

[文章编号] 1007-3949(2011)19-07-0573-05

• 实验研究 •

1-磷酸鞘氨醇受体途径诱导的心肌肥大及蛋白激酶 C 的调节作用

李跃艳¹, 熊升林²

(1. 南华大学附属第一医院心血管内科, 湖南省衡阳市 421001; 2. 南华大学心血管疾病研究所, 湖南省衡阳市 421001)

[关键词] 蛋白激酶 C; 心肌细胞肥大; 1-磷酸鞘氨醇

[摘要] 目的 研究 1-磷酸鞘氨醇受体途径在 1-磷酸鞘氨醇(S1P) 诱导乳鼠心肌细胞肥大反应中的作用。方法 原代培养乳鼠心肌细胞, 测定心肌细胞体积和 [³H]-亮氨酸掺入量作为心肌细胞肥大的指标。实验分对照组(不加任何干预因素)、S1P 组(S1P 直接作用于心肌细胞)、VPC23019 组(S1P1 和 S1P3 受体抑制剂进行干预 30 min 后, 加入 S1P 刺激心肌细胞)、JTE 组(S1P2 受体抑制剂进行干预 30 min 后, 加入 S1P 刺激心肌细胞)及 Staurosporine 组(蛋白激酶 C 抑制剂进行干预 30 min 后, 加入 S1P 刺激心肌细胞), [³H]-亮氨酸掺入法测定心肌细胞蛋白合成速率; 用 qPCR 和 Western blot 法检测心肌细胞 β -肌球蛋白重链的 mRNA 和蛋白表达水平。结果 10、100 和 1000 nmol/L 的 S1P 均能增加乳鼠心肌细胞的细胞体积和 [³H]-亮氨酸掺入量, 尤以 1000 nmol/L S1P 最为明显, 因而选择 1000 nmol/L S1P 作用心肌细胞 48 h 为成功的心肌细胞肥大模型。1000 nmol/L S1P 处理心肌细胞 48 h, 可使 [³H]-亮氨酸掺入量明显增加, 该作用可被 S1P2 受体抑制剂或蛋白激酶 C 抑制剂明显抑制。与对照组相比, S1P 组心肌细胞 β -肌球蛋白重链的 mRNA 和蛋白表达水平显著增加。与 1000 nmol/L S1P 组相比, S1P2 受体抑制剂组和特异性蛋白激酶 C 抑制剂组 β -肌球蛋白重链的 mRNA 和蛋白表达水平显著下降。结论 S1P 介导的心肌肥大主要依赖 S1P2 途径介导。S1P2 介导心肌肥大反应的机制可能部分通过激活蛋白激酶 C 途径而实现。

[中图分类号] R363

[文献标识码] A

Sphingosine-1-Phosphate-Protein Kinase C Signaling Regulates the Cardiomyocyte Hypertrophic Responses Induced by Sphingosine-1-Phosphate

LI Yue-Yan¹, and XIONG Sheng-Lin²

(1. Department of Cardiology, the First Affiliated Hospital, University of South China, Hengyang, Hunan 421001; 2. Institute of Cardiovascular Research&Key Laboratory for Atherosclerosis of Hunan Province, University of South China, Hengyang, Hunan 421001, China)

[KEY WORDS] Protein Kinase C; Cardiomyocyte Hypertrophy; Sphingosine-1-Phosphate

[ABSTRACT] **Aim** To investigate the regulatory role of sphingosine-1-phosphate receptors (S1PR) in cardiomyocyte hypertrophic response induced by S1P. **Methods** Cell volumes and protein compound rate of neonatal heart cells were used as indexes of hypertrophic cardiomyocytes models induced by S1P. Neonatal heart cells were randomly divided into 5 groups: normal control; hypertrophic group: cells were stimulated by S1P (1000 nmol/L); pretreatment group: cells were treated with VPC23019 (10 μ mol/L) 30 min before adding S1P; pretreatment group: cells were treated with JTE (10 μ mol/L) 30 min before adding S1P and pretreatment group: cells were treated with Staurosporine (10 nmol/L) 30 min before adding S1P. Protein compound rate of neonatal rat cardiomyocyte cells was assayed by [³H]-leucine incorporation. The expression of β -myosin heavy chain (β -MHC) was detected by qPCR and Western Blot. **Results** 10, 100 and 1000 nmol/L S1P increased neonatal rat cardiac cell volume and [³H]-leucine incorporation, especially 1000 nmol/L S1P. Cells treated with S1P at 1000 nmol/L for 48 h were chosen as hypertrophic cardiocyte model. S1P (1000 nmol/L) treatment of myocytes 48 h, can increase significantly [³H]-leucine incorporation, the effect was significantly inhibited by S1P2 receptor inhibitor (JTE) or protein kinase C (PKC) inhibitor (Staurosporine). Compared with the con-

[收稿日期] 2011-04-26

[作者简介] 李跃艳, 硕士研究生, 主治医师, 研究方向为冠心病防治, E-mail 为 confyang@sina.com。熊升林, 硕士研究生, 研究方向为动脉粥样硬化的分子发生机制, E-mail 为 1051814002@qq.com。

trol group, hypertrophy of myocardial cells of β -MHC mRNA and protein levels were significantly increased. Compared with S1P (1000 nmol/L) treatment group, β -MHC expression levels of S1P2 receptor-specific inhibitor and the PKC inhibitor group was significantly decreased. **Conclusion** The activation of S1P2 played an important role in cardiomyocytes hypertrophy induced by S1P. S1P2-PKC signaling regulates the cardiomyocyte hypertrophic responses induced by S1P.

心肌肥厚是心肌对各种原因导致的血流动力学超负荷的一种适应性反应,临床中,多种心血管疾病均可导致。一定程度的心肌肥厚具有代偿意义,但过度的心肌肥厚则是导致心力衰竭、心律失常和猝死的高危因素。G 蛋白耦联受体是介导儿茶酚胺如肾上腺素、去甲肾上腺素和血管紧张素的关键受体,该受体分布于主动脉、肺动脉和冠状动脉,通过控制血管收缩、紧张度和心脏代谢而介导心肌肥厚。血管紧张素 II、血清素、 α -肾上腺素受体首先耦联到异源性三聚体 G 蛋白的 Gq 亚单位,然后导致甘油二酯和 1,4,5-三磷酸肌醇的积聚,然后活化蛋白激酶 C (protein kinase C, PKC) 和丝裂原活化蛋白激酶 (mitogen-activated protein kinases, MAPK)^[1]。1-磷酸鞘氨醇 (sphingosine-1-phosphate, S1P) 的受体是 G 蛋白偶联受体家族成员之一,至今发现的受体亚型包括 S1P1~5。这 5 种受体亚型均与 S1P 有高亲和力,通过激动各自的细胞内信号途径而发挥作用,包括促进血管内皮细胞迁移、增殖,调节细胞内钙离子流动,抑制黏附分子表达和心肌缺血再灌注损伤的保护等^[2-5]。研究发现, S1P 呈浓度依赖性诱导心肌细胞内心肌蛋白合成增加,心肌细胞形态增大,最终造成心肌肥厚^[6]。可见 S1P 在肥厚心肌发生中起重要作用,但尚不清楚 S1P 致心肌肥厚作用是否与 S1P 受体途径信号转导系统有关,本实验通过观察 S1P 受体信号转导途径在 S1P 诱导乳鼠心肌细胞肥大中的反应以及 S1P 受体抑制剂对 S1P 诱导的乳鼠心肌细胞肥大的影响,为研究 S1P 在心肌肥大反应中的作用机制和探讨抑制心肌肥厚新靶点提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1~3 天龄 SD 大鼠 (南华大学医学院实验动物学部提供),雌雄不拘。S1P、JTE 和 VPC23019 (Cayman); 5'2 溴脱氧尿苷 (BrdU)、胰蛋白酶 (Sigma); DMEM 培养液、新生牛血清、I 型胶原酶 (Gibco); 小鼠抗 β -actin 单克隆一抗、羊抗大鼠 β -肌球蛋白重链 (β -myosin heavy chain, β -MHC) IgG (Abcam); 相应二抗 (南京中山生物技术有限公司); ECL 增强型

化学发光显色试剂 (Pierce); qPCR 试剂盒 (Invitrogen); [3 H]-亮氨酸 (上海华壹公司)。

1.2 心肌细胞培养

取 1~3 天 SD 乳鼠,无菌条件下剪取心脏,剥离心房及大血管等组织,经预冷的 D-hank's 液中漂洗 3 次后剪成约 1 mm³ 大小碎块,加入 5 倍体积的 0.1% 胰酶,反复吹打后置 37℃ 恒温摇床 (190 r/min) 消化 3~5 min,静置,待自然沉降后弃去上清液。剩余沉淀再加入 0.1% 胶原酶 5 mL,反复吹打后置 37℃ 恒温摇床 (190 r/min) 消化 5 min,静置后将上清液移入离心管中,反复吹打至无细胞团块后加含 10% 新生牛血清的 DMEM 培养液,消化产物以 1000 r/min 离心 10 min,弃上清液。剩余沉淀用同样条件及方法重复消化 6~8 次,各次消化产物以 1000 r/min 离心 10 min,弃去上清液后将细胞加入含 10% 新生牛血清的 DMEM 培养液,分装入 50 mL 培养瓶中,置 37℃、5% CO₂ 培养箱中孵育 1 h 后,轻轻吸出细胞悬液,将心肌细胞用 10% 新生牛血清 DME 液配成 1×10⁹/L 均匀地接种于 6 孔板上,每孔 2 mL。在心肌细胞培养的最初 2 天内加 0.1 mmol/L 的 BrdU,以抑制非心肌细胞如成纤维细胞的生长。

1.3 乳鼠心肌细胞肥大模型的建立

心肌细胞经上述方法培养 48 h,换无血清培养液后再培养 24 h,给予不同浓度 (10、100 和 1000 nmol/L) S1P 干预心肌细胞 2 天,细胞图像分析系统测量心肌细胞体积和 [3 H]-亮氨酸掺入法测定蛋白质合成速率作为心肌肥大指标。乳鼠心肌细胞体积的增大和蛋白合成的显著增多表示乳鼠心肌细胞肥大建模成功。

1.4 实验分组

预实验结果显示 S1P 各受体在乳鼠心肌细胞均有表达,而以 S1P1、S1P2 和 S1P3 表达明显。因此以 S1P1、S1P2 和 S1P3 的特异抑制剂作为处理组,加入不同干预药物进行实验,每组 12 例。实验分为对照组 (培养液中不加干预药物)、S1P 组 (1000 nmol/L)、VPC23019 (S1P1 和 S1P3 抑制剂) 组 (10 μ mol/L VPC23019 预处理 30 min)、JTE (S1P2 抑制剂) 组 (10 μ mol/L JTE 预处理 30 min) 和 Staurosporine (PKC 抑制剂) 组 (10 nmol/L Stauros-

porine 预处理 30 min); VPC23019 组、JTE 组和 Staurosporine 组加入 S1P (1000 nmol/L) 继续培养 48 h。

1.5 心肌细胞 [3 H]-亮氨酸掺入量测定

按上述分组加入不同干预药物时, 加入 [3 H]-亮氨酸 3.7×10^8 mBq/孔, 培养 48 h 后, 将细胞收集于玻璃纤维素膜上, 然后用 10% 三氯乙酸和无水乙醇再冲洗。滤膜烘干后置于含 5 mL 闪烁液的闪烁瓶中, 以 LS8100 型液体闪烁仪 (Beckman) 测定放射性强度 (cpm/cell)。

1.6 心肌细胞 β -MHC 的 mRNA 水平测定

通过 Real-time PCR 的方法检测各实验组心肌细胞中 β -MHC 基因的表达情况。先行细胞总 RNA 的提取, 逆转录成 cDNA, 然后进行目的基因 (β -MHC) 的 qPCR。依据文献检索及在 Entrez PubMed 上验证, 设计出相应的引物。 β -MHC 上游引物为 5'-CTGGC ACCGT GGACT ACAAC -3', 下游引物为 5'-CGCAC AAGT GAGGA TAGGCT-3'; 内参 β -actin 的上游引物为 5'-GTAAA GACCT CTATGC CAACA-3', 下游引物为 5'-GGACT CATCG TACTCC TGCT-3'。qPCR 扩增条件为 95℃ 预变性 5 min, 95℃ 变性 10 s, 60℃ 退火 30 s, 共 40 次循环。反应结束后, 确认 Real-Time PCR 的扩增曲线和融解曲线, 进行 PCR 相对定量分析。

1.7 心肌细胞 β -MHC 蛋白水平测定

采取 Western blot 法测定 β -MHC 蛋白水平。6 孔板的细胞用 PBS 清洗后裂解, 提取蛋白, 用 Bradford 法测定蛋白浓度。将蛋白样品置于制备的 10% 分离胶和 5% 的积层胶上样孔内, 每孔样品量 100 μ g, 电泳, 将蛋白转移至硝酸纤维素膜, 以 TBS (20 mmol/L Tris, 150 mmol/L NaCl) 简单漂洗硝酸纤维素膜, 将印迹面朝上置于 TBST 液 (20 mmol/L Tris, 150 mmol/L NaCl, 0.05% Tween 20) 配制的 5% 脱脂奶粉中, 室温封闭 2 h, 弃去封闭液, 分别加入兔抗大鼠 β -MHC 一抗 (1:500)、羊抗小鼠 β -actin 单克隆一抗 (1:1000), 4℃ 孵育过夜, TBST 溶液洗膜 3 次 \times 20 min。室温加相应二抗 (1:5000) 于摇床上于杂交膜孵育 2 h, 二抗作用结束后, 弃除液体, 以 TBST 漂洗硝酸纤维素膜 4 \times 15 min, 与 ECL 试剂反应 1 min, X 线片曝光显影, 凝胶成像分析系统摄像分析。

1.8 统计学处理

采用 SPSS13.0 统计软件进行数据分析。所有数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间比较采用单因素方差分析及 t 检验, $P < 0.05$ 为差异有显著性意义。

2 结 果

2.1 S1P 对心肌细胞的体积和蛋白质合成速率的影响

在无血清培养液中, 乳鼠心肌细胞体积增大, 蛋白合成速率增加, 尤以 1000 nmol/L S1P 组最明显 ($P < 0.05$; 表 1)。因此以 1000 nmol/L 作为 S1P 的标准实验浓度处理心肌细胞 48 h, 建立乳鼠心肌细胞肥大模型。

表 1. S1P 诱导的肥大心肌细胞的体积、蛋白质合成速率 ($\bar{x} \pm s, n = 12$)

Table 1. Cell volumes and protein compound rate of hypertrophic cardiomyocytes induced by S1P

S1P 浓度	细胞体积	[3 H]-亮氨酸掺入量 (cpm/ 10^{-5})
0 (对照组)	100%	666.91 \pm 55.44
10 nmol/L	212.18% \pm 28.08%	787.54 \pm 64.76
100 nmol/L	378.38% \pm 31.32%	890.52 \pm 69.87
1000 nmol/L	619.27% \pm 41.07% ^a	1412.12 \pm 98.74 ^a

a 为 $P < 0.05$, 与对照组比较。

2.2 不同抑制剂对 S1P 诱导的肥大心肌细胞蛋白质合成速率的影响

经 VPC23019 (10 μ mol/L)、JTE (10 μ mol/L) 及 Staurosporine (10 nmol/L) 预处理 30 min 后, 再用 S1P (1000 nmol/L) 处理心肌细胞 48 h, 结果显示 JTE 和 Staurosporine 组 [3 H]-亮氨酸掺入量较 S1P 组显著减少 ($P < 0.05$), 而 VPC23019 组与 S1P 组比较差异无显著性 ($P > 0.05$; 表 2)。表明 S1P 主要通过 S1P2 受体途径诱导心肌的蛋白合成, 同时 PKC 参与 S1P 的这种作用。

表 2. 不同抑制剂对 S1P 诱导的肥大心肌细胞蛋白质合成速率的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 12$)

Table 2. Effects of signal inhibitions on protein compound rate of hypertrophic cardiomyocytes induced by S1P

分 组	[3 H]-亮氨酸掺入量 (cpm/ 10^{-5})
对照组	578.49 \pm 53.23
S1P 组	1348.14 \pm 89.98 ^a
VPC23019 组	1287.78 \pm 82.46 ^a
JTE 组	714.34 \pm 79.35 ^b
Staurosporine 组	654.39 \pm 68.72 ^b

a 为 $P < 0.05$, 与对照组比较; b 为 $P < 0.05$, 与 S1P 组比较。

2.3 β-MHC 的 mRNA 和蛋白表达变化

与对照组比较,S1P 组的 β-MHC mRNA 和蛋白表达水平显著增加;VPC23019 组与 S1P 组比较 β-MHC mRNA 和蛋白表达水平差异无显著性;而 JTE 组和 Staurosprine (PKC 抑制剂) 组 β-MHC mRNA 和蛋白表达水平较 S1P 组则显著下降 ($P < 0.05$; 表 3 和图 1)。表明 S1P 可诱导心肌细胞 β-MHC mRNA 和蛋白表达水平显著增加,这种作用可被 S1P2 受体抑制剂 (JTE) 衰减,而 S1P1 和 S1P3 受体抑制剂 (VPC23019) 对 S1P 诱导的心肌细胞 β-MHC mRNA 和蛋白表达水平没有显著影响,提示 S1P 通过 S1P2 受体途径影响心肌细胞 β-MHC 基因的表达,从而导致心肌肥厚。而 PKC 抑制剂 (Staurosprine) 是通过阻断 S1P 激活 S1P2 后激活的 PKC 信号途径,阻止心肌细胞内 PKC 的激活,进而抑制肥厚心肌细胞 β-MHC 的表达,提示 S1P2 部分通过 PKC 途径介导心肌肥大反应。

表 3. 不同抑制剂对 S1P 诱导的肥大心肌细胞 β-MHC mRNA 和蛋白表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 12$)

Table 3. Effects of signal inhibitions on β-MHC mRNA and protein levels of hypertrophic cardiomyocytes induced by S1P

分 组	β-MHC mRNA	β-MHC 蛋白
对照组	0.55 ± 0.08	0.51 ± 0.11
S1P 组	0.84 ± 0.12 ^a	0.76 ± 0.14 ^a
VPC23019 组	0.80 ± 0.11 ^a	0.68 ± 0.13 ^a
JTE 组	0.58 ± 0.08 ^b	0.45 ± 0.10 ^b
Staurosprine 组	0.46 ± 0.06 ^b	0.40 ± 0.08 ^b

a 为 $P < 0.05$, 与对照组比较; b 为 $P < 0.05$, 与 S1P 组比较。

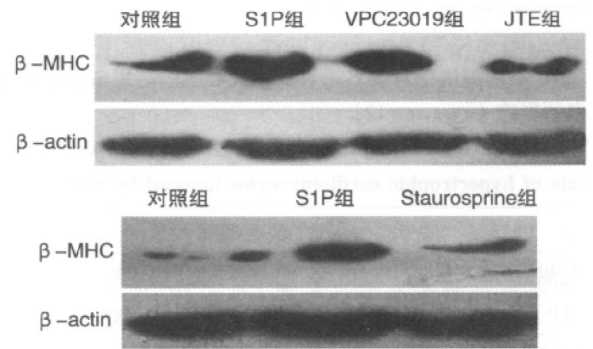


图 1. S1P 受体抑制剂 (上图) 和 PKC 抑制剂 (下图) 对 S1P 诱导的肥大心肌细胞 β-MHC 蛋白表达的影响

Figure 1. Effects of signal inhibitions on β-MHC protein levels of hypertrophic cardiomyocytes induced by S1P

3 讨 论

心肌肥厚是导致心血管疾病死亡的一个危险因素,其特征是在各种病理刺激作用下,心肌细胞内信号传导相继激活即刻早期基因 (如 c-fos), 且心脏的结构基因 β-MHC、骨骼肌肌动蛋白 (α-skeletal-actin)、心钠素 (atrial natriuretic peptide, ANP) 等表达增强,致使心肌细胞体积增大、蛋白合成增加及心肌细胞的表型改变^[7]。随之心功能恶化、心肌结构基因骨骼肌肌动蛋白和 β-MHC 基因表达呈逐渐增加趋势, β-MHC 增加可使心肌细胞能量的释放和纤维缩短的速度减慢,骨骼肌肌动蛋白的增加说明心力衰竭患者心肌组织骨骼肌化明显,心肌组织收缩力下降而影响心功能,最终导致心功能衰竭^[8,9]。

过去十年,人们对心肌肥厚的信号通路进行了比较深入的研究^[10]。在心肌细胞用蛋白酪氨酸激酶 JAK2 抑制剂比 MEK 或磷脂酰肌醇 3-激酶 (phosphatidylinositol 3-kinase, PI3-K) 抑制剂处理使心肌细胞的 ANP 表达减少,而 MEK 抑制剂则显著降低心肌标志基因如 c-fos、骨骼肌肌动蛋白、脑钠肽 (brain natriuretic peptide, BNP) 的表达^[11]。携显性突变体信号传导和转录激活因子 3 (signal transducer and activator of transcription 3, STAT3) 基因的腺病毒转导入心肌细胞可部分衰减 c-fos、BNP 的表达^[12]。PKC 在细胞的生长、分化、细胞代谢以及转录激活等方面具有非常重要的作用。在心血管系统 PKC 也参与调节血管收缩、离子通道开放、缺血预处理等反应^[1]。然而心肌肥厚是一个与遗传、生理和环境因素相互作用有关的复杂过程,其发生、发展过程是许多基因和其表达产物通过不同的途径作用的结果,传统的药物靶向肥厚前通路,如血管紧张素转化酶抑制剂和 β-肾上腺素受体阻滞剂能够降低心肌肥厚,但是并不完全。因此,心肌肥厚相关新基因的发现和鉴定对理解心肌肥厚的机制十分重要。在压力超负荷性心肌肥厚中,S1P 和心肌肥厚有密切关系,其在参与心肌细胞对压力超负荷的应答方面起重要作用。本研究结果发现,与对照组比较,S1P 组 β-MHC 蛋白和 mRNA 水平显著增加,提示 S1P 可刺激 β-MHC 蛋白表达增强,且 β-MHC 基因在心肌肥厚发生发展过程中起重要作用。S1P1 和 S1P3 受体拮抗剂 VPC23019 组 β-MHC 蛋白和 mRNA 水平较 S1P 组无显著变化;而 S1P2 受体拮抗剂 JTE 组及 PKC 抑制剂组 β-MHC 蛋白和 mRNA 水平较 S1P 组则显著下降,说明 JTE 可以抑制乳鼠心肌细胞 β-MHC 基因的表达,由此推测 S1P 主要通过激

活 S1P2 受体,从而诱导 β -MHC 基因表达增加,导致心肌肥厚,而 PKC 抑制剂是通过阻断心肌细胞 S1P 激活 S1P2 后激活的 PKC 信号途径,阻止心肌细胞内 PKC 的活化,进而抑制肥厚心肌细胞 β -MHC 的表达。综上所述,S1P 介导心肌肥厚的机制可能是通过激活 S1P2,从而诱导 PKC 途径中 β -MHC 基因表达而实现的,S1P2-PKC 信号途径有望成为治疗心肌肥厚新靶点。

[参考文献]

- [1] Johnson JA. An epsilon PKC-selective inhibitor attenuates back phosphorylation of a low molecular weight protein in cardiac myocytes [J]. *Cell Signal*, 2003, 15 (1): 123-130.
- [2] Kimura T, Sato K, Malchinkhuu E, et al. High-density lipoprotein stimulates endothelial cell migration and survival through sphingosine 1-phosphate and its receptors [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2003, 23 (7): 1 283-288.
- [3] Williams RJ. Calcium: outside/inside homeostasis and signalling [J]. *Biochim Biophys Acta*, 1998, 1448 (2): 153-165.
- [4] Tölle M, Pawlak A, Schuchardt M, et al. HDL-associated lysosphingolipids inhibit NAD (P) H oxidase-dependent monocyte chemoattractant protein-1 production [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2008, 28 (8): 1 542-548.
- [5] Theilmeyer G, Schmidt C, Herrmann J, et al. High-density lipoproteins and their constituent, sphingosine-1-phosphate, directly protect the heart against ischemia/reperfusion injury in vivo via the S1P3 lysophospholipid receptor [J]. *Circulation*, 2006, 114 (13): 1 403-409.
- [6] Robert P, Tsui P, Laville MP, et al. EDG1 receptor stimulation leads to cardiac hypertrophy in rat neonatal myocytes [J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2001, 33 (9): 1 589-606.
- [7] Zhu ZM, Zhang SH, Wagner C, et al. Angiotension AT1b receptor mediates calcium signaling in vascular smooth muscle cells of AT1a receptor deficient mice [J]. *Hypertension*, 1998, 31 (2): 1 171-177.
- [8] Redfield MM. Epidemiology and pathophysiology of heart failure [J]. *Curr Cardiol Rep*, 2000, 2 (3): 179-180.
- [9] Maule S, Milan A, Grosse T, et al. Left ventricular hypertrophy in patients with autonomic failure [J]. *Am J Hypertens*, 2006, 19 (10): 1 049-054.
- [10] Olson EN, Schneider MD. Sizing up the heart: development redux in disease [J]. *Genes*, 2003, 17 (16): 1 937-956.
- [11] Seidman CE, Wong DW, Jarcho JA, et al. Cis-acting sequences that modulate atrial natriuretic factor gene expression [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1988, 85 (11): 4 104-108.
- [12] Kunisada K, Tone E, Fujio Y, et al. Activation of gp130 transduces hypertrophic signals via STAT3 in cardiac myocytes [J]. *Circulation*, 1998, 28 (4): 346-352.

(此文编辑 许雪梅)