

[文章编号] 1000–4718(2010)09–1695–05

# CD4<sup>+</sup> T 淋巴细胞 Kv1.3 通道在大鼠 动脉粥样硬化中的作用\*

李枚娟<sup>1</sup>, 巩燕<sup>2</sup>, 肖国胜<sup>2</sup>, 李桂阳<sup>3</sup>, 王焱<sup>2,Δ</sup>( <sup>1</sup> 厦门大学医学院, <sup>2</sup> 厦门大学附属中山医院心脏中心, 福建 厦门 361000;<sup>3</sup> 福建医科大学, 福建 福州 350108)

**[摘要]** 目的: 探讨大鼠动脉粥样硬化(AS)模型中 CD4<sup>+</sup> T 淋巴细胞电压门控钾通道(Kv) Kv1.3 的表达、功能及其在 AS 中的作用。方法: 采用高脂饮食法建立大鼠动脉粥样硬化模型, 流式细胞术分析淋巴细胞的比例, 采用免疫磁珠法分离 CD4<sup>+</sup> T 淋巴细胞, 研究脾组织 CD4<sup>+</sup> T 淋巴细胞 Kv1.3 mRNA 表达、细胞内钙离子浓度及细胞因子分泌的变化。结果: (1) AS 组脾组织 CD4<sup>+</sup> T 淋巴细胞占总 T 淋巴细胞比例较对照组明显升高 (74.93% ± 2.15% vs 67.80% ± 2.54% *P* < 0.05)。 (2) 经刀豆蛋白 A (ConA) 刺激, AS 组 T 淋巴细胞增殖程度明显高于对照组 (1.1321 ± 0.1750 vs 0.7971 ± 0.0955 *P* < 0.05)。 (3) AS 组脾组织 CD4<sup>+</sup> T 淋巴细胞在 ConA 刺激状态下胞内钙离子浓度明显高于对照组 (*H* = 82, *P* < 0.05)。 (4) AS 组脾组织 CD4<sup>+</sup> T 淋巴细胞在刺激 48 h 后较刺激 24 h 后细胞因子 (IL-2, TNF-α) 分泌显著增加。 (5) AS 组脾组织 CD4<sup>+</sup> T 淋巴细胞 Kv1.3 mRNA 表达明显高于对照组 (3.670 ± 1.579 vs 1)。结论: AS 组脾组织 CD4<sup>+</sup> T 淋巴细胞比例高于对照组, CD4<sup>+</sup> T 淋巴细胞 Kv1.3 mRNA 表达增多, 提示高表达 Kv1.3 的 CD4<sup>+</sup> T 淋巴细胞可能在 AS 的发生发展中发挥重要的作用。

**[关键词]** 动脉粥样硬化; T 淋巴细胞; 钾通道; 电压门控**[中图分类号]** R543.5**[文献标识码]** A

doi: 10.3969/j.issn.1000-4718.2010.09.007

## Role of Kv1.3 channel of CD4<sup>+</sup> T lymphocytes in the formation of atherosclerosis in rat spleen

LI Mei-juan<sup>1</sup>, GONG Yan<sup>2</sup>, XIAO Guo-sheng<sup>2</sup>, LI Gui-yang<sup>3</sup>, WANG Yan<sup>2</sup>( <sup>1</sup> Medical College of Xiamen University, Xiamen 361000, China; <sup>2</sup> Heart Center, Zhongshan Hospital of Xiamen University, Xiamen 361000, China; <sup>3</sup> Fujian Medical University, Fuzhou 350108, China. E-mail: wy@medmail.com.cn)

**[ABSTRACT]** **AIM:** To investigate the function of voltage-gated potassium channel Kv1.3 and its possible role in CD4<sup>+</sup> T lymphocytes in the formation of atherosclerosis (AS) in rat spleen. **METHODS:** The rat atherosclerosis model was established by feeding high-fat diet. The proportion of lymphocytes was determined by flow cytometry. The CD4<sup>+</sup> T lymphocytes were separated using immunomagnetic bead. The mRNA expression of Kv1.3 in CD4<sup>+</sup> T lymphocytes was detected. The concentrations of intracellular calcium and cytokines were also measured. **RESULTS:** (1) The proportion of CD4<sup>+</sup> T lymphocytes in AS group was significantly higher than that in control group (74.93% ± 2.15% vs 67.80% ± 2.54%, *P* < 0.05). (2) After stimulated with concanavalin A (ConA), the proliferation of CD4<sup>+</sup> T lymphocytes in AS group was significantly higher than that in control group (1.1321 ± 0.1750 vs 0.7971 ± 0.0955, *P* < 0.05). (3) After stimulated with ConA, the concentration of intracellular calcium in AS group was higher than that in control group. (4) In AS group, the releases of cytokines of IL-2 and TNF-α in AS group were significantly higher when stimulated with ConA for 48 h than that for 24 h. (5) The mRNA expression of Kv1.3 in CD4<sup>+</sup> T lymphocytes was greatly higher in AS group than that in control group (3.670 ± 1.579 vs 1). **CONCLUSION:** In AS rats, the increase in CD4<sup>+</sup> T lymphocytes as well as the augmentation of Kv1.3 mRNA expression in the cells suggest that up-regulation of Kv1.3 mRNA expression in CD4<sup>+</sup> T lymphocytes may be involved in the mechanism of atherosclerotic formation in rat spleen.

**[KEY WORDS]** Atherosclerosis; T-lymphocytes; Potassium channels; voltage-gated

众多的临床和实验研究表明, T 细胞介导的自身 免疫性疾病中动脉粥样硬化( atherosclerosis, AS) 相

[收稿日期] 2010-01-17 [修回日期] 2010-04-30

\* [基金项目] 国家自然科学基金资助项目( No. 30871045)

Δ 通讯作者 Tel: 0592-2292320; E-mail: wy@medmail.com.cn

关的心血管并发症和死亡率明显增加,支持 T 细胞介导的免疫调节显著促进了此类疾病 AS 的发生和进展<sup>[1,2]</sup>。电压依赖性钾通道(voltage dependent K<sup>+</sup> channel, Kv) 在维持 T 细胞膜静息电位和细胞状态方面有重要作用<sup>[3,4]</sup>,其中 Kv1.3 通道在调节 T 细胞活化的过程中起重要作用<sup>[5,6]</sup>,针对特定的 T 淋巴细胞及其表面分子 Kv1.3 的功能调节可能成为 AS 发病机制和免疫治疗的新靶点。因此,我们应用大鼠的 AS 模型,研究脾组织 CD4<sup>+</sup>T 淋巴细胞膜 Kv1.3 通道表达、胞内钙离子浓度、细胞因子分泌变化三者之间的关系及 Kv1.3 通道在 AS 中的作用。

## 材 料 和 方 法

### 1 材料

**1.1 动物** 采用 4-8 周健康雄性 Wistar 大鼠 40 只,体重(200±12)g,购自中科院上海斯莱克实验动物有限公司。随机分为 2 组,对照组(10 只)采用普通饮食+生理盐水,动脉粥样硬化组(30 只)采用高脂饮食配方(3%胆固醇、0.5%胆酸钠、0.2%丙基硫氧嘧啶、5%白糖、10%猪油、81.3%基础饲料、蛋黄、牛奶)+维生素 D<sub>3</sub> 负荷(喂食开始时一次性腹腔注射维生素 D<sub>3</sub> 6×10<sup>5</sup> U/kg),饲养 16 周,建立 AS 大鼠模型。

**1.2 主要试剂** 总胆固醇试剂盒、甘油三酯试剂盒、低密度脂蛋白胆固醇试剂盒、高密度脂蛋白胆固醇试剂盒(北化康泰公司,北京),淋巴细胞分离液(EZ-Sep<sup>TM</sup> mouse 1×Dakewe 公司,深圳),anti-CD3 单克隆抗体及 mouse IgG3 同型对照抗体(eBio-science),anti-CD4 及 mouse IgG1 同型对照抗体、anti-CD8 单克隆抗体及 mouse IgG1 同型对照抗体(Invitrogen),CD4<sup>+</sup>T 淋巴细胞分选试剂盒 MagCellect Rat CD4<sup>+</sup>T-cell isolation kit(R&D),染料 fluo-3,AM(分子探针)、逆转录试剂盒 RevertAid<sup>TM</sup> first strand cDNA synthesis kit(Fermentas)。

### 2 方法

**2.1 AS 模型鉴定** 大鼠处死后心脏采血,进行血脂测定。并取主动脉弓至髂总动脉全长血管,分别取主动脉起始部、胸主动脉、腹主动脉,用 10% 甲醛溶液固定,做石蜡切片(5 μm)后进行 HE 染色,光镜下观察组织改变。

**2.2 流式细胞仪测定淋巴细胞比例** 大鼠处死后取脾脏,进行淋巴细胞分离:采用 EZ-Sep<sup>TM</sup> mouse 1×淋巴细胞分离液,运用密度梯度离心法获得脾淋巴细胞,并进行流式抗体双标记,按 1×10<sup>9</sup> cells/L 细胞计算所需抗体加入量:anti-CD4 2.5 μL(100 mg/L),

anti-CD8 10 μL(100 mg/L),anti-CD3 1.25 μL(200 mg/L),mouse IgG3 10 μL(10 μL/test),mouse IgG1 10 μL(10 μL/test),通过流式细胞术测定不同淋巴细胞群的数量及比例。

**2.3 CD4<sup>+</sup>T 淋巴细胞磁珠分选(magcollect rat CD4<sup>+</sup>T-cell isolation kit,MACS)及纯度检测** 采用 Mag-Collect rat CD4<sup>+</sup>T-cell isolation kit,分选出 CD4<sup>+</sup>T 淋巴细胞,并取出 1×10<sup>9</sup> cells/L 再次进行 anti-CD4、anti-CD8、anti-CD3,及其同型抗体 mouse IgG3、mouse IgG1 标记,检测 CD4<sup>+</sup>T 淋巴细胞纯度。

**2.4 脾 CD4<sup>+</sup>T 淋巴细胞增殖程度检测** 分别取正常对照组和 AS 组经磁珠分选出的 CD4<sup>+</sup>T 淋巴细胞,加入 10% 进口胎牛 RPMI-1640 培养基,用 96 孔板进行细胞培养,分为不加非特异性刺激剂刀豆蛋白 A 组[concanavalin A, ConA(-)组],及加入 ConA 组[ConA(+)](终浓度为 5 g/L),于 37℃、5% CO<sub>2</sub> 培养箱中培养 48h 后,加入 MTT(终浓度 5 g/L)进行显色反应,4 h 后经 DMSO 终止反应,对其增殖程度进行测定。

**2.5 激光共聚焦(confocal)检测脾 CD4<sup>+</sup>T 淋巴细胞胞内钙离子(Ca<sup>2+</sup>)浓度** 分别取对照组和实验组经磁珠分选出的 CD4<sup>+</sup>T 淋巴细胞 1×10<sup>9</sup> cells/L,用 Fluo-3/AM(5 μmol/L)进行胞内钙离子染色,避光孵育 30 min,经共聚焦显微镜分别检测 2 组脾 CD4<sup>+</sup>T 淋巴细胞胞内钙离子浓度,同时取等量的细胞加入 10% 进口胎牛 RPMI-1640 培养基,并加入 ConA(终浓度为 5 mg/L)及 CaCl<sub>2</sub>(2.0 mmol/L),于 37℃、5% CO<sub>2</sub> 培养箱中进行培养,48 h 后分别将对对照组和实验组经 ConA 和 CaCl<sub>2</sub> 共培养的细胞 1×10<sup>6</sup> 采用同样的方法检测胞内钙离子浓度,并进行刺激前后胞内钙离子浓度的比较。

**2.6 实时定量 RT-PCR 检测正常对照组和 AS 组脾 CD4<sup>+</sup>T 淋巴细胞 Kv1.3 mRNA 的表达量变化** 分别提取 2 组大鼠的脾 CD4<sup>+</sup>T 淋巴细胞总 RNA,采用逆转录试剂盒 RevertAid<sup>TM</sup> first strand cDNA synthesis kit,合成 cDNA 模板。采用 ABI7500 进行实时定量 RT-PCR(qRT-PCR)检测,引物序列如下,Kv1.3 引物:5'-TCGTGTCAGTGCTGGTCATTCTC,3'-TTGGCAGCCTCAAACACGTC; GAPDH 引物:5'-GGCACAGTCAAGGCTGAGAATG,3'-ATGCTGGT-GAAGACGCCAGTA。分别检测 2 组大鼠脾 CD4<sup>+</sup>T 淋巴细胞 Kv1.3 mRNA 的表达量并对其 CT 值及溶解曲线进行分析比较。

### 3 统计学处理

数据用均数±标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示,两组计量资

料比较采用 *t* 检验 ,两组等级资料比较采用秩和检验。所有数据用 SPSS 15.0 软件进行统计学分析。

### 结 果

#### 1 正常组和 AS 组大鼠的主动脉血管病理改变

HE 染色可见 ,对照组内皮细胞连续完整而光滑 ,中膜平滑肌走行清晰 ,中膜血管平滑肌细胞 (vascular smooth muscle cells ,VSMCs) 排列整齐无增生 ,弹力纤维未见异常;AS 组部分内皮细胞脱落 ,中层明显增厚 ,弹力纤维走行异常 ,VSMCs 细胞核排列紊乱。主动脉血管内超声检测 ,可见内膜下脂质沉积 ,动脉管壁钙化 符合 AS 病变特点 ,见图 1。

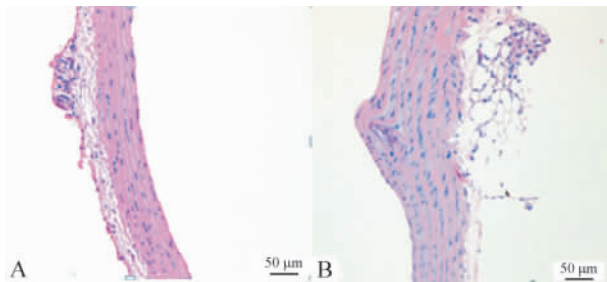


Figure 1. Pathologic change in rat aorta after being feeding with fat diet( HE staining ,×100) . A: rat aorta in control group; B: rat aorta in AS group.

图 1 对照组与实验组大鼠主动脉血管病理变化

#### 2 正常组和 AS 组大鼠的总胆固醇( total cholesterol ,TC)、甘油三酯( triglyceride ,TG)、低密度脂蛋白( low - density lipoprotein ,LDL)、高密度脂蛋白( high density lipoprotein ,HDL) 水平比较

AS 组大鼠 TC 和 LDL 水平显著高于对照组 ,差异显著 ( $P < 0.05$ )。AS 组 TG、HDL 水平与对照组比 ,差异无显著 ,见图 2。

#### 3 正常对照组和 AS 组大鼠脾组织 CD4<sup>+</sup> T 淋巴细胞比例比较

AS 组脾组织 CD4<sup>+</sup> T 淋巴细胞比例较对照组升高 ,见图 3。正常对照组和 AS 组大鼠脾组织 T 淋巴细胞经磁珠分选后 CD4<sup>+</sup> T 淋巴细胞比例均可达到 85% 以上 ,见图 4。

#### 4 ConA 刺激对照组和 AS 组大鼠脾 CD4<sup>+</sup> T 淋巴细胞 48 h 后淋巴细胞增殖情况比较

对照组和 AS 组大鼠脾 CD4<sup>+</sup> T 淋巴细胞在未加 ConA 的情况下 ,即存在基础增殖程度的差异 ,AS 组细胞增殖程度较对照组升高 ,差异显著 ( $P < 0.05$ )。在加入 ConA 刺激 48 h 后 2 组细胞均有明显增殖 ,但 AS 组的升高更显著 ,差异显著 ( $P < 0.05$ ) ,见表 1。

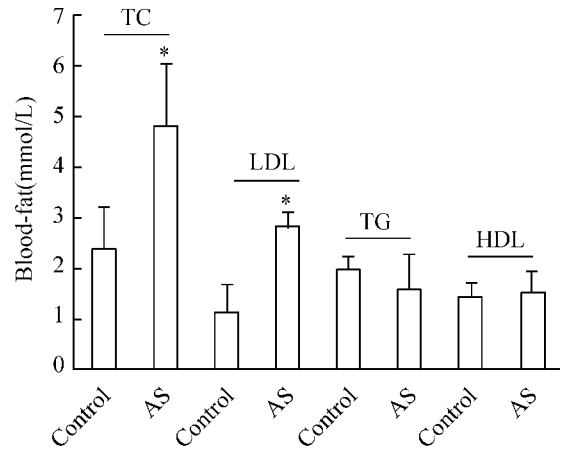


Figure 2. Comparison of serum TC and LDL( total cholesterol and low - density lipoprotein) between AS and control group.  $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 30$ . \*  $P < 0.05$  vs control group.

图 2 正常组和 AS 组大鼠血清中血脂水平比较

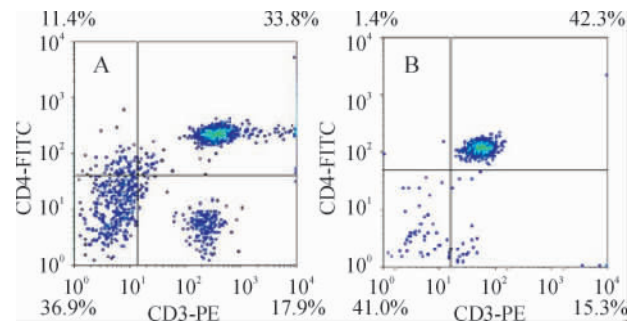


Figure 3. Comparison of CD4<sup>+</sup> T lymphocyte proportion in rat spleen between AS and control group. A: proportion of CD4<sup>+</sup> T cell in control rat spleen; B: proportion of AS - CD4<sup>+</sup> T cell in AS rat spleen. Proportion of CD4<sup>+</sup> T lymphocyte in AS group was significantly higher than that in control group.

图 3 对照组与实验组大鼠脾 CD4<sup>+</sup> T 淋巴细胞比例比较

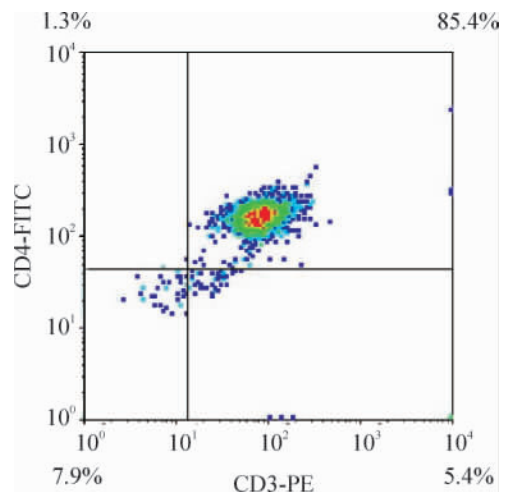


Figure 4. Proportion of CD4<sup>+</sup> T lymphocyte in AS rat spleen after being separated by immunomagnetic bead.

图 4 磁珠分选后脾 CD4<sup>+</sup> T 淋巴细胞比例

表 1 正常组和 AS 组大鼠脾 CD4<sup>+</sup> T 淋巴细胞增殖程度比较  
Table 1. After being stimulated by concanavalin A ( ConA ), the proliferation of CD4<sup>+</sup> T lymphocyte in AS group and control group(  $\bar{x} \pm s$  )

Group	ConA( - )	ConA( + )
Control( $n = 6$ )	0. 2013 $\pm$ 0. 0164	0. 7971 $\pm$ 0. 0955
AS( $n = 9$ )	0. 2965 $\pm$ 0. 0233*	1. 1321 $\pm$ 0. 1750*

\*  $P < 0. 05$  vs control.

5 ConA 刺激对照组和 AS 组大鼠 CD4<sup>+</sup> T 淋巴细胞后淋巴细胞内钙离子浓度比较

未加入 ConA 刺激前 AS 组 CD4<sup>+</sup> T 淋巴细胞就存在细胞内钙离子浓度高于正常对照组,两者比较存在显著差异(  $H = 61. 5$  ,  $P < 0. 05$  ) ,经 ConA 刺激后两者 CD4<sup>+</sup> T 淋巴细胞胞内钙离子浓度均有增加,实验组增加更明显,两者相比差异显著(  $H = 82$  ,  $P < 0. 05$  ) ,见图 5。

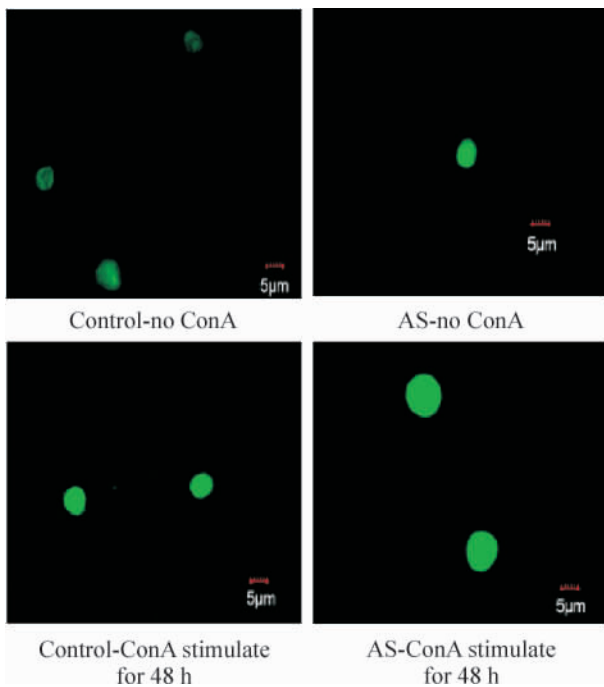


Figure 5. Comparison of intracellular calcium concentration between AS and control group. After being stimulated by ConA , the intracellular calcium concentration in AS group was significantly higher than that in the control group.

图 5 正常对照组和 AS 组大鼠 CD4<sup>+</sup> T 淋巴细胞胞内钙离子浓度比较

6 ConA 刺激大鼠 CD4<sup>+</sup> T 淋巴细胞不同时间细胞因子的分泌比较

ConA 刺激分选出的 CD4<sup>+</sup> T 淋巴细胞 0 h 时细胞因子分泌量低,作为空白对照,在刺激 24 h 及 48 h 后,IL - 10 的分泌水平未见明显变化,而 IL - 2 及

TNF -  $\alpha$  的分泌随时间延长分泌增多,ConA 刺激 48 h 后其分泌水平较 24 h 增多,差异显著(  $P < 0. 05$  ) ,见图 6。

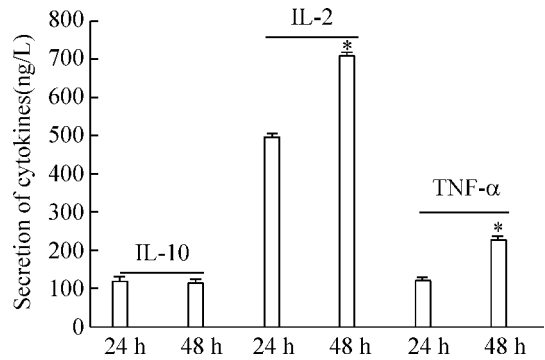


Figure 6. Cytokine secretion in supernatant of CD4<sup>+</sup> T lymphocyte in different time after being stimulated by ConA.  $\bar{x} \pm s$ .  $n = 18$ . \*  $P < 0. 05$  vs 24 h group.

图 6 ConA 刺激 AS 大鼠不同时间的细胞因子的分泌

7 对照组与 AS 组 Kv1. 3 的 qPCR 结果比较

AS 组脾 CD4<sup>+</sup> T 淋巴细胞 Kv1. 3 mRNA 的表达高于正常对照组,差异显著(  $P < 0. 05$  ) ,见表 2。

表 2 对照组与 AS 组 Kv1. 3 mRNA 表达量比较

Table 2. Comparison of Kv1. 3 mRNA expression in CD4<sup>+</sup> T lymphocytes of rat spleen between AS and control group(  $\bar{x} \pm s$  )

Group	$\Delta$ CT:	$\Delta$ CT:	$2^{-\Delta\Delta CT}$
	$CT_{Kv1.3} - CT_{GAPDH}$	$\Delta CT_{AS} - \Delta CT_{control}$	
Control( $n = 7$ )	7. 576 $\pm$ 1. 038		1
AS( $n = 13$ )	5. 910 $\pm$ 0. 785	-2. 123 $\pm$ 0. 556	3. 670 $\pm$ 1. 579*

\*  $P < 0. 05$  vs control.

讨 论

AS 是一种自身免疫性疾病,目前报道与 AS 关系密切的抗原氧化低密度脂蛋白( oxidized low - density lipoprotein ox - LDL )、热休克蛋白 60、 $\beta_2$  糖蛋白 I、脂蛋白 a、肺炎衣原体、幽门螺杆菌、病毒等<sup>[7]</sup> ,其中 ox - LDL 发挥主要作用。研究表明在 ox - LDL 刺激下可出现 AS 疾病的自身免疫应答,使局部斑块及脾脏中 TGF -  $\beta_1$  ( + ) CD4 ( + ) Th3 表达增多<sup>[8]</sup> 。我们通过高脂饮食建立动脉粥样硬化大鼠模型,测定血脂提示存在高低密度脂蛋白血症。且在未加 ConA 的情况下,AS 组 CD4<sup>+</sup> T 淋巴细胞增殖程度较正常对照组升高,说明 AS 组在长期的高脂血症的刺激下存在免疫机制,使 CD4<sup>+</sup> T 淋巴细胞处于增殖活化状态。因此,我们的结果与上述报道是一致的。

T 淋巴细胞功能活化有赖于其细胞膜表面的离子通道。研究表明,T 淋巴细胞膜上主要存在 3 种离

子通道蛋白:电压门控钾通道 Kv1.3、钙离子激活的钾通道和钙释放激活的钙通道。其中,Kv1.3通道是效应性T淋巴细胞持续活化的关键<sup>[9,10]</sup>。Kv1.3通道的表达和功能改变主要影响膜电位水平和胞内钙信号,并调节IL-2、IL-10、TNF- $\alpha$ 、TFG- $\beta_1$ 等细胞因子的表达和细胞增殖<sup>[9,11,12]</sup>。

我们的研究表明,活化状态的CD4<sup>+</sup>T淋巴细胞胞内钙离子浓度升高,致AS的细胞因子(IL-2,TNF- $\alpha$ )增多,并随时间延长而增多,而减少局部炎症反应的细胞因子(IL-10)分泌水平较低。说明在持续的抗原刺激下,随着AS疾病的进展,致AS的细胞因子(IL-2,TNF- $\alpha$ )分泌增加,加速疾病的进展;而IL-10作为抗炎因子,可抑制致炎因子的释放,减少黏附分子的表达,减少单核细胞向内皮细胞黏附,起到保护作用,有临床研究证实,IL-10在AS斑块进展、破裂、血栓方面有重要作用<sup>[13]</sup>,我们的AS组中IL-10水平在48h内未见变化趋势,考虑与疾病发展时期及严重程度有一定关系,有待进一步研究。

已有的基础及临床研究均有力证实了Kv1.3通道在效应性T细胞活化中的决定性作用,以及高表达Kv1.3通道的T淋巴细胞亚群在T细胞介导的自身免疫性疾病中的关键性致病作用<sup>[10,14]</sup>。最近研究报告:急性冠脉综合征患者外周血T淋巴细胞Kv1.3通道电流幅度及Kv1.3蛋白的表达明显高于正常人,该研究首次提出了AS与Kv1.3之间的相关性<sup>[15]</sup>。新近也直接在冠心病患者AS斑块病变组织中发现了克隆性的T淋巴细胞增殖<sup>[16]</sup>,这些均提示Kv1.3在AS中存在一定作用。我们的研究也证明了在AS中,CD4<sup>+</sup>T淋巴细胞亚群增多,AS组CD4<sup>+</sup>T淋巴细胞表面Kv1.3离子通道在mRNA水平的表达增多,并且伴随着CD4<sup>+</sup>T淋巴细胞胞内钙离子增多,炎症细胞因子(IL-2,TNF- $\alpha$ )分泌增加,提示CD4<sup>+</sup>T淋巴细胞表面Kv1.3表达与胞内钙离子浓度、细胞因子分泌三者之间存在一定的相关性,Kv1.3离子通道在AS的疾病过程中发挥一定的作用。

#### [参 考 文 献]

- [1] Sherer Y, Shoenfeld Y. Mechanisms of disease: atherosclerosis in autoimmune disease [J]. *Nat Clin Pract Rheumatol*, 2006, 2(2): 99-106.
- [2] Roman MJ, Salmon JE. Cardiovascular manifestations of rheumatologic diseases [J]. *Circulation* 2007, 116(20): 2346-2355.
- [3] Ko EA, Han J, Jung ID, et al. Physiological roles of K<sup>+</sup> channels in vascular smooth muscle cells [J]. *Smooth Muscle Res*, 2008, 44(2): 65-81.
- [4] 周萍,富路,潘振伟,等.长期睾酮缺失对雄性大鼠胸主动脉平滑肌细胞电压依从性钾通道的影响[J]. *中国病理生理杂志*, 2009, 25(3): 467-471.
- [5] Beeton C, Wulff H, Singh S, et al. A novel fluorescent toxin to detect and investigate Kv1.3 channel up-regulation in chronically activated T lymphocytes [J]. *J Biol Chem*, 2003, 278(11): 9928-9937.
- [6] Jackson WF. Potassium channels in the peripheral microcirculation [J]. *Microcirculation*, 2005, 12(1): 113-127.
- [7] Milioti N, Bermudez-Fajardo A, Penichet ML, et al. Antigen-induced immunomodulation in the pathogenesis of atherosclerosis [J]. *Clin Dev Immunol*, 2008, 2008: 723539.
- [8] Zhou XH, Johnston TP, Johansson D, et al. Hypercholesterolemia leads to elevated TGF- $\beta$ 1 activity and T helper 3-dependent autoimmune responses in atherosclerotic mice [J]. *Atherosclerosis*, 2009, 204(2): 381-387.
- [9] Panyi G, Varga Z, Gaspar R. Ion channels and lymphocyte activation [J]. *Immunol Lett*, 2004, 92(1-2): 55-56.
- [10] Wulff H, Calabresi PA, Allie R, et al. The voltage-gated Kv1.3 K(+) channel in effector memory T cells as new target for MS [J]. *J Clin Invest*, 2003, 111(11): 1703-1713.
- [11] Krasznai Z. Ion channels in T cells: from molecular pharmacology to therapy [J]. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz)*, 2005, 53(2): 127-135.
- [12] Panyi G, Vamosi G, Bodnar A, et al. Looking through ion channels: recharged concepts in T-cell signaling [J]. *Trends Immunol*, 2004, 25(11): 565-569.
- [13] Fernandez RP, Kaski JC. Interleukin-10 and coronary disease [J]. *Rev Esp Cardiol*, 2002, 55(7): 738-750.
- [14] Beeton C, Wulff H, Standifer NE, et al. Kv1.3 channels are a therapeutic target for T cell-mediated autoimmune diseases [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2006, 103(46): 17414-17419.
- [15] Guo LF, Zhang CT, Wu J, et al. T-lymphocyte voltage dependent K(+) channel is upregulated in patients with acute coronary syndrome [J]. *Zhonghua Xin Xue Guan Bing Za Zhi*, 2007, 35(9): 821.
- [16] De Palma R, Del Galdo F, Abbate G, et al. Patients with acute coronary syndrome show oligoclonal T-cell recruitment within unstable plaque: evidence for a local, intracoronary immunologic mechanism [J]. *Circulation*, 2006, 113(5): 640-646.