

TMEM16A 在心肌成纤维细胞中的表达及意义

叶振¹, 车道标¹, 童德银¹, 李翠²

(1.江苏省人民医院宿迁分院 宿迁市第一人民医院药学部,江苏省宿迁市 223800;

2.徐州医科大学基础医学院生理学教研室,江苏省徐州市 221000)

[关键词] 跨膜蛋白 16A; 钙激活氯离子通道; 钙激活氯电流; 心肌梗死; 心肌成纤维细胞; 小型猪

[摘要] 目的 研究小型猪急性心肌梗死(AMI)后,缺血对心肌成纤维细胞中跨膜蛋白 16A(TMEM16A)表达及功能特征的影响。方法 采用三氯化铁(FeCl_3)诱发左冠状动脉前降支(LAD)血栓形成的方法建立 AMI 模型,AMI 术后 4 h 采用血清酶学,超声心动图评价 AMI 模型。AMI 后 24 h 分离心肌成纤维细胞,用于实时荧光定量 PCR(qRT-PCR)、膜片钳检测,观察 TMEM16A 的表达及形成的电流强度变化。结果 与术前和假手术组相比,AMI 组肌钙蛋白 I(cTnI)、肌酸激酶同工酶(CK-MB)和肌红蛋白(MYO)浓度明显升高;左心室射血分数(LVEF)显著下降[(53.4±1.9)%, $P<0.05$];TMEM16A 基因表达显著升高[(1.59±0.15)%, $P<0.05$];TMEM16A 形成的电流强度明显增强($P<0.05$)。刺激电压为+20、+40、+60、+80、+100 mV 时,电流强度分别为(1.58±0.67) pA/pF、(3.69±1.26) pA/pF、(7.60±2.14) pA/pF、(12.94±2.38) pA/pF 和(22.19±2.61) pA/pF。结论 在小型猪心肌成纤维细胞中表达 TMEM16A 基因。缺血可上调 TMEM16A 基因表达,并通过影响心肌成纤维细胞中钙激活氯离子通道(CaCC),增强心肌成纤维细胞中钙激活氯电流($I_{\text{Cl,Ca}}$)。

[中图分类号] R363;R5

[文献标识码] A

Expression of TMEM16A and its significance in cardiac fibroblasts

YE Zhen¹, CHE Daobiao¹, TONG Deyin¹, LI Cui²

(1.Department of Pharmacy, the Suqian First Hospital, Suqian, Jiangsu 223800, China; 2.Physiology Department of Basic Medical College, Xuzhou Medical University, Xuzhou, Jiangsu 221000, China)

[KEY WORDS] transmembrane protein 16A; calcium-activated chloride channels; calcium-activated chloride current; myocardial infarction; fibroblast; minipig

[ABSTRACT] **Aim** To investigate the expression and function of transmembrane protein 16A (TMEM16A) after acute myocardial infarction (AMI) in the left ventricular fibroblasts of minipig. **Methods** The AMI models were induced by ferric chloride (FeCl_3)-induced thrombosis in the left anterior descending coronary artery (LAD). Four hours after AMI, the infarction models were evaluated by enzymology and echocardiography. And, twenty-four hours after AMI, the TMEM16A mRNA level was measured by quantitative real-time PCR (qRT-PCR) in minipig ventricular fibroblasts; the changes of current intensity were determined by patch-clamp. **Results** Compared with the sham groups, the concentration of cardiac troponin I (cTnI), creatine kinase isoenzyme (CK-MB) and myoglobin (MYO) were significantly increased in the AMI model groups, and the left ventricular ejection fraction (LVEF) had a significant decrease ((53.4±1.9)%, $P<0.05$). The gene expression level of TMEM16A was dramatically upregulated, and the current intensity was also significantly enhanced ($P<0.05$). The amplitude of current was (1.58±0.67) pA/pF, (3.69±1.26) pA/pF, (7.60±2.14) pA/pF, (12.94±2.38) pA/pF, (22.19±2.61) pA/pF at stimulation voltages of +20, +40, +60, +80 and +100 mV, respectively. **Conclusions** These results suggested that TMEM16A was expressed in ventricular fibroblast cells of minipig. Moreover, the TMEM16A expression level was up-regulated after AMI; and calcium-activated chloride current ($I_{\text{Cl,Ca}}$) was enhanced by influencing calcium-activated chloride channels (CaCC).

[收稿日期] 2018-04-13

[修回日期] 2018-10-15

[基金项目] 国家自然科学基金青年基金项目(81500177);江苏省青年医学人才项目(QNRC2016485);江苏省自然科学基金青年基金项目(BK20150211);宿迁市科技支撑计划项目(S201625);徐州医科大学人才科研基金项目(D2014006)

[作者简介] 叶振,硕士,主管药师,研究方向为心肌缺血,E-mail 为 yezhen2018@126.com。通信作者李翠,博士,讲师,研究方向为心肌重构,E-mail 为 licui2008321@163.com。

急性心肌梗死 (acute myocardial infarction, AMI) 是世界上主要致死性心血管疾病之一, 严重威胁着人类生命^[1]。并且, 近年来我国急性心肌梗死的发病率和死亡率呈现逐年上升趋势^[1-2]。文献报道, 心肌梗死伴随着电生理的重构, 而治疗策略的发展需要详细了解电生理重构。然而, 心肌梗死时离子电流的变化, 目前仍然不完全清楚^[3-4]。因此, 研究 AMI 的发病机制、寻找新的分子靶标具有重要意义。近年来研究发现跨膜蛋白 16A (transmembrane protein 16A, TMEM16A) 编码的离子通道对于细胞内外离子和体液转运、维持细胞膜的稳定性具有重要作用^[5]。TMEM16A 广泛分布于多种组织和器官, 如神经和心脏上, 与神经细胞的视觉、嗅觉, 心脏的兴奋传导、动作电位复极等多种生理过程密切相关, TMEM16A 作为新近发现的通道蛋白备受关注^[6]。研究显示, TMEM16A 在小鼠心室肌细胞中有表达, 且其与急性心肌缺血可诱发的动作电位 I 期复极加快有关^[7]。另有文献报道, 成纤维细胞在心肌梗死后、心肌纤维化和心衰的发生和发展过程中起着重要作用^[8]。而 TMEM16A 在小型猪心肌成纤维细胞中是否具有表达及其功能尚未报道。本研究探讨 TMEM16A 在小型猪心肌成纤维细胞中的表达和意义, 以及缺血对 TMEM16A 表达和功能的影响。

1 材料和方法

1.1 实验动物与分组

小型猪 8 只购自于饲养场, 雌雄不限, 体质量 25~30 kg。将 8 只小型猪随机分成两组, 假手术组 3 只, AMI 组 5 只。

1.2 试剂

Trizol (Invitrogen); qRT-PCR 检测用试剂盒来源于 TaKaRa; DMEM 培养基、胰蛋白酶、胶原酶购自于 Sigma Aldrich; 胎牛血清购自 Gibco。

1.3 AMI 模型的复制

术前采用 3% 戊巴比妥钠 (溶于生理盐水) 麻醉诱导, 术中采用异氟烷吸入, 维持麻醉。于小型猪臀部进针, 推注适量戊巴比妥钠 (剂量 0.5 mg/kg)。待小型猪无知觉, 行气管插管, 建立心电监测、呼吸回路。根据小型猪的体质量, 口腔、颈部的长度选取 7-8 号的气管插管, 保持小型猪仰卧位, 将气管插管插入约 20 cm, 拔出管芯。小型猪麻醉后和术中持续给予心电监测, 术前示窦性心律, ST 段正常。于小型猪胸部第三、四肋间切开, 游离心脏左冠状动脉前降支 (left anterior descending artery, LAD)。

在 LAD 第一、二对角支间的血管表面, 包裹一层吸附有 50% 三氯化铁 (ferric chloride, FeCl_3) 溶液的滤纸。45 min 后, 去除吸附有 FeCl_3 溶液的滤纸^[9]。假手术组采取同样的操作, 将吸附有 0.9% 氯化钠溶液的滤纸包裹于血管表面。 FeCl_3 溶液包裹于血管表面后, 心电图示 ST 抬高。待 ST 持续抬高 30 min, 关闭胸腔。

1.4 心肌酶学检测

小型猪诱导麻醉, 气管插管, 建立呼吸循环。待小型猪生命体征稳定后, 于耳缘静脉植入静脉留置针 (型号: 20 g), 用于采血和术中给药。分别于术前 30 min 与 50% FeCl_3 溶液包裹于血管表面 4 h, 从耳缘静脉抽取 5 mL 的静脉血, 于 4 °C 下 3 000 r/min 离心 10 min, 取上层血清用于肌钙蛋白 I (cardiac troponin I, cTnI)、肌红蛋白 (myoglobin, MYO) 和肌酸激酶同工酶 (creatin kinase isoenzyme, CK-MB) 浓度检测。

1.5 超声心动图检测

小型猪诱导麻醉后, 行气管插管并给予心电监护。保持小型猪右侧卧, 待呼吸、心电平稳, 采用体表超声模式分别于术前 30 min、术后 24 h 进行超声评价。采用瞬时停帧与动态图像观测相结合的方法, 检查二维、M 型超声心动图, 获取心脏左心室长轴, 心脏左心室短轴及心尖两腔、四腔切面。采集室间隔 (interventricular septum, IVS)、左心室舒张期末心室前壁 (left ventricular anterior wall, LVAW)、后壁 (left ventricular posterior wall, LVPW) 的厚度等指标。在四腔切面下, 沿左心室心腔内测 (不包含心内膜), 绘出左心室收缩期末容积 (left ventricular end-systolic volume, LVESV)、左心室舒张期末容积 (left ventricular end-diastolic volume, LVEDV), 计算 SV ($\text{SV} = \text{LVEDV} - \text{LVESV}$)。根据测算的 LVEDV、LVESV, 采用 Simpson 法测定左心室射血分数 (left ventricular ejection fraction, LVEF), 并记录测算的数值。

1.6 心肌成纤维细胞分离

将小型猪安乐死, 快速取出心脏, 经冷 PBS 冲洗后, 取部分组织剪碎成 1 mm×1 mm 的组织块。剪碎的组织块于 37 °C、恒温的水浴振荡器中摇匀、震荡、消化 10 min, 震荡频率 120 次/分。每隔 10 min 加入 1 次消化液, 消化液的主要成分为 0.1% I 型胶原酶和 0.125% 胰酶。吸取经酶消化所得的细胞混悬液, 再次加入消化液, 重复此过程 3 次。取 1 滴细胞混悬液于显微镜下观察消化的效果。首次

消化所得的细胞混悬液,因含有较多的杂细胞(内皮细胞、红细胞等)而弃去,收集后面所得的细胞混悬液于离心管中,并加入等量的培养液(20%FBS 的 DMEM 培养液);离心并去除上清液,过滤,再次离心去上清液。将细胞混悬液加入到 20%FBS 的 DMEM 培养液吹打,接种到培养板,于 37℃、5% CO₂ 培养箱中放置 1 h 差速贴壁,最先贴壁为心肌成纤维细胞,弃含有心肌细胞的未贴壁的细胞悬液,用 PBS 轻冲洗后,加入含 20% 胎牛血清的 DMEM 培养液,继续培养心肌成纤维细胞。每 2 天换液 1 次。培养的原代心肌成纤维细胞用于 qRT-PCR 和膜片钳实验。

1.7 qRT-PCR 检测

通过 qRT-PCR 法检测心肌成纤维细胞中 TMEM16A mRNA 的表达,按照 Trizol 试剂说明书提取心肌成纤维细胞总 RNA,紫外分光光度仪测定 OD 值。取 0.5 μg 总 RNA,用 PrimeScript RTase 反转录酶合成第一链 cDNA,进行扩增。取 5 μL cDNA 配制 qRT-PCR 体系,按如下条件进行 PCR 反应:95℃ 预变性 10 min,95℃ 变性 5 s,60℃ 退火延伸 30 s,扩增 40 个循环。扩增结束后制作融解曲线。用 2^{-ΔΔCt} 法计算假手术组和 AMI 组 TMEM16A mRNA 的相对表达量,以 GAPDH 作为内参。

1.8 膜片钳检测

为电流设计的电压程序通过全细胞膜片钳记录。在 1 000 ms 时段的 12 个电压步阶里诱发出来,从 -100~+100 mV,步接电压为 20 mV。然后复极到 -100 mV,持续时间为 300 ms。采样频率 5 kHz,电极电阻 2~3 MΩ,封接电阻>1 GΩ。串联电阻(3~8 MΩ)破膜后补偿(60%~80%),琼脂盐桥(含 3 mol/L KCl)作为参比电极。实验中记录到的膜电流均以单位膜电容的电流密度来表示(pA/pF)。台式液 (mmol/L): 150 NaCl, 1 CaCl₂, 1 MgCl₂, 10 Glucose, 10 Sucrose, 10 HEPES(pH=7.4);细胞内液

(mmol/L): 130 CsCl, 10 EGTA, 1 MgCl₂, 10 HEPES, 1 ATP, 7 CaCl₂(pH=7.3)^[10],经孔径为 0.22 μm 的滤器过滤后分装于 -80℃ 冰箱中储存。

1.9 统计学处理

应用 SigmaStat、Jandel Scientific、San Rafael 和 CA 统计软件分析数据。计量数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 *t* 检验分析血清酶学、超声心动图相关数据;*P*<0.05 表示差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 心肌酶学检测

术前 cTn I、CK-MB 和 MYO 的浓度均在正常范围。AMI 术后 4 h,血清中 cTn I、CK-MB 和 MYO 的浓度显著高于术前,超出正常浓度的 2 倍以上,差异具有统计学意义(*P*<0.05);假手术组心肌酶浓度较术前无明显变化(*P*>0.05;表 1)。

表 1. 血清 cTnI、CK-MB 和 MYO 浓度

Table 1. Serum concentration of cTnI, CK-MB and MYO

分 组	<i>n</i>	cTnI (μg/L)	CK-MB (μg/L)	MYO (μg/L)
术前	8	0.02±0.01	1.23±0.57	259.48±167.49
AMI 组	5	2.69±1.13 ^b	5.23±0.55 ^a	1 082.24±246.73 ^a
假手术组	3	0.06±0.03	2.30±1.02	315.90±71.41

a 为 *P*<0.05, b 为 *P*<0.01,与术前及假手术组比较。

2.2 超声心动图检测结果

术前小型猪的心功能均在正常范围。术后 24 h,AMI 组室间隔及左心室前壁运动减弱,左心室收缩功能减退,LVEF 显著下降,差异具有统计学意义(*P*<0.05);假手术组心功能、心室壁厚度及运动情况较术前无显著变化(*P*>0.05;表 2)。

表 2. 心脏超声检测结果

Table 2. The results of myocardium echocardiography

分 组	<i>n</i>	LVEDV (mL)	LVESV (mL)	LVEF (%)	LVAW (cm)	LVPW (cm)	IVS (cm)
术前	8	37.6±2.4	10.8±1.5	71.5±2.2	1.1±0.1	1.1±0.1	1.2±0.1
AMI 组	5	37.1±2.7	17.3±1.3 ^a	53.4±1.9 ^a	0.7±0.1 ^a	1.1±0.1	0.7±0.1 ^a
假手术组	3	37.7±2.6	12.0±1.8	68.6±2.5	1.0±0.1	1.0±0.1	1.1±0.1

a 为 *P*<0.05,与术前及假手术组比较。

2.3 TMEM16A 的 mRNA 表达

qRT-PCR 结果发现,在 AMI 组缺血心肌成纤维

细胞中 TMEM16A 的 mRNA 相对表达量为 (1.59±0.15)%,而在假手术组心肌成纤维细胞中的相对表

达量为 $(1.05 \pm 0.04)\%$ 。统计学分析结果表明,AMI组缺血心肌成纤维细胞中 TMEM16A 的 mRNA 表达水平明显高于假手术组($P < 0.05$;图 1)。

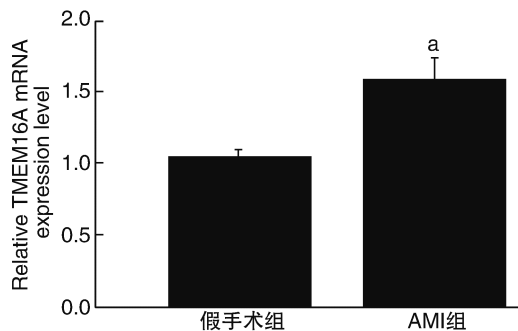


图 1. AMI 组及假手术组中 TMEM16A 的 mRNA 表达水平
a 为 $P < 0.05$, 与假手术组比较。

Figure 1. The mRNA expression of TMEM16A in AMI group and Sham group

2.4 $I_{Cl,Ca}$ 的测定

当保持钳制电压为 0 mV, 给予 1 000 ms 持续时间, 步阶电压为 20 mV, $-100 \sim +100$ mV 的系列去极化脉冲, 分别记录到瞬时外向 $I_{Cl,Ca}$ (图 2)。

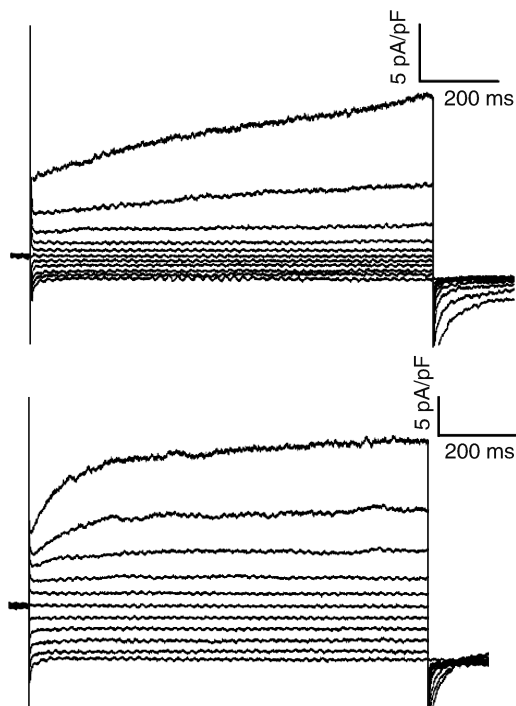


图 2. 假手术组(上)和 AMI 组(下)成纤维细胞中记录的 $I_{Cl,Ca}$
Figure 2. The $I_{Cl,Ca}$ in fibroblast cells in sham group (above) and AMI group (below)

AMI 组及假手术组小型猪 $I_{Cl,Ca}$ 的激活电压 (-100 mV)、峰值电压 ($+100$ mV) 及反转电位 (0 mV)

相同。随着激活电压增加, AMI 组和假手术组的电流振幅值增强, 激活电压在 $+20$ 、 $+40$ 、 $+60$ 、 $+80$ 、 $+100$ mV 时, AMI 组的电流强度分别为 (1.58 ± 0.67) pA/pF、 (3.69 ± 1.26) pA/pF、 (7.60 ± 2.14) pA/pF、 (12.94 ± 2.38) pA/pF、 (22.19 ± 2.61) pA/pF, 假手术组的电流强度分别为 (0.48 ± 0.22) pA/pF、 (1.65 ± 0.37) pA/pF、 (3.55 ± 0.60) pA/pF、 (6.64 ± 0.87) pA/pF、 (14.25 ± 1.15) pA/pF。与假手术组比较, AMI 组在 $+20$ 、 $+40$ 、 $+60$ 、 $+80$ 、 $+100$ mV 时的电流强度显著增加 ($P < 0.05$), 但两组间的电流密度差异无显著性, 表明 CaCC 数量是随着缺血心肌成纤维细胞相应增加 (图 3)。

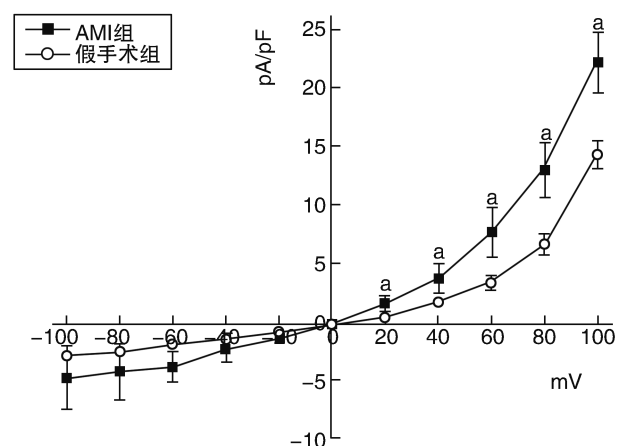


图 3. AMI 组及假手术组中 $I_{Cl,Ca}$ 电流-电压曲线 a 为 $P < 0.05$, 与假手术组比较。

Figure 3. The I-V curves of $I_{Cl,Ca}$ in AMI and Sham group

3 讨论

本研究中, 采用 $FeCl_3$ 诱发左冠状动脉前降支血栓形成的方法建立 AMI 模型, 通过血清酶学和超声心动图验证了模型制备成功。qRT-PCR 结果显示在 AMI 组缺血心肌成纤维细胞中 TMEM16A 的 mRNA 相对表达量上升; 膜片钳结果检测到在 AMI 组缺血心肌成纤维细胞中 TMEM16A 形成的电流强度明显增强。

TMEM16A (也称作 ANO1) 是跨膜蛋白 16 家族中的一员, 作为 CaCC 通道发挥重要的调节作用^[10-11]。TMEM16A 影响大鼠松果腺中褪黑激素分泌^[12], 抑制人肺癌细胞中 TMEM16A 的表达, 可降低癌细胞的增殖和侵袭力^[13]。在心室肌细胞中, TMEM16A 能形成有功能的 CaCC, 其异常表达影响小鼠心脏节律^[7], 并已有研究证实 TMEM16A 在人心房成纤维细胞中表达且可形成 $I_{Cl,Ca}$ ^[14]。然而, 在

小型猪心肌成纤维细胞中有 TMEM16A 是否有表达及其功能尚未报道,为此我们通过本研究以确定 TMEM16A 作为小型猪心肌成纤维细胞内源性 CaCC 所发挥的重要作用。我们采用 FeCl_3 包裹 LAD 致血栓形成的方法^[9]制备 AMI 模型。由表 1 可以看出,术后 4 h,与术前和假手术组相比,AMI 组中 cTnI、CK-MB、MYO 浓度明显升高;心脏超声结果显示 LVEF 显著下降,LVEF 下降是由左心室收缩功能显著下降所致,而心室舒张功能无显著变化。LAD 栓塞诱发的 AMI,导致心室前壁及室间隔变薄,运动减弱。实验以原代培养获得小型猪心肌成纤维细胞作为研究对象,应用 qRT-PCR 检测到小型猪心肌成纤维细胞 TMEM16A 在 mRNA 水平稳定表达;并且通过膜片钳实验在小型猪心肌成纤维细胞中记录到瞬时外向的电压依赖性电流,该电流具有经典的 $I_{\text{Cl,Ca}}$ 特征^[15],而在缺血的心肌成纤维细胞中,记录到的电流振幅值增强。因此,我们认为小型猪心肌成纤维细胞中的 TMEM16A 可能是 CaCC 的分子基础。

本研究得出以下结论:(1)TMEM16A 基因在小型猪的心肌成纤维细胞中稳定表达;(2)心肌缺血诱导心肌成纤维细胞中 TMEM16A 的 mRNA 水平增高和电流振幅值增强。这可能与 AMI 后,梗死区心肌成纤维细胞的活化、增殖相关。AMI 后 TMEM16A 的表达增加及 $I_{\text{Cl,Ca}}$ 增强能够为 CaCC 功能研究以及缺血性心脏病机制的进一步了解提供新靶点和新方向。

本研究初步探索 TMEM16A 在小型猪心肌成纤维细胞中的表达尚存不足,因目前尚无小型猪的 TMEM16A 抗体,在验证 CaCC 表达时,无法进行 Western blot、免疫荧光等分子生物学实验。此外,在 FeCl_3 诱发动脉血栓形成,模拟内皮损伤致 AMI 时,渗出的 FeCl_3 溶液对血管周边心肌组织造成灼伤,对模型的稳定性产生一定影响,下一步将采用改良的“动脉环”装置^[16],将吸附 FeCl_3 溶液缓慢释放,氧化动脉血管内皮诱发血栓建立 AMI。对于心血管疾病,CaCC 属于有待开发的药物新靶点^[17],其抑制剂和激活剂正在研究开发之中,而在对纤维化的治疗中,我们可以 TMEM16A 为研究目标,合理设计靶向治疗药物,有望为心肌梗死后纤维化患者带来福音。

[参考文献]

[1] 廖思斯,郭彩艳,李路.白细胞介素 8 与心肌梗死[J].中国动脉硬化杂志,2016,24(2):203-206.

- [2] 陈伟伟,高润霖,刘力生,等.《中国心血管病报告 2017》概要[J].中国循环杂志,2018,33(1):1-8.
- [3] Nievescintrón M, Hirenallurs D, Nygren P J, et al. AKAP150 participates in calcineurin/NFAT activation during the down-regulation of voltage-gated K^+ currents in ventricular myocytes following myocardial infarction[J]. Cell Signal, 2016, 28(7):733-740.
- [4] Hegyi B, Bossuyt J, Griffiths L G, et al. Complex electrophysiological remodeling in postinfarction ischemic heart failure[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2018, 115(13):E3036-E3044.
- [5] Yu Z, Wang X, Hong W, et al. TMEM16A-mediated mucin secretion in IL-13-induced nasal epithelial cells from chronic rhinosinusitis patients[J]. Allergy Asthma Immunol Res, 2015, 7(4):367-375.
- [6] Young Duk Yang, Hawon Cho, Jae Yeon Koo, et al. TMEM16A confers receptor-activated calcium-dependent chloride conductance[J]. Nature, 2008, 455(7217):1210-1215.
- [7] Ye Z, Wu MM, Wang CY, et al. Characterization of cardiac anoctamin1 Ca^{2+} -activated chloride channels and functional role in ischemia-induced arrhythmias[J]. J Cell Physiol, 2015, 230(2):337-346.
- [8] 李秀,刘巍.肌成纤维细胞在心肌梗死后重构中的作用及机制[J].国际心血管病杂志,2014,41(2):88-90.
- [9] Dogné JM, Rolin S, Péteín M, et al. Characterization of an original model of myocardial infarction provoked by coronary artery thrombosis induced by ferric chloride in pig[J]. Thromb Res, 2005, 116(5):431-442.
- [10] Wu MM, Lou J, Song BL, et al. Hypoxia augments the calcium-activated chloride current carried by anoctamin-1 in cardiac vascular endothelial cells of neonatal mice[J]. Br J Pharmacol, 2014, 171(15):3680-3692.
- [11] Thomas-Gatewood C, Neeb Z P, Bulley S, et al. TMEM16A channels generate Ca^{2+} -activated Cl^- currents in cerebral artery smooth muscle cells[J]. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2011, 301(5):H1819-H1827.
- [12] Yamamura H, Nishimura K, Hagihara Y, et al. TMEM16A and TMEM16B channel proteins generate Ca^{2+} -activated Cl^- current and regulate melatonin secretion in rat pineal glands[J]. J Biol Chem, 2018, 293(3):995-1006.
- [13] Jia L, Liu W, Guan L, et al. Inhibition of calcium-activated chloride channel ANO1/TMEM16A suppresses tumor growth and invasion in human lung cancer[J]. PLoS One, 2015, 10(8):e0136584.
- [14] El CA, Norez C, Magaud C, et al. ANO1 contributes to angiotensin-II-activated Ca^{2+} -dependent Cl^- current in human atrial fibroblasts[J]. J Mol Cell Cardiol, 2014, 68(2):12-19.
- [15] Caputo A, Caci E, Ferrera L, et al. TMEM16A, a membrane protein associated with calcium-dependent chloride channel activity[J]. Science, 2008, 322(6):590-594.
- [16] 叶振,李翠,刘治国,等.一种动脉环[P].中国.2017206737379.2018-07-27.
- [17] Davis A J, Shi J, Pritchard H A, et al. Potent vasorelaxant activity of the TMEM16A inhibitor T16Ainh-A01[J]. Br J Pharmacol, 2013, 168(3):773-784.

(此文编辑 许雪梅)