

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2014.32.013

HERG 钾通道在细胞容量调节中的作用 *

梁 晶¹ 刘惠彬² 李 哲³ 刘冬敏¹ 孙向菊¹ 吴禹蒙¹ 张 鑫¹ 吴玉波^{1△}

(1 哈尔滨医科大学附属第四医院 药学部 黑龙江 哈尔滨 150001; 2 哈尔滨医科大学附属第二医院 药理学教研室 黑龙江 哈尔滨 150081; 3 哈尔滨医科大学 机能学教研室 黑龙江 哈尔滨 150081)

摘要 目的:研究 HERG 钾通道在细胞容量调节中的作用,并探讨其作用机制。**方法:**全部试验应用稳定转染 HERG-HEK293 细胞和 HEK293 细胞。应用全细胞膜片钳技术记录 HERG 钾电流。**结果:**①当 HERG-HEK293 细胞处于低渗状态,指令电压为 0 mV 时, I_{step} 增加 60%(n=12, P<0.05);如指令电压为 +30 mV, I_{tail} 增加 72.1%(n=11, P<0.01),增大的 HERG 电流可被特异性 HERG 钾电流阻断剂 Cisapride (100nM)抑制, I_{step} 被抑制 97.2%(n=6, P<0.01), I_{tail} 被抑制 174.1%(n=6, P<0.01)。②在低渗状态,指令电压为 0 mV 时,容量调节性氯通道阻断剂尼氟灭酸(NFA, 10 nmol/L)使 I_{step} 抑制 46.2%(n=12, P<0.01), I_{tail} 抑制 48.5%(n=11, P<0.01);给以容量调节性氯通道阻断剂 DIDS 100 μmol/L 时, I_{step} 抑制 45.9%(n=12, P<0.01), I_{tail} 抑制 51.1%(n=11, P<0.01)。**结论:**HERG 通道部分参与调节性细胞容量下降过程。其参与的细胞容量调节与容量调节性氯通道的激活相伴随。

关键词:HERG 钾通道;膜片钳;细胞容量;调节性细胞容量下降

中图分类号:R329.25 文献标识码:A 文章编号:1673-6273(2014)32-6253-04

The Contribution and Mechanism of the HERG Potassium Channels on the Regulation of Cell Volume*

LIANG Jing¹, LIU Hui-bin², LI Zhe³, LIU Dong-min¹, SUN Xiang-ju¹, WU Yu-meng¹, ZHANG Xin¹, WU Yu-bo^{1△}

(1 Department of pharmacy, The Fourth Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Harbin, Heilongjiang, 150001, China;

2 Department of Pharmacology, The Second Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Harbin, Heilongjiang, 150081, China;

3 Research Center of Physical function, Harbin Medical University, Harbin, Heilongjiang, 150081, China)

ABSTRACT Objective: To investigate the effect of HERG (Human ether-a-go-go related gene) potassium channels on the regulatory volume decrease and to reveal the possible mechanism. **Methods:** The stable HERG-transfected HEK293 cell line and HERG non-transfected HEK293 cell line were used for all the experiments, HERG potassium current was recorded in whole-cell patch-clamp techniques. **Results:** ① When the HERG-HEK293 cells are exposed to the hypotonic solution and the test potential is 0mV, the I_{step} increased 60%(n=12, P<0.05); the I_{tail} increased 72.1% (n=11, P<0.01); the increase currents can be inhibited by the specific blocker Cisapride (100nmol/L), I_{step} can be inhibited by 97.2% (n=6, P<0.01) and the I_{tail} can be inhibited by 174.1% (n=6, P<0.01). ② Exposure to the hypotonic solution and in the presence of the volume regulated chloride channel blockers Niflumic Acid (10 nmol/L), the I_{step} can be inhibited by 46.2% (n=12, P<0.01) and the I_{tail} can be inhibited by 48.5% (n=11, P<0.01); In the presence of DIDS (100 μmol/L), the I_{step} can be inhibited by 45.9% (n=12, P<0.01) and I_{tail} can be inhibited by 51.1%(n=11, P<0.01). **Conclusion:** HERG potassium channels are partly involved in the process of the regulatory volume decrease, and the involvement followed the activation of the volume regulated chloride channel.

Key words: HERG potassium channels; Patch-clamp techniques; Cell volume

Chinese Library Classification(CLC): R329.25 **Document code:** A

Article ID:1673-6273(2014)32-6253-04

前言

人类 ether-a-go-go 相关基因 (HERG, Human ether-a-go-go related gene)通道在很多细胞和组织都有分布,并编码一种延迟性整流钾通道^[1,2],除了在细胞增殖、分化、凋亡和激素分泌等生理及病理过程中起重要作用^[3-5],还可以诱导肿瘤细胞凋亡^[6]。其诱导细胞凋亡引起的容量改变与细胞的容量下降过程相似。近

来发现,细胞代谢时会伴有细胞容量的改变,在细胞分化、生长、迁移、坏死、凋亡等过程中均有细胞容量改变的发生^[7]。病理状态下,各种致病因素经常导致机体内环境紊乱使细胞内外渗透压改变^[8]。因而深入理解细胞容量调节机制不仅具有重要的生理意义,而且对揭示疾病的发病机制进而提出有效的药物治疗方法具有重要的意义。我们在试验中发现,转染了 HERG 通道的 HEK293 细胞在低渗状态下通过细胞容量调节其体积比

* 基金项目:中国博士后科学基金项目(2012M520775)

作者简介:梁晶(1985-),女,硕士研究生,药师,主要研究方向:临床药理学

△ 通讯作者:吴玉波, E-mail:ydyxwyb@163.com

(收稿日期:2013-10-28 接受日期:2013-11-20)

原来处于等渗条件时小很多,所以我们设想 HERG 通道参与了细胞容量调节的过程。目前,国内外这方面相关报道较少,如果能发现其参与容量调节的机制,将会有很重要的理论及临床指导意义。

1 材料与方法

1.1 材料与溶液

1.1.1 细胞系 HEK293 (Human Embryonic Kidney 293)细胞系购于哈尔滨医科大学肿瘤研究所。HERG 稳定转染 HEK293 细胞系由加拿大蒙特利尔心脏研究所赠送。

1.1.2 主要试剂和药品 HEPES、EGTA、Mg-ATP、G418、二甲基亚砜 (DMSO)、D-mannitol、Tris-base、西沙必利(Cisapride)、DIDS、尼氟灭酸(Niflumic Acid)(Sigma 公司);BSA(上海生物公司);胰蛋白酶(GIBCO 公司);胎牛血清(杭州四季青公司);RPMI-1640 液体培养基(Hyclone 公司)。

1.1.3 主要液体配置 正常台式液:(Tyrode's solution, mmol/L) NaCl 136, KCl 5.4, MgCl₂·6H₂O 1, HEPES 5, NaH₂PO₄ 0.33, CaCl₂ 1, glucose 10; 低渗台式液:(Hypo-Tyrode's solution, mmol/L) NaCl 90, 其他成分与正常台式液相同,应用 NaOH 调 pH 为 7.3-7.4; 电极液:(pipette solution, mmol/L) KCl 130, MgCl₂·6H₂O 1, EGTA 5, MgATP 5, HEPES 10, GTP 0.1 应用 KOH 调 pH 为 7.2, 分装至 1.5 mL 离心管中备用; 等渗外液 NaCl 70, KCl 5, HEPES 10, CaCl₂ 1, D-Mannitol 140; 低渗外液 NaCl 70, KCl 5, HEPES 10, CaCl₂ 1, 应用 Tris-base 调 pH 为 7.4, 用甘露醇将渗透压调整为 300 mosm/L 作为等渗细胞外液, 将渗透压调整为 163 mosm/L 作为低渗细胞外液。

1.2 实验方法

1.2.1 细胞培养 当细胞融合至 70%即处于对数生长期时,开始传代培养,传代时移去培养基,加入 0.25%胰蛋白酶 1 mL 消化 2-4 min 至细胞分散,吹打。将细胞移入离心管离心(1000 rpm, 5 min),培养液重新悬浮混匀细胞,接种于含 10% 胎牛血清和 5%G418 的 DMEM 培养基的培养瓶中,置于 37℃ 含 5% CO₂ 的培养箱中培养。培养的 HEK 细胞为单层生长,传代率为 1:3 到 1:4, 每 2-3 d 传代一次。

1.2.2 单细胞制备 取生长状态良好处于对数生长期的细胞,采取一般传代方法消化细胞,消化约 2-4 min, 移至离心管离心,后保存于装有 KB 液的试管中,吹打使之分散成为单个细胞,置于 4℃ 冰箱稳定 1 h 待用。全部细胞 6 h 内用完。

1.2.3 全细胞膜片钳记录 将细胞滴入浴槽中,用恒流泵以细胞外液冲洗细胞至细胞表面清洁,调整恒流泵至每分钟流量约 10 倍浴槽体积。应用微电极拉制仪制备电极,使电极尖端电阻约 3-4 MΩ。冲灌电极内液。当获得封接电阻大于 1 GΩ 时,轻轻吸破细胞记录全细胞膜电流。整个实验过程由计算机软件 pCLAMP 8.2 控制数-模转换器完成刺激信号的产生、反馈信号的采集以及数据分析。串联电阻控制在 5 MΩ 以下,补偿至少 90%,并且实验过程中保证串联电阻的稳定。信号输入经过 1 kHz 的滤波,数据存于计算机硬盘以便分析。全部实验在室温下进行。

1.3 数据的统计学分析

数据进行统计分析并作图,实验数据以 mean±SE 表示,

用组间 t 检验进行统计差异性检验, P<0.05 认为有显著差异。

2 结果

2.1 不同渗透压细胞外液,指令电压从 -60 mV 到 +40 mV 时记录到的 HERG 电流

形成全细胞构型后,在电压钳模式下记录电流。刺激设计程序为:保持电压为 -80 mV,指令电压范围从 -60 mV 到 +40 mV,步阶 10 mV,间隔时间为 2500 ms,电压复极到 -50 mV,持续 2500 ms,以记录尾电流。每隔 3-10 min 确定 HERG 电流最小程度 rundown,分别记录细胞处于等渗和低渗细胞外液时的电流情况。细胞处于低渗外液(NaCl 90, KCl 5.4, MgCl₂·6H₂O 1, HEPES 5, NaH₂PO₄ 0.33, CaCl₂ 1, glucose 10 mmol/L) 时 HERG 电流比处于等渗外液时(NaCl 136 mmol/L, 其他成分与低渗外液相同)电流明显增加,HERG 稳态电流在膜电位去极化到 -10 mV-0 mV 电压时达到最大值,尾电流在 +20 mV-+40 mV 时完全激活,达到最大。低渗时 HERG 电流明显增加,增加的电流可分别被氯通道阻断剂 DIDS, NFA 和 HERG 通道阻断剂 Cisapride 所抑制。

2.2 等渗,低渗细胞外液和低渗时阻断剂对 HERG 电流的密度-电压曲线的影响

低渗状态刺激电压为 0 mV 时使 HERG 电流从等渗状态的 44.23 ± 5.12 pA/pF (n=13) 增大到 70.65 ± 9.37 pA/pF (n=13), +20 mV 时尾电流从 50.27 ± 4.1 pA/pF 增大到 75.49 ± 7.1 pA/pF (n=13)。该增大的电流可被 Cisapride (100 nmol/L) 所抑制,在相同电压下使稳态电流减少为 29.1 ± 5.7 pA/pF (n=13),尾电流为 27.7 ± 7.6 pA/pF (n=13),说明增大的电流包括部分 HERG 电流。而预先用氯通道阻断剂 DIDS (100 μmol/L) 和 NFA (10 nmol/L) 处理,低渗状态时稳态电流在 0 mV 时分别为 32.9 ± 1.7 pA/pF (n=13) 和 30.9 ± 3.3 pA/pF (n=13),在 +20 mV 时尾电流为 37.2 ± 2.1 pA/pF (n=13) 和 39.1 ± 3.3 pA/pF (n=13)。在等渗状态时,氯通道阻断剂对 HERG 电流无改变(数据未给出)。氯通道阻断剂明显抑制低渗时 HERG 电流的增大,由于氯通道被阻断,细胞内氯离子外流减少,膜电位朝着去极化方向变化程度减弱,不足以达到使 HERG 通道激活的阈电位,因此 HERG 电流增加减弱。说明低渗状态下 HERG 通道的激活是与氯通道的开放相耦联的。

2.3 HERG 通道在等渗和低渗状态时的激活曲线

图 3 为 HERG 电流的激活曲线,等渗时, $V_h = -22.97$ mV, $k = 9.31$; 低渗时 $V_h = -24.99$ mV, $k = 9.92$ 。(n=6, P>0.05) 激活过程未见显著改变。说明低渗细胞外液使 HERG 电流增加不是通过改变其电导的特性来实现的。

3 讨论

在心肌细胞中 IK 由快反应延迟整流性钾电流 IKr 和慢反应延迟整流性钾电流 IKs 两部分组成^[9,10], IKr 通道参与心肌细胞动作电位的形成,是 3 期复极过程的主要离子承担者^[11]。IK 与细胞容量的关系,很多研究表明低渗时 IKs 电流明显增大,但是具体机制不明,可能与 PKC 相关受体有关,而对于低渗时 IKr 的变化并无定论,有的研究表明低渗时 IKr 增大,有的研究减小,有的则无变化^[12,13]。心肌细胞上 IKr 电流很小,不容易记

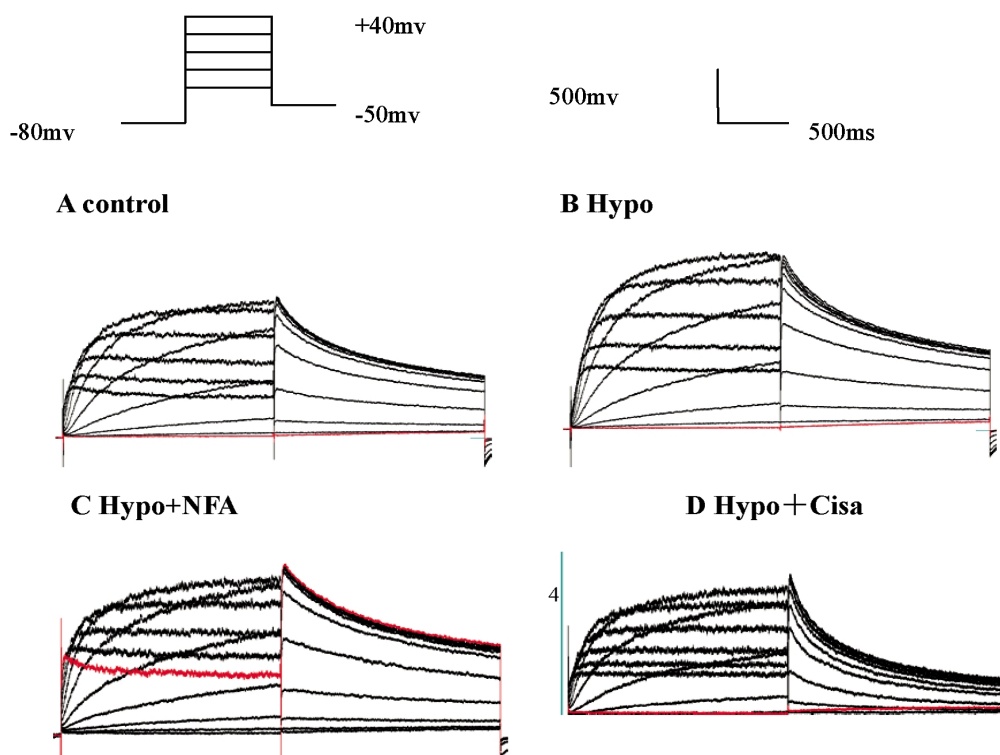


图 1 不同渗透压细胞外液,指令电压从 -60 mV 到 +40 mV 时记录到的 HERG 电流

Fig.1 Typical HERG current recorded from different osmotic pressure when the holding potential step from -60 mV to +40 mV

刺激设计程序为:保持电压为 -80 mV,指令电压范围从 -60 mV 到 +40 mV,步阶 10 mV,间隔时间为 2500 ms,电压复极到 -50 mV,持续 2500 ms,以记录尾电流。A.等渗,B.低渗,C.低渗+NFA,D.低渗+cisapride

Holding potential is -80 mV, 2500 ms depolarising potential from -60 mV to +40 mV applied in 10 mV increment, tail current is recorded with a step -50 mV for 2500 ms. A. isotonic solution B. hypotonic solution C. in the presence of NFA during the hypotonic shocks D. in the presence of hypotonic solution plus cisapride.

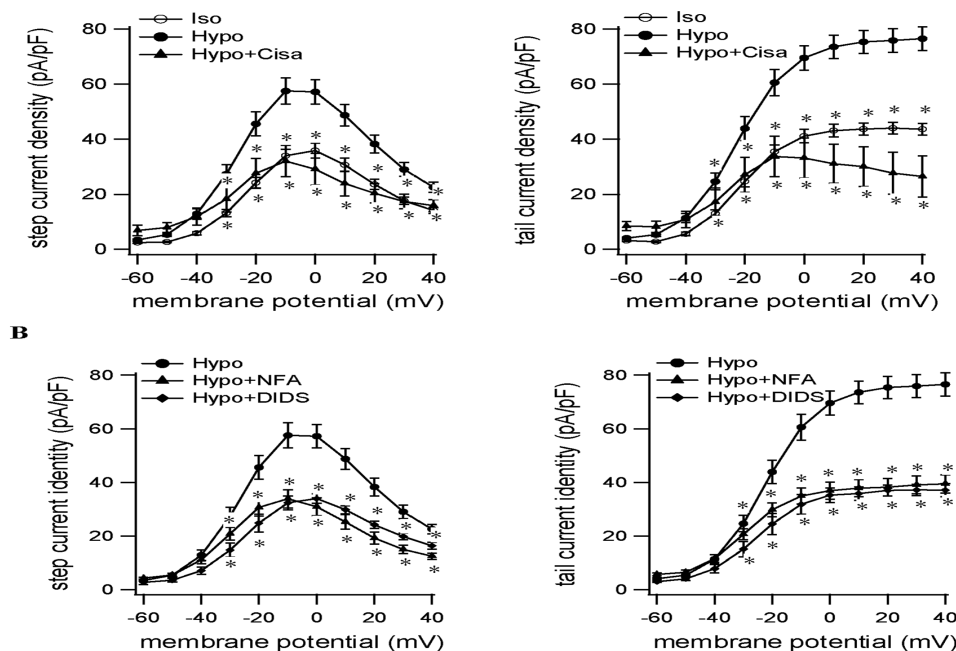


图 2 第 2 天 HA 涂层(a)和 Si-HA 涂层(b)扫描电镜下成骨细胞

Fig.2 Effect of different osmotic pressure and blockers on HERG current stably expressed in HEK293 cells

A.HERG 通道阻断剂 cisapride (100 nmol/L) 对 HERG 通道的电流密度 - 电压曲线的影响(vs. Hypo, $P < 0.05$, $n = 13$)。B.氯通道阻断剂 DIDS (100 $\mu\text{mol/L}$) 和 NFA (10 nmol/L) 对低渗时 HERG 电流的电流密度 - 电压曲线的影响(vs. Hypo $P < 0.05$, $n = 13$)。

A.The effect of HERG channel blocker cisapride (100 nmol/L) on the current density-voltage curve of HERG current expose to the hypotonic solution (vs. Hypo $P < 0.05$, $n = 13$). B.The effect of chloride channel blockers DIDS (100 $\mu\text{mol/L}$) and NFA (10 nmol/L) on the current density-voltage curve of HERG current expose to the hypotonic solution (vs. Hypo $P < 0.05$, $n = 13$).

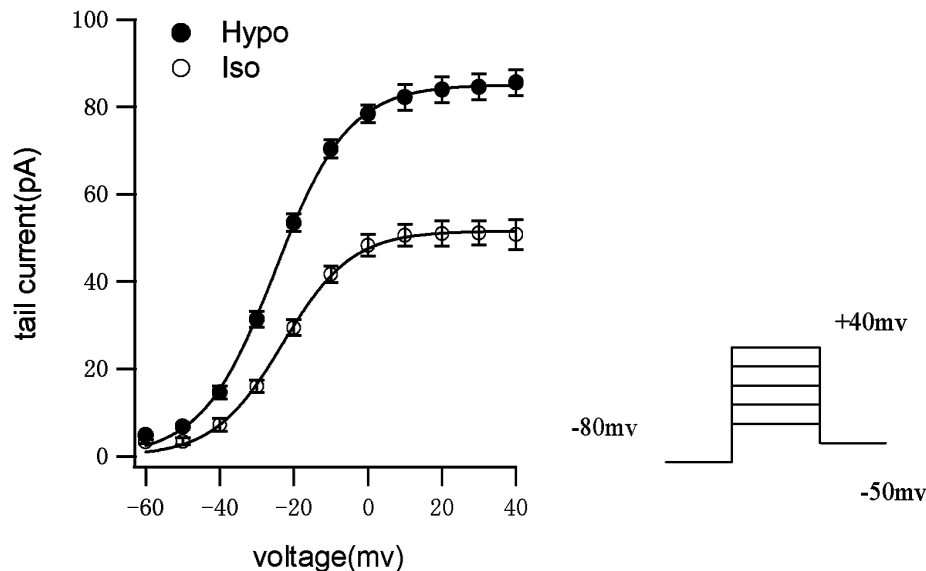


图3 HERG通道在等渗和低渗状态时的激活曲线

Fig.3 Activation curve of HERG channel expose to isotonic and hypotonic solution respectively

等渗时, $V_h = -22.97$ mV, $k = 9.31$; 低渗时 $V_h = -24.99$ mV, $k = 9.92$ 。 ($n = 6, P > 0.05$) 激活过程未见显著改变。

In the isotonic solution $V_h = -22.97$ mV, $k = 9.31$; in the hypotonic solution $V_h = -24.99$ mV, $k = 9.92$ ($n = 6, P > 0.05$) no significant change in activation.

录,很容易受到其他电流的干扰。本研究首次采用转染细胞观察低渗时 HERG 通道在细胞容量调节过程中的作用,观察结果支持上述结论低渗时 HERG 电流增大。由于 HEK293 细胞只表达少量背景电流和内源性的氯电流,因此可以很好地排除其他通道电流的干扰,记录到完整的 I_{Kr} 电流,便于研究观察。但是转染细胞所表达的 HERG 通道的量要远远高于正常心肌细胞所表达的量,处于一种过表达状态,低渗使细胞体积增大,激活容量调节性氯通道,使细胞膜去极化,低渗时 HERG 电流增大可能与其通道的过表达状态有关。

细胞体积发生变化时可以激活容量调节性氯通道。低渗时细胞体积增大,激活氯通道,氯离子外流形成内向性正电流,使膜电位去极化达到钾通道开放的阈电位,从而激活钾通道, KCl 外流,其中 Na^+/Cl^- 转运体, $Na^+/K^+/2Cl^-$ 共同转运体也同时参与细胞容量调节过程使细胞恢复原来的体积,这是细胞容量调节调节的基本机制^[14]。

细胞的增殖和凋亡在维持机体正常功能有着同样重要的作用^[15,16],它们之间微妙的平衡关系协调着细胞内环境的稳定,组织、器官的形态和构造。紊乱的增殖或者凋亡过程都会产生不计其数的病理结果。过度凋亡或者细胞增殖过程受损会导致退行性疾病的发生^[17,18],例如心衰,动脉粥样硬化,高血压或者海默尔茨综合症的发生。然而,过度增殖或者凋亡过程受损则会导致肿瘤的发生和癌症的形成^[19,20]。钾通道在调节细胞的生长和死亡过程中都起着很重要的作用,而且在肿瘤的发生、发展和治疗中有着不可忽视的地位,因此钾通道以成为治疗肿瘤的新方向。

由于容量调节过程和 HERG 钾通道均与细胞的凋亡息息相关,但是就目前的研究结果看来,仍然没有足够的证据能证明在临床可以应用与此相关的技术来治疗癌症,但这仍不失为一种潜在的治疗手段,至少对于癌症患者来说,这种治疗还是有其优势存在的。正常组织细胞只表达低水平的 HERG 通道,

而在癌细胞或组织中则有异常、过量表达,这些增加钾通道可以作为细胞转化的重要标志,作为早期诊断癌症的生物学指标,这些钾通道的出现即预示着癌症的发生。本实验的研究结果则揭示了 HERG 通道激活可能的新机制,为今后癌症的治疗提供了可能的新手段。

本研究初步得出:HERG 钾通道参与细胞容量调节过程和 HERG 通道参与 RVD 过程与氯通道激活相关联。

参考文献(References)

- [1] Wang Z, Fermini B, Natt, et al. Rapid and slow components of delayed rectifier outward current in human atrial myocytes [J]. *CardiovascRes*, 1993, 101(4): 513-543
- [2] Pillozzi S, Brizzi MF, Balzi M, et al. HERG potassium channels are constitutively expressed in primary human acute myeloid leukemias and regulate cell proliferation of normal and leukemic hemopoietic progenitors[J]. *Leukemia*, 2002, 16(9): 1791-1798
- [3] Rosati B, Marchetti P, Crociani O, et al. Glucose and arginine induced insulin secretion by human pancreatic betar cells: the role of HERG K^+ channels in firing and release[J]. *FASEBJ*, 2000, 14(15): 2601-2610
- [4] Crociani O, Guasti L, Balzi M, et al. Cell cycle-dependent expression of HERG1 and HERG1 B isoforms in tumor cells [J]. *J Biol Chem*, 2003, 278(5): 2947-2955
- [5] Sanguinetti MC, Jiang C, Curran ME, et al. A mechanistic link between an inherited and an acquired cardiac arrhythmia: HERG encodes the I_{Kr} potassium channel[J]. *Cell*, 1995, 81(2): 299-307
- [6] Han H, Wang J, Zhang Y, et al. HERG K^+ channel conductance promotes H_2O_2 -induced apoptosis in HEK293 cells: cellular mechanisms[J]. *Cell Physiol Biochem*, 2004, 14(3): 121-134
- [7] Wehner H, Olsen H, Tinel E, et al. Cell volume regulation: osmolytes, osmolyte transport, and signal transduction [J]. *Rev Physiol Biochem Pharmacol*, 2003, 148: 1-80

型中选择性抑制 MMP 或针对性沉默基因与 LV 壁变薄和扩张相关^[17]。本研究显示与假手术组相比,MI 5 周后 MMP-2 和 MMP-9 水平显著升高,结果与之前研究慢性重塑期间 MMP-2 和 MMP-9 活性升高相符^[18]。

梗死后抑制炎症反应和基质金属蛋白酶活性可能会延缓愈合。本研究中 MI 后一周注射 ghrelin,与心室扩张加大不相关,瘢痕厚度增加,梗死边界区域重塑。MMP 活性在梗死后重塑过程中起关键作用,控制 MMP 活性成为治疗心肌重塑的一个重要靶点,ghrelin 可能成为一种治疗心力衰竭的新型制剂。

总之,急性心肌梗死后 CHF 大鼠注射 ghrelin 可抑制心室重塑,改善心肌功能,而 ghrelin 的心肌保护作用可能与其抗炎作用有关。

参考文献(References)

- [1] van Nieuwenhoven FA, Turner NA. The role of cardiac fibroblasts in the transition from inflammation to fibrosis following myocardial infarction[J]. Vascu Pharmacol, 2013, 58(3): 182-188
- [2] Yabluchanskiy A, Li Y, Chilton RJ, et al. Matrix metalloproteinases: drug targets for myocardial infarction [J]. Curr Drug Targets, 2013, 14(3): 276-286
- [3] Katargari SA, Milousis A, Pagonopoulou O, et al. Ghrelin in pathological conditions[J]. Endocrine Journal, 2008, 55(3): 439-453
- [4] Soeki T, Kishimoto I, Schwenke DO, et al. Ghrelin suppresses cardiac sympathetic activity and prevents early left ventricular remodeling in rats with myocardial infarction [J]. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2008, 294(1):H426-432
- [5] Bishop NC, Hayashida H, Clark M, et al. Effect of acute and regular exercise on growth hormone secretagogue receptor-1a expression in human lymphocytes, T cell subpopulation and monocytes.[J]. Brain Behav Immun, 2014, 39:172-179
- [6] Li WG, Gavril D, Liu XB, et al. Ghrelin inhibits proinflammatory responses and nuclear factor-kappa B activation in human endothelial cells[J]. Circulation, 2004, 109(18): 2221-2226
- [7] Orbay H, Zhang Y, Valdovinos HF, et al. ositron emission tomography imaging of CD105 expression in a rat myocardial infarction model with (64)Cu-NOTA-TRC105[J]. Am J Nucl Med Mol Imaging, 2013, 4(1):1-9
- [8] Ingelsson E, Arnlov J, Sundstrom J, et al. Inflammation, as measured by the erythrocyte sedimentation rate, is an independent predictor for the development of heart failure [J]. Journal of the American College of Cardiology, 2005, 45(11):1802-1806
- [9] Sun M, Dawood F, Wen WH, et al. Excessive tumor necrosis factor activation after infarction contributes to susceptibility of myocardial rupture and left ventricular dysfunction [J]. Circulation, 2004, 110(20):3221-3228
- [10] Timmers L, van Keulen JK, Hoefer IE, et al. Targeted deletion of nuclear factor kappa B p50 enhances cardiac remodeling and dysfunction following myocardial infarction[J]. Circulation Research, 2009, 104(5):699-706
- [11] Burchill LJ, Velkoska E, Dean RG, et al. Combination renin-angiotensin system blockade and angiotensin-converting enzyme 2 in experimental myocardial infarction: implications for future therapeutic directions[J]. Clin Sci (Lond), 2012, 123(11):649-658
- [12] Baldanzi G, Filigheddu N, Cutrupi S, et al. Ghrelin and des-acyl ghrelin inhibit cell death in cardiomyocytes and endothelial cells through ERK1/2 and PI 3-kinase/AKT [J]. Journal of Cell Biology, 2002, 159(6):1029-1037
- [13] Stone AV, Loeser RF, Vanderman KS, et al. Pro-inflammatory stimulation of meniscus cells increases production of matrix metalloproteinases and additional catabolic factors involved in osteoarthritis pathogenesis [J]. Osteoarthritis Cartilage, 2014, 22(2): 264-274
- [14] Diwan A, Dibbs Z, Nemoto S, et al. Targeted overexpression of noncleavable and secreted forms of tumor necrosis factor provokes disparate cardiac phenotypes[J]. Circulation, 2004, 109(2):262-268
- [15] Kim KS, Oh da H, Choi HM, et al. Pyrrolidine dithiocarbamate, a NF-kappaB inhibitor, upregulates MMP-1 and MMP-13 in IL-1beta-stimulated rheumatoid arthritis fibroblast-like synoviocytes [J]. Eur J Pharmacol, 2009, 613(1-3):167-175
- [16] Givvimani S, Kundu S, Narayanan N, et al. TIMP-2 mutant decreases MMP-2 activity and augments pressure overload induced LV dysfunction and heart failure[J]. Arch Physiol Biochem, 2013, 119(2):65-74
- [17] Spinale FG, Escobar GP, Hendrick JW, et al. Chronic matrix metalloproteinase inhibition following myocardial infarction in mice: Differential effects on short and long-term survival [J]. Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics, 2006, 318(3):966-973
- [18] Yeh CC, Malhotra D, Yang YL, et al. MEK1-induced physiological hypertrophy inhibits chronic post-myocardial infarction remodeling in mice[J]. J Cell Biochem, 2013, 114(1):47-55
- [12] Sian A, Ree, Jamie I, et al. Wright, Atsuya Yoshida and Trevor Powell. Cell swelling has differential effects on the rapid and slow components of delayed rectifier potassium current in guinea pig cardiac myocytes[J]. J. Gen. Physiol, 1995, 106: 1151-1170
- [13] Rees, S. A., A. Yoshida, V. W. Twist, J. I. Vandenberg, et al. Swelling-activated delayed rectifier potassium current in guinea pig ventricular myocytes[J]. Heart and Vessels, 1995,9: 145-146
- [14] Meier R, Thelen M, Hemmings BA. Inactivation and dephosphorylation of protein kinase Balpha (PKBalpha) promoted by hyperosmotic stress[J]. EMBO J, 1998, 17: 7294-7303
- [15] Bianchini, S. Grinstein. Regulation of volume-modulating ion transport systems by growth promoters[J]. Advances Comparative and Environmental Physiology, 1993, 14: 249-270

(上接第 6256 页)

- [8] Lang F, Stehle T, H?ussinger D. Water. K⁺, H⁺, lactate and glucose fluxes during cell volume regulation in perfused rat liver [J]. Pflugers Arch, 1989, 413: 209-216
- [9] Sanguinetti MC, Jiang C, Curran ME, et al. A mechanistic link between an inherited and an acquired cardiac arrhythmia: HERG encodes the IKr potassium channel[J]. Cell, 1995, 81: 299-307
- [10] Zhou Z, Gong Q, Ye B, et al. Properties of HERG channels stably expressed in HEK 293 cells studied at physiological temperature[J]. Biophys J, 1998, 74: 230-241
- [11] Mitcheson JS, Sanguinetti MC. Biophysical properties and molecular basis of cardiac rapid and slow delayed rectifier potassium channels [J]. Cell Physiol Biochem, 1999, 9: 201-216