

## SRT1720 对 DOCA 盐敏感性高血压大鼠的治疗作用

张园园,王璐,苗莉,宋瑞花,林加娟,白咪,张爱华,黄松明\*

(南京医科大学附属南京儿童医院肾脏科,江苏 南京 210008)

**[摘要]** 目的:观察沉默信息调节因子 2 相关酶 1(Sirtuin1, SIRT1)激活剂 SRT1720 对醋酸去氧皮质酮(DOCA)盐敏感性高血压大鼠(DHR)血压的调控作用。方法:28 只 SD 大鼠行左肾切除后随机分为 3 组:对照组、模型组、SRT1720 治疗组。对照组( $n=8$ ):饮自来水;模型组( $n=10$ )和 SRT1720 治疗组( $n=10$ ):将 200 mg/kg DOCA 与硅胶制成的橡皮介质放置在大鼠两侧肩胛骨之间的皮下,并予 1% NaCl 饮水。SRT1720 治疗组给予 100 mg/(kg·d)灌胃。每周测收缩压 1 次。4 周后处死,处死前检测中心动脉压及大鼠脉搏波速度,处死后取胸主动脉分别作 HE 染色观察主动脉厚度与血管口径变化。结果:模型组大鼠收缩压、中心动脉压、脉搏波速度明显增高,HE 染色示血管平滑肌细胞(VSMC)明显肥大,弹力纤维层增厚,主动脉厚度显著增厚,而血管内径则明显下降。SRT1720 治疗组大鼠收缩压、中心动脉压及脉搏波速度均较模型组显著下降。同时,SRT1720 治疗后血管壁的病理改变明显减轻,血管平滑肌细胞肥大受到显著抑制,主动脉厚度显著下降,而血管内径明显增加。结论:SRT1720 可通过抑制血管平滑肌细胞肥大,降低主动脉厚度,从而扩大血管内径,降低中心动脉压及收缩压。

**[关键词]** SRT1720;高血压;醋酸去氧皮质酮

**[中图分类号]** R544.1

**[文献标志码]** A

**[文章编号]** 1007-4368(2016)08-960-04

**doi:** 10.7655/NYDXBNS20160813

## Therapeutic effect of SRT1720 on DOCA salt-sensitive hypertensive rats

Zhang Yuanyuan, Wang Lu, Miao Li, Song Ruihua, Lin Jiajuan, Bai Mi, Zhang Aihua, Huang Songming\*

(Department of Nephrology, Nanjing Children's Hospital Affiliated to NJMU, Nanjing 210008, China)

**[Abstract]** **Objective:** To investigate the role of silent mating type information regulation 2 homolog 1 (SIRT1) activator SRT1720 in deoxycorticosterone acetate (DOCA) salt-sensitive hypertensive rats (DHR). **Methods:** A total of 28 male Sprague-Dawley rats underwent left nephrectomy were randomly divided into three groups: control group, model group, and SRT1720 treatment group. Control group ( $n=8$ ): drinking water; model group ( $n=10$ ) and SRT1720 treatment group ( $n=10$ ): DOCA and silicone rubber medium at the concentration of 200 mg/kg was placed subcutaneously in rats on both sides of the scapula and given 1% NaCl drinking water. SRT1720 treatment group was given intragastric administration of SRT1720 for 4 weeks at the concentration of 100 mg/(kg·d). Systolic blood pressure (SBP) was measured once a week. After 4 weeks, central arterial pressure and pulse wave velocity (PWV) were monitored, and then rats were sacrificed. Thoracic aorta was taken for HE staining to observe the thickness and vascular caliber change. **Results:** In model group, SBP, central aortic pressure and PWV were significantly increased. HE staining showed marked vascular smooth muscle cell (VSMC) hypertrophy, and marked thickening of elastic fiber layer and aortic media, but a significantly decreasing in vessel diameter. Meanwhile, SRT1720 treatment group reversed these changes. **Conclusion:** SRT1720 could inhibit VSMC hypertrophy, reduce aortic media thickness, thereby expand blood vessel diameter, and reduce central arterial pressure and peripheral blood pressure in DOCA salt-sensitive hypertensive rats.

**[Key words]** SRT1720; hypertension; deoxycorticosterone acetate

[Acta Univ Med Nanjing, 2016, 36(08): 960-963]

高血压是常见的慢性病,是目前公认的脑卒中、冠心病<sup>[1-2]</sup>及肾脏<sup>[3-4]</sup>等疾病的重要危险因素,已成为全

球主要的公共卫生问题<sup>[5]</sup>。据 2010 年的 WHO 研究报告,全球每年由于高血压导致的死亡人数为 750 万例,其引起的伤残调整寿命年损失排在第 5 位。《2012 年世界卫生统计》数据显示,全球三分之一成年人患有高血压。随着人们生活方式的变化和老龄

**[基金项目]** 国家 973 项目(2013CB530604)

\*通信作者(Corresponding author), E-mail: smhuang@njmu.edu.cn

化进程的加速,高血压的患病率正在快速增长,至 2010 年,我国 25 岁及以上成年人中 34% 患有高血压。这些数字显示我国成为世界上高血压危害最严重的国家之一。尽管高血压的治疗已取得很大进展,但其发病率仍持续上升,增加了全球医疗负担。因此,积极寻找有效的降压药是当务之急。

SRT1720,中文全称为:N-[2-[3-(1-哌嗪基甲基)咪唑并[2,1-B]噻唑-6-基]苯基]-2-喹啉甲酰胺,分子式为 C<sub>25</sub>H<sub>23</sub>N<sub>7</sub>O<sub>5</sub>,属于烟酰胺腺嘌呤二核苷酸(NAD<sup>+</sup>)依赖性脱乙酰基酶 SIRT1(Sirtuin1,SIRT1)的激活剂<sup>[6]</sup>。已有研究证明了 SRT1720 能够缓解多种疾病,如肥胖<sup>[7]</sup>、哮喘<sup>[8]</sup>、2 型糖尿病<sup>[9]</sup>、多发性骨髓瘤<sup>[10]</sup>、动脉粥样硬化<sup>[11]</sup>、肠缺血再灌注损伤<sup>[12]</sup>、足细胞损伤<sup>[13]</sup>等,但其在血压调控中的作用尚不清楚。本研究应用醋酸去氧皮质酮(DOCA)盐敏感性高血压大鼠(DHR)模型,检测大鼠收缩压、中心动脉压、脉搏波速度及主动脉厚度,揭示 SRT1720 在血压调控中的作用及其作用机制。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

13 周龄 SD 大鼠(220~250 g,南京医科大学模式动物所),分笼饲养,室温维持 25℃,自由饮水和摄食。

BP2000 无创血压仪(南京医科大学动物实验平台);SRT1720(Selleck Chemicals 公司,美国);DOCA(Sigma 公司,美国)。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 动物模型制备及实验分组

大鼠腹腔注射戊巴比妥(40 mg/kg)麻醉,腹部正中切口,分离并结扎左侧肾动脉、肾静脉和输尿管后,行左侧肾脏切除术,并逐层关闭腹腔,术后恢复 1 周。实验中左肾切除后存活的大鼠 28 只,随机分为 3 组,对照组( $n=8$ ):饮自来水;模型组( $n=10$ )和 SRT1720 治疗组( $n=10$ ):将 200 mg/kg DOCA 与硅胶制成的橡皮介质放置在大鼠两侧肩胛骨之间的皮下,并予 1% NaCl 饮水;SRT1720 治疗组给予 100 mg/(kg·d),而模型组大鼠给予等量的蒸馏水灌胃,1 次/d,共 4 周。

#### 1.2.2 大鼠收缩压测量

采用尾动脉测压法,每周测收缩压(systolic blood pressure,SBP)1 次,每只大鼠测 3 次,取平均值。

#### 1.2.3 大鼠中心动脉压和脉搏波速度(PWV)测定

造模完成后,大鼠经戊巴比妥(40 mg/kg)腹腔注射麻醉,固定于 37℃ 恒温板上以保持体温。于左

侧颈动脉和左侧股动脉分别插入 1.4 Fr Millar 压力传感器,导管顶端(传感器)分别置于降主动脉和腹主动脉分叉处上方,同时记录两点动脉内压力曲线,采用 Foot-to-Foot 法分别确定降主动脉和腹主动脉处的舒张压(血压最低值),计算脉搏波在亮点间的传播时间(T)。数据采集完成后,处死大鼠,打开腹腔,将丝线置于两导管尖端的主动脉上,直接测量两点间的距离(D)。PWV=D/T(m/s),PWV 用来反应大血管僵硬。取插管 20 min 后数据,采集 10~20 个心动周期,得出平均 PWV,以备后续数据处理。中心动脉压包括中心动脉收缩压、舒张压和平均血压,以降主动脉处的动脉内压力曲线记录中心动脉收缩压(cSBP)和中心动脉舒张压(cDBP),并计算得出中心平均脉压(cPP,cPP=cSBP-cDBP)及中心平均血压(cMBP,cMBP=cDBP+cPP/3)。

#### 1.2.4 病理检测

钝性分离胸主动脉约 2 cm,PBS 清洗,4% 中性福尔马林固定,石蜡包埋,制备 5 μm 切片,HE 染色。光镜下观察主动脉中层血管平滑肌细胞(VSMC)、弹力纤维的形态学变化,并测量主动脉厚度(MT)、血管内径(LD)。

### 1.3 统计学方法

采用 SPSS11.5 统计软件进行统计学分析,实验数据以均数 ± 标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示。组间比较采用单因素方差分析,多个均数之间的比较采用  $q$  检验, $P \leq 0.05$  表示差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 SRT1720 对高血压大鼠收缩压的影响

各组大鼠在左侧肾脏切除术 1 周后,尾动脉血压均在正常范围,模型组大鼠从实验第 2 周开始血压明显增高,且随着时间延长,血压逐渐升高,至实验第 4 周时血压最高,达到(178 ± 19)mmHg。SRT1720 治疗后,血压较模型组显著降低(表 1)。

### 2.2 SRT1720 对高血压大鼠中心动脉压的影响

实验结束时,模型组中心动脉收缩压、中心动脉舒张压和中心动脉平均血压均较对照组显著升高,SRT1720 治疗后,中心动脉收缩压、中心动脉舒张压和中心动脉平均血压均显著下降(表 2)。

### 2.3 SRT1720 对高血压大鼠脉搏波速度的影响

实验结束时,模型组脉搏波速度显著高于对照组,SRT1720 治疗可显著降低脉搏波速度(表 3)。

### 2.4 SRT1720 对高血压大鼠主动脉厚度和血管内径的影响

表 1 各组大鼠收缩压的动态变化

组别	n	术后	第 1 周	第 2 周	第 3 周	第 4 周
对照组	8	112 ± 8	109 ± 12	115 ± 13	110 ± 9	113 ± 11
模型组	10	108 ± 9	122 ± 14	138 ± 15*	158 ± 18*	178 ± 19*
治疗组	10	109 ± 8	112 ± 9	123 ± 10 <sup>#</sup>	131 ± 11 <sup>#</sup>	142 ± 13 <sup>#</sup>

与对照组比较, \* $P < 0.05$ ; 与模型组相比较, <sup>#</sup> $P < 0.05$ 。

表 2 各组大鼠中心动脉压的变化

组别	n	中心动脉收缩压	中心动脉舒张压	中心动脉平均血压
对照组	8	121 ± 3	101 ± 3	107 ± 3
模型组	10	182 ± 5*	138 ± 4*	153 ± 4*
治疗组	10	145 ± 5 <sup>#</sup>	119 ± 4 <sup>#</sup>	128 ± 5 <sup>#</sup>

与对照组比较, \* $P < 0.05$ ; 与模型组相比较, <sup>#</sup> $P < 0.05$ 。

大鼠胸主动脉切片显示模型组大鼠血管平滑肌细胞明显肥大并伴有弹力纤维增厚, 主动脉厚度显著增厚, 而血管内径则明显下降。SRT1720 治疗后血管平滑肌细胞肥大受到明显抑制, 主动脉厚度显著下降, 而血管内径明显增加(表 3)。

表 3 各组大鼠脉搏波速度、主动脉厚度和血管内径的变化

组别	n	脉搏波速度(m/s)	胸主动脉厚度( $\mu\text{m}$ )	血管内径( $\mu\text{m}$ )
对照组	8	4.75 ± 0.13	115.43 ± 9.06	713.86 ± 35.43
模型组	10	7.01 ± 0.26*	201.37 ± 10.24*	625.04 ± 33.58*
治疗组	10	5.48 ± 0.17 <sup>#</sup>	149.35 ± 8.19 <sup>#</sup>	662.38 ± 29.47 <sup>#</sup>

与对照组比较, \* $P < 0.05$ ; 与模型组相比较, <sup>#</sup> $P < 0.05$ 。

### 3 讨论

DOCA 盐敏感性高血压是一种继发性高血压模型, 与人类高血压中的原发性醛固酮增多症相类似, 以大动脉和阻力小血管明显增生肥厚为特征, 表现为血管平滑肌细胞肥大及纤维结缔组织增生, 血管厚度显著增加, 血管内径降低。本研究发现, 模型组大鼠收缩压从实验第 2 周开始明显增高, 且随着时间延长, 血压逐渐升高, 至实验第 4 周时血压最高, 病理上可见血管平滑肌细胞明显肥大并伴有弹力纤维增厚, 主动脉厚度显著增厚, 而血管内径则明显下降, 表明模型制作成功。

Sirtuins 属于 III 类组蛋白去乙酰化酶, 其主要通

过去乙酰化作用调节蛋白、碳水化合物和脂质代谢, 线粒体稳态与细胞程序性死亡<sup>[14]</sup>。Sirtuins 家族成员包含 SIRT1-7, SIRT1 是 Sirtuins 家族中研究最广的一个组蛋白去乙酰化酶, 在细胞周期、线粒体代谢、能量平衡、炎症反应、氧化应激和凋亡中<sup>[15]</sup>均有作用。肾素血管紧张素系统在高血压发病机制中起重要作用, Miyazaki 等<sup>[16]</sup>在体外培养的血管平滑肌细胞中过表达 SIRT1, 发现 SIRT1 能够降低血管紧张素 II 1 型受体(AT1 受体)的表达从而抑制肾素血管紧张素系统。Kitada 等<sup>[15]</sup>发现, SIRT1 可通过促进内皮细胞一氧化氮(NO)合成酶去乙酰化而促进血管舒张。醛固酮在高血压的发病中起重要作用, 其可通过上皮钠通道(eNac)促进钠离子重吸收。血清醛固酮水平增加可引起集合管细胞钠离子通道表达增加, 从而引起高血压<sup>[17]</sup>。Zhang 等<sup>[18]</sup>发现, SIRT1 可以通过组蛋白 H3K79 甲基转移酶甲基化减少 eNac 亚基的表达。最近一项临床研究发现, 在中国汉族人群高血压患者中, SIRT1 基因上的 rs2273773 位点的单核苷酸与动态血压具有显著相关性<sup>[19]</sup>。这些实验及临床数据表明, SIRT1 与高血压之间有密切关系。SRT1720 是 SIRT1 的激活剂, 已有研究表明它能够缓解多种疾病<sup>[14-15, 20-21]</sup>。Suzuki 等<sup>[22]</sup>研究发现 SRT1720 可促进小鼠乳腺癌细胞浸润及肺转移, 但其对血压的影响尚未见文献报道。

本研究观察了 SRT1720 对 DOCA 盐敏感性高血压大鼠的影响及其机制。分别通过检测大鼠收缩压以及在左侧颈动脉和左侧股动脉插入压力传感器检测中心动脉压, 观察 SRT1720 对血压的影响, 结果表明, SRT1720 治疗后大鼠收缩压、中心动脉收缩压、中心动脉舒张压和中心动脉平均血压均较模型组显著下降。还进一步通过左侧颈动脉和左侧股动脉插入压力传感器检测脉搏波速度。结果表明, SRT1720 治疗可改善大血管僵硬, 降低脉搏波速度。同时, SRT1720 治疗后血管壁的病理改变明显减轻, 血管平滑肌细胞肥大受到显著抑制, 主动脉厚度显著下降, 而血管内径明显增加。这些研究结果提示, SRT1720 可通过抑制血管平滑肌细胞肥大, 降低主动脉厚度,

从而扩大血管内径,降低中心动脉压及收缩压。

[参考文献]

- [1] Ahad A, Aqil M, Kohli K, et al. Role of novel terpenes in transcutaneous permeation of valsartan: effectiveness and mechanism of action[J]. *Drug Dev Ind Pharm*, 2011,37(5):583-596
- [2] Campbell N, Young ER, Drouin D, et al. A framework for discussion on how to improve prevention, management, and control of hypertension in Canada[J]. *Can J Cardiol*, 2012,28(3):262-269
- [3] Barri YM. Hypertension and kidney disease: a deadly connection[J]. *Curr Cardiol Rep*, 2006,8(6):411-417
- [4] Foley RN, Collins AJ. End-stage renal disease in the United States: an update from the United States Renal Data System[J]. *J Am Soc Nephrol*, 2007,18(10):2644-2648
- [5] Li H, Wei X, Wong MC, et al. A Cross-Sectional comparison of perceived quality of primary care by hypertensive patients in Shanghai and Shenzhen, China [J]. *Medicine*, 2015,94(34):e1388
- [6] Liu X, Tosaki A, Engelman RM, et al. Reduction of postischemic ventricular dysfunction and arrhythmias by trapping hydroxyl radicals with salicylic acid[J]. *Int J Tissue React*, 1993,15(1):25-30
- [7] Minor RK, Baur JA, Gomes AP, et al. SIRT1720 improves survival and healthspan of obese mice [J]. *Sci Rep*, 2011,1(1):70
- [8] Ichikawa T, Hayashi R, Suzuki K, et al. Sirtuin 1 activator SRT1720 suppresses inflammation in an ovalbumin-induced mouse model of asthma[J]. *Respirology*, 2013,18(2):332-339
- [9] Milne JC, Lambert PD, Schenk S, et al. Small molecule activators of SIRT1 as therapeutics for the treatment of type 2 diabetes[J]. *Nature*, 2007,450(7170):712-716
- [10] Chauhan D, Bandi M, Singh AV, et al. Preclinical evaluation of a novel SIRT1 modulator SRT1720 in multiple myeloma cells[J]. *Br J Haematol*, 2011,155(5):588-598
- [11] Chen YX, Zhang M, Cai Y, et al. The Sirt1 activator SRT1720 attenuates angiotensin II-induced atherosclerosis in apoE<sup>-/-</sup> mice through inhibiting vascular inflammatory response[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2015,465(4):732-738
- [12] Hansen LW, Khader A, Yang WL, et al. Sirtuin 1 activator srt1720 protects against organ injury induced by intestinal ischemia-reperfusion [J]. *Shock*, 2016,45(4):359-366
- [13] 程珊,张爱华,黄松明. SRT1720对实验性肾病大鼠足细胞的保护作用[J]. *南京医科大学学报(自然科学版)*, 2013,33(6):738-743
- [14] Guarente L, Franklin H. Epstein lecture: sirtuins, aging, and medicine [J]. *N Engl J Med*, 2011,364(23):2235-2244
- [15] Kitada M, Kume S, Takeda-Watanabe A, et al. Sirtuins and renal diseases: relationship with aging and diabetic nephropathy[J]. *Clin Sci (Lond)*, 2013,124(3):153-164
- [16] Miyazaki R, Ichiki T, Hashimoto T, et al. SIRT1, a longevity gene, downregulates angiotensin II type 1 receptor expression in vascular smooth muscle cells [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2008,28(7):1263-1269
- [17] Rossier BC, Pradervand S, Schild L, et al. Epithelial Sodium Channel and the control of Sodium balance: interaction between genetic and environmental factors [J]. *Annu Rev Physiol*, 2002,64:877-897
- [18] Zhang D, Li S, Cruz P, et al. Sirtuin 1 functionally and physically interacts with disruptor of telomeric silencing-1 to regulate alpha-ENaC transcription in collecting duct [J]. *J Biol Chem*, 2009,284(31):20917-20926
- [19] Zhong XL, Miao HJ, Fang ZM, et al. The effect of SIRT1 gene polymorphisms on ambulatory blood pressure of hypertensive patients in the Kazakh population[J]. *Genet Test Mol Biomarkers*, 2015,19(10):561-565
- [20] Gu C, Li Y, Xu WL, et al. Sirtuin 1 activator SRT1720 protects against lung injury via reduction of type II alveolar epithelial cells apoptosis in emphysema[J]. *COPD*, 2015,12(4):444-452
- [21] Gano LB, Donato AJ, Pasha HM, et al. The SIRT1 activator SRT1720 reverses vascular endothelial dysfunction, excessive superoxide production, and inflammation with aging in mice[J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2014,307(12):H1754-H1763
- [22] Suzuki K, Hayashi R, Ichikawa T, et al. SRT1720, a SIRT1 activator, promotes tumor cell migration, and lung metastasis of breast cancer in mice [J]. *Oncol Rep*, 2012,27(6):1726-1732

[收稿日期] 2016-03-27