

# 天葵止眩方通过调控 $\alpha 7nAChR$ 表达对自发性高血压大鼠下丘脑室旁核小胶质细胞极化的影响

江丽红, 姚强, 陆华冠, 饶紫缙, 谢新, 王宇红, 刘建军\*  
(湖南中医药大学中医药科学院/科技创新中心, 湖南长沙 410208)

**摘要:** **目的** 探究天葵止眩方对自发性高血压大鼠 (SHR) 下丘脑室旁核 (PVN) 小胶质细胞极化的影响。**方法** 将 40 只 SHR 大鼠随机分为模型组、厄贝沙坦组 (13.5 mg/kg) 和天葵止眩方高、中、低剂量组 (10.62、5.31、2.66 g/kg), 每组 8 只, 连续灌胃给药 8 周, 另取 WKY 大鼠作为正常组。采用无创血压仪检测各组大鼠尾动脉收缩压; ELISA 法检测 PVN 中 IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$  水平; 免疫荧光双标检测 PVN 中 CD86<sup>+</sup>/Iba-1<sup>+</sup>、CD163<sup>+</sup>/Iba-1<sup>+</sup>、 $\alpha 7nAChR$ <sup>+</sup>/Iba-1<sup>+</sup> 共表达; RT-qPCR 和 Western blot 法检测 PVN 中 CD86、CD163、 $\alpha 7nAChR$  mRNA 和蛋白表达。利用 LPS 诱导 BV2 细胞, 给予不同浓度天葵止眩方含药血清干预, 采用 MTT 法检测细胞活力; 免疫荧光双标检测细胞  $\alpha 7nAChR$ /CD86、 $\alpha 7nAChR$ /CD163 荧光强度; Western blot 法检测细胞  $\alpha 7nAChR$  蛋白表达。**结果** 与模型组比较, 厄贝沙坦组和天葵止眩方各剂量组大鼠尾动脉收缩压, PVN 中 IL-1 $\beta$  和 TNF- $\alpha$  水平、CD86<sup>+</sup>/Iba-1<sup>+</sup> 表达、CD86 mRNA 和蛋白表达均降低 ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ), CD163<sup>+</sup>/Iba-1<sup>+</sup> 及  $\alpha 7nAChR$ <sup>+</sup>/Iba-1<sup>+</sup> 表达、CD163、 $\alpha 7nAChR$  mRNA 和蛋白表达均升高 ( $P < 0.01$ )。在 LPS 诱导的 BV2 细胞中, 天葵止眩方含药血清能提高  $\alpha 7nAChR$  蛋白表达及  $\alpha 7nAChR$ 、CD163 荧光强度 ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ), 降低 CD86 荧光强度 ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ )。**结论** 天葵止眩方可能通过促进  $\alpha 7nAChR$  表达调控 PVN 小胶质细胞极化, 减少神经炎症, 降低 SHR 大鼠血压。

**关键词:** 天葵止眩方; 高血压; 小胶质细胞; 神经炎症;  $\alpha 7nAChR$

中图分类号: R285.5

文献标志码: A

文章编号: 1001-1528(2026)04-1138-11

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2026.04.010

## Effects of Tianfu Zhixuan Formula on microglial polarization in the hypothalamic paraventricular nucleus of spontaneously hypertensive rats via regulation of $\alpha 7nAChR$ expression

JIANG Li-hong, YAO Qiang, LU Hua-guan, RAO Zi-ti, XIE Xin, WANG Yu-hong, LIU Jian-jun\*

(Academy of Chinese Medical Sciences/Science & Technology Innovation Center, Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410208, China)

**ABSTRACT:** **AIM** To explore the effect of Tianfu Zhixuan Formula on microglia polarization in hypothalamic paraventricular nucleus (PVN) of spontaneously hypertensive rats (SHR). **METHODS** Forty SHR rats were randomly divided into model group, irbesartan group (13.5 mg/kg) and high, middle and low dose groups of Tianfu Zhixuan Formula (10.62, 5.31 and 2.66 g/kg), with 8 rats in each group. All rats were administered intragastrically for 8 consecutive weeks. WKY rats were taken as normal group. The systolic blood pressure of tail artery of rats in each group was detected by noninvasive blood pressure meter. The levels of IL-1 $\beta$  and TNF- $\alpha$  in PVN were detected by ELISA. The co-expressions of CD86<sup>+</sup>/Iba-1<sup>+</sup>, CD163<sup>+</sup>/Iba-1<sup>+</sup> and  $\alpha 7nAChR$ <sup>+</sup>/Iba-1<sup>+</sup> in PVN were detected by immunofluorescence double labeling. RT-qPCR and Western blot were used to detect the mRNA and protein expressions of CD86, CD163 and  $\alpha 7nAChR$  in PVN. BV2 cells were induced by LPS,

收稿日期: 2025-06-01

基金项目: 湖南省自然科学基金项目 (2024JJ8158); 湖南中医药大学研究生创新课题 (2024CX078, 2024CX201)

作者简介: 江丽红 (1993—), 女, 硕士在读, 从事高血压的发病机制及中药干预的研究。E-mail: xiaoh23489@qq.com

\*通信作者: 刘建军 (1975—), 男, 博士, 副教授, 硕士生导师, 从事中药抗炎免疫药理的研究。E-mail: liujianjun2018@hnuem.edu.cn

intervened by serum containing different concentrations of Tianfu Zhixuan Formula, and the cell viability was detected by MTT assay. The fluorescence intensity of  $\alpha 7nAChR/CD86$  and  $\alpha 7nAChR/CD163$  cells was detected by immunofluorescence double labeling. The protein expression of  $\alpha 7nAChR$  in cells was detected by Western blot. **RESULTS** Compared with the model group, the systolic blood pressure of the caudal artery, the levels of IL-1 $\beta$  and TNF- $\alpha$  in PVN, the expression of CD86<sup>+</sup>/Iba-1<sup>+</sup>, and the expression of CD86 mRNA and protein in irbesartan group and Tianfu Zhixuan Formula groups were all decreased ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ), the expressions of CD163<sup>+</sup>/Iba-1<sup>+</sup> and  $\alpha 7nAChR^+/Iba-1^+$ , and the mRNA and protein expressions of CD163 and  $\alpha 7nAChR$  increased ( $P < 0.01$ ). In BV2 cells induced by LPS, the serum containing Tianfu Zhixuan Formula could increase the expression of  $\alpha 7nAChR$  protein and the fluorescence intensity of  $\alpha 7nAChR$  and CD163 ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ), and decrease the fluorescence intensity of CD86 ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ). **CONCLUSION** Tianfu Zhixuan Formula may regulate the polarization of PVN microglia, reduce neuroinflammation and lower blood pressure in SHR rats by promoting  $\alpha 7nAChR$  expression.

**KEY WORDS:** Tianfu Zhixuan Formula; hypertension; microglia; neuroinflammation;  $\alpha 7nAChR$

高血压是心脑血管疾病的主要危险因素,其中大脑是高血压靶器官损伤的早期受累部位之一<sup>[1]</sup>。高血压常伴随着一定程度的慢性炎症,患者的中枢和外周免疫均被激活<sup>[2]</sup>。小胶质细胞异常活化介导的神经炎症导致神经元过度兴奋、交感神经流出增加,是高血压发病的重要机制之一<sup>[3-5]</sup>。下丘脑室旁核(paraventricular nucleus of hypothalamus, PVN)是调节交感神经输出、压力反射功能的关键中枢核团<sup>[6]</sup>。研究表明,通过抑制高血压大鼠PVN小胶质细胞M1型极化,促进M2型极化,能够改善高血压大鼠的神经炎症并降低血压<sup>[7-8]</sup>。 $\alpha 7$ 烟碱型乙酰胆碱受体( $\alpha 7$  nicotinic acetylcholine receptor,  $\alpha 7nAChR$ )在大脑中主要表达于小胶质细胞,激活 $\alpha 7nAChR$ 能够抑制神经炎症<sup>[9-10]</sup>,并减轻高血压大鼠靶器官损伤<sup>[11-12]</sup>。因此,通过 $\alpha 7nAChR$ 调控PVN小胶质细胞介导的神经炎症可能是抗高血压的有效策略。

天芙止眩方是课题组使用多年的临床经验方,前期研究证明了其能显著降低自发性高血压大鼠(spontaneously hypertensive rats, SHR)的血压,改善高血压引起的肾脏损伤和肾纤维化<sup>[13]</sup>,但天芙止眩方能否通过抑制神经炎症降低血压及其潜在机制尚不清楚。因此,本研究拟以SHR大鼠和BV2细胞为模型,探究天芙止眩方通过 $\alpha 7nAChR$ 调控PVN小胶质细胞极化抑制神经炎症,进而降低血压的作用机制,以期为其临床治疗高血压提供新的科学依据。

## 1 材料

1.1 实验动物 40只7周龄雄性SPF级SHR大鼠(动物质量合格证号110011231107714548)和8

只7周龄雄性SPF级WKY大鼠(动物质量合格证号110011231107714474)均购自北京维通利华实验动物技术有限公司[实验动物生产许可证号SCXK(京)2021-0006]。所有动物均饲养于湖南中医药大学实验动物中心[实验动物使用许可证号SYXK(湘)2019-0009],通过光照控制昼夜交替,恒温(22±2)℃,相对湿度(60±5)%,自由摄食饮水。本动物实验通过湖南中医药大学动物实验伦理委员会审批(批准号LLBH-202309120004)。

1.2 细胞 小鼠小胶质细胞系BV2,购自武汉普诺赛生命科技有限公司,货号CL-0493。

1.3 药物 天芙止眩方由天麻15g、钩藤10g、白术10g、法半夏9g、茯苓6g、陈皮6g、甘草3g组成,由湖南中医药大学第一附属医院中药房提供,经王宇红研究员鉴定均为正品<sup>[13]</sup>。将全方药材加蒸馏水常规煎煮2次,过滤,合并药液,水浴锅蒸发浓缩得到生药量0.594g/mL的药液(高剂量)。厄贝沙坦胶囊(珠海润都制药股份有限公司,0.15g/粒,批号3062204002)溶于蒸馏水,制成1.35mg/mL的混悬液。

1.4 试剂 IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$  ELISA试剂盒(上海江莱生物科技有限公司,货号JL20884、JL13202); IBA-1、CD163抗体(英国Abcam公司,货号ab178846、ab182422); CD86抗体(美国Santa Cruz公司,货号sc-28347); CHRNA7抗体(武汉爱博泰克生物科技有限公司,货号A1588); 三标四色多重免疫荧光试剂盒、Polymer-HRP羊抗鼠/兔二抗试剂盒(湖南艾方生物科技有限公司,批号20231015、20231115); 超纯总RNA提取试剂盒(杭州新景生物试剂开发有限公司,批号

20231018); 逆转录试剂盒、定量 PCR 试剂盒 (苏州近岸蛋白质科技股份有限公司, 批号 05305501、05317801); MEM 培养基、PBS 缓冲液 (武汉普诺赛生命科技有限公司, 货号 PM150410、PB180327); LPS、MTT 细胞毒性试剂盒 (北京索莱宝科技有限公司, 货号 L8880、M1020)。

1.5 仪器 BP2010 型无创血压检测仪 (北京软隆科技有限责任公司); HistoCore PEARL 型自动脱水机、HistoCore Arcadia H 型自动包埋机、RM2235 型石蜡切片机、DM500 型普通光学显微镜 (德国 Leica 公司); Panoramic MIDI 型数字玻片扫描系统 (匈牙利 3DHISTECH 公司); PowerPac Basic 型蛋白电泳仪、ChemiDoc XRS 型化学发光成像系统、CFX96 型荧光定量 PCR 仪 (美国 Bio-Rad 公司); ST8R 型 CO<sub>2</sub> 细胞培养箱 (美国赛默飞世尔科技公司); AE2000-T 型倒置显微镜 (厦门麦克奥迪实业集团有限公司)。

## 2 方法

2.1 分组、造模及给药 所有大鼠适应性喂养 1 周后, 将 SHR 大鼠随机分为模型组、厄贝沙坦组和天芩止眩方高、中、低剂量组, 每组 8 只; 另取 8 只 WKY 大鼠作为正常组。厄贝沙坦胶囊组大鼠灌胃给予厄贝沙坦混悬液 13.5 mg/kg, 天芩止眩方高、中、低剂量组大鼠分别灌胃给予天芩止眩方药液 10.62、5.31、2.66 g/kg, 模型组和正常组灌胃给予等体积蒸馏水, 每天 1 次, 灌胃体积 10 mL/kg, 连续 8 周。上述给药剂量参照《药理实验方法学》中成人临床常用剂量与小鼠等效剂量的折算方法计算, 天芩止眩方高、中、低剂量分别为临床等效剂量的 2、1、0.5 倍, 其中厄贝沙坦胶囊为临床等效剂量<sup>[14]</sup>。

2.2 血压检测 每周日上午 7:00~12:00 时间段内测量大鼠血压。给药 1 h 后, 将大鼠置于安静环境, 并固定于容器内, 感应器固定于大鼠尾根部, 使用无创血压仪测量血压, 重复 3 次, 取平均值。

2.3 ELISA 法检测 PVN 中 IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$  水平 第 8 周给药结束后, 大鼠禁食不禁水 12 h, 腹腔注射 3% 戊巴比妥钠 (1 mL/kg) 进行麻醉, 于冰台上快速取全脑, 分离 PVN 区脑组织, 加入 9 倍量预冷的 PBS, 冰上匀浆, 以 4  $^{\circ}$ C、12 000 r/min 离心 10 min, 离心半径 11 cm, 取上清液。按照 ELISA 试剂盒说明书步骤操作, 检测各组大鼠 PVN 中 IL-1 $\beta$  和 TNF- $\alpha$  水平。

2.4 免疫荧光双标检测 PVN 中  $\alpha$ 7nAChR、CD86、CD163 与 Iba-1 的共表达 大鼠脑组织固定后进行石蜡包埋, 参照大鼠脑部解剖图谱, 制作 PVN 区组织的石蜡切片备用; 石蜡切片常规脱蜡至水, 在 EDTA 抗原修复液中采用高压蒸汽法进行抗原修复, 加 5% 山羊血清, 37  $^{\circ}$ C 封闭 30 min。将  $\alpha$ 7nAChR (1 : 100)、CD86 (1 : 200)、CD163 (1 : 250) 抗体分别与 Iba-1 (1 : 500) 抗体混合, 滴加在切片上, 4  $^{\circ}$ C 孵育过夜, 按照三标免疫荧光试剂盒操作, 使用含有 DAPI 的 Fluoroshield<sup>TM</sup> 封固剂进行封片, 于荧光显微镜下观察并拍照, 图片用 Image J 软件进行分析。

2.5 RT-qPCR 法检测 PVN 中 CD86、CD163、 $\alpha$ 7nAChR mRNA 表达 取各组大鼠 PVN, 使用 RNA 提取试剂盒提取总 RNA, 反转录成 cDNA, 随后进行 PCR 扩增反应, 反应条件为 95  $^{\circ}$ C 预变性 5 min; 95  $^{\circ}$ C 变性 10 s, 60  $^{\circ}$ C 退火 30 min, 共 40 个循环。引物由生工生物工程 (上海) 股份有限公司合成, 序列见表 1。以 GAPDH 为内参, 采用 2<sup>- $\Delta\Delta$ CT</sup> 法计算目的基因相对表达量。

表 1 引物序列

Tab. 1 Primer sequences

基因	序列(5'→3')
CD86	正向 TTTTCGAGCCCGAGTTTGATCG
	反向 GACCAGCAGAAAGAGACAGCACAG
CD163	正向 TCACAGCATGGCACAGGTCAATC
	反向 GTCGTCGCTTCAGAGTCCACAAG
$\alpha$ 7nAChR	正向 CCTGGCTCTGTGTTATTCTTGTG
	反向 TCATGGTGTGGCGAAGTATTGTG
GAPDH	正向 ACAGCAACAGGGTGGTGGAC
	反向 TTTGAGGGTGCACCGAAGCTT

2.6 Western blot 法检测 PVN 中  $\alpha$ 7nAChR、CD86、CD163 蛋白表达 取各组大鼠 PVN, 加入适量含有蛋白酶抑制剂的 RIPA 裂解液, 匀浆仪磨碎组织, 冰上静置 30 min; 4  $^{\circ}$ C、13 000 r/min 离心 15 min, 离心半径 11 cm, 取上清。BCA 法测定组织中总蛋白浓度, 加入 5 $\times$ 上样缓冲液, 100  $^{\circ}$ C 加热变性 10 min, 保存备用。每组上样 20  $\mu$ g 蛋白, 电泳, 转膜, 5% 脱脂奶粉封闭液室温封闭 1 h, 分别加入  $\beta$ -actin (1 : 40 000)、CD86 (1 : 200)、CD163 (1 : 1 000)、 $\alpha$ 7nAChR (1 : 1 000) 抗体 4  $^{\circ}$ C 孵育过夜, 次日 TBST 洗涤 3 次, 加入相应的山羊抗兔和抗鼠二抗 (1 : 10 000) 室温孵育 1 h, TBST 洗涤 3 次, 加入化学发光试剂 (现配现用), 避光显影, 通过 Image J 软件分析各蛋白条带灰度值。

**2.7 天芩止眩方含药血清制备** 取18只SD雄性大鼠,随机分为天芩止眩方组、厄贝沙坦胶囊组和对照组,每组6只。适应性喂养3 d后,分别给予3倍临床等效剂量的天芩止眩方、厄贝沙坦胶囊以及等体积蒸馏水,每天2次,间隔6 h,连续给药3 d。于末次灌胃2 h后,腹主动脉采血,室温静置1 h,4 500 r/min离心15 min,离心半径11 cm,收集血清,56 °C灭活30 min,0.22 μm微孔滤膜过滤,于-80 °C保存备用。

**2.8 MTT法检测天芩止眩方含药血清对BV2细胞活性的影响** 收集对数生长期的BV2细胞,以 $5 \times 10^3$ 个/孔的密度接种于96孔板,用含10% FBS和1%青霉素-链霉素的MEM完全培养基进行培养。待细胞贴壁后,弃去上清,各孔加入分别含0、5%、10%、15%、20%、25%、30%天芩止眩方含药血清的MEM完全培养基,重复6个复孔,继续培养24 h,按照MTT试剂盒说明书操作,检测细胞活性。

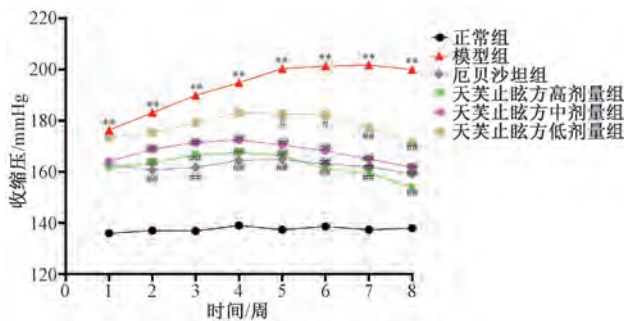
**2.9 Western blot法检测BV2细胞中α7nAChR蛋白表达** BV2细胞以 $5 \times 10^5$ 个/孔的密度接种于6孔板中,培养24 h后,待细胞贴壁后弃去上清液,分为空白组、LPS组、10%厄贝沙坦含药血清组及5%、10%、20%天芩止眩方含药血清组,给药干预,除空白组外,其余孔加入500 ng/mL LPS,继续培养24 h。收集各组细胞,加入RIPA裂解液充分裂解,提取总蛋白。按“2.6”项下方法检测细胞α7nAChR蛋白相对表达。

**2.10 免疫荧光双标检测BV2细胞中α7nAChR与CD86、CD163的共表达** BV2细胞以 $1 \times 10^4$ 个/孔的密度接种于12孔板中,按“2.9”项下方法处理细胞后,吸弃细胞上清,加入PBS洗涤3次,每孔加入4%多聚甲醛固定20 min, PBS再次洗涤3次,加入5%山羊血清封闭1 h,加入一抗α7nAChR (1 : 100)、CD86 (1 : 200)、CD163 (1 : 250) 4 °C孵育过夜, PBS洗涤3次,加入与一抗合适种属的二抗 (1 : 500) 室温孵育1 h, PBS洗涤3次,取出爬片,按照“2.4”项下方法进行封片和分析。

**2.11 统计学分析** 通过SPSS 24.0软件进行处理,符合正态分布的计量资料以均数±标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示,方差齐性时,多组间比较采用单因素方差分析,进一步两两比较采用LSD检验;数据不满足正态性时,则用Kruskal-Wallis H非参数检验。 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

### 3 结果

**3.1 天芩止眩方对SHR大鼠血压的影响** 与正常组比较,第1~8周时,模型组大鼠尾动脉收缩压均升高( $P < 0.01$ );与模型组比较,第2~8周时,厄贝沙坦组及天芩止眩方高、中剂量组大鼠尾动脉收缩压均降低( $P < 0.01$ ),第5~8周时,天芩止眩方低剂量组大鼠尾动脉收缩压降低( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ),见图1。

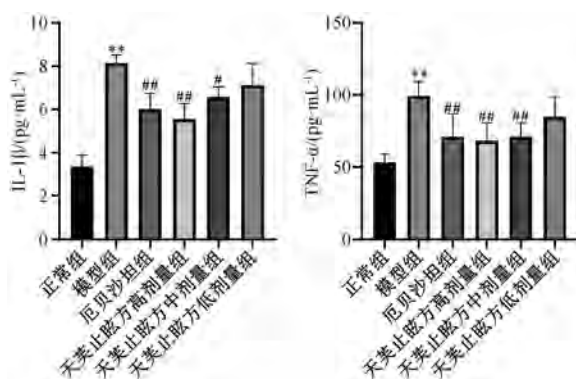


注: 1 mmHg=0.133 kPa。与正常组比较,\*\* $P < 0.01$ ;与模型组比较,# $P < 0.05$ ,## $P < 0.01$ 。

图1 各组大鼠尾动脉收缩压变化( $\bar{x} \pm s$ ,  $n=8$ )

Fig. 1 Changes of systolic blood pressure of tail artery in rats in each group ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n=8$ )

**3.2 天芩止眩方对SHR大鼠PVN中IL-1β、TNF-α水平的影响** 与正常组比较,模型组大鼠PVN中IL-1β、TNF-α水平升高( $P < 0.01$ );与模型组比较,厄贝沙坦组及天芩止眩方高、中剂量组大鼠PVN中IL-1β、TNF-α水平降低( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ),见图2。



注:与正常组比较,\*\* $P < 0.01$ ;与模型组比较,# $P < 0.05$ ,## $P < 0.01$ 。

图2 各组大鼠PVN中IL-1β、TNF-α水平比较( $\bar{x} \pm s$ ,  $n=6$ )

Fig. 2 Comparison of IL-1β and TNF-α levels in PVN of rats in each group ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n=6$ )

**3.3 天芩止眩方对SHR大鼠PVN小胶质细胞极化及α7nAChR表达的影响** 与正常组比较,模型

组大鼠 PVN 中 CD86<sup>+</sup>/Iba-1<sup>+</sup> 表达升高 ( $P < 0.01$ ), 而 CD163<sup>+</sup>/Iba-1<sup>+</sup> 和  $\alpha 7nAChR^+$ /Iba-1<sup>+</sup> 表达降低 ( $P < 0.05$ ); 与模型组比较, 厄贝沙坦组及天芙止

眩方高、中剂量组大鼠 PVN 中 CD86<sup>+</sup>/Iba-1<sup>+</sup> 表达降低 ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ), CD163<sup>+</sup>/Iba-1<sup>+</sup> 和  $\alpha 7nAChR^+$ /Iba-1<sup>+</sup> 表达升高 ( $P < 0.01$ ), 见图 3~6。

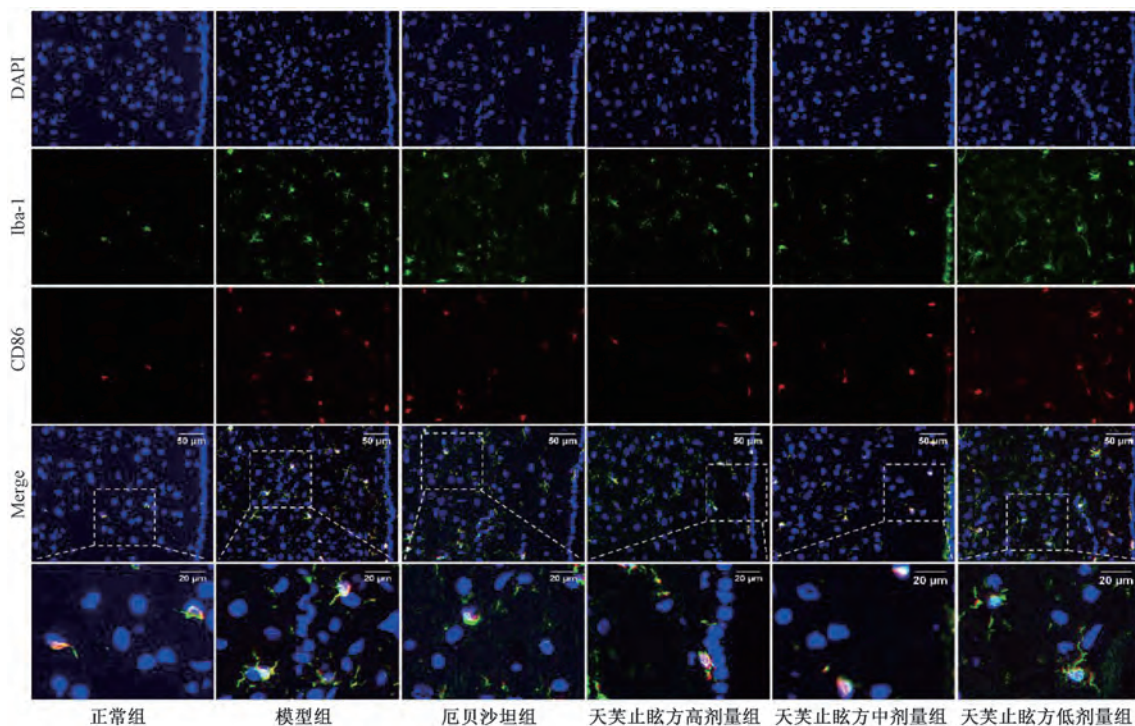


图 3 各组大鼠 PVN 中 CD86<sup>+</sup>/Iba-1<sup>+</sup> 免疫荧光染色 ( $\times 630$ )

Fig. 3 Immunofluorescence staining of CD86<sup>+</sup>/Iba-1<sup>+</sup> in PVN of rats in each group ( $\times 630$ )

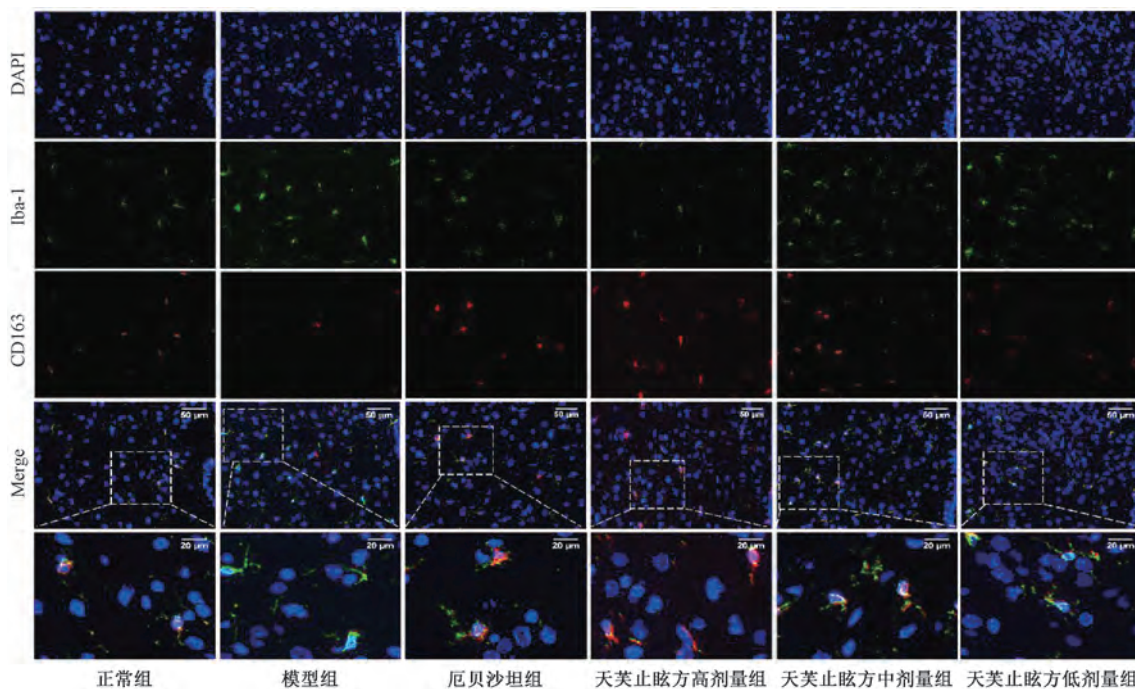


图 4 各组大鼠 PVN 中 CD163<sup>+</sup>/Iba-1<sup>+</sup> 免疫荧光染色 ( $\times 630$ )

Fig. 4 Immunofluorescence staining of CD163<sup>+</sup>/Iba-1<sup>+</sup> in PVN of rats in each group ( $\times 630$ )

3.4 天芙止眩方对 SHR 大鼠 PVN 中 CD86、CD163、 $\alpha 7nAChR$  mRNA 表达的影响 与正常组比

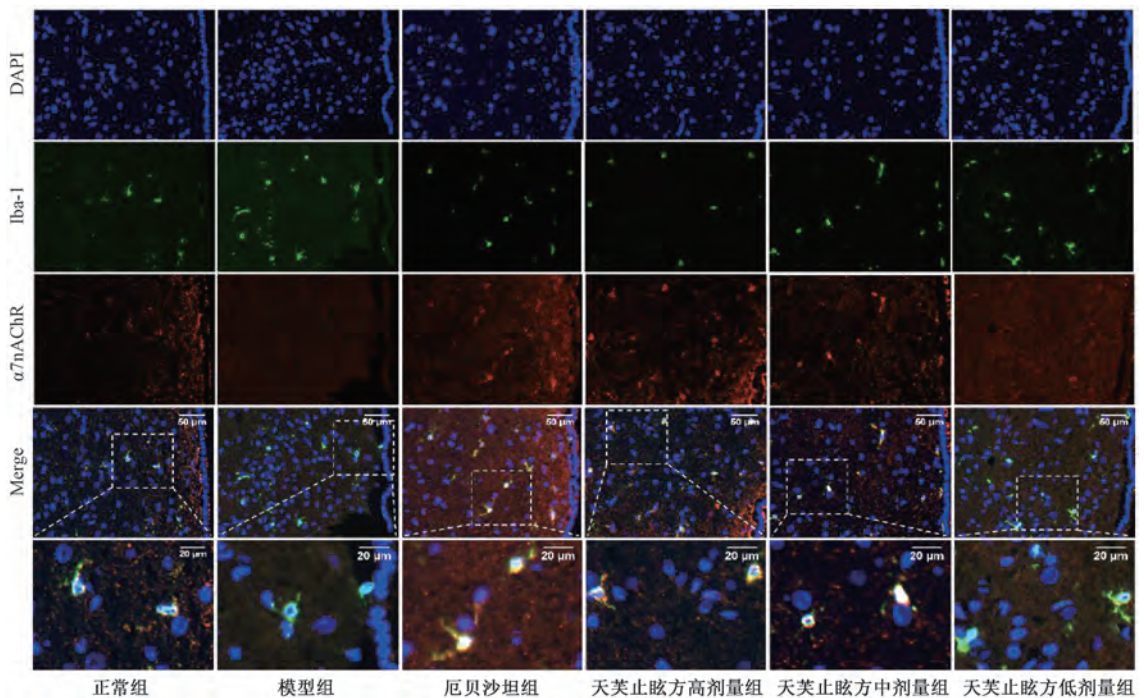
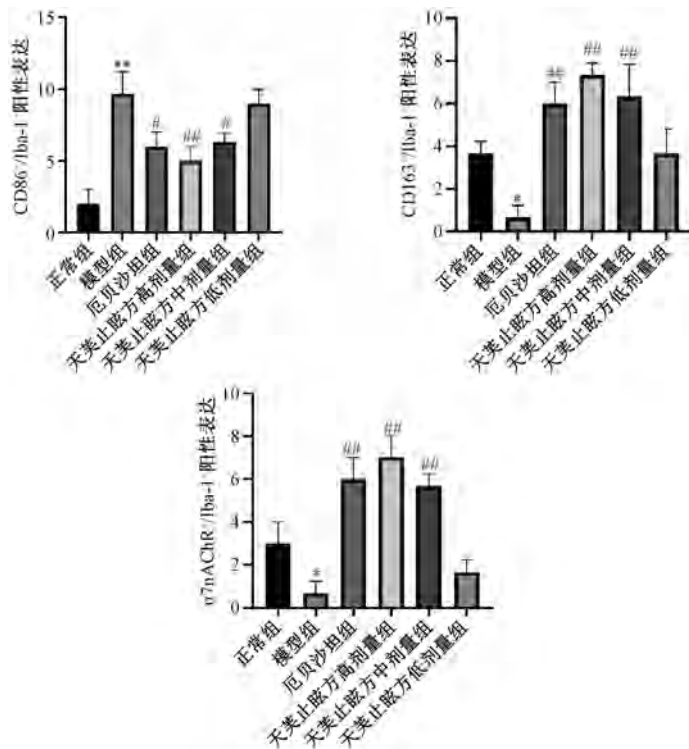


图5 各组大鼠PVN中 $\alpha 7nAChR^+/Iba-1^+$ 免疫荧光染色( $\times 630$ )

Fig. 5 Immunofluorescence staining of  $\alpha 7nAChR^+/Iba-1^+$  in PVN of rats in each group ( $\times 630$ )



注：与正常组比较，\*  $P < 0.05$ ，\*\*  $P < 0.01$ ；与模型组比较，#  $P < 0.05$ ，###  $P < 0.01$ 。

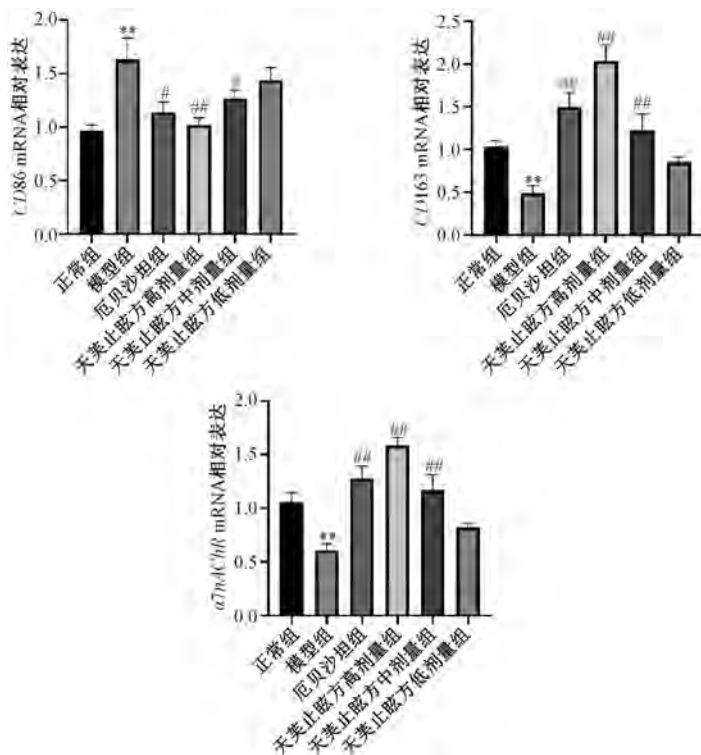
图6 各组大鼠PVN中 $CD86^+/Iba-1^+$ 、 $CD163^+/Iba-1^+$ 和 $\alpha 7nAChR^+/Iba-1^+$ 阳性表达比较( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

Fig. 6 Comparison of positive expressions of  $CD86^+/Iba-1^+$ ,  $CD163^+/Iba-1^+$  and  $\alpha 7nAChR^+/Iba-1^+$  in PVN of rats in each group ( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

较，模型组大鼠PVN中 $CD86$  mRNA表达升高 ( $P < 0.01$ )， $CD163$ 、 $\alpha 7nAChR$  mRNA表达降低

( $P < 0.01$ )；与模型组比较，厄贝沙坦组及天美止眩方高、中剂量组大鼠PVN中 $CD86$  mRNA表达

降低 ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ),  $CD163$ 、 $\alpha 7nAChR$  mRNA 表达升高 ( $P < 0.01$ ), 见图 7。



注: 与正常组比较, \*\*  $P < 0.01$ ; 与模型组比较, #  $P < 0.05$ , ##  $P < 0.01$ 。

图 7 各组大鼠 PVN 中  $CD86$ 、 $CD163$ 、 $\alpha 7nAChR$  mRNA 表达比较 ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 3$ )

Fig. 7 Comparison of mRNA expressions of  $CD86$ ,  $CD163$  and  $\alpha 7nAChR$  in PVN of rats in each group ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 3$ )

3.5 天芙止眩方对 SHR 大鼠 PVN 中  $CD86$ 、 $CD163$ 、 $\alpha 7nAChR$  蛋白表达的影响 与正常组比较, 模型组大鼠 PVN 中  $CD86$  蛋白表达升高 ( $P < 0.01$ ),  $CD163$ 、 $\alpha 7nAChR$  蛋白表达降低 ( $P < 0.01$ ); 与模型组比较, 厄贝沙坦组及天芙止眩方高、中剂量组大鼠 PVN 中  $CD86$  蛋白表达降低 ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ),  $CD163$ 、 $\alpha 7nAChR$  蛋白表达升高 ( $P < 0.01$ ), 见图 8。

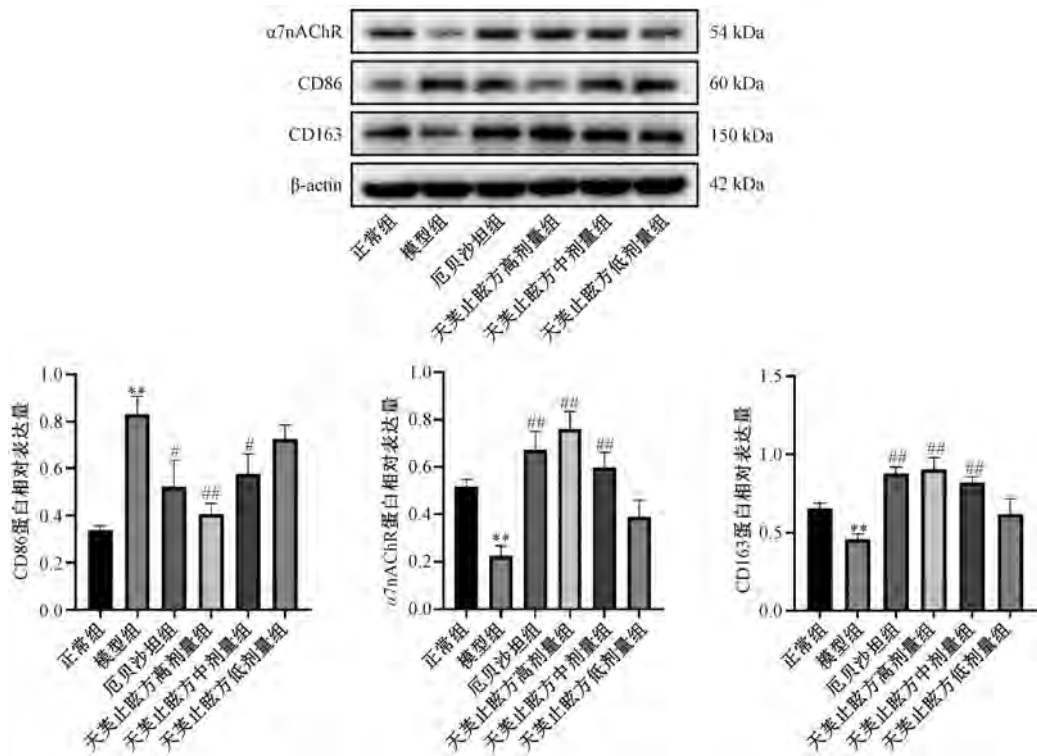
3.6 不同浓度天芙止眩方含药血清对 BV2 细胞活力的影响 与空白组 (0%) 比较, 5%~20% 天芙止眩方含药血清对 BV2 细胞存活率无明显影响 ( $P > 0.05$ ); 而 25% 以上浓度的天芙止眩方含药血清能够降低 BV2 细胞活力 ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ), 可能对细胞具有毒性, 见图 9。因此, 选用 5%、10%、20% 天芙止眩方含药血清进行后续实验。

3.7 天芙止眩方含药血清对 LPS 诱导的 BV2 细胞中  $\alpha 7nAChR/CD86$ 、 $\alpha 7nAChR/CD163$  表达的影响 与空白组比较, LPS 组  $CD86$  表达升高 ( $P < 0.01$ ),  $CD163$  和  $\alpha 7nAChR$  表达降低 ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ); 与 LPS 组比较, 10% 厄贝沙坦含药血清及 20%、10% 天芙止眩方含药血清均能够抑制

$CD86$  表达 ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ), 促进  $CD163$  和  $\alpha 7nAChR$  表达 ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ), 见图 10~12。  
3.8 天芙止眩方含药血清对 LPS 诱导的 BV2 细胞  $\alpha 7nAChR$  蛋白表达的影响 与空白组比较, LPS 组 BV2 细胞  $\alpha 7nAChR$  蛋白表达降低 ( $P < 0.05$ ); 与 LPS 组比较, 10% 厄贝沙坦含药血清组及 20%、10% 天芙止眩方含药血清组 BV2 细胞  $\alpha 7nAChR$  蛋白表达升高 ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ), 见图 13。

#### 4 讨论

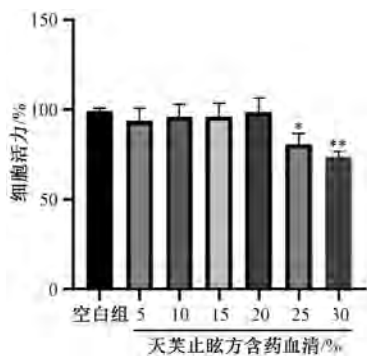
高血压在传统医学中被归为“眩晕”“头痛”等范畴。肝阳上亢可见头晕目眩等“上实”症候。由于先天不足, 肝肾亏虚导致髓海失充则出现眩晕、头痛或脾胃运化功能失常, 痰湿中阻、清阳不升、气血逆乱出现血压升高<sup>[15]</sup>。天芙止眩方由天麻、钩藤等多味中药组成, 具有平肝息风、利湿化痰的功效。本研究结果显示, 给予天芙止眩方后, SHR 大鼠收缩压降低, 说明其具有良好的降压效果。相关研究表明, 方中天麻素、钩藤碱、苍术酮和茯苓多糖等活性物质具有抑制神经炎症的作用<sup>[16-19]</sup>。因此, 天芙止眩方可能通过抑制神经炎症, 发挥神经保护作用。



注：与正常组比较，\*\*  $P < 0.01$ ；与模型组比较，#  $P < 0.05$ ，##  $P < 0.01$ 。

图8 各组大鼠PVN中CD86、CD163、 $\alpha 7nAChR$ 蛋白表达比较 ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 3$ )

Fig. 8 Comparison of protein expressions of CD86, CD163 and  $\alpha 7nAChR$  in PVN of rats in each group ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 3$ )



注：与空白组比较，\*  $P < 0.05$ ，\*\*  $P < 0.01$ 。

图9 不同浓度天芙止眩方含药血清对BV2细胞活力的影响 ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 6$ )

Fig. 9 Effects of serum containing different concentrations of Tianfu Zhixuan Formula on BV2 cell viability ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 6$ )

小胶质细胞在不同条件下极化为促炎 M1 表型或者抗炎 M2 表型，2 种小胶质细胞极化表型的失衡可能是引起高血压的一项重要机制<sup>[20-21]</sup>。PVN 位于第三脑室下丘脑部的上侧两端，通过延髓头端腹外侧及脊柱中外侧将交感神经信号传出，引起血压改变<sup>[22]</sup>。当 PVN 中的小胶质细胞被激活为 M1，释放的神经炎症介质可导致神经元过度活动，并引

发交感神经兴奋和血压升高<sup>[23-24]</sup>。Ang II 被认为是一种强促炎信号，减轻 Ang II 诱导的神经炎症能够抑制 PVN 中小胶质细胞的活化，发挥降低血压的作用<sup>[25]</sup>。厄贝沙坦属于 Ang II 的 1 型受体 (AT1R) 拮抗剂，体内外研究均表明，Ang II 通过 AT1R 与小胶质细胞上的 TLR4 之间相互作用，诱导 PVN 中小胶质细胞的激活，促进炎症因子的释放，引起交感神经兴奋，血压升高，而通过阻断 AT1R 能够抑制 SHR 大鼠 PVN 中的小胶质细胞激活，降低血压<sup>[26-27]</sup>。因此，本研究选择厄贝沙坦作为阳性药。实验结果表明，给予天芙止眩方后，SHR 大鼠脑 PVN 中促炎细胞因子 IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$  水平降低，提示天芙止眩方能够抑制 SHR 大鼠神经炎症。而抑制小胶质细胞 M1 型极化，促进其向 M2 型转化可抑制 SHR 大鼠神经炎症，对中枢神经具有保护作用<sup>[7,28]</sup>。本研究发现，SHR 大鼠 PVN 中 CD86<sup>+</sup>/Iba-1<sup>+</sup> 表达升高，而 CD163<sup>+</sup>/Iba-1<sup>+</sup> 表达降低，且 Western blot 及 RT-qPCR 也验证了 SHR 大鼠 M1 型标志物 CD86 表达的异常升高，及 M2 型标志物 CD163 表达的异常降低，而经天芙止眩方给药可逆转上述异常变化。这些结果表明，天芙止眩方抑制了 SHR 大鼠 PVN 小胶质细胞 M1 型极

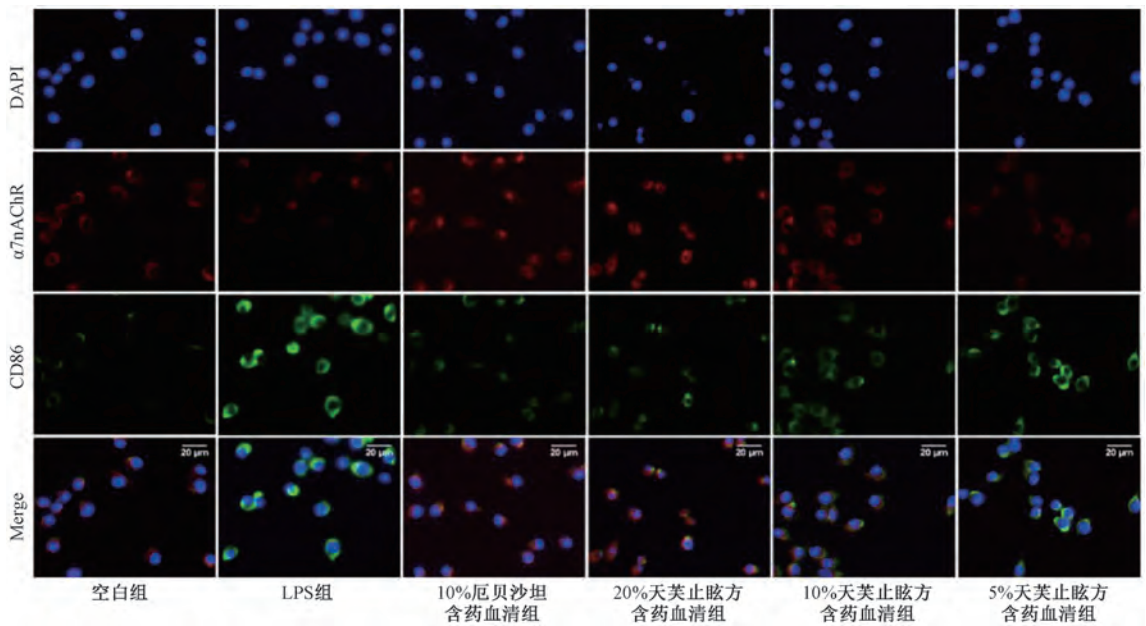


图 10 各组细胞  $\alpha 7nAChR/CD86$  免疫荧光染色 ( $\times 400$ )

Fig. 10 Immunofluorescence staining of  $\alpha 7nAChR/CD86$  cells in each group ( $\times 400$ )

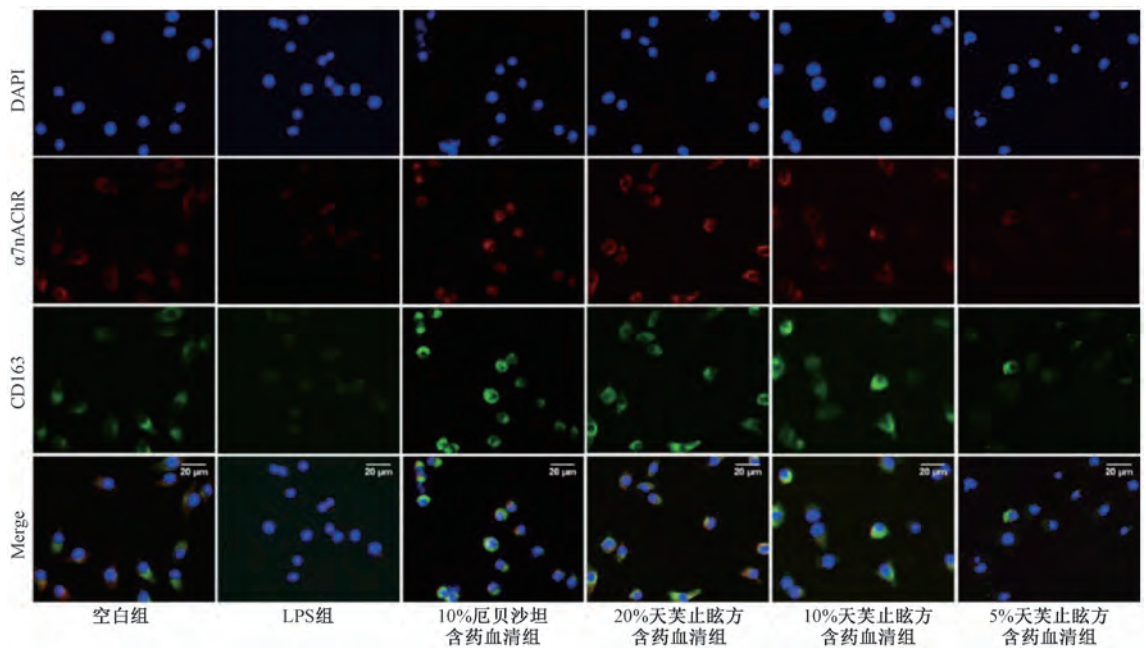


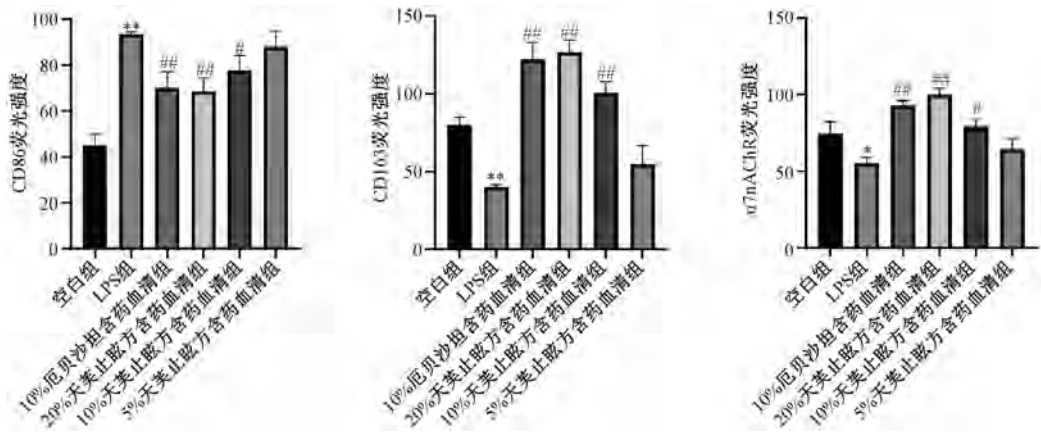
图 11 各组细胞  $\alpha 7nAChR/CD163$  免疫荧光染色 ( $\times 400$ )

Fig. 11 Immunofluorescence staining of  $\alpha 7nAChR/CD163$  cells in each group ( $\times 400$ )

化,促进了M2型极化,并缓解了神经炎症。

胆碱能抗炎途径(cholinergic anti-inflammatory pathway, CAP)是1种神经免疫调节—炎症反应途径,它将神经系统和免疫系统联系起来<sup>[29]</sup>,通过刺激传出迷走神经释放乙酰胆碱,与小胶质细胞上的 $\alpha 7nAChR$ 特异性结合,能够发挥抑制神经炎症的作用<sup>[30-32]</sup>。 $\alpha 7nAChR$ 的表达在SHR大鼠脑内降低,且 $\alpha 7nAChR$ 基因的缺失会产生更严重的心、

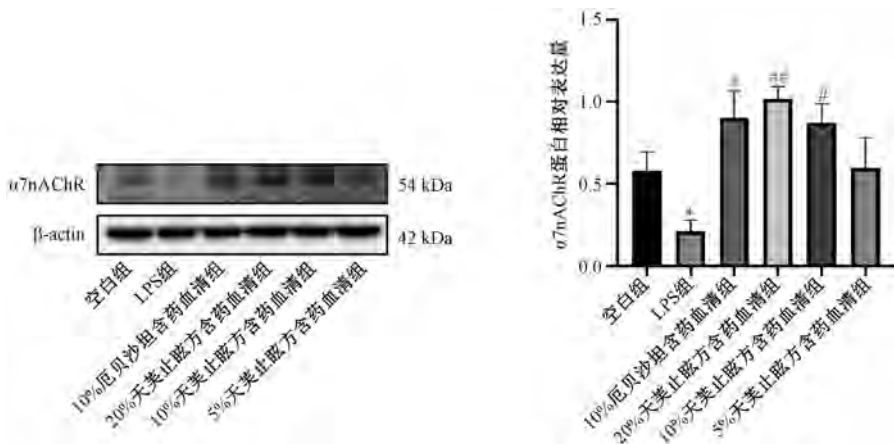
肾器官损伤以及炎症因子水平升高<sup>[33-35]</sup>,这表明 $\alpha 7nAChR$ 在高血压中具有抗炎以及改善靶器官损伤的作用。本研究发现,经天芙止眩方给药后,SHR大鼠PVN小胶质细胞中 $\alpha 7nAChR$ 表达升高。为了进一步验证天芙止眩方是否通过 $\alpha 7nAChR$ 调控小胶质细胞M1/M2型活化抑制神经炎症,本研究选用LPS诱导BV2细胞构建体外细胞模型。结果显示,经天芙止眩方含药血清处理后升高了LPS



注：与空白组比较，\* $P < 0.05$ ，\*\* $P < 0.01$ ；与LPS组比较，# $P < 0.05$ ，## $P < 0.01$ 。

图12 各组细胞CD86、CD163、 $\alpha 7nAChR$ 表达比较 ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 3$ )

Fig. 12 Comparison of CD86, CD163 and  $\alpha 7nAChR$  expressions in cells of each group ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 3$ )



注：与空白组比较，\* $P < 0.05$ ；与LPS组比较，# $P < 0.05$ ，## $P < 0.01$ 。

图13 各组细胞 $\alpha 7nAChR$ 蛋白表达比较 ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 3$ )

Fig. 13 Comparison of  $\alpha 7nAChR$  protein expression in each group of cells ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 3$ )

刺激后BV2细胞中 $\alpha 7nAChR$ 表达，及M2型小胶质细胞CD163表达，而降低了M1型小胶质细胞CD86表达。以上结果表明，天芩止眩方可能是通过激活 $\alpha 7nAChR$ 促进M1型小胶质细胞向M2型转化，从而抑制神经炎症。

综上所述，天芩止眩方可以有效降低SHR大鼠的血压，其机制可能是通过 $\alpha 7nAChR$ 调控PVN小胶质细胞极化介导的神经炎症发挥作用。

参考文献：

[1] Kelly D M, Rothwell P M. Blood pressure and the brain: the neurology of hypertension[J]. *Pract Neurol*, 2020, 20(2): 100-108.  
[2] Rodriguez-Iturbe B, Pons H, Johnson R J. Role of the immune system in hypertension[J]. *Physiol Rev*, 2017, 97(3): 1127-1164.  
[3] Wang L, Liu T, Wang X, et al. Microglia-derived TNF- $\alpha$

contributes to RVLM neuronal mitochondrial dysfunction via blocking the AMPK-Sirt3 pathway in stress-induced hypertension[J]. *J Neuroinflammation*, 2023, 20(1): 137.  
[4] Lu Y, Hao R, Hu Y, et al. Harpagide alleviate neuronal apoptosis and blood-brain barrier leakage by inhibiting TLR4/MyD88/NF- $\kappa B$  signaling pathway in angiotensin II-induced microglial activation *in vitro*[J]. *Chem Biol Interact*, 2021, 348: 109653.  
[5] Bi Q, Wang C, Cheng G, et al. Microglia-derived PDGFB promotes neuronal potassium currents to suppress basal sympathetic tonicity and limit hypertension[J]. *Immunity*, 2022, 55(8): 1466-1482.  
[6] Xu X Y, Wang J X, Chen J L, et al. GLP-1 in the hypothalamic paraventricular nucleus promotes sympathetic activation and hypertension[J]. *J Neurosci*, 2024, 44(21): e2032232024.  
[7] Mi Y, Wu Q, Yuan W, et al. Role of microglia M1/M2 polarisation in the paraventricular nucleus: new insight into the development of stress-induced hypertension in rats[J]. *Auton Neurosci*, 2018, 213: 71-80.

- [ 8 ] Xu X, Du L, Jiang J, *et al.* Microglial TREM2 mitigates inflammatory responses and neuronal apoptosis in angiotensin II-induced hypertension in middle-aged mice[J]. *Front Aging Neurosci*, 2021, 13: 716917.
- [ 9 ] 王艳军, 戴国梁, 陈佩瑶, 等. 延胡索乙素通过作用于 $\alpha 7$ nAChR介导BV2小胶质细胞的炎症反应与极化调控[J]. *中国中药杂志*, 2025, 50(11): 3117-3126.
- [ 10 ] Ma K, Niu J, Zeng L, *et al.* SAM alleviates neuroinflammation by regulating M1/M2 polarization of microglia through  $\alpha 7$ nAChR/Nrf2/HO-1 signaling pathway[J]. *Neurochem Res*, 2025, 50(2): 131.
- [ 11 ] Jiang P, Ma D, Wang X, *et al.* Astragaloside IV prevents obesity-associated hypertension by improving pro-inflammatory reaction and leptin resistance[J]. *Mol Cells*, 2018, 41(3): 244-255.
- [ 12 ] 辛娟娟, 周晨, 吴爽, 等. 基于胆碱能抗炎通路探讨电针对自发性高血压大鼠心肌纤维化的影响[J]. *中国针灸*, 2023, 43(10): 1151-1156.
- [ 13 ] 江丽红, 姚强, 罗晨, 等. 基于TGF- $\beta 1$ /Smad信号通路探讨天葵止眩方改善自发性高血压大鼠肾纤维化的作用机制[J]. *湖南中医药大学学报*, 2025, 45(4): 608-616.
- [ 14 ] 魏伟, 吴希美, 李元健. 药理实验方法学[M]. 4版. 北京: 人民卫生出版社, 2010: 1698.
- [ 15 ] 刘红喜, 梁晓, 申伟, 等. 升降浊理论在脑病中的临床运用[J]. *上海中医药杂志*, 2022, 56(1): 54-57; 66.
- [ 16 ] 张幸霖, 石金沙, 付宏铭, 等. 天麻素通过SOX2/ $\beta$ -catenin通路抑制脂多糖诱导的小胶质细胞活化[J]. *神经解剖学杂志*, 2024, 40(3): 365-372.
- [ 17 ] Bai P, Li C, Yin L, *et al.* Rhynchophylline promotes microglia phenotypic transformation and repair of cerebral ischaemic injury through the JAK2/STAT3 pathway[J]. *Hum Exp Toxicol*, 2025, 44: 9603271251324582.
- [ 18 ] 李静, 金侑喆, 金洪光. 白术提取物苍术酮对脂多糖诱导的BV2细胞神经炎症影响及相关机制研究[J]. *天然产物研究与开发*, 2020, 32(5): 826-830; 758.
- [ 19 ] 史云静, 李玉霞. 茯苓多糖通过NF- $\kappa$ B和NLRP3信号通路调节脂多糖引起的焦虑和抑郁样行为[J]. *食品工业科技*, 2023, 44(12): 371-377.
- [ 20 ] Wang M, Pan W, Xu Y, *et al.* Microglia-mediated neuroinflammation: a potential target for the treatment of cardiovascular diseases[J]. *J Inflamm Res*, 2022, 15: 3083-3094.
- [ 21 ] 郝任娟, 胡颖超, 于顾然, 等. 哈巴俄昔通过抑制TLR4/MyD88/NF- $\kappa$ B通路减轻神经炎症诱导的神经元损伤[J]. *中草药*, 2023, 54(13): 4202-4213.
- [ 22 ] Zhang H, Zhou J J, Shao J Y, *et al.* Hypothalamic corticotropin-releasing hormone contributes to hypertension in spontaneously hypertensive rats[J]. *J Neurosci*, 2023, 43(24): 4513-4524.
- [ 23 ] Shen X Z, Li Y, Li L, *et al.* Microglia participate in neurogenic regulation of hypertension[J]. *Hypertension*, 2015, 66(2): 309-316.
- [ 24 ] Masson G S, Nair A R, Silva Soares P P, *et al.* Aerobic training normalizes autonomic dysfunction, HMGB1 content, microglia activation and inflammation in hypothalamic paraventricular nucleus of SHR[J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2015, 309(7): H1115-H1122.
- [ 25 ] Shi P, Diez-Freire C, Jun J Y, *et al.* Brain microglial cytokines in neurogenic hypertension[J]. *Hypertension*, 2010, 56(2): 297-303.
- [ 26 ] Mowry F E, Peaden S C, Stern J E, *et al.* TLR4 and AT1R mediate blood-brain barrier disruption, neuroinflammation, and autonomic dysfunction in spontaneously hypertensive rats[J]. *Pharmacol Res*, 2021, 174: 105877.
- [ 27 ] Biancardi V C, Stranahan A M, Krause E G, *et al.* Cross talk between AT1 receptors and toll-like receptor 4 in microglia contributes to angiotensin II-derived ROS production in the hypothalamic paraventricular nucleus[J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2016, 310(3): H404-H415.
- [ 28 ] Cui C, Xu P, Li G, *et al.* Vitamin D receptor activation regulates microglia polarization and oxidative stress in spontaneously hypertensive rats and angiotensin II-exposed microglial cells: role of renin-angiotensin system[J]. *Redox Biol*, 2019, 26: 101295.
- [ 29 ] Borovikova L V, Ivanova S, Zhang M, *et al.* Vagus nerve stimulation attenuates the systemic inflammatory response to endotoxin[J]. *Nature*, 2000, 405(6785): 458-462.
- [ 30 ] Liu C, Liu S, Xiong L, *et al.* Genistein-3'-sodium sulfonate attenuates neuroinflammation in stroke rats by down-regulating microglial M1 polarization through  $\alpha 7$ nAChR-NF- $\kappa$ B signaling pathway[J]. *Int J Biol Sci*, 2021, 17(4): 1088-1100.
- [ 31 ] Xie J, Li X, Zhang L, *et al.* Genistein-3'-sodium sulfonate ameliorates cerebral ischemia injuries by blocking neuroinflammation through the  $\alpha 7$ nAChR-JAK2/STAT3 signaling pathway in rats[J]. *Phytomedicine*, 2021, 93: 153745.
- [ 32 ] Zhang Q, Lu Y, Bian H, *et al.* Activation of the  $\alpha 7$  nicotinic receptor promotes lipopolysaccharide-induced conversion of M1 microglia to M2[J]. *Am J Transl Res*, 2017, 9(3): 971-985.
- [ 33 ] Li D J, Evans R G, Yang Z W, *et al.* Dysfunction of the cholinergic anti-inflammatory pathway mediates organ damage in hypertension[J]. *Hypertension*, 2011, 57(2): 298-307.
- [ 34 ] Ferrari R, Frasoldati A, Leo G, *et al.* Changes in nicotinic acetylcholine receptor subunit mRNAs and nicotinic binding in spontaneously hypertensive stroke prone rats[J]. *Neurosci Lett*, 1999, 277(3): 169-172.
- [ 35 ] Wu S J, Shi Z W, Wang X, *et al.* Activation of the cholinergic anti-inflammatory pathway attenuated angiotensin II-dependent hypertension and renal injury[J]. *Front Pharmacol*, 2021, 12: 593682.