

· 论著 ·

血管紧张素 II 通过抑制人心房成纤维细胞 BKCa 通道诱导心房纤维化

贾春森 李磊 李劲平 谭宏伟 周伟 聂永梅 于凤旭
(西南医科大学附属医院心脏大血管外科, 四川 泸州 646000)

【摘要】目的 探讨在血管紧张素 II (Ang II) 诱导心房纤维化的过程中, 大电导钙激活钾通道 (BKCa 通道) 的作用机制。**方法** 通过组织块贴壁法获取原代人心房成纤维细胞, 使用免疫荧光染色进行鉴定。用浓度为 500 nmol/L 的 Ang II 处理人心房成纤维细胞 24 h, 实时荧光定量 PCR 与蛋白质印迹法用于检测处理前后纤维化标志基因 α -平滑肌肌动蛋白 (α -SMA)、胶原蛋白 I (collagen I) 和胶原蛋白 III (collagen III), 以及 BKCa 通道的 α 与 β 亚基的 mRNA 和蛋白表达水平, 全细胞膜片钳技术检测 Ang II 处理前后的 BKCa 通道的电流变化。**结果** (1) 人心房成纤维细胞经 Ang II 处理后, α -SMA、collagen I 和 collagen III 的 mRNA 和蛋白表达水平升高; (2) 经过 Ang II 处理后, BKCa 通道 α 及 β 亚基 mRNA 和蛋白表达水平降低; (3) 人心房成纤维细胞存在功能正常的 BKCa 通道, 具有电压依赖性; (4) 人心房成纤维细胞 BKCa 通道的宏观电流幅度在经 Ang II 处理后降低; (5) 在人心房成纤维细胞上过表达 BKCa 通道 α 亚基后, 纤维化标志物 α -SMA、collagen I 和 collagen III 的表达受到了明显抑制。**结论** Ang II 可能通过抑制人心房成纤维细胞 BKCa 通道的表达和功能来诱导人心房成纤维细胞的纤维化, 并最终导致心房纤维化。

【关键词】 心房纤维化; 血管紧张素 II; 人心房成纤维细胞; 大电导钙激活钾通道

【DOI】10.16806/j.cnki.issn.1004-3934.2023.11.020

Angiotensin II Induces Atrial Fibrosis by Inhibiting BKCa Channel in Human Atrial Fibroblast

JIA Chunsen, LI Lei, LI Jinping, TAN Hongwei, ZHOU Wei, NIE Yongmei, YU Fengxu
(Department of Cardiovascular Surgery, The Affiliated Hospital of Southwest Medical University, Luzhou 646000, Sichuan, China)

【Abstract】 Objective To investigate the mechanism of large conductance calcium-activated potassium channel (BKCa) in angiotensin II (Ang II)-induced atrial fibrosis. **Methods** Primary human atrial fibroblasts were obtained by tissue block attachment method and identified by immunofluorescence staining. Human atrial fibroblasts were treated with Ang II (500 nmol/L) for 24 h. Real-time fluorescent quantitative PCR and Western blot were used to detect the mRNA and protein expression levels of fibrosis marker genes α -SMA, collagen I and collagen III, as well as α and β subunits of BKCa channels before and after treatment. And whole cell patch clamp technique was used to detect the current changes of BKCa channels before and after Ang II treatment. **Results** (1) After Ang II treatment of human atrial fibroblasts, the mRNA and protein expression levels of α -SMA, collagen I and collagen III increased; (2) After Ang II treatment, the mRNA and protein expression of BKCa channel α and β subunits decreased; (3) Human atrial fibroblasts exist normal BKCa channel, which are voltage dependent; (4) Macro current amplitude of BKCa channel in human atrial fibroblasts decreased after Ang II treatment; (5) After overexpression of BKCa channel α subunit on human atrial fibroblasts, the mRNA and protein expression levels of fibrosis marker α -SMA, collagen I and collagen III decreased significantly. **Conclusion** Ang II may induce fibrosis in human atrial fibroblasts by inhibiting the expression and function of BKCa channel, and finally induce atrial fibrosis.

【Key words】 Atrial fibrosis; Angiotensin II; Human atrial fibroblast; Large conductance calcium-activated potassium channel

心房颤动(房颤)是临床上最为常见的心律失常, 有较高的发病率与死亡率, 其发病机制复杂, 其中以心房纤维化为代表的结构重构是重要始动因素^[1]。

既往研究证实, 血管紧张素 II (angiotensin II, Ang II) 可能是促进心房纤维化的重要因子, 其作为心脏局部肾素-血管紧张素-醛固酮系统^[2]中最具生物活性的因

基金项目: 泸州市人民政府西南医科大学科技战略合作项目(2021LZXNYD-Z07, 2021LZXNYD-J26)

通信作者: 于凤旭, E-mail: yuluchuan@163.com

子之一^[3],可刺激人心房成纤维细胞分泌转化生长因子-β(transforming growth factor-β, TGF-β),引起胶原蛋白 I(collagen I)和胶原蛋白 III(collagen III)等胶原合成增加,并降低胶原酶活性,促进胶原沉积^[4-5],从而导致胶原聚集而引起心房纤维化。

此外,研究表明 Ang II 能在肠系膜动脉平滑肌细胞中调节大电导钙激活钾通道(large conductance calcium-activated potassium channel, BKCa 通道)的活性^[6],该通道是广泛存在于多种细胞的细胞器中的一种离子通道,受到胞内 Ca²⁺与电压的共同调节,在去极化时电导可达到 200 pS 左右^[7-9]。该通道由 α 亚基与 β 亚基结合后形成,其中 α 亚基是功能性单位,对 β 亚基起调节作用。大量研究表明, BKCa 通道与高血压^[6]、糖尿病肾病^[10]、急性心肌梗死^[11]、房颤^[12]等疾病的发生发展相关。然而,在心房纤维化中, Ang II 是否通过调控 BKCa 通道的表达参与其进程尚不清楚。因此,本研究将 Ang II、BKCa 通道以及心房纤维化三者结合起来,探讨 BKCa 通道在 Ang II 诱导的心房纤维化中的作用,为理解心房纤维化的机制提供新方向。

1 材料与方法

1.1 主要实验试剂

主要实验试剂包括: Ang II (Sigma, 美国)、蛋白裂解缓冲液(碧云天, 中国)、主要抗体(Abcam 公司, 美国)、蛋白裂解缓冲液(碧云天, 中国)、高敏型化学发光检测试剂盒(雅酶, 中国)、超纯 RNA 提取试剂盒(康为世纪, 中国)、逆转录试剂盒(东洋坊, 日本)、实时荧光定量 PCR(qRT-PCR)试剂盒(Qiagen, 德国)、脂质体 fectamine3000(Invitrogen, 美国)、BKCa 通道 α 亚基过表达重组质粒(CMV/KCNMA1/IRES/acGFP1)。

1.2 实验取材

选取于 2015 年 6 月—2016 年 12 月在西南医科大学附属医院心脏大血管外科行体外循环手术的 27 例风湿性心脏病患者,手术期间对右心房组织进行取材。患者纳入标准:(1)确诊为风湿性心脏病;(2)心电图提示为窦性心律;(3)具有外科手术指征;(4)患者与家属同意手术治疗。排除标准:(1)排除心肌梗死引起的瓣膜病变;(2)老年退化性心脏瓣膜病;(3)糖尿病;(4)高血压;(5)动脉粥样硬化;(6)肺动脉高压;(7)房颤;(8)其他:感染性心内膜炎、大血管病变、结缔组织病、恶性肿瘤等。

1.3 原代人心房成纤维细胞的分离培养与鉴定

在无菌操作台取出新鲜的人右心房组织,标准流程处理后加 0.1% II 型胶原酶将其消化至膨松絮状为止,收集细胞,以优化组织块贴壁法^[13]培养成纤维细胞,即使用 0.01% II 型胶原酶消化结缔组织中的胶原

蛋白,将消化下来的胶原蛋白及结缔组织去除,更利于组织块贴壁,同时提高培养基中血清比例(20%),以增强细胞增殖能力。将分离的成纤维细胞进行细胞接种、传代,培养至 70% 以上后分别对波形蛋白(成纤维细胞标志物)与肌钙蛋白(心肌细胞标志物)进行免疫荧光染色。

1.4 人心房成纤维细胞模型的建立

使用 Ang II 对人心房成纤维细胞进行建模,将 Ang II 加入细胞培养液,终浓度为 500 nmol/L,处理时间为 24 h,每隔 12 h 换液一次。

1.5 实时荧光定量 PCR

引物序列见表 1。根据超纯 RNA 提取试剂盒说明书提取细胞总 RNA,用焦碳酸二乙酯(diethyl pyrocarbonate, DEPC)水稀释至 50 μL。经核酸电泳检测 RNA 完整性,ND-1000 软件测纯度及浓度,随后按照说明书进行逆转录。按照 qRT-PCR 试剂盒说明书对 cDNA 进行扩增,反应条件为:95 ℃, 2 min;95 ℃, 15 s;57 ℃, 30 s,循环 40 次。采用 2^{-ΔΔCT} 值的方法分析目的基因的表达水平。

表 1 主要引物序列

引物名称	引物序列	产物长度/bp
BKCa α	F:5'-TCTCCAGTGCCTTCGTG-3'	353
	R:5'-GGTGTGGGTGAGTTCC-3'	
BKCa β ₁	F:5'-TTGAGACCAACATCAGGGA-3'	250
	R:5'-GGTGTGGGTGAGTTCC-3'	
α-SMA	F:5'-CCAGAGCCATTGTCACACAC-3'	91
	R:5'-CAGCCAAGCACTGTCAGG-3'	
collagen I	F:5'-TTCTGTACGCAGGTGATTGG-3'	129
	R:5'-CATGTTACAGCTTTGTGGACC-3'	
collagen III	F:5'-AGGACTGACCAAGATGGAA-3'	96
	R:5'-AGGGGAGCTGGCTACTTCTC-3'	
β-actin	F:5'-ACACTGTGCCCATCTACG-3'	153
	R:5'-TGTACACGACGATTCC-3'	

注:α-SMA, α-平滑肌肌动蛋白;β-actin, β-肌动蛋白。

1.6 蛋白质印迹法

细胞沉淀加入放射免疫沉淀实验裂解液裂解,冰上孵育 30 min,每隔 5 min 进行 15 s 振荡或用 1 mL 无菌注射器反复吹打数次。孵育结束后,离心(12 000 g, 4 ℃, 15 min)得到上清。通过二喹啉甲酸法对蛋白浓度进行测定。制备 5% 浓缩胶及 10% 分离胶,先以 70 V 电泳,待样品电泳至分离胶,转 120 V 继续电泳 40 min,以恒压 100 V 转膜 1 h,转至聚偏氟乙烯膜上,转膜结束对膜洗涤 1 次,时间 3 min,之后以 5% 脱脂牛奶室温下封闭 1.5 h,稀释 BKCa 通道抗体(1:1 000)、α-平滑肌肌动蛋白(α-smooth muscle actin, α-SMA)抗体(1:1 000)、collagen I 抗体(1:1 000)、collagen III 抗体(1:1 000),4 ℃ 孵育过夜。洗膜,加二抗(1:2 000),室温下孵育 1.5 h。洗膜 3 次,每次

10 min, 洗膜后将膜浸入现配的高敏型化学发光显影液, 成像系统曝光显影, 用 Image J 软件分析灰度值并记录。

1.7 BKCa 通道 α 亚基过表达重组质粒的转染

人心房成纤维细胞培养至 90% 汇合度进行转染, 分别使用 OPTI-MEM 培养基稀释质粒 DNA (CMV/KCNMA1/IRES/acGFP1) 与 Lipofectamine 3000 (脂质体 3000), 室温下静置孵育 5 min, 随后将二者混合, 室温孵育 20 min。将细胞分为对照组 (不做转染)、过表达 BKCa 组 (wt-BKCa 组) 和空载组 (Vector 组) 分别进行处理。转染后培养 12 h 更换新的培养液, 继续培养 24 ~ 40 h 后在荧光显微镜下检测转染效果, 并筛选稳转细胞用于后续实验。

1.8 全细胞膜片钳技术

使用浓度为 200 nmol/L 的 BKCa 通道特异性阻断剂 Iberitoxin (IBTX) 明确成纤维细胞上是否存在功能正常的 BKCa 通道, Ang II 预处理用于探究其对 BKCa 通道的作用。全细胞膜片钳技术用于检测 BKCa 通道的电流变化, 操纵微推进器, 控制微管电极与人心房成纤维细胞表面贴附, 可见示波器上应答电流减小, 此时稍微增加负压 (10 ~ 20 cm H₂O), 缓慢增加负压过程中可见示波器上应答电流逐渐下降至 0, 表明已

经形成高阻封接 (阻抗 10 G Ω 以上), 即已形成全细胞膜片。全细胞膜片钳记录: 钳制电压为 -60 mV, 测试电压从 -60 mV 去极化到 +60 mV, 脉冲阶跃为 +10 mV, 脉冲时程为 300 ms, 采样频率为 10 kHz。

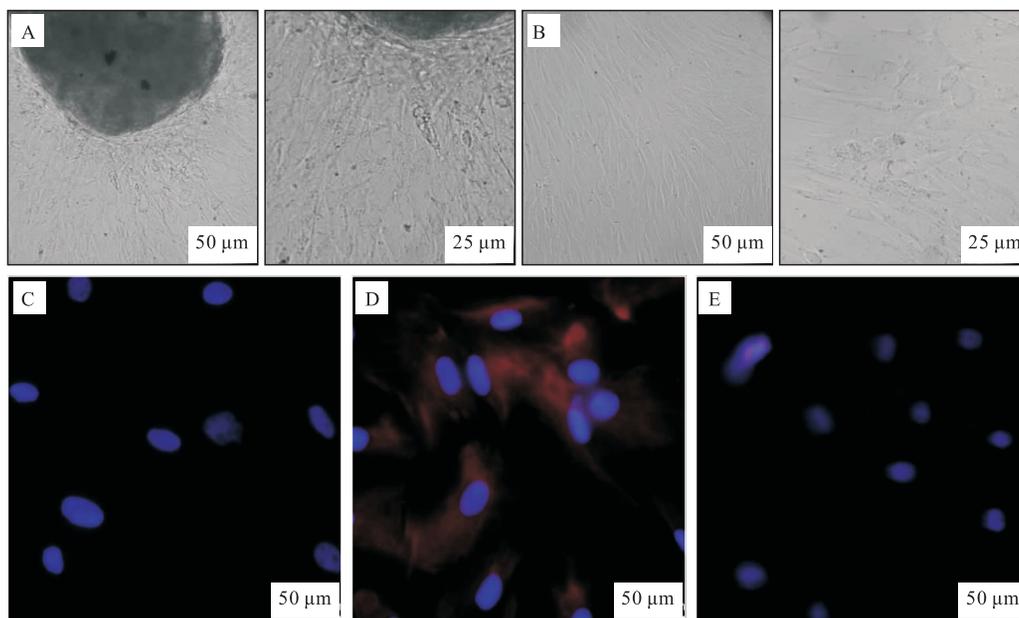
1.9 统计学分析方法

采用 SPSS 22.0 软件进行统计分析, 计量资料中服从正态分布的变量以平均值 \pm 标准差描述, 两组之间采用 *t* 检验, 多组间比较采用单因素方差分析, *P* < 0.05 代表差异有统计学意义。

2 结果

2.1 原代人心房成纤维细胞的分离培养与鉴定

心房组织在培养皿中呈黑色团块, 4 ~ 5 d 后, 可见细胞从组织块边缘爬出 (图 1A), 并逐渐生长为星状或放射状, 不规则排列 (图 1B), 细胞核呈椭圆形传代培养后的心心房成纤维细胞稳定生长, 形态良好, 免疫荧光染色显示对照组仅能见到蓝色细胞核 (图 1C)。实验组细胞质呈红色丝状, 表示波形蛋白表达阳性 (图 1D), 表明本研究中所分离培养细胞为人心房成纤维细胞; 肌钙蛋白染色组仅能见到蓝色的细胞核 (图 1E), 故可排除心肌细胞的干扰, 表明提取的心心房成纤维细胞纯度较高。



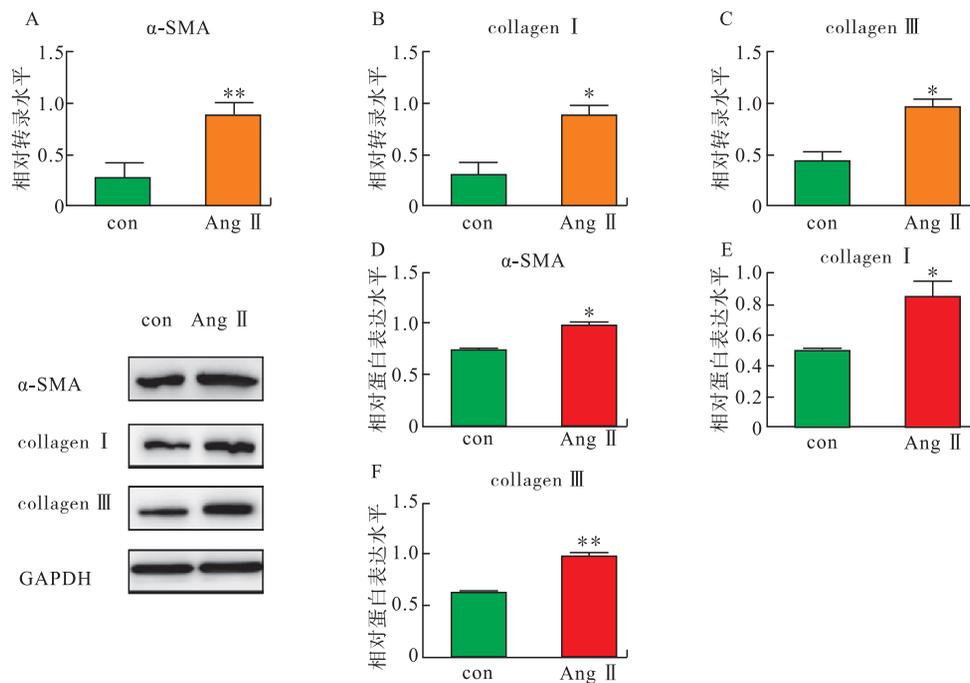
注: A 和 B, 原代成纤维细胞 (20 倍和 40 倍); C, 对照组波形蛋白阴性; D, 实验组波形蛋白阳性; E, 肌钙蛋白染色阴性 (20 倍)。

图 1 成纤维细胞的分离与免疫荧光染色

2.2 Ang II 促进人心房成纤维细胞的纤维化

使用 Ang II 处理人心房成纤维细胞进行肌成纤维细胞模型的建立, qRT-PCR 结果显示, 在 mRNA 水平, Ang II 组的 α -SMA、collagen I 和 collagen III 较对照组明显升高 (图 2A、2B、2C, *P* < 0.05); 蛋白质印迹法结果显示, 在蛋白表达水平, Ang II 组的 α -SMA、collagen I 和

collagen III 也较对照组明显升高 (图 2D、2E、2F, *P* < 0.05)。 α -SMA、collagen I 和 collagen III 作为公认的纤维化标志物, 在 Ang II 组中明显上调提示了 Ang II 在人心房成纤维细胞中具有致纤维化作用, 纤维化模型建立成功。



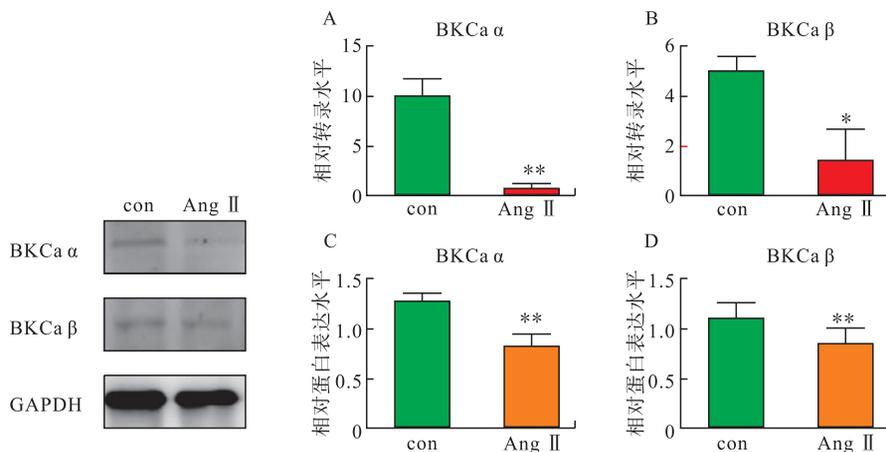
注:A~C, Ang II 上调人心房成纤维细胞上 α-SMA、collagen I、collagen III 的 mRNA 表达水平,内参为 β-肌动蛋白;D~F, Ang II 上调人心房成纤维细胞上 α-SMA、collagen I、collagen III 蛋白表达,内参为 GAPDH;与对照组比较, * 表示 $P < 0.05$, ** 表示 $P < 0.01$ 。con, 对照组;GAPDH, 甘油醛-3-磷酸脱氢酶。

图2 Ang II 处理对人心房成纤维细胞纤维化标志物的影响 ($n=3$)

2.3 Ang II 抑制人心房成纤维细胞上 BKCa 通道的表达

为明确 Ang II 的处理是否可调控 BKCa 通道的表达,本研究在 mRNA 与蛋白质水平对 BKCa 通道的表达情况进行了验证,结果显示,在 mRNA 水平,Ang II

处理后人心房成纤维细胞中的 BKCa 通道 α 亚基及 β 亚基较对照组明显降低 ($P < 0.05$);在蛋白表达水平,Ang II 组的 BKCa 通道 α 亚基及 β 亚基也明显降低 ($P < 0.05$)。结果表明,Ang II 在促进人心房成纤维细胞纤维化的同时,抑制了 BKCa 通道的表达。



注:A 和 B, Ang II 抑制人心房成纤维细胞上 BKCa 通道 α 亚基和 β 亚基 mRNA 表达,内参为 β-肌动蛋白;C 和 D, Ang II 下调人心房成纤维细胞 BKCa 通道 α 亚基和 β 亚基蛋白表达,内参为 GAPDH;与对照组比较, * 表示 $P < 0.05$, ** 表示 $P < 0.01$ 。con, 对照组;GAPDH, 甘油醛-3-磷酸脱氢酶。

图3 Ang II 处理对人心房成纤维细胞 BKCa 通道表达的影响 ($n=3$)

2.4 Ang II 抑制人心房成纤维细胞上 BKCa 通道的电流密度

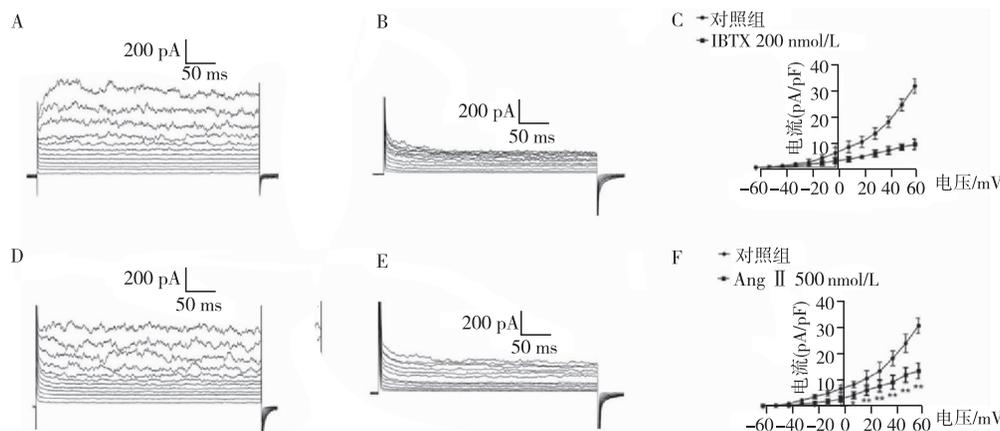
全细胞膜片钳结果显示,抑制剂 IBTX 处理后

BKCa 通道混合电流较对照组明显减小(图 4A、4B),而随着去极化电压的升高,BKCa 通道电流幅值也随之升高(图 4C),表明人心房成纤维细胞存在功能正

常的 BKCa 通道,具有电压依赖性。

此外,Ang II 预处理 24 h 后可明显抑制成纤维细胞上 BKCa 通道的宏观电流幅度,在 +60 mV 电压时, BKCa 通道电流密度从 31.054 ± 2.900 下降到

± 3.000 (图 4D ~ 4F),表明 Ang II 对人心房成纤维细胞上的 BKCa 通道电流密度具有抑制作用。综上, Ang II 不仅抑制了 BKCa 通道的表达,还对其功能起到了明显的抑制作用。



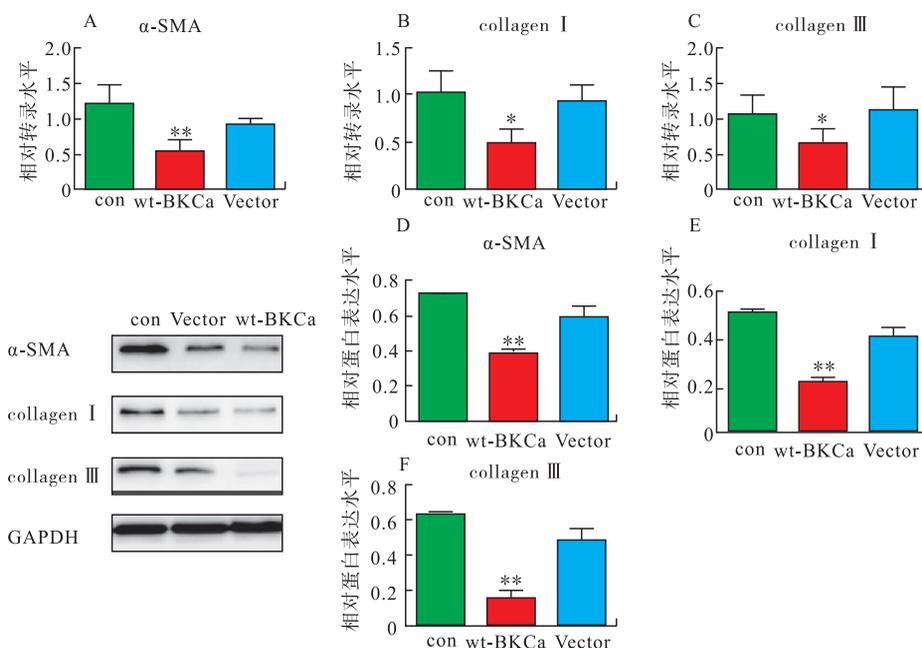
注:A,无 IBTX 处理对照组 ($n=5$);B,IBTX 200 nmol/L ($n=6$);C,IBTX 作用后电流-电压关系曲线;D,无 Ang II 处理对照组 ($n=5$);E,Ang II 1 $\mu\text{mol/L}$ ($n=4$);F,Ang II 作用后的电流-电压关系曲线;与对照组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ 。

图 4 Ang II 与 IBTX 对人心房成纤维细胞 BKCa 通道电流的影响

2.5 BKCa 通道 α 亚基的过表达抑制了人心房成纤维细胞的纤维化

为明确 BKCa 通道的表达和功能变化是否对人心房成纤维细胞的纤维化有影响,本研究对 BKCa 通道的功能性亚基 (α 亚基) 进行过表达。结果显示,在 mRNA 水平, wt-BKCa 组的 α -SMA、collagen I 和

collagen III 较对照组和 Vector 组均明显降低 (图 5A ~ 5C, $P < 0.05$); 在蛋白表达水平, wt-BKCa 组的 α -SMA、collagen I 和 collagen III 较对照组和 Vector 组也明显降低 (图 5D ~ 5F, $P < 0.05$); 提示在人心房成纤维细胞中, BKCa 通道 α 亚基的高表达可以有效抑制其纤维化。



注:A ~ C, BKCa 通道 α 亚基过表达下调人心房成纤维细胞 α -SMA、collagen I、collagen III 的 mRNA 表达水平,内参为 β -肌动蛋白;D ~ F, BKCa 通道 α 亚基过表达下调人心房成纤维细胞上 α -SMA、collagen I、collagen III 的蛋白表达水平,内参为 GAPDH;与对照组比较, * 表示 $P < 0.05$, ** 表示 $P < 0.01$ 。con, 对照组;GAPDH,甘油醛-3-磷酸脱氢酶。

图 5 BKCa 通道 α 亚基过表达对人心房成纤维细胞纤维化的影响 ($n=3$)

3 讨论

本研究以人类原代心房成纤维细胞为研究对象,使用 Ang II 处理成功构建了纤维化模型,检测到细胞中纤维化指标 α -SMA、collagen I 和 collagen III 的 mRNA 和蛋白质的表达明显上调,同时,Ang II 的处理抑制了人心房成纤维细胞中 BKCa 通道的表达和功能。随后通过过表达人心房成纤维细胞的 BKCa 通道证实了该通道在人心房成纤维细胞中的高表达能有效抑制其纤维化标志物的表达,证明其对纤维化具有保护作用。因此,本研究认为,Ang II 可能通过抑制 BKCa 通道的表达和功能来促进人心房成纤维细胞的纤维化。

既往的研究已证实 BKCa 通道在血管平滑肌细胞^[14]、心肌成纤维细胞^[15]和内皮细胞^[16-17]的质膜中普遍表达并发挥其功能,但目前关于 BKCa 通道的研究尚不完整,BKCa 通道在不同的细胞系、不同的疾病模型中起到的作用可能会不同。例如,Wen 等^[6]的研究认为,Ang II 可以增加血管平滑肌细胞的 BKCa 通道活化,这与本研究结果相反,可能是由于使用的细胞类型不同导致,而 BKCa 通道在不同的疾病中也可能表现出完全不同的功能。此外,有研究^[18-19]表明一氧化氮通过激活 BKCa 通道从而诱导血管平滑肌细胞的凋亡,而 Ang II 通过抑制 BKCa 通道的表达促进血管平滑肌细胞的增殖。而在乳腺癌细胞上,有报道^[20]称 BKCa 通道的激活促进了乳腺癌细胞的增殖^[21]、迁移及侵袭。而另一些研究^[22]表明,使用 BKCa 通道特异性阻断剂 IBTX 对乳腺癌细胞的增殖无明显作用。

类似的,在心血管领域,Sheng 等^[23]的研究表明,BKCa 通道活性可被硫化氢抑制,进而减弱人心房成纤维细胞增殖和分化。Li 等^[15]的研究报道,使用干扰小 RNA 在人心室肌成纤维细胞上抑制 BKCa 通道表达后,人心室成纤维细胞的增殖和分化会被抑制,这与本研究结果相反,这可能是由于不同实验室所使用的细胞来源不同导致的。但 Jakob 等^[12]研究指出,房颤患者右心房成纤维细胞与窦性心律患者右心房成纤维细胞相比,BKCa 通道活性较低,提示该通道在房颤的右心房成纤维细胞中受到了抑制,这与笔者团队的结论相符。

本研究证实了 BKCa 通道表达和功能的增强可抑制 Ang II 诱导的成纤维细胞纤维化,但 BKCa 通道与纤维化之间是否存在其他下游通路、BKCa 通道电流的变化如何影响纤维化尚不得而知,存在一定局限性,需在后续的研究中进一步探索。综上所述,BKCa 通道影响成纤维细胞的增殖过程是较为明确的,本研究结果进一步表明 Ang II 处理可通过抑制 BKCa 通道

α 亚基和 β 亚基的表达和功能来促进成纤维细胞的纤维化,并可能借此参与房颤的发生。

参 考 文 献

- [1] Zimetbaum P. Atrial fibrillation [J]. *Ann Intern Med*, 2017, 166 (5): ITC33-ITC48.
- [2] Akhtar H, Al Sudani H, Hussein M, et al. Effects of renin-angiotensin-aldosterone system inhibition on left ventricular hypertrophy, diastolic function, and functional status in patients with hypertrophic cardiomyopathy: a systematic review [J]. *Cureus*, 2022, 14(7): e26642.
- [3] Koniari I, Artopoulos E, Mplani V, et al. Atrial fibrillation in heart failure patients: an update on renin-angiotensin-aldosterone system pathway blockade as a therapeutic and prevention target [J]. *Cardiol J*, 2023, 30(2): 312-326.
- [4] 周子默,周驰,杨雅元,等. 心肌纤维化的发病及治疗研究进展 [J]. *湖北科技学院学报(医学版)*, 2022, 36(5): 452-456.
- [5] Wang X, Tu J, Jiang J, et al. Angiotensin II type 2 receptor modulates synovial macrophage polarization by inhibiting GRK2 membrane translocation in a rat model of collagen-induced arthritis [J]. *J Immunol*, 2020, 205(11): 3141-3153.
- [6] Wen J, Li P, Cheng J, et al. Downregulation of AT₂R decreases the responsiveness of BK_{Ca} channels to angiotensin II in patients with hypertension [J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2019, 131: 20-28.
- [7] Kampa RP, Flori L, Şek A, et al. Luteolin-induced activation of mitochondrial BK_{Ca} channels: undisclosed mechanism of cytoprotection [J]. *Antioxidants (Basel)*, 2022, 11(10): 1892.
- [8] Jo H, Bae EJ, Lee N, et al. Discovery and characterization of a potent activator of the BK_{Ca} channel that relieves overactive bladder syndrome in rats [J]. *Eur J Pharmacol*, 2022, 927: 175055.
- [9] Pavithra S, Kishor Kumar DG, Ramesh G, et al. Fat augments leptin-induced uterine contractions by decreasing JAK2 and BKCa channel expressions in late pregnant rats [J]. *Cytokine*, 2022, 157: 155966.
- [10] Wu Z, Yin W, Sun M, et al. BK_{Ca} mediates dysfunction in high glucose induced mesangial cell injury via TGF- β 1/Smad2/3 signaling pathways [J]. *Int J Endocrinol*, 2020, 2020: 3260728.
- [11] Sztajn K, Singh H. BK_{Ca} channels as targets for cardioprotection [J]. *Antioxidants (Basel)*, 2020, 9(8): 760.
- [12] Jakob D, Klesen A, Allegrini B, et al. Piezo1 and BK_{Ca} channels in human atrial fibroblasts: interplay and remodelling in atrial fibrillation [J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2021, 158: 49-62.
- [13] 陈瑞华,赵自刚,牛春雨,等. 大鼠肺微血管内皮细胞的培养 [J]. *中国微循环*, 2007, 11(1): 16-19.
- [14] Si Y, Wu Z, Gu L, et al. Changes of BKCa current and vascular reactivity in vascular smooth muscle of thoracic aorta and mesenteric artery in type 2 diabetic rats [J]. *Pharmazie*, 2022, 77(1): 21-26.
- [15] Li GR, Sun HY, Chen JB, et al. Characterization of multiple ion channels in cultured human cardiac fibroblasts [J]. *PLoS One*, 2009, 4(10): e7307.
- [16] Wen JY, Zhang J, Chen S, et al. Endothelium-derived hydrogen sulfide acts as a hyperpolarizing factor and exerts neuroprotective effects via activation of large-conductance Ca²⁺-activated K⁺ channels [J]. *Br J Pharmacol*, 2021, 178(20): 4155-4175.
- [17] Naik JS, Walker BR. Endothelial-dependent dilation following chronic hypoxia involves TRPV4-mediated activation of endothelial BK channels [J]. *Pflugers Arch*, 2018, 470(4): 633-648.
- [18] Xie MJ, Ma YG, Gao F, et al. Activation of BK_{Ca} channel is associated with increased apoptosis of cerebrovascular smooth muscle cells in simulated microgravity rats [J]. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2010, 298(6): C1489-C1500.

(下转第 1056 页)

有效性及并发症发生率[J]. 中国组织工程研究, 2010, 14(4):710.

- [5] Chu G, Yang W, Zhang G, et al. Safety and efficacy of the StarClose vascular closure system following 8-Fr sheath placement for intra-aortic balloon pump: a single-center analysis of 42 consecutive patients[J]. *Med Princ Pract*, 2014, 23(4):313-317.
- [6] 陈章强, 姚蕊, 戴军, 等. 血管缝合器和血管封堵器在经皮冠状动脉介入诊疗术后的临床应用[J]. 中国全科医学, 2015, 18(6):696.
- [7] Noori VJ, Eldrup-Jørgensen J. A systematic review of vascular closure devices for femoral artery puncture sites[J]. *J Vasc Surg*, 2018, 68(3):887-899.
- [8] Jones LE, Yang KH, Feldtman RW, et al. Safety and efficacy of arterial closure devices in an office-based Angiosuite[J]. *Ann Vasc Surg*, 2018, 51:10-17.
- [9] Geyik S, Yavuz K, Akgoz A, et al. The safety and efficacy of the Angio-Seal closure device in diagnostic and interventional neuroangiography setting: a single-center experience with 1,443 closures[J]. *Neuroradiology*, 2007, 49(9):739-746.
- [10] Busch L, Stern M, Wolff G, et al. Endovascular snare retrieval of an Angio-Seal causing acute limb ischemia[J]. *Clin Case Rep*, 2021, 9(12):e05170.
- [11] Shah SS, Perez G, Snelling BM, et al. Off-label use of the Angioseal vascular closure device for femoral arteriotomy: retrospective analysis of safety and efficacy[J]. *J Neurointerv Surg*, 2017, 9(10):982-985.
- [12] Frenzel F, Fries P, Shayesteh-Kheslat R, et al. Single Angio-Seal vascular closure device for transfemoral access exceeding 8F [J]. *J Cardiol*, 2020, 76(2):211-216.
- [13] di Loreto F, Sampson M. Evidence to practice: use of Angio-Seal following PCI [J]. *Br J Card Nurs*, 2018, 13(1):20-28.
- [14] Essibayi MA, Cloft H, Savastano LE, et al. Safety and efficacy of Angio-Seal device for transfemoral neuroendovascular procedures: a systematic review and meta-analysis[J]. *Interv Neuroradiol*, 2021, 27(5):703-711.
- [15] 田军. 经股动脉心导管术后应用 Angio-Seal 血管封堵器与徒手压迫两种止血方法的随机对比分析[J]. 中国误诊学杂志, 2003, 3(9):1299-1301.

收稿日期:2022-11-10

(上接第 1018 页)

- [30] Zimmerman CA, Leib DE, Knight ZA. Neural circuits underlying thirst and fluid homeostasis[J]. *Nat Rev Neurosci*, 2017, 18(8):459-469.
- [31] Leistner C, Menke A. Hypothalamic-pituitary-adrenal axis and stress[J]. *Handb Clin Neurol*, 2020, 175:55-64.
- [32] Pelliccia F, Kaski JC, Crea F, et al. Pathophysiology of Takotsubo syndrome[J]. *Circulation*, 2017, 135(24):2426-2441.
- [33] Singh T, Khan H, Gamble DT, et al. Takotsubo syndrome: pathophysiology, emerging concepts, and clinical implications[J]. *Circulation*, 2022, 145(13):1002-1019.
- [34] Vlasov K, van Dort CJ, Solt K. Optogenetics and chemogenetics [J]. *Methods Enzymol*, 2018, 603:181-196.
- [35] Zengin G, Topak OZ, Atesci O, et al. The efficacy and safety of transcranial magnetic stimulation in treatment-resistant bipolar depression [J]. *Psychiatr Danub*, 2022, 34(2):236-244.
- [36] Jannati A, Oberman LM, Rotenberg A, et al. Assessing the mechanisms of brain plasticity by transcranial magnetic stimulation [J]. *Neuropsychopharmacology*, 2023, 48(1):191-208.

收稿日期:2023-02-24

(上接第 1052 页)

- [19] Kim SE, Yin MZ, Kim HJ, et al. Decreased inward rectifier and voltage-gated K⁺ currents of the right septal coronary artery smooth muscle cells in pulmonary arterial hypertensive rats [J]. *Korean J Physiol Pharmacol*, 2020, 24(1):111-119.
- [20] Schickling BM, England SK, Aykin-Burns N, et al. BKCa channel inhibitor modulates the tumorigenic ability of hormone-independent breast cancer cells via the Wnt pathway[J]. *Oncol Rep*, 2015, 33(2):533-538.
- [21] Gambade A, Zreika S, Guéguinou M, et al. Activation of TRPV2 and BKCa channels by the LL-37 enantiomers stimulates calcium entry and migration of cancer cells[J]. *Oncotarget*, 2016, 7(17):23785-23800.
- [22] Roger S, Potier M, Vandier C, et al. Description and role in proliferation of ibertioxin-sensitive currents in different human mammary epithelial normal and cancerous cells[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2004, 1667(2):190-199.
- [23] Sheng J, Shim W, Wei H, et al. Hydrogen sulphide suppresses human atrial fibroblast proliferation and transformation to myofibroblasts[J]. *J Cell Mol Med*, 2013, 17(10):1345-1354.

收稿日期:2023-04-27