

肾素血管紧张素醛固酮系统拮抗剂对自发性高血压大鼠心肌缝隙连接蛋白 Cx43 表达的影响*

谭力力, 李 潞, 刘丽敏[△], 赵红丽

沈阳医学院沈洲医院(北院区)心血管内科(沈阳 110002)

【摘要】 目的 探讨心肌缝隙连接蛋白 Cx43 在自发性高血压大鼠心肌中的表达以及肾素血管紧张素醛固酮系统(RASS)拮抗剂对其的干预机制。**方法** 取 8 周雄性、体质量约 200 g 的自发性高血压大鼠(SHR)70 只,随机分为高血压组、雷米普利组、替米沙坦组、依普利酮组、雷米普利+替米沙坦组、雷米普利+依普利酮组以及替米沙坦+依普利酮组,每组 10 只,再取同周龄、同体质量 Wistar 大鼠 10 只作为对照组。适应性喂养 1 周后,每天早 8 点给予灌胃给药,分别于 0、4 周及 8 周测量大鼠的尾动脉压,8 周后处死动物,取出心脏,测量左心室质量及左心室质量/体质量,石蜡切片观察心肌纤维化程度,RT-PCR 和 Western blot 观察 Cx43 的表达。**结果** 喂养结束时,SHR 组血压高于 Wistar 组($P<0.01$),给予 RAAS 拮抗剂干预后,血压下降(P 均 <0.05),替米沙坦+依普利酮组血压下降最明显($P<0.01$);替米沙坦+依普利酮组大鼠的左心室质量、左心室质量/体质量、心肌纤维化程度及血管紧张素 II (Ang II)下降也最明显($P<0.01$);SHR 组 Cx43 表达低于 Wistar 组($P<0.01$),给予 RAAS 拮抗剂干预后,Cx43 表达升高(均 $P<0.05$),升高幅度仍以替米沙坦+依普利酮组最为明显($P<0.01$)。**结论** 高血压大鼠心肌缝隙连接蛋白 Cx43 表达降低,RAAS 拮抗剂可以升高 Cx43 的表达,其中以替米沙坦与依普利酮联合效果最明显。

【关键词】 心肌缝隙连接蛋白 Cx43 肾素血管紧张素系统 自发性高血压大鼠

Effect of RAAS Antagonist on the Expression of Gap Junction Cx43 in Myocardium of Spontaneously Hypertensive Rat
TAN Li-li, LI Lu, LIU Li-min[△], ZHAO Hong-li. First Department of Cardiology, Shenzhou Hospital Affiliated to Shenyang Medical College, Shenyang 110002, China

[△] Corresponding author, E-mail: lmliu@126.com

【Abstract】 Objective To investigate the expression of gap junction protein Cx43 in the cardiac muscle of spontaneous hypertensive rat and the effects of various antagonists against renin angiotensin aldosterone system (RAAS) on Cx43 expression. **Methods** 70 spontaneous hypertensive rats of 8-week age, 200-gram weight were separated into 7 groups, as hypertension, ramipril, telmisartan, eplerenone, ramipril+telmisartan, telmisartan+eplerenone, and ramipril+eplerenone treatment group. Another 10 healthy Wistar rats of the same age and weight were used as control group. All the rats were given intragastric administration at 8 a. m. every morning, and measured arteria caudalis pressure at 0, 4 and 8 week, respectively. 8 weeks later, all the rats were sacrificed, and the hearts were taken to measure the weight of left ventricle and the ratio of left ventricle to body weight. Myocardial fibrosis was observed by H&E staining of paraffin embedded sections, and Cx43 expression was examined by RT-PCR and western blot. **Results** The arteria caudalis pressure of spontaneous hypertensive rats was significantly higher than that of healthy control Wistar rats ($P<0.01$). The decreased blood pressure was observed in RAAS antagonists treated rats, compared with hypertension group ($P<0.05$). The combined treatment of telmisartan and eplerenone had the best effect of lowering blood pressure. Moreover, the weight of left ventricle, the ratio of left ventricle to body weight, myocardial fibrosis and angiotensin II were all prominently decreased in telmisartan and eplerenone combination group ($P<0.01$). The expression of Cx43 in spontaneous hypertensive rats was significantly lower than that of healthy control Wistar rats ($P<0.01$). Increased Cx43 expression was observed in RAAS antagonists treated rats, compared with hypertension group ($P<0.05$). **Conclusion** The expression of gap junction protein Cx43 was significantly down-regulated in spontaneous hypertensive rats, while RAAS antagonists increased Cx43 expression. The combination of telmisartan and eplerenone effectively recovered the expression of Cx43 and probably reversed hypertension.

【Key words】 Myocardial gap junctions Cx43 protein Renin-angiotensin system Spontaneously hypertensive rat

* 沈阳市科技计划项目(No. F11-264-1-48)和沈阳医学院科技基金(No. 20102030)资助

[△] 通讯作者, E-mail: lmliu@126.com

高血压是危害我国人民健康最常见的心血管疾病之一,它是动脉粥样硬化、冠心病及脑卒中的主要危险因素,可以导致不可逆转的心血管重构。肾素血管紧张素醛固酮系统(renin angiotensin

aldosterone system, RAAS) 过度激活是高血压的发病机制之一。血管紧张素 II (angiotensin II, Ang II) 作为循环和局部主要的效应分子, 在高血压的发展和维持上起着重要作用^[1,2]。血管紧张素转换酶抑制剂 (angiotensin converting enzyme inhibitor, ACEI) 雷米普利, Ang II 受体拮抗剂替米沙坦, 以及选择性醛固酮受体拮抗剂依普利酮是目前临床常用的新型降压药。每种药物均有各自的优势, 单用任何一种抗高血压的效果相似, 联用后可能产生叠加效应, 但副作用也可能加倍^[3]。

近年来, 缝隙连接蛋白 43 (connexin 43, Cx43) 正逐渐引起人们的重视, 它是心肌细胞间缝隙连接的主要蛋白成分, 对细胞间信息传导、细胞生长、分化及维持心肌节律性同步收缩有重要意义^[4-8]。研究表明, 心脏 Cx43 含量的改变与高血压引起的心室重构有密切联系^[9]。针对 RAAS 的降压药有可能通过影响 Cx43 的表达改善高血压引起的心室重构。本研究在自发性高血压大鼠中, 研究上述 3 类抗高血压药物单用或联用的心肌保护作用以及对 Cx43 mRNA 和蛋白表达的影响。

1 材料与方法

1.1 试剂与仪器

雷米普利、替米沙坦、依普利酮原料药, 武汉富驰生物有限公司。一抗兔抗大鼠多克隆抗体、二抗羊抗兔抗体, 武汉博士德生物有限公司。辣根过氧化物酶羊抗兔 IgG 抗体, 美国 Jackson 公司。透射电子显微镜 H-500 型, 日本日立公司产品。病理组织切片机, Leitz 1512, 德国 Leitz 公司产品。鼠尾动脉血压心率测定仪, 日本 Softron Co Ltd 公司研制。7170A 全自动生化分析仪, 日本日立公司。凝胶自动成像及分析系统 Chemi Imager 5500, 美国 Alpha Innotech 公司产品。

1.2 实验动物和分组

8 周雄性、体质量约 200 g 的自发性高血压大鼠购自北京维通利华实验动物技术有限公司, 动物合格证号: 0157712。分为高血压组、雷米普利组、替米沙坦组、依普利酮组、雷米普利+替米沙坦组、雷米普利+依普利酮组、依普利酮+替米沙坦组, 每组 10 只, 自由取食及饮水, 适应性喂养 1 周后开始实验。各组给药剂量分别为, 雷米普利组 2.5 mg/(kg·d), 替米沙坦组 10 mg/(kg·d), 依普利酮 100 mg/(kg·d), 联合组取半量, 混合于少量蒸馏水灌胃治疗, 对照组取同周龄、同体质量 Wistar 大

鼠, 取同体积蒸馏水灌胃, 疗程 8 周, 每周测体质量, 根据体质量调整药量, 联合用药取半量。

1.3 大鼠尾动脉压测量

所有大鼠于给药前、首次给药后第 4 周末和第 8 周末时各测量 1 次, 每只大鼠每次测量 3 遍, 取平均值计算收缩压和舒张压, 应用血压测量系统软件读取血压数值。

1.4 Ang II、心肌组织结构及心肌纤维化测定

8 周后所有大鼠均腹腔注射 5 mL/kg 体质量的水合氯醛活体麻醉, 处死动物, 取腹主动脉血 2 mL, 注入预先冷却的抗凝管中摇匀, 4 ℃, 离心 5 min, 分离血浆, 置于 -10 ℃ 冰箱保存待测。血浆 Ang II 浓度检测采用放射免疫法, 按试剂盒 (购自武汉博士德生物技术有限公司) 说明书进行。后取出心脏, 测量左心室质量及左心室质量/体质量。同时, 将一半左心室组织置于 40 g/L 中性甲醛液中固定, 经石蜡包埋后, 取心脏冠状面最大横径处切片, 连续切片 3 张, 切片厚 4 μm, 用于 HE 染色, 以观察组织的大致形态和心肌细胞走向, 及心肌纤维化、细胞形态学及炎细胞浸润情况。

1.5 Western blot 测定 Cx43 蛋白的表达

大鼠处死后, 取左室心肌组织置于玻璃匀浆器中, 加入裂解缓冲液, 4 ℃ 下手工碾磨。而后 4 ℃、14 000×g 下离心 15 min, 取上清液。对提取的蛋白质进行总蛋白含量测定, 制胶, 制备蛋白质样品并加样, 免疫印迹显色, 烘干保存硝酸纤维素滤膜或摄影, 图像分析仪测定目的蛋白与内参 β-actin 吸光度 (A) 值的比值作为目的蛋白的相对表达量。

1.6 RT-PCR 测定 Cx43 基因的表达

大鼠处死后, 取左室心肌组织置于 -80 ℃, 检测时采用 Trizol 提取总 RNA, 而后逆转录为 cDNA。以 cDNA 为模板, 进行 PCR 反应, 扩增靶基因和内参。参照 GenBank 设计并合成引物^[7]。引物序列为: Cx43, 5'-TGGGTTTCAGCTTGAGCGCG-3', 3'-GGCGAGAGTGGAGCCGTTGG-3', 扩增序列长度为 588 bp; β-actin, 5'-CACGGCA TTGTAACCAACTG-3', 3'-TCTCAGCTGTG GTGGTGAAG-3', 扩增序列长度为 400 bp。PCR 反应条件为: 94 ℃ 预变性 2 min, 94 ℃ 30 s, 55 ℃ 30 s, 72 ℃ 45 s, 循环 35 次, 最后 72 ℃ 延伸 5 min。电泳及图像扫描及定量分析。测目的基因与 β-actin 的 RT-PCR 产物电泳带的光密度 (OD) 值比。

1.7 统计学方法

各组数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示。各组间血压水平比

较采用重复测量资料的方差分析,各组间计量资料比较采用析因设计资料的方差分析,健康 Wistar 大鼠和 SHR 比较采用 t 检验, $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 各组大鼠血压水平的比较

分别于给药前、首次给药后第 4 周末和第 8 周末测量大鼠尾动脉压,与 Wistar 大鼠相比,SHR 尾动脉压升高($P<0.001$);与 SHR 相比,其他药物干预组大鼠尾动脉压均有降低($P<0.05$);其中,4 周时,依普利酮组血压下降最明显,但与其他联合用药组比较差异均无统计学意义;8 周时替米沙坦+依普利酮组大鼠的尾动脉压与 SHR 相比降低最明显($P<0.01$)。8 周时替米沙坦+依普利酮组与两种

药物单独用药组相比下降($P<0.05$),说明两种药物存在协同降压作用。见表 1。

2.2 Ang II 和心肌组织结构的测定

与 Wistar 相比,SHR 血浆 Ang II 水平、左心室质量及左心室质量/体质量均升高(P 均 <0.001);与 SHR 相比,药物干预组大鼠血浆 Ang II 水平、左心室质量及左心室质量/体质量均降低(P 均 <0.05);其中,雷米普利+依普利酮组与替米沙坦+依普利酮组大鼠降低最明显,但这两个联合用药组间差异无统计学意义。相对于替米沙坦组和依普利酮组相比,替米沙坦+依普利酮组的 Ang II、左心室质量和左心室质量/体质量均下降(P 均 <0.05),说明两者之间存在协同保护作用。见表 2。

2.3 心肌纤维化程度的改变

表 1 饲养不同时间各组大鼠血压水平(mmHg, $n=10$)

Table 1 Blood pressure of rats in different groups at different time points (mmHg, $n=10$)

Group	n	0 week	4 week	8 week
Wistar	10	124.3±7.4	136.7±4.2	126.3±6.1
SHR	10	172.7±2.5*	187.7±1.5*	192.7±2.5*
Ramipril	10	172.0±2.0*	182.0±2.0*·#	187.3±2.1*·#
Telmisartan	10	172.7±2.5*	181.7±2.1*·#	185.3±2.1*·#·▲
Eplerenone	10	172.7±2.5*	179.7±2.5*·#	183.3±2.1*·#·▲
Ramipril+eplerenone	10	172.3±1.5*	181.0±1.0*·#	185.3±2.5*·#
Telmisartan+eplerenone	10	175.0±2.0*	183.3±0.6*·Δ	180.3±1.5*·Δ
Ramipril+telmisartan	10	172.3±1.5*	183.7±3.8*·#	187.0±2.6*·#

* $P<0.001$, vs. Wistar group; # $P<0.05$, $\Delta P<0.01$, vs. SHR group; ▲ $P<0.05$, vs. telmisartan+eplerenone group. 1 mmHg=0.1333 kPa

表 2 血浆 Ang II 浓度和心肌组织结构的测定

Table 2 Plasma Ang II concentration and myocardial structure

Group	n	Ang II (ng/L)	Left ventricle mass (g)	Left ventricle mass/body mass (mg/g)
Wistar	10	255.9±28.9	1.13±0.06	2.37±0.22
SHR	10	406.8±3.5*	1.91±0.04*	3.75±0.29*
Ramipril	10	398.0±2.6*·#	1.76±0.04*·#	3.28±0.09*·#
Telmisartan	10	399.4±3.1*·#·▲	1.73±0.03*·#·▲	3.30±0.06*·#·▲
Eplerenone	10	393.1±6.0*·#·▲	1.79±0.03*·#·▲	3.23±0.03*·#·▲
Ramipril+eplerenone	10	372.3±3.5*·#	1.54±0.04*·#	3.17±0.03*·#
Telmisartan+eplerenone	10	322.0±13.3*·#	1.51±0.03*·Δ	3.19±0.02*·Δ
Ramipril+telmisartan	10	397.7±2.0*·#	1.61±0.08*·#	3.22±0.07*·#

* $P<0.001$, vs. Wistar group; # $P<0.05$, $\Delta P<0.01$, vs. SHR group; ▲ $P<0.05$, vs. telmisartan+eplerenone group. 1 mmHg=0.1333 kPa

健康 Wistar 大鼠可见心肌细胞形态正常,肌纤维排列致密、整齐,间质成纤维细胞数量、形态正常,无显著病理改变(图 1A);SHR 可见心肌纤维排列疏松,间质成纤维细胞显著增生,胶原纤维增生、变粗,并且将心肌细胞分割呈网筛状,可见少量炎性细胞浸润(图 1B);雷米普利治疗组大鼠与 SHR 比较可见心肌胶原成分有所减少,排列仍不规律(图 1C);替米沙坦治疗组大鼠与 SHR 比较可见心肌胶

原纤维数量减少,增生程度减轻(图 1D);依普利酮治疗组大鼠与 SHR 比较可见心肌胶原成分明显减少,排列较为规则(图 1E);雷米普利+依普利酮治疗组大鼠与 SHR 比较可见心肌纤维化程度显著减轻,心肌细胞排列较为规整(图 1F);替米沙坦+依普利酮治疗组大鼠与 SHR 比较可见心肌胶原成分非常少,且排列规律,类似于健康 Wistar 大鼠心肌(图 1G);雷米普利+替米沙坦治疗组大鼠与 SHR

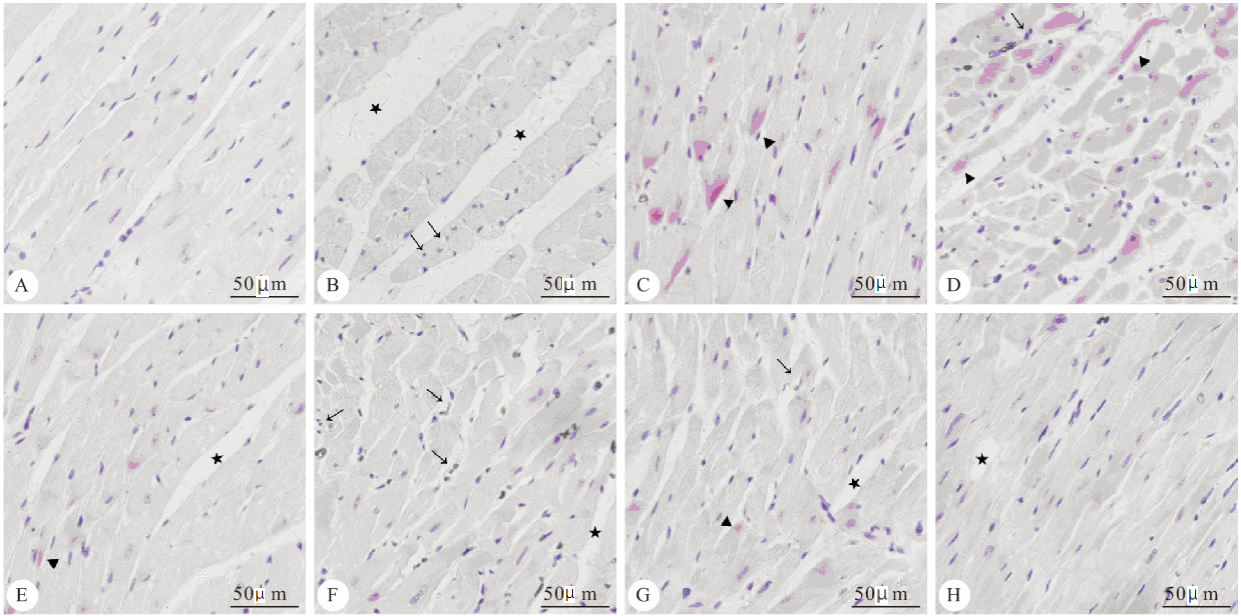


图 1 SHR 经不同 RAAS 拮抗剂治疗后心肌 HE 染色显示纤维化的改变。×400

Fig 1 Myocardial fibrosis in rats of different groups after RAAS antagonist treatment. HE ×400

A: Wistar group; B: Spontaneously hypertensive rat group; C: Ramipril group; D: Telmisartan group; E: Eplerenone group; F: Ramipril + eplerenone group; G: Telmisartan + eplerenone group; H: Ramipril + telmisartan group. ★Loose and fractured myocardial fibers; ▲Hyperplasia of collagen; →Infiltration of inflammatory cells

比较可见心肌胶原成分减少,但与健康 Wistar 大鼠相比仍存在纤维化的病理改变(图 1H)。

2.4 心肌缝隙连接蛋白 Cx43 mRNA 及蛋白表达

结果见图 2、图 3。与健康 Wistar 组相比,SHR

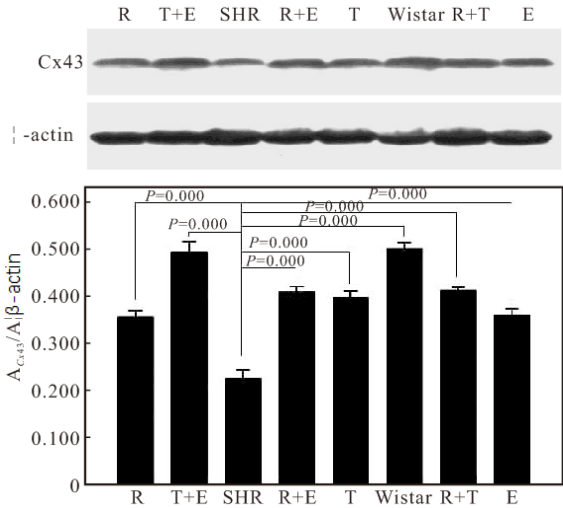


图 2 Cx43 蛋白的表达

Fig 2 Protein expression of Cx43

T: Telmisartan group; R: Ramipril group; E: Eplerenone group; SHR: Spontaneously hypertensive rat group; R + E: Ramipril + eplerenone group; R + T: Ramipril + telmisartan group; T + E: Telmisartan + eplerenone group; Wistar: Wistar group

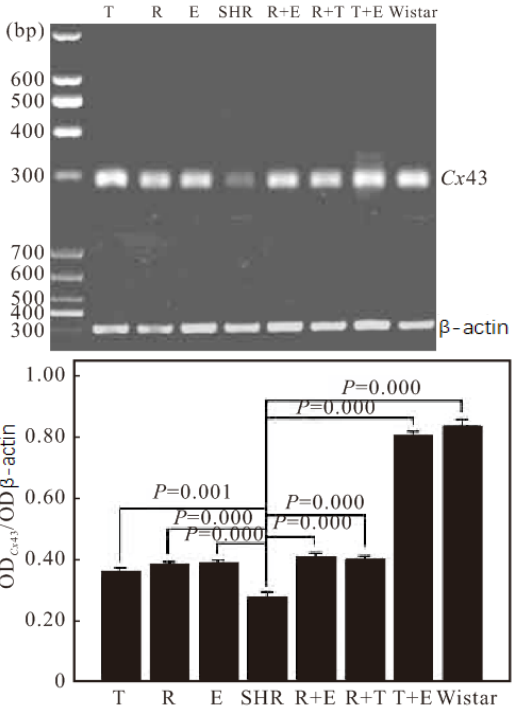


图 3 Cx43 mRNA 的表达

Fig 3 mRNA expression of Cx43

R,T+E,SHR,R+E,T,Wistar,R+T,E: Denotes the same as those in Fig 2

组 Cx43 mRNA 及蛋白表达减少($P<0.001$)。给予 RAAS 拮抗剂治疗后 Cx43 mRNA 及蛋白表达有不同程度的恢复($P<0.01$),其中以替米沙坦+依普利

酮处理组 Cx43 mRNA 及蛋白表达升高最明显。

3 讨论

高血压是各种心血管事件如脑卒中、心肌梗死、心脏猝死等独立的危险因素,靶器官结构与功能的改变是导致心血管事件增加的主要病理因素。RAAS 激活是高血压发病的重要环节,血管紧张素的增加是高血压发病的关键,而血管平滑肌舒缩依赖细胞间的信号物质进行调节。研究表明,构成细胞间缝隙连接的连接蛋白表达的变化即重构和高血压有着密切的关系。细胞缝隙连接(gap junction, GJ)通道是细胞之间实现电偶联及化学信息交换的重要结构基础,而连接蛋白 Cx43 是构成心肌缝隙连接通道的主要连接蛋白^[10],它是心肌损伤时最易降解的结构蛋白之一,Cx43 表达和分布的异常可引起一系列心脏的改变。Cx43 在数量、分布等方面发生改变是心室重塑及室性心律失常发生的分子解剖学基础。动物实验发现,肾性高血压动物模型中 Cx43 表达显著增加。在 Cx43 基因被替代大鼠中,血浆肾素水平下降,而且结扎大鼠一侧肾动脉并没有形成高血压,证实 Cx43 在调节肾素分泌方面起着重要作用^[11]。而应用临界高血压和自发性高血压模型结合免疫荧光、Western blot 等多种技术证实高血压早期,Cx43 表达开始下调并通过影响缝隙连接间通讯促进高血压的发生^[12]。Sun 等^[14]研究表明氯沙坦具有上调大鼠心室梗死后 Cx43 表达的作用。

在本研究中,我们选择了 3 种不同作用靶点的 RAAS 系统拮抗剂,即血管紧张素转换酶抑制剂雷米普利,Ang II 受体拮抗剂替米沙坦,以及选择性醛固酮受体拮抗剂依普利酮,观察单用或两两联合应用对 SHR 血压、血浆 Ang II 水平、左心室肥大、心肌纤维化以及大鼠心肌组织 Cx43 mRNA 和蛋白表达水平的影响。本研究发现,随着时间的延长,SHR 血压逐渐升高,并出现典型高血压心脏的病理变化和左心室肥大的证据,血浆中 Ang II 水平也显著高于正常健康大鼠。单用雷米普利、替米沙坦或依普利酮不同程度的降低 SHR 大鼠血压,降低血浆 Ang II 水平,改善左心室肥大和心肌纤维化程度,恢复 Cx43 mRNA 和蛋白表达。有关血管紧张素 II 受体拮抗剂(ARB)治疗高血压后 Ang II 的变化,存在分歧。有研究显示 Ang II 不变^[15],而其他研究发现 Ang II 下降^[16]。至于 ARB 治疗后 Ang II 下降的原因,研究者认为主要有二点:血管紧张素原

下降;血管紧张素的代谢增加。

进一步联合用药后发现,SHR 血压和血浆 Ang II 水平的降低更为显著,同时左心室肥大情况得到显著改善,心脏组织中 Cx43 mRNA 和蛋白水平显著升高。统计学分析显示,替米沙坦和依普利酮具有协同作用,显著降低 SHR 的血压、血浆 Ang II 及抑制左心室肥大和心肌纤维化,同时大鼠心脏组织 Cx43 mRNA 和蛋白表达得到最大程度恢复。Cx43 表达的恢复对于维持心肌正常工作,使心脏各部分协调运动,改善高血压心脏的功能方面可能具有重要作用。替米沙坦和依普利酮在恢复 Cx43 表达方面,可能通过磷酸化丝/苏氨酸蛋白激酶,促进 Cx43 合成增加,但其具体分子机制尚不清楚,有待进一步研究。

参 考 文 献

- 1 Gray MO, Long CS, Kalinyak JE, *et al.* Angiotensin II stimulates cardiac myocyte hypertrophy via paracrine release of TGF-beta 1 and endothelin-1 from fibroblasts. *Cardiovasc Res*, 1998;40(2):352-363.
- 2 Sil P, Sen S. Angiotensin II and myocyte growth: role of fibroblasts. *Hypertension*, 1997;30(2 Pt 1):209-216.
- 3 ONTARGET Investigators, Yusuf S, Teo KK, *et al.* Telmisartan, ramipril, or both in patients at high risk for vascular events. *N Engl J Med*, 2008;358(15):1547-1559.
- 4 Cruciani V, Mikalsen SO. Connexins, gap junctional intercellular communication and kinases. *Biol Cell*, 2002;94(7-8):433-443.
- 5 Boengler K, Dodoni G, Rodriguez-Sinovas A, *et al.* Connexin 43 in cardiomyocyte mitochondria and its increase by ischemic preconditioning. *Cardiovasc Res*, 2005;67(2):234-244.
- 6 Peters NS, Green CR, Poole-Wilson PA, *et al.* Cardiac arrhythmogenesis and the gap junction. *J Mol Cell Cardiol*, 1995;27(1):37-44.
- 7 Beardslee MA, Lerner DL, Tadros PN, *et al.* Dephosphorylation and intracellular redistribution of ventricular connexin43 during electrical uncoupling induced by ischemia. *Circ Res*, 2000;87(8):656-662.
- 8 Guo R, Liu L, Barajas L. RT-PCR study of the distribution of connexin 43 mRNA in the glomerulus and renal tubular segments. *Am J Physiol*, 1998;275(2 Pt 2):R439-R447.
- 9 Traub O, Eckert R, Lichtenberg-Fraté H, *et al.* Immunochemical and electrophysiological characterization of murine connexin40 and -43 in mouse tissues and transfected human cells. *Eur J Cell Biol*, 1994;64(1):101-112.
- 10 Söhl G, Willecke K. Gap junctions and the connexin protein family. *Cardiovasc Res*, 2004;62(2):228-232.
- 11 Haefliger JA, Meda P. Chronic hypertension alters the expression of Cx43 in cardiovascular muscle cells. *Braz J Med Biol Res*, 2000;33(4):431-438.

(下转第 549 页)

CA Cancer J Clin,2011;61(2):69-90.

2 吴孟超. 肝癌外科治疗的近期进展. 中国普外基础与临床杂志,2006;13(2):125-128.

3 廖娟, 王春晖, 李肖等. 经导管肝动脉化疗栓塞术对原发性肝癌患者细胞免疫及调节 T 细胞的影响. 肝脏,2011;16(3):198-201.

4 Hossain MA, Kim DH, Jang JY, *et al.* Aspirin induces apoptosis *in vitro* and inhibits tumor growth of human hepatocellular carcinoma cells in a nude mouse xenograft model. In J Oncol,2012;40(4):1298-1304.

5 刘纯伦, 唐承薇, 周旭春. 奥曲肽联合罗非昔布增强对肝癌生长的抑制作用. 中华内科杂志,2003;42(5):313-315.

6 Morita Y, Hata K, Nakanishi M, *et al.* Cyclooxygenase-2 promotes tumor lymphangiogenesis and lymph node metastasis in oral squamous cell carcinoma. Int J Oncol,2012;41(3):885-892.

7 Al-Wadei HA, Al-Wadei MH, Ullah MF, *et al.* Celecoxib and GABA cooperatively prevent the progression of pancreatic cancer in vitro and in xenograft models of stress-free and stress-exposed mice. PLoS One,2012;7(8):e43376.

8 Liu H, Yang Y, Xiao J, *et al.* COX-2-mediated regulation of VEGF-C in association with lymphangiogenesis and lymph node metastasis in lung cancer. Anat Rec (Hoboken), 2010; 293(11):1838-1846.

9 Almhanna K, El-Rayes B, Sethi S,*et al.* Association between COX-2 expression and effectiveness of COX-2 inhibitors in a phase II trial in patients with metastatic colorectal adenocarcinoma. Anticancer Res,2012;32(8):3559-3563.

10 Kalim KW, Groettrup M. Prostaglandin E₂ inhibits IL-23 and IL-12 production by human monocytes through down-regulation of their common p40 subunit. Mol Immunol,2013; 53(3):274-282.

11 Patel S, Vetale S, Teli P, *et al.* IL-10 production in non-small cell lung carcinoma patients is regulated by ERK, P38 and COX-2. J Cell Mol Med,2012;16(3):531-144.

12 Stolina M, Sharma S, Lin Y, *et al.* Specific inhibition of cyclooxygenase 2 restores antitumor reactivity by altering the balance of IL-10 and IL-12 synthesis. J Immunol,2000;164(1):361-370.

13 Maruyama T, Kono K, Mizukami Y, *et al.* Distribution of Th17 cells and FoxP3 (+) regulatory T cells in tumor-infiltrating lymphocytes, tumor-draining lymph nodes and peripheral blood lymphocytes in patients with gastric cancer. Cancer Sci,2010;101(9):1947-1954.

14 Correale P, Rotundo MS, Del Vecchio MT, *et al.* Regulatory (FoxP3+) T-cell tumor infiltration is a favorable prognostic factor in advanced colon cancer patients undergoing chemo or chemoimmunotherapy. J Immunother,2010;33(4):435-441.

15 Yan M, Jene N, Byrne D, *et al.* Recruitment of regulatory T cells is correlated with hypoxia-induced CXCR4 expression, and is associated with poor prognosis in basal-like breast cancers. Breast Cancer Res,2011;13(2):R47.

16 Morita R, Hirohashi Y, Sato N. Depletion of Tregs *in vivo*: a promising approach to enhance antitumor immunity without autoimmunity. Immunotherapy,2012;4(11):1103-1105.

17 Ramos RN, Oliveira CE, Gasparoto TH, *et al.* CD25⁺ T cell depletion impairs murine squamous cell carcinoma development via modulation of antitumor immune responses. Carcinogenesis,2012;33(4):902-929.

18 Baratelli F, Lin Y, Zhu L, *et al.* Prostaglandin E₂ induces foxp3 gene expression and T regulatory cell function in human CD4⁺ T cell. J Immunol,2005;175(3):1483-1490.

(2012-12-12 收稿,2013-04-10 修回)

编辑 吕熙

(上接第 535 页)

12 Dlugosová K, Mitasíková M, Bernátová I, *et al.* Reduced connexin-43 expression in the aorta of prehypertensive rats. Physiol Res,2008;57(Suppl 2):S23-S29.

13 Li WE, Nagy JL. Connexin43 phosphorylation state and intercellular communication in cultured astrocytes following hypoxia and protein phosphatase inhibition. Eur J Neurosci, 2000;12(7):2644-2650.

14 Sun CK, Chang LT, Sheu JJ, *et al.* Losartan preserves integrity of cardiac gap junctions and PGC-1 alpha gene expression and prevents cellular apoptosis in remote area of left ventricular myocardium following acute myocardial infarction. Int Heart J,2007;48(4):533-546.

15 Aoki A, Ogawa T, Sumino H, *et al.* Long-term effects of telmisartan on blood pressure, the renin-angiotensin-aldosterone system, and lipids in hypertensive patients. Heart Vessels,2010;25(3):195-202.

16 Ichikawa S, Takayama Y. Long-term effects of olmesartan, an Ang II receptor antagonist, on blood pressure and the renin-angiotensin-aldosterone system in hypertensive patients. Hypertens Res,2001;24(6):641-646.

(2012-12-26 收稿,2013-04-22 修回)

编辑 余琳