

电针内关穴对心肌肥厚大鼠 Raf、ERK1/2 及 p-ERK 1/2 表达的影响

李 佳¹ 吴 松¹ 唐宏图¹ 朱广为²

摘要 **目的** 观察电针内关穴对心肌肥厚大鼠缺血心肌原癌基因丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶-1(proto-oncogene serine/threonine-protein kinase-1, Raf-1)、细胞外信号调节激酶 1/2(extracellular signal regulated kinase 1/2, ERK 1/2)和磷酸化细胞外信号调节激酶 1/2(phospho-extracellular signal-regulated kinase 1/2, p-ERK 1/2)蛋白表达的影响。**方法** 清洁级健康 SD 大鼠 40 只按随机数字表法分为正常组、模型组、对照组和电针组,每组 10 只,除正常组正常饲养外,其余三组采用颈背部皮下注射盐酸异丙肾上腺素[isoprinosine hydrochloride, ISO, 3 mg/(kg·d)]制备大鼠左心室心肌肥厚模型,共 14 天。电针组每天注射 ISO 后取“内关”穴治疗,采用连续波,频率 2 Hz,强度 1 mA,通电 20 min,1 次/天,共 14 天。对照组选取非穴位,内关穴外侧旁开 5 mm,干预方法与电针组相同。干预结束后观察大鼠心电图并称重,麻醉后开胸摘取心脏并称重,然后分离左心室称重,并计算左心室质量指数(left ventricular weight index, LVWI)和全心质量指数(heart weight index, HWI);免疫印迹法检测左心室心肌组织 Raf-1、p-ERK 1/2 及 ERK 1/2 蛋白含量。**结果** 与正常组比较,模型组 ST 段抬高幅度、HWI、LVWI、心肌组织 Raf-1 及 p-ERK 1/2 蛋白表达升高($P < 0.01$)。与模型组及对照组比较,电针组 ST 段抬高幅度、HWI、LVWI、Raf-1 及 p-ERK 1/2 蛋白表达降低($P < 0.05$)。**结论** 电针能有效调节心肌肥厚大鼠心肌缺血状况,降低心肌肥厚大鼠心脏指数、Raf-1 及 p-ERK 1/2 蛋白含量,可能是电针通过调节 Raf/MEK/ERK 改善心肌肥厚的信号调节机制之一。

关键词 心肌肥厚;电针;内关穴;原癌基因丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶/丝裂原活化蛋白激酶/细胞外信号调节激酶

Effects of Electroacupuncture at Neiguan (PC6) on Protein Expressions of Raf-1, ERK 1/2, and p-ERK 1/2 of Rats with Myocardial Hypertrophy LI Jia¹, WU Song¹, TANG Hong-tu¹, and ZHU Guang-wei² 1 College of Acupuncture and Orthopedics, Hubei University of Chinese Medicine; Hubei Provincial Cooperative Innovative Center of Preventive Treatment by Acupuncture and Moxibustion, Wuhan (430061); 2 Department of Rehabilitation, Ezhou Hospital of Traditional Chinese Medicine, Hubei (436000)

ABSTRACT **Objective** To observe the effects of electroacupuncture (EA) at Neiguan (PC6) on protein expressions of proto-oncogene serine/threonine-protein kinase-1 (Raf-1), phospho-extracellular signal-regulated kinase 1/2 (p-ERK 1/2), and extracellular signal-regulated kinase 1/2 (ERK 1/2) in rats with myocardial hypertrophy. **Methods** Totally 40 healthy Sprague-Dawley (SD) rats of clean grade were divided into 4 groups according to random digit table, i.e., the normal group, the model group, the electroacupuncture (EA) group, the sham-EA group, 10 in each group. Rats in the normal group were fed with regular forage. Left ventricular myocardial hypertrophy model was established in rats of the rest 3 groups by subcutaneously injecting isoprinosine hydrochloride (ISO) (at the daily dose of 3 mg/kg) from the nape for a total of 14 days. Rats in the EA group were needed at Neiguan (PC6) using continuous wave (2 Hz, 1

基金项目:国家自然科学基金资助项目(No. 81403460);湖北中医药大学校级课题(No. 2013-144;No. XJ2014KJ003)

作者单位:1.湖北中医药大学针灸骨伤学院/针灸治未病湖北省协同创新中心(武汉 430061);2.湖北省鄂州市鄂州中医院康复科(湖北 436000)

通讯作者:朱广为, Tel: 027-68889112, E-mail: 543049619@qq.com

DOI: 10.7661/CJIM.2016.11.1335

mA, 20-min switching, once per day for 14 days). Rats in the sham-EA group were needled at non-acupoints [5 mm from Neiguan (PC6)] in the same intervention method as the EA group. After intervention ECG was observed and body weight weighed in all rats. Their hearts were removed by open heart surgery and weighed after anesthesia, and then left ventricle were separated and weighed. At last heart weight index (HWI) and left ventricular weight index (LVWI) were calculated. Protein contents of Raf-1, p-ERK 1/2, and ERK 1/2 in left ventricular myocardial tissue were detected by Western blot. Results Compared with the normal group, elevated ST-segment amplitude, HWI, LVWI, protein expressions of Raf-1 and p-ERK 1/2 were significantly higher in the model group with statistical significance ($P < 0.01$). Compared with the model group and the sham-EA group, elevated ST-segment amplitude, HWI, LVWI, protein expressions of Raf-1 and p-ERK 1/2 were significantly lower in the EA group with statistical significance ($P < 0.05$). Conclusion EA could effectively regulate myocardial ischemia in myocardial hypertrophy rats, reduce heart index, and lower protein expressions of Raf-1 and p-ERK 1/2, which might be one of signal regulating mechanisms for EA improving myocardial hypertrophy through Raf/MEK/ERK pathways.

KEYWORDS myocardial hypertrophy; electroacupuncture; Neiguan (PC6); proto-oncogene serine/threonine-protein kinase/mitogen-activated protein kinase kinase/extracellular signal-regulated kinase

心血管疾病是当今人类高致死率的三大疾病之一,其中心肌肥厚是心血管疾病的常见类型,严重威胁人类健康。心脏作为高血压直接损伤的重要靶器官之一,最为显著的特征性病理变化是心肌肥厚,以左心室变化最为显著^[1]。持续的左室肥厚则可导致冠心病、充血性心衰、卒中、猝死等,易造成患者死亡或猝死^[2],是多种心血管事件的独立危险因素^[3]。原癌基因丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶/丝裂原活化蛋白激酶/细胞外信号调节激酶(proto-oncogene serine/threonine-protein kinase/mitogen-activated protein kinase kinase/extracellular signal-regulated kinase, Raf/MEK/ERK)信号级联通路是近年来研究最为活跃的细胞信号转导通路之一,它可将细胞外的信号传递入细胞核内,参与了细胞生长、发育、增殖、分化以及细胞间的功能同步和细胞恶性转化等多种生理、病理过程^[4]。

针灸可以调节血压和心肌收缩功能,减少能量损失,从而改善心绞痛、心悸,有效调节心肌肥厚^[5]。王华教授课题组做了大量实验研究,从心肌细胞病理结构^[6, 7]、心脏电生理^[6, 8]、脂质代谢和能量代谢^[9, 10]、神经生理机制^[6, 11, 12]、肾素-血管紧张素系统^[13, 14]等角度发现内关穴可明显降低缺血心肌的损伤程度,其作用机制可能是通过大脑中枢区域核团(弓状核、中脑导水管腹外侧区灰质和延髓头端腹外侧区)调节 NO、NOS、 β -内啡肽等递质的分泌,促进内皮素/降钙素基因相关肽的平衡,对心脏电生理、细胞病理结构、脂质代谢以及能量代谢等方面有着良好的预防保护和治疗作用^[15]。但其信号通路机制仍不明,电针对心肌肥厚大鼠心肌细胞 Raf/MEK/ERK 通路蛋白表达的

调控作用,目前尚未见相关报道。本研究从心肌肥厚大鼠心肌组织 Raf-1 和磷酸化细胞外信号调节激酶 1/2 (phospho-extracellular signal-regulated kinase 1/2, p-ERK 1/2) 蛋白的表达变化入手,进一步探讨电针对心肌肥厚大鼠信号通路调控作用的可能机制。

材料与方法

1 动物 清洁级 3 月龄 SD 大鼠 40 只(雌雄各半),体重(177 ± 8.3)g,华中科技大学同济医学院实验动物中心提供,生产合格证号: SCXK (鄂) 2004-0007。动物喂养在湖北中医药大学针灸研究所实验室完成,环境温度 $21 \sim 25$ °C,湿度 40% ~ 60%。光照时间每日 12 h,大鼠可自由取食饮水。本实验严格按照科技部[2006]398 号《关于善待实验动物的指导性意见》^[16]要求进行实验。

2 药物 盐酸异丙肾上腺素(isoprenaline, ISO)注射液,2 mL:1 mg,上海禾丰制药有限公司,批号:080901。

3 试剂及仪器 Raf-1、p-ERK 1/2 和 ERK 1/2 抗体:美国 Santa Cruz 公司,批号分别为 sc-133, sc-81492 和 sc-135900。GAPDH 抗体:美国 Sigma 公司,批号为 G9295。十二烷基硫酸钠聚丙烯酰胺凝胶电泳(sodium dodecyl sulfate polyarylamide gel electrophoresis, SDS-PAGE)凝胶配制试剂盒(上海碧云天生物技术有限公司);HANS-200 型电针治疗仪(北京华运安科技有限责任公司);0.30 mm × 15 mm 华佗牌毫针(苏州医疗器械厂);DYCP-31A 型电泳仪(北京六一仪器厂);DY-III 型电

泳槽(北京六一仪器厂);显微镜 Microm DM2500 型(德国 Leica 公司);凝胶成像系统 Image Quant LAS4000 型(德国 GE 公司)。

4 动物分组、造模及干预方法 大鼠按随机数字表法分为正常组、模型组、对照组及电针组,每组 10 只,正常组颈背部皮下注射 0.9% 氯化钠溶液 14 日,其余三组参照 Yin W 等^[17]方法,以 ISO 3 mg/(kg·d)颈背部皮下注射 14 日制备心肌肥厚模型。以心电图 ST 段形态改变^[18]作为成模标准。分别在造模前和造模结束后检测大鼠心电图,发现 ST-T 振幅均增大,提示造模成功;电针组于造模的同时予以针刺,为便于操作时固定针刺,电针组大鼠穿自制鼠衣,参照中国针灸学会实验针灸研究会制定的“实验动物针灸穴位图谱”取“内关”穴:位于大鼠腕横纹正中上 5 mm 处,毫针刺双侧穴位,深度约 5 mm,接电针治疗仪,输出导线两端连接左右穴处两根针灸针,选用连续波,频率 2 Hz,强度为 1 mA,通电 20 min,1 次/日,连续 14 日。对照组选取“内关”穴外侧旁开 5 mm 的非穴位点,干预方法同电针组。

5 检测指标及方法

5.1 心电图检测 干预结束后大鼠腹腔麻醉,将针形电极插入大鼠四肢皮下,用 BL-420 生理机能实验系统,记录标准 II 导联心电图,每次取 10 个心动周期的 ST 段电位值,计算其均值作为测量心肌肥厚程度及恢复程度的指标。

5.2 心脏指数测定 心电图记录完成后称取体质量,开胸摘取心脏去掉心脏旁缀(去除大血管、脂肪组织等),培养皿盛放,用 4℃ 生理盐水冲洗,滤纸吸干,分离左、右心室,用天平称全心湿质量(heart mass, HM)和左室湿质量(left ventricular mass, LVM, 包括室间隔),并计算左心室质量指数(left ventricular weight index, LVWI)和全心质量指数(heart weight index, HWI)。

5.3 Raf-1、p-ERK 1/2 和 ERK1/2 蛋白检测 心脏指数测定后将左心室放置液氮内充分研磨,以 100 mg 组织加入 1 mL 蛋白裂解液(radio-immunoprecipitation assay, RIPA)和 100 μL PMSF 标准液进行超声匀浆裂解,将匀浆后收集的蛋白样品按 1:4 的比例加入 5×SDS 蛋白上样缓冲液混匀,沸水浴加热 10 min 使蛋白充分变性。离心后取上清液,蛋白上样液经 15% 浓缩胶和 10% 分离胶电泳后,切取所需条带转膜、封闭,Raf-1、p-ERK 1/2 和 ERK 1/2 一抗及二抗孵育均参照说明书操作,冷 CCD 凝胶成像系统中拍摄扫描图片,Gel-ProAnalyzer 4 软件分析条带灰度值。

6 统计学方法 数据运用 SPSS 18.0 统计软件进行处理,计量资料均采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较运用单因素方差分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1 各组大鼠 ST 段振幅、HWI 及 LVWI 比较(表 1) 与正常组比较,模型组 ST 段抬高幅度、HWI 及 LVWI 升高($P < 0.01$)。与模型组及对照组比较,电针组 ST 段抬高幅度、HWI 及 LVWI 降低($P < 0.05$)。

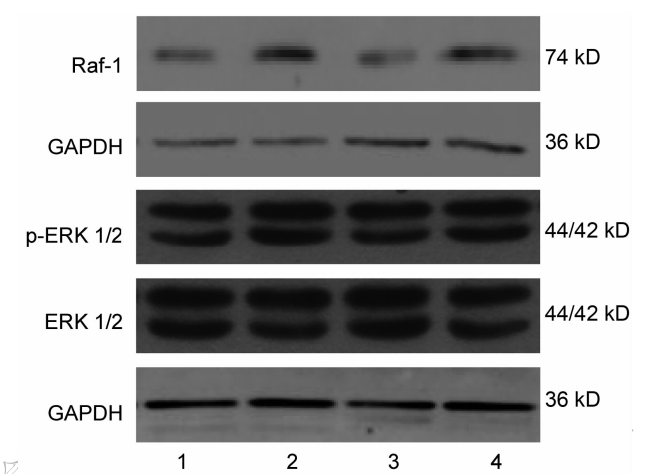
表 1 各组大鼠 ST 段振幅、HWI 及 LVWI 比较 ($\bar{x} \pm s$)				
组别	n	ST 段抬高幅度 (mV)	HWI (mg/g)	LVWI (mg/g)
正常	10	0.060 ± 0.007 *	2.90 ± 0.18 *	2.07 ± 0.12 *
模型	10	0.124 ± 0.022	4.35 ± 0.36	3.16 ± 0.25
对照	10	0.121 ± 0.008	4.28 ± 0.24	3.22 ± 0.28
电针	10	0.101 ± 0.012 *△	4.10 ± 0.21 *△	2.89 ± 0.35 *△

注:与模型组比较, * $P < 0.01$;与对照组比较, △ $P < 0.05$

2 各组大鼠心肌组织 Raf-1、p-ERK 1/2 及 ERK 1/2 蛋白表达比较(表 2,图 1) 与正常组比较,模型组大鼠心肌组织 Raf-1 和 p-ERK 1/2 蛋白表达升高($P < 0.01$)。与模型组及对照组比较,电针组 Raf-1 和 p-ERK 1/2 蛋白表达降低($P < 0.05$)。

表 2 各组大鼠心肌组织 Raf-1、p-ERK 1/2 及 ERK 1/2 蛋白相对表达比较 ($\bar{x} \pm s$)				
组别	n	Raf-1	p-ERK 1/2	ERK 1/2
正常	10	100.0 ± 15.4 *	100.0 ± 15.6 *	100.0 ± 3.4 *
模型	10	183.7 ± 22.4	174.7 ± 20.2	100.0 ± 2.8
对照	10	190.9 ± 19.0 *	170.6 ± 18.8	100.0 ± 3.5
电针	10	150.5 ± 21.5 △	141.8 ± 18.4 *△	100.0 ± 2.6 *

注:与模型组比较, * $P < 0.01$;与对照组比较, △ $P < 0.05$



注:1 为正常组;2 为模型组;3 为对照组;4 为电针组

图 1 各组大鼠心肌组织 Raf-1、p-ERK 1/2 及 ERK 1/2 蛋白表达

讨 论

作为 β_1 受体激动剂, ISO 对心肌的正性变力和变时作用可使心肌收缩力增强, 心率加快, 增加心脏传导系统的传导速度, 缩短窦房结的不应期, 继而导致心肌细胞肥大。大剂量 ISO 所致大鼠急性心肌损伤模型是抗心肌肥厚损伤实验常用的动物模型。实验所采用的外源性异丙肾上腺素诱导心肌产生不可逆的缺血性损伤模型是研究抗心肌缺血药物疗效的经典模型之一, 其机制与心肌钙超载、脂质过氧化损伤有关。心电图标准导联 II 的 ST 段 (ST II) 的抬高程度作为衡量心肌缺血程度的指标, 正常情况下 II 导联 ST 段常略有抬高, 但一般不超过 0.1 mV。实验结果表明: 大鼠于造模 14 天后心电图 ST 段较造模前明显抬高 ($P < 0.05$)。本实验使用 ISO 诱导成功建立大鼠心肌肥厚模型^[19], 通过心电图 ST 段分析心肌缺血水平, 以 HWI 和 LVWI 评价心肌肥厚状况, 采用免疫印迹法检测大鼠模型心肌组织 Raf-1 与 p-ERK 1/2 蛋白表达, 分析心肌肥厚与 Raf/MEK/ERK 信号通路的联系, 以探讨针刺在逆转心肌肥厚方面可能存在的机制。

ERK 信号转导系统表达广泛, 该蛋白的激活是通过其磷酸化, 只有磷酸化的 ERK 才具有活性, 涉及调节细胞的许多生物学行为, 包括细胞增殖、分化、细胞周期变化和凋亡等^[20]。ERK 接受上游的级联反应信号磷酸化成 p-ERK, 并转至细胞核内, 调节核内某些转录因子的活性。该通路经典的基本信号传递步骤是: Raf-MEK-ERK^[21], 由小 G 蛋白引起 Ras 依赖的 Raf/ERK 信号转导途径。Raf 属于 MEK 家族成员, 有 3 种同工酶: Raf-1、A-Raf 和 B-Raf。其中 Raf-1 是功能最多的激酶, 在哺乳动物广泛表达, 活性受其多位点磷酸化影响^[22], 被认为是 ERK 激活的关键性蛋白激酶, 其活性受其多位点磷酸化的调节。因此, Raf-1 在 ERK 信号通路中起着较为关键的蛋白激酶活性调节作用。

现代研究发现, ERK 信号通路参与缺血预处理的调节作用^[23-25]; ERK 是与细胞增殖密切相关的激酶反应链 Raf/MEK/ERK 中的终级信号物质。国外曾报道在成纤维细胞系, 刺激细胞发现 ERK 从细胞浆转位至细胞核内^[26], 推测心肌细胞受刺激后, ERK 发生核转位, 并且 ERK 的入核可能参与激活 c-fos 等原癌基因表达而导致心肌细胞肥大; 报道已证明, 在慢性压力负荷导致左心肥大以及心力衰竭的实验中, 左心肥大时 ERK 活性明显升高, 与细胞生存和增生有关^[27]。可见, 阻断 Raf/MEK/ERK 信号通路成为调节

心肌肥厚的关键机制之一。

中医学无心肌肥厚病名, 根据其发病特征及临床表现, 一般将其归属于“胸痹”、“厥心痛”、“真心痛”、“心痹”等范畴。内关穴是手厥阴心包经的络穴、阴维脉之交会穴, 通任脉, 具有宁心安神、活血通络之功效, 长期以来是治疗心胸疾病的经典穴和首选穴。内关穴主治心痛、心悸、胸闷、失眠、郁证、癫狂、痫证等^[28]。《灵枢·邪客》指出:“心者, 五脏六腑之大主, 邪弗能客, 故诸邪之在予心者, 皆在于心之包络。包络者, 心主之脉也”^[29]。《灵枢·经别》曰:“手心主之别, 名曰内关, 去腕二寸, 出于两经之间, 循经以上系于心包络、心系, 实者心痛, 虚者为头强, 取之两经之间”^[29]。以上论述为内关防治心脏相关疾病提供了经络学理论依据。

本实验研究结果提示: 本实验观察各组大鼠心电图发现, 模型组 ST 段抬高幅度明显, HWI 和 LVWI 值明显升高, 表明皮下注射 ISO 造成大鼠心肌细胞肥厚损伤。电针组能够降低 ST 段水平, 降低心肌肥厚指数, 从而改善心肌肥厚状况。与正常组比较, 模型组 Raf-1 和 p-ERK1/2 在心肌肥厚组织中表达明显增多, 提示 Raf/MEK/ERK 信号通路过度激活, 笔者推测有效抑制 Raf/MEK/ERK 信号通路激活可有效抑制心肌肥厚的发生。电针干预下肥厚心肌组织 Raf-1 和 p-ERK 1/2 表达减少, 提示电针内关穴能够阻断本信号通路激活, 这可能是其抗心肌肥厚的机制, 但其具体途径目前尚不清楚。综上所述, 电针内关穴抗心肌肥厚机制可能与抑制 Raf/MEK/ERK 信号通路激活有关, 具体机制仍需进一步研究。

参 考 文 献

- [1] Bajgelman MC, Dos Santos L, Silva GJ, et al. Preservation of cardiac function in left ventricle cardiac hypertrophy using an AAV vector, which provides VEGF-A expression in response to p53 [J]. Virology, 2015, 476: 106-114.
- [2] Bernardo BC, Weeks KL, Pretorius L, et al. Molecular distinction between physiological and pathological cardiac hypertrophy: Experimental findings and therapeutic strategies [J]. Pharmacol Ther, 2010, 128(1): 191-227.
- [3] Bacchus R, Singh K, Ogeer I, et al. The occurrence of left ventricular hypertrophy in normotensive individuals in a community setting in North-East Trinidad [J]. Vasc Health Risk Manage, 2011, 7: 327-332.
- [4] Zhang Z, Li S, Cui M, et al. Rosuvastatin en-

- hances the therapeutic efficacy of adipose-derived mesenchymal stem cells for myocardial infarction via PI3K/Akt and MEK/ERK pathways[J]. *Basic Res Cardiol*, 2013, 108(2): 333.
- [5] Zhong Y, Wang N. Traditional acupuncture and myocardial ischemia[J]. *Int J Cardiol*, 2014, 177(2): 635.
 - [6] 尤行宏,陈泽斌,王华,等.内阿片肽在“双固一通”针法保护缺血心肌中的作用[J]. *中国老年学杂志*, 2010, 12(30): 3686-3688.
 - [7] 洪亚群,王华.“双固一通”针法对甲亢性心肌病大鼠肥厚心肌病理组织学影响的研究[J]. *世界中西医结合杂志*, 2008, 3(6): 319-321.
 - [8] 王华,喻建兵,吴绪平,等.电针郄门穴对室性心动过速模型大鼠心率及血浆一氧化氮含量的影响[J]. *中医杂志*, 2010, 51(9): 814-816.
 - [9] 吴松,唐宏图,陈泽斌,等.“双固一通”针法对急性心肌缺血模型大鼠心肌组织过氧化物酶活性的影响[J]. *湖北中医杂志*, 2006, 28(10): 3-5.
 - [10] 洪亚群,王华.“双固一通”针法对甲亢性心肌病大鼠心肌 SOD、GSH-PX 活性和 MDA 含量的影响[J]. *湖北中医学院学报*, 2006, 8(2): 15-16.
 - [11] 尤行宏,王华,陈泽斌,等.延髓内阿片肽对电针抗心肌缺血效应的影响[J]. *现代中西医结合杂志*, 2009, 18(29): 3541-3544.
 - [12] 李明磊,王华,陈泽斌.电针内关穴对 AMI 大鼠自主神经与中枢 P 物质、一氧化氮合酶的影响[J]. *中华中医药杂志*, 2007, 22(8): 543-546.
 - [13] 王华,邓丽霞,吴绪平,等.电针“内关”对室性心动过速大鼠心率及血浆儿茶酚胺含量的影响[J]. *针刺研究*, 2009, 34(3): 180-182.
 - [14] 洪亚群,王华.“双固一通”针法对甲亢性心肌病大鼠 Ang II、ET 及 CGRP 的影响[J]. *中国康复*, 2008, 23(3): 150-151.
 - [15] Li J, Li J, Chen ZB, et al. The influence of Neiguan (PC6) on cardiovascular disorders: A review of central neural mechanisms[J]. *Acupunct Med*, 2012, 30(1): 47-50.
 - [16] 中华人民共和国科学技术部.关于发布《关于善待实验动物的指导性意见》的通知[OL]. http://www.most.gov.cn/fggw/zfwj/zfwj2006/200609/t20060930_54389.htm. 2006-09-30.
 - [17] Yin W, Zhang P, Huang JH, et al. Stimulation of κ -opioid receptor reduces isoprenaline-induced cardiac hypertrophy and fibrosis[J]. *Eur J Pharmacol*, 2009, 607(1-3): 135-142.
 - [18] Králová E, Mokráň T, Murin J, et al. Electrocardiography in two models of isoproterenol-induced left ventricular remodeling[J]. *Physiol Res*, 2008, 57(Suppl 2): S83-S89.
 - [19] Wright JW, Mizutain S, Harding JW. Pathways involved in the transition from hypertension to hypertrophy to heart failure[J]. *Heart Fail Rev*, 2008, 13(3): 367-375.
 - [20] Kamio N, Akifusa S, Yamagnchi N, et al. Induction of granulocyte colony-stimulating factor by globular adiponectin via the MEK-ERK pathway[J]. *Molec Cellul Endocrinol*, 2008, 292(1-2): 20-25.
 - [21] Manning G, Whyte DB, Martinez R, et al. The protein kinase complement of the human genome[J]. *Science*, 2002, 298(5600): 1912-1934.
 - [22] Liu L, Cao Y, Chen C, et al. Sorafenib blocks the RAF/MEK/ERK pathway, inhibits tumor angiogenesis, and induces tumor cell apoptosis in hepatocellular carcinoma model PLC/PRF/5[J]. *Cancer Res*, 2006, 66(24): 11851-11858.
 - [23] Alvarez-Jaimes L, Feliciano-Rivera M, Centeno-González M, et al. Contributions of the mitogen-activated protein kinase and protein kinase C cascades in spatial learning and memory mediated by the nucleus accumbens[J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2005, 314(3): 1144-1157.
 - [24] Kin H, Zhao ZQ, Sun HY, et al. Postconditioning attenuates myocardial ischemia-reperfusion injury by inhibiting events in the early minutes of reperfusion[J]. *Cardiovasc Res*, 2004, 62(1): 74-85.
 - [25] Sun HY, Wang NP, Kerendi F, et al. Hypoxic postconditioning reduces cardiomyocyte loss by inhibiting ROS generation and intracellular Ca^{2+} overload[J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2005, 288(4): H1900-1908.
 - [26] Lenormand P, Brondello JM, Brunet A, et al. Growth factor-induced p42/p44 MAPK nuclear translocation and retention requires both MAPK activation and neosynthesis of nuclear anchoring proteins[J]. *J Cell Biol*, 1998, 142(3): 625-633.
 - [27] 李莹洁,柏树令.慢性压力负荷所致心肌肥厚及心衰大鼠左心室肌 ERK 的动态变化[J]. *中国老年学杂志*, 2004, 24(6): 544-546.
 - [28] 王华主编.针灸学[M].北京:高等教育出版社, 2008:184.
 - [29] (唐)王冰撰注.灵枢经[M].北京:人民卫生出版社, 1956:25.

(收稿:2015-01-13 修回:2016-02-22)