◇ 基础研究 ◇

http://www.cjcpt.com
2026 Aug; 31(8): 1009-1015

Kv7 在尼古丁致小鼠肺动脉肌张力增强中的作用研究

孟　欣[1,2]，秦小江[1,2,3]，郭　苏[2,4]，满　志[1,2]，方梦薇[2,4]，任晓霞[5]，
郑志发[6]，杨灵波[6]，施熠炜[7]，侯晓敏[2,4]

[1]山西医科大学医学科学院，太原 030001，山西；
[2]山西医科大学环境暴露血管疾病研究所，太原 030001，山西；
[3]山西医科大学公共卫生学院，太原 030001，山西；
[4]山西医科大学基础医学院，太原 030001，山西；
[5]中日友好医院呼吸与危重症医学科，北京 100020；
[6]山西省白求恩医院心胸外科，太原 030032，山西；
[7]山西医科大学第一医院呼吸与危重症医学科，太原 030001，山西

摘要　**目的**：探究 Kv7 通道在尼古丁致小鼠肺动脉肌张力增强中的作用。**方法**：麻醉小鼠，迅速取出肺组织置于 4 ℃ Krebs-Henseleit（K-H）缓冲液中，显微镜下分离剪成约 2 mm 肺动脉环备用。激动剂预刺激条件下尼古丁对小鼠离体肺动脉张力的影响：选取基础张力 2 mN 以上的小鼠肺动脉环，在静息状态下加入去甲肾上腺素（norepinephrine，NE）、苯肾上腺素（phenylephrine，PE）给予预刺激达到平台后，加入不同浓度的尼古丁（10^{-11}～10^{-5} mol/L），记录张力变化，并计算得出其半数有效量（EC_{50}），后续采用 EC_{50} 浓度作为最佳干预浓度。肺动脉平滑肌细胞（pulmonary artery smooth muscle cells，PASMCs）内 Ca^{2+}检测：利用酶解法从小鼠肺动脉中分离出新鲜的 PASMCs，置于无钙 HBSS 溶液中，用 Ca^{2+}荧光探针 Fluo-4 AM 染色，加入 EC_{50} 尼古丁对细胞进行刺激并记录，检测尼古丁刺激前后细胞内相对荧光强度的变化。尼古丁体外孵育时间对小鼠肺动脉肌张力的影响：以 EC_{50} 浓度的尼古丁分别孵育小鼠肺动脉 0、6、12、24 h，用 NE、PE 刺激，比较不同孵育时间对小鼠肺动脉收缩反应的影响。尼古丁孵育后对肺动脉 Kv7 通道的影响：选用 EC_{50} 浓度尼古丁体外孵育肺动脉环 24 h，加入 Kv7 通道抑制剂 XE991（10^{-8}～10^{-5} mol/L）诱导小鼠离体肺动脉收缩，并记录肺动脉张力的变化。**结果**：在 NE、PE 给予一个轻度预刺激后，尼古丁可呈浓度依赖性地收缩小鼠肺动脉（P<0.01），并计算得到其 EC_{50} 为 10^{-8} mol/L。给予 10^{-8} mol/L 浓度尼古丁进行刺激，可显著增加 PASMCs 细胞内 Ca^{2+}浓度（P<0.01）。尼古丁（10^{-8} mol/L）分别孵育离体肺动脉 0、6、12、24 h 后，NE、PE 诱导的肺动脉收缩程度逐渐上升。其中，以尼古丁（10^{-8} mol/L）孵育 24 h 孵育组的增强效应最为显著（P<0.01），确定 24 h 作为最佳干预时间。与对照组相比，尼古丁（10^{-8} mol/L）孵育 24 h 后，Kv7 抑制剂 XE991 诱导的肺动脉收缩张力显著减弱（P<0.01）。**结论**：尼古丁可致小鼠肺动脉张力升高，其机制可能与抑制 Kv7 通道有关。

关键词　尼古丁；肺动脉；肌张力；Kv7 通道

中图分类号：R971.1；R969
文献标志码：A
文 章 编 号：1009-2501(2026)08-1009-07
doi: 10.12092/j.issn.1009-2501.2026.08.001

肺动脉高压（pulmonary arterial hypertension，PAH）是一种以肺动脉重塑为核心，进展迅速且预后不良的疾病，其病理变化包括持续的血管收缩、平滑肌与内皮细胞增殖、炎症反应及局部血栓形成[1-2]。香烟烟雾中的主要成分尼古丁在肺

2025-11-06 收稿　2026-01-08 修回
国家自然科学基金青年基金项目（82204042）；国家自然科学基金面上项目（82373622）；国家卫生健康委员会尘肺病重点实验室开放课题（NHC202307）；山西省科技创新人才团队专项项目（202304051001038）；山西省科技合作交流专项项目（202204041101022）；山西省高等教育“百亿工程”科技引导专项项目（BYJL067）
孟欣，女，硕士研究生，研究方向：微血管病变及防治机制研究。
E-mail: 13271703717@163.com
侯晓敏，通信作者，女，博士，副教授，硕士研究生导师，研究方向：心血管毒理及药理学机制研究。
E-mail: xiaominhou@sxmu.edu.cn

动脉重塑中起着重要作用[3]。既往研究显示，尼古丁可直接作用于肺动脉平滑肌细胞（pulmonary artery smooth muscle cells, PASMCs），影响其功能状态与表型特征，诱导 PASMCs 增殖、迁移及基质重构[4-5]，还可以增强压力诱导的动脉血管张力[6]，从而推动 PAH 病理进展。然而，尼古丁诱导血管反应增强的离子机制仍未完全阐明。

钾离子通道在维持 PASMCs 静息电位及调节血管张力中发挥核心作用[7]。其中，电压依赖性钾通道（Kv）通过调控 K^+外流影响膜电位变化，功能障碍可导致膜去极化、Ca^{2+}内流增加并引起肺动脉收缩[8]。尼古丁已被证实可诱导 PASMCs 膜去极化并促进细胞内 Ca^{2+}水平升高，从而影响血管张力调节[3,9]。在众多 Kv 通道亚型中，Kv7 通道（KCNQ 家族）是调控膜电位和 Ca^{2+}内流、维持血管张力稳态的重要通道，其激活导致 K^+外流，引起细胞超极化从而抑制细胞兴奋性并介导血管舒张，降低血管张力[10-11]。因此，尼古丁是否通过干预 Kv7 通道功能进而调控肺动脉张力，值得进一步探讨。

本研究旨在深入探讨 Kv7 通道在尼古丁诱导小鼠肺动脉肌张力增强中的作用，阐明尼古丁通过 Kv7 通道诱导肺血管收缩的机制，为尼古丁相关 PAH 的防治提供新的实验和理论依据。

1 材料与方法

1.1 实验动物 8 ~ 10 周龄 SPF 级雄性 C57BL/6J 小鼠 40 只，体质量 20 ~ 25 g，购自山西医科大学实验动物中心，小鼠在动物房饲养温度（22±3）℃、相对湿度 45% ~ 60%，自由饮水，光照和黑暗时间各 12 h。动物许可证号：SYXK（晋）2019-0008。

1.2 主要仪器 微血管张力检测仪（DMT 620M）：丹麦 Danish Myo Technology A/S 公司；pH 计（PB-10）：德国 Sartorius 公司；精密天平（BS124S）：德国 Sartorius 公司；SJ-U500 体视显微镜：苏州萨伽光学有限公司；Lab Chart 信号采集分析软件：上海埃德仪器国际贸易有限公司。

1.3 主要试剂 尼古丁（Nicotine）：批号 RH130541，25 g/瓶，罗恩科技有限公司；苯肾上腺素（phenylephrine, PE）：批号 S161304，5 g/瓶，上海阿拉丁生化科技股份有限公司；去甲肾上腺素（norepinephrine, NE）：批号 R122065，10 mg/瓶，罗恩科技有限公司；氯化钾（KCl）：批号 G1819047，500 g/瓶，上海阿拉丁生化科技股份有限公司。

1.4 C57BL/6J 小鼠肺动脉急性分离 使用吸入异氟烷麻醉小鼠，迅速取出肺组织置于预冷 4 ℃ K-H（Krebs-Henseleit）缓冲液中。在体视显微镜下，用眼科剪与眼科镊钝性分离的肺动脉，将其剪成约 2 mm 的肺动脉环，将两根直径 25 μm 的钨丝平行穿入肺动脉管腔内，并将其固定在含 5 mL K-H 的浴槽内，维持 37 ℃，并通有 95%O_2+5%CO_2 混合气体。将浴槽安装在微血管张力测定仪上。当血管张力达到稳定状态，用 60 mmol/L KCl 刺激肺动脉环，若基础张力可稳定达到 2 mN 及以上，即可进行后续实验[12]。

1.5 尼古丁对预刺激状态下小鼠肺动脉收缩作用 参考本团队前期[13]实验方法，急性分离小鼠肺动脉，待检测其活性且张力稳定后，选取稳定张力（≥2 mN）的肺动脉环，分别加入 NE（10^{-9} mol/L）或 PE（3×10^{-10} mol/L）进行轻度预刺激。待预刺激达到稳定后，实验组分别向浴槽内加入尼古丁（10^{-11}、10^{-10}、10^{-9}、10^{-8}、10^{-7}、10^{-6}、10^{-5} mol/L），每次加药后待张力达到稳定坪台再加入下一个浓度，并构建尼古丁浓度-收缩效应曲线。对照组加入等体积的溶剂，重复上述实验。尼古丁引起的收缩以收缩幅度差值与预刺激收缩坪台的百分比表示，并计算其半数有效量（EC_{50}）。

1.6 尼古丁刺激对 C57BL/6J 小鼠 PASMCs 内 Ca^{2+} 的影响 采用酶解法从小鼠肺动脉中急性分离得到小鼠 PASMCs，置于无 Ca^{2+}的 Hanks 平衡盐溶液（Hanks' balanced salt solution, HBSS）中，用 Ca^{2+}荧光探针 Fluo-4AM（5 μmol/L）37 ℃ 染色 0.5 h。用 EC_{50} 浓度的尼古丁刺激细胞，利用荧光显微镜实时检测并拍照记录刺激前后胞内 Ca^{2+}荧光强度的变化[14]。

1.7 尼古丁预孵对小鼠离体肺动脉收缩张力的影响 分别以 EC_{50} 浓度的尼古丁孵育小鼠肺动脉环 0、6、12、24 h[15]，孵育结束后向浴槽内加入 NE（3×10^{-7} mol/L）、PE（10^{-6} mol/L），记录其诱导的张力变化，并比较不同孵育时间对肺动脉收缩张力的影响。

1.8 EC_{50} 浓度尼古丁孵育小鼠肺动脉 24 h 后对 Kv7 通道的影响 以 EC_{50} 浓度的尼古丁孵育小鼠肺动脉环 24 h 后悬挂于微血管张力测定仪上，以 60 mmol/L KCl 验证血管活性后，加入 Kv7 通道抑制剂 XE991（10^{-8}、10^{-7}、10^{-6}、10^{-5} mol/L），记录血管张力变化，构建 XE991 的浓度-收缩效应曲线[16]。

1.9 统计学处理 所有实验数据以均数±标准差（$\bar{x}\pm s$）表示。采用 SPSS 26.0 和 GraphPad Prism 10.0 软件进行统计分析及作图。多组间比较采用单因素方差分析（one-way ANOVA），组间两两比较采用独立样本 *t* 检验。$P<0.05$ 表示差异具有统计学意义。

2　结果

2.1　小鼠肺动脉分离及悬挂过程　在显微镜下分离出小鼠肺动脉，剪成约 2 mm 的血管环，利用 25 μm 钨丝悬挂于微血管张力记录仪上，轻轻旋动旋钮使其达到最佳预刺激状态。利用 60 mmol/L KCl 验证血管活性，选取基础张力 2 mN 以上的血管进行后续实验，具体分离与悬挂过程详见 Fig.1。

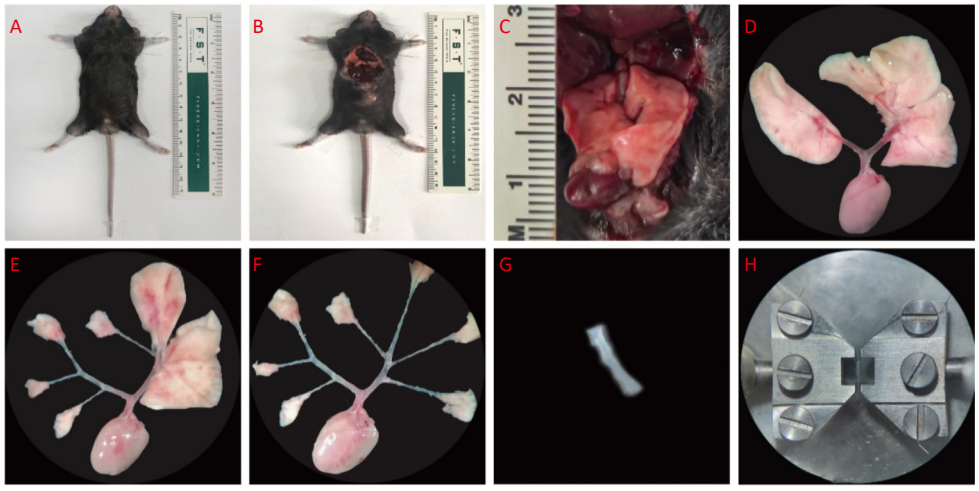


Fig.1　Isolation and mounting of mouse pulmonary arteries

A: mouse in supine position; B: exposure of the thoracic cavity; C: mouse lung tissue; D: observation of the lung under microscope after removal of veins; E: pulmonary artery during the separation process; F: complete isolation of the pulmonary artery; G: pulmonary artery cut into vascular rings; H: vascular rings suspended in the bath of the microvascular tension recording system.

2.2　尼古丁在 NE 或 PE 预刺激条件下浓度依赖性地增强小鼠肺动脉收缩　离体血管张力检测结果显示，在给予 NE（10^{-9} mol/L）或 PE（3×10^{-10} mol/L）预刺激后，依次加入不同浓度尼古丁（10^{-11}、10^{-10}、10^{-9}、10^{-8}、10^{-7}、10^{-6}、10^{-5} mol/L），可呈浓度依赖性地诱导小鼠肺动脉收缩，其收缩坪台随尼古丁浓度升高而逐步上升。通过将尼古丁引发的收缩张力值与预刺激引起的张力坪台值进行比较，计算出尼古丁引起的收缩率。10^{-5} mol/L 尼古丁诱导的收缩率最大。在 NE 预刺激情况下，可引起 28.5% 的收缩率，在 PE 预刺激情况下，可引起 27.7% 的收缩率。结果显示，在预刺激条件下，尼古丁能显著引起肺动脉收缩（$P<0.01$），并计算得到尼古丁的 EC_{50} 为 10^{-8} mol/L，后续采用 EC_{50} 浓度作为尼古丁最佳干预浓度，结果详见 Fig.2。

2.3　尼古丁刺激显著升高肺动脉平滑肌细胞内 Ca^{2+} 水平　Fluo-4 AM Ca^{2+} 荧光探针检测结果显示，在静息状态下，PASMCs 内荧光强度较弱，而在 EC_{50} 浓度（10^{-8} mol/L）尼古丁刺激后，PASMCs 胞内 Ca^{2+} 荧光强度瞬时升高。而对照组加入等体积的溶剂对照刺激后，细胞内 Ca^{2+} 荧光强度几乎没有明显变化，提示尼古丁可显著升高 PASMC 内的 Ca^{2+} 水平，详见 Fig.3。

2.4　尼古丁孵育时间对小鼠肺动脉收缩张力的影响　使用尼古丁（10^{-8} mol/L）分别孵育 0、6、12、24 h C57BL/6J 小鼠肺动脉环后，采用 NE、PE 进行刺激检测其收缩反应，最终的结果以血管环面积标化张力（mN/mm^2）的形式呈现。结果显示，随着尼古丁预孵时间的延长，血管环的最大收缩张力呈时间依赖性增高。其中，以 24 h 孵育组的增强效应最为显著。与尼古丁孵育 0 h 相比，尼古丁孵育 24 h 在 NE 刺激条件下血管收缩张力增加了 75.9%，在 PE 刺激条件下血管收缩张力增加了 77.6%，差异具有统计学意义（$P<0.01$），因此确定 24 h 作为尼古丁的最佳干预时间。结果见 Fig.4。

2.5　Kv7 通道在尼古丁致小鼠肺动脉肌张力增强中的作用　Kv 通道在调节肺动脉平滑肌兴奋性和张力中起重要作用。其中，Kv7 通道作为 Kv 家族的一个亚型，在维持肺动脉基线张力和调节收缩反应中具有特殊功能。为探讨 Kv7 通道在尼古丁诱导的肺动脉收缩增强中的作用，采用 Kv7 通道抑制剂 XE991（10^{-8}、10^{-7}、10^{-6}、10^{-5} mol/L），对 10^{-8} mol/L 尼古丁孵育 24 h 的血管环进行刺激。结果显示，在对照组中，10^{-6} mol/LXE991 即可诱导肺动脉产生收缩，且 10^{-5} mol/LXE991 可产生更为明显的收缩反应。而在尼古丁处理组（EC_{50}，10^{-8} mol/L）中，XE991 对小鼠肺动脉的收缩效应被显著抑制。该结果提示，尼古丁可能对小鼠肺动脉的 Kv7 通道产生了一定的抑制效果，见 Fig.5。

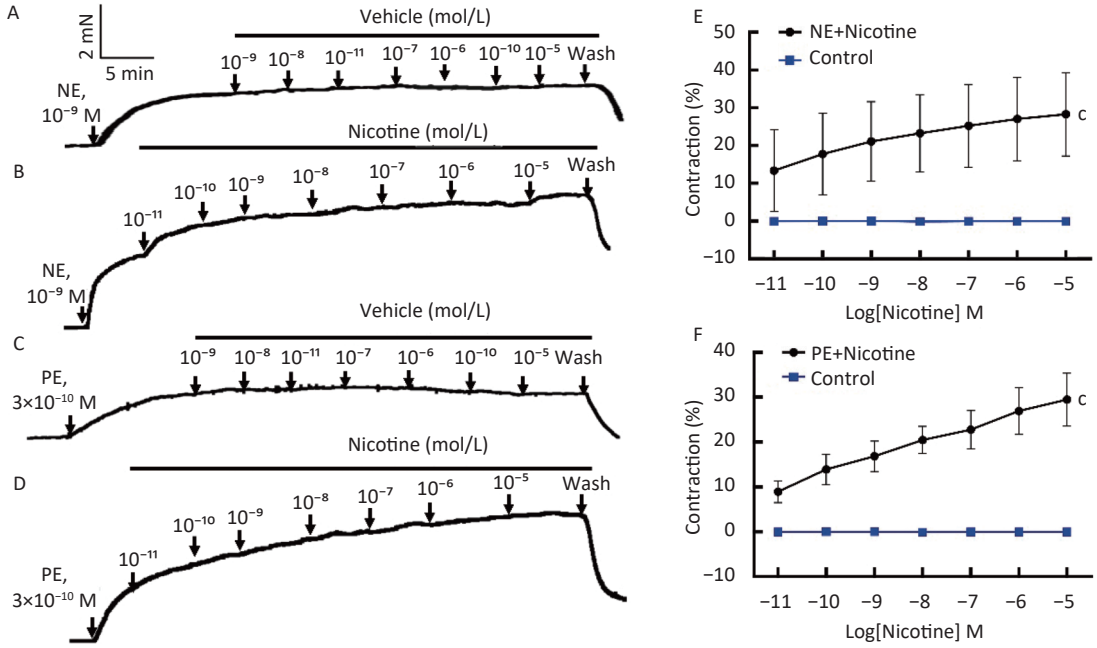


Fig.2 Concentration-dependent contraction of mouse pulmonary arteries induced by nicotine following NE or PE pre-stimulation ($\bar{x}\pm s$, n=6)

A-D: representative tension tracings of mouse pulmonary arteries exposed to concentration-gradient stimulation with vehicle (A,C) or nicotine (B, D) following pre-stimulation with 10^{-9} mol/L NE(A,B) or 3×10^{-10} mol/L PE (C,D). E,F: concentration–response curves of nicotine-induced contraction in mouse pulmonary arteries pre-stimulated with 10^{-9} mol/L NE (E) or 3×10^{-10} mol/L PE(F). ^cP<0.01, compared with control group.

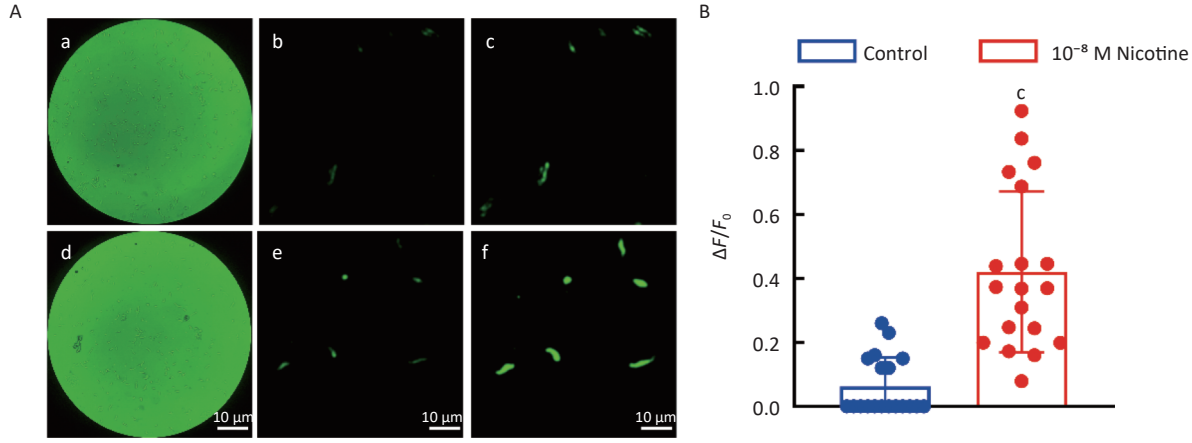


Fig.3 Nicotine-induced changes in intracellular calcium concentration in PASMCs ($\bar{x}\pm s$, n=20)

A: (a,d) acutely isolated mouse PASMCs by enzymatic digestion. (b,e) cells stained with Fluo-4 AM calcium fluorescent probe for 30 minutes. (c,f) after staining, cells were stimulated with 10^{-8} mol/L nicotine or an equal volume of vehicle and observed under a 20×objective. B: quantitative analysis of relative fluorescence intensity changes in PASMCs induced by 10^{-8} mol/L nicotine. ^cP<0.01, compared with control group.

3 讨论

PAH 是一种由多种因素引发的严重心肺疾病，其病理特征包括肺动脉持续性收缩与血管重构[17]。吸烟被认为是引发 PAH 的危险因素之一，尼古丁作为香烟烟雾的主要成分，被认为在肺血管功能异常及 PAH 发生发展中起关键作用[9,18]。课题组前期研究发现，尼古丁染毒可增高小鼠肺动脉张力，增强血管反应性，引发并加剧肺动脉高压的进展[19]。

在本研究中，采用轻度预刺激条件来模拟肺动脉在轻度收缩或者应激状态下的反应状态。实验设计参考课题组前期[13]在研究乙醇对冠状动脉的作用，当肺动脉处于轻度预刺激状态时，膜电位已发生部分去极化，细胞内信号通路被初步激活，离子通道开放处于动态调节阶段，其对于外界刺

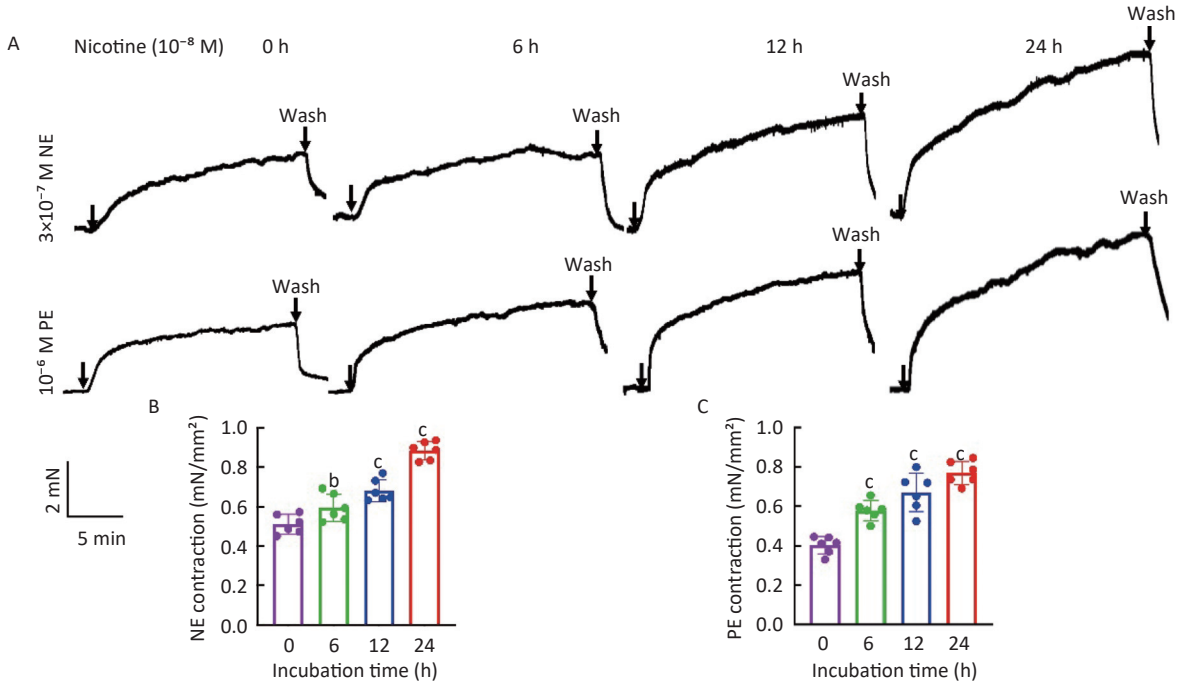


Fig.4　Effect of incubation time with nicotine on the tension of mouse pulmonary artery ($\bar{x}\pm s$, n=20)

A: representative tension tracings of mouse pulmonary arteries after incubation with nicotine at EC_{50}(10^{-8} mol/L) for 0, 6, 12, or 24 h, followed by stimulation with NE or PE. (B,C): quantitative analysis of pulmonary artery tension induced by NE or PE after different incubation times with nicotine (10^{-8} mol/L); ^{b}P<0.05, ^{c}P<0.01, compared with control group.

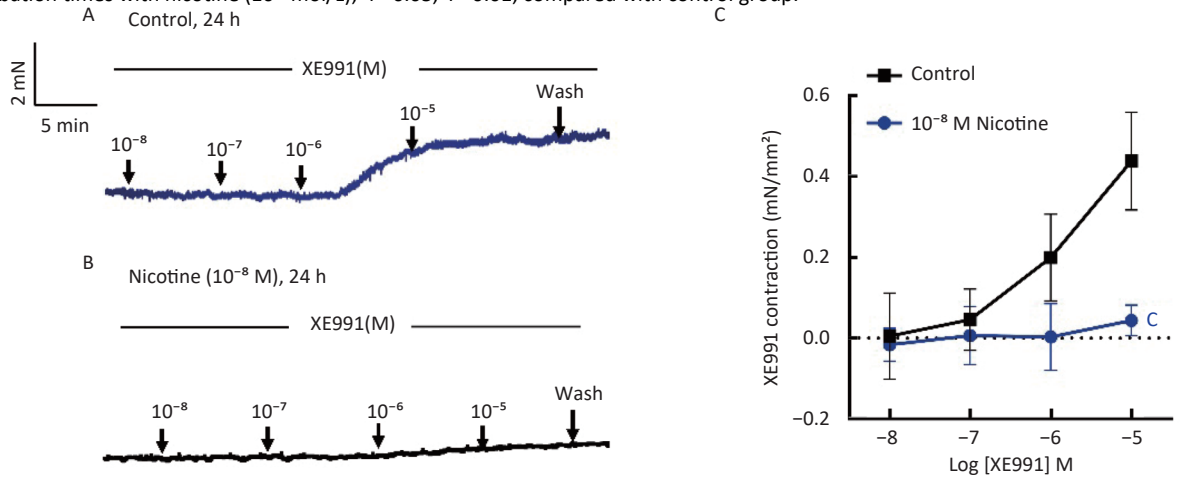


Fig.5　Nicotine-induced contraction of mouse pulmonary arteries and its association with Kv7 channels ($\bar{x}\pm s$, n=6)

A,B: Representative tension tracings of mouse pulmonary arteries incubated for 24 h with vehicle or 10^{-8} mol/L nicotine, followed by concentration-gradient stimulation with XE991. C: Quantitative analysis of pulmonary artery contraction induced by XE991 after 24 h incubation with vehicle or 10^{-8} mol/L nicotine. ^{c}P<0.01, compared with control group.

激更为敏感[20]。因此，采用轻度预刺激条件可放大外源性刺激对于离子通道的调控作用，从而更精确地反映出尼古丁在病理性刺激下引发肺动脉收缩机制。在预刺激条件下，尼古丁可浓度依赖性地引起 C57BL/6J 小鼠肺动脉收缩，其收缩坪台逐渐升高，计算得出最大 EC_{50} 为 10^{-8} mol/L。进一步利用 PASMCs 进行钙成像检测发现，使用 10^{-8} mol/L 浓度尼古丁刺激可显著增强胞内 Ca^{2+}荧光信号强度，提示尼古丁可促进 Ca^{2+}内流，从而增强肺动脉收缩。使用 10^{-8} mol/L浓度分别孵育小鼠肺动脉 0、6、12、24 h，观察到随着孵育时间的增加，小鼠肺动脉对收缩剂的反应性逐渐增强，且 24 h 相比于 0 h 增强效果最为显著。基于上述结果，我们选用 10^{-8} mol/L 浓度尼古丁，孵育 24 h 作为最佳干预条件来进行后续实验。

Kv7 通道作为维持平滑肌静息电位的重要离子通道之一，其开放可引起 K^{+}外流，从而抑制膜去极化，降低 Ca^{2+}内流[20]；当 Kv7 通道受抑制时，

膜电位升高，激活 L 型 Ca^{2+}通道，从而导致肌张力升高[21]。通过钙成像实验显示，尼古丁可诱导 PASMCs 膜去极化并促进细胞内 Ca^{2+}水平升高。为探讨 Kv7 通道是否在尼古丁致小鼠肺动脉肌张力异常中起作用，本课题组采用 10^{-8} mol/L 浓度的尼古丁孵育 24 h 后，用 Kv7 通道抑制剂 XE991 进行刺激，结果表明，与对照组相比，尼古丁组 XE991 诱导的收缩反应显著减弱，提示 Kv7 通道已被尼古丁抑制，这可能是尼古丁诱导肺动脉收缩增强的一个关键机制。本研究主要采用血管张力检测及药理学干预手段，从功能层面探讨 Kv7 通道在尼古丁致肺动脉肌张力增强中的潜在作用。在后续的实验研究中，将采用膜片钳等技术手段，直接探究尼古丁对 Kv7 通道的直接影响。

综上所述，本研究证实在预刺激条件与体外较长时间孵育条件下，尼古丁均可显著增强肺动脉收缩，并引发细胞内 Ca^{2+}水平升高。提示尼古丁可能通过抑制 Kv7 通道促进 Ca^{2+}内流，导致肺动脉肌张力异常升高。该结果为阐明尼古丁致肺动脉肌张力异常的离子机制提供了实验依据，也为相关肺动脉疾病的防治提供了潜在靶点。

参考文献

[1] Gao H, Song Y, Liu K, et al. The impact of different smoking behavior on pulmonary function and pulmonary hypertension among Chinese male patients with chronic obstructive pulmonary disease [J]. Int J Chron Obstruct Pulmon Dis, 2024, 19: 1315-1331.

[2] Balistrieri A, Makino A, Yuan JX. Pathophysiology and pathogenic mechanisms of pulmonary hypertension: role of membrane receptors, ion channels, and Ca^{2+} signaling [J]. Physiol Rev, 2023, 103(3): 1827-1897.

[3] Andreu-Martínez R, Munar-Rubert O, Rodríguez-Pérez J, et al. Uncovering a novel role of nAChRs in oxidative stress-mediated vascular dysfunction in COPD [J]. Redox Biol, 2025, 86: 103838.

[4] Sevilla-Montero J, Labrousse-Arias D, Fernández-Pérez C, et al. Cigarette smoke directly promotes pulmonary arterial remodeling and Kv7.4 channel dysfunction [J]. Am J Respir Crit Care Med, 2021, 203(10): 1290-1305.

[5] Roxlau ET, Pak O, Hadzic S, et al. Nicotine promotes e-cigarette vapour-induced lung inflammation and structural alterations [J]. Eur Respir J, 2023, 61(6): 2200951.

[6] Fried ND, Morris TM, Whitehead A, et al. Angiotensin II type 1 receptor mediates pulmonary hypertension and right ventricular remodeling induced by inhaled nicotine [J]. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2021, 320(4): H1526-H1534.

[7] Jackson WF. Potassium channels in regulation of vascular smooth muscle contraction and growth [J]. Adv Pharmacol, 2017, 78: 89-144.

[8] Redel-Traub G, Sampson KJ, Kass RS, et al. Potassium channels as therapeutic targets in pulmonary arterial hypertension [J]. Biomolecules, 2022, 12(10): 1386.

[9] Whitehead AK, Erwin AP, Yue X. Nicotine and vascular dysfunction [J]. Acta Physiol (Oxf), 2021, 231(4): e13631.

[10] Al-Chawishly M, Loveland O, Gurney AM. Kv7 channels in cyclic-nucleotide dependent relaxation of rat intrapulmonary artery [J]. Cells, 2022, 12(3): 429.

[11] Mondéjar-Parreño G, Barreira B, Callejo M, et al. Uncovered contribution of Kv7 channels to pulmonary vascular tone in pulmonary arterial hypertension [J]. Hypertension, 2020, 76(4): 1134-1146.

[12] 张珂瑜, 侯晓敏, 邹佳佳, 等. 杜鹃素通过激活 Kv 通道舒张 C57BL/6J 小鼠离体肺动脉 [J]. 中国临床药理学与治疗学, 2021, 33(3): 202-208.

[13] Yang R, Liu Y, Hou X, et al. MAPKs-mediated modulation of the myocyte voltage-gated K^+ channels is involved in ethanol-induced rat coronary arterial contraction [J]. Eur J Pharmacol, 2018, 834: 274-280.

[14] Petsophonsakul P, Burgmaier M, Willems B, et al. Nicotine promotes vascular calcification via intracellular Ca^{2+}-mediated, Nox5-induced oxidative stress, and extracellular vesicle release in vascular smooth muscle cells [J]. Cardiovasc Res, 2022, 118(9): 2196-2210.

[15] Singhrao N, Flores-Tamez VA, Moustafa YA, et al. Nicotine impairs smooth muscle cAMP signaling and vascular reactivity [J]. Microcirculation, 2024, 31(6): e12871.

[16] Yeung SY, Greenwood IA. Electrophysiological and functional effects of the KCNQ channel blocker XE991 on murine portal vein smooth muscle cells [J]. Br J Pharmacol, 2005, 146(4): 585-595.

[17] Bousseau S, Sobrano-Fais R, Gu S, et al. Pathophysiology and new advances in pulmonary hypertension [J]. BMJ Med, 2023, 2(1): e000137.

[18] 秦小江, 许欣荣, 杜旭峰, 等. 慢性尼古丁干预抑制 Kv1.5 致小鼠肺动脉舒缩异常的机制研究 [J]. 毒理学杂志, 2021, 35(6): 439-444.

[19] 赵旭, 侯晓敏, 孙琳, 等. 尼古丁上调 Cx43 促发 PASMCs 炎性反应致小鼠肺动脉重构的机制 [J]. 环境卫生学杂志, 2024, 14(9): 780-787.

[20] Pereira da Silva EA, Martín-Aragón Baudel M, Navedo MF, et al. Lon channel molecular complexes in vascular smooth muscle [J]. Front Physiol, 2022, 13: 865239.

[21] Climént B, Vera-Zambrano A, Barreira B, et al. The novel Kv7 channel activator URO-K10 exerts enhanced pulmonary vascular effects independent of the KCNE4 regulatory subunit [J]. Biomed Pharmacother, 2023, 164: 114952.

Effects of Kv7 channels in nicotine-induced enhancement of pulmonary artery tone in mice

MENG Xin[1,2], QIN Xiaojiang[1,2,3], GUO Su[2,4], MAN Zhi[1,2], FANG Mengwei[2,4], REN Xiaoxia[5], ZHENG Zhifa[6], YANG Lingbo[6], SHI Yiwei[7], HOU Xiaomin[2,4]

[1] Academy of Medical Sciences, Shanxi Medical University, Taiyuan 030001, Shanxi, China; [2] Environmental Exposure Vascular Diseases Institute, Shanxi Medical University, Taiyuan 030001, Shanxi, China; [3] School of Public Health, Shanxi Medical University, Taiyuan 030001, Shanxi, China; [4] School of Basic Medical Sciences, Shanxi Medical University, Taiyuan 030001, Shanxi, China; [5] Department of Respiratory and Critical Care Medicine, China-Japan Friendship Hospital, Beijing 100020, China; [6] Department of Cardiothoracic Surgery, Shanxi Bethune Hospital, Taiyuan 030032, Shanxi, China; [7] Department of Respiratory and Critical Care Medicine, the First Hospital of Shanxi Medical University, Taiyuan 030001, Shanxi, China

ABSTRACT **AIM**: To investigate the role of Kv7 channels in nicotine-induced enhancement of pulmonary arterial tension in mice. **METHODS**: Mice were anesthetized, and lung tissues were quickly removed and placed in 4 ℃ Krebs–Henseleit (K-H) buffer. Pulmonary arteries were dissected under a microscope and cut into rings approximately 2 mm in length. Effect of nicotine on isolated pulmonary artery tension under agonist prestimulation: pulmonary artery rings with a basal tension >2 mN were precontracted with norepinephrine (NE) or phenylephrine (PE) to reach a plateau. Different concentrations of nicotine (10^{-11}-10^{-5} mol/L) were then added, and changes in tension were recorded. The half-maximal effective concentration (EC_{50}) was calculated and used as the optimal intervention concentration for subsequent experiments. Detection of intracellular Ca^{2+} in pulmonary artery smooth muscle cells (PASMCs): fresh PASMCs were isolated from mouse pulmonary arteries using enzymatic digestion and incubated in Ca^{2}-free HBSS solution. Cells were stained with the Ca^{2+}-sensitive fluorescent probe Fluo-4 AM, stimulated with EC_{50} nicotine, and fluorescence intensity before and after stimulation was recorded to evaluate changes in intracellular Ca^{2+} concentration. Effect of incubation time on nicotine-induced pulmonary arterial tension: pulmonary artery rings were incubated with EC_{50} nicotine for 0, 6, 12, and 24 h, respectively, followed by NE or PE stimulation. The contractile responses at different incubation times were compared. Effect of nicotine incubation on Kv7 channel function: Pulmonary artery rings were incubated with EC_{50} nicotine for 24 h, then treated with the Kv7 channel inhibitor XE991 (10^{-8}-10^{-5} mol/L). The induced contractions were recorded to assess Kv7 channel activity. **RESULTS**: After mild prestimulation with NE or PE, nicotine induced concentration-dependent contractions of mouse pulmonary arteries (P<0.01), with an EC_{50} of 10^{-8} mol/L. Nicotine stimulation at 10^{-8} mol/L significantly increased intracellular Ca^{2+} levels in PASMCs (P<0.01). Nicotine (10^{-8} mol/L) incubation for 0, 6, 12, and 24 h progressively enhanced NE- and PE-induced contractions, with the 24 h group showing the most pronounced effect (P<0.01), which was selected as the optimal intervention duration. Compared with the control group, nicotine (10^{-8} mol/L, 24 h) incubation significantly attenuated XE991-induced pulmonary artery contraction (P<0.01). **CONCLUSION**: Nicotine increases pulmonary arterial tension in mice, and the underlying mechanism may be related to the inhibition of Kv7 channels.

KEYWORDS nicotine; pulmonary artery; vascular tension; Kv7 channel