

论著·基础研究 doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2019.16.004

网络首发 http://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1097.R.20190516.1611.002.html(2019-05-17)

线粒体钙单向转运体在小鼠心肌肥厚损伤中的作用*

王晶¹, 张珍², 曹雅男¹, 滕艳杰^{1△}

(牡丹江医学院:1. 医药研究中心;2. 第一临床医学院,黑龙江牡丹江 157011)

[摘要] **目的** 探讨线粒体钙单向转运体(MCU)在异丙肾上腺素(ISO)诱导小鼠心肌肥厚中的作用。**方法** 将野生型小鼠和 MCU 基因敲除小鼠分为正常对照组、野生造模组、敲除对照组和敲除造模组。造模组通过注射异丙肾上腺素(ISO)建立心肌肥厚模型,处死动物后计算心质量/体质量比值(HB/WB)、肺质量/体质量比值(LB/WB)。苏木素-伊红(HE)染色观察心肌组织形态学变化,Masson 染色观察纤维化程度,实时荧光定量 PCR 检测心肌肥厚标志物 ANP、BNP mRNA 的表达及凋亡相关因子 Bcl-2、Bax、caspase-3、caspase-9 mRNA 的表达。**结果** 与各自对应的对照组比较,造模组 HB/WB、LB/WB 增加及心肌肥厚标志物 ANP、BNP mRNA 的表达升高;实时荧光定量 PCR 检测凋亡相关因子显示:Bcl-2 mRNA 的表达下降,Bax、caspase-3、caspase-9 mRNA 的表达增加。与野生造模组相比,敲除造模组小鼠 HB/WB、LB/WB 比值增加,心肌肥厚标志物 ANP、BNP mRNA 的表达明显升高;Bcl-2 mRNA 的表达下降,Bax、caspase-3、caspase-9 mRNA 的表达增加。HE 染色显示野生造模组小鼠肌丝排列紊乱、心肌细胞体积明显增大;Masson 染色显示:胶原纤维网断裂,心肌内胶原纤维增多。与野生造模组相比,敲除造模组 HE 染色显示的以上病理改变更加明显;Masson 染色显示的心肌肥厚、心肌纤维化改变也更加明显。**结论** MCU 对 ISO 诱导心肌肥厚纤维化具有一定的保护作用,其作用可能是通过抑制心肌细胞凋亡实现的。

[关键词] 线粒体钙单向转运体;心肌肥厚;异丙肾上腺素;细胞凋亡

[中图法分类号] R542.2

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-8348(2019)16-2714-04

Study on the role of mitochondrial calcium uniporter in myocardial hypertrophy injury of mice*

WANG Jing¹, ZHANG Zhen², CAO Yanan¹, TENG Yanjie^{1△}

(1. Medical Research Center;2. The First Clinical Medical College, Mudanjiang Medical College, Mudanjiang, Heilongjiang 157011, China)

[Abstract] **Objective** To investigate the role of mitochondrial calcium uniporter (MCU) in isoproterenol (ISO)-induced myocardial hypertrophy in mice. **Methods** Wild type mice and MCU knockout mice were randomly divided into the normal control group, the wild model group, the knockout control group and the knockout model group. The model of myocardial hypertrophy was established by injection of ISO, and the heart weight/body weight ratio (HB/WB) and lung weight/body weight ratio (LB/WB) were calculated after the animals were sacrificed. The morphological changes of myocardial tissue were observed by HE staining. The degree of fibrosis was observed by Masson staining. The expression levels of ANP mRNA and BNP mRNA and the mRNA apoptosis-related factors such as Bcl-2, Bax, caspase-3 and caspase-9 were detected by real-time fluorescent quantitative PCR. **Results** Compared with the corresponding control groups, the ratios of HB/WB and LB/WB of model groups were increased, the expression levels of myocardial hypertrophy markers mRNA (ANP mRNA, BNP mRNA) and apoptosis-related factors mRNA (Bax mRNA, caspase-3 mRNA and caspase-9 mRNA) were increased, the expression level of apoptosis-related factor (Bcl-2 mRNA) was decreased. Compared with the wild model group, the ratios of HB/WB and LB/WB in the knockout model group were increased, and the expression levels of ANP mRNA, BNP mRNA and apoptosis-related factors mRNA (Bax mRNA, caspase-3 mRNA and caspase-9 mRNA) were increased, the expression level of apoptosis-related factor (Bcl-2 mRNA) was decreased. HE staining showed that the myofilament arrangement of the wild model group was disordered and the myocardial cell volume was significantly increased. Masson staining showed that the collagen fiber network was broken and the collagen fibers in the myocardium increased. Compared with the

* 基金项目:黑龙江省卫生和计划生育委员会科研课题(2014-213);牡丹江医学院研究生创新科研项目(2017YJSCX-07MY);牡丹江医学院支持项目(ZS201520)。作者简介:王晶(1987—),硕士在读,主要从事短肽对器官纤维化的干预与治疗研究。△ 通信作者,E-mail:tyjlj2@163.com。

wild model group, the above pathological changes were more obvious in the knockout model group.

Conclusion MCU has a protective effect on ISO-induced myo cardiac hypertrophic fibrosis, and its effect may be achieved by inhibiting cardiomyocyte apoptosis.

[Key words] mitochondrial calcium unidirectional transporter; cardiac hypertrophy; isoproterenol; apoptosis

心血管疾病是全球死亡的常见原因之一,近年来我国心血管病疾病的患病率和病死率逐年上升,心血管病已成为我国居民的首位死亡原因^[1]。有研究表明,心肌肥厚是导致心血管疾病发生率和病死率增高的独立危险因素,是众多心血管疾病的共同病理过程^[2],其发生机制尚未完全阐明,认为与细胞内 Ca²⁺稳态失衡有密切关系。因此,抑制心肌肥厚对改善心脏损伤极其重要。线粒体是心肌细胞能量的来源,在细胞内钙的调节中起重要作用^[3-4]。国外最新的研究结果表明,线粒体钙单向转运体(mitochondrial calcium uniporter,MCU)是线粒体内膜上的一个蛋白复合体,其成分由 MCU、MCUb、MICU1 MICU2 及 EMRE 构成^[5-6],能够介导 Ca²⁺从细胞质进入到线粒体基质,在细胞内 Ca²⁺信号转导、Ca²⁺稳态、线粒体能量代谢和细胞凋亡通路方面具有重要意义。异丙肾上腺素(isoproterenol,ISO)是β受体激动剂,可以通过激活 MAPK 信号通路导致心肌肥厚,与手术造模方法相比较,皮下注射 ISO 对小鼠损伤小,动物模型成功率高,同时也更加简单、经济、可靠^[7]。目前,MCU 对心肌肥厚的作用研究多是通过体外实验得到的结果,而在人体或动物体内 MCU 的作用研究较少,本实验旨在小鼠探讨 MCU 基因敲除对 ISO 诱导心肌肥厚损伤的影响,为 MCU 在心肌肥厚损伤中发挥保护作用提供更多的理论依据,现报道如下。

1 材料与方法

1.1 主要试剂与仪器 ISO(上海阿拉丁公司);生理盐水、Masson 染色试剂盒(南京建成试剂公司);RNA 提取试剂盒(美国 Omega 试剂公司);反转录试剂盒(美国 Roche 公司);苏木素-伊红(HE)染色试剂(北京中生瑞泰公司);Bcl-2、Bax、caspase-3、caspase-9-PCR 引物(上海生工生物工程公司);荧光定量 PCR 仪、S100 PCR 自动系列化分析仪及 Molecular Imager

凝胶成像系统(美国 Bio-Rad 公司);光学显微镜(日本 Olympus 公司)。

1.2 方法

1.2.1 实验动物分组与处理 无特定病原体(SPF)级雄性 CD1 野生型小鼠及 MCU 基因敲除小鼠各 16 只,体质量(30±5)g,鼠龄 12 周,由中国军事医学科学院潘欣博士后赠送,动物许可证号:SCXK(军)2012-0004。按照体质量分为 4 组,每组 8 只。分别为正常对照组、野生造模组、敲除对照组和敲除造模组。参照文献[7]方法操作,在禁食 12 h 后,根据体质量,造模组小鼠皮下注射 ISO 5 mg/kg,每天早晚各注射 1 次,间隔 12 h,对照组小鼠以等容积的生理盐水进行皮下注射,各组连续注射 14 d。试验结束后,采用颈椎脱臼法将小鼠处死,取心脏和肺称质量并记录。随后将小鼠各组部分心脏的心房切掉,然后再分离左心室和右心室,将分离的左心室装入 1.5 mL 的 EP 管中并放在液氮中保存,最后按顺序放入指定的盒子里并放入-80℃冰箱冷冻;各组另一部分小鼠的心脏放入装有 4%多聚甲醛溶液的 5 mL EP 管中固定,等待组织包埋。

1.2.2 心质量/体质量比(HW/BW)、肺质量/体质量比(LW/BW)检测 据测量的小鼠心质量、肺质量及体质量,计算 HW/BW、LW/BW。

1.2.3 实时荧光定量 PCR 用 RNA 提取试剂盒提取各组小鼠心肌组织总 RNA,反转录成 cDNA。PCR 反应体系包括 cDNA 2.0 μL、SYBR Green Mix 9.0 μL、引物各 0.8 μL 和超纯水 7.4 μL,总体积 20.0 μL。PCR 反应扩增条件:95℃预变性 10 min,95℃变性 10 s,60℃退火 20 s,72℃延伸 10 s,共 40 个循环。计算 Ct 值、2^{-ΔΔCt}值。以β-actin 为内参,引物序列如表 1。

表 1 PCR 扩增引物序列

基因	上游引物(5'-3')	下游引物(5'-3')	产物大小(bp)
β-actin	TAAAACGCAGCTCAGTAACAGTCGG	TGCAATCCTGTGGCATCCATGAAAC	349
ANP	GAACCTGCTAGACCACCT	CCTAGTCCACTCTGGGCT	312
BNP	AAGCTGCTGGAGCTGATAAGA	GTTACAGCCCAAACGACTGAC	222
Bcl-2	TCGCAGAGATGTCCAGTCAG	ATCTCCCTGTTGACGCTCTC	163
Bax	TCATGAAGACAGGGGCCTTT	GTCCACGTCAGCAATCATCC	197
caspase-3	CTACAGCACCTGGTTACTATTC	TACAGTTCTTTCTGTGAGCAT	229
caspase-9	CATCCTTGTGTCTACTCCACC	CAGCTTTTTCGGAGGAAGT	214

1.2.4 HE 染色 将多聚甲醛固定的心脏组织常规脱水,透明,石蜡包埋,用 feica 旋转式切片机制片,厚度 $4\ \mu\text{m}$,行 HE 染色。步骤如下, $65\ ^\circ\text{C}$ 烘片 4 h。将石蜡切片放入二甲苯溶液中,浸泡 6 min 后取出,再放入另 1 个二甲苯溶液中浸泡 6 min。乙醇水化,苏木素染剂浸泡 10 min,盐酸乙醇溶液浸泡 3 s,蒸馏水稍洗 20 s, 0.04% 氨水溶液返蓝 30 s,伊红染色,自来水冲洗,乙醇脱水,二甲苯透明,中性树脂封片。

1.2.5 心肌纤维化的检测 同 1.5 切片,进行 Masson 染色。步骤如下, $65\ ^\circ\text{C}$ 烘片 4 h。将石蜡切片放入二甲苯溶液中,浸泡 6 min 后,再放入另 1 个二甲苯溶液中浸泡 6 min。切片放入 Bouin 液,然后放入 $37\ ^\circ\text{C}$ 的温箱内 2 h,取出后用蒸馏水冲洗,至切片上的黄色消失。青石蓝染色液滴染 2 min 后,自来水冲洗。苏木素染色液滴染 2 min 后,自来水冲洗。酸性乙醇分化 20 s 后,蒸馏水冲洗 10 min。丽春红滴染 10 min,蒸馏水冲洗。磷钼酸溶液处理 10 min,直接滴入苯胺蓝染色 5 min。将切片用弱酸溶液处理 2 min, 95% 乙醇快速脱水, 100% 乙醇溶液反复浸泡 3 次,每次 10 s,二甲苯溶液反复浸泡 3 次,每次 2 min,最后中性树脂封片。

1.3 统计学处理 数据用 Graphpad Prism5.0 软件进行统计与分析,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用 t 检验,多组间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 ISO 诱导的心肌肥厚模型的鉴定

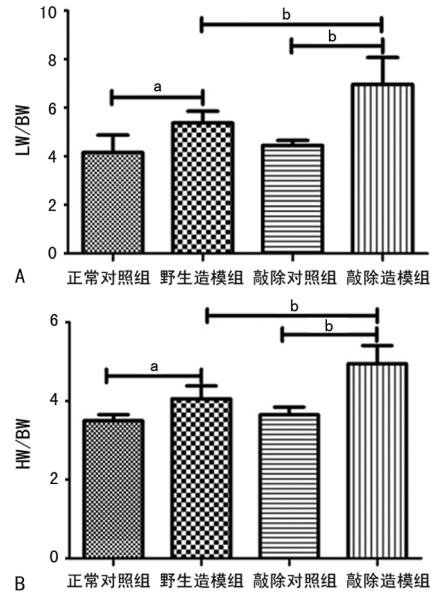
2.1.1 小鼠 HW/BW 和 LW/BW 的改变 与各自对应的对照组比较,两造模组小鼠 HW/BW、LW/BW 均升高,差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。与野生造模组比较,敲除造模组小鼠 HW/BW、LW/BW 明显升高,差异均有统计学意义 ($P < 0.01$),见图 1。

2.1.2 小鼠心肌肥厚标志物表达的改变 与各自对应的对照组比较,两造模组小鼠 ANP、BNP mRNA 的表达均明显升高,差异均有统计学意义 ($P < 0.01$);与野生造模组比较,敲除造模组小鼠 ANP、BNP mRNA 表达明显升高,差异均有统计学意义 ($P < 0.01$),见图 2。

2.1.3 小鼠心肌组织形态学的改变 正常对照组小鼠心肌组织心肌肌原纤维细胞排列整齐、致密、形态完整,细胞核及核仁结构清晰;野生造模组小鼠肌丝排列紊乱、松散心肌细胞体积明显增大,形态不规整,细胞核深染、增大、畸形,核仁模糊;与野生造模组比较,敲除造模组小鼠心肌组织病理改变更为明显,见图 3。

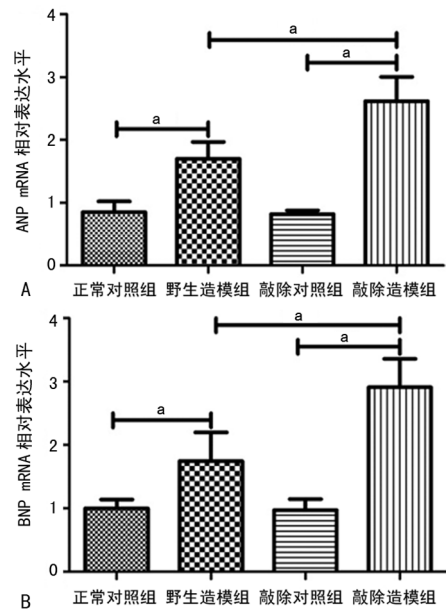
2.2 MCU 基因敲除对 ISO 诱导小鼠心肌肥厚心肌纤维化的影响 正常对照组小鼠心肌组织胶原分布

均匀,相邻的胶原纤维网完好,胶原纤维的含量少;野生造模组心肌内胶原纤维明显增多,胶原纤维网断裂,排列紊乱;与野生造模组比较,敲除造模组小鼠心肌纤维化面积明显增加。见图 4。



A: LW/BW; B: HW/BW; a: $P < 0.05$, b: $P < 0.01$

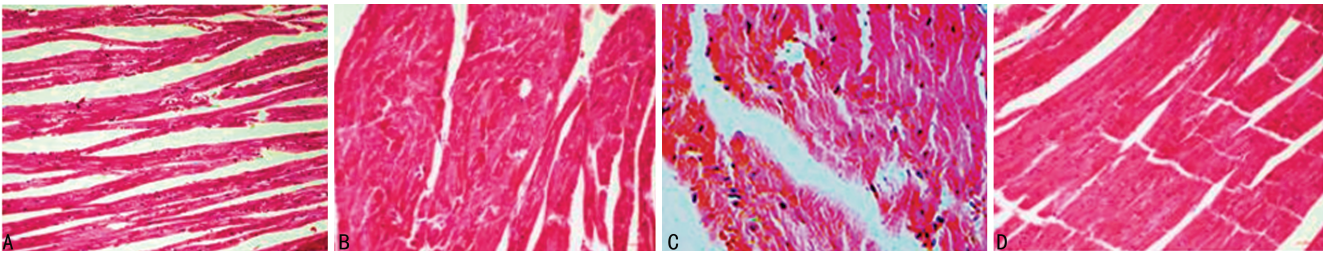
图 1 ISO 对 HW/BW 和 LW/BW 的影响



A: ANP; B: BNP; a: $P < 0.05$

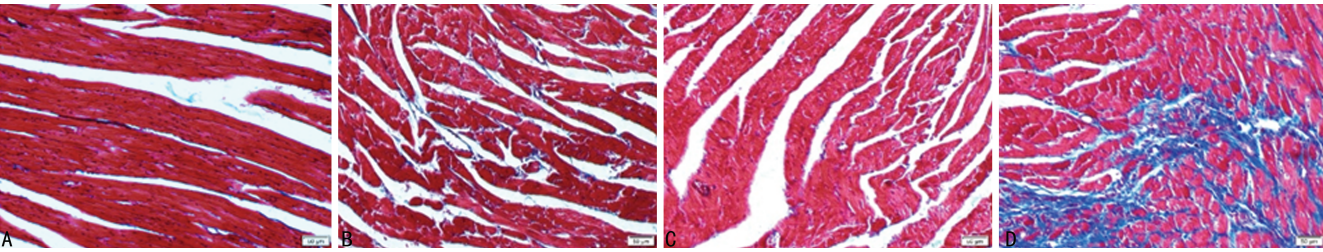
图 2 ISO 对小鼠心肌肥厚标志物表达影响

2.3 MCU 基因敲除对 ISO 诱导小鼠心肌肥厚凋亡相关基因表达的影响 与各自对应的对照组比较,两造模组小鼠 Bax、caspase-3、caspase-9 mRNA 的表达明显升高, Bcl-2 的表达明显降低,差异均有统计学意义 ($P < 0.01$);与野生造模组比较,敲除造模组小鼠 Bax、caspase-3、caspase-9 的表达明显升高, Bcl-2 的表达明显降低,差异均有统计学意义 ($P < 0.05$),见图 5。



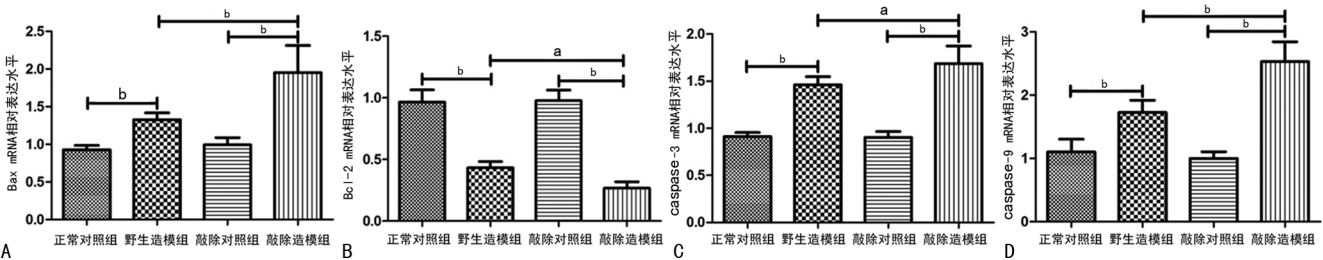
A: 正常对照组; B: 野生造模组; C: 敲除对照组; D: 敲除造模组

图 3 MCU 基因敲除 ISO 诱导的小鼠心肌细胞厚肌组织形态学的影响 (HE ×100)



A: 正常对照组; B: 野生造模组; C: 敲除对照组; D: 敲除造模组

图 4 MCU 基因敲除对 ISO 诱导小鼠心肌肥厚肌纤维化的影响 (Masson×100)



A: Bax; B: Bcl-2; C: caspase-3; D: caspase-9; ^a $P < 0.05$; ^b $P < 0.01$

图 5 MCU 基因敲除对 ISO 诱导小鼠心肌肥厚凋亡相关基因表达的影响

3 讨 论

心肌肥厚是各种生理或病理刺激下心脏的适应性反应,但是,慢性心肌肥厚会使心脏功能逐渐减退,并最终发展为心律失常、心力衰竭,甚至猝死^[8]。随着分子生物学时代的到来,心肌肥厚在基因水平上研究的不断深入,多个基因被发现心肌肥厚中发挥重要作用^[9]。小鼠心肌肥厚模型的构建主要有手术和药物两种方式,手术方式死亡率高、效率低,药物方法更为简单、方便。ISO 是儿茶酚胺类 β 肾上腺素受体激动药之一,半衰期相对较长,能更真实的模拟自然病程,而且皮下注射 ISO 也更为简单、经济。研究表明,交感神经系统的过度兴奋,主要的原因是通过增加压力/容量负荷而诱导心肌肥厚的发生发展。而在构建心肌肥厚的动物模型中也证明了这一点,使小鼠的交感神经系统兴奋也成为构建小鼠心肌肥厚模型的主要方法^[7,10-11]。

MCU 基因敲除小鼠,除体形上较野生型小鼠小表型上与野生型小鼠几乎没有变化。基础代谢方面 MCU 敲除小鼠同野生型小鼠一样。在离体心脏缺血-再灌注损伤中,MCU 敲除小鼠与野生型小鼠比较,梗死面积无差异,且功能损伤也无差异;但在骨骼肌上,表现为产能的缺陷^[12]。随后的研究表明野生型小鼠和 MCU 基因敲除小鼠心功能在静息和应激情况

下,二者心功能正常^[13]。但近年来也有报道显示,在心肌细胞中,敲除 MCU 基因,可增加 MCU 复合体的活性,促进心肌细胞凋亡,降低心功能^[14-15]。

本实验结果显示,模型组小鼠 HW/BW、LW/BW 明显增加,ANP、BNP mRNA 的表达升高,HE 染色出现肌丝排列紊乱、形态不规整,证实本实验 ISO 诱导心肌肥厚造模成功。实验中,经 ISO 干预后,MCU 基因敲除小鼠 HW/BW、LW/BW 较敲对照组增加,ANP、BNP mRNA 的表达较敲除对照组均显著升高;Masson 染色出现心肌组织纤维化病变,胶原沉积显著;与各自对照组比较,两模型组 Bax、caspase-3、caspase-9 mRNA 的表达均上调,Bcl-2 的表达下降,而与野生造模组比较,敲除造模组以上变化更明显。提示 MCU 基因敲除可加重 ISO 诱导的心肌肥厚损伤,使心肌纤维化面积增加,并促进心肌细胞凋亡,说明 MCU 具有保护心肌的作用。

参考文献

[1] 陈伟伟,高润霖,刘力生,等.《中国心血管病报告 2016》概要[J]. 中国循环杂志,2017,32(6):521-530.

[2] 白燕,徐文丽,吕婷婷,等.异丙肾上腺素诱导的心功能不全中自噬的变化[J]. 首都医科大学学报,2016,37(6):719-724.

(下转第 2722 页)

参考文献

- [1] JOHNSON D R, GALANIS E. Incorporation of prognostic and predictive factors into glioma clinical trials[J]. *Curr Oncol Rep*, 2013, 15(1): 56-63.
 - [2] HAYS J, PERUZZI P P, LAWLER S. MicroRNAs in cancer: biomarkers, functions and therapy[J]. *Trends Mol Med*, 2014, 20(8): 460-469.
 - [3] CAO C, SUN D, ZHANG L, et al. miR-186 affects the proliferation, invasion and migration of human gastric cancer by inhibition of Twist1[J]. *Oncotarget*, 2016, 7(48): 79956-79963.
 - [4] HUA X, XIAO Y, PAN W, et al. miR-186 inhibits cell proliferation of prostate cancer by targeting GOLPH3[J]. *Am J Cancer Res*, 2016 6(8): 1650-1660.
 - [5] MA Y, WANG P, XUE Y, et al. PVT1 affects growth of glioma microvascular endothelial cells by negatively regulating miR-186[J]. *Tumour Biol*, 2017, 39(3): 1010428317694326.
 - [6] CHEN X, ZHANG Y, SHI Y, et al. MiR-873 acts as a novel sensitizer of glioma cells to cisplatin by targeting Bel-2[J]. *Int J Oncol*, 2015, 47(4): 1603-1611.
 - [7] WANG B C, MA J. Role of microRNAs in malignant glioma[J]. *Chin Med J (Engl)*, 2015, 128(9): 1238-1244.
 - [8] BAO G, WANG N, LI R, et al. MiR-508-5p inhibits the progression of glioma by targeting glycoprotein non-metastatic melanoma B[J]. *Neurochem Res*, 2016, 41(7): 1684-1690.
 - [9] XUE L, WANG Y, YUE S, et al. The expression of miRNA-221 and miRNA-222 in gliomas patients and their prognosis[J]. *Neurol Sci*, 2017, 38(1): 67-73.
 - [10] CAI Z, HAO X Y, LIU F X. MicroRNA-186 serves as a tumor suppressor in oral squamous cell carcinoma by negatively regulating the protein tyrosine phosphatase SHP2 expression[J]. *Arch Oral Biol*, 2018, 89: 20-25.
 - [11] SU B B, ZHOU S W, GAN C B, et al. MiR-186 inhibits cell proliferation and invasion in human cutaneous malignant melanoma. [J]. *J Cancer Res Ther*, 2018, 14(Supplement): S60-64.
 - [12] ZHENG J, LI X D, WANG P, et al. CRNDE affects the malignant biological characteristics of human glioma stem cells by negatively regulating miR-186 [J]. *Oncotarget*, 2015, 6(28): 25339-25355.
 - [13] MANGONE F R, WALDER F, MAISTRO S, et al. Smad2 and Smad6 as predictors of overall survival in oral squamous cell carcinoma patients[J]. *Mol Cancer*, 2010, 9: 106.
 - [14] JEON H S, DRACHEVA T, YANG S H, et al. SMAD6 contributes to patient survival in non-Small cell lung cancer and its knockdown reestablishes TGF- β homeostasis in lung cancer cells[J]. *Cancer Res*, 2008, 68(23): 9686-9692.
 - [15] ZHANG L, SUN H, ZHAO F, et al. BMP4 Administration induces differentiation of CD133⁺ hepatic cancer stem cells, blocking their contributions to hepatocellular carcinoma[J]. *Cancer Res*, 2012, 72(16): 4276-4285.
 - [16] JIAO J, ZHANG R, LI Z, et al. Nuclear Smad6 promotes gliomagenesis by negatively regulating PIAS3-mediated STAT3 inhibition[J]. *Nat Commun*, 2018, 9(1): 2504.
-
- (收稿日期: 2019-03-03 修回日期: 2019-04-20)
- (上接第 2717 页)
- [3] PATRON M, RAFFAELLO A, GRANATIERO V, et al. The mitochondrial Calcium uniporter (MCU): molecular identity and physiological roles[J]. *J Biol Chem*, 2013, 288(15): 10750-10758.
 - [4] BROOKES P S, YOON Y, ROBOTHAM J L, et al. Calcium, ATP, and ROS: a mitochondrial love-hate triangle [J]. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2004, 287(4): C817-833.
 - [5] SANCAK Y, MARKHARD A L, KITAMI T A, et al. EMRE is an essential component of the mitochondrial Calcium uniporter complex[J]. *Science*, 2013, 342(6164): 1379-1382.
 - [6] FOSKETT J K, MADESH M. Regulation of the mitochondrial Ca²⁺ uniporter by MICU1 and MICU2[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2014, 449(4): 377-383.
 - [7] 张文斌, 唐其柱, 李金, 等. 皮下注射异丙肾上腺素诱导小鼠心肌梗死模型[J]. *医学研究杂志*, 2015, 44(7): 88-91.
 - [8] GOVINDSAMY A, NAIDOO S, CERF M E. Cardiac development and transcription factors; insulin signalling, insulin resistance, and intrauterine nutritional programming of cardiovascular disease[J]. *J Nutr Metab*, 2018, 2018: 1-12.
 - [9] 张蒙, 董苗, 周喧宣, 等. 二苯乙炔苷对小鼠心肌梗死作用的研究[J]. *中国体外循环杂志*, 2016, 14(4): 233-237.
 - [10] 罗时珂, 李萍, 程晓曙. 异丙肾上腺素诱导慢性心力衰竭大鼠模型的建立[J]. *重庆医学*, 2012, 41(4): 352-354.
 - [11] CHOWDHURY D, TANGUTUR A D, KHATUA T N, et al. A proteomic view of isoproterenol induced cardiac hypertrophy; prohibitin identified as a potential biomarker in rats[J]. *J Transl Med*, 2013, 11(1): 130.
 - [12] PAN X, LIU J, NGUYEN T, et al. The physiological role of mitochondrial Calcium revealed by mice lacking the mitochondrial Calcium uniporter[J]. *Nat Cell Biol*, 2013, 15(12): 1464-1472.
 - [13] HOLMSTROEM K M, PAN X, LIU J C, et al. Assessment of cardiac function in mice lacking the mitochondrial Calcium uniporter[J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2015, 85: 178-182.
 - [14] SANTULLI G, XIE W J, REIKEN S R, et al. Mitochondrial Calcium overload is a key determinant in heart failure[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2015, 112(36): 11389-11394.
 - [15] BELL J R, ERICKSON J R, DELBRIDGE L M. Ca²⁺/calmodulin dependent kinase II: a critical mediator in determining reperfusion outcomes in the heart? [J]. *Clin Exp Pharmacol Physiol*, 2014, 41(11): 940-946.
- (收稿日期: 2019-03-21 修回日期: 2019-04-29)