

Apelin-13 对 2 型糖尿病大鼠心肌纤维化防治的作用机制

林朵朵, 张志, 刘紫东

(辽宁医学院附属第三医院心内科, 辽宁省锦州市 121001)

[关键词] Apelin-13; 2 型糖尿病; 心肌纤维化; TGF- β 1/T β R/smads 信号转导通路

[摘要] **目的** 通过建立 2 型糖尿病大鼠模型诱导心肌纤维化的发生, 探究血管紧张素 II 1 型受体相关蛋白的内源性配体亚型之一 Apelin-13 对糖尿病大鼠心肌纤维化防治作用的可能机制。**方法** 高脂高糖喂养联合尾静脉注射小剂量链脲佐菌素构建 2 型糖尿病大鼠模型。48 只 Wistar 大鼠随机分为四组: 正常对照组、模型组、Apelin-13 组、阻断剂组(SB431542 组)。各组大鼠给予相应干预措施 12 周, 取材后行 Masson 染色, 光镜下观察心肌细胞形态学改变及间质胶原纤维沉积情况, 测算胶原容积分数(CVF), ELISA 检测心肌组织内 I 型、III 型胶原纤维含量, 免疫组织化学染色分析心肌内信号蛋白转化生长因子 β 1 (TGF- β 1) 和转化生长因子 β 1 I 型受体(T β R I) 的表达水平, Western blot 检测下游信号蛋白 smad2、p-smad2、smad3、p-smad3 的表达水平。**结果** 与正常对照组相比, 模型组大鼠心肌组织 CVF 值、I 型和 III 型胶原纤维含量明显升高, 伴随信号通路蛋白 TGF- β 1、T β R I、smad2、p-smad2、smad3、p-smad3 表达增强($P < 0.01$); 而与模型组相比, Apelin-13 或 SB431542 干预的糖尿病大鼠心肌组织 CVF 值、I 型和 III 型胶原纤维含量则明显下降($P < 0.01$), Apelin-13 组各通路蛋白的表达均显著下调($P < 0.01$), 而 SB431542 组 TGF- β 1、T β R I 的表达与模型组相比差异无统计学意义($P > 0.05$), 其余信号蛋白的表达亦明显减弱($P < 0.01$)。**结论** 外源性 Apelin-13 可抑制糖尿病大鼠心肌纤维化的发生, 此作用是通过减弱 TGF- β 1/T β R/smads 信号转导通路的过度激活得以实现的。

[中图分类号] R363

[文献标识码] A

Mechanism on Prevention and Treatment Effect of Apelin-13 for Myocardial Fibrosis in Type 2 Diabetic Rats

LIN Duo-Duo, ZHANG Zhi, and LIU Zi-Dong

(Department of Cardiology, the Third Affiliated Hospital of Liaoning Medical College, Jinzhou, Liaoning 121001, China)

[KEY WORDS] Apelin-13; Type 2 Diabetes Mellitus; Myocardial Fibrosis; TGF- β 1/T β R/smads Signal Transduction Pathway

[ABSTRACT] **Aim** To induce myocardial fibrosis by establishing type 2 diabetes mellitus rat model, and explore prevention and treatment mechanism about Apelin-13 which is one subtype of endogenous ligand of proteins related to the angiotensin II type 1 receptor for myocardial fibrosis of diabetes mellitus rats. **Methods** High fat and sugar diet combined with intravenous injection of a small dose of streptozotocin (STZ) was used to build type 2 diabetes mellitus rat model. 48 Wistar rats were randomly divided into four groups: control group, model group, Apelin-13 group, blocker group (SB431542 group). Rats in different groups were given homologous intervention for 12 weeks, specimens were collected for Masson staining to observe morphological changes and interstitial collagen deposition of myocardial, and collagen volume fraction (CVF) was measured. Contents of collagen I and III in myocardial tissue were detected by ELISA. Expressions of transforming growth factor- β 1 (TGF- β 1), TGF- β 1 receptor I (T β R I) were measured with immunohistochemical staining. Expressions of pathway protein smad2, p-smad2, smad3 and p-smad3 were measured by Western blot. **Results** Compared with control group, CVF and contents of collagen I and III of myocardial tissue in model group increased obviously, accompanied with the increasing of signal transduction pathway protein TGF- β 1, T β R I, smad2, p-smad2, smad3 and p-smad3 ($P < 0.01$). Compared with model group, myocardial fibrosis dicators (CVF, collagen I and III) in

[收稿日期] 2014-06-27

[作者简介] 林朵朵, 硕士, 研究方向为心肌损伤与修复, E-mail 为 969116088@qq.com。通讯作者张志, 博士, 主任医师, 教授, 硕士研究生导师, 研究方向为心肌损伤与修复, E-mail 为 ningcheng631@163.com。刘紫东, 主任医师, 硕士研究生导师, 研究方向为心血管急危重症, E-mail 为 liuzidong1969@163.com。

rats who received Apelin-13 or SB431542 significantly reduced, expressions of all pathways protein in Apelin-13 group were adjusted downward significantly ($P < 0.01$), differences of TGF- β 1, T β R I had no statistically significance between SB431542 and model group ($P > 0.05$), expressions of other signal protein were obviously decreased ($P < 0.01$).

Conclusions Exogenous Apelin-13 can restrain myocardial fibrosis in diabetes mellitus rats by weakening excessive activation of TGF- β 1/T β R/smads signal transduction pathway.

心肌纤维化(myocardial fibrosis, MF)是导致糖尿病患者心功能障碍的病理生理学基础之一,其发生发展的中心环节是心肌成纤维细胞的活化增殖以及以胶原纤维为主要构成的心肌间质成分的过度堆积^[1]。研究证实,TGF- β 1/T β R/smads 信号转导通路的异常激活与心肌纤维化关系密切^[2]。Apelin 是日本学者 Tatemoto 等^[3]于 1998 年首次从牛胃分泌物中提取的血管紧张素 II 1 型受体相关蛋白(protein related to angiotensin II type 1 receptor, APJ)的内源性配体。Apelin/APJ 系统广泛分布于心血管组织,具有抑制心肌细胞自噬与凋亡、降压、减轻心脏负荷、预防心室重构、改善心功能等多重心血管保护作用^[4,5],Apelin-13 是其亚型之一。我们的前期研究表明 Apelin-13 可减轻糖尿病大鼠心肌纤维化的发生^[6]。本研究旨在探讨其抑制心肌纤维化的可能机制。

1 材料和方法

1.1 药品与试剂

链脲佐菌素(美国 Sigma 公司);Apelin-13(北京康肽生物科技有限公司,规格为 200 μ g);SB431542(上海博升生物科技有限公司,规格为 5 mg);Masson 染色试剂盒(北京斯百汇生物技术有限公司,规格:50 mL);ELISA 试剂盒(北京北方生物技术研究所);SP 免疫组化检测试剂盒(规格为 3 mL)、兔抗大鼠转化生长因子 β 1(transforming growth factor- β 1, TGF- β 1)、TGF- β 1 I 型受体(TGF- β 1 receptor I, T β RI)、smad2、p-smad2、smad3 及 p-smad3 一抗、辣根过氧化物酶标记的羊抗兔 IgG 二抗(规格为 0.1 mL)(北京博奥森生物技术有限公司)。

1.2 模型的制备及分组

48 只雄性 Wistar 大鼠,体质量 230~270 g,由辽宁医学院实验动物中心提供,随机初分为正常对照组 12 只、造模组 36 只。模仿施红等^[7]的方法构建最佳类似人类 2 型糖尿病的大鼠模型,造模组大鼠高脂高糖乳剂(10%胆固醇、20%猪油、2%胆酸钠、30%蔗糖、38%蒸馏水)10 mL/(kg·d)连续灌胃 6 周,禁食不禁水 14 h 后一次性腹腔注射链脲佐菌素 30 mg/kg,72 h、96 h

后尾静脉采血测随机血糖,连续 2 次随机血糖 ≥ 16.7 mmol/L 即为 2 型糖尿病造模成功;正常对照组给予 0.9% NaCl 溶液 10 mL/(kg·d)灌胃,同样方法同一时间测随机血糖。实验期间各组大鼠均自由进食普通饲料。造模组中 3 只大鼠因血糖未达标被弃去,将其余 33 只造模成功的大鼠随机均分为三组:模型组、Apelin-13 组、阻断剂组(SB431542 组)。Apelin-13 组给予 Apelin-13 100 μ g/(kg·d)腹腔注射,SB431542 组给予 SB431542 100 μ g/(kg·d)腹腔注射,正常对照组及模型组腹腔注射相应体积的 0.9% NaCl 溶液。给药期间每周一次测大鼠体质量,依据体质量调整给药剂量。

1.3 标本采集

连续药物干预 12 周,称重,20%乌拉坦(5 mL/kg)腹腔麻醉,仰卧位固定,备皮,开胸,迅速取出心脏,留取部分心尖置于 4% 甲醛溶液中固定 24 h,脱水,石蜡包埋,切片(厚度 5 μ m),用于 Masson 和免疫组织化学染色,其余心肌组织迅速冷冻于 -80 $^{\circ}$ C 冰箱内用于 ELISA 及 Western blot 检测。

1.4 Masson 染色观察心肌组织形态学变化

石蜡切片经二甲苯及梯度乙醇脱蜡;苏木素染色 5~10 min,水洗 1 min;丽春红酸性复红染色 5~10 min,2% 冰醋酸水溶液浸洗片刻,1% 磷钼酸水溶液分化 1~3 min;苯胺蓝液染色 5 min,0.2% 冰醋酸水溶液浸洗片刻;脱水,透明,中性树胶封片。光镜下观察心肌组织形态学变化及间质胶原纤维沉积情况,采用 Image Proplus 6.0 图像分析软件,通过灰度调节区别胶原和非胶原成分,测算心肌胶原容积分数(collagen volume fraction, CVF),CVF = 胶原面积/总面积,每张切片均随机取 5 个视野测量,计算其平均值。

1.5 ELISA 测定心肌组织 I 型和 III 型胶原纤维含量

取 -80 $^{\circ}$ C 冷冻心肌组织,每 100 mg 加入 1 mL 0.9% NaCl 溶液制成 10% 组织匀浆,离心后取上清,按试剂盒说明书测定 I 型和 III 型胶原纤维含量。

1.6 免疫组织化学染色分析心肌组织 TGF- β 1 和 T β R I 的表达

防脱石蜡切片经二甲苯及梯度乙醇脱蜡;高压法行抗原修复(采用 pH9.0;1 mmol/L Tris-EDTA 修

复液);3% H_2O_2 溶液室温孵育 5~10 min, PBS 冲洗 5 min \times 3 次;正常山羊血清室温下封闭 10 min, 倾去血清, 勿洗;滴加适量 1:200 稀释的兔抗大鼠 TGF- β 1、T β R I 一抗, 置于湿盒内 4 $^{\circ}$ C 过夜;PBS 冲洗 5 min \times 3 次, 滴加生物素标记的二抗工作液 37 $^{\circ}$ C 孵育 30 min;PBS 冲洗 5 min \times 3 次, 滴加辣根过氧化物酶标记的链霉卵白素工作液 37 $^{\circ}$ C 孵育 10~30 min;PBS 冲洗 5 min \times 3 次, DAB 显色剂显色 3~5 min (镜下观察控制显色时间), 自来水冲洗适时终止显色;苏木素轻度复染, 脱水, 透明, 中性树胶封片。

1.7 Western blot 检测心肌组织 smad2、p-smad2、smad3 及 p-smad3 蛋白表达

称取 -80 $^{\circ}$ C 冷冻心肌组织各 50 mg, 于 EP 管内剪碎并使用 RIPA + 1% PMSF 裂解液裂解, 超声匀浆 30 s, 12000 r/min 离心 20 min, 取上清, BCA 法测定蛋白浓度后制成蛋白浓度相等的样品;配制并灌胶 (12% 的分离胶和 5% 的浓缩胶), 待胶凝固后拔出梳子, 每孔上样 20 μ L, 90 V 恒压下行 SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳约 3 h, 半干转膜仪转膜;1% BSA-TBST 封闭 1 h, 依据 Marker 及目的蛋白分子量裁剪 PVDF 膜, 然后分别置于 smad2、p-smad2、smad3、p-smad3 一抗中 4 $^{\circ}$ C 孵育过夜, TBST 洗膜 10 min \times 3 次, 二抗室温孵育 1 h, TBST 洗膜 10 min \times 3 次;于暗室内 ECL 显色液进行显色, 于扫描仪上成像, 用 Scion Corporation 分析软件对电泳条带进行灰度值测定, 目的条带与 β -actin 的灰度比值代表目的蛋白表达水平。

1.8 统计学方法

采用 SPSS17.0 统计软件包进行数据处理, 计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 多组间比较采用单因素方差分析, 两组间采用两两比较的 LSD 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 大鼠一般状况

与正常对照组大鼠相比, 另三组糖尿病大鼠进食、进水、尿量增加, 体质量下降, 精神萎靡, 毛色无光泽, 部分大鼠出现烂尾、烂足及视网膜病变。造模阶段 3 只大鼠未成模被弃去, 给药期间 Apelin-13 组中 1 只大鼠因连续 2 次随机血糖 < 16.7 mmol/L 被剔除出实验, SB431542 组中 1 只大鼠死亡, 故结果检测时仅剩余 43 只大鼠。

2.2 心肌组织形态学改变

Masson 染色光镜下, 正常对照组大鼠心肌纤维 (呈红色) 结构完整, 形态规则, 间质内可见少许颜色较浅的胶原纤维 (呈蓝色); 模型组心肌纤维排列紊乱、断裂, 间隙增宽, 胶原纤维所占比例明显增多; 给予 Apelin-13 或 SB431542 干预后大鼠心肌结构破坏程度明显减轻, 肌纤维排列趋于规则, 胶原纤维分布稀疏 (图 1)。与正常对照组相比, 模型组大鼠 CVF 值明显升高 ($P < 0.01$); Apelin-13 或 SB431542 干预后大鼠 CVF 值较模型组显著下调 ($P < 0.01$), 而此两组间差异无统计学意义 ($P > 0.05$; 表 1)。

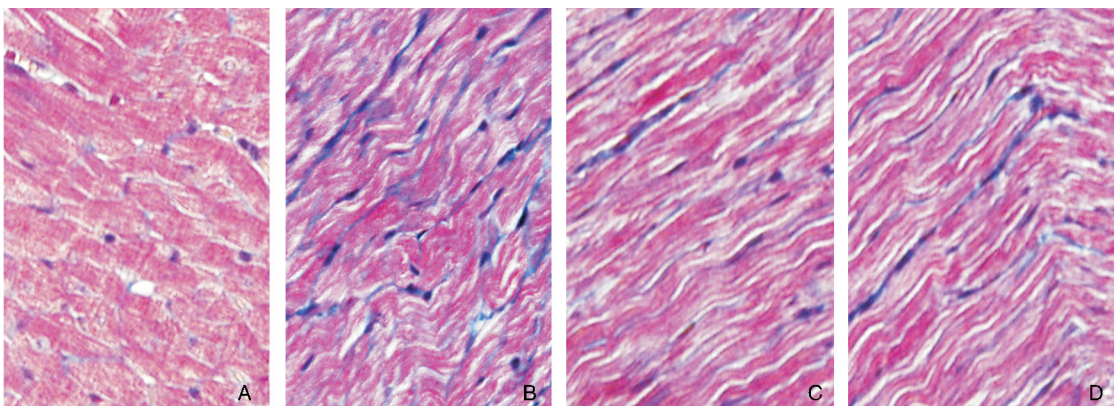


图 1. 心肌组织 Masson 染色 ($\times 400$) A 为正常对照组, B 为模型组, C 为 Apelin-13 组, D 为 SB431542 组。

Figure 1. Masson staining of myocardial tissue ($\times 400$)

2.3 心肌组织 I 型和 III 型胶原纤维含量

模型组大鼠心肌组织 I 型和 III 型胶原纤维含量较正常对照组升高 ($P < 0.01$), Apelin-13 或 SB431542

干预后大鼠心肌组织 I 型和 III 型胶原纤维含量较模型组明显下调 ($P < 0.01$), 而 Apelin-13 组与 SB431542 组间差异无统计学意义 ($P > 0.05$; 表 1)。

2.4 心肌 TGF- β 1、T β R I 的表达

免疫组织化学染色阳性表达表现为光镜下心肌细胞胞浆和胞膜呈棕黄色颗粒。正常对照组可见极少量浅棕黄色颗粒沉着;模型组 TGF- β 1、T β R I 的表达均呈现满视野棕黄色颗粒,且着色较深;Apelin-13 组 TGF- β 1、T β R I 表达的阳性颗粒数较模型组明显减少;SB431542 组 TGF- β 1、T β R I 表

达的阳性颗粒数与模型组无明显差别(图 2)。图像分析 TGF- β 1、T β R I 的灰度值显示,与正常对照组相比,模型组大鼠心肌组织 TGF- β 1、T β R I 的表达明显上升($P < 0.01$);与模型组相比,Apelin-13 组上述两蛋白的表达水平明显下调($P < 0.01$);而 SB431542 组上述两蛋白的表达水平与模型组间差异无统计学意义($P > 0.05$;表 1)。

表 1. 大鼠心肌组织 CVF 值、I 型和 III 型胶原纤维、TGF- β 1、T β R I 含量

Table 1. CVF, collagen I and III contents, TGF- β 1 and T β R I protein expressions in rat myocardial tissue

分 组	<i>n</i>	CVF	I 型胶原纤维(mg/L)	III 型胶原纤维(mg/L)	TGF- β 1	T β R I
正常对照组	12	4.17% \pm 0.19%	3.21 \pm 0.67	2.73 \pm 0.52	74.94 \pm 5.00	73.06 \pm 5.24
模型组	11	12.29% \pm 0.68% ^a	7.45 \pm 1.12 ^a	5.79 \pm 0.72 ^a	30.35 \pm 3.19 ^a	39.05 \pm 2.54 ^a
Apelin-13 组	10	7.89% \pm 0.31% ^b	5.39 \pm 0.83 ^b	3.69 \pm 0.65 ^b	59.20 \pm 3.05 ^b	56.33 \pm 4.19 ^b
SB431542 组	10	8.01% \pm 0.23% ^b	5.76 \pm 0.79 ^b	3.42 \pm 0.39 ^b	31.29 \pm 2.65 ^c	38.76 \pm 2.54

a 为 $P < 0.01$,与正常对照组比较;b 为 $P < 0.01$,与模型组比较。

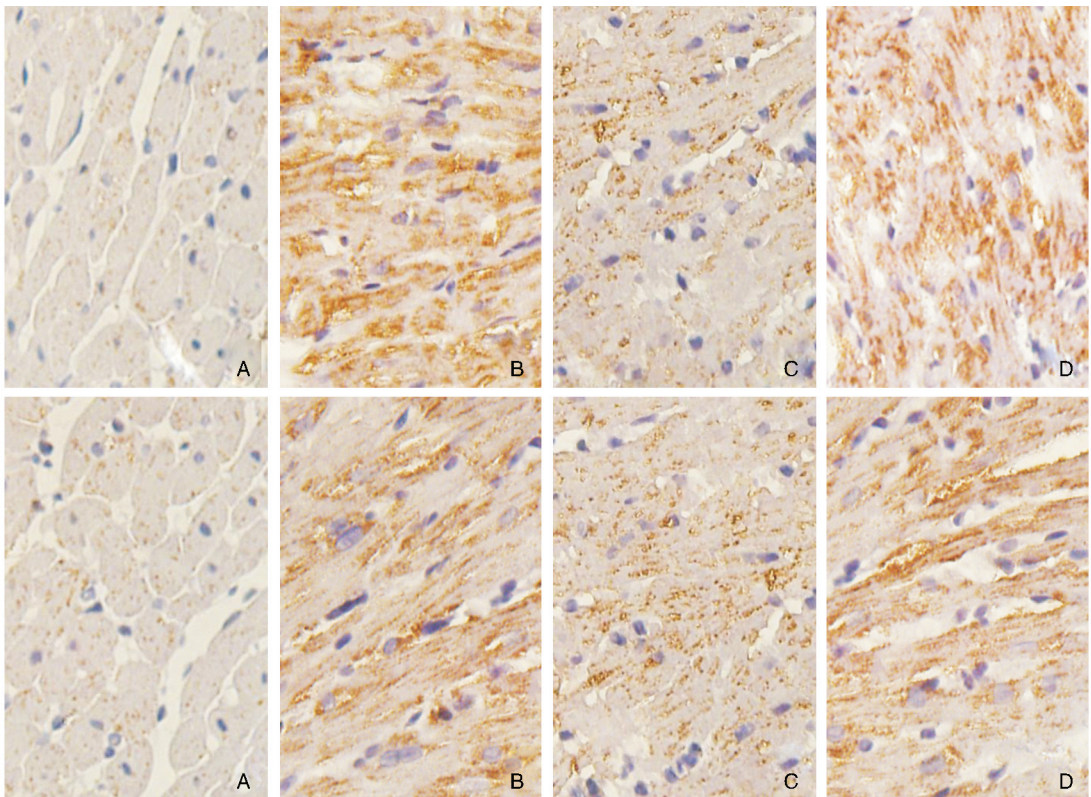


图 2. 免疫组织化学染色观察大鼠心肌组织 TGF- β 1(上图)和 T β R I(下图)的表达($\times 400$) A 为正常对照组,B 为模型组, C 为 Apelin-13 组,D 为 SB431542 组。

Figure 2. Expressions of TGF- β 1 (above) and T β R I (below) in rat myocardial tissue observed by immunohistochemistry ($\times 400$)

2.5 心肌组织 smad2、p-smad2、smad3 及 p-smad3 蛋白的表达

与正常对照组相比,模型组大鼠心肌组织内信号通路蛋白 smad2、p-smad2、smad3 及 p-smad3 的表

达明显升高($P < 0.01$);Apelin-13 或 SB431542 干预后上述蛋白的表达均显著下调($P < 0.01$);Apelin-13 对以上四种信号蛋白表达的抑制作用与 SB431542 组比较无统计学差异($P > 0.05$;图 3)。

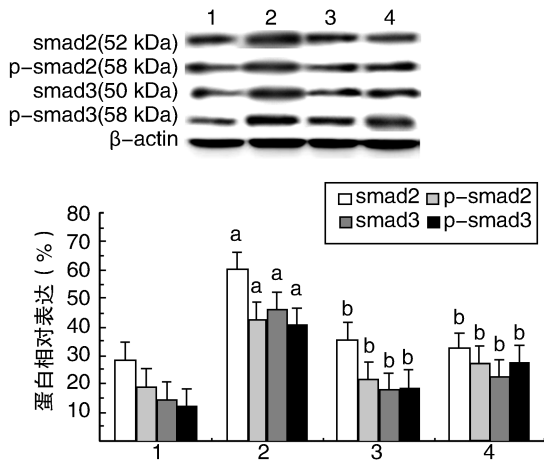


图 3. Western blot 检测 smad2、p-smad2、smad3 及 p-smad3 的表达 1 为正常对照组, 2 为模型组, 3 为 Apelin-13 组, 4 为 SB431542 组。a 为 $P < 0.01$, 与正常对照组比较; b 为 $P < 0.01$, 与模型组比较。

Figure 3. Expressions of smad2, p-smad2, smad3 and p-smad3 detected by Western blot

3 讨论

心肌纤维化是多种不同原因心脏疾病的共同最终结局,也是诸多心脏疾病的形成原因,由其造成的心室重塑及室壁肥厚是心力衰竭、恶性心律失常的病理生理基础,探寻防治心肌纤维化的药物是医学界一直以来的研究热点。糖尿病患者心肌纤维化的发生发展涉及多条路径及多种细胞因子,主要包括肾素-血管紧张素-醛固酮系统(RAAS)、TGF- β 1、炎性因子、氧自由基和结缔组织生长因子等^[2]。TGF- β 1 是目前已知哺乳动物体内最强的致心肌纤维化因子, TGF- β 1、T β R 及下游 smads 蛋白构成 TGF- β 1/T β R/smads 信号转导通路,调节生理状态下心肌间质胶原代谢的平衡和病理状态下的紊乱。本研究便是以该信号转导通路为切入点,观察 Apelin-13 抑制糖尿病大鼠心肌纤维化的发生是否是通过对该通路的调节实现的。

糖尿病状态下,高血糖、高胰岛素血症、胰岛素抵抗及 RAAS 的异常激活均可不同程度地刺激心肌成纤维细胞增殖,同时上调其对信号蛋白 TGF- β 1、T β R(T β R I、T β R II)的合成与释放,导致心肌组织内两者的含量与活性异常升高^[8]。活化型 TGF- β 1 依次激活 T β R II、T β R I, T β R I 被激活后进一步磷酸化胞内信号蛋白 smad2、smad3 形成 p-smad2、p-smad3,后两者与通用型 smad4 结合形成异源寡聚体复合物并转移至核内,与特定转录因子结合进而调节相关基因的转录^[9],导致胶原蛋白、纤维粘连蛋

白、蛋白多糖等间质成分合成增加。此外,活化的 TGF- β 1 还可抑制基质金属蛋白酶 2(MMP-2)、纤溶酶原、基质酶原激活物的生成,促进基质金属蛋白酶组织型抑制剂(TIMP)的合成,进而抑制细胞外基质(extracellular matrix, ECM)降解^[10]。上述综合作用将最终引起胶原合成增加、分解减少、ECM 沉积净效应增加直至心肌纤维化的出现。本研究中我们建立了 2 型糖尿病大鼠模型,12 周后模型组大鼠心肌组织 Masson 染色可见心肌间质胶原成分增多,排列紊乱, CVF 值明显升高, ELISA 检测发现 I 型胶原纤维、III 型胶原纤维含量增加,与此同时,信号通路蛋白 TGF- β 1、T β R I、smad2、p-smad2、smad3、p-smad3 的表达水平亦显著增高。以上实验结果与我们的前期研究是相一致的^[6],充分说明 2 型糖尿病大鼠体内持续的高糖环境的确能够诱导心肌内 TGF- β 1/T β R/smads 信号转导通路的过度激活,进而导致心肌纤维化的发生。

Apelin 为 APJ 的内源性配体^[3],与血管紧张素 II 具有 31% 的同源性,但与血管紧张素 II 的生理作用相反^[11]。Apelin 有多种亚型,哺乳动物体内以 Apelin-13 活性最高。现已证实, Apelin-13 在血管内皮细胞有丰富表达,属于血管源性活性肽,参与调控高血压、心力衰竭及糖尿病等心血管疾病的病理生理过程^[12-14]。我们的前期研究^[6]发现 Apelin-13 能够有效抑制糖尿病大鼠心肌纤维化的发生,且呈剂量依赖性,100 μ g/(kg·d) 剂量时效果最佳,故本研究采用此剂量对糖尿病大鼠进行干预。SB431542 是 T β R I 的特异性阻断剂^[15]。已有研究结果显示, SB431542 可通过阻断 TGF- β 1 与 I 型受体结合,改善 TGF- β 1/T β R/smads 信号通路介导的炎症、纤维化、肿瘤等生物学效应。目前, SB431542 因其确切的抑制心肌纤维化作用被广泛用于科学实验研究,故本研究选其作为阳性对照,为 Apelin-13 疗效评价提供参照标准。本研究结果发现,给予 Apelin-13 干预的糖尿病大鼠较未行药物干预的糖尿病大鼠心肌纤维化程度明显减轻, I 型和 III 型胶原纤维含量明显下降,信号通路蛋白 TGF- β 1、T β R I、smad2、p-smad2、smad3 及 p-smad3 的表达量显著下调。提示 Apelin-13 能够在一定程度上抑制糖尿病大鼠心肌纤维化的发生,此作用很可能是通过抑制 TGF- β 1/T β R/smads 信号转导通路中相关通路蛋白的过度表达及活化得以实现的。SB431542 为 T β R I 的特异性阻断剂,对 TGF- β 1、T β R I 的表达量无影响,它通过特异性阻断 TGF- β 1 与 T β R I 的结合而阻断信号向下游传递, smad2、smad3 合成

与磷酸化过程均受到抑制,导致 smad2、p-smad2、smad3、p-smad3 含量较未予药物干预组明显下调,本研究所得结果亦充分证明了这一点。如前所述,本研究中 Apelin-13 组与 SB431542 组间 CVF 值、I 型和 III 型胶原纤维含量无统计学差异,说明两者抑制心肌纤维化的效果基本相当,该结果亦在一定程度上肯定了 Apelin-13 对心肌纤维化的疗效。

综上所述,Apelin-13 可在一定程度上减轻或延缓糖尿病大鼠心肌纤维化的发生,此作用很可能是通过减弱 TGF- β 1/T β R/smads 信号转导通路中部分信号蛋白的异常表达与激活实现的,然而它对此信号转导通路中其他信号因子如 smad4、smad6、smad7 等的表达水平有无影响本实验未作研究,这也将是我们下一步努力的方向。

[参考文献]

- [1] 黄娅茜,王宪,孔炜. 糖尿病心肌病发病机制的研究进展[J]. 生理科学进展, 2010, 41 (1): 31-36.
- [2] 王禹川,丁燕生,刘梅林. 不同因子致心肌纤维化分子学机制[J]. 医学综述, 2012, 18 (17): 2 736-740.
- [3] Tatemoto K, Hosoya M, Habata Y, et al. Isolation and characterization of a novel endogenous peptide ligand for the human APJ receptor[J]. Biochem Biophys Res Commun, 1998, 251 (2): 471-476.
- [4] Corvol P. Effect of apelin in cardiovascular system and water metabolism[J]. Therapie, 2009, 64 (4): 233-239.
- [5] 杨攀,张志. Apelin-13 对肾上腹主动脉缩窄诱导的心力衰竭大鼠心肌纤维化的影响[J]. 山东医药, 2013, 53 (11): 19-21.

- [6] 里宏晴,张志,焦慧,等. Apelin-13 对糖尿病大鼠心肌纤维化的影响[J]. 解放军医学院学报, 2013, 34 (6): 621-624.
- [7] 施红,金国琴,余文珍. 诱导构建最佳类似人类 2 型糖尿病大鼠的造模方式[J]. 中国临床康复, 2005, 9 (39): 69-71.
- [8] 张一弛,牟艳玲,解砚英. 肾素-血管紧张素系统与糖尿病心肌病关系的研究进展[J]. 生理科学进展, 2011, 42 (4): 269-275.
- [9] 冯健,李家富. 转化生长因子 β /smad 信号转导通路与心脏重构[J]. 医学综述, 2007, 13 (24): 1 938-941.
- [10] 张海啸,史载祥. 转化生长因子 β 信号传导通路与心肌纤维化[J]. 中日友好医院学报, 2007, 21 (2): 110-112.
- [11] Barnes G, Japp AG, Newby DE. Translational promise of the apelin-APJ system[J]. Heart, 2010, 96 (13): 1 011-016.
- [12] Japp AG, Cruden NL, Barnes G, et al. Acute cardiovascular effects of apelin in humans: potential role in patients with chronic heart failure[J]. Circulation, 2010, 121 (16): 1 818-827.
- [13] 张承荣,姜美燕,朱大年. apelin-APJ 系统对心血管活动的调节[J]. 医学研究杂志, 2011, 40 (1): 26-29.
- [14] 赵乾,黄晏,张胜叶,等. 外源性 Apelin-13 对心力衰竭大鼠血浆血管紧张素 II 和肾上腺髓质素的影响[J]. 现代生物医学进展, 2011, 11 (8): 1 464-466.
- [15] 刘芳,刘浩,宋丽秀,等. SB431542 对 HSC T6 细胞 Smad4 蛋白细胞内转位及表达的影响[J]. 世界华人消化杂志, 2012, 20 (18): 1 653-656.

(此文编辑 文玉珊)