

## • 基础研究 •

紫草素调控白细胞介素-6治疗肺动脉高压的  
机制研究

王勋 左婉云 肖政辉 肖云彬 陈智 曾云红 李文凤 黄婷

**【摘要】 目的:**探讨紫草素通过抑制白细胞介素(IL)-6及其下游信号通路逆转肺动脉高压(PAH)大鼠血流动力学和血管重构的机制。**方法:**24只SD大鼠随机数字表法分为对照组(CON组)、野百合碱肺动脉高压组(MCT-PAH组)、肺动脉高压紫草素干预组(MCT-PAH+SH组),每组8只。造模28d后检测各组大鼠肺动脉血流动力学、右室肥厚指数,HE染色鉴定肺动脉形态学变化,Western blot和免疫组化检测IL-6、IL-21、CD163等分子的表达及定位。**结果:**与CON组相比,MCT-PAH组大鼠肺动脉血流加速时间(PAAT)缩短,心脏右室内径(RVID)增宽,三尖瓣瓣环收缩期位移(TAPSE)减低,右室肥厚指数增加,右室收缩压(RVSP)升高,肺动脉血管壁明显增厚,且以中膜肥厚显著。与MCT-PAH组相比,MCT-PAH+SH组大鼠PAAT延长,RVID略减少,TAPSE增加,右室肥厚指数改善,RVSP降低且肺血管肥厚程度改善。免疫荧光结果显示MCT-PAH组大鼠肺小动脉中IL-6的表达水平较CON组升高,MCT-PAH+SH组较MCT-PAH组下降。Western blot结果显示MCT-PAH组大鼠肺组织IL-6、IL-21表达水平较CON组增加,MCT-PAH+SH组较MCT-PAH组下降。MCT-PAH组大鼠肺血管壁CD163表达水平较CON组明显升高,MCT-PAH+SH组较MCT-PAH组显著减低。**结论:**紫草素干预改善PAH大鼠右心血流动力学及肺血管重构,其机制可能与抑制IL-6及其下游分子IL-21、CD163相关。

**【关键词】** 肺动脉高压;紫草素;白细胞介素6

doi: 10.3969/j.issn.1673-6583.2024.03.013

**Study on the mechanism of shikonin regulating interleukin-6 in the treatment of pulmonary arterial hypertension** WANG Xun<sup>1</sup>, ZUO Wanyun<sup>2</sup>, XIAO Zhenghui<sup>3</sup>, XIAO Yunbin<sup>1</sup>, CHEN Zhi<sup>1</sup>, ZENG Yunhong<sup>1</sup>, LI Wenfeng<sup>4</sup>, HUANG Ting<sup>4</sup>. 1. Department of Cardiology, Hunan Children's Hospital, Changsha 410071; 2. Department of Hematology, The Second Xiangya Hospital, Central South University, Changsha 410011; 3. Department of Intensive Care Unit, Hunan Children's Hospital, Changsha 410071; 4. Department of Ultrasound, Hunan Children's Hospital, Changsha 410071, China

**【Abstract】 Objective:** Discuss whether shikonin can reverse the changes of hemodynamic and vascular remodeling in animal models of PAH by regulating interleukin-6 and downstream signal pathways. **Methods:** Twenty-four SD rats were randomly divided into CON group, MCT-PAH group and MCT-PAH+SH group. Four weeks later, pulmonary artery hemodynamics, indexes related to right heart function and right ventricular hypertrophy index were detected. Morphological changes of pulmonary artery were identified by HE staining. IL-6 was detected by immunofluorescence. Western blot and immunohistochemistry techniques were performed to detect the expression of IL-6, IL-21 in rats' lung tissues and the expression and localization of CD163 in lung tissues. **Results:** Compared with CON group, pulmonary artery blood flow acceleration time (PAAT) was shortened, the inner diameter of the right ventricle (RVID) was widened, the tricuspid annular plane systolic excursion (TAPSE) was decreased, right ventricular

基金项目:国家自然科学基金(81500041);湖南省卫生健康委课题(20200849)

作者单位:410071 长沙,湖南省儿童医院心血管内科(王勋,肖云彬,陈智,曾云红),重症医学科(肖政辉),超声科(李文凤,黄婷);410011 长沙,中南大学湘雅二医院血液科(左婉云)

通信作者:肖云彬, E-mail: xiaoyunbinrui@126.com

hypertrophy index was increased, right ventricular systolic pressure (RVSP) was increased, pulmonary artery vascular wall was significantly thickened in MCT-PAH group, and the vascular remodeling was marked by middle membrane hypertrophy. These results indicated that the animal model of pulmonary artery hypertension was successfully established. After the intervention with shikonin, the above indexes had different changes. Immunofluorescence results showed that the expression of IL-6 in pulmonary arterioles of MCT-PAH group was higher than that of CON group, and the expression of IL-6 in pulmonary arterioles of shikonin group was lower than that of MCT-PAH group. The results of western blot showed that the expression of IL-6 increased in MCT-PAH group. Shikonin treatment reduced expression of IL-6, IL-21 in PAH rat's lung. The expression of CD163 in pulmonary blood vessels were significantly increased in MCT-PAH group rats, but reduced after shikonin treatment. **Conclusions:** Shikonin treatment alleviated PAH via improving hemodynamics of right ventricle and pulmonary vascular remodeling in experimental PAH. The effect may be relative to inhibition of IL-6 and its downstream signal pathway activation.

**【Key words】** Pulmonary arterial hypertension; Shikonin; Interleukin-6

肺动脉高压 (PAH) 以肺血管生成异常导致血管进行性闭塞为特征, 肺动脉压力、肺血管阻力进行性升高, 其起病隐匿, 进展迅速, 最终可导致患者右心衰竭甚至死亡<sup>[1]</sup>。免疫与炎症机制在 PAH 发生、进展中的作用已得到广泛关注<sup>[2-4]</sup>, 研究显示白细胞介素 (IL) -6 参与 PAH 的发生、进展, 抑制 IL-6 及其信号通路可改善 PAH 血管重构<sup>[4-5]</sup>。紫草素为中药提取物, 其主要成分为萘醌类<sup>[6]</sup>, 研究发现在特发性关节炎动物模型中存在 IL-6 表达上调, 紫草素可以通过抑制 IL-6 改善关节炎的病理改变<sup>[7]</sup>。本研究拟探讨 PAH 中 IL-6 及其下游信号分子表达的变化, 和紫草素是否通过抑制 IL-6 表达以及其下游信号通路逆转 PAH 动物模型血流动力学改变和血管重构, 以期拓宽紫草素的适应证。

## 1 材料与方法

### 1.1 主要材料、试剂与仪器

SPF 级健康雄性 SD 大鼠购自长沙市天勤生物技术有限公司 [许可证号: SCXK (湘) 2014-0011], 野百合碱购自 Sigma-Aldrich 公司, 紫草素购自 Selleck 公司, IL-6、IL-21 购自美国 Affinity 公司, CD163 购自中国 Proteintech 公司,  $\beta$ -actin 购自美国 Santa Cruz 公司,  $\alpha$ -SMA 购自武汉 Servicebio 公司, Western Blot 试剂盒购自北京 Bio-Rad 公司。

### 1.2 动物实验

24 只 SD 大鼠随机数字表法分为对照组 (CON 组)、野百合碱肺动脉高压组 (MCT-PAH 组)、肺动脉高压紫草素干预组 (MCT-PAH+SH 组), 每组 8 只, 体质量 ( $190 \pm 15$ ) g。MCT-PAH 组及 MCT-

PAH+SH 组以 1% 的野百合碱溶液腹腔注射造肺动脉高压动物模型 ( $60 \text{ mg/kg}$ )<sup>[8]</sup>; MCT-PAH+SH 组建模第 21 天起予腹腔注射紫草素  $10 \text{ mg/(kg}\cdot\text{d)}$ , 连续 7 d; CON 组于建模第 1 天腹腔注射等量生理盐水。建模第 21 天 CON 组、MCT-PAH 组腹腔注射等量紫草素溶剂, 连续 7 d。所有动物实验操作均获得湖南省儿童医院实验动物伦理委员会批准 (批号: HCHLL-2020-44)。

### 1.3 血流动力学检测

建模第 28 天使用超声心动图检测各组大鼠肺动脉血流加速时间 (PAAT)、心脏右室内径 (RVID)、三尖瓣瓣环收缩期位移 (TAPSE); 超声检测完毕后使用心导管测量右室收缩压 (RVSP)。

### 1.4 右室肥厚指数测量及 HE 染色检测肺组织

测压结束后处死各组大鼠, 解剖分离大鼠右心室 (RV) 与左室和室间隔 (LV+S), 称量并计算右室肥厚指数即  $\text{RV}/(\text{LV}+\text{S})$ 。大鼠肺组织石蜡包埋后切片, 厚度为  $5 \mu\text{m}$ , 石蜡切片脱蜡, HE 染色, 中性树胶封片。显微镜下观察肺小动脉的形态学变化, 包括血管厚度、肌化情况。

### 1.5 Western blot 法检测蛋白表达

取大鼠肺组织样本, 裂解后使用 BCA 蛋白定量试剂盒进行蛋白定量; 蛋白变性, 制胶、上样、电泳、转膜、封闭, 分别加入 IL-6、IL-21、增殖细胞核抗原 (PCNA) 和细胞周期蛋白 D (Cyclin-D) 一抗,  $4^\circ\text{C}$  孵育过夜, 洗膜, 加入相应二抗, 再次洗膜, 加 ECL 发光液, 进行显影, 化学发光系统摄片, 使用 Image J 软件进行分析。

### 1.6 免疫荧光检测IL-6的表达及分布

肺组织石蜡切片脱蜡、抗原修复, PBS 洗涤; 加 IL-6、 $\alpha$ 平滑肌肌动蛋白( $\alpha$ -SMA)一抗; 4 °C 过夜后放入 PBS 中洗涤, 滴加荧光素标记的相应二抗覆盖组织, 洗涤, 先后加入荧光细胞核染料 DAPI、自发荧光淬灭剂、抗荧光淬灭剂, 封片。激光共聚焦显微镜下观察各蛋白在肺血管的荧光强度及分布。

### 1.7 免疫组化检测CD163的表达

石蜡切片脱蜡, 水化, 抗原修复, PBS 洗涤; 避光孵育阻断内源性过氧化物酶后再次洗涤; 室温封闭后滴加 CD163 一抗, 4 °C 孵育过夜, 加入辣根过氧化物酶标记的二抗, 冲洗, 加 DAB 显色液; 显微镜下观察, 阳性显色为棕黄色时自来水冲洗切片终止, 苏木素复染后返蓝, 封片, 显微镜观察并进行图像采集。

### 1.8 统计学分析

使用 Graphpad prism 8.0 软件进行统计学分析。所有数据均经正态性检验, 符合正态分布的数据采用均数  $\pm$  标准差表示。多组间比较采用单因素方差分析, 两两比较通过 LSD-*t* 检验,  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 PAH大鼠模型建立及紫草素干预对大鼠血流动力学、血管重构的影响

实验过程中 MCT-PAH 组大鼠死亡 2 只,

MCT-PAH+SH 组死亡 1 只。超声心动图检测结果显示, 与 CON 组相比, MCT-PAH 组 RVID 增宽、PAAT 缩短、TAPSE 减低 ( $P < 0.01$ ); 与 MCT-PAH 组相比, MCT-PAH+SH 组 PAAT 延长 ( $P < 0.01$ ), RVID 略减低 ( $P < 0.05$ ), TAPSE 增加 ( $P < 0.05$ )。心导管测压结果显示 MCT-PAH 组 RVSP 明显高于 CON 组 ( $P < 0.001$ ); MCT-PAH+SH 组 RVSP 较 MCT-PAH 组有所减低 ( $P < 0.01$ )。见图 1、表 1。

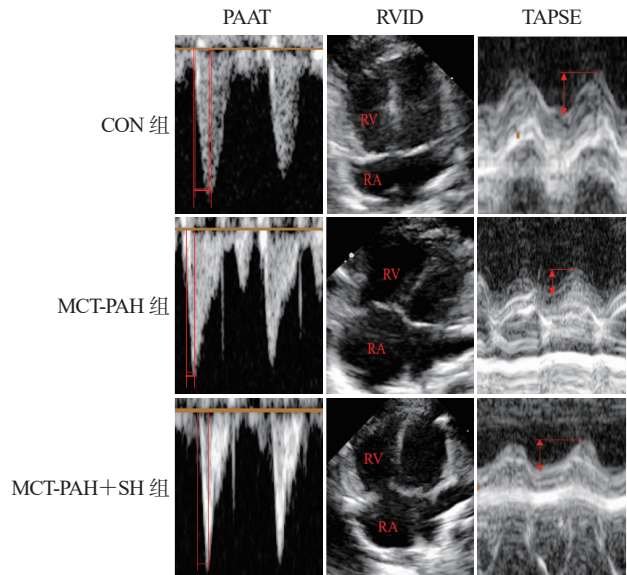


图1 实验组大鼠超声心动图检测结果

表1 各组大鼠超声心电图及血流动力学指标比较

分组	PAAT/ms	RVID/mm	TAPSE/mm	RVSP/mmHg	左室肥厚指数
CON组	23.45 $\pm$ 0.98	2.48 $\pm$ 0.10	2.61 $\pm$ 0.16	19.70 $\pm$ 0.61	0.29 $\pm$ 0.010
MCT-PAH组	17.02 $\pm$ 0.93 <sup>(1)</sup>	3.38 $\pm$ 0.25 <sup>(1)</sup>	2.21 $\pm$ 0.18 <sup>(1)</sup>	45.91 $\pm$ 1.04 <sup>(2)</sup>	0.59 $\pm$ 0.029 <sup>(2)</sup>
MCT-PAH+SH组	21.57 $\pm$ 0.96 <sup>(3)</sup>	2.81 $\pm$ 0.10 <sup>(4)</sup>	2.37 $\pm$ 0.13 <sup>(4)</sup>	29.62 $\pm$ 0.86 <sup>(3)</sup>	0.40 $\pm$ 0.018 <sup>(3)</sup>

注: 与CON组比较, <sup>(1)</sup> $P < 0.01$ , <sup>(2)</sup> $P < 0.001$ ; 与MCT-PAH组比较, <sup>(3)</sup> $P < 0.01$ , <sup>(4)</sup> $P < 0.05$

### 2.2 紫草素对PAH大鼠肺组织病理改变的影响

MCT-PAH组右室肥厚指数较CON组明显增加 ( $P < 0.01$ ), MCT-PAH+SH组较MCT-PAH组下降 ( $P < 0.05$ ), 见表 1。HE 染色结果显示 CON 组大鼠肺组织炎症细胞浸润少, 肺血管较薄; MCT-PAH 组大鼠肺组织比 CON 组炎症细胞浸润较多, 中膜增厚 [(403.53 $\pm$ 14.18)  $\mu$ m 对 (105.52 $\pm$ 1.65)  $\mu$ m,  $P < 0.001$ ], 管腔明显狭窄甚至闭塞; MCT-PAH+SH 组肺动脉管腔较 MCT-PAH 组增大, 血管壁厚度明显减低, 特别是血管中膜厚度变薄 [(235.64 $\pm$ 1.65)  $\mu$ m 对 (403.53 $\pm$ 14.18)  $\mu$ m,  $P < 0.001$ ], 见图 2。

### 2.3 IL-6表达及分布

免疫荧光染色显示 MCT-PAH 组大鼠肺小动脉中 IL-6 荧光强度明显高于周边组织, MCT-PAH+SH 组较 MCT-PAH 明显减弱, 但与周边组织相比仍较强。与 MCT-PAH 组和 MCT-PAH+SH 组相比, CON 组肺血管中 IL-6 荧光强度明显较低且与周边组织无明显差异, 见图 3。

### 2.4 IL-6、IL-21及增殖相关分子蛋白表达

Western blot 结果显示 MCT-PAH 组肺组织中 IL-6、IL-21 表达水平较 CON 组增加, MCT-PAH+SH 组 IL-6、IL-21 表达水平较 MCT-PAH 组减



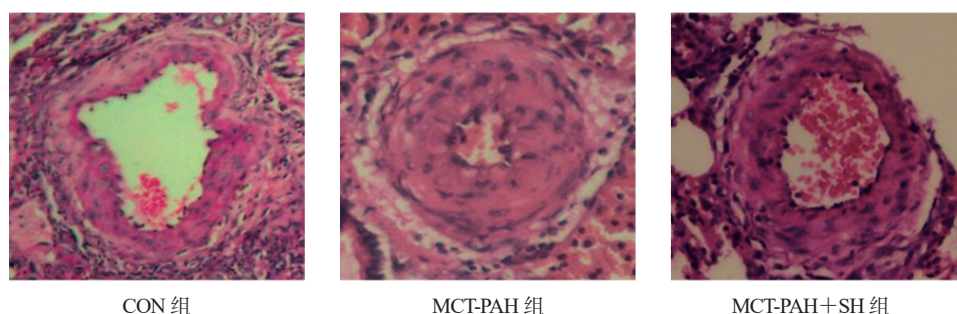


图2 大鼠肺动脉HE染色结果 (×200)

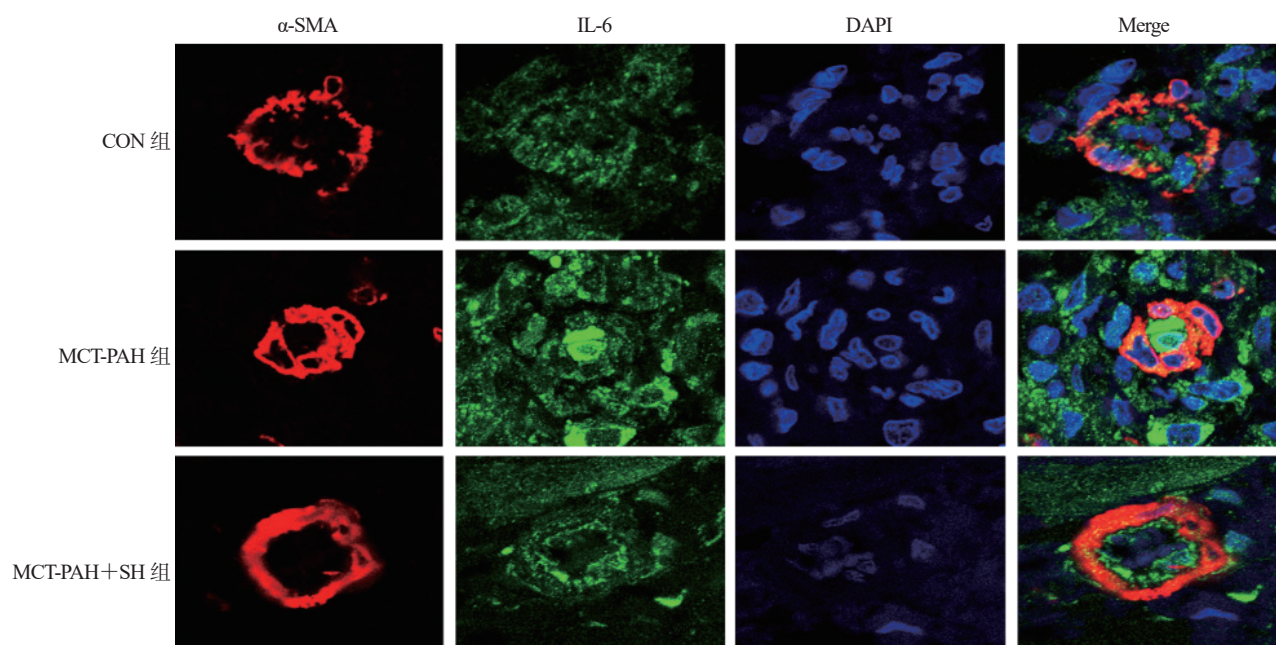


图3 IL-6免疫荧光检测结果 (×63)

少; MCT-PAH 组肺组织中增殖相关蛋白 PCNA、Cyclin-D 表达水平较 CON 组增加; MCT-PAH+SH 组增殖相关蛋白 PCNA、Cyclin-D 表达水平较 MCT-PAH 组降低 (图 4、表 2)。

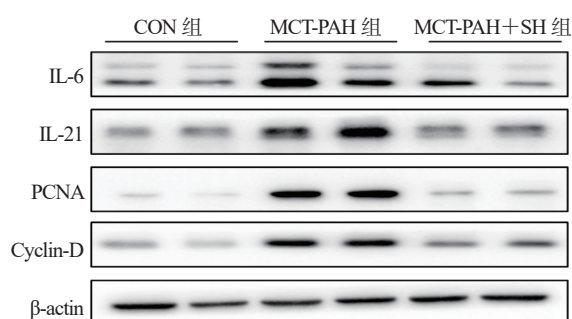


图4 Western blot示IL-6、IL-21及增殖相关蛋白

## 2.5 CD163在肺血管的表达

CD163 阳性表达位于细胞膜, 少量表达于胞质

和细胞外间质中。MCT-PAH 组大鼠肺血管细胞膜上 CD163 表达较 CON 组明显增多, 而 MCT-PAH+SH 组较 MCT-PAH 组表达减少, 肺组织有少量 CD163 表达, 见图 5。

## 3 讨论

PAH 是一种起病隐匿、进展迅速的致死性疾病, 严重危害生命健康<sup>[9]</sup>。近年来研究表明 PAH 患者血管重构与炎症反应密切相关, 多种炎症因子可引起 PAH 发生<sup>[10]</sup>。PAH 患者血浆中炎症因子 IL-6、IL-1 水平明显升高<sup>[11]</sup>, 且血浆炎症介质水平的升高与 PAH 患者预后不良相关。有研究指出 IL-6、C 反应蛋白等炎症因子是评价 PAH 患者病情严重程度的生物标志物<sup>[12]</sup>, 炎症反应是判断 PAH 严重程度的新指标<sup>[13]</sup>, 提示 IL-6 在 PAH 的发生、进展中发挥重要作用。

本研究发现 MCT-PAH 大鼠肺组织肺血管 IL-6

表2 各组大鼠IL-6、IL-21及增殖相关蛋白表达水平比较

分组	IL-6	IL-21	PCNA	Cyclin-D
CON组	0.48±0.02	0.69±0.04	0.70±0.06	0.68±0.04
MCT-PAH组	1.43±0.05 <sup>(1)</sup>	1.47±0.06 <sup>(2)</sup>	1.36±0.09 <sup>(3)</sup>	1.25±0.04 <sup>(1)</sup>
MCT-PAH+SH组	0.88±0.05 <sup>(4)</sup>	1.26±0.13 <sup>(5)</sup>	1.05±0.05 <sup>(5)</sup>	0.86±0.04 <sup>(4)</sup>

注：与CON组比较，<sup>(1)</sup> $P<0.0001$ ，<sup>(2)</sup> $P<0.01$ ，<sup>(3)</sup> $P<0.001$ ；与MCT-PAH组比较，<sup>(4)</sup> $P<0.01$ ，<sup>(5)</sup> $P<0.05$

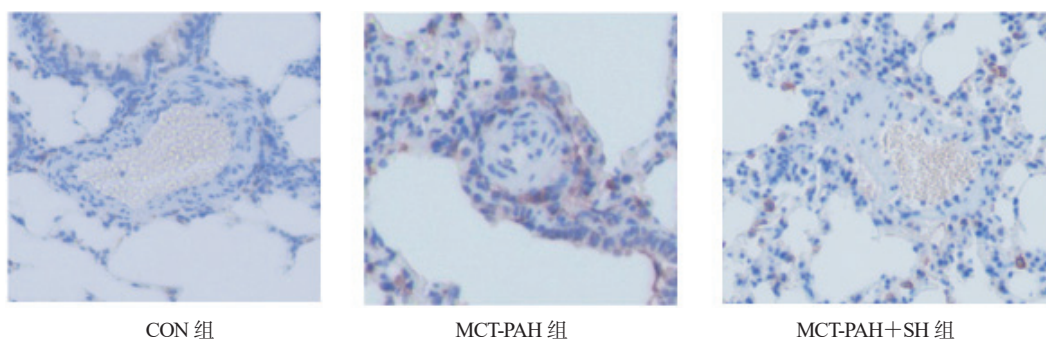


图5 肺血管中CD163表达的免疫组化结果

明显增加，提示 IL-6 可能为引起肺血管重构的主要炎症因子。既往研究发现低氧可促进 IL-6 表达水平升高，而低氧是 PAH 发病的主要触发因素<sup>[5]</sup>，表明 IL-6 可能在 PAH 的发病机制中发挥重要作用。本研究结果显示 IL-6 在 MCT-PAH 大鼠肺血管中表达明显增高，肺血管中 IL-6 表达水平较周边肺组织增加，表明 PAH 时肺组织存在炎症反应，而肺动脉血管壁的炎症反应最严重，进一步说明 IL-6 介导的炎症反应可能通过促进肺血管重构参与 PAH 发生。

在 PAH 患者和实验动物模型中，存在多个 IL-6 相关的信号通路活化，现已明确 STAT3 是 IL-6 调控的主要转录因子<sup>[14]</sup>，IL-6/IL-6 受体复合物可能通过激活磷脂酰肌醇 3-激酶（PI3K）/蛋白激酶 B（Akt）和促分裂原活化的蛋白激酶（MARK）/胞外信号调节激酶（ERK）等信号通路导致 PAH 的发生<sup>[15-16]</sup>。同时研究显示 IL-6 可能通过上述信号通路之外的下游分子参与 PAH 的发生进展，其中炎症因子是目前研究的热点<sup>[17]</sup>。已有研究表明 IL-6 调节下游炎症因子表达参与 PAH 发生进展，包括 IL-21 和 CD163<sup>[18]</sup>。

IL-21 是由活化的 CD4<sup>+</sup>T 细胞产生的炎症因子，其与相应受体（IL-21R）结合后主要通过调节 B 细胞增生、促 T 细胞增殖分化、提高 NK 细胞杀伤活性等发挥免疫调节作用<sup>[17]</sup>。Hashimoto-Kataoka 等<sup>[18]</sup>发现在 PAH 发生机制中，IL-21 是 IL-6 信号轴的下游靶点，其通过增强 M2 巨噬细胞

极化促进缺氧诱导的 PAH。本研究发现 MCT-PAH 组大鼠肺组织中 IL-21 较 CON 组表达明显增加，MCT-PAH+SH 组 IL-6 及 IL-21 的表达均下降，提示 IL-6 可能通过促进 IL-21 表达参与 PAH 的发生，而紫草素可拮抗该通路的活化从而部分逆转肺血管重构。

CD163 为 M2 型肿瘤相关巨噬细胞的生物标志物，其属于清道夫受体富半胱氨酸超家族成员，参与肿瘤局部炎症的调节<sup>[19]</sup>。研究证实 PAH 患者血清中 CD163 明显增高<sup>[20]</sup>，CD163 由抗炎信号如糖皮质激素和某些细胞因子（IL-6 和 IL-10）激活<sup>[21]</sup>，推测在 PAH 中 IL-6 可能通过信号通路促进 CD163 的表达及活化。本研究结果显示 MCT-PAH 组大鼠肺组织中 CD163 较 CON 组表达明显升高；MCT-PAH+SH 组大鼠的 CD163 表达下降，提示 CD163 参与 PAH 的发生、进展，推测紫草素可能通过抑制 IL-6 及 IL-21 的表达和（或）活化降低 CD163 的表达，发挥抗 PAH 的作用。

研究显示紫草素具有调节免疫<sup>[22]</sup>、抑制病毒、抗炎<sup>[23]</sup>等多种生物学作用，其抗炎作用的机制可能为调节 IL-1 $\beta$ 、IL-6、肿瘤坏死因子- $\alpha$ （TNF- $\alpha$ ）、一氧化氮（NO）等的表达或活性<sup>[24]</sup>。已有研究显示，紫草素干预可降低低氧 PAH 模型小鼠的肺动脉压。本研究发现紫草素对 PAH 大鼠的血流动力学有改善作用。HE 染色发现 MCT-PAH+SH 组肺动脉血管中膜较 MCT-PAH 组变薄，免疫荧光结果

提示紫草素可减低 IL-6 的表达,与 CON 组相比,MCT-PAH 组肺组织中增殖相关蛋白表达均增加,而紫草素可以降低上述增殖蛋白的表达水平;免疫组化结果显示 MCT-PAH+SH 组大鼠 CD163 表达较 MCT-PAH 组减少,以上结果提示紫草素可部分逆转 MCT-PAH 大鼠肺血管重构,其机制可能是抑制 IL-6、IL-21、CD163 炎症信号通路。本研究有望阐明 IL-6 参与 PAH 发生的分子机制,为拓展紫草素的适应证提供理论基础。

### 参 考 文 献

- [1] Harbaum L, Rhodes CJ, Wharton J, et al. Mining the plasma proteome for insights into the molecular pathology of pulmonary arterial hypertension[J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2022, 205(12):1449-1460.
- [2] Wang RR, Yuan TY, Wang JM, et al. Immunity and inflammation in pulmonary arterial hypertension: from pathophysiology mechanisms to treatment perspective[J]. *Pharmacol Res*, 2022, 180:106238.
- [3] Moutsoglou DM, Tatah J, Prisco SZ, et al. Pulmonary arterial hypertension patients have a proinflammatory gut microbiome and altered circulating microbial metabolites[J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2023, 207(6):740-756.
- [4] Cai ZY, Li J, Zhuang Q, et al. MiR-125a-5p ameliorates monocrotaline-induced pulmonary arterial hypertension by targeting the TGF- $\beta$ 1 and IL-6/STAT3 signaling pathways[J]. *Exp Mol Med*, 2018, 50(4):1-11.
- [5] Humbert M, Monti G, Brenot F, et al. Increased interleukin-1 and interleukin-6 serum concentrations in severe primary pulmonary hypertension[J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 1995, 151(5):1628-1631.
- [6] Sun Q, Gong T, Liu ML, et al. Shikonin, a naphthalene ingredient: therapeutic actions, pharmacokinetics, toxicology, clinical trials and pharmaceutical researches[J]. *Phytomedicine*, 2022, 94:153805.
- [7] 代巧妹, 王金凤, 张凤山. 紫草素对晚期胶原性关节炎的作用研究[J]. *哈尔滨医科大学学报*, 2009, 43(1):48-51.
- [8] Al-Qazazi R, Lima PDA, Prisco SZ, et al. Macrophage-NLRP3 activation promotes right ventricle failure in pulmonary arterial hypertension[J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2022, 206(5):608-624.
- [9] Hassoun PM. Pulmonary arterial hypertension[J]. *N Engl J Med*, 2021, 385(25):2361-2376.
- [10] Hirsch K, Nolley S, Ralph DD, et al. Circulating markers of inflammation and angiogenesis and clinical outcomes across subtypes of pulmonary arterial hypertension[J]. *J Heart Lung Transplant*, 2023, 42(2):173-182.
- [11] Smits AJ, Botros L, Mol MAE, et al. A systematic review with meta-analysis of biomarkers for detection of pulmonary arterial hypertension[J]. *ERJ Open Res*, 2022, 8(2):00009-2022.
- [12] Humbert M, Kovacs G, Hoeper MM, et al. 2022 ESC/ERS guidelines for the diagnosis and treatment of pulmonary hypertension[J]. *Eur Respir J*, 2023, 61(1):2200879.
- [13] Xu WL, Janocha AJ, Erzurum SC. Metabolism in pulmonary hypertension[J]. *Annu Rev Physiol*, 2021, 83:551-576.
- [14] Paulin R, Courboulain A, Meloche J, et al. Signal transducers and activators of transcription-3/pim1 axis plays a critical role in the pathogenesis of human pulmonary arterial hypertension[J]. *Circulation*, 2011, 123(11):1205-1215.
- [15] Rose-John S. Interleukin-6 family cytokines[J]. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 2018, 10(2):a028415.
- [16] Awad KS, Elinoff JM, Wang SB, et al. Raf/ERK drives the proliferative and invasive phenotype of BMPR2-silenced pulmonary artery endothelial cells[J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2016, 310(2):L187-L201.
- [17] Tangye SG, Ma CS. Regulation of the germinal center and humoral immunity by interleukin-21[J]. *J Exp Med*, 2020, 217(1):e20191638.
- [18] Hashimoto-Kataoka T, Hosen N, Sonobe T, et al. Interleukin-6/interleukin-21 signaling axis is critical in the pathogenesis of pulmonary arterial hypertension[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2015, 112(20):E2677-E2686.
- [19] Troiano G, Caponio VCA, Adipietro I, et al. Prognostic significance of CD68<sup>+</sup> and CD163<sup>+</sup> tumor associated macrophages in head and neck squamous cell carcinoma: a systematic review and meta-analysis[J]. *Oral Oncol*, 2019, 93:66-75.
- [20] Jasiewicz M, Kowal K, Kowal-Bielecka O, et al. Serum levels of CD163 and TWEAK in patients with pulmonary arterial hypertension[J]. *Cytokine*, 2014, 66(1):40-45.
- [21] Matsushita T, Takehara K. Soluble CD163 is a potential biomarker in systemic sclerosis[J]. *Expert Rev Mol Diagn*, 2019, 19(3):197-199.
- [22] Guo CJ, He JL, Song XMI, et al. Pharmacological properties and derivatives of shikonin-a review in recent years[J]. *Pharmacol Res*, 2019, 149:104463.
- [23] Fan C, Zhang XF, Upton Z. Anti-inflammatory effects of shikonin in human periodontal ligament cells[J]. *Pharm Biol*, 2018, 56(1):415-421.
- [24] Guo HL, Sun JY, Li DY, et al. Shikonin attenuates acetaminophen-induced acute liver injury via inhibition of oxidative stress and inflammation[J]. *Biomed Pharmacother*, 2019, 112:108704.

(收稿:2023-06-18 修回:2024-04-01)

(本文编辑:洪玮)