

辣椒素对自发性高血压大鼠血管平滑肌细胞增殖和迁移的影响

李世峰¹, 李杰²(1.遵义医学院附属贵航三〇〇医院心内科, 贵阳 550000; 2.毕节市七星关区人民医院心内科, 贵州 毕节 551700)

摘要: 目的 探讨辣椒素对自发性高血压大鼠血管平滑肌细胞(vascular smooth muscle cells, VSMCs)增殖和迁移的影响。方法 体外构建自发性高血压大鼠血管平滑肌细胞系, 分别采用 20 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 辣椒素(高剂量组)、10 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 辣椒素(中剂量组)、5 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 辣椒素(低剂量组)和 1 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 厄贝沙坦(厄贝沙坦组)直接处理细胞或特异性阻断 CD36 的表达后, 再用 20 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 辣椒素(高剂量组)、10 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 辣椒素(中剂量组)、5 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 辣椒素(低剂量组)和 1 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 厄贝沙坦(厄贝沙坦组)处理细胞, 采用 MTT 法检测 VSMCs 增殖情况, Boyden 趋化小室检测 VSMCs 迁移情况, 实时荧光定量 PCR(qRT-PCR)和蛋白免疫印迹(Western blotting)检测平滑肌 22a 蛋白(smooth muscle 22a, SM22a)和调宁蛋白(Calponin)mRNA 和蛋白的表达水平。结果 辣椒素和厄贝沙坦分别处理 VSMCs 后, 与对照组相比, 高、中、低剂量辣椒素组和厄贝沙坦组细胞增殖率和迁移率均有所降低, SM22a 和 Calponin 的表达上调; 与厄贝沙坦组相比, 高剂量辣椒素组 SM22a 和 Calponin 的表达有所上调, 中、低剂量辣椒素组 SM22a 和 Calponin 的表达均有所下调。特异性阻断 CD36 的表达后, 与对照组相比, 高、中、低剂量辣椒素组和厄贝沙坦组细胞增殖率降低, 迁移率进一步降低, SM22a 和 Calponin 表达上调; 与厄贝沙坦组相比, 高、中、低剂量辣椒素组 SM22a 的表达均有所上调, 高、中、低剂量辣椒素组 Calponin 的表达有所下调。结论 高、中、低剂量辣椒素能够通过上调 SM22a 和 Calponin 的表达, 抑制 CD36 的表达, 来促进自发性高血压大鼠 VSMCs 由未分化表型向分化表型转化, 从而抑制 VSMCs 的增殖及迁移和高血压血管重构的发生, 促进其动脉管壁恢复正常的生理功能, 有助于降低血压。

关键词: 辣椒素; 厄贝沙坦; 自发性高血压; 血管平滑肌细胞; 增殖; 迁移

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 1007-7693(2020)16-1947-07

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2020.16.005

引用本文: 李世峰, 李杰. 辣椒素对自发性高血压大鼠血管平滑肌细胞增殖和迁移的影响[J]. 中国现代应用药学, 2020, 37(16): 1947-1953.

Effect of Capsaicin on Proliferation and Migration of Vascular Smooth Muscle Cells in Spontaneously Hypertensive Rats

LI Shifeng¹, LI Jie²(1.Department of Cardiology, Gui Hang 300 Hospital Affiliated to Zunyi Medical University, Guiyang 550000, China; 2.Department of Cardiology, Bijie City Seven District People's Hospital, Bijie 551700, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To investigate the effect of capsaicin on proliferation and migration of vascular smooth muscle cells(VSMCs) in spontaneously hypertensive rats. **METHODS** After construction of spontaneously hypertensive rats vascular smooth muscle cells *in vitro*, cells were treated with 20 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ capsaicin(high dose group), 10 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ capsaicin(middle dose group), 5 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ capsaicin(low dose group), or 1 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ irbesartan(irbesartan group) directly or treated with 20 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ capsaicin(high dose group), 10 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ capsaicin(middle dose group), 5 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ capsaicin(low dose group), or 1 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ irbesartan(irbesartan group) after specifically inhibiting the expression of CD36, the proliferation of VSMCs was detected by MTT method, the migration of VSMCs was detected by Boyden chemotaxis, and the changes of smooth muscle 22a (SM22a) and Calponin mRNA and protein expression levels were detected by qRT-PCR and Western blotting. **RESULTS** After VSMCs were treated with capsaicin or irbesartan respectively, compared with the control group, the cell proliferation rate and migration rate in the high, middle, low dose of capsaicin group or irbesartan group reduced, SM22a and Calponin expression were up-regulated. Compared with the irbesartan group, SM22a and Calponin expression in the high dose of capsaicin group was up-regulated, while that in the middle or low dose of capsaicin group were down-regulated. After inhibiting CD36 expression specifically, compared with the control group, the cell proliferation rate in high, middle, low dose of capsaicin group or irbesartan group reduced, the migration rate was further reduced, and SM22a or Calponin expression were up-regulated. Compared with the irbesartan group, the SM22a expression in the high, middle, low dose of capsaicin group was up-regulated, while Calponin expression in the high, middle, low dose of capsaicin group were down-regulated. **CONCLUSION** High, middle, low dose of capsaicin can up-regulate SM22a and Calponin expression, inhibit the expression of CD36 to promote VSMCs in spontaneously hypertensive rats transform from undifferentiated phenotype to differentiation phenotype, thereby inhibiting proliferation and

基金项目: 贵州省卫计委科学技术基金项目(gzwjkj2016-1-016)

作者简介: 李世峰, 男, 副主任医师 Tel: (0851)83831283 E-mail: lancet9101@sina.com

migration of VSMCs and vascular remodeling in hypertension, promoting restoration of arterial wall normal physiological function and to reduce blood pressure.

KEYWORDS: capsaicin; irbesartan; spontaneous hypertension; vascular smooth muscle cells; proliferation; migration

血管重构是诱发高血压靶器官损伤的病理基础和结构基础,与血管细胞的增殖和迁移等有关^[1],其中血管平滑肌细胞(vascular smooth muscle cells, VSMCs)的异常增殖是血管重构发生、发展的关键性病理环节^[2-3]。因此,抑制 VSMCs 的异常增殖和迁移,对防治高血压动脉血管重构及其靶器官损伤具有重要的意义^[4]。研究发现,红辣椒中的辛辣成分辣椒素可改善心肌重构和血管内皮的功能以及降低自发性高血压大鼠的血压等^[5]。而厄贝沙坦为临床常用的降压药之一,可改善心脏功能及血管重构,从而达到降低血压并保护靶器官的目的。CD36 是一种脂肪酸转运酶/B 族清道夫受体,其广泛分布于多种细胞的表面,如心肌细胞、单核/巨噬细胞及内皮细胞等^[6]。在正常状态下,CD36 的表达较低;但是在高血压或动脉粥样硬化等状态下,其表达会增加^[7]。因此,本研究观察了辣椒素和厄贝沙坦对自发性高血压大鼠 VSMCs 增殖及迁移的干预作用,以及特异性阻断 CD36 后,辣椒素和厄贝沙坦对其细胞增殖及细胞迁移的影响,以期临床防治高血压及其靶器官损伤提供一定的理论依据。

1 材料与方法

1.1 动物

自发性高血压大鼠 30 只,♂,12 周龄,体质量(220±20)g,购于北京维通利华实验动物技术有限公司,许可证号:SCXK(京)2016-0006;实验动物质量合格证号:11400700328698。饲养条件:温度(24±1)℃,湿度 50%,12 h 光照/黑暗,自由摄食饮水。

1.2 材料

厄贝沙坦(批号:BP1093)、MTT(批号:M5655)均购自 Sigma;辣椒素(Solarbio,批号:YZ1584;含量≥98%);Boyden 小室(Costar,聚碳酸酯膜微孔,8 μm,批号:CLS3464-48EA);DMEM 基础培养基(Hyclone,批号:SH30021.01);CD36 阻断剂 *N*-油酰基硫代琥珀酰亚胺(sulfo-*N*-succinimidylolate, SSO, Active Biopharma,批号:ABP011496);平滑肌 22a 蛋白(smooth muscle 22a, SM22a) (Rat)-RT-F: AGGACTGTAATGGCTTTGG, SM22a(Rat)-RT-R: TGTGAACCTCCCTCTTATGCT (gene ID:

25123; length: 111 bp); 调宁蛋白(Calponin) (Rat)-RT-F: TTTCATCAAAGCCATTACC, Calponin (Rat)-RT-R: ATCTCCGCTCTTGTTCCTC (gene ID: 65204; length: 185 bp); β-actin(Rat)-RT-F: CACTATCGGCAATGAGCGGTTCC, β-actin(Rat)-RT-R: CAGCACTGTGTTGGCATAGAGGTC(gene ID: 81822; length: 154 bp),引物均由生工生物公司合成;SM22a(Abcam,批号:ab1013;山羊多抗,1:100);Calponin(Proteintech,批号:13938-1-AP;兔抗,1:100);SYBR Green PCR 试剂盒(Thermo,批号:F-415XL);CD36(Abcam,批号:ab23680;小鼠单抗,1:2 000);Anti-mouse-CY3(Proteintech,批号:SA00009-1;山羊抗鼠,1:100)。

1.3 仪器

IX73 型倒置荧光显微镜(Olympus);XDS-1A 型光学显微镜(上海精密科学仪器有限公司);5427 型离心机(Eppendorf);HR40-II-A2 型无菌操作台(Haier);Multiskan Sky 型酶标检测仪、3110 型细胞培养箱(Thermo Fisher Scientific);3K15 型低温冷冻离心机(Sigma);7500 型 Real-time 检测仪(ABI);Chemi Scope 5300 Pro 型化学发光成像仪(Clinx);MINI4 型电泳仪(BIO-RAD)。

1.4 方法

1.4.1 VSMCs 分离及鉴定 取大鼠主动脉血管,于青霉素和链霉素混合液中浸泡;混合胶原酶预消化一段时间后,去除血管内皮和外膜,将血管剪碎成 1 mm×1 mm 组织块,加入胶原酶继续消化,镜下观察细胞游离出后终止消化;离心弃上清后重悬细胞,传 3~5 代后用于实验。将分离的细胞爬片后,经固定、孵育、封闭后,加入一抗孵育过夜,分别加入相应荧光标记的二抗,避光室温下孵育 Hoechst,荧光显微镜下观察拍照。

1.4.2 辣椒素和厄贝沙坦的配制 辣椒素 3.054 g,用 10 mL DMSO 溶液溶解辣椒素粉末,配制成 100 μmol·L⁻¹辣椒素溶液,置于-20℃冰箱中保存。临用时,用 DMEM 基础培养基稀释成所需的辣椒素浓度(20,10,5 μmol·L⁻¹)。称取厄贝沙坦 42.85 g,用 1 mL DMSO 溶液溶解后,配制成 10 μmol·L⁻¹厄贝沙坦溶液。临用时,用 DMEM 基础培养基稀释成 1 μmol·L⁻¹厄贝沙坦使用浓度。

1.4.3 MTT 法检测细胞增殖 取对数期细胞,接种于 96 孔板;加入 $1 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 血管紧张素 II 诱导 24 h 后,实验分为对照组(只含有细胞和培养基),阴性对照组(不含细胞,只含有培养基),厄贝沙坦组(加入厄贝沙坦 $1 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)和高、中、低剂量辣椒素组(分别加入 20, 10 和 $5 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 辣椒素),每组设置 6 个复孔,分别处理 24 h。每组加入 $0.2 \text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ SSO 对 CD36 表达进行特异性阻断,每孔加入 $10 \mu\text{L}$ $5.0 \text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的 MTT,避光孵育 4 h,加入 $200 \mu\text{L}$ 的 DMSO,摇床震荡 10 min,酶标仪检测 570 nm 下的 OD 值,各复孔的 OD 值取平均值。按以下公式:细胞增殖百分率(%)=(实验组 OD 值-阴性对照组 OD 值)/(对照组 OD 值-阴性对照组 OD 值),计算细胞增殖百分率,其中对照组细胞增殖百分率记为 100%。

1.4.4 趋化小室检测细胞迁移 取 VSMCs 于 24 孔板上室,实验分为对照组(上室加入未经处理的 VSMCs 悬液,下室加入 DMEM 培养基);厄贝沙坦组(上室加入未经处理的 VSMCs 悬液,下室加入 $1 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 厄贝沙坦);高、中、低剂量辣椒素组(上室加入未经处理的 VSMCs 悬液,下室分别加入 20, 10, $5 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 辣椒素),培养 24 h 后,取出小室,吸弃上室液体,擦净膜上未迁移细胞,PBS 溶液漂洗,多聚甲醛固定,苏木素染色后,于显微镜下观察并拍照。

1.4.5 qRT-PCR 检测 SM22a 和 Calponin mRNA 的表达 收集细胞后,提取总 RNA;根据逆转录试剂盒方法逆转录为 cDNA,进行扩增,体系如下:SYBR Green Mix $12.5 \mu\text{L}$,上游引物 F $0.5 \mu\text{L}$,下游引物 R $0.5 \mu\text{L}$,ddH₂O $14.5 \mu\text{L}$,cDNA 模板 $2 \mu\text{L}$,总体积 $30 \mu\text{L}$,扩增条件: 94°C 10 min; 94°C 20 s, 55°C 20 s, 72°C 20 s 40 个循环。以 β -actin 作为内参,采用 $2^{-\Delta\Delta\text{CT}}$ 的方法,用 3 次重复的平均值计算基因的相对表达量。

1.4.6 Western blotting 检测 SM22a 和 Calponin 蛋白的表达 将各组细胞用 RIPA 裂解液裂解后离心,取上清,BCA 试剂盒检测蛋白质浓度,加热变性。制备 PAGE 胶,上样,电泳,转膜,脱脂牛奶封闭,加入一抗孵育过夜,洗涤,加入对应二抗 37°C 孵育,洗涤,加入发光剂,采用化学发光仪拍照。蛋白条带的灰度值用 Image pro plus 6.0 软件进行分析定量,目的蛋白的相对表达量=目的蛋白条带的灰度值/ β -actin 内参蛋白条带的

灰度值。

1.4.7 统计学方法 采用 SPSS 19.0 软件进行统计学分析,数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用单因素方差分析(one way ANOVA), $P < 0.05$ 表示差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 VMSCs 的鉴定

结果显示,分离得到的细胞表达 VMSCs 特异性蛋白,包括 α -平滑肌肌动蛋白(α -smooth muscle actin, α -SMA), Calponin, SM22a 及骨桥蛋白(osteopontin, OPN),表明本研究分离得到的细胞是大鼠 VSMCs,见图 1。

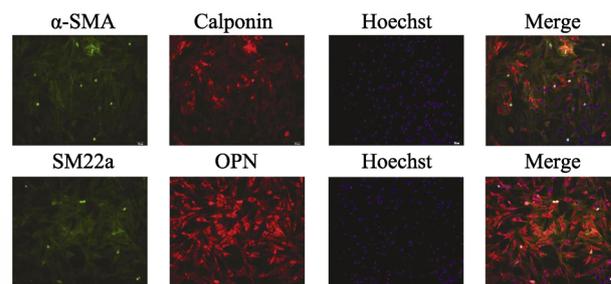


图 1 VMSCs 的鉴定(免疫荧光法, $200\times$)
Fig. 1 Identification of VMSCs(immunofluorescence, $200\times$)

2.2 辣椒素对 VMSCs 细胞增殖的影响

结果显示,与对照组相比,厄贝沙坦组和高、中、低剂量辣椒素组细胞增殖率均有所降低,但只有厄贝沙坦组和高剂量辣椒素组具有显著性差异($P < 0.05$),见图 2A,提示厄贝沙坦和辣椒素均能够抑制 VMSCs 的增殖;阻断 CD36 的表达后,与对照组相比,厄贝沙坦组和高、中、低剂量辣椒素组细胞增殖率均有所降低,但只有厄贝沙坦组和高剂量辣椒素组具有显著性差异($P < 0.05$),见图 2B,提示 CD36 的表达被抑制后,各组 VMSCs 细胞的增殖也被抑制,表明辣椒素可能通过抑制 CD36 的表达,以进一步抑制高血压大鼠 VMSCs 细胞的增殖能力,从而改善高血压的血管重构。

2.3 辣椒素对 VMSCs 细胞迁移的影响

结果显示,与对照组相比,厄贝沙坦组和高、中、低剂量辣椒素组的细胞迁移率均显著降低,见图 3A,提示厄贝沙坦和辣椒素均能够显著抑制 VMSCs 的迁移;阻断 CD36 的表达后,厄贝沙坦组和高、中、低剂量辣椒素组的细胞迁移率均进一步降低,见图 3B,提示 CD36 的表达被抑制后,各组 VMSCs 细胞的迁移也被抑制,表明辣椒素可能通过抑制 CD36 的表达,以进一步抑制高血压大

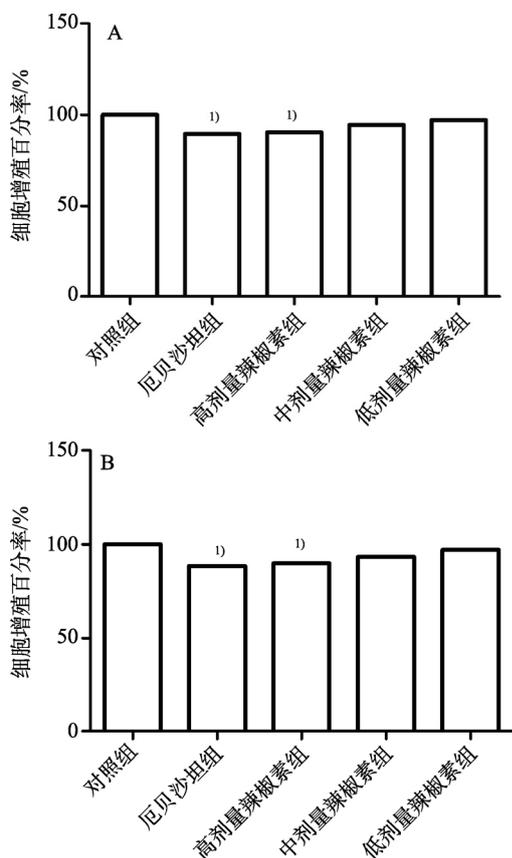


图2 辣椒素对 VMSCs 细胞增殖的影响($\bar{x} \pm s, n=6$)
A-CD36 阻断前; B-CD36 阻断后; 与对照组相比, ¹⁾ $P<0.05$ 。
Fig. 2 Effect of capsaicin on the proliferation of VMSCs ($\bar{x} \pm s, n=6$)
A-represents before CD36 blocking; B-represents after CD36 blocking; compared with the control group, ¹⁾ $P<0.05$.

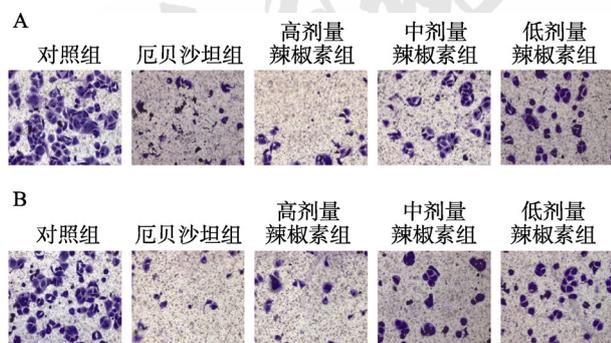


图3 辣椒素对 VMSCs 细胞迁移的影响($n=6$)(苏木素染色, 200×)
A-CD36 阻断前; B-CD36 阻断后。
Fig. 3 Effect of capsaicin on the cell migration of VMSCs ($n=6$)(Hematoxylin staining, 200×)
A-represents before CD36 blocking; B-represents after CD36 blocking.

鼠 VMSCs 细胞的迁移能力, 从而改善高血压的血管重构。

2.4 辣椒素对 VMSCs 细胞 SM22a 和 Calponin mRNA 表达的影响

与对照组相比, 厄贝沙坦组和高、中、低剂

量辣椒素组 SM22a 和 Calponin mRNA 的表达均有所上调($P<0.01$)。与厄贝沙坦组相比, 高剂量辣椒素组 SM22a mRNA 的表达有所上调($P<0.05$), 低剂量辣椒素组 SM22a mRNA 的表达有所下调($P<0.01$); 高剂量辣椒素组 Calponin mRNA 的表达有所上调($P<0.05$), 低剂量辣椒素组 Calponin mRNA 的表达均有所下调($P<0.05$), 结果见图 4。

特异性阻断 CD36 的表达后, 与对照组相比, 厄贝沙坦组和高、中、低剂量辣椒素组 SM22a 和 Calponin mRNA 的表达均有所上调($P<0.01$ 或 $P<0.05$)。与厄贝沙坦组相比, 高、中剂量辣椒素组 SM22a mRNA 的表达均有所上调($P<0.01$ 或 $P<0.05$); 中、低剂量辣椒素组 Calponin mRNA 的表达均有所下调($P<0.05$), 结果见图 5。

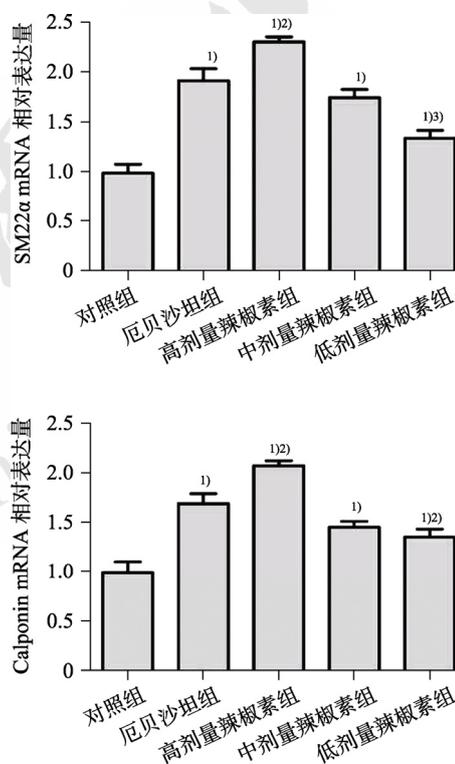


图4 CD36 阻断前辣椒素对 SM22a 和 Calponin mRNA 表达的影响($\bar{x} \pm s, n=6$)
与对照组相比, ¹⁾ $P<0.01$; 与厄贝沙坦组相比, ²⁾ $P<0.05$, ³⁾ $P<0.01$ 。
Fig. 4 Effect of capsaicin on the expression of SM22a and Calponin mRNA before blocked by CD36 ($\bar{x} \pm s, n=6$)
Compared with the control group, ¹⁾ $P<0.01$; compared with the irbesartan group, ²⁾ $P<0.05$, ³⁾ $P<0.01$.

2.5 辣椒素对 VMSCs 细胞 SM22a 和 Calponin 蛋白表达的影响

与对照组相比, 厄贝沙坦组和高、中、低剂量辣椒素组 SM22a 和 Calponin 蛋白的表达均有所上调($P<0.01$ 或 $P<0.05$)。与厄贝沙坦组相比, 高

剂量辣椒素组 SM22a 蛋白的表达有所上调($P < 0.05$), 中、低剂量辣椒素组 SM22a 蛋白的表达均有所下调($P < 0.01$); 高剂量辣椒素组 Calponin 蛋白的表达有所上调($P < 0.01$), 中、低剂量辣椒素组 Calponin 蛋白的表达均有所下调($P < 0.05$), 结果见图 6。

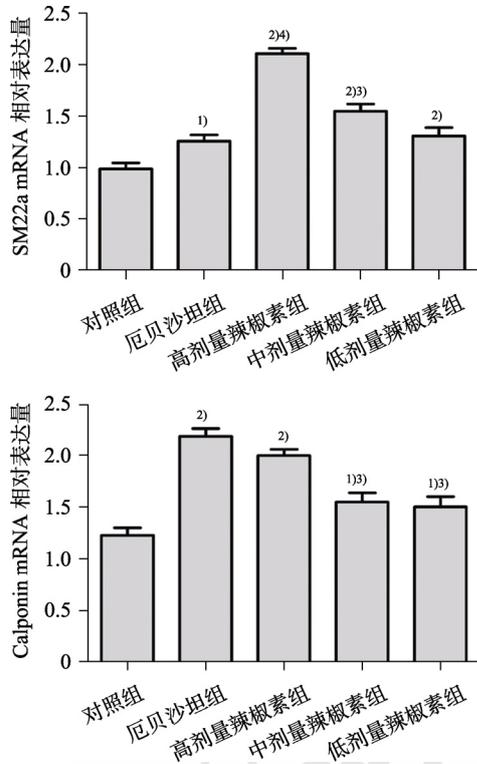


图 5 CD36 阻断后辣椒素对 SM22a 和 Calponin mRNA 表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n=6$)
与对照组相比, ¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$; 与厄贝沙坦组相比, ³⁾ $P < 0.05$, ⁴⁾ $P < 0.01$ 。

Fig. 5 Effect of capsaicin on the expression of sm22a and Calponin mRNA after blocked by CD36 ($\bar{x} \pm s, n=6$)
Compared with the control group, ¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$; compared with the irbesartan group, ³⁾ $P < 0.05$, ⁴⁾ $P < 0.01$ 。

特异性阻断 CD36 的表达后, 与对照组相比, 厄贝沙坦组和高、中、低剂量辣椒素组 SM22a 和 Calponin 蛋白的表达均有所上调($P < 0.01$)。与厄贝沙坦组相比, 高剂量辣椒素组 SM22a 蛋白的表达有所上调($P < 0.01$), 中、低剂量组辣椒素 SM22a 蛋白有所上调; 高剂量辣椒素组 Calponin 蛋白的表达有所下调, 但差异无统计学意义; 中、低剂量辣椒素组 Calponin 蛋白的表达均有所下调 ($P < 0.05$), 结果见图 7。

综上所述, 辣椒素可能通过上调高血压大鼠 VSMCs 中 SM22a 和 Calponin mRNA 和蛋白的表达, 抑制 CD36 的表达, 以促进 VSMCs 由未分化

表型向分化表型转化, 进一步抑制了 VSMCs 的增殖及迁移能力, 改善了其高血压血管重构过程, 促进其动脉管壁恢复正常的生理功能, 从而达到降低血压的目的。

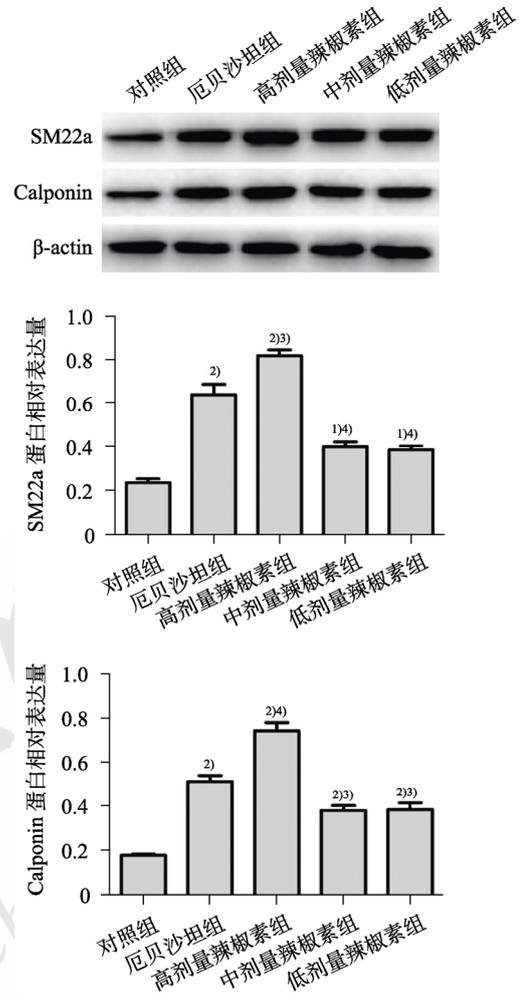


图 6 CD36 阻断前辣椒素对 SM22a 和 Calponin 蛋白表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n=6$)
与对照组相比, ¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$; 与厄贝沙坦组相比, ³⁾ $P < 0.05$, ⁴⁾ $P < 0.01$ 。

Fig. 6 Effect of capsaicin on the expression of SM22a and Calponin protein before blocked by CD36 ($\bar{x} \pm s, n=6$)
与对照组相比, ¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$; 与厄贝沙坦组相比, ³⁾ $P < 0.05$, ⁴⁾ $P < 0.01$ 。

3 讨论

血管重构是引发高血压等心脑血管疾病和导致某些器官功能障碍的重要病理基础, 因此逆转血管重构过程有助于治疗高血压。VSMCs 的过度增殖导致动脉内膜的中膜增厚, 血管管腔缩小, 壁腔比值增加, 从而诱导肥厚性、内向性动脉血管重构的发生^[8]。而 VSMCs 由中膜向内膜迁移是血管狭窄及形成动脉粥样硬化斑块等增生性血管疾病的主要过程。本研究结果显示, 辣椒素能够

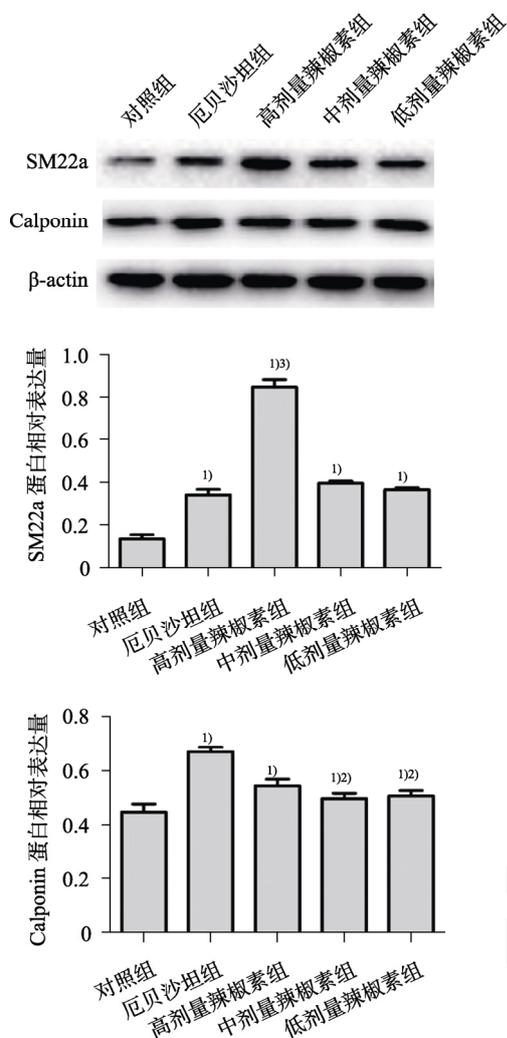


图7 CD36 阻断后辣椒素对 SM22a 和 Calponin 蛋白表达的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

与对照组相比, ¹⁾ $P<0.01$; 与厄贝沙坦组相比, ²⁾ $P<0.05$, ³⁾ $P<0.01$ 。

Fig. 7 Effect of capsaicin on the expression of SM22a and Calponin protein after blocked by CD36 ($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

Compared with the control group, ¹⁾ $P<0.01$; compared with the irbesartan group, ²⁾ $P<0.05$, ³⁾ $P<0.01$.

直接抑制自发性高血压大鼠 VSMCs 的增殖和迁移, 表明其能够抑制高血压血管重构的发生。

此外, VSMCs 的表型发生转化是导致其迁移、异常增殖的关键性起始因素^[9], 是血管重构过程的关键步骤, 它决定了某些心脑血管性疾病(如动脉粥样硬化和肺动脉高压等)的发生及发展^[10]。VSMCs 主要分为 2 种表型, 即去分化表型(合成表型)和分化表型(收缩表型), 具有可塑性, 可在 2 种表型之间转化^[11]。正常成人的血管动脉壁主要由内膜、中膜和外膜 3 层组成。正常生理状态下, VSMCs 主要位于中膜, 表达分化表型特异蛋白如 SM22a 和 Calponin, 以维持其分化表型和动脉管壁正常的生理功能, 且无增殖及迁移能力。当血

管内膜受到外界刺激, 如高血压、内皮受损或体外培养等时, VSMCs 的分化功能减弱, 向未分化表型转化, SM22a 和 Calponin 蛋白表达下调, 并且由中膜向内膜迁移和增殖, 重新具备增殖、迁移能力等。其中, SM22a 的表达在 VSMCs 中具有组织特异性, 它不仅是 VSMCs 的骨架蛋白, 还能够抑制其增殖能力, 是 VSMCs 表型转化的良好指标^[12-13]。研究表明, 自发性高血压大鼠重构的主动脉分离的 VSMCs 中, SM22a 的表达下调^[14]。DOCA-盐高血压小鼠动脉分离的 VSMCs 中, Calponin 的表达下调, 且 VSMCs 发生异常增殖^[15]。本研究发现, 自发性高血压大鼠 VSMCs 经辣椒素处理后, 其 SM22a 和 Calponin 的表达水平上调, 表明辣椒素能够促进自发性高血压大鼠 VSMCs 由未分化表型向分化表型转化。

CD36 是一种分子量为 88 kD 的糖蛋白, 最早发现于血小板中, 后由大量研究证实 CD36 也广泛分布于巨噬细胞微和血管内皮细胞等^[16]。CD36 与高血压、冠心病等心脑血管疾病的发生、发展有关。研究表明, 原发性高血压患者外周血单核细胞中、并发高血压的糖尿病患者外周血白细胞中 CD36 的表达均有所上调^[17-18]。本研究发现, 特异性阻断 CD36 的表达后, 经辣椒素处理后, SM22a 和 Calponin 的表达水平上调, 表明辣椒素可能通过抑制 CD36 的表达, 以进一步促进 VSMCs 由未分化表型向分化表型转化, 从而抑制 VSMCs 的增殖及迁移能力, 有助于改善高血压的血管重构。

综上所述, 辣椒素能够通过上调 SM22a 和 Calponin 的表达, 抑制 CD36 的表达, 来促进自发性高血压大鼠 VSMCs 由未分化表型向分化表型转化, 从而抑制 VSMCs 的增殖及迁移和高血压血管重构的发生, 促进其动脉管壁恢复正常的生理功能, 有助于降低血压。

REFERENCES

- [1] 谭平, 陈建鸿. 氯沙坦对原发性高血压患者血浆骨桥蛋白水平的影响[J]. 福建医科大学学报, 2012, 46(4): 293-294.
- [2] OWENS G K, KUMAR M S, WAMHOFF B R. Molecular regulation of vascular smooth muscle cell differentiation in development and disease [J]. *Physiol Rev*, 2004, 84(3): 767-801.
- [3] 王永, 乐岭. GLP-1 对血管重构中血管平滑肌细胞的影响[J]. 国际内分泌代谢杂志, 2018, 38(1): 23-25, 39.
- [4] LIU Y, LI J C, YIN Y W, et al. Effect of TRPV₁ activation on proliferation of vascular smooth muscle cells in spontaneously

- hypertensive rats [J]. *J Third Mil Med Univ(第三军医大学学报)*, 2015, 37(8): 762-766.
- [5] WANG Q, MA S T, LI D, et al. Dietary capsaicin ameliorates pressure overload-induced cardiac hypertrophy and fibrosis through the transient receptor potential vanilloid type 1 [J]. *Am J Hypertens*, 2014, 27(12): 1521-1529.
- [6] 郭睿坤, 刘芳. CD36 与慢性肾脏病[J]. *华西医学*, 2017, 32(5): 768-771.
- [7] WANG Z, JIANG Y H, WU S, et al. Mechanism of Banxia Baizhu Tianma decoction on renal protection of obesity-related hypertensive rats [J]. *Chin Arch Tradit Chin Med(中华中医药学刊)*, 2016, 34(9): 2130-2133.
- [8] SCHIFFRIN E L. Vascular remodeling in hypertension: Mechanisms and treatment [J]. *Hypertens Dallas Tex*, 2012, 59(2): 367-374.
- [9] 张园园. Geminin 基因 RNA 干扰对大鼠血管平滑肌细胞增殖的影响及其机制初探[D]. 重庆: 第三军医大学, 2012.
- [10] CHEN Y, YU H Y, SUN L, et al. Research progress on regulation of signaling pathway by micro RNA in phenotypic change of vascular smooth muscle cell [J]. *Acta Pharm Sin(药学报)*, 2018, 53(4): 487-494.
- [11] PFISTERER L, FELDNER A, HECKER M, et al. Hypertension impairs myocardin function: A novel mechanism facilitating arterial remodelling [J]. *Cardiovasc Res*, 2012, 96(1): 120-129.
- [12] HAN M, DONG L H, ZHENG B, et al. Smooth muscle 22 alpha maintains the differentiated phenotype of vascular smooth muscle cells by inducing filamentous actin bundling [J]. *Life Sci*, 2009, 84(13/14): 394-401.
- [13] DONG L H, WEN J K, LIU G, et al. Blockade of the ras-extracellular signal-regulated kinase 1/2 pathway is involved in smooth muscle 22 α -mediated suppression of vascular smooth muscle cell proliferation and neointima hyperplasia [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2010, 30(4): 683-691.
- [14] ZHANG L L, XIE P, WANG J Z, et al. Impaired peroxisome proliferator-activated receptor-gamma contributes to phenotypic modulation of vascular smooth muscle cells during hypertension [J]. *J Biol Chem*, 2010, 285(18): 13666-13677.
- [15] PFISTERER L, FELDNER A, HECKER M, et al. Hypertension impairs myocardin function: A novel mechanism facilitating arterial remodelling [J]. *Cardiovasc Res*, 2012, 96(1): 120-129.
- [16] LIU M Y, ZHANG W W, LI X J, et al. Impact of age and sex on the development of atherosclerosis and expression of the related genes in apoE deficient mice [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2016, 469(3): 456-462.
- [17] LEI J, XUE S N, ZHANG Y L, et al. Changes of CD36, inflammatory cytokines in patients with essential hypertension [J]. *Chin J Hypertens(中华高血压杂志)*, 2009, 17(7): 604-608.
- [18] CHEN W Q, LUO J, PENG R R, et al. Expression of SR-A II and CD36 in white blood cells correlate with plasma AGEs levels and diabetic complications [J]. *Chin J Pathophysiol(中国病理生理杂志)*, 2007, 23(1): 168-172.

收稿日期: 2019-07-05
(本文责编: 李艳芳)