

# 多巴胺 D5 受体通过抑制氧化应激对 扩张型心肌病的调节作用

王子皓, 胡永艳, 王文洁, 董 伟, 姜晓亮, 刘 星, 杨志伟

(中国医学科学院北京协和医学院医学实验动物研究所, 北京 100021)

**【摘要】 目的** 探讨多巴胺 D5 受体是否会通过抑制氧化应激来影响扩张型心肌病 (dilated cardiomyopathy) 的发生发展。**方法** 建立心脏特异表达人多巴胺 D5 受体突变基因 F173L ( $\alpha$ -MHC-hD5F173L) 和正常基因 ( $\alpha$ -MHC-hD5WT) 转基因小鼠。用 3 月龄小鼠, 首先检测比较转基因小鼠心脏内 ROS 的产量和 NOX2 的表达量。然后对  $\alpha$ -MHC-hD5F173L 小鼠通过皮下给 NADPH 氧化酶的抑制剂罗布麻宁 (Apocynin) 4 周, 同时给 PBS 作为对照组, 然后检测各项心肌病相关指标。同时构建人多巴胺 D5 受体突变基因 (hD5F173L) 和正常多巴胺 D5 受体基因 (hD5WT) 的大鼠心肌细胞 (H9C2), 检测两者在基础条件下 ROS 产量的变化。**结果**  $\alpha$ -MHC-hD5F173L 转基因小鼠的 NADPH 氧化酶的活性和 NOX2 蛋白的表达量均明显高于野生型  $\alpha$ -MHC-hD5WT 小鼠, 罗布麻宁能显著改善  $\alpha$ -MHC-hD5F173L 转基因小鼠的心脏功能。H9C2-hD5F173L 大鼠细胞系 NOX2 的表达量及 ROS 产量高于 H9C2-hD5WT 对照细胞。**结论** 多巴胺 D5 受体可能通过抑制氧化应激而防止扩张型心肌病的发生发展。

**【关键词】** 扩张型心肌病; 多巴胺 D5 受体; 活性氧

**【中图分类号】** R332 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856(2015) 05-0024-06

doi: 10.3969/j.issn.1671.7856.2015.005.006

## The regulation of dilated cardiomyopathy by dopamine D5 receptor through inhibiting oxidative stress

WANG Zi-hao, HU Yong-yan, WANG Wen-jie, DONG Wei, JIANG Xiao-liang, LIU Xing, YANG Zhi-wei

(Institute of Laboratory Animal Science, Chinese Academy of Medical Sciences &

Peking Union Medical College, Beijing 100021, China)

**【Abstract】 Objective** To determine whether dopamine D5 receptor (D5R) regulates the development of dilated cardiomyopathy (DCM) by inhibiting oxidative stress. **Methods** We developed heart-specific hD5 mutant ( $\alpha$ -MHC-hD5F173L) and wild type ( $\alpha$ -MHC-hD5WT) transgenic mice. The NOX2 expression and ROS production were tested in the transgenic mice at three month of age. The  $\alpha$ -MHC-hD5F173L mice were treated with either NADPH oxidase inhibitor Apocynin (1mmol/kg/day) or phosphate-buffered saline (PBS) as control by intraperitoneal injection for 4 weeks. After then, the indexes of heart function were measured. The hD5WT and hD5F173L were transfected respectively in rat H9C2 cells, in which ROS production and NOX2 expression were detected at basal level. **Results** The ROS production and NOX2 expression were higher in the heart of  $\alpha$ -MHC-hD5F173L than  $\alpha$ -MHC-hD5WT mice. Apocynin treatment improved the heart function of  $\alpha$ -MHC-hD5F173L mice. NOX2 expression and ROS production were higher in hD5F173L

[基金项目] 2009 国家自然科学基金面上项目 (30971186)。

[作者简介] 王子皓 (1988 -), 男, 研究方向: 高血压的发病机制。E-mail: simmons224@sina.com。

[通讯作者] 杨志伟 (1969 -), 男, 博士, 研究员。E-mail: yangzhiwei@cnilas.pumc.edu.cn。

than hD5WT transfected H9C2 cells. **Conclusions** Dopamine D5 receptor may prevent DCM development by inhibiting oxidative stress.

**【Key words】** Dilated cardiomyopathy; Dopamine D5 receptor (D5R); Reactive oxygen species (ROS)

扩张型心肌病 (dilated cardiomyopathy, DCM) 是一种以心腔扩大、心肌收缩功能障碍为主要特征的心肌疾病<sup>[1-2]</sup>。其发病的原因复杂,包括特发性、家族或遗传性、病毒感染和(或)免疫性、酒精性或中毒性等,但最终的临床表现相似,如出现神经激素的激活及心力衰竭等<sup>[3]</sup>。研究证明,许多不同的信号传导通路都和扩张型心肌病有关系<sup>[4-7]</sup>,而其中的一些信号通路又和活性氧(ROS)的产生有着密切的联系。同时越来越多的研究表明,氧化应激在扩张型心肌病的发生发展中起着重要的作用<sup>[4-9]</sup>。

NADPH 氧化酶是心血管系统 ROS 的主要来源<sup>[10]</sup>。NADPH 氧化酶由 6 部分组成:细胞膜多肽 p22<sup>phox</sup>、gp91<sup>phox</sup>, 细胞浆多肽 P40<sup>phox</sup>、p47<sup>phox</sup> 和 p67<sup>phox</sup>, 小分子 G 蛋白 rac1 或 rac2。多个亚型的 Nox (NAD(P)H oxidase) 被发现,包括 Nox 1, Nox 2, Nox 3, Nox 4, Nox 5, 其分子量类似 gp91<sup>phox</sup>, 为  $65 \times 10^3$ <sup>[11]</sup>。NOX4 主要在血管平滑肌和肾脏细胞内表达<sup>[12]</sup>, NOX2 主要在心脏内表达<sup>[13]</sup>。

多巴胺受体是一种 G 蛋白偶联受体,包括 D1 类和 D2 类受体。D1 类受体包括 D1 受体和 D5 受体,该类受体增强腺苷酸环化酶 (adenylyl cyclase, AC) 活性,增加第二信使 cAMP 的产生。D2 类受体包括 D2、D3 和 D4, 该类受体抑制 AC 活性<sup>[14]</sup>。前期的研究发现, D5 受体基因敲除 (D5<sup>-/-</sup>) 小鼠血压明显升高,心脏重量增加、心肌肥厚<sup>[15-17]</sup>。全身表达 hD5F173L (CMV-hD5F173L) 基因的转基因小鼠与 CMV-hD5WT 对照小鼠相比, CMV-hD5F173L 小鼠肾脏的 NADPH 氧化酶的活性和 ROS 的产生量显著高于野生对照组,同时,3 月龄开始血压升高,4 月龄开始左心室壁厚<sup>[18]</sup>。因此,我们建立了心脏特异表达人多巴胺 hD5F173L 基因小鼠,发现该转基因小鼠出现典型扩张型心肌病的表型<sup>[19]</sup>。因此,在此基础上,我们对多巴胺 D5 受体通过氧化应激在心脏肥大发生、发展过程中的作用机制进行研究。

## 1 材料和方法

### 1.1 实验动物

SPF 级 C57BL/6J 小鼠雌雄各 15 只,体重 16 ~ 25 g, SPF 级雄性 ICR 小鼠 10 只,雌性 ICR 小鼠 20 只,体重 18 ~ 26 g, 均购自北京华阜康生物科技股份

有限公司【SCXK(京)2014-0004】; 饲养在中国医学科学院医学实验动物研究所【SYXK(京)2014-0029】, 实验中涉及动物的操作程序已经得到中国医学科学院医学实验动物研究所实验动物使用与管理委员会的批准【ILAS-PG-2014-005】。

### 1.2 转基因小鼠构建及动物试验

将 hD5FL173L 或 hD5WT 基因插入心脏特异表达的  $\alpha$ -MHC 启动子下游, 构建  $\alpha$ -MHC-hD5FL173L 或  $\alpha$ -MHC-hD5WT 转基因表达载体。用显微注射法将线性化的转基因表达载体注射到 C57BL/6J 小鼠的受精卵中, 转入受体假孕 ICR 小鼠中, 小鼠出生 14 d 提取基因组 DNA, 用 PCR 鉴定  $\alpha$ -MHC-hD5FL173L 或  $\alpha$ -MHC-hD5WT 转基因小鼠的基因型。

为了验证 NADPH 氧化酶在转基因小鼠心肌扩张中的作用, 我们用 3 月龄小鼠, 通过皮下持续给 ANDPH 氧化酶的抑制剂 Apocynin (SIGMA), 同时给 PBS 作为对照组。连续皮下注射给药 4 周后 (1 mmol/kg/day), 对小鼠超声检查, 最后处死小鼠, 取心脏称重, 并取同部分心肌组织用于 ADPH 氧化酶的活性和蛋白表达的测定。

### 1.3 细胞培养和 D5 受体基因转染

将人 D5 受体正常基因 hD5WT 或突变基因 hD5F173L 的全 cDNA 在 EcoRI 和 XbaI 之间插入到 pcDNA6/V5-His 质粒, 然后用 LT1 转染试剂将人 D5 受体 cDNA 转染到 H9C2 细胞 (H9C2-hD5WT 和 H9C2-hD5F173L)。用免疫印迹检测转染细胞内 His/V5 的表达确定转染是否成功。

### 1.4 超声检查

使用 VisualSonics, Vevo770 (加拿大), 高分辨率小动物超声系统, 将 3 月龄的阳性转基因小鼠及同龄野生型对照小鼠腹腔注射三溴乙醇 (0.18 mL/10 g 体重, 250 mg/kg) 麻醉。待小鼠麻醉完成后, 用脱毛膏涂于左胸, 静待 1 min, 用卫生纸将毛擦去。毛脱不净影响超声的清晰度。固定小鼠仰卧位, 用医用胶条将四肢固定于导电块上, 在 4 个导电块涂上导电胶, 用于分析心电图、心率及呼吸等参数。胸部涂上耦合剂, 超声检测。

### 1.5 NADPH 氧化酶活性测定

用二氯荧光素醋酸盐 (2', 7'-

dichlorodihydrofluorescein diacetate, DCFDA) 荧光法测定分别转染了人多巴胺 D5 受体突变基因 F173L 和正常多巴胺 D5 受体基因的大鼠心肌细胞 (H9C2) NADPH 氧化酶的活性。将 H9C2 细胞培养于 96 孔板中, 先使用 NADPH 氧化酶的抑制剂二苯基碘 (DPI, 10 mmol/L/30 min) (Sigma) 处理, 用 Hanks 平衡盐溶液洗涤一次, 然后加入 DCFDA (10 mmol/L), 37°C, 孵育 30 min; 用酶标仪 (Sigma) 在激发光 485 nm 和射出光 530 nm 波长的情况记录荧光强度。小鼠心脏组织的 NADPH 氧化酶的活性是利用光泽精化学发光法 (lucigenin chemiluminescence) 测定<sup>[17]</sup>。

### 1.6 免疫印迹

提取小鼠心脏和转染人 D5 受体大鼠心肌细胞 (H9C2) 全蛋白, 通过免疫印迹的方法检测 Nox2 (1:500, Epitomics)<sup>[20]</sup>, 并以 GAPDH 作为参照内参。

### 1.7 统计学方法

数据用 SPSS 统计软件处理, 计量数据以平均值  $\pm$  标准误 ( $X \pm SE$ ) 的形式表示, 二组样本间的比较用 t 检验, 3 组及以上样本的比较用 One-Way ANOVA 统计分析方法, 以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 $\alpha$ -MHC-hD5F173L 和 $\alpha$ -MHC-hD5WT 转基因小鼠心脏内 NADPH 氧化酶活性和蛋白表达水平

分别利用光泽精化学发光法和免疫印迹方法检测转基因小鼠心脏内 NADPH 氧化酶的活性及其 NOX2 蛋白的表达, 发现心脏特异表达人 D5 受体基因突变  $\alpha$ -MHC-hD5F173L 转基因小鼠的 NADPH 氧化酶的活性和 NOX2 蛋白的表达均明显高于野生型  $\alpha$ -MHC-hD5WT 小鼠 (图 1A, 1B)。

### 2.2 Apocynin 作用于 $\alpha$ -MHC-hD5FL173L 转基因小鼠后心脏结构和功能的变化

我们以前的研究发现,  $\alpha$ -MHC-hD5FL173L 转基因小鼠心脏收缩期和舒张期左室内径均增加, 收缩期和舒张期容积显著增大, 射血分数及短轴缩短率减少。病理学观察显示心腔明显大于野生型, 心室壁明显变薄, 心肌细胞不均匀肥大, 心肌间质纤维增多<sup>[19]</sup>。因此, 我们使用 NADPH 氧化酶特异性抑制剂 Apocynin (1 mmol/kg/day), 通过皮下持续给予  $\alpha$ -MHC-hD5FL173L 转基因小鼠 4 周, 发现

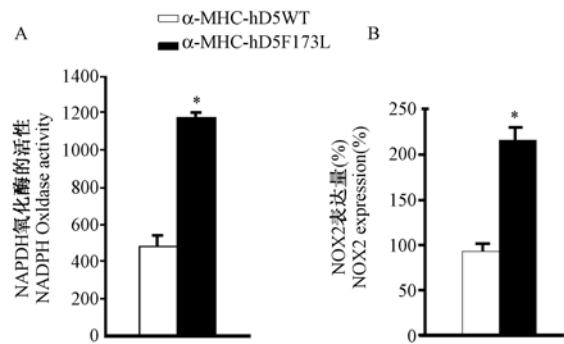


图 1  $\alpha$ -MHC-hD5F173L 和  $\alpha$ -MHC-hD5WT 转基因小鼠心脏 NADPH 氧化酶活性及 NOX2 蛋白的表达水平 (\* $P < 0.05$  vs.  $\alpha$ -MHC-hD5WT,  $n = 12$ )

Fig. 1 NADPH oxidase activity and NOX2 expression in the heart of  $\alpha$ -MHC-hD5F173L and  $\alpha$ -MHC-hD5WT mice (\* $P < 0.05$  vs.  $\alpha$ -MHC-hD5WT,  $n = 12$ )

Apocynin 给药组小鼠心脏扩张明显改善 (图 2), 心脏收缩期和舒张期容积减小 (图 3A), 收缩期和舒张期左室内径减小 (图 3B), 心脏体积相对减小 (图 3C), 射血分数及短轴缩短率增加 (图 3D, 3E), 即心脏功能改善。

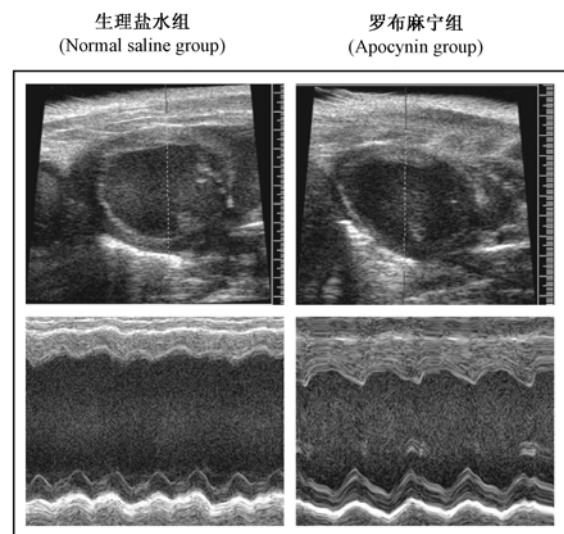


图 2  $\alpha$ -MHC-hD5FL173L 转基因小鼠分别注射生理盐水和罗布麻宁后心脏的 M 超声分析

Fig. 2 M-mode echocardiography of  $\alpha$ -MHC-hD5FL173L mice heart injected with saline and Apocynin

### 2.3 H9C2-hD5F173L 和 H9C2-hD5WT 细胞内 NADPH 氧化酶的活性和蛋白的表达水平

为了进一步验证多巴胺 D5 受体在心脏内对氧化应激的调节作用, 我们将 hD5F173L 和 hD5WT 转染到 H9C2 细胞内。因 D5 受体具有持续活性的特

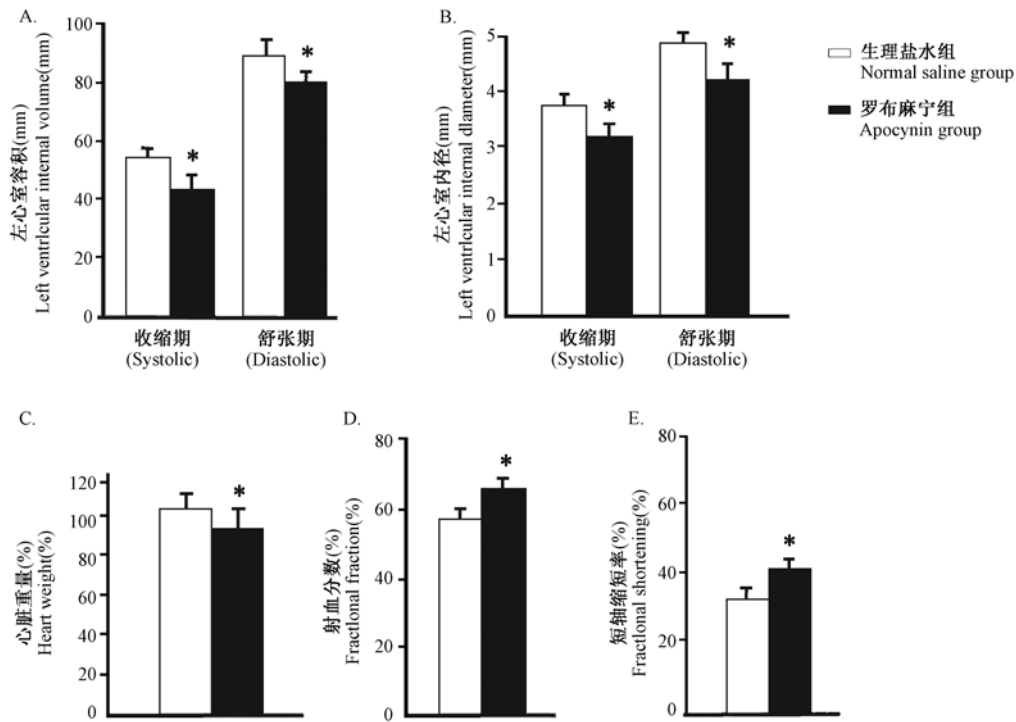


图 3 A-E;  $\alpha$ -MHC-hd5FL173L 转基因小鼠心脏功能的超声心电图分析 (\*  $P < 0.05$  vs. saline treatment,  $n = 10$ )

Fig. 3 A-E; Echocardiographic analysis of  $\alpha$ -MHC-hd5FL173L mice cardiac function (\*  $P < 0.05$  vs. saline treatment,  $n = 10$ )

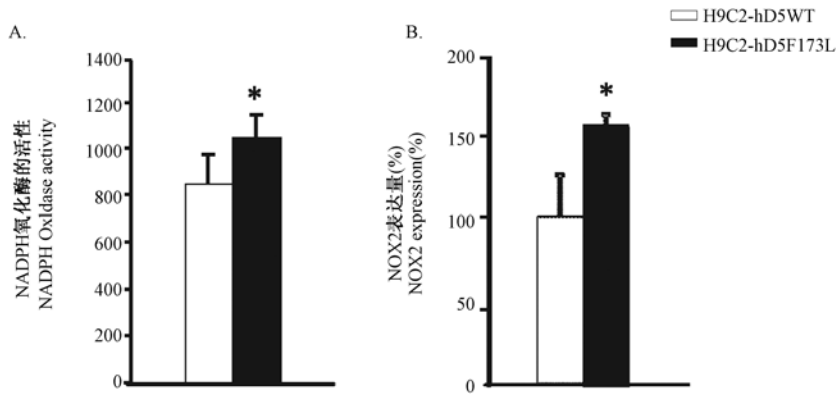


图 4 H9C2-hd5F173L 和 H9C2-hd5WT 细胞内 NADPH 氧化酶的活性和 NOX2 蛋白的表达 (\*  $P < 0.05$  vs. H9C2-D5WT,  $n = 5$ )

Fig. 4 NADPH oxidase activity and NOX2 expression in H9C2-hd5F173L and H9C2-hd5WT cells (\*  $P < 0.05$  vs. H9C2-D5WT,  $n = 5$ )

点,即 D5 受体在没有多巴胺或激动剂作用的情况下仍具有功能活性<sup>[17]</sup>。因此,我们检测了转染细胞基础条件下 NADPH 氧化酶的活性和蛋白表达。研究发现,H9C2-hd5F173L 细胞内 NADPH 氧化酶的活性和 NOX2 蛋白的表达均高于 H9C2-hd5WT 细胞(图 4A,4B)。

### 3 讨论

研究发现,转人多巴胺 D5 受体突变基因 hd5F175L 心脏特异表达小鼠出现扩张型心肌病表型,心脏功能减弱,同时伴有心脏 NADPH 氧化酶活性和蛋白的表达增加。NADPH 氧化酶抑制剂减轻了该疾病表型,改善了心脏功能。转染 hd5F173L

基因的心肌细胞,在基础状态下,其 NADPH 氧化酶活性和蛋白的表达均显著高于转染正常 hD5WT 基因的细胞。一些临床数据表明抗氧化剂对于扩张型心肌病的治疗是有效的,如辅酶 Q10、洋地黄、卡维地洛等<sup>[21-24]</sup>。因此可证明多巴胺 D5 受体通过调节 NADPH 氧化酶的活性及 ROS 的产生来影响心脏的结构和功能。

临床研究表明 ROS 的产生在许多心脏疾病的发生发展中起着重要作用<sup>[25-26]</sup>。ROS 包括含氧自由基、氧的非自由基衍生物、对氧化物、氢过氧化物、脂质过氧化物等<sup>[27]</sup>。生理情况下,化学及代谢来源的 ROS 对机体起到有益作用,但在电离辐射、紫外线照射或抗氧化能力降低的情况下,机体内将产生大量的 ROS 自由基及脂质过氧化物等,使体内氧化和抗氧化平衡失调,导致 ROS 连锁反应,引起不同程度细胞毒性反应,并造成膜脂质、蛋白质和 DNA 的氧化损伤,进而引起心肌细胞的凋亡、衰老以致心力衰竭的发生。NADPH 氧化酶家族是心血管系统 ROS 的主要来源,NOX2 在小鼠和人的心脏衰竭进展中起到了一定的促进作用,减少 NOX2 的表达能防止氧化应激而保护心肌细胞<sup>[19]</sup>。

研究表明,心肌中的 NADPH 氧化酶是产生 ROS 的主要来源,ROS 可激活一系列下游信号,对细胞外因子产生应答。其介导的信号通路包括:1) ROS-MAPKs 信号通路。在哺乳类动物细胞内主要存在三条并行的 MAPKs 信号通路,即 ERK (extracellular signal-regulated kinase)、JNK/SAPK、p38MAPK。MAPK 被双重特异性激酶激活后从胞浆移行至胞核,进而活化调控肥厚基因(ANP、BNP、 $\alpha$ -SKA、 $\beta$ -MHC)表达的转录因子<sup>[28]</sup>。研究发现,ROS 是激活 MAPKs 重要的激活剂,心脏中 ROS 水平被抑制后,包括 ERK1/2、JNK、P38 在内的 MAPKs 磷酸化水平明显下降,心肌肥厚减弱<sup>[29-30]</sup>。2) ROS-Ca<sup>2+</sup> 信号通路。Ca<sup>2+</sup> 是胞内重要的第二信使,参与下游多条信号通路,在细胞信号传导过程中起到重要的作用。ROS 直接作用于钠钙交换蛋白,使得 Ca<sup>2+</sup> 大量内流,激活胞核基因进一步增加胞质蛋白的合成,导致心肌肥大<sup>[31-32]</sup>。但是,多巴胺 D5 受体并非是影响 ROS 产生的唯一通路,其调节心肌肥大的具体信号通路及作用机制还有待于进一步研究。

#### 参考文献:

[1] Hughes SE, McKenna WJ. New insights into the pathology of

inherited cardiomyopathy[J]. Heart 2005;91:257-264.

- [2] Jefferies JL, Towbin JA. Dilated cardiomyopathy [J]. Lancet 2010;375:752-762.
- [3] Houser SR, Margulies KB, Murphy AM, et al. Animal models of heart failure: a scientific statement from the American Heart Association[J]. Circ Res 2012;111:131-150.
- [4] Baumgartner D, Scholl-Burgi S, Sass JO, et al. 2007. Prolonged QTc intervals and decreased left ventricular contractility in patients with propionic acidemia[J]. J Pediatr. 150:192-197.
- [5] Movahed MR, Saito Y. Lack of association between obesity and left ventricular systolic dysfunction [J]. Echocardiography. 2009. 26:128-132.
- [6] Alameddine, F. M., Zafari, A. M. Genetic polymorphisms and oxidative stress in heart failure. Congest[J]. Heart Fail. 2002, 8, 157-164.
- [7] Givertz, M. M. Colucci, W. S. New targets for heart-failure therapy: Endothelin, inflammatory cytokines, and oxidative stress[J]. Lancet 1998, 352, SI34-SI38.
- [8] Kinugawa S, Tsutsui H, Hayashidani S, et al. Treatment with dimethylthiourea prevents left ventricular remodeling and failure after experimental myocardial infarction in mice: role of oxidative stress[J]. Circ Res. 2000;87:392-398.
- [9] Engberding N, Spiekermann S, Schaefer A, et al. Allopurinol attenuates left ventricular remodeling and dysfunction after experimental myocardial infarction: a new action for an old drug [J]. Circulation. 2004;110:2175-2179.
- [10] Cai H, Griendling KK, Harrison DG. The vascular NAD(P)H oxidases as therapeutic targets in cardiovascular diseases [J]. Trends Pharmacol Sci. 2003; 24(9): 471-418.
- [11] Cheng G, Cao Z, Xu X, et al. Homologs of gp91phox: cloning and tissue expression of Nox3, Nox4, and Nox5 [J]. Gene. 2001; 269: 131-140.
- [12] Shiose A, Kuroda J, Tsuruya K, et al. A novel superoxide-producing NAD(P)H oxidase in kidney [J]. J Biol Chem. 2001; 276: 1417-1423.
- [13] Piccoli C, Ria R, Scrima R, et al. Characterization of mitochondrial and extramitochondrial oxygen consuming reaction in human hematopoietic stem cells [J]. Novel evidence of the occurrence of NADPH oxidase activity [J]. J Biol Chem, 2005, 280(28):26467-26476.
- [14] Yang Z, Sibley DR, Jose PA. D5 dopamine receptor knockout mice and hypertension [J]. J Recept Signal Transduct Res, 2004, 24: 149-164.
- [15] Holmes A, Hollon TR, Gleason TC, et al. Behavioral characterization of dopamine D5 receptor null mutant mice [J]. Behav Neurosci. 2001, 115:1129-1144.
- [16] Yang Z, Zheng S, Asico LD, et al. Increased PLD activity and elevated blood pressure in D5 receptor knockout mice [J]. Am J Physiol Heart Circ Physiol. 2005; 288(1): H55-61.

(上转第 19 页)

- related quality of life in children with newly diagnosed immune thrombocytopenia [J]. *Haematologica*, 2014, 99 (9): 1525 - 1531.
- [2] 张权, 王纓. 中医药治疗特发性血小板减少性紫癜概况及展望[J]. *辽宁中医药大学学报*, 2014, 16(4): 247 - 249.
- [3] 全日城, 麻柔. 麻柔辨证施治慢性免疫性血小板减少性紫癜经验[J]. *北京中医药*, 2010, 29(4): 260 - 261.
- [4] 朱影. 清热滋阴凉血止血法治疗慢性特发性血小板减少性紫癜[J]. *江西中医药*, 2008, 39(304): 32 - 33.
- [5] 蒋文明, 邓常青, 陈大舜, 等. 大鼠免疫性血小板减少模型的研究[J]. *中国实验动物学报*, 1996, 4(2): 104 - 107.
- [6] 朱文锋. *中医诊断学*[M]. 北京: 中国中医药出版社, 2002.
- [7] Harrington WJ, Minnich V, Hollingsworth JW, *et al.* Demonstration of a thrombocytopenic factor in the blood of patients with thrombocytopenic purpura [J]. *J Lab Clin Med*, 1951, 38: 1 - 10.
- [8] Domínguez V, Govezensky T, Gevorkian G, *et al.* Low platelet counts alone do not cause bleeding in an experimental immune thrombocytopenic purpura in mice [J]. *Haematologica*, 2003, 88 (6): 679 - 687.
- [9] Song S, Crow AR, Freedman J, *et al.* Monoclonal IgG can ameliorate immune thrombocytopenia in a murine model of ITP: an alternative to IVIG [J]. *Blood*, 2003, 101(9): 3708 - 3713.
- [10] 左泽平, 王志斌, 郭玉东, 等. 常用大鼠发热模型研究[J]. *中国比较医学杂志*, 2012, 22(2): 52 - 57.
- [11] 鄯新莲, 段红福, 崔瑛, 等. 血热出血模型大鼠血清中鲜地黄高效液相色谱分析[J]. *中医学报*, 2011, 9(26): 1067 - 1069.
- [12] 付澄洲. 寒热治则浅议[C]. *中华中医药学会中医内科学术论坛*, 2013, 517 - 520.
- [13] Cines DB, Bussell JB, Liebman HA, *et al.* The ITP syndrome: pathogenic and clinical diversity [J]. *Blood*, 2009, 113(26): 6511 - 6521.
- [14] 唐晓峰, 薛漫清, 王晖. 大鼠发热模型及发热机制的研究进展[J]. *广东药学院学报*, 2009, 25(3): 327 - 329.
- [15] Chander V, Tirkey N, Chopra K. Adrenergic receptor subtypes inositol phosphates and sources of cell [J]. *Toxicology*, 2005, 210(1): 55 - 64.
- [16] Chong BH. ITP: Tregs come to the rescue [J]. *Blood*, 2010, 116 (22): 4388 - 4390.

[修回日期]2015-03-31

(下接第 28 页)

- [17] Yang Z, Asico LD, Yu P, *et al.* D5 dopamine receptor regulation of reactive oxygen species production, NADPH oxidase, and blood pressure [J]. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2006; 290(1): R96 - R104.
- [18] 张艳荣, 全雄志, 杨志伟, 等. 多巴胺 D5 受体转基因小鼠的建立[J]. *中国比较医学杂志*. 2008; 18(5): 54 - 58.
- [19] 胡永艳, 董伟, 杨志伟, 等. 多巴胺 D5 受体突变基因 F173L 在心脏过表达引起转基因小鼠扩张型心肌病[J]. *中华高血压杂志*, 2011, 5(19): 454 - 458.
- [20] Nirmal PARAJULI, Vaibhav B. PATEL, Wang WANG, Ratnadeep BASU and Gavin Y. OUDIT. Loss of NOX2 (gp91phox) prevents oxidative stress and progression to advanced heart failure [J]. *Clinical Science*, 2014, 127, 331 - 340.
- [21] Turunen, M. Olsson, J. Dallner, G. Metabolism and function of coenzyme Q. *Biochim. Biophys [J]. Acta*, 2004; 1660: 171 - 199.
- [22] Packer M, Bristow MR, Cohn JN, *et al.* The effect of carvedilol on morbidity and mortality in patients with chronic heart failure: US Carvedilol Heart Failure Study Group [J]. *N Engl J Med* 1996; 334: 1349 - 1355.
- [23] Yue TL, Cheng HY, Lysko PG. *et al.* Carvedilol, a new vasodilator and beta adrenoceptor antagonist, is an antioxidant and free radical scavenger [J]. *J Pharmacol Exp Ther* 1992; 263: 92 - 98.
- [24] Dandona, P. Karne, R. Ghanim, *et al.* Carvedilol inhibits reactive oxygen species generation by leukocytes and oxidative damage to amino acids. *Circulation* 2000; 101: 122 - 124.
- [25] Giordano FJ. Oxygen, oxidative stress, hypoxia, and heart failure [J]. *J Clin Invest* 2005; 115: 500 - 508.
- [26] Griending KK, Sorescu D, Ushio-Fukai M. NAD(P)H oxidase: role in cardiovascular biology and disease. *Circ Res*. 2000; 86: 494 - 501.
- [27] Beckman JS, Koppenol WH. Nitric oxide, superoxide, and peroxynitrite: the good, the bad, and ugly [J]. *Am J Physiol*, 1996, 271: C1424 - C1437.
- [28] Ghosh MC, Wang X, Li S, *et al.* Regulation of calcineurin by oxidative stress [J]. *Methods Enzymol*. 2003, 366: 289 - 304.
- [29] G YB, Su B, Sah VP, *et al.* Cardiac Hypertrophy induced by mitogen-activated protein kinase kinase 7, a specific activator for c-Jun HN2 - terminal kinase in ventricular cells [J]. *J Biol Chem*. 1998, 273(10): 5423.
- [30] Ghosh MC, Wang X, Li S, *et al.* Regulation of calcineurin by oxidative stress [J]. *Methods Enzymol*. 2003, 366: 289 - 304.
- [31] W, Zou Y, Shiojima L, *et al.* Ca<sup>2+</sup> /calmodulin-dependent kinase II and calcineurin play critical roles in endothelin-1-induced cardio myocyte hypertrophy [J]. *J Biol Chem*. 2000, 275.
- [32] Rdano FJ. Oxygen, oxidative stress, hypoxia, and heart failure [J]. *J Clin Invest*, 2005, 115(3): 500 - 508.

[修回日期]2015-04-08