

抑制 ERK1/2 通路激活改善大鼠心房纤维化和缝隙连接蛋白 40 重构

王智刚¹, 张卫泽^{2*}, 马 凌², 陈永清², 李 涛², 苏芳菊³, 李沛鸿¹

1. 兰州大学第二医院心血管内科, 兰州 730050
2. 兰州军区兰州总医院心血管内科, 兰州 730050
3. 第四军医大学西京医院心血管内科, 西安 710000

[摘要] **目的** 探讨 ERK1/2 通路抑制剂 U0126 对盐酸异丙基肾上腺素(ISO)诱导的大鼠心房纤维化和缝隙连接蛋白 40(Cx40)重构的影响。**方法** 将 32 只雄性 SD 大鼠随机等分为空白对照组、DMSO 组、ISO[5 mg/(kg·d)]+DMSO 组(模型组)和 ISO[5 mg/(kg·d)]+U0126[0.5 mg/(kg·d)]+DMSO 组(干预组)。每组 1 次/d 给予相关试剂,连续 7 d 后处死大鼠并取心肌组织。用放射免疫法测血管紧张素 II(Ang II)含量;H-E 和 Masson 染色法观察心肌纤维化程度;免疫组化法测定磷酸化丝裂原活化蛋白激酶激酶 1/2(p-MEK1/2)、磷酸化细胞外信号调节激酶 1/2(p-ERK1/2)以及 Cx40 的表达。**结果** (1)空白对照组[(242.133±4.870) ng/L]与 DMSO 组[(239.412±1.795) ng/L]的 Ang II 含量差异无统计学意义,而模型组[(500.250±8.869) ng/L]和干预组[(498.695±9.340) ng/L]的 Ang II 含量较空白对照组与 DMSO 组均升高,差异有统计学意义(P 均 <0.01)。(2)空白对照组与 DMSO 组无心房纤维化,而干预组心房纤维化程度较模型组减弱($P<0.01$)。(3)空白对照组与 DMSO 组中 p-MEK1/2 和 p-ERK1/2 的含量差异无统计学意义,模型组中两者含量较空白对照组与 DMSO 组均增加(P 均 <0.01),干预组中两者含量与空白对照组和 DMSO 组比较差异均无统计学意义,而与模型组比较差异有统计学意义($P<0.01$)。(4)空白对照组与 DMSO 组中 Cx40 含量差异无统计学意义且呈线性分布于心肌细胞闰盘处,模型组中 Cx40 含量较空白对照组和 DMSO 组均减少(P 均 <0.01)且分布无规律性,而干预组中 Cx40 含量与空白对照组和 DMSO 组比较差异均无统计学意义且部分呈线性分布于心肌细胞闰盘处;干预组中 Cx40 含量减少程度较模型组减弱($P<0.01$),且部分呈线性分布于心肌细胞闰盘处。**结论** 心肌组织中 Ang II 含量长期升高可能参与了心房纤维化的形成和 Cx40 重构, U0126 通过抑制 ERK1/2 通路激活可有效改善心房纤维化程度和 Cx40 重构。

[关键词] 心房颤动;纤维化;连接蛋白 40;MEK1/2;ERK1/2

[中图分类号] R 542.23 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 0258-879X(2012)03-0259-06

Inhibiting activation of ERK1/2 pathway improves atrial fibrosis and connexin40 remodeling in rats

WANG Zhi-gang¹, ZHANG Wei-ze^{2*}, MA Ling², CHEN Yong-qing², LI Tao², SU Fang-ju³, LI Pei-hong¹

1. Department of Cardiology, The Second Affiliated Hospital of Lanzhou University, Lanzhou 730050, Gansu, China
2. Department of Cardiology, General Hospital of PLA Lanzhou Military Area Command, Lanzhou 730050, Gansu, China
3. Department of Cardiology, Xijing Hospital, Fourth Military Medical University, Xi'an 710000, Shaanxi, China

[Abstract] **Objective** To investigate the effects of extracellular signal-regulated kinase 1/2(ERK1/2) pathway inhibitor U0126 on isopreterenol(ISO)-induced atrial fibrosis and connexin 40 (Cx40) remodeling in rats. **Methods** Thirty-two male SD rats were evenly randomized into control group, DMSO group, ISO (5 mg/[kg·d])+DMSO group (fibrosis group), and ISO (5 mg/[kg·d])+U0126 (0.5 mg/[kg·d])+DMSO group (U0126-treated group). The corresponding reagents were given to each group once a day and the rats were killed and the myocardial tissues were collected after 7 d. The Ang II contents in the myocardial tissues were measured by radioimmunoassay; H-E staining and Masson staining were applied to measure the degree of atrial fibrosis; p-MEK1/2, p-ERK1/2, and Cx40 were detected by immunohistochemistry method. **Results** (1) The contents of Ang II were similar between control group ([242.133±4.870] ng/L) and DMSO ([239.412±1.795] ng/L) group ($P>0.05$). Compared with the above two groups, Ang II contents in fibrosis group ([500.250±8.869] ng/L) and U0126-treated group([498.695±9.340]ng/L) were significantly increased (P all <0.01). (2) Control group and DMSO group had no atrial fibrosis; the degree of atrial fibrosis in U0126-treated group was significantly lower than that in the fibrosis group($P<$

[收稿日期] 2011-11-01 **[接受日期]** 2012-02-06

[作者简介] 王智刚, 硕士生. E-mail: wangzhigang4211970@163.com

* 通信作者(Corresponding author). Tel: 0931-8994224, E-mail: zhangzwz@medmail.com.cn

0.01)。 (3) p-MEK1/2 和 p-ERK1/2 表达在对照组和 DMSO 组 ($P > 0.05$), 而在纤维化组显著增加, 与对照组和 DMSO 组 ($P < 0.01$); 在 U0126 处理组与对照组和 DMSO 组 ($P > 0.05$), 与纤维化组 ($P < 0.01$) 相比显著减少。 (4) Cx40 在心肌细胞间质呈线性分布, 纤维化组 Cx40 含量显著减少 ($P < 0.01$), 在 U0126 处理组与对照组和 DMSO 组 ($P > 0.05$) 相似, 且 Cx40 在心肌细胞间质呈线性分布。同时, U0126 处理组 Cx40 含量减少程度较纤维化组 ($P < 0.01$) 显著, 且 Cx40 在心肌细胞间质呈线性分布。 **Conclusion** Long-term Ang II 升高在心肌中可能参与心房纤维化和 Cx40 重塑, 且 U0126 能有效地改善心房纤维化和 Cx40 重塑, 通过抑制 ERK1/2 通路。

[Key words] atrial fibrillation; fibrosis; connexin 40 remodeling; MEK1/2; ERK1/2

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2012, 33(3): 259-264]

心房颤动 (auricular fibrillation, AF) 是临床最常见的心律失常之一, 近年来, 有关血管紧张素 II (angiotensin II, Ang II) 与 AF 的相互影响机制已被人们所关注。AF 发生时, 心肌组织中 Ang II 含量增高, 被认为是房性心律失常发生的重要诱发因素^[1]。随着对 AF 机制研究的不断深入, 发现心房结构重构 (structural remodeling, SR), 尤其是心房纤维化和心肌缝隙连接蛋白 (connexin, Cx) 重构在 AF 的发生和发展中起着重要的作用^[2-3]。在一项关于肥厚性心肌病的研究中发现, 心房纤维化、Cx40 重构以及房性心律失常与心肌组织中 Ang II 含量有关^[4]。Ang II 通过与细胞 G 蛋白偶联的 Ang II 的 I 型受体 (AT1R) 相结合, 主要激活丝裂原活化蛋白激酶家族 (MAPKs) 中的细胞外信号调节激酶 (extracellular signal-regulated kinase, ERK) 途径^[5], 经一系列细胞内复杂的信号网络, 最终诱导产生多种细胞生物学效应, 如: 有研究认为 ERK 途径或通路的激活是 Ang II 诱发心房纤维化和 Cx 重构的可能机制之一^[6-8]。丝裂原活化蛋白激酶激酶 1/2 (MEK1/2) 作为 ERK 通路中关键激酶 ERK1/2 的上游激活酶^[9] 是该通路中的重要环节, 而通过以 MEK1/2 为靶点, 抑制其磷酸化进而抑制 ERK1/2 的磷酸化, 最终可能抑制心房纤维化和 Cx40 重构, 目前这方面的相关研究尚不多见。本研究参考 Zhang 等^[10] 方法采用大剂量盐酸异丙肾上腺素 (isopreterenol, ISO) 皮下注射诱导产生大鼠心房纤维化模型, 从蛋白水平初步探讨 MEK1/2 抑制剂 U0126 对 Ang II 诱发的心房纤维化及 Cx40 重构的影响。

1 材料和方法

1.1 动物分组及模型建立 将体质量为 (180 ± 20) g 的 32 只 SPF 级雄性 SD 大鼠 [购自甘肃省中医学实验动物中心; 实验动物生产许可证号: SCXK (甘) 2011-0001, 使用许可证号: SYXK (军) 2009-022] 随机等分成 4 组: 空白对照组、DMSO 组、ISO + DMSO 组 (模型组) 和 ISO + U0126 + DMSO 组 (干预组)。模型组和干预组大鼠按 5 mg/kg 体质量腹部皮下注射 ISO (购自上海禾丰制药有限公司), 1 次/d。干预组于 ISO 注射 30 min 后按 0.5 mg/kg 体质量尾静脉注射 U0126 [购自美国 Sigma 公司, 使用时溶解于 DMSO (上海碧云天生物技术有限公司)], 1 次/d; 模型组同时尾静脉注射与干预组等量的 DMSO。空白对照组大鼠腹部皮下和尾静脉分别注射与模型组和干预组等量的生理盐水。DMSO 组腹部皮下注射与模型组等量的生理盐水, 同时尾静脉注射与干预组等量的 DMSO。

1.2 标本采集及处理 4 组大鼠常规饲养 7 d 后颈椎脱臼处死。沿心脏冠状面最大横径剪开大鼠心脏, 取心房组织置于 10% 甲醛溶液中固定, 经石蜡包埋后, 沿切面连续切片 5 张, 每张厚 4 μm, 其中 2 张分别用 H-E 染色和 Masson 染色观察心房纤维化程度, 并以胶原容积分数 (CVF) 作为心房纤维化指标, 而另外 3 张用免疫组化法分别检测 p-MEK1/2、p-ERK1/2 及 Cx40 含量, 并对其结果做半定量分析。剩余心脏组织装入冻存管于液氮罐中保存, 用放射免疫法检测其 Ang II 含量。

1.3 大鼠心肌组织中 Ang II 含量测定 取液氮罐

中冻存心肌组织各 100 mg,用玻璃匀浆器进行研磨并加入 2 ml 0.01 mol/L 磷酸盐缓冲液(PBS, pH 7.4)和 2 种酶抑制剂(10 μ l 0.32 mol/L 二巯基丙醇、20 μ l 0.34 mol/L 8-羟基喹啉硫酸盐),摇匀后置离心机中以 2 148 \times *g* 离心 5 min,取上清液,用放射免疫试剂盒(购自北京北方生物技术研究所)测其 Ang II 浓度(ng/L)。

1.4 常规 H-E 染色、Masson 法胶原染色及 CVF 计算 心肌组织切片烤热后于二甲苯和梯度乙醇中脱蜡至水;苏木精染色 5 min;流水稍洗;1%盐酸乙醇迅速分化;流水稍洗;促蓝液返蓝数秒;流水冲洗,依次行 H-E 染色和 Masson 染色。光镜下观察、摄片。每张 Masson 染色切片选取 3 个无血管视野(\times 400),采用 Image-Pro plus 6.0 图像扫描软件进行图像分析,计算心肌 CVF。CVF(%) = 胶原面积/全视野面积 \times 100%。

1.5 免疫组化法检测 p-MEK1/2、p-ERK1/2 以及 Cx40 的含量 将心肌组织切片置于 60 $^{\circ}$ C 烤箱中 30 min,依次行二甲苯与梯度乙醇脱蜡至水;蒸馏水冲洗 2 min \times 3 次;抗原修复;蒸馏水冲洗 3 min \times 3 次;3% H₂O₂ 室温孵育 10 min;PBS 冲洗 3 min \times 3 次;山羊血清封闭后室温孵育 15 min;滴加 1:150 兔抗鼠一抗工作液(分别为 p-MEK1/2 与 p-ERK1/2 多克隆抗体以及 Cx40 单抗,购自北京博奥森生物技术有限公司)37 $^{\circ}$ C 孵育 2 h;PBS 冲洗 3 min \times 3 次;加入抗兔二抗工作液(购自北京博奥森生物技术有限公司)后于 37 $^{\circ}$ C 温箱孵育 15 min;PBS 洗 3 min \times 3 次;加入 ABC 复合物之类的抗体后 37 $^{\circ}$ C 温箱孵育 15 min;PBS 洗 3 min \times 3 次;室温下 DAB 显色 6 min;自来水充分冲洗;复染;脱水;透明;封片。每张切片中随机各取 3 个无血管视野(\times 400),测定每个视野下阳性物质的平均光密度(*D* 值),利用 BI-2000 医学图像分析系统(成都泰盟科技有限公司)对其光密度参数进行半定量分析。

1.6 统计学处理 应用 SPSS 17.0 软件进行统计分析,所有数据结果均以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用单因素方差分析,两两比较用 LSD 法,并采用 Pearson 积差进行相关性分析,检验水平(α)为 0.05。

2 结果

2.1 大鼠心肌组织中 Ang II 含量测定 结果显示:空白对照组[(242.133 \pm 4.870) ng/L]与 DMSO 组[(239.412 \pm 1.795) ng/L]的 Ang II 含量差异无

统计学意义,而模型组[(500.250 \pm 8.869) ng/L]和干预组[(498.695 \pm 9.340) ng/L]的 Ang II 含量较空白对照组与 DMSO 组均升高,差异有统计学意义(P 均 $<$ 0.01)。

2.2 各组大鼠心肌纤维化程度及 CVF

2.2.1 H-E 染色结果 H-E 染色光镜下可见空白对照组与 DMSO 组心肌组织的细胞核呈蓝色,细胞质、肌纤维、胶原纤维和红细胞呈深浅不一的红色,且心肌细胞核间距、细胞核走行以及心肌组织间质纤维排列规整,无纤维化表现(图 1A、1B)。模型组和干预组心肌组织间质成分均增多,且细胞核间距增宽,但干预组细胞核走行、心肌组织间质纤维增多程度以及间质纤维排列不规则程度较模型组均有一定程度减轻(图 1C、1D)。

2.2.2 Masson 染色结果和 CVF Masson 染色结果见图 1E~1H。光镜下可见正常心肌组织间质胶原成分呈绿色(用亮绿复染),细胞质、心肌纤维和红细胞呈红色,细胞核呈蓝色。结果显示:空白对照组[CVF(9.810 \pm 0.352)%]与 DMSO 组[CVF(10.080 \pm 0.254)%]无心房纤维化,而干预组心房纤维化程度较模型组减弱[CVF(10.465 \pm 0.789)% vs (82.798 \pm 1.730)%, P $<$ 0.01]。

2.3 免疫组化染色结果

2.3.1 大鼠心肌细胞中 p-MEK1/2 和 p-ERK1/2 的含量 免疫组化法染色结果见图 2。光镜下可见正常心肌细胞的 p-MEK1/2、p-ERK1/2 均分布于心肌细胞质中,阳性染色呈棕黄色。各组两者半定量分析结果(图 3)显示:空白对照组与 DMSO 组的差异无统计学意义;模型组较空白对照组、DMSO 组均增加,差异有统计学意义(P 均 $<$ 0.01);干预组与空白对照组和 DMSO 组比较差异无统计学意义,而与模型组比较差异有统计学意义(P $<$ 0.01)。

2.3.2 大鼠心肌细胞中 Cx40 含量及分布 光镜下可见正常心肌组织 Cx40 阳性染色呈现棕黄色颗粒,呈线性分布于心肌细胞闰盘处(图 2)。免疫组化法染色(图 2)及半定量分析(图 3)结果显示:空白对照组与 DMSO 组中 Cx40 含量差异无统计学意义,且呈线性分布于心肌细胞闰盘处;模型组中 Cx40 含量较空白对照组与 DMSO 组均减少(P 均 $<$ 0.01),且分布无规律性;干预组与空白对照组和 DMSO 组比较差异无统计学意义,且部分呈线性分布于心肌细胞闰盘处。干预组 Cx40 含量减少程度较模型组减弱(P $<$ 0.01)。

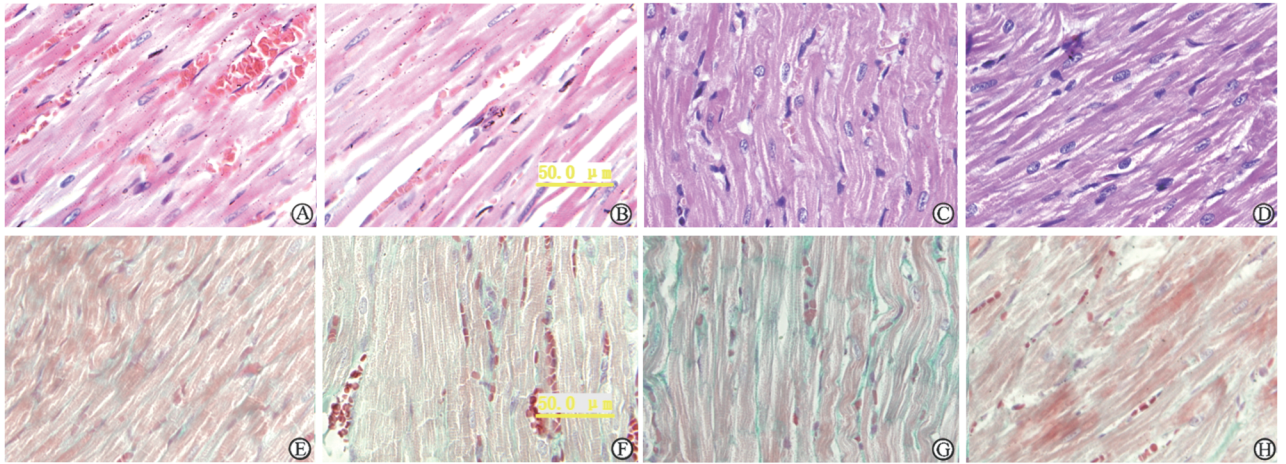


图 1 心肌间质纤维化 H-E 染色(A~D)和 Masson 染色(E~H)结果

Fig 1 Degree of myocardial fibrosis by H-E staining (A-D) and Masson staining(E-H)

A, E: Control group; B, F: DMSO group; C, G: Fibrosis group; D, H: U0126-treated group. The green segments represent the collagen in myocardial stroma. Original magnification: ×400

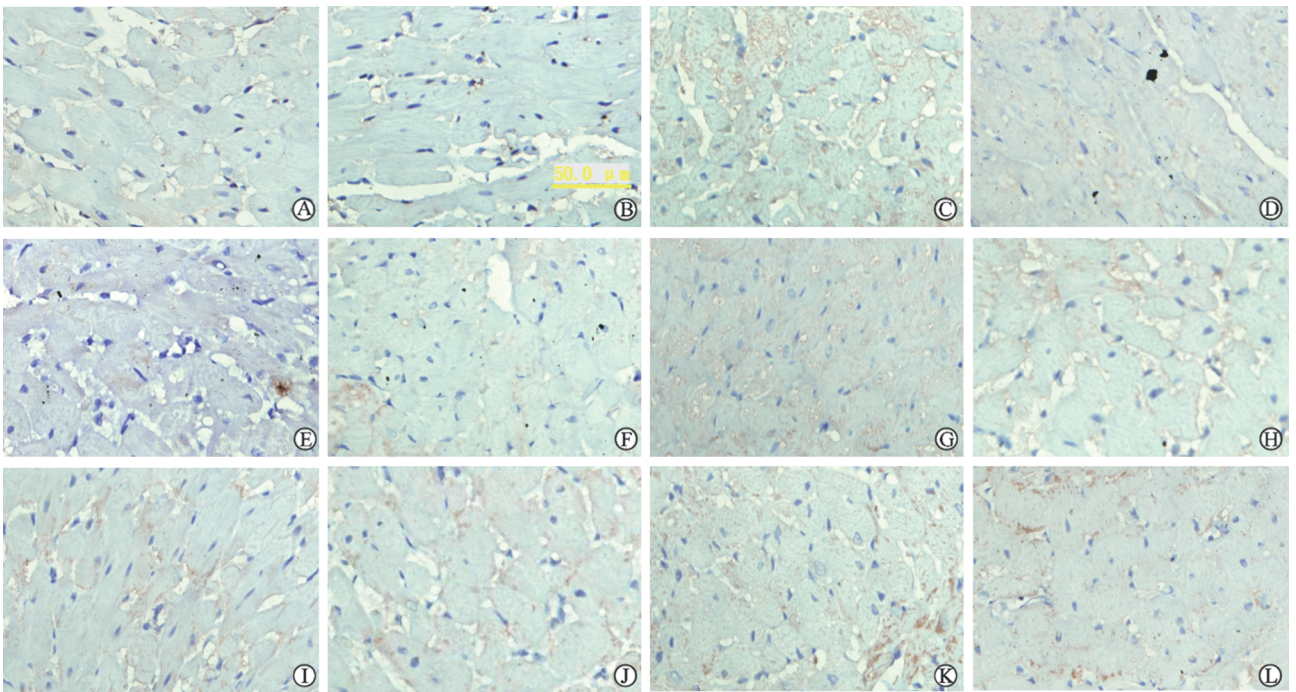


图 2 各组大鼠心肌细胞免疫组化染色结果

Fig 2 Immunohistochemistry staining of myocardial cells in rats

A, E, I: Control group; B, F, J: DMSO group; C, G, K: Fibrosis group; D, H, L: U0126-treated group. A-D: p-MEK1/2(Claybank spots); E-H: p-ERK1/2(Claybank spots); I-L: Cx40(Claybank spots). Normally, Cx40 was linearly distributed in myocardial cell intercalated disc. The Cx40 distribution in L is similar to the distribution in I and J, and most of them were linearly distributed in myocardial cell intercalated disc. Original magnification: ×400

2.4 相关性分析 采用 Pearson 积差相关性分析, 结果显示心肌组织中 p-MEK1/2 和 p-ERK1/2 的含量均与心房纤维化程度呈正相关 ($r = 0.988,$

$P < 0.01; r = 0.98, P < 0.01$); 与 Cx40 含量呈负相关 ($r = -0.932, P < 0.01; r = -0.924, P < 0.01$)。

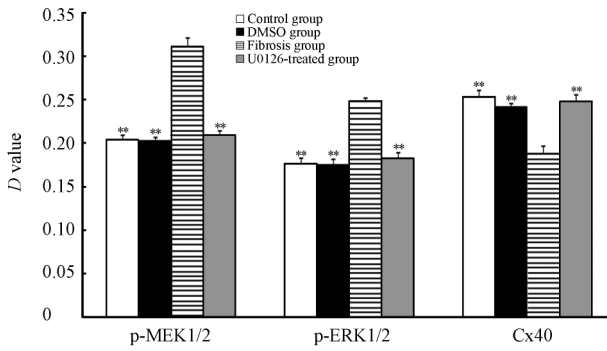


图3 各组大鼠心肌细胞中 p-MEK1/2、p-ERK1/2 和 Cx40 的半定量分析结果

Fig 3 Semi-quantitative analysis of p-MEK1/2, p-ERK1/2, and Cx40 in rat myocardial cells

** $P < 0.01$ vs fibrosis group; $n = 8$, $\bar{x} \pm s$

3 讨论

Ang II 作为循环和局部组织的肾素-血管紧张素系统 (RAS) 的主要效应分子^[11], 通过与细胞 G 蛋白偶联的 AT1R 相结合, 主要激活 MARKs 中 ERK 通路^[5], 经一系列细胞内复杂的信号网络, 最终产生多种细胞学效应, 如 Sugden 等^[6]提到 Ang II 与成纤维细胞 AT1R 相结合, 经 ERK 通路诱导成纤维细胞增殖, 促进 I、III 型胶原 mRNA 表达增多, 进而使得 I、III 型胶原合成与分泌增加而造成心肌间质纤维化; 同时 Ruch 等^[8]发现 ERK 的激活可使 Cx 肽链 C 端丝氨酸残基上 255、279、282 多个位点磷酸化, 参与 Cx 重构的形成, 因此, ERK 通路的激活与 Ang II 诱发的心房纤维化和 Cx 重构的关系极为密切。MAPKs 是细胞内一类丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶, 可被细胞外多种刺激信号如激素、趋化因子以及应激刺激等所激活, 进而调节多种细胞生物学活动, 如细胞增殖、分化、发育、凋亡等^[12]。已发现心室肌和心房肌均存在 MAPK 信号通路^[13], 而 ERK 通路作为真核生物中已明确的 4 条 MAPKs 信号转导通路 (ERK 通路、JNK 通路、P38 通路、ERK5 通路) 中主要和经典的通路, 参与诱导产生多种生物细胞学效应, 如: 细胞的分化、增殖和凋亡等^[14]。ERK 包含 2 个高度同源的亚类, 即: ERK1 和 ERK2^[15]。ERK1/2 作为 ERK 通路的关键激酶, 作用机制非常复杂, 它主导的信号转导途径与其他多种信号途径相互交联, 从而诱导产生多种细胞学效应^[16-17]。

心肌闰盘处的特殊结构缝隙连接 (gap junction, GJ) 作为相邻心肌细胞间电和化学信号传递的通道, 在促使动作电位的协同扩布、实现心肌细胞运动同步化中发挥重要作用^[18-19], 心肌 GJ 中所包含的结构蛋白 Cx 组成不同^[20], 而 Cx40 作为心房中主要的连接蛋白, 端端连接是其在心肌细胞闰盘处主要的分布形式, 其数量、面积以及空间分布异常即 Cx40 重构是心房结构重构和电重构 (electrical remodeling, ER) 的重要因素。

本实验中给予大鼠连续皮下注射 ISO 7 d 后, 发现模型组和干预组心肌组织中 Ang II 含量与空白对照组和 DMSO 组相比均增高 (P 均 < 0.01), 表明注射 ISO 后, 心肌组织 Ang II 含量升高, RAS 启动。同时, 本实验还从组织形态学观察各组心肌纤维化程度, 发现空白对照组与 DMSO 组无心房纤维化, 而模型组心肌间质明显纤维化, 由此可见, 心肌组织中 Ang II 含量升高可能诱导心房纤维化的形成。上述结果与 Zhang 等^[10]的结果基本相符。另外, 通过免疫组化法检测发现, 模型组心肌细胞中 p-MEK1/2、p-ERK1/2 含量较空白对照组和 DMSO 组均增高 (P 均 < 0.01), 而 Cx40 含量减少 ($P < 0.01$) 且分布无规律性, 因此我们推断心肌组织 Ang II 含量的增多可能通过激活 ERK 通路的 ERK1/2, 最终导致心肌纤维化和 Cx40 重构。

MEK1/2 作为 ERK1/2 上游激活酶^[9], 通过磷酸化 ERK1/2 使其活化, 进而介导细胞外信号的核内转导, 在 ERK 通路中起重要调节作用, 试想通过以 MEK1/2 为作用靶点, 抑制其活化进而抑制 ERK1/2 的活化, 最终可能会减弱或抑制心房纤维化和 Cx40 的重构。U0126 作为一种高选择性和高效的 MAPK 系统阻滞剂, 通过抑制 ERK1/2 的上游激酶 MEK1/2 的磷酸化即 MEK1/2 的活化来阻滞 ERK1/2 的磷酸化即 ERK1/2 的活化过程, 从而达到抑制其信号的核内转导作用^[21], 可能进一步抑制心肌纤维化及 Cx40 的重构。

本实验干预组给予 U0126 干预后, 结果发现其纤维化程度较模型组明显减轻, 同时 p-MEK1/2、p-ERK1/2 含量较模型组均明显减少 ($P < 0.01$), Cx40 含量减少程度较模型组明显减弱 ($P < 0.01$) 且部分呈线性分布于心肌细胞闰盘处, 表明 U0126 通过抑制 MEK1/2 激活进而抑制 ERK1/2 的激活, 最

终可有效抑制心肌纤维化和 Cx40 重构。

总之,本实验结果表明心肌组织中 Ang II 含量长期升高可能参与心房纤维化的形成和 Cx40 的重构,其机制可能是通过激活 ERK 通路中的主要激酶 ERK1/2,而 U0126 通过抑制其上游激酶 MEK1/2 的活性从而进一步阻断 ERK1/2 的核内信号转导作用,最终有效改善心房纤维化和 Cx40 重构,这一结果可能为 AF 发病机制的深入研究、预防以及治疗药物的研发提供新的作用靶点。

4 利益冲突

所有作者声明本文不涉及任何利益冲突。

[参考文献]

[1] Olsen K B, Braunstein T H, Sørensen C M, Axelsen L N, Holstein-Rathlou N H, Nielsen M S. Angiotensin II does not acutely regulate conduction velocity in rat atrial tissue[J]. Scand J Clin Lab Invest, 2011, 71: 492-499.

[2] Pellman J, Lyon R C, Sheikh F. Extracellular matrix remodeling in atrial fibrosis: mechanisms and implications in atrial fibrillation[J]. J Mol Cell Cardiol, 2010, 48: 461-467.

[3] Severs N J, Coppens S R, Dupont E, Yeh H I, Ko Y S, Matsushita T. Gap junction alterations in human cardiac disease[J]. Cardiovasc Res, 2004, 62: 368-377.

[4] Liu F, Levin M D, Petrenko N B, Lu M M, Wang T, Yuan L J, et al. Histone-deacetylase inhibition reverses atrial arrhythmia inducibility and fibrosis in cardiac hypertrophy independent of angiotensin[J]. J Mol Cell Cardiol, 2008, 45: 715-723.

[5] Yamazaki T, Komuro I, Shiojima I, Yazaki Y. The molecular mechanism of cardiac hypertrophy and failure[J]. Ann N Y Acad Sci, 1999, 874: 38-48.

[6] Sugden P H, Clerk A. Regulation of the ERK subgroup of MAP kinase cascades through G protein-coupled receptors[J]. Cell Signal, 1997, 9: 337-351.

[7] 张卫泽, 邵鹏, 陈永清, 马凌, 张明旭. 血管紧张素 II 对大鼠心房纤维化及 Cx40 重构的影响[J]. 中国心脏起搏与心电生理杂志, 2007, 21: 354-357.

[8] Ruch R J, Trosko J E, Madhukar B V. Inhibition of connexin43 gap junctional intercellular communication by TPA requires ERK activation[J]. J Cell Biochem, 2001, 83: 163-169.

[9] Wu X, Simpson J, Hong J H, Kim K H, Thavarajah N K, Backx P H, et al. MEK-ERK pathway modulation ameliorates disease

phenotypes in a mouse model of Noonan syndrome associated with the Raf1(L613V) mutation[J]. J Clin Invest, 2011, 121: 1009-1025.

[10] Zhang Y G, Li Y G, Liu B G, Wei R H, Wang D M, Tan X R, et al. Urotensin II accelerates cardiac fibrosis and hypertrophy of rats induced by isoproterenol[J]. Acta Pharmacol Sin, 2007, 28: 36-43.

[11] Matsushita K, Wu Y, Okamoto Y, Pratt R E, Dzau V J. Local renin angiotensin expression regulates human mesenchymal stem cell differentiation to adipocytes[J]. Hypertension, 2006, 48: 1095-1102.

[12] Hadwiger J A, Nguyen H N. MAPKs in development: insights from Dictyostelium signaling pathways[J]. Biomol Concepts, 2011, 2(1-2): 39-46.

[13] Page C, Doubell A F. Mitogen-activated protein kinase (MAPK) in cardiac tissues[J]. Mol Cell Biochem, 1996, 57(1-2): 49-57.

[14] Avruch J. MAP kinase pathways: the first twenty years[J]. Biochim Biophys Acta, 2007, 1773: 1150-1160.

[15] Widmann C, Gibson S, Jarpe M B, Johnson G L. Mitogen-activated protein kinase: conservation of a three-kinase module from yeast to human[J]. Physiol Rev, 1999, 79: 143-180.

[16] Black E J, Walker M, Clark W, MacLaren A, Gillespie D A. Cell transformation by v-Jun deactivates ERK MAP kinase signaling[J]. Oncogene, 2002, 21: 6540-6548.

[17] Tang D, Wu D, Hirao A, Lahti J M, Liu L, Mazza B, et al. ERK activation mediates cell cycle arrest and apoptosis after DNA damage independently of p53 [J]. J Biol Chem, 2002, 277: 12710-12717.

[18] Davis L M, Rodefeld M E, Green K, Beyer E C, Saffitz J E. Gap junction protein phenotypes of the human heart and conduction system[J]. J Cardiovasc Electrophysiol, 1995, 6(10 Pt 1): 813-822.

[19] Saffitz J E, Schuessler R B, Yamada K A. Mechanisms of remodeling of gap junction distributions and the development of anatomic substrates of arrhythmias[J]. Cardiovasc Res, 1999, 42: 309-317.

[20] 欧妍, 牛小麟, 韩振华, 任付先, 黄辰. 大鼠心脏结后延伸连接蛋白转录表达的定量研究[J]. 南方医科大学学报, 2007, 27: 812-816.

[21] Park E M, Joh T H, Volpe B T, Chu C K, Song G, Cho S. A neuroprotective role of extracellular signal-regulated kinase in N-acetyl-O-methyl dopamine-treated hippocampal neurons after exposure to *in vitro* and *in vivo* ischemia[J]. Neuroscience, 2004, 123: 147-154.

[本文编辑] 商素芳