

· 实验研究 ·

[文章编号] 1007-3949(2019)27-11-0950-06

# 神经调节蛋白 1 通过 ERK1-2 通路减轻心肌细胞缺氧复氧损伤

黄县立, 饶玲璋, 熊 慧, 张 鹏

(武汉科技大学附属武昌医院心内科, 湖北省武汉市 430063)

[关键词] 心肌细胞; 缺氧复氧; 神经调节蛋白 1; 细胞外调节蛋白激酶 1/2

[摘要] **目的** 探究神经调节蛋白 1(NRG-1)通过细胞外调节蛋白激酶 1/2(ERK1/2)通路减轻心肌细胞缺氧复氧(H/R)损伤的作用。**方法** 培养心肌 H9c2 细胞株,随机分为常规条件下用不含药物 DMEM 处理的对照组、H/R 条件下用不含药物 DMEM 处理的 H/R 组、H/R 条件下用含 NRG-1 DMEM 处理的 NRG-1 组、H/R 条件下用含 NRG-1 及 ERK1/2 抑制剂 PD98059 处理的 NRG-1+PD 组。检测细胞增殖活力、凋亡率及细胞中的凋亡基因、炎症指标、ERK1/2。**结果** H/R 组细胞的 OD<sub>490</sub> 水平明显低于对照组,细胞凋亡率、细胞中 cleaved Caspase-8、cleaved Caspase-9、cleaved Caspase-3、核因子  $\kappa$ B(NF- $\kappa$ B)、ERK1/2 的表达水平及培养基中肿瘤坏死因子  $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )、白细胞介素 1 $\beta$ (IL-1 $\beta$ )、 $\gamma$  干扰素(IFN- $\gamma$ )的含量明显高于对照组;NRG-1 组细胞的 OD<sub>490</sub> 水平及细胞中 ERK1/2 的表达水平明显高于 H/R 组,细胞凋亡率、细胞中 cleaved Caspase-8、cleaved Caspase-9、cleaved Caspase-3、NF- $\kappa$ B 的表达水平及培养基中 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IFN- $\gamma$  的含量明显低于 H/R 组;NRG-1+PD 组细胞的 OD<sub>490</sub> 水平及细胞中 ERK1/2 的表达水平明显低于 NRG-1 组,细胞凋亡率、细胞中 cleaved Caspase-8、cleaved Caspase-9、cleaved Caspase-3、NF- $\kappa$ B 的表达水平及培养基中 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IFN- $\gamma$  的含量明显高于 NRG-1 组。**结论** NRG-1 通过激活 ERK1/2 通路减轻心肌细胞 H/R 损伤。

[中图分类号] R5;R363

[文献标识码] A

## Neuregulin-1 alleviates hypoxia/reoxygenation injury of cardiomyocytes through ERK1/2 pathway

HUANG Xianli, RAO Lingzhang, XIONG Hui, ZHANG Peng

(Department of Cardiology, Wuchang Hospital of Wuhan University of Science and Technology, Wuhan, Hubei 430063, China)

[KEY WORDS] cardiomyocyte; hypoxia/reoxygenation; neuregulin-1; extracellular regulated protein kinase 1/2

[ABSTRACT] **Aim** To investigate the effect of neuregulin-1(NRG-1) on alleviating hypoxia/reoxygenation (H/R) injury of cardiomyocytes through extracellular regulated protein kinase 1/2 (ERK1/2) pathway. **Methods** Myocardial H9c2 cell lines were cultured and randomly divided into control group treated with DMEM without drugs under conventional conditions, H/R group treated with DMEM without drugs under H/R conditions, NRG-1 group treated with DMEM containing NRG-1 under H/R conditions, and NRG-1+PD group treated with PD98059 containing NRG-1 and ERK1/2 inhibitors under H/R conditions. Then cell proliferation, apoptosis, apoptosis gene, inflammatory index, ERK1/2 were determined. **Results** The OD<sub>490</sub> level of H/R group was significantly lower than that of control group, the apoptotic rate, the expression levels of cleaved caspase-8, cleaved caspase-9, cleaved caspase-3, nuclear factor kappa B (NF- $\kappa$ B), ERK1/2 in cells and the contents of tumor necrosis factor alpha (TNF- $\alpha$ ), interleukin 1beta (IL-1 $\beta$ ), interferon gamma (IFN- $\gamma$ ) in culture medium were significantly higher than those of control group. The OD<sub>490</sub> level and the expression level of ERK1/2 in cells of NRG-1 group were significantly higher than those of H/R group, and the apoptotic rate, the expression levels of cleaved caspase-8, cleaved caspase-9, cleaved caspase-3, NF- $\kappa$ B in cells and the contents of TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IFN- $\gamma$  in culture medium were significantly lower than those of H/R group. The OD<sub>490</sub> level and the expression level of ERK1/2 in cells of NRG-1+PD group were significantly lower than those of NRG-1 group, and the apoptotic rate, the expression levels of cleaved caspase-8, cleaved caspase-9, cleaved caspase-3, NF- $\kappa$ B in cells and the contents of TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IFN- $\gamma$  in

[收稿日期] 2019-02-06

[修回日期] 2019-04-03

[作者简介] 黄县立,主治医师,研究方向为冠心病介入治疗,E-mail 为 93911325@qq.com。通信作者熊慧,硕士,副主任医师,研究方向为心脏康复,E-mail 为 877826737@qq.com。

culture medium were significantly higher than those of NRG-1 group. cardiomyocytes by activating ERK1/2 pathway.

**Conclusion** NRG-1 can alleviate H/R injury of

心肌缺血再灌注是急性心肌梗死患者接受经皮冠状动脉介入治疗术后必经的病理生理过程,缺血再灌注能够通过激活细胞凋亡、炎症反应、氧化应激等过程来加重心肌损伤,影响介入治疗效果及病情转归<sup>[1-2]</sup>。细胞外调节蛋白激酶 1/2 (extracellular regulated protein kinase 1/2, ERK1/2) 通路是细胞内参与缺血再灌注过程的补救激酶系统,能够介导抗凋亡、抗炎等生物学效应,已经被证实缺血再灌注的心肌组织中呈代偿性激活的状态,多种具有心肌保护作用的药物也被证实能够通过激活 ERK1/2 通路来减轻缺血缺氧、缺血再灌注等病理因素引起的心肌损伤<sup>[3-5]</sup>。

神经调节蛋白 1 (neuregulin-1, NRG-1) 是类表皮生长因子家族的新成员, NRG-1 参与心肌发育过程,其表达的缺失会造成胎鼠心脏发育缺陷。新近的研究表明 NRG-1 在心血管系统中发挥保护作用,能够减轻高糖引起的心肌细胞损伤、内皮细胞损伤<sup>[6-7]</sup>。为了探究 NRG-1 在心肌缺血再灌注损伤中的应用价值,本研究通过体外心肌 H9c2 细胞缺氧复氧 (hypoxia/reoxygenation, H/R) 来模拟体内心肌缺血再灌注的病理生理过程,具体分析了 NRG-1 通过 ERK1/2 通路减轻心肌细胞 H/R 损伤的作用。

## 1 材料和方法

### 1.1 主要材料

H9c2 细胞株购自 ACTT 公司, NRG-1、ERK1/2 抑制剂 PD98059 购自 Sigma 公司, MTS 细胞增殖活力检测试剂盒购自 Promega 公司, 流式 Annexin-FITC/PI 双染法试剂盒、细胞核蛋白与细胞质蛋白抽提试剂盒、BCA 蛋白定量试剂盒购自上海碧云天公司, 含半胱氨酸的天冬氨酸蛋白水解酶 (cysteiny aspartate specific proteinase, Caspase)-8、Caspase-9、Caspase-3、核因子  $\kappa$ B (nuclear factor- $\kappa$ B, NF- $\kappa$ B)、ERK1/2 的单克隆抗体购自 Santa Cruz 公司, 肿瘤坏死因子  $\alpha$  (tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )、白细胞介素 1 $\beta$  (interleukin-1 $\beta$ , IL-1 $\beta$ )、 $\gamma$  干扰素 (interferon- $\gamma$ , IFN- $\gamma$ ) 的酶联免疫吸附 (ELISA) 试剂盒购自上海西唐公司。

### 1.2 细胞培养方法

H9c2 细胞复苏后用含有体积分数 10% 胎牛血清 (fetal bovine serum, FBS) 的杜氏改良 Eagle 培养

基 (DMEM) 培养, 每 2 天更换 1 次培养基, 待细胞铺满培养瓶底面 90% 后用 0.125% 胰蛋白酶进行消化, 离心收集细胞后用培养基重悬, 进行传代培养。

### 1.3 细胞分组及干预方法

取传代培养的细胞接种在培养板中并进行分组处理, 对照组用不含药物的 DMEM 在普通条件下培养 (37 °C、95% 空气、5% CO<sub>2</sub>)、H/R 组用不含药物的 DMEM 在缺氧复氧条件下培养 (37 °C、94% N<sub>2</sub>、1% 空气、5% CO<sub>2</sub> 2 h, 37 °C、95% 空气、5% CO<sub>2</sub> 4 h)、NRG-1 组用含有 250 nmol/L NRG-1 的 DMEM 在缺氧复氧条件下培养、NRG-1+PD 组用含有 250 nmol/L NRG-1 和 20  $\mu$ mol/L PD98059 的 DMEM 在缺氧复氧条件下培养。

### 1.4 细胞增殖活力检测方法

H/R 后, 取 MTS 试剂盒的检测液 20  $\mu$ L、加入培养基中, 在培养箱中继续培养 4 h 后取出, 震荡混匀后在酶标仪上计算 490 nm 波长处的吸光度值, 记录为 OD<sub>490</sub>。

### 1.5 细胞凋亡率检测方法

H/R 后, 0.125% 胰蛋白酶消化并收集细胞, 加入 200  $\mu$ L Binding Buffer 后采用流式 Annexin-FITC/PI 双染法试剂盒对细胞进行 Annexin-FITC 染色和 PI 染色, 加入 400  $\mu$ L 磷酸盐缓冲液重悬后在流式细胞仪上检测 Annexin-FITC 阳性、PI 阴性细胞的比例作为细胞凋亡率。

### 1.6 Western blot

H/R 后, 收集细胞并采用细胞核蛋白与细胞质蛋白抽提试剂盒, 细胞质蛋白用于 Caspase-8、Caspase-9、Caspase-3、ERK1/2 检测, 细胞核蛋白用于 NF- $\kappa$ B 检测。蛋白裂解液提取总蛋白, 与上样缓冲液混合后 100 °C 加热变性, 变性的蛋白样本加入聚丙烯酰胺凝胶中进行电泳和转膜, 蛋白转移至 NC 膜后用 5% 脱脂牛奶在室温封闭 1 h, 而后用 Caspase-8、Caspase-9、Caspase-3、NF- $\kappa$ B、ERK1/2 的一抗在 4 °C 孵育过夜; 第 2 天, 用 TBST 溶液漂洗 NC 膜 3 遍后用二抗在室温孵育 1 h, 再次用 TBST 溶液漂洗 NC 膜 3 遍, 最后曝光得到蛋白条带, 以  $\beta$ -actin 为内参, 通过蛋白条带的灰度值计算 cleaved Caspase-8、cleaved Caspase-9、cleaved Caspase-3、NF- $\kappa$ B、ERK1/2 的蛋白表达量。

### 1.7 细胞因子检测方法

H/R 后, 收集培养基并采用 ELISA 试剂盒检测

TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IFN- $\gamma$  的含量,收集细胞并采用 BCA 试剂盒检测总蛋白含量,计算每毫克总蛋白对应 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IFN- $\gamma$  的含量。

### 1.8 统计学方法

采用 SPSS22.0 软件进行数据分析,四组间计量资料的比较采用方差分析, $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 NRG-1 对 H9c2 细胞中 ERK1/2 通路的调节作用

与对照组比较,H/R 组 H9c2 细胞中 p-ERK1/2 的表达水平显著升高( $P < 0.05$ );与 H/R 组比较,NRG-1 组 H9c2 细胞中 p-ERK1/2 的表达水平显著升高( $P < 0.05$ );与 NRG-1 组比较,NRG-1+PD 组 H9c2 细胞中 p-ERK1/2 的表达水平显著降低( $P < 0.05$ ;图 1)。

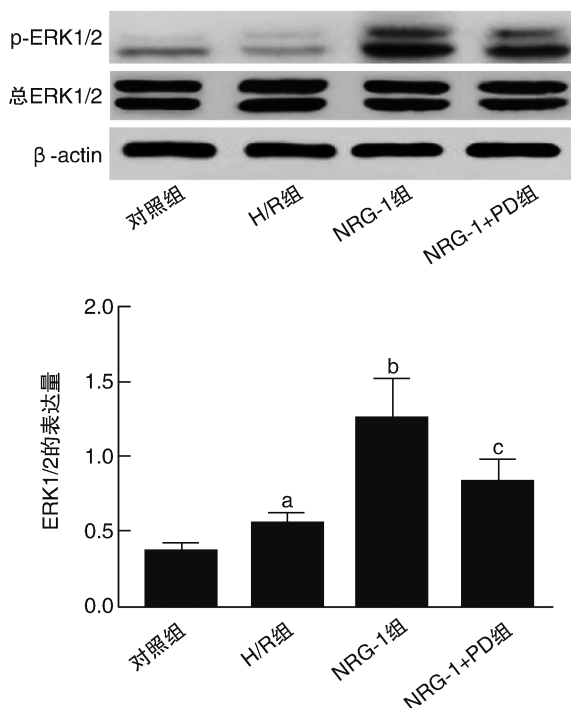


图 1. Western blot 检测 H9c2 细胞中 ERK1/2 的蛋白表达量( $n=5$ ) a 为  $P < 0.05$ ,与对照组比较;b 为  $P < 0.05$ ,与 H/R 组比较;c 为  $P < 0.05$ ,与 NRG-1 组比较。

Figure 1. Detection of ERK1/2 protein expression in H9c2 cells by Western blot( $n=5$ )

### 2.2 NRG-1 对 H9c2 细胞增殖活力的调节作用

与对照组比较,H/R 组 H9c2 细胞的 OD<sub>490</sub> 水平

显著降低( $P < 0.05$ );与 H/R 组比较,NRG-1 组 H9c2 细胞的 OD<sub>490</sub> 水平显著升高( $P < 0.05$ );与 NRG-1 组比较,NRG-1+PD 组 H9c2 细胞的 OD<sub>490</sub> 水平显著降低( $P < 0.05$ ;图 2)。

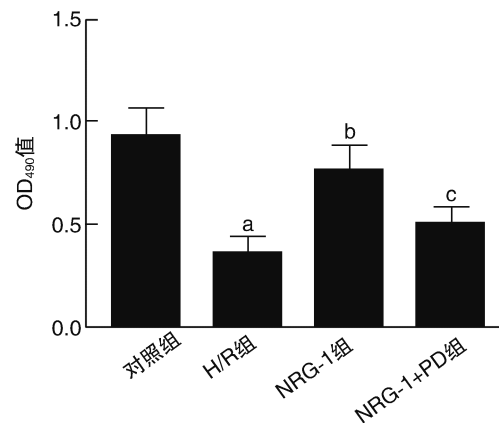


图 2. 四组间 H9c2 细胞增殖活力的比较( $n=5$ ) a 为  $P < 0.05$ ,与对照组比较;b 为  $P < 0.05$ ,与 H/R 组比较;c 为  $P < 0.05$ ,与 NRG-1 组比较。

Figure 2. Comparison of proliferation viability of H9c2 cells among four groups ( $n=5$ )

### 2.3 NRG-1 对 H9c2 细胞凋亡的调节作用

与对照组比较,H/R 组 H9c2 细胞的凋亡率显著升高( $P < 0.05$ );与 H/R 组比较,NRG-1 组 H9c2 细胞的凋亡率显著降低( $P < 0.05$ );与 NRG-1 组比较,NRG-1+PD 组 H9c2 细胞的凋亡率显著升高( $P < 0.05$ ;图 3)。

与对照组比较,H/R 组 H9c2 细胞中 cleaved Caspase-8、cleaved Caspase-9、cleaved Caspase-3 的表达水平显著升高( $P < 0.05$ );与 H/R 组比较,NRG-1 组 H9c2 细胞中 cleaved Caspase-8、cleaved Caspase-9、cleaved Caspase-3 的表达水平显著降低( $P < 0.05$ );与 NRG-1 组比较,NRG-1+PD 组 H9c2 细胞中 cleaved Caspase-8、cleaved Caspase-9、cleaved Caspase-3 的表达水平显著升高( $P < 0.05$ ;图 4)。

### 2.4 NRG-1 对 H9c2 细胞中炎症反应的调节作用

与对照组比较,H/R 组 H9c2 细胞核中 NF- $\kappa$ B 的表达水平及培养基中 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IFN- $\gamma$  的含量显著升高( $P < 0.05$ );与 H/R 组比较,NRG-1 组 H9c2 细胞核中 NF- $\kappa$ B 的表达水平及培养基中 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IFN- $\gamma$  的含量显著降低( $P < 0.05$ );与 NRG-1 组比较,NRG-1+PD 组 H9c2 细胞核中 NF- $\kappa$ B 的表达水平及培养基中 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IFN- $\gamma$  的含量显著升高( $P < 0.05$ ;图 5 和表 1)。

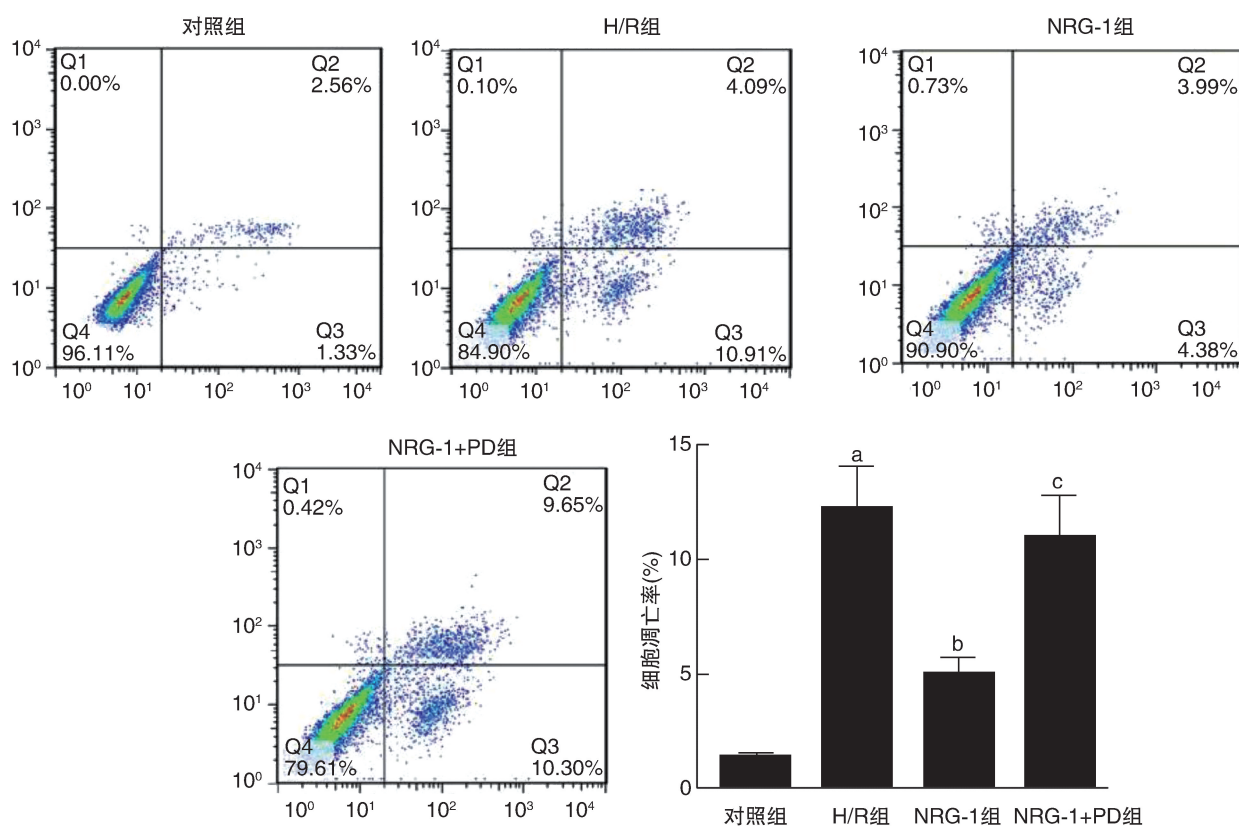


图 3. 四组间 H9c2 细胞凋亡率的比较 ( $n=5$ ) a 为  $P<0.05$ , 与对照组比较; b 为  $P<0.05$ , 与 H/R 组比较; c 为  $P<0.05$ , 与 NRG-1 组比较。

Figure 3. Comparison of apoptosis rate of H9c2 cells among four groups ( $n=5$ )

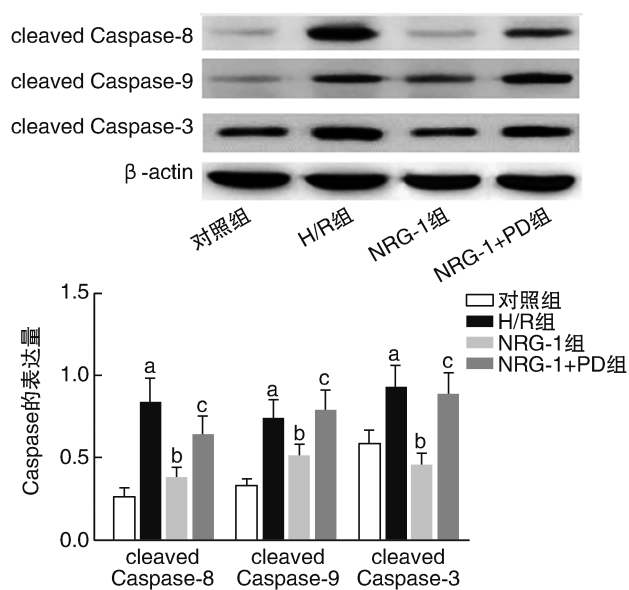


图 4. Western blot 检测 H9c2 细胞中 cleaved Caspase-8、cleaved Caspase-9、cleaved Caspase-3 的蛋白表达量 ( $n=5$ ) a 为  $P<0.05$ , 与对照组比较; b 为  $P<0.05$ , 与 H/R 组比较; c 为  $P<0.05$ , 与 NRG-1 组比较。

Figure 4. Detection of cleaved caspase-8, cleaved caspase-9, cleaved caspase-3 protein expression in H9c2 cells by Western blot ( $n=5$ )

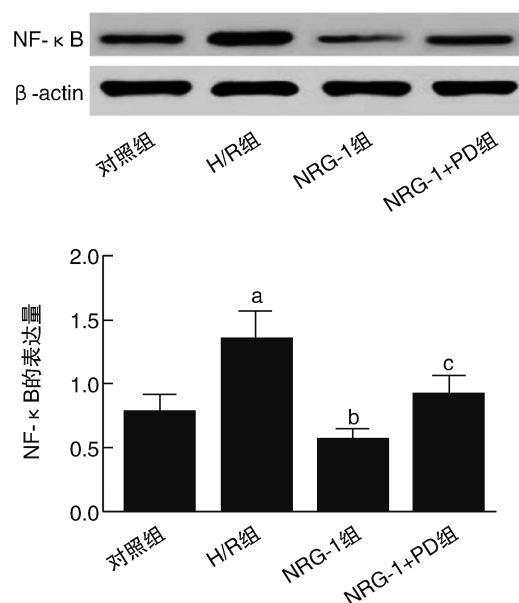


图 5. Western blot 检测 H9c2 细胞核中 NF- $\kappa$ B 的表达量 ( $n=5$ ) a 为  $P<0.05$ , 与对照组比较; b 为  $P<0.05$ , 与 H/R 组比较; c 为  $P<0.05$ , 与 NRG-1 组比较。

Figure 5. Detection of NF- $\kappa$ B expression in H9c2 nucleus by Western blot ( $n=5$ )



表 1. 四组间 H9c2 细胞培养基中 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IFN- $\gamma$  含量的比较 ( $\mu\text{g/g}$ ,  $n=5$ )

Table 1. Comparison of TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IFN- $\gamma$  contents in culture media of H9c2 cells among four groups ( $\mu\text{g/g}$ ,  $n=5$ )

分 组	TNF- $\alpha$	IL-1 $\beta$	IFN- $\gamma$
对照组	4.12 $\pm$ 0.74	11.38 $\pm$ 1.85	24.12 $\pm$ 5.58
H/R 组	13.27 $\pm$ 2.26 <sup>a</sup>	31.39 $\pm$ 7.58 <sup>a</sup>	62.39 $\pm$ 9.29 <sup>a</sup>
NRG-1 组	7.03 $\pm$ 1.02 <sup>b</sup>	18.28 $\pm$ 2.77 <sup>b</sup>	39.19 $\pm$ 6.58 <sup>b</sup>
NRG-1+PD 组	11.28 $\pm$ 1.89 <sup>c</sup>	26.52 $\pm$ 4.12 <sup>c</sup>	50.38 $\pm$ 7.62 <sup>c</sup>

a 为  $P<0.05$ , 与对照组比较; b 为  $P<0.05$ , 与 H/R 组比较; c 为  $P<0.05$ , 与 NRG-1 组比较。

### 3 讨 论

心肌缺血再灌注是影响心肌梗死后介入治疗效果的重要病理生理因素,减轻心肌缺血再灌注是改善心肌梗死后介入治疗效果、优化心肌梗死患者病情转归的重要靶点。本研究通过心肌 H9c2 细胞 H/R 来模拟心肌缺血再灌注的病理生理过程,结果表明,在 H/R 后, H9c2 细胞的增殖活力明显下降、凋亡率明显增加,表明 H/R 能够引起 H9c2 细胞发生损伤,表现为增殖过程受到抑制以及凋亡过程增强。NRG-1 是在心血管系统中发挥重要调节作用的活性蛋白,该蛋白最早被证实参与心肌发育过程<sup>[8-9]</sup>,新近的研究则证实 NRG-1 能够减轻高糖引起的心肌细胞及内皮细胞损伤<sup>[6-7]</sup>,本研究将 NRG-1 用于心肌细胞 H/R 的干预,在 NRG-1 干预后, H9c2 细胞的增殖活力明显升高,而凋亡率明显降低,说明 NRG-1 对 H/R 引起的 H9c2 细胞损伤具有保护作用。

在 H/R 引起心肌细胞损伤的过程中,细胞凋亡及炎症反应是重要的病理环节。Caspase 家族中的 Caspase-8、Caspase-9、Caspase-3 参与细胞凋亡的调控, H/R 刺激细胞中死亡受体途径、线粒体途径、内质网应激途径发生激活,启动凋亡反应的级联放大,同时有活性的 cleaved Caspase-8、cleaved Caspase-9、cleaved Caspase-3 也大量表达<sup>[10-13]</sup>。NF- $\kappa$ B 是参与炎症反应调控的核心分子, H/R 刺激细胞内 NF- $\kappa$ B 活化后能够在细胞核内启动 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IFN- $\gamma$  的表达, TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IFN- $\gamma$  大量释放后促进炎症反应的级联激活<sup>[14-17]</sup>。在本研究中, H/R 组细胞中 cleaved Caspase-8、cleaved Caspase-9、cleaved Caspase-3、NF- $\kappa$ B 的表达及培养基中 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IFN- $\gamma$  的含量均明显增多,表明 H/R 能够

促进 H9c2 细胞凋亡及炎症反应激活。在 NRG-1 干预后, cleaved Caspase-8、cleaved Caspase-9、cleaved Caspase-3、NF- $\kappa$ B 的表达及培养基中 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IFN- $\gamma$  的含量均明显减少,表明 NRG-1 对 H/R 引起的 H9c2 细胞凋亡及炎症反应激活具有显著抑制作用,这与 NRG-1 减轻 H/R 引起 H9c2 细胞损伤的结果相吻合,同时也提示抗凋亡和抗炎是 NRG-1 发挥保护作用的分子机制。

ERK1/2 信号通路是调控细胞生长、增殖、凋亡及炎症、应激等环节的重要通路,也被认为是缺血再灌注过程中的补救激酶系统。在组织经历缺血再灌注的过程中,细胞受到刺激并使细胞中的 ERK1/2 发生磷酸化活化,磷酸化的 ERK1/2 一方面能够使多种 Caspase 的表达受到抑制进而阻碍细胞凋亡的发生,另一方面能够使 NF- $\kappa$ B 的表达受到抑制进而阻碍炎症细胞因子的分泌及炎症反应的活化<sup>[18-19]</sup>。因此, ERK1/2 在缺血再灌注组织中的激活也被认为是机体自身代偿和自我保护的机制。在本研究中, H/R 组细胞中 p-ERK1/2 的表达明显增多,而 NRG-1 组细胞中 p-ERK1/2 的表达明显高于 H/R 组,表明 H/R 能够刺激心肌细胞中的 ERK1/2 发生活化,而 NRG-1 干预能够进一步促进 ERK1/2 的活化,继而推测促进 ERK1/2 活化是 NRG-1 发挥心肌细胞保护作用的机制。为了验证这一推测,本研究在 NRG-1 干预的基础上加用了 ERK1/2 的抑制剂 PD98059,发现 PD98059 能够逆转 NRG-1 增加细胞增殖活力及降低细胞凋亡率、凋亡基因表达、炎症细胞因子分泌的作用,由此也表明 ERK1/2 的激活介导了 NRG-1 对心肌细胞的保护作用。

综上所述, NRG-1 对 H/R 引起的 H9c2 细胞损伤具有保护作用,具体表现为促进细胞增殖、抑制细胞凋亡并调节凋亡基因表达、炎症细胞因子分泌及 ERK1/2 通路活化;激活 ERK1/2 通路是 NRG-1 减轻心肌细胞 H/R 损伤的分子机制。

### [参考文献]

- [1] Lakota J. Molecular mechanism of ischemia-reperfusion injury after myocardial infarction and its possible targeted treatment[J]. Int J Cardiol, 2016, 29(220): 571-572.
- [2] Hollander MR, de Waard GA, Konijnenberg LS, et al. Dissecting the effects of ischemia and reperfusion on the coronary microcirculation in a rat model of acute myocardial infarction[J]. PLoS One, 2016, 11(7): e0157233.
- [3] Skovsted GF, Kruse LS, Berchtold LA, et al. Myocardial

- ischemia-reperfusion enhances transcriptional expression of endothelin-1 and vasoconstrictor ETB receptors via the protein kinase MEK-ERK1/2 signaling pathway in rat [J]. *PLoS One*, 2017, 12(3): e0174119.
- [4] Qi JY, Yu J, Huang DH, et al. Salvianolate reduces murine myocardial ischemia and reperfusion injury via ERK1/2 signaling pathways in vivo [J]. *Chin J Integr Med*, 2017, 23(1): 40-47.
- [5] Sun MH, Chen XC, Han M, et al. Cardioprotective effects of constitutively active MEK1 against H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-induced apoptosis and autophagy in cardiomyocytes via the ERK1/2 signaling pathway [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2019, 512(1): 125-130.
- [6] 罗明雄, 陈小丹, 魏玲. 神经调节蛋白 1 对高糖损伤的心肌细胞的保护作用及其机制 [J]. *中国循环杂志*, 2016, 31(9): 902-907.
- [7] Gupte M, Lal H, Ahmad F, et al. Chronic neuregulin-1 $\beta$  treatment mitigates the progression of postmyocardial infarction heart failure in the setting of type 1 diabetes mellitus by suppressing myocardial apoptosis, fibrosis, and key oxidant-producing enzymes [J]. *J Card Fail*, 2017, 23(12): 887-899.
- [8] Yasui T, Masaki T, Arita Y, et al. Molecular characterization of striated muscle-specific gab1 isoform as a critical signal transducer for neuregulin-1/erbB signaling in cardiomyocytes [J]. *PLoS One*, 2016, 11(11): e0166710.
- [9] Pentassuglia L, Heim P, Lebboukh S, et al. Neuregulin-1 $\beta$  promotes glucose uptake via PI3K/Akt in neonatal rat cardiomyocytes [J]. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2016, 310(9): 782-794.
- [10] Zhang CX, Cheng Y, Liu DZ, et al. Mitochondria-targeted cyclosporin A delivery system to treat myocardial ischemia reperfusion injury of rats [J]. *J Nanobiotechnol*, 2019, 17(1): 18.
- [11] Tian X, Zhou Y, Wang Y, et al. Mitochondrial dysfunction and apoptosis are attenuated on  $\kappa$ -opioid receptor activation through AMPK/GSK-3 $\beta$  pathway after myocardial ischemia and reperfusion [J]. *J Cardiovasc Pharmacol*, 2019, 73(2): 70-81.
- [12] Liu XM, Yang ZM, Liu XK. Fas/FasL induces myocardial cell apoptosis in myocardial ischemia-reperfusion rat model [J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2017, 21(12): 2913-2918.
- [13] Cao L, Chen Y, Zhang Z, et al. Endoplasmic reticulum stress-induced NLRP1 inflammasome activation contributes to myocardial ischemia/reperfusion injury [J]. *Shock*, 2019, 51(4): 511-518.
- [14] Pan YQ, Li J, Li XW, et al. Effect of miR-21/TLR4/NF- $\kappa$ B pathway on myocardial apoptosis in rats with myocardial ischemia-reperfusion [J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2018, 22(22): 7928-7937.
- [15] Zhang W, Zhang Y, Ding K, et al. Involvement of JNK1/2-NF- $\kappa$ Bp65 in the regulation of HMGB2 in myocardial ischemia/reperfusion-induced apoptosis in human AC16 cardiomyocytes [J]. *Biomed Pharmacother*, 2018, 106: 1063-1071.
- [16] Tang B, Ma J, Ha X, et al. Tumor necrosis factor- $\alpha$  upregulated PHLPP1 through activating nuclear factor- $\kappa$ B during myocardial ischemia/reperfusion [J]. *Life Sci*, 2018, 15(207): 355-363.
- [17] Zhang X, Cao X, Dang M, et al. Soluble receptor for advanced glycation end-products enhanced the production of IFN- $\gamma$  through the NF- $\kappa$ B pathway in macrophages recruited by ischemia/reperfusion [J]. *Int J Mol Med*, 2019, 43(6): 2507-2515.
- [18] Yu W, Xu M, Zhang T, et al. Mst1 promotes cardiac ischemia-reperfusion injury by inhibiting the ERK-CREB pathway and repressing FUNDC1-mediated mitophagy [J]. *J Physiol Sci*, 2019, 69(1): 113-127.
- [19] Yu Q, Wu L, Liu T, et al. Protective effects of levo-tetrahydropalmatine on hepatic ischemia/reperfusion injury are mediated by inhibition of the ERK/NF- $\kappa$ B pathway [J]. *Int Immunopharmacol*, 2019, 70: 435-445.
- (此文编辑 许雪梅)