

· 论 著 · doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2015.11.002

SKF96365 和氯化镍对环匹阿尼酸诱导的大鼠 PASM $[Ca^{2+}]_i$ 升高的影响*

彭公永, 胡锦涛, 邹义敏, 彭 芳, 周玉民, 胡国平, 赵祝香

(广州医科大学附属第一医院/广州呼吸疾病研究所/呼吸疾病国家重点实验室/
呼吸疾病国家临床医学研究中心, 广东广州 510120)

[摘要] **目的** 研究 SKF96365 和氯化镍($NiCl_2$)对环匹阿尼酸(CPA)诱导的大鼠远端肺动脉平滑肌细胞(PASMC)内游离钙离子浓度($[Ca^{2+}]_i$)变化的影响。**方法** 培养大鼠 PASMC, 运用荧光显微镜和 InCyte 细胞内钙浓度检测系统观测 CPA、SKF96365 和 $NiCl_2$ 对 PASMC $[Ca^{2+}]_i$ 的影响。**结果** 含 $5 \mu\text{mol/L}$ 硝苯地平的无钙 Krebs 溶液孵育 PASMC, $10 \mu\text{mol/L}$ CPA 使 PASMC $[Ca^{2+}]_i$ 短暂小幅升高, 恢复细胞外 Ca^{2+} 至 2.5 mmol/L 后, $10 \mu\text{mol/L}$ CPA 使 PASMC $[Ca^{2+}]_i$ 迅速显著升高; $50 \mu\text{mol/L}$ SKF96365 和 $500 \mu\text{mol/L}$ $NiCl_2$ 均能明显抑制 $10 \mu\text{mol/L}$ CPA 引起的 PASMC $[Ca^{2+}]_i$ 升高, 但对高钾(60 mmol/L KCl)溶液引起的 PASMC $[Ca^{2+}]_i$ 升高无影响。**结论** CPA 可致大鼠 PASMC $[Ca^{2+}]_i$ 升高, 且能被 SKF96365 和 $NiCl_2$ 阻断, 提示 CPA 可能诱发细胞外 Ca^{2+} 经池操纵性钙通道(SOCC)内流, SKF96365 和 $NiCl_2$ 能选择性抑制 SOCC 活性使经 SOCC 的 Ca^{2+} 内流减少。

[关键词] 环匹阿尼酸; 游离钙离子浓度; 肺动脉平滑肌细胞; 硝苯地平; 钙池操纵性钙通道; 大鼠**[中图分类号]** R543.2**[文献标识码]** A**[文章编号]** 1671-8348(2015)11-1445-04

Effect of SKF96365 and $NiCl_2$ on cyclopiazonic acid induced intracellular calcium cation concentration increase in rat distal pulmonary arterial smooth muscle cells*

Peng Gongyong, Hu Jinxing, Zou Yimin, Peng Fang, Zhou Yumin, Hu Guoping, Zhao Zhuxiang

(National Clinical Research Center for Respiratory Disease, National Key Laboratory of Respiratory Disease, Guangzhou Institute of Respiratory Diseases, First Affiliated Hospital, Guangzhou Medical University, Guangzhou, Guangdong 510120, China)

[Abstract] **Objective** To study the effect of SKF96365 and $NiCl_2$ on cyclopiazonic acid (CPA) induced intracellular calcium cation concentration ($[Ca^{2+}]_i$) change in rat distal pulmonary arterial smooth muscle cells (PASMC). **Methods** The rat distal PASMC were isolated and cultured. The effects of CPA, SKF96365 and $NiCl_2$ on $[Ca^{2+}]_i$ in PASMC were tested by fluorescence microscope and InCyte $[Ca^{2+}]_i$ measurement system. **Results** PASMC were incubated with Ca^{2+} -free Krebs solution containing $5 \mu\text{mol/L}$ nifedipine, $10 \mu\text{mol/L}$ CPA caused a small transient increase in $[Ca^{2+}]_i$; after restoration of extracellular Ca^{2+} to 2.5 mmol/L , $10 \mu\text{mol/L}$ CPA caused marked increases in $[Ca^{2+}]_i$ in PASMC incubated with Krebs solution containing $5 \mu\text{mol/L}$ nifedipine. Both $50 \mu\text{mol/L}$ SKF96365 and $500 \mu\text{mol/L}$ $NiCl_2$ distinctly attenuated the increases in $[Ca^{2+}]_i$ caused by $10 \mu\text{mol/L}$ CPA in PASMC. However, neither $50 \mu\text{mol/L}$ SKF96365 nor $500 \mu\text{mol/L}$ $NiCl_2$ affected the increases in $[Ca^{2+}]_i$ caused by 60 mmol/L KCl in PASMC. **Conclusion** CPA induced increases in $[Ca^{2+}]_i$ may related to Ca^{2+} release from sarcoplasmic reticulum and the influx of Ca^{2+} through store-operated Ca^{2+} channels (SOCC) in rat distal PASMC. Both SKF96365 and $NiCl_2$ could selectively block SOCC and attenuated the influx of Ca^{2+} through SOCC in PASMC.

[Key words] cyclopiazonic acid; intracellular calcium cation concentration; pulmonary arterial smooth muscle cells; nifedipine; store-operated Ca^{2+} channels; rat

中国 40 岁以上人群慢性阻塞性肺疾病(COPD)患病率高达 8.2%^[1-2], 多数人经缺氧性肺动脉高压发展为慢性肺源性心脏病。急性缺氧性肺血管收缩反应和慢性缺氧性肺血管结构重塑是缺氧性肺动脉高压发生的两大主要环节^[3-6], 而缺氧对远端肺动脉收缩和重塑的影响比近端肺动脉更明显^[7-8], 表明远端肺动脉是肺动脉高压发病的主要部位。 Ca^{2+} 在肺动脉平滑肌细胞(pulmonary arterial smooth muscle cells, PASMC)的缺氧性收缩反应和增殖过程中发挥关键作用^[9-11]。环匹阿尼酸(cyclopiazonic acid, CPA)是平滑肌肌浆网上的一种特异

性 Ca^{2+} ATP 酶阻断剂, 能够激活平滑肌细胞膜钙池操纵性钙通道(store-operated Ca^{2+} channels, SOCC), 参与调节平滑肌细胞内游离 Ca^{2+} 浓度(intracellular Ca^{2+} concentration, $[Ca^{2+}]_i$)。本研究通过原代培养大鼠远端 PASMC, 选用 SOCC 拮抗剂 SKF96365 和氯化镍($NiCl_2$), 观察其对 CPA 诱导的 PASMC $[Ca^{2+}]_i$ 改变的影响, 为进一步研究缺氧引起的肺动脉收缩和血管重塑机制打下基础。

1 材料与方法

1.1 材料 主要试剂: I 型胶原酶、NaCl、KCl、 KH_2PO_4 、Mg-

* 基金项目: 国家自然科学基金资助项目(81000020); 十二五国家科技支撑计划课题资助项目(2013BAI09B09); 广东省自然科学基金资助项目(2014A030313486); 广州市科技计划资助项目(1563000587); 羊城学者科研计划学术骨干资助项目(10A025G); 呼吸疾病国家重点实验室青年科学基金支持资助项目(11)。 作者简介: 彭公永(1976-), 副主任医师, 硕士生导师, 医学博士, 从事肺血管疾病基础与临床研究。

SO₄、CaCl₂、NaHCO₃、CPA、SKF96365、NiCl₂、葡萄糖、硝苯地平(美国 Sigma); Fura-2 AM(美国 Invitrogen); PBS、胎牛血清、DMEM 培养基(美国 Gibco)。仪器:倒置相差显微镜、体式显微镜、荧光显微镜(日本 Nikon); InCyte 细胞内钙浓度检测系统(美国 Intracellular Imaging); 双通道温度控制系统(美国 Warner Instrument); 显微镊、显微剪(上海金钟)。

1.2 方法

1.2.1 大鼠远端 PASM C 的原代培养 参照文献[12-14]的方法,选取 250~300 g 雄性 SD 大鼠 8 只,2%戊巴比妥钠(50 mg/kg)腹腔注射麻醉,开胸取心肺,体式显微镜下用显微镊、剪刀分离肺内肺动脉。剥除血管外膜组织,纵向剪开血管,棉签刮除内皮后置于 3 mL I 型胶原酶消化液(1 800 U/mL)中,37 °C 消化 20 min,弃上层液,加入 10%胎牛血清的 DMEM 培养基 15 mL,吹吸 20 次制成细胞悬液,以 5×10⁴/mL 接种于 6 孔培养板,37 °C、5% CO₂ 培养箱培养,每 2~3 天常规换液。

1.2.2 [Ca²⁺]_i 测定 参照文献[12,15-16]的方法,选取 50%~60%融合细胞于 37 °C 避光负载 5 μmol/L 的 Fura-2 AM 1 h,固定细胞盖玻片于荧光显微镜观测盒内,按 0.50~1.00 mL/min 流速用 Krebs 液(118.00 mmol/L NaCl、4.70 mmol/L KCl、1.18 mmol/L KH₂PO₄、0.57 mmol/L MgSO₄、2.50 mmol/L CaCl₂、25.00 mmol/L NaHCO₃ 和 10.00 mmol/L 葡萄糖)灌注孵育细胞 15 min,以 16%O₂、5%CO₂ 混合氮气持续平衡灌流液,用双通道温度控制系统控制观测盒温度 37.00~37.20 °C,打开荧光显微镜和 InCyte 细胞内钙离子浓度检测系统,实时记录数据。

1.2.3 CPA 对 PASM C [Ca²⁺]_i 影响 分对照组和 CPA 组。对照组先用 Krebs 液孵育 5 min,再用 5 μmol/L 硝苯地平无钙 Krebs 液(118.00 mmol/L NaCl、4.70 mmol/L KCl、1.18 mmol/L KH₂PO₄、0.57 mmol/L MgSO₄、25.00 mmol/L NaHCO₃ 和 10.00 mmol/L 葡萄糖)孵育 10 min,用 5.00 μmol/L 硝苯地平 Krebs 液孵育 15 min 后,最后用 Krebs 液孵育 10 min。CPA 组先用 Krebs 液孵育 5 min,再用 10.00 μmol/L CPA、5.00 μmol/L 硝苯地平无钙 Krebs 液孵育 10 min,用 10.00 μmol/L CPA、5.00 μmol/L 硝苯地平 Krebs 液孵育 15

min,最后用 Krebs 液孵育 10 min。

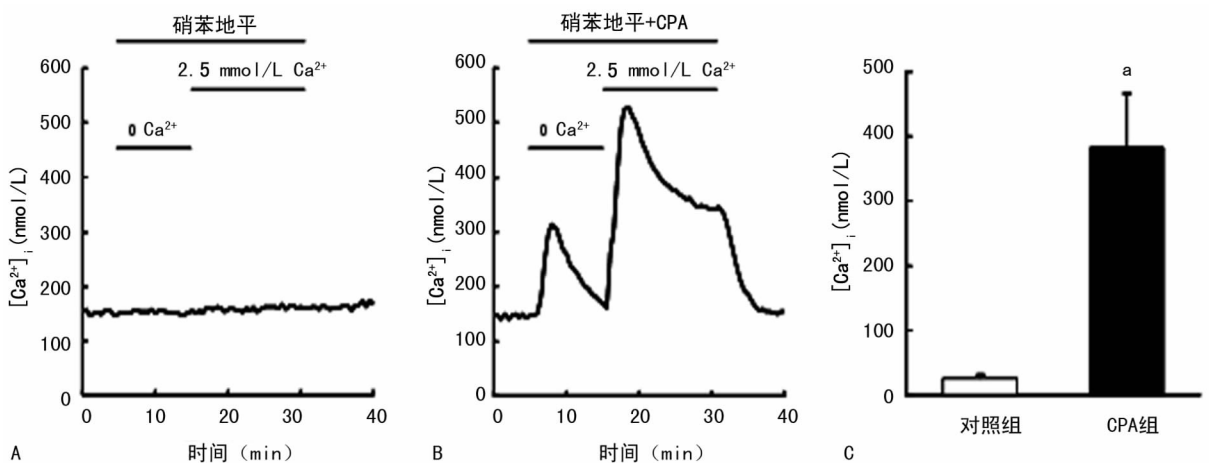
1.2.4 SKF96365、NiCl₂ 对 CPA 诱导的 PASM C [Ca²⁺]_i 升高的影响 分对照组、SKF96365 组和 NiCl₂ 组。Krebs 液孵育各组细胞 5 min,对照组以 10.00 μmol/L CPA、5.00 μmol/L 硝苯地平无钙 Krebs 液孵育 10 min,再用 10.00 μmol/L CPA、5.00 μmol/L 硝苯地平 Krebs 液孵育 15 min;而 SKF96365 组和 NiCl₂ 组在相同时相的灌流液中分别加入 50.00 μmol/L SKF96365 和 500.00 μmol/L NiCl₂,其余处理与对照组相同,最后,各组以 Krebs 溶液孵育 10 min。

1.2.5 SKF96365、NiCl₂ 对高钾引起的 PASM C [Ca²⁺]_i 升高的影响 分 KCl 组、SKF96365 组和 NiCl₂ 组。Krebs 液孵育各组细胞 5 min,KCl 组用高钾 Krebs 液(60.00 mmol/L KCl、60.00 mmol/L NaCl、1.18 mmol/L KH₂PO₄、0.57 mmol/L MgSO₄、25.00 mmol/L NaHCO₃、2.50 mmol/L CaCl₂ 和 10.00 mmol/L 葡萄糖)孵育 10 min,SKF96365 组用 50.00 μmol/L SKF96365 高钾 Krebs 液孵育 10 min,NiCl₂ 组用 500.00 μmol/L NiCl₂ 高钾 Krebs 液孵育 10 min,3 组细胞分别用 Krebs 液孵育 10 min。

1.3 统计学处理 采用 SPSS18.0 统计软件进行分析,实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,*n* 为实验次数,每次实验细胞数目为 20~30,两样本比较采用 *t* 检验,多样本比较采用单因素方差分析,以 *P*<0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 CPA 对大鼠远端 PASM C [Ca²⁺]_i 的影响 对照组 [Ca²⁺]_i 随时间变化维持基线(图 1A)。CPA 组换 10.00 μmol/L CPA、5.00 μmol/L 硝苯地平无钙 Krebs 液孵育后,[Ca²⁺]_i 呈小幅升高,持续 5~10 min 达基线水平(图 1B);再换 10.00 μmol/L CPA、5.00 μmol/L 硝苯地平 Krebs 液恢复细胞外 Ca²⁺ 到 2.50 mmol/L 后,[Ca²⁺]_i 迅速升高(图 1B)。CPA 组 Δ[Ca²⁺]_i 峰值达(382.83±83.17)nmol/L,对照组仅(25.17±6.75)nmol/L,两组比较差异有统计学意义(*n*=8,*P*<0.05)(图 1C);再以 Krebs 液孵育,[Ca²⁺]_i 恢复基线,见图 1B。



A、B:对照组、CPA 组时间-[Ca²⁺]_i 曲线;C:两组 Δ[Ca²⁺]_i 峰值;^a:*P*<0.05,与对照组比较。

图 1 CPA 对大鼠远端 PASM C [Ca²⁺]_i 的影响

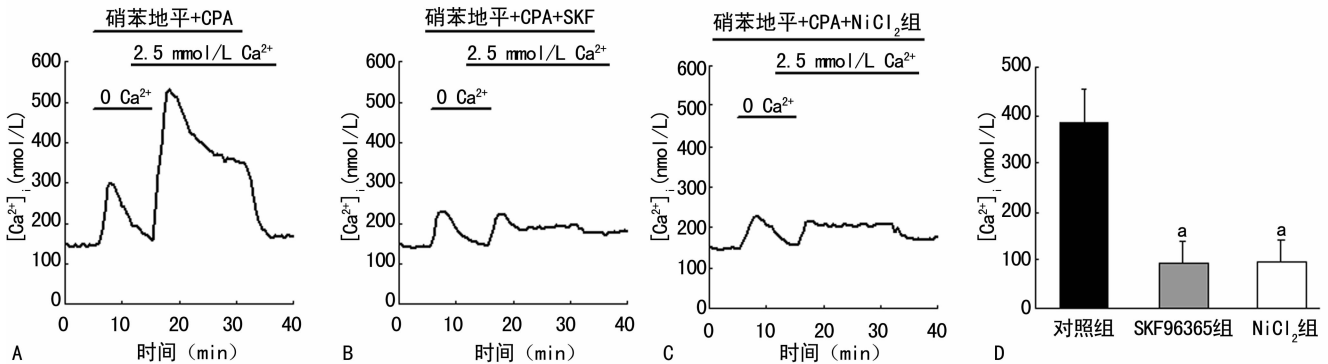
2.2 SKF96365、NiCl₂ 对 CPA 诱导的 PASM C [Ca²⁺]_i 升高的影响 以 10.00 μmol/L CPA、5.00 μmol/L 硝苯地平 Krebs 液孵育恢复细胞外 Ca²⁺ 到 2.50 mmol/L,对照组 [Ca²⁺]_i 迅速

显著升高(图 2A),同时期 SKF96365 组和 NiCl₂ 组 [Ca²⁺]_i 均仅小幅升高(图 2B、C),Δ[Ca²⁺]_i 峰值分别为(94.17±44.47)、(96.67±44.92)nmol/L(*n*=6,*P*<0.05),而对照组

$\Delta[Ca^{2+}]_i$; 峰值高达 $(386.81 \pm 66.72) \text{ nmol/L}$, 见图 2D。

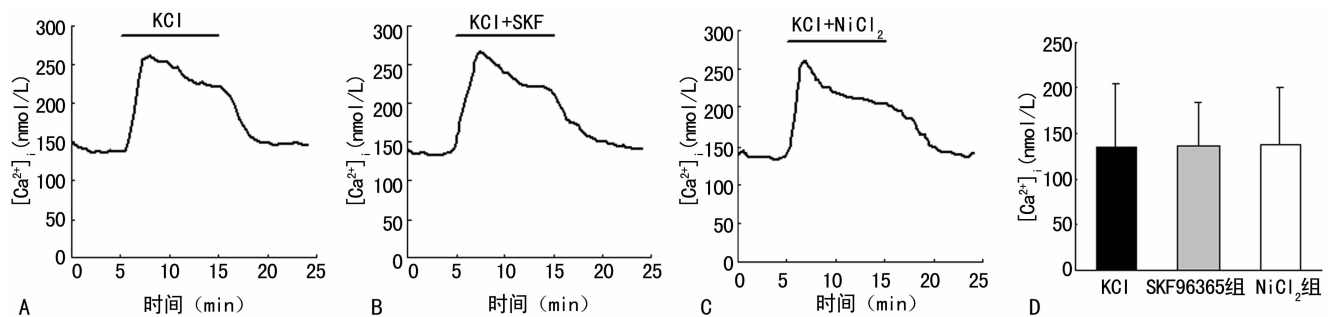
2.3 SKF96365、NiCl₂ 对高钾引起的大鼠远端 PASM C 的 $[Ca^{2+}]_i$ 升高的影响 高钾 Krebs 液孵育 KCl 组后, $[Ca^{2+}]_i$ 迅速增高(图 3A), 换 Krebs 液孵育后 $[Ca^{2+}]_i$ 恢复基线; 同时

期 SKF96365 组和 NiCl₂ 组 $[Ca^{2+}]_i$ 也均迅速增高(图 3B、C), $\Delta[Ca^{2+}]_i$ 峰值分别达 (136.33 ± 48.16) 、 $(136.83 \pm 62.81) \text{ nmol/L}$ ($n=6, P>0.05$), 与 KCl 组 $(134.50 \pm 70.41) \text{ nmol/L}$ 比较, 差异无统计学意义 ($P>0.05$), 见图 3D。



A、B、C: 对照组、SKF96365 组、NiCl₂ 组时间- $[Ca^{2+}]_i$ 曲线; D: 3 组 $\Delta[Ca^{2+}]_i$ 峰值; ^a: $P<0.05$, 与对照组比较。

图 2 SKF96365、NiCl₂ 对 CPA 诱导的 PASM C $[Ca^{2+}]_i$ 升高的影响



A、B、C: KCl 组、SKF96365 组、NiCl₂ 组时间- $[Ca^{2+}]_i$ 曲线; D: 3 组 $\Delta[Ca^{2+}]_i$ 峰值。

图 3 SKF96365、NiCl₂ 对高钾引起的大鼠远端 PASM C $[Ca^{2+}]_i$ 升高的影响

3 讨论

急性缺氧性肺血管收缩反应和慢性缺氧性肺血管结构重塑是缺氧性肺动脉高压发生的主要机制, 肺动脉平滑肌 $[Ca^{2+}]_i$ 升高在肺血管收缩和结构重塑中发挥关键作用。前期研究证实, 原代培养的大鼠远端 PASM C 具有电压依赖性钙通道(the voltage-dependent Ca^{2+} channels, VDCC), 5.00 $\mu\text{mol/L}$ 硝苯地平能完全阻断 PASM C 的 VDCC [12]。

CPA 是平滑肌肌浆网一种特异性的 Ca^{2+} ATP 酶阻断剂, 能不可逆的抑制肌浆网 Ca^{2+} 泵。当用 5.00 $\mu\text{mol/L}$ 硝苯地平孵育大鼠远端 PASM C 而阻断 VDCC 后, 再用无钙 Krebs 液孵育细胞, CPA 能使 PASM C $[Ca^{2+}]_i$ 小幅短暂升高, 提示 CPA 抑制肌浆网 Ca^{2+} 泵后, 导致肌浆网中 Ca^{2+} 释放, 从而使 PASM C $[Ca^{2+}]_i$ 升高; 在 VDCC 被 5.00 $\mu\text{mol/L}$ 硝苯地平完全阻断条件下, 再恢复细胞外 Ca^{2+} 到 2.50 mmol/L, CPA 导致 $[Ca^{2+}]_i$ 迅速显著升高, 而去除 CPA 则导致 $[Ca^{2+}]_i$ 恢复基线, 提示大鼠远端 PASM C 肌浆网 Ca^{2+} 泵被 CPA 抑制后, Ca^{2+} 从肌浆网释放, 可能激活 SOCC, SOCC 激活后, 细胞外 Ca^{2+} 通过 SOCC 内流增加, 引起 $[Ca^{2+}]_i$ 升高, 这和国外学者报道结果一致 [17]。

文献报道 SOCC 既能被有机拮抗剂如 SKF96365 抑制, 也能被无机拮抗剂如 La^{3+} 、 Cd^{3+} 、 Ni^{2+} 抑制 [18-19]。本实验中, 大鼠远端 PASM C 用 5.00 $\mu\text{mol/L}$ 硝苯地平阻断 VDCC 并分别用 50.00 $\mu\text{mol/L}$ SKF-96365 或 500.00 $\mu\text{mol/L}$ NiCl₂ 干预后, 恢复细胞外 Ca^{2+} 到 2.50 mmol/L 时 CPA 引起的 $[Ca^{2+}]_i$ 升高

幅度均显著下降, 表明 SKF96365 和 Ni^{2+} 均能明显抑制 CPA 诱导的大鼠远端 PASM C 的 $[Ca^{2+}]_i$ 升高, 进一步提示 CPA 激活 SOCC 后, 导致细胞外 Ca^{2+} 内流。进一步的高钾实验观察到 SKF96365 和 Ni^{2+} 对高钾 Krebs 溶液引起的大鼠远端 PASM C 的 $[Ca^{2+}]_i$ 升高并无影响, 表明 SKF96365 和 Ni^{2+} 对大鼠远端 PASM C 的 VDCC 均无影响, 能选择性作用于 SOCC。

综上所述, CPA 可以导致大鼠远端 PASM C 的 $[Ca^{2+}]_i$ 升高, 其机制可能与肌浆网 Ca^{2+} 泵被 CPA 阻断后释放肌浆网内 Ca^{2+} , 并激活 SOCC 诱发细胞外 Ca^{2+} 经 SOCC 内流有关; SKF96365 和 NiCl₂ 能够选择性作用于 SOCC, 并明显抑制 SOCC 活性, 导致 SOCC 介导的 Ca^{2+} 内流减弱, 提示大鼠远端 PASM C 细胞外 Ca^{2+} 通过 SOCC 内流在缺氧引起的肺动脉收缩反应和结构重塑过程中可能发挥作用。

参考文献

- [1] 冉丕鑫. 慢性阻塞性肺疾病的危险因素与社区综合防治[J]. 实用医学杂志, 2014, 30(1): 4-5.
- [2] 陈荣昌, 高永华. 慢性阻塞性肺疾病临床防治与研究热点问题[J]. 实用医学杂志, 2014, 30(1): 1-3.
- [3] 郑培楠, 陈强. 硝苯地平治疗缺氧性肺动脉高压临床观察[J]. 重庆医学, 2012, 41(28): 2978-2980.
- [4] 桑葵, 李明霞. 缺氧诱导因子-1 α 在新生儿缺氧性肺动脉高压发病机制中的作用研究进展[J]. 新疆医学, 2012, 42

(7):70-77.

- [5] 彭公永,胡国平,周玉民,等. 常压慢性持续缺氧大鼠肺动脉高压模型的建立[J]. 广东医学,2011,32(5):573-574.
- [6] 陈云荣,戴爱国,胡瑞成. 一氧化氮抑制缺氧诱导因子 α 亚基表达对大鼠缺氧性肺动脉高压的作用[J]. 中国病理生理杂志,2011,27(1):14-21.
- [7] Schwenke DO, Pearson JT, Umetani K, et al. Imaging of the pulmonary circulation in the closed-chest rat using synchrotron radiation microangiography[J]. *J Appl Physiol*,2007,102(2):787-793.
- [8] Archer SL, Wu XC, Thebaud B, et al. Preferential expression and function of voltage-gated, O_2 -sensitive K^+ channels in resistance pulmonary arteries explains regional heterogeneity in hypoxic pulmonary vasoconstriction: ionic diversity in smooth muscle cells[J]. *Circ Res*,2004,95(3):308-318.
- [9] 李光伟,李波,康美佳,等. 钙感受受体通过 PI3K 信号通路介导缺氧诱导的大鼠肺动脉平滑肌细胞增殖[J]. 中国病理生理杂志,2012,28(9):1549-1553.
- [10] 李光伟,邢文婧,郝静辉,等. 钙感受受体在缺氧诱导的大鼠肺动脉平滑肌细胞增殖中的作用[J]. 中国病理生理杂志,2010,26(12):2433-2437.
- [11] 杨朝,金立元,黄建华,等. 慢性低氧钙激活氯通道在大鼠肺动脉平滑肌细胞增殖中的作用[J]. 宁夏医学杂志,2010,32(7):579-581.
- [12] 彭公永,周玉民,胡国平,等. 原代培养的大鼠远端肺动脉平滑肌细胞的功能研究[J]. 中国药理学通报,2012,28(11):1570-1573.
- [13] Wang J, Yang K, Xu L, et al. Sildenafil inhibits hypoxia-induced transient receptor potential canonical protein expression in pulmonary arterial smooth muscle via cGMP-

PKG-PPAR γ axis[J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*,2013,49(2):231-240.

- [14] Li X, Lu W, Fu X, et al. BMP4 increases canonical transient receptor potential protein expression by activating p38 MAPK and ERK1/2 signaling pathways in pulmonary arterial smooth muscle cells[J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*,2013,49(2):212-220.
- [15] Peng G, Ran P, Lu W, et al. Acute hypoxia activates store-operated Ca^{2+} entry and increases intracellular Ca^{2+} concentration in rat distal pulmonary venous smooth muscle cells[J]. *J Thorac Dis*,2013,5(5):605-612.
- [16] Peng G, Lu W, Li X, et al. Expression of Store-operated Ca^{2+} entry and transient receptor potential canonical and vanilloid-related proteins in rat distal pulmonary venous smooth muscle[J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*,2010,299(5):621-630.
- [17] Lu W, Wang J, Shimoda LA, et al. Differences in STIM1 and TRPC expression in proximal and distal pulmonary arterial smooth muscle are associated with differences in Ca^{2+} responses to hypoxia[J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*,2008,295(1):104-113.
- [18] Golovina VA, Platoshyn O, Bailey CL, et al. Upregulated TRP and enhanced capacitative Ca^{2+} entry in human pulmonary artery myocytes during proliferation[J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*,2001,280(2):746-755.
- [19] Ng LC, Gurney AM. Store-operated channels mediate Ca^{2+} influx and contraction in rat pulmonary artery[J]. *Circ Res*,2001,89(10):923-929.

(收稿日期:2014-07-08 修回日期:2015-01-16)

(上接第 1444 页)

- [7] Mullin GE, Dobs A. Vitamin D and its role in cancer and immunity: a prescription for sunlight[J]. *Nutr Clin Pract*,2007,22(3):305-322.
- [8] Zhuo L, Fu B, Bai X, et al. NAD blocks high glucose induced mesangial hypertrophy via activation of the Sirtuin-AMPK-mTOR pathway[J]. *Cell Physiol Biochem*,2011,27(6):681-690.
- [9] 张春江,杨晓萍,贺德刚,等. $1,25(OH)_2D_3$ 对大鼠系膜细胞增殖的影响及机制探讨[J]. 山东医药,2011,51(47):32-34.
- [10] 戴昕,李占全,冀林华. 凋亡相关蛋白 Caspase 研究进展[J]. 中国现代医药杂志,2010,12(4):130-132.
- [11] Scatena R, Bottoni P, Botta G, et al. The role of mitochondria in pharmacotoxicology: a reevaluation of an old, newly emerging topic[J]. *Am J Physiol Cell Physiol*,2007,6(293):C12-21.

- [12] Sun Y, Liu G, Song T, et al. Upregulation of GRP78 and caspase-12 in diastolic failing heart [J]. *Acta Biochim Pol*,2008,55(3):511-516.
- [13] Martinou JC, Youle RJ. Mitochondria in apoptosis: Bcl-2 family members and mitochondrial dynamics [J]. *Dev Cell*,2011,21(1):92-101.
- [14] Dai Z, Gao J, Ji Z, et al. Matrine induces apoptosis in gastric carcinoma cell via alteration of Fas/FasL and activation of caspase-3[J]. *J Ethnopharmacol*,2009,123(1):91-96.
- [15] Kim EM, Shin EJ, Choi JH, et al. Matrix metalloproteinase-3 is increased and participates in neuronal apoptotic signaling downstream of caspase-12 during endoplasmic reticulum stress[J]. *J Biol Chem*,2010,285(22):16444-16452.

(收稿日期:2014-07-08 修回日期:2015-01-22)