

MC1568 对胎牛血清诱导的大鼠乳鼠心肌细胞肥大的作用及其机制研究



扫描二维码
查看更多

姬婧¹, 张海召², 朱祥彬¹, 陈泽娥¹, 欧阳昆富¹, 贺松³, 张佳纯³, 高燕²

【摘要】 目的 探讨MC1568对胎牛血清(FBS)诱导的大鼠乳鼠心肌细胞肥大的作用及其机制。方法 本实验时间为2021年5月至2022年11月。选取出生3 d内的SPF级SD大鼠乳鼠40只, 分离并培养其心肌细胞。取原代大鼠乳鼠心肌细胞, 将其随机分为对照组(不进行干预)、FBS组(加入20% FBS培养48 h以诱导心肌细胞肥大)、曲古抑菌素A(TSA)组(加入20% FBS及200 nmol/L TSA培养48 h)、MC1568组(加入20% FBS及10 μmol/L MC1568培养48 h)。采用α-辅肌动蛋白染色检测各组心肌细胞表面积, 采用RT-qPCR法检测各组心肌肥大标志物[心房利钠肽(ANP)、β-肌球蛋白重链(MHC)] mRNA表达水平, 采用Western blot检测各组心肌细胞中P300、组蛋白去乙酰化酶(HDAC)4、磷酸化HDAC4(pHDAC4)表达水平。结果 FBS组心肌细胞表面积大于对照组、TSA组、MC1568组($P < 0.05$)。FBS组ANP、β-MHC mRNA表达水平高于对照组、TSA组、MC1568组($P < 0.05$)。四组心肌细胞中HDAC4表达水平比较, 差异无统计学意义($P > 0.05$); FBS组心肌细胞中P300表达水平高于对照组、TSA组, pHDAC4表达水平高于对照组、TSA组、MC1568组($P < 0.05$)。结论 FBS可引起心肌细胞肥大, 而MC1568可以抑制心肌细胞肥大, 其保护作用可能与抑制HDAC4/MEF2D信号通路有关。

【关键词】 心肌疾病; 肌细胞, 心脏; 大鼠; MC1568; 胎牛血清; 组蛋白去乙酰化酶

【中图分类号】 R 542.2 **【文献标识码】** A DOI: 10.12114/j.issn.1008-5971.2023.00.283

Effect and Mechanism of MC1568 on Cardiomyocyte Hypertrophy Induced by Fetal Bovine Serum in Neonatal Rats

Ji Jing¹, ZHANG Haizhao², ZHU Xiangbin¹, CHEN Zee¹, OUYANG Kunfu¹, HE Song³, ZHANG Jiachun³, GAO Yan²

1. Department of Cardiovascular Surgery, Peking University Shenzhen Hospital, Shenzhen 518034, China

2. Department of Cardiovascular Medicine, Shenzhen Qianhai Shekou Free Trade Zone Hospital, Shenzhen 518101, China

3. Department of Medical Laboratory, Shenzhen Qianhai Shekou Free Trade Zone Hospital, Shenzhen 518101, China

Corresponding author: GAO Yan, E-mail: gaoyan_0222@163.com

【Abstract】 Objective To investigate the effect and mechanism of MC1568 on cardiomyocyte hypertrophy induced by fetal bovine serum (FBS) in neonatal rats. **Methods** This experiment was conducted from May 2021 to November 2022. Forty SPF grade SD neonatal rats born within 3 days were selected, and their myocardial cells were isolated and cultured. Primary neonatal rat cardiomyocytes were randomly divided into control group (without intervention), FBS group (cultured with 20% FBS for 48 h to induce cardiomyocyte hypertrophy), trichostatin A (TSA) group (cultured with 20% FBS and 200 nmol/L TSA for 48 h) and MC1568 group (cultured with 20% FBS and 10 μmol/L MC1568 for 48 h). The surface area of cardiomyocytes in each group was detected by α-coactin staining. The mRNA expression levels of myocardial hypertrophy markers [atrial natriuretic peptide (ANP), β-myosin heavy chain (MHC)] in each group were detected by RT-qPCR. Western blot was used to detect the expression levels of P300, histone deacetylase (HDAC) 4 and phosphorylated HDAC4 (pHDAC4) in cardiomyocytes of each group. **Results**

The surface area of cardiomyocytes in FBS group was larger than that in control group, TSA group and MC1568 group ($P < 0.05$). The mRNA expression levels of ANP and β-MHC in FBS group were higher than those in control group, TSA group and MC1568 group ($P < 0.05$). There was no significant difference in HDAC4 expression level among the four groups ($P > 0.05$). The expression level of P300 in cardiomyocytes of FBS group was higher than that of control group and TSA group, and the expression level of pHDAC4 was higher than that of control group, TSA group and MC1568 group ($P < 0.05$). **Conclusion** FBS can cause cardiomyocyte hypertrophy, while MC1568 can inhibit cardiomyocyte hypertrophy, and its protective effect may be related to the

基金项目: 国家自然科学基金青年科学基金项目(82200450); 深圳市科技创新委员会科技计划项目(JCYJ20180301170636978); 深圳市南山区引进高层次医学团队立项项目(202103016)

作者单位: 1.518034广东省深圳市, 北京大学深圳医院心血管外科 2.518101广东省深圳市前海蛇口自贸区医院心血管内科 3.518101广东省深圳市前海蛇口自贸区医院医学检验科

通信作者: 高燕, E-mail: gaoyan_0222@163.com

inhibition of HDAC4/MEF2D signaling pathway.

【Key words】 Cardiomyopathies; Myocytes, cardiac; Rats; MC1568; Fetal bovine serum; Histone deacetylase

心肌肥大是心脏应对长期血流动力学变化或化学刺激的一种适应性反应,常伴随心脏结构重构、心肌细胞蛋白质合成增加与细胞器功能障碍,主要表现为心肌细胞体积增大、胶原纤维增生与胚胎基因的再表达^[1]。病理性心肌肥大是多种心血管疾病发生发展的中间过程,是心脏猝死、心肌梗死和心力衰竭的独立危险因素^[2],因而探讨心肌肥大发生与发展的分子机制具有重要意义。近年来研究表明,组蛋白去乙酰化酶(histone deacetylase, HDAC)与心肌肥大的发展密切相关^[3]。其中,Ⅱa类HDAC家族含有HDAC4、HDAC5、HDAC7与HDAC9共4个蛋白,这些蛋白可以通过调节心肌细胞增强因子2(myocyte enhancer factor 2, MEF2)的转录活性来影响心肌肥大过程^[4]。而蛋白激酶D(protein kinase D, PKD)和钙/钙调素依赖性蛋白激酶(Ca²⁺/calmodulin-dependent protein kinase, CaMK)Ⅱ可通过磷酸化Ⅱa类HDAC使其从细胞核穿梭到细胞质,从而增强MEF2的转录活性,进而引起心肌肥大^[5]。本研究旨在分析选择性Ⅱa类HDAC抑制剂MC1568对胎牛血清(fetal bovine serum, FBS)诱导的大鼠乳鼠心肌细胞肥大的作用及其机制。

1 材料与方法

1.1 实验时间 本实验时间为2021年5月至2022年11月。

1.2 实验动物 出生3 d内的SPF级SD大鼠乳鼠40只,购自北京维通利华实验动物技术有限公司,合格证号:SCXK(京)2012-0001。

1.3 主要试剂 DMEM培养液、FBS、马血清(美国Gibco公司),1×D-Hanks溶液、α-辅肌动蛋白抗体(美国Sigma公司),Ⅱ型胶原酶(美国Worthington公司),曲古抑菌素A(trichostatin A, TSA)、MC1568(美国Selleck公司),P300抗体、HDAC4抗体、GAPDH抗体(美国Cell Signaling Technology),磷酸化HDAC4(phosphorylated HDAC4, pHDAC4)抗体(英国Abcam公司),Cy2标记亲和纯化驴抗小鼠IgG(H+L)二抗(美国Jackson公司),DAPI(美国Roche公司),TRIzol试剂(美国Life Technology),反转录试剂、RT-PCR试剂(北京全式金生物技术有限公司),BCA蛋白浓度检测试剂(美国Thermo Fisher Scientific),免疫印迹化学发光辣根过氧化物酶(horseradish peroxidase, HRP)底物(北京中杉金桥生物技术有限公司),ECL显色剂(北京四正柏生物科技有限公司)。

1.4 实验方法

1.4.1 大鼠乳鼠心肌细胞的分离与培养 在无菌条件

下,对大鼠乳鼠开胸并取出心脏,将其置于预冷的1×D-Hanks溶液中,将心脏剪成约1 mm³的组织块;加入0.1%胰蛋白酶溶液,在4℃摇床上过夜,第2天加入等量培养液,并置于37℃水浴箱中消化10 min;加入FBS以中止消化,1 000 r/min离心6 min(离心半径7 cm),弃去上清液;加入0.08%Ⅱ型胶原酶,并置于37℃水浴箱中消化4~5次,10 min/次;将消化完毕的心肌细胞及成纤维细胞收集到含有10% FBS的DMEM培养液中,再接种于100 mm培养皿中,并置于含5% CO₂的培养箱中,在37℃条件下静置90 min以实现差速贴壁;吸出未贴壁的心肌细胞悬液,并加入1 μmol/L阿糖胞苷以抑制成纤维细胞增殖,将心肌细胞分别以1.0×10⁶个/ml与0.3×10⁶个/ml的浓度接种于60 mm培养皿与6孔板中,用含10% FBS的DMEM培养液培养48 h后,换无血清培养液。

1.4.2 实验分组与干预方法 取60 mm培养皿或6孔板中培养的原代大鼠乳鼠心肌细胞,将其随机分为对照组(不进行干预)、FBS组(加入20% FBS培养48 h以诱导心肌细胞肥大)、TSA组(加入20% FBS及200 nmol/L TSA培养48 h)、MC1568组(加入20% FBS及10 μmol/L MC1568培养48 h)。

1.4.3 α-辅肌动蛋白染色检测心肌细胞表面积 取6孔板中的各组心肌细胞,用PBS清洗3次,用4%多聚甲醛溶液固定20 min,再用PBS清洗3次,用0.1% Triton X-100与马血清进行封闭通透,加入α-辅肌动蛋白抗体,在4℃条件下孵育过夜,隔天洗去一抗后加入Cy2标记亲和纯化驴抗小鼠IgG(H+L)二抗,在室温条件下避光孵育1 h,加入DAPI染核5 min,清洗,封固。通过LSM 510激光扫描共聚焦显微镜获取心肌细胞图像,利用Image J软件测量心肌细胞表面积。实验独立重复5次。

1.4.4 RT-qPCR法检测心肌肥大标志物mRNA表达水平 取60 mm培养皿中的各组心肌细胞,加入TRIzol试剂以裂解细胞,收集裂解液并用三氯甲烷抽提裂解液中的mRNA,加入异丙醇以沉淀mRNA,用75%乙醇溶液清洗mRNA,再用去RNA酶水溶解回收mRNA;用Nanodrop检测提取的mRNA浓度与纯度,再反转录mRNA成cDNA;取1 μg cDNA进行RT-PCR以检测心肌肥大标志物[心房利钠肽(atrial natriuretic peptide, ANP)、β-肌球蛋白重链(myosin heavy chain, MHC)]mRNA表达水平,以GAPDH作为内参。PCR引物由生工生物工程(上海)股份有限公司提供,引物序列见表1。实验独立重复5次。

1.4.5 Western blot检测心肌细胞中P300、HDAC4、

表1 RT-PCR引物序列
Table 1 Primer sequences of RT-PCR

基因名称	上游引物	下游引物
ANP	5'-GAGGAGAAGATGCCGCTAG-3'	5'-CTAGAGAGGGAGCTAAGTG-3'
β -MHC	5'-AGGGCAAAGGCAAAGCAAAGA-3'	5'-TACAAAGTGAGGGTCCGTGGA-3'
GAPDH	5'-ATTCAACGGCACACTCAAGG-3'	5'-GCAGAAGGGGCGGAGATGA-3'

注: ANP=心房利钠肽, MHC=肌球蛋白重链

pHDAC4表达水平 取60 mm培养皿中的各组心肌细胞,用蛋白裂解液提取总蛋白,用BCA蛋白浓度检测试剂进行蛋白定量,之后进行凝胶电泳,将蛋白转移到PVDF膜上;在室温条件下用5%脱脂奶粉封闭1 h;分别加入P300、HDAC4、pHDAC4抗体,在4℃条件下孵育过夜;次日洗膜后加入二抗,在室温条件下,摇床孵育1 h;洗膜后用免疫印迹化学发光HRP底物和ECL显色剂进行曝光显影,用Bio-Rad成像分析系统采集图像并分析目标蛋白表达水平,以GAPDH为内参。实验独立重复4次。

1.5 统计学方法 采用GraphPad Prism 8.0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,组间两两比较采用LSD-*t*检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 心肌细胞表面积 对照组、FBS组、TSA组、MC1568组心肌细胞表面积分别为(767.1 ± 41.2)、(1321.7 ± 132.6)、(962.1 ± 108.8)、(1030.5 ± 142.4) μm^2 。四组心肌细胞表面积比较,差异有统计学意义($F=20.55, P < 0.001$)。FBS组心肌细胞表面积大于对照组、TSA组、MC1568组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。

2.2 心肌肥大标志物mRNA表达水平 四组ANP、 β -MHC mRNA表达水平比较,差异有统计学意义($P < 0.05$)。FBS组ANP、 β -MHC mRNA表达水平高于对照组、TSA组、MC1568组,差异有统计学意义($P < 0.05$),见表2。

2.3 心肌细胞中P300、HDAC4、pHDAC4表达水平 四组心肌细胞中P300、pHDAC4表达水平比较,差异有统计学意义($P < 0.05$);四组心肌细胞中HDAC4表达水平比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。FBS组心肌细胞中P300表达水平高于对照组、TSA组, pHDAC4表达水平高于对照组、TSA组、MC1568组,差异有统计学意义($P < 0.05$),见表3、图1。

3 讨论

心血管疾病是导致人类死亡的主要原因之一,《中国心血管健康与疾病报告2021》显示,中国心血管病患者例数约为3.3亿,同时随着人口老龄化与代谢危险因素持续流行,心血管疾病负担也在持续增加^[6]。

表2 四组心肌肥大标志物mRNA表达水平比较($\bar{x} \pm s, n=5$)

Table 2 Comparison of mRNA expression levels of myocardial hypertrophy markers in the four groups

组别	ANP mRNA	β -MHC mRNA
对照组	1.00 \pm 0.15	1.00 \pm 0.25
FBS组	4.52 \pm 1.04 ^a	3.36 \pm 0.84 ^a
TSA组	2.33 \pm 0.41 ^b	1.63 \pm 0.30 ^b
MC1568组	2.97 \pm 0.81 ^b	2.19 \pm 0.59 ^b
F值	22.31	16.64
P值	<0.001	<0.001

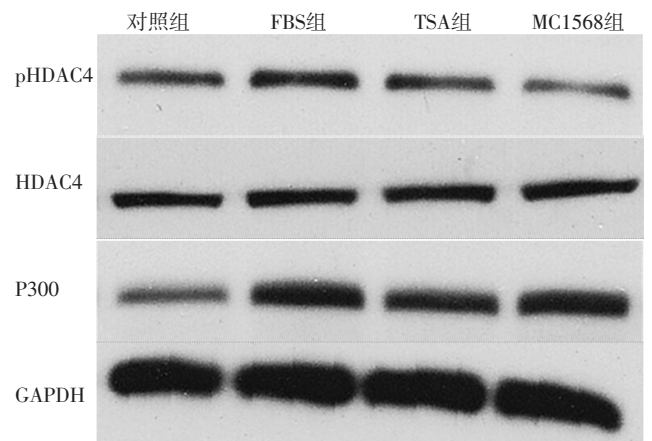
注: FBS=胎牛血清, TSA=曲古抑菌素A; ^a表示与对照组比较, $P < 0.05$; ^b表示与FBS组比较, $P < 0.05$

表3 四组心肌细胞中P300、HDAC4、pHDAC4表达水平比较($\bar{x} \pm s, n=4$)

Table 3 Comparison of P300, HDAC4 and pHDAC4 expression levels of cardiomyocytes in the four groups

组别	P300	HDAC4	pHDAC4
对照组	0.298 \pm 0.052	0.427 \pm 0.036	0.282 \pm 0.057
FBS组	0.623 \pm 0.066 ^a	0.450 \pm 0.079	0.457 \pm 0.060 ^a
TSA组	0.409 \pm 0.070 ^b	0.429 \pm 0.099	0.275 \pm 0.018 ^b
MC1568组	0.549 \pm 0.039	0.426 \pm 0.085	0.279 \pm 0.041 ^b
F值	25.13	0.08	14.39
P值	<0.001	0.969	<0.001

注: HDAC=组蛋白去乙酰化酶, pHDAC=磷酸化HDAC; ^a表示与对照组比较, $P < 0.05$; ^b表示与FBS组比较, $P < 0.05$



注: FBS=胎牛血清, TSA=曲古抑菌素A, pHDAC=磷酸化HDAC, HDAC=组蛋白去乙酰化酶

图1 Western blot检测各组心肌细胞中P300、HDAC4、pHDAC4表达水平的电泳图

Figure 1 Electrophoresis of P300, HDAC4 and pHDAC4 expression levels in cardiomyocytes of each group detected by Western blot

心肌肥大是心脏重构的重要环节,其最初是心脏容量负荷的适应性反应,但持续性的心肌肥大会导致心律失常、心力衰竭与心搏骤停,同时,心肌肥大也是先天性心脏病、高血压、心肌梗死、心力衰竭等多种心血管疾病共有的病理过程^[1-2]。目前临床已有可逆转心肌细胞肥大和改善左心室重构的药物,但心肌肥大患者射血分数保留的心力衰竭的发病率和死亡率仍居高不下^[7]。本研究旨在分析选择性Ⅱa类HDAC抑制剂MC1568对FBS诱导的大鼠乳鼠心肌细胞肥大的作用及其机制。

肥大的心肌细胞从外观上主要表现为心肌细胞体积明显增加,显微镜下可观察到细胞表面积增加^[8]。ANP与 β -MHC是两个重要的心肌细胞肥大分子标志物,其中ANP是一类由心肌细胞合成的多肽,属于胚胎基因,主要在心脏发育早期表达,而在成年心脏中表达水平很低; β -MHC则属于心肌细胞收缩相关蛋白,同样在胚胎心脏中表达水平较高,而在成年心脏中表达水平较低^[8]。在心肌细胞肥大过程中,ANP、 β -MHC mRNA表达水平会代偿性升高^[9]。本研究结果显示,FBS组心肌细胞表面积大于对照组,ANP、 β -MHC mRNA表达水平高于对照组,证明心肌肥大细胞模型构建成功。本研究结果还显示,FBS组心肌细胞表面积大于TSA组、MC1568组,ANP、 β -MHC mRNA表达水平高于TSA组、MC1568组,提示TSA与选择性Ⅱa类HDAC抑制剂MC1568均对FBS诱导的心肌细胞肥大具有抑制作用。

转录因子MEF2家族可调节心肌细胞肥大过程中的基因表达,其含有4个不同的亚型,所有亚型在N-末端存在两个结构域,一个是介导二聚化与DNA结合的MADS结构域,另一个是共调节因子结合结构域,而在C-末端存在转录活性结构域^[5,10]。研究表明,MEF2蛋白不仅可调节横纹肌发育,还可影响T淋巴细胞的激活与神经元的存活^[11]。生理条件下,MEF2蛋白与Ⅱa类HDAC结合后处于转录失活状态;在外界刺激条件下,MEF2蛋白首先在P/CAF的作用下发生乙酰化,进而增加MEF2蛋白与DNA的结合能力及转录活性^[5]。同时,外界刺激也可以通过激活Ⅱa类HDAC的上游调控信号(包括蛋白激酶D和钙/钙调素依赖性蛋白激酶Ⅱ)而磷酸化Ⅱa类HDAC,使得后者与MEF2蛋白解离并从细胞核穿梭到细胞质^[5,12]。而磷酸化Ⅱa类HDAC与MEF2的解离会进一步增加P300表达水平与MEF2乙酰化水平,从而促进心肌细胞肥大进程^[3,5,12]。较多研究已证实,钙调蛋白(calmodulin, CaM)和钙/钙调素依赖性蛋白激酶的信号级联反应是调控心脏发育和心肌收缩功能的特殊信号转导路径,可通过参与机械刺激(压力或容量负荷增加)及化学刺激(血管紧张素Ⅱ、缺氧、去甲肾上腺素等)而介导心肌细胞肥大^[3,5]。此外,P300/HDAC4介导的MEF2D乙酰化修饰失衡在调节

病理性心脏重构、心力衰竭及免疫应答等多种生物过程中发挥关键作用^[13-16]。本研究结果显示,FBS组心肌细胞中P300表达水平高于对照组、TSA组,pHDAC4表达水平高于对照组、TSA组、MC1568组,提示小分子Ⅱa类HDAC选择性抑制剂MC1568可以明显抑制心肌细胞肥大进程中HDAC4蛋白的磷酸化及HDAC4/MEF2D信号通路,从而起到抑制心肌细胞肥大的作用,且这种作用与P300上调无关。

综上所述,FBS可引起心肌细胞肥大,而MC1568可以抑制心肌细胞肥大,其保护作用可能与抑制HDAC4/MEF2D信号通路有关。这为进一步阐明HDAC在应激性心脏重构的组蛋白乙酰化修饰调控机制中的作用提供了新的证据,可能为进一步干预病理性心肌肥大和心力衰竭进程的新药设计提供了潜在的分子靶点。但本研究尚存在一定局限性:(1)本研究为基础研究,且为心肌细胞的体外实验,可能无法完全模拟生物体中的复杂性,后续需要进行在体实验以验证本研究结论;(2)MC1568抑制HDAC4/MEF2D信号通路的具体机制尚需要进一步探索;(3)本研究并未分析不同剂量MC1568对FBS诱导的大鼠乳鼠心肌细胞肥大的作用。

致谢:感谢美国迈阿密大学米勒医学院分子与细胞药理学系Dr.Bishopric团队对本项目前期研究的支持和帮助。

作者贡献:张海召、高燕进行文章的构思与设计、文章的可行性分析;贺松、张佳纯进行文献/资料收集、整理;姬婧、张海召、朱祥彬完成实验、收集数据并撰写论文初稿;姬婧、陈泽斌、欧阳昆富进行论文的修订;贺松、张佳纯、高燕负责文章的质量控制及审核;高燕对文章整体负责,监督管理。

本文无利益冲突。

参考文献

- [1] NAKAMURA M, SADOSHIMA J. Mechanisms of physiological and pathological cardiac hypertrophy [J]. *Nat Rev Cardiol*, 2018, 15(7): 387-407. DOI: 10.1038/s41569-018-0007-y.
- [2] SHIMIZU I, MINAMINO T. Physiological and pathological cardiac hypertrophy [J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2016, 97: 245-262. DOI: 10.1016/j.yjmcc.2016.06.001.
- [3] HAN Y, NIE J L, WANG D W, et al. Mechanism of histone deacetylases in cardiac hypertrophy and its therapeutic inhibitors [J]. *Front Cardiovasc Med*, 2022, 9: 931475. DOI: 10.3389/fcvm.2022.931475.
- [4] HABERLAND M, MONTGOMERY R L, OLSON E N. The many roles of histone deacetylases in development and physiology: implications for disease and therapy [J]. *Nat Rev Genet*, 2009, 10(1): 32-42. DOI: 10.1038/nrg2485.
- [5] CORNWELL J D, MCDERMOTT J C. MEF2 in cardiac hypertrophy in response to hypertension [J]. *Trends Cardiovasc Med*, 2023, 33(4): 204-212. DOI: 10.1016/j.tcm.2022.01.002.

- [6] 中国心血管健康与疾病报告编写组, 胡盛寿.中国心血管健康与疾病报告2021概要 [J].中国循环杂志, 2022, 37 (6): 553-578.
- [7] SHAH A M, SHAH S J, ANAND I S, et al.Cardiac structure and function in heart failure with preserved ejection fraction: baseline findings from the echocardiographic study of the Treatment of Preserved Cardiac Function Heart Failure with an Aldosterone Antagonist trial [J].Circ Heart Fail, 2014, 7 (1): 104-115. DOI: 10.1161/CIRCHEARTFAILURE.113.000887.
- [8] VAN DER POL A, HOES M F, DE BOER R A, et al.Cardiac foetal reprogramming: a tool to exploit novel treatment targets for the failing heart [J].J Intern Med, 2020, 288 (5): 491-506. DOI: 10.1111/joim.13094.
- [9] FAN F F, DUAN Y Y, YANG F L, et al.Deletion of heat shock protein 60 in adult mouse cardiomyocytes perturbs mitochondrial protein homeostasis and causes heart failure [J].Cell Death Differ, 2020, 27 (2): 587-600.DOI: 10.1038/s41418-019-0374-x.
- [10] CLAPHAM K R, SINGH I, CAPUANO I S, et al.MEF2 and the right ventricle: from development to disease [J].Front Cardiovasc Med, 2019, 6: 29.DOI: 10.3389/fcvm.2019.00029.
- [11] MOUSTAFA A, HASHEMI S, BRAR G, et al.The MEF2A transcription factor interactome in cardiomyocytes [J].Cell Death Dis, 2023, 14 (4): 240.DOI: 10.1038/s41419-023-05665-8.
- [12] WEI J Q, JOSHI S, SPERANSKY S, et al.Reversal of pathological cardiac hypertrophy via the MEF2-coregulator interface [J].JCI Insight, 2017, 2 (17): e91068.DOI: 10.1172/jci.insight.91068.
- [13] LI P, GE J B, LI H.Lysine acetyltransferases and lysine deacetylases as targets for cardiovascular disease [J].Nat Rev Cardiol, 2020, 17 (2): 96-115.DOI: 10.1038/s41569-019-0235-9.
- [14] WANG S Q, LI J Y, LIU Y, et al.Distinct roles of calmodulin and Ca²⁺/calmodulin-dependent protein kinase II in isopretrenol-induced cardiac hypertrophy [J].Biochem Biophys Res Commun, 2020, 526 (4): 960-966.DOI: 10.1016/j.bbrc.2020.03.188.
- [15] LEHMANN L H, WORST B C, STANMORE D A, et al.Histone deacetylase signaling in cardioprotection [J].Cell Mol Life Sci, 2014, 71 (9): 1673-1690.DOI: 10.1007/s00018-013-1516-9.
- [16] TANG H Y, LI Y L, WANG S J, et al.IP3R-mediated Ca²⁺ signaling controls B cell proliferation through metabolic reprogramming [J].iScience, 2022, 25 (5): 104209.DOI: 10.1016/j.isci.2022.104209.
- (收稿日期: 2023-03-07; 修回日期: 2023-06-08)
(本文编辑: 崔丽红)

(上接第52页)

- [7] 张丽媛, 刘学东, 于君.呼呼气一氧化氮与支气管舒张试验的比较在哮喘患者中的诊断价值 [J].临床肺科杂志, 2020, 25 (12): 1826-1830.DOI: 10.3969/j.issn.1009-6663.2020.12.011.
- [8] 谢燕清, 郑劲平.支气管激发试验及舒张试验结果评估 [J].中国实用内科杂志, 2012, 32 (8): 587-590.DOI: 10.3760/cma.j.issn.1001-0939.2010.02.007.
- [9] 孙永昌.重度哮喘的定义、评估和治疗——欧洲呼吸学会 (ERS)、美国胸科学会 (ATS) 国际指南简介 [J].浙江医学, 2014, 36 (9): 733, 746.DOI: 10.3760/cma.j.issn.1001-0939.2014.10.012.
- [10] KOSALA K, ARIS WIDODO M, SANTOSO S, et al.In vitro study of bronchial relaxation mechanism of coptosapelta flavescens korth root's methanol extract on receptors [J].Indian J Public Health Res Dev, 2019, 10 (12): 1770.DOI: 10.37506/v10i12/2019/ijphrd/192121.
- [11] 徐慧.定量吸入法和强迫振荡法两种支气管激发试验对哮喘患者诊断价值的比较和安全性分析 [D].广州: 广州医科大学, 2020.
- [12] 徐慧, 高怡, 郑劲平.强迫振荡法支气管激发试验研究进展 [J].中国实用内科杂志, 2020, 40 (12): 1033-1036.DOI: 10.19538/j.nk2020120115.
- [13] 覃松梅, 刘彤, 龙胜泽, 等.成人哮喘患者Treg/Th17细胞失衡与呼呼气一氧化氮的相关性研究 [J].中国免疫学杂志, 2022, 38 (2): 211-214, 222.DOI: 10.3969/j.issn.1000-484X.2022.02.016.
- [14] 吴丹丹, 李晓玲, 赵晓红.IL-17、IL-27和FeNO与支气管哮喘儿童肺功能的相关性及其对哮喘诊断的临床价值 [J].现代药物与临床, 2021, 36 (1): 39-44.DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2021.01.007.
- [15] 买智涛, 姜明明, 万善志.FeNO联合血清ECP、IgE检测对支气管哮喘的临床诊断价值 [J].分子诊断与治疗杂志, 2020, 12 (5): 625-628, 633.DOI: 10.3969/j.issn.1674-6929.2020.05.019.
- [16] 许重英, 李秀.CaNO联合FeNO在支气管哮喘诊断中的价值研究 [J].临床肺科杂志, 2021, 26 (7): 1022-1025.DOI: 10.3969/j.issn.1009-6663.2021.07.012.
- [17] 广州呼吸疾病研究所, 首都医科大学附属北京儿童医院, 卫生部中日友好医院, 等.中国人呼呼气一氧化氮 (FeNO) 正常值全国多中心研究 [J].中华全科医学, 2013, 11 (3): 341-345.DOI: 10.16766/j.cnki.issn.1674-4152.2013.03.037.
- [18] SELVANATHAN J, AARON S D, SYKES J R, et al.Performance characteristics of spirometry with negative bronchodilator response and methacholine challenge testing and implications for asthma diagnosis [J].Chest, 2020, 158 (2): 479-490.DOI: 10.1016/j.chest.2020.03.052.
- (收稿日期: 2023-05-18; 修回日期: 2023-08-20)
(本文编辑: 谢武英)