

Orai1 在载脂蛋白 E 基因敲除小鼠动脉粥样硬化斑块形成中的表达

田晋帆, 葛长江, 吕树铮, 苑飞, 赵康

(北京市心肺血管疾病研究所 首都医科大学附属北京安贞医院心内科, 北京市 100029)

[关键词] Orai1; 钙库操作性钙通道; 动脉粥样硬化斑块; 载脂蛋白 E 基因敲除小鼠; 血管平滑肌细胞

[摘要] 目的 探讨 Orai1 在载脂蛋白 E 基因敲除 (ApoE^{-/-}) 小鼠动脉粥样硬化斑块形成过程中的表达。方法 选取 7~8 周龄雄性 ApoE^{-/-} 小鼠及野生型 C57BL/6J 小鼠, 高脂饲喂 20、27 和 33 周后, 在各个时点处死动物。取主动脉制备连续切片, HE、Masson 染色计算机图像分析仪测定斑块面积占管腔面积百分比, 及胶原成分占斑块面积百分比; 油红 O 染色分析斑块中脂质含量; 免疫组织化学染色测定平滑肌细胞阳性表达 Orai1 的百分比; Western Blot 定量分析 Orai1 在易损斑块形成过程中的动态表达。结果 与同周龄 C57BL/6J 小鼠相比, ApoE^{-/-} 小鼠主动脉 Orai1 表达增高, 且随着其周龄增加, Orai1 在 ApoE^{-/-} 小鼠主动脉的表达动态升高 ($P < 0.05$)。结论 Orai1 参与动脉粥样硬化斑块形成的病理过程, 在其形成过程中其表达上调。

[中图分类号] R363

[文献标识码] A

The Expression of Orai1 in the Formation of Atherosclerotic Plaque of Apolipoprotein E Knockout Mice

TIAN Jin-Fan, GE Chang-Jiang, LV Shu-Zheng, YUAN Fei, and ZHAO Kang

(Department of Cardiology, Beijing Anzhen Hospital, Capital Medical University & Beijing Institute of Heart, Lung and Blood Vessel Diseases, Beijing 100029, China)

[KEY WORDS] Orai1; Store-operated Calcium Channels; Atherosclerotic Plaque; Apolipoprotein E Gene Knock-out Mice; Vascular Smooth Muscle Cells

[ABSTRACT] **Aim** To investigate the expression of Orai1 in the formation of atherosclerotic plaque of apolipoprotein E knockout (ApoE^{-/-}) mice. **Methods** 7 to 8 weeks old male ApoE^{-/-} mice and wild-type C57BL/6J mice were selected and fed with fat rich diet. The animals were sacrificed consecutively after the mice were 20, 27 and 33 weeks old. Their aortas were taken for preparing the serial sections. The percentage of plaque area in luminal area was calculated after HE staining; The percentage of collagen in plaque area was calculated after Masson staining; Lipid content was analyzed after oil red O staining; The percentage of smooth muscle cells expressing Orai1 was calculated after immunohistochemical staining. The dynamic expression of Orai1 during vulnerable plaque formation was quantitatively analyzed by using Western Blot analysis. **Results** Compared with the control group, the expression of Orai1 were markedly higher in ApoE^{-/-} mice. As the age of ApoE^{-/-} mice increasing, the expression of Orai1 increased significantly ($P < 0.05$). **Conclusions** Orai1 participates in the pathological process of atherosclerosis. The expression of Orai1 is up-regulated in the formation of atherosclerotic plaques.

作为冠心病的始动因素, 动脉粥样硬化是以血管 内皮损伤为基础的多种危险因素综合作用的结果, 主

[收稿日期] 2014-07-19

[修回日期] 2014-11-06

[基金项目] 国家“十一五”科技支撑计划(2006BAI01A02); 北京市自然科学基金(7152047); 首都医学科技发展基金资助项目(SF-2009 -I-09); 首都医科大学基础与临床合作基金课题(11JL51); 首都医科大学附属北京安贞医院院长科技发展基金(2013F01); 北京中医药科技项目(JJ2014-22)

[作者简介] 田晋帆, 硕士, 研究方向为冠心病急性冠状动脉综合征, E-mail 为 Tjfbama@163.com。吕树铮, 主任医师, 教授, 博士研究生导师, 研究方向为冠心病的介入治疗, E-mail 为 shuzheng@medmail.com.cn。通讯作者葛长江, 主任医师, 副教授, 硕士研究生导师, 研究方向为冠心病急性冠状动脉综合征, E-mail 为 cjge1116@163.com。

要包括血管重塑和易损斑块形成。血管平滑肌细胞表型转化促使血管平滑肌细胞(vascular smooth muscle cell, VSMC)增殖和迁移是动脉粥样硬化及其斑块形成的关键环节,已知细胞内钙离子参与调控上述过程,并与血管重塑密切相关。Orail 是钙库操纵性钙通道的主要组成部分,其激活是钙库排空时补充细胞内钙离子的重要方式^[1],然而目前尚未明确动脉粥样硬化斑块形成过程中 Orail 的动态表达及其间关系。本研究利用载脂蛋白 E 基因敲除(ApoE^{-/-})小鼠动脉粥样硬化模型,观察在动脉粥样硬化斑块形成中,主动脉 VSMC 内 Orail 表达的变化,并明确其与动脉粥样硬化斑块发生发展的关系。

1 材料和方法

1.1 动物和试剂

7~8 周龄 ApoE^{-/-}小鼠(品系 C57BL/6J,北京大学医学部实验动物科学部自美 Jackson 实验室引进)45 只,质量合格证号[SCXK(京)2011-0012],野生型 C57BL/6J 小鼠购自北京维通利实验动物技术有限公司,质量合格证[SCXK(京)2012-0001]。均为雄性,体重 19~21 g,饲养条件 2 级,室温保持在 22~24℃,相对湿度 50%,光照时间 7:00~19:00。Orail 一抗购自 Abcom®(货号 ab 86206); β -actin 单抗、二步法免疫组织化学检测试剂盒(羊抗兔 IgG 抗体-HRP 多聚体)及浓缩型 DAB 显色试剂盒购自北京中杉金桥生物技术有限公司。

1.2 动物模型制备和分组

选取 45 只 7~8 周龄 ApoE^{-/-}小鼠为模型组,45 只野生型 C57BL/6J 小鼠为对照组,分别给予高脂饲料(基础饲料 78.85%,脂肪 21%,胆固醇 0.15%)喂养至 20 周龄、27 周龄、33 周龄时每组随机各取 15 只处死,处死前 1 天晚上禁食水。

1.3 病理组织形态学检测

以肝素生理盐水心脏灌注,无菌条件下取出主动脉根部,10% 甲醛固定,常规石蜡包埋,横断面连续切片。采用 Suzuki 的方法^[2],每只小鼠的主动脉根部取 4 个相同的切面,分别是:(1)升主动脉最近端横截面,切面形态呈圆形;(2)主动脉瓣附着部位,并有冠状动脉开口;(3)主动脉瓣起始横截面;(4)主动脉瓣完全出现并汇合在一起。HE 染色测定斑块面积/管腔面积;Masson 染色测定胶原面积/斑块面积。

取心脏和主动脉,肝素生理盐水灌洗,4% 多聚甲醛固定,20% 蔗糖脱水,以 OCT 包埋,液氮速冻。

小鼠主动脉根部制作连续冰冻切片,切片进行油红 O 染色,分析脂质面积/斑块面积。

1.4 免疫组织化学染色

石蜡切片脱蜡到水,蒸馏水振洗,5 min,3 次;微波修复抗原柠檬酸盐缓冲液(pH = 6.0)92~98℃,自然冷却,PBS 洗 3 次;3% H₂O₂ 室温 15 min,PBS 洗 3 min,3 次;山羊血清室温封闭 1 h,滴加 1:500 的兔抗小鼠 Orail 一抗 4℃ 孵育 24 h;PBS 振洗 3 次;HRP 标记的山羊抗兔 IgG 抗体室温孵育 30 min;滴加 DAB 显色剂,显微镜下观察,适时终止显色;PBS 洗 3 min,3 次;苏木精复染 3 min,蒸馏水洗 1 min;分化 2 s,自来水返蓝 5 min 后脱水、透明、封片、镜检。实验均设阳性对照与阴性对照,用已知阳性切片作阳性对照,用 PBS 缓冲液代替一抗作阴性对照。定量分析:200 倍视野下 Leica Q 5501W 图像处理显微镜进行图像分析,测定血管平滑肌细胞 Orail 表达的阳性面积。

1.5 Western Blot

预冷 RIPA 蛋白抽提液,加入蛋白酶抑制剂(磷酸化蛋白需要同时加入磷酸酶抑制剂)。在蛋白抽提开始前加入 0.5~1 mL PMSF 母液(PMSF 终浓度 1 mmol/L)。称取组织重量(以重量:裂解液体积 = 1:9 比例加入裂解液),将其置于 1~2 mL 匀浆器中球状部位,用牙签轻轻剥离血管外膜,用干净的眼科剪尽量将剩余组织剪碎。Fluka 电动组织匀浆器 15000 r/min 转速进行匀浆,然后置于冰上。几分钟后再碾一会再置入冰上,要重复碾几次使组织尽量碾碎。裂解 30 min 后,即可用移液器将裂解液移至 1.5 mL 离心管中,然后在 4℃ 下 12000 r/min 离心 5 min,离心完成后取上清(即蛋白)分装于 0.5 mL 离心管中并置于 -20℃ 或者 -70℃ 保存,待测。

BCA 法测定蛋白浓度;调整蛋白浓度,煮沸 3~5 min 使蛋白变性;SDS-PAGE 电泳;转膜;转膜完毕后,立即把蛋白膜放置到 1×TBST 中,漂洗 1~2 min,以洗去膜上的转膜液;加入 Western 封闭液(5% 脱脂奶粉,溶于 1×TBST 中),在摇床上缓慢摇动,室温封闭 60 min;TBST 稀释一抗(1:1000),4℃ 孵育过夜;加入 1×TBST,在摇床上缓慢摇动洗涤 5~10 min,共洗涤 3 次;TBST 稀释二抗(1:3000),室温孵育 60 min;TBST 洗膜 5 次,每次 3 min;ECL 化学发光,显影,定影。用 Quantity One 软件对凝胶图像进行光密度分析,以目的条带与内参照条带信号强度的比值代表组织中目的蛋白的表达水平。

1.6 血脂检测

取材前小鼠禁水禁食 12 h,C57BL/6J 小鼠和

ApoE^{-/-} 小鼠麻醉后,经眼眶静脉丛采血,3000 r/min 离心 10 min 分离血清,测定血脂。总胆固醇 (total cholesterol,TC)、甘油三酯 (triglyceride,TG) 采用氧化酶法测定;高密度脂蛋白 (high density lipoprotein cholesterol,HDLc) 和低密度脂蛋白 (low density lipoprotein cholesterol,LDLC) 采用直接法测定。

1.7 统计学方法

使用 SPSS 17.0 统计软件处理数据。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组内不同周龄鼠均数比较采用单因素方差分析 (One-way ANOVA),两两比较采用 Bonferoni 方法;模型组与对照组同时时间点比较采用独立样本 *t* 检验。*P* < 0.05 为差异有显著性。

2 结果

2.1 不同周龄小鼠主动脉粥样硬化斑块的病理结构变化

20 周龄 ApoE^{-/-} 小鼠脂质斑块形成,此时尚有

完整的纤维帽,内含小的脂质核心和少量泡沫细胞,纤维帽主要由 VSMC、弹力纤维和较多的胶原纤维组成。27 周龄 ApoE^{-/-} 小鼠粥样斑块形成,泡沫细胞堆积,纤维帽变薄,部分破裂。33 周龄 ApoE^{-/-} 小鼠粥样斑块进展明显,平滑肌细胞大量凋亡,泡沫细胞崩解,深部为大量无定形坏死物质,斑块破裂、管腔狭窄明显。对照组 C57BL/6J 各周龄小鼠未见斑块的形成,中层 VSMC 也未发生明显变化 (图 1 ~ 3)。Masson 染色可见,模型组 ApoE^{-/-} 小鼠随着周龄的增加,斑块内形成大量柳叶形胆固醇结晶,纤维组织也逐渐减少 (呈蓝色),纤维帽变薄 (图 3)。

从 20 周龄至 33 周龄动态连续观测结果看,随时间延长,ApoE^{-/-} 小鼠的斑块面积与管腔面积比值呈增长趋势;其动脉粥样硬化斑块中脂质面积逐渐增加;组成纤维帽的主要成分细胞外基质的合成逐渐减少,胶原面积占斑块面积百分比呈降低趋势 (*P* < 0.05),斑块易损 (表 1)。

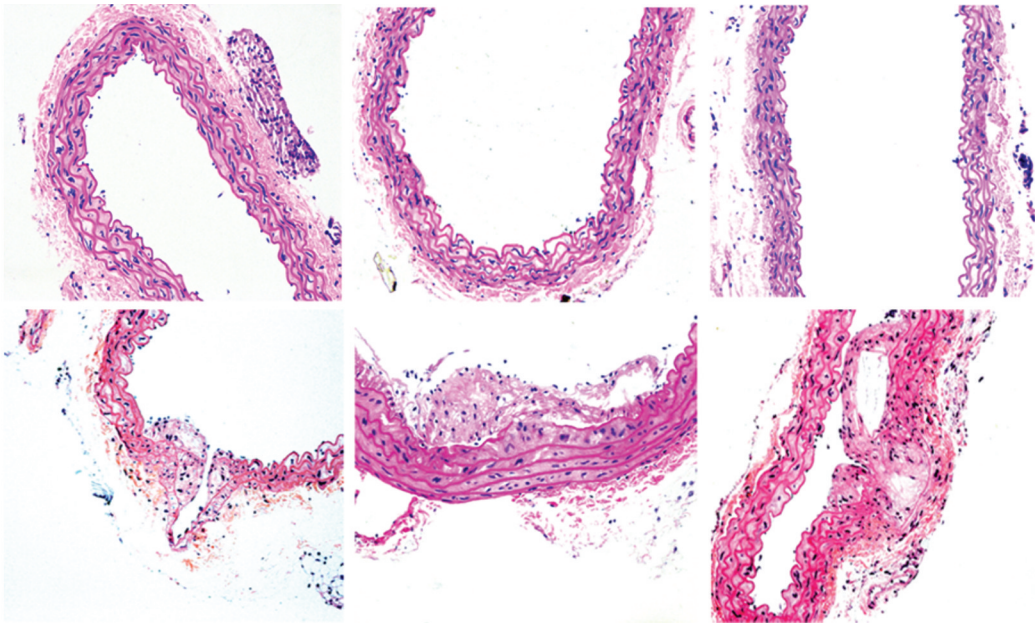


图 1. C57BL/6J 和 ApoE^{-/-} 小鼠主动脉的病理变化 (HE 染色, ×200) 上图为对照组,下图为模型组;从左到右依次为 20 周龄、27 周龄和 33 周龄。

Figure 1. Pathological changes of atherosclerotic plaques in the aorta of C57BL/6J mice and ApoE^{-/-} mice (HE staining, ×200)

表 1. 不同组小鼠主动脉病理变化 ($\bar{x} \pm s$, *n* = 5)

Table 1. Pathological changes of aorta in different groups ($\bar{x} \pm s$, *n* = 5)

分 组	周龄	<i>n</i>	斑块面积/管腔面积	脂质面积/斑块面积	胶原面积/斑块面积
对照组	20 周龄	5	—	—	—
	27 周龄	5	—	—	—
	33 周龄	5	—	—	—
模型组	20 周龄	5	0.096 ± 0.036	0.157 ± 0.039	0.575 ± 0.044
	27 周龄	5	0.212 ± 0.055 ^b	0.260 ± 0.041 ^b	0.451 ± 0.080 ^a
	33 周龄	5	0.365 ± 0.098 ^{bc}	0.365 ± 0.063 ^{bc}	0.321 ± 0.060 ^{bc}

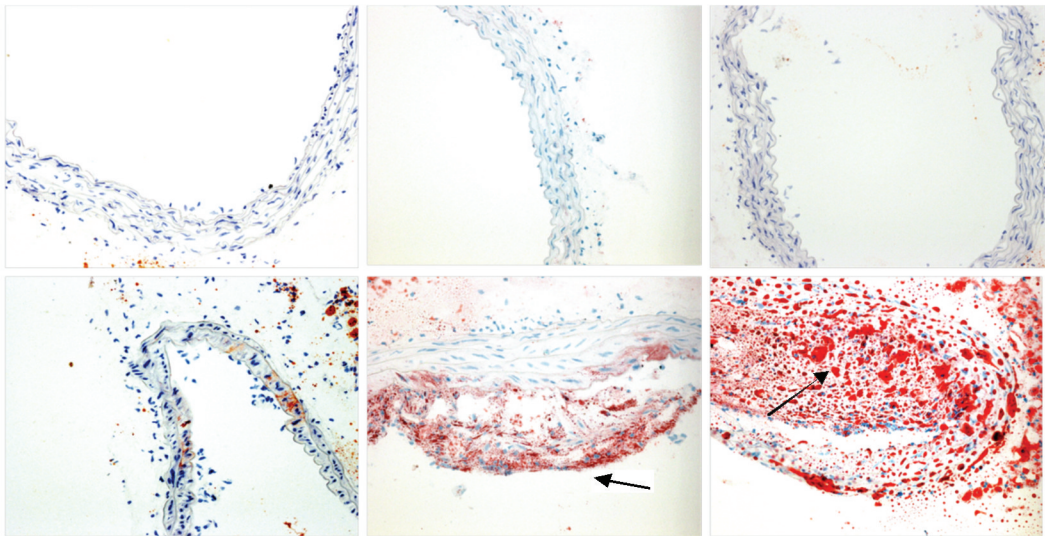


图 2. 油红 O 染色 (×200) 上图为对照组,下图为模型组;从左到右依次为 20 周龄、27 周龄和 33 周龄。箭头所示红色部分为阳性区域。

Figure 2. Oil-red O staining(×200)

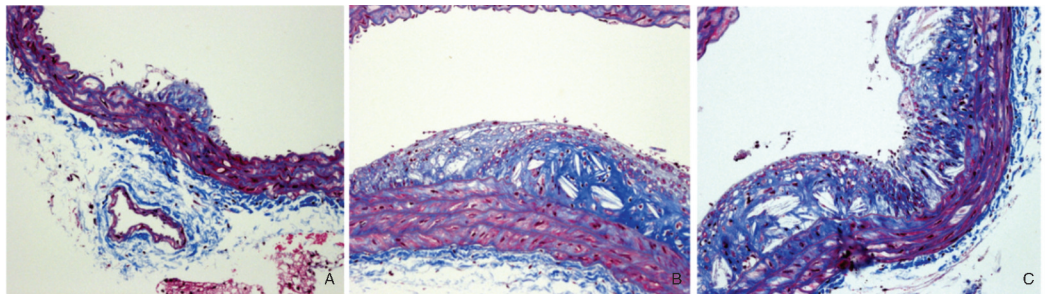


图 3. Masson 染色 (×200) A 为 20 周龄模型组,B 为 27 周龄模型组,C 为 33 周龄模型组。

Figure 3. Masson staining(×200)

a 为 $P<0.05$,b 为 $P<0.01$,与 20 周龄模型组比较;c 为 $P<0.05$,与 27 周龄模型组比较。

2.2 血脂检测

高脂饲喂 ApoE^{-/-} 小鼠 TC、TG、LDLC 明显高

于对照组 ($P<0.01$), HDLC 水平两组差异无统计
学意义(表 2)。

表 2. 不同组小鼠血脂变化($\bar{x} \pm s, n=5$)

Table 2. Changes of blood lipid in various groups($\bar{x} \pm s, n=5$)

血脂	对照组			模型组		
	20 周龄	27 周龄	33 周龄	20 周龄	27 周龄	33 周龄
TG (mmol/L)	1.41 ± 0.27	1.38 ± 0.39	1.40 ± 0.11	2.19 ± 0.16 ^a	2.37 ± 0.17 ^a	2.59 ± 0.17 ^{ab}
TC (mmol/L)	4.39 ± 0.33	4.02 ± 0.22	4.20 ± 0.44	9.87 ± 0.92 ^a	15.96 ± 1.07 ^{ab}	19.38 ± 1.50 ^{ab}
LDLC (mmol/L)	1.87 ± 0.45	2.11 ± 0.17	2.13 ± 0.25	3.65 ± 0.79 ^a	7.08 ± 1.09 ^{ab}	10.15 ± 1.62 ^{ab}
HDLC (mmol/L)	1.16 ± 0.45	0.98 ± 0.38	1.14 ± 0.40	1.02 ± 0.11	1.30 ± 0.31	1.26 ± 0.28

a 为 $P<0.01$,与同周龄对照组比较;b 为 $P<0.01$,与 20 周龄模型组比较。

2.3 Orai1 蛋白测定

与同周龄 C57BL/6J 小鼠比较, Orai1 在
ApoE^{-/-} 小鼠动脉粥样硬化斑块中表达差异有显著

性($P<0.05$),且随着 ApoE^{-/-} 小鼠周龄的增加,
Orai1 表达逐渐增加($P<0.05$;图 4 和图 5)。

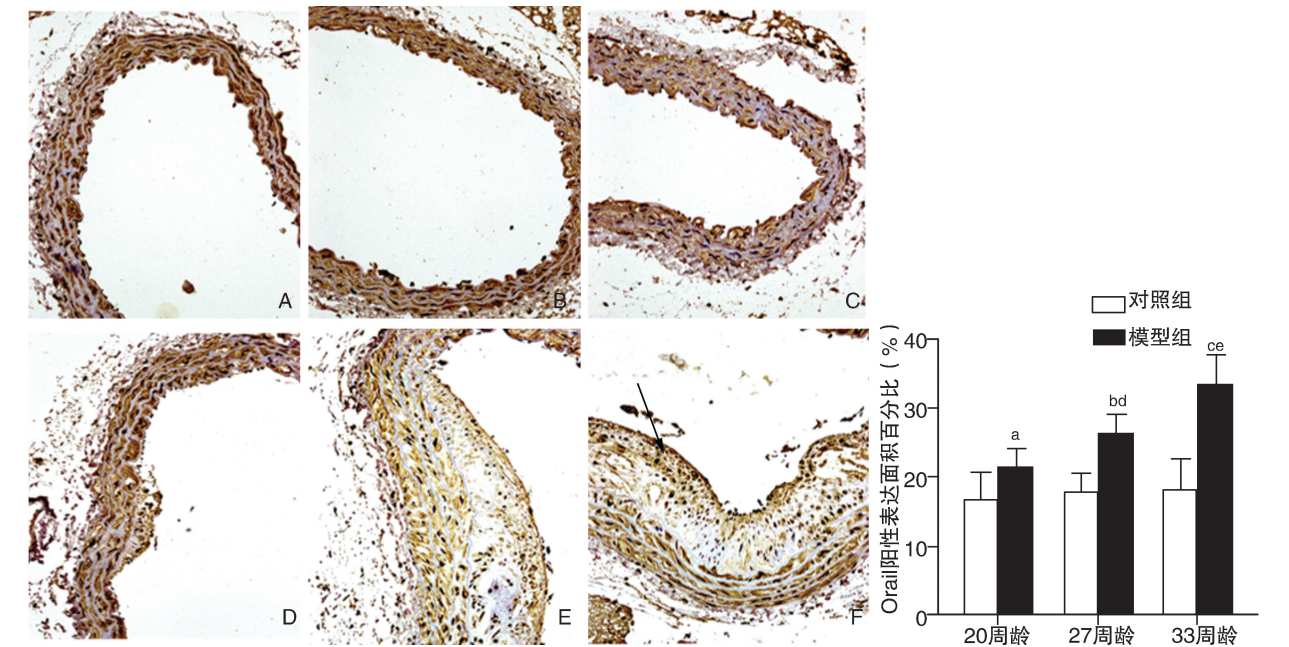


图 4. 免疫组织化学染色检测 C57BL/6J 和 ApoE^{-/-} 小鼠 Orail 表达 (×200) A 为 20 周龄对照组, B 为 27 周龄对照组, C 为 33 周龄对照组, D 为 20 周龄模型组, E 为 27 周龄模型组, F 为 33 周龄模型组。箭头所示为 Orail 阳性表达区域。a 为 $P < 0.05$, 与 20 周龄对照组比较; b 为 $P < 0.01$, 与 27 周龄对照组比较; c 为 $P < 0.01$, 与 33 周龄对照组比较; d 为 $P < 0.05$, 与 20 周龄模型组比较; e 为 $P < 0.05$, 与 27 周龄模型组比较。

Figure 4. Orail expression in the aorta of C57BL/6J mice and ApoE^{-/-} mice by immunohistochemical stain (×200)

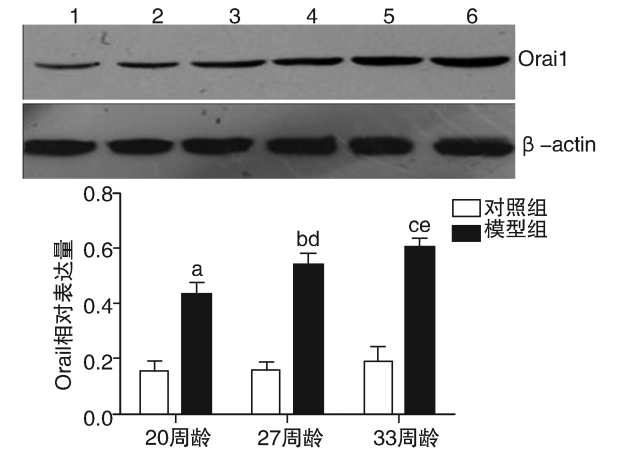


图 5. Western Blot 测定 C57BL/6J 和 ApoE^{-/-} 小鼠主动脉 Orail 表达 1 为 20 周龄对照组, 2 为 27 周龄对照组, 3 为 33 周龄对照组, 4 为 20 周龄模型组, 5 为 27 周龄模型组, 6 为 33 周龄模型组。a 为 $P < 0.01$, 与 20 周龄对照组比较; b 为 $P < 0.01$, 与 27 周龄对照组比较; c 为 $P < 0.01$, 与 33 周龄对照组比较; d 为 $P < 0.01$, 与 20 周龄模型组比较; e 为 $P < 0.05$, 与 27 周龄模型组比较。

Figure 5. The expression of Orail in the aorta of C57BL/6J mice and ApoE^{-/-} mice

3 讨论

ApoE^{-/-} 小鼠是由美国洛克菲勒大学生化遗传与代谢实验室和北卡罗来那大学病理遗传实验室

应用基因同源重组的靶基因技术于 1992 年培育成功的^[3-4]。其动脉粥样硬化斑块好发部位与人类相同, 且同样经历从脂质条纹到有纤维帽覆盖的成熟斑块的各个阶段, 因此, ApoE^{-/-} 小鼠是目前研究动脉粥样硬化较为理想的动物模型。

已证实冠状动脉粥样硬化斑块的不稳定性是引致急性冠状动脉综合征的主要原因, 斑块的不稳定性取决于斑块的组成结构而不是大小^[5]。作为参与动脉粥样硬化斑块中最重要的细胞成分之一的 VSMC, 在动脉粥样硬化病程中一旦变化将推动动脉粥样硬化的发生发展。血管重塑参与了动脉粥样硬化斑块形成的全过程, 而血管重塑与 VSMC 的增殖和凋亡密切相关。其增殖是血管内膜增厚的主要始动因素, 而其凋亡在斑块的易损性中发挥了重要作用^[6]。VSMC 合成细胞外基质减少和 (或) 蛋白溶解酶降解细胞外基质增加是斑块破裂的主要原因。当细胞凋亡数超过细胞增殖时, 即 VSMC 凋亡增加, 胶原分泌减少, 使纤维帽变薄, 斑块易于破裂。

细胞内钙离子参与细胞增殖和凋亡的过程, 且与血管重塑密切相关^[7]。游离 Ca^{2+} 浓度增高促进细胞增殖, 但过度增高甚至内质网贮存钙排尽造成细胞凋亡。当机械、炎症等刺激作用于平滑肌细

胞,细胞钙库上 1,4,5-三磷酸肌醇受体 1 被活化,使 Ca^{2+} 从内质网释放进入胞质。随着胞内钙库的排空,位于质膜上的 Ca^{2+} 通道被激活,使 Ca^{2+} 由细胞外进入细胞质内,这个过程被称为钙库调控的钙内流,其通道称为钙库调控的钙通道^[8]。

Orai1 是定位于质膜上的四次跨膜蛋白,其 N 端和 C 端位于细胞内,是钙库操纵性钙通道的主要组成分子之一^[9-10]。靠近 N 端的区域是脯氨酸富集区,精氨酸遗传变异性免疫缺陷很可能位于第 1 个跨膜片段上,谷氨酸盐具有跨膜转移 Ca^{2+} 的能力,第 1 个和第 3 个跨膜片段上存在 Ca^{2+} 结合位点。当 Orai1 蛋白处于休眠状态时,多以二聚体的形式存在,伴随着内质网 Ca^{2+} 的排空,基质交感分子 1 蛋白被激活,其 C 端基质交感分子 Orai 激活区域能充分激活 Orai1 通道,使得 Orai1 蛋白由二聚体聚合成四聚体,胞外 Ca^{2+} 内流^[11-12]。沉默基质交感分子 1 及 Orai1 明显减少血小板生长因子激活的钙库操纵性钙内流,以及 VSMC 的增殖和迁移^[13]。提示 Orai1 通过调控 VSMC 内 Ca^{2+} 浓度,进而参与动脉粥样硬化血管重塑及斑块形成过程。

本研究表明,随着周龄的增加,ApoE^{-/-}小鼠模型中的动脉粥样硬化斑块经历从脂质条纹期、斑块前期、粥样斑块及纤维粥样斑块的不同时期,在动脉粥样硬化斑块形成过程的早期,平滑肌细胞以增殖为主,而动脉粥样硬化易损斑块形成晚期,可见斑块中 VSMC 大量凋亡,细胞外胶原纤维合成及分泌减少,纤维帽变薄,泡沫细胞崩解,细胞外脂质积累,管腔严重狭窄,而对照组小鼠均未见明显斑块形成。从 20 周龄至 33 周龄连续动态的观察,ApoE^{-/-}小鼠 Orai1 表达逐渐增加,与动脉粥样硬化斑块面积/管腔面积呈正相关,而与胶原面积/斑块面积呈负相关。对照组 C57BL/6J 小鼠 Orai1 表达未见动态改变,且表达明显低于同周龄模型组。因此,从血管重塑的角度阐明了 Orai1 在动脉粥样硬化斑块发生发展中的作用。

目前,有研究报道,氧化型低密度脂蛋白可以时间依赖性地诱导 Orai1 表达,从 12 h 开始具有显著差异,干扰 Orai1 可以使巨噬细胞结合、摄取标记低密度脂蛋白的能力明显降低^[14]。本研究可见 ApoE^{-/-}小鼠血清胆固醇水平明显高于对照组 C57BL/6J 小鼠。且随着周龄增加,其总胆固醇水平、低密度脂蛋白、斑块中脂质成分面积呈现上升趋势。提示 Orai1 蛋白异常表达及血脂水平升高共同参与动脉粥样硬化及其斑块形成过程。

本研究阐明了 Orai1 是动脉粥样硬化斑块形成

的重要分子,并将成为动脉粥样硬化斑块及急性冠状动脉综合征治疗的靶点之一,而血脂代谢及 Orai1 介导的 Ca^{2+} 信号的相互关系,及其在动脉粥样硬化斑块形成过程中的作用有待进一步探索,并期待通过干预上述环节进而延缓动脉粥样硬化进程。

[参考文献]

[1] Braun AP. CRACKing the structure of Orai: new work reveals the intramolecular properties of a store-operated, calcium influx channel [J]. Channels (Austin), 2013, 7(2): 71-73.

[2] Suzuki H, Kurihara Y, Takeya M, et al. A role for macrophage scavenger receptors in atherosclerosis and susceptibility to infection [J]. Nature, 1997, 386(6622): 292-296.

[3] Plump A S, Smith J D, Hayek T, et al. Severe hypercholesterolemia and atherosclerosis in apolipoprotein E-deficient mice created by homologous recombination in ES cells[J]. Cell, 1992, 71(2): 343-353.

[4] Plump A S, Smith J D, Hayek T, et al. Severe hypercholesterolemia and atherosclerosis in apolipoprotein E-deficient mice created by homologous recombination in ES cells[J]. Cell, 1992, 71(2): 343-353.

[5] 张洁,周聊生,史浩,等. 易损斑块组织特征的影像学研究进展[J]. 中国动脉硬化杂志, 2013, 3(21): 285-288.

[6] Tucka J, Yu H, Gray K, et al. Akt1 regulates vascular smooth muscle cell apoptosis through FoxO3a and Apaf1 and protects against arterial remodeling and atherosclerosis[J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2014, 34(11): 2421-2428.

[7] 冯利霞,葛长江. 细胞钙离子转运蛋白在动脉粥样硬化易损斑块形成中的作用[J]. 心肺血管病杂志, 2012, 31(05): 636-638.

[8] Cheng K T, Leung Y K, Shen B, et al. CNGA2 channels mediate adenosine-induced Ca^{2+} influx in vascular endothelial cells[J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2008, 28(5): 913-918.

[9] Liao Y, Erxleben C, Yildirim E, et al. Orai proteins interact with TRPC channels and confer responsiveness to store depletion[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2007, 104(11): 4682-687.

[10] Varnai P, Hunyady L, Balla T. STIM and Orai: the long-awaited constituents of store-operated calcium entry[J]. Trends Pharmacol Sci, 2009, 30(3): 118-128.

[11] Penna A, Demuro A, Yeromin A V, et al. The CRAC channel consists of a tetramer formed by Stim-induced dimerization of Orai dimers[J]. Nature, 2008, 456(7218): 116-120.

[12] Yuan JP, Zeng W, Dorwart MR, et al. SOAR and the polybasic STIM1 domains gate and regulate Orai channels[J]. Nat Cell Biol, 2009, 11(3): 337-343.

[13] Bisailon JM, Motiani RK, Gonzalez-Cobos JC, et al. Essential role for STIM1/Orai1-mediated calcium influx in PDGF-induced smooth muscle migration[J]. Am J Physiol Cell Physiol, 2010, 298(5): C993-C1005.

[14] 曾德意,梁思佳,苏映雪,等. Orai1 参与巨噬细胞泡沫化及其机制的研究[J]. 中国病理生理杂志, 2012, (11): 2018.

(此文编辑 许雪梅)