

## 1-磷酸鞘氨醇 (S1P) 对 H9c2 心肌细胞肥大反应的保护作用\*

严惠<sup>1</sup>, 赵虎<sup>2</sup>, 李论<sup>1△</sup>

(1. 武汉市第四医院 华中科技大学同济医学院附属普爱医院, 湖北 武汉 430000; 2. 华中科技大学同济医学院附属同济医院, 湖北 武汉 430000)

**【摘要】 目的:** 研究 1-磷酸鞘氨醇(S1P)对 H9c2 心肌细胞肥大反应的影响。**方法:** 将培养的 H9c2 心肌细胞随机分为 4 组,即正常对照组、S1P(1 μmol/L)处理组、肾上腺素(PE,100 μmol/L)处理组、PE(100 μmol/L)加 S1P(1 μmol/L)处理组,每组设 3 个复孔。处理 24 h 后应用 Actin-Trakcer Green 免疫荧光染色检测各组心肌细胞形态大小;Real-Time PCR 技术测定各组 H9c2 心肌细胞中肥大标志物 ANP、BNP 及 β-MHC 的转录水平;Western 印迹法测定各组中 ANP 的蛋白表达情况。然后将 H9c2 心肌细胞随机分为 5 组,即正常对照组、PE(100 μmol/L)组、PE(100 μmol/L)加低浓度 S1P(0.1 μmol/L)组、PE 加中浓度 S1P(1 μmol/L)组、PE 加高浓度 S1P(10 μmol/L)组,每组设 3 个复孔。处理 24 h 后应用 Western 印迹法测定低、中、高浓度 S1P 干预下磷酸化的 Janus 激酶 2(JAK2)及信号转导和转录激活子 3(STAT3)的蛋白表达水平。每项试验独立重复三次。**结果:** 与正常对照组比较,PE 组的 H9c2 心肌细胞表面积显著增大( $P<0.05$ ),ANP、BNP 及 β-MHC 的转录水平显著升高( $P$  均 $<0.05$ ),ANP 的表达亦显著升高( $P<0.05$ ),而与 PE 组比较,PE 加 S1P 组的 H9c2 心肌细胞表面积显著减小( $P<0.05$ ),ANP、BNP 及 β-MHC 的转录水平显著降低( $P$  均 $<0.05$ ),ANP 的表达亦显著降低( $P<0.05$ );在 PE 加不同浓度 S1P 处理后,与正常对照组及 PE 组相比,p-JAK2 和 p-STAT3 表达均显著升高( $P<0.05$ ),且呈一定的剂量依赖性。**结论:** S1P 可以减轻 PE 诱导的心肌细胞肥大反应,这一保护作用可能与 JAK2/STAT3 信号通路的激活相关。

**【关键词】** 1-磷酸鞘氨醇; 心肌细胞; 肥大反应; Janus 激酶 2/信号转导和转录激活子 3; 细胞培养

**【中图分类号】** R541

**【文献标识码】** A

**【文章编号】**1000-6834(2024)01-126-005

**【DOI】** 10.12047/j.cjap.6281.2022.095

## Protective effects of Sphingosine-1-phosphate (S1P) on hypertrophic response in H9c2 cardiomyocytes

YAN Hui<sup>1</sup>, ZHAO Hu<sup>2</sup>, LI Lun<sup>1△</sup>

(1. Wuhan Fourth Hospital, Puai Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430000; 2. Tongji Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430000, China)

**【ABSTRACT】 Objective:** To investigate the effects of sphingosine-1-phosphate (S1P) on cardiac hypertrophic response in H9c2 cells. **Methods:** H9c2 cells were randomly divided into four groups: normal control group, S1P (1 μmol/L) treated group, Phenylephrine (PE) (100 μmol/L) treated group, PE (100 μmol/L) treated group combined with S1P (1 μmol/L) treatment. Each group has 3 duplicated wells. After 24 hours, the size of H9c2 cells in each group was detected by Actin-Trakcer Green immunofluorescence staining. Transcriptional levels of hypertrophic markers (ANP, BNP and β-MHC) in H9c2 cells were determined by real-time PCR. Western blot was performed to examine the expression level of ANP in each group. Then H9c2 cells were randomly divided into five groups: normal control group, PE (100 μmol/L) treated group, PE (100 μmol/L) with S1P low-dose (0.1 μmol/L) treated group, PE (100 μmol/L) with S1P middle-dose (1 μmol/L) treated group and PE (100 μmol/L) with S1P high-dose (10 μmol/L) treated group. Each group has 3 duplicated wells. After 24 hours, Western blot was performed to examine the expressions of phosphorylated Janus kinase 2 (JAK2) and signal transducers and activators of transcription 3 (STAT3) under low, medium and high concentrations of S1P. Each experiment was repeated three times. **Results:** Compared with normal control group, the surface area of H9c2 cells in PE group was increased significantly ( $P<0.05$ ), meanwhile, the transcription levels of ANP, BNP and β-MHC were increased significantly (all  $P<0.05$ ), and the expression of ANP was also increased significantly ( $P<0.05$ ) in PE group. While compared with PE group, the surface area of H9c2 cells in PE + S1P group was decreased significantly ( $P<0.05$ ), the transcription levels of ANP, BNP and β-MHC and the expression of ANP were also decreased significantly (all  $P<0.05$ ) in PE + S1P group. After treated with PE and different concentrations of S1P, the expressions of p-JAK2 and p-STAT3 were increased significantly compared with the normal control group and PE group ( $P<0.05$ ), in a dose-dependent manner. **Conclusion:** S1P could protect H9c2 cells against hypertrophic response induced by PE, which may be achieved by activating JAK2/STAT3 signal pathway.

**【KEY WORDS】** sphingosine-1-phosphate; cardiomyocytes; hypertrophic response; JAK2/STAT3; cell culture

心肌细胞肥大是多种心血管疾病的共同病理特征, 常见于容量前负荷增大、压力后负荷增大及心肌缺血等情况, 尽管其在病变早期是一种具有代偿意义的适应性改变, 但若持续发展, 最终必将诱发心力衰竭, 危害健康<sup>[1]</sup>。1-磷酸鞘氨醇(sphingosine-1-phosphate, S1P)是由含18个碳原子的不饱和脂肪烃链构成的一种氨基醇类小分子, 是膜磷脂类分解代谢产物, 其末端带有一个磷酸基团<sup>[2]</sup>。既往研究表明, 它可以增强心脏抵抗缺血/再灌注损伤的能力, 可以帮助心肌细胞抵抗缺氧损害, 可以促进血管生成、改善血管内皮功能障碍, 还可以改善动脉粥样硬化等<sup>[3-6]</sup>。近年来有研究发现, S1P通过调控JAK2/STAT3通路可对心肌细胞发挥保护作用<sup>[7]</sup>, 另外, S1P1型受体(S1PR1)的激动剂可以改善压力超负荷诱导的心肌肥大<sup>[8]</sup>, 但S1P作为S1PR1的天然配体, 其对心肌肥大是否发挥保护作用尚不清楚。为了进一步明确S1P在心肌肥大中的作用及其与JAK2/STAT3通路的关系, 本研究拟在体外培养的H9c2心肌细胞中利用苯肾上腺素(Phenylephrine, PE)诱导经典的心肌细胞肥大模型<sup>[9, 10]</sup>, 采用Actin-Trakcer Green免疫荧光染色、Real-Time PCR技术、Western印迹等方法探讨S1P对心肌细胞肥大反应的影响及其可能机制。

## 1 材料与方法

### 1.1 主要材料与仪器

S1P(Cayman公司); PE(Sigma公司); H9c2心肌细胞株(华中科技大学同济医学院); 微丝绿色荧光探针(Actin-Trakcer Green, 碧云天生物技术有限公司); 胎牛血清、胰蛋白酶、高糖DMEM粉购于GIBCO公司; 单克隆鼠抗GAPDH抗体、多克隆兔抗ANP抗体均购自Santa Cruz公司; 单克隆鼠抗p-JAK2抗体、单克隆鼠抗t-JAK2抗体、单克隆鼠抗p-STAT3抗体和单克隆鼠抗t-STAT3抗体均购自Cell Signaling Technology公司; Western blot杂交显影用ECL液、山羊抗小鼠IgG抗体、辣根过氧化物酶标记山羊抗兔IgG抗体均购自Pierce公司; DAPI染液、Western细胞裂解液、BCA蛋白浓度检测试剂盒、FITC标记的山羊抗小鼠荧光二抗购于博士德公司; 蛋白分子量Marker(Bio-Rad公司); Trizol、逆转录试剂盒均购自Invitrogen公司; PVDF膜(Dassel公司); NSW荧光倒置显微镜(NIKON公司); 细胞培养箱

(Heraous公司); 酶标仪(Bio-Rad公司); Western实验装置(Bio-Rad公司); HQ-45型恒温摇床(中科院武汉科学仪器厂); 7900HT Fast Real-Time PCR系统(ABI); 常温低速离心机(北京六一仪器厂); 多功能电泳仪(Bio-Rad公司); JA1003型电子天平(武汉医用仪器公司); 微量加样器(Gilson公司); 低温超速离心机(Beckman公司)。本实验所应用的其他化学试剂均购自Sigma公司或者国产分析纯试剂。

### 1.2 细胞分组

将体外培养的心肌细胞系H9c2随机分成4组: 正常对照组、S1P组、PE组、PE+S1P组, 其中正常对照组常规培养, S1P组加1  $\mu\text{mol/L}$  S1P干预、PE组加100  $\mu\text{mol/L}$  PE干预、PE+S1P组加1  $\mu\text{mol/L}$  S1P和100  $\mu\text{mol/L}$  PE共同干预, 每组设3个复孔, 干预24 h后进行检测; 将体外培养的心肌细胞系H9c2随机分成5组: 正常对照组、PE组、PE+S1P低浓度(L)组、PE+S1P中浓度(M)组、PE+S1P高浓度(H)组, 正常对照组常规培养, PE组加100  $\mu\text{mol/L}$  PE干预, PE+S1P组分别加入浓度为0.1  $\mu\text{mol/L}$ 、1  $\mu\text{mol/L}$ 、10  $\mu\text{mol/L}$  S1P干预, 并加入100  $\mu\text{mol/L}$  PE, 每组设3个复孔, 共同干预24 h后进行检测。

### 1.3 Actin-Trakcer Green免疫荧光染色法检测心肌细胞形态大小

H9c2心肌细胞种于12孔板中, 按上述分组加药干预后, 弃掉培养基并用冰1 $\times$ PBS洗一遍, 然后加入4%的多聚甲醛液体浸润固定细胞10 min, 随后加入0.3%的Triton-X100浸润细胞20 min以达到通透细胞的目的, 接着用5% BSA封闭细胞约30 min, 封闭完成后加入Actin-Trakcer Green浸润细胞, 并将细胞放置于4 $^{\circ}\text{C}$ 恒温摇床上避光孵育过夜。孵育结束后用1 $\times$ PBS清洗细胞数遍, 然后加入DAPI染液染细胞核, 再用1 $\times$ PBS清洗两遍细胞, 最后用荧光显微镜观察细胞形态大小。观察时, 每个孔随机选取4~5个视野进行拍照, 然后应用软件Image-Pro Plus 6.0随机框选不同区域的细胞进行统计, 并根据细胞核数目计算出单个心肌细胞的面积, 最后取其平均值。

### 1.4 Real-Time PCR技术测定心肌细胞中肥大标志物ANP、BNP及 $\beta$ -MHC的转录水平

根据实验分组干预细胞结束后, 采用Trizol法提取各组细胞的RNA<sup>[11]</sup>, 根据Invitrogen试剂盒说明将RNA逆转录为cDNA, 然后应用ANP、BNP、 $\beta$ -MHC及GAPDH相应的上下游引物, 按7900HT Fast Real-Time PCR预设程序检测ANP、BNP、 $\beta$ -MHC的相对表达量。引物序列如表1所示。

\*【收稿日期】2022-02-26【修回日期】2022-08-07

$\Delta$ 【通讯作者】Tel: 13707174353; E-mail: allan7579@126.com

**Tab. 1** Primer sequences

Gene	Primer sequences
ANP	5'-CTTCGGGGTAGGATTGAC-3' 3'-TCTAGCGTTTTCTAGGGTTC-5'
BNP	5'-CAGAAGCTGCTGGAGCTCATAAG-3' 3'-GTTTCTGTTCCGGGATGT-5'
$\beta$ -MHC	5'-ATCAAGGAAAGCAGGAAGC-3' 3'-ACTACGTGGACATCTGTTCC-5'
GAPDH	5'-GGCAAGTCAACGGCACAG-3' 3'-TACAGCACCTCAGATGACCGC-5'

ANP: Atrial natriuretic peptide; BNP: Brain natriuretic peptide;  $\beta$ -MHC:  $\beta$ -myosin heavy chain; GAPDH: Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase

### 1.5 Western 印迹法检测心肌细胞中 ANP 的蛋白表达水平及不同浓度 S1P 干预下 JAK2 和 STAT3 的磷酸化水平

根据实验分组干预细胞结束后,经细胞裂解液于 4℃ 裂解 30 min,刮取细胞于 4℃ 离心机中 10 000 r/min 离心 20 min,吸取上清液备用。应用 BCA 法测定上清液蛋白浓度,等量蛋白样品经 10% SDS-PAGE 垂直电泳分离后,转移至 PVDF 膜,封闭液室温封闭 2 h,加入对应一抗 4℃ 孵育过夜, TBST 洗膜 1 h 后,加入相应的二抗工作液,在室温下摇床孵育约 2 h,然后用 ECL 液显影曝光。

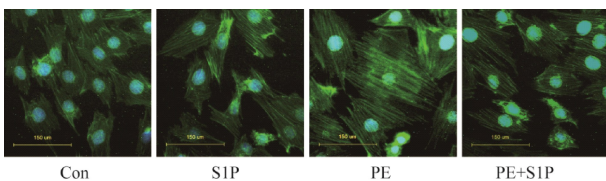
### 1.6 统计学处理

实验数据以均数 $\pm$ 标准差( $\bar{x}\pm s$ )的形式表示,用 GraphPad Prism 软件进行分析并绘制统计图,组间统计学差异用 *t* 检验进行检测。

## 2 结果

### 2.1 S1P 对 PE 干预后 H9c2 心肌细胞形态大小的影响

Actin-Trakcer Green 免疫荧光的结果显示,与对照组相比较,PE 组中的心肌细胞表面积明显增大( $P<0.05$ ),而与 PE 组比较,PE+S1P 组中的心肌细胞表面积则明显减小( $P<0.05$ ,图 1,表 2),这表明 S1P 可以抑制 PE 诱导的 H9c2 心肌细胞形态的增大。

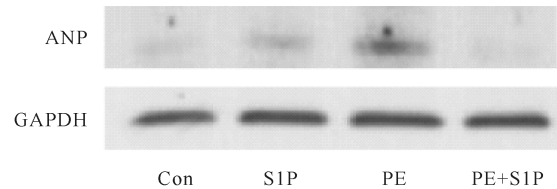


**Fig. 1** Representative images of Actin-Trakcer Green staining in H9c2 cells of each group

S1P: Sphingosine-1-phosphate; PE: Phenylephrine

### 2.2 S1P 对 PE 干预后 H9c2 心肌细胞中肥大标志物 ANP 蛋白表达水平的影响

为进一步验证 S1P 抵抗心肌细胞肥大反应的作用,选取心肌肥大标志物 ANP 进行 Western blot 检测,结果显示,与对照组相比,PE 组心肌细胞中 ANP 蛋白的表达明显上调( $P<0.05$ ),而 PE+S1P 组心肌细胞 ANP 蛋白的表达则较 PE 组明显下调( $P<0.05$ ,图 2,表 2),这表明 S1P 可以抑制由 PE 诱导的 H9c2 心肌细胞肥大标志物 ANP 的表达。



**Fig. 2** Expressions of ANP in H9c2 cells of each group

**Tab. 2** The cell surface area and the expression of ANP/GAPDH in H9c2 cells in each group (fold of control,  $\bar{x}\pm s$ ,  $n=3$ )

Group	Cell Surface Area	ANP/GAPDH
Con	1.03 $\pm$ 0.25	1.00 $\pm$ 0.00
S1P	0.98 $\pm$ 0.18	0.85 $\pm$ 0.15
PE	1.70 $\pm$ 0.37*	1.98 $\pm$ 0.22*
PE+S1P	1.12 $\pm$ 0.21#	0.97 $\pm$ 0.20#

\* $P<0.05$  vs control group; # $P<0.05$  vs PE group

### 2.3 S1P 对 PE 干预后 H9c2 心肌细胞中肥大标志物 ANP、BNP 及 $\beta$ -MHC 转录水平的影响

Real-Time PCR 的结果显示,与对照组相比,PE 组心肌细胞内肥大标志物 ANP、BNP 及  $\beta$ -MHC 的 mRNA 水平明显升高( $P<0.05$ ),而 PE+S1P 组心肌细胞内 ANP、BNP 及  $\beta$ -MHC 的 mRNA 水平较 PE 组则明显降低( $P<0.05$ ,表 3),这表明 S1P 可以抑制 PE 诱导的 H9c2 心肌细胞中肥大标志物 ANP、BNP 及  $\beta$ -MHC 的转录。

**Tab. 3** The levels of ANP, BNP and  $\beta$ -MHC mRNA in H9c2 cells of each group (fold of control,  $\bar{x}\pm s$ ,  $n=3$ )

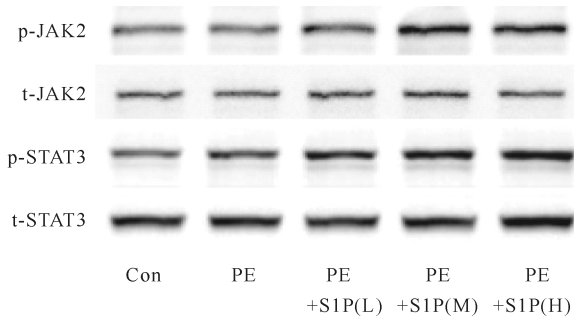
Group	ANP/GAPDH	BNP/GAPDH	$\beta$ -MHC/GAPDH
Con	1.00 $\pm$ 0.00	1.00 $\pm$ 0.00	1.00 $\pm$ 0.00
S1P	0.85 $\pm$ 0.15	0.84 $\pm$ 0.08	0.94 $\pm$ 0.14
PE	1.98 $\pm$ 0.22*	1.77 $\pm$ 0.12*	1.82 $\pm$ 0.31*
PE+S1P	0.97 $\pm$ 0.20#	0.96 $\pm$ 0.12#	0.83 $\pm$ 0.24#

\* $P<0.05$  vs control group; # $P<0.05$  vs PE group

### 2.4 不同浓度 S1P 对 PE 干预后 H9c2 心肌细胞中 JAK2/STAT3 磷酸化水平的影响

Western blot 检测结果显示,正常对照组有一定水平的 p-JAK2 和 p-STAT3 蛋白表达,加入 PE 后使 JAK2、STAT3 磷酸化水平有一定升高趋势,但无明显统计学差异,而在给予不同浓度 S1P 处理后,p-JAK2 和 p-STAT3 蛋白表达明显上调,且呈一定的剂

量依赖性 ( $P < 0.05$ , 图 3, 表 4), 这表明上述 S1P 对 PE 诱导的心肌细胞肥大反应的保护作用可能与 JAK2/STAT3 信号通路的激活相关。



**Fig. 3** Expressions of JAK2 and STAT3 in H9c2 cells of each group

JAK2: Janus kinase 2; STAT3: Signal transducers and activators of transcription 3

**Tab. 4** The expressions of p-JAK2/t-JAK2 and p-STAT3/t-STAT3 in H9c2 cells of each group (fold of control,  $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 3$ )

Group	p-JAK2/t-JAK2	p-STAT3/t-STAT3
Con	1.00±0.00	1.00±0.00
PE	1.05±0.21	1.14±0.21
PE+S1P(L)	1.45±0.17 <sup>*#</sup>	1.56±0.09 <sup>*#</sup>
PE+S1P(M)	2.28±0.24 <sup>*#</sup>	2.14±0.12 <sup>*#</sup>
PE+S1P(H)	2.56±0.36 <sup>*#</sup>	2.58±0.31 <sup>*#</sup>

<sup>\*</sup> $P < 0.05$  vs control group; <sup>#</sup> $P < 0.05$  vs PE group

### 3 讨论

慢性心力衰竭是当代社会严重危害人类健康的一类疾病, 而心肌细胞肥大已被证实是其重要诱因及独立危险因素<sup>[12]</sup>。本实验利用苯肾上腺素(PE)在体外培养的 H9c2 心肌细胞中诱导心肌细胞肥大模型, 结果显示, 对于 PE 诱导的 H9c2 心肌细胞肥大反应, S1P 能够显著抑制心肌细胞的肥大, 降低心肌细胞肥大标志物 ANP、BNP、 $\beta$ -MHC 的转录及 ANP 的蛋白表达水平, 并且在这一过程中, S1P 呈一定浓度依赖性的增强 JAK2、STAT3 的磷酸化。

既往研究发现, S1P 在心血管系统中发挥重要的保护作用, 但是, 关于 S1P 在心肌细胞肥大反应方面的效应仍存在一定争议。早期一项研究表明, S1P 的衍生物, 神经鞘氨醇磷酸胆碱 (sphingosylphosphorylcholine, SPC), 可引起新生大鼠心肌细胞发生肥大反应, 但 S1P 本身对心肌细胞肥大无明显影响<sup>[13]</sup>。此后, 另有研究显示, S1P 可能通过 S1P 的 1 型受体 (S1PR1) 诱导新生大鼠心肌细胞肥大反应的发生, 该实验是通过检测心肌细胞的形态大小、苯基丙氨酸的摄入量及脑钠肽的表达来评估心肌细

胞肥大<sup>[14]</sup>。近期亦有研究表明, S1P 诱导的肌浆网-线粒体钙转运过多有助于心肌细胞肥大<sup>[15]</sup>, 但值得我们关注的是, S1P 诱导的心肌细胞肥大反应比经典的内皮素和苯肾上腺素引起的心肌细胞肥大反应要慢一些、弱一些<sup>[16]</sup>, 且极有可能是一种保护性的适应性肥大。然而目前为止, 缺乏在已有心肌细胞肥大的病理情况下探讨 S1P 对其影响的研究。近年有一项研究应用 S1PR1 激动剂 SEW2871 证实, S1PR1 的激活可以显著改善压力超负荷诱导的心肌细胞肥大<sup>[8]</sup>, 这提示 S1P 亦可能改善病理情况下的心肌细胞肥大。本研究在体外实验中发现, S1P 明显抑制苯肾上腺素诱导的心肌细胞肥大, 且该保护作用可能与 JAK2/STAT3 信号通路密切相关。

近年来, JAK2/STAT3 信号通路在各种心脏疾病过程中得到广泛关注, 包括心肌肥大、缺血再灌注损伤等。以往研究发现, STAT3 在阿霉素诱导的心肌病、缺氧复氧引起的心肌损伤中发挥一定保护作用<sup>[17, 18]</sup>。JAK2/STAT3 信号通路的激活有助于促凋亡相关基因 Bax 和 Caspase-3 表达减少、抗凋亡基因 Bcl-2 表达增加, 从而介导心脏保护作用<sup>[19, 20]</sup>。并有研究证明, S1P 后适应可通过激活 JAK2/STAT3 来抑制炎症、减少氧自由基、防止线粒体结构破坏使大鼠心肌细胞免受缺血/再灌注损伤<sup>[7, 21]</sup>。这些表明, JAK2/STAT3 信号通路在 S1P 的心脏保护作用中扮演了重要角色。

综上所述, 本实验探索 S1P 对心肌细胞肥大的保护作用及其与 JAK2/STAT3 的关系。我们发现 S1P 减轻 PE 诱导的心肌细胞肥大反应, 这一保护作用可能是通过激活 JAK2/STAT3 信号通路来实现的。尽管本研究观察 S1P 抑制心肌细胞肥大与 JAK2/STAT3 信号通路激活的相关性, 但二者之间的具体关系尚需进一步的实验加以验证。

### 【参考文献】

- [1] Sag CM, Santos CX, Shah AM. Redox regulation of cardiac hypertrophy [J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2014, 73: 103-111.
- [2] Gupta VK, You Y, Klistorner A, et al. Focus on molecules: Sphingosine 1 phosphate (S1P) [J]. *Exp Eye Res*, 2012, 103: 119-120.
- [3] Jozefczuk E, Guzik TJ, Siedlinski M. Significance of sphingosine-1-phosphate in cardiovascular physiology and pathology [J]. *Pharmacol Res*, 2020, 156: 104793.
- [4] Yao Mattisson I, Christoffersen C. Apolipoprotein M and its impact on endothelial dysfunction and inflammation in the cardiovascular system [J]. *Atherosclerosis*, 2021,

- 334: 76-84.
- [5] Zhang J, Honbo N, Goetzl EJ, *et al.* Signals from type 1 sphingosine 1-phosphate receptors enhance adult mouse cardiac myocyte survival during hypoxia [J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2007, 293(5): H3150-3158.
- [6] 袁 磊, 张文杰, 张舵舵, 等. S1P 对心肌细胞的保护作用研究 [J]. 中国应用生理学杂志, 2011, 27(3): 320-323.
- [7] Wang Y, Wang D, Zhang L, *et al.* Role of JAK-STAT pathway in reducing cardiomyocytes hypoxia/reoxygenation injury induced by S1P postconditioning [J]. *Eur J Pharmacol*, 2016, 784: 129-136.
- [8] 肖 倩, 宝璐尔, 陈 辰, 等. 1-磷酸鞘氨醇受体1型信号通路在压力超负荷诱导的心室重构中的作用及机制 [J]. 同济大学学报(医学版), 2018, 39(6): 46-53.
- [9] Jensen BC, O'connell TD, Simpson PC. Alpha-1-adrenergic receptors in heart failure: the adaptive arm of the cardiac response to chronic catecholamine stimulation [J]. *J Cardiovasc Pharmacol*, 2014, 63(4): 291-301.
- [10] 崔常贺, 陈 芳, 徐 予. H9c2 细胞在心脏离体模型中研究进展 [J]. 中国实用医刊, 2014, 41(1): 92-94.
- [11] 宋海岩, 周志新, 张玉祥. Notch3 对促进胰腺星形细胞活化的基因表达及信号通路的影响 [J]. 中国应用生理学杂志, 2021, 37(4): 349-353.
- [12] Shimizu I, Minamino T. Physiological and pathological cardiac hypertrophy [J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2016, 97: 245-262.
- [13] Sekiguchi K, Yokoyama T, Kurabayashi M, *et al.* Sphingosylphosphorylcholine induces a hypertrophic growth response through the mitogen-activated protein kinase signaling cascade in rat neonatal cardiac myocytes [J]. *Circ Res*, 1999, 85(11): 1000-1008.
- [14] Robert P, Tsui P, Laville MP, *et al.* EDG1 receptor stimulation leads to cardiac hypertrophy in rat neonatal myocytes [J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2001, 33(9): 1589-1606.
- [15] Qi Y, Li JJ, Di XH, *et al.* Excess sarcoplasmic reticulum-mitochondria calcium transport induced by Sphingosine-1-phosphate contributes to cardiomyocyte hypertrophy [J]. *Biochim Biophys Acta Mol Cell Res*, 2021, 1868(5): 118970.
- [16] Wei L. Lysophospholipid signaling in cardiac myocyte hypertrophy [J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2004, 36(4): 465-468.
- [17] Rong J, Li L, Jing L, *et al.* JAK2/STAT3 pathway mediates protection of metallothionein against doxorubicin-induced cytotoxicity in mouse cardiomyocytes [J]. *Int J Toxicol*, 2016, 35(3): 317-326.
- [18] Shang L, Dong P, Du L, *et al.* SERP1 prevents hypoxia-reoxygenation-induced H9c2 apoptosis through activating JAK2/STAT3 pathway-dependent attenuation of endoplasmic reticulum stress [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2019, 508(1): 256-262.
- [19] Hilfiker-Kleiner D, Hilfiker A, Drexler H. Many good reasons to have STAT3 in the heart [J]. *Pharmacol Ther*, 2005, 107(1): 131-137.
- [20] 孙晓娟, 冯武龙, 侯 娜. JAK2/STAT3 信号通路在运动预适应抗心肌细胞凋亡中的作用 [J]. 中国应用生理学杂志, 2017, 33(5): 393-397.
- [21] Ke M, Tang Q, Pan Z, *et al.* Sphingosine-1-phosphate attenuates hypoxia/reoxygenation-induced cardiomyocyte injury *via* a mitochondrial pathway [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2019, 510(1): 142-148.