

· 论 著 ·

小鼠自身免疫性心肌炎 CXCR3 的表达及染料木黄酮的干预作用

王 蕾, 唐其柱[△], 周 恒, 田 青, 甘文云
(武汉大学人民医院心血管内科 430060)

摘要:目的 探讨小鼠自身免疫性心肌炎中 CXCR3 的表达变化及其拮抗剂(染料木黄酮)的干预作用。方法 选择 6~8 周龄 Balb/c 雄性小鼠 64 只, 其中正常小鼠 16 只(A 组), 其余小鼠于第 0 天和第 7 天注射提纯的猪心肌球蛋白建立实验性自身免疫性心肌炎模型, 免疫后随机分为 3 组: 心肌炎模型组(B 组)、溶剂二甲基亚砷 DMSO 组(C 组)和染料木黄酮干预组(D 组), 各组均为 16 只。分别于初次免疫后 14、21d 随机处死各组小鼠 8 只, 取材检测相关指标。光镜下观察 HE 染色的炎症情况, 用间接 ELISA 法检测小鼠血清中肌钙蛋白 I(cTnI)水平, 用免疫组化和 RT-PCR 检测小鼠心肌组织中 CXCR3 蛋白和 mRNA 表达变化。通过 HE 染色的炎症情况和血清中 cTnI 水平评估模型效果, 但这两个指标也可以反映 CXCR3 表达与炎症的关系以及各组心肌炎症损害程度。结果 初次免疫后 14d, B 组炎症评分、cTnI 水平、心肌组织中 CXCR3 蛋白和 mRNA 表达量均明显高于其他各组($P < 0.05$), D 组较 B 组炎症和心肌细胞损害程度减轻($P < 0.05$), C 组与 B 组无差异。21d 时 B 组炎症浸润和心肌细胞的损害较 14d 时更为明显($P < 0.01$), D 组却较 14d 时减轻($P < 0.05$)。结论 实验性自身免疫性心肌炎小鼠心脏 CXCR3 蛋白和 mRNA 表达上调, 染料木黄酮拮抗 CXCR3 信号转导通路后心肌炎症减轻, 提示 CXCR3 信号途径可能参与了实验性自身免疫性心肌炎小鼠的心肌炎症过程。

关键词: 实验性自身免疫性心肌炎; CXCR3; 染料木黄酮; 心肌肌球蛋白

中图分类号: R365.593; R542.21

文献标识码: A

文章编号: 1671-8348(2010)04-0407-04

Changes of Expression of CXCR3 in autoimmune myocarditis in mice and the interfering effect of Genistein

WANG Lei, TANG Qi-zhu[△], ZHOU Heng, et al.

(Cardiovascular Research Institute, Renmin Hospital of Wuhan University, Wuhan 430060, China)

Abstract: Objective To observe the changes of expression of CXCR3 in autoimmune myocarditis in mice and the interfering effect of Genistein. **Methods** There were 64 6~8-week-old Balb/c male mice in all. And 16 normal mice were selected as the control group (group A). The remaining mice, which were immunized with purified cardiac myosin of pigs' heart on day 0 and day 7 to set up experimental autoimmune myocarditis models, were randomly divided into three groups: the model group (group B), the DMSO group (group C) and genistein intervention group (group D). And there were 16 mice in each group. Eight mice in each group were randomly killed separately on day 14 and day 21 after the initial immunization to obtain the materials. Then we observed the inflammatory situation in HE staining under a light microscope and detected the level of the serum troponin I (cTnI) by indirect ELISA assay. What's more, we used the immunohistochemistry and RT-PCR to detect the changes of the expression of CXCR3 protein and mRNA in myocardial tissue of mice. **Results** Compared with the control group, the inflammation score, the levels of cTnI, CXCR3 protein and mRNA expression in myocardial tissue of the model group were significantly higher than other groups on the day 14 after initial immunization ($P < 0.05$). Inflammation and the damage of myocardial cell in the Genistein intervention group alleviated compared with those in the model group ($P < 0.05$). And the DMSO group had no difference with the model group. The inflammatory infiltration and myocardial cell damage were even more evident in the model group on the day 21 than those on the day 14 ($P < 0.01$). And compared with those on the day 14, they reduced in the genistein intervention group on the day 21 ($P < 0.05$). **Conclusion** CXCR3 protein and mRNA upregulate in the heart of experimental autoimmune myocarditis mice. And antagonizing the signal transduction by CXCR3 with Genistein can alleviate inflammatory situation in myocardium. It suggests that signaling pathways of CXCR3 may be involved in the process of myocarditis in the experimental autoimmune myocarditis in mice.

Key words: experimental autoimmune myocarditis; CXCR3; genistein; cardiac myosin

CXCR3 是一种趋化因子受体, CD 命名为 CD183, 主要表达于激活的 T 细胞(尤其是 Th1 细胞)、CD45RO⁺ 记忆 T 细胞和 NK 细胞表面, 在 B 细胞表面也有表达^[1]。CXCR3 主要介导 Th1 型炎症反应, 其高表达是淋巴细胞发生定向迁移和募集的重要条件, 在炎症浸润、细胞迁移、移植排斥反应、血管形成和某些肿瘤的发生中都起重要作用^[2-3]。CXCR3 为与 G 蛋白偶联的跨膜蛋白, 染料木黄酮(genistein, Gen)作为一种酪氨酸蛋白激酶(protein tyrosine kinase, PTK)抑制剂, 可阻断其信号转导通路而抑制其活性。近年来国内外学者对 CXCR3 在

多种自身免疫性疾病(autoimmune disease, AID)中的作用做了大量研究, 到目前为止尚少见关于自身免疫性心肌炎与 CXCR3 表达变化及 Gen 干预作用的文献报道。Mason^[4] 研究证实心肌炎是扩张型心肌病的前驱, 多种细胞因子异常引起的机体免疫失衡是心肌炎发展成扩张型心肌病的主要机制。本文拟通过建立实验性自身免疫性心肌炎(experimental autoimmune myocarditis, EAM)小鼠模型, 检测小鼠心肌组织中 CXCR3 蛋白和 mRNA 表达变化, 探讨其是否参与了自身免疫性心肌炎的病理生理过程, 进一步探索扩张型心肌病的发病机制

[△] 通讯作者, E-mail: qizhut@yahoo.com.cn。

及免疫治疗靶点。

1 材料与方 法

1.1 材料 购买湖北省疾控中心 6~8 周龄 Balb/c 雄性小鼠 64 只,体重(20±2)g〔动物合格证号:SCXK(鄂) 2003-0005〕,饲养于武汉大学人民医院动物实验中心 SPF 级动物室〔使用许可证号:SYXK(鄂) 2004-0027〕。猪心肌肌球蛋白由本实验室提取鉴定。主要实验试剂为羊抗小鼠 CXCR3 多克隆抗体(SANTA CRUZ)、Gen(Cayman)、二甲基亚砷 DMSO(Amresco)、完全弗氏佐剂 CFA(Sigma)、小鼠肌钙蛋白 I ELISA 检测试剂盒(Adlitteram Diagnostic Laboratories)等,其他化学试剂为市售分析纯。PCR 引物序列由上海生工生物技术服务有限公司设计及合成。

1.2 实验方法

1.2.1 实验分组 将 64 只小鼠随机分为 4 组:正常对照组(A 组)、心肌炎模型组(B 组)、溶剂二甲基亚砷 DMSO 组(C 组)和 Gen 干预组(D 组),各组均为 16 只小鼠,组间个体质量差别无统计学意义($P>0.05$)。

1.2.2 建立 EAM 小鼠模型 参照 Murakami 等^[5]的方法制备心肌肌球蛋白。通过差速离心和分级饱和硫酸铵沉淀法从猪心室肌中提取心肌肌球蛋白,并应用离子交换层析法纯化初提的肌球蛋白。按照 Wolfgram 等^[6]和 Neu 等^[7]的方法构建自身免疫性心肌炎模型,具体方法如下:将提纯的肌球蛋白溶于 0.15mol/L PBS 溶液中,调整浓度至 3g/L,将其与等体积完全弗氏佐剂混合研磨成乳浊液,B、C、D 组分别于第 0 天和第 7 天注射乳浊液进行小鼠免疫,按每只 0.2mL 剂量注射至小鼠双侧腹股沟、腋部皮下及足垫皮下,每只小鼠注射肌球蛋白量为 0.3mg。A 组仅用等量 PBS 溶液(不含肌球蛋白)与等体积完全弗氏佐剂乳浊液于相同时间在同一位置注射。

1.2.3 Gen 干预 将 Gen 溶于稀释的 DMSO 中,调整浓度为 1.5mg/mL,D 组从初次免疫第 0 天起即每只老鼠腹腔注射 Gen 15mg·kg⁻¹·d⁻¹,C 组注射等量不含药物 DMSO 液,A、B 组同时注射等量生理盐水。

1.2.4 取材 分别于初次免疫后第 14 天和第 21 天取材。每次各组随机选取小鼠 8 只,眼球取血后立即颈椎脱臼处死,迅速取出心脏,沿冠状面纵切心脏,一半放入 10%甲醛溶液中固定,用于病理学检查及免疫组化检测;另一半放入-70℃冰冻保存,用于 RT-PCR 检测。

1.2.5 血清肌钙蛋白 I(cTnI)检测 采用 Bayer 公司 ACS180 型全自动化学发光免疫分析系统,以固相夹心法酶联免疫吸附实验(ELISA)检测小鼠血清中 cTnI 水平。

1.2.6 HE 染色和病理学检查 将 10%甲醛固定后的心肌组织经石蜡包埋、间断切片(厚 4μm)后,常规 HE 染色,于显微镜下观察心肌炎病变情况。心肌炎症评分方法分为 0~4 级:0 分为无炎症细胞浸润;1 分为炎症浸润面积小于 10%;2 分为炎症浸润面积为 10%~25%;3 分为炎症浸润面积为 25%~50%;4 分为炎症浸润大于 50%^[8]。每张图片由专人评分 3 次后取平均值。

1.2.7 心肌组织中 CXCR3 蛋白表达检测 参照 CXCR3 抗体说明书步骤进行免疫组化染色,镜下观察心肌炎病变情况。

1.2.8 心肌组织 CXCR3 mRNA 表达检测 以 Trizol 法提取小鼠心肌组织中总 RNA,用紫外分光光度法测定其含量与纯度。经逆转录生成 cDNA 后,采用 25μL 体系进行 PCR 扩增。以 GAPDH 为内参照,序列为:上游 5'-GAAACCTGCCAAG-TATGATG-3',下游 5'-ACCAGGAAATGAGCTTGAGC-3',

T=55℃,产物长度为 191bp。CXCR3 序列为:上游 5'-GGG-TACGTGTAGCCCTCA-3',下游引物 5'-GGTCCAGCAGACAGCAAA-3',T=62℃,产物长度为 314bp。PCR 条件为 94℃、预变性 3min,94℃、变性 30s,T℃(退火温度)、退火 30s,72℃、延伸 45s,共 35 个循环,最后彻底延伸 72℃、10min。2%琼脂糖凝胶电泳,用计算机凝胶成像系统扫描分析各组 mRNA 表达水平,以目的基因条带与内参照条带的光密度比值表示。

1.3 统计学方法 采用 SPSS13.0 统计软件进行数据统计处理,计量资料数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组间差异比较采用两独立样本 *t* 检验,多组间差异用单向方差分析,均数间多重比较采用 Fisher LSD 检验。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

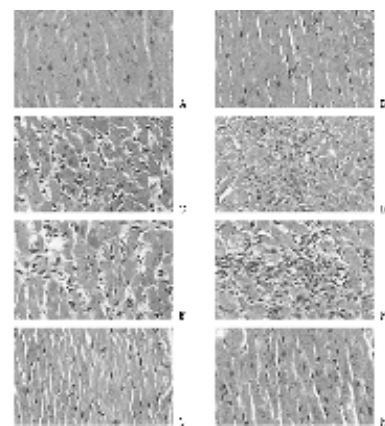
2 结 果

2.1 小鼠血清 cTnI 水平 初次免疫 14、21d 时 B 组 cTnI 水平升高,与其他各组比较,差异有统计学意义($P<0.01$);D 组比 B 组明显降低($P<0.01$),C 组与 D 组无差异;21d 时 B 组 cTnI 水平明显高于 14d($P<0.01$),D 组较 14d 时降低($P<0.05$),见表 1。

表 1 各组小鼠 14、21d 时血清 cTnI 水平与炎症评分情况比较($\bar{x} \pm s$)

组别	cTnI(μg/L)		炎症评分	
	14d	21d	14d	21d
A 组	0.55±0.17*	0.59±0.14 [#]	0	0
B 组	1.65±0.34 [#]	2.98±0.83*	0.71±0.15 [#]	2.62±0.60*
C 组	1.58±0.45	2.83±0.70	0.62±0.12	2.40±0.62
D 组	0.83±0.30*	0.52±0.22 ^{#△}	0.34±0.11*	0.21±0.09 ^{#△}

*:与 14d B 组比较, $P<0.01$;#:与 21d B 组比较, $P<0.01$;△:与 14d D 组比较, $P<0.05$ 。



A: A 组 14d 时;B: A 组 21d 时;C: B 组 14d 时;D: B 组 21d 时;E: C 组 14d 时;F: C 组 21d 时;G: D 组 14d 时;H: D 组 21d 时。

图 1 14、21d 时各组小鼠心肌组织 HE 染色结果(×200)

2.2 HE 染色、病理检查 初次免疫后 14d B 组 8 只(5/8)小鼠心肌出现不同程度损伤,HE 染色见炎症细胞局灶性浸润(主要为淋巴细胞),主要分布在血管周围,心肌细胞肿胀伴颗粒样变性,毛细血管扩张,但心肌细胞结构尚好(图 1C)。初次免疫后 21d B 组 8 只(7/8)小鼠心肌炎症程度进一步加重,伴心肌细胞坏死(图 1D)。C 组与 B 组无差异(图 1E、F),A 组未发现任何病理改变(图 1A、B),D 组小鼠炎症较 B 组明显减轻(图 1G、H)。14、21d B 组炎症评分与其他各组均有差异($P<0.01$),同期 D 组比 B 组炎症评分低($P<0.01$),B 组 21d 比

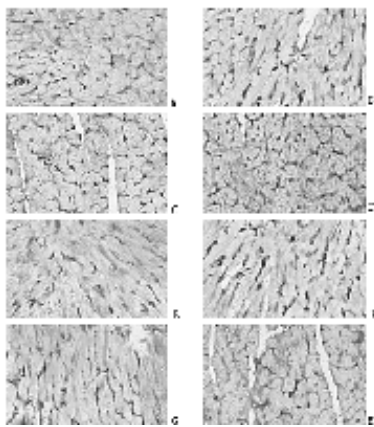
14d 时炎症评分增大 ($P < 0.01$), D 组 21d 比 14d 时炎症评分降低 ($P < 0.05$)。见表 1。

2.3 小鼠心肌组织中 CXCR3 蛋白表达 初次免疫后 14d B 组小鼠心肌组织间质及细胞膜中有不同程度棕黄色颗粒沉淀 (图 2A), 初次免疫后 21d B 组小鼠心肌组织中棕黄色颗粒密度明显高于 14d 时 (图 2B)。D 组比 B 组少, 且 21d 比 14d 时明显减少 (图 2C、D)。C 组与 B 组无差异 (图 2E、F), A 组小鼠心肌组织中表达很少 (图 G、H)。

表 2 各组 CXCR3 和 GAPDH mRNA 的 RT-PCR 检测结果比较 ($\bar{x} \pm s$)

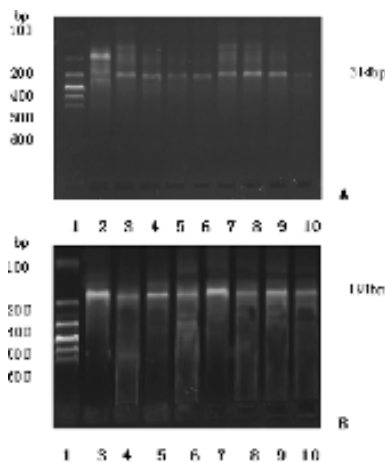
组别	14d	21d
A 组	0.43 ± 0.23*	0.56 ± 0.16 [#]
B 组	1.19 ± 0.31 [#]	1.55 ± 0.31*
C 组	1.03 ± 0.56	1.41 ± 0.57
D 组	0.80 ± 0.30*	0.51 ± 0.11 ^{#△}

*: 与 14d B 组比较, $P < 0.05$; [#]: 与 21d B 组比较, $P < 0.05$; [△]: 与 14d D 组比较, $P < 0.05$ 。



A: B 组 14d 时; B: B 组 21d 时; C: D 组 14d 时; D: D 组 21d 时; E: C 组 14d 时; F: C 组 21d 时; G: A 组 14d 时; H: A 组 21d 时。

图 2 14、21d 时各组小鼠心肌免疫组化变化 ($\times 200$)



1: DNA maker; 2: GAPDH; 3: A 组 14d 时; 4: B 组 14d 时; 5: C 组 14d 时; 6: D 组 14d 时; 7: A 组 21d 时; 8: B 组 21d 时; 9: C 组 21d 时; 10: D 组 21d 时。A: CXCR3 mRNA; B: GAPDH mRNA。

图 3 CXCR3 和 GAPDH mRNA 的 RT-PCR 产物电泳图

2.4 小鼠心肌组织 CXCR3 mRNA 表达 A 组心肌组织中 CXCR3 mRNA 表达很少, 14、21d 时 B 组小鼠心肌组织中 CX-

CR3 mRNA 表达量都明显高于其他各组 ($P < 0.05$), 与 D 组比较, 差异有统计学意义 ($P = 0.025, P = 0.000$); B 组小鼠 21d 时与 14d 时比较, 差异有统计学意义 ($P = 0.037$); D 组 21d 与 14d 时比较, 差异有统计学意义 ($P = 0.032$)。CXCR3 和 GAPDH mRNA 的 RT-PCR 产物电泳图如图 3 所示。目的基因条带与内参照条带的光密度比值见表 2。

3 讨 论

近年来发现 CXCR3 与多种免疫相关性疾病如甲状腺功能亢进、银屑病、类风湿关节炎等密切相关^[9-11]。扩张型心肌病是一种常见的严重危害人类健康的免疫相关性疾病, 作者用猪心肌球蛋白免疫 Balb/c 小鼠, 建立自身免疫性心肌炎小鼠模型, 可模拟扩张型心肌病的发病过程。实验结果显示在自身免疫性心肌炎小鼠模型组心肌组织中 CXCR3 蛋白和 mRNA 表达均高于其他各组, 而 Gen 拮抗 CXCR3 信号转导通路后心肌炎症减轻。同时实验 21d 时 D 组炎症明显减轻, 阻止了心肌炎的慢性进展。实验证明 CXCR3 在心肌炎的发生、发展尤其是急性心肌损害的过程中具有重要作用, 对其慢性迁延至扩张型心肌病的过程也有一定的作用, 而 Gen 可用于治疗心肌炎及阻止其慢性迁延。

自身免疫性心肌炎是一种以 Th1 细胞介导的、主要以细胞免疫反应为主的免疫损伤^[12]。其发病机制可能如下^[13]: 首先接受皮下注射猪心肌球蛋白部位的所属淋巴结, 心肌球蛋白特异性 T 淋巴细胞被激活, 之后, 这种细胞通过淋巴管或血液循环到达心脏, 与具有相同抗原的 (抗原决定部位) 的树突状细胞相遇, 再次被激活。然后, 此种细胞、尤其重要的 CD4⁺ T 细胞, 分泌各种各样的细胞因子 (Cytokine) 介导单核巨噬细胞等引起心肌损伤。有研究表明, CXCR3 是 Th1 类淋巴细胞稳定的特异性标志之一^[14], 在免疫反应过程中, T 细胞过度活化和增殖, 使得 CXCR3 的表达升高。同时, 自身免疫性心肌炎是一种炎性损伤, 本实验中 CXCR3 的表达随着小鼠血清中 cTnI 的水平增高而相应升高, 提示心肌炎症可导致 CXCR3 的升高。通过病理学检查发现 B 组小鼠心肌中有不同程度的炎症反应, 大量淋巴细胞浸润, 心肌细胞肿胀伴颗粒样变性, 甚至坏死。随着心肌组织病理学表现严重程度的加重, CXCR3 的表达也增加, 表明心肌炎症促进 CXCR3 的表达。心肌发生炎症反应时, T 细胞活化增殖, 产生大量的细胞因子 (IFN- γ 、IL-2 等), IFN- γ 可增强 CXCR3 在 T 细胞上的表达, 使得 CXCR3 表达上调。自身免疫性心肌炎通过免疫和炎症反应使得 CXCR3 的表达升高。CXCR3 的表达上调, 提示其可能参与了自身免疫性心肌炎急性病程的发生和发展。CXCR3 对 T 细胞的活化、克隆增殖、产生细胞因子及破坏 T 细胞稳态等都有重要的作用。在此基础上作者推测, CXCR3 可促进 T 细胞活化增殖, 产生大量 IFN- γ 、IL-2 等, 导致心肌炎症。IFN- γ 升高又可诱导 CXCR3 配体的大量产生, CXCR3 与其配体 Mig、IP-10、I-TAC (CXCL9~11) 结合可活化和募集更多的 T 细胞参与心肌炎症反应, 形成免疫应答不断增强和放大的正反馈效应^[15]。同时 CXCR3 的配体 Mig、IP-10、I-TAC 既是 Th1 细胞表面趋化因子受体 CXCR3 的激动剂, 同时又是 Th2 细胞表面趋化因子受体 CCR3 的拮抗剂, 能通过阻断与 CCR3 结合的趋化因子对 Th2 细胞的活化和招募, 从而使 Th1/Th2 平衡继续向 Th1 类炎症反应方向发展^[16], 促进心肌炎进展。

另外, 作者发现初次免疫后 21d 时的 B 组较 14d 时 CXCR3 蛋白和 mRNA 表达量明显增多。分析认为初次免疫后小鼠心肌组织持续发生自身免疫损害, 随着时间延长心肌层中有

越来越多淋巴细胞浸润,伴随自身抗体大量产生,炎症反应逐渐增强,21d 时炎症和免疫反应最为明显。之后进入慢性期,炎症和免疫反应逐渐减轻而心肌纤维化成为病变的重要特征。CXCR3 与炎症及免疫损伤密切相关,随着急性炎症和免疫反应的发展而变化,因此 21d 时 CXCR3 表达量明显增多。

在实验中还发现 D 组 CXCR3 蛋白和 mRNA 表达量减少。Gen 是大豆类植物中主要的异黄酮物质,是一种酪氨酸蛋白激酶抑制剂。其作用机制与 CXCR3 的信号转导密切相关。CXCR3 属于 G 蛋白偶联受体,胞内区与 G 蛋白偶联,产生磷酸化,参与信号传导。其中 RAS/ERK 途径为其主要的活化途径。有研究表明 CXCR3 活化后 Src 首先被激活,后者招募 Ras 并活化 ERK 级联,随后 PI3K 也被激活^[17]。Gen 能竞争性抑制 ATP 结合到 Src 上催化结构域,从而特异性抑制 Src 活性,阻断 CXCR3 信号转导通路而抑制其活化,从而减轻炎症反应及免疫损伤^[18]。同时 Gen 对 T 淋巴细胞的活化和增殖具有抑制作用,具有一定的免疫抑制效应。因此随着 CXCR3 活性被抑制而表达减少,炎症和免疫反应减轻。本实验中 D 组 CXCR3 表达减少,血清中 cTnI 水平较低,病理学变化不明显。作者还发现 D 组初次免疫后 21d 时较 14d 时 CXCR3 蛋白和 mRNA 表达量明显减少,可能是随着时间的延长,药物发挥了相应的药效,血药浓度稳定于治疗浓度,减轻了炎症和免疫反应,有效地控制了病情发展。

本实验证明 CXCR3 在心肌炎发生、发展尤其是急性心肌损害的过程中具有重要作用,对其慢性迁延至扩张型心肌病过程也有一定作用,而 Gen 可用于治疗心肌炎及阻止其慢性迁延,为研究自身免疫性心肌炎及扩张型心肌病的发病机制及治疗方法开辟了新思路。但 CXCR3 在免疫网络中所起的具体作用以及具体的信号转导机制和调节途径,仍有待于进一步的研究阐明。

参考文献:

- [1] Richard H. Chemokine receptors[J]. Cytokine and Growth Factor Reviews,2001,12(4):313.
- [2] Melter M, Exeni A, Reinders ME, et al. Expression of the chemokine receptor CXCR3 and its ligand IP-10 during human cardiac allograft rejection[J]. Circulation, 2001, 104(21):2558.
- [3] Cao Z, Baguley BC, Ching LM. Interferon-inducible protein 10 induction and inhibition of angiogenesis in vivo by the antitumor agent 5,6-dimethylxanthone-4-acetic acid (DMXAA)[J]. Cancer Res,2001,61(4):1517.
- [4] Mason JW. Myocarditis and dilated cardiomyopathy: An inflammatory link[J]. Cardiovascular Research, 2003, 60(1):5.
- [5] Murakami U, Uchida K, Hiratsuka T. Cardiac myosin from pig heart ventricle: purification and enzymatic

properties[J]. J Biochem,1976,80(3):611.

- [6] Wolfgarm LJ, Beisel KW, Herskowitz A, et al. Variations in the susceptibility to coxsackievirus B3-induced myocarditis among different strains of mice[J]. J Immunol,1986, 136(5):1846.
- [7] Neu N, Rose NR, Beisel KW, et al. Cardiac myosin induces myocarditis in genetically predisposed mice[J]. J Immunol,1987,139(11):3630.
- [8] Aretz HT, Billingham ME, Edwards WD, et al. Myocarditis: A histopathologic definition and classification[J]. Am J Cardiovasc Pathol,1987,1(1):3.
- [9] Aust G, Sittig D, Sreiner M, et al. Graves' disease is associated with an altered CXCR3 and CCR5 expression in thyroid-derived compared to peripheral blood lymphocytes[J]. Clin Exp Immunol,2002,127(3):479.
- [10] Rottman JB, Smith TL, Ganley KG, et al. Potential role of the chemokine receptors CXCR3, CCR4, and the integrin α E β 7 in the pathogenesis of psoriasis vulgaris[J]. Lab Invest,2001,81(3):335.
- [11] Wedderburn LR, Robinson N, Patel A, et al. Selective recruitment of polarized T cells expressing CCR5 and CXCR3 to the inflamed joints of children with juvenile idiopathic arthritis[J]. Arthritis Rheum,2000,43(4):765.
- [12] Xie JH, Nomura N, Lu M, et al. Antibody-mediated blockade of the CXCR3 chemokine receptor results in diminished recruitment of T helper 1 cells into sites of inflammation[J]. Journal of Leukocyte Biology,2003,73(6):771.
- [13] 苏哲坦节. 反复发作性自身免疫性心肌炎[J]. 心血管病学进展,1999,20(3):185.
- [14] Sallusto F, Lenig D, Mackay CR, et al. Flexible programmes of chemokine receptor expression on human polarized T helper 1 and 2 lymphocytes[J]. J Exp Med, 1998,187(6):875.
- [15] Ye Q, Fraser CC, Gao W, et al. Modulation of LIGHT-HVEM costimulation Prolongs cardiac allograft survival [J]. J Exp Med,2002,195(6):795.
- [16] 朱仕杰,王春生,杨守国,等. 外周血单个核细胞 CXCR3 mRNA 表达与大鼠心移植急性排斥的关系[J]. 复旦学报(医学版),2006,33(3):363.
- [17] Bonacchi A, Romagnani P, Romanelli RG, et al. Signal transduction by the chemokine receptor CXCR3[J]. J Biological Chemistry,2001,276(13):9945.
- [18] 茆勇军,李海泓,李剑峰,等. 蛋白酪氨酸激酶信号转导途径与抗肿瘤药物[J]. 药学报,2008,43(4):323.

(收稿日期:2009-06-11 修回日期:2009-08-07)

(上接第 406 页)

参考文献:

- [1] 中华人民共和国药典委员会. ISBN 750256524 中国药典(一部)[S]. 北京:化学工业出版社,2005:附录 VI B.

- [2] 中华人民共和国药典委员会. ISBN 750256525 中国药典(二部)[S]. 北京:化学工业出版社,2005:附录 I F (下海林).

(收稿日期:2009-07-06 修回日期:2009-08-15)