

ERK1/2 信号通路介导心肌营养素 1 对心肌细胞缺氧复氧损伤的保护作用

李菊香, 丁浩, 洪葵, 夏子荣, 颜素娟, 苏海, 吴延庆, 吴清华, 程晓曙
(南昌大学附属第二医院心内科, 江西省南昌市 330006)

[关键词] 心肌细胞; 缺氧复氧损伤; 心肌营养素 1; ERK1/2 信号通路

[摘要] 目的 探讨心肌营养素 1 对心肌缺氧复氧损伤的保护作用及其信号通路。方法 用改良的方法培养出 1~3 天的乳鼠心肌细胞, 分为五组: 对照组、缺氧复氧组、缺氧复氧 + 心肌营养素 1 组、缺氧复氧 + 心肌营养素 1 + PD98059 (ERK 阻断剂) 组及缺氧复氧 + 心肌营养素 1 + DMSO 组。缺氧 3 h, 复氧 3 h。MTS 法测定心肌细胞存活率, 四氯四乙基苯丙咪唑基羰化青碘化物 (JC1) 检测心肌细胞线粒体膜电位, 二氯荧光磺双乙酸盐 (DCFH-CA) 检测细胞活性氧水平, 流式细胞仪检测心肌细胞凋亡率, RT-PCR 检测心肌细胞促凋亡基因 Bad mRNA 表达, Western blot 检测 ERK1/2 蛋白水平。结果 缺氧复氧后心肌细胞凋亡率及细胞内活性氧水平较对照组明显增加, 分别是 $19.4\% \pm 2.3\%$ 比 $2.2\% \pm 0.2\%$ 及 14.28 ± 1.42 比 3.54 ± 0.46 ($P < 0.05$), 而心肌细胞存活率显著降低, 心肌细胞线粒体膜电位下降。而心肌营养素 1 处理后, 心肌细胞存活率明显高于缺氧复氧组, 心肌细胞凋亡率及细胞内活性氧水平显著减少, 心肌细胞线粒体膜电位更高, ERK1/2 磷酸化蛋白水平增加, Bad mRNA 表达明显下调。心肌营养素 1 的这种作用能被 ERK 阻断剂 PD98059 抑制。结论 心肌营养素 1 能减轻缺氧复氧引起的心肌细胞损伤, 其作用依赖 ERK1/2 信号通路的激活。

[中图分类号] R363 [文献标识码] A

ERK1/2 Signaling Pathway Involved in Cardiotrophin-1 Cardioprotection Against Cardiocyte Hypoxia-Reoxygenation Injury

LI Ju-Xiang, DING Hao, HONG Kui, XIA Zi-Rong, YAN Su-Juan, SU Hai, WU Yan-Qing, WU Qing-Hua, and CHENG Xiao-Shu

(Department of Cardiology, the Second Affiliated Hospital of Nanchang University, Nanchang, Jiangxi 330006, China)

[KEY WORDS] Cardiomyocyte; Hypoxia/Reoxygenation Injury; Cardiotrophin-1; ERK1/2 Signaling Pathway

[ABSTRACT] Aim To study the cardioprotection of cardiotrophin-1 (CT-1) and investigate the signaling pathways involved in the protective effect of CT-1. Methods Cardiomyocytes from the hearts of 1-3-day-old neonatal rats were prepared by a modified method. Five groups were included in the study: control group, hypoxia/reoxygenation group, hypoxia/reoxygenation + CT-1 group, hypoxia/reoxygenation + CT-1 + PD98059 (ERK inhibitor) group, and hypoxia/reoxygenation + CT-1 + DMSO group. The concentration of CT-1 was 10 $\mu\text{g/L}$. Myocytes survival rate was evaluated by MTS method, apoptosis, mitochondrial permeability transition pore ($\Delta\psi\text{m}$) and reactive oxygen species (ROS) were detected by flow cytometer. The expression of Bad mRNA was measured by RT-PCR, phosphorylated ERK1/ERK2 protein level was measured by Western blot. Results Cardiomyocyte apoptosis and ROS ($19.4\% \pm 2.3\%$ vs $2.2\% \pm 0.2\%$ and 14.28 ± 1.42 vs 3.54 ± 0.46 ; $P < 0.05$) and the expression of Bad mRNA increased markedly after hypoxia/reoxygenation, but cardiomyocyte survival rate and the level of $\Delta\psi\text{m}$ decreased significantly. Phosphorylated ERK1/2 protein level decreased significantly. With CT-1 intervention, cardiomyocyte survival rate increased markedly, apoptosis and ROS reduced significantly. The level of $\Delta\psi\text{m}$ increased. Expression of Bad mRNA downregulated and phosphorylated ERK1/2

[收稿日期] 2011-01-11

[基金项目] 国家重点基础研究发展计划(973 计划, 2008CB517305); 江西省自然科学基金资助(2007GQY1210)

[作者简介] 李菊香, 博士, 主任医师, 教授, 主要从事心电生理和缺血性心脏病研究, E-mail 为 ljx912@126.com。丁浩, 博士研究生, 主要从事缺血性心脏病研究。洪葵, 博士, 主任医师, 教授, 主要从事心律失常研究。

protein level increased. The effects of CT-1 could be inhibited by PD98059, which confirmed that PD98059 specifically involved blocking the protective effect of CT-1. **Conclusions** CT-1 can protect cardiac cells against hypoxia/reoxygenation injury, these effects are dependent upon its ability to activate the extracellular signal regulated kinase ERK1/2 pathway.

大量的基础和临床研究证实,缺血心肌再灌注后,缺血心肌细胞损伤会加重,心肌功能障碍进一步受损、代谢异常以及心肌超微结构的改变进一步加重,即心肌缺血再灌注(I/R)损伤^[1]。再灌注损伤机制复杂,可通过多种途径产生,心肌细胞凋亡与I/R密切相关,线粒体膜通透性转变孔(mPTP)具有调节心肌细胞凋亡的作用^[2]。研究心肌细胞凋亡的保护因子是当前的热点之一。心肌营养素1(CT-1)是一种新近发现的细胞因子,属IL-6超家族,以gp130/LIFR为受体,通过JAK/STAT3信号途径促进心肌细胞肥大,近年研究认为有心肌保护作用,但其机制尚不明了。本研究利用心肌细胞急性缺氧复氧模拟心肌I/R损伤,探讨CT-1在心肌I/R损伤的作用机制及细胞外信号调节激酶(ERK1/2)信号途径的作用。

1 材料和方法

1.1 实验动物与试剂

出生1~3天的Sprague-Dawley大鼠,南昌大学医学院动物部提供。DMEM培养基购于Gibco公司,胰蛋白酶(1:250)、DEPC、二甲基亚砜(DMSO)购于Amresco公司,胎牛血清、四氯四乙基苯丙咪唑基羧化青碘化物(JC1)和还原型二氯荧光素探针(DCFH-CA)购于Molecular Probes公司,RT-PCR试剂、ERK阻断剂PD98059购于Promega公司,Trizol购于Invitrogen公司,兔抗ERK1/2抗体购于北京中山生物工程公司,辣根过氧化物酶山羊抗兔抗体IgG购于华美生物工程有限公司,MTT增殖检测试剂盒和CT-1购于Sigma公司。

1.2 大鼠心肌细胞培养

取出生1~3天的SD大鼠心肌组织,按改良的Simpson等^[3]方法进行分次水浴搅拌消化,差速贴壁法纯化心肌细胞,以 $1 \times 10^6/\text{cm}^2$ 的细胞密度接种于35 mm²培养皿。

1.3 缺氧复氧模型的复制

心肌细胞生长接近汇合状态,呈现同步搏动时开始实验。模拟缺血溶液(NaH_2PO_4 0.9 mmol/L, NaHCO_3 6.0 mmol/L, CaCl_2 1.8 mmol/L, MgSO_4 1.2 mmol/L, HEPES 20 mmol/L, NaCl 98.5 mmol/L, KCl 10.0 mmol/L, 乳酸钠 40 mmol/L pH6.5)以

95% N_2 、5% CO_2 预饱和1 h,将培养的细胞以模拟缺血血液置换正常培养基,放入密闭气体盒中通95% N_2 、5% CO_2 为缺氧;置换DMEM培养基后于 CO_2 培养箱中正常培养为复氧。

1.4 实验分组

实验分五组:①对照组更换培养基后 CO_2 培养箱中正常培养;②缺氧复氧组缺氧3 h,复氧3 h;③CT-1组缺氧3 h后,加10 $\mu\text{g}/\text{L}$ CT-1,再复氧3 h;④PD98059组缺氧3 h,加入终浓度为20 $\mu\text{mol}/\text{L}$ PD98059,10 min后加10 $\mu\text{g}/\text{L}$ CT-1,再复氧3 h;⑤DMSO组缺氧3 h,加DMSO,10 min后加10 $\mu\text{g}/\text{L}$ CT-1,再复氧3 h。

1.5 心肌细胞搏动频率与节律检测

倒置显微镜下连续观察30 s,计算各组心肌细胞搏动频率,评估搏动节律的变化。

1.6 心肌细胞存活率检测

采用MTS比色法。心肌细胞培养于96孔板(密度 1×10^5 个细胞/孔),实验处理后加入MTS溶液(5 g/L)20 μL ,37℃、5% CO_2 、95%空气孵育2 h,酶联免疫检测仪测定各孔光密度值。细胞存活率=实验组光吸收值/对照组光吸收值 $\times 100\%$ 。

1.7 心肌CK-MB检测

分别取心肌细胞培养液200 μL ,全自动生化分析仪测定CK-MB活性。

1.8 心肌细胞凋亡检测

心肌细胞以 10^6 个细胞/孔接种于6孔板,PBS液洗涤2次,0.25%胰酶显微镜下消化数分钟后收集细胞,PBS液洗涤2次,1.5 mL PBS重悬细胞,按试剂盒说明书操作,流式细胞仪检测。

1.9 细胞内活性氧水平检测

制备细胞悬液(2×10^8 细胞/L,活细胞数 $> 95\%$),与DCFH-DA探针(10 $\mu\text{L}/\text{L}$)37℃孵育30 min,不发光的DCFH-DA可以自由透过细胞膜,细胞内的活性氧(ROS)可将DCFH-DA氧化成具有荧光的DCFH,其荧光强度与细胞内产生的ROS量成正比。离心重新悬浮细胞于Hepes缓冲液,无血清细胞培养液洗涤细胞3次,流式细胞仪检测。

1.10 线粒体膜电位检测

制备细胞悬液,PBS洗涤2次,加入2 μL JC1荧光染料,37℃、5% CO_2 培养箱孵育15~20 min,洗涤细胞2次,荧光显微镜和流式细胞仪获得图像检

测心肌细胞线粒体膜电位($\Delta\psi_m$)。

1.11 心肌细胞磷酸化 ERK1/2 蛋白检测

采用 Biorad 法取总蛋白 20 μg 进行电泳分离蛋白。蛋白转印到硝酸纤维素膜,3% BSA 液 4℃ 封闭过夜。分别加入 ERK1/2、磷酸化 ERK1/2 单克隆抗体(1:200 稀释),4℃ 孵育过夜,辣根过氧化物酶山羊抗兔 IgG 二抗孵育 1 h,DAB 显色照相。用 Lab-Work3.0 UVP 软件分析条带的积分光密度值,相对蛋白含量用积分光密度值表示。

1.12 心肌细胞 Bad mRNA 检测

β -actin 反义引物为 5'-TGC CTG GGT ACA TGG TGG-3',正义引物为 5'-TGC CGC ATC CTC TTC CTC-3';Bad mRNA 反义引物为 5'-ACT CGC AAC TTA GCA CAG-3',正义引物 3'-GAG-GAAGAGAAGGGATG-5'。每组 10^6 个细胞种板干预后弃上清,加入 Trizol 裂解细胞提取总 RNA,逆转录后 PCR 扩增、电泳,Syn Gene 凝胶成像分析系统扫描分析条带。

1.13 统计学方法

数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较采用方差分析,组间比较采用 q 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 心肌细胞搏动频率与节律

对照组心肌细胞搏动频率为 150 次/分左右,节律规整。缺氧复氧后心肌细胞搏动频率明显减慢,搏动幅度变小,节律不规整。CT-1 处理后心肌细胞搏动频率与对照组相近,节律整齐。而 PD98059 干预后,心肌细胞搏动频率明显减慢,搏动幅度减弱,节律明显不规则,而 DMSO 并不干扰 CT-1 的作用。表明 PD98059 特异性阻断了 CT-1 的保护作用(表 1)。

表 1. 心肌细胞搏动频率与节律的变化($\bar{x} \pm s$, $n=8$, 次/分)
Table 1. The changes of frequency and rhythm of cardiomyocyte beat

分 组	搏动频率	异常搏动
对照组	148 \pm 15	1.2 \pm 0.3
缺氧复氧组	82 \pm 8 ^a	18.7 \pm 1.5 ^a
CT-1 组	143 \pm 13 ^b	5.6 \pm 0.5 ^b
PD98059 组	112 \pm 13 ^c	13.6 \pm 1.5 ^c
DMSO 组	53 \pm 14	4.8 \pm 0.5

a 为 $P < 0.05$,与对照组比较;b 为 $P < 0.05$,与缺氧复氧组比较;c 为 $P < 0.05$,与 CT-1 组比较。

2.2 心肌细胞存活率、凋亡率和 CK-MB 的变化
与对照组相比,缺氧复氧损伤后心肌细胞存活

率明显降低,心肌细胞凋亡率明显上升,CK-MB 升高($P < 0.05$)。CT-1 处理后心肌细胞存活率较缺氧复氧组升高,心肌细胞凋亡率则显著下降,CK-MB 减少($P < 0.05$)。PD98059 干预明显阻断了 CT-1 的作用,心肌细胞存活率下降,心肌细胞凋亡率增加,CK-MB 增加($P < 0.05$;表 2)。

表 2. 心肌细胞存活率、凋亡率和 CK-MB 的变化($\bar{x} \pm s$, $n=8$)
Table 2. The changes of cardiomyocyte survival rate, apoptosis rate and myocardial CK-MB

分 组	细胞存活率	细胞凋亡率	CK-MB(U/L)
对照组	95.2% \pm 2.3%	2.2% \pm 0.2%	1.2 \pm 0.3
缺氧复氧组	71.8% \pm 4.6% ^a	19.4% \pm 2.3% ^a	18.7 \pm 1.8 ^a
CT-1 组	87.8% \pm 8.3%	4.6% \pm 0.4% ^b	5.6 \pm 0.7 ^b
PD98059 组	79.3% \pm 7.9% ^c	13.9% \pm 1.6% ^c	17.9 \pm 1.8 ^c
DMSO 组	86.8% \pm 7.6%	5.8% \pm 0.5%	6.3 \pm 0.5

a 为 $P < 0.05$,与对照组比较;b 为 $P < 0.05$,与缺氧复氧组比较;c 为 $P < 0.05$,与 CT-1 组比较。

2.3 心肌细胞 ROS 水平

缺氧复氧损伤后心肌细胞 ROS 水平明显升高($P < 0.01$),CT-1 组心肌细胞 ROS 水平较缺氧复氧组下降,PD98059 干预后 ROS 水平则明显增加($P < 0.05$;表 3)。

2.4 心肌细胞线粒体膜电位变化

缺氧复氧组心肌细胞线粒体膜电位明显低于对照组,CT-1 组心肌细胞线粒体膜电位较缺氧复氧组升高,PD98059 干预后线粒体膜电位则低于 CT-1 组,而 DMSO 并不干预 CT-1 的作用(表 3)。荧光显微镜下,缺氧复氧组心肌细胞绿色荧光强度明显强于对照组,表明线粒体膜电位受到破坏。CT-1 干预后心肌细胞 JC1 荧光强度明显减弱,PD98059 干预后心肌细胞线粒体膜电位下降,荧光强度增强。表明 CT-1 可以提高心肌细胞线粒体膜电位(图 1)。

表 3. 心肌细胞 ROS 水平和线粒体膜电位的变化($\bar{x} \pm s$, $n=8$)
Table 3. The changes of cardiomyocyte ROS level and mitochondrial membrane potential

分 组	ROS 水平	线粒体膜电位
对照组	3.54 \pm 0.46	86.36 \pm 7.15
缺氧复氧组	14.28 \pm 1.42 ^a	40.17 \pm 4.35 ^a
CT-1 组	6.73 \pm 1.04 ^b	60.13 \pm 5.82 ^c
PD98059 组	8.67 \pm 1.45 ^c	54.93 \pm 4.84 ^b
DMSO 组	7.43 \pm 0.89	70.56 \pm 6.04

a 为 $P < 0.01$,与对照组比较;b 为 $P < 0.05$,与缺氧复氧组比较;c 为 $P < 0.05$,与 CT-1 组比较。

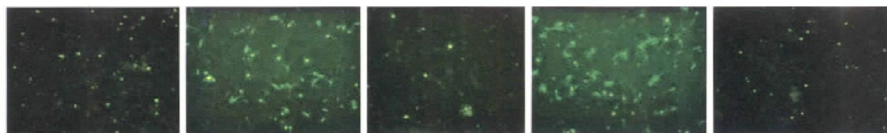


图 1. 心肌细胞线粒体膜电位 从左至右为对照组、缺氧复氧组、CT-1 组、PD980592 组及 DMSO 组。

Figure 1. Flow cytometry showed cardiomyocyte mitochondrial membrane potential

2.5 心肌细胞磷酸化 ERK1/2 蛋白水平

缺氧复氧组磷酸化 ERK1/2 蛋白水平较对照组有所增加,但无统计学差异(0.395 ± 0.043 比 0.249 ± 0.016);而 CT-1 组磷酸化 ERK1/2 蛋白水平较缺氧复氧组显著增加(0.795 ± 0.068 比 0.495 ± 0.043 , $P < 0.05$);PD98059 干预后磷酸化 ERK1/2 蛋白水平明显下降,而 DMSO 组与 CT-1 组无明显差异,表明 CT-1 有促进缺氧复氧心肌细胞 ERK1/2 磷酸化的作用(图 2)。

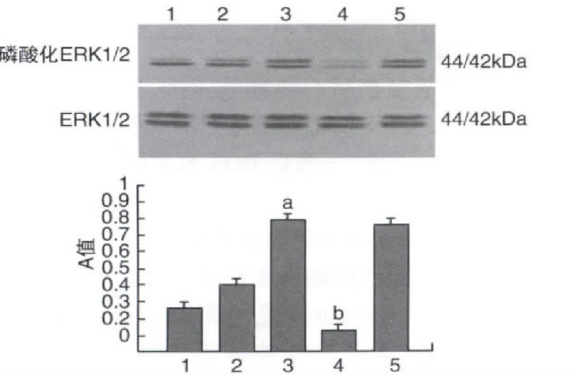


图 2. 心肌细胞磷酸化 ERK1/2 蛋白水平 1 为对照组,2 为缺氧复氧组,3 为 CT-1 组,4 为 PD98059 组,5 为 DMSO 组。a 为 $P < 0.05$,与缺氧复氧组比较;b 为 $P < 0.01$,与 CT-1 组比较。

Figure 2. Expression of phosphorylated ERK1/2 protein in cardiomyocyte

2.6 心肌细胞 Bad mRNA 的表达

缺氧复氧组心肌细胞 Bad mRNA 表达明显高于对照组(0.986 ± 0.035 比 0.325 ± 0.023 ; $P < 0.01$),CT-1 组 Bad mRNA 表达较缺氧复氧组下调,PD98059 能明显抑制 CT-1 的这种作用(图 3)

3 讨 论

CT-1 是新近从小鼠心脏发育的胚胎干细胞中克隆出的一种细胞因子,主要表达于心肌细胞和心肌成纤维细胞,属 IL-6 超家族成员。CT-1 参与调节心脏正常生理过程,具有促进心脏正常发育和促使

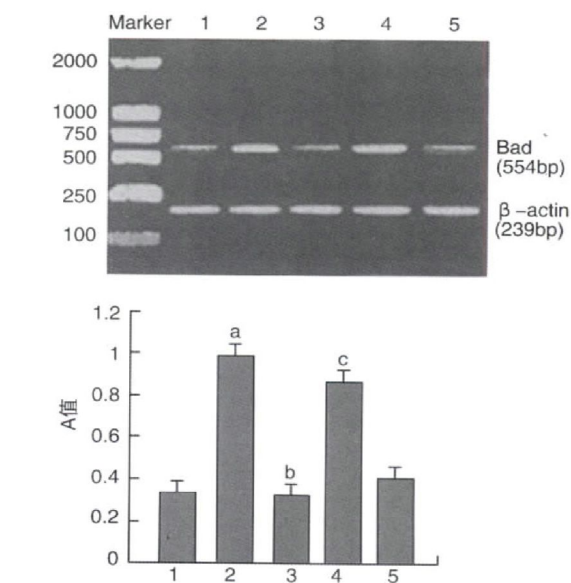


图 3. 心肌细胞 Bad mRNA 的表达 1 为对照组,2 为缺氧复氧组,3 为 CT-1 组,4 为 PD98059 组,5 为 DMSO 组。a 为 $P < 0.01$,与对照组比较;b 为 $P < 0.05$,与缺氧复氧组比较;c 为 $P < 0.05$,与 CT-1 组比较。

Figure 3. Expression of Bad mRNA in cardiomyocyte

细胞存活的作用^[4,5]。研究证实,急性心肌梗死后缺血心肌 CT-1 表达明显增多,从而减少心肌细胞的死亡丢失,促进残余细胞的存活,并使成纤维细胞迁徙促进梗死区愈合,保护心功能,表明在急性心肌梗死中 CT-1 很可能起到保护作用^[6]。Stephanou 等^[7]体外研究发现 CT-1 能增强新生大鼠心肌细胞在无血清培养基中的存活,CT-1 诱导热休克蛋白 HSP70 和 HSP90 的过度表达,后者对培养新生心肌细胞的热休克或缺血缺氧的刺激有保护作用。本研究利用心肌细胞急性缺氧复氧模拟心肌 I/R 损伤,显示 CT-1 对 I/R 损伤心肌有保护作用,表现在心肌细胞存活率明显提高,细胞凋亡率及异常搏动的发生率减少,心肌酶活性下降。CT-1 的心肌保护作用机制尚不清楚,但氧自由基的作用是 I/R 的重要发病环节,心肌细胞凋亡与 I/R 密切相关,线粒体在细胞凋亡的过程中起着枢纽作用,多种细胞凋亡刺激因子均可诱导不同的细胞发生凋亡,而线粒体跨膜电位

的下降,被认为是细胞凋亡级联反应过程中最早发生的事件,一旦线粒体 DYmt 崩溃,导致电子传递链中断,氧化磷酸化停止,细胞内氧自由基水平上升,ATP 水平下降,改变细胞电学氧化还原状态以及释放 Caspase 激活物,直接导致细胞凋亡或死亡^[8]。因此阻断线粒体 DYmt 下降,有可能逆转濒临凋亡的心肌细胞。本研究表明 CT-1 明显提高心肌细胞线粒体跨膜电位,减少心肌细胞 ROS 的产生,从而减少心肌细胞凋亡,保护复氧损伤的心肌细胞。

丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)是一组分布于胞浆中的、具有 Ser 和 Tyr 双重磷酸化功能的蛋白激酶,是介导细胞反应的重要信号系统,在基因表达调控和细胞质功能活动中发挥关键作用^[9]。ERK1/2 是 MAPK 家族的抗凋亡激酶,有抗凋亡作用,而 p38 是促凋亡成员,二者的比例在 I/R 的凋亡中起重要作用^[10,11]。研究证实,抑制 ERK 会导致细胞在自由基损伤时的凋亡增加,激活的 ERK 可促进胞浆靶蛋白磷酸化或调节其他蛋白激酶活性,促进多种转录因子磷酸化,增强转录活性^[12,13]。本研究证实 CT-1 使磷酸化 ERK1/2 明显增加,而 ERK1/2 阻断剂 PD98059 阻止 CT-1 磷酸化 ERK1/2 的作用,从而阻断 CT-1 减少缺氧复氧心肌细胞 ROS 的产生,改善心肌细胞线粒体膜转运孔的作用,促凋亡基因使缺氧复氧的心肌细胞存活率减少,凋亡发生率增加,搏动减弱且异常搏动增加。表明 ERK1/2 信号途径在介导 CT-1 的 I/R 损伤的心肌保护作用中起了一定作用。同时发现,ERK1/2 阻断剂上调了心肌细胞促凋亡基因 Bad mRNA 的表达,抑制 CT-1 抗心肌细胞凋亡的作用。研究表明,ERK1/2 可以通过转录依赖和非依赖方式调控生存蛋白 Bcl-2 的表达,当 ERK1/2 通过非依赖方式调控生存蛋白表达时,ERK1/2 首先活化 MAPK1,活化的 MAPK1 再磷酸化促凋亡蛋白 Bad,磷酸化的 Bad 失去抑制 Bcl-2 的作用,从而抑制细胞凋亡^[14]。本研究结果表明,CT-1 能减轻缺氧复氧引起的心肌细胞损伤,其作用依赖细胞外信号调节激酶 ERK1/2 信号通路的激活。

[参考文献]

[1] Tiwari M, Hemalatha T, Ganesan K, et al. Myocardial ischemia and reperfusion injury in rats: lysosomal hydrolases and matrix metalloproteinases mediated cellular damage [J]. Mol Cell Biochem, 2008, 312 (1-2): 81-91.

- [2] Ngoh GF, Schaller SA, Jones SP. TRO40303 attenuates oxidant-induced mitochondrial dysfunction in cardiac myocytes [J]. FASEB J, 2010, LB71.
- [3] Simpson P, Savion S. Differentiation of rat myocytes in single cell cultures with and without proliferating nonmyocardial cells. Cross-striation ultrastructure, and chronotropic response to isoproterenol [J]. Circ Res, 1982, 50: 101-116.
- [4] Freed DH, Borowiec AM, Angelovska T, et al. Induction of protein synthesis in cardiac fibroblast by cardiotrophin-1: integration of multiple signaling pathways [J]. Cardiovasc Res, 2003, 60: 365-375.
- [5] Ateghang B, Wartenberg M, Gassmann M, et al. Regulation of cardiotrophin-1 expression in mouse embryonic stem cells by HIF-1 and intracellular reactive oxygen species [J]. J Cell Sci, 2006, 119: 1043-052.
- [6] Freed DH, Cunningham RH, Dangerfield AL, et al. Emerging evidence for the role of cardiotrophin-1 in cardiac repair in the infarcted heart [J]. Cardiovasc Res, 2005, 65: 782-792.
- [7] Stephanou A, Brar B, Heads R, et al. Cardiotrophin-1 induces heat shock protein accumulation in cultured cardiac cells and protects them from stressful stimuli [J]. J Mol Cell Cardiol, 1998, 30 (4): 849-855.
- [8] Eefting F, Rensing B, Wigman J, et al. Role of apoptosis in reperfusion injury [J]. Cardiovasc Res, 2004, 61 (3): 414-426.
- [9] Takahashi N, Saito Y, Kuwahara K, et al. Hypertrophic responses to cardiotrophin-1 are not mediated by STAT3, but via a MEK5/ERK5 pathway in cultured cardiomyocytes [J]. J Mol Cell Cardiol, 2005, 38: 185-192.
- [10] Darling CE, Jiang R, Maynard M, et al. Postconditioning via stuttering reperfusion limits myocardial infarction size rabbit hearts: role of ERK1/2 [J]. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2005, 289: H1618-626.
- [11] Musiolik J, Caster PV, Skyschally A, et al. Reduction of infarct size by gentle reperfusion without activation of reperfusion injury salvage kinases in pigs [J]. Cardiovasc Res, 2010, 85: 110-117.
- [12] Xie M, Liu XS, Xu YJ, et al. ERK1/2 signaling pathway modulates the airway smooth muscle cell phenotype in the rat model of chronic asthma [J]. Respiration, 2007, 74: 680-690.
- [13] Bozena G, Anna P, Jakub A, et al. Calcineurin and ERK1/2-signaling pathways are involved in the antiapoptotic effect of cyclosporin A on astrocytes exposed to simulated ischemia in vitro [J]. Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol, 2006, 374 (2): 127-139.
- [14] Weiss TW, Kvakan H, Kaun C, et al. The gp130 ligand oncostatin M regulates tissue inhibitor of metalloproteinases-1 through ERK1/2 and p38 in human adult cardiac myocytes and in human adult cardiac fibroblasts: A possible role for the gp130/gp130 ligand system in the modulation of extracellular matrix degradation in the human heart [J]. J Mol Cell Cardiol, 2005, 39: 545-551.

(此文编辑 文玉珊)