

# 重组腺病毒介导的高抵抗素血症对自发性高血压大鼠血脂浓度的影响<sup>△</sup>

曾卓<sup>1</sup>, 张卫<sup>2</sup>, 李志勇<sup>1</sup>, 韩彬<sup>2</sup>, 周玉良<sup>3</sup>

(1. 广东药学院临床医学, 广州 510006; 2. 广东药学院附属第一医院心内科, 广州 510080)

**摘要:**目的 观察高抵抗素浓度对自发性高血压大鼠血脂浓度的影响。方法 将 36 只 10 周龄高血压大鼠(雄性)按随机数字表法平均分为病毒组及对照组。其中病毒组经尾静脉连续注射载有抵抗素基因的重组腺病毒  $1 \times 10^8$  PFu/mouse(用 0.9%氯化钠溶液稀释至 0.3 mL)5 d 后,按随机数字表法平均分为第 1 周组、第 4 周组、第 8 周组;而对照组则连续经尾静脉注射等体积 0.9%氯化钠溶液后也按随机数字表法平均分为第 1 周组、第 4 周组、第 8 周组。采用竞争性酶联免疫吸附试验法检测各组大鼠血清抵抗素浓度,同时测定血压、空腹血糖、空腹胰岛素、血脂指标,比较病毒组及对照组自发性高血压大鼠的血压、血糖、血清抵抗素及血脂浓度变化。结果病毒组与对照组比较,病毒组的血清抵抗素浓度明显升高,以第 1 周及第 4 周差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),其中,第 4 周升高幅度最明显( $P < 0.05$ )。病毒组的收缩压及舒张压高于对照组,以第 1 周及第 4 周差异有统计学意义( $P < 0.05$ );第 4 周及第 8 周病毒组空腹血糖高于对照组,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。血脂浓度方面,病毒组血清三酰甘油浓度第 4 周及第 8 周较对照组升高,差异有统计学意义( $P < 0.05$ );而两组血清总胆固醇、高密度脂蛋白胆固醇、低密度脂蛋白胆固醇浓度比较,差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。相关性分析显示三酰甘油浓度与抵抗素浓度呈正相关( $r = 0.581, P < 0.05$ )。结论 重组腺病毒介导的高抵抗素血症不仅引起自发性高血压大鼠的血糖升高,而且还能引起自发性高血压大鼠三酰甘油浓度升高,抵抗素在高血压大鼠的脂代谢中起着重要的作用。

**关键词:**高血压;重组腺病毒;抵抗素;血脂

中图分类号:R544.1

文献标志码:A

文章编号:1007-9688(2016)02-0207-04

## Effects of recombinant adenovirus-mediated chronic hyper-resistinemia on blood lipid levels in spontaneously hypertensive rats

ZENG Zhuo<sup>1</sup>, ZHANG Wei<sup>2</sup>, LI Zhi-yong<sup>1</sup>, HAN Bin<sup>2</sup>, ZHOU Yu-liang<sup>2</sup>

(1. The Clinical Medical School of Guangdong University of Pharmacy, Guangzhou 510006, China; 2. The First Affiliated Hospital of Guangdong University of Pharmacy, Guangzhou 510080, China)

**Abstract: Objectives** To observe the effect of high concentration of resistin on blood lipid concentration in rats with spontaneous hypertension. **Methods** Thirty-six male spontaneously hypertensive rats aged 10 weeks were randomly divided into virus group and control group. Rats in virus group were injected with recombinant adenovirus of resistin gene ( $1 \times 10^8$  PFu/mouse) by caudal vein for 5 days and randomly divided into the first week group, the fourth week group and the eighth week group. Rats in control group were injected with an equal volume of saline by caudal vein and randomly divided into the first week group, the fourth week group and the eighth week group. Serum concentration of resistin was measured by competitive enzyme-linked immunosorbent assay. Meanwhile, we measured and compared blood lipid, blood pressure, fasting plasma glucose and fasting insulin concentrations between virus groups and control groups. **Results** Compared with control groups, serum concentrations of resistin were higher in virus groups, the differences in the first week groups and the fourth week groups were statistically significant ( $P < 0.05$ ); Serum concentration of resistin increased more in the fourth week group than in the first week group. Systolic blood pressures and diastolic

<sup>△</sup>基金项目:广东药学院科技处-附属第一医院联合自然培育基金项目(项目编号:GYFYLH201313);广东省科技厅立项项目(项目编号:2011B080701043)。

作者简介:曾卓(1991-),男,广东药学院内科学在读研究生,研究方向为心血管疾病。

通信作者:张卫, E-mail: zhangweitly@126.com

blood pressures in virus groups increased. In the first week group and the fourth week group, systolic blood pressures and diastolic blood pressures were higher in virus groups than control groups ( $P<0.05$ ). In the fourth week group and the eighth week group, fasting plasma glucose concentrations were higher in virus groups than in control groups, the differences were statistically significant ( $P<0.05$ ). On blood lipid concentrations, in the fourth week group and the eighth week group, triglyceride concentrations were significantly higher in virus groups ( $P<0.05$ ), whereas, significant differences were not found in serum concentrations of total cholesterol, low-density lipoprotein-cholesterol and high-density lipoprotein-cholesterol between the two groups. Correlation analysis showed that resistin concentration and triglyceride concentration was positively correlated ( $r=0.581$ ,  $P<0.05$ ). **Conclusions** Recombinant adenovirus-mediated chronic hyper-resistinemia can not only increase fasting plasma glucose concentration in spontaneously hypertensive rats, but also increase triglyceride concentration. Resistin has a great influence on lipid metabolism in hypertensive rats.

**Key words:** hypertension; recombinant adenovirus; resistin; blood lipid

抵抗素是由 Steppan 等<sup>[1]</sup>在研究糖尿病噻唑烷二酮类药物治疗的作用机制时被发现的, 因为其能介导小鼠胰岛素的抵抗而命名, 是联系肥胖与胰岛素抵抗之间的一种新型独特信号分子。近年来研究显示, 原发性高血压(高血压)或者肥胖会引起抵抗素浓度的升高, 但关于抵抗素浓度是否会反作用于血压、血脂, 目前尚未见诸于报道。本研究在高血压大鼠的基础上, 通过重组腺病毒介导高血压大鼠体内抵抗素浓度变化, 观察抵抗素浓度对血压、血糖、血脂浓度的变化, 为高血压合并高抵抗素血症患者的预防及治疗提供理论依据。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

10 周龄 SHR 无特定病原体级 (SPF) 级高血压大鼠 36 只, 雄性, 体质量 ( $220\pm 15$ )g, 购自北京维通利华实验动物技术有限公司。大鼠均在中山大学实验动物中心无特定病原体级实验环境下笼养。

### 1.2 方法

将 36 只 10 周龄高血压大鼠(雄性), 随机(随机数字表法) 平均分成病毒组及空白对照组 ( $n=18$ )。其中病毒组经尾静脉注射载有抵抗素基因的重组腺病毒(上海吉凯基因化学技术有限公司提供)  $1\times 10^8$  PFu/mouse (用 0.9% 氯化钠溶液稀释至 0.3 mL) 5 d 后随机(随机数字表法) 平均分成第 1 周组、第 4 周组、第 8 周组 3 组(每组  $n=6$ ); 而空白对照组则连续经尾静脉注射等体积 0.9% 氯化钠溶液后随机(随机数字表法) 平均分为第 1 周组、第 4 周组、第 8 周组 3 组(每组  $n=6$ )。

1.2.1 采用无创尾动脉仪测血压 首先开启大鼠

尾动脉血压计(安徽正华仪器公司)预热约 20 min 后进行压力信号校正调零。将大鼠放入动物固定架, 大鼠尾部通过加压套插入至接近尾根部, 使鼠尾刚好处于脉搏传感器的“脉搏信号传感片”上方, 待大鼠脉搏稳定后用橡皮球充气加压至脉搏完全消失后继续加压 20 mm Hg (1 mm Hg=0.133 kPa) 左右, 然后缓慢放气减压至脉搏信号恢复起始浓度, 从记录系统中读取收缩压、舒张压。一般连续测量 3 次, 取平均值。

1.2.2 测定血清抵抗素及三酰甘油浓度 采集清晨空腹 12 h 以上的大鼠静脉血 2~3 mL, 按试剂盒说明离心后取血清储存在  $-70^{\circ}\text{C}$  冰箱中待检测抵抗素浓度用。大鼠抵抗素酶联免疫吸附试验(ELISA) 检测试剂盒(上海朗顿生物科技有限公司提供), 采用竞争性酶联免疫吸附试验法, 试剂的配置及操作均按照说明书进行。采用全自动生化分析仪 CL-7200 (国产) 测定大鼠血脂、血糖浓度。

### 1.3 统计学分析

使用 SPSS 19.0 数据分析软件对数据进行统计分析处理。计量资料数据用 ( $\bar{x}\pm s$ ) 表示, 比较用  $t$  检验。血清抵抗素与血脂浓度相关性采用 Pearson 相关分析。根据多对数据构建散点图, 构建直线回归方程。以  $P<0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 各组大鼠的血清抵抗素浓度比较

各组酶联免疫吸附试验检测试剂盒检测的大鼠抵抗素浓度比较, 详见表 1。

### 2.2 各组血脂、血压、空腹血糖、空腹胰岛素浓度的比较

各组血脂、血压、空腹血糖、空腹胰岛素浓度

表 1 各组大鼠的血清抵抗素浓度的比较

组别	[n=6, μg/L, $\bar{x}\pm s$ ]		
	第 1 周	第 4 周	第 8 周
病毒组	1.98±0.12*	2.43±0.37*	2.23±0.17
对照组	1.24±0.09	1.96±0.20	2.10±0.32

注:与对照组比较, \*P<0.05

的比较, 详见表 2。

### 2.3 大鼠血清抵抗素与血脂浓度的相关性分析

采用 Pearson 相关性分析结果显示, 血清抵抗素与三酰甘油浓度呈正相关( $r=0.581, P<0.001$ ), 见图 1。

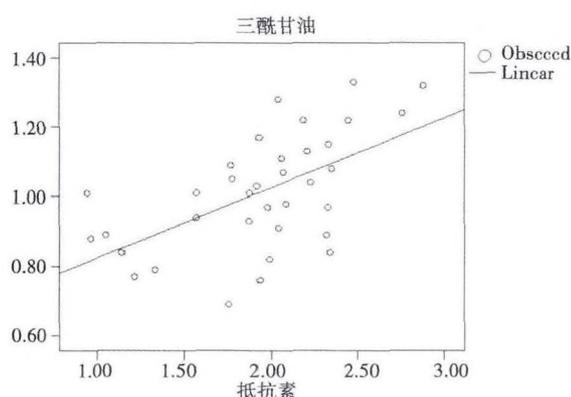


图 1 抵抗素与三酰甘油浓度的相关性分析散点图 [Y=0.624+0.201X(Y 为三酰甘油, X 为血清抵抗素), P<0.001]

### 3 讨论

近年来高血压的发病率越来越高, 一项 2014 年的高血压流行病学统计显示, 我国高血压的发病率为 29.6%, 知晓率、治疗率和控制率分别为 42.6%、34.1% 和 9.3%<sup>[2]</sup>。而在这么多的高血压患者中, 有超过 50% 的患者合并有胰岛素抵抗<sup>[3]</sup>。抵抗素浓度的增高是引起胰岛素抵抗的重要原因, 高血压患者并发有抵抗素浓度增高, 不仅会导致脑卒中的风险进一步增加, 而且与肾功能损伤

以及大动脉的弹性的下降具有相关性<sup>[4-7]</sup>。考虑高血压并发高抵抗素具有广大的人口基础以及巨大的危害性, 因此, 建立高血压大鼠并发高抵抗素模型是非常必要的, 我们通过建立该模型来探讨高抵抗素对高血压患者病理生理影响。

本研究通过高血压大鼠尾静脉连续注射载有抵抗素基因的重组腺病毒, 与对照组比较, 病毒组第 1 周、第 4 周及第 8 周血清抵抗素浓度升高, 其中第 1 周及第 4 周差异有统计学意义 ( $P<0.05$ ), 提示构建高血压大鼠高抵抗素模型成功。同时第 4 周及第 8 周病毒组空腹血糖浓度较对照组明显增高, 而第 1 周差异并不具备统计学意义 ( $P>0.05$ ), 这与李焱等<sup>[8]</sup>的研究结果是一致的, 抵抗素浓度及胰岛素浓度在第 1 周已经表现出差异性, 而空腹血糖在第 1 周没有差异。这可能是胰岛素浓度升高代偿的结果, 在第 4 周及第 8 周中, 随着抵抗素作用时间的延长, 最终导致了大鼠空腹血糖受损。

分析抵抗素对血压浓度的影响, 我们发现无论是收缩压还是舒张压, 两组之间的差异在第 1 周就已表现出来, 这与抵抗素对空腹血糖影响不一样, 其机制可能有以下几个方面: 抵抗素可能通过影响内皮型一氧化氮合酶(eNOS)系统导致一氧化氮浓度下降, 从而导致血压浓度的升高<sup>[9]</sup>; 另一项研究中发现, 抵抗素可以通过氧化应激的机制影响红细胞的流变性以及微循环功能障碍来介导高血压的发生及发展<sup>[10]</sup>, 同时, 抵抗素还会使得高血压患者的大动脉弹性下降<sup>[6]</sup>, 这也解释了为什么高抵抗素浓度会进一步升高高血压大鼠的血压浓度。

本研究还发现, 血清三酰甘油浓度与抵抗素浓度呈正相关, 而与血清高密度脂蛋白胆固醇、低密度脂蛋白胆固醇、胆固醇浓度的相关性并不明

表 2 各组血脂、血压、空腹血糖及空腹胰岛素的比较

项目	[n=6, $\bar{x}\pm s$ ]					
	病毒组			对照组		
	第 1 周	第 4 周	第 8 周	第 1 周	第 4 周	第 8 周
三酰甘油/mm $\cdot$ L <sup>-1</sup>	0.82±0.08	1.23±0.10*	1.13±0.09*	0.86±0.09	1.07±0.09	0.98±0.05
总胆固醇/mm $\cdot$ L <sup>-1</sup>	1.34±0.20	1.58±0.21	1.43±0.20	1.45±0.09	1.64±0.10	1.37±0.15
低密度脂蛋白胆固醇/mm $\cdot$ L <sup>-1</sup>	0.12±0.04	0.09±0.02	0.10±0.05	0.11±0.01	0.10±0.04	0.09±0.02
高密度脂蛋白胆固醇/mm $\cdot$ L <sup>-1</sup>	0.91±0.13	1.10±0.13	1.00±0.12	0.99±0.06	1.16±0.07	1.04±0.19
收缩压/mm Hg	162±10.9*	193±12.0*	177±5.1	145±17.8	161±6.1	171±11.9
舒张压/mm Hg	87±3.8*	98±9.5*	90±8.6	75±8.4	81±5.5	84±3.8
空腹血糖/mm $\cdot$ L <sup>-1</sup>	8.19±0.66	8.08±0.55*	8.31±0.93*	8.26±0.91	7.44±0.19	6.14±0.51
胰岛素/mIU $\cdot$ L <sup>-1</sup>	1.12±0.29*	1.35±0.12*	0.88±0.18	0.81±0.07	0.90±0.08	0.85±0.14

注:与对照组同时间点比较, \*P<0.05

确,这与国内、外一些研究是一致的<sup>[11,12]</sup>。血清三酰甘油浓度在第1周两组间并未见明显差异性,在第4周及第8周时差异均有统计学意义( $P < 0.05$ ),这与本研究中空腹血糖变化在时间上是一致的。其机制可能是通过重组腺病毒介导大鼠体内高血清抵抗素状态,引起大鼠自身机体分泌更多的胰岛素,而肝脏及脂肪细胞均是胰岛素重要的靶器官,胰岛素既可以通过抑制脂肪组织中三酰甘油酶<sup>[13]</sup>,又可以影响肝细胞来提高三酰甘油氧化速率,减低三酰甘油分解速率,使细胞及血液中的三酰甘油浓度增加<sup>[13]</sup>,这可能与胰岛素通过影响 SREBP-1、肝细胞 X 受体等脂质合成相关酶类的转录及表达有关<sup>[14,15]</sup>,同时,胰岛素还能通过调控 FAT/CD36 来增加外源性脂肪酸的摄入<sup>[16]</sup>,抵抗素影响大鼠体内胰岛素的浓度,通过上述可能通路来参与脂代谢的影响。

过往的研究更多的证明高血压或者肥胖会引起抵抗素浓度的变化,而在我们的研究却发现抵抗素浓度的升高会反过来对血压以及血脂浓度产生影响,这在以往的研究中是未被发现的。在高血压高抵抗素大鼠模型中,我们发现抵抗素会进一步促进血压的升高以及三酰甘油浓度的升高,这为高血压患者并发高抵抗素血症的干预提供了理论支持,除了常规的降压及降血脂治疗,或许我们还需要对抵抗素进行干预。

在本研究中我们只是观察到了抵抗素浓度对血压、血脂影响这一现象,但通过何种机制或者通路来影响,我们并不清楚,这些将是我们下一步研究的方向与目标。

#### 参考文献:

- [1] STEPPAN C M, BAILEY S T, BHAT S, et al. The hormone resistin links obesity to diabetes[J]. *Nature*, 2001, 409(6818): 307-312.
- [2] WANG J, ZHANG L, WANG F, et al. Prevalence, awareness, treatment, and control of hypertension in China: results from a national survey[J]. *Am J Hypertens*, 2014, 27(11): 1355-1361.
- [3] 桂明泰, 胡盼盼, 符德玉, 等. 甘肃地区 2000 例高血压病患者胰岛素抵抗与中医证型的相关性初探[J]. *中西医结合心脑血管病杂志*, 2015, 13(3): 296-297.
- [4] OSAWA H, DOI Y, MAKINO H, et al. Diabetes and hypertension markedly increased the risk of ischemic stroke associated with high serum resistin concentration in a general Japanese population: the Hisayama Study[J]. *Cardiovasc Diabetol*, 2009, 8(1): 60.
- [5] ZHANG M, CUI H, ZHU B P, et al. Association of serum resistin with cystatin C and urinary albumin-to-creatinine ratio in elderly Chinese men with essential hypertension[J]. *Postgrad Med J*, 2015, 91(1073): 132-137.
- [6] 杨静, 李新立, 黄峻, 等. 高血压患者血清抵抗素浓度与大动脉弹性的关系[J]. *中华心血管病杂志*, 2009, 37(3): 244-247.
- [7] 栾博. 急性冠脉综合征并高血压患者脂联素水平变化及意义[J]. *实用医学杂志*, 2015, 31(1): 164-165.
- [8] 李焱, 何娟, 李芳萍. 重组腺病毒介导的高抵抗素血症对小鼠糖代谢的影响[J]. *中国病理生理杂志*, 2009, 25(5): 944-948.
- [9] FANG C, LEI J, ZHOU S X. Association of higher resistin levels with inflammatory activation and endothelial dysfunction in patients with essential hypertension[J]. *Chin Med J (Engl)*, 2013, 126(4): 646-649.
- [10] TSUDA K. Association of resistin with impaired membrane fluidity of red blood cells in hypertensive and normotensive men: an electron paramagnetic resonance study[J]. *Heart Vessels*, 2015, 4(1): 1-7.
- [11] ARUN K, SINGH, M S C, et al. Association of resistin with metabolic syndrome in indian subjects[J]. *Metab Syndr Relat Disord*, 2012, 10(4): 286-291.
- [12] 刘扬, 庞妩燕, 赵春艳. 2 型糖尿病患者血清抵抗素与血糖、血脂的相关性研究[J]. *中国实用医药*, 2012, 7(9): 100-101.
- [13] 李航, 薛玲, 宋越, 等. 胰岛素对小鼠原代肝细胞三酰甘油合成分解代谢的影响[J]. *现代生物医学进展*, 2013, 13(3): 401-404.
- [14] WONG R H, SUL H S. Insulin signaling in fatty acid and fat synthesis: a transcriptional perspective[J]. *Curr Opin Pharmacol*, 2010, 10(6): 684-691.
- [15] HAN C, WANG J, LI L, et al. The role of insulin and glucose in goose primary hepatocyte triglyceride accumulation[J]. *J Exp Biol*, 2009, 212(10): 1553-1554.
- [16] BUQU X, CANO A, MIQUILENA-COLINA M E, et al. High insulin levels are required for FAT/CD36 plasma membrane translocation and enhanced fatty acid uptake in obese Zucker rat hepatocytes[J]. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2012, 303(4): 504-514.

(收稿日期: 2015-10-19)