

本文引用: 张珂瑜, 侯晓敏, 邹佳佳, 等. 杜鹃素通过激活 K_v 通道舒张 C57BL/6J 小鼠离体肺动脉[J]. 中国动脉硬化杂志, 2025, 33(3): 202-208. DOI: 10.20039/j.cnki.1007-3949.2025.03.003.

• 实验研究 •

[文章编号] 1007-3949(2025)33-03-0202-07

杜鹃素通过激活 K_v 通道舒张 C57BL/6J 小鼠离体肺动脉

张珂瑜^{1,2}, 侯晓敏^{2,3}, 邹佳佳^{2,4}, 饶国娇^{1,2}, 江雪露^{1,2}, 董霖^{1,2}, 施熠炜⁵, 秦小江^{1,2,4}

山西医科大学 1. 医学科学院, 2. 环境暴露血管疾病研究所, 3. 基础医学院, 4. 公共卫生学院,

5. 山西医科大学第一医院呼吸与危重症医学科, 山西省太原市 030001

[摘要] **[目的]** 研究杜鹃素对 C57BL/6J 小鼠离体肺动脉的舒张作用及机制。**[方法]** 麻醉小鼠, 迅速取出肺组织置于 4 °C K-H 缓冲液中, 显微镜下分离得到肺动脉, 并剪成长约 2 mm 的血管环备用。(1) 杜鹃素对小鼠离体肺动脉静息张力的影响: 选取具有活性的小鼠肺动脉环, 在静息状态下加入不同浓度的杜鹃素 (10^{-6} 、 3×10^{-6} 、 10^{-5} 、 3×10^{-5} 及 10^{-4} mol/L)。(2) 杜鹃素舒张小鼠肺动脉实验: 苯肾上腺素 (PE, 1 μ mol/L) 或 KCl (60 mmol/L) 诱导小鼠肺动脉收缩达到平台期后, 加入不同浓度的杜鹃素 (10^{-6} 、 3×10^{-6} 、 10^{-5} 、 3×10^{-5} 及 10^{-4} mol/L)。(3) 杜鹃素抑制肺动脉收缩实验: 在加入或未加入杜鹃素的情况下, 加入 PE (10^{-9} 、 3×10^{-9} 、 10^{-8} 、 3×10^{-8} 、 10^{-7} 、 3×10^{-7} 及 10^{-6} mol/L) 或 KCl (20、30、40、60、80 及 120 mmol/L) 诱导小鼠离体肺动脉收缩, 并记录血管张力的变化。(4) 无钙或复钙实验: 在加入或未加入杜鹃素的情况下, 记录小鼠离体肺动脉在无钙或复钙 [2.5 mmol/L Ca^{2+}] ex 状态下血管张力的变化。(5) 杜鹃素舒张小鼠离体肺动脉与钾离子通道的关系: 首先用 60 mmol/L KCl 溶液收缩小鼠肺动脉至平台期, 随后分别加入 3 mmol/L 4-氨基吡啶 (4-AP)、2 mmol/L 四乙胺 (TEA)、30 μ mol/L $BaCl_2$ 和 10 μ mol/L 格列本脲 (Gli) 处理 15 min, 最后通过加入浓度梯度杜鹃素对肺动脉进行舒张。**[结果]** 杜鹃素对静息状态下小鼠肺动脉张力无明显影响, 但对 PE 和 KCl 诱导的小鼠肺动脉收缩具有浓度依赖性舒张作用; 3×10^{-5} mol/L 杜鹃素预处理显著降低 PE 和 KCl 诱导的小鼠肺动脉最大收缩 ($P < 0.01$), 以及显著降低在无钙或复钙条件下 KCl 诱导的小鼠肺动脉收缩 ($P < 0.01$)。加入电压依赖性钾离子通道阻滞剂 4-AP 显著降低杜鹃素对小鼠肺动脉的最大舒张率 ($P < 0.01$), 而加入大电导钙激活钾离子通道阻滞剂 TEA、内向整流钾离子通道阻滞剂 $BaCl_2$ 或 ATP 敏感钾离子通道阻滞剂 Gli 对杜鹃素的舒张血管作用均无显著影响 ($P > 0.05$)。**[结论]** 杜鹃素对小鼠离体肺动脉具有舒张作用, 其机制可能与开放电压依赖性钾离子通道相关。

[关键词] 杜鹃素; 肺动脉; 舒张血管; 钾离子通道

[中图分类号] R5; R363

[文献标识码] A

Farrerol relaxes isolated pulmonary arteries in C57BL/6J mice by activating K_v channel

ZHANG Keyu^{1,2}, HOU Xiaomin^{2,3}, ZOU Jiajia^{2,4}, RAO Guojiao^{1,2}, JIANG Xuelu^{1,2}, DONG Lin^{1,2}, SHI Yiwei⁵, QIN Xiaojiang^{1,2,4}

1. Medical Science Academy, 2. Environmental exposure vascular disease institute, 3. Basic Medical College, 4. School of Public Health, Shanxi Medical University, 5. Department of Pulmonary and Critical Care Medicine, the First Hospital of Shanxi Medical University, Shanxi 030001, Taiyuan, China

[ABSTRACT] **Aim** To study the diastolic effect and mechanism of farrerol on isolated pulmonary arteries of C57BL/6J mice. **Methods** After anesthesia, mouse lung tissue was quickly removed and placed into the 4 °C K-H buffer, pulmonary arteries were isolated under the microscope and cut into 2 mm long vascular rings for spare use. (1)

[收稿日期] 2024-12-06

[修回日期] 2025-02-14

[基金项目] 国家自然科学基金面上项目 (82373622); 国家自然科学基金青年科学基金项目 (82204042); 国家卫生健康委员会尘肺病重点实验室开放课题 (YKFKT006 和 NHC202307); 山西省科技创新人才团队专项项目 (202304051001038); 山西省科技合作交流专项项目 (202204041101022); 山西省自然科学基金面上项目 (202103021224227); 山西省留学人员科技活动择优资助项目重点项目 (20220019); 山西医科大学 2024 年高等教育“百亿工程”科技引导专项—基础-临床双向转化专项 (BYJL067)

[作者简介] 张珂瑜, 硕士研究生, 主要从事天然产物的血管药理作用机制研究, E-mail: 1459488531@qq.com。通信作者秦小江, 博士, 教授, 主要从事天然产物血管活性物质筛选研究, E-mail: sph@sxmu.edu.cn。

The effect of farrerol on the resting tension of isolated mouse pulmonary arteries; in the resting state, the active mouse pulmonary artery rings were treated with different concentrations of farrerol (10^{-6} , 3×10^{-6} , 10^{-5} , 3×10^{-5} and 10^{-4} mol/L).

(2) Farrerol relaxed mouse pulmonary artery experiment: pulmonary arteries were contracted using phenylephrine (PE, $1 \mu\text{mol/L}$) or KCl (60 mmol/L), and when the contraction reached the platform, different concentrations of farrerol (10^{-6} , 3×10^{-6} , 10^{-5} , 3×10^{-5} and 10^{-4} mol/L) was added. (3) Farrerol inhibited pulmonary artery contraction experiment: under conditions with or without the addition of farrerol, pulmonary arteries were contracted using different concentrations of PE (10^{-9} , 3×10^{-9} , 10^{-8} , 3×10^{-8} , 10^{-7} , 3×10^{-7} and 10^{-6} mol/L) or KCl (20, 30, 40, 60, 80 and 120 mmol/L), and the pulmonary artery muscle tension was recorded. (4) Calcium free and recalcification experiments: under conditions with or without the addition of farrerol, the changes of isolated mouse pulmonary artery tension were measured in the state of calcium free or recalcification [2.5 mmol/L [Ca^{2+}] ex]. (5) The relationship between farrerol induced relaxation of isolated mouse pulmonary arteries and potassium ion channels: firstly, 60 mmol/L KCl solution was used to contract the mouse pulmonary arteries until the platform. Then, 3 mmol/L aminopyridine (4-AP), 2 mmol/L tetraethylammonium (TEA), $30 \mu\text{mol/L}$ BaCl_2 , and $10 \mu\text{mol/L}$ glibenclamide (Gli) were added and treated for 15 min.

Subsequently, the pulmonary arteries were relaxed using a concentration gradient of farrerol. **Results** Farrerol had no significant effect on the mouse pulmonary arteries in the resting state, but had a concentration-dependent relaxing effect on the mouse pulmonary arteries pre-contracted with PE and KCl. While the pretreatment of 3×10^{-5} mol/L farrerol could significantly reduce the maximum contraction of mouse pulmonary arteries induced by PE and KCl ($P < 0.01$), as well as significantly reduce the contraction of mouse pulmonary arteries induced by KCl under calcium free or recalcification conditions ($P < 0.01$). Addition of the voltage-dependent potassium ion channel blocker 4-AP significantly reduced the maximum diastolic rate of mouse pulmonary arteries induced by farrerol ($P < 0.01$), while addition of the high conductivity calcium activated potassium ion channel blocker TEA, inward rectifying potassium ion channel blocker BaCl_2 , or ATP sensitive potassium ion channel blocker Gli had no significant effect on the vasodilation effect of farrerol ($P > 0.05$). **Conclusion** Farrerol has a relaxing effect on isolated mouse pulmonary arteries, and its mechanism may be related to open voltage-dependent potassium ion channels.

[**KEY WORDS**] farrerol; pulmonary artery; vasodilation; potassium ion channel

肺动脉高压是一种慢性高致死性疾病,其发生特征之一是肺血管张力异常引起肺动脉压力升高^[1-2]。肺动脉高压的另一个主要特征是血管细胞过度增殖并具有抗凋亡性,这导致肺血管过度重塑和血管收缩^[3]。肺动脉硬化是肺动脉高压的一个新兴研究领域,与肺动脉高压诊断、预后和治疗等目标都有关联^[4]。

作为一种进行性的肺血管疾病,肺动脉高压目前的治疗效果仍有待提高,因此寻求有效的防治药物对肺动脉高压的防治至关重要。杜鹃素(Farrerol)是一种常见的黄酮类化合物,提取于杜鹃花科杜鹃花属兴安杜鹃的干燥叶片。本课题组前期研究发现,杜鹃素具有松弛大鼠主动脉的作用,能够通过上调 eNOS 降低 NAD(P)H 氧化酶活性以抑制高血压诱导的血管病理性结构改变^[5-6]。动脉壁的中膜主要由血管平滑肌细胞组成,主要的功能是维持血管张力,在生理条件下呈现收缩表型,而其表型转换参与了动脉粥样硬化的发病机制^[7]。Liu 等^[8]研究发现,杜鹃素可以通过抑制 p38 MAPK 信号通路来维持血管平滑肌细胞的收缩表型。

钾离子通道对维持血管张力起非常重要的作

用,其可通过调节细胞膜电位来调节血管张力,减少血管平滑肌细胞增殖,并对血管壁产生有益影响^[9]。在具有钾离子通道调节功能的植物来源药物中,黄酮类化合物是一类具有强大生物活性的物质。因此,本课题组提出了一个研究假设,探讨黄酮类化合物杜鹃素是否对肺动脉高压等血管疾病具有治疗效果,以及这种效果是否与开放钾离子通道相关。本研究主要采用微血管张力测定法,观察杜鹃素对小鼠离体肺动脉的舒张效应,并进一步探究其舒张活性与钾离子通道之间的联系。

1 材料和方法

1.1 材料

8~10 周龄雄性 C57BL/6J 小鼠,体质量 20~25 g,购于山西医科大学实验动物中心。小鼠在 $(22 \pm 3)^\circ\text{C}$ 、相对湿度为 45%~60% 的 SPF 级动物房饲养,自由饮水,光照和黑暗时间各半。动物许可证号:SYXK(晋)2019-0008。杜鹃素由山西医科大学药学院药物化学实验室合成,纯度 $\geq 98\%$ 。苯肾上腺素(phenylephrine, PE),每瓶 500 mg,批号:LRAA9501;4-氮

基吡啶 (4-aminopyridine, 4-AP), 每瓶 5 g, 批号: 275875; 四乙胺 (tetraethylammonium, TEA), 每瓶 25 g, 批号: 86614; 格列本脲 (glibenclamide, Gli), 每瓶 1 g, 批号: PHR1287。以上药品均购自 Sigma 公司。BaCl₂, 每瓶 500 g, 批号: RH426498, 购自罗恩科技有限公司; KCl, 每瓶 500 g, 批号: G1819047, 购自上海阿拉丁生化科技股份有限公司。Multi Myograph System-610M 微血管张力记录仪 (丹麦 DMT 公司); SJ-U500 体视显微镜 (苏州萨伽光学有限公司); PB-10 酸度计 [赛多利斯 (上海) 贸易有限公司]; LabChart 信号采集分析软件 (上海埃德仪器国际贸易有限公司)。

1.2 缓冲溶液配制

K-H 缓冲液成分: 118 mmol/L NaCl, 4.7 mmol/L KCl, 1.2 mmol/L KH₂PO₄, 1.2 mmol/L MgCl₂ · 6H₂O, 25 mmol/L NaHCO₃, 11 mmol/L 葡萄糖, 5 mmol/L HEPES, 2.5 mmol/L CaCl₂。60 mmol/L KCl 成分: 89.9 mmol/L NaCl, 60 mmol/L KCl, 1.2 mmol/L MgCl₂ · 6H₂O, 11.1 mmol/L 葡萄糖, 5 mmol/L HEPES, 2.5 mmol/L CaCl₂。含 EGTA K-H 无钙缓冲液成分: 118 mmol/L NaCl, 4.7 mmol/L KCl, 1.2 mmol/L KH₂PO₄, 1.2 mmol/L MgCl₂ · 6H₂O, 25 mmol/L NaHCO₃, 11 mmol/L 葡萄糖, 5 mmol/L HEPES, 0.5 mmol/L EGTA。不含 EGTA K-H 无钙缓冲液成分: 118 mmol/L NaCl, 4.7 mmol/L KCl, 1.2 mmol/L KH₂PO₄, 1.2 mmol/L MgCl₂ · 6H₂O, 25 mmol/L NaHCO₃, 11 mmol/L 葡萄糖, 5 mmol/L HEPES。K-H, 60 mmol/L KCl、无钙缓冲液在实验期间的 pH 值均保持在 7.4。

1.3 小鼠肺动脉环的分离制备及活性检测

8 周龄雄性 C57BL/6J 小鼠吸入异氟烷麻醉后, 开胸, 从下至上剪断肋骨, 使用镊子轻轻挑起心肺组织并置于含 4 °C K-H 缓冲液的硅胶皿中。针灸针固定小鼠肺部, 眼科剪剥离肺部脂肪和结缔组织, 快速分离出肺动脉。剪取长约 2 mm 的小鼠肺动脉环, 用两根直径为 25 μm 的钨丝穿过血管腔, 将小鼠肺动脉安装在微血管张力测定仪上, 使用 LabChart 信号采集分析软件来记录实验过程中血管环张力的变化信号^[10]。将浴槽内的缓冲液温度控制在恒定的 37 °C, 使用 95% O₂+5% CO₂ 连续鼓泡, 每 15 min 更换一次 K-H 缓冲液。待血管张力达到稳定状态, 用 60 mmol/L KCl 诱导小鼠肺动脉收缩并检测血管活性, 选取收缩力可稳定达到 2 mN 以上的肺动脉进行后续实验。

1.4 杜鹃素对小鼠肺动脉静息张力的影响

待静息状态下的小鼠肺动脉张力稳定, 间隔 5 min 或 10 min 向浴槽内累积加入 10⁻⁶、3×10⁻⁶、10⁻⁵、3×10⁻⁵ 及 10⁻⁴ mol/L 杜鹃素, 并使用微血管张力测定系统记录肺动脉张力的变化。以 60 mmol/L KCl 诱导的血管最大收缩为 100%, 采集数据并建立小鼠肺动脉环张力变化曲线。

1.5 杜鹃素对 KCl 和 PE 诱导的小鼠肺动脉收缩的作用

参照 Xu 等^[11]的研究方法, 用 60 mmol/L KCl 或 1 μmol/L PE 诱导小鼠肺动脉收缩至平台期后, 向浴槽内加入不同浓度的杜鹃素 (10⁻⁶、3×10⁻⁶、10⁻⁵、3×10⁻⁵ 及 10⁻⁴ mol/L) 或等容量等摩尔体积的 DMSO, 记录血管张力的变化, 并计算血管最大舒张百分比。

1.6 杜鹃素抑制 KCl 和 PE 对小鼠肺动脉的收缩作用

参照李佳朋等^[12]的研究方法, 取活性良好的小鼠肺动脉, 在有或没有提前加入 3×10⁻⁵ mol/L 杜鹃素的情况下, 加入 KCl (20、30、40、60、80 及 120 mmol/L) 或 PE (10⁻⁹、3×10⁻⁹、10⁻⁸、3×10⁻⁸、10⁻⁷、3×10⁻⁷ 及 10⁻⁶ mol/L) 诱导血管收缩, 并记录小鼠肺动脉收缩曲线。通过计算杜鹃素处理前后 KCl 或 PE 诱导肺动脉收缩的百分比, 研究杜鹃素对 KCl 或 PE 收缩肺动脉的影响。

1.7 杜鹃素抑制小鼠肺动脉收缩的作用与细胞内外钙离子流动的关系

依次使用含和不含 EGTA 的无钙缓冲液分别处理 15 min, 对小鼠肺动脉进行无钙化。在加入或未加入 3×10⁻⁵ mol/L 杜鹃素的情况下, 先使用不含 CaCl₂ 的 60 mmol/L KCl 收缩小鼠肺动脉至平台期, 再向浴槽内加入 2.5 mmol/L CaCl₂ 诱导血管发生二次收缩。使用微血管张力测定系统记录血管张力的变化, 建立无钙或复钙小鼠肺动脉收缩曲线, 并计算无钙或复钙状态下 KCl 诱导血管收缩的百分比。

1.8 杜鹃素对小鼠肺动脉的舒张作用与钾离子通道的关系

使用 60 mmol/L KCl 收缩小鼠肺动脉至平台期后, 分别向浴槽中加入 3 mmol/L 4-AP、2 mmol/L TEA、30 μmol/L BaCl₂ 或 10 μmol/L Gli 处理 15 min, 待肺动脉收缩再次达到平台期后, 加入 10⁻⁶、3×10⁻⁶、10⁻⁵、3×10⁻⁵ 及 10⁻⁴ mol/L 杜鹃素舒张肺动脉, 并记录血管张力的变化。以血管的最大收

缩为 100% 建立血管舒张曲线,比较 K_v 通道阻滞剂 4-AP、 BK_{Ca} 通道阻滞剂 TEA、 K_{ir} 通道阻滞剂 $BaCl_2$ 和 K_{ATP} 通道阻滞剂 Gli 对杜鹃素舒张血管作用的影响。

1.9 统计学分析

使用 GraphPad Prism 5.0 软件和 SPSS 19.0 软件对所得数据进行统计分析与作图,两组间比较采用独立样本 t 检验,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, $P < 0.05$ 表示差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 杜鹃素对小鼠肺动脉静息张力无显著影响

选择 60 mmol/L KCl 诱导小鼠肺动脉收缩后,张力可稳定达到 2 mN 以上的小鼠肺动脉,在静息状态下,间隔 5 min(图 1A)或 10 min(图 1B)加入不同浓度的杜鹃素 (10^{-6} 、 3×10^{-6} 、 10^{-5} 、 3×10^{-5} 及 10^{-4} mol/L)处理。结果显示,小鼠肺动脉张力均无显著变化。

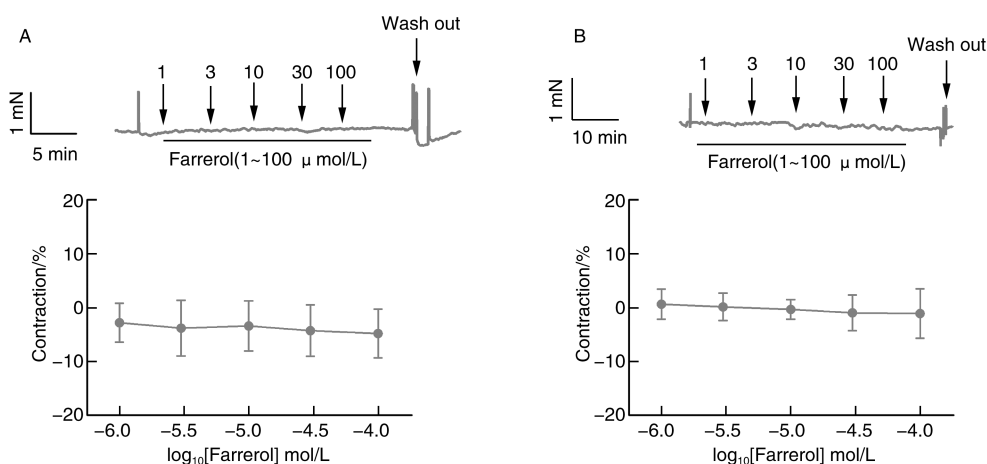


图 1. 杜鹃素对小鼠肺动脉静息张力的影响 ($n=6$)

Figure 1. The effect of farrerol on mouse pulmonary artery resting tension ($n=6$)

2.2 杜鹃素对小鼠肺动脉具有梯度舒张作用

杜鹃素对 PE 和 KCl 诱导的小鼠肺动脉收缩均具有舒张作用,且舒张能力随着杜鹃素浓度的升高而增强。以 1 μ mol/L PE 或 60 mmol/L KCl 诱导的血

管最大收缩为 100%, 10^{-4} mol/L 杜鹃素可使 KCl 诱导的小鼠肺动脉张力下降 94.78% ($P < 0.01$; 图 2A 和 2C), 可使 PE 诱导的小鼠肺动脉张力下降 99.31% ($P < 0.01$; 图 2B 和 2D), 发挥出其显著的舒张作用。

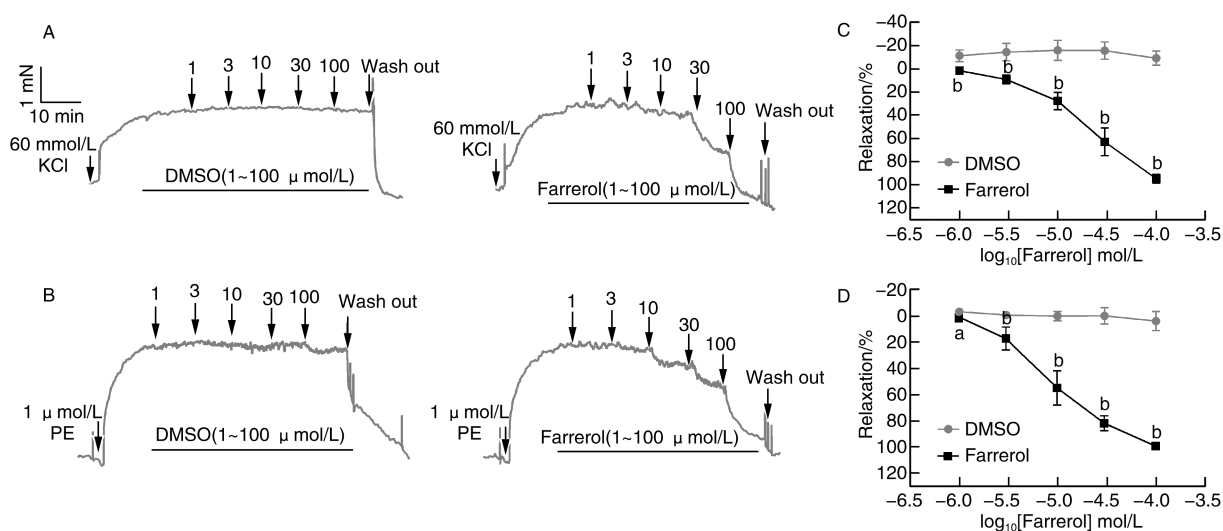


图 2. 杜鹃素对 KCl 或 PE 诱导小鼠肺动脉收缩的舒张作用 ($n=6$)

a 为 $P < 0.05$, b 为 $P < 0.01$, 与 DMSO 组比较。

Figure 2. The relaxation effect of farrerol on mouse pulmonary artery constricted by KCl or PE ($n=6$)

2.3 杜鹃素抑制 PE 和 KCl 诱导的小鼠肺动脉收缩

3×10^{-5} mol/L 杜鹃素预处理 15 min 可以抑制 KCl (20、30、40、60、80 及 120 mmol/L) 和 PE (10^{-9} 、 3×10^{-9} 、 10^{-8} 、 3×10^{-8} 、 10^{-7} 、 3×10^{-7} 及 10^{-6} mol/L) 诱导的小鼠肺动脉收缩, KCl 和 PE 浓度-收缩曲线下移。

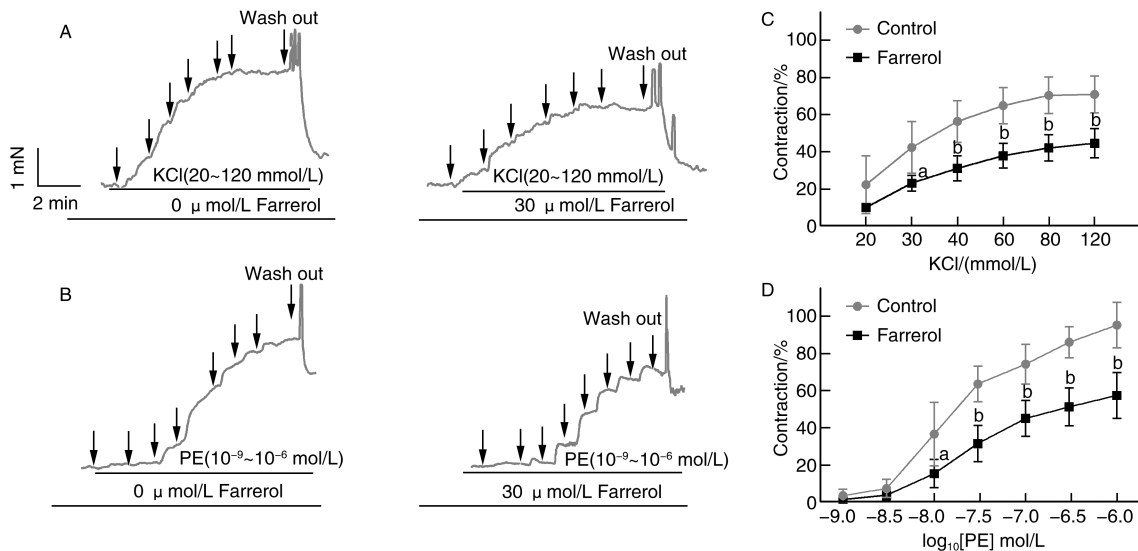


图 3. 杜鹃素对 KCl 或 PE 诱导的小鼠肺动脉收缩的抑制作用 ($n=6$)

a 为 $P<0.05$, b 为 $P<0.01$, 与对照组比较。

Figure 3. The inhibitory effect of farrerol on KCl or PE induced mouse pulmonary artery constriction ($n=6$)

2.4 杜鹃素对小鼠肺动脉张力的作用与细胞内外钙离子流动有关

杜鹃素能够抑制小鼠肺动脉细胞内钙释放和外钙内流所造成的小鼠肺动脉收缩。与对照组相比, 3×10^{-5} mol/L 杜鹃素预处理使无钙或复钙状态下小鼠离体肺动脉收缩幅度显著降低 ($P<0.01$)。以 60 mmol/L KCl 诱导的最大收缩为 100%, 复钙前后肺动脉最大收缩百分比分别降低 42.34% 和 86.54%, 且显著低于对照组 ($P<0.01$; 图 4A、4B 和 4C)。

2.5 杜鹃素对小鼠离体肺动脉的舒张作用与开放 K_v 通道有关

与对照组相比, 4-AP 导致杜鹃素 ($10^{-6} \sim 10^{-4}$ mol/L) 对小鼠肺动脉的最大舒张率降低 42.02% ($P<0.01$; 图 5A); 而 TEA、BaCl₂ 和 Gli 对杜鹃素舒张血管的作用无显著影响 (图 5B、5C 和 5D)。

3 讨论

肺动脉高压的特点包括肺血管重塑和肺血管逐渐狭窄, 这导致了肺血管阻力上升、压力增大, 若不及时治疗会进一步引发右心室衰竭甚至死亡^[13]。

以 60 mmol/L KCl 诱导的小鼠肺动脉最大收缩为 100%, 与对照组相比, KCl 诱导的小鼠肺动脉最大收缩下降 26.39% ($P<0.01$; 图 3A 和 3C), PE 诱导的最大收缩下降 37.87% ($P<0.01$; 图 3B 和 3D)。

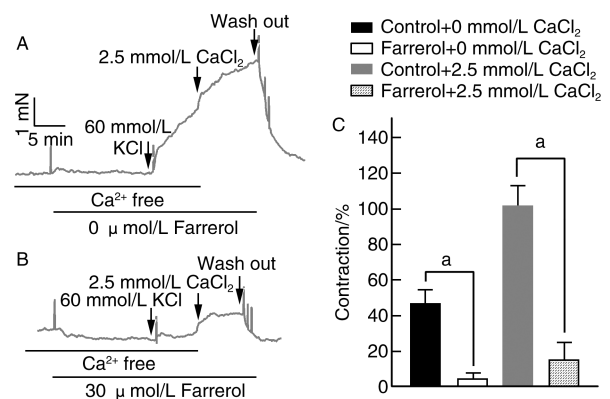


图 4. 杜鹃素对小鼠肺动脉张力的作用与其抑制细胞内钙释放和外钙内流相关 ($n=6$)

a 为 $P<0.01$, 与对照组比较。

Figure 4. The effect of farrerol on mouse pulmonary artery tension was related to its inhibition of intracellular calcium release and extracellular calcium influx ($n=6$)

血管周围炎症作为肺动脉高压患者的一个突出病理特征, 在肺动脉高压的发生发展以及肺血管重塑中起着重要作用^[14]。从高血压到动脉粥样硬化是一个渐进的过程, 涉及血管收缩、重塑、炎症反应和原位血栓形成等多种机制^[15]。以上研究提示, 长期

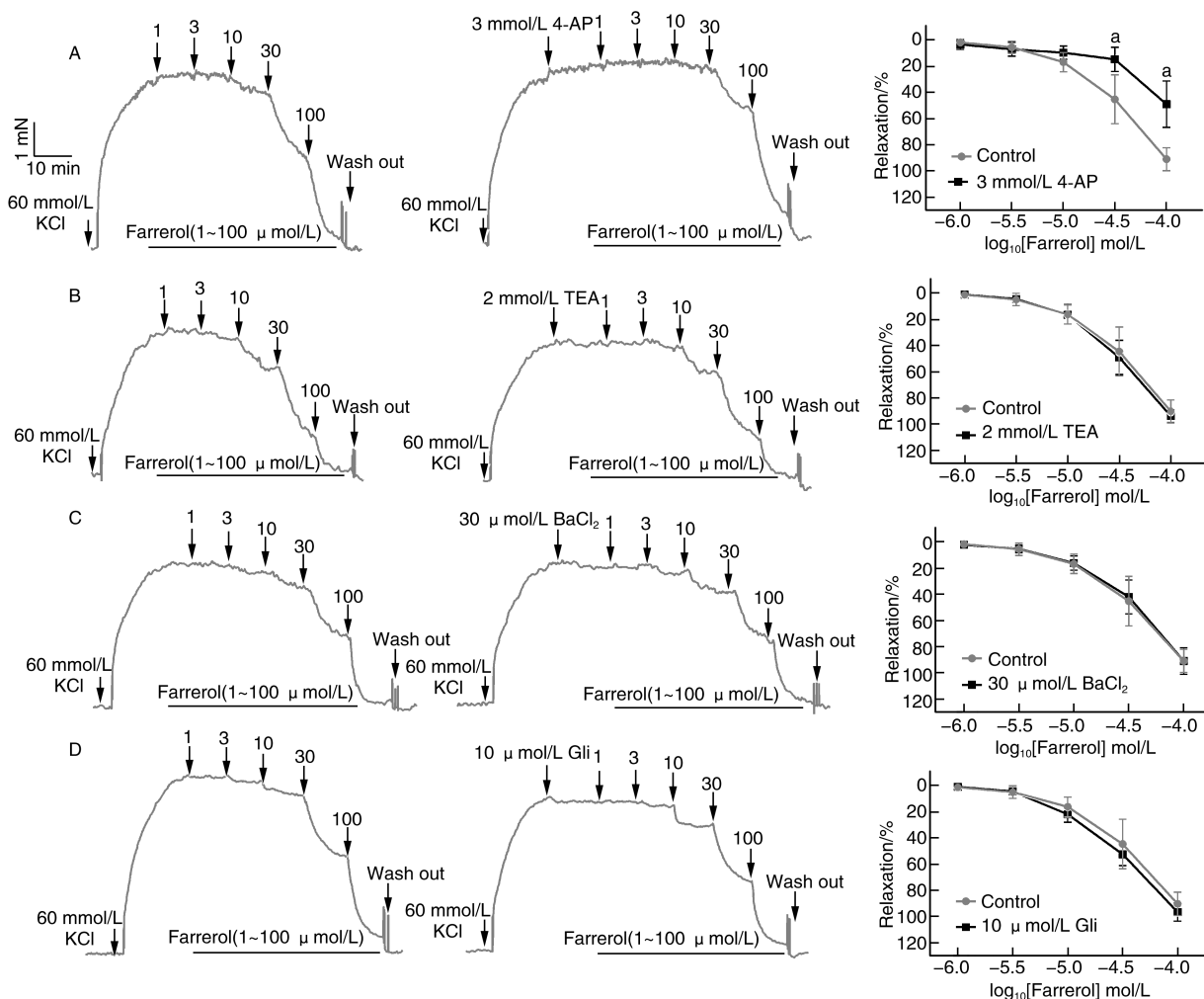


图 5. 杜鹃素对小鼠肺动脉的舒张作用和 K_v 通道相关 ($n=6$)

a 为 $P<0.01$, 与对照组比较。

Figure 5. The relaxation effect of farrerol on mouse pulmonary arteries was related to K_v channels ($n=6$)

肺动脉高压和肺动脉粥样硬化具有非常密切的关系。因此,肺血管病变的早期干预和管理,对改善肺动脉高压、缓解病情进展至关重要。

在中药天然产物中,黄酮类化合物能够扩张动脉,并对动脉粥样硬化具有预防作用^[16]。杜鹃素是一种典型的天然黄酮化合物,对心血管疾病具有非常好的防治作用^[17]。已有研究报道,杜鹃素具有多种生物活性,如抗炎、抗癌、抗菌等^[18]。Li 等^[19]研究发现,杜鹃素对过氧化氢诱导的人内皮源性细胞凋亡具有保护作用,是治疗动脉粥样硬化潜在的候选药物。本课题组前期研究发现,杜鹃素可以通过上调 eNOS 和降低 NAD(P)H 氧化酶的活性减轻自发性高血压大鼠的主动脉病变^[6]。使用杜鹃素还可以降低血压,改善主动脉基因表达谱,改善血液生物化学指标^[20]。除杜鹃素外,其他黄酮类化合物也有心血管保护作用。何慧等^[21]的研究表明,柚皮素作为一种天然的二氢黄酮类化合物,可以通过改

善细胞外基质成分以稳定动脉粥样硬化斑块。Cao 等^[22]研究发现,槲皮素可以通过抑制 ox-LDL 诱导的巨噬细胞源性泡沫细胞中 MST1 介导的自噬作用,发挥抗动脉粥样硬化作用。据报道,黄酮类化合物可以通过 PI3K/Akt/STAT3 通路抑制炎症反应,从而防治肺动脉高压^[23]。因此,本研究通过测定杜鹃素对小鼠离体肺动脉张力的变化,研究其对小鼠离体肺动脉的舒张作用,并进一步探讨其机制。本研究结果显示,杜鹃素 ($10^{-6} \sim 10^{-4}$ mol/L) 对静息状态下小鼠肺动脉张力无明显作用;使用 PE 和 KCl 提前诱导小鼠肺动脉收缩,杜鹃素对收缩的小鼠肺动脉具有舒张作用; 3×10^{-5} mol/L 杜鹃素预处理能够抑制 PE 和 KCl 对小鼠离体肺动脉的收缩作用。

血管平滑肌上钙信号对血管张力的调节起到关键作用^[24]。本研究通过无钙或复钙实验,探究杜鹃素舒血管作用与细胞内钙释放和外钙内流的相

关性。结果发现,在无钙 KCl 收缩小鼠肺动脉前加入 3×10^{-5} mol/L 杜鹃素,可以抑制内钙释放和外钙内流诱导的血管收缩,这说明杜鹃素的舒血管作用与抑制血管平滑肌细胞外钙内流和内钙释放有关。

在心血管系统上存在多种钾离子通道,其功能的表达在控制血管张力变化中发挥着重要的作用^[25]。本研究对小鼠离体肺动脉环加入钾离子通道阻滞剂,并记录杜鹃素对小鼠肺动脉的舒张作用百分比,以探究杜鹃素的舒血管作用和钾离子通道的关系。结果显示,Kv 通道选择性抑制剂 4-AP 显著减弱了杜鹃素舒张小鼠肺动脉的能力,提示杜鹃素的舒血管作用可能与开放 Kv 通道相关。

综上所述,杜鹃素对小鼠肺动脉具有舒张作用,且该作用可能与开放 Kv 通道相关。本研究结果可能为杜鹃素治疗肺动脉高压提供理论依据。

[参考文献]

- [1] NIELSEN R, CHRISTENSEN K H, GOPALASINGAM N, et al. Hemodynamic effects of ketone bodies in patients with pulmonary hypertension[J]. J Am Heart Assoc, 2023, 12(10): e028232.
- [2] RAMCHANDRAN R, RAGHAVAN A, GEENEN D, et al. PKG-1 α leucine zipper domain defect increases pulmonary vascular tone: implications in hypoxic pulmonary hypertension[J]. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol, 2014, 307(7): L537-L544.
- [3] SEIDEL L M, THUDIUM J, SMITH C, et al. Death-associated protein kinase 1 prevents hypoxia-induced metabolic shift and pulmonary arterial smooth muscle cell proliferation in PAH[J]. Cell Signal, 2025, 127: 111527.
- [4] LIU S F, NAMBIAR V N, LI Q H, et al. Pulmonary hypertension: linking inflammation and pulmonary arterial stiffening[J]. Front Immunol, 2022, 13: 959209.
- [5] QIN X, HOU X, ZHANG M, et al. Relaxation of rat aorta by farrerol correlates with potency to reduce intracellular calcium of VSMCs[J]. Int J Mol Sci, 2014, 15(4): 6641-6656.
- [6] QIN X, HOU X, LIANG T, et al. Farrerol can attenuate the aortic lesion in spontaneously hypertensive rats via the upregulation of eNOS and reduction of NAD(P)H oxidase activity[J]. Eur J Pharmacol, 2015, 769: 211-218.
- [7] CHEN R, MCVEY D G, SHEN D, et al. Phenotypic switching of vascular smooth muscle cells in atherosclerosis[J]. J Am Heart Assoc, 2023, 12(20): e031121.
- [8] LIU E, SHI S, LI J, et al. Farrerol maintains the contractile phenotype of VSMCs via inactivating the extracellular signal-regulated protein kinase 1/2 and p38 mitogen-activated protein kinase signaling[J]. Mol Cell Biochem, 2020, 475(1/2): 249-260.
- [9] SAHRANAVARD T, CARBONE F, MONTECUCCO F, et al. The role of potassium in atherosclerosis[J]. Eur J Clin Invest, 2021, 51(3): e13454.
- [10] 秦小江, 杨晓宇, 许欣荣, 等. 杜鹃素对高盐膳食致冠状动脉重构的影响及机制[J]. 中国临床药理学杂志, 2022, 38(9): 939-943.
- QIN X J, YANG X Y, XU X R, et al. Effect and mechanism of farrerol in coronary artery remodeling induced by high-salt diet[J]. Chin J Clin Pharmacol, 2022, 38(9): 939-943.
- [11] XU X, HOU X, XING Y, et al. Dibazol-induced relaxation of ophthalmic artery in C57BL/6J mice is correlated with the potency to inhibit voltage-gated Ca²⁺ channels[J]. Exp Eye Res, 2023, 231: 109468.
- [12] 李佳朋, 梁晓莉, 张湛睿, 等. 木犀草素对大鼠肠系膜上动脉舒张作用的影响[J]. 中国临床药理学杂志, 2023, 39(9): 1257-1261.
- LI J P, LIANG X L, ZHANG Z R, et al. Effects of luteolin on the relaxation of superior mesenteric artery in rats[J]. Chin J Clin Pharmacol, 2023, 39(9): 1257-1261.
- [13] BOUCLY A, GERGES C, SAVALE L, et al. Pulmonary arterial hypertension[J]. La Presse Méd, 2023, 52(3): 104168.
- [14] HU Y, CHI L, KUEBLER W M, et al. Perivascular inflammation in pulmonary arterial hypertension[J]. Cells, 2020, 9(11): 2338.
- [15] MITCHELL G F, POWELL J T. Arteriosclerosis: a primer for "in focus" reviews on arterial stiffness[J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2020, 40(5): 1025-1027.
- [16] 雷雪丽, 王震. 中药天然产物调控内皮细胞防治动脉粥样硬化的研究进展[J]. 中国动脉硬化杂志, 2023, 31(1): 70-79.
- LEI X L, WANG Z. Research progress on the regulation of endothelial cells by natural products of traditional Chinese medicine in the prevention and treatment of atherosclerosis[J]. Chin J Arterioscler, 2023, 31(1): 70-79.
- [17] LI Q Y, CHEN L, ZHU Y H, et al. Involvement of estrogen receptor- β in farrerol inhibition of rat thoracic aorta vascular smooth muscle cell proliferation[J]. Acta Pharmacol Sin, 2011, 32(4): 433-440.
- [18] HE J, XU D, WANG L, et al. Farrerol prevents angiotensin II-induced cardiac remodeling *in vivo* and *in vitro*[J]. Front Pharmacol, 2023, 13: 1079251.
- [19] LI J K, GE R, TANG L, et al. Protective effects of farrerol against hydrogen-peroxide-induced apoptosis in human endothelium-derived EA.hy926 cells[J]. Can J Physiol Pharmacol, 2013, 91(9): 733-740.
- [20] QIN X, HOU X, ZHANG K, et al. Farrerol modulates aorta gene expression profile in spontaneously hypertensive rats[J]. Planta Med, 2018, 84(5): 296-303.
- [21] 何慧, 董豆豆, 丁萌, 等. 柚皮素通过调控平滑肌细胞 TIMP-3 表达促进动脉粥样硬化斑块稳定[J]. 中国动脉硬化杂志, 2024, 32(7): 567-572, 582.
- HE H, DONG D D, DING M, et al. Naringenin promotes atherosclerotic plaque stability by regulating the expression of TIMP-3 in smooth muscle cells[J]. Chin J Arterioscler, 2024, 32(7): 567-572, 582.
- [22] CAO H, JIA Q, YAN L, et al. Quercetin suppresses the progression of atherosclerosis by regulating MST1-mediated autophagy in ox-LDL-induced RAW264.7 macrophage foam cells[J]. Int J Mol Sci, 2019, 20(23): 6093.
- [23] YIN Q, WANG S, YANG J, et al. Nobiletin attenuates monocrotaline-induced pulmonary arterial hypertension through PI3K/Akt/STAT3 pathway[J]. J Pharm Pharmacol, 2023, 75(8): 1100-1110.
- [24] HARRAZ O F, JENSEN L J. Aging, calcium channel signaling and vascular tone[J]. Mech Ageing Dev, 2020, 191: 111336.
- [25] MONDÉJAR-PARREÑO G, BARREIRA B, CALLEJO M, et al. Uncovered contribution of Kv7 channels to pulmonary vascular tone in pulmonary arterial hypertension[J]. Hypertension, 2020, 76(4): 1134-1146.

(此文编辑 文玉珊)