

# 钙调神经磷酸酶在心血管系统中的作用

李映红<sup>1</sup> 综述, 欧阳静萍<sup>2</sup>, 魏劲波<sup>3</sup> 审校

(1. 咸宁医学院生物化学教研室, 湖北省咸宁市 437100;

2. 武汉大学医学院病理生理学教研室; 3. 武汉大学医学院生理学教研室, 湖北省武汉市 430071)

[关键词] 医学生物化学; 钙调神经磷酸酶在心血管疾病中的作用; 综述; 血管平滑肌细胞; 内皮细胞

[摘要] 钙调神经磷酸酶是一种受  $Ca^{2+}$ -钙调素调节的丝氨酸-苏氨酸蛋白磷酸酶, 在体内分布广泛, 作为  $Ca^{2+}$  信号下游效应分子, 起去磷酸化作用, 参与多种细胞功能的调节。尤其是新近研究表明, 钙调神经磷酸酶可参与心血管正常结构和功能的维持、血管平滑肌细胞增殖、心肌肥大和内皮细胞功能的调节, 在心血管生理及病理生理过程中均发挥重要作用。

[中图分类号] Q5

[文献标识码] A

钙调神经磷酸酶 (Calcineurin, CaN) 属丝氨酸-苏氨酸蛋白磷酸酶家族成员 (又称蛋白磷酸酶 2B, PP2B), 是迄今所知的唯一一种受  $Ca^{2+}$ -钙调素 (Calmodulin) 调节的丝氨酸-苏氨酸蛋白磷酸酶, 在细胞信号传递过程中直接受  $Ca^{2+}$  的调节, 起去磷酸化作用。目前认为, CaN 是一种广泛分布于脑、心肌、骨骼肌、T 淋巴细胞、血管平滑肌和心血管内皮等组织细胞中, 参与多种细胞功能调节的多功能信号酶<sup>[1]</sup>。在细胞因子介导的 T 细胞活化中起调节枢纽作用; 在神经递质和激素的释放、神经突触的生长发育和突触可塑性方面亦具有重要的调节作用, 与学习记忆和老年性痴呆有关<sup>[2]</sup>。特别是新近的研究表明, CaN 介导的信号通路在心血管的形态发生中起重要作用, 并参与心肌肥大、血管平滑肌细胞增殖和内皮细胞功能的调节。因此, CaN 的研究正日益受到基础及临床科学家广泛关注。本文就 CaN 的一般概况及其在心血管系统生理和病理生理过程中的作用进行简要综述。

## 1 钙调神经磷酸酶概述

### 1.1 组织分布

钙调神经磷酸酶广泛分布在真核生物中。80 年代初 CaN 首先在哺乳动物脑内纯化鉴定, 是脑内含量最高的蛋白酶之一, 占脑组织蛋白的 1% 以上。随后, 应用免疫组织化学染色及蛋白印迹证实, CaN 在全身组织广泛分布, 在神经组织及 T 淋巴细胞中含量特别丰富, 在心脏及骨骼肌中较高表达, 肺、脾脏、肾、子宫、血小板及肝组织中均存在, 血管组织中亦存在 CaN 分布, 提示 CaN 可能存在重要的生理作用。免疫组织化学定位表明, CaN 又主要分布于大脑纹状体 (包括尾状核和豆状核外侧的壳)、海马和大脑皮层等区域, 亚细

胞水平主要集中在突触密度区和树突微管区。

### 1.2 结构组成

钙调神经磷酸酶是由结合钙调素的催化亚基 (CnA, Mr, 61 kDa) 和结合  $Ca^{2+}$  的调节亚基 (CnB, Mr, 19 kDa) 按 1:1 的比例紧密结合而组成的异源二聚体。CnA 由 521 个氨基酸组成, 与其他蛋白磷酸酶具有高度同源性。CnA 有 5 个不同的结构域: N 端 15~24 位氨基酸的区域与 CnB 存在交互联系, 可能参与对其催化活性的调节; ④金属离子结合域 (催化域), 其氨基酸序列与蛋白磷酸酶 1 (PP1) 和蛋白磷酸酶 2A (PP2A) 非常相似; ⑤CnB 结合域; 钙调素结合域; 自身抑制域。CnB 是由 168 个氨基酸组成的多肽, 与钙调素的氨基酸序列有 30%~35% 的同源性, 亦有 4 个“EF-hand”的  $Ca^{2+}$  结合域, 其  $Ca^{2+}$  结合域的氨基酸序列高度保守, 说明 CnB 属于“EF-hand” $Ca^{2+}$  结合蛋白家族。在  $Ca^{2+}$  不存在时, CnB 亦能与 CnA 紧密结合, 但只有  $Ca^{2+}$  结合到 CnB 上才能增加其磷酸酶活性。

钙调神经磷酸酶晶体结构显示, 由于钙调素结合域向后弯曲, 使自身抑制域封闭了催化域的活性位点, 从而抑制了其磷酸酶活性,  $Ca^{2+}$ -钙调素的结合可能诱发 CnA 构象改变, 自身抑制域移位, 暴露其磷酸酶活性位点, CaN 活化。CaN 活性位点还含有一个双核的金属离子中心 ( $Fe^{2+}/3+ - Zn^{2+}$ ), 金属离子对 CaN 的活性是必需的。在金属离子附近的催化域中有 3 个水分子, 可能参与磷酸键的水解反应。

### 1.3 催化调节机制

钙调神经磷酸酶是一种丝氨酸-苏氨酸蛋白磷酸酶, 虽然与 PP1 和 PP2A 有高度同源性, 但 CaN 可能借助与锚定蛋白 (如 AKAP79) 结合而定位在特定的区域, 使其能与靶底物紧密接触, 故 CaN 具有比较专一的底物特异性。CaN 主要以催化磷脂酰丝氨酸, 磷脂酰苏氨酸的脱磷酸化为主, 体外实验发现, CaN 也能使某些磷脂酰酪氨酸脱磷酸化。CaN 作为全酶的催化核心, 其活性受到 CnB 和钙调素的激活,  $Ca^{2+}$  通过钙调素和 CnB 实现对 CaN 的调节。  $Ca^{2+}$ -钙调素与 CnA 结合后, 引起 CaN 分子构象改变, CaN 活化;  $Ca^{2+}$  与 CnB 的结合可增加 CaN 对其底物的亲和力。CaN 本身有其特异的生理

[收稿日期] 2002-10-08 [修回日期] 2003-06-10

[基金项目] 湖北省教育厅重点科研基金 (2001A40002) 资助

[作者简介] 李映红, 女, 1972 年出生, 湖北省广水市人, 博士研究生, 主要研究方向为心血管生理及病理生理学, Tel: 0715-8273055, E-mail: yinghongli@163.com。欧阳静萍, 女, 1946 年出生, 教授, 博士研究生导师, 主要研究方向为心血管生理及病理生理学。魏劲波, 男, 1938 年出生, 教授, 主要研究方向为神经生理及病理生理学。

性抑制剂,而对其他丝氨酸-苏氨酸蛋白磷酸酶(PP1和PP2A)的内源性抑制剂均耐受。免疫抑制剂环孢素A(cyclosporin A, CsA)和FK506近年在神经组织中纯化得到Cain蛋白<sup>[3]</sup>,以及从大鼠肝细胞中获得的regucalcin蛋白<sup>[4]</sup>等均具有抑制CaN活性的作用。另外,CaN活性也受到蛋白激酶磷酸化的调节,钙调素PKII和PKC可磷酸化CaN而降低其活性,Ca<sup>2+</sup>-钙调素与CaN的结合可阻断这一作用。

钙调神经磷酸酶是受Ca<sup>2+</sup>活化的一种多功能信号酶,CaN介导的脱磷酸化和核转位作用在信号转导途径中是一中枢性事件。它不仅本身可介导多条信号传导通路,而且通过其去磷酸化作用可对其他信号通路进行调节,使Ca<sup>2+</sup>信号与其他第二信使的调节机制发生“交谈”,协同调节细胞的功能。NF-ATs是CaN最重要的底物,CaN通过使胞浆NF-ATs脱磷酸化,暴露其核定位信号,NF-ATs得以转位入核,与核内其他转录因子协同调节多种基因的活化。另外,CaN信号通路与其他信号途径是互相交联的,CaN可受到PKC及钙调素PKII磷酸化的调节;CaN又可通过抑制因子1对PKC和MAPK进行调节,CaN与cAMP途径也有密切联系<sup>[5]</sup>。

## 2 钙调神经磷酸酶在心血管系统中的作用

### 2.1 钙调神经磷酸酶与心血管形态发生

激活T细胞的核因子(nuclear factor of activated T cells, NF-ATc)是首先发现的在心脏内皮细胞表达的转录因子,它的核转位受Ca<sup>2+</sup>依赖的CaN的调控,是CaN最重要的底物。在正常胚胎心肌细胞培养中,当与CaN抑制剂CsA共孵育时,NF-ATc只存在于胞质中。有目的地破坏NF-ATc基因,结果出现意想不到的心脏形态学发生缺陷,即选择性地主动脉瓣和肺动脉瓣缺失,进而导致胚鼠在妊娠13.5~17.5天因充血性心力衰竭而死亡。相比之下,三尖瓣和二尖瓣发育是正常的<sup>[6]</sup>。以上结果提示,Ca<sup>2+</sup>-CaN-NF-ATc信号通路在正常心瓣膜和心隔膜形成的信号转导过程中起着十分关键的作用,对心脏的正常形态学发生至关重要。破坏小鼠E11周围NF-ATc4和相关的NF-ATc3基因型,发现脉管生长紊乱<sup>[7]</sup>。在CaN调节亚基CnB基因中插入突变体,阻断Ca<sup>2+</sup>激活的CaN的磷酸酶活性,则CnB基因突变鼠血管发育异常,提示Ca<sup>2+</sup>-CaN-NF-AT信号通路启动血管发育及后期血管与周围组织之间的交联。Wilson等<sup>[8]</sup>首次报道,ATP生理浓度条件下,Ca<sup>2+</sup>可通过CaN调节ATP敏感性K<sup>+</sup>通道,广泛参与血管构建和动脉紧张度的维持。在一定条件下,应用CsA或FK506或CaN自身抑制肽透析大鼠主动脉平滑肌细胞,其格列苯脲(glibenclamide)敏感电流增大,细胞静息电位超极化约20~25mV。综合以上实验结果可知,CaN信号通路在血管正常结构与功能的维持中起着非常重要的作用。

### 2.2 钙调神经磷酸酶与心肌肥大

心肌肥大是心肌细胞对牵拉、内皮素、血管紧张素 $\text{\textcircled{A}}$ 及生长因子等外部刺激的一种基本应答,亦可由心脏自身结构成分缺陷引起。大量研究证实CaN参与外界刺激诱导的肥大基因活化的调节。

体内CaN可使Ca<sup>2+</sup>释放通道(IP<sub>3</sub>-R)去磷酸化关闭,进

而影响心肌细胞内Ca<sup>2+</sup>的释放。上调CsA处理的大鼠心脏CaN活性,可改变心肌RyR的功能。同时发现,心肌细胞肌浆网中通过FKBP与RyR的相互作用,抑制内源性CaN活性,可改变胞内Ca<sup>2+</sup>浓度,影响心肌细胞的功能活动<sup>[9]</sup>。以上数据证实,大鼠心脏中CaN与特异性RyR的相互作用可调节心肌细胞内Ca<sup>2+</sup>释放,该作用可受雷帕霉素或FK506的影响,而CaN对Ca<sup>2+</sup>释放通道活性的调节可能是心肌细胞SR释放Ca<sup>2+</sup>的重要调节机制。在幼年因系统性肉毒碱缺乏而致内脏皮脂腺病变(脂肪变性)小鼠(JVS小鼠)模型上观察到<sup>[10]</sup>,CaN参与JVS小鼠心脏肥大的发生。CaN抑制剂FK506(每天0.5~1.0mg/kg)可降低4~8周龄JVS小鼠心脏肥大基因表达,抑制心脏肥大。表明,因能量代谢异常而致的心脏肥大机制中CaN亦起着重要作用。在过表达心脏特异性CaN显性负性突变体的转基因鼠模型上,采用腹主动脉缩窄法复制压力超负荷性心肌肥大,进一步证实CaN在压力超负荷性心肌肥大中发挥着关键作用,是超负荷性心肌肥大的重要上游调节机制<sup>[11]</sup>。

体外培养心肌细胞或转基因鼠在体研究,均证实Ca<sup>2+</sup>-钙调素-CaN依赖的信号通路在不同肥大刺激介导的心肌肥大中起中心枢纽作用,是它们的最后共同信号机制。在盐皮质激素(醛固酮)诱导的肥大心肌细胞中CaN活性及其mRNA表达均增高,应用AT<sub>1</sub>-R拮抗剂(洛沙坦)或CaN抑制剂FK506-CsA可部分阻止醛固酮诱导的心脏肥大及纤维性变,可防止盐皮质激素性高血压,结果表明,CaN参与盐皮质激素过多所致的心脏肥大和纤维化<sup>[12]</sup>。

但也有报道,CaN可能参与超负荷引起的DS大鼠左室肥大的早期过程,而对左室纤维化无关,应用FK506可在早期减弱左室肥大的发生,阻止其向心力衰竭的转变,但不能阻止左室纤维化的发生<sup>[13]</sup>。在自发性高血压大鼠模型上,应用CsA并不能提高左室舒张末压,也不能诱导肥大左室肌的ANP-mRNA表达,说明压力超负荷心肌肥大也可以以一种非CaN依赖的途径而发生<sup>[14]</sup>。另有研究者采用DS大鼠复制高血压模型,心脏活性及CaN蛋白表达在左室肥大(LVH)阶段是增高的,提示CaN参与了左室的适应性肥大过程,但在充血性心力衰竭转变阶段,CaN不再是衰竭心肌细胞肥大的主要发病机制<sup>[15]</sup>。

在血管紧张素 $\text{\textcircled{A}}$ 诱导的心肌肥大机制中,尚存在CaN、PKC和MAPK信号通路的交互作用<sup>[16]</sup>。已知异丙肾上腺素激活胞外信号调节激酶(ERKs)而在心肌肥大中发挥重要作用,该作用可被CaN抑制剂显著抑制;而过表达CaN显性负性突变体的小鼠心脏或体外培养的原代心肌细胞,Iso失去激活ERKs的作用,其机理可能是Ca<sup>2+</sup>诱导的Ca<sup>2+</sup>释放机制显著升高胞内Ca<sup>2+</sup>浓度,激活CaN,发挥调节Iso诱导的ERKs激活过程,表明在心肌肥大中CaN与ERKs亦存在交互作用<sup>[17]</sup>。白血病抑制因子(LIF)、内皮素(ET-1)也可通过升高L型Ca<sup>2+</sup>流和胞内Ca<sup>2+</sup>浓度激活钙调素K $\text{\textcircled{B}}$ 、钙调素K $\text{\textcircled{V}}$ 和CaN活性,进而诱导心肌肥大,提示CaN在LIF和ET-1诱导的心肌肥大中均发挥着重要作用<sup>[18,19]</sup>。

### 2.3 钙调神经磷酸酶与血管平滑肌细胞增殖

血管平滑肌细胞(vascular smooth muscle cells, VSMC)增殖是动脉粥样硬化(atherosclerosis, As)、高血压和血管成形术后狭窄等心血管疾病的一个重要病理改变,是多种因素如血管紧张素 $\text{Ang}$ 、内皮素和生长因子等共同作用的结果。新近研究表明,CaN 信号通路在 VSMC 增殖及功能维持中起到重要作用。

胞内  $\text{Ca}^{2+}$  浓度控制着不同的细胞功能,包括基因表达、增殖、凋亡、粘附和迁移等。VSMC 的 L 型钙通道由两种  $\text{Ca}^{2+}$  依赖的负反馈机制调控,一为 CaN(PP2B)介导的去磷酸化过程,二为细胞内  $\text{Ca}^{2+}$  与通道膜蛋白上单个膜相关部位的交互作用。即 CaN 可通过其去磷酸化作用调节  $\text{Ca}^{2+}$  通道的关闭,影响胞内  $\text{Ca}^{2+}$  浓度,参与 VSMC 增殖等功能活动的调控。对 CsA 敏感的 CaN 特异性底物 NF-ATc(nuclear factor of activated T cells)蛋白在培养 VSMC 中表达。不同刺激物(如 PDGF-BB、 $\text{Ang}$  和凝血酶等)可通过 PLC 受体诱导 NF-AT 传递胞外信号而引起 VSMC 核内相关基因转录,刺激 VSMC 增殖,此作用可被 CaN 特异性抑制剂 CsA 阻断;体内 As 发生中 VSMC 增殖所致血管损害与体外培养细胞损害相似。研究还发现,NF-AT 表达于 VSMC,是多信号途径的重要下游调节因子,它可参与动脉壁形成中基因表达<sup>[20]</sup>。

血管紧张素是刺激 VSMC 增殖的重要体液因子,血管紧张素与 VSMC 表面的 AT1 受体结合后,激活 JAK-STAT 信号转导途径,JAK2 酪氨酸激酶和 Src 家族成员 P59Fyn 酪氨酸激酶是 VSMC 中血管紧张素诱导 STAT1 酪氨酸磷酸化所必需的,MKP-1 控制 STAT1 酪氨酸的去磷酸化。而应用特异的酶抑制剂和反义寡核苷酸实验时观察到,通过 P60c-Src 介导血管紧张素诱导的 STAT3 核易位和酪氨酸磷酸化,而 STAT3 的酪氨酸去磷酸化是通过 CaN 介导的。血管紧张素刺激的 VSMC 中,CaN 被激活并转位入核。另外还观察到,血管紧张素诱导的 VSMC 中 STAT3 的丝氨酸磷酸化作用还通过 MAPK 介导,去磷酸化通过 PP2A 介导,PP2A 转位入核并以血管紧张素依赖的方式与 STAT3 形成复合体<sup>[21]</sup>。在雷尼丁刺激的平滑肌细胞增殖中亦观察到 CaN 信号通路与 MAPK 途径的交联<sup>[22]</sup>。以上观察表明,CaN 信号通路与 JAK-STAT、MAPK 和 PP2A 信号通路可能共同参与协同调节 VSMC 增殖分化及其他功能活动的信号转导过程。

通过对主动脉平滑肌细胞的研究亦发现,应用 CaN 或  $\text{Ca}^{2+}$ -钙调素依赖的钙调素 K 特异性抑制剂可破坏 thapsigargin(Tg)诱导的白细胞介素 3 相关核因子(NF-IL3)和腺病毒 E4 启动子结合蛋白(E4BP4)的表达;CaN 或 NF-ATc 的显性负性表达亦可抑制 Tg 对 NFIL3-E4BP4 mRNA 的诱导作用。结果揭示, $\text{Ca}^{2+}$  通过  $\text{Ca}^{2+}$ -CaN-NF-ATc 和  $\text{Ca}^{2+}$ -钙调素 K 信号通路在主动脉平滑肌细胞核内基因表达调控中发挥关键作用<sup>[23]</sup>。采用免疫沉淀 Western blotting 方法发现,在不同 VSMC 中  $\text{Ca}^{2+}$ -CaN 信号通路的特异性底物 NF-ATc 与核内锌指转录因子 GATA 存在交互作用,CaN 信号可下调 GATA-6 与 DNA 的结合,降低平滑肌肌球蛋白重链 Smr-MHC 的表达及转录活性,提示 CaN-GATA-6 信号通路参与平滑肌细胞的特异性转录过程,对维持 VSMCs 的不同表型分化起到重要

作用<sup>[24]</sup>。

#### 2.4 钙调神经磷酸酶在血管内皮细胞中的作用

正常的血管内皮细胞具有调节血管的舒缩、平滑肌细胞增殖、血小板聚集、溶凝血、单核细胞粘附和新生血管生长等多种重要的生理功能。内皮功能障碍与冠心病、高血压、心力衰竭等心血管疾病的发病机制有着重要关系。新近报道,CaN 信号通路对 VEC 正常结构功能的维持具有重要的调节作用。

凝血酶可通过非受体蛋白酪氨酸激酶途径诱导内皮细胞中前内皮素原基因的表达,此效应可被特异性钙调素拮抗剂 W7 和钙调素 K 抑制剂 KN-62 减弱,而 CsA 藉对 CaN 的抑制作用可刺激 ET-1 mRNA 的表达。磷酸酪氨酸免疫印迹测定法提示, $\text{Ca}^{2+}$ -钙调素依赖的信号通路参与凝血酶诱导的酪氨酸磷酸化作用, $\text{Ca}^{2+}$ -钙调素-CaN 信号途径亦可通过激活 TPK 活性而发挥作用。以上结果表明,凝血酶对人内皮细胞中前内皮素原 1 基因的刺激作用是通过  $\text{Ca}^{2+}$  依赖的钙调素激酶和 TPK 的激活作用,同时 CaN 也参与对前内皮素原 1 基因的调节,进而参与调节内皮细胞的功能<sup>[25]</sup>。另外,CaN 还可通过胞质酶系和微粒体酶系抑制牛主动脉内皮细胞中内皮细胞衍生血管舒张因子 EDRF-NO 的合成,并可能参与内皮细胞 eNOS 表达的调节。应用 CsA 或 FK506 可增加牛主动脉内皮细胞中活性氧簇的合成,促进氧化敏感的核内转录因子 AP-1 与 DNA 的结合能力,上调内皮细胞中 NOS mRNA<sup>[26]</sup>。新近研究发现,CsA 在单核细胞可抑制 NF- $\kappa$ B 介导的组织因子 TF 基因转录,在内皮细胞则增强,提示 CaN 在 I $\nu$ B $\delta$  降解水平调节 NF- $\kappa$ B 的活性,从而影响内皮细胞(EC)及单核细胞中 TF 表达。因 CaN 在 EC 中可增加激动剂诱导的磷酸化作用及随后 I $\nu$ B $\delta$  的降解,说明 CaN 参与 NF- $\kappa$ B 的反式激活,它在 EC 中的作用与单核细胞中相反<sup>[27]</sup>。

脂质氧化产物,特别是轻度修饰 LDL(mmr-LDL)对内皮细胞的激活是 As 损害发生发展的关键事件,mmr-LDL 具有很强的促炎症作用,可刺激内皮细胞中炎症分子如 TF 表达。在研究 mmr-LDL 的生物活性成分氧化型 1-棕榈酰-2-花生四烯酰-3-磷脂酰胆碱(OXPAPC)导致 TF 上调的胞内信号传导的实验中观察到,OXPAPC 可增加人脐静脉内皮细胞(hU-VEC)中 TF 活性及其蛋白质表达,该作用并不依赖经典的 NF- $\kappa$ B 途径,而是 OXPAPC 刺激 ERK 1-2 的磷酸化作用及早期生长因子(EGR-1)的表达,PKC 抑制剂可抑制 EGR-1 和 TF 的升高;另外,OXPAPC 可诱导迅速的可逆性的胞质游离  $\text{Ca}^{2+}$  水平的升高和 NF-ATc 与 DNA 的结合,这一作用可部分受到 NF-AT 的上游  $\text{Ca}^{2+}$  依赖磷酸酶 CaN 的抑制剂 CsA 的抑制,说明 OXPAPC 诱导 HUVECs 中 TF 表达的机制是通过激活 PKC-ERK-EGR-1 和  $\text{Ca}^{2+}$ -CaN-NF-ATc 途径,CaN 参与 hU-VEC 正常生理功能的发挥<sup>[28]</sup>。

综上所述,CaN 在心血管系统的正常生理结构与功能的维持以及病理生理过程中均发挥着重要的作用。CaN 的研究正受到基础及临床科学家的广泛关注。随着 CaN 活性测定方法的不断改进,其稳定性、敏感性、特异性及可重复性日趋增强<sup>[29]</sup>。总之,CaN、NF-ATc 相关基因在心血管系统中

表达的发现,  $Ca^{2+}$ -CaN-NFATc 信号通路在心血管系统生理及病理生理中的作用的证实, 以及对 CaN 作用机制的深入研究, 不仅有助于研究免疫抑制剂治疗时心血管毒性的机理, 而且对探讨正常心血管功能调节机制, 进一步认识心血管疾病的发病机理均有重要意义, 更为临床探索防治心血管疾病的新措施提供了一条新的思路。

#### [参考文献]

- [1] Guerini D. Calcineurin, not just a simple protein phosphatase. *Biochem Biophys Res Commun*, 1997, **235** (2): 271-275
- [2] Klee CB, Ren H, Wang X. Regulation of the calmodulin stimulated protein phosphatase, calcineurin. *J Biol Chem*, 1998, **273** (22): 13 367-370
- [3] Lai MM, Burnett PE, Wolosker H, Blackshaw S, Snyder SH. Cain, a novel physiologic protein inhibitor of calcineurin. *J Biol Chem*, 1998, **273** (29): 18 325-331
- [4] Omura M, Yamaguchi M. Inhibition of  $Ca^{2+}$  / calmodulin dependent phosphatase activity by regucalcin in rat liver cytosol involvement of calmodulin binding. *J Cell Biol Chem*, 1998, **71** (1): 140-148
- [5] Lim HW, New L, Han J, Molkenin JD. Calcineurin enhances MAPK phosphatase 1 expression and p38 MAPK inactivation in cardiac myocytes. *J Biol Chem*, 2001, **276** (19): 15 913-919
- [6] Ranger AM, Grusby MJ, Hodge MR, Gravalles EM, de la Brousse FC, Hoey T, et al. The transcription factor NFATc is essential for cardiac valve formation. *Nature*, 1998, **392** (6672): 186-190
- [7] Graef IA, Chen F, Chen L, Kuo A, Crabtree GR. Signal transduced by  $Ca^{2+}$  / calcineurin and NFATc3/c4 pattern the developing vasculature. *Cell*, 2001, **105** (7): 863-875
- [8] Wilson AJ, Jahr RI, Clapp LH. Calcium modulation of vascular smooth muscle ATP-sensitive  $K^{+}$  channels: role of protein phosphatase 2B. *Circ Res*, 2000, **87** (11): 1 019-025
- [9] Arun Bandyopadhyay, Dong Wook SHIN, Jung On AHN, Do Han KIM. Calcineurin regulates ryanodine receptor/ $Ca^{2+}$ -release channels in rat heart. *J Biochem*, 2000, **352**: 61-70
- [10] Kamiya H, Okumura K, Ito M, Saburi Y, Tomida T, Hayashi K, et al. Calcineurin inhibitor attenuates cardiac hypertrophy due to energy metabolic disorder. *Can J Cardiol*, 2001, **17** (12): 1 292-298
- [11] Zou Y, Hiroi Y, Uozumi H, Takimoto E, Toko H, Zhu W, et al. Calcineurin plays a critical role in the development of pressure overload-induced cardiac hypertrophy. *Circulation*, 2001, **104** (1): 97-101
- [12] Takeda Y, Yoneda T, Demura M, Usukura M, Mabuchi H. Calcineurin inhibition attenuates mineralocorticoid-induced cardiac hypertrophy. *Circulation*, 2002, **105** (6): 677-679
- [13] Sakata Y, Masuyama T, Yamamoto K, Nishikawa N, Yamamoto H, Kondo H, et al. Calcineurin inhibitor attenuates left ventricular hypertrophy, leading to prevention of heart failure in hypertension rats. *Circulation*, 2000, **102** (18): 2 269-750
- [14] Zhang W, Kowal RC, Rusnak F, Sikkink RA, Olson EN, Victor RG. Failure of calcineurin inhibitors to prevent pressure-overload left ventricular hypertrophy in rats. *Circ Res*, 1999, **84** (6): 722-728
- [15] Hayashida W, Kihara Y, Yasaka A, Sasayama S. Cardiac calcineurin during transition from hypertrophy to heart failure in rats. *Biochem Biophys Res Commun*, 2000, **273** (1): 347-351
- [16] Murat A, Pellioux C, Brunner HR, Pedrazzini T. Calcineurin blockade prevents cardiac mitogen-activated protein kinase activation and hypertrophy in renovascular hypertension. *J Biolchem*, 2000, **275** (52): 40 867-873
- [17] Zou Y, Yao A, Zhu W, Kudoh S, Hiroi Y, Shimoyama M, et al. Isoproterenol activates extracellular signal-regulated protein kinases in cardiomyocytes through calcineurin. *Circulation*, 2001, **104** (1): 102-108
- [18] Kato T, Sano M, Miyoshi S, Sato T, Hakuno D, Ishida H, et al. Calmodulin kinases II and IV and calcineurin are involved in leukemia inhibitory factor-induced cardiac hypertrophy in rats. *Circ Res*, 2000, **87** (10): 937-945
- [19] Zhu W, Zou Y, Shiojima I, Kudoh S, Aikawa R, Hayashi D, et al.  $Ca^{2+}$  / calmodulin dependent kinase II and calcineurin play a critical roles in endothelin I-induced cardiomyocyte hypertrophy. *J Biol Chem*, 2000, **275** (20): 15 239-245
- [20] Boss V, Abbott KL, Wang XF, Pavlath GK, Murphy TJ. The cyclosporin A-sensitive nuclear factor of activated T cells (NFAT) proteins are expressed in vascular smooth muscle cells. Differential localization of NFAT isoforms and induction of NFAT-mediated transcription by phospholipase C-coupled cell surface receptors. *J Biol Chem*, 1998, **273** (31): 19 664-671
- [21] Liang H, Venema VJ, Wang X, Ju H, Venema RC, Marrero MB. Regulation of angiotensin II-induced phosphorylation of STAT3 in vascular smooth muscle cells. *J Biol Chem*, 1999, **274** (28): 19 846-851
- [22] 杨永健, 朱峻, 周兴文, 张鑫, 赵龙生. 钙激动剂介导血管平滑肌细胞增殖的信号转导途径. *中国动脉硬化杂志*, 2001, **9** (1): 37-39
- [23] Nishimura Y, Tanaka T. Calcium-dependent activation of nuclear factor regulated by interleukin 3/adenovirus E4 promoter-binding protein gene expression by calcineurin/ nuclear factor of activated T cells and calcium/ calmodulin dependent protein kinase signaling. *J Biol Chem*, 2001, **276** (23): 19 921-928
- [24] Wada H, Hasegawa K, Morimoto T, Kakita T, Yanazume T, Abe M, et al. Calcineurin-GATA-6 pathway is involved in smooth muscle-specific transcription. *J Cell Biol*, 2002, **156** (8): 983-991
- [25] Marsen TA, Simonson MS, Dunn MJ. Thrombin-mediated ET-1 gene regulation involves CaM kinases and calcineurin in human endothelial cells. *J Cardiovasc Pharmacol*, 1995, **26** (Suppl 3): S1-4
- [26] Navarro AJ, Hernandez PO, Lopez OS, Rodriguez PM, Rodriguez PD, Lamas S. CsA and FK506 upregulate eNOS expression: role of reactive oxygen species and AP-1. *Kidney Int Suppl*, 1998, **68**: S20-24
- [27] Holschermann H, Rascher C, Oelschlagler C, Stapfer G, Langenstein A, Stauritz A, et al. Opposite regulation of tissue factor expression by calcineurin in monocytes and endothelial cells. *J Immunol*, 2001, **166** (12): 7 112-120
- [28] Bochkov VN, Mechtcheriakova D, Lucerna M, Huber J, Malli R, Graier WF, et al. Oxidized phospholipids stimulate tissue factor expression in human endothelial cells via activation of ERK/EGR-1 and  $Ca^{++}$ /NFAT. *Blood*, 2002, **99** (1): 199-206
- [29] 符民桂, 唐朝枢. 钙调神经磷酸酶活性测定. *中国动脉硬化杂志*, 2000, **8** (1): 82-83

(此文编辑 朱雯霞)