

文章编号 1006-8147(2018)04-0307-05

论 著

HPV E6/E7 mRNA 与 YAP 在宫颈癌中的表达与相关性研究

李娜, 李洪林, 尹利荣

(天津医科大学第二医院妇科, 天津 300211)

摘要 目的:研究宫颈病变中 HPV E6/E7 mRNA 与 Yes 相关蛋白(YAP)的表达情况及临床意义,探讨两者之间的相关性。方法:应用支链 DNA(b-DNA)技术检测 36 例正常宫颈组织(正常组)、45 例宫颈上皮内瘤变(CIN) II-III 级(CIN 组)、43 例宫颈癌(宫颈组)的宫颈脱落细胞标本中 HPV E6/E7 mRNA 的表达情况,免疫组化方法(IHC)检测上述各组患者宫颈组织石蜡包埋标本中 YAP 的表达情况。结果:HPV E6/E7 mRNA 及 YAP 阳性表达率在正常组分别为 16.67%、11.11%,在 CIN 组分别为 82.22%、84.44%,在宫颈癌组分别为 88.37%、90.70%,3 组 HPV E6/E7 mRNA 及 YAP 阳性表达率均逐渐升高,且差异均具有统计学意义($P<0.05$)。YAP 在宫颈癌有淋巴结转移组中的表达明显高于无淋巴结转移组($P<0.05$),而与宫颈癌的临床分期、组织学分级及组织学类型无关($P>0.05$)。HPV E6/E7 mRNA 与 YAP 的表达呈正相关($r=0.383, P<0.05$)。结论:HPV E6/E7 mRNA 与 YAP 的检出率随病理级别的升高呈增强趋势,且两者具有相关性。因此,HPV E6/E7 mRNA 与 YAP 的联合检查,可以提高宫颈病变的诊断率并能够预测癌前病变的进展。

关键词 宫颈癌; HPV E6/E7 mRNA; YAP; 免疫组化; 支链 DNA 技术

中图分类号 R737.3

文献标志码 A

HPV E6/E7 mRNA and YAP expression and their correlation in cervical carcinoma

LI Na, LI Hong-lin, YIN Li-rong

(Department of Gynecology, The Second Hospital, Tianjin Medical University, Tianjin 300211, China)

Abstract Objective: To investigate the expression and clinical significance of human papillomavirus (HPV) E6/E7 mRNA and Yes-associated protein (YAP) in the cervical lesions, and to explore the correlation between them. **Methods:** Branched DNA (b-DNA) technology was used to detect the expression of HPV E6/E7 mRNA in 36 cases of normal cervical tissues (normal group), 45 cases of cervical intraepithelial neoplasia (CIN) II-III (CIN group), and 43 cases of cervical carcinoma (cervical carcinoma group). Immunohistochemistry(IHC) method was used to examine the expression of YAP in the paraffin embedded specimens of cervical tissue of the above groups. **Results:** The positive rates of HPV E6/E7 mRNA and YAP in normal group were 16.67% and 11.11%, 82.22% and 84.44% in CIN group, and 88.37% and 90.70% in cervical carcinoma group. The positive rates of HPV E6/E7 mRNA and YAP were all gradually increased in the three groups, and the difference among the three groups was statistically significant ($P<0.05$). In cervical carcinoma, the expression of YAP in node-positive cases is significantly higher than node-negative cases ($P<0.05$), whereas no relations to clinical stage, histological grade and histological types of cervical carcinoma were found ($P>0.05$). The expression of HPV E6/E7 mRNA and YAP was positively correlated($r=0.383, P<0.05$). **Conclusion:** The positive rate of HPV E6/E7 mRNA and YAP increased with the increase of pathological grade, and the expression of HPV E6/E7 mRNA and YAP was positively correlated. Therefore, the combination of HPV E6/E7 mRNA and YAP detection can improve the diagnostic rate for cervical lesions and predict the progression of precancerous lesions.

Key words cervical carcinoma; HPV E6/E7 mRNA; YAP; immunohistochemistry; branched DNA technology

宫颈癌是全球妇女最常见的恶性肿瘤之一,仅次于乳腺癌,居世界第二位,严重威胁妇女的生命健康^[1]。众所周知,宫颈癌由宫颈上皮内瘤变(cervical intraepithelial neoplasia, CIN)发展而来,宫颈癌的发生发展是一个漫长的过程,宫颈上皮内瘤变(CIN)即为宫颈癌前病变^[2],从 CIN 发展到宫颈癌

大约是 10 年的时间。早期宫颈癌患者 5 年治愈率高达 90%,因此, CIN 的早期诊断治疗对降低宫颈癌的发生率和死亡率至关重要。目前,宫颈癌的发病机制越来越受到国内外学者的关注,成为研究热点。大量研究表明,人乳头状瘤病毒(human papillomavirus, HPV)感染是宫颈癌发生的主要原因,特别是高危型 HPV 感染。高危型 HPV 的 E6、E7 蛋白在肿瘤的发生发展中起重要作用。超过 90%的

作者简介 李娜(1985-),女,主治医师,硕士在读,研究方向:妇科肿瘤;通信作者:尹利荣, E-mail: yinlirongfk@sina.com。

浸润性宫颈癌都能检测到 HPV 感染,甚至 95% 的癌前病变患者携带 HPV,HPV 感染是宫颈癌的主要致病因素,但只有很少病例最终发展到浸润性宫颈癌。因此,HPV 感染虽是细胞恶性转化的重要致病因素,但还有其它致病因素存在,才能最终发展到宫颈癌。近年来发现,Hippo 信号通路与肿瘤的发生密切相关,YAP 作为该通路重要的效应因子可以诱导细胞增殖并抑制凋亡。但目前在宫颈癌中关于 HPV 感染与 YAP 表达的相关研究报道较少,对于两者在宫颈癌的发生中是否存在协同作用尚不清楚,因此本文通过研究宫颈病变中 HPV E6/E7 mRNA 与 YAP 的表达情况,探讨两者在宫颈癌发生中的相关性。

1 资料与方法

1.1 一般资料 随机选取 2014 年 6 月-2015 年 6 月在我院妇科就诊后行手术治疗的患者 124 例,其中将行宫颈锥切病理诊断为 CINII-III 的 45 例患者归为 CIN 组,将病理诊断为宫颈癌并行广泛全子宫切除+盆腔淋巴结清扫术的 43 例患者归为宫颈癌组。按 WHO 组织病理学分类,其中鳞癌 29 例,腺癌 14 例;宫颈癌分期采用国际妇产科联盟(FIGO)2009 年的诊断标准,其中 I 期 25 例,II 期 18 例;按肿瘤分化程度进行分级:高分化 16 例,中分化 18 例,低分化 9 例;盆腔淋巴结转移情况:有转移 22 例,无转移 21 例。对照组 36 例选自同时间段在我院因子宫良性病变(子宫肌瘤以及腺肌症后行宫颈活检的病例)行子宫全切术的正常宫颈标本,术后经病理证实无宫颈病变。对照组年龄 26~56 岁,平均年龄为 (43.58 ± 8.476) 岁,中位年龄 45 岁;试验组年龄 18~72 岁,平均年龄 (46.65 ± 11.623) 岁,中位年龄 46 岁,两组年龄比较无统计学差异($P > 0.05$)。所有病例排除生殖道急性炎症,排除合并其他恶性肿瘤以及已行放化疗的宫颈癌组织标本,临床及病理资料完整。

1.2 试剂及仪器 宫颈稳态试剂盒及 96 孔检测板[科蒂亚(新乡)生物技术有限公司];Quanti Virus™ 台式冷光仪;恒温箱(型号 QS071);兔抗人 YAP 多克隆抗体(Santa Cruz Biotechnology);生物素标记的抗兔 IgG(二抗)(北京中杉金桥生物技术有限公司);SP 试剂盒和 DAB 酶底物显色试剂盒(北京中杉金桥生物技术有限公司)。

1.3 方法

1.3.1 HPV E6/E7 mRNA 的检测 (1)标本采集:使用液基细胞学 Autocyteprep 系统专用刷插入受检者子宫颈旋转 8~10 圈,收集宫颈口及颈管脱落上皮细胞,然后将刷头部放入装有 CytoRich 保存液的小

瓶内供 HPV E6/E7 mRNA 检测。(2)实验步骤:将液基细胞学标本放入离心管水平离心 2 次($3\,000\text{ r/min}$, 5 min),使标本同质化。加入 $600\text{ }\mu\text{L}$ 细胞裂解液和 $5\text{ }\mu\text{L}$ 蛋白酶 K,吹打混匀,放入 $65\text{ }^{\circ}\text{C}$ 恒温箱 1 h,中间取出标本管振荡 2~3 次,使细胞充分裂解,待测。按照宫颈稳态试剂盒说明书操作及配置相关溶液并布板,其中阳性对照液,空白对照液均做复孔。经过信号放大,加入标记荧光物质的底物后,在冷光仪上检测。检测结果为光子数,经计算软件转换为拷贝数。本研究以 mRNA 拷贝数 $\geq 1\text{ copy/mL}$ 为阳性。

1.3.2 YAP 的检测 通过预实验取最佳一抗工作浓度 1:200 进行试验,按常规步骤通过免疫组化 SP 法检测正常宫颈组织、宫颈上皮内瘤样病变和宫颈癌组织中 YAP 的表达情况。所有操作步骤依据产品说明书进行,二抗为生物素标记的抗兔 IgG,用二氨基联苯胺(DAB)显色,苏木精复染,常规脱水、透明、干燥、封片,显微镜下观察分析结果。已知阳性组织片做阳性对照,用 PBS 代替一抗作为阴性对照。每例常规进行 HE 染色。

1.4 结果判读 所有切片的观察均经 2~3 名病理科医生独立在光镜下完成。YAP 免疫组化染色结果判定:以胞浆和胞核中出现棕黄色颗粒或者棕褐色颗粒为阳性。每例均随机观察 5 个高倍视野($\times 400$),用半定量积分法判断结果,染色阳性细胞所占比例按以下标准计分:阳性细胞 $\leq 5\%$ 为 0 分,6%~25% 为 1 分,26%~50% 为 2 分,51%~75% 为 3 分, $> 75\%$ 为 4 分;染色强度计分以细胞显色反应程度计分:无着色 0 分,淡黄色为 1 分,棕黄色为 2 分,棕褐色为 3 分;最后将阳性细胞所占的百分比分值和染色强度分值相乘为结果:0~2 分为阴性,3 分及以上为阳性。

1.5 统计学方法 所有实验数据资料均采用 SPSS17.0 统计软件进行分析,应用 χ^2 检验分析 HPV E6/E7 mRNA 和 YAP 在不同宫颈组织中的表达情况,并分析 YAP 的表达与宫颈癌临床病理参数之间的关系,采用 Spearman 等级相关检验分析 HPV E6/E7 mRNA 与 YAP 的相关性,数据以检验水准 $\alpha = 0.05$, $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 不同宫颈组织中 HPV E6/E7 mRNA 的检出情况 HPV E6/E7 mRNA 的阳性检出率随着宫颈病变程度的升高而逐级升高(正常组 16.67%、CIN 组 82.22%、宫颈癌组 88.37%),3 组比较差异具有统计学意义($P < 0.001$)。正常组与 CIN 组、正常组与宫颈癌组组间差异具有统计学意义($P < 0.05$),CIN 组和

宫颈癌组,组间无明显差异($P>0.05$),见表 1。

2.2 不同宫颈组织中 YAP 的表达情况 免疫组化染色结果显示,YAP 表达以胞核为主,在胞质中部分表达。YAP 在正常组中的表达明显低于 CIN 组及宫颈癌组,3 组之间比较, $\chi^2=66.193$, $P<0.001$,差异具有统计学意义 ($P<0.001$)。再两两之间进行比较,发现正常组与宫颈癌组、正常组与 CIN 组两两比较差异具有统计学意义($P<0.05$),但 CIN 组与宫颈癌组之间比较无明显统计学意义($P>0.05$),见表 2、图 1。

表 1 各组 HPV E6/E7 mRNA 检出情况

Tab 1 The positive rate of HPV E6/E7 mRNA in each group

组别	例数	HPV E6/E7 mRNA 阳性例数	统计学处理		
			组间比较	χ^2	P
正常组①	36	6(16.67%)	①:②	34.512	<0.001
CIN 组②	45	37(82.22%)	②:③	0.661	0.416
宫颈癌组③	43	38(88.37%)	①:③	40.830	<0.001
χ^2		53.383*			

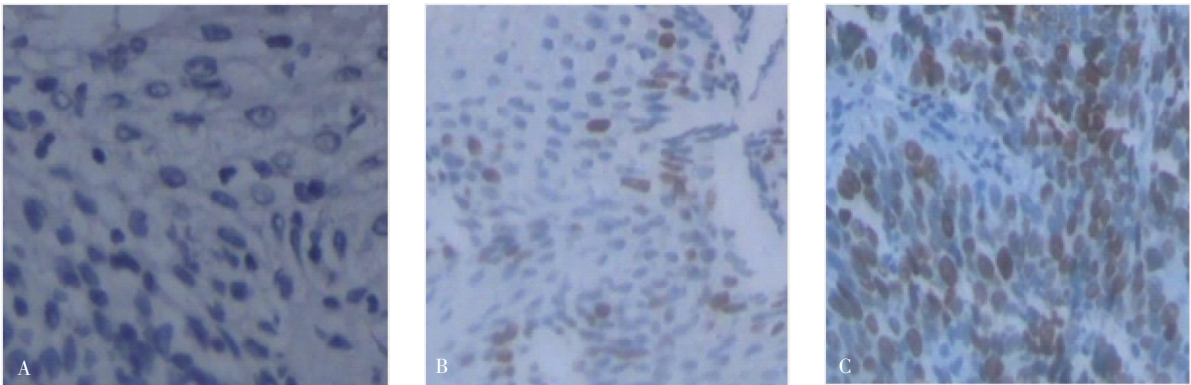
* $P<0.001$

表 2 各组 YAP 的表达情况

Tab 2 The expression of YAP in each group

组别	例数	YAP 阳性例数	统计学处理		
			组间比较	χ^2	P
正常组①	36	4(11.11%)	①:②	43.081	<0.001
CIN 组②	45	38(84.44%)	②:③	0.786	0.375
宫颈癌组③	43	39(90.70%)	①:③	50.039	<0.001
χ^2		66.193*			

* $P<0.001$



A.正常宫颈组织中未表达;B.CINII-III 中低表达,呈棕黄色;C.宫颈鳞癌中高表达,呈棕褐色

图 1 YAP 在正常宫颈、CINII-III、宫颈鳞癌组织中的表达(免疫组化法,×400)

Fig 1 Expression of YAP in normal cervical tissues, CINII-III and cervical squamous cell carcinoma(IHC,×400)

2.3 YAP 的表达与宫颈癌临床病理参数间的关系 在宫颈癌组织中,YAP 在有淋巴结转移组中的表达明显高于无淋巴结转移组($P<0.05$),而与宫颈癌的临床分期(I、II 期)、组织学分级以及组织学类型无相关性($P>0.05$),见表 3。

2.4 HPV E6/E7 mRNA 与 YAP 表达的相关性分析 经 Spearman 等级相关分析,宫颈癌组织 HPV E6/E7 mRNA 和 YAP 表达具有正相关性, $r=0.383$, $P=0.011$,见表 4。

表 3 YAP 的表达与宫颈癌临床病理参数的关系

Tab 3 The relationship between the expression of YAP and clinical pathological parameters of cervical carcinoma

临床病理参数	例数 /n	YAP		χ^2	P
		阳性例数/n	阳性率/%		
临床分期				0.034	0.628
I 期	25	22	88.00		
II 期	18	17	94.44		
组织学分级				0.981	0.664
低分化	9	9	100.00		
中分化	18	16	88.89		
高分化	16	14	87.50		
淋巴结转移				2.638	0.048
有	22	22	100.00		
无	21	17	80.95		
组织学类型				0.049	0.585
鳞癌	29	27	93.10		
腺癌	14	12	85.71		

表 4 HPV E6/E7 mRNA 与 YAP 在宫颈癌中表达的相关性

Tab 4 The correlation between the expression of HPV E6/E7 mRNA and YAP in cervial carcinoma

HPV E6/E7 mRNA	YAP		合计	r	P
	阴性(-)	阳性(+)			
阴性(-)	2	3	5		
阳性(+)	2	36	38	0.383	0.011
合计	4	39	43		

3 讨论

3.1 HPV E6/E7 与宫颈病变的关系 HPV 致癌的主要环节就是高危型 HPV16、18 编码的 E6、E7 致癌蛋白分别与抑癌基因 p53 和 pRb 结合,使 p53 通路和 Rb 通路失活,导致细胞周期调控异常,引起宫颈癌的发生。子宫颈的鳞状上皮和柱状上皮交界处是 HPV 的易感部位。HPV 感染宿主后,HPV DNA 与宿主染色体进行整合。HPV 与宿主细胞染色体的整合是宫颈细胞永生化过程中的重要步骤,是导致宫颈上皮内瘤变向宫颈癌恶性进展的一个重要标志^[3]。由于 E2 基因不稳定,HPV DNA 与宿主细胞的整合常引起 E2 基因的缺失,E6、E7 的转化作用受 E2 的调控,E2 片段缺失可导致 E6 和 E7 基因表达失控,通过干扰细胞周期调节和有丝分裂,引起细胞转化和癌变发生。本研究结果提示,随着宫颈病变级别的升高,HPV E6/E7 mRNA 的阳性检出率逐级升高,正常组、CIN 组、宫颈癌组比较,差异有统计学意义($P<0.05$),提示,HPV E6 /E7 mRNA 是宫颈癌发生发展的重要因素。因此,HPV E6 /E7 mRNA 的检测,对于及时发现、干预宫颈癌的发展、协助临床诊断、指导预后均具有重要的意义。

3.2 YAP 与宫颈病变的关系 Hippo 通路在通过抑制细胞增殖和促进凋亡来调控器官大小和肿瘤的发生中起着关键的作用。YAP 最初由 Sudol^[4]于 1994 年发现,是一种细胞内转录共激活因子和连接蛋白,参与调控细胞生长、增殖和凋亡。YAP 基因定位于染色体 11q22^[5],编码相对分子量约 65kda 富脯氨酸的磷蛋白,被认为是一种有效的致癌基因和 Hippo 信号通路的核效应器,通过增强转录因子的活性促进基因表达。YAP 在正常组织中表达很低,可维持细胞生长、分化、凋亡的稳态平衡。如果任一环节突变,恶化的细胞表达过量的 YAP,超过正常生理调控功能,导致 YAP 在胞质内异常聚集,并不断向核内转移,激活下游靶基因,有利于肿瘤的发展、恶化。大量研究表明,Hippo-YAP 信号转导通路与人类肿瘤发生发展关系密切^[6],许多肿瘤中染色体扩增区域都含有 YAP 基因,并且 YAP 在正常组织和恶性肿瘤中的表达存在明显差异,多数癌组织中的表达较对照组明显升高,并呈上升趋势。在胰腺癌^[7]、胃癌^[8]、肝癌^[9]及非小细胞肺癌^[10]中,YAP 表达量均明显高于正常组织,说明 YAP 在恶性肿瘤的发生、发展中发挥着重要的作用。Liu 等^[11]应用免疫组织化学方法检测 120 例鳞状细胞癌、42 例腺癌、22 例正常宫颈组织 YAP 的表达水平,并对细胞质与细胞核中 YAP 的表达单独分析,发现 YAP 在肿瘤中的表达水平明显高于正常组织。研究证明了 YAP 在宫颈癌的致癌潜能及其在鳞状细胞癌和腺癌中的独特功能。

本实验结果显示:YAP 在正常组、CIN 组以及宫颈癌组中的表达呈上升趋势,且差异具有显著性($P<0.05$),可以推断出 YAP 的表达可能参与了宫颈癌的发生过程,并且 YAP 有可能在宫颈癌的临床诊断中具有重要价值。本实验的结果和 YAP 在其他大部分肿瘤中的报道是一致的。在宫颈癌组织中,YAP 在有淋巴结转移组中的表达明显高于无淋巴结转移组 ($P<0.05$),而与宫颈癌的临床分期(I、II 期)、组织学分级以及组织学类型无相关性 ($P>0.05$),提示 YAP 在宫颈癌的浸润转移中起着重要的作用。YAP 可作为判断宫颈癌生长、浸润以及转移能力的指标,对肿瘤进展的辅助诊断以及预后评估是非常有帮助的,YAP 的表达越高,宫颈癌的恶性侵袭性越强、病情进展越快,说明了 YAP 的扩增、突变可能促进了宫颈癌的侵袭和转移。

3.3 HPV E6/E7 mRNA 与 YAP 的相关性 研究表明 YAP 与 HPV 都与 p53 家族相关联。P53 是一种应激激活的转录因子,防止基因受损细胞的增

殖。p53基因是一种调节细胞程序性死亡和细胞周期相关途径的关键调节因子,激活细胞周期检查点和促进细胞衰老,它已被认为是肿瘤抑制的主要参与者。p53损失或失活促使异常细胞克隆扩增,导致基因组不稳定。高危型HPV的癌蛋白E6和E7通过干扰p53途径实现宫颈细胞转化和永生。YAP通过调节p53活性来控制转录。已发现YAP与p73和p63通过WW结构域和PPPY结构相结合,p73和p63为p53肿瘤抑制家族的新成员。此外,Xiao等^[12]应用免疫组化的方法检测慢性炎症组、CIN组、宫颈癌组YAP的表达,用HPV基因检测试剂盒检测各组HPV的感染率,结果表明,YAP与HPV检测相结合,可以区别宫颈癌前病变和良性病变。

综上所述,本研究发现YAP可作为宫内上皮内瘤变和宫颈癌的预测标志物。联合检测HPV和YAP可以提高宫颈病变的诊断率,通过早期干预从而降低宫颈癌的患病率。

参考文献:

- [1] Parkin D M, Bray F, Ferlay J, et al. Estimating the world cancer burden: Globocan 2000[J]. *Int J Cancer*, 2001, 94(2):153
- [2] Martin-Hirsch P P, Paraskevaidis E, Bryant A, et al. Surgery for cervical intraepithelial neoplasia [J]. *Cochrane Database Syst Rev*, 2013, 12:CD001318
- [3] Melsheimer P, Vinokurova S, Wentzensen N, et al. DNA aneuploidy and integration of human papillomavirus type 16 E6/E7 oncogenes in Intraepithelial neoplasia and invasive squamous cell carcinoma of the cervix uteri[J]. *Clin Cancer Res*, 2004, 10(9):3059
- [4] Sudol M. Yes-associated protein (YAP65) is a proline-rich phosphoprotein that binds to the SH3 domain of the Yes proto-oncogene product[J]. *Oncogene*, 1994, 9(8):2145
- [5] Overholtzer M, Zhang J, Smolen G A, et al. Transforming properties of YAP, a candidate oncogene on the chromosome 11q22 amplicon[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2006, 103(33):12405
- [6] Zhao B, Lei QY, Guan KL. The Hippo-YAP pathway: new connections between regulation of organ size and cancer[J]. *Curr Opin Cell Biol*, 2008, 20(6):638
- [7] Guo J, Kleeff J, Zhao Y, et al. Yes-associated protein (YAP65) in relation to Smad7 expression in human pancreatic ductal adenocarcinoma[J]. *Int J Mol Med*, 2006, 17(5):761
- [8] Lam-Himlin D M, Daniels J A, Gayyed M F, et al. The hippo pathway in human upper gastrointestinal dysplasia and carcinoma: a novel oncogenic pathway[J]. *Int J Gastrointest Cancer*, 2006, 37(4):103
- [9] Zhao B, Wei X M, Li W Q, et al. Inactivation of YAP oncoprotein by the Hippo pathway is involved in cell contact inhibition and tissue growth control[J]. *Genes Dev*, 2007, 21(21):2747
- [10] Wang Y, Dong Q, Zhang Q, et al. Overexpression of yes-associated protein contributes to progression and poor prognosis of non-small-cell lung cancer[J]. *Cancer Sci*, 2010, 101(5):1279
- [11] Liu T B, Liu Y D, Gao H Y, et al. Clinical significance of yes-associated protein overexpression in cervical carcinoma: the differential effects based on histotypes[J]. *Int J Gynecol Cancer*, 2013, 23(4):735
- [12] Xiao H, Wu L A, Zheng H X, et al. Expression of Yes-associated protein in cervical squamous epithelium lesions[J]. *Int J Gynecol Cancer*, 2014, 24(9):1575

(2017-12-24 收稿)

(上接第293页)

- [7] Chadda K R, Jeevaratnam K, Lei M, et al. Sodium channel biophysics, late sodium current and genetic arrhythmic syndromes[J]. *Pflugers Arch*, 2017, 469(5/6):629
- [8] 李洪仕,边波,万征,等. 心室快钠电流在不同模拟缺血时间的变化及阿托伐他汀的作用[J]. *中国心脏起搏与心电生理杂志*, 2011, 25(1):61
- [9] Song Y, Shryock J C, Wu L, et al. Antagonism by ranolazine of the pro-arrhythmic effects of increasing late INa in guinea pig ventricular myocytes[J]. *J Cardiovasc Pharmacol*, 2004, 44(2):192
- [10] Antzelevitch C, Belardinelli L. The role of sodium channel current in modulating transmural dispersion of repolarization and arrhythmogenesis[J]. *J Cardiovasc Electrophysiol*, 2006, 17 Suppl 1:S79
- [11] Morita N, Lee J H, Xie Y, et al. Suppression of re-entrant and multifocal ventricular fibrillation by the late sodium current blocker ranolazine[J]. *J Am Coll Cardiol*, 2011, 57(3):366
- [12] 赵青,李洪仕,万征,等. 阿托伐他汀对大鼠模拟缺血左室心肌细胞瞬时外向钾电流的作用[J]. *中国心脏起搏与心电生理杂志*, 2011, 25(5):426
- [13] Belardinelli L, Giles W R, Rajamani S, et al. Cardiac late Na(+) current: proarrhythmic effects, roles in long QT syndromes, and pathological relationship to CaMKII and oxidative stress[J]. *Heart Rhythm*, 2015, 12(2):440
- [14] Wang X J, Wang L L, Fu C, et al. Ranolazine attenuates the enhanced reverse Na(+)-Ca(2)(+) exchange current via inhibiting hypoxia-increased late sodium current in ventricular myocytes[J]. *J Pharmacol Sci*, 2014, 124(3):365
- [15] Liu C W, Yang F, Cheng S Z, et al. Rosuvastatin postconditioning protects isolated hearts against ischemia-reperfusion injury: The role of radical oxygen species, PI3K-Akt-GSK-3beta pathway, and mitochondrial permeability transition pore[J]. *Cardiovasc Ther*, 2017, 35(1):3
- [16] Wang F, Ma H, Liang W J, et al. Lovastatin upregulates microRNA-29b to reduce oxidative stress in rats with multiple cardiovascular risk factors[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(6):9021
- [17] Kisvari G, Kovacs M, Seprenyi G, et al. The activation of PI 3-kinase/Akt pathway is involved in the acute effects of simvastatin against ischaemia and reperfusion-induced arrhythmias in anaesthetised dogs[J]. *Eur J Pharmacol*, 2015, 769:185

(2018-01-16 收稿)