

埃他卡林对慢性低氧大鼠肺动脉血管内皮生长因子 mRNA 和蛋白表达的影响

王 珏, 陈建波, 解卫平, 金 宇, 王 虹*

(南京医科大学第一附属医院呼吸内科, 江苏 南京 210029)

[摘要] 目的:研究新型 ATP 敏感性钾通道开放剂埃他卡林(IPT)对低氧性肺动脉高压(HPH)大鼠肺动脉血管内皮生长因子(VEGF)表达的影响。方法:雄性 SD 大鼠 36 只随机分成对照组、HPH 模型组、IPT 干预组,每组 12 只。IPT 干预组给予 IPT 1.5 mg/(kg·d)灌胃,对照组及 HPH 模型组给予 0.9% NaCl 5 ml/(kg·d)灌胃。HPH 组及 IPT 干预组在(10.0 ± 0.5)%氧浓度下饲养,每天 8 h,每周 6 天,4 周时测定平均肺动脉压(mPAP)、RV/(LV+S),逆转录聚合酶链式反应(RT-PCR)和 Western-blot 技术检测各组肺动脉主干 VEGF mRNA 和蛋白的表达。结果:① HPH 模型组大鼠 mPAP 和 RV/(LV+S)显著高于对照组($P < 0.01$),IPT 干预组 mPAP 和 RV/(LV+S)较 HPH 模型组显著下降($P < 0.01$)。② HPH 模型组大鼠肺动脉 VEGF mRNA 及蛋白表达高于对照组,两者具有显著统计学意义($P < 0.01$),IPT 干预组与 HPH 模型组比较,VEGF mRNA 及蛋白表达均下降($P < 0.01$);IPT 干预组与对照组比较,VEGF mRNA 及蛋白表达差异无显著性($P > 0.05$)。结论:HPH 模型大鼠肺动脉 VEGF mRNA 及蛋白表达增加,IPT 可明显抑制慢性低氧大鼠肺动脉 VEGF mRNA 和蛋白的表达。

[关键词] 埃他卡林;低氧性肺动脉高压;血管内皮生长因子;RT-PCR;Western-blot

[中图分类号] R543.2

[文献标识码] A

[文章编号] 1007-4368(2009)04-0425-05

Effects of iptakalim on the mRNA and protein expression of VEGF in the pulmonary artery of chronically hypoxic rats

WANG Jue, CHEN Jian-bo, XIE Wei-ping, JIN Yu, WANG Hong*

(Department of Respiratory Medicine, the First Affiliated Hospital of NJMU, Nanjing 210029, China)

[Abstract] **Objective:** To study the effects of a new ATP-sensitive potassium channel opener, iptakalim (IPT), on the mRNA and protein expression of vascular endothelial growth factor (VEGF) in the pulmonary artery of rats with hypoxic pulmonary hypertension (HPH). **Methods:** Thirty-six Sprague-Dawley (SD) male rats were randomly divided into three equal groups: the control group and hypoxic group were given 5 ml/(kg·d) 0.9% sodium chloride, ig; the treated group were given 1.5 mg/(kg·d) IPT, ig. excepting the first group, the other two groups were put into hypoxic and normobaric chamber[(10.0 ± 0.5)%O₂, 8 h/day and 6 day/week] to establish a chronic hypoxic model. After four weeks, the mean pulmonary arterial pressure(mPAP), right ventricle/left ventricle and septum[RV/(LV+S)] were measured. RT-PCR and Western-blot were performed to analyze the mRNA and protein level of VEGF in the main pulmonary artery. **Result:** ① The levels of mPAP and RV/(LV+S) were significantly higher in the hypoxic group than those in the control group($P < 0.01$). Iptakalim 1.5 mg/(kg·d) decreased the levels of mPAP and RV/(LV+S)($P < 0.01$). ② The mRNA and protein levels of VEGF in the hypoxic group were significantly higher than those in the control group ($P < 0.01$). The treated group significantly decreased VEGF mRNA and protein expression compared with those in the hypoxic group ($P < 0.01$). There were no differences in VEGF mRNA and protein levels between the control group and the treated group ($P > 0.05$). **Conclusion:** IPT 1.5 mg/(kg·d) remarkably inhibited the levels of VEGF mRNA and protein expression compared with the hypoxic group. Iptakalim is a promising candidate for the treatment of hypoxic pulmonary hypertension.

[Key words] Iptakalim; hypoxic pulmonary hypertension; VEGF; RT-PCR; Western-blot

[Acta Univ Med Nanjing, 2009, 29(04): 425-428, 434]

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目(30871139);省科技厅基础研究计划(自然科学基金)资助项目(BK2006246);南京市社会发展项目(200701106)

*通讯作者, E-mail: hongwang@njmu.edu.cn

慢性阻塞性肺疾病 (chronic obstructive pulmonary disease, COPD) 是一种具有气流受限特征性疾病, 随着病情进展, 长期慢性低氧可导致肺血管广泛收缩和肺动脉高压, 使肺循环结构重组, 最终导致右心衰竭。血管内皮生长因子(VEGF)是一种新型的具有旁分泌和自分泌机制的生长因子, 低氧时它能特异性地作用于血管内皮细胞, 促进内皮细胞过度增生和水肿, 同时可促进新生血管形成及增加血管通透性^[1]。低氧时明显增多的 VEGF 作用于肺动脉壁内细胞成分, 导致肺动脉肌层增厚和肺动脉超微结构改变^[2], 由此产生明显的肺血管重构和肺动脉高压。

低氧性肺动脉高压(HPH)的主要病理特征是肺血管痉挛和肺血管重构。新近研究表明, 肺血管重构在肺动脉高压发病机制中的作用远比肺血管收缩重要^[3]。由于 VEGF 对内皮细胞特异的选择性以及低氧对其的诱导特性, 导致肺血管反应异常和结构的重构, 使其在低氧性肺动脉高压形成中起重要的介导作用。埃他卡林(iptakalim, IPT)是本课题组自行研究设计、合成生产的具有我国自主知识产权的新型 ATP 敏感性钾通道开放剂^[4]。以前研究表明 IPT 可以逆转持续低氧所致的大鼠肺动脉压增高和肺血管重构^[5]。本实验应用 RT-PCR 和 Western-blot 技术, 通过比较不同组别 VEGF mRNA 和蛋白表达水平, 探讨埃他卡林抑制低氧大鼠肺血管重构的分子生物学作用机制。

1 材料和方法

1.1 药物和试剂

IPT 由军事医学科学院毒物药物研究所合成、提供, 纯度 > 99.5%, 用生理盐水溶解至所需浓度。RNA TRIzol (Invitrogen 公司, 美国), 逆转录试剂盒 (TaKaRa 公司, 日本), Taq PCR MasterMix (北京天根生化科技有限公司), 引物合成 (Invitrogen 公司, 美国), 一抗为多克隆兔抗鼠抗体 (Abcam 公司, 美国), 二抗为 HRP 标记的羊抗兔多克隆抗体 (CST 公司, 美国), 内参为 HRP 标记的单克隆鼠抗 GAPDH 抗体 (上海康成生物公司), Marker 为预染蛋白 Marker (New England Biolab 公司, 美国), ECL 发光液 (Pierce 公司, 美国), 乌拉坦 (上海化学试剂采购供应站进口分装), 肝素 (苏州生物化学试剂厂)。

1.2 方法

1.2.1 动物分组及模型制备

清洁级雄性 SD 大鼠 36 只, 体重 (200 ± 20)g,

购自上海斯莱克实验动物有限责任公司, 随机分成对照组、HPH 模型组、埃他卡林干预组, 每组 12 只。IPT 干预组每日缺氧饲养前给予 IPT 1.5 mg/kg, 对照组和 HPH 模型组给予 0.9% NaCl 5 ml/kg。干预组和 HPH 模型组大鼠置于常压低氧舱内饲养, 通过充入氮气, 使舱内氧浓度为 (10.0 ± 0.5)%, 间断低氧每天 8 h, 每周 6 天, 持续 4 周。舱内氧浓度由监测仪 (CYES2 II, 中国上海) 监测, 舱内 CO₂ 和水蒸气分别用钠石灰和无水氯化钙吸收。

1.2.2 大鼠肺血流动力学检测

乌拉坦麻醉动物 (1.0 g/kg, 腹腔注射), 将充有肝素溶液的微导管经右颈外静脉插至肺动脉, 用微型压力传感器 (PT14M2, 971004) 测定平均肺动脉压力 (mPAP), 用多道生理记录仪记录。

1.2.3 右室肥厚指数的测定

血流动力学测定后, 立即取出心脏置于 10% 中性福尔马林 (pH7.40) 中固定 1 周, 切除心房, 分离右心室 (RV) 和左心室+室间隔 (LV+S), 吸干水分后分别称重, 计算 RV/(LV+S) 反映右心室重量的变化, 以确定有无右心室肥厚。

1.2.4 RT-PCR

血流动力学测定后, 立即取出大鼠心肺组织, 分离肺动脉, 置于液氮中保存。TRIzol 法抽提总 RNA, 提取的 RNA 按照逆转录试剂盒说明操作进行逆转录反应。PCR 反应物按照 Taq PCR MasterMix 反应体系加入。VEGF 上游: 5'-AAGCCCGTAA-GATTAGGGAGTT-3'; 下游: 5'-AGGGATGGGTTTGTCTGTGTT-3', 扩增长度 382 bp。β-actin 上游: 5'-CG-TTGACATCCGTAAAGAC-3', 下游: 5'-TGGAAG-GTGGACAGTGAG-3', 扩增长度 201 bp。VEGF 反应条件为: 94℃ 预变性 5 min 后, 进行 PCR 热循环: 94℃ 变性 45 s, 61℃ 退火 45 s, 72℃ 延伸 45 s, 共 28 个循环, 最后 72℃ 再延伸 5 min。β-actin 反应条件为: 95℃ 预变性 5 min, 94℃ 变性 1 min, 54.5℃ 退火 1 min, 72℃ 延伸 1 min, 共 35 个循环, 最后 72℃ 10 min。取 PCR 产物进行 2% 琼脂糖凝胶电泳, 紫外灯下观察, 拍照留底。VEGF 基因表达的相对含量用 VEGF/β-actin 灰度比值表示。

1.2.5 Western-blot

取出液氮中冻存的肺动脉, 用 RAPA 裂解液裂解肺动脉, 提取总蛋白, 用 BCA 法测各组蛋白浓度。制备 10% SDS-PAGE, 每泳道加总蛋白量 30 μg, 恒压电泳, 经湿转印到 PVDF 膜上 (Amrescoz 公司, 美国), 5% BSA-TBST 封闭, 分别加入 VEGF 兔抗鼠多

克隆抗体(1:500 稀释)和 GAPDH 鼠抗单克隆抗体(1:5000 稀释)孵育,VEGF 再加入 HRP 标记的羊抗兔多克隆抗体(1:4000 稀释)孵育,TBST 洗涤,ECL 化学发光剂自显影。VEGF 蛋白的相对含量用 VEGF/GAPDH 灰度比值表示。

1.3 统计学方法

用 Excel 2003 和 SPASS13.0 软件中方差分析(方差齐)和秩和检验(方差不齐时)对试验结果进行分析,所得结果以均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,所有检验结果均以 $P < 0.05$ 判断为统计学有显著意义。

2 结果

2.1 IPT 对慢性 HPH 大鼠 mPAP 及右心室肥厚的影响

慢性低氧组大鼠[(35.89±2.26)mmHg]的 mPAP 与对照组 [(18.35±1.48)mmHg] 相比,高 96%($P < 0.01$),慢性低氧大鼠 RV/(LV+S)显著高于正常对照组($P < 0.01$)。IPT 1.5 mg/(kg·d)能显著降低低氧所致的 mPAP 和 RV/(LV+S)增加($P < 0.01$),见表 1。

表 1 3 组大鼠 mPAP 和 RV/LV+S 比较

Tab 1 Comparison of mPAP and RV/LV+S of the three groups ($n = 12, \bar{x} \pm s$)

组别	mPAP(mmHg)	RV/LV+S
对照组	18.35 ± 1.48	0.262 ± 0.013
HPH 模型组	35.89 ± 2.26*	0.352 ± 0.016*
IPT 干预组	19.17 ± 1.54#	0.282 ± 0.034#

与对照组相比,* $P < 0.01$;与 HPH 模型组相比,# $P < 0.01$ 。

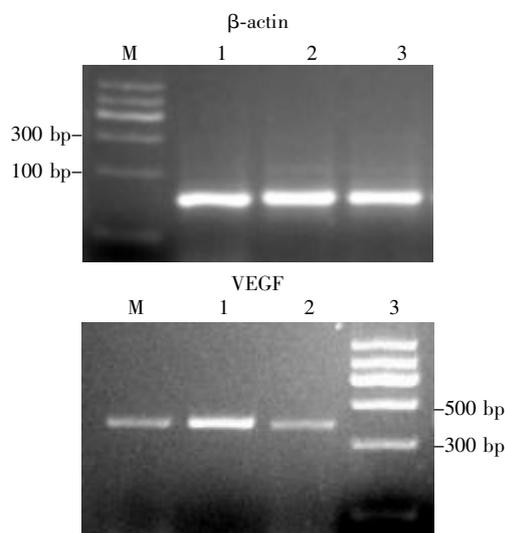
2.2 IPT 对慢性 HPH 大鼠肺动脉 VEGF mRNA 表达的影响

3 组大鼠均可扩增出 VEGF 和 β -actin 2 条基因带,HPH 模型组 VEGF 基因光带明显增强。通过光密度扫描半定量分析,得出 HPH 模型组 VEGF mRNA 表达量的灰度比值(0.83 ± 0.02),显著高于对照组(0.34 ± 0.01)($P < 0.01$),同时 IPT 干预组灰度比值(0.33 ± 0.02)显著低于 HPH 模型组($P < 0.01$),IPT 干预组与对照组相比稍有差异,但无显著的统计学意义($P > 0.05$),见图 1、2。

2.3 IPT 对慢性 HPH 大鼠肺动脉 VEGF 蛋白表达的影响

长期低氧大鼠肺动脉,VEGF 蛋白光带加深,而 IPT 干预组大鼠该蛋白光带减弱,进行光密度扫描半定量分析,发现 HPH 模型组灰度比值(0.806 ± 0.025)显著高于对照组(0.413 ± 0.070)($P < 0.01$),IPT 干预组灰度比值(0.416 ± 0.074)则显著低于

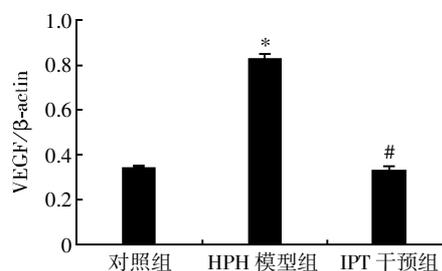
HPH 模型组($P < 0.01$),IPT 干预组与对照组相比稍有差异,但无显著的统计学意义($P > 0.05$),见图 3、4。



M:marker; 1:对照组; 2:HPH 模型组; 3:IPT 干预组。

图 1 各组大鼠肺动脉 VEGF mRNA 表达

Fig 1 The mRNA expression of VEGF in pulmonary artery by RT-PCR



与对照组比较,* $P < 0.01$;与 HPH 模型组比较,# $P < 0.01$ 。

图 2 埃他卡林对长期低氧大鼠肺动脉 VEGF mRNA 表达的影响

Fig 2 The effects of iptakalim on the mRNA expression of VEGF pulmonary artery in chronic hypoxia rats

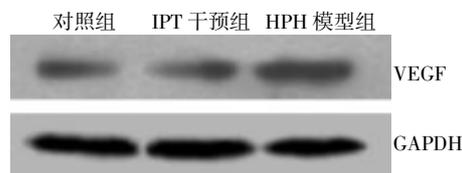
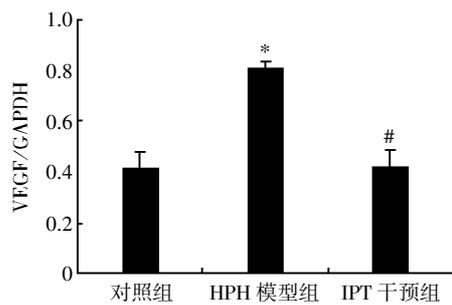


图 3 各组大鼠肺动脉 VEGF 蛋白表达

Fig 3 The protein expression of VEGF in pulmonary artery detected by Western-blot

3 讨论

低氧是引起慢性阻塞性肺疾病(COPD)肺循环障碍的重要刺激因素。本研究以常压低氧建立大鼠



与对照组比较, * $P < 0.01$; 与 HPH 模型组比较, # $P < 0.01$ 。

图 4 埃他卡林对长期低氧大鼠肺动脉 VEGF 蛋白表达的影响

Fig 4 Effects of iptakalim on protein expression of VEGF pulmonary artery in chronic hypoxia rats

低氧性肺动脉高压(HPH)模型,低氧 4 周,大鼠 mPAP 显著升高,提示形成了肺动脉高压;RV/(LV+S)比值的增加,进一步说明低氧引起了肺动脉高压并导致右心室肥厚。

低氧引起肺血管重构的机制较为复杂,肺血管重构是主要的血管变化特征和肺动脉高压难以逆转的重要因素。现已发现低氧可引起肺血管内皮细胞合成和释放多种细胞生长因子并参与肺血管平滑肌细胞的增生和细胞表型转化的调控,促进血管形成,引起肺血管重构^[6]。作为内皮细胞促有丝分裂因子和促通透性因子,VEGF 受缺氧的严密调控。在低氧状态下,肺血管持续合成和分泌 VEGF,其通过旁分泌形式作用于肺动脉内膜,引起内膜增厚以及介导新生血管的形成^[7]。

VEGF 及受体在肺部的分布及其广泛,在血管内皮细胞、肺泡上皮细胞及气道平滑肌细胞均有表达。大量研究证实 VEGF 是慢性低氧引起肺血管重构的重要因子之一,慢性低氧时其表达增加^[8]。VEGF 的表达受到多种因素的调控,缺氧是迄今发现的最强的调节因子。蛋白激酶 C(PKC)信号转导通路和重要的核因子 κ B(NF- κ B)参与机体多种重要的生理活动和病理生理过程,研究表明缺氧刺激人肺动脉平滑肌细胞使 VEGF 高表达可能与 PKC 大量激活失去稳态活化 NF- κ B 从而启动多种基因转录有关^[9]。VEGF 可通过激活血管平滑肌细胞内的活性氧(ROS)信号及 NF- κ B 转录致使血管平滑肌迁移,说明 VEGF 表达增加与肺动脉重构有关^[10]。缺氧条件下 VEGF 是低氧诱导因子 1 α (HIF-1 α)可调控基因中的一员^[11],HIF-1 α 是目前发现的细胞缺氧反应最关键的特异性中介因子之一^[12],二者均参与 HPH 形成,HIF-1 α 蛋白很可能以转录激活的形式上调 VEGF mRNA,从而导致 HPH 的发生和发展^[13]。

本研究发现,低氧 4 周的肺动脉高压大鼠肺动脉 VEGF mRNA 和蛋白表达均显著升高,提示慢性低氧诱导 VEGF 及其基因的表达增加和分泌增多,而后者又参与了肺动脉高压和右心室肥大的形成。通过埃他卡林干预后,低氧大鼠平均肺动脉压(mPAP)显著降低,右心室肥厚显著减轻,同时肺动脉上 VEGF 和 VEGF mRNA 表达也明显下降,提示埃他卡林可能通过一系列途径使 VEGF 等血管活性物质表达减少,从而有效预防低氧所致的肺动脉高压及肺血管重构。

综合本课题组以往的研究结果和国内外的研究资料,推测埃他卡林影响低氧性肺动脉高压大鼠 VEGF 和 VEGF mRNA 表达的可能机制在于:①与细胞核膜 ATP 敏感性钾通道结合,直接调节细胞内 VEGF mRNA 表达。②与细胞膜的 ATP 敏感性钾通道结合,使钾离子外流增加,细胞膜超极化,抑制电压依赖性钙通道开放,减少钙离子进入胞内。③通过抑制三磷酸肌醇的形成,减少钙离子从胞浆池释放,通过 Na^+ - Ca^+ 交换泵,加速细胞内钙离子的清除。④细胞内游离钙离子减少,抑制了蛋白激酶 C 的活性,减少早期反应生长反应因子(如 c-myc, c-fos)和各种因子如低氧诱导因子、内皮生长因子、转化生长因子的表达^[14],从而下调 VEGF 的表达、促进平滑肌凋亡、抑制肺血管重构。⑤通过影响 ET-1、ATII 和 NO 等血管活性物质的作用,舒张血管平滑肌,抑制肺血管重构。因此,埃他卡林极有前景成为新的治疗肺动脉高压、抑制肺血管重构的药物。

[参考文献]

- [1] Levy AP, Lery VS, Loscalzo J, et al. Regulation of vascular endothelial growth factor in cardiac myocytes [J]. *Circ Res*, 2002, 76(2): 758-762
- [2] Hiroshi Kanazawa. Role of vascular endothelial growth factor in the pathogenesis of chronic obstructive pulmonary disease [J]. *Med Sci Monit*, 2007, 13 (11): RA189-195
- [3] Jeffery T K, Wanstall J C. Pulmonary vascular remodeling: a target for therapeutic intervention in pulmonary hypertension [J]. *Pharmacol Thera Peutics*, 2001, 92: 1-20
- [4] Hai Wang. Pharmacological characteristics of the novel antihypertensive drug iptakalim hydrochloride and its molecular mechanisms [J]. *Drug Dev Res*, 2002, 54: 240-241
- [5] 解卫平,王虹,汪海,等. ATP 敏感性钾通道开放药

(下转第 434 页)

- [3] Jones LL, Sajed D, Tuszynski MH. Axonal regeneration through regions of chondroitin sulfate proteoglycan deposition after spinal cord injury: a balance of permissiveness and inhibition [J]. *Neurosci*, 2003, 23 (28): 9276-9288
- [4] Bareyre FM, Kerschensteiner M, Raineteau O, et al. The injured spinal cord spontaneously forms a new intraspinal circuit in adult rats [J]. *Nat Neurosci*, 2004, 7(3): 269-277
- [5] Bonnet D, Garcia M, Vecino E, et al. Brain-derived neurotrophic factor signalling in adult pig retinal ganglion cell neurite regeneration *in vitro* [J]. *Brain Res*, 2004, 1007(1-2): 142-151
- [6] Vaynman S, Ying Z, Gomez-Pinilla F. Interplay between brain-derived neurotrophic factor and signal transduction modulators in the regulation of the effects of exercise on synaptic-plasticity [J]. *Neuroscience*, 2003, 122(3): 647-657
- [7] Ying Z, Roy RR, Edgerton VR, et al. Exercise restores levels of neurotrophins and synaptic plasticity following spinal cord injury [J]. *Exp Neurol*, 2005, 193 (2): 411-419
- [8] Ying Z, Roy RR, Zhong H, et al. Brain-derived neurotrophic factor-exercise interactions in the recovery of symmetrical stepping after a cervical hemisection in rats [J]. *Neuroscience*, 2008, 155(4): 1070-1078
- [9] Mambetisaeva ET, Andrews W, Camurri L, et al. Robo family of proteins exhibit differential expression in mouse spinal cord and Robo-Slit interaction is required for mid-line crossing in vertebrate spinal cord [J]. *Dev Dyn*, 2005, 233(1): 41-51
- [10] Ma L, Tessier-Lavigne M. Dual branch-promoting and branch-repelling actions of Slit-Robo signaling on peripheral and central branches of developing sensory axons [J]. *Neurosci*, 2007, 27(25): 6843-6851
- [11] Hagino S, Iseki K, Mori T, et al. Slit and glypican-1 mRNAs are coexpressed in the reactive astrocytes of the injured adult brain [J]. *Glia*, 2003, 42(2): 130-138
- [12] 肖卫东, 易成腊, 陈安民, 等. 神经生长导向因子 Slit2 在成年大鼠急性脊髓损伤后的表达 [J]. *中华实验外科杂志*, 2006, 23(8): 987-989
- [13] 刘源, 李文磊, 丁新生, 等. 大鼠脊髓损伤后不同时期轴突导向因子 slit-2mRNA 表达及形态学变化 [J]. *南京医科大学学报(自然科学版)*, 2007, 27(7): 680-683
- [14] Dougherty KD, Dreyfus CF, Black IB. Brain-derived neurotrophic factor in astrocytes, oligodendrocytes, and microglia-macrophages after spinal cord injury [J]. *Neurobiol Dis*, 2000, 7(6): 574-585
- [15] 杨平林, 贺西京, 屈建强, 等. 巢蛋白和胶质纤维酸性蛋白在成年大鼠脊髓损伤后不同时期的表达变化 [J]. *中国修复重建外科杂志*, 2005, 19(06): 411-415

[收稿日期] 2008-11-13

(上接第 428 页)

- 埃他卡林对大鼠低氧性肺动脉高压的影响 [J]. *中国应用生理学杂志*, 2003, 19(1): 4-7
- [6] Stephen Y. Chan, Joseph Loscalzo. Pathogenic mechanisms of pulmonary arterial hypertension [J]. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*, 2008, 44: 14-30
- [7] Norbert F Voelkel, R William Vandivier, Rubin M Tudler. Vascular endothelial growth factor in the lung [J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2006, 290: 29-221
- [8] Partovian C, Adnot S, Raffestin B, et al. Adenovirus-mediated lung vascular endothelial growth factor overexpression protects against hypoxic pulmonary hypertension in rats [J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2000, 23: 762-771
- [9] 张焕萍, 徐永健, 张珍祥, 等. 蛋白激酶 C-核因子 κ B 信号转导通道对人肺动脉平滑肌细胞增殖和血管内皮生长因子表达的影响 [J]. *中华结核和呼吸杂志*, 2004, 27(4): 218-223
- [10] Wang Z, Castresana MR, Newman WH. Reactive oxygen and NF-kappa B in VEGF-induced migration of human vascular smooth muscle cells [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2001, 285(3): 669-674
- [11] Shweiki D, Itin A, Soffer D, et al. Vascular endothelial growth factor induced by hypoxia may mediate hypoxia-initiated angiogenesis [J]. *Nature*, 1992, 359: 843-845
- [12] Keneth NS, Rocha S. Regulation of gene expression by hypoxia [J]. *Biochem J*, 2008; 414(1): 19-29
- [13] Tipoe GL, Lau TY, Nanji AA, et al. Expression and functions of vasoactive substances regulated by hypoxia-inducible factor-1 in chronic hypoxemia [J]. *Cardiovasc Hematol Agents Med Chem*, 2006, 4(3): 199-218
- [15] Hardingham GE, Chawala S, Johnson CM, et al. Distinct functions of nuclear and cytoplasmic calcium in the control of gene expression [J]. *Nature*, 1997, 385: 260-265

[收稿日期] 2008-11-05