

埃他卡林对低氧诱导的肺动脉高压大鼠炎症反应的影响

吴苏玲,解卫平*,孔辉,毕立清,朱蓉

(南京医科大学第一附属医院呼吸科,江苏 南京 210029)

[摘要] **目的:**研究ATP敏感性钾通道(K_{ATP})开放剂埃他卡林(iptakalim, IPT)对低氧性肺动脉高压大鼠炎症反应的影响。**方法:**将96只清洁级SD大鼠随机分为对照(Control)组、低氧(Hypoxia)组、低氧+IPT(IPT)组,每组32只。Hypoxia组及IPT组每天置于常压低氧舱中8h,每周6d,持续4周。分别在低氧第1、2、3、4周末,各组随机取出8只大鼠测量右心室收缩压(RVSP),HE染色观察肺小动脉病理变化,抽取外周血,酶联免疫吸附法(ELISA)测定白细胞介素-1 β (IL-1 β)及IL-10,ED1⁺单核细胞免疫组化测定肺小动脉周围炎症细胞的浸润。**结果:**IPT可抑制大鼠慢性缺氧性RVSP升高、肺小动脉壁重构及其周围炎症细胞浸润;降低大鼠外周血及肺组织IL-1 β 含量,增加IL-10合成、释放。**结论:**IPT可能通过抑制肺血管炎症反应、降低RVSP、缓解肺血管重构,防治大鼠低氧性肺动脉高压。

[关键词] ATP敏感性钾通道;埃他卡林;炎症反应;低氧性肺动脉高压

[中图分类号] R543.2

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-4368(2013)02-149-06

doi:10.7655/NYDXBNS20130201

Effects of iptakalim on inflammation in hypoxia-induced pulmonary artery hypertension in rats

Wu Suling, Xie Weiping*, Kong Hui, Bi Liqing, Zhu Rong

(Department of Respiratory Medicine, the First Affiliated Hospital of NJMU, Nanjing 210029, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the effects of iptakalim (IPT), an adenosine triphosphate (ATP)-sensitive potassium channel opener, on the inflammation of hypoxic pulmonary artery hypertension (HPAH) in rats. **Methods:** A total of 96 SD rats were randomly divided into three groups (the control group, the hypoxia group and the hypoxia + IPT group, $n=32$ for each group). Hypoxia-treated and IPT-treated rats were placed into normobaric hypoxia chamber for 4 weeks (8 h/day, 6 days/week). Eight rats of each group were killed at the end of each week. The right ventricle systolic pressure (RVSP) was measured and the small pulmonary arterial morphologic changes were detected by HE staining. Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) was performed to analyze the content of interleukin-1 β (IL-1 β) and IL-10. Immunohistochemistry for ED1⁺ monocytes was performed to detect inflammatory cells around pulmonary arterioles. **Results:** IPT significantly inhibited RVSP increasing induced by hypoxia the remodeling of small pulmonary artery wall and the infiltrating of the surrounding inflammatory cells. Moreover, IPT prevented IL-1 β increasing and IL-10 decreasing induced by hypoxia in both peripheral blood and lung. **Conclusion:** IPT can alleviate inflammation in pulmonary vascular, lower the RVSP, antagonize the proliferation and remodeling of the small pulmonary artery. It is a promising candidate for the treatment of HPAH.

[Key words] K_{ATP} channel; iptakalim; inflammation; hypoxic pulmonary artery hypertension

[Acta Univ Med Nanjing, 2013, 33(2): 149-154]

低氧性肺动脉高压 (hypoxic pulmonary artery hypertension, HPAH)是以血管阻力进行性增加和血

管重塑为特征的进行性疾病^[1],是多种心肺疾病发展过程中的病理生理环节,其发生机制尚未完全清楚。越来越多的证据表明炎症反应在肺动脉高压的发生发展中起重要的作用^[2]。

[基金项目] 国家自然科学基金(81273571);江苏省人事厅六大人才高峰资助项目(2008074)

埃他卡林(iptakalim, IPT)是具有我国自主知识产权的ATP敏感性钾通道(K_{ATP})开放剂,可显著降

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

低自发性高血压大鼠血浆炎症相关因子如超敏感 C 反应蛋白(hs-CRP)、肿瘤坏死因子 α (TNF- α)和白细胞介素(IL)-6^[3]。然而,对于 IPT 是否能够调节 HPAH 的炎症反应尚缺乏相应的研究。本研究通过观察 IPT 对 HPAH 大鼠的外周血、肺组织 IL-1 β 和 IL-10 水平、肺小动脉周围炎症细胞的浸润、肺动脉压的影响,探讨 IPT 对 HPAH 病理生理过程的作用。

1 材料和方法

1.1 材料

健康清洁级 2 月龄雄性 SD 大鼠,体重(200 \pm 20)g,购于南京医科大学实验动物中心,由江苏省 SPF 级实验动物中心饲养,经实验动物伦理委员会同意。IPT 由军事医学科学院毒物药物研究所提供,纯度 > 99%(用生理盐水将其配成 0.3 g/L)。IL-1 β 、IL-10 ELISA 试剂盒(ER008、ER004)为上海依科赛生物制品有限公司产品。ED1 抗体(anti-macrophages/monocytes antibody, clone ED1 MAB-1435)为德国 Millipore 公司产品,全蛋白提取试剂盒为南京凯基公司产品,BCA 蛋白浓度测定试剂盒 P0012S 为上海碧云天公司产品,其余所用试剂为国产分析纯。氧浓度监测仪(CYES- II,上海越磁电子科技有限公司),压力传感器(TSD104A 血压换能器),16 通道生理信号记录分析系统(MP100)(BIOPAC Systems, Santa Barbara 公司,美国)。

1.2 方法

1.2.1 动物分组及模型制备

健康清洁级 SD 大鼠 96 只,随机分为对照(Control)组、低氧(Hypoxia)组、IPT 组,每组 32 只。IPT 组每日缺氧前 30 min 给予 IPT 0.5 mg/(kg·d)灌胃,Control 组与 Hypoxia 组大鼠以等量生理盐水灌胃,Hypoxia 组及 IPT 组大鼠置于低氧舱中,8 h/d,每周 6 d,持续 4 周。通过充入氮气降低舱内氧气浓度,使氧浓度稳定于(10.0 \pm 0.5)%,低氧舱有小孔与外界相通,使低氧舱大气压与外界一致。舱内 CO₂ 和水蒸汽分别用钠石灰和无水氯化钙吸收。

1.2.2 大鼠血流动力学检测

将各组大鼠称重,20%乌拉坦(1.0 g/kg)腹腔注射麻醉后仰卧固定,胸部剃毛,暴露皮肤,于胸骨右缘第 4、5 肋间将充盈肝素溶液的静脉留置导管紧贴胸骨(避开肺组织),向心尖方向以 60°角斜刺进针约 1 cm,即可感觉穿刺针随心跳剧烈搏动,并可见暗红色的静脉血搏出。导管的另一端与压力传感器相连,应用 16 通道生理信号记录分析系统测定右心室

收缩压(RVSP)和右心室左心室直径比值(RV/LV)。

1.2.3 血液及心肺组织标本的采集

大鼠血流动力学测量结束,沿两侧肋骨剪开掀起前胸,右心室穿刺抽取血液 2 ml 注入肝素处理的抗凝管,并离心收集上层血清分装。通过穿刺针以恒定速度注入 40~50 ml 冰灭菌生理盐水灌洗肺组织,以止血钳分别钳夹左、右侧肺门,沿止血钳剪下左、右肺叶,然后取下大鼠心脏。左肺分装入冻存管,立即放入液氮中,待实验结束后取出冻存管,将其置于超低温冰箱,-80℃下保存待用,右肺及心脏用 4%多聚甲醛固定,用于 HE 染色及免疫组化。

1.2.4 心肺组织 HE 染色

将多聚甲醛固定好的肺组织横断切开,心脏沿左右心室层面横断切开,嵌入包埋块中梯度脱水后进行石蜡包埋。用石蜡切片机制作厚度为 4 μ m 的石蜡切片。切片经脱蜡、苏木精及 0.5%伊红染色后脱水、透明、封片。每只大鼠肺组织的 HE 染色图片中随机选择 6 个肺中、小动脉(直径 50~150 μ m),用 Image-Pro Plus 软件测量肺小动脉壁厚并取其平均数作为一个样本的肺中、小动脉的平均厚度,同时用该软件测量左右心室壁厚,计算左右心室厚度比。

1.2.5 肺组织免疫组化

上述石蜡切片烤片后脱蜡至水,枸橼酸盐微波抗原修复 10 min,置入 3% H₂O₂ 10 min,PBS 洗 3 次;山羊血清室温封闭 30 min;加一抗(抗 ED1 抗体)4℃过夜,第 2 天将过夜片放入 37℃温箱孵育 1 h,PBS 洗 3 次;生物素化二抗工作液 37℃温箱孵育 30 min,PBS 洗 3 次;辣根过氧化物酶标记链霉素工作液 37℃温箱孵育 30 min,PBS 洗 3 次;DAB 显色,控制好显色时间;自来水终止显色;苏木素染色 2 min,自来水冲洗,盐酸酒精分化,自来水冲洗,PBS 返蓝 20 min(镜检);脱水,透明,树胶封片。免疫组化染色的图片每组随机选择 8 个视野(\times 200),用 Image-Pro Plus 软件手动计数。

1.2.6 肺组织总蛋白提取及浓度测定

每 1 ml 冷 Lysis Buffer 液中加入 10 μ l 磷酸酶抑制剂,1 μ l 蛋白酶抑制剂和 5 μ l 100 mmol/L PMSF,混匀。冰上保存数分钟待用;每 100 mg 肺组织置于培养皿中,手术剪剪碎成 3 mm \times 3 mm 左右的小块,加入 0.5~1.0 ml 冷 Lysis Buffer 液,玻璃匀浆器上下手动匀浆 15 次,注意低温操作;取组织匀浆液转移到 1.5 ml 预冷的离心管中,即为全蛋白提取物,BCA 法定量蛋白;分装保存于-80℃,避免反复冻融。

1.2.7 ELISA 测定外周血及肺组织炎症因子

按 IL-1 β 、IL-10 试剂盒说明书,分别将标准品和样本加入相应孔中(100 μ l/孔),用封板胶纸封住反应孔,37 $^{\circ}$ C温箱孵育 90 min,洗板 5 次;除空白孔外,加入生物素化抗体工作液(100 μ l/孔),用封板胶纸封住反应孔,37 $^{\circ}$ C温箱孵育 60 min,洗板 5 次;除空白孔外,加入酶结合物工作液(100 μ l/孔),用封板胶纸封住反应孔,37 $^{\circ}$ C避光孵育 30 min,洗板 5 次;加入显色底物 100 μ l/孔,37 $^{\circ}$ C避光孵育 15 min;加入终止液 100 μ l/孔,混匀后即刻测量 450 nm 处光密度值。

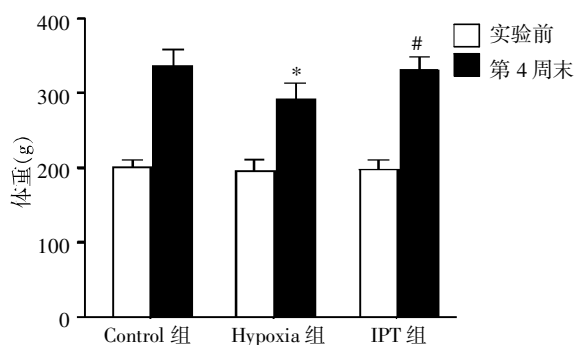
1.3 统计学方法

用 SPSS15.0 统计学软件对数据进行统计学处理,所有数据以均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,统计分析采用单因素方差分析,并用 LSD 法进行组间比较, $P \leq 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 各组大鼠一般情况比较

实验前各组大鼠体重无显著差异 ($P > 0.05$),至第 4 周末,与 Control 组相比,Hypoxia 组大鼠体重降低($P < 0.05$),活动迟缓、皮毛无光泽和呼吸急促、皮肤黏膜发绀。IPT 组大鼠与 Control 组比较无差异,见图 1。



与 Control 组比较,* $P < 0.05$;与 Hypoxia 组比较,# $P < 0.05$ ($n=8$)。

图 1 各组大鼠体重变化

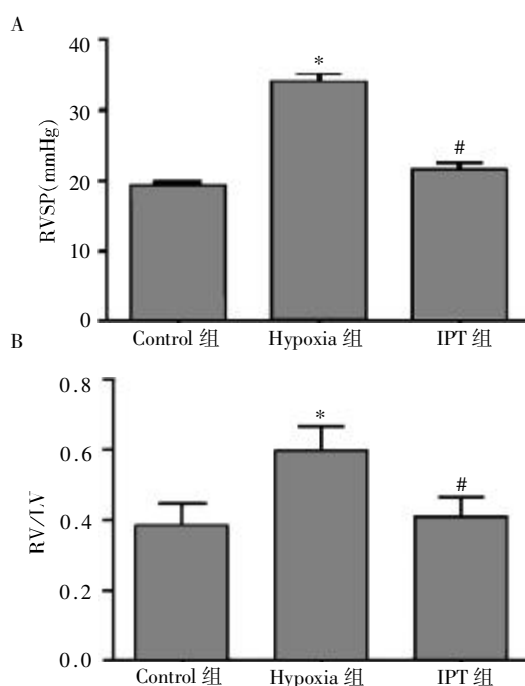
Figure 1 The weight of rats at the end of the 4th week

2.2 大鼠血流动力学、右心室肥厚程度的变化

与 Control 组比较,Hypoxia 组大鼠 RVSP、RV/LV 明显升高 ($P < 0.05$);IPT 组大鼠较 Hypoxia 组 RVSP、RV/LV 明显降低($P < 0.05$);IPT 组与 Control 组相比无明显差异($P > 0.05$),见图 2。

2.3 IPT 对大鼠肺小动脉形态学的影响

与 Control 组比较,Hypoxia 组大鼠肺小动脉壁明显增厚($P < 0.05$),管腔狭窄;IPT 组大鼠肺小动



与 Control 组比较,* $P < 0.05$;与 Hypoxia 组比较,# $P < 0.05$ ($n=8$)。

图 2 第 4 周末各组大鼠 RVSP(A)、RV/LV(B)差异

Figure 2 The RVSP(A) and RV/LV(B) of rats at the end of the 4th week

脉壁厚度较 Hypoxia 组明显降低 ($P < 0.05$);IPT 组与 Control 组相比无明显差异($P > 0.05$),见图 3。

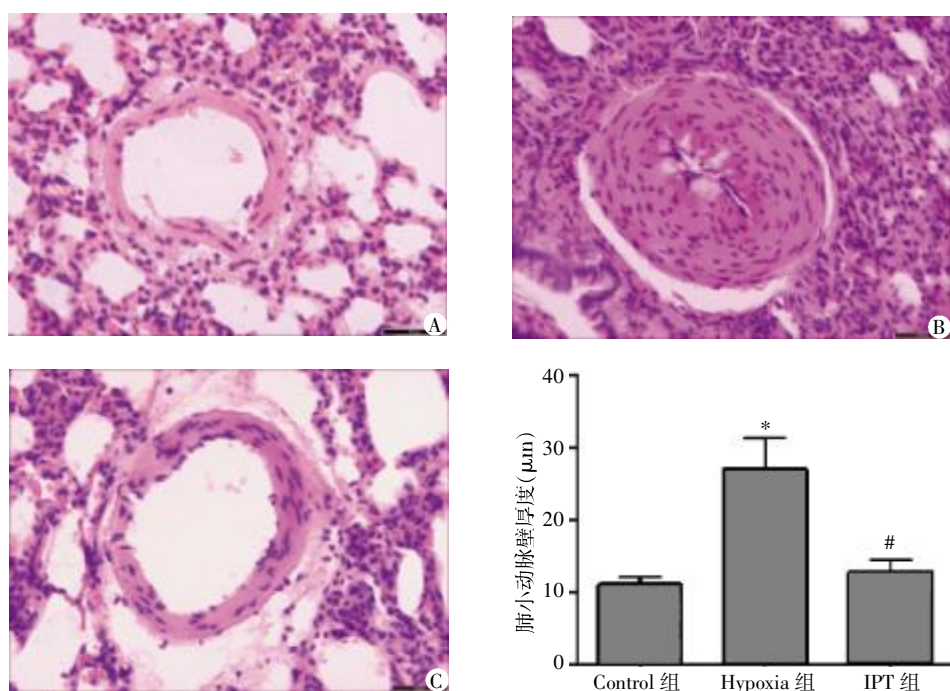
2.4 肺小动脉周围单核细胞的变化

与 Control 组比较,Hypoxia 组大鼠肺小动脉周围浸润的单核细胞数明显增多($P < 0.05$);IPT 可抑制慢性低氧的这种作用,IPT 组大鼠肺小动脉周围浸润的单核细胞数与对照组大鼠相似($P > 0.05$),见图 4。

2.5 肺组织及外周血 IL-1 β 、IL-10 的表达

缺氧大鼠肺组织 IL-1 β 明显升高,缺氧第 28 天大鼠肺组织 IL-1 β 高达 (122.00 ± 16.99)pg/ml;缺氧前应用 IPT 大鼠肺组织 IL-1 β 降至 (88.98 ± 11.26)pg/ml,但仍高于对照组 (53.78 ± 6.52)pg/ml ($P < 0.05$)。慢性低氧使 IL-10 明显下降,第 28 天大鼠肺组织 IL-10 降至 (29.37 ± 3.15)pg/ml,IPT 抑制慢性缺氧大鼠肺组织 IL-10 的下降,第 28 天大鼠肺组织 IL-10 为 (48.67 ± 3.87)pg/ml,与对照组大鼠相比无明显差异($P > 0.05$),见表 1。

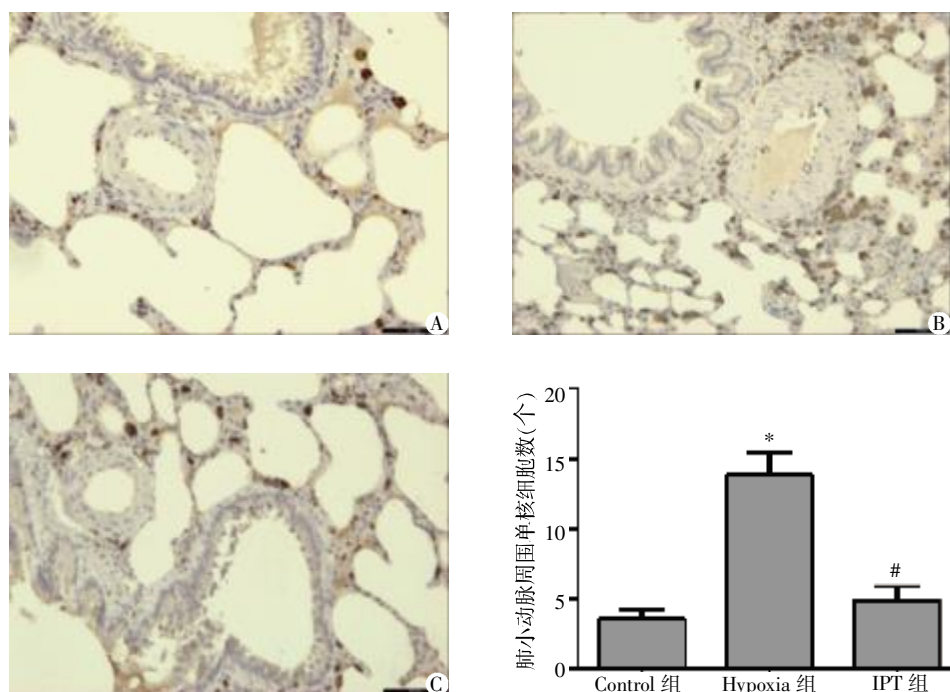
前 3 周,IPT 组和 Hypoxia 组大鼠外周血 IL-1 β 逐渐上升,14~21 d(第 3 周)上升最明显,每天低氧前使用 IPT 组大鼠上升幅度较单纯低氧组小;IPT 组和 Hypoxia 组大鼠 22~28 d(第 4 周)外周血 IL-1 β 逐渐下降,第 4 周末 IPT 组大鼠外周血 IL-1 β 降至正常,与 Control 组相比无明显差异($P < 0.05$),见图 5。



A: Control 组; B: Hypoxia 组; C: IPT 组。与 Control 组比较, * $P < 0.05$; 与 Hypoxia 组比较, # $P < 0.05$ ($n=8$)。

图 3 第 4 周末各组大鼠肺小动脉形态学变化(HE, $\times 400$)

Figure 3 The small pulmonary arterial of rats at the end of the 4th week(HE, $\times 400$)



A: Control 组; B: Hypoxia 组; C: IPT 组。与 Control 组比较, * $P < 0.05$; 与 Hypoxia 组比较, # $P < 0.05$ ($n=8$)。

图 4 第 4 周末各组大鼠肺小动脉周围单核细胞分析(ED1⁺单核细胞免疫组化, $\times 200$)。

Figure 4 Monocytes around lung arterioles of rats at the end of the 4th week (Immunohistochemistry for ED1⁺monocytes, $\times 200$)

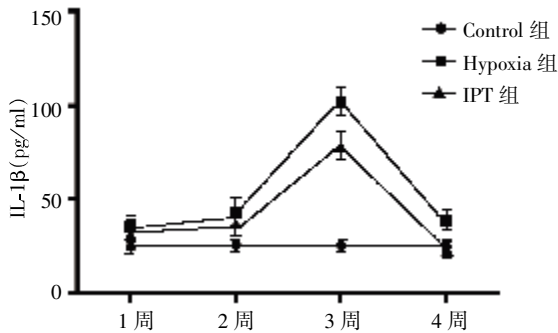
7~14 d(第 2 周), 缺氧大鼠外周血 IL-10 呈上升趋势, 至 14 d 时达到峰值, 15~28 d(第 2~4 周) 逐渐下降, 第 28 天, 外周血 IL-10 低于 Control 组

大鼠($P < 0.05$); 低氧之前应用 IPT 的大鼠外周血 IL-10 含量曲线无此类趋势, 与 Control 组变化相似, 见图 6。

表1 第4周末大鼠肺组织 IL-1 β 、IL-10 水平的变化
Table 1 The content of IL-1 β and IL-10 in lung in the 4th week
(n=8, pg/ml, $\bar{x} \pm s$)

组别	IL-1 β	IL-10
Control 组	53.78 \pm 6.52	52.95 \pm 3.92
Hypoxia 组	122.00 \pm 16.99*	29.37 \pm 3.15*
IPT 组	88.98 \pm 11.26**	48.67 \pm 3.87#

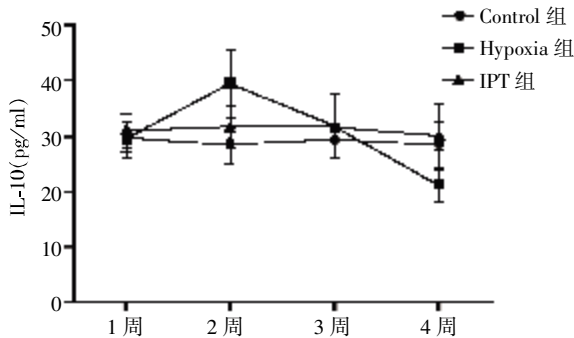
与 Control 组比较, * $P < 0.05$, 与 Hypoxia 组比较, # $P < 0.05$ 。



Hypoxia 组与 Control 组比较, 各时间点 P 均 < 0.05 ; IPT 组与 Control 组比较, 第 2, 3 周时 $P < 0.05$; IPT 组与 Hypoxia 组比较, 第 3, 4 周时 $P < 0.05$ 。

图5 1~4 周末大鼠外周血 IL-1 β 水平

Figure 5 The level of IL-1 β in peripheral blood from the 1th to 4th week



Hypoxia 组与 Control 组比较, 第 2, 4 周时 $P < 0.05$; IPT 组与 Hypoxia 组比较, 第 2, 4 周时 $P < 0.05$ 。

图6 1~4 周末大鼠外周血 IL-10 水平

Figure 6 The level of IL-10 in peripheral blood from the 1th to 4th week

3 讨论

肺动脉高压 (pulmonary arterial hypertension, PAH) 是一种以肺小动脉内皮细胞功能障碍、平滑肌细胞异常增殖、新内膜形成、肺小动脉管腔狭窄、肺动脉阻力进行性增加为主要特征的复杂综合征, 其发病机制尚未明确。而 HPAH 是多种心肺疾病发展成慢性肺源性心脏病过程中的中心环节, 有效控制 HPAH 的发生发展能够显著降低慢性肺源性心脏病

的发生率及病死率。有研究发现, PAH 患者重塑的肺血管周围巨噬细胞、T 细胞、B 细胞等炎症细胞浸润明显^[4]。

IL-1 是一种重要的炎症因子, 主要由单核巨噬细胞产生, 在慢性炎症和自身免疫性疾病中发挥重要作用。IL-1 通过与靶细胞特异性结合而发挥生物学作用。IL-1 β 是 IL-1 家族的重要成员之一, 在免疫防御初始阶段有大量表达, 被认为是炎症主要效应分子^[5]。早期的动物实验表明, 野百合碱所致 PAH 大鼠体内 IL-1 水平显著升高, IL-1 受体阻断剂则能有效抑制野百合碱所致大鼠肺动脉压升高及右心室肥厚^[6]; 同样, 低氧可诱导大鼠体内 IL-1 β 含量的增高^[7]。本研究采用动态监测的方法, 分别监测 1~4 周末大鼠外周血及第 4 周末肺组织 IL-1 β 含量, 结果显示, 在低氧处理的中晚期 (第 3, 4 周末), Hypoxia 组外周血 IL-1 β 与 IPT 组和 Control 组相比显著升高 ($P < 0.05$), 缺氧第 28 天 (第 4 周末) 肺组织 IL-1 β 的变化与外周血结果一致。慢性缺氧大鼠外周血 IL-1 β 水平动态变化的研究尚未见文献报道, 本研究进一步证实了 IL-1 β 参与了 HPAH 的发生、发展过程。至于 IL-1 β 为何在第 3 周末达到峰值, 然后逐渐下降, 推测第 3 周末致炎因子 IL-1 β 升至高峰, 在机体各种抗炎机制的免疫调节下, 3 周后 IL-1 β 开始下降, 但是 IPT 可使 IL-1 β 降至对照组大鼠水平, 而 Hypoxia 组第 4 周末仍高于 Control 组。可见 IPT 可降低 HPAH 大鼠的肺组织、外周血中 IL-1 β 的水平, 抑制 HPAH 的发生、发展。

IL-10 是由 Th2 细胞产生的强效抗炎细胞因子, 其主要生物学功能是抑制和终止炎症反应, 阻止炎症因子的分泌, 调节 T 细胞、B 细胞、NK 细胞的分化和增殖。IL-10 可使炎症因子 TNF- α 的 mRNA 降解, 降低 IL-6 和 IL-8 自身 mRNA 的稳定性^[8], 从而在转录、转录后两个水平影响炎症因子的合成。既往研究发现, IL-10 可以显著降低野百合碱诱导的 PAH 大鼠的肺动脉压、右心指数、肺小动脉壁厚度及炎症细胞的浸润^[9]。同样有证据表明, IL-10 表达水平的上调对低氧诱导的肺动脉高压也具有保护作用^[10]。HPAH 大鼠外周血 IL-10 水平动态变化监测的研究尚未见文献报道。本研究结果显示, Hypoxia 组大鼠外周血 IL-10 呈先升高后降低的趋势, 且最终 Hypoxia 组 IL-10 水平较 Control 组显著降低, 缺氧前给予 IPT 可阻止这种波动。提示在低氧初期, 大鼠外周血抗炎因子 IL-10 水平升高, 抑制炎症反应, 随着缺氧时间延长, IL-10 水平开始下降, 第 28 天 (第

4 周末)IL-10 水平甚至低于对照组。作为抗炎因子的 IL-10 分泌减少,可能是导致或加重炎症反应的原因之一。而 IL-1 β 与 IL-10 之间的相互作用关系尚不完全明了。促炎因子分泌失调、抗炎因子分泌不足被认为是炎症发生、发展的重要原因之一。本研究发现, K_{ATP} 开放剂 IPT 可抑制大鼠外周血和肺组织 IL-1 β 、IL-10 波动,使其恢复到正常水平,有利于缓解 HPAH 的炎症反应,预防 HPAH 形成。

K_{ATP} 是受细胞内 ATP 浓度调控的一种内向整流钾通道,与细胞的兴奋性和能量代谢密切相关,在生理情况下处于关闭状态,在缺血缺氧等病理情况下 K_{ATP} 开放,发挥重要的调节作用,构成机体对缺血缺氧等伤害刺激的重要保护机制^[11]。IPT 是我国自行设计、合成、具有自主知识产权的新型 K_{ATP} 开放剂。有研究发现,IPT 通过开放线粒体 K_{ATP} ,稳定线粒体膜电位及抑制 p38/JNK MAPK 信号通路的激活,抑制小胶质细胞的活化与及致炎因子的产生^[12]。MAPK 信号转导通路包括:细胞外信号调节蛋白激酶 (extracellular signal-regulated protein kinase, ERK1/2)、c-Jun N 末端激酶(c-Jun N-terminal kinase, JNK)、p38、ERK3/4 和 ERK5 亚家族,每个亚家族又包含多个亚型。其中 p38 是哺乳动物细胞中被发现的第 3 种 MAPK,主要被炎症因子(如 IL-1 β 、TNF- α)及细胞应激激活,而且大量研究表明,特异性阻断 p38 通路能够减轻炎症反应。以上证据说明 K_{ATP} 参与了炎症反应的调节。

本研究首先通过建立稳定的 HPAH 大鼠模型,慢性低氧 4 周,大鼠 RVSP 明显升高,大鼠肺小动脉增殖、重构,肺小动脉周围单核细胞明显浸润,外周血促炎因子 IL-1 β 及抗炎因子 IL-10 失衡。低氧前给予 IPT 可通过缓解上述炎症因子变化和肺血管炎症反应从而降低 RVSP、抑制肺血管重构和右心室肥厚。进一步证实炎症反应参与了 HPAH 的病理、生理过程;IPT 通过开放 K_{ATP} 抑制炎症反应,从而降低 RVSP、缓解肺血管重构。炎症反应是个复杂的过程,其涉及的炎症因子众多且各炎症因子之间相互作用复杂,IPT 的其他抗炎机制还有待于进一步研究和完善。但本研究结果显示,具有我国自主知识产权的新型 K_{ATP} 开放剂 IPT 可通过调节炎症因子、抑制炎症反应防治 HPAH,是一个极有前途的治疗肺动脉高压的药物。

[参考文献]

- [1] Stenmark KR, Fagan KA, Frid MG, et al. Hypoxia-induced pulmonary vascular remodeling: cellular and molecular mechanisms[J]. *Circ Res*, 2006, 99(7): 675-691
- [2] Mathew R. Inflammation and pulmonary hypertension[J]. *Cardiol Rev*, 2010, 18(2): 67-72
- [3] 曾伏虎, 杨胜万, 汪海, 等. 盐酸埃他卡林对自发性高血压大鼠血浆生化指标及炎症相关因子的影响[J]. *中国分子心脏病学杂志*, 2007, 7(3): 143-145
- [4] Dorfmueller P, Humbert M, Perros F, et al. Fibrous remodeling of the pulmonary venous system in pulmonary arterial hypertension associated with connective tissue diseases[J]. *Hum Pathol*, 2007, 38(6): 893-902
- [5] Leuschner F, Katus HA, Kaya Z. Autoimmune myocarditis: past, present and future [J]. *J Autoimmun*, 2009, 33(3-4): 282-289
- [6] Voelkel NF, Tudor RM, Bridges J, et al. Interleukin-1 receptor antagonist treatment reduces pulmonary hypertension generated in rats by monocrotaline [J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 1994, 11(6): 664-675
- [7] Tsai BM, Wang M, Pitcher JM, et al. Zaprinst attenuates hypoxic pulmonary artery injury and causes less aortic relaxation than milrinone [J]. *Shock*, 2005, 24(5): 417-420
- [8] Horwitz DA, Zheng SG, Gray JD. The role of the combination of IL-2 and TGF-beta or IL-10 in the generation and function of CD4⁺ CD25⁺ and CD8⁺ regulatory T cell subsets [J]. *J Leukoc Biol*, 2003, 74(4): 471-478
- [9] Ito T, Okada T, Miyashita H, et al. Interleukin-10 expression mediated by an adeno-associated virus vector prevents monocrotaline-induced pulmonary arterial hypertension in rats[J]. *Circ Res*, 2007, 101(7): 734-741
- [10] Vergadi E, Chang MS, Lee C, et al. Early macrophage recruitment and alternative activation are critical for the later development of hypoxia-induced pulmonary hypertension[J]. *Circulation*, 2011, 123(18): 1986-1995
- [11] Seino S, Miki T. Physiological and pathophysiological roles of ATP-sensitive K⁺ channels [J]. *Prog Biophys Mol Biol*, 2003, 81(2): 133-176
- [12] Zhou F, Wu JY, Hu G, et al. Iptakalim alleviates rotenone-induced degeneration of dopaminergic neurons through inhibiting microglia-mediated neuroinflammation[J]. *Neuropsychopharmacology*, 2007, 32(12): 2570-2580

[收稿日期] 2012-09-15