

- intracranial bypass surgery at high magnification using a new high-resolution operating microscope; technical note [J]. *Surg Neurol*, 2009, 72(6): 690-694.
- [14] Joo SP, Kim TS, Seo BR, et al. The clinical utility of the Kopitnik arteriovenous malformation microclip during STA-MCA bypass surgery [J]. *Acta Neurochir (Wien)*, 2010, 152(3): 547-551.
- [15] Nakagawa A, Fujimura M, Arafune T, et al. Intraoperative infrared brain surface blood flow monitoring during superficial temporal artery-middle cerebral artery anastomosis in patients with childhood moyamoya disease [J]. *Childs Nerv Syst*, 2008, 24(11): 1299-1305.
- [16] D'Almeida MS, Gaudin C, Lebrec D. Validation of 1- and 2-mm transit-time ultrasound flow probes on mesenteric artery and aorta of rats [J]. *Am J Physiol*, 1995, 268(3 Pt 2): H1368-1372.
- [17] Nakayama N, Kuroda S, Houkin K, et al. Intraoperative measurement of arterial blood flow using a transit time flowmeter; monitoring of hemodynamic changes during cerebrovascular surgery [J]. *Acta Neurochir (Wien)*, 2001, 143(1): 17-24.
- [18] Lee M, Guzman R, Bell-Stephens T, et al. Intraoperative blood flow analysis of direct revascularization procedures in patients with moyamoya disease [J]. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2011, 31(1): 262-274.
- [19] Awano T, Sakatani K, Yokose N, et al. Intraoperative EC-IC bypass blood flow assessment with indocyanine green angiography in moyamoya and non-moyamoya ischemic stroke [J]. *World Neurosurg*, 2010, 73(6): 668-674.
- [20] Dashti R, Laakso A, Niemela M, et al. Microscope integrated indocyanine green video-angiography in cerebrovascular surgery [J]. *Acta Neurochir Suppl*, 2011, 109: 247-250.
- [21] Awano T, Sakatani K, Yokose N, et al. EC-IC bypass function in Moyamoya disease and non-Moyamoya ischemic stroke evaluated by intraoperative indocyanine green fluorescence angiography [J]. *Adv Exp Med Biol*, 2010, 662: 519-524.
- [22] Veeravagu A, Guzman R, Patil CG, et al. Moyamoya disease in pediatric patients; outcomes of neurosurgical interventions [J]. *Neurosurg Focus*, 2008, 24: 1-9.
- [23] Fujimura M, Kaneta T, Tominaga T, et al. Efficacy of superficial temporal artery-middle cerebral artery anastomosis with routine postoperative cerebral blood flow measurement during the acute stage in childhood moyamoya disease [J]. *Childs Nerv Syst*, 2008, 24(7): 827-832.
- [24] Karczmark P, Zeifert PD, Tan S, et al. Effect of moyamoya disease on neuropsychological functioning in adults [J]. *Neurosurgery*, 2008, 62(5): 1048-1051.
- [25] Scott RM, Smith ER. Moyamoya disease and moyamoya syndrome [J]. *N Engl J Med*, 2009, 360(12): 1226-1237.

(收稿日期: 2011-11-21 修回日期: 2012-02-16)

· 综 述 ·

G 蛋白偶联的雌激素受体在心血管系统中的研究进展

罗 鹏¹, 邢方凯¹综述, 李 力^{2△}审校

(1. 第三军医大学学员旅 13 队, 重庆 400038; 2. 第三军医大学大坪医院野战外科研究所妇产科, 重庆 400042)

关键词: 雌激素; G 蛋白偶联的雌激素受体; 心血管疾病

doi: 10.3969/j.issn.1671-8348.2012.23.037

文献标识码: A

文章编号: 1671-8348(2012)23-2429-04

雌激素作为一种重要的脂溶性类固醇激素, 调节着机体各个系统的生理功能。其中在心血管方面, 雌激素参与了高血压、动脉粥样硬化、心肌肥厚以及心肌缺血/再灌注损伤等病变的发生、发展^[1]。早期观点认为雌激素通过经典核受体介导的基因转录表达在心血管系统中发挥作用。但近年来一种新型雌激素受体, 即 G 蛋白偶联的雌激素受体 (G protein-coupled estrogen receptor, GPER), 被发现广泛表达于心血管系统, 并且能与雌激素特异性结合, 激活信号转导中的第二信使, 从而发挥重要的调节作用^[2]。本文就 GPER 及其在心血管系统中的研究进展作一综述。

1 雌激素概述

雌激素是一种含 18 个碳的甾体类物质, 在人体内主要有雌二醇 (E2)、雌三醇 (E3) 和雌酮 (E0), 其中 E2 的活性最强。雌激素受体主要有两类: 一是经典雌激素核受体 (nuclear estrogen receptor, nER), 包括 ER α 和 ER β ; 二是雌激素膜性受体

(membranous estrogen receptor, mER), 包括 GPER、经典核受体的膜性成分、G α q-ER 和 ER-X。

除了少部分由肾上腺皮质和睾丸产生外, 大部分雌激素由卵巢和胎盘产生。因此女性在进入绝经期后, 伴随着卵巢功能的衰退, 会出现因雌激素缺乏而导致的全身多系统不适甚至疾病。为了改善绝经后女性的生活质量, 雌激素替代疗法 (estrogen replacement therapy, ERT) 应运而生。然而, 目前对于 ERT 在心血管疾病的临床应用仍然存在争议^[3], 虽然大多数基础研究和临床试验都证实了 ERT 对心血管系统具有保护作用, 但是仍有部分临床试验表明 ERT 可能会增加绝经后女性的中风、深静脉血栓等并发症的风险^[4]。造成这些争议的具体原因尚不明确, 可能与雌激素及其受体在机体的作用机制还不完全清楚有关, 也可能与不同临床样本的个体差异性 (如年龄、绝经年龄、高血脂及胰岛素抵抗等) 和遗传易感性有关, 不同的雌激素剂型、剂量、摄入途径及持续给药时间等也会影响最终

结果。

2 GPER 概述

与经典核受体 ER α / β 介导的慢速基因型效应相比,以 GPER 为代表的雌激素膜性受体最明显的特征是其介导的效应快速且不能被蛋白质和 RNA 合成抑制剂所阻断,即快速非基因型效应。1967 年, Szego 等^[5]发现雌激素能快速升高小鼠子宫组织中的 cAMP 水平,这是关于雌激素快速效应最早报道。1977 年, Pietras 等^[6]从分离的子宫内膜细胞表面发现了雌激素的特异性结合位点,并认为其可能是雌激素的膜受体。此后有大量关于 GPER 和雌激素膜性受体的研究,直到 2005 年 Thomas 等^[7]和 Revankar 等^[8]通过大量实验相继证实 GPR30(国际药理学联合会已经在 2009 年将 GPR30 及其他不统一的称呼正式修订为 GPER)就是雌激素的膜性受体。

GPER 基因定位于染色体 7p22 上。作为 G 蛋白偶联受体(G protein coupled receptor, GPCR)家族的成员, GPER 由一条含 7 次跨膜结构的肽链构成,其胞外侧有雌激素等配体结合部位,胞质侧有 G 蛋白结合部位。此外, GPER 还包含 1 个 Asp-Arg-Tyr 三联体(DRY)保守序列,这表明 GPER 可能在信号转导中发挥作用。

GPER 广泛表达于全身各系统组织,其中在心血管系统主要有心脏^[9]、动静脉的平滑肌和内皮^[10]。关于 GPER 的亚细胞定位,目前尚有争议。与之前 Thomas 等^[7]认为 GPER 位于细胞膜上不同,越来越多的研究表明 GPER 在众多膜性细胞器中也有表达。Revankar 等^[8]利用绿色荧光蛋白标记 GPER 时发现其主要位于内质网而非细胞膜上。Sakamoto 等^[11]研究发现 GPER 主要定位于高尔基体而不在细胞表面。上述研究结果的差异可能与各实验室所用动物模型和抗体的不同有关。此外, GPER 亚细胞定位的组织或细胞特异性,甚至不同的细胞功能状态都有可能影响到实验结果。

GPER 的特异性激动剂 G-1 和特异性拮抗剂 G-15, 是 Bologna 等^[12]和 Dennis 等^[13]先后筛选得到的一类二氢喹啉类衍生物。G-1 对 GPER 有着高亲和力,并且能在经典核受体存在的情况下特异性激动 GPER。G-15 与 G-1 结构类似,对 GPER 同样具有高亲和力,并且能特异性阻断雌激素或 G-1 对 GPER 的激活。最近, Dennis 等^[14]又合成了一种新的 GPER 特异性拮抗剂 G-36。G-1、G-15 及 G-36 的发现促进了 GPER 的相关研究,并为临床药物的开发提供了一个新的方向。

3 GPER 介导的信号转导

GPER 介导的信号转导是一个错综复杂的网络,除了每条通路上都存在许多精细的调节外,各通路之间也存在着极其复杂的联系。GPER 被雌激素或 G-1 等配体激活后,首先活化与其相连的 G 蛋白,使 G $\alpha\beta\gamma$ 异源三聚体解离为 G α 和 G $\beta\gamma$ 而分别发挥作用。解离的 G 蛋白激活或抑制下游效应分子,效应分子改变细胞内第二信使的含量和分布,第二信使作用于相应的靶分子,发挥效应。具体通路如下,其中 MAPK、PI3K-Akt、PLC-IP $_3$ -Ca $^{2+}$ 和 PLC-IP $_3$ /DAG-PKC 途径由 G $\beta\gamma$ 所介导, cAMP-PKA 途径由 G α 所介导。

3.1 MAPK 途径 MAPK 属于丝/苏氨酸蛋白激酶类,主要有 ERK、P38-MAPK 和 JNK/SAPK 等 3 个亚家族。GPER 被激活后,解离的 G $\beta\gamma$ 二聚体激活 Src 相关酪氨酸激酶(Src 磷酸化),后者活化基质金属蛋白酶(MMPs),促使肝素结合表皮生长因子(HB-EGF)从细胞膜上释放,并作为配体反式激活表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, EGFR),最终导致 EGFR 的下游信号通路活化,即依次激活 Ras、Raf-1、

Mek,使得 MAPK 级联活化^[15-16]。MAPK 级联活化是多种信号通路的中心,其效应有:(1)活化的 ERK 可诱导 ER α 的 Ser118 位点磷酸化,后者与特异性蛋白-1(SP1)共同结合于酸性神经酰胺酶(acid ceramidase, ASAH1)基因的启动子,并促进其转录表达; ASAH1 是一种脂质类水解酶,可催化神经酰胺(ceramide, Cer)降解成神经鞘氨醇(sphingosine, SPH); SPH 被胞质中的神经鞘氨醇激酶(sphingosine kinases, SPHK)磷酸化成为神经鞘氨醇 1-磷酸盐(sphingosine 1-phosphate, S1P); S1P 被转运至细胞表面并与 S1P 受体结合,最终激活细胞生长的信号通路。细胞内 Cer 和 S1P 的水平,对细胞的结局有着重要的影响,前者会促进细胞凋亡,而后者会促进细胞分裂生长。此外, ASAH1 还可以通过增加细胞周期蛋白 B2 的表达来促进细胞生长^[17];(2)活化的 ERK 诱导 c-fos 等原癌基因表达增多,以促进细胞增殖修复^[18];(3)活化的 ERK 诱导细胞分泌抑制性炎症因子 IL-10,抑制机体的炎症反应^[19];(4)P38 家族包括 α 、 β 、 δ 和 γ 4 个亚型,活化的 P38 β -MAPK 可依次激活 MAPK 蛋白激酶 2,磷酸化热休克蛋白 27,最终发挥抗细胞凋亡和促进血管发生等内皮保护作用; P38 α -MAPK 可介导 p53 磷酸化,以诱导细胞凋亡,而雌激素能够抑制这一过程来发挥抗凋亡作用^[3,20];(5)JNK/SAPK 可介导 NF- κ B 的激活,以促进炎症反应的发生,而雌激素能够抑制这一过程来发挥抗炎作用^[3];(6)活化的 MAPK 直接进入核内引起转录因子磷酸化而调控基因表达^[18]。此外, MAPK 级联活化还可以激活其他蛋白激酶,参与其他信号转导通路的调节(比如激活 PKA,参与 PI3K-Akt 途径^[3])。

3.2 PI3K-Akt 途径 与 MAPK 途径类似, GPER 被激活后,解离的 G $\beta\gamma$ 二聚体反式激活 EGFR,进而激活磷脂酰肌醇-3 激酶(PI3K); PI3K 的激活会导致 PIP $_3$ 在细胞膜上定位聚集,后者的 PH 结构域招募蛋白激酶 B(Akt)至细胞膜并将其活化^[8]。Akt 的活化一方面会抑制细胞凋亡蛋白酶(caspase-3)、GSK-3 β 、p38 α 介导的 p53 磷酸化以及 JNK1/2 介导的 NF- κ B 激活,发挥抗炎和抗凋亡作用;另一方面也会激活 NO 合酶(nitric oxide synthase, NOS),催化 NO 合成^[3]。在血管内皮细胞, NO 进入相邻平滑肌细胞;在平滑肌细胞内, NO 激活鸟苷酸环化酶(GC),催化 GTP 生成 cGMP; cGMP 激活 PKG,后者使平滑肌靶蛋白磷酸化,引起血管松弛。

3.3 PLC-IP $_3$ -Ca $^{2+}$ 和 PLC-IP $_3$ /DAG-PKC 途径 与上述 2 种途径类似,活化的 EGFR 激活 PLC, PLC 催化 PIP $_2$ 分解成 IP $_3$ 和 DAG, 后者可分别介导以下通路^[18,21]:(1)PLC-IP $_3$ -Ca $^{2+}$ 通路:胞质中的 IP $_3$ 与内质网上的 IP $_3$ 受体结合,引起胞内 Ca $^{2+}$ 浓度升高。Ca $^{2+}$ 作为一种第二信使,主要通过与其胞内众多的钙结合蛋白(CaBP)结合而发挥作用,其中最重要的是钙调蛋白(calmodulin, CaM)。在平滑肌细胞, Ca $^{2+}$ · CaM 可与肌球蛋白轻链激酶结合并使之活化,导致肌球蛋白轻链磷酸化和平滑肌收缩;在血管内皮细胞, Ca $^{2+}$ · CaM 可结合并激活 NOS,后者催化生成的 NO 扩散至平滑肌,引起血管扩张。除了 CaM, Ca $^{2+}$ 还可通过其他 CaBP 发挥作用,比如在心肌细胞, Ca $^{2+}$ 可与肌质网上的 ryanodine 受体结合,诱发肌质网释放 Ca $^{2+}$,从而加强心肌细胞收缩。此外, Ca $^{2+}$ 还可以直接激活 PKC、AC 和 cAMP-PDE 等多种信号转导分子;(2)PLC-IP $_3$ /DAG-PKC 通路:Ca $^{2+}$ 和 DAG 共同参与 PKC 的激活。PKC 不仅可以依次激活 Raf、MEK、MAPK 而磷酸化钙调素结合蛋白,增加肌原纤维细丝对 Ca $^{2+}$ 的敏感性,还可以直接磷酸化 CaP(一种钙结合蛋白),调节肌肉收缩。此外,与 PKA 和 PKG

类似,PKC 也可以磷酸化钙通道等靶蛋白,发挥相应的调节作用。

3.4 cAMP-PKA 途径 GPER 被激活后,解离的 $G\alpha$ 可活化腺苷酸环化酶(AC),催化 ATP 生成 cAMP;cAMP 激活 PKA,使 Raf-1 失活,降低 ERK 活性,这与 MAPK 途径中反式激活 EGFR 引起的 ERK 活性增强相反^[16]。正是因为机体存在相互拮抗的信号转导途径,所以才能更好地调控细胞的生长。除 PKA 外,cAMP 还能作用于 Ca^{2+} 等离子通道,发挥相应的生物学效应。同样,PKA 的激活也能诱导 Bcl-2 基因转录表达,从而抑制细胞凋亡^[22]。

4 GPER 与心血管疾病

4.1 高血压 临床研究表明^[3],绝经前女性的高血压患病率明显低于同龄男性,但这种性别优势在女性绝经后便逐渐消失,提示雌激素在维持血压稳定方面具有重要的作用。研究认为 $ER\alpha/\beta$ 和 GPER 都参与了雌激素对血压的调节,其中 GPER 可能有以下作用方式:(1)在血管平滑肌,通过 GPER 介导的各种途径(如抑制 Ca^{2+} 通道)降低胞内 Ca^{2+} 含量,减少其结合 CaM 引起的平滑肌收缩,最终导致非内皮依赖性的血管舒张。如 Yu 等^[23]通过研究去除内皮的动脉发现,GPER 介导的非内皮依赖性冠脉平滑肌舒张可通过大电导钙激活钾通道 [large-conductance calcium-activated potassium channels, BK (Ca) channels] 产生,激活 BK(Ca) 通道后可增加 K^+ 外流,使细胞膜超极化,继而通过抑制 L 型 Ca^{2+} 通道,降低胞内 Ca^{2+} 浓度而引起平滑肌舒张;(2)在血管内皮,通过增加胞内 NO、前列环素(PGI₂)和内皮依赖性超极化因子(EDHF)的产生,促进内皮依赖性的血管舒张^[21];(3)下调血管紧张素 III 型受体(AT₁R)的表达和降低血管紧张素转化酶活性,抑制血管收缩^[24]。

4.2 动脉粥样硬化 女性绝经后雌激素水平下降是导致血脂代谢紊乱、动脉粥样硬化的重要因素。除了 $ER\alpha/\beta$ 与动脉粥样硬化有联系外,GPER 也与其密切相关^[25]。雌激素可通过 GPER 介导的各种途径增加内皮细胞产生和释放 NO 等多种血管活性物质,减少内皮素等血管收缩物质,从而阻止动脉硬化的发生。雌激素还可以通过调节脂蛋白代谢,抑制免疫炎症反应、血小板聚集及血管壁平滑肌细胞增殖迁移,来延缓动脉硬化的发展。

4.3 心肌肥厚 心肌肥厚是许多心血管疾病共有的病理过程,其中左心室肥厚是心血管事件的一个独立危险因素。临床资料显示雌激素可以预防甚至逆转左心室肥厚,动物实验也证明了雌激素可以通过核受体 $ER\alpha/\beta$ 抑制心肌肥厚。但近年来研究发现,对于核受体基因被敲除的动物,雌激素同样可以引起这种效应,提示 GPER 可能与心肌肥厚有关。目前,关于 GPER 在心肌肥厚方面的机制还不清楚,可能与 MAPK 途径^[9]有关,也可能和 Ca^{2+} 途径^[26]有关。

4.4 心肌缺血/再灌注损伤 心肌的缺血/再灌注损伤能引起心肌的收缩功能障碍,甚至是心肌细胞凋亡。研究发现雌激素可通过增加心内血流灌注、抑制细胞凋亡及促进再生,发挥对缺血/再灌注心肌的急性保护作用。这种急性心血管保护作用除了和 $ER\alpha/\beta$ 有联系外,还与 GPER 密切相关^[27],主要体现在以下几点:(1)GPER 可介导类似在高血压、动脉粥样硬化中的作用,通过激活第二信使(如 NO 和 Ca^{2+} 等)来扩张冠状动脉等血管,增加心内灌注,减缓心肌缺血、缺氧损伤的发生;(2)GPER 被激活后,可通过减少超氧化物和黄嘌呤氧化酶的产生^[10],抑制 TNF- α 、IL-1 β 和 IL-6 等促炎细胞因子介导的心肌

炎症反应^[28]以及诱导 Bcl-2 等抗凋亡基因的表达,来介导缺血/再灌注时雌激素的抗心肌细胞凋亡作用。Recchia 等^[29]研究还发现缺氧环境可诱导缺氧诱导因子 1 α (hypoxia-inducible factor-1 α , HIF-1 α)产生,上调 GPER 表达,以介导雌激素的抗凋亡作用;(3)GPER 的激活可能通过活化 ERK 和 PI3K-Akt 等途径,调节下游靶蛋白表达,进而促进心肌细胞的增殖修复;(4)活化的 GPER 可通过 ERK 途径抑制线粒体渗透性转换孔的开放,从而保护缺血/再灌注时的心脏^[30]。

5 展 望

除了经典的核受体途径,雌激素也可以通过 GPER 介导的 MAPK、PI3K-Akt、cAMP-PKA、PLC-IP₃- Ca^{2+} 和 PLC-IP₃/DAG-PKC 等第二信使途径来发挥对心血管系统的保护作用。尽管如此,但部分临床试验中出现的中风、深静脉血栓等并发症仍然限制了 ERT 的应用^[4]。造成上述现象的具体原因尚不清楚,而 GPER 可能就是其中的关键因素之一。作为一种重要的新型雌激素受体,目前有关 GPER 在心血管系统的亚细胞定位及功能机制还存在着许多争议和疑问。首先,雌激素的效应由 GPER 和经典核受体共同介导,而它们各自介导的效应可能会相互协同、相互拮抗或相互独立。所以当一种外源性雌激素进入机体时,很难确定它以作用于哪一类受体为主和产生什么样的靶器官效应,并且另一类受体对其产生怎样的影响也值得探究。其次,体内外各种因素都会影响到 GPER 介导的信号转导,导致其效应复杂化、多样化。此外,目前 GPER 的相关研究主要集中于动物实验和体外实验,这与临床上以人为研究对象所得到的结果可能会有所差异。

随着基础研究的深入,特别是 G-1、G-15 和 G-36 等 GPER 特异性激动/拮抗剂的发现应用以及基因敲除技术的发展,GPER 在心血管系统中的功能、机制及其与经典核受体之间的区别联系等研究必将有所突破,为临床新型药物(比如一类既能保留雌激素的心血管保护作用,又能降低不良反应的药物)的开发提供更完善的理论依据。同时,随着临床试验方法的不断改进以及植物雌激素、选择性雌激素受体调节剂(SERMs)等药物的研究应用,雌激素在心血管疾病的临床治疗中也会有新的进展。

参考文献:

- [1] Meyer MR, Prossnitz ER, Barton M. The G protein-coupled estrogen receptor GPER/GPR30 as a regulator of cardiovascular function[J]. *Vascul Pharmacol*, 2011, 55(1-3):17-25.
- [2] Prossnitz ER, Barton M. The G-protein-coupled estrogen receptor GPER in health and disease[J]. *Nat Rev Endocrinol*, 2011, 7(12):715-726.
- [3] Yang XP, Reckelhoff JF. Estrogen, hormonal replacement therapy and cardiovascular disease[J]. *Curr Opin Nephrol Hypertens*, 2011, 20(2):133-138.
- [4] Anderson GL, Limacher M, Assaf AR, et al. Effects of conjugated equine estrogen in postmenopausal women with hysterectomy: the women's health initiative randomized controlled trial[J]. *JAMA*, 2004, 291(14):1701-1712.
- [5] Szego CM, Davis JS. Adenosine 3', 5'-monophosphate in rat uterus: acute elevation by estrogen[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1967, 58(4):1711-1718.

- [6] Pietras RJ, Szego CM. Specific binding sites for oestrogen at the outer surfaces of isolated endometrial cells[J]. *Nature*, 1977, 265(5589): 69-72.
- [7] Thomas P, Pang Y, Filardo EJ, et al. Identity of an estrogen membrane receptor coupled to a G protein in human breast cancer cells[J]. *Endocrinology*, 2005, 146(2): 624-632.
- [8] Revankar CM, Cimino DF, Sklar LA, et al. A transmembrane intracellular estrogen receptor mediates rapid cell signaling[J]. *Science*, 2005, 307(5715): 1625-1630.
- [9] Jessup JA, Lindsey SH, Wang H, et al. Attenuation of salt-induced cardiac remodeling and diastolic dysfunction by the GPER agonist G-1 in female mRen2. Lewis rats[J]. *PLoS One*, 2010, 5(11): e15433-e15439.
- [10] Broughton BR, Miller AA, Sobey CG. Endothelium-dependent relaxation by G protein-coupled receptor 30 agonists in rat carotid arteries[J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2010, 298(3): H1055-H1061.
- [11] Sakamoto H, Matsuda K, Hosokawa K, et al. Expression of G protein-coupled receptor-30, a G protein-coupled membrane estrogen receptor, in oxytocin neurons of the rat paraventricular and supraoptic nuclei[J]. *Endocrinology*, 2007, 148(12): 5842-5850.
- [12] Bologa CG, Revankar CM, Young SM, et al. Virtual and biomolecular screening converge on a selective agonist for GPR30[J]. *Nat Chem Biol*, 2006, 2(4): 207-212.
- [13] Dennis MK, Burai R, Ramesh C, et al. In vivo effects of a GPR30 antagonist[J]. *Nat Chem Biol*, 2009, 5(6): 421-427.
- [14] Dennis MK, Field AS, Burai R, et al. Identification of a GPER/GPR30 antagonist with improved estrogen receptor counterselectivity[J]. *J Steroid Biochem Mol Biol*, 2011, 127(3-5): 358-366.
- [15] Filardo EJ, Quinn JA, Bland KI, et al. Estrogen-induced activation of Erk-1 and Erk-2 requires the G protein-coupled receptor homolog, GPR30, and occurs via trans-activation of the epidermal growth factor receptor through release of HB-EGF[J]. *Mol Endocrinol*, 2000, 14(10): 1649-1660.
- [16] Filardo EJ, Quinn JA, Frackelton AJ, et al. Estrogen action via the G protein-coupled receptor, GPR30; stimulation of adenylyl cyclase and cAMP-mediated attenuation of the epidermal growth factor receptor-to-MAPK signaling axis[J]. *Mol Endocrinol*, 2002, 16(1): 70-84.
- [17] Lucki NC, Sewer MB. Genistein stimulates MCF-7 breast cancer cell growth by inducing acid ceramidase(ASAHI) gene expression[J]. *J Biol Chem*, 2011, 286(22): 19399-19409.
- [18] Prossnitz ER, Arterburn JB, Smith HO, et al. Estrogen signaling through the transmembrane G protein-coupled receptor GPR30[J]. *Annu Rev Physiol*, 2008, 70: 165-190.
- [19] Brunson RL, Prossnitz ER. Induction of interleukin-10 in the T helper type 17 effector population by the G protein coupled estrogen receptor(GPER) agonist G-1[J]. *Immunology*, 2011, 134(1): 93-106.
- [20] Razandi M, Pedram A, Levin ER. Estrogen signals to the preservation of endothelial cell form and function[J]. *J Biol Chem*, 2000, 275(49): 38540-38546.
- [21] Do NG, Barros YV, Wells AK, et al. Research into specific modulators of vascular sex hormone receptors in the management of postmenopausal cardiovascular disease[J]. *Curr Hypertens Rev*, 2009, 5(4): 283-306.
- [22] Hsieh YC, Yu HP, Frink M, et al. G protein-coupled receptor 30-dependent protein kinase a pathway is critical in nongenomic effects of estrogen in attenuating liver injury after trauma-hemorrhage[J]. *Am J Pathol*, 2007, 170(4): 1210-1218.
- [23] Yu X, Ma H, Barman SA, et al. Activation of G protein-coupled estrogen receptor induces endothelium-independent relaxation of coronary artery smooth muscle[J]. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2011, 301(5): E882-E888.
- [24] Lindsey SH, Cohen JA, Brosnihan KB, et al. Chronic treatment with the G protein-coupled receptor 30 agonist G-1 decreases blood pressure in ovariectomized mRen2. Lewis rats[J]. *Endocrinology*, 2009, 150(8): 3753-3758.
- [25] Meyer MR, ERalpha BM, ERbeta and GPER; novel aspects of oestrogen receptor signalling in atherosclerosis[J]. *Cardiovasc Res*, 2009, 83(4): 605-610.
- [26] Prasad AM, Inesi G. Downregulation of Ca²⁺ signalling proteins in cardiac hypertrophy[J]. *Minerva Cardioangiolog*, 2010, 58(2): 193-204.
- [27] Deschamps AM, Murphy E, Sun J. Estrogen receptor activation and cardioprotection in ischemia reperfusion injury[J]. *Trends Cardiovasc Med*, 2010, 20(3): 73-78.
- [28] Weil BR, Manukyan MC, Herrmann JL, et al. Signaling via GPR30 protects the myocardium from ischemia/reperfusion injury[J]. *Surgery*, 2010, 148(2): 436-443.
- [29] Recchia AG, De Francesco EM, Vivacqua A, et al. The G protein-coupled receptor 30 is up-regulated by hypoxia-inducible factor-1alpha(HIF-1alpha) in breast cancer cells and cardiomyocytes[J]. *J Biol Chem*, 2011, 286(12): 10773-10782.
- [30] Bopassa JC, Eghbali M, Toro L, et al. A novel estrogen receptor GPER inhibits mitochondria permeability transition pore opening and protects the heart against ischemia-reperfusion injury[J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2010, 298(1): H16-H23.