

一氧化氮/环磷酸鸟苷依赖性蛋白激酶对血管平滑肌细胞三磷酸肌醇受体 iv 型表达及细胞内游离钙的调节

李世军, 孙宁玲

(北京大学人民医院心内科, 北京市 100044)

[关键词] 内科学; 三磷酸肌醇受体 iv 型与游离钙受一氧化氮/环磷酸鸟苷依赖性蛋白激酶调节; 激光共聚焦显微镜技术; 一氧化氮; 环磷酸鸟苷依赖性蛋白激酶; 血管平滑肌细胞; 三磷酸肌醇受体 iv 型

[摘要] 目的 证明一氧化氮/环磷酸鸟苷依赖性蛋白激酶对血管平滑肌细胞三磷酸肌醇受体 iv 型的表达以及细胞内游离钙水平的调节。方法 比色法测定血管平滑肌细胞增殖, 激光共聚焦显微镜测定细胞内游离钙离子浓度, 逆转录聚合酶链反应以及免疫印迹法测定三磷酸肌醇受体 iv 型的表达水平。结果 一氧化氮供体 S-亚硝基-N-乙酰青霉胺和环磷酸鸟苷依赖性蛋白激酶选择性环磷酸鸟苷类似物 Sp8-pCPT-cGMP 抑制血管平滑肌细胞增殖, 但环磷酸鸟苷依赖性蛋白激酶拮抗剂 Rp8-pCPT-cGMP 促进血管平滑肌细胞增殖。且 S-亚硝基-N-乙酰青霉胺和 Sp8-pCPT-cGMPs 可以进一步抑制经维拉帕米预处理后的血管平滑肌细胞增殖。维拉帕米抑制苯肾上腺素刺激的细胞内游离钙离子浓度升高, 这一抑制作用能够被 S-亚硝基-N-乙酰青霉胺和 Sp8-pCPT-cGMP 进一步加强, 但可被 Rp8-pCPT-cGMP 减轻。三磷酸肌醇受体 iv 型 mRNA 转录与蛋白质表达被 S-亚硝基-N-乙酰青霉胺和 Sp8-pCPT-cGMP 降低, 但被 Rp8-pCPT-cGMP 增加。结论 一氧化氮/环磷酸鸟苷依赖性蛋白激酶在转录水平和翻译水平抑制血管平滑肌细胞三磷酸肌醇受体 iv 型的表达, 进而参与对细胞内游离钙离子浓度的调节。

[中图分类号] R5

[文献标识码] A

Expression of Inositol 1, 4, 5-Trisphosphate Receptor Type iv and Intracellular Ca^{2+} Regulated by Nitric Oxide/ cGMP-Dependent Protein Kinase in Vascular Smooth Muscle Cells

LI Shi-Jun, and SUN Ning-Ling

(Department of Cardiology, People's Hospital, Peking University, Beijing 100044, China)

[KEY WORDS] Nitric Oxide; cGMP-Dependent Protein Kinase; Vascular Smooth Muscle Cells; Inositol 1, 4, 5-Trisphosphate Receptor Type iv; Intracellular Ca^{2+} ; Laser-Scanning Confocal Microscope Technique

[ABSTRACT] Aim To testify that nitric oxide (NO)/ cGMP-dependent protein kinase (PKG) can regulate expression of inositol 1, 4, 5-trisphosphate receptor type iv (IP3R iv) and further adjust intracellular Ca^{2+} level in vascular smooth muscle cells (VSMC). Methods Colorimetric Assay (MTT assay) was used for cellular growth. Fluorescence measurements of $[Ca^{2+}]_i$ were performed using a laser-scanning confocal microscope. IP3RI expression was determined by using reverse transcriptase-polymerase chain reaction (RT-PCR) and immunoblotting methods. Results Proliferative response of VSMC was inhibited by S-nitroso-N-acetylpenicillamine (SNAP) and Sp8-pCPT-cGMP and promoted by Rp8-pCPT-cGMP. After VSMC were pretreated with Verapamil, cell proliferation was further inhibited by SNAP and Sp8-pCPT-cGMP respectively. Verapamil inhibited phenylephrine (PE)-stimulated intracellular Ca^{2+} variations, which could be further inhibited by SNAP and Sp8-pCPT-cGMP respectively and slightly promoted by Rp8-pCPT-cGMP. IP3R iv mRNA expression levels were decreased by SNAP and Sp8-pCPT-cGMP, and increased by Rp8-pCPT-cGMP. Protein levels of IP3R iv paralleled the changes in mRNA levels in response to preceding stimulus factors. Conclusion NO/PKG can suppress IP3R iv expression at the transcriptional and translational level, and further modulate intracellular Ca^{2+} concentrations in VSMC.

哺乳动物细胞包含两个细胞内钙离子释放通道, 即三磷酸肌醇受体 (inositol 1, 4, 5-trisphosphate receptor, IP3R) 和雷尼丁受体。IP3R 和雷尼丁受体是

多基因家族的产物, 其中 IP3R 家族至少包含 IP3R iv- α 型^[1,2], IP3R iv 型大量表达于血管平滑肌细胞 (vascular smooth muscle cell, VSMC)^[3,4], 而 IP3R α -型和 β -型则表达很局限^[5]。细胞外配体与胞浆膜 G 蛋白受体或酪氨酸激酶受体结合, 激活磷脂酶 C 产生三磷酸肌醇, 后者与内质网 IP3R 结合, 产生复杂的胞浆钙浓度信号, 包括瞬间振荡和钙波。第二信使三磷酸肌醇调节细胞内游离钙离子浓度变化进而参与多数细胞生理过程的调控^[6]。

[收稿日期] 2004-12-09 [修回日期] 2005-09-25

[基金项目] 国家重点基础研究发展项目 (2000056905) 资助

[作者简介] 李世军, 医学博士, 主治医师, 研究方向为心血管重塑机制, E-mail 为 lishijun817@126.com。通信作者孙宁玲, 教授, 博士研究生导师, 研究方向为高血压与动脉粥样硬化。

一氧化氮供体 S-亚硝基-N-乙酰青霉胺(S-nitroso-N-acetylpenicillamine, SNAP) 减低平滑肌细胞对于乙酰胆碱和咖啡因的细胞内钙反应,这一作用可能是介导环磷酸鸟苷(cyclin guanosine 3, 5-monophosphate, cGMP) 依赖性机制实现的^[7]。cGMP 调节细胞内钙激活活性,低剂量和高剂量 cGMP 是分别通过 cGMP 依赖性蛋白激酶(cGMP-dependent protein kinase, PKG) 非依赖性和依赖性途径发挥作用的^[8]。Murthy 等^[9]报告 PKG 可以选择性磷酸化内脏平滑肌细胞三磷酸肌醇依赖性钙释放途径中的 IP3R iv 型,从而影响细胞内游离钙浓度。然而一氧化氮(nitric oxide, NO)/PKG 能否调节血管平滑肌细胞 IP3R iv 型表达,进而影响细胞内钙水平还不清楚。本研究旨在证明 NO/PKG 是否能够介导对血管平滑肌细胞 IP3R iv 型表达的调节,进而影响细胞内游离钙水平。

1 材料与方法

1.1 材料

苯肾上腺素(phenylephrine, PE)、环孢素 A(cyclosporin A, CsA) 和 SNAP 购自 Sigma 公司。PKG 选择性 cGMP 类似物 Sp8-pCPT-cGMP 和 PKG 拮抗剂 Rp8-pCPT-cGMP 购自 Biomol 公司。兔抗 IP3R iv 型亲和纯化多克隆抗体购自 Chemicon 公司。Rb IgG(H+ L)/HBP 购自北京中山生物技术公司。Rnase 抑制剂和 M-MuLV 逆转录酶购自 Promega 公司。Trizol 试剂、DMEM 和胎牛血清购自 Gibco 公司。Oligo DT₁₈ 和 IP3R iv 型上下游引物由 Augct Biotechnology 公司合成。乙酰氧基甲基酯(Fluor-3/AM Ester) 购自 Biotium 公司。

1.2 血管平滑肌细胞的分离与培养

原代 VSMC 分离自 7 天龄的 Wistar 大鼠的胸主动脉中层,采用植块法种植 25 cm² 培养瓶,并培养于含有 20% 胎牛血清、100 ku/L 青霉素和 100 mg/L 链霉素的 DMEM 培养液中,随后将培养瓶置于 37℃、含有 5% CO₂-95% 空气的孵箱中,3~4 天更换一次培养液,细胞传至 4 代,将细胞用胰酶消化成细胞悬液[(5~8) × 10⁷ 个/L],转移到 96 孔板或者 35 mm 培养皿中,分组实验。实验分为 8 组:对照组(除加用 MTT、DMSO 外,不加刺激用药)、PE(10 μmol/L) 组、SNAP(250 μmol/L) 组、Sp8-pCPT-cGMP(500 μmol/L) 组、Rp8-pCPT-cGMP(100 μmol/L) 组、PE+ SNAP 组、PE+ Sp8-pCPT-cGMP 组和 PE+ Rp8-pCPT-cGMP 组。

1.3 MTT 法测定血管平滑肌细胞增殖

血管平滑肌细胞(VSMC) 被转移到 96 孔板,培养 48 h 后弃原液,加无血清培养基 100 μL,同步化,24 h 后弃培养基,分组实验。其中 PE+ SNAP 组、PE+ Sp8-pCPT-cGMP 组或 PE+ Rp8-pCPT-cGMP 组,先用 SNAP(250 μmol/L)、Sp8-pCPT-cGMP(500 μmol/L) 或 Rp8-pCPT-cGMP(100 μmol/L) 预处理 24 h 后,再加入 PE(10 μmol/L) 继续作用 24 h,共 48 h。余下组仅用单药持续处理 48 h。另外,为观测 VSMC 内游离钙离子浓度变化在 VSMC 增殖中的作用,预先维拉帕米(8 μmol/L) 预处理 VSMC 24 h,然后用 PE(10 μmol/L)、SNAP(250 μmol/L)、Sp8-pCPT-cGMP(500 μmol/L)、Rp8-pCPT-cGMP(100 μmol/L) 或药物组合刺激 VSMC 24 h,共 48 h。随后每组加入 MTT 溶液(5 g/L) 20 μL,在含有 37℃、5% CO₂-95% 空气的孵箱中继续孵育 4 h,终止培养,小心吸弃培养液上清。每孔加入 150 μL DMSO,振荡 3~5 min 使结晶物充分溶解。选择 490 nm 波长,在酶标仪上测定各孔光吸收值。

1.4 激光扫描共聚焦显微镜测定细胞内游离钙离子浓度

所有成像实验均在室温黑暗的条件下进行。应用钙荧光指示剂 Fluor-3/AM 监测 VSMC 内钙离子浓度,即细胞培养于专用的 35 mm 细胞培养皿中,细胞贴壁布满皿底 90% 以后,应用含有 10 μmol/L Fluor-3/AM 的 Krebs-Ringer 溶液(NaCl 140 mmol/L, KCl 5 mmol/L, MgCl₂ 0.5 mmol/L, HEPES 5.5 mmol/L, 葡萄糖 10 mmol/L, CaCl₂ 1.2 mmol/L, pH 7.4) 以及 0.05% 普朗尼克酸 37℃ 负载 60 min。应用 Krebs-Ringer 溶液轻轻洗两次去除未水解的指示剂,随后培养皿移至操作间中加相应药物刺激。VSMC 首先应用维拉帕米(8 μmol/L) 预处理 30 min,然后分别加入 SNAP(250 μmol/L)、Sp8-pCPT-cGMP(500 μmol/L) 或 Rp8-pCPT-cGMP(100 μmol/L),最后加入 PE(10 μmol/L),应用激光扫描共聚焦显微镜进行荧光测量。激发波长为 488 nm,发射波长为 522 nm。选定 15 个细胞进行动态扫描,每 10 s 采集荧光强度 1 次,共记录 300 s。荧光值比率(F/F₀) 为减去背景的实际荧光强度(F) 与减去背景的刺激前荧光强度(F₀) 之比。

1.5 逆转录聚合酶链反应扩增与三磷酸肌醇受体 iv 型转录水平测定

VSMC 被转移至 6 孔板,培养 48 h 后弃原液,加无血清培养基 100 μL,同步化,24 h 后弃培养基,分组实验。各组的药物处理方法同 MTT 法。使用 Tri-

zol 试剂提取 Wistar 大鼠 VSMC 总 RNA。cDNA 逆转录合成以及 PCR 扩增按照分子克隆描述的方法。IP3R iv型上游引物为 GTGGAGGTTTCATCTGCAAGC, 下游引物为 GCTTTCGTGGAATACTCGGTC; 内参 β -actin 上游引物为 CATCCTGCGTCTGGACCT, 下游引物为 TCAGGAGGAGCAATGATCCTG。扩增产物在含有溴化乙锭 (10 g/L) 的 1.5% 琼脂糖、Tris 硼酸盐缓冲液中电泳分离。以 IP3R iv型与同时扩增的 β -actin 的 PCR 扩增产物图像密度之比来鉴定 IP3R iv型的转录水平。

1.6 三磷酸肌醇受体 iv型蛋白质免疫印迹测定

VSMC 被转移至 6 孔板, 培养 48 h 后弃原液, 加无血清培养基 100 μ L, 同步化, 24 h 后弃培养基, 分组实验。各组的药物处理方法同 MTT 法。超声裂解 VSMC, 蛋白质浓度应用考马斯亮兰 G-250 和 BSA 作标准测定。蛋白质 (20~30 μ g) 在 5% SDS-PAGE 上分离, 而后转移至硝酸纤维素膜, 应用 10% 脱脂奶粉封闭, 孵育于 IP3R iv型一抗中。该膜被洗 3 次以后, 孵育于连接有抗兔 IgG 二抗的过氧化物酶中。应用化学发光法鉴定连接抗体, 通过光密度扫描测定每一条带的光密度。

1.7 统计学处理

数值以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间资料比较应用方差分析, 两组间比较应用 q 检验。 $P < 0.05$ 被认为有统计学意义。统计分析应用 SPSS 11.0 软件进行。

2 结果

2.1 细胞内游离钙离子浓度变化在一氧化氮/环磷酸鸟苷依赖性蛋白激酶调节血管平滑肌细胞增殖中的作用

与对照组比较, SNAP 和 Sp-8-pCPT-cGMP 分别使 VSMC 吸光度降低 36.8% 和 39.3%, 而 Rp-8-pCPT-cGMP 则使 VSMC 吸光度增加 42.7%。SNAP 和 Sp-8-pCPT-cGMP 分别使 PE 刺激的 VSMC 吸光度降低 27.3% 和 36.6%, 但 Rp-8-pCPT-cGMP 则使 PE 刺激的 VSMC 吸光度增加 79.0% (表 1, Table 1)。SNAP 和 Sp-8-pCPT-cGMP 抑制维拉帕米预处理过的 VSMC 增殖, 但 Rp-8-pCPT-cGMP 则轻度增加维拉帕米预处理过的 VSMC 增殖 (表 2, Table 2)。

2.2 一氧化氮/环磷酸鸟苷依赖性蛋白激酶对血管平滑肌细胞内游离钙离子浓度变化的调节

维拉帕米抑制 PE 刺激的细胞内游离钙离子浓度变化, 且这一抑制作用可以被 SNAP 和 Sp-8-pCPT-cGMP 加强, 但被 Rp-8-pCPT-cGMP 轻度改善 (图 1,

Figure 1)。

表 1. 一氧化氮/环磷酸鸟苷依赖性蛋白激酶对血管平滑肌细胞增殖的调节作用 ($n=5$)

Table 1. Regulation of proliferation of VSMC by NO/PKG

分 组	吸光度
对照组	1
PE 组	1.622 \pm 0.113 ^a
SNAP 组	0.632 \pm 0.094 ^a
Sp-8-pCPT-cGMP 组	0.607 \pm 0.064 ^a
Rp-8-pCPT-cGMP 组	1.427 \pm 0.102 ^a
PE+SNAP 组	0.727 \pm 0.036 ^a
PE+Sp-8-pCPT-cGMP 组	0.634 \pm 0.074 ^a
PE+Rp-8-pCPT-cGMP 组	1.790 \pm 0.057 ^a

a 为 $P < 0.05$, 与对照组比较。

表 2. 细胞内游离钙在一氧化氮/环磷酸鸟苷依赖性蛋白激酶调节血管平滑肌细胞增殖调节中的作用 ($n=5$)

Table 2. Role of intracellular Ca^{2+} in NO/PKG regulating proliferation of VSMC

分 组	吸光度
对照组	1
PE 组	1.622 \pm 0.113 ^a
Ver+PE 组	0.780 \pm 0.060 ^a
Ver+PE+SNAP 组	0.564 \pm 0.055 ^a
Ver+PE+Sp-8-pCPT-cGMP 组	0.515 \pm 0.033 ^a
Ver+PE+Rp-8-pCPT-cGMP 组	0.714 \pm 0.067 ^a

a 为 $P < 0.05$, 与对照组比较。

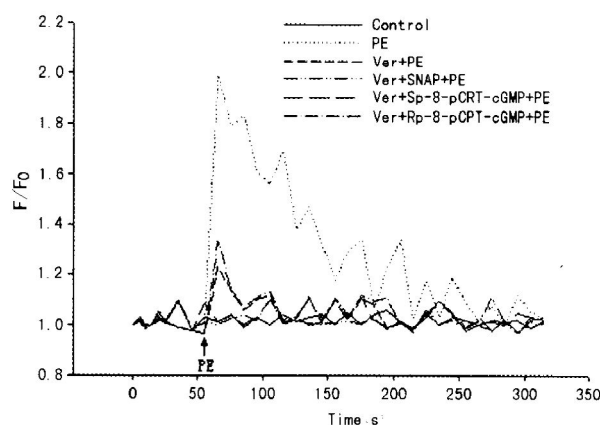


图 1. 一氧化氮/环磷酸鸟苷依赖性蛋白激酶对血管平滑肌细胞肾上腺素诱导的细胞内游离钙的调节 ($n=5$) 在上图箭头处加入。

Figure 1. Regulation of PE-induced intracellular Ca^{2+} concentrations by NO/PKG in VSMC

2.3 一氧化氮/环磷酸鸟苷依赖性蛋白激酶对血管平滑肌细胞三磷酸肌醇受体 iv 型转录和翻译的调节

与对照组比较, SNAP 和 Spr-8-pCPT-cGMP 降低 IP3R iv 型 mRNA 及蛋白质表达水平, 但 Rpr-8-pCPT-cGMP 则增加 IP3R iv 型 mRNA 及蛋白质表达水平 (图 2 和表 3, Figure 2 and Table 3)。

表 3. 一氧化氮/环磷酸鸟苷依赖性蛋白激酶对血管平滑肌细胞三磷酸肌醇受体 iv 型 mRNA 转录的调节 ($n=5$)

Table 3. Regulation of mRNA transcription of IP3RI by NO/PKG in VSMC

分组	mRNA	蛋白
对照组	0.6 ± 1.9	1.0 ± 0.0
PE 组	1.7 ± 5.6^a	1.5 ± 3.2^a
SNAP 组	0.4 ± 4.0^a	0.4 ± 3.3^a
Spr-8-pCPT-cGMP 组	0.3 ± 7.6^a	0.4 ± 7.9^a
Rpr-8-pCPT-cGMP 组	2.1 ± 6.3^a	1.3 ± 5.0^a
PE+ SNAP 组	0.4 ± 1.7^a	0.5 ± 1.6^a
PE+ Spr-8-pCPT-cGMP 组	0.4 ± 2.4^a	0.5 ± 1.7^a
PE+ Rpr-8-pCPT-cGMP 组	2.2 ± 6.1^a	1.8 ± 3.2^a

a 为 $P < 0.05$, 与对照组比较。

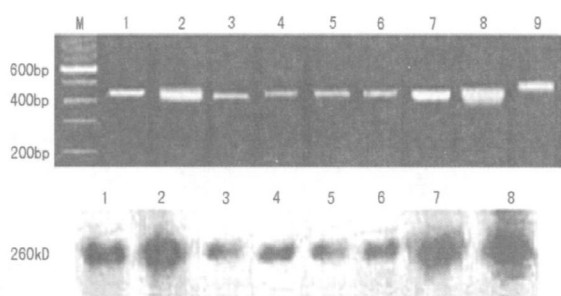


图 2. 一氧化氮/环磷酸鸟苷依赖性蛋白激酶对血管平滑肌细胞三磷酸肌醇受体 iv 型 mRNA 转录与蛋白质翻译的调节 ($n=5$) M 为 Maker; 1 为对照组; 2 为 PE 组; 3 为 SNAP 组; 4 为 PE+ SNAP 组; 5 为 Spr-8-pCPT-cGMP 组; 6 为 PE+ Spr-8-pCPT-cGMP 组; 7 为 Rpr-8-pCPT-cGMP 组; 8 为 PE+ Rpr-8-pCPT-cGMP 组; 9 为 β -actin 组。

Figure 2. Regulation of mRNA transcription and protein translation of IP3R iv by NO/PKG in VSMC

3 讨论

苯肾上腺素 (PE) 与 VSMC α 受体结合后, 能够激活磷脂酶 C, 水解磷脂酰肌醇 4, 5-二磷酸, 生成二脂酰甘油和三磷酸肌醇, 三磷酸肌醇与钙库 IP3R 结合, 促使 Ca^{2+} 释放, 诱发细胞内钙波与钙振荡, 进而启动细胞增殖相关基因表达。本研究应用 PE 作为刺激因子, 诱发 VSMC 增殖模型。NO/PKG 能够抑

制平滑肌细胞的增殖, 已有多篇报道。PKG 激活能够降低大鼠肺动脉 VSMC DNA 的合成。本研究结果发现, SNAP 和 Spr-8-pCPT-cGMP 处理组 VSMC 的增殖明显受到抑制, 进一步证明 NO/PKG 能够抑制 VSMC 的增殖。本研究还发现, VSMC 经过维拉帕米预处理之后, 再分别加入 SNAP 和 Spr-8-pCPT-cGMP , 平滑肌细胞的增殖会受到进一步抑制, 说明 NO/PKG 调节 VSMC 增殖与细胞内钙释放, 引发胞内游离钙水平变化有关。

事实上, NO 能够介导 cGMP 和 PKG 在多个水平调节细胞内钙离子浓度^[10, 11], 已经在多种组织、细胞中得到证实。如 PKG 通过抑制三磷酸肌醇形成抑制细胞内 Ca^{2+} 自内质网释放^[12]; 通过抑制胞浆膜 Ca^{2+} 通道抑制 Ca^{2+} 内流^[13, 14], 或通过激活 $\text{Na}^+ / \text{Ca}^{2+}$ 交换器刺激 Ca^{2+} 外流等^[15]。IP3R 在内质网膜形成四聚体通道以三磷酸肌醇敏感方式调节细胞内 Ca^{2+} 浓度^[16-18]。但在 VSMC 中 NO/PKG 对胞内钙水平的调节报道较少。本研究结果发现, VSMC 经过维拉帕米阻断钙通道之后, 再分别加入 SNAP 和 Spr-8-pCPT-cGMP , 其细胞内游离钙水平进一步受到抑制。进一步提示 NO/PKG 可能通过调节细胞内受体依赖性钙通道抑制了胞内钙的释放。

Murthy 等^[7]报道内脏平滑肌 IP3R iv 型被 PKG 选择性磷酸化, 引起 IP3 依赖性 Ca^{2+} 释放的抑制。由于内脏平滑肌的生理特性与血管平滑肌差异很大, 内脏平滑肌是肌源性的, 是单个单元平滑肌, 兴奋能在纤维间传导。而 VSMC 是神经源性的, 是多个单元平滑肌, 纤维间的缝隙连接分布较稀疏, 很少通过电紧张性耦联。但是 NO/PKG 能否调节 VSMC IP3R iv 型的表达, 进而影响细胞内游离钙水平还不清楚。本研究结果发现, VSMC 在 SNAP 和 Spr-8-pCPT-cGMP 处理后, IP3R iv 型 mRNA 转录和蛋白质翻译水平受到明显抑制, 但 Rpr-8-pCPT-cGMP 可以使其表达增加, 并且 IP3R iv 型 mRNA 与其蛋白质是平行降低或升高的。这些结果表明 NO/PKG 可以在转录以及翻译水平调节 IP3R iv 型的表达。

有报告认为 Spr-8-pCPT-cGMP 刺激 PKG 和 PKA 具有相同的潜力, cAMP/PKA 能够通过抑制 Rho 激活的毒蕈碱受体信号上游诱使 Ca^{2+} 脱敏, cAMP/PKA 优先逆转平滑肌细胞 PKC 介导的 Ca^{2+} 敏感, 因此 PKA 或许部分参与了 VSMC Ca^{2+} 敏感的调节。另外, 三磷酸肌醇介导的钙释放也受到细胞浆钙离子浓度正负反馈的调节^[19, 20], 细胞内游离钙离子浓度对于 IP3R 基因转录有直接的调节作用。

综上所述, NO/PKG 在转录水平和翻译水平抑

制血管平滑肌细胞 IP3R iv型的表达,进而调节细胞内游离钙离子浓度。

[参考文献]

- [1] Berridge MJ. Inositol triphosphate and calcium signaling. *Ann N Y Acad Sci*, 1995, **766**: 31-43
- [2] Giannini G, Conti A, Mammarella S, Scrobogna M, Sorrentino V. The ryanodine receptor/calcium channel genes are widely and differentially expressed in murine brain and peripheral tissues. *J Cell Biol*, 1995, **128** (5): 893-904
- [3] Monkawa T, Hayashi M, Miyawaki A, Sugiyama T, Yamamoto-Hino M, Hasegawa M, et al. Localization of inositol 1, 4, 5-trisphosphate receptors in the rat kidney. *Kidney Int*, 1998, **53** (2): 296-301
- [4] 刘乃丰, 董莉, 何家声. 大鼠组织中三磷酸肌醇受体亚型基因的表达. 中国动脉硬化杂志, 1999, **7** (3): 15-18
- [5] Joseph SK. The inositol triphosphate receptor family. *Cellular Signalling*, 1996, **8** (1): 1-7
- [6] Berridge MJ. Inositol triphosphate and calcium signalling. *Nature*, 1993, **361** (6410): 315-325
- [7] Kamman MS, Prakash YS, Johnson DE, Sieck GC. Nitric oxide inhibits calcium releases from sarcoplasmic reticulum of porcine tracheal smooth muscle cells. *Am J Physiol*, 1997, **272** (1 Pt 1): L1-7
- [8] Satoh S, Makino N. Intracellular mechanisms of cGMP-mediated regulation of myocardial contraction. *Basic Res Cardiol*, 2001, **96** (6): 652-658
- [9] Murthy KS, Zhou H. Selective phosphorylation of the IP3R-I in vivo by cGMP-dependent protein kinase in smooth muscle. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2003, **284** (2): G221-230
- [10] 薛慎伍, 张兆岩, 李玮. 皮层下动脉硬化性脑病患者外周血红细胞和血小板内钙离子含量的变化. 中国动脉硬化杂志, 2004, **12** (6): 713-715
- [11] Hofmann F, Schlossmann AA. Rising behind NO: cGMP-dependent protein kinases. *J Cell Sci*, 2000, **113**: 1 671-676
- [12] Ruth P, Wang GX, Boekhoff I, May B, Pfeifer A, Penner R, et al. Transfected cGMP-dependent protein kinase suppresses calcium transients by inhibition of inositol 1, 4, 5-trisphosphate production. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1993, **90** (7): 2 623-627
- [13] Mery PF, Lohmann SM, Walter U, Fischmeister R. Ca^{2+} current is regulated by cyclic GMP-dependent protein kinase in mammalian cardiac myocytes. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1991, **88**: 1 197-201
- [14] Clapp LH, Gurney AM. Modulation of calcium movements by nitroprusside in isolated vascular smooth muscle cells. *Hypertens Arch*, 1991, **418**: 462-470
- [15] Furukawa K, Ohshima N, Tawadara Y, Shigekawa M. Cyclic GMP stimulates $\text{Na}^{+}/\text{Ca}^{2+}$ exchange in vascular smooth muscle cells in primary culture. *J Biol Chem*, 1991, **266**: 12 337-341
- [16] Berridge MJ. Inositol triphosphate and calcium signalling. *Nature*, 1993, **361** (6410): 315-325
- [17] Furuichi T, Mikoshiba K. Inositol 1, 4, 5-trisphosphate receptor-mediated Ca^{2+} signaling in the brain. *J Neurochem*, 1995, **64** (3): 953-960
- [18] Joseph SK. The inositol triphosphate receptor family. *Cell Signal*, 1996, **8** (1): 1-7
- [19] Iino M, Tsukioka M. Feedback control of inositol triphosphate signalling by calcium. *Mol Cell Endocrinol*, 1994, **98** (2): 141-146
- [20] Taylor CW, Marshall IC. Calcium and inositol 1, 4, 5-trisphosphate receptors: a complex relationship. *Trends Biochem Sci*, 1992, **17** (10): 403-407

(此文编辑 文玉珊)