

细胞外泛素及其受体 CXCR4 与 AMI 相关性研究进展*

纪逸群¹, 姚佳璐², 何 杨¹ (1. 苏州大学唐仲英血液学研究中心, 江苏苏州 215123;
2. 南京医科大学附属苏州医院/苏州市立医院, 江苏苏州 215008)

摘要:急性心肌梗死为供养心肌的冠状动脉在粥样硬化斑块基础上发生急性、持久性缺血缺氧所致的心肌坏死, 是全球死亡率最高的疾病之一。提高梗死区心肌细胞的存活、逆转进行性心室重构是提高预后的关键。泛素是细胞内参与蛋白质降解的小分子多肽, 而体液中的细胞外泛素可通过受体 CXCR4 发挥多种功能。近来相关研究显示细胞外泛素及其受体 CXCR4 对心肌组织的细胞形态和功能均有影响, 对急性心肌梗死(AMI)后心肌组织具有保护作用, 笔者将对此作一综述, 以期为解决 AMI 难题提供新的思路和靶点。

关键词:细胞外泛素; 趋化因子受体 4(CXCR4); 急性心肌梗死

中图分类号:R542.3; R392.11 **文献标志码:**A **文章编号:**1671-7414(2019)02-160-05

doi:10.3969/j.issn.1671-7414.2019.02.041

Research Progress of Extracellular Ubiquitin and Its Receptor CXCR4 in Acute -Myocardial Infarction

Ji Yi-qun¹, Yao Jia-lu², He Yang¹ (1. Cyrus Tang Hematology Center,
Soochow University, Jiangsu Suzhou 215123, China; 2. Suzhou Hospital Affiliated
to Nanjing Medical University/Suzhou Municipal Hospital, Jiangsu Suzhou 215008, China)

Abstract: Acute myocardial infarction is one of the most deadly diseases in the world. Promoting cardiomyocytes survival in the infarcted area and reversing the myocardial remodeling are the keys to improve the prognosis of AMI. Ubiquitin is a small polypeptide involved in protein degradation in cells, whereas extracellular ubiquitin in body fluid can function through its receptor CXCR4. Recent studies have shown that extracellular ubiquitin and CXCR4 have effects on the morphology and function of cardiomyocytes and can efficiently improve the heart function and survival after myocardial infarction. This review summarizes the role of extracellular ubiquitin in myocardial remodeling and may provide a new and potentially useful therapy for solving the problem of acute myocardial infarction(AMI).

Keywords: extracellular ubiquitin; CXCR4; acute myocardial infarction

随着经济社会的快速发展,居民生活习惯和饮食结构的调整变化,中国心血管疾病(cardiovascular disease, CVD)负担日益加重,现患 CVD 人数约有 2.9 亿^[1]。急性心肌梗死(acute myocardial infarction, AMI)是最常见的心血管疾病之一,AMI 及其进展而来的心力衰竭,是全球死亡率最高的疾病之一。最新研究显示,我国 AMI 并发心力衰竭的患者在院期间死亡率为 30%^[2]。AMI 后进行性心室重构是基因表达改变引起的分子、细胞及组织结构的相关改变,进而导致心脏功能的恶化。目前可采取药物治疗、冠状动脉介入治疗、冠状动脉旁路移植术、心脏器械辅助治疗和心脏移植等方法,在一定程度上可以缓解症状,降低病死率,但并不能完全逆转心室重构的进展,AMI 目前仍是世界范围内导致心源性死亡的主要原因^[3]。因此,如何提高缺血区心肌细胞的存活,是改善梗死后左室重构、提高疾病预后的关键。

泛素(ubiquitin, UB)是一种广泛存在于多种细胞的高度保守的低分子量多肽,可介导蛋白质降解、受体内吞、胞内信号分子活性调节、细胞周期调节等功能^[4-7]。此外,UB 还微量存在于各种体液中,称细胞外泛素或游离泛素(free ubiquitin, fUB)。在多种疾病和病理状态下均可见 fUB 浓度升高^[8-12],已有研究发现 fUB 具有抑制炎症反应、调节免疫功能、促进细胞凋亡或增殖分化等作用^[13-20]。趋化因子受体 4(CXCR4)被发现是 fUB 的胞外受体,且泛素与基质衍生因子-1a(SDF-1a)具有不同的 CXCR4 结合位点^[21]。最近相关研究表明, fUB 可能通过受体 CXCR4 影响心脏组织中多种细胞的形态和功能,因而可能参与 AMI 后心室重构的发生发展。本文对此作一综述,以期对 AMI 的发生、发展及临床诊疗提供新的认识和思路。

1 细胞外泛素及其受体 CXCR4 的发现 生理情

* 基金项目:国家自然科学基金(81700235)。

作者简介:纪逸群(1994—),女,在读硕士研究生,学士学位,专业:临床检验诊断学, E-mail:475099453@qq.com。

通讯作者:何 杨, E-mail:heyang1963@163.com。

况下 fUB 微量存在于血液、尿液和脑脊液等体液中^[22],在 THP1 细胞、人 T 细胞、B 细胞及单核细胞表面发现其可与 CXCR4 结合并引起钙离子内流^[23]。CXCR4 可参与调节器官生成、造血、心血管系统发育、免疫反应、肿瘤转移和人类免疫缺陷病毒(HIV)感染等^[24]。多种疾病和病理过程可见体液中泛素水平升高。烧伤伴吸入性肺损伤患者肺泡灌洗液中泛素水平升高,浓度与病情严重程度负相关,与动脉氧和正相关^[8]。创伤性脑损伤和蛛网膜下腔出血患者脑脊液中泛素浓度升高^[9]。此外,肾衰竭及血液透析患者、创伤及烧伤患者、寄生虫及过敏性疾病患者血浆或血清泛素浓度均有异常升高^[10-13]。

相关研究表明,fUB 具有抗菌、抑炎、调控免疫反应和细胞存活等功能。其 C 端可跨越真菌的细胞壁和细胞膜,抑制钙调磷酸酶的活性从而抑制真菌生长^[14],LEDGRTLSDY 肽段(UB50-59)具有与环孢素相当的免疫抑制活性,可抑制细胞免疫和体液免疫^[15]。静脉输注 fUB 可以增强大鼠肺缺血再灌注损伤中 Th2 型细胞因子反应,减轻水肿程度,提高肺功能^[16]。体外实验发现 fUB 具有增强 Treg 细胞免疫抑制活性的功能^[17]。fUB 对细胞存活的影响则具有细胞特异性。其可通过蛋白酶体降解 STAT3 进而诱导人造血干细胞凋亡^[18],抑制 KT3, K562, Daudi 等白血病细胞存活,对于 HL60 和 T-ALL 细胞则有刺激生长作用^[19],体内 fUB 输注可延长小鼠同种异体皮肤移植物的存活^[20]。

2 细胞外泛素及 CXCR4 在 AMI 及心室重构中的功能

2.1 CXCR4 与 AMI 及心室重构 近年来相关研究发现 CXCR4 受体在动脉粥样硬化进展和 AMI 及心室重构中具有心脏保护作用。在 Apoe^{-/-}或 Ldr^{-/-}小鼠中饮食诱导动脉粥样硬化,使用 CXCR4 拮抗剂或 CXCR4 基因沉默后,可促进动脉粥样硬化的进展^[25]。过表达 CXCR4 的小鼠能显著降低压力超载引起的心室重构,增加毛细血管密度,提高心脏功能^[26]。CXCR4 基因敲除小鼠在 ISO(异丙肾上腺素)诱导的心室重构中具有更高的心衰风险和更低的心脏功能^[27]。AMI 小鼠中 DMOG 诱导 CXCR4 高表达可显著提高梗死区心肌细胞的存活和心功能^[28]。37 例 ST 段抬高型 AMI 患者中发现有 CXCR4 升高,在动脉粥样硬化斑块中与 CD68⁺ 细胞共定位^[29]。最近研究发现,CXCR4 在人动脉粥样硬化斑块中沉积增加,且浓度与年龄、高血压、高胆固醇血症及吸烟史等心血管病危险因素正相关^[30]。Wistar 大鼠心梗模型中,

外周血单核细胞中 CXCR4 基因表达上调^[31]。小鼠 AMI 后 3 h 检测到 SDF-1a mRNA 升高。于 AMI 发生前 30 min 注射 SDF-1a 可有心脏保护作用,减少梗死面积。使用 CXCR4 特异性阻断剂 AMD3100 可阻断 SDF-1a 的心脏保护效应,说明 SDF-1a 通过 CXCR4 发挥作用。分离培养的心肌细胞缺血缺氧处理后,SDF-1a 表达增高,通过 CXCR4 增加 ERK 和 AKT 磷酸化水平,降低 JNK 和 P38 水平,发挥抗细胞凋亡作用^[32]。另有研究发现,过表达 CXCR4 的大鼠心肌细胞缺血缺氧处理后,与对照组相比,胞浆钙离子超载程度相同,但线粒体膜通透性的增加受到抑制,线粒体肿胀程度降低,心肌细胞死亡减少 65%,提示 CXCR4 在缺血心肌细胞中还具有线粒体保护功能^[33]。在心脏内皮细胞中 SDF-1a/CXCR4 激活 AKT 后,促进血管内皮生长因子的表达和血管新生^[34]。此外,CXCR4 可增加干细胞归巢到心梗缺血区,大鼠心脏缺血/再灌注模型中,注射过表达 CXCR4 的骨髓间充质干细胞向心梗部位归巢增多并可显著改善心功能^[35]。

2.2 fUB 与 AMI 及心室重构 最新研究表明,fUB 作为 CXCR4 的另一内源性配体,可能与 SDF-1a/CXCR4 具有同样的心肌保护作用。在 AMI,稳定性心绞痛和不稳定性心绞痛各 40 例患者中,血浆 fUB 的 mRNA 和蛋白水平均有升高,且细胞内泛素化蛋白水平升高。其中 AMI 患者中上升水平最高,提示 fUB 在冠心病进展中发挥作用^[36]。AMI 后伴随有交感神经异常激活,儿茶酚胺大量释放,作用于心脏 β 受体可通过 GSK-3/JNK 通路诱导心肌细胞凋亡,而 PI3K/Akt 通路可通过抑制 GSK-3 β 活性发挥抗凋亡作用^[37-38]。SINGH 等^[38]发现 ISO(异丙肾上腺素)特异性激活成年大鼠心肌细胞的 β 受体可导致培养上清中 fUB 浓度升高,FSK 直接刺激心肌细胞 β 受体下游的腺苷酸环化酶同样可以升高细胞外泛素水平;CGP(β 1 受体阻断剂)或 ICI(β 2 受体阻断剂)预处理 30min 后均可抑制 ISO 诱导的 fUB 浓度升高,说明 β 1 和 β 2 受体均参与到升高 fUB 浓度;PI 和 Hoechst 染色证实培养上清中 fUB 增多很可能是 ISO 处理后细胞主动分泌所致,并非由于细胞膜通透性增加。10 μ g/ml fUB 预处理心肌细胞 30 min 后,可完全逆转 ISO 诱导的细胞凋亡。fUB 的抗凋亡作用与抑制 β 受体激活后 GSK-3 β /JNK 活性增高有关,且与增强抗凋亡通路 PI3K/Akt 活性有关^[38]。由于 PI3K/Akt 可通过抑制 GSK-3 β /JNK 活性来发挥抗凋亡作用,因此,细胞外泛素抗心肌细胞凋亡作用的直接作用分子需要相关实验进一

步证实。

DANIELS 等^[39]通过体内实验进一步证实细胞外泛素可以抑制 ISO 诱导的心肌细胞凋亡和心室重构,降低纤维化,改善心功能。通过静脉微渗透泵连续 7 天输注 ISO 到小鼠体内,诱导 β 受体激活所致心室重构的小鼠模型,实验组同时输注 fUB (fUB+ISO)。7 天后对左室功能、形态和相关蛋白表达进行分析发现,与 ISO 组相比,fUB+ISO 组心肌细胞凋亡和组织纤维化程度均有明显改善,心肌细胞肥大情况在两组间无明显差异。UB+ISO 组同时具有较高水平的 Akt 活性,以及较低水平的 GSK-3 β 和 JNK 活性。此外,UB+ISO 可促进 MMP-2, MMP-9 和 TIMP-2 的表达。分离培养的心肌成纤维细胞同样在 UB+ISO 处理后出现高表达 MMP-2 和 TIMP-2,抑制 Akt 活性则可阻断该效应^[39]。MMPs 主要降解胶原等细胞外基质, TIMPs 是 MMPs 内源性抑制分子,AMI 后心脏组织中 MMPs 和 TIMPs 浓度失衡促进过度纤维化及心室重构的发生发展^[40]。fUB 促进 MMPs 和 TIMPs 表达提示其可能在 AMI 后纤维化中发挥作用。

AMI 后血管内皮再生对于心肌组织的血供和瘢痕修复极为重要,适度的纤维瘢痕形成有助于维持组织完整性,而胶原过度沉积则导致心脏收缩舒张功能恶化^[40]。大鼠中分离的心肌微血管内皮细胞经 fUB 孵育处理后,VEGF-A 和 MMP-2 表达均升高;细胞内与迁移相关的纤维肌动蛋白重排增强,内皮细胞向缺损处迁移及形成新生管状物能力明显提高, CXCR4 受体特异性阻断剂 AMD3100 可阻断该效应^[41]。SCOFIELD 等^[42]证实心肌成纤维细胞上存在与 fUB 相互作用的 CXCR4 受体。在成纤维细胞中, fUB 可激活 ERK1/2 并促进 VEGF 表达。而与心肌细胞不同的是, fUB 对 Akt 的表达或活性没有影响;与内皮细胞相反, fUB 抑制胎牛血清诱导的成纤维细胞增殖和向损伤部位迁移。另外,最新研究发现心肌成纤维细胞表达 IDE(胰岛素降解酶选择性抑制剂)可将 fUB(1-76) 转化为 fUB(1-74),具有抑制心肌成纤维细胞生长作用^[43]。AMI 后缺血再灌注损伤小鼠模型中,给予 fUB 3 天后显著降低梗死面积,提高心脏射血分数,降低炎性渗出及中性粒细胞活性和聚集,降低血清中 IL-12 和 MCP-1 等炎症因子水平^[44]。总之,这些实验均提示, fUB/CXCR4 对心脏内皮细胞和成纤维细胞的形态功能均有影响,且能减少 AMI 后缺血再灌注损伤中炎症反应程度,因而可能参与到 AMI 心室重构过程。

3 结论与展望 综上所述,细胞外泛素及其受体

CXCR4 对心脏组织中的心肌细胞、内皮细胞和成纤维细胞等均有影响。在 ISO 诱导的心室重构和 AMI 缺血再灌注损伤中,给予外源性 fUB 亦显示出心脏保护功能,可以预想 fUB 作为 CXCR4 另一配体,将会成为治疗 AMI 新的分子靶标。由于 fUB 和 SDF-1a 具有共同受体 CXCR4,且已有研究发现 AMI 后发生死亡,心衰或心梗复发的病人血清中有高水平 SDF-1a,且 SDF-1a 可独立预测 AMI 后危险事件的发生^[45],未来还需进一步明确检测 AMI 患者血清中的 fUB 是否能对疾病早期诊断、病情评估和预后评估有作用。同时,阐明两者在 AMI 中发挥功能的具体机制及相互作用,将进一步加深对 fUB 生物学功能的认识,为 AMI 的发生发展及诊疗提供新的认识和思路。另外,由于部分研究显示受体 CXCR4 与 α 1-受体和 β 2-受体均有相互作用^[46],阐明与这些受体间的调控网络,必将进一步揭示 fUB 发挥功能的具体信号通路,也为解决人类心血管疾病的难题带来福音。

参考文献:

- [1] 陈伟伟,高润霖,刘力生,等.《中国心血管病报告 2017》概要[J]. 中国循环杂志,2018,33(1):1-8.
CHEN Weiwei, GAO Runlin, LIU Lisheng, et al. Summary of "China Cardiovascular disease report 2017"[J]. Chinese Circulation Journal, 2018, 33(1): 1-8.
- [2] 方科.急性心肌梗死并发心力衰竭患者在院死亡率及临床预后分析[J]. 中国实用医药,2018,13(30):49-50.
FANG Ke. Analysis of mortality and clinical prognosis of patients with acute myocardial infarction complicated with heart failure in hospital[J]. China Practical Medical, 2018, 13(30): 49-50.
- [3] MOZAFFARIAN D, BENJAMIN E J, GO A S, et al. Heart disease and stroke statistics-2015 update: A report from the American Heart Association[J]. Circulation, 2015, 131(4): e29-322.
- [4] WILKINSON K D, URBAN M K, HAAS A L. Ubiquitin is the atp-dependent proteolysis factor I of rabbit reticulocytes[J]. J Biol Chem, 1980, 255(16): 7529-7532.
- [5] MARCHESE A, BENOVIĆ J L. Agonist-promoted ubiquitination of the G protein-coupled receptor CXCR4 mediates lysosomal sorting[J]. J Biol Chem, 2001, 276(49): 45509-45512.
- [6] CARTER R S, PENNINGTON K N, UNGURAIT B J, et al. Signal-induced ubiquitination of I kappa B kinase-beta[J]. J Biol Chem, 2003, 278(49): 48903-

- 48906.
- [7] RYU K Y, SINNAR S A, REINHOLDT L G, et al. The mouse polyubiquitin gene Ubb is essential for meiotic progression[J]. *Mol Cell Biol*, 2008, 28(3): 1136-1146.
- [8] BAKER T A, DAVIS C S, BACH H H, et al. Ubiquitin and stromal cell-derived factor-1 alpha in bronchoalveolar lavage fluid after burn and inhalation injury[J]. *J Burn Care Res*, 2012, 33(1): 57-64.
- [9] MAJETSCHAK M, KING D R, KREHMEIER U, et al. Ubiquitin immunoreactivity in cerebrospinal fluid after traumatic brain injury: Clinical and experimental findings[J]. *Crit Care Med*, 2005, 33(7): 1589-1594.
- [10] OKADA M, MIYAZAKI S, HIRASAWA Y. Increase in plasma concentration of ubiquitin in dialysis patients: possible involvement in beta 2-microglobulin amyloidosis[J]. *Clin Chim Acta*, 1993, 220(2): 135-144.
- [11] MAJETSCHAK M, ZEDLER S, HOSTMANN A, et al. Systemic ubiquitin release after blunt trauma and burns: Association with injury severity, posttraumatic complications, and survival[J]. *J Trauma*, 2008, 64(3): 586-596.
- [12] ASSEMAN C, PANCRE V, DELANOYE A, et al. A radioimmunoassay for the quantification of human ubiquitin in biological fluids: Application to parasitic and allergic diseases[J]. *J Immunol Methods*, 1994, 173(1): 93-101.
- [13] LEIBLEIN M, PONELIES N, JOHNSON T, et al. Increased extracellular ubiquitin in surgical wound fluid provides a chemotactic signal for myeloid dendritic cells [J/OL]. *Eur J Trauma Emerg Surg*, [2018-8-30] <https://doi.org/10.1007/S00068-018-1001-0>.
- [14] KIEFFER A E, GOUMON Y, RUH O, et al. The N- and C-terminal fragments of ubiquitin are important for the antimicrobial activities[J]. *FASEB J*, 2003, 17(6): 776-778.
- [15] SZEWCZUK Z, STEFANOWICZ P, WILCZYNSKI A, et al. Immunosuppressive activity of ubiquitin fragments containing retro-RGD sequence[J]. *Biopolymers*, 2004, 74(5): 352-362.
- [16] GARCIA-COVARRUBIAS L, MANNING E W, SORELL L T, et al. Ubiquitin enhances the Th2 cytokine response and attenuates ischemia-reperfusion injury in the lung[J]. *Crit Care Med*, 2008, 36(3): 979-982.
- [17] CAO Yuezhen, LI Chengli, ZHANG Qi, et al. Extracellular ubiquitin enhances the suppressive effects of regulatory T cells on effector T cell responses[J]. *Clin Lab*, 2014, 60(12): 1983-1991.
- [18] DAINO H, MATSUMURA I, TAKADA K, et al. Induction of apoptosis by extracellular ubiquitin in human hematopoietic cells: possible involvement of STAT3 degradation by proteasome pathway in interleukin 6-dependent hematopoietic cells[J]. *Blood*, 2000, 95(8): 2577-2585.
- [19] DAINO H, SHIBAYAMA H, MACHII T, et al. Extracellular ubiquitin regulates the growth of human hematopoietic cells[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 1996, 223(2): 226-228.
- [20] EARLE S A, EL-HADDAD A, PATEL M B, et al. Prolongation of skin graft survival by exogenous ubiquitin[J]. *Transplantation*, 2006, 82(11): 1544-1546.
- [21] SAINI V, STAREN D M, ZIAREK J J, et al. The CXC chemokine receptor 4 ligands ubiquitin and stromal cell-derived factor-1 alpha function through distinct receptor interactions[J]. *J Biol Chem*, 2011, 286(38): 33466-33477.
- [22] EARLE S A, PROCTOR K G, PATEL M B, et al. Ubiquitin reduces fluid shifts after traumatic brain injury[J]. *Surgery*, 2005, 138(3): 431-438.
- [23] SAINI V, ROMERO J, MARCHESE A, et al. Ubiquitin receptor binding and signaling in primary human leukocytes [J]. *Commun Integr Biol*, 2010, 3(6): 608-610.
- [24] BUSILLO J M, BENOVIC J L. Regulation of CXCR4 signaling[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2007, 1768(4): 952-963.
- [25] ZERNECKE A, BOT I, DJALALI-TALAB Y, et al. Protective role of CXC receptor 4/CXC ligand 12 unveils the importance of neutrophils in atherosclerosis[J]. *Circ Res*, 2008, 102(2): 209-217.
- [26] LAROCCA T J, JEONG D, KOHLBRENNER E, et al. CXCR4 gene transfer prevents pressure overload induced heart failure[J]. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*, 2012, 53(2): 223-232.
- [27] WANG E R, JARRAH A A, BENARD L, et al. Deletion of CXCR4 in cardiomyocytes exacerbates cardiac dysfunction following isoproterenol administration[J]. *Gene Therapy*, 2014, 21(5): 496-506.
- [28] MAYORGA M, KIEDROWSKI M, SHAMHART P, et al. Early upregulation of myocardial CXCR4

- expression is critical for dimethyloxalylglycine-induced cardiac improvement in acute myocardial infarction[J]. *American Journal of Physiology Heart and Circulatory Physiology*, 2016, 310(1): H20-28.
- [29] DERLIN T, SEDDING D G, DUTZMANN J, et al. Imaging of chemokine receptor CXCR4 expression in culprit and nonculprit coronary atherosclerotic plaque using motion-corrected [^{68}Ga] pentixafor PET/CT[J]. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*, 2018, 45(11): 1934-1944.
- [30] WEIBERG D, THACKERAY J T, DAUM G, et al. Clinical molecular imaging of chemokine receptor CXCR4 expression in atherosclerotic plaque using ^{68}Ga -pentixafor PET: Correlation with cardiovascular risk factors and calcified plaque burden[J]. *Journal of Nuclear Medicine*, 2018, 59(2): 266-272.
- [31] KIANI A A, BABAEI F, SEDIGHI M, et al. CXCR4 expression is associated with time-course permanent and temporary myocardial infarction in rats[J]. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*, 2017, 20(6): 648-654.
- [32] HU Xiaofeng, DAI Shujing, WU Wenjian, et al. Stromal cell derived factor-1 alpha confers protection against myocardial ischemia/reperfusion injury: role of the cardiac stromal cell derived factor-1 alpha CXCR4 axis[J]. *Circulation*, 2007, 116(6): 654-663.
- [33] CAI Wenfeng, KANG Kai, HUANG Wei, et al. CXCR4 attenuates cardiomyocytes mitochondrial dysfunction to resist ischaemia-reperfusion injury[J]. *J Cell Mol Med*, 2015, 19(8): 1825-1835.
- [34] SAXENA A, FISH J E, WHITE M D, et al. Stromal cell-derived factor-1 alpha is cardioprotective after myocardial infarction [J]. *Circulation*, 2008, 117(17): 2224-2231.
- [35] ZARUBA M M, FRANZ W M. Role of the SDF-1-CXCR4 axis in stem cell-based therapies for ischemic cardiomyopathy [J]. *Expert Opin Biol Ther*, 2010, 10(3): 321-335.
- [36] CHEN S M, ZHANG H X, LI Y G, et al. Expression of ubiquitin in peripheral inflammatory cells from patients with coronary artery disease[J]. *J Int Med Res*, 2008, 36(6): 1227-1234.
- [37] REMONDINO A, KWON S H, COMMUNAL C, et al. Beta-adrenergic receptor-stimulated apoptosis in cardiac myocytes is mediated by reactive oxygen species/c-Jun NH2-terminal kinase-dependent activation of the mitochondrial pathway[J]. *Circ Res*, 2003, 92(2): 136-138.
- [38] SINGH M, ROGINSKAYA M, DALAL S, et al. Extracellular ubiquitin inhibits beta-AR-stimulated apoptosis in cardiac myocytes: Role of GSK-3 beta and mitochondrial pathways[J]. *Cardiovasc Res*, 2010, 86(1): 20-28.
- [39] DANIELS C R, FOSTER C R, YAKOOB S, et al. Exogenous ubiquitin modulates chronic beta-adrenergic receptor-stimulated myocardial remodeling: Role in AKT activity and matrix metalloproteinase expression[J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2012, 303(12): H1459-1468.
- [40] SCOFIELD S L, AMIN P, SINGH M, et al. Extracellular ubiquitin: Role in myocyte apoptosis and myocardial remodeling (Review)[J]. *Compr Physiol*, 2015, 6(1): 527-560.
- [41] STEAGALL R J, DANIELS C R, DALAL S, et al. Extracellular ubiquitin increases expression of angiogenic molecules and stimulates angiogenesis in cardiac microvascular endothelial cells[J]. *Microcirculation*, 2014, 21(4): 324-332.
- [42] SCOFIELD S L, DANIELS C R, DALAL S, et al. Extracellular ubiquitin modulates cardiac fibroblast phenotype and function via its interaction with CXCR4[J]. *Life Sci*, 2018, 211: 8-16.
- [43] JACKSON E K, MI E, RITOV V B, et al. Extracellular ubiquitin (1-76) and ubiquitin (1-74) regulate cardiac fibroblast proliferation [J]. *Hypertension*, 2018, 72(4): 909-917.
- [44] SCOFIELD S L C, DALAL S, LIM K A, et al. Exogenous ubiquitin reduces inflammatory response and preserves myocardial function 3 days post ischemia/reperfusion injury[J]. *American Journal of Physiology Heart and Circulatory Physiology*, 2019, 316(3): H617-H628.
- [45] FORTUNATO O, SPINETTI G, SPECCHIA C, et al. Migratory activity of circulating progenitor cells and serum SDF-1a predict adverse events in patients with myocardial infarction [J]. *Cardiovasc Res*, 2013, 100(2): 192-200.
- [46] TRIPATHI A, VANA P G, CHAVAN T S, et al. Heteromerization of chemokine (C-X-C motif) receptor 4 with alpha (1) A/B-adrenergic receptors controls alpha1-adrenergic receptor function [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2015, 112(13): E1659-1668.