

健脾益气活血汤影响血管紧张素 1-7 相关信号通路调节自发性高血压大鼠血管活性因子释放机制研究

曲怡,张立德*,王珊珊,陈志娟,谷丽艳
(辽宁中医药大学基础医学院中医分子生物学实验室,沈阳 110847)

【摘要】目的:探讨健脾益气活血汤通过血管紧张素转换酶 2(ACE2)、血管紧张素 1-7(Ang 1-7)-MAS 受体、蛋白激酶 B(AKT)信号通路调节自发性高血压大鼠(SHR)血管活性因子释放的作用。方法:将 60 只 24 周龄 SHR 分为 SHR 组(给予蒸馏水)、培哚普利组($0.4\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$)、培哚普利联合中药组(培哚普利 $0.4\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ + 健脾益气活血汤 $20\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$,中加西组)、健脾益气活血汤高、中、低剂量组($40,20,10\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$),每组 10 只,以同龄同种系正常血压的京都种大鼠(WKY)10 只作为 WKY 组(给予蒸馏水)。无创血压计监测大鼠尾动脉收缩压;治疗 6 周后腹主动脉取血测定血浆 Ang(1-7)含量,取肾脏提取总 RNA 及总蛋白,RT-PCR 法检测 ACE2,MAS mRNA 含量表达,Western blot 法检测 AKT 蛋白表达水平。结果:SHR 组 ACE2,Ang(1-7),MAS,AKT 含量与 WKY 组相比明显减少($P<0.01$);培哚普利组、中加西组收缩压与 SHR 组相比明显降低($P<0.01$);培哚普利组、中加西组、中药高剂量组 ACE2,Ang(1-7),MAS,AKT 含量明显高于 SHR 组($P<0.01$)。结论:健脾益气活血汤通过 ACE2-Ang(1-7)-MAS-AKT 信号通路平衡血管内皮舒缩因子的分泌与释放,发挥改善血管内皮功能及抗高血压作用。

【关键词】健脾益气活血;自发性高血压大鼠;血管紧张素转换酶 2;血管紧张素(1-7);MAS 受体
【中图分类号】R285.5 【文献标识码】A 【文章编号】1005-9903(2013)20-0190-05
【doi】10.11653/syfy201300190

【收稿日期】20130225(010)
【基金项目】辽宁省科技厅自然科学基金项目(20102150)
【第一作者】曲怡,博士,从事中医药分子生物学研究,Tel:024-31207096,E-mail:64012951@qq.com
【通讯作者】*张立德,硕士,教授,Tel:024-31207078,E-mail:zhldtem@163.com

[9] Seraj M J, Samant R S, Verderame M F, et al. Functional evidence for a novel human breast carcinoma metastasis suppres-sor, BRMS1, encoded at chromosome 11q13[J]. Cancer Res,2000,60(11):2764.

[10] Edmonds M D, Hurst D R, Welch D R. Linking metastasissuppression with metastamiR regulation [J]. Cell Cycle,2009,8(17):2673.

[11] 姜洁,夏敏,冯进波,等. BRMS1 基因抑制卵巢上皮性癌细胞体内外转移的实验研究[J]. 中华妇产科杂志,2007,42(6):398.

[12] Zhang S,Lin Q D,Di W. Suppression of human ovarian carc-inoma metastasis by the metastasis-suppressor gene, BRMS1 [J]. Int J Gynecol Cancer, 2006, 16 (2):522.

[13] Mahoney M G, Simpson A, Jost M, et al. Metastasis-associated protein 1 (MTA1) enhances migratio, invasion and anchorage-independent survival of immortalized human keratinocytes [J]. Oncogene, 2002,21(14):2161.

[14] Sakata H, Fujimura M, Watanabe M, et al. Association ofcavernousmalformation within vestibular schwannoma: immunohistochemicalanalysis of matrix metalloproteinase-2 and-9[J]. Neurol Med Chir(Tokyo),2007,47(11):509.

[15] Karahan N, Güney M, Baspinar S, et al. Exp ression ofgelatinase (MMP-2 and MMP-9) and cyclooxygenase-2 (COX-2) inendometrialcarcinoma [J]. Eur J Gynaecol Oncol,2007,28(3):184.

[16] 孙宏新,蒋士卿. 痰-黏附分子相关性理论与肿瘤转移[J]. 河南中医,2005,25(9):8.

[17] 荆志伟,王忠,高思华,等. 基因芯片技术与中药研究——中药基因组学[J]. 中国中药杂志,2007,32(4):289.

Effect of Jianpi Yiqi Huoxue Decoction on SHR Releasing Vasoactive Substances by Regulating ACE2-Ang- (1-7) -MAS-AKT Signal Pathways Regulate Releasing Vasoactive Substances

QU Yi, ZHANG Li-de*, WANG Shan-shan, CHEN Zhi-juan, GU Li-yan
(Chinese Medicine Molecular Biology Laboratory of the Basic Medical College
of Traditional Chinese Medicine of Liaoning University, Shenyang 110847, China)

[Abstract] Objective: To study the effect of the Chinese medicine that Jianpi Yiqi Huoxue decoction on angiotensin converting enzyme 2 (ACE2) -angiotensin (1-7) [Ang (1-7)] -MAS-protein kinase B (AKT) signal pathways in spontaneously hypertensive rats (SHR). Method: Sixty 24-week-old SHRs were randomly divided into six groups: SHR group (distilled water), perindopril group (perindopril 0.4 mg · kg⁻¹ · d⁻¹), perindopril plus herb group (perindopril 0.4 mg · kg⁻¹ · d⁻¹ + 10 g · kg⁻¹ · d⁻¹ of herb), high, medium and low herb group (40, 20, 10 g · kg⁻¹ · d⁻¹). And Wistar kyoto rats (WKY) group. The changes of systolic pressure were measured by BP-98A intelligent sphygmomanometer. After six weeks' treatment, the content of Ang (1-7), ACE2, MAS, AKT was determined. Result: The systolic pressure in the perindopril group and the perindopril plus herb group was prominently decreased, compared with SHR group (P < 0.01). The content of Ang (1-7), ACE2, MAS, AKT in the SHR group was lower than those in the WKY group, the perindopril group, the perindopril plus herb group, and the high dose of herb groups (P < 0.01). Conclusion: Jianpi Yiqi Huoxue decoction can promote endothelial vasomotor factors secretion through the ACE2-Ang (1-7) -MAS-AKT signaling pathway.

[Key words] JianpiYiqiHuoxue decoction; spontaneously hypertensive rats; ACE2; Ang (1-7); MAS

血管紧张素转换酶 2 (ACE2) 作为第一个被认识的血管紧张素转换酶 (ACE) 同源物,主要的生物学效应是水解血管紧张素 II (Ang II) 生成血管紧张素 (1-7) [Ang (1-7)], Ang (1-7) 与其特异性受体-Mas 原癌基因编码的 G 蛋白偶联受体结合,通过调节多条信号转导通路^[1],舒张血管,调节血压,保护血管内皮及功能完整性,抗组织纤维化,抗细胞增生与肥大。然而对于 ACE2-Ang(1-7)-MAS 受体-蛋白激酶 B (AKT) 这一通路调节高血压血管内皮舒缩因子的表达方面研究较少。本实验通过研究自发性高血压大鼠 (SHR) ACE2-Ang (1-7) -MAS-AKT 通路的变化来探讨其调节内皮舒缩因子的意义,并观察健脾益气活血汤对通路的影响,为其在临床应用提供科学的实验依据。

1 材料

1.1 动物 24 周龄雄性 SHR 60 只,体质量 (360 ± 20) g,同周龄雄性 Wister-Kyoto (WKY) 大鼠 10 只,体质量 (350 ± 20) g;由上海斯莱克实验动物有限责任公司提供,动物许可证编号 SCXK (沪) 2007-0005。

1.2 仪器 BP-98A 型智能无创血压计 (日本); PCR 仪 (杭州朗基科学仪器有限公司); Tanon-4100 型数码凝胶图像处理系统 (上海天能科技有限公司)。

1.3 试剂与药物 培哚普利片 (施维雅天津制药有限公司,产品批号 2001197,含量 4 mg/片)。健脾益气活血汤:炒白术 15 g,茯苓 15 g,黄芪 30 g,丹参 15 g,泽泻 15 g,甘草 10 g,组成,水提浓缩至药物质量浓度 1 g · mL⁻¹ 为低剂量;2 g · mL⁻¹ 为中剂量;4 g · mL⁻¹ 为高剂量;将药液分别装入药瓶中,置于 4 ℃ 冰箱保存备用,购自辽宁省中医院药剂室。Trizol 试剂 (Invitrogen); RT-PCR 试剂盒 (Thermo Scientific ABgene Ltd. AGent house); PCR 引物 (大连宝生物公司); ELISA 试剂盒购自上海蓝基生物科技有限公司。

2 方法

2.1 分组与给药 采用随机对照方法将 60 只 24 周龄 SHR 分为 SHR 组 (给予蒸馏水)、培哚普利组 (培哚普利,0.4 mg · kg⁻¹ · d⁻¹)、培哚普利联合中药组 (培哚普利 0.4 mg · kg⁻¹ · d⁻¹ + 健脾益气活血汤

20 g·kg⁻¹·d⁻¹,中加西组)、健脾益气活血汤高、中、低剂量组(用药量为 40,20,10 g·kg⁻¹·d⁻¹),每组 10 只,以同龄同种系正常血压的京都种大鼠(WKY)10 只作为 WKY 组(给予蒸馏水)。大鼠每日 1 次灌胃,连续治疗 6 周。

2.2 收缩压测定 应用 BP-98A 型智能无创血压计监测大鼠清醒状态下尾动脉收缩压,用药前及用药后每 2 周于给药后 4 h 测量血压,每只大鼠各测 3 次取其平均值。

2.3 标本采集和处理 大鼠禁食、自由饮水 24 h 后 10%水合氯醛腹腔麻醉(3 mL·kg⁻¹体重)。开腹,腹主动脉采血,抗凝,低温静置 2 h 后 3 000 r·min⁻¹离心 10 min,收集血浆备用 ELISA 检测。充分暴露肾脏,取左肾脏组织约 50 mg 加入 1 mL Trizol 试剂,于 -70 ℃冰箱保存,PCR 方法检测 ACE2, MAS 基因的表达情况;另取左肾脏组织约 50 mg 放入 EP 管中,于 -70 ℃冰箱保存,Western blot 方法检测肾脏 AKT 蛋白表达情况。

2.4 血浆 Ang(1-7)含量测定 采用酶联免疫法(ELISA 方法)检测血浆 Ang(1-7)含量。设 1 孔为空白对照孔(加 100 μL 的蒸馏水),将对照品(0, 0.5,1,2.5,5,10 μg·L⁻¹)各 100 μL 按照次序分别加入空白微孔中(设立复孔),于空白微孔中依次加入各组样品血浆 100 μL;在标准品孔和样品孔中加入 50 μL 的酶标记液,37 ℃温育反应 60 min 后洗液清洗,每次 30 s,连续 5 次后吸水纸吸干多余水分;各孔加显色剂 A、B 液各 50 μL,25 ℃避光反应 15 min 后再加 50 μL 终止液,终止反应。TECAN 多功能酶标仪测定 450 nm 吸光度(A)。根据对照品的浓度和 A 作标准曲线,根据标准曲线回归方程换算样品浓度。

2.5 RT-PCR 法检测 ACE2, MAS mRNA 含量 提取肾组织总 RNA,逆转录成 cDNA,再分别加入相应引物(引物序列见表 1),扩增大鼠 ACE2, MAS 基因,以 β-actin 作为内参。反应体系 50 μL:cDNA 2 μL,Dream Taq™ PCR Master Mix 25 μL,上、下游引物各 1.5 μL,DEPC 水 20 μL;反应条件:预变性 95 ℃ 2 min,变性 95 ℃ 30 s,退火 54 ℃ 30 s,延伸 72 ℃ 1 min,共 35 个循环,终延伸 72 ℃ 10 min。取各组 PCR 扩增产物 5 μL,加 1 μL Loading Buffer 混匀,1.5%琼脂糖凝胶电泳 15 min,用凝胶成像分析系统观察并拍摄电泳图像,定量分析各组基因表达强度。

2.6 Western blot 法检测 AKT 蛋白表达 提取大

表 1 各基因 PCR 扩增的特异性引物序列

基因名称	引物序列	扩增片段长度/bp
ACE2	上游:5'-CAG AAT GCG ACC ATC AAG CG-3'	232
	下游:5'-CCC AAG CCC AGA GCC TAC GA-3'	
mas-1	上游:5'-TCA TCA TCT TCA TAG CCA TCC-3'	232
	下游:5'-ATG TTA TGC AGG TTC CCA AA-3'	
β-actin	上游:5'-CAG CAC TGT GTT GGC ATA GAG G-3'	327
	下游:5'-AAG ATC CTG ACC GAG CGT GGC-3'	

鼠肾脏总蛋白,BCA 法测定蛋白浓度,进行不连续 SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳,将条带转移到 NC 膜上,5%脱脂牛奶阻断 1 h,加 1:1 500 一抗 4 ℃过夜,TBST 洗膜 3 次,每次 10 min,加 1:1 000 二抗室温孵育 1 h,TBST 洗膜 3 次,每次 10 min,将 ECL A、B 液按体积比 1:1 混合,在 NC 膜上加 ECL 混合液,反应 1 min,暗室中,将胶片放在 NC 膜上,曝光 4 min,显影 2 min,定影 2 min,X 线胶片曝光后留有蛋白印迹,应用凝胶图像分析系统半定量分析各组蛋白表达强度。

2.7 统计学分析 采用 SPSS 16.0 软件进行单因素方差分析,组间两两比较用 LSD 分析,结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示, $P < 0.05$ 为有显著性差异。

3 结果

3.1 大鼠尾动脉收缩压 实验期间,智能无创血压计监测大鼠尾动脉收缩压变化,用药前各组大鼠收缩压均高于 WKY 组($P < 0.01$);药后 4 h 各组大鼠收缩压无明显变化;用药 2 周后,培哌普利组、中加西组大鼠收缩压明显下降,与 SHR 组相比有统计学意义($P < 0.01$),药后 4 周及药后 6 周大鼠收缩压持续下降,与 SHR 组相比有统计学意义($P < 0.01$),健脾益气活血汤高、中、低剂量组大鼠收缩压用药 2 周后也有一定程度的下降,药后 4 周及药后 6 周大鼠收缩压下降不明显,与 SHR 组比较无统计学意义(表 2)。

3.2 血浆 Ang(1-7)含量 ELISA 实验结果显示,SHR 组大鼠血浆 Ang(1-7)含量显著低于 WKY 组($P < 0.01$);培哌普利组、中加西组、健脾益气活血汤高、中、低各剂量组大鼠血浆含量明显高于 SHR 组($P < 0.05$);健脾益气活血汤高、中、低各剂量组血浆 Ang(1-7)含量与培哌普利组相比有统计学意义($P < 0.05$),见表 3。

3.3 肾组织 ACE2, MAS mRNA, AKT 蛋白含量表达 RT-PCR 法检测各组动物肾脏 ACE2, MAS

表 2 健脾益气活血汤对 SHR 用药期间收缩压的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

mmHg

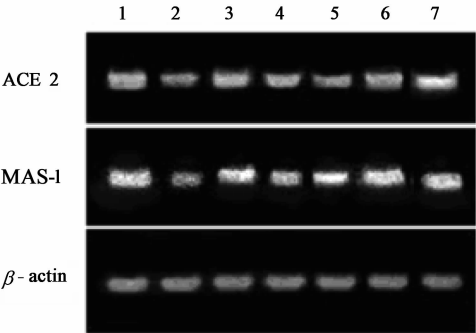
组别	剂量 / $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$	收缩压				
		药前	药后 4 h	药后 2 周	药后 4 周	药后 6 周
WKY	—	148.09 ± 9.85	148.09 ± 9.85	130.30 ± 12.70	136.40 ± 15.64	133.90 ± 12.42
SHR	—	204.12 ± 14.85 ¹⁾	204.12 ± 14.85 ¹⁾	197.25 ± 21.52 ¹⁾	195.12 ± 21.66 ¹⁾	207.50 ± 16.70 ¹⁾
培哚普利	0.4×10^{-3}	206.62 ± 11.54 ¹⁾	193.38 ± 10.73 ¹⁾	170.12 ± 8.10 ^{1,2)}	156.50 ± 18.21 ^{1,2)}	165.75 ± 10.17 ^{1,2)}
中加西	$0.4 \times 10^{-3} + 20$	199.88 ± 13.11 ¹⁾	191.50 ± 23.94 ¹⁾	161.50 ± 22.00 ^{1,2)}	161.00 ± 18.28 ^{1,2)}	160.38 ± 16.54 ^{1,2)}
健脾益气活血汤	40	203.62 ± 10.06 ¹⁾	192.25 ± 21.76 ¹⁾	190.38 ± 19.48 ^{1,4)}	193.62 ± 9.02 ^{1,4)}	187.25 ± 6.34 ^{1,4)}
	20	207.50 ± 12.52 ¹⁾	206.75 ± 20.49 ¹⁾	190.75 ± 24.20 ^{1,4)}	189.50 ± 8.88 ^{1,4)}	180.88 ± 8.27 ^{1,4)}
	10	211.50 ± 6.30 ¹⁾	196.38 ± 13.02 ¹⁾	189.50 ± 9.09 ^{1,4)}	189.75 ± 14.72 ^{1,4)}	180.75 ± 10.47 ^{1,4)}

注:与 WKY 组比较¹⁾ $P < 0.01$;与 SHR 组比较²⁾ $P < 0.01$,³⁾ $P < 0.05$;与培哚普利组比较⁴⁾ $P < 0.05$, 1 mmHg = 0.133 kPa(表 3 ~ 4 同)。

表 3 健脾益气活血汤对 SHR 血浆 Ang(1-7) 的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/ $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$	Ang(1-7)/ $\text{ng} \cdot \text{L}^{-1}$
WKY	—	3.50 ± 0.89
SHR	—	0.60 ± 0.24 ¹⁾
培哚普利	0.4×10^{-3}	1.96 ± 0.56 ^{1,3)}
中加西	$0.4 \times 10^{-3} + 20$	2.17 ± 0.55 ^{1,3)}
健脾益气活血汤	40	1.48 ± 0.16 ^{1,3,4)}
	20	1.19 ± 0.11 ^{1,3,4)}
	10	1.10 ± 0.09 ^{1,3,4)}

mRNA 的表达,以 β -actin 作为内参。结果见图 1,表 4。与 WKY 组比较,SHR 组大鼠肾脏 ACE2, MAS mRNA 的表达量明显减少($P < 0.01$);中加西组、培哚普利组、健脾益气活血汤高剂量组 ACE2 mRNA 的表达量明显高于 SHR 组($P < 0.01$);中加西组、培哚普利组、健脾益气活血汤高、中剂量组 MAS mRNA 的表达量明显高于 SHR 组($P < 0.05$)。Western 方法检测各组动物肾脏 AKT 蛋白的表达,结果见图 2,表 4,与 WKY 组比较,SHR 组大鼠肾脏



1. WKY 组;2. SHR 组;3. 培哚普利 $0.4 \times 10^{-3} \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 组;
4. 健脾益气活血汤 $10 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 组;5. 健脾益气活血汤 $20 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 组;
6. 健脾益气活血汤 + 培哚普利 $0.4 \times 10^{-3} \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 组;
7. 健脾益气活血汤 $40 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 组(图 2 同)

图 1 健脾益气活血汤对 SHR 肾脏 ACE2, MAS 基因表达的影响

AKT 蛋白的表达量明显减少($P < 0.01$);中加西组、健脾益气活血汤高剂量组、培哚普利组 AKT 蛋白的表达量明显高于 SHR 组($P < 0.01, P < 0.05$)。

表 4 健脾益气活血汤对 SHR 肾脏 ACE2, MAS 基因、AKT 蛋白相对表达的影响($\bar{x} \pm s, n = 3$)

组别	剂量/ $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$	ACE2 mRNA/ β -actin	MAS mRNA/ β -actin	AKT 蛋白/ β -actin
WKY	—	1.62 ± 0.13	1.86 ± 0.05	2.83 ± 0.08
SHR	—	0.63 ± 0.11 ¹⁾	0.71 ± 0.06 ¹⁾	1.52 ± 0.07 ¹⁾
培哚普利	0.4×10^{-3}	1.56 ± 0.06 ²⁾	1.73 ± 0.14 ²⁾	2.53 ± 0.12 ³⁾
中加西	$0.4 \times 10^{-3} + 20$	1.50 ± 0.13 ²⁾	1.81 ± 0.09 ²⁾	2.68 ± 0.14 ²⁾
健脾益气活血汤	40	1.46 ± 0.09 ²⁾	1.54 ± 0.13 ²⁾	2.61 ± 0.08 ²⁾
	20	1.18 ± 0.08	1.38 ± 0.12 ³⁾	2.26 ± 0.12
	10	1.02 ± 0.1	1.24 ± 0.07	2.18 ± 0.06

4 讨论

现代中医拓展高血压辨证论治的思路,或从肝肾入手,或从脾胃入手^[2],取得了较好的临床疗效,

对其防治机制也进行了深入阐释^[3-5]。笔者通过临床观察,健脾益气活血法降压作用显著,疗效稳定,对缓解Ⅱ、Ⅲ期高血压患者的临床症状及提高自身

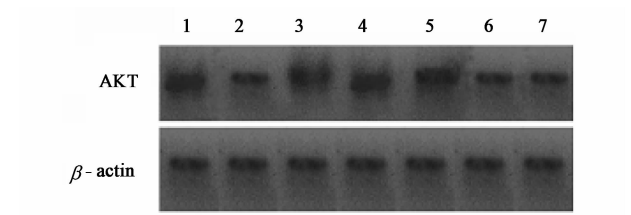


图 2 健脾益气活血汤对 SHR 肾脏 AKT 蛋白含量表达的影响

的免疫力均有很好的调节作用。方中以黄芪为君药,补气健脾,利尿消肿,研究证实黄芪有效成分能增强高血压患者血清损伤内皮细胞的活性和维持细胞的形态结构。茯苓、炒白术为臣药,益气健脾、利水渗湿,佐以丹参、泽泻,利水渗湿,活血祛瘀,生甘草为使药,补脾益气,调和诸药,全方共奏健脾益气活血之功效。本研究结果显示,经药物干预 2 周后的大鼠收缩压与模型组相比,都有一定程度的下降,中药各剂量组的降压效果没有中西药联合应用效果佳,以中加西组、西药组的降压效果最为显著。前期的动物实验研究已经证实健脾益气活血汤通过调控血管内皮舒缩因子的分泌与释放平衡,改善血管内皮功能,以减轻血压增高引起的血管内皮功能障碍。但调节内皮舒缩因子释放的途径仍不清楚。基于此,本实验探讨健脾益气活血汤对 ACE2-Ang-(1-7)-MAS-AKT 信号通路调节 SHR 血管活性因子释放的影响作用。

研究发现,ACE2 通过将 Ang II 水解成血管紧张素 1-7,对抗血管紧张素转换酶-血管紧张素 II 代谢轴,是平衡肾素-血管紧张素系统内部调节的代谢通路。Ang(1-7)可通过 Mas 受体介导依赖 AKT 途径的内皮型一氧化氮合酶活化,而 Mas 基因敲除的大鼠,血压升高、内皮功能损伤、NO 生成减少、内皮 NO 合酶表达亦下降,表明 ACE2-Ang(1-7)-Mas 轴具有调解血管内皮功能,保护心肌及抗高血压作用^[6-7]。Ang(1-7)与其特异性受体 Mas^[8-9]结合还可发挥扩血管作用,Ang(1-7)的血管舒张作用是内皮依赖并牵涉到血管舒张性前列腺素(PGI₂)、NO 和内皮超极化因子(EDHF)的释放,笔者前期研究已证实健脾益气活血汤可调控血管内皮舒缩因子的分泌与释放平衡,改善血管内皮功能。本研究证实健脾益气活血汤联合培哚普利以及单方高剂量的应

用,促进了 ACE2-Ang(1-7)-Mas-AKT 通路中各信号分子的表达,ACE2 的表达增加,促进水解 Ang I、Ang II 生成 Ang(1-7),增强 Ang(1-7)通过 Mas 受体拮抗 Ang II 的作用,引起血管舒张、抑制细胞增殖;同时通过 AKT 蛋白调节血管舒张性前列腺素、一氧化氮和内皮超极化因子的释放,对于调节血管内皮舒缩因子的分泌与释放起到了重要的平衡作用,从而发挥改善血管内皮功能及抗高血压作用。

[参考文献]

[1] Santos R A, Ferreira A J, Simoes A C. Recent advances in the angiotensin-converting enzyme2-angiotensin(1-7)-Mas axis [J]. Exp Physiol,2008,93(5):519.

[2] 张磊. 从脾胃气化失司浅谈高血压病的中医病机[J]. 中华中医药杂志,2011,26(8):1767.

[3] 张志伟,岳桂华,张爱珍. 黄连解毒汤对自发性高血压大鼠血压和炎症因子的影响[J]. 中华中医药杂志,2011,26(7):1627.

[4] 屈会化,赵琰,曲荣波,等. 三草降压汤对自发性高血压大鼠降压作用的量效与时效关系研究[J]. 中华中医药杂志,2007,22(11):770.

[5] 刘巍,熊兴江,王阶. 高血压前期的中医认识及治疗[J]. 中国中药杂志,2013,38(14):2416.

[6] Xu P, Costa-Goncalves A C, Todiras M, et al. Endothelial dysfunction and elevated blood pressure in mas gene-deleted mice [J]. Hypertension, 2008, 51(2):574.

[7] 侯亮,刘雪平,侯训尧,等. 氯沙坦对自发性高血压大鼠心脏血管紧张素转换酶 2-血管紧张素(1~7)-MAS-ERK 通路的影响[J]. 中华高血压杂志,2010,18(2):177.

[8] Lemos V S, Silva D M, Walther T, et al. The endothelium dependent vasodilator effect of the nonpeptide Ang(1-7) mimic AVE0991 is abolished in the aorta of mas-knockout mice [J]. Cardiovasc Pharmacol, 2005, 46(3):274.

[9] 杜慧,缪朝玉. Ang-(1-7) 及其 Mas 受体的研究进展[J]. 第二军医大学学报,2011,32(6):667.

[责任编辑 聂淑琴]