

doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2020.08.001

View this article at: <http://dx.doi.org/10.3978/j.issn.2095-6959.2020.08.001>

· 论著 ·

整合素 $\beta 3$ 在异丙肾上腺素诱导的心肌细胞损伤与凋亡中的作用

张海波¹, 李运丽¹, 艾景雪¹, 王亚丹¹, 王芳芳²

(1. 河南大学第一附属医院心血管内科, 河南 开封 475001; 2. 中国人民解放军空军军医大学第二附属医院心血管内科, 西安 710068)

[摘要] 目的: 探讨整合素 $\beta 3$ (integrin $\beta 3$, ITGB3)在 β -肾上腺素受体(β -adrenergic receptor, β -AR)激动剂异丙肾上腺素(isoprenaline, ISO)诱导的心肌细胞损伤与凋亡中的作用及其机制。方法: 心肌细胞随机分为对照组(Con组)、siRNA-ITGB3处理组(Con+si-ITGB3组)、ISO组、ISO+siRNA-ITGB3处理组(ISO+si-ITGB3组)。采用CCK-8检测细胞活性, TUNEL染色检测细胞凋亡, GFP-LC3腺病毒检测细胞自噬流强度, RT-PCR检测ITGB3 mRNA的表达; 蛋白质印迹法检测细胞蛋白质水平。结果: 在 $10 \mu\text{mol/L}$ 的ISO刺激后, 心肌细胞活力下降、且随刺激时间的延长, 细胞活力下降程度增加。siRNA-ITGB3干扰能够下调ISO诱导的ITGB3表达, 抑制ISO所致的细胞活力下降。siRNA-ITGB3干扰能够抑制ISO诱导细胞凋亡, 抑制促凋亡蛋白cleaved-caspase-3和Bax蛋白表达, 上调抗凋亡蛋白Bcl-2表达; siRNA-ITGB3干扰能够增强GFP-LC3表达、促进自噬蛋白Beclin1, LC3-I/LC3-II积累, 降低p62水平, 抑制ISO所致的细胞自噬水平的下降。结论: ITGB3表达下调能激活细胞自噬, 抑制ISO诱导的心肌细胞损伤与凋亡。

[关键词] 整合素 $\beta 3$; β -肾上腺素受体; 自噬; 凋亡

Role of integrin $\beta 3$ in isoproterenol induced injury and apoptosis in cardiomyocytes

ZHANG Haibo¹, LI Yunli¹, AI Jingxue¹, WANG Yadan¹, WANG Fangfang²

(1. Department of Cardiology, First Affiliated Hospital of Henan University, Kaifeng Henan 475001; 2. Department of Cardiology, Second Affiliated Hospital of Air Forced Military Medical University, Xi'an 710068, China)

Abstract **Objective:** To investigate the role and mechanism of integrin beta 3 (ITGB3) in β -agonist, adrenoceptor agonist ISO-induced cardiomyocyte injury and apoptosis. **Methods:** Cardiac myocytes were randomly divided into a control group (Con), a Con+si-ITGB3 group, an isopinosine (ISO) group, and an ISO+si-ITGB3 group. CCK-8 assay was used to detect cell viability. TUNEL staining was used to detect cell apoptosis. GFP-LC3 adenovirus were used to detect the level of cell autophagy. RT-qPCR was used to detect the mRNA expression of ITGB3. Western blot was used to detect the protein level. **Results:** After stimulation with $10 \mu\text{mol/L}$ ISO, the cell viability

收稿日期 (Date of reception): 2020-01-22

通信作者 (Corresponding author): 王芳芳, Email: wangfftdxn@163.com

基金项目 (Foundation item): 开封市科技发展计划 (1903048)。This work was supported by the Science and Technology Development Project of Kaifeng, China (1903048).

of cardiomyocytes was reduced gradually with the prolongation of time. After pretreatment with siRNA-ITGB3, siRNA-ITGB3 treatment inhibited the decline of cell viability induced by ISO. Additional, siRNA-ITGB3 treatment inhibited the cell apoptosis induced by ISO, as evidenced by decreased the expression of cleaved caspase 3 and Bax, and increased the expression of Bcl-2. Consistently, siRNA-ITGB3 treatment decreased p62, increased the number of GFP-LC3 positive dots as well as LC3-II/LC3-I ratio and Beclin1 expression. **Conclusion:** Down-regulation of ITGB3 partially attenuates isoproterenol induced injury and apoptosis via activation of autophagy in cardiomyocytes.

Keywords integrin β 3; beta-adrenergic receptor; autophagy; apoptosis

心血管疾病是导致全球病死率增加的主要疾病之一, 严重威胁人类生存和生活质量^[1-2]。心脏病患者在心脏损伤后, 因心肌组织再生能力的缺乏导致心脏功能的降低。心肌细胞作为心脏最基本的结构与功能单位, 从本质上说, 任何类型心脏疾病所引起的心功能改变都可归咎于心肌细胞的变性坏死。在细胞水平上, 由于程序性细胞死亡导致的心肌细胞不可逆丢失, 进而加速病理性心室重塑和心力衰竭的进展。因此, 了解诱导和预防心肌细胞凋亡的分子遗传途径具有至关重要的作用。研究^[3-4]表明: β -肾上腺素受体(β -adrenergic receptor, β -AR)的长时间的激活对心肌细胞有直接的毒性作用, 且其毒性作用与细胞凋亡相关。尽管目前对于 β -AR诱导心肌细胞凋亡已有相关研究, 但长时间 β -肾上腺素的激活损害心肌细胞存活的机制仍未阐明。整合素 β 3(integrin β 3, ITGB3)是心肌细胞表面主要的整合素二聚体受体之一。研究^[5]表明: ITGB3参与缺氧诱导的细胞凋亡, 但在 β -AR介导的心肌细胞凋亡中的确切作用尚不清楚。因此, 本研究旨在探讨ITGB3在 β -AR诱导的原代小鼠心肌细胞凋亡中的作用及其机制。

1 材料与方法

1.1 实验动物与试剂

使用出生1~3 d的C57乳鼠(购自空军军医大学实验动物中心), 小鼠均采用3%异氟烷深度麻醉后进行椎脱臼处死。所有动物实验方法遵从动物伦理规范, 且由空军军医大学伦理委员会批准。NC-siRNA和siRNA-ITGB3由广州市锐博生物科技有限公司合成提供、胶原酶II购自美国Worthington Biochemical Corp公司; Dulbecco's modified Eagle's medium F12培养基、胎牛血清购自美国Gibco公司; ITGB3, β -AR, GAPDH购自美国Santa Cruz公司; Beclin1, LC3, p62, cleaved-caspase-3, Bcl-2和Bax购于美国Cell Signaling Technology公司; 肌

钙蛋白T(cTnT)、 α -actinin购自美国Abcam公司; GFP-LC3购自汉恒生物科技(上海)有限公司; TUNEL细胞凋亡检测试剂盒、BCA蛋白定量试剂盒、RIPA强裂解液及5 \times loading buffer购自上海碧云天生物有限公司; PVDF膜及ECL发光液购自美国Millipore公司; 异丙基肾上腺素(isoprenaline, ISO)购自美国Sigma公司; 反转录试剂盒First Strand cDNA Synthesis Kit和SYBR Premix Ex Taq TM II购自日本Takara公司; CCK-8检测试剂盒购自南京建成科技有限公司。

1.2 方法

1.2.1 心肌细胞培养与实验分组

取新生72 h内的C57BL/6小鼠, 脱颈处死, 75%乙醇消毒5 min, 打开胸腔, 摘取心脏, 去心房, 并用预冷的DPBS漂洗3次。将心室肌剪为 $<1\text{ mm}^3$ 的组织块, 静置吸弃DPBS, 加入5 mL的0.5 mg/mL的胶原酶II, 37 $^{\circ}\text{C}$ 振荡消化20 min; 加入含有10%FBS的培养基终止消化, 吸取上层混悬液, 下层组织再次加入消化液进行消化, 直至组织块完全消化。将收集的上层上层混悬液经200目滤网过滤, 收集细胞滤液, 以800 r/min离心5 min; 收集细胞, 加入10%FBS心肌培养基, 调整细胞密度为 5×10^5 个细胞/孔, 接种细胞至培养皿, 在37 $^{\circ}\text{C}$, 50 mL/L CO_2 饱和湿度培养箱中培养。细胞培养24 h后进行试验分组处理。对照组(Con组): 正常培养细胞72 h。siRNA-ITGB3处理组(Con+si-ITGB3组): 50 nmol/L siRNA-ITGB3处理细胞72 h。ISO组: 添加ISO, 使其终浓度为10 $\mu\text{mol/L}$, 处理细胞72 h。ISO+siRNA-ITGB3处理组(ISO+si-ITGB3组): 10 $\mu\text{mol/L}$ ISO+50 nmol/L siRNA-ITGB3处理细胞72 h。Con+NC-siRNA对照组: 50 nmol/L NC-siRNA处理细胞72 h。siRNA转染方法: 吸弃24孔板培养基, PBS漂洗3次, 添加新的10%FBS心肌培养基400 μL 。参照广州锐博生物科技有限公司siRNA转染试剂盒将Lipofectamine

2000 (Lipo2000)与50 μ L不含血清优化培养基轻轻混和,于室温孵育5 min;然后用50 μ L不含血清优化培养基稀释siRNA;随后将稀释好的Lipo2000与稀释好的siRNA轻轻混和,于室温下放置20 min,形成siRNA-Lipo2000混和物,将siRNA-Lipo2000加入含有细胞以及培养液的细胞培养板,培养72 h;移去siRNA-Lipo2000混合液的培养基,更换新鲜的生长培养基,37 $^{\circ}$ C培养4 h,随后收集细胞进行相关检测。siRNA-ITGB3正向引物序列为5'-ACAUGUACGGCGAUACAGGCU-3',反向引物序列为3'-CCUGUAUCGCCGUACAUGUAC-5'。

1.2.2 CCK-8 检测心肌细胞活力

原代心肌细胞消化,按照 4×10^3 细胞/孔的细胞量接种于96孔板中,置于37 $^{\circ}$ C,50 mL/L CO_2 培养24 h,然后按照分组进行干预处理72 h,吸弃培养基,PBS漂洗3次,然后加入200 μ L高糖DMEM培养基(无血清)和20 μ L CCK-8溶液于96孔板中,在37 $^{\circ}$ C,50 mL/L CO_2 培养箱中培养40 min,然后使用酶标仪检测各孔在450 nm处的吸光度值。

1.2.3 反转录实时定量 PCR(RT-qPCR) 检测

提取细胞总RNA,按照反转录试剂盒说明书步骤,以20 μ L体系进行反转录RCR,合成cDNA。参照定量检测试剂盒(SYBR Premix Ex TaqTM II)说明书进行反应,使用GAPDH作为内参,用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法计算基因的相对表达量。ITGB3正向引物序列为5'-GACGCTGTGGCAGATTGTGA-3',反向引物序列为5'-GCAAGGCGAGCATAGATACC-3';GAPDH正向引物序列为5'-TGTGTCCGTCGTGGATCTGA-3',反向引物序列为5'-TTGCTGTTGAAGTCGCAGGAG-3'。

1.2.4 蛋白质印迹法检测蛋白质表达

按照100 μ L/ 10^6 个细胞的量加入强RIPA裂解液,提取总蛋白质。以35 μ g/孔道上样量进行SDS-PAGE电泳。PVDF转膜,在5%脱脂奶粉中封闭2 h,一抗(1:1 000)4 $^{\circ}$ C振摇孵育过夜,室温复温振摇45 min,TBST漂洗3次,二抗(1:6 000)室温振摇孵育120 min,TBST多次漂洗,使用Chemi Doc XRS凝胶成像系统进行ECL化学发光成像。

1.2.5 TUNEL 法检测细胞凋亡

各组细胞处理结束后,弃掉原细胞培养液,PBS溶液进行清洗3次,然后进行TUNEL染色,倒置荧光显微镜观察拍照,Image Plus软件分析,具体实验方法参照试剂盒说明书。

1.2.6 免疫荧光染色

原代心肌细胞接种至小培养皿内,培养48 h后用PBS洗涤,然后4%多聚甲醛固定10 min,PBS漂洗,10 g/L Trixon-100室温孵育10 min,PBS漂洗,

50 g/L牛血清白蛋白室温封闭30 min,一抗(cTnI和 α -actinin)4 $^{\circ}$ C孵育过夜,PBS洗涤,二抗(兔抗Alexa Fluor488和鼠抗Cy3,室温孵育45 min,洗涤,DAPI(1:1 000)孵育10 min,洗涤3次,封片,观察。

1.2.7 心肌细胞自噬水平的检测—GFP-LC3(自噬小体)检测

原代细胞贴壁24 h后,将培养皿中的细胞上清弃去,以PBS溶液进清洗2次,去除培养皿中残余的细胞培养液,GFP-LC3腺病毒(浓度为 1×10^{10} ,感染复数值为80:1)用无血清、无双抗的培养基进行稀释、混合,随后加入培养皿中进行转染。转染4 h后,更换为含10%血清培养基培养24 h。随后对各组细胞进行相应处理,处理结束后进行细胞核(DAPI)及心肌细胞标志物(cTnT)荧光染色,染色结束后将小培养皿置于荧光显微镜下观察,观察细胞内绿色小点的数量,即为GFP-LC3代表的自噬小体,通过对绿色斑点(自噬小体)的计数可以清晰地看出自噬流的强弱。每个小培养皿共观察10个视野,将所得图片结果使用Image Plus软件进行图片分析,并使用统计软件进行分析。

1.3 统计学处理

数据采用GraphPad Prism 5软件处理,每组数据重复3次以上,符合正态分布的计量资料以均数 \pm 标准误($\bar{x} \pm s$)表示,多组间比较采用单因素方差分析(ANOVA),组间两两比较采用 q 检验(Newman Keuls- q , SNK- q);计数资料采用卡方检验,比较组间差异。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 ISO 长时间刺激诱导心肌细胞活力下降

分离获得的原代心肌细胞呈梭形或不规则扁平状,并呈自发性搏动,对其进行心肌标志蛋白cTnT/ α -actinin免疫荧光染色,结果显示:几乎所有细胞着染cTnT,且所有cTnT阳性细胞同时着染 α -actinin(具有绿色荧光;图1)。

在培养的新生乳鼠心肌细胞中,10 μ mol/L的ISO作用0~72 h后,随着时间的延长,其细胞活力下降;并且在ISO刺激12 h后,随着时间的延长,细胞相对活性下降程度增加。72 h的ISO相对于Con组造成细胞活力下降30%以上,被选为后续实验作用时间。随后,将siRNA-ITGB3加入ISO组,结果显示siRNA-ITGB3能够抑制ISO所致的细胞活力下降($P < 0.05$),而对照组加入siRNA-ITGB3则对

细胞活力没有显著影响($P>0.05$, 图1)。

2.2 ISO 调控 ITGB3 蛋白和 mRNA 表达

采用RT-qPCR检测 β -AR刺激对心肌细胞损伤与ITGB3表达相关, 结果显示: 与Con组相比, NC-siRNA组ITGB3基因和蛋白质表达均无明显差异。给予10 $\mu\text{mol/L}$ ISO刺激后, ISO组心肌细胞ITGB3 mRNA水平较Con组显著增加($P<0.05$, 图2)。给予siRNA-ITGB3干预后, Con+is-ITGB3组ITGB3 mRNA表达相比Con组降低, ISO+is-ITGB3组ITGB3 mRNA表达也相比ISO组明显下降($P<0.05$)。与RT-qPCR的结果相似, 在翻译水平上, ISO同样增加了ITGB3的表达, 而siRNA-ITGB3在存在或不存在ISO刺激的条件均能抑制ITGB3蛋白表达, NC-siRNA对ITGB3蛋白表达无影响($P<0.05$, 图2)。

2.3 抑制 ITGB3 减轻 ISO 引起的心肌细胞凋亡

采用TUNEL染色法检测心肌细胞凋亡, 结果

显示: ISO组凋亡细胞比例高于Con组; 相对于ISO组, ISO+si-ITGB3处理组凋亡细胞比例降低(图3)。

2.4 抑制 ITGB3 逆转 ISO 诱导的凋亡相关蛋白表达

蛋白质印迹法结果显示: ISO组心肌细胞促凋亡蛋白cleaved-caspase-3和Bax表达量较Con组增加, 而抗凋亡蛋白Bcl-2表达量较Con组降低。ISO+si-ITGB3组与ISO组相比, cleaved-caspase-3和Bax的表达下调, 而抗凋亡蛋白Bcl-2表达量上调(图4)。

2.5 抑制 ITGB3 增强心肌细胞自噬水平

GFP-LC3自噬腺病毒能够及时检测细胞的自噬水平, 通过对绿色斑点的计数可以清晰地看出自噬流的强弱。ISO组心肌细胞GFP-LC3绿点均较con组明显减少($P<0.05$), 提示自噬水平减弱。siRNA-ITGB3干预后, Con+si-ITGB3组GFP-LC3绿点较Con组增加($P<0.05$), ISO+si-ITGB3组GFP-LC3绿点同ISO组相比增加($P<0.05$, 图5)。

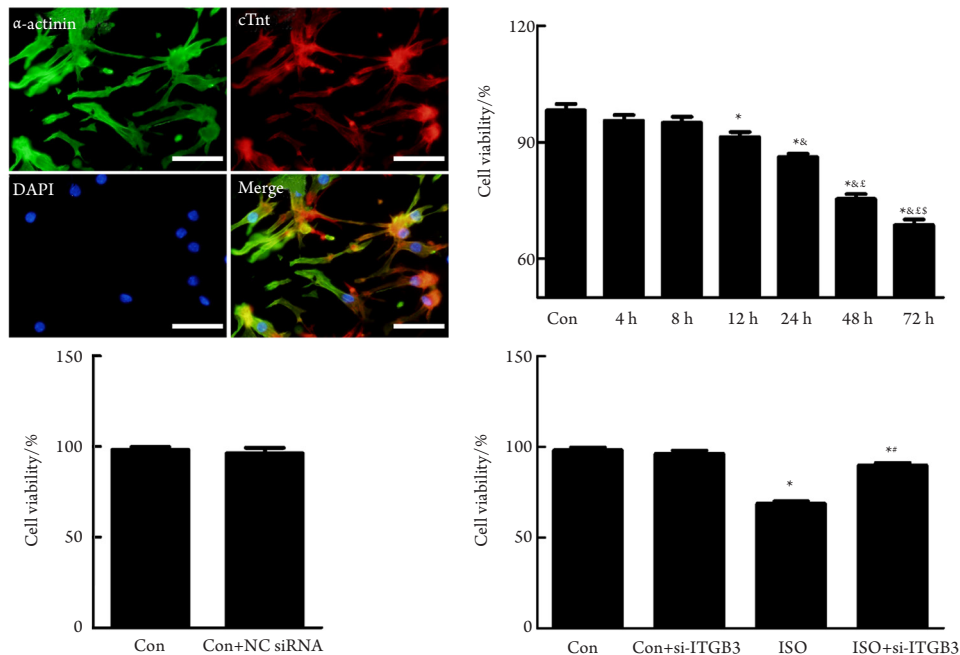


图1 β -AR刺激对心肌细胞活力影响($n=8$)

Figure 1 Effects of β -AR stimulation on the viability of cardiomyocytes ($n=8$)

(A) 免疫荧光染色鉴定心肌细胞($\times 20$); (B-D) 心肌细胞活力测定。与Con组相比, $*P<0.05$; 与12 h相比, $^{\&}P<0.05$; 与24 h相比, $^{\&}P<0.05$; 与48 h相比, $^{\&}P<0.05$; 与ISO组相比, $^{\&}P<0.05$ 。

(A) Myocardial cells were identified by fluorescence immunoassay ($\times 20$). (B-D) Determination of myocardial cell viability. Compared with the Con group, $*P<0.05$; Compared with 12 h, $^{\&}P<0.05$; Compared with 24 h, $^{\&}P<0.05$; Compared with 48 h, $^{\&}P<0.05$; Compared with the ISO group, $^{\&}P<0.05$.

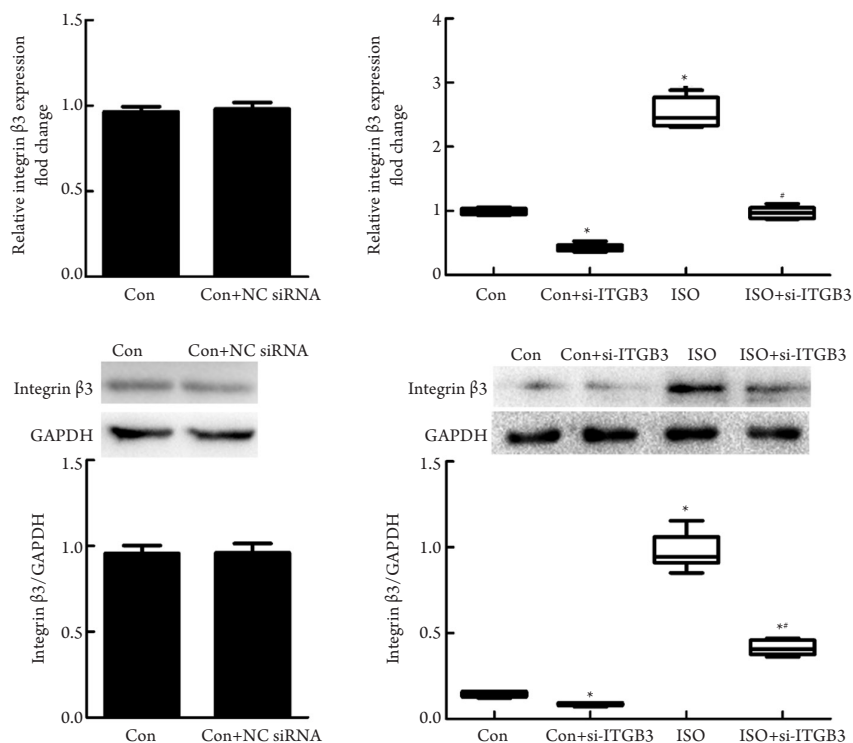


图2 ISO调节ITGB3表达($n=6$)

Figure 2 ISO upregulated ITGB3 expression ($n=6$)

与Con组相比, $*P<0.05$; 与ISO组相比, $^{\#}P<0.05$ 。

Compared with the Con group, $*P<0.05$; Compared with the ISO group, $^{\#}P<0.05$.

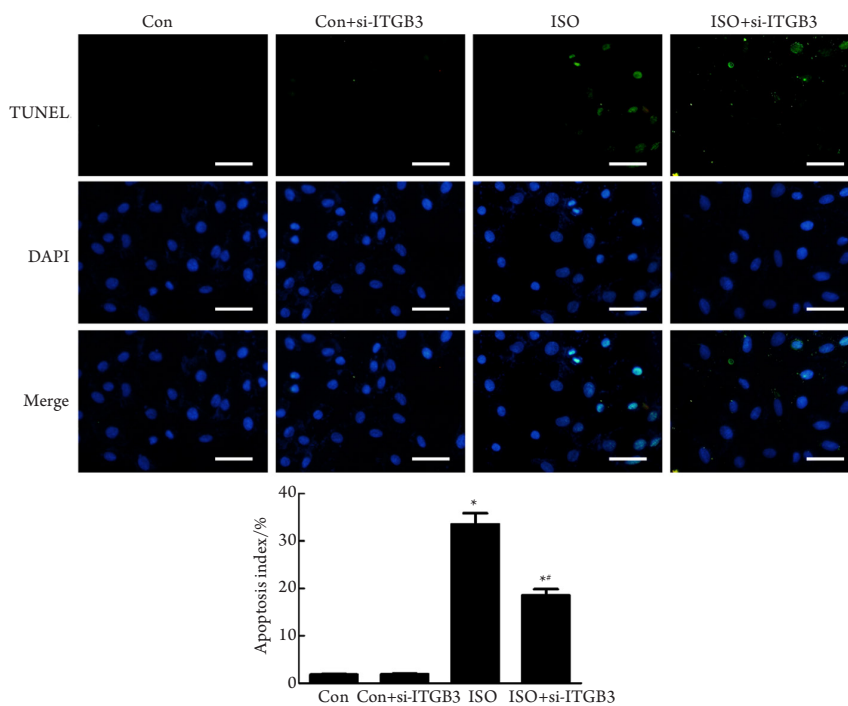


图3 TUNEL检测心肌细胞凋亡($\times 20, n=10$)

Figure 3 Myocardial cell apoptosis was detected by TUNEL assay ($\times 20, n=10$)

与Con组相比, $*P<0.05$; 与ISO组相比, $^{\#}P<0.05$ 。

Compared with the Con group, $*P<0.05$; Compared with the ISO group, $^{\#}P<0.05$.

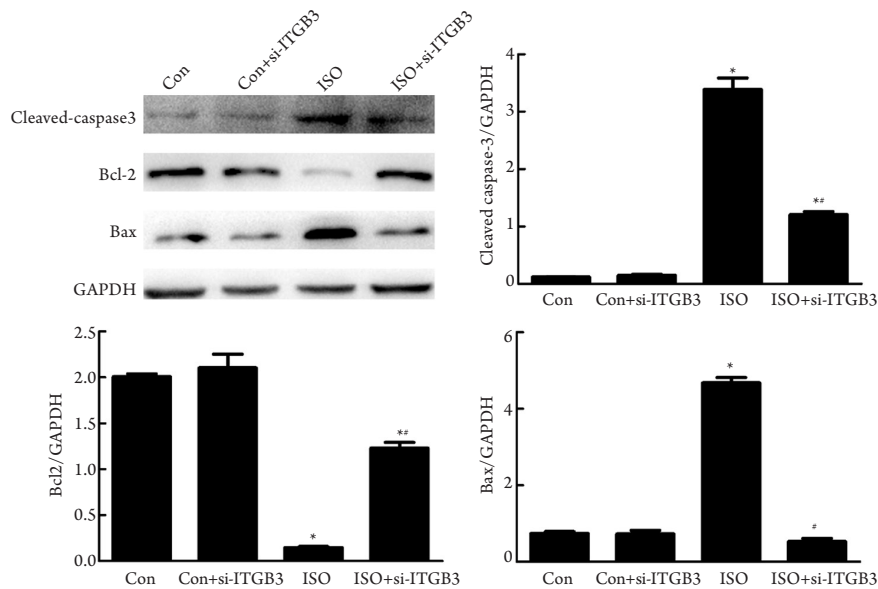


图4 蛋白质印迹法检测凋亡相关蛋白表达

Figure 4 Apoptosis related protein expression were assayed by Western blot

与Con组相比, * $P < 0.05$; 与ISO组相比, * $P < 0.05$ 。

Compared with the Con group, * $P < 0.05$; Compared with the ISO group, * $P < 0.05$.

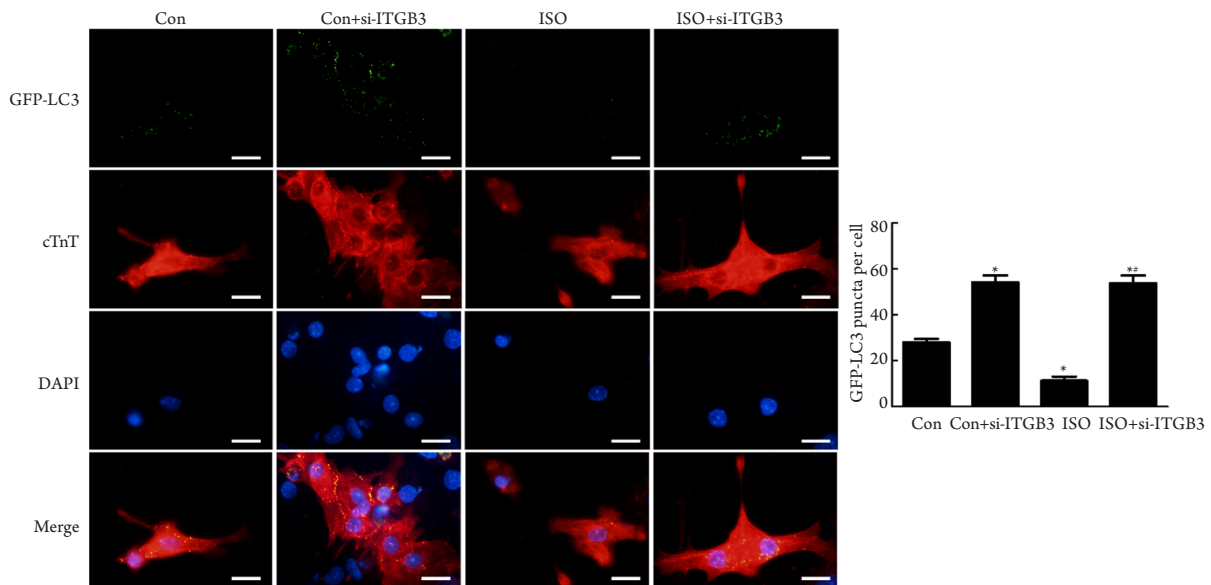


图5 免疫荧光检测GFP-LC3表达($\times 40$, $n=10$)

Figure 5 Immunofluorescence detection of GFP-LC3 expression ($\times 40$, $n=10$)

与Con组相比, * $P < 0.05$; 与ISO组相比, * $P < 0.05$ 。

Compared with the Con group, * $P < 0.05$; Compared with the ISO group, * $P < 0.05$.

蛋白质印迹实验结果显示: ISO组心肌细胞自噬相关蛋白Beclin1表达量, LC3-II/LC3-I比例较Con组下降($P < 0.05$), p62的表达量较Con

组增加。siRNA-ITGB3干预后, 相比于ISO组, ISO+si-ITGB3组心肌细胞p62降低, 而Beclin1和LC3-II/LC3-I表达量增加(图6)。

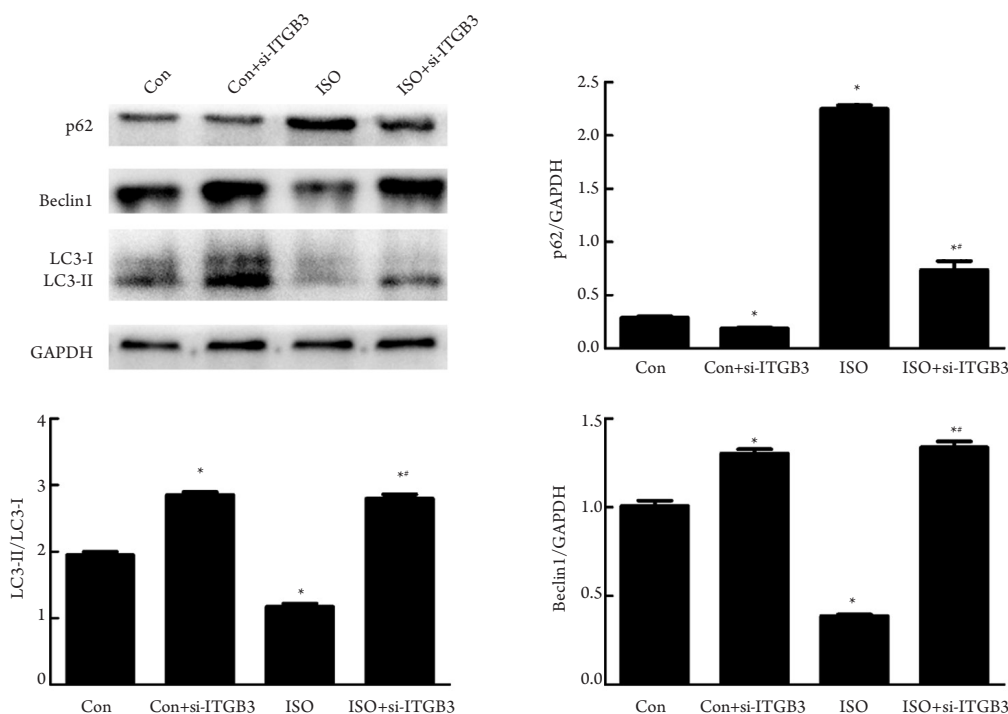


图6 蛋白质印迹法检测自噬相关蛋白质表达

Figure 6 Autophagy related protein expression were assayed by Western blot

与Con组相比, * $P < 0.05$; 与ISO组相比, * $P < 0.05$ 。

Compared with the Con group, * $P < 0.05$; Compared with the ISO group, * $P < 0.05$.

3 讨论

成体心脏作为一个终末分化器官, 其心肌细胞通常缺乏再生增殖潜能, 因而无法修复心肌细胞的变性坏死。目前对于心肌损伤的治疗手段包括基础治疗、药物治疗、介入治疗与手术治疗。这些治疗措施可去优化心血管血液动力学及心肌的重构, 但它们并不能解决心肌损伤的核心问题: 心肌细胞功能丧失^[6]。如何使受损的心肌细胞再生, 一直是心血管研究领域的热点与难点。作为心脏肾上腺受体主要亚型, β -AR的表达变化与心血管疾病, 如心力衰竭、心率失常、高血压等的发生、发展与防治密切相关^[7]。持久性的激活 β -AR将会诱发心肌细胞损伤与凋亡, 导致心肌重塑、进而降低心肌收缩及舒张功能^[8]。本研究同样证实了持久兴奋 β -AR诱发心肌细胞损伤及凋亡, 表现为ISO刺激12 h后, 原代乳鼠心肌细胞活力下降, 并随刺激时间的延长, 其细胞相对活性下降程度增加, 且在ISO刺激72 h后, 相比于对照组, 心肌细胞凋亡比例增加, 并伴随促凋亡蛋白cleaved-caspase-3和Bax的升高, 抗凋亡蛋白Bcl-2的

下降。

细胞黏附是细胞最基本的生命活动, 在细胞增殖、维持活性、分化和迁移中具有关键作用。细胞黏附的结构存在于几乎所有的多细胞生物体内的细胞中, 且细胞黏附的结构不是永恒不变的, 是动态变化的。当细胞黏附发生异常, 就会出现严重的病理变化, 包括增殖、转移和凋亡等^[9]。整合素(Integrin)作为细胞外基质的主要构成成分, 表达于细胞表面, 起到调控细胞黏附、增殖、凋亡和分化等作用^[10]。ITGB3是Integrin受体家族的一类亚型, 通过时间和空间上的差异性表达, 影响细胞增殖分化, 进而实现对器官形成的调控作用^[11]。目前ITGB3已被证实参与缺氧诱导的心肌细胞凋亡, 但关于ITGB3与 β -AR诱发心肌细胞损伤及凋亡之前的关系尚不清楚。本研究发现ISO组ITGB3表达较Con组增加, 提示ITGB3参与 β -AR诱发心肌细胞损伤及凋亡。为进一步验证ITGB3在持久兴奋 β -AR诱发心肌细胞损伤及凋亡中的具体作用, 笔者团队使用siRNA-ITGB3下调ITGB3表达, 结果显示: 用siRNA-ITGB3下调ITGB3表达

后, 能够抑制ISO诱导的心肌细胞凋亡和损伤, 下调凋亡蛋白cleaved-caspase-3和Bax, 上调抗凋亡蛋白Bcl-2表达。

细胞自噬与凋亡的相互作用在心血管疾病的发生和防治过程中均起关键的调节作用。研究^[12]表明: 在营养剥夺或去除生长因子的条件下, 自噬能够通过抑制细胞凋亡, 进而促进细胞存活。而且在心肌梗死的条件下, 促进自噬水平可以保护心肌细胞功能^[13]。但 β -AR激活是否抑制自噬, ITGB3是否通过促进自噬水平进而抑制 β -AR诱导的心肌细胞损伤与凋亡的机制仍然不清楚。自噬相关蛋白p62的水平与自噬水平呈负相关, 自噬水平下降可引起p62聚集。而LC3和Beclin1作为自噬过程中的关键蛋白质, 与细胞自噬水平呈正相关。因此常用p62表达水平与LC3及Beclin1结合起来作为评价细胞自噬强度高低的指标。在本研究中, 我们发现ISO刺激后, ITGB3上调, 心肌细胞GFPP-LC3表达增加, 自噬相关蛋白Beclin1和LC3-II/LC3-I降低, p62增加, 提示 β -AR激活抑制了细胞自噬。但是抑制ITGB3后, 相比于ISO组, ISO+si-ITGB3组心肌细胞GFPP-LC3表达降低, Beclin1和LC3-II/LC3-I增加, p62降低, 提示抑制ITGB3能增强自噬水平。本研究仍存在不足之处, 有关ITGB3是否与其他类型的整合素受体之间存在相互作用, ISO是如何通过ITGB3受体途径发挥作用, 以及本研究离体相关结果与在体实验结果是否一致均有待进一步研究。

综上, β -AR激动剂ISO长时间激活 β -AR促进ITGB3表达, 抑制细胞自噬, 增加心肌细胞损伤与凋亡, 下调ITGB3表达能够促进细胞自噬, 进而部分抑制ISO诱导的心肌细胞损伤与凋亡。

参考文献

- Members WG, Mozaffarian D, Benjamin EJ, et al. Executive summary: heart disease and stroke statistics--2016 update: a report from the American Heart Association[J]. *Circulation*, 2016, 127(1): 143-152.
- Taylor CJ, Ordóñez-Mena JM, Roalfe AK, et al. Trends in survival after a diagnosis of heart failure in the United Kingdom 2000-2017: population based cohort study[J]. *BMJ*, 2019, 364: l223.
- Zaugg M, Xu W, Lucchinetti E, et al. Beta-adrenergic receptor subtypes differentially affect apoptosis in adult rat ventricular myocytes[J]. *Circulation*, 2000, 102(3): 344-350.
- Ruwald AC, Gislason GH, Vinther M, et al. Importance of beta-blocker dose in prevention of ventricular tachyarrhythmias, heart failure hospitalizations, and death in primary prevention implantable cardioverter-defibrillator recipients: a Danish nationwide cohort study[J]. *Europace*, 2018, 20(FI2): f217-f224.
- Yifan S, Hua T, Lijiang W, et al. Integrin β 3 inhibits hypoxia-induced apoptosis in cardiomyocytes[J]. *Acta Biochim Biophys Sin*, 2018, 50(7): 658-665.
- Broughton KM, Wang BJ, Firouzi F, et al. Mechanisms of cardiac repair and regeneration[J]. *Circ Res*, 2018, 122(8): 1151.
- 郑恒, 钱家庆. 肾上腺素受体信号转导通路对心功能的调节及机制[J]. *国外医学·生理、病理科学与临床分册*, 2000, 4: 303-305.
ZHENG Heng, QIAN Jiaqing. Regulation and mechanism of adrenergic receptor signaling pathway on cardiac function[J]. *Foreign Medical Sciences · Section of Pathophysiology and Clinical Medicine*, 2000, 4: 303-305.
- 周昌清, 倪黎, 关红菁, 等. β 1-AR持久兴奋通过CaMKII δ -内质网应激凋亡通路导致心力衰竭的机制[J]. *中国分子心脏病学杂志*, 2008, 8(6): 319-327.
ZHOU Changqing, NI Li, GUAN Hongjing, et al. The cardiac apoptotic effects on sustained β 1-adrenergic stimulation are associated with CaMKII δ -ERS apoptosis pathway[J]. *Molecular Cardiology of China*, 2008, 8(6): 319-327.
- Steinbacher T, Ebnet K. The regulation of junctional actin dynamics by cell adhesion receptors[J]. *Histochem Cell Biol*, 2018, 150(4): 341-350.
- Seetharaman S, Etienne-Manneville S. Integrin diversity brings specificity in mechanotransduction[J]. *Biol Cell*, 2018, 110(3): 49-64.
- Merna N, Fung KM, Wang JJ, et al. Differential β 3 integrin expression regulates the response of human lung and cardiac fibroblasts to extracellular matrix and its components[J]. *Tissue Eng Part A*, 2015, 21(15/16): 2195-2205.
- He C, Zhu H, Li H, et al. Dissociation of bcl-2-beclin1 complex by activated AMPK enhances cardiac autophagy and protects against cardiomyocyte apoptosis in diabetes[J]. *Diabetes*, 2013, 62(4): 1270-1281.
- Wang X, Guo Z, Ding Z, et al. Inflammation, autophagy, and apoptosis after myocardial infarction[J]. *J Am Heart Assoc*, 2018, 7(9): e008024.

本文引用: 张海波, 李运丽, 艾景雪, 王亚丹, 王芳芳. 整合素 β 3在异丙肾上腺素诱导的心肌细胞损伤与凋亡中的作用[J]. *临床与病理杂志*, 2020, 40(8): 1927-1934. doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2020.08.001

Cite this article as: ZHANG Haibo, LI Yunli, AI Jingxue, WANG Yadan, WANG Fangfang. Role of integrin β 3 in isoproterenol induced injury and apoptosis in cardiomyocytes[J]. *Journal of Clinical and Pathological Research*, 2020, 40(8): 1927-1934. doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2020.08.001