

二苯乙烯苷对血管活性物质引起的体外血管收缩作用的影响

张欣¹, 贾敏^{1,2}, 秦巧红¹, 张寒³, 侯颖¹, 苏兴利², 陈玉龙^{1,2} (1. 西安医学院基础与转化医学研究所, 陕西西安 710021; 2. 西安医学院基础医学部, 陕西西安 710021; 3. 西安医学院药学院生药教研室, 陕西西安 710021)

摘要: **目的** 研究二苯乙烯苷(2,3,5,4'-tetrahydroxystilbene-2-O- β -D-glycoside, TSG)在体外对高钾(KCl)、苯肾上腺素(PE)、5-羟色胺(5-HT)、内皮素-1(ET-1)、内皮素 B 型受体激动剂蛇毒类似物(S6c)诱导的血管环收缩的影响。**方法** 显微操作下取大鼠肠系膜上动脉, 制备成 1.0 ~ 1.5 mm 血管环, 随机分为正常对照组、新鲜对照组及二苯乙烯苷低、中、高剂量组(10^{-4} 、 $10^{-3.5}$ 、 10^{-3} mol·L⁻¹)。采用离体血管环实验方法, 通过 DMT Myograph 动态描记系统测定 K⁺(60 mmol·L⁻¹)、PE、5-HT、ET-1、S6c 对血管环收缩的变化; 采用 Western Blot 法检测血管环中内皮素 A 型(ET_A)、内皮素 B 型(ET_B)受体蛋白的表达。**结果** 与正常对照组比较, TSG 与离体血管环共同孵育 24 h 后能够呈浓度依赖性地舒张 K⁺(60 mmol·L⁻¹)、PE、5-HT 引起的血管环收缩($P < 0.05$, $P < 0.01$); TSG 能够抑制 ET_B 受体激动剂 S6c 对血管环引起的收缩, 呈剂量依赖性($P < 0.05$, $P < 0.01$), 但对 ET-1 引起的血管收缩无明显影响($P > 0.05$)。Western Blot 法检测结果发现, 与新鲜对照组比较, 体外培养 24 h 后血管环的 ET_A、ET_B 受体表达均显著增加($P < 0.05$, $P < 0.01$); 与正常对照组比较, TSG 与离体血管环共同孵育 24 h 后, ET_B 受体蛋白表达明显下调($P < 0.01$), ET_A 受体蛋白表达无明显变化($P > 0.05$)。**结论** TSG 在体外具有舒张血管的作用, 与其拮抗血管活性物质引起的血管收缩, 下调 ET_B 受体表达有关。

关键词: 二苯乙烯苷; 血管收缩剂; 肠系膜上动脉; 内皮素受体

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1003-9783(2021)08-1114-06

doi: 10.19378/j.issn.1003-9783.2021.08.008

Effects of 2,3,5,4'-tetrahydroxystilbene-2-O- β -D-glycoside on Vasoconstriction Induced by Vasoactive Substances *in Vitro*

ZHANG Xin¹, JIA Min^{1,2}, QIN Qiaohong¹, ZHANG Han³, HOU Ying¹, SU Xingli², CHEN Yulong^{1,2} (1. Institute of Basic and Translational Medicine, Xi'an Medical College, Xi'an 710021 Shaanxi, China; 2. College of Basic Medical Science, Xi'an Medical College, Xi'an 710021 Shaanxi, China; 3. College of Pharmacy, Xi'an Medical College, Xi'an 710021 Shaanxi, China)

Abstract Objective To study *in vitro* effect of 2,3,5,4'-tetrahydroxystilbene-2-O- β -D-glycoside (TSG) against vasoconstriction induced by high potassium(KCl), phenylephrine(PE), 5-hydroxy tryptamine(5-HT), endothelin-1 (ET-1), Sarafotoxin6c(S6c). **Methods** The superior mesenteric artery of rats was taken under a micromanipulation to prepare 1.0-1.5 mm vascular rings, and the rings were randomly divided into normal control group, fresh control group, TSG group low, medium and high dose groups(10^{-4} , $10^{-3.5}$, 10^{-3} mol·L⁻¹). Using the isolated vascular ring experiment method, DMT Myograph dynamic tracing system was used to determine the changes of K⁺(60 mmol·L⁻¹), PE, 5-HT, ET-1, S6c on the contraction of vascular ring. Western Blot method was used to detect the expression of endothelin A (ET_A) and endothelin B (ET_B) receptors in the vascular ring. **Results** Compared with the control group, TSG and the isolated vascular ring were able to show a concentration-dependent relaxation of vascular ring

收稿日期: 2020-07-30

作者简介: 张欣, 女, 硕士, 助理实验师, 研究方向: 药理学。Email: zhangxin-jzs@xjtu.edu.cn。通信作者: 陈玉龙, 男, 博士后, 副教授, 研究方向: 心血管受体介导的血管重塑机制及药物治疗。Email: chenylong.0901@stu.xjtu.edu.cn。

基金项目: 陕西省科技创新基地—科技资源开放共享平台项目(2019PT-26); 陕西省科技厅一般项目(社会发展领域, 2020SF-156); 西安医学院校内振兴计划人才基金项目(2018XNRC04)。

contraction caused by K^+ ($60 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$), PE, and 5-HT after 24 hours of incubation ($P < 0.05$, $P < 0.01$). TSG can inhibit the contraction of vascular ring caused by ET_B receptor agonist S6c in a dose-dependent manner ($P < 0.05$, $P < 0.01$), but has no effect on ET-1 induced vasoconstriction ($P > 0.05$). Western Blot detection results showed that the expression of ET_A and ET_B receptors increased significantly after 24 hours of *in vitro* culture compared with the fresh group ($P < 0.05$, $P < 0.01$). Compared with the control group, after 24 hours of incubation with TSG and isolated vascular rings, the expression of ET_B receptor was down-regulated ($P < 0.01$), and the expression of ET_A receptor was basically unchanged ($P > 0.05$). **Conclusion** TSG has a concentration-dependent relaxation effect on K^+ , PE, 5-HT, S6c pre-constricted vascular rings, which may relate to inhibiting the vasoconstriction caused by vasoactive substances and down-regulating expression of ET_B receptor(s).

Keywords: 2, 3, 5, 4'-tetrahydroxystilbene-2-O- β -D-glycoside; vasoconstrictor; superior mesenteric artery; endothelin receptor

二苯乙烯苷(2,3,5,4'-tetrahydroxystilbene-2-O- β -D-glycoside, TSG)是蓼科植物何首乌的干燥根中提取的主要水溶性有效成分,具有较强的抗氧化、抗炎、抗凋亡等药理作用^[1-3]。目前对 TSG 的研究^[4-7]多集中于缺血性脑损伤、神经退行性病变等脑疾病模型方面,而对血管方面的研究则相对较少。近年来研究^[8-9]发现,血管活性物质与某些心血管疾病的发生发展有一定的相关性,如当心血管组织受体(如 5-羟色胺受体、内皮素受体、血管紧张素受体、 α -肾上腺素受体等)表达增高的时候,可使血管对缩血管物质[如 5-羟色胺(5-hydroxy tryptamine, 5-HT)、内皮素(ET)、血管紧张素 II、去甲肾上腺素等]反应性增强,对舒血管物质(前列环素、一氧化氮等)反应性降低或不反应,从而增加血管外周阻力,促进高血压的发生发展。本研究拟采用离体血管环实验方法,观察 TSG 对高钾、苯肾上腺素(Phenylephrine, PE)、5-HT、内皮素-1(Endothelin-1, ET-1)、内皮素 B 型受体激动剂蛇毒类似物(Sarafotoxin6c, S6c)所诱发血管收缩作用的影响,探讨 TSG 与血管活性物质及内皮素受体之间的关系,以期 TSG 用于心血管疾病的治疗提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 动物 雄性 SD 大鼠, SPF 级,体质量 300~350 g,购于西安交通大学实验动物中心,动物生产许可证号: SCXK(陕)2017-003。常规饲料及自来水喂养。

1.2 药物及试剂 TSG(含量为 98.1%),由空军军医大学药理学系中药与天然药物研究室提供,批号: 20150412。PE(批号: MKBR1565V)、5-HT(批号: #091M5163V)、乙酰胆碱(Acetylcholine, Ach, 批

号: #BCBG2401V)、曲拉通(Triton X-100)、ET-1(批号: #035M4856V)、S6c(批号: EGJ-994D)、青霉素、链霉素、DMEM 高糖培养基等试剂,均购自美国 Sigma-Aldrich 公司。一抗 β -actin(批号: GR3185620 ab6276)、内皮素 A 型(ET_A)受体(批号: GR90153-1)、内皮素 B 型(ET_B)受体(批号: GR93016-1)及 HRP 标记的羊抗兔二抗(批号: GR81082-1 ab9051),均购自美国 Abcam 公司;ECL 化学发光试剂(批号: 1633301),美国 Millipore 公司;Marker(批号: 00487982),美国 Thermo 公司;蛋白酶抑制剂,德国 Roche 公司;SDS-PAGE 凝胶试剂盒、蛋白上样缓冲液、RIPA 强裂解液、BCA 蛋白检测试剂盒,均购自上海碧云天生物技术公司;正常生理盐水溶液(PSS)及高钾缓冲液(KPSS)自行配制。

1.3 主要仪器 DTM620M 型微血管张力测定仪,丹麦 DMT 公司;PowerLab 数据记录和分析系统,澳大利亚 Adinstruments 公司;CO₂ 细胞培养箱,美国 Thermo 公司;体式解剖显微镜,日本 Olympus 公司;电泳仪及 ChemiDoc XRS 化学发光成像系统,美国 Bio-Rad 公司。

1.4 离体血管环制备及培养 以颈椎脱臼法处死大鼠,仰卧位固定,迅速打开腹腔,取出肠部置于 PSS 缓冲液中;在光学解剖镜下剥离肠系膜上动脉周围组织,在末端将血管剪断,不剪断二级动脉;从肠系膜上动脉血管始端,用 0.1%的 Triton X-100 缓慢冲洗血管管腔 10 s,然后用 PSS 缓冲液轻柔冲洗 3 次;再将血管完全分离,并剪成 1.0~1.5 mm 血管环。将其随机分为正常对照组、新鲜对照组、TSG 低浓度组($10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$)、TSG 中浓度组($10^{-3.5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$)、TSG 高浓度组($10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$)。正常对照组血管用含青

霉素($100\text{ U}\cdot\text{L}^{-1}$)和链霉素($100\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)的 DMEM 培养液培养;给药组分别用不同浓度的 TSG(10^{-4} 、 $10^{-3.5}$ 、 $10^{-3}\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$)作用于去内皮的血管环;每组设 5 个复孔,每孔 2 段血管,于 $37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 培养箱孵育 24 h。收集各组血管段,进行后续指标检测。

1.5 血管活性及内皮完整性检测 将培养 24 h 的血管环内穿 2 根微细钢丝,其中一端连接 Myograph system 传感器,另一端连接微调装置。血管环在盛有 5 mL PSS 液并持续通入 $95\%\text{ O}_2 + 5\%\text{ CO}_2$ 保持 $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 恒温的浴槽中稳定 1 h 后,每隔 15 min 顺时针旋转 DMT 螺旋测微尺,每次给予血管环 0.5 mN 的预张力,直至预张力到达 2 mN。待血管稳定后将 PSS 液更换为 KPSS 缓冲液(含 $60\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 KCl),检验血管收缩活性 2 次。若 KPSS 缓冲液引起血管收缩超过 2.0 mN 且 2 次收缩幅度相差不大,说明血管环具有活性,可用于下一步实验。

为检测内皮的功能情况, PSS 缓冲液冲洗 3 次后,给予 KPSS 缓冲液(含 $60\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 KCl)使血管收缩达最大并维持平衡后,再加入 Ach($10\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)舒张血管。若血管的舒张率 $>30\%$ 则视为血管内皮完整;如果血管不舒张,说明血管内皮已去除,然后开始正式实验。

1.6 KCl 预收缩的肠系膜上动脉血管环张力测定 取制备好的去内皮肠系膜上动脉血管环,以累加给药的方式给予不同浓度的 KCl(0 、 30 、 $60\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$),建立 KCl 累积浓度-反应曲线。观察不同浓度 TSG 对 KCl 预收缩的去内皮肠系膜上动脉血管环的作用。

1.7 PE 预收缩的肠系膜上动脉血管环张力测定 取制备好的去内皮肠系膜上动脉血管环,以累加给药的方式给予不同浓度的 PE(10^{-8} ~ $10^{-5}\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$),建立 PE 累积浓度-反应曲线。观察不同浓度 TSG 对 PE 预收缩的去内皮肠系膜上动脉血管环的作用。

1.8 5-HT 预收缩的肠系膜上动脉血管环张力测定 取制备好的去内皮肠系膜上动脉血管环,以累加给药的方式给予不同浓度的 5-HT(10^{-9} ~ $10^{-5}\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$),建立 5-HT 累积浓度-反应曲线。观察不同浓度 TSG 对 5-HT 预收缩的去内皮肠系膜上动脉血管环的作用。

1.9 ET-1、S6c 预收缩的肠系膜上动脉血管环张力测定 为了观察 ET-1 和 S6c 分别对 ET_A 和 ET_B 的影响,取制备好的去内皮肠系膜上动脉血管环,按累积给药法先向浴槽中加入 S6c(10^{-11} ~ $10^{-7}\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$),待张力收缩曲线达到稳定后,再加入下一浓度的 S6c。S6c 测定结束后,用 PSS 液冲洗肠系膜上动脉血管

环,直至其恢复张力后,再以同样方法加入 ET-1(10^{-11} ~ $10^{-7}\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$),分别获得 ET_B 受体和 ET_A 受体的量效曲线。

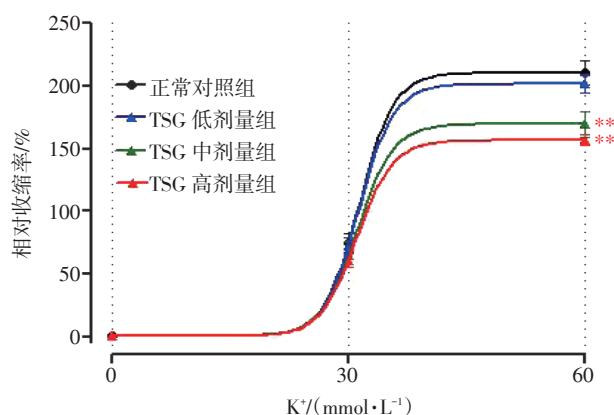
1.10 Western Blot 法测定血管环 ET_A 、 ET_B 受体蛋白的表达 采用细胞裂解液裂解离体培养血管环,以 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 、 $12\text{ }000\times g$ 离心 20 min;采用 BCA 法测定蛋白浓度。配制 10%分离胶、5%浓缩胶,加入 $30\text{ }\mu\text{g}$ 蛋白上样样品至 0.5 mL 离心管中,加入 $5\times$ SDS 上样缓冲液至终浓度为 $1\times\text{SDS}$ 。上样前将样品于 PCR 仪中 $105\text{ }^{\circ}\text{C}$ 加热 5 min 使蛋白变性,冷却至室温,加足量的电泳液后上样。电泳,转膜,封闭后加入一抗 [ET_A ($1:2\text{ }000$)、 ET_B ($1:2\text{ }000$)兔抗单克隆抗体], $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 过夜,洗涤;加入二抗[辣根过氧化物酶标记山羊抗兔 IgG 抗体($1:5\text{ }000$)],置于 $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 下孵育 1 h 后,洗去游离二抗。采用 ECL 显影并扫描;以 β -actin 为内参,采用 ImageJ 图像分析软件对目的蛋白进行半定量分析。

1.11 统计学处理方法 采用 GraphPad Prism 5 软件制作浓度-舒张效应曲线;采用 SPSS 19.0 统计软件进行数据分析,计量资料以均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示;多组间比较采用单因素方差分析(One-way ANOVA),两两比较用 q 检验;以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 TSG 对 KCl 预收缩去内皮肠系膜上动脉舒张作用的影响 结果见图 1。将大鼠肠系膜上动脉血管环经离体培养 24 h 后,血管仍保持收缩活性,且对 KCl 有良好的刺激反应性。与正常对照组比较,中、高浓度的 TSG 可使 KCl 量效曲线明显右移,最大效应降低,差异均有统计学意义($P < 0.01$);TSG 低浓度组的量效曲线虽有降低,但差异无统计学意义($P > 0.05$)。结果表明, TSG 能舒张 KCl 诱导收缩的大鼠肠系膜上动脉。

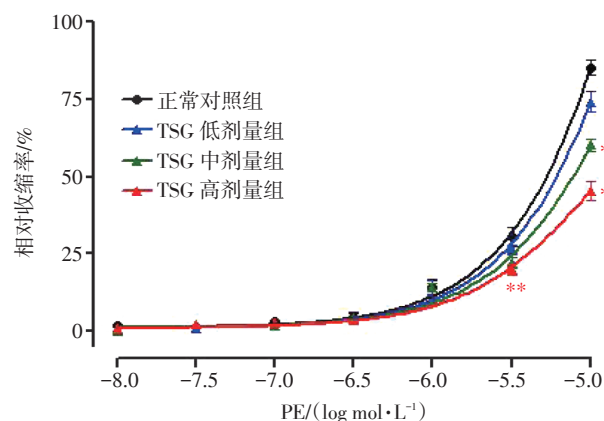
2.2 TSG 对 PE 预收缩去内皮肠系膜上动脉舒张作用的影响 结果见图 2。将大鼠肠系膜上动脉血管环经离体培养 24 h 后,血管仍保持收缩活性,且对 PE 有良好的刺激反应性。随着 PE 浓度升高,正常对照组的去除内皮血管环张力也随之增大,呈浓度依赖性。与正常对照组比较,中、高浓度 TSG 可使 PE 量效曲线明显右移,最大效应降低,差异均有统计学意义($P < 0.01$);TSG 低浓度组的量效曲线虽有降低,但差异无统计学意义($P > 0.05$)。结果表明, TSG 对 PE 诱导收缩的大鼠肠系膜上动脉具有舒张作用。



注：与正常对照组比较，** $P < 0.01$

图 1 二苯乙烯苷(TSG)对 KCl 预收缩去内皮肠系膜上动脉舒张作用的影响($\bar{x} \pm s$, $n=8$)

Figure 1 Relaxant effect of 2,3,5,4'-tetrahydroxystilbene-2-*O*- β -D-glycoside on endothelium-denuded superior mesenteric artery precontracted by KCl($\bar{x} \pm s$, $n=8$)



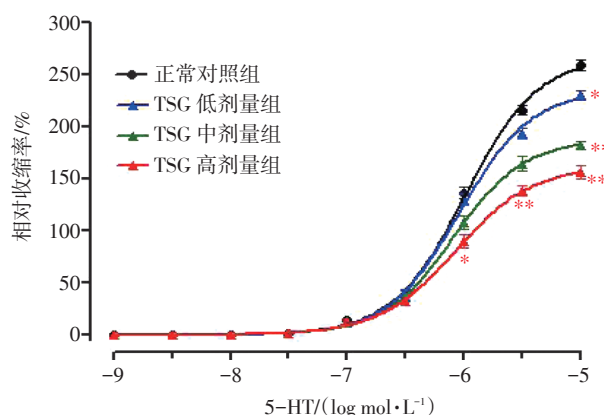
注：与正常对照组比较，** $P < 0.01$

图 2 二苯乙烯苷(TSG)对 PE 预收缩去内皮肠系膜上动脉舒张作用的影响($\bar{x} \pm s$, $n=8$)

Figure 2 Relaxant effect of 2,3,5,4'-tetrahydroxystilbene-2-*O*- β -D-glycoside on endothelium-denuded superior mesenteric artery precontracted by PE($\bar{x} \pm s$, $n=8$)

2.3 TSG 对 5-HT 预收缩去内皮肠系膜上动脉舒张作用的影响 结果见图 3。将大鼠肠系膜上动脉血管环离体培养 24 h 后，血管仍保持收缩活性，且对 5-HT 有良好的刺激反应性。与正常对照组比较，不同浓度 TSG 与离体血管孵育 24 h 后，均能使 5-HT 量效曲线右移，最大效应降低($P < 0.05$, $P < 0.01$)，呈非竞争性拮抗作用，随着 TSG 浓度的升高，其舒张血管的活性也随之增强。结果表明，TSG 对 5-HT 诱导收缩的大鼠肠系膜上动脉具有舒张作用。

2.4 TSG 对肠系膜上动脉 ET_A 和 ET_B 受体收缩功能的影响 结果见图 4。首先按累加浓度法加入



注：与正常对照组比较，* $P < 0.05$ ，** $P < 0.01$

图 3 二苯乙烯苷(TSG)对 5-HT 预收缩去内皮肠系膜上动脉舒张作用的影响($\bar{x} \pm s$, $n=8$)

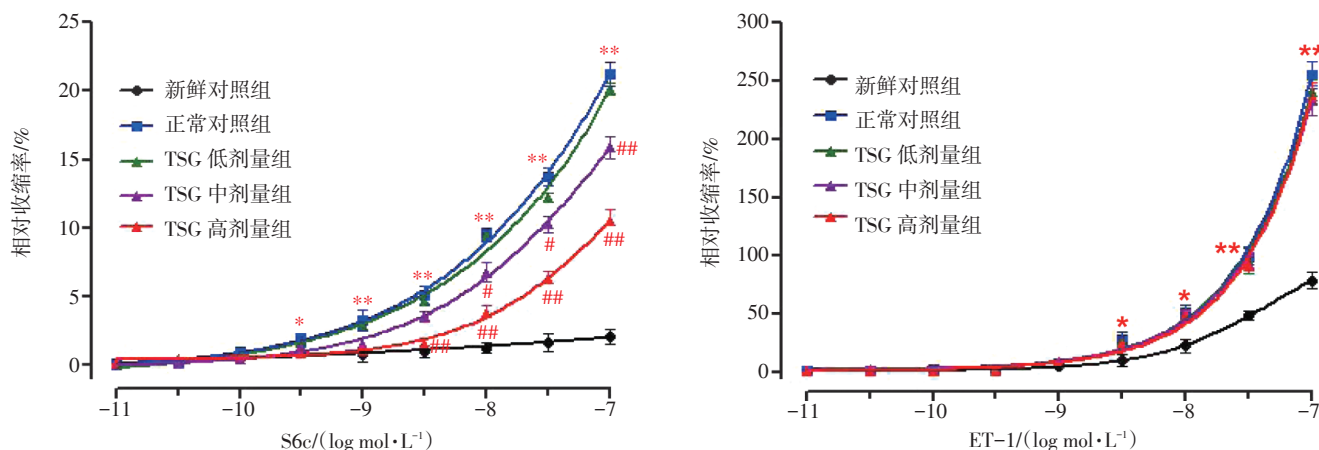
Figure 3 Relaxant effect of 2,3,5,4'-tetrahydroxystilbene-2-*O*- β -D-glycoside on endothelium-denuded superior mesenteric artery precontracted by 5-HT($\bar{x} \pm s$, $n=8$)

S6c(ET_B受体激动剂)引起缩血管，待收缩曲线回到基线，即 ET_B受体已脱敏^[10-11]，然后按累加浓度法加入 ET-1。新鲜血管平滑肌对 ET-1 和 S6c 的反应并不敏感；与新鲜对照组比较，大鼠肠系膜上动脉血管环离体培养 24 h 后，ET-1 和 S6c 均可显著诱发其收缩($P < 0.05$, $P < 0.01$)。与正常对照组比较，经不同浓度 TSG 孵育 24 h 后，可减轻 ET_B受体激动剂 S6c 对大鼠肠系膜上动脉血管环引起的收缩($P < 0.05$, $P < 0.01$)，且舒张反应呈浓度依赖；但对非选择性 ET_A和 ET_B受体激动剂 ET-1 引起的血管收缩并无明显影响($P > 0.05$)。结果表明，TSG 的舒张血管作用可能与抑制血管平滑肌 ET_B受体表达有关。

2.5 TSG 对肠系膜上动脉 ET_A 和 ET_B 受体蛋白表达的影响 结果见图 5。与新鲜对照组比较，体外培养 24 h 后正常对照组的血管平滑肌 ET_A、ET_B受体表达均明显上调($P < 0.05$, $P < 0.01$)。与正常对照组比较，经中、高浓度 TSG 孵育 24 h 后，可明显抑制血管平滑肌 ET_B受体表达水平($P < 0.01$)，而对 ET_A受体表达无明显影响($P > 0.05$)。结果表明，TSG 能够下调 ET_B受体表达，对 ET_A受体表达无明显影响。

3 讨论

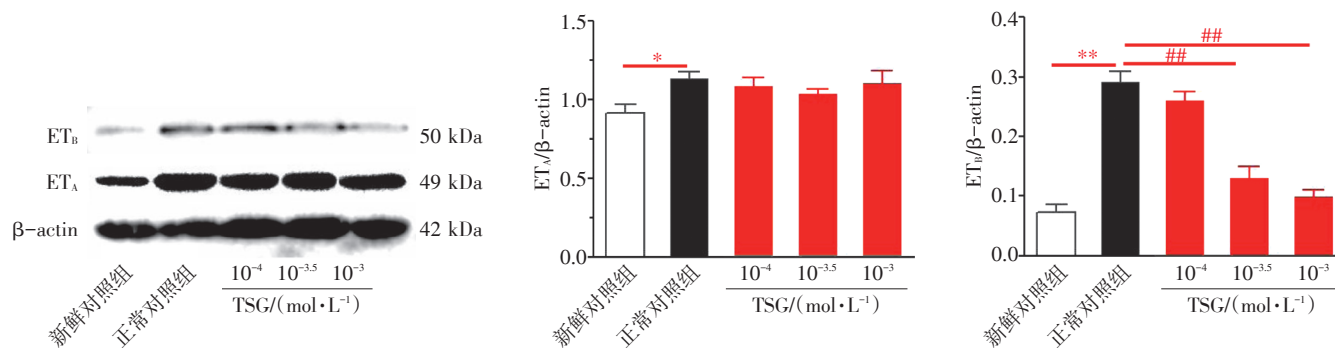
离体血管器官培养是研究血管生理学、病理生理学、药物作用及药理学机制的重要方法。离体血管器官培养方法主要包括简单孵育法、格栅培养法、琼脂孔培养法等^[12-13]，其中简单孵育法最为简单易行。与细胞培养相比，此方法能够将血管作为一个整体结构，通过研究血管对不同刺激的舒缩变化，



注：与新鲜对照组比较，* $P < 0.05$ ，** $P < 0.01$ ；与正常对照组比较，# $P < 0.05$ ，## $P < 0.01$

图4 二苯乙烯苷(TSG)对内皮素受体介导的血管平滑肌收缩功能的影响($\bar{x} \pm s$, $n=8$)

Figure 4 Effect of 2, 3, 5, 4'-tetrahydroxystilbene-2-*O*- β -D-glycoside on endothelin receptor-mediated vascular smooth muscle contraction($\bar{x} \pm s$, $n=8$)



注：与新鲜对照组比较，* $P < 0.05$ ，** $P < 0.01$ ；与正常对照组比较，# $P < 0.05$ ，## $P < 0.01$

图5 二苯乙烯苷(TSG)对肠系膜上动脉 ET_A、ET_B受体蛋白表达的影响($\bar{x} \pm s$, $n=8$)

Figure 5 Effect of 2, 3, 5, 4'-tetrahydroxystilbene-2-*O*- β -D-glycoside on ET_A and ET_B receptor protein expression of superior mesenteric artery($\bar{x} \pm s$, $n=8$)

探讨血管疾病的本质，为心血管疾病的防治提供科学依据^[14-15]。故本研究采用简单孵育法，分离大鼠肠系膜上动脉血管环进行体外培养 24 h 后，应用 Myograph 血管张力分析系统测定二苯乙烯苷(TSG)对血管活性物质(KCl、PE、5-HT)预刺激大鼠肠系膜上动脉的舒张或收缩情况。本研究结果显示，在浴槽中分别加入 KCl、PE、5-HT 后，各组的血管张力均上升，但与正常对照组比较，不同浓度 TSG 均能使 KCl、PE、5-HT 量效曲线右移，最大效应降低。可见，TSG 可直接作用于血管平滑肌细胞，在体外对血管活性物质(KCl、PE、5-HT)起拮抗作用。

内皮素-1(ET-1)是由 21 个氨基酸组成的多肽，是迄今为止最强的缩血管物质^[16-17]。ET-1 只有通过 与靶细胞膜上的内皮素受体结合后，启动细胞内信号转导，才能发挥其生物学效应^[17-18]。ET 受体主要

包括 ET_A 和 ET_B，生理状态下 ET_A 受体主要分布于血管平滑肌细胞上，介导血管收缩；而 ET_B 受体则分布于血管内皮细胞，通过释放一氧化氮和前列腺素引起血管舒张。但在病理状态下 ET_B 受体可异常表达在血管平滑肌细胞上，能够导致血管收缩^[19]。某些心血管病的危险因素，如高血压^[20]、糖尿病^[21]、炎症因子^[22]、香烟烟雾颗粒^[15]、低密度脂蛋白^[23]等均可使血管平滑肌细胞的 ET_B 受体表达上调，导致血管收缩。此外，器官培养后平滑肌细胞中 ET_B 受体表达也会出现上调^[15,24]。

本研究结果表明，选择性 ET_B 受体激动剂 S6c 对在体外培养 24 h 后的血管环可引起收缩，且收缩反应呈浓度依赖性，而 S6c 对新鲜血管却无明显影响。ET-1 是非选择性 ET_A 和 ET_B 受体激动剂，S6c 特异性地与 ET_B 受体结合形成 S6c-ET_B 复合物后，使 ET_B 受

体内化、降解,最终在血管平滑肌表面完全消失,此时再加入 ET-1 引起血管收缩则全部通过 ET_A 受体介导^[25]。本研究结果显示,新鲜血管对 ET-1 有轻微的收缩反应。此外,血管环在体外培养 24 h 后,不同浓度 TSG 可降低 ET_B 受体激动剂 S6c 对血管环引起的收缩,且有浓度依赖性,但其对 ET-1 引起的血管收缩无明显影响。通过 Western Blot 检测进一步验证了 TSG 可抑制 ET_B 受体蛋白的表达,但对 ET_A 受体表达无明显抑制作用。

综上所述,TSG 在体外具有舒张血管的作用,与其一方面能够拮抗血管活性物质引起的血管收缩,另一方面能够下调 ET_B 受体表达有关。

参考文献:

- [1] JING J W, WEN F H, YU G, et al. Current pharmacological developments in 2,3,4',5-tetrahydroxystilbene 2-O-β-D-glycoside (TSG)[J]. *European Journal of Pharmacology*, 2017, 811: 21-29.
- [2] LING S, CU J W. Biological activities of 2, 3, 5, 4'-tetrahydroxystilbene-2-O-β-D-glycoside in ant aging and ant aging-related disease treatments[J]. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2016, 2016: e4973239.
- [3] 王宏杨,迟继铭,姜雪,等.何首乌提取物二苯乙烯苷药理及临床研究进展[J]. *中华中医药学刊*, 2019, 37(10): 2464-2469.
- [4] 薛威,唐虹,孙雨倩,等.二苯乙烯苷抑制NADPH氧化酶对小鼠脑缺血/再灌注损伤的保护作用[J]. *中国实验动物学报*, 2019, 27(2): 208-214.
- [5] YU F, XUE W, DONG L, et al. Tetrahydroxystilbene glucoside suppresses NADPH oxidative stress to mitigate apoptosis and autophagy induced by cerebral ischemia/reperfusion injury in mice[J]. *Evidence Based Complementary and Alternative Medicine*, 2019, 2019(3): 1-9.
- [6] 何虹,王松海,李雪芬,等.二苯乙烯苷通过抑制ROS减轻MPTP对帕金森病小鼠的神经毒性作用[J]. *神经解剖学杂志*, 2013, 29(5): 531-536.
- [7] 杨晓颖,刘宁,黄岑汉,等.二苯乙烯苷对APP/PS1双转基因阿尔茨海默病小鼠脑内β淀粉样前体蛋白及分选蛋白相关受体1 mRNA表达的影响[J]. *中国老年学杂志*, 2016, 36(3): 536-539.
- [8] 刘晓静.原发性高血压中ATP敏感性钾通道表达和功能的随龄改变研究[D].北京:中国人民解放军医学院,2016.
- [9] 姜林峰,莫汉明,张正龙,等.几种血管活性物质在高血压中的作用[J]. *甘肃医药*, 2016, 35(10): 748-750.
- [10] IGLARZ M, STEINER P, WANNER D, et al. Vascular effects of endothelin receptor antagonists depends on their selectivity for ET_A versus ET_B receptors and on the functionality of endothelial ET_B receptors[J]. *J Cardiovasc Pharmacol*, 2015, 66(4): 332-337.
- [11] 孟新芳,张秉华,王发.香烟烟雾影响血管收缩功能的作用与尼古丁无关[J]. *西安交通大学学报(医学版)*, 2012, 33(5): 82-86.
- [12] 谢肖立,张佳,韩梅.离体血管器官培养方法及应用[J]. *河北医科大学学报*, 2007, 28(5): 375-378.
- [13] 邝素娟.离体大鼠冠状动脉的分离培养及张力测定技术[J]. *中国药理学通报*, 2014, 30(3): 433-437.
- [14] OZAKI H, KARAKI H. Organ culture as a useful method for studying the biology of blood vessels and other smooth muscle tissues [J]. *Japanese Journal of Pharmacology*, 2002, 89(2): 93-100.
- [15] 谢艳华.香烟烟雾提取物对大鼠肾动脉血管平滑肌G-蛋白耦联受体表达的影响及机制[D].西安:第四军医大学,2010.
- [16] CAROSELLI C, ROSA R D, TANZI P, et al. Endothelial immunomediated reactivity in acute cardiac ischaemia: role of endothelin 1, interleukin 8 and NT-proBNP in patients affected by unstable angina pectoris[J]. *International Journal of Immunopathology and Pharmacology*, 2016, 29(3): 516-522.
- [17] NEERAJ D, DAVID J W. Endothelins in cardiovascular biology and therapeutics[J]. *Nature Reviews Cardiology*, 2019, 16(8): 491-502.
- [18] NASSER S A, EL-MAS M M. Endothelin ET_A receptor antagonism in cardiovascular disease[J]. *European Journal of Pharmacology*, 2014, 737: 210-213.
- [19] 陈玉龙,万招飞,刘小军,等.同型半胱氨酸通过YAP通路调控大鼠冠状动脉血管平滑肌细胞高反应性的作用机制研究[J]. *实用心脑血管病杂志*, 2019, 27(9): 39-44.
- [20] FINK G, LI M, LAU Y, et al. Chronic activation of endothelin B receptors: new model of experimental hypertension[J]. *Hypertension*, 2007, 50(3): 512-518.
- [21] KELLY-COBBS A I, HARRIS A K, ELGEBALY M M, et al. Endothelial endothelin B receptor-mediated prevention of cerebrovascular remodeling is attenuated in diabetes because of up-regulation of smooth muscle endothelin receptors[J]. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 2011, 337(1): 9-15.
- [22] KNOBLOCH J, FELDMANN M, WAHL C, et al. Endothelin receptor antagonists attenuate the inflammatory response of human pulmonary vascular smooth muscle cells to bacterial endotoxin[J]. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 2013, 346(2): 290-299.
- [23] XU C B, ZHENG J PU, ZHANG W, et al. Low density lipoprotein induces upregulation of vasoconstrictive endothelin type B receptor expression[J]. *Vascular Pharmacology*, 2014, 60(1): 42-48.
- [24] XU C B, SUN Y, EDVINSSON L. Cardiovascular risk factors regulate the expression of vascular endothelin receptors[J]. *Pharmacology & Therapeutics*, 2010, 127(2): 148-155.
- [25] SKOVSTED G F, KRUSE L S, BERCHTOLD L A, et al. Myocardial ischemia-reperfusion enhances transcriptional expression of endothelin-1 and vasoconstrictor ET_B receptors via the protein kinase MEK-ERK1/2 signaling pathway in rat[J]. *Plos One*, 2017, 12(3): 1-18.

(编辑:邹元平)