

[文章编号] 1007-3949(2009)17-05-0337-04

• 实验研究 •

糖基化终末产物对大鼠平滑肌细胞钠 / 氢交换蛋白 1 活性的影响

吴树金^{1,2}, 刘立英², 周寿红², 宋涛², 陈庚容², 黄宁江², 唐蜜蜜²

(1 长沙医学院, 湖南省长沙市 410219; 2 中南大学药学院, 湖南省长沙市 410078)

[关键词] 糖基化终末产物; 钠 / 氢交换蛋白 1; 平滑肌细胞; 丝裂原活化蛋白激酶

[摘要] 目的 观察糖基化终末产物对大鼠血管平滑肌细胞钠 / 氢交换蛋白 1 活性的影响。方法 采用组织贴块法原代培养大鼠胸主动脉平滑肌细胞。用体外制备的外源性糖基化终末产物和血管平滑肌细胞共孵育 24 h, 利用 BCECF 通过荧光分光光度计检测细胞上钠 / 氢交换蛋白 1 活性。结果 不同浓度糖基化终末产物 (1、5 和 10 mg/L) 与血管平滑肌细胞共孵 24 h 后, 能显著增强钠 / 氢交换蛋白 1 的活性, 分别使钠 / 氢交换蛋白 1 的活性从 0.66 ± 0.05 升高至 0.71 ± 0.03 , 0.80 ± 0.07 和 0.88 ± 0.06 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$), 使钠 / 氢交换蛋白 1 mRNA 表达从 0.77 ± 0.07 分别升高至 0.88 ± 0.08 , 1.23 ± 0.06 和 1.33 ± 0.08 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$); 预先使用糖基化终末产物受体阻断剂 5 mg/L 钠 / 氢交换蛋白 1 活性比糖基化终末产物处理组明显降低 (0.68 ± 0.04 比 0.90 ± 0.05 , $P < 0.05$); 使用不同浓度的丝裂原活化蛋白激酶阻断剂 PD98059 (1、10 和 25 $\mu\text{mol/L}$), 使钠 / 氢交换蛋白 1 活性从 0.94 ± 0.05 分别降至 0.86 ± 0.06 , 0.74 ± 0.05 和 0.66 ± 0.07 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。结论 外源性糖基化终末产物能诱导血管平滑肌细胞上钠 / 氢交换蛋白 1 活化, 其机制可能与糖基化终末产物激活糖基化终末产物受体, 引起丝裂原活化蛋白激酶信号通路活化有关。

[中图分类号] R363

[文献标识码] A

Effect of Advanced Glycation End Products on the Activity of Na^+/H^+ Exchanger 1 of Vascular Smooth Muscle Cell in Rat

WU Shu-Jin^{1,2}, LIU Li-Ying², ZHOU Shou-Hong², SONG Tao², CHEN Geng-Rong², HUANG Ning-Jiang², and TANG MIMI²

(1 Changsha Medical College, Changsha 410219; 2 School of Pharmaceutical Sciences, Central South University, Changsha 410078)

[KEY WORDS] Pathophysiology; Advanced Glycation End Products; Na^+/H^+ Exchanger 1; Vascular Smooth Muscle Cell; Mitogen-Activated Protein Kinase

[ABSTRACT] **Aim** To evaluate the effect of advanced glycation end products (AGE) on the activity of Na^+/H^+ exchanger 1 (NHE1) of vascular smooth muscle cell (VSMC) in rats. **Methods** Patch-attaching method was used in primary and continuous culture of the VSMC. The cultured VSMC of rat were exposed to AGE for 24 hours, and the activity of NHE1 was observed by using the fluorescent dye BCECF. **Results** AGE at concentration 1, 5, 10 mg/L can concentration-dependently increase the NHE1 activity, from 0.66 ± 0.05 to 0.71 ± 0.03 , 0.80 ± 0.07 , 0.88 ± 0.06 respectively. Results of RT-PCR showed that AGE can significantly increase the expression of NHE1 mRNA from 0.77 ± 0.07 to 0.88 ± 0.08 , 1.23 ± 0.06 , 1.33 ± 0.08 respectively ($P < 0.05$ or $P < 0.01$); Pretreatment with the inhibitor of the receptor for advanced glycation end products (RAGE) antiRAGE and inhibitor of mitogen-activated protein kinase (MAPK) PD98059 at concentration 1, 10, 25 $\mu\text{mol/L}$ can significantly decrease the NHE1 activity from 0.94 ± 0.05 to 0.86 ± 0.06 , 0.74 ± 0.05 , 0.66 ± 0.07 respectively compared with the AGE treatment group ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). **Conclusion** AGE can significantly increase the NHE1 activity, and the mechanism may be related to the RAGE activated and the MAPK.

糖基化终末产物 (advanced glycation end products, AGE) 是糖尿病血管病变的独立危险因素^[1-3], 其机制主要为与受体 RAGE 结合后, 通过受体后的

信号转导引起丝裂原活化蛋白激酶 (mitogen-activated protein kinase, MAPK) 磷酸化^[4], 诱导核因子 KB (nuclear factor- KB , NF- KB) 活化, 进而促进一系列损伤因子的表达。钠 / 氢交换蛋白 1 (Na^+/H^+ exchanger 1, NHE1) 是调节细胞内 pH 值的重要跨膜蛋白^[5]。在 1 型和 2 型糖尿病患者或动物模型中, NHE1 活性明显增加, 并与糖尿病血管病变具有密切关系^[6,7]。糖尿病时 MAPK 途径对 NHE1 的活化

[收稿日期] 2009-02-19 [修回日期] 2009-05-06

[基金项目] 国家自然科学基金项目 (30600248)

[作者简介] 吴树金, 硕士。通讯作者刘立英, 教授, 博士研究生导师, 研究方向为心血管药理, Email 为 liyingliu2004@yahoo.com.cn。周寿红, 博士研究生, 讲师, 主要研究方向为生理学和心血管药理学, Email 为 zhoushouhong@126.com。

起重要调节作用。氧化型低密度脂蛋白、胰岛素样生长因子和血小板源生长因子等均可通过激活 MAPK 信号通路,诱导胞浆膜 NHE1 活性增加从而促进糖尿病血管病变的发生发展^[8]。AGE 是否可通过 MAPK 途径诱导 NHE1 活化,尚无文献报道。本研究在体外培养的大鼠血管平滑肌细胞 (vascular smooth muscle cell VSMC) 上观察外源性 AGE 对 NHE1 活性及表达的影响,并初步探讨其机制。

1 材料与方法

1.1 试剂与仪器

SD 雄性大鼠由中南大学动物学部提供。主要试剂: cariporide (德国 Hoechst 公司赠送); 牛血清白蛋白 (BSA)、噻唑蓝 (thiazolyl blue MTT)、兔抗人平滑肌肌动蛋白 (α_2 smooth muscle actin, SMA)、2,7-二羧乙基-5,6-羧基荧光素 (BCECF/AM)、尼日利亚菌素 (nigericin) 和 Fura-2/AM 为 Sigma 公司产品; antiRAGE 购自 Sant Cruz 公司, PD98059 购自 Calbiochem Co 公司; 其余试剂均为化学分析纯。主要仪器: LS-50B 型荧光分光光度计为日本 Shimadzu 产品; IX-70 型荧光显微镜为日本 Olympus 产品; CO₂ 细胞培养箱系美国 SHEL-LAB 产品。

1.2 实验分组

1.2.1 糖基化终末产物对血管平滑肌细胞钠/氢交换蛋白 1 活性和 mRNA 表达的影响 正常对照组; ④低浓度 (1 mg/L) AGE 处理组; ④中浓度 (5 mg/L) AGE 处理组; ④高浓度 (10 mg/L) AGE 处理组。

1.2.2 antiRAGE 和 PD98059 对糖基化终末产物诱导的血管平滑肌细胞上钠/氢交换蛋白 1 活性的影响 (16) antiRAGE 实验分为 4 组: 正常对照组; ④antiRAGE (5 mg/L) 处理组; ④AGE (10 mg/L) 处理组; AGE (10 mg/L) + antiRAGE (5 mg/L) 处理组。PD98059 实验分为 6 组: 正常对照组; ④AGE (10 mg/L) 处理组; ④AGE (10 mg/L) + 低浓度 PD98059 (1 μ mol/L) 处理组; AGE (10 mg/L) + 中浓度 PD98059 (10 μ mol/L) 处理组; AGE (10 mg/L) + 高浓度 PD98059 (25 μ mol/L) 处理组; PD98059 (25 μ mol/L) 处理组。

1.3 外源性糖基化终末产物体外制备

配制 0.2 mol/L 磷酸盐缓冲液 (PBS 含 NaCl 8.00 g/L, KCl 0.20 g/L, Na₂HPO₄ · H₂O 1.56 g/L, KH₂PO₄ 0.20 g/L, pH 7.4), 然后将 BSA (10 g/L)、葡萄糖 (90 g/L)、青霉素 (100 KU/L) 与链霉素 (100

g/L) 分别溶于上述 PBS 中, 充分摇匀、室温过夜; 0.22 μ m 针头滤器过滤, 灭菌封口后置 37℃ 恒温箱避光孵育 12 周后取出, 再转移至 4℃ 冰箱无菌保存备用。使用前, 将制备的 AGE-BSA 装入透析袋, 放入 pH 7.4 的无菌 PBS 透析液中, 透析 48 h, 中途更换 PBS 液 3~4 次, 除去未结合的葡萄糖, 再次用 0.22 μ m 针头滤器过滤。取制备的样品用 LS-50B 型荧光分光光度计鉴定, 在激发波 370 nm, 发射波 440 nm 处释放荧光。

1.4 血管平滑肌细胞的培养^[9]

采用贴块法原代培养 VSMC。取 120~180 g 雄性 SD 大鼠, 麻醉后颈动脉放血致死, 开胸, 迅速取出胸主动脉, 剥去血管内、外膜, 剪成 1 mm² 组织块, 贴于培养瓶内, 加入含 15% 胎牛血清的 DMEM 培养基, 置于 CO₂ 培养箱培养。6 h 后将培养瓶缓慢原位翻转后继续培养, 至第 5 天时, 可见少量梭形或长梭形细胞自组织块周围游出, 培养 3 周后, 细胞融合成片, 呈“峰、谷”状生长。用 0.25% 胰蛋白酶消化, 采用爬片法接种于 6 孔培养板的盖玻片上, 使之在盖玻片上继续生长, 至单层汇合后取出晾干, 丙酮固定, 经 SMA 单抗免疫组织化学染色证实为 VSMC, 纯度 > 95% 时, 继续传代培养, 取 4~8 代生长良好的细胞用于实验。

1.5 细胞钠/氢交换蛋白 1 活性测定

细胞培养及药物处理和漂洗负载过程同细胞内 pH 的测定。将 BCECF 负载后的细胞用不含 Na⁺ 的 HEPES 缓冲液漂洗 2~3 min, 使未进入细胞的 BCECF 洗脱, 然后用含 30 mmol/L NH₄Cl 的 HEPES 缓冲液处理 15 min, 使细胞酸化。在此种没有 Na⁺ 的情况下, 酸化后的细胞内 pH 值不会恢复; 然后在测定液中加入含 145 mmol/L NaCl 的 HEPES 缓冲液, 然后将玻片固定至荧光分光光度计, 测定条件同细胞内 pH 的测定, 此时在 Na⁺ 存在的条件下 NHE1 激活, 细胞内 pH 值开始恢复, 记录 1 min 内 pH 值随着时间变化的速率, 即为 NHE1 活性, 以 dpH/dt (pH/min) 表示。

1.6 细胞钠/氢交换蛋白 1 mRNA 表达的测定

采用 Trizol 法提取总 RNA。取上述提取的总 RNA 5 μ L, olig(dT) 1 μ L, 加 DEPC 处理水至 12 μ L, 混匀, 4 000 r/min 离心 5 s, 70℃ 孵育 5 min 后于冰上冷却 5 min, 再加入 5 × Buffer 4 μ L, 10 mmol/L dNTP 2 μ L, 4 × 10⁷ U/L RNase Inhibitor 1 μ L, 加 DEPC 水处理到 19 μ L 混匀, 4 000 r/min 离心 5 s, 37℃ 反应 5 min, 冰上骤冷 5 min, 加入逆转录酶 1 μ L, 总反应体系 20 μ L 混匀, 4 000 r/min 离心 5 s

之后于 42℃反应 60 min, 72℃反应 10 min, 冰上骤冷结束反应。逆转录产物可以继续进行 PCR 扩增。取 PCR 产物 5 μL, 经 1.5% 琼脂糖凝胶电泳, EB 染色后摄片, 用 ImageMaster VDS 图像分析软件测定产物条带的积分光密度值。计算以 GAPDH 为内对照, 用 NHE1 与 GAPDH 的光密度的相对比值代表 NHE1 mRNA 的表达量。

1.7 统计学分析

所有数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示。组间差异比较用 ANOVA 及 Newman-Student 多重比较 *t* 检验分析。双侧 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 糖基化终末产物对大鼠平滑肌细胞上钠/氢交换蛋白 1 活性和 mRNA 表达的影响

AGE 可显著提高 NHE1 的活性, 且在 10 mg/L 时达到最大值 ($P < 0.01$); 高浓度处理组与中、低浓度处理组间差异有统计学意义 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$), 中、低浓度组间差异亦有统计学意义 ($P < 0.01$; 表 1)。

AGE 与 VSMC 共孵育 24 h 后, NHE1 mRNA 表达比对照组明显升高。高浓度处理组与中、低浓度处理组之间差异有统计学意义 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$), 中、低浓度组之间差异亦有统计学意义 ($P < 0.01$; 表 1 和图 1)。

表 1 糖基化终末产物对钠/氢交换蛋白 1 活性和 mRNA 表达的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 8$)

分 组	d _p H / dt (pH / min)	NHE1 mRNA
正常对照组	0.66 ± 0.05	0.77 ± 0.07
低浓度 AGE 处理组	0.71 ± 0.03 ^a	0.88 ± 0.08 ^a
中浓度 AGE 处理组	0.80 ± 0.07 ^{bc}	1.23 ± 0.06 ^{bc}
高浓度 AGE 处理组	0.88 ± 0.06 ^{bcd}	1.33 ± 0.08 ^{bcd}

a 为 $P < 0.05$, b 为 $P < 0.01$, 与正常对照组比; c 为 $P < 0.01$, 与低浓度 AGE 处理组比; d 为 $P < 0.05$, 与中浓度 AGE 处理组比。

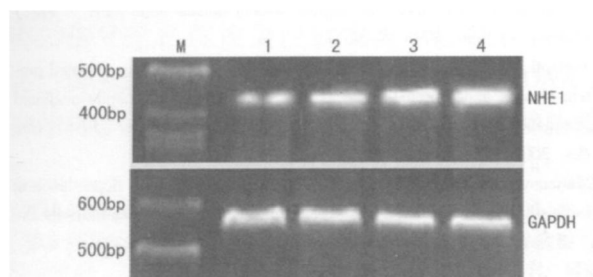


图 1 糖基化终末产物对钠/氢交换蛋白 1 mRNA 表达的影响 1 为对照组, 2~4 分别为低、中、高浓度 AGE 处理组。

2.2 AntiRAGE 和 PD98059 对糖基化终末产物诱导的平滑肌细胞上钠/氢交换蛋白 1 活性的影响

应用 RAGE 的阻断剂 antiRAGE 5 mg/L 与 VSMC 预孵 12 h 后即可完全抑制由 AGE 诱导的 NHE1 活化 (表 2), 说明 AGE 诱导的 NHE1 活化由 RAGE 所介导。用不同浓度的 MAPK 特异性阻断剂 PD98059 处理后, 可以显著抑制由 AGE 诱导的 NHE1 活化, 其中 PD98059 高浓度处理组与中、低浓度处理组之间差异有统计学意义 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$), PD98059 中、低浓度组之间差异也有统计学意义 ($P < 0.01$; 表 3)。

表 2 AntiRAGE 对糖基化终末产物诱导的平滑肌细胞上钠/氢交换蛋白 1 活性的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 8$)

分 组	d _p H / dt (pH / min)
正常对照组	0.67 ± 0.03
AGE 处理组	0.90 ± 0.05 ^a
AGE + antiRAGE 处理组	0.68 ± 0.04 ^b
antiRAGE 处理组	0.67 ± 0.05

a 为 $P < 0.05$ 与正常对照组比; b 为 $P < 0.05$ 与 AGE 处理组比。

表 3 PD98059 对糖基化终末产物诱导的平滑肌细胞上钠/氢交换蛋白 1 活性的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 8$)

分 组	d _p H / dt (pH / min)
正常对照组	0.63 ± 0.03
AGE 处理组	0.94 ± 0.05 ^a
AGE + 低浓度 PD98059 处理组	0.86 ± 0.06 ^b
AGE + 中浓度 PD98059 处理组	0.74 ± 0.05 ^{cd}
AGE + 高浓度 PD98059 处理组	0.66 ± 0.07 ^{cde}
PD98059 处理组	0.62 ± 0.03

a 为 $P < 0.01$, 与正常对照组比; b 为 $P < 0.05$, c 为 $P < 0.01$, 与 AGE 处理组比; d 为 $P < 0.01$, 与 AGE + 低浓度 PD98059 处理组比; e 为 $P < 0.05$, 与 AGE + 中浓度 PD98059 处理组比。

3 讨论

糖尿病时, 高血糖促进 AGE 大量形成和积聚, 由于其形成过程是不可逆的, 故此时即使纠正高血糖, AGE 的损害仍继续存在, 即所谓的高糖记忆现象, 这也是糖尿病患者血糖控制良好的情况下, 其血管病变仍持续发展的重要原因^[10]。AGE 致糖尿病血管病变的机制主要有直接和间接两种途径。AGE 可直接与蛋白质交联引起蛋白质老化, 从而导致含蛋白质的酶、细胞膜等功能障碍; 间接途径是 AGE 与细胞上的受体 RAGE 结合, 通过细胞内的一系列信号通路引起细胞功能障碍。以往研究表明蛋

白交联抑制剂可阻断 AGE 的直接作用,但对 RAGE 介导的间接途径无作用,因此探明 RAGE 的细胞内信号途径对糖尿病血管病变具有重要意义。

近年来发现在 1 型和 2 型糖尿病大鼠心肌、肾、视网膜等组织发现 NHE1 活性明显增加,用选择性 NHE1 抑制剂能阻止糖尿病大鼠心肌病、肾病及视网膜病的发生发展,表明 NHE1 的活化可能与糖尿病血管并发症有关,此外在血糖控制良好的情况下, NHE1 的活性仍持续增高,表明 NHE1 的活化可能不是高糖独立作用的结果,这与 AGE 引起的高糖记忆现象相似。我们以往的研究发现 NHE1 的选择性抑制剂 Cariporide 能抑制 AGE 诱导的 VSMC 增殖^[11],间接证明了 NHE1 可能参与了 AGE 诱导的 VSMC 增殖过程。为了进一步探讨 NHE1 是否参与 AGE 的细胞内信号通路,本研究直接检测了 AGE 对 NHE1 活性的影响,结果表明 AGE 可浓度依赖性地诱导 NHE1 的活性增高。RT-PCR 结果显示, AGE 与 VSMC 孵育 24 h 后,可以显著增加 NHE1 mRNA 的表达。以往研究亦表明长期维持 NHE1 的活性增强,与其表达增多有关^[12],本研究结果与其一致。

NHE1 的活性受多种因素调节,如蛋白激酶 C、MAPK 和 G 蛋白等。高糖促进 NHE1 的活性增强主要通过两条途径: DAG 合成增多及促进氧化应激,高血糖代谢过程中许多中间代谢产物可以从头合成 DAG,后者是体内蛋白激酶 C 的唯一激活剂,此外高糖环境尚可直接增加 PKC 基因表达增多。已证实 PKC 几乎在所有种类的细胞上可以激活 NHE1^[6]。而关于 NHE1 参与平滑肌细胞增殖的过程, MAPK 的活化是 NHE1 活性最为重要的研究机制之一。以往研究精氨酸加压素和佛波酯均可迅速活化 NHE1,且为 MAPK 途径依赖性的,氧化型低密度脂蛋白 (oxidized low density lipoprotein, ox-LDL) 也通过 MAPK 途径促进平滑肌细胞的增殖^[13]。文献报道 AGE 通过激活 MAPK 信号途径而促进 VSMC 增殖,最终导致糖尿病血管并发症的形成。故此我们推测 AGE 通过 MAPK 途径而活化平滑肌细胞上 NHE1,进而促进 VSMC 的增殖。本研究结果发现不同浓度 PD98059 预处理后可浓度依赖性地抑制由 AGE 诱导的 NHE1 活化,说明 AGE 诱导的 NHE1 活化是 MAPK 途径依赖性的。关于 MAPK 途径诱导 NHE1 活化的机制可能与磷酸化 NHE1 的 C 末端有关,多种促有丝分裂原均可磷酸化 NHE1 的 C 末端,同时伴有 NHE1 的活性增高,说明 NHE1 的活化与其 C 末端被磷酸化有关^[14]。在 NHE1 的

C 末端存有 MAPK 的磷酸化位点,以往研究在分离培养的骨骼肌细胞上证明 MAPK 途径可诱导 NHE1 活化,其机制与其磷酸化 NHE1 的 C 末端有关^[10,15]。关于 AGE 诱导的 NHE1 活化是否与 MAPK 途径磷酸化 NHE1 的 C 末端有关,还需进一步的实验证明。另外应用 anti-RAGE 预处理后,可以完全取消由 AGE 诱导的 NHE1 活化,此结果提示 NHE1 可能是 RAGE 介导的细胞内信号通路的一部分。综上所述, NHE1 可能为 AGE/RAGE/MAPK 信号通路的重要一部分,从而在 AGE 致糖尿病血管病变中起重要作用。

[参考文献]

- [1] Jandeleit-Dahm K, Watson A, Soro-Paavonen A. The AGE/RAGE axis in diabetes-accelerated atherosclerosis [J]. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 2008; **35**: 329-334
- [2] Yanagishi S, Nakamura K, Matsui T, et al. Receptor for advanced glycation end products (RAGE): a novel therapeutic target for diabetic vascular complication [J]. *Curr Pharm Des* 2008; **14**: 487-495
- [3] Price CL, Knight SC. Advanced glycation: a novel outlook on atherosclerosis [J]. *Curr Pharm Des* 2007; **13**: 681-687
- [4] 郑超, 文格波. 晚期糖化终产物在糖尿病血管并发症中的致病机制 [J]. *中国动脉硬化杂志*, 2000; **8**: 270-272
- [5] Larry Fliegel. Molecular biology of the myocardial Na^+/H^+ exchanger [J]. *J Mol Cell Cardiol* 2008; **44**: 228-237
- [6] Hannan KM, Little PJ. Mechanisms regulating the vascular smooth muscle Na^+/H^+ exchanger (NHE-1) in diabetes [J]. *Biochem Cell Biol* 1998; **76**: 751-759
- [7] Jandeleit-Dahm K, Hannan KM, Farrelly CA, et al. Diabetes-induced vascular hypertrophy is accompanied by activation of Na^+/H^+ exchange and prevented by Na^+/H^+ exchange inhibition [J]. *Circ Res* 2000; **87**: 133-140
- [8] Lucchesia PA, Berk BC. Regulation of sodium-hydrogen exchange in vascular smooth muscle [J]. *Cardiovasc Res* 1995; **29**: 172-177
- [9] 盛林, 马承恩, 郝琳, 等. 普罗布考抑制过氧化氢刺激大鼠主动脉平滑肌细胞增殖的机制 [J]. *中国动脉硬化杂志*, 2007; **15**: 678-682
- [10] Wu SJ, Song T, Zhou SH. Involvement of Na^+/H^+ exchanger 1 in advanced glycation end products-induced proliferation of vascular smooth muscle cell [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2008; **375**: 384-389
- [11] Berk BC, Elder E, Mitsuka M. Hypertrophy and hyperplasia cause differing effects on vascular smooth muscle cell Na^+/H^+ exchange and intracellular pH [J]. *J Biol Chem*, 1991; **32**: 632-637
- [12] Aharonovitz O, Granot Y. Stimulation of mitogen-activated protein kinase and Na^+/H^+ exchanger in human platelets: differential effect of phorbol ester and vasopressin [J]. *Circ J*, 2007; **71**: 697-702
- [13] Kanda Y, Nishio E, Watanabe Y. Differential regulation of Na^+/H^+ exchange and DNA synthesis in vascular smooth muscle cells [J]. *Eur J Pharmacol* 1999; **371**: 69-74
- [14] Snabaitis AK, Yokoyama H, Avkiran M. Roles of mitogen-activated protein kinases and protein kinase C in $\alpha_1(\text{A})$ -adrenoceptor-mediated stimulation of the sarcolemmal Na^+/H^+ exchanger [J]. *Circ Res* 2000; **86**: 214-220
- [15] Marjanovic M, Elliott AC, Dawson MJ. The temperature dependence of intracellular pH in isolated frog skeletal muscle: lessons concerning the Na^+/H^+ exchanger [J]. *J Membr Biol* 1998; **161**: 215-225

(此文编辑 许雪梅)