

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2019.24.005

激活 κ -阿片受体抑制小鼠心肌缺血再灌注损伤的作用及机制*

王凯燕 刘振华 王渊博 史睿 刘超阳 付峰 李娟 张淑苗 郭海涛[△] 裴建明[△]
(空军军医大学基础医学院生理与病理生理学教研室 陕西 西安 710032)

摘要 目的: 探讨外源性 κ -阿片受体激动剂 U50,488H 对小鼠缺血再灌注损伤心肌的保护作用及其机制。**方法:** 选择成年雄性 C57 小鼠 40 只,将其随机分为 4 组:假手术组(Sham),缺血再灌注组(I/R), κ -阿片受体激动剂 U50,488H+I/R 组(U+I/R), κ -阿片受体阻断剂 nor-BNI+U50,488H+I/R 组(N+U+I/R)。建立小鼠急性心肌缺血再灌注在体模型,通过小动物超声仪检测小鼠心功能,采用氯化三苯基四氮唑-伊文思蓝双染检测心肌梗死面积,检测血清心肌损伤物 LDH 活性和 cTnI 含量,Western-Blot 检测 CaMKII 和磷酸化 CaMKII 的表达。**结果:** 与 Sham 组相比,I/R 组小鼠心功能下降,心肌梗死面积增加,血清 LDH 和 cTnI 水平升高 ($P<0.05$),心肌组织内磷酸化 CaMKII 的表达明显增加 ($P<0.05$);与 I/R 组相比,U+I/R 组心功能改善,心肌梗死面积减小,血清 LDH 和 cTnI 水平降低 ($P<0.05$),心肌组织内 CaMKII 磷酸化被抑制 ($P<0.05$)。给予 nor-BNI 后,上述 U50,488H 的作用均被阻断。**结论:** κ -阿片受体激活可抑制 CaMKII 磷酸化并抑制心肌缺血再灌注损伤,改善心功能。

关键词: 心肌缺血再灌注损伤; κ -阿片受体; 钙/钙调蛋白依赖的蛋白激酶 II

中图分类号: R-33; R54 **文献标识码:** A **文章编号:** 1673-6273(2019)24-4624-04

Role of Activation of κ -opioid Receptor in Inhibiting Myocardial Ischemia Reperfusion Injury in Mice*

WANG Kai-yan, LIU Zhen-hua, WANG Yuan-bo, SHI Rui, LIU Chao-yang, FU Feng, LI Juan, ZHANG Shu-miao,
GUO Hai-tao[△], PEI Jian-ming[△]

(Department of Physiology, School of Basic Medicine, Fourth Military Medical University, Xi'an, Shaanxi, 710032, China)

ABSTRACT Objective: To investigate the protective effect of exogenous κ -opioid receptor agonist U50,488H on myocardial ischemia reperfusion injury in mice and its potential underlying mechanism. **Methods:** 40 adult male C57 mice were randomly divided into 4 groups: Sham group (Sham), ischemia-reperfusion group (I/R), κ -opioid receptor agonist U50,488H+I/R group (U+I/R), κ -opioid receptor blocker nor-BNI+U50,488H+I/R group (N+U+I/R). In vivo model of acute myocardial ischemia reperfusion in mice was established. The cardiac function was detected by ultrasound of small animals. Myocardial infarction area was detected by TTC/Evan's blue staining. Serum LDH activity and cTnI content were collected and detected by kits. The expression of CaMKII and phosphorylated CaMKII were detected by western-blotting. **Results:** Compared with the sham group, cardiac function was decreased in I/R group, myocardial infarction area and the level of serum LDH and cTnI were increased in serum ($P<0.05$), and the expression of phosphorylated CaMKII in myocardial tissue was significantly increased ($P<0.05$). Compared with the I/R group, the U+I/R group showed improved cardiac function, decreased myocardial infarction area, the decreased levels of LDH and cTnI in the serum ($P<0.05$), and inhibited phosphorylated CaMKII in the myocardial tissue ($P<0.05$). These effects of U50,488H were blocked by nor-BNI. **Conclusion:** κ -opioid receptor activation inhibits myocardial ischemia-reperfusion injury and improves cardiac function, and the protective effect of κ -opioid receptor activation may be associated with the reduced expression level of p-CaMKII, which needs further investigation.

Key words: Myocardial ischemia reperfusion injury; κ -opioid receptor; CaMKII

Chinese Library Classification(CLC): R-33; R54 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2019)24-4624-04

前言

缺血性心脏病已成为心血管疾病中引起患者死亡的主要原因。及时有效地恢复缺血部位血流是挽救缺血性心脏病的根

本措施。临床上对心肌缺血患者的救治主要通过心脏介入性治疗、搭桥手术和溶栓等方式恢复缺血部位血流再灌,但是缺血心肌在恢复血液灌注后,可引起超微结构、功能、代谢及电生理方面进一步损伤,即心肌缺血/再灌注损伤(myocardial is-

* 基金项目:国家自然科学基金项目(81770243);陕西省中药管理局中医药项目(JCMS058);陕西省自然科学基金研究计划(2018JM7114)

作者简介:王凯燕(1995-),女,硕士研究生,主要从事心血管基础研究,电话:15229890921, E-mail: wgkaiyan@163.com

[△] 通讯作者:裴建明(1967-),男,博士,教授,主要从事心血管基础研究,电话:13892854325, E-mail: jmpei@fmmu.edu.cn;

郭海涛(1973-),女,博士,副教授,主要从事心血管基础研究,电话:13572005832, E-mail: haitaoguo@fmmu.edu.cn

(收稿日期:2019-06-01 接受日期:2019-06-25)

chema/reperfusion injury, MIRI)。目前心肌缺血部位血流再通引起的缺血再灌注损伤是缺血性心脏病患者接受治疗后心功能恢复面临的主要障碍^[1,2]。探讨心肌缺血再灌注损伤的发病机制,寻找潜在的治疗靶点,是当前亟待解决的一个重要问题。阿片受体(opioid receptor, OR)不仅分布于中枢神经系统,还广泛分布于心血管系统。阿片类药物除了具有镇痛作用外,还可通过激活阿片受体来调节和维持心脏功能^[3,4]。在心血管系统中, κ -阿片受体亚型占据主导地位^[5]。大量研究表明, κ -阿片受体的激活可以调节心脏节律和心血管舒缩功能,提高损伤心肌的耐受力^[6,7]。钙/钙调蛋白依赖的蛋白激酶 II (CaMKII) 是一种多功能的丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶,参与细胞内钙稳态的调节^[8,9]。研究发现,在心肌缺血再灌注过程中,CaMKII 的磷酸化介导细胞内钙离子超载,加重心肌损伤^[10-12],提示 CaMKII 磷酸化参与了心肌缺血再灌注损伤过程。本课题旨在探讨激活 κ -阿片受体可否通过抑制 CaMKII 磷酸化减轻心肌缺血再灌注心肌损伤并研究其潜在机制。

1 材料与方法

1.1 材料

6 至 8 周龄雄性 C57 小鼠 40 只,体质量 25-30 g,购买于空军军医大学动物实验中心。U50,488H(κ -阿片受体激动剂)和 nor-BNI(κ -阿片受体拮抗剂)购买于美国 Tocris 公司。CaMKII 抗体、p-CaMKII 抗体及 GAPDH 抗体均购于 CST 公司。

1.2 方法

1.2.1 心肌缺血/再灌注模型建立及分组 将 40 只 6 至 8 周龄雄性 C57 小鼠随机分成四组,分别是假手术组(Sham),缺血再灌注组(I/R), κ -阿片受体激动剂 U50,488H+I/R 组(U+I/R), κ -阿片受体阻断剂 nor-BNI+U50,488H+I/R 组(N+U+I/R)。小鼠经腹腔注射 1%戊巴比妥钠(0.15 mL/25 g)麻醉后,进行气管插管,调节呼吸频率为 200 次/min,潮气量 150 μ L,连接心电图监护仪,于小鼠胸骨左侧第 3、4 肋间做手术切口,暴露心脏,剥离心包膜,在体式显微镜下确定冠状动脉左前降支(LAD)部位后,采用 7-0 带线缝合针于左心耳下缘 1 cm 处穿过待结扎加压。Sham 组不结扎加压,仅在假手术开始前通过腹腔注射给予生理盐水(4 mL/kg);I/R 组在结扎 LAD 前通过腹腔注射给予生理盐水(4 mL/kg)并开始计时,观察到心电图 ST 段持续弓背抬高,确定心肌缺血成功,30 min 后松脱结扎线再灌注 3 h;U+I/R 组在结扎 LAD 前 5 min 通过腹腔注射给予 U50,488H(3 mg/kg),后续处理同 I/R 组;N+U+I/R 组在结扎 LAD 前 20 min 通过腹腔注射给予 nor-BNI(4 mg/kg),后续处理同 U+I/R 组。再灌注结束后收集心脏和血液,进行相关指标检测。

1.2.2 心功能检测 模型建立完成后进行心功能检测,使用异氟烷再次麻醉小鼠并固定于恒温垫上,连接超声后获取胸骨旁长轴切面 M 型超声结果,并保留 6 个持续心动周期平均值为原始数据,应用软件自动测算左心室射血分数(ejection fraction, EF)和左心室短轴缩短率(fractional shortening, FS)。

1.2.3 心肌梗死面积检测 模型建立完成后,重新结扎左冠状动脉,颈部取完血后,从主动脉根部注射 1%的伊文氏蓝溶液后,立即摘取心脏置于 -80℃ 冰箱,冷却 10 min 后取出切成 1-2 mm 的薄片,将切片置于 1%的 TTC 溶液中,37℃ 孵育 15 min 后用

多聚甲醛固定并拍照,其中蓝色区域为非缺血区,红色区域为缺血非梗死区,白色区域为缺血梗死区。用 Image-Pro Plus 6.0 软件计算各个区域面积。心肌梗死面积 = (缺血梗死区面积 / (缺血梗死区面积 + 缺血非梗死区面积)) $\times$ 100%。

1.2.4 血清 LDH 和 cTnI 水平检测 模型建立完成后,立即从颈动脉取血,静置 20 min,3000 r/min 离心 10 min,取血清,按照各试剂盒说明书检测血清 LDH 活性和 cTnI 含量。

1.2.5 Western Blot 检测 提取新鲜心肌缺血区组织蛋白,按 1:4 体积加入 5 $\times$ Loading buffer 煮沸变性。经 SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳,转膜后,在 5%的脱脂牛奶中封闭孵育 1 h,4℃ 孵育一抗过夜, PBST 洗三次,山羊抗兔或山羊抗鼠 IgG 抗体室温孵育 1 h, PBST 洗三次,化学发光法发光显影。

1.3 统计学处理

实验数据均以 Mean $\pm$ SEM 表示,采用 Graph-Pad Prism Software Version 6.0 统计程序进行统计学分析。各组间数据比较采用单因素方差分析(one-way analysis of variance, ANOVA),以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 激活 κ -阿片受体对 MI/R 小鼠心功能的影响

与 Sham 组相比,I/R 组小鼠左心室射血分数(LVEF)和左心室短轴缩短率(LVFS)显著降低($P < 0.05$);与 I/R 组相比,U+I/R 组小鼠 LVEF 和 LVFS 升高;给予 κ -阿片受体阻断剂 nor-BNI 干预后,U50,488H 的该作用被抑制($P < 0.05$),该结果表明在缺血再灌注损伤过程中,U50,488H 可通过激活 κ -阿片受体改善小鼠心功能。见图 1。

2.2 激活 κ -阿片受体对 MI/R 小鼠心肌梗死面积的影响

与 Sham 组相比,I/R 组小鼠心肌梗死面积显著增加($P < 0.05$);与 I/R 组相比,U+I/R 组小鼠心肌梗死面积减少($P < 0.05$);给予 κ -阿片受体阻断剂 nor-BNI 干预后,U50,488H 的该作用被抑制($P < 0.05$)。见图 2。

2.3 激活 κ -阿片受体对 MI/R 小鼠血清 LDH 和 cTnI 的影响

与 Sham 组相比,I/R 组小鼠血清心肌损伤酶 LDH 水平显著升高,cTnI 释放增加($P < 0.05$);与 I/R 组相比,U+I/R 组小鼠血清 LDH 和 cTnI 水平明显降低($P < 0.05$);给予 κ -阿片受体阻断剂 nor-BNI 干预后,U50,488H 的该作用被抑制($P < 0.05$),该结果表明 U50,488H 可抑制心肌缺血再灌注损伤。见图 3。

2.4 激活 κ -阿片受体对 MI/R 小鼠心肌 CaMKII 磷酸化的影响

与 Sham 组相比,I/R 组小鼠心肌组织 p-CaMKII 的表达明显增加($P < 0.05$);与 I/R 组相比,U+I/R 组小鼠心肌组织 p-CaMKII 的增加被抑制($P < 0.05$);给予 κ -阿片受体阻断剂 nor-BNI 干预后,U50,488H 的该作用被抑制($P < 0.05$),该结果提示 U50,488H 可能通过抑制 CaMKII 磷酸化发挥心肌保护作用。见图 4。

3 讨论

目前,临床上对缺血性心肌的治疗主要通过经皮冠状动脉介入(percutaneous coronary intervention, PCI)等治疗技术实现缺血部位心肌血流的再灌注,但随之而来的心肌缺血再灌注损伤(MI/R)是导致患者治疗后心功能恢复障碍的主要原因。心肌

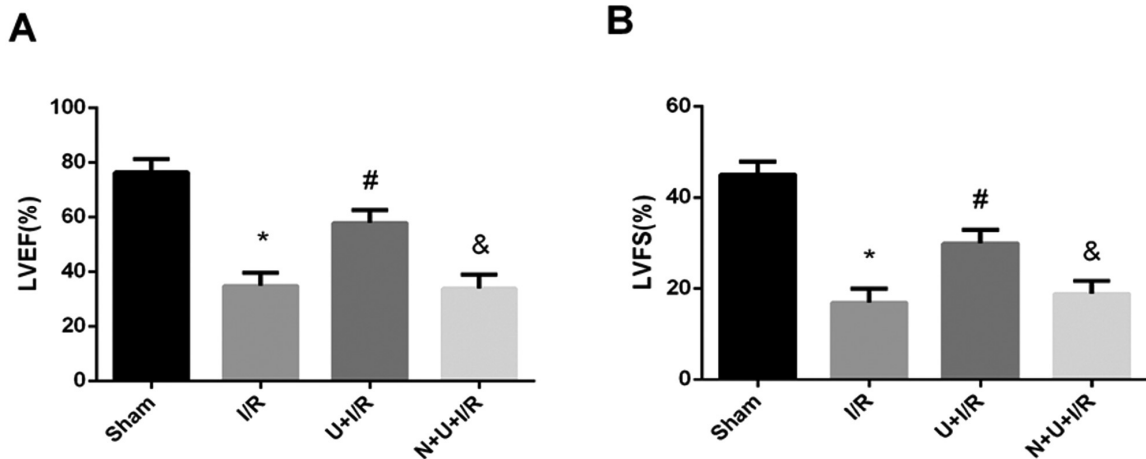


图1 U50,488H对缺血再灌注小鼠心功能的影响(n=4-6, *与Sham组相比, $P<0.05$; #与I/R组相比, $P<0.05$; &与U+I/R组相比, $P<0.05$)

Fig.1 Effects of U50,488H on cardiac function in MI/R mice. (n=4-6, * vs Sham, $P<0.05$; # vs I/R, $P<0.05$; & vs U+I/R, $P<0.05$)

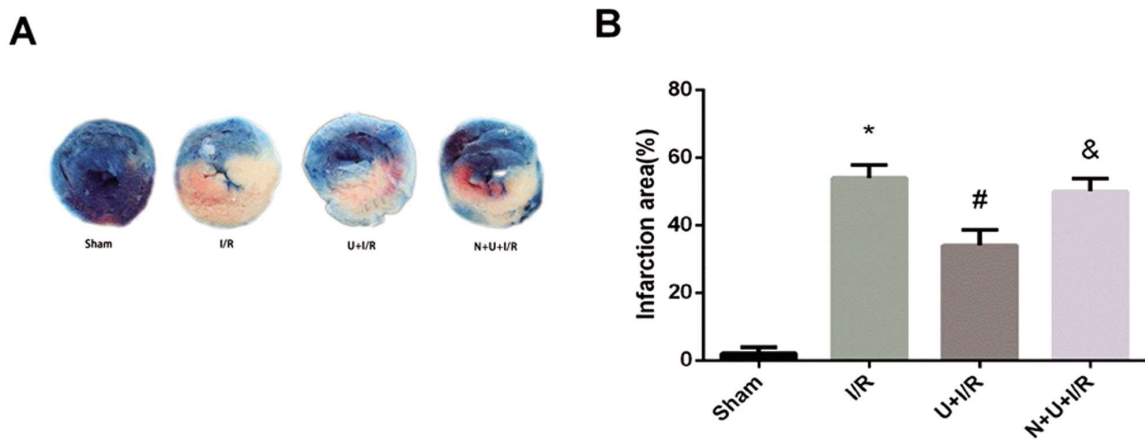


图2 U50,488H对缺血再灌注小鼠心肌梗死面积的影响(n=4-6, *与Sham组相比, $P<0.05$; #与I/R组相比, $P<0.05$; &与U+I/R组相比, $P<0.05$)

Fig.2 Effects of U50,488H on cardiac infarct size in MI/R mice. (n=4-6, * vs Sham, $P<0.05$; # vs I/R, $P<0.05$; & vs U+I/R, $P<0.05$)

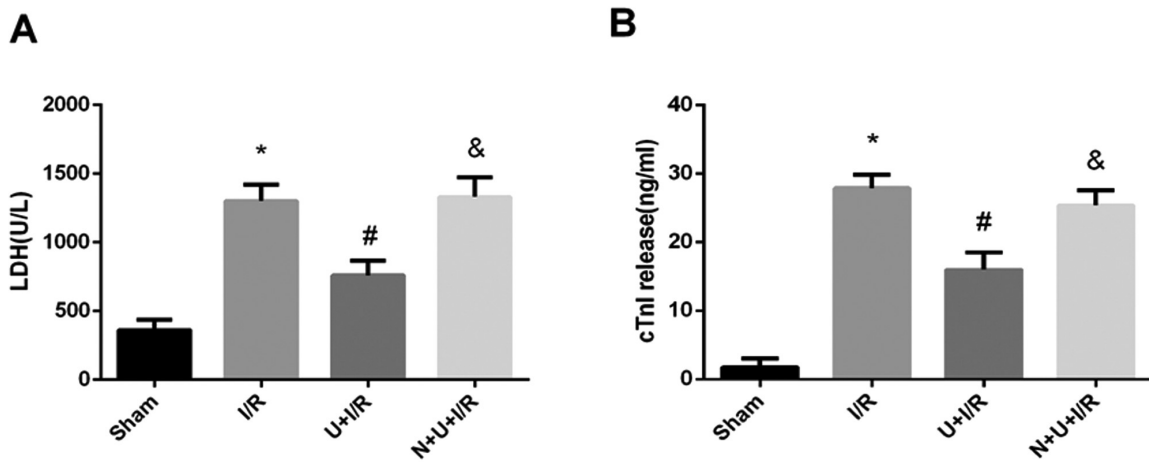


图3 U50,488H对缺血再灌注小鼠血清LDH和cTnI水平的影响(n=4-6, *与Sham组相比, $P<0.05$; #与I/R组相比, $P<0.05$; &与U+I/R组相比, $P<0.05$)

Fig.3 Effects of U50,488H on serum LDH and cTnI levels in MI/R mice. (n=4-6, * vs Sham, $P<0.05$; # vs I/R, $P<0.05$; & vs U+I/R, $P<0.05$)

缺血再灌注损伤的病理生理过程复杂,涉及多种与细胞存活,损伤修复和细胞因子释放有关的分子机制和信号通路,因此,探讨心肌缺血再灌注的内在机制,寻找有效的干预靶点是治疗心肌缺血再灌注损伤的关键。阿片受体作为G蛋白偶联受体家族的主要成员,在缺血再灌注损伤过程中可激活下游蛋白激酶的瀑布级联反应,通过多种信号通路发挥心肌保护作用^[13]。研究表明,阿片受体激动剂处理可以有效提高心肌缺血再灌注

损伤的耐受性,改善心脏兴奋收缩耦联,降低心律失常的^[6,14]发生。同时,激活阿片受体还可以调节心血管的舒张和收缩作用^[15]。本课题组的前期研究表明,激活 κ -阿片受体具有一定的心肺保护作用。本研究进一步表明,在心肌缺血再灌注过程中, κ -阿片受体选择性激动剂U50,488H对心肌的保护作用,主要表现为心功能显著提高,心肌梗死面积和心肌细胞内LDH及TnI的释放减少,而这些作用可被 κ -阿片受体阻断剂nor-BNI抑

制。该研究进一步明确表明 κ -阿片受体可作为治疗心肌缺血再灌注损伤的药理学受体靶点。

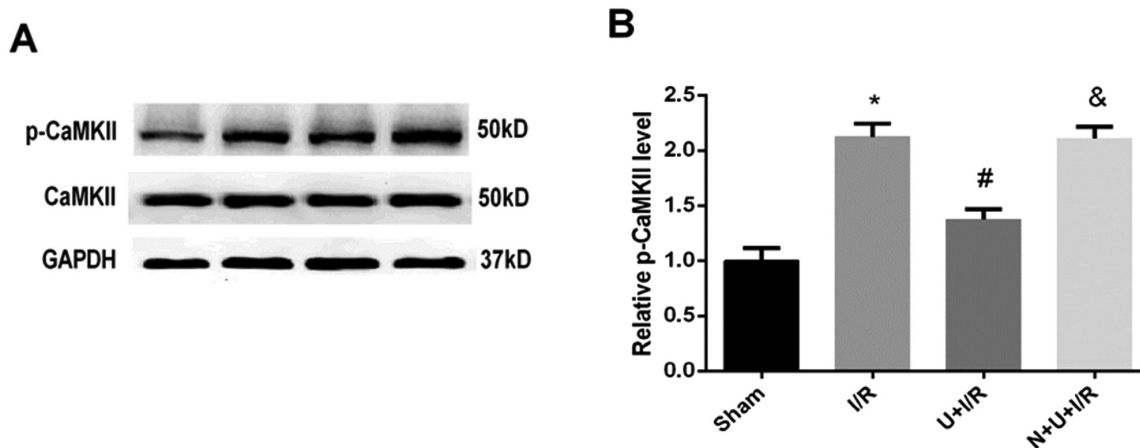


图4 U50,488H对缺血再灌注小鼠心肌磷酸化CaMKII表达的影响($n=4-6$, *与Sham组相比, $P<0.05$; #与I/R组相比, $P<0.05$; &与U+I/R组相比, $P<0.05$)

Fig.4 Effects of U50,488H on the expression of p-CaMKII in MI/R mice heart. ($n=4-6$, * vs Sham, $P<0.05$; # vs I/R, $P<0.05$; & vs U+I/R, $P<0.05$)

在心脏收缩舒张过程中,心肌细胞的兴奋-收缩耦联与钙离子浓度的变化密切相关^[16]。心肌细胞内钙离子稳态是心肌收缩舒张功能正常发挥的关键。心肌缺血再灌注损伤后,钙离子通道功能障碍及其介导的电生理稳态的失衡是心律失常发生和心功能降低的主要原因^[17,18]。调节钙稳态的分子机制非常复杂,其中CaMKII是细胞内调节钙离子水平的重要蛋白激酶之一。既往研究表明,在应激状态下细胞内钙稳态失衡与CaMKII的过度活化密切相关^[19]。CaMKII是一种能够被被钙/钙调蛋白复合物所调控的,具有丝氨酸/苏氨酸特性的蛋白激酶,在心肌细胞内具有较高的表达。CaMKII作为重要的胞内蛋白激酶,参与多种生物学反应,包括对细胞质和线粒体内多种离子通道和转运体的活化,以及对细胞内转录因子和能量代谢的调控。近来大量研究表明,CaMKII的磷酸化与多种心血管疾病的发生发展过程密切相关^[20,21],包括心肌缺血再灌注损伤、心肌梗死、糖尿病心肌病以及心力衰竭等据此,我们检测了心肌组织内磷酸化CaMKII的表达水平。实验结果发现,在心肌缺血再灌注损伤过程中,心肌组织内磷酸化CaMKII显著增加,而 κ -阿片受体选择性激动剂U50,488H可以有效抑制CaMKII磷酸化,该作用可被 κ -阿片受体阻断剂nor-BNI抑制,该结果提示 κ -阿片受体激活对缺血再灌注心肌的保护作用可能与抑制CaMKII磷酸化,减少细胞内钙超载有关。

综上所述,本研究进一步证实了 κ -阿片受体选择性激动剂U50,488H可以改善心功能,提高心肌对缺血再灌注损伤的耐受力,其作用机制可能与激活 κ -阿片受体抑制CaMKII磷酸化,减少细胞内钙超载有关。这些结果提示 κ -阿片受体激活对磷酸化CaMKII的调节可能是心肌缺血再灌注损伤治疗的潜在靶点。具体机制还有待于深入研究。

参考文献(References)

[1] Bulluck H, Dharmakumar R, Arai AE, et al. Cardiovascular Magnetic Resonance in Acute ST-Segment-Elevation Myocardial Infarction: Recent Advances, Controversies, and Future Directions [J]. Circulation, 2018, 137(18): 1949-1964

[2] Benjamin E J, Virani S S, Callaway C W, et al. Heart Disease and Stroke Statistics-2018 Update: A Report From the American Heart Association[J]. Circulation, 2018, 137(12): 67-492

[3] Zhang S, Zhou Y, Zhao L, et al. kappa-opioid receptor activation protects against myocardial ischemia-reperfusion injury via AMPK/Akt/eNOS signaling activation[J]. Eur J Pharmacol, 2018, 833: 100-108

[4] Fan R, Zhang P, Ye M X, et al. Myocardial Apoptosis and Infarction after Ischemia/Reperfusion Are Attenuated by kappa-Opioid Receptor Agonist [J]. Archives of Medical Research, 2009, 40(29): 227

[5] Sinova R, Kudova J, Nesporova K, et al. Opioid receptors and opioid peptides in the cardiomyogenesis of mouse embryonic stem cells[J]. J Cell Physiol, 2019, 234(8): 13209-13219

[6] Shi Q S Q, Zhang L Z L, Yao Y Y Y, et al. kappa-opioid receptor activation prevents against arrhythmias by preserving Cx43 protein via alleviation of intracellular calcium[J]. American Journal of Therapeutics, 2013, 20(5): 493-501

[7] Lin J, Wang H, Li J, et al. kappa-Opioid receptor stimulation modulates TLR4/NF-kappaB signaling in the rat heart subjected to ischemia-reperfusion[J]. Cytokine, 2013, 61(3): 11

[8] Anderson M E M P. Pathways for CaMKII activation in disease[J]. Heart Rhythm, 2011, 8(9): 1501-1503

[9] Perkin J, Slater R, Del F G, et al. Phosphorylating Titin's Cardiac N2B Element by ERK2 or CaMKIIdelta Lowers the Single Molecule and Cardiac Muscle Force[J]. Biophys J, 2015, 109(12): 2592-2601

[10] TM H, A U, MS J. Calcium sparks in the heart: dynamics and regulation[J]. Research and Reports in Biology, 2015(6): 203-214

[11] Vila-Petroff M, Salas M A, Said M, et al. CaMKII inhibition protects against necrosis and apoptosis in irreversible ischemia-reperfusion injury[J]. Cardiovascular research, 2007, 73(4): 689-698

[12] Zhang T, Zhang Y, Cui M, et al. CaMKII is a RIP3 substrate mediating ischemia- and oxidative stress-induced myocardial necroptosis[J]. Nat Med, 2016, 22(2): 175-182

[13] 易菁, 段宏伟, 曾庆繁, 等. 心肌缺血再灌注损伤中阿片受体的研究进展[J]. 实用医学杂志, 2019(5): 835-837 (下转第 4632 页)

- is associated with gastric cancer progression through cyclooxygenase-2[J]. *Cancer Res*, 2016, 69(12): 5039-5048
- [10] Loeng KG, Karsan A. Recent insights into the role of Notch signaling in tumorigenesis[J]. *Blood*, 2016, 107(6): 2223-2233
- [11] Miele L, Miao H, Nickoloff BJ. NOTCH Signaling as another therapeutic target[J]. *Curr Cancer Drug Targets*, 2016, 6(4): 313-323
- [12] 白广平,李俊,陈国辉,等.miRNA-93 调控细胞信号转导与转录激活因子 3 信号通路影响喉癌细胞机制研究[J]. *中国临床药理学杂志*, 2016, 32(5): 446-448+454
- [13] Yeo SG. Association of pretreatment serum carcinoembryonic antigen levels with chemoradiation-induced downstaging and downsizing of rectal cancer [J]. *Molecular and clinical oncology*, 2016, 4 (4): 631-635
- [14] Haines RJ, Beard RS Jr, Eitner RA, et al. TNF α /IFN γ Mediated Intestinal Epithelial Barrier Dysfunction Is Attenuated by MicroRNA-93 Downregulation of PTK6 in Mouse Colonic Epithelial Cells[J]. *PloS one*, 2016, 11(4): e0154351
- [15] Zheng G, Wang H, Zhang X, et al. Identification and validation of reference genes for qPCR detection of serum microRNAs in colorectal adenocarcinoma patients[J]. *PloS one*, 2016, 8(12): e83025
- [16] 周赞华,董海娜,朱莉,等.miR-93 在子宫内膜癌中的表达及意义[J]. *中国妇幼保健*, 2015, 30(12): 1925-1927
- [17] Wang L, Lee AY, Wigg JP, et al. miRNA involvement in angiogenesis in age-related macular degeneration [J]. *Journal of physiology and biochemistry*, 2016, 72(4): 583-592
- [18] Wang P, Liang X, Lu Y, et al. MicroRNA-93 Downregulation Ameliorates Cerebral Ischemic Injury Through the Nrf2/HO-1 Defense Pathway[J]. *Neurochemical research*, 2016, 1(10): 2627-2635
- [19] Sun Y, Jia X, Hou L, et al. Screening of Differently Expressed miRNA and mRNA in Prostate Cancer by Integrated Analysis of Transcription Data[J]. *Urology*, 2016, 94: 313-U398
- [20] Algrain M, Turunen O, Vaheri A, et al. Ezrin contains cytoskeleton and membrane binding domains accounting for its proposed role as a membrane-cytoskeletal linker[J]. *Cell Biol*, 2013, 120(34): 129-139
- [21] 陈玉,冯大刚,胡荣,等.半枝莲和白花蛇舌草总多糖对 S180 荷瘤小鼠的抗肿瘤作用研究[J]. *新中医*, 2017, 45(5): 171-174
- [22] Bretscher A, Edwards K, Fehon R G, et al. ERM proteins and merlin: integrators at the cell cortex[J]. *Cell Biol*, 2015, 3(10): 586-599
- [23] Fievet BT, Gautreau A, Roy C, et al. Phosphoinositide binding and phosphorylation act sequentially in the activation mechanism of ezrin[J]. *Cell Biol*, 2014, 164(12): 653-659
- [24] 兰梅,时永全,魏茂富,等.缺氧诱导因子 HIF-1 α 在胃癌细胞系中的表达和意义[J]. *现代肿瘤医学*, 2015, 13(1): 21-23
- [25] Alp  zar-Alp  zar W, Nielsen BS, Sierra R, et al. Urokinase plasminogen activator receptor is expressed in invasive cells in gastric carcinomas from high- and low-risk countries [J]. *Int J Cancer*, 2016, 126(2): 405-415
- [26] An SS, Pennant WA, Ha Y, et al. Hypoxia-induced expression of VEGF in the organotypic spinal cord slice culture [J]. *Neuroreport*, 2016, 22(2): 55-60
- [27] 张安华,孙华文,苏锦松,等.胃癌组织中 Notch1 和 DLL4 蛋白的表达及其临床意义[J]. *临床外科杂志*, 2018, 18(4): 257-259
- [28] Hu C, Dievart A, Lupien M, et al. Overexpression of activated murine Notch1 and Notch3 in transgenic mice blocks mammary gland development and induces mammary tumors [J]. *Am J Pathol*, 2016, 168(3): 973-990
- [29] Riksen AH, Andersen RF, Pallisgaard N, et al. MicroRNA Expression Profiling to Identify and Validate Reference Genes for the Relative Quantification of microRNA in Rectal Cancer [J]. *PloS one*, 2016, 11 (3): e0150593
- [30] Xiao ZG, Deng ZS, Zhang YD, et al. Clinical significance of microRNA-93 downregulation in human colon cancer [J]. *European journal of gastroenterology & hepatology*, 2015, 25(3): 296-301

(上接第 4627 页)

- [14] Tian F, Zheng X, Li J, et al. kappa-Opioid Receptor Stimulation Improves Endothelial Function via Akt-stimulated NO Production in Hyperlipidemic Rats[J]. *Scientific Reports*, 2016, 6: 2045-2322
- [15] Headrick J P, See H L, Du Toit E F, et al. Opioid receptors and cardioprotection - 'opioidergic conditioning' of the heart[J]. *Br J Pharmacol*, 2015, 172(8): 2026-2050
- [16] 赵灿,吴永全.心肌细胞钙信号与心血管疾病研究进展[J]. *实用医学杂志*, 2017, 33(03): 492-495
- [17] Szepesi J, Acsai K, Sebok Z, et al. Comparison of the efficiency of Na⁺/Ca²⁺ exchanger or Na⁺/H⁺ exchanger inhibition and their combination in reducing coronary reperfusion-induced arrhythmias [J]. *J Physiol Pharmacol*, 2015, 66(2): 215-226
- [18] Hoeker G S, Hanafy M A, Oster R A, et al. Reduced Arrhythmia Inducibility With Calcium/Calmodulin-dependent Protein Kinase II Inhibition in Heart Failure Rabbits [J]. *Journal of Cardiovascular Pharmacology*, 2016, 67(3): 260-265
- [19] Fu-zheng Q, Xiao-lu Z, Jing-wu S, et al. Changes of Calcium/Calmodulin-dependent Protein Kinase-II in Myocardium Nucleus and Sarcoplasmic Reticulum in Heart Failure Rabbits[J]. *Chinese Circulation Journal*, 2015, 30(10): 1000-1003
- [20] Kong L, Chen Y, Sun N, et al. Inhibition of CaMKII alleviates myocardial ischemia reperfusion injury by reducing mitochondrial oxidative stress in isolated perfused rat heart[J]. *Journal of Southern Medical University*, 2018, 38(2): 181
- [21] He J M, Yao J P, Sheng H P, et al. Involvement of the Dual-Specificity Tyrosine Phosphorylation-Regulated Kinase 1A-Alternative Splicing Factor-Calcium/Calmodulin-Dependent Protein Kinase II δ Signaling Pathway in Myocardial Infarction-Induced Heart Failure of Rats[J]. *Journal of Cardiac Failure*, 2015, 21(9): 751-760