**项目公示信息**

项目名称：下丘脑室旁核神经递质在心血管疾病中的作用机制研究

完成单位：西安交通大学、西北农林科技大学

完成人：康玉明、于晓静、齐杰、李迎、李宏宝、贺娟、王进义、刘进军、高红丽、苏青、张燕

项目简介：1．所属科学技术领域：本研究属于基础医学领域的病理生理学范畴，研究方向为下丘脑室旁核神经递质在心血管疾病中的作用机制。

2．主要研究内容：本研究应用植入式无线遥测系统、分子生物学和免疫组化等实验技术，对下丘脑室旁核神经递质在心血管疾病中的作用及其机制进行了深入研究。本研究经双侧室旁核或外周给予高血压模型动物炎性细胞因子抑制剂、中药提取物等药物，采用植入式无线遥测系统记录血压和肾交感神经活动，检测室旁核肾素-血管紧张素系统(RAS)组分、神经递质、NF-κB、炎性细胞因子(PICs)、活性氧簇(ROS)的变化，观察血压等指标变化，探讨心血管疾病时室旁核活动增强，交感神经活动改变与血压变化的机制；从整体、离体以及细胞和分子水平探讨下丘脑室旁核神经递质在心血管疾病中的作用及其机制。

3．研究成果：本研究发现下丘脑室旁核活性氧簇增多引起NF-κB活性增强、炎细胞因子增多、肾素-血管紧张素系统激活，导致神经递质失平衡，引起交感神经活动增强；高血压时室旁核兴奋性神经递质与抑制性神经递质失平衡，炎性细胞因子和抗炎细胞因子失平衡以及活性氧簇的生成增多并伴有外周交感神经活动增强；采用双侧室旁核慢性给药的方法，发现：（1）高盐饮食会导致PVN神经递质失衡，从而增加血压和交感神经活动。而使用盐敏感大鼠的研究中发现，交配、怀孕和哺乳期间母体高盐饮食摄入会影响后代平均动脉压（MAP），并提高后代PVN中p-Src、促炎细胞因子和兴奋性神经递质的水平。双侧PVN输注c-Src抑制剂结合母体高盐饮食可降低后代的MAP，并改善后代PVN中抑制性神经递质的水平，这恢复了雄性后代中兴奋性抑制性神经传递素的平衡。（2）黄连素（BBR）广泛应用于高血压等心血管疾病的临床治疗，我们发现BBR可通过影响中枢神经系统来减轻高血压。两肾一夹（2K1C）肾血管性高血压大鼠显示出较高的平均动脉压和血浆去甲肾上腺素（NE）水平、PVN NOX2、NOX4、Erk1/2和iNOS水平以及较低的铜/锌超氧化物歧化酶（Cu/Zn-SOD）水平。慢性输注BBR可降低MAP、血浆NE水平，降低NOX2、NOX4、Erk1/2、iNOS，并诱导PVN中Cu/Zn-SOD表达，BBR通过ROS/Erk1/2/iNOS途径减轻2K1C肾血管性高血压大鼠的高血压和交感神经兴奋。（3）盐诱导高血压大鼠的平均动脉压、肾交感神经活性（RSNA）和血浆NE、白介素-6、白介素-1β、肿瘤坏死因子α和单核细胞趋化蛋白-1的水平升高，以及PVN中gp91phox的表达和超氧化物的产生升高。向高血压大鼠的双侧PVN中微量注射Ang-（1-7）拮抗剂A-779不仅降低了MAP、RSNA和NE，还降低了PVN中的PICs和氧化应激，表明盐诱导高血压中MAP和交感神经活性的增加可以通过调节PICs和氧化应激、阻断PVN中内源性Ang-（1-7）来抑制。（4）α-硫辛酸（ALA）被广泛认为具有强大的超氧化物抑制特性，我们发现补充ALA能减轻高盐诱导高血压模型鼠下丘脑脑室旁核（PVN）的氧化应激，从而降低交感神经活性和动脉压。高盐摄入导致肾交感神经活性（RSNA）和平均动脉压（MAP）升高并且室旁核中超氧化物、gp91（phox）、gp47（phox，NAD（P）H氧化酶的亚基）、血管紧张素转换酶（ACE）、血管内皮素II 1型受体（AT1-R）、白介素-1β（IL-1β）、白细胞介素-6（IL-6）水平较高，白介素-10（IL-10）和铜/锌超氧化物歧化酶（Cu/Zn-SOD）水平较低。与高盐诱导的高血压大鼠相比，ALA治疗显著降低了超氧化物、gp91（phox）、gp47（phox、ACE、AT1-R、IL-1β和IL-6的水平，增加了IL-10和Cu/Zn-SOD的水平，并降低了MAP和RSNA。这些发现表明，补充ALA可以通过改善超氧化物抑制特性、抑制RAS的激活以及恢复PVN中促炎细胞因子和抗炎细胞因子之间的平衡，从而显著降低高盐高血压患者的交感神经活性和动脉压。（5）Salusinβ是一种新发现的生物活性肽，具有外周降压、促分裂和促动脉粥样硬化作用。我们发现，在SHR的孤束核（NTS）中双侧或单侧微量注射salusinβ（0.4-40pmol）以剂量依赖的方式降低了平均动脉压和心率，且该过程与神经递质GABA的A型受体有关。NTS内双侧微量注射salusinβ（4pmol）可改善SHR的压力反射敏感性功能。在SHR的NTS中预处理谷氨酸受体拮抗剂犬尿酸（5nmol）不会改变salusinβ（4pmol）诱导的低血压和心动过缓。同样，双侧迷走神经切断术也不会改变salusinβ（4pmol）引起的低血压和心动过缓。然而，在SHR的延髓头端腹外侧（RVLM）内用GABAA受体激动剂muscimol（100 pmol）预处理几乎完全消除了NTS内salusinβ（4 pmol）诱发的低血压和心动过缓。这些结果表明，通过抑制SHR RVLM中前交感神经神经元的活动，向NTS中微量注射salusinβ可产生低血压和心动过缓，并改善压力反射敏感性功能。（6）大脑中的肾素-血管紧张素系统（RAS）参与高血压的发病机制。我们发现抑制PVN中血管紧张素转换酶（ACE）可通过恢复神经递质和细胞因子来减轻血管紧张素II（ANG II）诱导的高血压。大鼠皮下输注ANG II或盐水可导致平均动脉压升高和心肌肥厚，PVN中谷氨酸、去甲肾上腺素、酪氨酸羟化酶、促炎细胞因子（PICs）和趋化因子单核细胞趋化蛋白-1水平较高，γ-氨基丁酸、白介素（IL）-10和67kDa同种型谷氨酸脱羧酶（GAD67）含量较低，以及较低的血浆IL-10和较高的肾交感神经活性。而双侧PVN输注ACE抑制剂依那普利（ENL，2.5μg/h）减弱了这些变化。这些结果表明，ANG II输注导致PVN中兴奋性神经递质和抑制性神经递质之间的失衡以及促炎细胞因子和抗炎细胞因子之间的失衡，而在PVN中抑制RAS可恢复PVN中的神经递质和细胞因子平衡，从而减轻ANG II诱导的高血压和心脏肥大。（7）高血压会增加心脏负荷引起高血压性心脏病和冠状动脉硬化性心脏病。我们利用微流控芯片技术建立了一种体外受损心肌模型，同时还可以模拟体内细胞移植过程，用于监测骨骼肌成肌细胞与缺氧损伤心肌细胞之间相互作用。首先用羟基氰酯-3-氯苯基腙（FCCP）构建心肌缺氧损伤的模型，然后将成肌细胞L6与缺氧损伤的心肌细胞H9c2进行共同培养，通过细胞形态学、细胞肌动蛋白、细胞膜电位等分析对细胞直接和间接共培养及心肌细胞的修复情况进行研究。结果表明，骨骼成肌细胞主要通过细胞间的直接相互作用修复缺氧损伤的心肌细胞。这是一种利用微流控芯片在体外模拟受损心肌细胞修复过程的模型，为体外模拟体内微环境研究心肌梗塞发生、治疗机理及药物筛选等提供了新思路和研究平台。（8）PVN中的血管紧张素II 1型受体（AT1-R）和核因子κB（NF-κB）在心力衰竭（HF）中起重要作用，然而AT1-R和NF-κB参与HF交感神经兴奋的中枢机制尚不清楚。本成果中我们确定了PVN中AT1-R和NF-κB之间的相互作用可调节神经递质平衡、并促进HF时NAD（P）H氧化酶依赖性氧化应激、使交感神经过渡兴奋。使用的实验方法是向心肌梗死（MI）模型大鼠双侧PVN输注溶媒、氯沙坦（LOS，10μg/h）（AT1-R拮抗剂），或吡咯烷二硫代氨基甲酸酯（PDTC，NF-κB抑制剂，5μg/h）。与SHAM大鼠相比，MI大鼠的PVN中谷氨酸（Glu）、去甲肾上腺素（NE）和NF-κB p65活性水平较高，γ-氨基丁酸（GABA）水平较低，磷酸化IKKβ和gp91（phox）阳性神经元较多。MI大鼠还具有较高水平的肾交感神经活性（RSNA）和血浆促炎细胞因子（PIC）、NE和肾上腺素。输注LOS或PDTC减轻了MI大鼠PVN中GABA的降低程度和gp91（phox）、NF-κB活性、Glu和NE的增加程度，同时使MI大鼠RSNA降低、血浆PICs、NE和肾上腺素增加。这些发现表明，PVN中AT1受体和NF-κB之间相互作用并通过调节神经递质平衡促进氧化应激和交感神经兴奋，加重心力衰竭中的各类症状。

**主要论文专著目录（限8条）**

|  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 序号 | 论文专著名称 | 刊名 | 作者 | 年卷页码（xx年xx卷xx页） | 发表时间 | 通讯作者 | 第一作者 |
| 1 | Inhibition of Maternal c-Src Ameliorates the Male Offspring Hypertension by Suppressing Inflammation and Neurotransmitters in the Paraventricular Nucleus | Cardiovascular toxicology | 苏青、于晓静、杨青、王晓敏、夏雯洁、李宏宝、刘凯丽、易秋月、康玉明 | 2021，21(10), 820–834. | 2021年 | 于晓静、康玉明 | 苏青 |
| 2 | Chronic infusion of berberine into the hypothalamic paraventricular nucleus attenuates hypertension and sympathoexcitation via the ROS/Erk1/2/iNOS pathway | Phytomedicine | 田华、康玉明、高红丽、史小莲、付丽艳、李迎、贾秀月、刘凯丽、齐杰、李宏宝、陈艳妹、陈文生、崔巍、朱国庆、于晓静 | 2019, 52, 216-224 | 2019年 | 于晓静 | 田华、康玉明 |
| 3 | Blockade of endogenous angiotensin-(1-7) in hypothalamic paraventricular nucleus attenuates high salt-induced sympathoexcitation and hypertension | Neuroscience Bulletin | 于晓静、苗雨旺、李宏宝、苏青、刘凯丽、付丽艳、侯亦康、史小莲、李迎、牟建军、陈文生、崔巍、朱国庆、Ebenezer Philip J.、Francis Joseph、康玉明 | 2019, 35(1), 47-56 | 2019年 | Francis Joseph、康玉明 | 于晓静、苗雨旺、李宏宝 |
| 4 | Alpha lipoic acid supplementation attenuates reactive oxygen species in hypothalamic paraventricular nucleus and sympathoexcitation in high salt-induced hypertension | Toxicology Letters | 苏青、刘进军、崔巍、史小莲、郭静、李宏宝、霍婵娟、苗雨旺、张萌、杨青、康玉明 | 2016, 241, 152-158 | 2016年 | 康玉明 | 苏青、刘进军、崔巍 |
| 5 | Salusin β within the nucleus tractus solitarii suppresses blood pressure via inhibiting the activities of presympathetic neurons in the rostral ventrolateral medulla in spontaneously hypertensive rats | Cardiovascular Toxicology | 李宏宝、鲁彦、刘进军、苗雨旺、郑天珍、苏青、齐杰、谭泓、袁祖贻、朱国庆、康玉明 | 2016, 16(3), 223-234 | 2016年 | 鲁彦、康玉明 | 李宏宝 |
| 6 | Chronic infusion of enalaprilat into hypothalamic paraventricular  nucleus attenuates angiotensin II-induced hypertension and cardiac  hypertrophy by restoring neurotransmitters and cytokines | Toxicology Letters | 康玉明、张冬梅、于晓静、杨青、齐杰、苏青、索玉平、岳莉英、朱国庆、秦达念 | 2014, 274, 436-444 | 2014年 | 康玉明、秦达念 | 康玉明、张冬梅 |
| 7 | On-chip monitoring of skeletal myoblast transplantation for the treatment of hypoxia-induced myocardial injury | Analyst | 贺娟、马超、刘文明、王进义 | 2014，139(18), 4482-4490 | 2014年 | 王进义 | 贺娟 |
| 8 | Interaction between AT1 receptor and NF-κB in hypothalamic paraventricular nucleus contributes to oxidative stress and sympathoexcitation by modulating neurotransmitters in heart failure | Cardiovascular Toxicology | 于晓静、索玉平、齐杰、杨青、李汇华、张冬梅、易秋月、张健、朱国庆、祝之明、康玉明 | 2013, 13(4), 381-390. | 2013年 | 康玉明 | 于晓静、索玉平 |

**主要知识产权证明目录（限10条）**

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 知识产权类别 | 知识产权具体名称 | 国家  （地区） | 授权号 | 授权日期 | 证书编号 | 权利人 | 发明人 | 专利有效状态 |
| 发明专利 | 一种集成微流控芯片及其用于活细胞控制与分析的应用 | 中国 | ZL 2009 10023164.5 | 2012年授权 | 1014163 | 西北农林科技大学 | 王进义、刘文明、李立、宋鹏、任丽、王雪琴、任莉莉、王旭明 | 有效 |
|  |  |  |  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |  |  |  |

**完成人合作关系情况**

本人（康玉明）与于晓静、齐杰、李迎、李宏宝、刘进军、苏青、高红丽、张燕等成果完成人同属于西安交通大学，合作完成本次申请中所列多篇科研论文，合作时间为2010年至今；与王进义、贺娟实验室合作完成多项心血管相关研究，合作时间为2010年至今。