

增龄通过下调平滑肌细胞 BK_{Ca} 通道 α 和 β_1 亚基表达改变肠系膜动脉舒缩性

张严焱^{1,2}, 张寒梦¹, 石丽君¹, 赵虎成²

(1. 北京体育大学运动生理教研室, 北京市 100084; 2. 清华大学工程力学系生物力学与医学研究所, 北京市 100084)

[关键词] 增龄; BK_{Ca} 通道; 肠系膜动脉; 平滑肌细胞; 分子表达

[摘要] **目的** 探讨增龄对大鼠肠系膜动脉平滑肌细胞大电导钙激活钾通道 (BK_{Ca}) α 和 β_1 亚基蛋白表达的影响。**方法** 选用不同年龄雄性 Wistar 大鼠, 分为青年组(4~5 月龄)、中年组(15~16 月龄)和老年组(22~24 月龄)。分别进行在体血压监测和离体去内皮血管张力测定, 并采用蛋白免疫印迹分析观察肠系膜动脉平滑肌细胞 BK_{Ca} 通道 α 和 β_1 亚基的表达。**结果** 增龄导致大鼠收缩压和脉压显著增大。去甲肾上腺素诱发各组肠系膜动脉收缩, 并呈浓度依赖性, 增龄导致血管对去甲肾上腺素的敏感性 (pD2) 和最大收缩反应降低; BK_{Ca} 通道选择性阻断剂 Iberiotoxin 诱发各组血管张力增高, 但增高幅度青年组 > 中年组 > 老年组。蛋白免疫印迹分析显示 α 和 β_1 亚基均随增龄下降, 但 β_1 亚基下降幅度显著大于 α 亚基。**结论** 增龄诱导大鼠肠系膜动脉 BK_{Ca} 通道在血管张力维持中的贡献下降, 其分子机制可能为增龄诱发的 α 和 β_1 亚基表达非平行性下调 (β_1 亚基下调更为显著)。

[中图分类号] R363

[文献标识码] A

Aging Changes the Vascular Contractility in the Rat Mesenteric Arteries by Down-regulation of the α - and β_1 -subunit Expression of BK_{Ca} Channels in Smooth Muscle Cells

ZHANG Yan-Yan^{1,2}, ZHANG Han-Meng¹, SHI Li-Jun¹, and ZHAO Hu-Cheng²

(1. Department of Exercise Physiology, Beijing Sport University, Beijing 100084, China; 2. Institute of Biomechanics and Medical Engineering Mechanics, Tsinghua University, Beijing 100084, China)

[KEY WORDS] Aging; BK_{Ca} Channel; Mesenteric Artery; Smooth Muscle Cell; Molecular Expression

[ABSTRACT] **Aim** To investigate the effects of aging on the molecular expression of α - and β_1 -subunit of large-conductance Ca^{2+} -activated K^+ (BK_{Ca}) channels in rat mesenteric arterial smooth muscle cells. **Methods** Young (4~5 months), middle-aged (15~16 months), and old (22~24 months) male Wistar rats were used. In vivo blood pressure and in vitro endothelium-removed mesenteric arterial tension were measured. Immunohistochemistry and Western Blot assay were also conducted. **Results** The systolic blood pressure and pulse pressure were significantly increased with aging. The vascular tone caused by norepinephrine (NE) strongly increased in a concentration dependent manner in each group, and aging reduced the sensitivity to NE in mesenteric arteries (MA). Selective BK_{Ca} channel blocker (Iberiotoxin) induced a marked increase of vascular tension in MA in all three age groups. However, these effects were greatly decreased in old animals. Western Blot showed that the protein expression of BK_{Ca} α - and β_1 -subunit was significantly reduced with aging, and the suppression of β_1 subunits was larger than that of α subunits. **Conclusions** These data suggest that aging induces decrease of molecular expression of α - and β_1 -subunit of BK_{Ca} channels in MA myocytes, in which the suppression of β_1 -subunit is more pronounced than α -subunit. This unparallel downregulation of two subunits may be the mechanism underlying the aging-associated decrease of BK_{Ca} channel contribution in regulating MA basal tone.

[收稿日期] 2014-01-06

[基金项目] 国家自然科学基金(31371201), 新世纪优秀人才支持计划(NCET-11-0850), 北京市自然科学基金(5132017), 国家科技支撑计划课题资助项目(2012BAK21B03)

[作者简介] 张严焱, 硕士研究生, 研究方向为运动与心血管生理学。张寒梦, 硕士研究生, 研究方向为运动与心血管生理学。通讯作者石丽君, 博士, 教授, 硕士研究生导师, 主要从事运动与心脑血管功能调控相关研究, E-mail 为 l_j_shi72@163.com。

增龄是心血管疾病发生的一个独立危险因素,在增龄过程中常常伴随着各种心血管疾病的发生。血管的形态和功能亦随年龄的增长发生各种退行性变化,主要表现为管壁增厚、血管增生导致管腔变窄、弹性纤维减少、内皮细胞功能紊乱、血管硬度增加等^[1]。在血管老化进程中,血管平滑肌上的各种离子通道也将发生增龄性变化。其中,大电导钙激活钾通道(large-conductance calcium-activated K⁺ channels, BK_{Ca})在血管平滑肌细胞的膜电位及血管张力维持中起着重要的负反馈调节作用^[2,3],因此它在衰老及疾病中的变化也受到广泛关注^[4]。血管平滑肌细胞上的BK_{Ca}通道由α亚基和β₁亚基构成。其中4个α亚基构成孔道结构,而β₁亚基则是重要的功能调控单位^[5]。前期研究中我们发现,衰老可导致大鼠肠系膜动脉平滑肌细胞BK_{Ca}通道活性下降,表现为电压敏感性和钙敏感性下降、开放时间缩短而关闭时间延长^[6]。然而,大鼠肠系膜动脉BK_{Ca}通道α和β₁亚基的分子表达随年龄增长究竟发生怎样的变化尚未见文献报道。因此,本研究拟选用青年、中年和老年大鼠,探讨其肠系膜动脉平滑肌细胞BK_{Ca}通道组成亚基的增龄性变化特征,以期衰老导致的外周阻力动脉的舒缩功能改变寻找分子依据。

1 材料与方法

1.1 实验动物与分组

2月龄健康雄性Wistar大鼠购自北京维通利华实验技术有限公司,分别饲养至4~5月龄(青年组)、15~16月龄(中年组)和22~24月龄(老年组),各组18只。国家标准啮齿类动物饲料,分笼饲养,自由饮食,温度维持在22~24℃,相对湿度40%~60%,昼夜节律人工控制光照(光照时间为6:00-18:00)。

1.2 主要药物及溶液配制

anti-K_{Ca}1.1(BK_{Ca})和anti-sloβ₁(KCNMB1)购自Alomone Labs(以色列);辣根过氧化物酶标记羊抗兔IgG购自Proteintech Group(美国);β-actin(R-22):sc-130657购自Santa Cruz(美国);去甲肾上腺素(norepinephrine, NE)、BK_{Ca}通道选择性阻断剂Iberiotoxin(IbTX)、Hepes、EDTA均购自Sigma(美国);NaCl、KCl、MgCl₂、Glucose、NaHCO₃等购自北京化学试剂公司;肝素钠购于北京东胜泰博科技有限公司。Krebs液成分:131.5 mmol/L NaCl,5 mmol/L

KCl,1.2 mmol/L NaH₂PO₄,1.2 mmol/L MgCl₂,2.5 mmol/L CaCl₂,11.2 mmol/L Glucose,13.5 mmol/L NaHCO₃,0.025 mmol/L EDTA,持续充氧(95% O₂ ~ 5% CO₂),pH=7.4。

1.3 大鼠心血管反应性测定

青年组、中年组和老年组各选取6只,进行股动、静脉插管手术^[7]。术后24 h,动物恢复良好,自由饮水进食,在清醒状态下进行基础血压测试。

1.4 离体血管环制备及张力测定

另选取每组各6只大鼠进行肠系膜动脉血管环张力测定^[8]和免疫组织化学实验(见下文)。大鼠腹腔麻醉后断头处死,迅速打开腹腔取肠系膜动脉,在4℃ Krebs液中剔除血管壁周围脂肪和血管分支并用平头针来回穿插去除内皮,制成长4 mm血管环,进行血管收缩张力测定。先用120 mmol/L KCl刺激血管收缩,以净收缩幅度作为100%最大收缩,并用乙酰胆碱(Ach)检测内皮完整性。之后分别再给予去甲肾上腺素(10⁻⁹~10⁻⁵ mol/L)和IbTX(10⁻⁷ mol/L)刺激血管环,观察各组血管张力及反应性的变化。

1.5 蛋白免疫印迹分析

每组选取6只大鼠进行肠系膜动脉BK_{Ca}通道α和β₁亚基蛋白免疫印迹分析。大鼠麻醉断头,分离出肠系膜动脉并除去脂肪,立即投入液氮中暂存,之后转入-80℃冰箱保存。称取100 mg组织,迅速加入500 μL RIPA裂解液,用匀浆器在冰水浴中匀浆10次,每次匀4~5 s,间隔4~5 s。将匀浆液于4℃以13000 ×g离心30 min,取上清液待测。按照常规操作进行蛋白浓度的测定、电泳样品制备、聚丙烯酰胺凝胶(SDS-PAGE)电泳(上样量每孔40~50 μg蛋白)、转膜(BK_{Ca} α亚基300 mA恒流1.5 h;BK_{Ca} β₁亚基250 mA恒流50 min)、5% BSA封闭2 h。加入用0.01 mol/L TBST稀释的一抗[anti-K_{Ca}1.1(BK_{Ca}),1:300;anti-sloβ₁(KCNMB1),1:200;β-actin(R-22):sc-130657,1:300],室温脱色摇床上摇动孵育1 h,4℃孵育过夜;0.01 mol/L TBST漂洗三次,加入用辣根过氧化物酶标记羊抗兔IgG[1:16000(BK_{Ca} α亚基);1:2000(BK_{Ca} β₁亚基);1:4000(β-actin)]孵育1 h。免疫蛋白活性由增强化学发光法检测,并采用Quantity One软件进行半定量分析。

1.6 统计学分析

所有结果均以 $\bar{x} \pm s$ 表示,应用SPSS 17.0、GraphPad Prism 5进行数据统计分析,青年组、中年组和老年组之间比较采用单因素方差分析, $P <$

0.05 为差异有显著性。

2 结 果

2.1 增龄对大鼠体重、心脏重量及基础血压的影响

大鼠体重随增龄显著增加,而心脏重量三个年龄组间差异无显著性。因此,心脏(mg)/体重(g)比值随年龄呈明显下降。清醒、在体动脉血压测试显示,与青年组大鼠相比,中年组和老年组大鼠收缩压明显增高,且老年组显著高于中年组;舒张压则随年龄增加表现为下降,中年组和老年组均显著低于青年组,但中年组与老年组间差异无显著性。脉压与收缩压变化相似,老年组 > 中年组 > 青年组。三组间心率无明显差异($P>0.05$;表 1 和图 1)。

2.2 增龄对大鼠肠系膜动脉血管收缩特性的影响

2.2.1 高钾诱发的肠系膜动脉收缩反应 KCl (120 mmol/L)可诱发各年龄组肠系膜动脉收缩,青年、中年和老年组大鼠的最大收缩张力(Kmax)分别为 1.43 ± 0.07 g、 1.38 ± 0.06 g 和 1.36 ± 0.05 g,三组之间差异无显著性($P>0.05$)。

表 1. 增龄对大鼠体重、心脏重量及基础血压的影响($\bar{x} \pm s, n=6$)

Table 1. Effects of aging on the rat body weight, heart weight and basal blood pressure

分 组	体重(g)	心脏重量(g)	心脏/体重比(mg/g)	收缩压(mmHg)	舒张压(mmHg)	脉压(mmHg)
青年组	578.1 ± 18.6	1.6 ± 0.1	2.8 ± 0.2	130.5 ± 5.4	110.2 ± 4.2	20.3 ± 4.7
中年组	682.4 ± 20.3 ^a	1.7 ± 0.1	2.5 ± 0.1 ^a	135.6 ± 4.6	95.4 ± 4.8 ^a	40.2 ± 4.7 ^a
老年组	733.0 ± 14.7 ^{ab}	1.7 ± 0.2	2.3 ± 0.1 ^{ab}	143.0 ± 3.8 ^a	88.7 ± 4.4 ^a	54.3 ± 4.5 ^{ab}

a 为 $P<0.05$,与青年组比较;b 为 $P<0.05$,与中年组比较。

2.2.2 增龄对去甲肾上腺素诱发的肠系膜动脉收缩反应的影响

去甲肾上腺素($10^{-9} \sim 10^{-5}$ mol/L)可诱发各组肠系膜动脉收缩,并呈浓度依赖性收缩(图 2)。与青年组相比,中年组和老年组肠系膜动脉对去甲肾上腺素的最大收缩反应依次下降。引起 50% 最大收缩反应的去甲肾上腺素浓度的负对数(pD₂)分别是 5.85 ± 0.04 (青年组), 5.47 ± 0.04 (中年组)和 5.34 ± 0.05 (老年组),提示增龄导致大鼠肠系膜动脉对去甲肾上腺素的敏感性降低。

2.2.3 增龄对 IbTX 诱发的肠系膜动脉收缩反应的影响

BK_{Ca}通道特异性阻断剂 IbTX (10^{-7} mol/L)可诱发大鼠肠系膜动脉收缩,与青年组相比($28.6\% \pm 3.6\%$ Kmax),中年组和老年组大鼠血管收缩反应明显降低($18.2\% \pm 2.4\%$ Kmax, $8.3\% \pm 1.1\%$ Kmax) ($P<0.05$)。提示随年龄增长,BK_{Ca}通道在血管基础张力维持中的贡献率下降(图 3)。

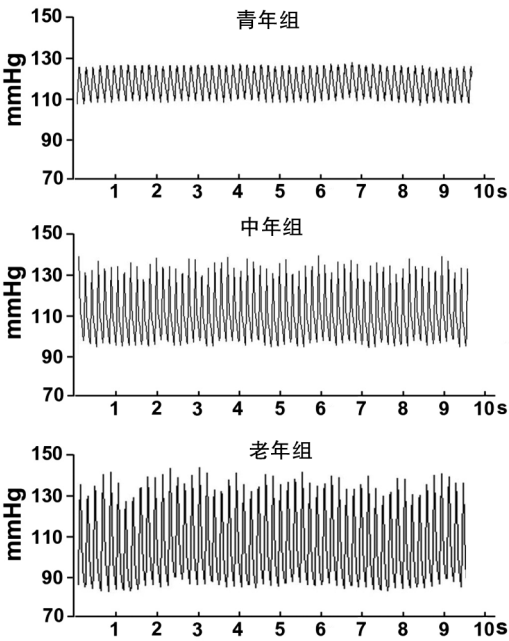


图 1. 各年龄组大鼠基础血压记录图
Figure 1. The basal blood pressure in rats at different age groups

2.3 增龄对大鼠肠系膜动脉 BK_{Ca}通道 α 和 β₁ 亚基表达的影响

分别采用 α 和 β₁ 亚基的特异性抗体可以检测到 125 kDa(α 亚基)和 28 kDa(β₁ 亚基)的蛋白表达。与青年组相比,中年组和老年组 α 和 β₁ 亚基表达均显著下降;与中年组相比,老年组 β₁ 亚基显著下降($P<0.05$),而 α 亚基却差异无显著性($P>0.05$)。因此,β₁/α 随增龄呈现显著性下降($P<0.05$;表 2 和图 4)。此结果提示,增龄可诱发肠系膜动脉 BK_{Ca}通道 α 和 β₁ 亚基显著下降,但 β₁ 下降较 α 亚基更为显著。

3 讨 论

本研究以青年组、中年组和老年组大鼠的肠系膜动脉为研究对象,首次报道了其平滑肌细胞 BK_{Ca}

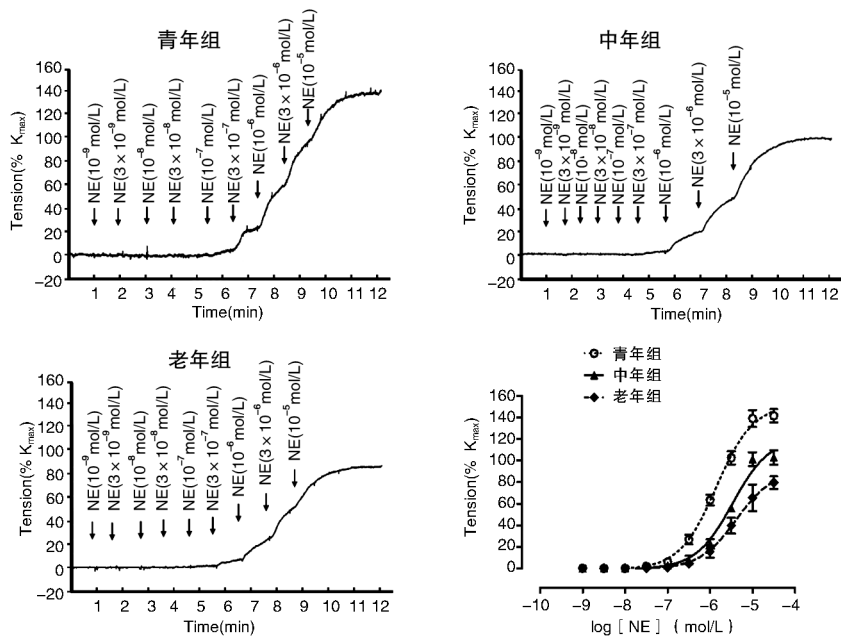


图 2. 增龄对去甲肾上腺素诱发的肠系膜动脉收缩反应的影响($n=6$)
Figure 2. Effects of aging on NE-induced mesenteric arterial contraction($n=6$)

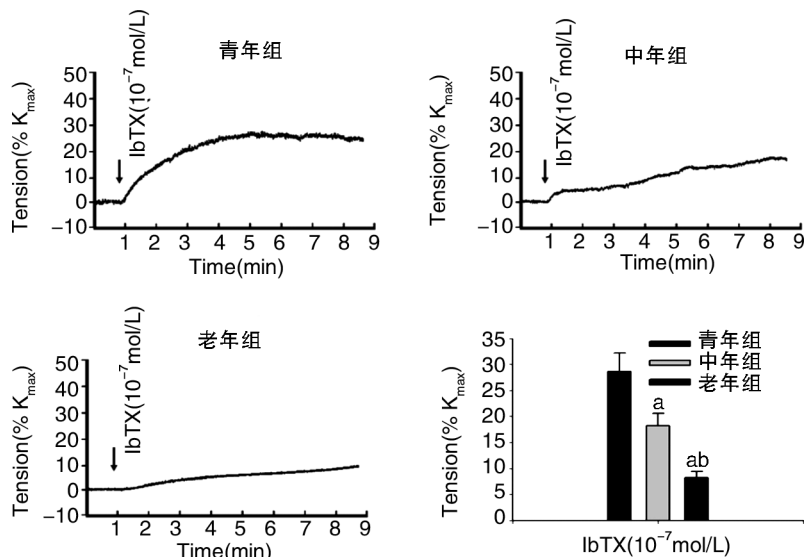


图 3. 增龄对 IbTX 诱发的肠系膜动脉收缩反应的影响($n=6$)
Figure 3. Effects of aging on IbTX-induced mesenteric arterial contraction($n=6$)

表 2. 增龄诱导肠系膜动脉平滑肌细胞 BK_{Ca} 通道 α 亚基和 β_1 亚基蛋白表达下降($\bar{x} \pm s, n=6$)

Table 2. Aging decreased protein expression of α - and β_1 -subunit of BK_{Ca} channel in mesenteric arterial myocytes

蛋白	青年组	中年组	老年组
α 亚基	1.00 \pm 0.00	0.86 \pm 0.90 ^a	0.78 \pm 0.10 ^a
β_1 亚基	1.00 \pm 0.00	0.55 \pm 0.10 ^a	0.33 \pm 0.10 ^{ab}
β_1/α	1.00 \pm 0.00	0.64 \pm 0.11 ^a	0.42 \pm 0.09 ^{ab}

a 为 $P<0.05$, 与青年组比较; b 为 $P<0.05$, 与中年组比较。

通道 α 亚基和 β_1 亚基蛋白表达随增龄出现非 1:1 下降的现象, β_1 亚基下调较 α 亚基更为显著。

在增龄所致的众多组织器官的退行性变中, 血管衰老是人体衰老的关键始发因素。血管老化加快了机体衰老的进程, 不仅容易进展为动脉粥样硬化, 影响中枢和器官的供血功能以及心脏功能, 而且还易诱发多种内脏疾病的发生, 例如冠心病、心肌梗死、脑出血、肾性高血压、肾功能衰竭等^[9,10]。衰老导致的动脉硬化, 使收缩压显著升高, 舒张压下降、不变或轻度升高, 从而使脉压显著增大。因

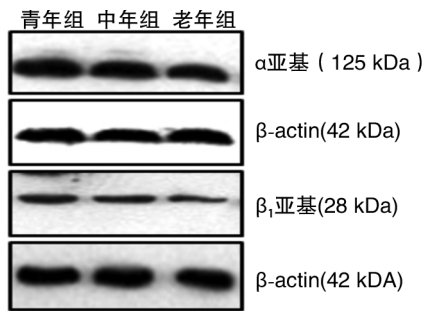


图 4. Western Blot 检测增龄对肠系膜动脉平滑肌细胞 BK_{Ca} 通道 α 亚基和 β_1 亚基蛋白表达的影响

Figure 4. Effect of aging on protein expression of α - and β_1 -subunit of BK_{Ca} channel in mesenteric arterial myocytes by Western Blot

此,有研究表明脉压对心血管疾病的预测性更强,是心血管疾病发生的强预测因子,预测效果明显强于收缩压和舒张压^[11]。本研究的在体血压监测结果显示中年组和老年组大鼠基础收缩压和脉压均显著高于青年组,且老年组又较中年组显著增高,均符合血压的增龄性变化特点。此结果表明本实验中所建立的增龄大鼠模型成功。

去甲肾上腺素是一种血管收缩剂,它通过与血管平滑肌上的 α 肾上腺素能受体结合而发挥生物学效应。有研究表明,增龄可导致血管平滑肌上 α 肾上腺素能受体数量下降,从而使血管对去甲肾上腺素的敏感性下降,导致血管收缩幅度下降^[12];但亦有研究表明增龄并不会影响 α 肾上腺素能受体的数量,血管收缩幅度降低是因为血管管壁结构改变所致^[13]。本实验发现,去甲肾上腺素诱发肠系膜动脉收缩,并呈浓度依赖性。而随着年龄的增加,大鼠肠系膜动脉对去甲肾上腺素的敏感性(pD₂)和最大收缩反应都显著降低。

BK_{Ca} 通道在血管平滑肌细胞上分布广泛且表达密度最高,是细胞运载外向电流的优势通道,在小动脉肌源性紧张和血管平滑肌舒缩调节中具有重要意义。BK_{Ca} 通道的门控机制表现为对胞内 [Ca²⁺]_i 的敏感性和对膜电位的依赖性,因此,在膜去极化和细胞外 Ca²⁺ 内流导致肌浆网上的 Ryanodine 受体的 Ca²⁺ 释放时 BK_{Ca} 通道被激活,从而使细胞膜超极化,继而通过抑制 L 型钙通道,降低细胞内 Ca²⁺ 浓度,引起平滑肌舒张,呈现出一种负反馈调节机制^[14,15]。肠系膜动脉为机体主要的外周阻力血管,其舒缩功能对血压起至关重要的作用。为探讨 BK_{Ca} 通道在肠系膜动脉基础张力维持中随增龄出现的变化,我们进行了离体去内皮血管环张力

测定实验。实验发现,BK_{Ca} 通道特异性阻断剂 IbTX (10⁻⁷ mol/L)可诱发各组肠系膜动脉张力增加,幅度为青年组 > 中年组 > 老年组。此结果提示随年龄增长,BK_{Ca} 通道在维持血管基础张力中的贡献率显著下降,这也是增龄导致血管张力增高和外周阻力增大的重要原因。

血管平滑肌上的 BK_{Ca} 通道由构成孔道结构的 α 亚基和具有调控功能的 β_1 亚基构成^[5]。 β_1 亚基能增强 BK_{Ca} 通道的 Ca²⁺ 敏感性和电压敏感性。有研究发现, β_1 亚基敲除的小鼠平滑肌细胞上 BK_{Ca} 通道与钙火花失耦联导致细胞膜去极化、血管收缩、血压升高和左心室肥厚^[16]。另外, β_1 亚基敲除的小鼠脑动脉平滑肌细胞的 BK_{Ca} 通道表现出对 Ca²⁺ 的敏感性降低,脑动脉的舒张能力下降^[17]。有关血管增龄变化的研究报道,某些血管床随年龄增长可出现 BK_{Ca} 通道功能和表达的下降,如在大鼠和人类的冠状动脉,BK_{Ca} 通道 α 亚基蛋白表达下降^[18,19],且在转录水平发现 β_1 亚基与 α 亚基表达平行下降;但是肺动脉和脑动脉平滑肌细胞 BK_{Ca} 通道表达无显著性变化^[20]。这提示增龄对血管平滑肌细胞 BK_{Ca} 通道的影响是具有组织特异性的。

我们前期采用膜片钳内面向外单通道记录模式对大鼠肠系膜动脉平滑肌细胞 BK_{Ca} 通道的生物物理特性进行了观察。研究发现衰老可使其 BK_{Ca} 通道的功能(活性)下降,主要表现为电压敏感性和钙敏感性下降、平均开放时间缩短和平均关闭时间延长^[6]。另外,采用药理学实验发现,衰老大鼠肠系膜动脉平滑肌细胞 BK_{Ca} 通道对 Tamoxifen 的敏感性下降^[6]。Tamoxifen 是一种选择性雌激素受体拮抗剂,其对 BK_{Ca} 通道的激活必须依赖于 β_1 亚基存在,因此具有检测 β_1 亚基功能的作用。如上所述, β_1 亚基不仅可以明显地增加 BK_{Ca} 通道的电压敏感性和钙敏感性^[21,22],也可以增加对 Tamoxifen^[23]、雌激素和 DHS-1 的敏感性^[24]。衰老伴随的肠系膜动脉平滑肌细胞 BK_{Ca} 通道对 Tamoxifen 的敏感性减弱这一实验现象提示,衰老很可能通过显著降低 β_1 亚基功能(即 α 亚基和 β_1 亚基非 1:1 下降)使 BK_{Ca} 通道的电压敏感性和钙敏感性下降,平均开放概率降低。

为验证此推测,本研究中我们采用蛋白免疫印迹分析方法观察了增龄对肠系膜动脉 BK_{Ca} 通道 α 亚基和 β_1 亚基蛋白表达的影响。在细胞水平,实验发现 BK_{Ca} 通道 α 亚基和 β_1 亚基表达均随年龄增长逐渐减少,但 β_1 亚基下降得更为明显。 β_1/α 随年龄增长而下降,青年组 > 中年组 > 老年组。此结果

证实了我们的推测,即增龄可诱发肠系膜动脉 BK_{Ca}通道 α 和 β_1 亚基蛋白表达显著下降,但 β_1 下降较 α 亚基更为显著;此结果亦为 BK_{Ca}通道电生理功能学实验提供了重要的分子依据。在增龄过程中, BK_{Ca}通道蛋白结构、功能、代谢等的变化可能是由于机体内在的或外在的因素通过某种机制如氧化作用、突变等引起的,这些机制改变了血管平滑肌对内源性血管活性物质及药物的反应性,致使 BK_{Ca}通道的功能、活性和数目发生变化,导致了血管舒张功能的下降^[25,26],最终成为心血管疾病发病的重要因素。

本研究未在 mRNA 水平上对增龄肠系膜动脉 BK_{Ca}通道 α 和 β_1 亚基进行检测,此为实验的不足之处。mRNA 水平和蛋白水平的改变以及两者之间的关联将能更全面地解释增龄诱导大鼠肠系膜动脉 BK_{Ca}通道功能改变的机制,在今后的研究中我们将进一步深入探讨。

4 结 论

增龄诱导大鼠肠系膜动脉 BK_{Ca}通道在血管张力维持中的贡献下降,其分子机制可能为增龄诱发的 α 和 β_1 亚基表达非平行性下调,即 β_1 亚基下调较 α 亚基更为显著。

[参考文献]

[1] Maruyama Y. Aging and arterial-cardiac interactions in the elderly [J]. Int J Cardiol, 2012, 155: 14-19.

[2] Brayden JE, Nelson MT. Regulation of arterial tone by activation of calcium-dependent potassium channels [J]. Science, 1992, 256: 532-535.

[3] Nelson MT, Quayle JM. Physiological roles and properties of potassium channels in arterial smooth muscle [J]. Am J Physiol Cell Physiol, 1995, 268: C799-C822.

[4] Carvalho-de-Souza JL, Varanda WA, Tostes RC, et al. BK channels in cardiovascular diseases and aging [J]. Aging Dis, 2013, 4 (1): 38-49.

[5] Brenner R, Peréz GJ, Bonev AD, et al. Vasoregulation by the betal subunit of the calcium-activated potassium channel [J]. Nature, 2000, 407: 870-876.

[6] 刘佰林. 有氧运动对衰老大鼠肠系膜动脉平滑肌 BK_{Ca}通道门控特性的影响[D]. 北京:北京体育大学, 2013; 22-28.

[7] 石丽君, 李珊珊, 熊开宇, 等. 有氧运动对大鼠心血管和胸主动脉平滑肌的功能重塑作用[J]. 北京体育大学学报, 2011, 34 (11): 47-50.

[8] 刘晓东, 石丽君, 王德刚. 运动对衰老大鼠心血管功能和肠系膜动脉反应性的影响[J]. 中国运动医学杂志, 2013, 32 (4): 319-325.

[9] Lakatta EG. Arterial and cardiac aging: major shareholders in cardi-

ovascular disease enterprises; Part III: cellular and molecular clues to heart and arterial aging [J]. Circulation, 2003, 107 (3): 490-497.

[10] Gerard L, Adrian C, David G, et al. Arterial aging and arterial disease: interplay between central hemodynamics, cardiac work, and organ flow-implications for CKD and cardiovascular disease [J]. Kid Int Suppl, 2011, 1: 10-12.

[11] Franklin SS, William G, Wong ND, et al. Hemodynamic patterns of age-related changes in blood pressure [J]. Circulation, 1997, 96: 308-315.

[12] Wanstall JC, O'Donnell SR. Inhibition of norepinephrine contractions by diltiazem on aorta and pulmonary artery from young and aged rats: influence of alpha-adrenoceptor reserve [J]. J Pharmacol Exp Ther, 1988, 245(3): 1 016-020.

[13] Benetos A, Huguot F, Albaladejo P, et al. Role of adrenergic tone in mechanical and functional properties of carotid artery during aging [J]. Am J Physiol, 1993, 265 (4): 1 132-138.

[14] Hui X, Ralph EW, Panduranga Y, et al. Pharmacological studies of BK and L-type Ca²⁺ channel function in mesenteric arteries and veins from obese patients [J]. FASEB J, 2012, 26: 870.

[15] Gregor S, J rg F, Anika S, et al. Smooth muscle BK channel activity influences blood pressure independent of vascular tone in mice [J]. J Physiol, 2014, 272880.

[16] Gollasch M, Tank J, Luft FC, et al. The BK channel β_1 subunit gene is associated with human baroreflex and blood pressure regulation [J]. J Hypertens, 2002, 20: 927-933.

[17] 帅锋利, 刘远厚. 大电导钙激活钾通道 β_1 亚基与心血管疾病 [J]. 国际检验医学杂志, 2006, 27 (5): 463-465.

[18] Marijic J, Li Q, Song M, et al. Decreased expression of voltage- and Ca²⁺-activated K⁺ channels in coronary smooth muscle during aging [J]. Cir Res, 2001, 88: 210-216.

[19] Nishimaru K, Eghbali M, Rong L, et al. Functional and molecular evidence of MaxiK channel β_1 subunit decrease with coronary artery ageing in the rat [J]. J Physiol, 2004, 559: 849-862.

[20] Nishimaru K, Eghbali M, Stefani E, et al. Function and clustered expression of maxiK channels in cerebral myocytes remain intact with aging [J]. Exp Gerontol, 2004, 39: 831-839.

[21] Cox DH, Aldrich RW. Role of the β_1 subunit in large conductance Ca²⁺-activated K⁺ channel gating energetics: mechanisms of enhanced Ca²⁺ sensitivity [J]. J Gen Physiol, 2000, 116: 411-432.

[22] Bao L, Cox DH. Gating and ionic currents reveal how the BK_{Ca} channel's Ca²⁺ sensitivity is enhanced by its β_1 subunit [J]. J Gen Physiol, 2005, 126: 393-412.

[23] Dick GM, Rossow CF, Smirnov S, et al. Tamoxifen activates smooth muscle BK channels through the regulatory betal subunit [J]. J Biol Chem, 2001, 276: 34 594-599.

[24] Valverde MA, Patricio Rojas, Julio Amigo, et al. Acute activation of maxi-K channels (hSlo) by estradiol binding to the β subunit [J]. Science, 1999, 285: 1 929-931.

[25] 罗兴林, 李秀琴. 血管平滑肌钾离子通道的增龄变化及其研究[J]. 国外医学(心血管疾病分册), 2003, 30 (5): 274-276.

(此文编辑 许雪梅)