

· 综述 ·

## 蛋白激酶 C 在心肌纤维化中的作用

王立英, 杨世杰\*

(吉林大学白求恩医学院药理学教研室, 吉林 长春 130021)

**摘要:** 心肌纤维化是多种心脏疾病发展的共同结果, 心肌成纤维细胞的增殖导致细胞外基质蛋白代谢紊乱, 引起心肌重塑, 最终导致恶性心律失常、心功能衰竭、甚至心脏性猝死的发生。有效地抑制心肌重塑可预防猝死的发生。明确蛋白激酶 C (protein kinase C, PKC) 对心肌纤维化的调控机制, 可能为逆转心肌重塑提供新的治疗靶点。

**关键词:** 蛋白激酶 C; 心肌成纤维细胞; 心肌纤维化; 心肌重塑; 基质金属蛋白酶

中图分类号: R963

文献标识码: A

文章编号: 0513-4870 (2010) 12-1467-05

## The function of protein kinase C in myocardial fibrosis

WANG Li-ying, YANG Shi-jie\*

(Department of Pharmacology, Norman Bethune College of Medicine, Jilin University, Changchun 130021, China)

**Abstract:** Myocardial fibrosis is the common results of the development of a variety of heart diseases which leads to extracellular matrix protein metabolic disorders and causes cardiac remodeling owing to cardiac fibroblasts proliferation, eventually results in malignant arrhythmia, heart failure, and even the occurrence of sudden cardiac death. Effective inhibition of myocardial remodeling could prevent the occurrence of sudden death. To know the protein kinase C (PKC) effective mechanism of regulation on myocardial fibrosis, a new therapeutic target for reversing myocardial remodeling might be provided.

**Key words:** protein kinase C; cardiac fibroblast; myocardial fibrosis; cardiac remodeling; matrix metallo-proteinase

心肌成纤维细胞 (cardiac fibroblasts, CFbs) 的增殖引起心肌纤维化是心血管疾病中一个重要的病理改变, 会引起心肌重塑。心肌重塑是心衰、心律失常及猝死发生率和病死率的独立预测因素<sup>[1]</sup>, 如何防治心肌纤维化和逆转心肌重塑是当前医学研究的重点和热点, 明确其治疗靶点、预防猝死的发生已成为医学界备受关注的课题。据报道, CFbs 的增殖进而引起胶原含量的增加与 PKC 的活性改变及表达变化有密切关系<sup>[2, 3]</sup>, 但 PKC 各亚型在心肌重塑中的作用是基础研究涉及较少的领域。本文重点论述 PKC 与心

肌纤维化的关系。

### 1 概述

**1.1 PKC 及其亚型** 蛋白激酶 C (protein kinase C, PKC) 是细胞内重要的信号传递介质, 参与多种细胞内外信号的传导与调控。PKC 是 1977 年由日本学者 Nishizuka 等首次在鼠脑细胞质成分中发现的一种依赖磷脂和钙的蛋白激酶, 为丝氨酸-苏氨酸蛋白激酶家族的成员, 由单一肽链组成, 目前已鉴定出至少 12 种不同的亚型; 其分子质量为 77~83 kD, 依据其激活方式的不同进一步可分为 3 类: ① 经典 PKCs ( $\alpha$ 、 $\beta_1$ 、 $\beta_2$  和  $\gamma$ ), 其活化有赖于二酯酰甘油 (diacyl glycerol, DAG)、钙离子和磷脂酰丝氨酸 (phosphatidyl serine, PS); ② 新型 PKCs ( $\delta$ 、 $\epsilon$ 、 $\theta$  和  $\eta$ ), 其活化需要 DAG 和 PS, 而对钙离子不敏感; ③ 不典型 PKCs ( $\zeta$  和  $\lambda$ ),

收稿日期: 2010-08-01.

基金项目: 国家重点基础研究发展计划 (973 计划) 资助项目 (2007CB512006); 国家自然科学基金资助项目 (30873066, 30472020, 30672654).

\*通讯作者 Tel / Fax: 86-431-85619483, E-mail: jcyao@ sina.com

其活化依赖 PS, 而对 DAG 和钙离子不敏感。PKC 通常存在于细胞浆中, PKC 磷酸化后可由胞浆转移至胞膜, 引起一系列的细胞内信号转导, 从而引起生物学效应。有研究显示 PKC $\alpha$  与多种细胞的增殖和迁移有关, 如人视网膜细胞、结肠癌细胞和心脏细胞等<sup>[3-6]</sup>。

PKC 在动物体内分布广泛, 在各种组织中均有表达, 但其亚型表达具有种属及器官分布的特异性。PKC 亚型在心脏组织中的表达即因物种的不同而各异。研究发现, 体外培养的大鼠心肌细胞可表达 PKC ( $\alpha$ 、 $\delta$ 、 $\varepsilon$ 、 $\eta$  和  $\zeta$ ) mRNA<sup>[7]</sup>。PKC ( $\beta_1$  和  $\beta_2$ ) 在人类和 大鼠心肌细胞中表达较多<sup>[8]</sup>, 而在小鼠心肌细胞表达水平较低。亦有报道 PKC ( $\eta$ 、 $\theta$  和  $\varepsilon$ ) 在不同种属特异性的表达。近年来, 各种针对 PKC 各亚型的研究方法得到了广泛应用, 如蛋白印迹法 (Western blotting)、多克隆抗体和单克隆抗体杂交等技术, 使研究者对 PKC 各亚型有了进一步的了解。已有研究证实, PKC 各亚型在人类心肌组织中均有表达, 但其不同亚型在人类心室和心房的分布并不相同。PKC ( $\alpha$ 、 $\beta_1$  和  $\beta_2$ ) 主要分布于心室, 而 PKC ( $\delta$  和  $\zeta$ ) 主要分布于心房, PKC ( $\varepsilon$  和  $\lambda$ ) 在心房和心室中均有表达<sup>[8]</sup>。可见, 心脏主要分布的 PKC 亚型为  $\alpha$ 、 $\beta_1$ 、 $\beta_2$ 、 $\varepsilon$  和  $\lambda$ , 上述 PKC 亚型可能与心功能不全的发生关系更加密切。

**1.2 心肌纤维化与心肌重塑** 心肌纤维化是指大量 CFbs 的增殖、活化、迁移并黏附在损伤区域, 导致细胞外基质蛋白代谢的紊乱, 此外, 还存在胶原排列紊乱和胶原纤维与心肌细胞连接的改变, 引起心肌重塑。心肌重塑是在持久性病理应激的作用下心脏功能从代偿期向失代偿期演变、心脏结构从可逆转向不可逆转发展的一个阶段。可表现为心肌细胞肥大、CFbs 增殖及心肌纤维化 (myocardial fibrosis), 继而出现心腔扩大与心脏重量增加, 是多种心肌损伤的共同结局。心肌重塑的病理学改变主要表现为其组成成分异常, 即表现为心肌肥大和心肌纤维化, 两者在心肌重塑的过程中往往同时存在、相互影响。心肌细胞功能障碍在心力衰竭中占有重要地位, 但由于心肌细胞在新生儿期过后很少再生 (或增生), 损伤后主要以存活心肌细胞体积增大或成纤维细胞增殖、细胞外基质分泌增加为主要代偿方式维持正常的心功能, 故心肌纤维化在心肌重塑过程中的作用不容忽视。心肌纤维化的发生直接影响心肌细胞排列秩序、心脏舒缩能力和心室灌注压力, 在心肌重塑中起到重要作用。

**1.3 心肌纤维化的调控** 心肌纤维化会影响心肌的代谢, 尤其是心肌的供氧和细胞代谢产物的清除, 进

而引发或加重心衰。许多病理刺激因素, 如心肌缺血、高血压, 均可导致纤维化。心肌纤维化的调控过程复杂而精细, 尽管成纤维细胞活化的具体机制尚不清楚, 但有研究表明其活化与多种神经、内分泌系统失衡有关, 如 Ang II、ALD、ET、TGF- $\beta_1$ 、CTGF 等均参与了心脏胶原沉积和纤维化过程。因而阻断神经内分泌系统的激活是逆转心肌纤维化的关键。RAAS 系统激活是引起心肌重塑的最重要的因素之一, Ang II 及其受体的结合在此过程中至关重要, 血管紧张素 II 可以与血管紧张素受体 1 (angiotensin receptor-1, AT<sub>1</sub>) 和血管紧张素受体 2 (angiotensin receptor-2, AT<sub>2</sub>) 结合。AT<sub>1</sub> 和 AT<sub>2</sub> 均属于 G 蛋白偶联受体, AT<sub>1</sub> 在心脏组织内主要分布于心肌细胞, 而 AT<sub>2</sub> 主要分布于成纤维细胞和间质细胞。AT<sub>1</sub> 激活可以导致血管收缩、细胞生长、醛固酮分泌增多和儿茶酚胺释放增多, 而 AT<sub>2</sub> 激活可以导致血管舒张、抑制细胞生长、尿钠排泄增多和缓激肽释放增加。研究表明, 在心衰患者的心脏中, AT<sub>1</sub> 的受体和 mRNA 水平下调, 而 AT<sub>2</sub> 的受体密度增加或没有变化, 导致 AT<sub>1</sub> 和 AT<sub>2</sub> 的比例下降。血管紧张素 II 对维持短期的血流动力学稳定具有重要作用, 但其过度表达却产生了有害作用, 可以导致心脏、肾脏和其他器官的纤维化。Ang II 是体外诱导心肌肥大和心肌纤维化的常用药物之一<sup>[9]</sup>, 也有应用异丙肾上腺素、TNF- $\alpha$ <sup>[10]</sup>、溶血磷脂酸 A 体外诱导 CFbs 增殖的报道。因而, 可通过 Ang II 激活 RAAS 系统来模拟心衰时的病理生理环境。在体外实验研究中发现, Ang II 浓度在  $1 \times 10^{-9} \sim 1 \times 10^{-7} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  时, 可以有效诱导成纤维细胞增殖和细胞培养上清液中胶原含量增加<sup>[11]</sup>。本实验室前期研究还发现, Ang II 可通过促进 CFbs 的 p-PKC $\alpha$  蛋白的表达, 进而引起 CFbs 的增殖和心肌的纤维化<sup>[3]</sup>。

机械应激和神经内分泌系统的激活可以导致成纤维细胞增殖和表型的改变, 进而使成纤维细胞转变为肌纤维母细胞。肌纤维母细胞表达  $\alpha$  平滑肌肌动蛋白, 具有更强的分泌活性, 可向心肌损伤部位迁移、参与胶原的合成和排列, 对损伤区域纤维化瘢痕的形成具有重要作用。骨髓来源的肥大细胞亦对细胞外基质的代谢具有重要作用, 心脏组织中的肥大细胞主要位于血管和心脏细胞周围, 可以释放参与调控纤维化进程的前纤维化刺激因子和生长因子, 从而参与纤维化的进程。现已证实, PKC 参与心肌纤维化与心肌重塑过程的调节<sup>[1]</sup>。

## 2 PKC 与心肌纤维化

PKC 不仅与多种慢性心脏疾病有关, 同时也参

与心脏急性损伤和损伤预适应。针对 PKC 特殊亚型研究手段的进步, 如药理学方面的肽类调节因子、分子生物学方面的转基因技术和 RNA 干扰 (RNA interference, RNAi), 已发现同一种亚型的 PKC 在急性和慢性心脏疾病中具有不同的作用<sup>[12]</sup>, 如: PKC $\epsilon$  的活化在心肌梗死中具有保护作用, 而在高血压导致的心力衰竭过程中却发挥有害的作用。PKC 参与多种器官的纤维化过程, 如肾脏、心脏等<sup>[13]</sup>, 可能是纤维化过程的共同必经传导通路。由于 PKC 的亚型分布具有特异性, 对于动物实验的研究结果的认同应慎重, 动物实验无法完全代表人体的实际状况。而同一种 PKC 亚型在同一物种的急慢性疾病的进程中作用也可能不同, 故 PKC 在纤维化信号转导通路中的作用极其复杂。

**2.1 PKC 对体外培养 CFbs 的作用** PKC ( $\alpha$ 、 $\beta_1$ 、 $\beta_2$ 、 $\delta$ 、 $\epsilon$  和  $\zeta$ ) 存在于新生和成年大鼠心脏的成纤维细胞中。非选择性 PKC 激活剂卟啉醇肉豆蔻酸乙酸酯 (phorbol myristate acetate, PMA) 可以抑制基础状态下 TGF- $\beta$  介导的胸腺嘧啶合成<sup>[14]</sup>。通过应用 PKC 亚型的特异性抑制剂进行研究发现, PKC ( $\delta$  和  $\zeta$ ) 在 TGF- $\beta$  诱导的成纤维细胞增殖的过程中具有相反的作用<sup>[14]</sup>。PKC $\zeta$  的选择性抑制剂可以阻断 TGF- $\beta_1$  诱导的 CFbs 增殖, 而 PKC $\delta$  的选择性抑制剂  $\delta$  V1-1 却可促进 TGF- $\beta_1$  诱导的增殖作用。对体外培养乳鼠 CFbs 的研究发现, 牛磺酸可以通过抑制 PKC $\alpha$  的磷酸化, 增强 P27 蛋白的表达, 抑制 NF- $\kappa$ B p65 的核转位, 发挥抑制 CFbs 的增殖作用<sup>[3]</sup>。

PKC 可以调节 MMPs 的水平和活性。MMPs 具有降解细胞外基质和调节 CFbs 活性的作用<sup>[15]</sup>, 是目前发现的唯一可以调节细胞外基质代谢的酶类。PKC ( $\alpha$  和  $\beta_1$ ) 可以通过 JNK 途径增加 MMP-9 的活性, 而对 MMP-2 几乎无影响。其余的 PKC 亚型, 如 PKC ( $\theta$  和  $\zeta$ ) 可通过 ERK 和 NF- $\kappa$ B 途径增加大鼠 CFbs 的 MMP-2 和 MMP-9 的活性。Ang II 可以与 AT $_1$  结合而激活 PKC, 从而导致成纤维细胞增殖<sup>[16]</sup>。在乳鼠 CFbs 中, 其他刺激因素如 ET-1 的促纤维化作用同样可以被 PKC 抑制剂白屈菜红碱 (chelerythrine, Che) 和十字孢碱 (cross spore base) 抑制。

PKC $\epsilon$  具有调节 CFbs 黏附和迁移的作用。Ang II 可以诱导 CFbs 的黏附和迁移, 这一作用可以通过抑制 PKC $\epsilon$  亚型予以阻断。另外, 在 PKC $\epsilon$  基因敲除的小鼠中 Ang II 无法诱导成纤维细胞的迁移和黏附。进一步的研究还表明, PKC $\epsilon$  可以与  $\beta_1$  整合素 ( $\beta_1$ -integrin) 形成紧密的复合物来调节细胞和细胞外基质的相互

作用<sup>[17]</sup>。另有报道, PKC $\epsilon$  对心肌细胞 I/R 损伤具有保护作用<sup>[18]</sup>。

**2.2 体内实验中 PKC 对心肌纤维化的作用** 在心力衰竭动物模型实验研究中, 同样发现 PKC 参与了心肌纤维化的过程。应用双吡啶马来酰亚化合物 ruboxistaurin (PKC $\beta$  特异性抑制剂) 可减轻心梗后大鼠心肌纤维化和改善心梗后大鼠的心功能, 证明经典 PKC (即 PKC $\alpha$  和 PKC $\beta$ ) 参与了心肌纤维化过程<sup>[19]</sup>。同样, 在糖尿病大鼠的心衰模型中, 应用 ruboxistaurin 可以改善心脏收缩功能, 减少心肌肥大和胶原沉积<sup>[20]</sup>。在心肌梗死后心衰大鼠的动物模型中应用选择性 PKC $\beta_2$  抑制剂  $\beta$  II V5-3, 可以减少远离梗死区域的胶原沉积<sup>[20]</sup>。可见 PKC 与心肌纤维化存在密切关系。在 PKC $\epsilon$  基因敲除的小鼠通过主动脉缩窄术诱导压力负荷过重的心衰模型, 心肌纤维化颇为显著<sup>[21]</sup>。相比之下, 在高血压诱导的心衰小鼠模型中, 持续应用 PKC $\epsilon$  抑制剂  $\epsilon$  V1-2 可以减轻心肌纤维化和改善心功能, 部分作用可能与抑制 MMP-2 活性有关。PKC $\epsilon$  的激活剂  $\Phi$ eRACK, 可以加速纤维化的进程并增加死亡率<sup>[22]</sup>。进一步研究还表明, 在大鼠和小鼠的心脏移植模型中发现, 应用 PKC $\epsilon$  抑制剂  $\epsilon$  V 1-2 同样可以阻断实质的纤维化和移植心脏内的 TGF- $\beta_1$  表达增加, 从而证实了 PKC $\epsilon$  参与心肌纤维化的调节。然而应用 PKC $\epsilon$  基因敲除手段对小鼠进行研究和应用药理学调节手段对大鼠进行研究, 却得到了不同的实验结果, 表明 PKC 对于纤维化的调节可能与病因、种属和代偿机制有关。如 PKC $\epsilon$  敲除的小鼠中 PKC $\delta$  的活性增加 60%, 可能对 PKC $\epsilon$  起到一定代偿作用, 而在应用 PKC $\epsilon$  选择性抑制剂的小鼠中其他 PKC 亚型的活性和水平却无明显变化。Boyle 等<sup>[19]</sup> 的研究还证实, 在心肌梗死后大鼠中, 应用经典型 PKC 抑制剂可以改善心功能、减轻纤维化, PKC $\alpha$  的磷酸化可以启动一系列的细胞内信号传导通路。缺氧大鼠的整体实验表明, PKC $\alpha$  可以增加 VEGF 的表达和通过 NOS 途径介导心肌细胞的凋亡<sup>[23]</sup>。进一步明确 PKC 对心肌纤维化的调控机制, 可能为逆转心肌重塑提供新的治疗靶点。

此外, PKC 在与炎症反应相关的心肌纤维化过程中也具有重要作用。炎症细胞是多种细胞因子、酶和生长因子的来源, 可参与调节心肌重塑的过程。许多在体实验均表明 PKC 可以影响前炎症介质的生成 (转录和翻译) 和释放<sup>[24-26]</sup>。在高血压大鼠的心衰模型中, 应用  $\epsilon$  V 1-2 持续抑制 PKC $\epsilon$  可以减少炎症细胞对心肌的浸润。在急性心肌梗死后大鼠的心衰模型中,

PKC $\beta$  的选择性抑制剂  $\beta$ II V5-3 同样可以减少炎症细胞的浸润。肥大细胞 (mast cells, MCs) 是心力衰竭发生发展过程中的重要炎症细胞, 上述两种 PKC 抑制剂还可以减少肥大细胞脱颗粒。应用酪氨酸磷酸化抑制剂或经典 PKC 亚型抑制剂 Go-6976 可以阻断巨噬细胞产生 TNF- $\alpha$ 。但在心衰的过程中, PKC 在主要炎症细胞 (如巨噬细胞、T 细胞、单核细胞和中性粒细胞) 中的功能目前还不十分明确, 其在炎症反应参与的重塑过程中的确切机制还有待进一步研究。

PKC 在心肌肥大过程中发挥着重要作用, 目前已知 PKC 的激活可使多种激酶的前体磷酸化, 包括 mTor、S6K1、MAPK、ERK、GSK 等, 并参与心肌肥大过程<sup>[27-29]</sup>。而 PKC 究竟通过其下游的哪些靶点介导心肌纤维化的过程, 目前研究相对较少。PKC 在心肌肥大和心肌纤维化过程中的作用有哪些相似和不同之处, 有待进一步研究。此外, 由于 PKC 是心肌纤维化发生、发展过程中的重要物质, 其不同亚型对心肌纤维化的发生和发展具有复杂的作用, 且 PKC 不同亚型之间还可能产生互相代偿的作用。如: 在 PKC $\epsilon$  敲除的小鼠中 PKC $\delta$  的活性增加 60%, 这可能对 PKC $\epsilon$  起到一定代偿作用。另有研究显示, 在体内和体外试验中, Ang II 可通过 PKC $\delta$  促进 CFbs 的增殖和胶原的表达, 引起心肌的纤维化。因而, 在心衰的慢性病程中的心肌重塑阶段, PKC 各亚型的作用及其是否存在互相代偿的关系, 也是值得后续研究的问题之一。

### 3 结语与展望

心肌重塑是心血管疾病重要的病理生理过程, 最终会导致心功能衰竭、心律失常、心脏性猝死的发生。在目前日益重视提高医疗质量、减少重复住院率、降低病死率的前提下, 寻求有效地抑制心肌重塑的药物, 明确其治疗靶点已成为医学研究中倍受关注的课题。心肌纤维化在心肌重塑中具有重要作用。目前针对大型动物的相关实验研究还较少, 相关药物的临床试验亦不多, 进一步对大型动物的研究可为寻找心衰和逆转心肌重塑新的治疗靶点和药物提供更有利的帮助。目前已经有应用 PKC 调节剂 (ruboxistaurin, RBX: 口服 PKC $\beta$  抑制剂) 用作治疗的临床试验<sup>[30-36]</sup>, 调节 PKC 可能会成为干预治疗人类心肌重塑的有效手段。尽管 PKC 在体内分布广泛, 近期的临床试验表明全身应用 PKC 抑制剂或激活剂<sup>[30]</sup> 具有良好的耐受性。体内分布具有组织选择性的药物在未来也很有可能研制成功<sup>[37]</sup>。因此, 特异性和非特异性的 PKC 抑制剂都有望应用于心肌重塑的临床治疗。

### References

- [1] Hughes SE. The pathology of hypertrophic cardiomyopathy [J]. *Histopathology*, 2004, 44: 412-427.
- [2] Chintalgattu V, Katwa LC. Role of protein kinase C- $\delta$  in angiotensin II induced cardiac fibrosis [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2009, 386: 612-616.
- [3] Wang YC, Guan FY, Li H, et al. Anti-proliferation action of taurine on rat cardiac fibroblast through inhibiting protein kinase C $\alpha$  expression [J]. *Acta Pharm Sin (药学报)*, 2009, 44: 591-596.
- [4] Gao Q, Tan J, Ma P, et al. PKC alpha affects cell cycle progression and proliferation in human RPE cells through the downregulation of p27kip1 [J]. *Mol Vis*, 2009, 15: 2683-2695.
- [5] Byers HR, Boissel SJ, Tu C, et al. RNAi-mediated knockdown of protein kinase C-alpha inhibits cell migration in MM-RU human metastatic melanoma cell line [J]. *Melanoma Res*, 2010, 20: 171-178.
- [6] Gwak J, Jung SJ, Kang DI, et al. Stimulation of protein kinase C-alpha suppresses colon cancer cell proliferation by down-regulation of beta-catenin [J]. *Cell Mol Med*, 2009, 13: 2171-2180.
- [7] Wang SS, Ji YS, Li H, et al. Mechanisms of gross saponins of *Tribulus terrestris* via activating PKC $\epsilon$  against myocardial apoptosis induced by oxidative stress [J]. *Acta Pharm Sin (药学报)*, 2009, 44: 134-139.
- [8] Simonis G, Briem SK, Schoen SP, et al. Protein kinase C in the human heart: differential regulation of the isoforms in aortic stenosis or dilated cardiomyopathy [J]. *Mol Cell Biochem*, 2007, 305: 103-111.
- [9] Ren K, Wang YC, Yang SJ. Effects of taurine on proliferation of rat cardiac fibroblast [J]. *Acta Pharm Sin (药学报)*, 2008, 43: 591-595.
- [10] Zhang J, James Y, Lutz W. Tumor necrosis factor  $\alpha$  in neonatal rat cardiac fibroblasts and its mechanism [J]. *Heart J*, 2009, 5: 621-624.
- [11] Shi Z, Gao T, Gao PJ, et al. Hepatocyte growth factor inhibition of Ang II-induced cardiac fibroblast proliferation and collagen synthesis [J]. *Med Sci*, 2007, 27: 1313-1316.
- [12] Inagaki K, Begley R, Ikeno F, et al. Cardioprotection by epsilon-protein kinase C activation from ischemia: continuous delivery and antiarrhythmic effect of an epsilon-protein kinase C-activating peptide [J]. *Circulation*, 2005, 111: 44-50.
- [13] Wang N. PKC isoenzymes and renal fibrosis [J]. *Chin J Integr Tradit West Nephrol (中国中西医结合肾病杂志)*, 2008, 9: 735-738.
- [14] Braun MU, Mochly-Rosen D. Opposing effects of delta- and zeta-protein kinase C isozymes on cardiac fibroblast

- proliferation: use of isozyme-selective inhibitors [J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2003, 35: 895–903.
- [15] Lee HS, Park SY, Lee HW, et al. Secretions of MMP-9 by soluble glucocorticoid-induced tumor necrosis factor receptor (sGITR) mediated by protein kinase C (PKC) delta and phospholipase D (PLD) in murine macrophage [J]. *Cell Biochem*, 2004, 92: 481–490.
- [16] Stawowy P, Margeta C, Blaschke F, et al. Protein kinase C epsilon mediates angiotensin II-induced activation of beta1-integrins in cardiac fibroblasts [J]. *Cardiovasc Res*, 2005, 67: 50–59.
- [17] Heidkamp MC, Bayer AL, Scully BT, et al. Activation of focal adhesion kinase by protein kinase C epsilon in neonatal rat ventricular myocytes [J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2003, 285: 1684–1696.
- [18] Zhang S, Li H, Yang SJ. Tribulosin protects rat hearts from ischemia/reperfusion injury [J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2010, 31: 671–678.
- [19] Boyle AJ, Kelly DJ, Zhang Y, et al. Inhibition of protein kinase C reduces left ventricular fibrosis and dysfunction following myocardial infarction [J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2005, 39: 213–221.
- [20] Connelly KA, Kelly DJ, Zhang Y, et al. Inhibition of protein kinase C-beta by ruboxistaurin preserves cardiac function and reduces extracellular matrix production in diabetic cardiomyopathy [J]. *Circ Heart Fail*, 2009, 2: 129–137.
- [21] Klein G, Schaefer A, Hilfiker-Kleiner D, et al. Increased collagen deposition and diastolic dysfunction but preserved myocardial hypertrophy after pressure overload in mice lacking PKC epsilon [J]. *Circ Res*, 2005, 96: 748–755.
- [22] Inagaki K, Koyanagi T, Berry NC, et al. Pharmacological inhibition of epsilon-protein kinase C attenuates cardiac fibrosis and dysfunction in hypertension-induced heart failure [J]. *Hypertension*, 2008, 51: 1565–1569.
- [23] Zara S, Rapino M, Centurione L, et al. Inducible nitric oxide synthase-activated mitochondrial apoptotic pathway in hypoxic and aged rat hearts [J]. *Gerontology*, 2010, 56: 544–552.
- [24] Devaraj S, Venugopal SK, Singh U, et al. Hyperglycemia induces monocytic release of interleukin-6 via induction of protein kinase C-alpha and-beta [J]. *Diabetes*, 2005, 54: 85–91.
- [25] Nikodemova M, Watters JJ, Jackson SJ, et al. Minocycline down-regulates MHC II expression in microglia and macrophages through inhibition of IRF-1 and protein kinase C (PKC) alpha/beta II [J]. *J Biol Chem*, 2007, 282: 15208–15216.
- [26] Palaniyandi SS, Inagaki K, Mochly-Rosen D. Mast cells and epsilonPKC: a role in cardiac remodeling in hypertension-induced heart failure [J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2008, 45: 779–786.
- [27] Moschella PC, Rao VU, Mc Dermott PJ, et al. Regulation of mTOR and S6K1 activation by the nPKC isoforms, PKC epsilon and PKC delta, in adult cardiac muscle cells [J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2007, 43: 754–766.
- [28] Zhai P, Gao S, Holle E, et al. Glycogen synthase kinase-3 alpha reduces cardiac growth and pressure overload-induced cardiac hypertrophy by inhibition of extracellular signal-regulated kinases [J]. *J Biol Chem*, 2007, 282: 33181–33191.
- [29] Pan J, Singh US, Takahashi T, et al. PKC mediates cyclic stretch-induced cardiac hypertrophy through Rho family GTPases and mitogen-activated protein kinases in cardiomyocytes [J]. *J Cell Physiol*, 2005, 202: 536–553.
- [30] Bates E, Bode C, Costa M, et al. Intracoronary KAI-9803 as an adjunct to primary percutaneous coronary intervention for acute ST-segment elevation myocardial infarction [J]. *Circulation*, 2008, 117: 886–896.
- [31] The PKC-DRS Study Group. Effect of ruboxistaurin in patients with PKC DMES clinical trial [J]. *Arch Ophthalmol*, 2007, 125: 318–324.
- [32] Ajani JA, Jiang Y, Faust J, et al. A multi-center phase II study of sequential paclitaxel and bryostatatin-1 (NSC 339555) in patients with untreated, advanced gastric or gastroesophageal junction adenocarcinoma [J]. *Invest New Drugs*, 2006, 24: 353–357.
- [33] Casellini CM, Barlow PM, Rice AL, et al. A 6-month, randomized, double-masked, placebo-controlled study evaluating the effects of the protein kinase C-beta inhibitor ruboxistaurin on skin microvascular blood flow and other measures of diabetic peripheral neuropathy [J]. *Diabetes Care*, 2007, 30: 896–902.
- [34] Grossman SA, Alavi JB, Supko JG, et al. Efficacy and toxicity of the antisense oligonucleotide aprinocarsen directed against protein kinase C-alpha delivered as a 21-day continuous intravenous infusion in patients with recurrent high-grade astrocytomas [J]. *Neuro Oncol*, 2005, 7: 32–40.
- [35] Herbst RS, Oh Y, Wagle A, et al. Enzastaurin, a protein kinase Cbeta selective inhibitor, and its potential application as an anticancer agent in lung cancer [J]. *Clin Cancer Res*, 2007, 13: 4641–4646.
- [36] Ritch P, Rudin CM, Bitran JD, et al. Phase II study of PKC-alpha antisense oligonucleotide aprinocarsen in combination with gemcitabine and carboplatin in patients with advanced non-small cell lung cancer [J]. *Lung Cancer*, 2006, 52: 173–180.
- [37] Mayer CR, Bekeredjian R. Ultrasonic gene and drug delivery to the cardiovascular system [J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2008, 60: 1177–1192.