

· 基础研究 ·

异丙肾上腺素对 *NCX1.1* 基因编码钠钙交换体电流的影响

项国剑^{1,2}, 张建成^{1,2*}, 李泱³, 陈茜^{2,4}

(福建省立医院:¹ 心血管内科,⁴ 重症医学科,福州 350001;² 福建医科大学省立临床医学院,福州 350001;³ 中国人民解放军总医院老年心血管病研究所,北京 100853)

【摘要】目的 探讨 β 肾上腺素受体对钠钙交换电流(I_{NCX})的调控及可能的信号转导途径。**方法** 利用免疫磁珠阳性标记表达系统将 *NCX1.1* 质粒转染人胚肾 293 (HEK-293) 细胞,选取 103 个转染阳性的 HEK-293 细胞,随机分成空白对照组($n=20$)、灌流异丙肾上腺素(ISO)组($n=20$)、灌流 Gi 蛋白抑制剂百日咳毒素及 ISO 组($n=20$)、灌流环磷酸腺苷(cAMP)合成激动剂毛喉素(forskolin)及 ISO 组($n=22$)、灌流蛋白激酶 A(protein kinase A,PKA)抑制剂 H89 及 ISO 组($n=21$)。运用全细胞膜片钳技术记录各组 I_{NCX} 的变化。采用 SPSS 21.0 统计软件进行数据分析。根据数据类型,分别采用 t 检验或 ANOVA 方差分析进行组间比较。**结果** 以灌流用药前 I_{NCX} 为空白对照组,ISO 组可使内向 I_{NCX} 密度从 (-6.07 ± 1.53) pA/pF 增加至 (-7.89 ± 1.61) pA/pF($n=20, P<0.05$),平均增加约 30%。而预先使用 G 蛋白-cAMP-PKA 通路关键分子激动剂或抑制剂后,ISO 对 I_{NCX} 的效应均发生明显改变。其中,PTX 及 forskolin 可使 ISO 对 I_{NCX} 密度增加效应更加显著,电流密度分别增至 (-10.02 ± 1.99) pA/pF 及 (-10.78 ± 1.77) pA/pF,与单纯使用 ISO 相比,差异有统计学意义($n=20, P<0.01$),提示 Gi 蛋白抑制和环磷酸腺苷激动均可增加 ISO 的作用。而预先应用 H89,ISO 增加 I_{NCX} 的效应几乎消失,电流密度约为 (-6.22 ± 1.70) pA/pF,与对照组相比无显著差异($n=20, P>0.05$),提示抑制 PKA 可基本阻断 ISO 对 I_{NCX} 的刺激效应。**结论** β 肾上腺素受体激动可增加 *NCX1.1* 内向电流,其可能通过 G 蛋白-cAMP-PKA 信号通路参与调节。

【关键词】 β 肾上腺素受体;钠钙交换体电流;钙超载;G 蛋白信号通路

【中图分类号】 R318.04 **【文献标志码】** A **【DOI】** 10.11915/j.issn.1671-5403.2023.02.024

Effect of isoproterenol on sodium-calcium exchanger current encoded by *NCX1.1* gene

Xiang Guojian^{1,2}, Zhang Jiancheng^{1,2*}, Li Yang³, Chen Qian^{2,4}

(¹Department of Cardiology, ⁴Department of Intensive Care Medicine, Fujian Provincial Hospital, Fuzhou 350001, China; ²Provincial Clinical Medicine College of Fujian Medical University, Fuzhou 350001, China; ³Institute of Geriatric Cardiology, Chinese PLA General Hospital, Beijing 100853, China)

【Abstract】Objective To investigate the regulation of β -adrenoceptor on sodium-calcium exchange current (I_{NCX}) and its possible signal transduction pathway. **Methods** The *NCX1.1* plasmid was transfected into human embryonic kidney-293 (HEK-293) cell by immunomagnetic-bead-based positive expression system. Transfected HEK-293 cells totaling 103 with positive transfection were selected and randomly divided into blank control group ($n=20$), isoproterenol (ISO) group ($n=20$), pertussis toxin (PTX) plus ISO group ($n=20$), forskolin plus ISO group ($n=22$), and H89 [protein kinase A (PKA) inhibitor] plus ISO group ($n=21$). I_{NCX} changes in each group were recorded with whole-cell patch clamp technique. SPSS statistics 21.0 was used for statistical analysis. According to data type, t -test was used for comparison between two groups, and ANOVA was used for comparison between multiple groups. **Results** Against control group, ISO increased the inward I_{NCX} density from (-6.07 ± 1.53) pA/pF to (-7.89 ± 1.61) pA/pF ($n=20, P<0.05$), with an average increase of about 30%. However, the effect of ISO on I_{NCX} current was significantly changed after pre-administration of key molecular agonists or inhibitors of Gi-cAMP-PKA pathway. PTX and forskolin, significantly enhanced the effect of ISO, had a more significant effect on I_{NCX} density increase, the current density increased to (-10.02 ± 1.99) pA/pF and (-10.78 ± 1.77) pA/pF, respectively. Compared with ISO alone, there was a significant difference ($n=20, P<0.01$), suggesting that both the inhibition of Gi protein and activation of cAMP can enhance the effect of ISO. However, the effect of pre-treatment with PKA inhibitor H89 showed no enhancement on I_{NCX} , and the current density was about (-6.22 ± 1.70) pA/pF, which was not significantly different from that of the control group ($n=20, P>0.05$). It suggested that PKA inhibition can basically block the effect of ISO on I_{NCX} . **Conclusion** β -adrenoceptor activation may enhance the *NCX1.1* inward current, probably through stimulating G protein-cAMP-PKA signaling pathway.

收稿日期: 2022-06-14; 接受日期: 2022-10-18

基金项目: 国家自然科学基金(82070341)

通信作者: 张建成, E-mail: fjzhangjiancheng@126.com

【Key words】 β -adrenoceptor; sodiumcalcium exchanger current; calcium overload; G protein signaling pathway

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (82070341).

Corresponding author: Zhang Jiancheng, E-mail: fjzhangjiancheng@126.com

在哺乳动物中,钠钙交换体($\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ exchanger, NCX)是一种广泛分布于细胞膜上的阳离子转运蛋白超家族,包含3种不同基因产物,NCX1、NCX2和NCX3^[1,2],其中NCX1主要存在于心肌、肾脏、脑等组织中。目前已知7种不同的剪切产物,其中NCX1.1主要分布于心脏^[3,4]。生理情况下,NCX通过正向转运模式调节胞质内 Ca^{2+} 浓度,参与调节可兴奋细胞的兴奋性及兴奋-收缩藕联的功能^[5],并影响细胞内信号转导及胞内钙稳态的维持^[6,7]。而在病理情况下,越来越多的研究证实NCX反向转运模式的异常激活介导的 Ca^{2+} 内流,是最终引起钙超载的主要机制。肾上腺素通过激活 β 肾上腺素受体诱发钙调蛋白磷酸化,对心肌细胞内的钙转运调节蛋白产生重要影响,在钙介导的心律失常发生及发展的病理生理过程中起到重要作用,而NCX反向转运激活所导致的胞内钙超载,是心肌缺血再灌注造成细胞凋亡和坏死,及引起多种心律失常的重要机制^[8]。

近年的研究发现, β 肾上腺素受体通过钙调蛋白依赖的蛋白激酶II(calcium/calmodulindependent protein kinase II, CaMK II)/激活蛋白-1(activator protein-1, AP-1)信号通路上调NCX基因表达^[9],可以加强NCX的作用^[10,11]。本研究在前期实验中发现,异丙肾上腺素可增强乳鼠窦房结细胞中 I_{NCX} ^[12]。但目前对于异丙肾上腺素是如何影响NCX活动的研究较少,有学者证实在哺乳动物的心脏中, β 肾上腺素受体/环磷酸腺苷(cyclic adenosine monophosphate, cAMP)通路可影响NCX的作用,但具体作用及机制不明^[13,14]。体外研究发现NCX可被蛋白激酶A(protein kinase A, PKA)依赖性磷酸化^[15],为研究可能的 β 肾上腺素受体-cAMP通路,本研究设计使用3种工具药:百日咳毒素(pertussis toxin, PTX)、毛喉素(forskolin)、H89,探讨 β 肾上腺素受体激动对于NCX1.1编码的 I_{NCX} 的作用及其中可能的信号通路。

1 材料与方法

1.1 试剂与溶液

细胞培养基、磷酸盐缓冲液、胎牛血清、无血清细胞培养基、细胞转染试剂、CD8磁珠购自赛默飞世尔科技公司,胰蛋白酶(1:250)、盐酸异丙肾上腺素(isoprenaline hydrochloride, ISO)、PTX、毛喉素、H89二盐酸盐(H89 dihydrochloride hydrate, H89-2HC)

购自西格玛公司,非离子酸碱缓冲液、二甲基亚砜购自索莱宝科技有限公司。pGFP-N1-NCX1.1质粒(编号NM_021097.2→NP_066920.1),购自北京诺赛基因组研究中心有限公司。pCDNA3.1-N1-CD8质粒,购自中国人民解放军总医院老年心血管病研究所。

1.2 HEK293细胞培养

取液氮中储存的人胚肾293(human embryonic kidney-293, HEK-293)细胞株(购自协和医科大学基础医学院细胞中心),于37℃水浴箱中约2 min至完全融化,以1000 r/min速度置于离心机中离心5 min,弃上清液,加入5 ml细胞培养基吹打混匀,孵育于37℃ 5% CO_2 培养箱中,24 h后更换1/2的细胞培养基(培养基的配方:胎牛血清:Earle's平衡盐溶液(Earle's balanced salt solution, EBSS)/MEM培养基=1:9)。在细胞培养后1~2 d内,显微镜下观察细胞汇合度达90%以上时,予传代培养,比例为1:3,传代时先加入磷酸盐缓冲液(phosphate buffer saline, PBS)缓冲液,冲洗细胞,后予500 μl 胰蛋白酶消化30 s,待细胞呈片状脱落后,加细胞培养基3 ml终止消化,再次离心后置于培养箱中培养。显微镜下观察培养良好的HEK-293细胞附壁性良好,胞质透亮,胞内无杂质,形态多见菱形或三角形,周围多突起及向外伸展,细胞外液无颗粒及漂浮细菌等(图1)。

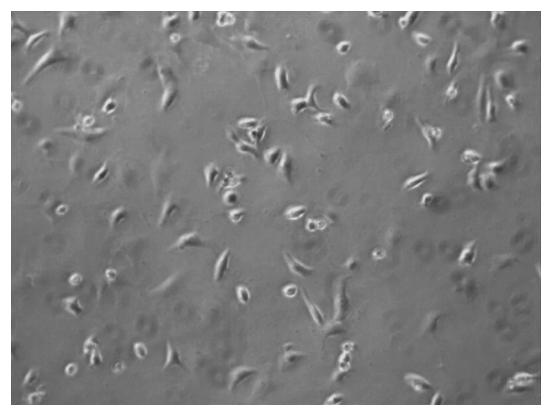


图1 培养良好的HEK-293细胞

Figure 1 HEK-293 cell ($\times 100$)

HEK: human embryonic kidney.

1.3 质粒转染

本实验采用目的基因(pGFP-N1-NCX1.1)和阳性标记基因(pGFP-N1-CD8)共转染的策略,两质粒间比例为3:2,总质粒质量为2 μg ,与细胞转染试剂共同加入到无血清转染培养基中。转染24~72 h后,

胰蛋白酶消化后放置于孵箱中约 5 h,移置 35 mm 培养皿,每皿加入混合液约 2 ml (细胞外液与 CD8 磁珠以 2 ml:1 μ l 的比例配制)。4℃冰箱静置约 5 min 后,通过电子显微镜观察选取磁珠标记的转染阳性细胞作为膜片钳记录(图 2)。

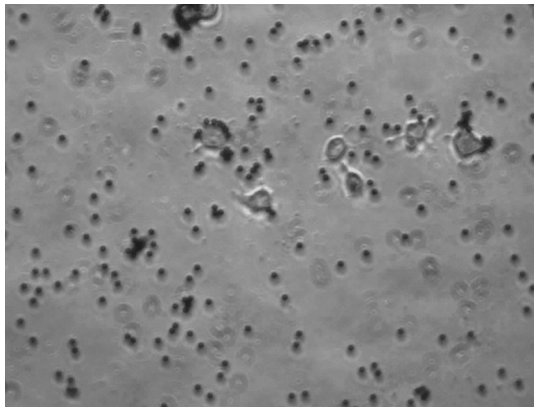


图 2 共转染加入磁珠标记后阳性细胞

Figure 2 Positive cells marked by magnetic beads ($\times 100$)

1.4 药物灌流

采用局部灌流装置,取不同药物,加入孵育液,在培养皿中以恒流灌流方式给药于细胞外,静置作用 5 min 后,膜片钳记录电流。

1.5 膜片钳操作及参数设置

实验采用全细胞膜片钳记录方式,连接计算机与膜片钳放大器 AXON-700B,经 pCLAMP 软件控制下,数模转换器(Digidata 1440A)采集电压输入信号及刺激信号。应用微电极拉制仪将玻璃毛坏拉制成微电极(电阻控制于 2.5~3.5 M Ω)。控制三维操纵器,脉冲负压吸破细胞膜,使封接电阻达 1 G Ω 以上形成全细胞膜片钳模式。后将膜片钳置于电压钳模式下,为消除电压误差及膜电容的充放电影响,串联电阻补偿 90%~95%,慢电容补偿约为 85%~90%,为消除细胞间误差,电流值(I 值)以电流密度(pA/pF)表示,加 5.0 mmol/L 的 NiCl₂ 特异性地阻断 I_{NCX},NiCl₂ 阻断前后的电流差即为 Ni²⁺敏感 I_{NCX}。

1.6 统计学处理

采用 SPSS 21.0 统计软件进行数据分析。计量资料以均数 $\pm$ 标准差($\bar{x}\pm s$)表示,2 组比较采用 *t* 检验;多组比较采用 ANOVA 方差分析,组间两两比较采用 LSD-*t* 法。膜片钳数据经由 pCLAMP10.4、Origin 8.5 采集及处理。*P*<0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 NCX1.1 编码的 I_{NCX}

应用电压钳模式,钳制细胞电位为-60 mV,从

+80 mV 以 90 V/s 的速度斜坡电压脉冲去极化至 -120 mV,后恢复电位到-60 mV,记录到超级化电压下内向电流,以 5.0 mmol/L 的 NiCl₂ 阻断 I_{NCX},记录 NiCl₂ 前后的电流差,即为 I_{NCX}(图 3)。

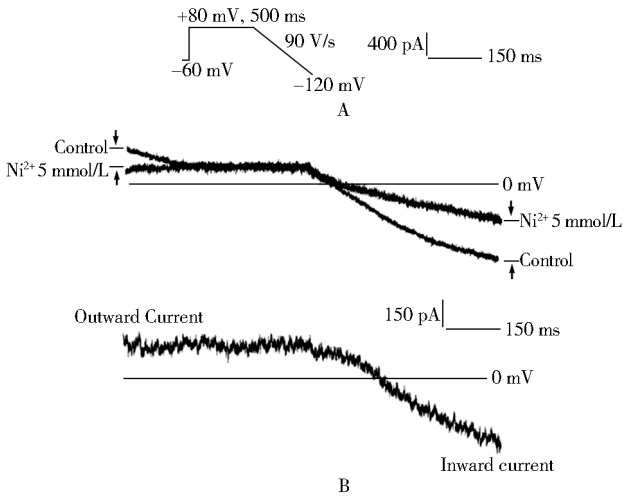


图 3 NCX1.1 编码的 I_{NCX} 电流

Figure 3 I_{NCX} encoded by NCX1.1

A: original current graph and current graph after NiCl₂ treatment;

B: residual plot of NCX current after NiCl₂ treatment.

NCX: Na⁺/Ca²⁺ exchanger.

2.2 ISO 对 NCX1.1 编码的 I_{NCX} 的作用

以灌流用药前 I_{NCX} 为对照组,实验组中加入 1 μ mol/L ISO 于细胞外液,记录 Ni²⁺阻断前后电流差值(I_{NCX})。实验显示,ISO 可在-120mV 时使内向电流的 I_{NCX} 密度从 (-6.07 $\pm$ 1.53) pA/pF 增加至 (-7.89 $\pm$ 1.61) pA/pF,平均增加约 30%,2 组间电流差值进行独立样本 *t* 检验,结果显示 ISO 电流差值大于对照组(*n*=20,*t*=3.642,*P*=0.001;图 4)。

2.3 Gi 蛋白抑制剂、cAMP 激动剂及 PKA 抑制剂对 I_{NCX} 的作用

2.3.1 Gi 蛋白抑制剂 PTX 对 I_{NCX} 的作用 先以 PTX(2 μ g/ml)灌流,再加入 ISO(1 μ mol/L),记录 Ni²⁺阻断前后电流差值(I_{NCX})。与单独使用 ISO 对照组比较,PTX 加强 ISO 的作用,使 ISO 作用下的内向 I_{NCX} 密度增加至 (-10.02 $\pm$ 1.99) pA/pF (*P*<0.001),平均增加约 27%(图 5)。Gi 蛋白抑制剂可以加强异丙肾上腺素对于 NCX1.1 编码的 I_{NCX} 刺激作用。

2.3.2 cAMP 激动剂毛喉素对 I_{NCX} 的作用 预先加入毛喉素(2 μ mol/L),后灌流 ISO(1 μ mol/L),最后记录 Ni²⁺阻断前后电流差值(I_{NCX})。与单独使用 ISO 对照组比较,毛喉素可使 ISO 作用下的内向 I_{NCX} 密度增加至 (-10.78 $\pm$ 1.77) pA/pF (*P*<0.001),平均增加约 36.63%(图 6)。图中可见,cAMP 合成激动剂毛

喉素可以加强异丙肾上腺素对于 *NCX1.1* 编码的 I_{NCX} 刺激作用。

2.3.3 PKA 抑制剂 H89 对 I_{NCX} 的作用 预灌流 H89(10 $\mu\text{mol/L}$),再加入 ISO (1 $\mu\text{mol/L}$),后记录 Ni^{2+} 阻断前后电流差值(I_{NCX})。与使用 ISO 对照组

比较,ISO 增加 I_{NCX} 的效应几乎消失,电流密度约为 $(-6.22\pm1.70)\text{pA/pF}$ ($P=0.004$);与空白对照组相比无显著差异($t=0.290,P=0.773$),详见图 7。图中可见,抑制 PKA 可基本阻断 ISO 对 *NCX1.1* 编码的 I_{NCX} 电流刺激作用。

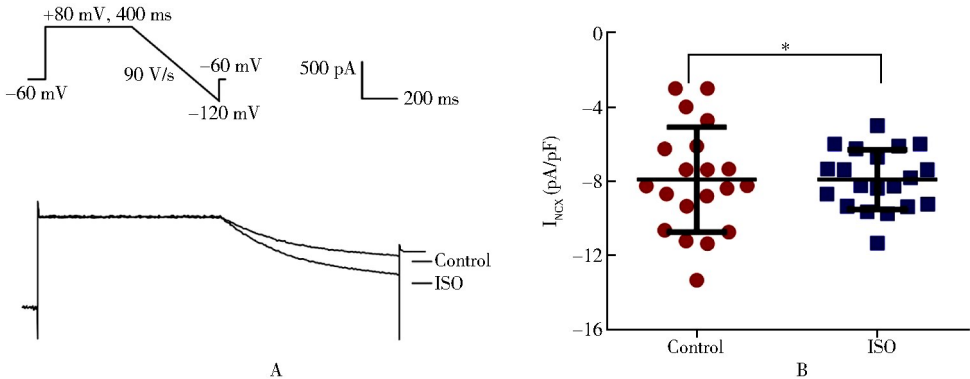


图 4 ISO 对 *NCX1.1* 编码的 I_{NCX} 电流的影响

Figure 4 Effect of ISO on I_{NCX} encoded by *NCX1.1*

A: effect diagram of ISO on NCX current; B: effect of ISO on inward current of NCX. ISO: isoprenaline hydrochloride; NCX: $\text{Na}^{+}/\text{Ca}^{2+}$ exchanger. Compared with control group, $*P<0.001$.

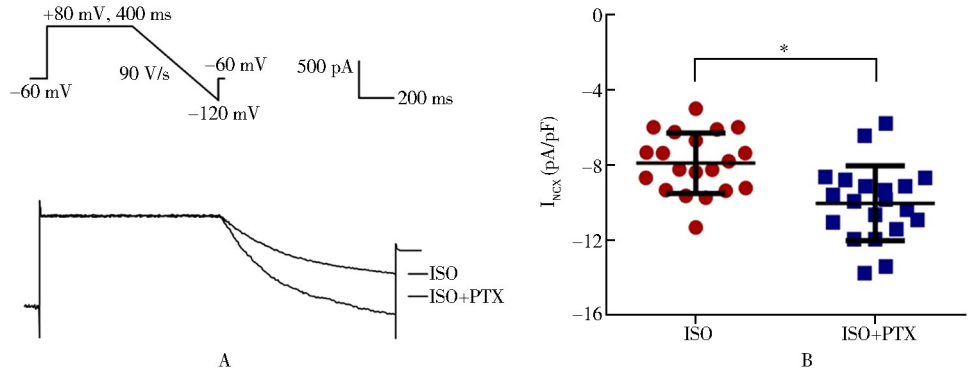


图 5 PTX+ISO 对 *NCX1.1* 内向电流的影响

Figure 5 Effect of PTX+ISO on inward current of I_{NCX}

A: effect diagram of PTX+ISO on NCX current; B: effect of PTX+ISO on inward current of NCX. PTX: pertussis toxin; ISO: isoprenaline hydrochloride; NCX: $\text{Na}^{+}/\text{Ca}^{2+}$ exchanger. Compared with ISO group, $*P<0.001$.

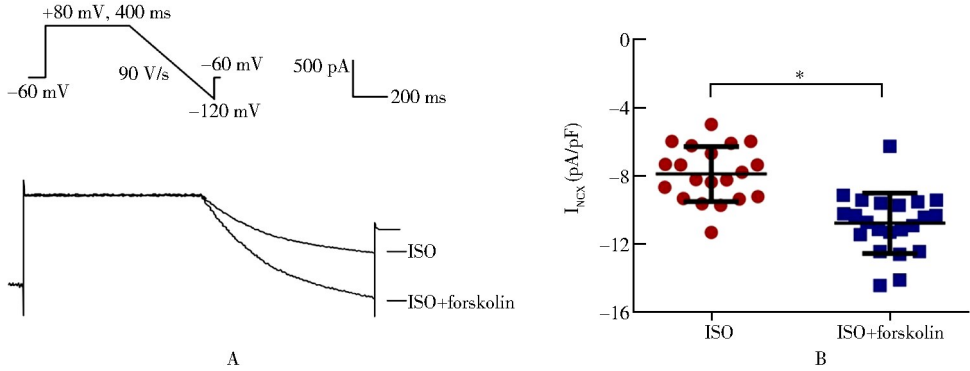


图 6 Forskolin+ISO 对 *NCX1.1* 内向电流的影响

Figure 6 Effect of forskolin+ISO on the inward current of *NCX1.1*

A: effect diagram of forskolin+ISO on NCX current; B: effect of forskolin+ISO on inward current of NCX. ISO: isoprenaline hydrochloride NCX: $\text{Na}^{+}/\text{Ca}^{2+}$ exchanger. Compared with ISO group, $*P<0.001$

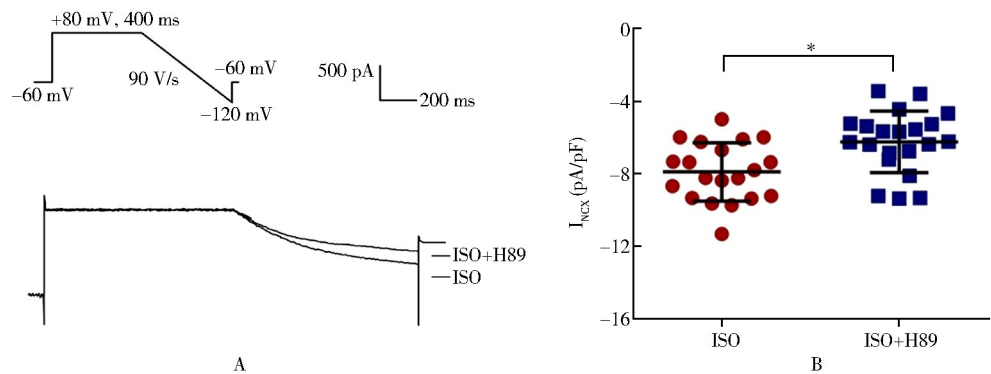


图7 H89+ISO对NCX1.1内向电流的影响

Figure 7 Effect of H89+ISO on inward current of NCX1.1

A: effect diagram of H89+ISO on NCX current; B: effect of H89+ISO on inward current of NCX. ISO: isoprenaline hydrochloride
NCX: Na^+ / Ca^{2+} exchanger. Compared with ISO group, * $P=0.004$.

3 讨论

NCX广泛分布于各类细胞膜上,具有双向转运 Ca^{2+} 和 Na^+ 的功能,是维持胞内钙稳态最重要的转运蛋白之一^[16]。它参与一系列兴奋型细胞的生理活动,如神经胶质细胞的迁移分化、神经递质的释放、胰岛素的分泌等^[17-19]。在心肌细胞节律性的兴奋收缩偶联过程中,NCX被认为对调控钙瞬流起到关键作用^[20,21],并参与调控信号转导通路^[22,23]。在病理条件下,NCX蛋白表达失调或活性异常可以导致心力衰竭、心律失常及中枢神经系统和内分泌系统的病变^[24]。此外,研究发现NCX以反向转运模式参与到缺血再灌注损伤、细胞凋亡等多种病理过程中^[25],其中线粒体内钙离子通过激活蛋白激酶C和CaMK-II途径触发NCX反向转运进入胞内是引发钙超载的关键步骤^[26]。

近年来的研究表明,在病理性心脏重构中,多种转录通路介导NCX1的表达。其中 α -肾上腺素受体和 β -肾上腺素受体信号均可参与心肌细胞钙稳态的调节,其可通过NCX1上调的机制介导心律失常、心力衰竭的发生^[27]。 β 肾上腺素受体的激活可诱发一系列反应,如通过L型钙通道的磷酸化使钙内流增加,同时磷酸化心肌受磷蛋白,导致其无法抑制肌浆网钙三磷酸腺苷(adenosine triphosphate, ATP)酶(sarcoplasmic reticulum calcium ATPase, SERCA)的功能,增加了肌浆网内 Ca^{2+} 的重摄取,最终造成肌浆网释放 Ca^{2+} 的数量增加^[28]。生理条件下,在面对环境应激时可增高心肌自律性及增强心肌收缩力。而在如心力衰竭、心肌梗死等病理情况下,兰尼碱受体2(ryanodine receptor 2, RyR2)通道可能会因长期过度磷酸化,增加通道开放概率,导致钙离子在舒张期从肌浆网中释放增多,胞内钙异常蓄积,导致钙紊乱^[29]。这是多种遗传性离子通道病发生的

基础,也是心肌缺血/梗死、心力衰竭、心肌再灌注损伤等器质性心脏病合并心律失常发生的机制之一。

综上所述,目前对于心肌细胞NCX功能的研究正逐渐深入,病理状态下NCX表达失衡的意义、NCX活性的调控机制及NCX调控因子蛋白激酶都是研究的热点,为研究 β 肾上腺素受体激动剂对NCX1.1编码的 I_{NCX} 的作用及可能的信号通路,本实验使用了ISO、毛喉素、PTX、H89为灌流工具药。结果显示,ISO和毛喉素加强了NCX1.1编码的 I_{NCX} ,PTX增强了ISO对于 I_{NCX} 的刺激作用,而H89减弱了ISO对于 I_{NCX} 的作用。本实验结果与离体乳鼠窦房结细胞中的结论一致,提示激活 β 肾上腺素受体对NCX1.1的刺激作用很可能是通过G蛋白-cAMP-PKA信号通路发挥作用的。另外实验中我们发现, β 肾上腺素受体激动剂和cAMP合成激动剂对于NCX的刺激作用主要表现在NCX的正向转运模式上,而反向转运影响有限。此结果很可能是因为实验为模拟正常生理状态下 β 肾上腺素受体激动剂对NCX的双向调节模式以正向调节为主,并未诱发NCX的反向模式所造成的。实验采用的HEK-293细胞系是常用的基因转染研究的工具细胞,但其与心肌细胞尚存在一定差异,另外研究仅从细胞电生理改变的角度探讨,在接下来的实验中将进一步从活体细胞的分子水平及蛋白功能等方面全面验证。并将同时模拟在病理情况,如缺血再灌注、氧化应激等状态下NCX双向模式的变化。为后续从抑制NCX活性方面,寻找防治缺血再灌注、心力衰竭、心肌梗死等病理损伤造成心律失常药物新靶点研究打下基础。

【参考文献】

[1] Bgeholz N, Pauls P, Bauer BK, et al. Suppression of early and late afterdepolarizations by heterozygous knockout of the Na^+ / Ca^{2+} exchanger in a murine model[J]. Circ Arrhythm Electrophysiol,

- 2015, 8(5): 1010–1218. DOI: 10.1161/CIRCEP.115.002927.
- [2] Janowski E, Day R, Kraev A, *et al.* β -adrenergic regulation of a novel isoform of NCX: sequence and expression of shark heart NCX in human kidney cells[J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2009, 296(2): 1994–2006. DOI: 10.1152/ajpheart.00038.2009.
- [3] Iwamoto T, Kita S, Uehara A, *et al.* Molecular determinants of $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ exchange (NCX1) inhibition by SEA040[J]. *J Biol Chem*, 2004, 279(9): 7544–7553. DOI: 10.1074/jbc.M310491200.
- [4] Chu L, Yin H, Gao L, *et al.* Cardiac $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ exchanger 1 (NCX 1) is critical for the ventricular cardiomyocyte formation *via* regulating the expression levels of gata4 and hand2 in zebrafish[J]. *Sci China Life Sci*, 2021, 64(2): 255–268. DOI: 10.1007/s11427-019-1706-1.
- [5] Kohajda Z, Loewe A, Tóth N, *et al.* The cardiac pacemaker story — fundamental role of the $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ exchanger in spontaneous automaticity[J]. *Front Pharmacol*, 2020, 11(5): 516–523. DOI: 10.3389/fphar.2020.00516.
- [6] Roome CJ, Power EM, Empson RM. Transient reversal of the sodium/calcium exchanger boosts presynaptic calcium and synaptic transmission at a cerebellar synapse[J]. *J Neurophysiol*, 2013, 109(6): 1669–1680. DOI: 10.1152/jn.00854.2012.
- [7] Steccanella F, Scranton K, Panday N, *et al.* Genetic ablation of NCX1.1 Na^+ -dependent inactivation impacts cardiac action potential and Ca^{2+} transient[J]. *Biophys J*, 2020, 118(3): 100a. DOI: 10.1016/j.bpj.2019.11.706.
- [8] Shenoda B. The role of $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ exchanger subtypes in neuronal ischemic injury[J]. *Transl Stroke Res*, 2015, 6(3): 181–190. DOI: 10.1007/s12975-015-0395-9.
- [9] Mani SK, Egan EA, Addy BK, *et al.* Beta-adrenergic receptor stimulated NCX1 upregulation is mediated *via* a CaMKII/AP-1 signaling pathway in adult cardiomyocytes[J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2010, 48(2): 342–351. DOI: 10.1016/j.yjmcc.2009.11.007.
- [10] Kohajda Z, Tóth N, Szlovák J, *et al.* Novel $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ exchanger inhibitor ORM-10962 supports coupled function of funny-current and $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ exchanger in pacemaking of rabbit sinus node tissue[J]. *Front Pharmacol*, 2020, 10(1): 1632–1639. DOI: 10.3389/fphar.2019.01632.
- [11] Ma HJ, Li Q, Ma HJ, *et al.* Chronic intermittent hypobaric hypoxia ameliorates ischemia/reperfusion-induced calcium overload in heart *via* $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ exchanger in developing rats[J]. *Cell Physiol Biochem*, 2014, 34(2): 313–324. DOI: 10.1159/000363001.
- [12] 项国剑, 张建成, 陈茜, 等. 异丙肾上腺素对乳鼠窦房结细胞自动节律和钠钙交换电流的影响[J]. *福建医科大学学报*, 2015, 49(2): 83–87. DOI: CNKI:SUN:FJYD.0.2015-02-004. Xiang GJ, Zhang JC, Chen Q, *et al.* Effects of isoproterenol on spontaneous rhythm and sodium-calcium exchanger current in newborn rat's sino-atrial node cells[J]. *J Fujian Med Univ*, 2015, 49(2): 83–87. DOI: CNKI:SUN:FJYD.0.2015-02-004.
- [13] Bradley E, Hollywood MA, Johnston L, *et al.* Contribution of reverse $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ exchange to spontaneous activity in interstitial cells of cajal in the rabbit urethra[J]. *J Physiol*, 2006, 574(3): 651–661. DOI: 10.1113/jphysiol.2006.110932.
- [14] Islam MM, Takeuchi A, Matsuoka S. Membrane current evoked by mitochondrial $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ exchange in mouse heart[J]. *J Physiol Sci*, 2020, 70(1): 24–34. DOI: 10.1186/s12576-020-00752-3.
- [15] Schulze DH, Muqhal M, Lederer WJ, *et al.* Sodium/calcium exchanger(NCX1) macromolecular complex[J]. *J Biol Chem*, 2003, 278(31): 28849–28855. DOI: 10.1074/jbc.M300754200.
- [16] Scranton K, Umar S, Calmettes G, *et al.* The Na^+ -dependent inactivation of NCX1.1 is physiologically relevant to cardiac function[J]. *Biophys J*, 2020, 118(3): 100a–101a. DOI: 10.1016/j.bpj.2019.11.707.
- [17] Takeuchi A, Matsuoka S. Minor contribution of NCX to $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ exchange activity in brain mitochondria[J]. *Cell Calcium*, 2021, 96(2): 102386. DOI: 10.1016/j.ceca.2021.102386.
- [18] Parnis J, Montana V, Delgado-Martinez I, *et al.* Mitochondrial exchanger NCLX plays a major role in the intracellular Ca^{2+} signaling, gliotransmission, and proliferation of astrocytes[J]. *J Neurosci*, 2013, 33(17): 7206–7219. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.5721-12.2013.
- [19] Herchuelz A, Nguidjoe E, Jiang L, *et al.* $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ exchange and the plasma membrane Ca^{2+} -ATPase in beta-cell function and diabetes[J]. *Adv Exp Med Biol*, 2013, 961(1): 385–394. DOI: 10.1007/978-1-4614-4756-6_33.
- [20] Aronsen JM, Swift F, Sejersted OM. Cardiac sodium transport and excitation-contraction coupling[J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2013, 61: 11–19. DOI: 10.1016/j.yjmcc.2013.06.003.
- [21] Kohajda Z, Tóth N, Szlovák J, *et al.* Novel $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ exchanger inhibitor ORM-10962 supports coupled function of funny-current and $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ exchanger in pacemaking of rabbit sinus node tissue[J]. *Front Pharmacol*, 2020, 10: 1632–1643. DOI: 10.3389/fphar.2019.01632.
- [22] Skogestad J, Aronsen JM, Tovsrud N, *et al.* Coupling of the Na^+/K^+ -ATPase to ankyrin B controls $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ exchanger activity in cardiomyocytes[J]. *Cardiovasc Res*, 2020, 116(1): 78–90. DOI: 10.1093/cvr/cvz087.
- [23] Roome CJ, Knoepfel T, Empson RM. Functional contributions of the plasma membrane calcium ATPase and the sodium-calcium exchanger at mouse parallel fibre to purkinje neuron synapses[J]. *Pflugers Arch*, 2013, 465(2): 319–331. DOI: 10.1007/s00424-012-1172-1.
- [24] Gök C, Robertson AD, Fuller W. Insulin-induced palmitoylation regulates the cardiac $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ exchanger NCX1[J]. *Cell Calcium*, 2022, 104(2): 102567. DOI: 10.1016/j.ceca.2022.102567.
- [25] Inserte J, Garcia-Dorado D, Ruiz-Meana M, *et al.* Effect of inhibition of $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ exchanger at the time of myocardial reperfusion on hypercontracture and cell death[J]. *Cardiovasc Res*, 2002, 55(4): 739–748. DOI: 10.1016/S0008-6363(02)00461-3.
- [26] Greenstein JL, Foteinou PT, Hashambhoy-Ramsay YL, *et al.* Modeling CaMK II mediated regulation of L-type Ca^{2+} channels and ryanodine receptors in the heart[J]. *Front Pharmacol*, 2014, 5(60): 1–8. DOI: 10.3389/fphar.2014.00060.
- [27] Menick DR, Li MS, Chernysh O, *et al.* Transcriptional pathways and potential therapeutic targets in the regulation of NCX 1 expression in cardiac hypertrophy and failure[J]. *Adv Exp Med Bio*, 2013, 961(1): 125–135. DOI: 10.1007/978-1-4614-4756-6_11.
- [28] 卫晓红, 霍勇, 任璐, 等. 心肌细胞内钙异常介导的心律失常中晚钠电流的可能作用[J]. *中华心律失常学杂志*, 2015, 19(6): 464–467. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1007-6638.2015.06.019. Wei XH, Huo Y, Ren L, *et al.* The potential role of late sodium current in ventricular arrhythmias caused by increased intracellular calcium concentration[J]. *Chin J Card Arrhythmias*, 2015, 19(6): 464–467. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1007-6638.2015.06.019.
- [29] Ai X, Curran JW, Shannon TR, *et al.* Ca^{2+} /calmodulin-dependent protein kinase modulates cardiac ryanodine receptor phosphorylation and sarcoplasmic reticulum Ca^{2+} leak in heart failure[J]. *Circ Res*, 2005, 97(12): 1314–1322. DOI: 10.1161/01.res.0000194329.41863.89.