

本文引文格式: 巩奇明, 李德慧, 龚元勋, 等. CaMK II 调控脂多糖诱导的心肌细胞内钙、ROS 的作用机制研究[J]. 右江民族医学院学报, 2021, 43(3): 297-301.

【论著与临床报道】

CaMK II 调控脂多糖诱导的心肌细胞内钙、ROS 的作用机制研究

巩奇明¹, 李德慧¹, 龚元勋¹, 姜艳²

(1. 右江民族医学院附属医院, 广西 百色 533000;
2. 右江民族医学院科学实验中心, 广西 百色 533000)

摘要:目的 探究钙调蛋白依赖性蛋白激酶 II (CaMK II) 调控脂多糖(LPS)诱导的心肌细胞胞浆 Ca²⁺、活性氧(ROS)的分子作用机制。方法 大鼠心肌细胞(H9C2)经 10.0 μg/ml 的 LPS 处理 48 h, 构建心肌炎体外细胞模型。实验分为对照组、LPS 组(10.0 μg/ml 的 LPS 作用 48 h)、KN93+LPS 组[5.0 μmol/L 的 KN93(CaMK II 抑制剂)预处理 1 h, 再加入 10.0 μg/ml 的 LPS 刺激 48 h]。采用荧光探针法, 观察细胞内 Ca²⁺、ROS 含量水平; RT-qPCR 法检测 CaMK II、受磷蛋白(PLB)、心肌细胞肌浆网 Ca²⁺-ATP 酶(SERCA)、无翅型小鼠乳腺肿瘤病毒整合位点家族成员 4(Wnt4)、β-连环蛋白(β-catenin)、原癌基因(c-Myc)、G1/S-特异性周期蛋白 D1(Cyclin D1)、诱导型一氧化氮(iNOS)、白介素 10(IL-10)基因 mRNA 表达水平; Western Blot 检测细胞内 CaMK II 蛋白含量。结果 与对照组比较, LPS 组胞浆 Ca²⁺ 以及细胞内 ROS 水平增加; CaMK II 的 mRNA 及蛋白表达增加 ($P < 0.01$); PLB 和 SERCA mRNA 水平降低 ($P < 0.01$); Wnt4、β-catenin、c-Myc、Cyclin D1、IL-10 以及 iNOS 的 mRNA 表达增加 ($P < 0.01$)。与 LPS 组相比, KN93+LPS 组胞浆 Ca²⁺ 降低, ROS 含量降低; CaMK II 的 mRNA 及蛋白表达均减少 ($P < 0.01$); PLB 和 SERCA mRNA 水平增加 ($P < 0.01$); Wnt4、Cyclin D1、IL-10 以及 iNOS 的 mRNA 表达降低 ($P < 0.05$), 而 β-catenin、c-Myc 的 mRNA 水平差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。结论 CaMK II 可能通过调控细胞内钙调蛋白 PLB、SERCA、Wnt 通路蛋白 Wnt4、Cyclin D1, 以及细胞因子 iNOS、IL-10 的表达, 从而抑制 LPS 诱导的心肌胞浆 Ca²⁺ 及 ROS 水平增加。

关键词: 钙调蛋白依赖性蛋白激酶 II; 脂多糖; 心肌细胞; 胞浆钙; 活性氧

中图分类号: R392 文献标识码: A 文章编号: 1001-5817(2021)03-0297-05

doi: 10.3969/j.issn.1001-5817.2021.03.001

The mechanism of CaMK II regulating cytoplasmic calcium and ROS induced by LPS in cardiomyocytes

Gong Qiming¹, Li Dehui¹, Gong Yuanxun¹, Jiang Yan²

(1. The Affiliated Hospital of Youjiang Medical University for Nationalities, Baise 53000, Guangxi, China; 2. Science Experimental Center, Youjiang Medical University for Nationalities, Baise 53000, Guangxi, China)

Abstract: **Objective** To investigate the molecular mechanism of calmodulin-dependent protein kinase II (CaMK II) regulating cytoplasmic Ca²⁺ and reactive oxygen species (ROS) induced by lipopolysaccharide (LPS) in cardiomyocytes. **Methods** Rat cardiomyocytes (H9C2) were treated with 10.0 μg/ml LPS for 48 h to establish myocarditis cell models *in vitro*. There were three groups in this experiment: the control group, the LPS group (10.0 μg/ml LPS stimulation for 48 h), the KN93+LPS group [pretreated with 5.0 μmol/L KN93 (the inhibitor of CaMK II) for 1 h, and then stimulated with 10.0 μg/ml LPS for 48 h]. The content of Ca²⁺ and ROS was observed by fluorescence probe. RT-qPCR was employed to detect the expressions of CaMK

基金项目: 广西自然科学基金项目(2020GXNSFBA297052); 广西高校中青年教师基础能力提升项目(2018KY0435)

第一作者简介: 巩奇明(1995-), 男, 在读硕士研究生, 研究方向: 细胞生物学, E-mail: 15610398015@163.com

通讯作者简介: 姜艳(1985-), 女, 硕士, 实验师, 研究方向: 细胞生物学, E-mail: 852773380@qq.com

II, phospholamban (PLB), sarco endoplasmic reticulum Ca^{2+} -ATPase (SERCA), member 4 of the wingless mouse mammary tumor virus integration site family (Wnt4), β -catenin, c-Myc, G1/S-specific cyclin D1 (Cyclin D1), inducible nitric oxide synthase (iNOS) and interleukin 10 (IL-10) mRNA. The content of CaMK II protein in cells was detected by Western Blot. **Results** Compared with the control group, the LPS group had increased levels of cytoplasmic Ca^{2+} and intracellular ROS as well as raised mRNA and protein expressions of CaMK II ($P < 0.01$); but the PLB and SERCA mRNA levels decreased ($P < 0.01$). In the LPS group, the mRNA expressions of Wnt4, β -catenin, c-Myc, Cyclin D1, IL-10 and iNOS also increased ($P < 0.01$). Compared with the LPS group, the KN93+LPS group had decreased cytoplasmic Ca^{2+} and ROS content and declined mRNA and protein expressions of CaMK II ($P < 0.01$). Furthermore, this group had increased mRNA expressions of PLB and SERCA ($P < 0.01$) and decreased mRNA expressions of Wnt4, Cyclin D1, IL-10 and iNOS ($P < 0.01$). However, there was no statistically significant difference in the mRNA expressions of β -catenin and c-Myc between two groups ($P > 0.05$). **Conclusion** CaMK II may inhibit the increase of Ca^{2+} and ROS levels induced by LPS in myocardial cytoplasm. The inhibition may be by regulating the expressions of PLB and SERCA, protein Wnt4 of Wnt pathway and Cyclin D1, as well as the expressions of cytokines iNOS and IL-10.

Key words: calmodulin-dependent protein kinase II; lipopolysaccharide; cardiomyocytes; cytosolic calcium; reactive oxygen species

脓毒症是临床常见的炎症反应综合征。心肌炎是该综合征常见的并发症之一,可导致心力衰竭以及患者死亡^[1]。心肌炎主要表现为细胞内线粒体活性氧(reactive oxygen species, ROS)增加,炎症因子大量分泌,细胞内钙超载和细胞凋亡等^[2]。目前,对心肌炎发病机制的研究仍不够全面和深入。

钙调蛋白依赖性蛋白激酶 II (CaMK II) 是一种多功能的丝氨酸/苏氨酸激酶^[3],也是钙/钙调蛋白依赖性蛋白(Ca^{2+} /CaM)信号通路的关键调节酶^[4],参与心肌细胞死亡、心肌肥大、炎症反应、缺血再灌注以及心律失常等多种病理过程^[3-8]。但是目前 CaMK II 在脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)诱导的心肌细胞损伤中的分子调控机制尚不明确。

本研究采用 LPS(细胞炎症反应和凋亡的主要启动因子)构建体外心肌细胞炎症模型,通过观察抑制 CaMK II 是否对 LPS 所致心肌细胞胞浆钙含量及 ROS 水平具有调控作用,从中探讨 CaMK II 在该作用中的具体分子机制。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 细胞株 大鼠心肌细胞(H9C2)购自上海中乔新舟生物公司。

1.1.2 主要试剂 高糖型 DMEM 培养基(C1199-5500BT, Gibco); 胎牛血清(FSP500, ExCell Bio); qPCR SYBR Green Master Mix (11201ES08, 翊圣); RT First Starand cDNA 第一链合成试剂盒(D71-68M, 碧云天); LPS (L2880, Sigma); PCR 引物合成(上海捷瑞); EDTA-胰蛋白酶(25200056, Gibco);

KN93(HY-15465, MCE); 钙离子荧光探针(Fluo-3 AM, 40703ES50, 翊圣); Hanks 平衡盐溶液(HBSS, 60161ES76, 翊圣); 活性氧 ROS 试剂盒(s0033s, 碧云天); 多克隆兔抗 CaMK II、单克隆鼠抗 GAPDH、山羊抗兔 IgG (H+L) HRP、山羊抗鼠 IgG (H+L) HRP (AF6434, T0001, S0001, S0002, Affinity Biosciences)、BCA 试剂盒、SDS-PAGE 凝胶试剂盒、ECL 化学发光溶液均购自上海雅酶公司。

1.2 细胞分组与建模 在 37°C , 5% CO_2 条件下,使用含有 10% 胎牛血清的 DMEM 培养基培养细胞。待细胞生长至 80%~90% 时,消化,离心,重悬,计数,接种于孔板或平皿中(接种密度 6 孔板为 2×10^5 个/孔; 共聚焦培养皿为 5×10^4 个/平皿; 30 mm 直径细胞培养皿为 2×10^6 个/平皿)。继续培养 24 h 后将细胞分为对照组、LPS 组、KN93 + LPS 组。对照组不做特殊处理; LPS 组:采用 10.0 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 的 LPS 作用于细胞 48 h; KN93 + LPS 组:先用 5.0 $\mu\text{mol}/\text{L}$ 的 KN93 作用于细胞 1 h,随后加入 10.0 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 的 LPS 刺激细胞 48 h。

1.3 标本采集及检测

1.3.1 细胞胞浆 Ca^{2+} 荧光检测 LPS 作用结束后,取共聚焦培养皿中的细胞,弃除细胞培养基,HBSS 溶液清洗细胞 3 次,使用 5.0 μM 的 Fluo-3 AM 工作液, 37°C 孵育 45 min。随后去除工作液,再次清洗细胞 3 次,并用 HBSS 溶液覆盖细胞, 37°C 继续孵育 20 min。最后采用激光共聚焦显微镜(FV3000, 日本 Olympus)扫描成像。

1.3.2 细胞内 ROS 检测 取处理后的细胞,加入

200 μl 浓度为 10.0 $\mu\text{mol/L}$ 的荧光探针 DCFH-DA, 37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 20 min。使用 DMEM 培养基清洗细胞 3 次, 随后采用激光共聚焦显微镜采集图像。

1.3.3 RT-qPCR 实验 取药物处理后的细胞, 清除上清液, 每个平皿加入 1.0 ml TRIzol 试剂提取细胞内的总 RNA, 使用微量紫外分光光度计 (TGEM Plus, 北京天根) 测定 RNA 浓度及 OD260/OD280 值。

采用反转录试剂盒进行反转录, 获得 cDNA 单链; 使用 SYBR Green Master Mix 试剂在 qPCR 仪 (Light Cycler 9600, 德国罗氏) 进一步扩增样本中的 cDNA。各基因引物序列见表 1。扩增条件为: 95 $^{\circ}\text{C}$, 10 min; 95 $^{\circ}\text{C}$, 10 s; 60 $^{\circ}\text{C}$, 20 s; 72 $^{\circ}\text{C}$, 30 s。共计 45 个循环。样本均设有 3 个复孔。采用 $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$ 方法计算目的基因的相对含量。

表 1 RT-qPCR 实验各基因引物序列

基因名称	Forward primer (5'→3')	Reverse primer (5'→3')
CaMK II	CTACATCTTGCTGGTGGGA	GAGGTCTTTGGCTTCAGGT
PLB	CTTTTGTCTTCCCTGGCATCA	AGGTTCTGGAGTTCTGACG
SERCA	TCTGACTTTCGTTGGCTGTG	GCCTTTGTTATCCCCAGTGA
Wnt4	AAGAGGAAACGTGCGAGAA	CGAAGACAGGCAGGGAGT
β -catenin	TCCGCATGGAGGAGATAG	TTCAATGGGAGAATAAAGCA
c-Myc	TCAGCAACAACCGCAAAT	AACGGACAGGATGTAGGC
Cyclin D1	TGACTGCCGAGAAGTTGTG	GAGGGTGGGTTGGAAATG
iNOS	CCGATTACACGACATTGAGA	TGGTCCAGTTGGGAGCAT
IL-10	CAGTCAGCCAGACCCACAT	GGCAACCCAAGTAACCCT
GAPDH	TCTCTGCTCCTCCCTGTTC	ACACCGACCTTCACCATCT

1.3.4 Western Blot 实验 取处理后的细胞培养皿, 弃除细胞上清液, 并用 4 $^{\circ}\text{C}$ 的 PBS 清洗细胞 2 次。向培养皿中加入 400 μl RIPA 细胞裂解液 (内含 1% PMSF), 提取细胞总蛋白。50 μg 蛋白样本用于聚丙烯酰胺凝胶 (SDS-PAGE) 电泳, 湿转法转移蛋白至孔径为 0.45 μm 的 PVDF 膜上, 室温封闭 10 min, 使用 1:1000 稀释后的一抗溶液 4 $^{\circ}\text{C}$ 孵育过夜。在 1:2000 的 HRP 标记的山羊抗兔 (或抗鼠) IgG 抗体溶液中室温孵育 50 min。使用 ECL 发光溶液, 进行曝光成像。采用 ImageJ 软件对条带进行灰度值分析, 计算心肌细胞中 CaMK II 蛋白表达水平。

1.4 统计学方法 采用 SPSS 23.0 软件进行数据统计分析, 计量资料数据采用 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 两组间比较采用独立样本 t 检验。 $P < 0.05$ 差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 抑制 CaMK II 可降低 LPS 所致细胞胞浆 Ca^{2+} 增加 荧光探针检测结果显示: 经 LPS 处理后细胞胞浆 Ca^{2+} 水平升高, 且高于对照组。而在 KN93+LPS 组细胞中 LPS 对 Ca^{2+} 的增加作用被抑制。见图 1。

2.2 抑制 CaMK II 可降低 LPS 诱导的细胞内 ROS 增加 分析 ROS 荧光图: 与对照组比较, LPS 组细胞内 ROS 含量增加, 表现为荧光强度强于对照组。而 KN93 预处理的 KN93+LPS 组细胞中, ROS 水平低于 LPS 组。见图 2。

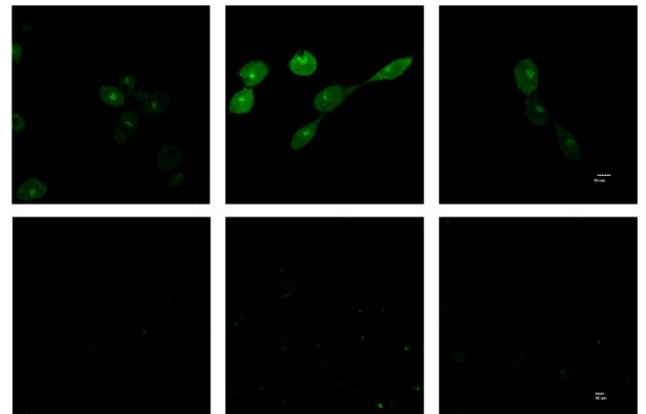


图 1 各组心肌细胞胞浆 Ca^{2+} 含量检测 (800 \times , 400 \times)

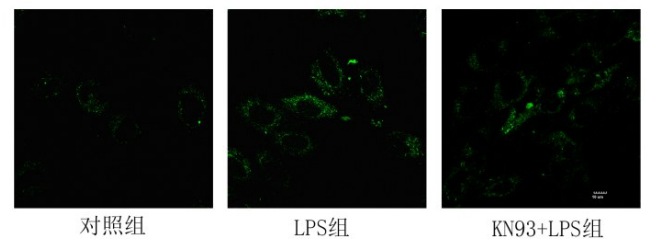
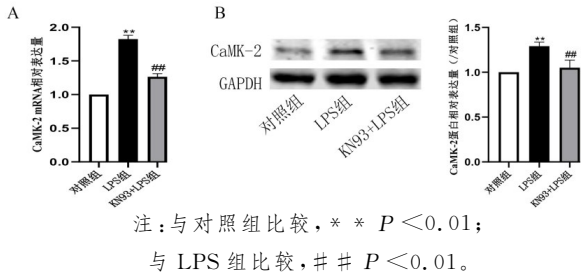


图 2 各组心肌细胞内 ROS 含量检测 (800 \times)

2.3 细胞内 CaMK II、受磷蛋白 (PLB)、心肌细胞肌浆网 Ca^{2+} -ATP 酶 (SERCA)、无翅型小鼠乳腺肿瘤病毒整合位点家族成员 4 (Wnt4)、 β -连环蛋白 (β -catenin)、原癌基因 (c-Myc)、G1/S-特异性周期蛋白 D1 (Cyclin D1)、诱导型一氧化氮 (iNOS)、白介素 10 (IL-

10)、mRNA 表达水平。

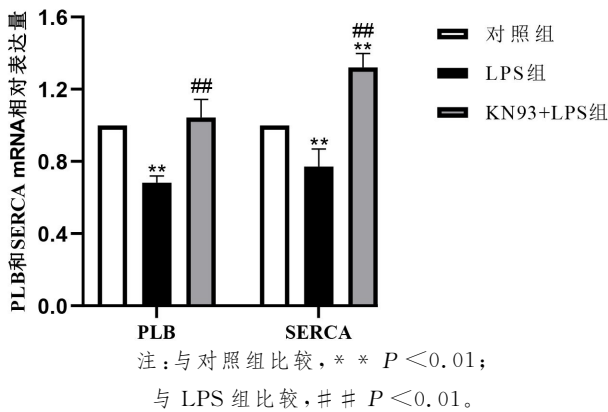
2.3.1 KN93 降低 LPS 对 CaMK II 的促进作用
RT-qPCR 和 Western Blot 实验结果显示:LPS 能显著增加心肌细胞中 CaMK II mRNA 和蛋白的表达,与对照组比较差异有统计学意义($P < 0.01$)。而在 KN93+LPS 组,KN93 预处理显著降低 CaMK II 的 mRNA 和蛋白水平,与 LPS 组比较差异有统计学意义($P < 0.01$)。见图 3。



注:与对照组比较, ** $P < 0.01$;
与 LPS 组比较, ## $P < 0.01$ 。

图 3 各组心肌细胞内 CaMK II mRNA(A)和蛋白(B)水平检测

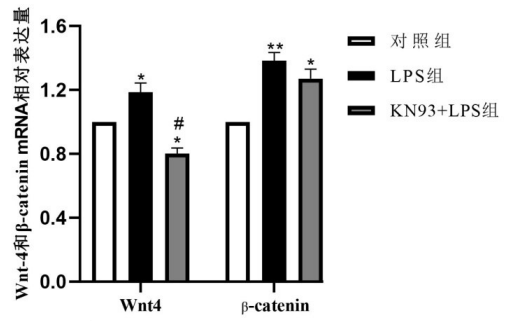
2.3.2 抑制 CaMK II 可缓解 LPS 对 PLB 和 SERCA mRNA 的抑制作用
LPS 组细胞受 LPS 影响,细胞内钙调控蛋白 PLB 和 SERCA mRNA 表达水平降低,与对照组相比差异有统计学意义($P < 0.01$)。而在 KN93+LPS 组,PLB 和 SERCA mRNA 表达升高,与 LPS 组比较差异有统计学意义($P < 0.01$)。见图 4。



注:与对照组比较, ** $P < 0.01$;
与 LPS 组比较, ## $P < 0.01$ 。

图 4 各组心肌细胞内 PLB 和 SERCA mRNA 水平检测

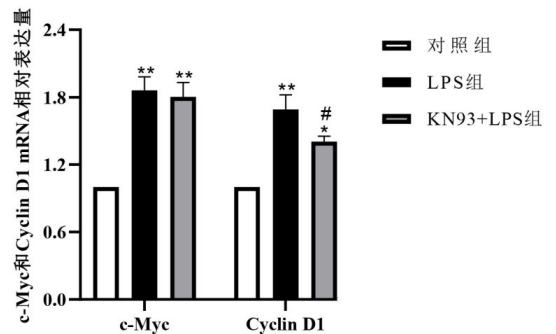
2.3.3 抑制 CaMK II 对 LPS 诱导的 Wnt4 和 β -catenin mRNA 水平的影响
LPS 组细胞受 LPS 影响,Wnt4 和 β -catenin mRNA 表达水平升高,且高于对照组($P < 0.05$ 或 0.01)。对比于 LPS 组,KN93 + LPS 组细胞内 Wnt4 mRNA 表达水平的降低($P < 0.05$),而 β -catenin mRNA 含量水平无明显变化($P > 0.05$)。见图 5。



注:与对照组比较, ** $P < 0.01$, * $P < 0.05$;
与 LPS 组比较, ## $P < 0.01$, # $P < 0.05$ 。

图 5 各组心肌细胞内 Wnt4 和 β -catenin mRNA 水平检测

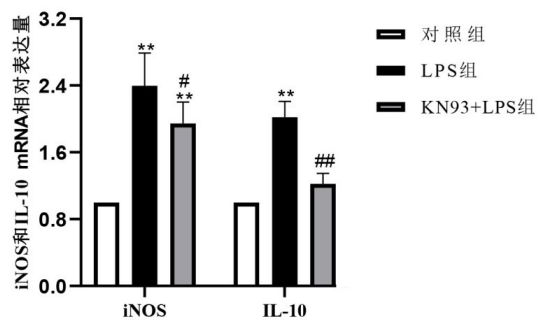
2.3.4 抑制 CaMK II 对 LPS 诱导的 c-Myc 和 Cyclin D1 mRNA 水平的影响
LPS 组细胞内 c-Myc 和 Cyclin D1 的 mRNA 水平显著增加,对比于对照组差异有统计学意义($P < 0.01$)。而在 KN93 + LPS 组,KN93 可降低 LPS 对 Cyclin D1 mRNA 的促进作用(对比 LPS 组, $P < 0.05$)。见图 6。



注:与对照组比较, ** $P < 0.01$, * $P < 0.05$;
与 LPS 组比较, # $P < 0.05$ 。

图 6 各组心肌细胞内 c-Myc 和 Cyclin D1 mRNA 水平检测

2.3.5 抑制 CaMK II 可降低 LPS 诱导的 iNOS 和 IL-10 mRNA 水平
对比于对照组,LPS 组细胞内 iNOS 和 IL-10 mRNA 水平显著增加($P < 0.01$)。而 KN93+LPS 组内 iNOS 和 IL-10 mRNA 水平低于 LPS 组($P < 0.05$ 或 < 0.01)。见图 7。



注:与对照组比较, ** $P < 0.01$;
与 LPS 组比较, ## $P < 0.01$, # $P < 0.05$ 。

图 7 各组心肌细胞内 iNOS 和 IL-10 mRNA 水平检测

3 讨论

心肌细胞胞浆中的 Ca^{2+} 含量受内质网和线粒体共同调控^[6],同时也受多种钙离子通道以及钙离子调控相关信号通路的共同影响。心肌细胞被 LPS 损伤后,细胞内受磷蛋白 PLB 功能下降,肌质网摄取钙减少,细胞膜上的钠钙交换减少,细胞胞浆 Ca^{2+} 不能及时降低至正常水平,造成细胞胞浆钙超载,导致钙稳态失衡^[9],损伤心肌细胞兴奋收缩功能^[1-2]。研究表明^[6],KN93 通过抑制 CaMK II 的活性并降低其磷酸化水平,从而对 CaMK II 发挥特异性抑制作用。研究证实,KN93 抑制 CaMK II,降低缺血再灌注损伤钙波的产生,从而降低再灌性心律失常的发生。KN93 抑制 CaMK II 活性,可有效降低 LPS 所致细胞内钙超载,与上述结果一致。

此外,LPS 诱导细胞内 ROS 过度增加,破坏细胞膜结构^[10],诱发内质网应激和细胞凋亡^[11]。本研究表明,CaMK II 表达降低可减少细胞 ROS 含量,防止 ROS 对心肌细胞进一步损伤。

Wnt 信号通路有 Wnt 经典通路和 Wnt 非经典通路两种。Wnt 经典通路,又称 Wnt/ β -catenin 信号通路,具有调控细胞生长、增殖以及凋亡的作用。Wnt/ β -catenin 信号通路可作为心血管疾病发生发展的生物标志物,参与心肌损伤及修复调控。在 LPS 损伤心肌细胞内可检测到 Wnt/ β -catenin 表达增加^[12], β -catenin 从细胞膜上不断进入细胞浆,并在胞浆内大量聚集。当 β -catenin 浓度过高时, β -catenin 进入细胞核,激活下游细胞周期素 D1(cyclin D1)和 C-myc 等细胞肥大相关基因,最终导致心肌细胞肥大性病变^[13]。Wnt 非经典通路又分为 Wnt/ Ca^{2+} 通路和 Wnt/JNK 通路。Wnt/ Ca^{2+} 通路下游信号分子有磷脂酶 C、钙离子、CaMK II 等分子。胞浆 Ca^{2+} 增加可激活 CaMK II 进而促进细胞核内肥大相关蛋白的活性,进一步加速心肌肥大病程^[13]。Wnt/JNK 通路下游有 C-Jun 氨基末端激酶(JNK)和细胞核内转录因子 C-Jun 等分子^[13],该通路的激活与心肌肥大、纤维化等病理过程相关。本研究观察到 LPS 损伤的心肌细胞中,Wnt/ β -catenin、c-Myc/CyclinD1 的活性均增加;而抑制 CaMK II 表达,可显著抑制 Wnt4、CyclinD1 mRNA 的表达水平。

作为非 Ca^{2+} 依赖型 NOS 亚型,iNOS 受 LPS 刺激后大量增加,并能够持续性大量释放 $\text{NO}^{[14]}$ 。此外,暴露于 LPS 的心肌细胞可分泌大量炎症因子(TNF- α 、IL-1 β 以及 IL-6 等)^[15-16]。本研究发现抑制 CaMK II 的表达可抑制 iNOS、IL-10 转录,降低炎症反应的进一步发展。综上所述,本研究发现 CaMK II 通过调控心肌细胞内钙调蛋白 PLB、SERAR, Wnt 通路的

Wnt4、CyclinD1,以及炎症通路的 iNOS、IL-10 的基因表达水平,减轻 LPS 所致的心肌细胞内 Ca^{2+} 和 ROS 水平增加。这表明 CaMK II 可能是脓毒症心肌炎的一个潜在治疗靶点。但本文的实验结果尚不够完善,还需要体内实验进一步验证。

参考文献:

- [1] 曹剑英,史慧婷,刘雪蒙,等. ZBTB20 对脂多糖诱导的大鼠心肌细胞的保护作用[J]. 郑州大学学报(医学版), 2021,56(2):184-187.
- [2] 杭成文,崔鸣. 脓毒症致心肌损伤模型的研究进展[J]. 中国心血管杂志, 2020,25(5):485-488.
- [3] Mattiazzi A, Bassani RA, Escobar AL, et al. Chasing cardiac physiology and pathology down the CaMKII cascade[J]. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2015, 308(10): H1177-91.
- [4] 王艳,赵然尊,刘德斌,等. miR-214 靶向抑制 CaMK II 调控 H9c2 心肌细胞的氧化应激[J]. 第三军医大学学报, 2019,41(13):1206-1215.
- [5] 钟鹏. CaMK II 在肥胖诱导的心肌重构以及心律失常中的作用及机制研究[D]. 武汉:武汉大学,2018.
- [6] 齐田田. 丹参素钠通过抑制 CaMK II 介导的 RyR2 磷酸化防治 I/R 心律失常[D]. 上海:上海中医药大学,2019.
- [7] 申阳. FAT10 调控钙调蛋白激酶 II CaMK2D 对心肌肥厚的影响及机制研究[D]. 南昌:南昌大学,2016.
- [8] 王丹丹. PKA 和 CaMK II 介导的 RyR2 磷酸化在心律失常中的作用研究[D]. 武汉:武汉大学,2017.
- [9] 魏雅念,王龙,王晔. 钙循环与脓毒症心功能不全研究进展[J]. 医学综述, 2017,23(2):302-306.
- [10] 杨涛,许美霞,刘涛,等. 灯盏花素调控 miR-499 对脂多糖所致心肌 H9c2 细胞损伤的保护机制[J]. 中国临床药理学杂志, 2020,36(10):1328-1332.
- [11] 周海东,罗昊翔. 半枝莲化学成分对肿瘤细胞信号传导通路的影响[J]. 右江民族医学院学报, 2020,42(2):233-235.
- [12] 郝星,龙仙萍,王正龙. 参麦注射液对内毒素诱导心肌细胞凋亡的抑制作用及机制[J]. 现代预防医学, 2018,45(16):3058-3062.
- [13] 蒋嘉辉. Wnt 通路抑制剂 Wnt-C59 对病理性心肌肥大治疗作用的研究[D]. 重庆:第三军医大学,2015.
- [14] 陈艳明,陈琪,王士雯. 脓毒症时各型一氧化氮合酶在大鼠心脏中的表达及其可能机制[J]. 中华老年多器官疾病杂志, 2010,9(6):533-536.
- [15] 樊君,乔迪,陈广. 大黄素对 LPS 诱导的心肌细胞炎症反应和细胞凋亡的影响及机制[J]. 中成药, 2021,43(3):630-635.
- [16] 朴海今,金春子. 一氧化氮合酶在心肌的研究进展[J]. 中国妇幼健康研究, 2016,27(1):236-237.

收稿日期:2021-04-08;修回日期:2021-05-07