT3 磷酸化及 SOSC1 的活化,提高抗氧化能力进而减缓内皮损伤。

综上所述,苦参碱可降低 PIH 模型大鼠的血压及尿蛋白含量,抑制 JAK2、STAT3 磷酸化及 SOSC1 的表达,改善其氧化应激及炎症反应导致的内皮损伤,为苦参碱在临床上治疗 PIH 提供理论依据,但由于 PIH 发病机制复杂,后续还需深入研究。

参考文献:

- [1] Thoulas JC, Robertson L, Denadai L, et al. Hypertensive disorders of pregnancy and adult offspring cardiometabolic outcomes: a systematic review of the literature and meta-analysis [J]. *J Epidemiol Community Health*, 2016, 70(4): 414-422.
- [2] Pant V, Yadav BK, Sharma J. A comparative study to assess SFLT-1: PLGF ratio in pregnant women with and without preeclampsia [J]. *Clinica Chimica Acta*, 2019, 493(1): S260-S267.
- [3] Bazzano AN, Green E, Madison A, et al. Assessment of the quality and content of national and international guidelines on hypertensive disorders of pregnancy using the AGREE II instrument [J]. *BMJ Open*, 2016, 6(1): e009189.
- [4] Ou M, Zhao H, Ji G, et al. Long noncoding RNA MALAT1 contributes to pregnancy-induced hypertension development by enhancing oxidative stress and inflammation through the regulation of the miR-150-5p/ET-1 axis [J]. *FASEB J*, 2020, 34(5): 6070-6085.
- [5] Henriques AC, Carvalho FH, Feitosa HN, et al. Endothelial dysfunction after pregnancy-induced hypertension [J]. *Int J Gynaecol Obstet*, 2014, 124(3): 230-234.

- [6] Tannetta D, Sargent I. Placental disease and the maternal syndrome of preeclampsia: missing links? [J]. *Curr Hypertens Rep*, 2013, 15(6): 590-599.
- [7] Zhu M, Wang H, Chen J, et al. Sinomenine improve diabetic nephropathy by inhibiting fibrosis and regulating the JAK2/STAT3/SOCS1 pathway in streptozotocin-induced diabetic rats [J]. *Life Sci*, 2021, 265(1): 118855-118881.
- [8] Luo JY, Fu D, Wu YQ, et al. Inhibition of the JAK2/STAT3/SOCS1 signaling pathway improves secretion function of vascular endothelial cells in a rat model of pregnancy-induced hypertension [J]. *Cell Physiol Biochem*, 2016, 40(3-4): 527-537.
- [9] 胡锦丹, 王宇. 苦参碱抗肿瘤作用机制的研究进展 [J]. *中华中医药学刊*, 2022, 40(5): 171-175.
- [10] Zhang S, Guo S, Gao XB, et al. Matrine attenuates high-fat diet-induced *in vivo* and ox-LDL-induced *in vitro* vascular injury by regulating the PKC α /eNOS and PI3K/Akt/eNOS pathways [J]. *J Cell Mol Med*, 2019, 23(4): 2731-2743.
- [11] 周玲. 硫酸镁治疗妊娠期高血压疾病的临床效果研究 [J]. *中国医药指南*, 2016, 14(32): 84-85.
- [12] Wang Y, Huang M, Yang X, et al. Supplementing punicalagin reduces oxidative stress markers and restores angiogenic balance in a rat model of pregnancy-induced hypertension [J]. *Korean J Physiol Pharmacol*, 2018, 22(4): 409-417.
- [13] 陈雅婷, 李莉, 巫梦雪, 等. 黄芩苷对妊娠期高血压大鼠胎盘 sFIT-1 及 PLGF 表达的影响 [J]. *临床和实验医学杂志*, 2019, 18(22): 2381-2385.
- [14] 朱新业, 高登峰, 牛小麟, 等. 苦参碱对自发性高血压大鼠心肌间质纤维化的作用和机制 [J]. *心脏杂志*, 2005, 17(6): 528-531.
- [15] Liu Y, Xiong M, Zhou F, et al. Effect of baicalin on gestational hypertension-induced vascular endothelial cell damage [J]. *J Int Med Res*, 2020, 48(10): 300060520934288.
- [16] 黄作香, 张小莎, 周刚. 黄芪甲苷对妊娠期高血压模型大鼠胎盘组织中 HIF-1 α 、sFLT-1 和 PLGF 表达水平的影响 [J]. *临床和实验医学杂志*, 2019, 18(16): 1684-1688.
- [17] Alma LJ, De Groot CJM, De Menezes RX, et al. Endothelial dysfunction as a long-term effect of late onset hypertensive pregnancy disorders: High BMI is key [J]. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*, 2018, 225: 62-69.
- [18] Ma L, Li L, Han P, et al. Effect of the drug combination of magnesium sulfate and phentolamine on homocysteine and C-reactive protein in the serum of patients with pregnancy-induced hypertension syndrome [J]. *Exp Ther Med*, 2019, 17(5): 3682-3688.
- [19] 陈丽敏, 汪佳佳, 金苏菊. 丹参素对妊娠高血压大鼠妊娠结局的影响 [J]. *中国临床药理学杂志*, 2021, 37(8): 977-980.
- [20] 郭晓玲, 康丽霞, 任美芳. 苦参碱联合 Akt 信号通路抑制剂影响肾癌细胞的活力与凋亡 [J]. *中国比较医学杂志*, 2019, 29(8): 99-105.
- [21] 张静, 秦方, 付莉, 等. 苦参提取物通过 JAK/STAT 信号通路减轻缺血再灌注大鼠心肌损伤的实验研究 [J]. *中国煤炭工业医学杂志*, 2019, 22(2): 177-181.
- [22] Zhao XB, Qin Y, Niu YL, et al. Matrine inhibits hypoxia/reoxygenation-induced apoptosis of cardiac microvascular endothelial cells in rats via the JAK2/STAT3 signaling pathway [J]. *Biomed Pharmacother*, 2018, 106: 117-124.
- [23] 李娟, 姚遥, 韩怀钦, 等. 苦参碱对 LPS 诱导的阿尔茨海默病小鼠模型学习记忆功能和脑内神经炎症的影响 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2018, 24(24): 134-139.
- [24] 卢迎宏, 王丹, 井海云. 苦参碱对 oxLDL 诱导的血管平滑肌细胞炎症反应及增殖凋亡的影响及分子机制研究 [J]. *中国免疫学杂志*, 2018, 34(4): 537-543.
- [25] Cox AG, Gurusinge S, Abd Rahman R, et al. Sulforaphane improves endothelial function and reduces placental oxidative stress *in vitro* [J]. *Pregnancy Hypertens*, 2019, 16(1): 1-10.
- [26] 汤艳丽, 汤峥冬, 童秋瑜, 等. 针灸联合硝苯地平控释片对原发性高血压病人血浆 TXA₂/PGI₂ 平衡及血液流变学的影响 [J]. *中西医结合心脑血管病杂志*, 2019, 17(24): 3890-3893.
- [27] Xu K, Zang X, Peng M, et al. Magnesium Lithospermate B downregulates the levels of blood pressure, inflammation, and oxidative stress in pregnant rats with hypertension [J]. *Int J Hypertens*, 2020, 2020: 6250425.
- [28] Balasubramanian D, Gelston CAL, Mitchell BM, et al. Toll-like receptor activation, vascular endothelial function, and hypertensive disorders of pregnancy [J]. *Pharmacol Res*, 2017, 121(1): 14-21.
- [29] 杨明凤, 冉利梅. 姜黄素对妊娠高血压大鼠急性肾损伤的保护作用 [J]. *中国比较医学杂志*, 2021, 31(6): 89-94.
- [30] 魏双燕, 李霞, 陈莉, 等. 酪氨酸蛋白激酶 2 特异性抑制剂 AG490 对妊娠期高血压综合征大鼠血管内皮细胞分泌功能的作用机制研究 [J]. *中国临床药理学杂志*, 2020, 36(21): 3457-3460.
- [31] Chen Y, Chen L, Yang T. Silymarin nanoliposomes attenuate renal injury on diabetic nephropathy rats via co-suppressing TGF- β /Smad and JAK2/STAT3/SOCS1 pathway [J]. *Life Sci*, 2021, 271: 119197.

[收稿日期]2022-03-19