

血管紧张素(1-7)抑制异丙肾上腺素诱导的 H9c2 心肌细胞凋亡

蔡少艾¹, 赵甘剑², 黄尹², 邓波³, 王珊⁴

(广州医科大学附属第二医院 1.老年科, 2.心内科, 3.中医科, 广东省广州市 510260;

4.广东省过敏反应与免疫重点实验室, 广东省广州市 510260)

[关键词] 血管紧张素(1-7); 异丙肾上腺素; 细胞凋亡; 线粒体膜电位; PI3K/Akt 信号通路

[摘要] 目的 观察血管紧张素(1-7)[Ang(1-7)]对心肌细胞凋亡的影响,探讨其可能的作用机制。方法 应用异丙肾上腺素(ISO)处理 H9c2 心肌细胞 12 h 建立心肌细胞凋亡模型,Ang(1-7)或 PI3K 抑制剂 LY294002 与 H9c2 心肌细胞共处理 12 h 观察对 ISO 诱导的心肌细胞凋亡的影响。显微镜下观察 H9c2 心肌细胞生长情况,采用 MTS 法检测各组细胞的相对细胞活性,TUNEL 法检测各组细胞凋亡率。JC-1 荧光探针检测线粒体膜电位,Western blot 检测 cleaved Caspase-3、p-Akt 及 Akt 蛋白的表达量。结果 ISO 呈浓度依赖性抑制 H9c2 心肌细胞的相对细胞活性,Ang(1-7)呈浓度依赖性逆转 ISO 诱导的 H9c2 心肌细胞相对活性的降低;与对照组比较,ISO 组细胞凋亡率及 cleaved Caspase-3 蛋白表达量显著增加,线粒体膜电位和 p-Akt 蛋白表达量显著降低;Ang(1-7)可抑制 ISO 诱导的 H9c2 心肌细胞凋亡率的增加,减少 cleaved Caspase-3 蛋白的表达,增加线粒体膜电位和 p-Akt 蛋白表达量。LY294002 预处理后 Ang(1-7)对 ISO 诱导的 H9c2 心肌细胞的保护作用明显减弱,表现为心肌细胞凋亡率及 cleaved Caspase-3 蛋白的表达量明显增加,p-Akt 蛋白表达量减少。结论 ISO 能诱导 H9c2 心肌细胞线粒体途径的细胞凋亡,而 Ang(1-7)能抑制 ISO 诱导的线粒体途径的细胞凋亡。PI3K/Akt 信号通路可能在 Ang(1-7)抑制 ISO 诱导的 H9c2 心肌细胞凋亡中起到关键作用。

[中图分类号] R363

[文献标识码] A

Angiotensin(1-7) inhibits isoproterenol induced apoptosis in H9c2 cells

CAI Shao-Ai¹, ZHAO Gan-Jian², HUANG Yin², DENG Bo³, WANG Shan⁴

(1.Department of Geriatrics, 2.Department of Cardiology, 3.Department of Traditional Chinese Medicine, 4.Guangdong Provincial Key Laboratory of Allergy and Clinical Immunology/The State Key Laboratory of Respiratory Disease, the Second Affiliated Hospital of Guangzhou Medical University, Guangzhou, Guangdong 510260, China)

[KEY WORDS] Angiotensin(1-7); Isoproterenol; Apoptosis; Mitochondrial transmembrane potential; PI3K/Akt signal pathway

[ABSTRACT] **Aim** To observe the effect of angiotensin(1-7) (Ang(1-7)) on myocardial apoptosis, and investigate the underlying mechanism. **Methods** H9c2 cells were treated by isoproterenol (ISO) for 12 h to establish a model of apoptosis. Co-treatment of Ang(1-7) or PI3K inhibitor (LY294002) with ISO or ISO and Ang(1-7) for 12 h was performed to observe the influence on ISO-induced myocardial apoptosis. The cell growth state was observed under white light. MTS was used to detect the relative cellular activity. The apoptotic rate was tested by TUNEL under fluorescence microscope. The mitochondrial transmembrane potential was detected by fluorescence probe JC-1. The protein expression of cleaved Caspase-3, p-Akt and Akt were tested by Western blot. **Results** ISO inhibited the relative activity of H9c2 cells. Ang(1-7) reversed the ISO-induced cellular activity reduction of H9c2 cells concentration-dependently. Compared with control group, apoptosis rate and the protein expression of cleaved Caspase-3 increased significantly in ISO group, and the mitochondrial transmembrane potential and the protein expression of p-Akt decreased notably. Ang(1-7) could inhibit the increasing of apoptotic rate and the protein expression of cleaved Caspase-3, promote mitochondrial transmembrane potential and the protein expression of p-Akt in ISO-induced H9c2 cell. The protective effect of Ang(1-7) on

[收稿日期] 2017-08-06

[修回日期] 2017-12-15

[基金项目] 广东省自然科学基金项目(2016A030313570)

[作者简介] 蔡少艾,主治医师,研究方向为老年心血管病,E-mail 为 caishaoai@126.com。通讯作者王珊,讲师,研究方向为临床过敏反应与免疫,E-mail 为 april0860@163.com。

ISO-induced apoptosis was markedly reduced by pretreatment with LY294002, evidenced by increasing in apoptotic rate and the protein expression of cleaved Caspase-3, decreasing in the protein expression of p-Akt. **Conclusion** ISO induces apoptosis by decreasing mitochondrial transmembrane potential. Ang(1-7) could reverse this effect. Ang(1-7) protecting H9c2 cells from ISO-induced apoptosis may relate to PI3K/Akt signal pathway.

高血压、心肌梗死、心力衰竭、糖尿病是危害人类生命健康的常见病、多发病。心肌细胞凋亡在心肌肥厚、心肌梗死、糖尿病心肌病等病理过程中起着重要作用,是多种心血管疾病的共同发病机制^[1-4]。线粒体途径是心肌细胞凋亡的主要途径之一,也是心肌细胞损伤的主要表达形式^[5-6]。目前导致心肌细胞凋亡的具体机制尚未完全清楚。因此,深入探讨心肌细胞凋亡的机制,寻找潜在的抗心肌细胞凋亡的药物,对于防治心血管疾病具有重要的意义。

血管紧张素(1-7) [angiotensin(1-7), Ang(1-7)]是近年发现的一种内源性多肽激素,由血管紧张素转换酶2降解血管紧张素II(angiotensin II, Ang II)而生成,具有对抗Ang II的作用^[7]。近年来的研究发现,Ang(1-7)可改善糖尿病高血压大鼠心肌缺血再灌注损伤^[8],抑制自发性高血压大鼠左心室肥大和心肌纤维化的进展^[9-10]。在阿霉素诱导的扩张型心肌病大鼠上的研究也发现,Ang(1-7)可改善左心室功能,减少心肌细胞凋亡^[11]。那么,Ang(1-7)能否抑制异丙肾上腺素(isoproterenol, ISO)所诱导的心肌细胞凋亡? Ang(1-7)能否通过线粒体途径抑制心肌细胞凋亡?本研究采用ISO诱导H9c2心肌细胞凋亡,探讨Ang(1-7)对H9c2心肌细胞凋亡的作用及其具体机制。

1 材料和方法

1.1 材料

H9c2心肌细胞购自中科院上海细胞生物研究所;DMEM培养基、胎牛血清、0.25%胰蛋白酶购自Gibco公司;DMSO购自Biotech Grade公司;MTS购自Promega公司;p-Akt兔多克隆抗体、Akt兔多克隆抗体、GAPDH兔多克隆抗体、羊抗兔IgG-HRP购自CST公司;cleaved Caspase-3兔多克隆抗体购自Santa Cruz Biotechnology公司;Ang(1-7)购自Sigma公司;PI3K抑制剂LY294002购自Selleck公司;ISO购自上海禾丰制药有限公司;一步法TUNEL细胞凋亡检测试剂盒、DAPI、JC-1线粒体膜电位检测试剂盒、ECL显影液购自碧云天生物技术研究所。

1.2 实验分组及处理

实验分为4组:①对照组:H9c2心肌细胞未进行任何处理;②ISO组:使用160 μmol/L ISO处理12 h;③Ang(1-7)+ISO组:使用200 nmol/L Ang(1-7)预处理H9c2心肌细胞2 h,再加入ISO处理心肌细胞12 h;④LY294002+Ang(1-7)+ISO组:使用LY294002预处理H9c2心肌细胞2 h,再加入Ang(1-7)及ISO共同处理H9c2心肌细胞12 h。

1.3 H9c2心肌细胞的培养

将H9c2心肌细胞培养于含有10%胎牛血清的DMEM培养基中,在5%CO₂培养箱中37℃下培养。待细胞生长到培养皿底面积90%左右时,加入0.25%胰蛋白酶消化传代。每3天传一代。

1.4 MTS法检测细胞增殖

取对数生长的成纤维细胞,0.25%胰蛋白酶消化,调整细胞密度为(4~5)×10⁷ Cells/L,接种到96孔板,每孔100 μL,培养24 h后换成不含血清的DMEM培养基同步培养24 h。再分别加药处理12 h后,每孔加入20 μL MTS试剂,继续培养2 h。于490 nm波长处检测OD值。

1.5 TUNEL法检测细胞凋亡

将H9c2心肌细胞按每孔1×10⁸ Cells/L接种于24孔板的玻璃爬片上,给予不同药物处理后,再用PBS洗涤1次。每皿加入50 μL TUNEL检测液,37℃避光孵育1 h, PBS洗涤3次,再加入DAPI常温孵育10 min, PBS洗涤3次,加入抗荧光淬灭封片液,在荧光显微镜下摄片,实验重复5次。

1.6 Western blot检测相关蛋白表达

用预冷的PBS洗涤细胞2次,每皿细胞(60 mm培养皿)加入100 μL RIPA裂解液,冰上裂解15 min,用细胞刮刮下细胞,超声破膜,12000 r/min低温离心15 min,取上清。BCA法检测蛋白浓度,用RIPA补齐,使各组蛋白浓度一致,加入5×Loading Buffer于100℃水浴10 min,使蛋白变性,-80℃冻存。取20 μg蛋白样品进行电泳。电泳结束后转到PVDF膜上,5%脱脂奶粉封闭2 h,分别加入Akt(1:1000)、p-Akt(1:1000)、cleaved Caspase-3(1:1000)及GAPDH(1:1000)抗体于4℃摇床孵育过夜,0.1%TBST洗膜3次,加入HRP标记的山羊抗兔IgG(1:1000),室温缓慢摇动2 h,0.1%TBST

洗膜3次,ECL显影,曝光。

1.7 线粒体膜电位测定

将H9c2心肌细胞按每孔 $1 \times 10^8/L$ 接种于12孔细胞培养板上,给予不同药物处理后,再用PBS洗涤1次。每孔加入1 mL JC-1染色工作液,37℃孵育20 min,终止培养,弃上清。JC-1缓冲液洗涤2次,每孔再加入2 mL新鲜培养基,荧光显微镜下观察。

1.8 统计学分析

应用SPSS 17.0统计软件进行数据分析,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(One-way ANOVA),以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 Ang(1-7)对ISO诱导的H9c2心肌细胞相对细胞活性的影响

MTS法检测显示,不同浓度的ISO处理H9c2心肌细胞12 h,ISO呈浓度依赖性抑制H9c2心肌细胞的相对细胞活性,其中80 $\mu\text{mol/L}$ 组和160 $\mu\text{mol/L}$ 组比较差异有统计学意义($P < 0.001$;图1)。选择160 $\mu\text{mol/L}$ ISO进行后续实验。使用不同浓度的Ang(1-7)预处理H9c2心肌细胞2 h,再使用160 $\mu\text{mol/L}$ ISO处理H9c2心肌细胞12 h发现,Ang(1-7)呈浓度依赖性逆转ISO诱导的H9c2心肌细胞相对细胞活性的降低,其中100 nmol/L组、200 nmol/L组与0 nmol/L组(即ISO组)比较差异有统计学意义($P < 0.05$ 或 $P < 0.001$;图2)。选择200 nmol/L Ang(1-7)进行后续实验。

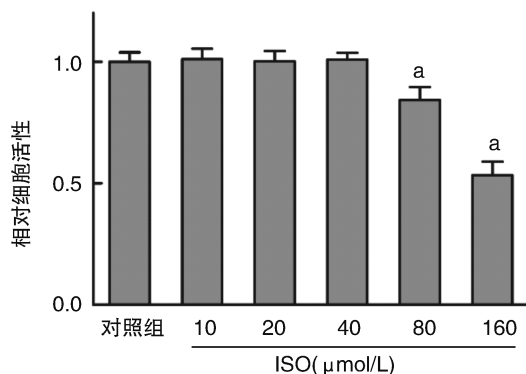


图1. ISO对H9c2心肌细胞相对细胞活性的影响($n=5$)

a为 $P < 0.001$,与对照组比较。

Figure 1. Effect of ISO on relative cellular activity in H9c2 cells($n=5$)

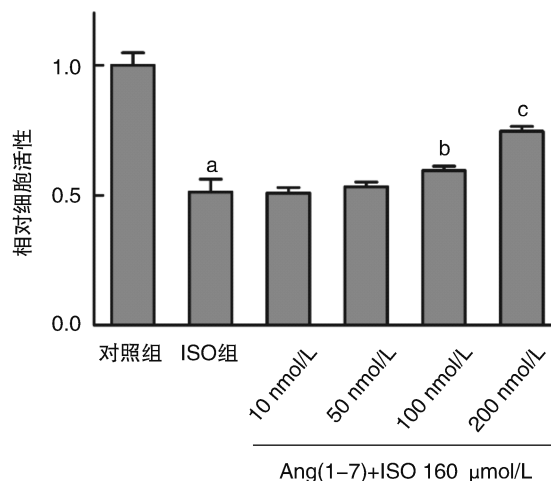


图2. Ang(1-7)对ISO诱导的H9c2心肌细胞相对细胞活性的影响($n=5$) a为 $P < 0.001$,与对照组比较;b为 $P < 0.05$,c为 $P < 0.001$,与ISO组比较。

Figure 2. Effect of Ang(1-7) on relative cellular activity in H9c2 cells induced with ISO($n=5$)

2.2 Ang(1-7)对ISO诱导的H9c2心肌细胞凋亡的影响

图3展示了对照组、ISO组及Ang(1-7)+ISO组H9c2心肌细胞的生长状态。对照组H9c2心肌细胞呈梭形贴壁生长,胞浆丰富,细胞生长良好,未经漂浮的挛缩呈球形的死亡细胞;ISO组H9c2心肌细胞呈短梭形贴壁生长,胞浆量明显增多,培养基中可见一些漂浮呈球形的死亡细胞;Ang(1-7)+ISO组H9c2心肌细胞呈梭形贴壁生长,胞浆丰富,培养基中球形细胞较ISO组明显减少。与对照组比较,ISO组细胞凋亡率及cleaved Caspase-3蛋白表达量明显增加($P < 0.05$),而Ang(1-7)+ISO组细胞凋亡率及cleaved Caspase-3蛋白表达量均较ISO组明显下降($P < 0.05$ 或 $P < 0.001$;图4和图5)。这表明ISO可诱导H9c2心肌细胞凋亡,而Ang(1-7)可保护H9c2心肌细胞,避免ISO诱导的H9c2心肌细胞凋亡。

2.3 Ang(1-7)对ISO诱导的H9c2心肌细胞线粒体膜电位的影响

正常线粒体膜电位时JC-1以单体形式存在,呈绿色荧光;当线粒体膜电位下降时,JC-1以多聚体形式存在,呈红色荧光。对照组JC-1呈绿色为主;ISO组绿色荧光明显降低,红色荧光明显增加($P < 0.001$);Ang(1-7)+ISO组与ISO组比较绿色荧光有所增加,而红色荧光有所降低($P < 0.05$ 或 $P < 0.001$;图6)。这表明ISO组线粒体膜电位显著降低,Ang(1-7)能对抗这种线粒体膜电位的降低。

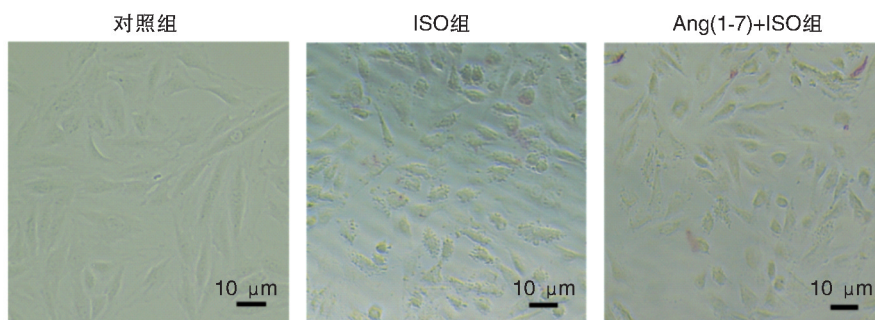


图 3. Ang (1-7) 对 ISO 诱导的 H9c2 心肌细胞生长状态的影响 (n=5)

Figure 3. Effect of Ang (1-7) on H9c2 cell growth state induced with ISO (n=5)

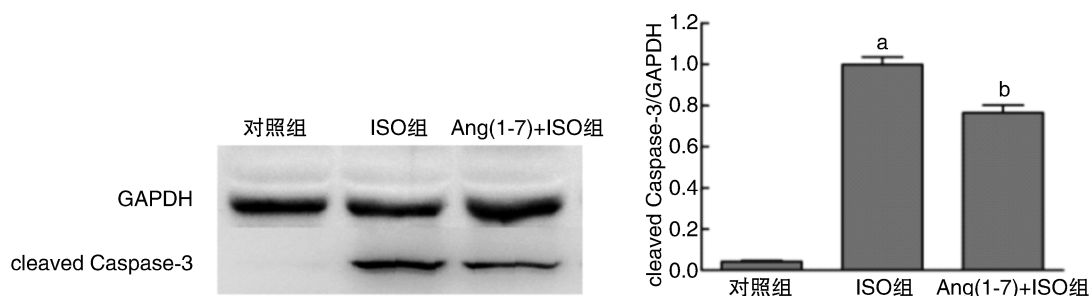


图 4. Ang (1-7) 对 ISO 诱导的 H9c2 心肌细胞 cleaved Caspase-3 表达的影响 (n=5) a 为 $P < 0.05$, 与对照组比较; b 为 $P < 0.05$, 与 ISO 组比较。

Figure 4. Effect of Ang (1-7) on expression of cleaved Caspase-3 in H9c2 cells induced with ISO (n=5)

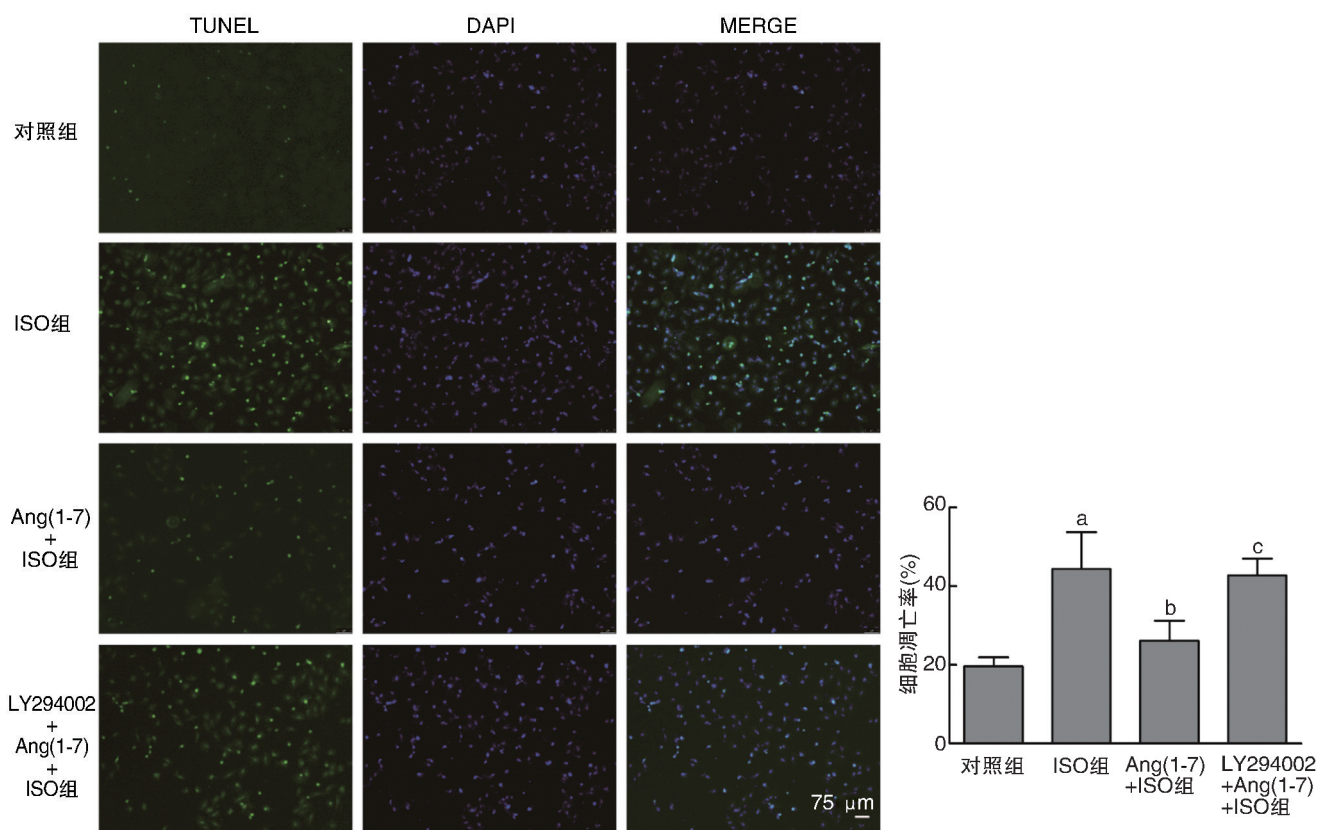


图 5. Ang (1-7) 和 LY294002 对 ISO 诱导的 H9c2 心肌细胞凋亡率的影响 (n=5) a 为 $P < 0.05$, 与对照组比较; b 为 $P < 0.05$, 与 ISO 组比较; c 为 $P < 0.05$, 与 Ang (1-7) + ISO 组比较。

Figure 5. Effects of Ang (1-7) and LY294002 on the apoptosis rate of H9c2 cells induced by ISO (n=5)

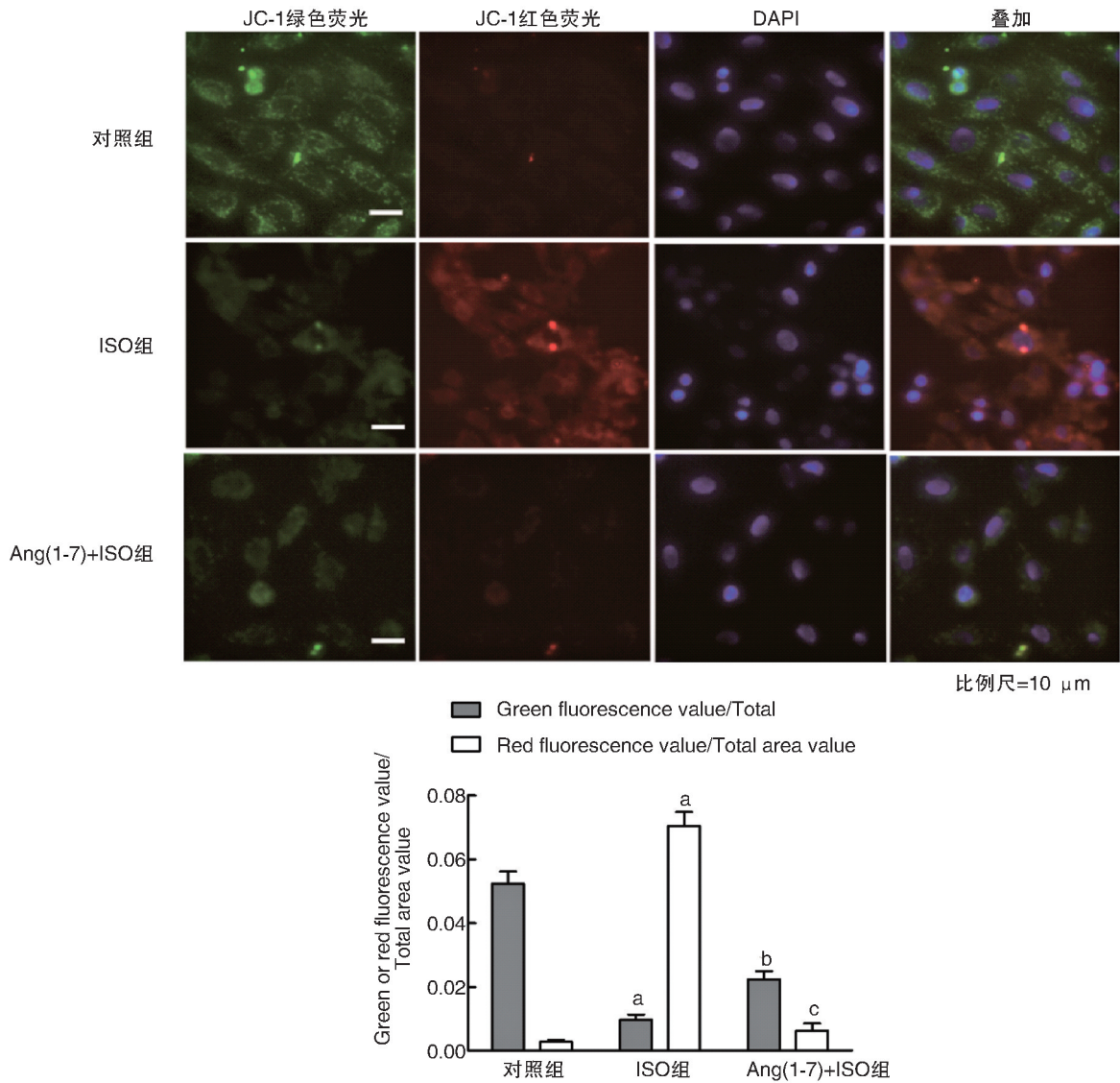


图 6. Ang (1-7) 对 ISO 诱导的 H9c2 心肌细胞线粒体膜电位的影响 (n=5) a 为 P<0.001, 与对照组比较; b 为 P<0.05, c 为 P<0.001, 与 ISO 组比较。

Figure 6. Effects of Ang (1-7) on mitochondrial transmembrane potential in H9c2 cells induced by ISO (n=5)

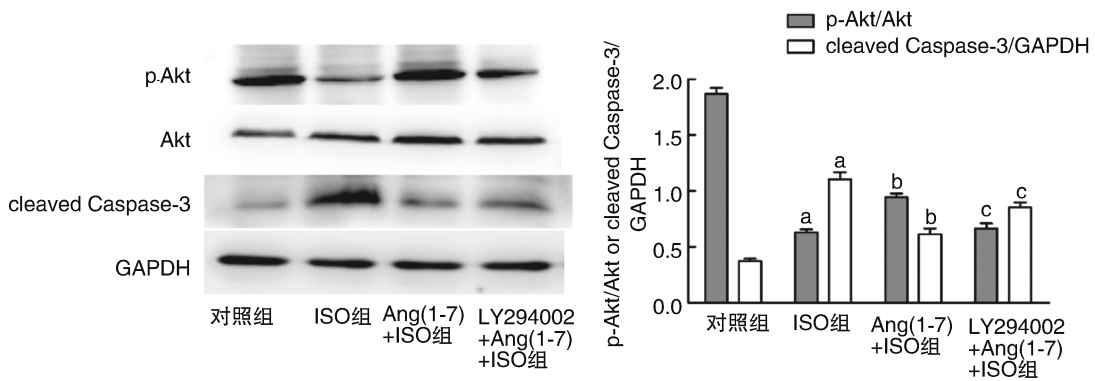


图 7. Ang (1-7) 对 ISO 诱导的 H9c2 心肌细胞 Akt 磷酸化及 cleaved Caspase-3 的影响 (n=5) a 为 P<0.05, 与对照组比较; b 为 P<0.05, 与 ISO 组比较; c 为 P<0.05, 与 Ang (1-7) +ISO 组比较。

Figure 7. Effects of Ang (1-7) on the phosphorylation of Akt and cleaved Caspase-3 in H9c2 cells induced by ISO (n=5)

2.4 Ang(1-7)通过 PI3K/Akt 信号通路保护 ISO 对 H9c2 心肌细胞的损伤作用

Western blot 结果显示, ISO 组 H9c2 心肌细胞 p-Akt 表达量明显下降($P < 0.05$), 而 Ang(1-7) 预处理后 H9c2 心肌细胞 p-Akt 表达量显著上升($P < 0.05$)。PI3K 抑制剂可抑制 H9c2 心肌细胞 p-Akt 的表达($P < 0.05$), 增加 H9c2 心肌细胞凋亡率($P < 0.05$)及 cleaved Caspase-3 蛋白的表达($P < 0.05$); 图 4、图 5 和图 7)。这表明 Ang(1-7)通过 PI3K/Akt 信号通路保护 ISO 损伤 H9c2 心肌细胞。

3 讨论

高血压患者长期存在儿茶酚胺过度激活, 一开始心肌代偿性肥大, 而后心肌逐渐退化萎缩, 心室壁变薄, 心室腔扩大, 最终出现心衰。细胞凋亡是由基因控制的、主动的、有序的细胞死亡方式。心肌肥大和心肌细胞凋亡同时存在于心肌肥厚病理过程中^[12]。因此, 深入探讨心肌细胞凋亡的机制, 寻找潜在的抗心肌细胞凋亡的药物, 对于防治高血压等心血管疾病具有重要的意义。

Ang(1-7)是 Ang II 或 Ang I 在血管紧张素转换酶 2 等作用下产生的内源性多肽激素, 具有保护高血压、心肌缺血、心肌病、心衰、心肌炎等引起的心脏损害的作用, 以及扩张血管、抑制血管平滑肌增殖等作用。Ang(1-7)亦可改善扩张型心肌病大鼠的左心室功能, 减少心肌细胞凋亡^[11]。本研究采用 160 $\mu\text{mol/L}$ ISO 刺激 H9c2 心肌细胞 12 h, 构建体外心肌细胞凋亡模型。在此细胞模型上使用 Ang(1-7)预处理 H9c2 心肌细胞, 观察 Ang(1-7)对 ISO 诱导的 H9c2 心肌细胞凋亡的影响及可能机制。本研究也发现, Ang(1-7)能逆转 ISO 诱导的 H9c2 心肌细胞相对细胞活性的下降, 减少 cleaved Caspase-3 蛋白的表达, 降低细胞凋亡率, 抑制 ISO 诱导的 H9c2 心肌细胞凋亡。

心肌细胞凋亡的机制包括线粒体途径、内质网途径和死亡受体途径, 各个途径间相互影响, 形成错综复杂的网络系统。而线粒体作为心肌细胞主要的能量来源, 是调控心肌细胞凋亡的主要途径之一。线粒体膜电位是反映线粒体功能的重要指标, 线粒体膜电位的丧失是线粒体凋亡途径的先决条件。改善线粒体功能可逆转缺血再灌注所诱导的心肌细胞凋亡^[13-14]。在糖尿病心肌病模型上的研究发现, Ang(1-7)可通过提高线粒体膜电位保护心

肌细胞对抗高糖诱导的损伤^[15]。本研究发现, ISO 处理后 H9c2 心肌细胞线粒体膜电位明显下降, 而 Ang(1-7) 预处理能够抵抗 ISO 引起的这种线粒体膜电位的改变。这提示 Ang(1-7) 抗心肌细胞凋亡的作用与提高线粒体膜电位有关。这与博来霉素通过线粒体凋亡途径诱导肺泡上皮细胞死亡的研究结果相一致^[16]。

PI3K 及其下游分子蛋白的 Akt 组成的信号通路与细胞的增殖、存活、凋亡密切相关^[17-18]。对糖尿病心肌病大鼠的研究显示, Ang(1-7) 抗细胞凋亡主要通过 Akt 信号通路^[1]。那么, Ang(1-7) 抗 ISO 诱导的心肌细胞凋亡是否通过 PI3K/Akt 信号通路呢? 自发性高血压大鼠长期使用 Ang(1-7) 后, 左心室肥厚和心肌纤维化的发展受到明显抑制。因而, 本研究采用致心肌肥厚及心肌凋亡的共同小分子物质 ISO 来进行研究, 结果发现, ISO 可抑制 Akt 蛋白磷酸化, Ang(1-7) 可逆转 ISO 诱导的 p-Akt 蛋白表达量的减少。而使用 PI3K 抑制剂 LY294002 可抑制 p-Akt 蛋白的表达, 增加细胞凋亡率及 cleaved Caspase-3 蛋白的表达。这提示 Ang(1-7) 可通过激活 PI3K 促进 Akt 的磷酸化, 进而抑制 ISO 诱导的心肌细胞凋亡。这与缺氧诱导的心肌细胞凋亡模型上的结果相一致^[19]。

总之, Ang(1-7) 能抑制 ISO 诱导的 H9c2 心肌细胞线粒体途径的细胞凋亡。此外, PI3K/Akt 信号通路在 Ang(1-7) 抗 ISO 诱导下 H9c2 心肌细胞凋亡中起到关键作用。下一步, 本研究团队拟在细胞水平上进一步研究 Ang(1-7) 通过线粒体途径抗 ISO 诱导的 H9c2 心肌细胞凋亡的具体机制, 并在动物模型上验证。

[参考文献]

- [1] Wang H, Ber Y, Lu Y, et al. Exercise prevents cardiac injury and improves mitochondrial biogenesis in advanced diabetic cardiomyopathy with PGC-1 α and Akt activation[J]. Cell Physiol Biochem, 2015, 35(6): 2 159-168.
- [2] Zhang D, Zhu L, Li C, et al. Sialyltransferase7A, a Klf4-responsive gene, promotes cardiomyocyte apoptosis during myocardial infarction[J]. Basic Res Cardiol, 2015, 110(3): 28.
- [3] Li XM, Ma YT, Yang YN, et al. Downregulation of survival signaling pathways and increased apoptosis in the transition of pressure overload-induced cardiac hypertrophy to heart failure[J]. Clin Exp Pharmacol Physiol, 2009, 36(11): 1 054-061.
- [4] Xu HX, Xu J, Xue L, et al. VEGF attenuates development

- from cardiac hypertrophy to heart failure after aortic stenosis through mitochondrial mediated apoptosis and cardiomyocyte proliferation[J]. *J Cardiothorac Surg*, 2011, 6: 54.
- [5] Xu W, Chen J, Lin J, et al. Exogenous H₂S protects H9c2 cardiac cells against high glucose-induced injuries and inflammation by inhibiting the activation of NF- κ B and IL-1 pathways[J]. *Int J Mol Med*, 2015, 35(1): 177-186.
- [6] Ben Salem I, Boussabbeh M, Da Silva JP, et al. SIRT1 protects cells against apoptosis induced by zearalenone or its metabolites α - and β - zearalenol through an autophagy-dependent pathway [J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2017, 314: 82-90.
- [7] Boehm M, Nabel EG. Angiotensin-converting enzyme 2--a new cardiac regulator[J]. *N Engl J Med*, 2002, 347(22): 1795-797.
- [8] Al-Maghrebi M, Benter IF, Diz DI. Endogenous angiotensin(1-7) reduces cardiac ischemia-induced dysfunction in diabetic hypertensive rats[J]. *Pharmacol Res*, 2009, 59(4): 263-268.
- [9] Pei Z, Meng R, Li G, et al. Angiotensin(1-7) ameliorates myocardial remodeling and interstitial fibrosis in spontaneous hypertension: role of MMPs/TIMPs [J]. *Toxicol Lett*, 2010, 199(2): 173-181.
- [10] Shi Y, Lo CS, Padda R, et al. Angiotensin (1-7) prevents systemic hypertension, attenuates oxidative stress and tubulointerstitial fibrosis, and normalizes renal angiotensin-converting enzyme 2 and Mas receptor expression in diabetic mice [J]. *Clin Sci*, 2015, 128(10): 649-663.
- [11] Liu HZ, Gao CY, Wang XQ, et al. Angiotensin(1-7) attenuates left ventricular dysfunction and myocardial apoptosis on rat model of adriamycin-induced dilated cardiomyopathy [J]. *Zhonghua Xin Xue Guan Bing Za Zhi*, 2012, 40(3): 219-224.
- [12] Liu B, Wu Z, Li Y, et al. Puerarin prevents cardiac hypertrophy induced by pressure overload through activation of autophagy[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2015, 464(3): 908-915.
- [13] Liao P, Sun G, Zhang C, et al. Bauhinia championii flavone attenuates hypoxia-reoxygenation induced apoptosis in H9c2 cardiomyocytes by improving mitochondrial dysfunction[J]. *Molecules*, 2016, 21(11): 1469.
- [14] Feng Y, Zhao J, Hou H, et al. WDR26 promotes mitophagy of cardiomyocytes induced by hypoxia through Parkin translocation[J]. *Acta Biochim Biophys Sin*, 2016, 48(12): 1075-084.
- [15] 梁伟杰, 陈景福, 宋明才, 等. 血管紧张素(1-7)/Mas受体轴通过调控 NF- κ B 通路保护心肌细胞对抗高糖诱导的损伤[J]. *中国病理生理杂志*, 2015, 31(2): 267-273.
- [16] Lee VY, Schroedl C, Brunelle JK, et al. Bleomycin induces alveolar epithelial cell death through JNK-dependent activation of the mitochondrial death pathway [J]. *Am J Physiol: Lung Cell Mol Physiol*, 2005, 289(4): 521-528.
- [17] Fruman DA, Chiu H, Hopkin BD, et al. The PI3K pathway in human disease [J]. *Cell*, 2017, 170(4): 605-635.
- [18] Yuan L, Lu CL, Wang Y, et al. Ang(1-7) protects islet endothelial cells from palmitate-induced apoptosis by AKT, eNOS, p38 MAPK, and JNK pathways[J]. *J Diabetes Res*, 2014, 2014(3): 391476.
- [19] Chang RL, Lin JW, Kuo WW, et al. Angiotensin(1-7) attenuated long-term hypoxia-stimulated cardiomyocyte apoptosis by inhibiting HIF-1 α nuclear translocation via Mas receptor regulation [J]. *Growth Factors*, 2016, 34(1-2): 11-18.

(此文编辑 文玉珊)