

药理与临床

藤黄酸对 K562 细胞 hERG 钾通道蛋白的调控作用

崔国惠, 舒文秀, 吴青, 陈燕*

(11 华中科技大学同济医学院附属协和医院血液病研究所, 湖北 武汉 430022)

摘要:目的 探讨藤黄酸对白血病细胞系 K562 增殖、凋亡、细胞周期的影响, 并观察藤黄酸对 hERG 钾通道蛋白的调控作用。方法 K562 细胞以不同浓度藤黄酸 (0.125~8.0 μmol/L) 处理 0~72 h 后, MTT 法观察藤黄酸对 K562 细胞生长抑制的情况, Annexin V/PI 双标法及透射电镜检测细胞凋亡, PI 单染法检测细胞周期分布, Western blotting、RT-PCR 法分别检测藤黄酸对 K562 细胞内 hERG 通道的调控作用。结果 藤黄酸能明显抑制 K562 细胞增殖, 具有时间和剂量依赖性, 其 24 h 的 IC₅₀ 为 (2.637±0.208) μmol/L。此外, 藤黄酸以浓度依赖性方式诱导 K562 细胞凋亡, 并伴随明显的凋亡细胞形态学改变, 而藤黄酸的凋亡诱导效应可能与其诱导 K562 细胞周期阻滞于 G₀/G₁ 期有关。hERG 钾通道蛋白在白血病 K562 细胞中表达量较高, 藤黄酸对 hERG 钾通道蛋白及其表达水平均有不同程度的抑制作用, 该抑制作用呈明显的量效关系 (P<0.01)。结论 藤黄酸可通过下调 hERG 钾通道蛋白的表达发挥较强的抗白血病效应, hERG 钾通道有望成为白血病诊治的新靶标。

关键词: 藤黄酸; hERG; 白血病; K562 细胞; 凋亡

中图分类号: R286.91

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2009)06-0915-05

Regulation of gambogic acid on hERG potassium channel protein of K562 leukemia cells

CUI Guohui, SHU Wenxiu, WU Qing, CHEN Yan

(11 Institute of Hematology, Union Hospital, Tongji Medical College of Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430022, China)

Abstract: Objective To explore the effects of gambogic acid (GA) on proliferation, apoptosis, and cell cycle distribution of leukemia cells K562, as well as to observe its regulation on the expression of human ether2-gamma-go related genes (hERG) protein. Methods K562 Cells were treated with various concentration of GA (0.125-8.0 μmol/L) for 0-72 h. MTT Assay was used to evaluate the inhibition of GA on the growth of K562 cells. Cell apoptosis was detected through both Annexin2V/PI double2labeled cytometry and transmission electron microscopy (TEC). Cell cycle regulation was studied by a propidium iodide method. Western blotting and RT2PCR technologies were applied to assess the regulation on the expression level of hERG in K562 cells. Results GA presented striking growth inhibition on the proliferation of K562 cells in vitro in a time2 and dose2dependent manner. The IC₅₀ value of GA for 24 h was (2.637±0.208) μmol/L. Moreover, GA induced K562 cells apoptosis in a dose2dependent manner and accompanied with the obvious morphological changes of apoptosis. Meanwhile, the apoptosis induction potency of GA on K562 cells might correlate well with its effect on the G₀/G₁ cell cycle arrest. Overexpression of hERG potassium channel protein was found in K562 cells, while GA could downregulate it at both protein and mRNA level in a dose2dependent manner (P<0.01). Conclusion GA could exhibit its antileukemia effects partially through the downregulation of the protein expression level of hERG potassium channel in K562 cells, which suggests that hERG potassium channel might be a new target for future therapy of leukemia.

Key words: gambogic acid (GA); human ether2-gamma-go related genes (hERG); leukemia; K562 cell apoptosis

离子通道广泛存在于所有细胞中, 参与细胞多种生理功能, 肿瘤的发生也与离子通道功能失调相

关。近年来, 研究者将钾通道蛋白的表达和已知的癌基因活性联系起来, 认为某些钾通道蛋白与肿瘤

* 收稿日期: 20081213

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (30472267)

作者简介: 崔国惠 (1963), 女, 湖北宜昌市人, 副教授, 博士, 主要从事恶性血液病研究。

Tel: (027) 85726387 E2mail: ghui@medmail.com.cn

* 通讯作者: 陈燕 Tel: (027) 85726387 E2mail: yanchen@public.wh.hb.cn

的发生发展密切相关^[1,2]。由 hERG (human ether2 2go2go related genes) 基因编码的 hERG 钾通道蛋白作为一种特殊类型的电压门控性离子通道,在哺乳动物细胞中,表现出很强的内向整流活性,故而在维持心脏正常节律性和神经元的分化及生理功能方面发挥重要作用^[3]。然而,大量研究表明,hERG 蛋白选择性表达于多种组织来源的肿瘤细胞,而在相应来源的正常细胞中不表达。除此以外,hERG 蛋白对肿瘤的生物行为产生广泛的影响,与肿瘤细胞增殖、凋亡、分化及侵袭密切相关^[4-6]。据报道,hERG 蛋白可影响肿瘤细胞的膜电位,使其处于去极化状态,从而有利于肿瘤细胞的存活、增殖和侵袭^[6]。因此,hERG 钾通道将成为一个很有前景的肿瘤治疗靶点,在筛选特异性分子靶向药物过程中发挥重要作用。藤黄酸 (gambogic acid, GA) 是藤黄的主要活性成分。藤黄酸很早即被发现具有抗炎、抗肿瘤等多种药理作用,对肝癌、结肠癌、肺癌、白血病、食管癌、脑部肿瘤和膀胱癌等许多肿瘤细胞的生长、增殖都有抑制作用^[7,8]。但有关其抗肿瘤机制报道较少,其对 hERG 钾通道蛋白的调控作用尚未见报道。本实验以 hERG 钾通道作为分子靶点,探讨不同浓度藤黄酸对其调控作用及与藤黄酸抗白血病效应的相关性。

1 材料与方 法

1.1 药物与试剂: 藤黄酸,质量分数大于 95%,购自美国 Calbiochem 公司,溶于二甲基亚砜 (DM2 SO), - 20 e 保存,临用前用 RPMI 1640 培养液稀释到终浓度。RPMI 1640 培养基、胎牛血清均源于美国 Gibco BRL 公司。Annexin2V/PI 凋亡试剂盒购自深圳晶美生物工程有限公司。兔抗人 hERG1 单克隆抗体购自 Sigma 公司,HRP 标记羊抗兔二抗购自美国 Santa Cruz 公司产品,BioRad 蛋白定量试剂盒、Trizol 试剂盒、ECL 发光试剂盒均源于瑞典 Amersham 公司。RT2PCR 试剂盒购自 Fer2 mentas 公司,引物由上海 Sangon 公司合成。

1.2 细胞系及细胞培养: 人髓系白血病细胞 K562 为同济医学院免疫教研室惠赠。在含有 10% 灭活胎牛血清、青霉素 100 U/ mL、链霉素 100 Lg/ mL 的 RPMI 1640 培养液,37 e、5% CO₂、水饱和湿度条件下培养。每 1~2 d 换液传代 1 次,取细胞活性大于 98% 的对数生长期细胞进行实验。

1.3 MTT 法检测藤黄酸对 K562 细胞增殖的影响: 取对数生长期的 K562 细胞,以每孔 180 LL,浓度为 2@10⁵/ mL 接种于 96 孔板中,加入 20 LL 不

同浓度的藤黄酸 (0.125~ 81.0 Lmol/ L),以含等体积 DMSO 的培养液作为空白对照,每个药物浓度组设 3 个复孔,每孔总体积 200 LL。置 5% CO₂、37 e 培养箱培养 24~ 72 h 后,每孔加入 5 mg/ mL 的 MTT 20 LL,37 e 继续孵育 4 h,小心吸去培养上清液,每孔加入 150 LL 的 DMSO 溶液,振荡 10 min,使结晶充分溶解后于 BioRad M450 酶标仪测定 492 nm 波长处的各孔吸光度 (A) 值,实验重复 3 次,计算细胞增殖抑制率。

增殖抑制率 = (1 - 实验组 A / 对照组 A 值) @100%

1.4 Annexin2V/PI 双染检测细胞凋亡: 按试剂盒说明书进行操作,分为实验组和单标对照组。收集不同浓度藤黄酸处理后的 K562 细胞及空白对照组细胞,用 4 e 预冷的 PBS 洗涤 2 次,然后以 1 @10⁶/ mL 的细胞密度重悬于 100 LL 的 1 @结合缓冲液中,加入 5 LL Annexin2V 和 10 LL PI 染液,轻轻混匀,避光室温反应 15 min,再加入 300 LL 上述缓冲液,于 1 h 内流式细胞仪检测。

1.5 透射电镜观察: 收集药物处理 24 h 的细胞于 1.5 mL 的 EP 管中,离心,去上清,加入 4 e 预冷的 2% 戊二醛固定 2 h,用 PBS 洗涤 3 遍,洗毕用 1% 锇酸固定 1~2 h,用乙醇梯度脱水,100% 丙酮浸透,环氧树脂包埋,制片、染色,置透射电子显微镜 (H27500, Hitachi, 日本) 下观察。

1.6 流式细胞术检测细胞周期: 收集各处理组的 K562 细胞 1@10⁶ 个,以 PBS 缓冲液清洗 2 次,用 70% 冷乙醇 4 e 固定过夜,离心,用 PBS 洗 1 次,加入 20 LL 的 RNase A 于 37 e 水浴 30 min,再加入 300~ 500 LL 的 PI 染液混匀,至 4 e 避光 30 min,用流式细胞仪进行检测,记录激发波长 488 nm 处的红色荧光。

1.7 半定量 RT2PCR 法检测藤黄酸对 K562 细胞 hERG 基因表达的影响: 应用 Trizol 试剂盒提取细胞总 RNA,按说明书合成 cDNA。以细胞 cDNA 的第一链为模板,进行 PCR 反应。PCR 反应引物由上海 Sangon 公司合成,其中,hERG 基因上游引物 5'2CAGCGGCTGT SCTGGGCACAG23',下游引物 5'2CAGAAAGTGGTCGAGAACT23',扩增片段为 345 bp; 3'磷酸甘油醛脱氢酶基因 (GAPDH) 上游引物 5'2GATTTGGTCGTATTGGGGCGC23',下游引物 5'2CAGAGATGACCCTTTT2 GCTCC23',扩增片段为 623 bp。PCR 扩增条件为 95 e 预变性 5 min,94 e、1 min,55 e、50 s,72 e、1 min,循环 35 次,72 e、10 min 结束反应。

PCR 产物经 11.5% 琼脂糖凝胶电泳, 紫外照相并进行扫描分析, 以 hERG/ GAPDH 进行 hERG 基因表达水平的半定量分析。

11.8 Western 印迹方法检测: 收集不同浓度藤黄酸处理的 K562 细胞以及空白对照组细胞, 加入 100 LL 预冷的细胞裂解液 (按分子克隆方法配置) 冰上裂解 30 min, 提取细胞总蛋白, 以 Lowry 法进行蛋白定量。常规制胶、上样, 进行蛋白质电泳, 然后转膜。加入兔抗人 hERG1 单抗 (1 B 1 500), 4 e 孵育过夜。漂洗后再加入 HRP2 标记的羊抗兔 IgG (1 B 2 000), 于 37 e 摇床温育 1 h。最后用 ECL 化学发光试剂显色, 进行 X 线片曝光显影, 计算机软件处理分析。每个浓度组重复 3 次, 取均值代表测定结果。

11.9 统计学分析: 实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间比较采用单因素方差分析, 统计学软件 SPSS 11.5 分析。

2 结果

21.1 藤黄酸对 K562 细胞增殖的影响: 由图 1 可见, 分别以 0.125、0.25、0.5、1.0、2.0、4.0、8.0 Lmol/L 的藤黄酸作用 K562 细胞 24~72 h 后, 各药物组的细胞增殖活性均低于空白对照组细胞, 但在浓度低于 0.5 Lmol/L 时, 藤黄酸对 K562 细胞的增殖活性影响很小, 而当藤黄酸浓度达到 1.0 Lmol/L 时, 其增殖抑制活性明显增强, 具有统计学差异 ($P < 0.05$)。并且, 随着藤黄酸药物浓度的增加和作用时间的延长, 这种增殖抑制作用明显增强, 呈现明显的时效和量效关系。其 24 h 的 IC_{50} 值是 (2.637 ± 0.208) Lmol/L。

21.2 藤黄酸对 K562 细胞凋亡的影响: 从透射电镜结果可以看出, 2.0 Lmol/L 藤黄酸处理 24 h 的 K562 细胞中见较多典型的凋亡形态学改变: 细胞膜表面微绒毛消失, 细胞膜表面出泡, 细胞质密度增加, 染色体凝集、边缘化, 核凝集以及凋亡小体形成等 (图 2)。随后, 采用 Annexin2V / PI 双标法定量

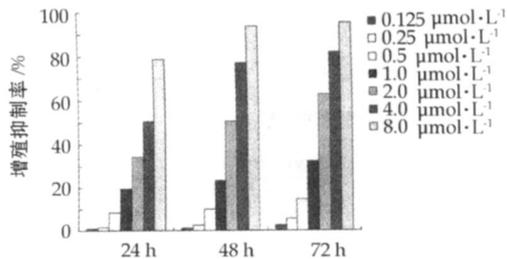


图 1 藤黄酸对 K562 细胞增殖抑制的时效与量效关系 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

Fig. 1 Time-effect and dose-effect relationship of GA inhibition on proliferation of K562 cells ($\bar{x} \pm s, n=3$)

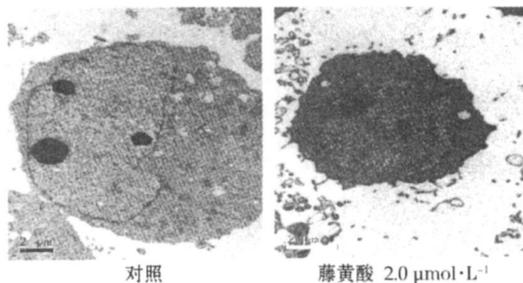


图 2 透射电镜检测藤黄酸对 K562 细胞凋亡形态的改变
Fig. 2 Apoptosis morphological changes of K562 cells induced by GA with TEC

检测藤黄酸对 K562 细胞凋亡的影响, 结果表明, 随着藤黄酸作用浓度的增加, K562 细胞发生凋亡的细胞比例逐渐增加 (表 1)。0.5 Lmol/L 藤黄酸作用 24 h 后, 其总凋亡率为 (91.83 ± 0.32)%, 当藤黄酸浓度为 2.0 Lmol/L 时, 其总凋亡率达 (191.65 ± 11.56)%。

21.3 藤黄酸对 K562 细胞周期及凋亡率的影响: 不同浓度藤黄酸与 K562 细胞作用 24 h 后, 细胞周期分布也随着发生改变, 见图 3。随着藤黄酸浓度的增加, G_0/G_1 期细胞比例逐渐增加, 而 S 期细胞比例呈剂量依赖性减少, 相对而言, 藤黄酸对 G_2/M 期细胞作用并不明显 (表 1)。表明藤黄酸主要诱导 K562 细胞周期阻滞于 G_0/G_1 期。

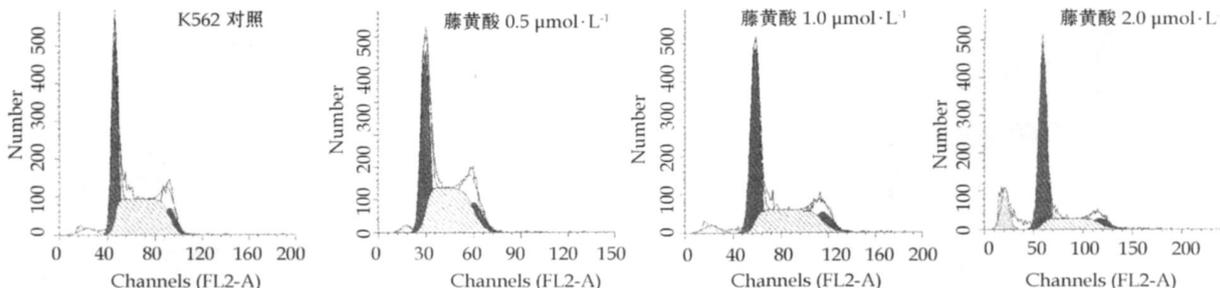


图 3 藤黄酸对 K562 细胞周期分布的影响

Fig. 3 Effects of GA on K562 cells cycle distribution

表 1 藤黄酸对 K562 细胞周期分布和凋亡的影响
($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 1 Effects of GA on K562 cells cycle distribution and apoptosis ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

藤黄酸/ (Lmol# L ⁻¹)	细胞周期/ %						凋亡率/ %
	G ₀ /G ₁		S		G ₂ /M		
0 (对照)	39.95 ± 11.88	49.45 ± 11.67	10.60 ± 11.33	3.19 ± 0.63			
0.5	40.48 ± 21.34	46.19 ± 11.86	13.33 ± 11.84	9.83 ± 0.32			
1.0	51.40 ± 11.96*	37.67 ± 21.03*	10.93 ± 0.98	14.05 ± 11.08**			
2.0	68.58 ± 21.89*	23.29 ± 11.52*	8.13 ± 11.02	19.65 ± 11.56**			

与对照组比较: ** P < 0.01

** P < 0.01 vs control group

2.4 藤黄酸对 K562 细胞 hERG 钾通道蛋白的调控作用: 和骨髓正常单个核细胞 (bone marrow mononuclear cells, BMMNC) 相比, K562 细胞中存在较高表达水平的 hERG 钾通道蛋白, 经 0.5~2.0 Lmol/L 的藤黄酸处理 24 h 后, 其蛋白表达水平呈浓度依赖性地下降, 差异显著 (P < 0.01)。为了进一步明确藤黄酸对 hERG 蛋白的调控作用, 在基因转录水平检测了 hERG 蛋白 mRNA 量的变化。同样, hERG 钾通道蛋白的 mRNA 水平亦呈剂量依赖性地下调, 并明显高于正常对照的单个核细胞内 hERG 的基因表达水平 (图 4 和 5)。半定量结果见表 2。

表 2 藤黄酸对 K562 细胞 hERG 钾通道蛋白和 mRNA 表达的调控作用 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 2 Regulation of GA on protein and mRNA expression of hERG potassium channel in K562 cells ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

组别	剂量/(Lmol # L ⁻¹)	蛋白表达 (hERG/GAPDH)	基因表达 (hERG/GAPDH)
BMMNC (正常对照)	-	0.19 ± 0.02	0.13 ± 0.14
藤黄酸 (空白对照)	0	0.89 ± 0.09	0.92 ± 0.06
	0.5	0.85 ± 0.08	0.87 ± 0.04
	1.0	0.59 ± 0.06*	0.67 ± 0.04**
	2.0	0.35 ± 0.04**	0.21 ± 0.03**

与空白对照组比较: ** P < 0.01

** P < 0.01 vs blank control group

细胞的增殖, 该抑制作用与药物作用时间和药物作用浓度呈正相关。同时, 藤黄酸对 K562 细胞具有较强的诱导凋亡作用, 经 0.5~2.0 Lmol/L 藤黄酸处理 24 h 后, K562 细胞凋亡率明显增加, 并出现典型的凋亡细胞形态学改变。而藤黄酸的凋亡诱导效应可能与其诱导的周期阻滞作用密切相关。随着藤黄酸作用浓度的增加, G₀/G₁ 期细胞比例逐渐增加, 相应的 S 期细胞比例逐渐减少, 而藤黄酸对 G₂/M 期细胞比例影响甚微。推测藤黄酸主要通过阻滞 K562 细胞于 G₀/G₁ 期发挥凋亡诱导效应, 这和前期的报道一致^[7,8]。在人胃腺癌 SGC27901 细胞中, 藤黄酸同样能以周期依赖性方式诱导细胞凋亡, 但主要是诱导 SGC27901 细胞周期阻滞于 G₂/M 期^[9]; 而在人乳腺癌 T47D 细胞中, 藤黄酸则以一种周期非依赖方式诱导细胞发生凋亡^[10]。可见, 对于不同的肿瘤细胞系, 藤黄酸的抗肿瘤机制不尽相同。

离子通道蛋白在正常细胞和肿瘤细胞间的差异表达逐渐成为肿瘤学界研究的热点。而在众多研究的离子通道蛋白中, 由 hERG 基因编码的 hERG 钾通道蛋白选择性地表达于多种组织来源的肿瘤细胞系及原代肿瘤细胞中, 并与肿瘤细胞的增殖、分化、凋亡、侵袭以及化疗敏感性密切相关, 被认为是肿瘤细胞比较特异的分子靶点。一般情况下, hERG 基因只在胚胎发育的早期阶段表达, 随后便被内向整流钾通道电流所取代^[11]。hERG 钾通道是典型的电压门控性离子通道, 在哺乳动物中, hERG 由于电压依赖性的快速灭活而表现出很强的内向整流活性, 因而在维持心脏正常节律性和神经元的分化及生理功能方面发挥重要作用^[3,12]。此外, hERG 钾通道与多种心律失常密切相关, 并可能是引起先天性长 QT 综合征 (LQTS) 的主要致病因素之一^[13]。如前所述, hERG 钾通道蛋白在维持细胞静息膜电位于去极化状态至关重要, 而最新研究表明,

藤黄酸 / (μmol·L⁻¹)

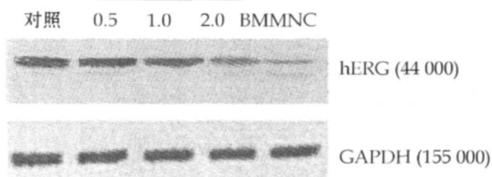


图 4 藤黄酸对 K562 细胞 hERG 钾通道蛋白表达的调控作用

Fig. 4 Regulation of GA on protein expression of hERG potassium channel in K562 cells

藤黄酸 / (μmol·L⁻¹)

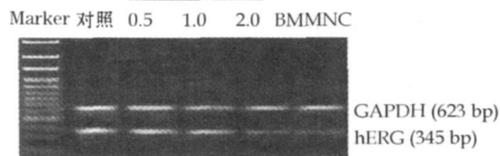


图 5 藤黄酸对 K562 细胞 hERG 钾通道 mRNA 表达的调控作用

Fig. 5 Regulation of GA on mRNA expression of hERG potassium channel in K562 cells

3 讨论

本研究结果表明, 藤黄酸能明显抑制 K562 细

肿瘤细胞无限制的增殖特性与细胞膜去极化状态密切相关,提示 hERG 钾通道蛋白与肿瘤细胞增殖活性有关。而陆续的研究也证实, hERG 蛋白在子宫内膜癌、结肠癌、神经母细胞瘤等多种组织来源的肿瘤细胞系及其原代细胞中均高表达,而在相应来源的正常组织或细胞中不表达或低表达^[5,6]。除此以外,在多种恶性血液肿瘤细胞,包括白血病细胞中也存在 hERG 钾通道蛋白的高表达^[4,14]。应用特异性的 hERG 钾通道蛋白阻断剂可以抑制相应肿瘤细胞的增殖和转移,并增加肿瘤细胞对化疗药物的敏感性^[15,16]。目前认为, hERG 钾通道蛋白可通过与肿瘤坏死因子、整合素受体、VEGF 等蛋白相互作用,发挥癌蛋白活性^[17~20]。不难看出, hERG 钾通道是一个很有前景的肿瘤治疗靶点。故而,本实验以 hERG 基因作为靶点,观察藤黄酸对 K562 细胞 hERG 钾通道蛋白的调控作用。结果表明,和正常对照的骨髓单个核细胞相比, K562 细胞内存在较高表达水平的 hERG 钾通道蛋白,而正常单个核细胞几乎不表达。经藤黄酸干预后,其蛋白和基因表达水平均呈浓度依赖性地下调。说明藤黄酸对 K562 细胞的增殖抑制作用与细胞内 hERG 钾通道的表达密切相关。也进一步证实,在肿瘤细胞中,抑制 hERG 钾通道蛋白表达可以抑制肿瘤细胞增殖,诱导肿瘤细胞凋亡。而藤黄酸有望成为新一代的 hERG 钾通道蛋白抑制剂。

hERG 钾通道蛋白对肿瘤生物学行为的影响表明可以通过抑制其表达或通道电流 I_{hERG} 来抑制肿瘤细胞的生长,促进肿瘤细胞分化或凋亡,降低其侵袭性。为抗肿瘤靶向治疗和药物筛选奠定了良好的基础。

参考文献:

[1] 瓮占平, 王波1 钾离子通道与肿瘤关系研究进展 [J] 国际病理科学与临床杂志, 2005, 25(6): 488-491

[2] 瓮占平, 王波1 TASK3 钾离子通道的研究现状 [J] 国际病理科学与临床杂志, 2006, 26(3): 225-231

[3] Smith P L, Baukowitz T, Yellen G, et al. The inward rectification mechanism of the HERG cardiac potassium channel [J] Nature, 1996, 379(6568): 833-836

[4] Pillozzi S, Brizzi M F, Balzi M, et al. HERG potassium channels are constitutively expressed in primary human acute myeloid leukemias and regulate cell proliferation of normal and leukemic hemopoietic progenitors [J] Leukemia, 2002, 16(9): 1792-1798

[5] Lasstrailli E, Guasti L, Crociani O, et al. hERG1 gene and HERG1 protein are overexpressed in colorectal cancer and regu-

late cell invasion of tumor cells [J] Cancer Res, 2004, 64(2): 606-611

[6] Wang H, Zhang Y, Cao L, et al. HERG K⁺ channel, a regulator of tumor cell apoptosis and proliferation [J] Cancer Res, 2002, 62(17): 4843-4848

[7] Shu W X, Chen Y, He J, et al. Effects of gambogic acid on the regulation of nucleoporin Nup88 in U937 cells [J] J Huazhong Univ Sci Technol (Med Sci), 2007, 27(4): 388-392

[8] Wang Y, Chen Y, Chen Z, et al. Gambogic acid induces death inducer 2 obliterator 1 mediated apoptosis in Jurkat T cells [J] Acta Pharmacol Sin, 2008, 29(3): 349-354

[9] Guo Q L, Zhao L, You Q D, et al. Gambogic acid inducing apoptosis in human gastric adenocarcinoma SG27901 cells [J] Chin J Nat Med, 2004, 2(2): 106-110

[10] Zhang H Z, Kasibhatla S, Wang Y, et al. Discovery, characterization and SAR of gambogic acid as a potent apoptosis inducer by a HTS assay [J] Bioorg Med Chem, 2004, 12(2): 309-317

[11] Chiesa N, Rosati B, Arcangeli A, et al. A novel role for HERG K⁺ channels: spike frequency adaptation [J] J Physiol, 1997, 501(Pt 2): 313-318

[12] Jiang C, Atkinson D, Towbin J A, et al. Two long QT syndrome loci map to chromosomes 3 and 7 with evidence for further heterogeneity [J] Nat Genet, 1994, 8(2): 142-147

[13] Sanguinetti M C, Tristani-Firouzi M. hERG potassium channels and cardiac arrhythmia [J] Nature, 2006, 440(7083): 463-469

[14] Smith G A, Tsui H W, Newell E W, et al. Functional up-regulation of HERG K⁺ channels in neoplastic hematopoietic cells [J] J Biol Chem, 2002, 277(21): 18528-18534

[15] 陈淑珍, 张胜华, 弓建华, 等1 红霉素对钾离子通道 hERG 高表达癌细胞的增殖抑制及其与化疗药物的协同作用 [J] 中华医学杂志, 2006, 86(47): 3352-3357

[16] Chen S Z, Jiang M, Zhen Y S. HERG K⁺ channel expression related chemosensitivity in cancer cells and its modulation by erythromycin [J] Cancer Chemother Pharmacol, 2005, 56(2): 212-220

[17] Lin H, Xiao J, Luo X, et al. Overexpression of HERG K⁺ channel gene mediates cell growth signals on activation of α 2 coproteins SP1 and NF- κ B and inactivation of tumor suppressor Nkx3.1 [J] J Cell Physiol, 2007, 212(1): 137-147

[18] Cherubini A, Hofmann G, Pillozzi S, et al. Human α 2-g α 2-related gene 1 channels are physically linked to β 1 integrins and modulate adhesion dependent signaling [J] Mol Biol Cell, 2005, 16(6): 2972-2983

[19] Masi A, Becchetti A, Restano-Cassulini R, et al. hERG1 channels are overexpressed in glioblastoma multiforme and modulate VEGF secretion in glioblastoma cell lines [J] Br J Cancer, 2005, 93(7): 781-792

[20] Pillozzi S, Brizzi M F, Bernabei P A, et al. VEGFR2 (FLT2), β 1 integrin, and hERG K⁺ channel form a macromolecular signaling complex in acute myeloid leukemia: role in cell migration and clinical outcome [J] Blood, 2007, 110(4): 1238-1250