

• 论 著 •

PHLDA1 通过调控 PI3K/AKT 信号轴改善缺血性心肌病*

胡天赐, 王金辉[△]

厦门市儿童医院(复旦大学附属儿科医院厦门医院)医学检验科, 福建厦门 361006

摘要:目的 探讨普列克底物蛋白同源结构域家族 A 成员 1 蛋白(PHLDA1)在缺血性心肌病(ICM)中的可能作用和潜在机制。方法 对雄性 Balb/C 小鼠行尾静脉注射对照 AAV9-U6 和 AAV9-U6-shPHLDA1 病毒, 2 周后随机分为 4 组, 分别进行假手术和冠状动脉结扎[建立急性心肌梗死(MI)模型]; 行免疫印迹、免疫荧光和实时荧光定量 PCR(qPCR)检测相关蛋白的表达变化, 免疫组织化学和马松染色观察心肌形态与心脏纤维化的进展。结果 免疫印迹和免疫荧光实验结果表明, 在构建的 MI 小鼠模型的心肌组织中 PHLDA1 表达升高。在 MI 小鼠模型中抑制 PHLDA1 的表达能够显著提高其生存率, 免疫组织化学和马松染色结果表明, MI 小鼠的心脏结局与 PHLDA1 表达呈负相关($P < 0.05$)。在 MI 模型中, 抑制 PHLDA1 的表达能够促进心肌组织中磷脂酰肌醇 3 激酶(PI3K)/蛋白激酶 B(PKB/Akt)的磷酸化; PHLDA1 过表达则显著抑制了心肌组织中 PI3K/Akt 的磷酸化。结论 PHLDA1 在改善 ICM 的心脏结局中具有重要作用, 抑制 PHLDA1 的表达可通过促进 PI3K/Akt 磷酸化缓解缺血性心肌病。

关键词:缺血性心肌病; 普列克底物蛋白同源结构域家族 A 成员 1 蛋白; 磷脂酰肌醇 3 激酶/蛋白激酶 B

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2025.17.015

中图法分类号: R54

文章编号: 1673-4130(2025)17-2131-06

文献标志码: A

PHLDA1 improves ischemic cardiomyopathy by regulating the PI3K/AKT signaling axis*

HU Tianci, WANG Jinhui[△]

Department of Medical Laboratory, Xiamen Children's Hospital (Xiamen Hospital, Pediatrics Hospital Affiliated to Fudan University), Xiamen, Fujian 361006, China

Abstract: **Objective** To investigate the potential role and underlying mechanisms of Pleckstrin homology-like Domain, Family A, Member 1 (PHLDA1) in ischemic cardiomyopathy (ICM). **Methods** In this study, male Balb/C mice were administered control AAV9-U6 and AAV9-U6-shPHLDA1 vectors via tail vein injection. Two weeks later, mice were randomly divided into four groups: two groups underwent coronary artery ligation to induce an acute myocardial infarction (MI) model, while the other two groups underwent sham surgery. Protein expression levels were assessed using Western blotting, immunofluorescence, and real-time fluorescence quantitative PCR (qPCR). Myocardial morphology and cardiac fibrosis progression were evaluated through immunohistochemistry and Masson staining. **Results** The results of immunoblotting and immunofluorescence experiments showed that PHLDA1 expression was elevated in the myocardial tissue of the constructed MI mouse model. Inhibiting the expression of PHLDA1 in the MI mouse model could significantly improve its survival rate. Immunohistochemical and Masson staining results showed that the cardiac outcome of MI mice was negatively correlated with PHLDA1 expression ($P < 0.05$). In the MI model, inhibiting the expression of PHLDA1 could promote the phosphorylation of phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K)/protein kinase B (Akt) in myocardial tissue. Overexpression of PHLDA1 significantly inhibited the phosphorylation of PI3K/Akt in myocardial tissue. **Conclusion** PHLDA1 plays an important role in improving the cardiac outcomes of ICM, and inhibiting PHLDA1 expression can alleviate ischemic cardiomyopathy by promoting PI3K/Akt phosphorylation.

Key words: ischemic cardiomyopathy; Pleckstrin homology-like Domain, Family A, Member 1; phosphatidylinositol 3-kinase/protein kinase B

* 基金项目: 福建省自然科学基金项目(2021D030)。

作者简介: 胡天赐, 男, 主管技师, 主要从事心血管疾病预防的研究。 [△] 通信作者, E-mail: wangadaw@126.com。

缺血性心肌病(ICM)以梗阻性冠状动脉疾病为背景,以左心室收缩功能紊乱为主要特征,是全球心力衰竭的主要原因。ICM 的发病机制与多种分子信号通路密切相关,包括心肌肥大、细胞凋亡和氧化应激等^[1]。而冠状动脉突然闭塞引起心肌缺血坏死导致的急性心肌梗死(MI)隶属于缺血性心肌病范畴。

有研究表明,普列克底物蛋白同源结构域家族 A 成员 1 蛋白(PHLDA1)在哺乳动物的多种组织中均有 mRNA 和蛋白水平的表达^[2-4]。PHLDA1 表达上调会加重脑损伤和氧化应激/缺血再灌注诱导的心肌损伤^[5-6]。抑制 PHLDA1 表达可通过改善线粒体功能紊乱和内质网应激影响脑缺血/再灌注损伤^[2]。磷脂酰肌醇 3 激酶/蛋白激酶 B(PI3K/Akt)信号轴通过调控细胞凋亡或增生,影响组织修复^[7]。在肿瘤中,PHLDA1 通过抑制 PI3K/Akt 磷酸化来抑制细胞增殖^[8]。成纤维细胞生长因子 10(FGF10)通过抑制 PHLDA1 的表达激活 PI3K/Akt 轴减轻阿霉素诱导的心肌毒性,从而提高心肌细胞存活率^[9]。

目前鲜见直接证据证明调控 PHLDA1 表达可以通过 PI3K/Akt 轴影响 ICM 的发生发展。基于此,本研究建立 MI 小鼠模型,探讨 PHLDA1 在 ICM 中可能的作用。

1 材料与方法

1.1 材料来源 雄性 Balb/C 小鼠购自维通利华(北京)公司,18 周龄。实时荧光定量 PCR(qPCR)试剂盒购自 Vazyme 公司、苏木精-伊红(HE)试剂盒和马松(Masson)试剂盒购自 Elabscience 公司;AAV9-U6-shPHLDA1 和 AAV9-U6 病毒颗粒由维真生物技术公司(济南)提供;PHLDA1 抗体、磷酸化磷脂酰肌醇-3-激酶(p-PI3K)抗体、磷脂酰肌醇-3-激酶(PI3K)抗体、磷酸化蛋白激酶 B(p-Akt)抗体、蛋白激酶 B(Akt)抗体和甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH)抗体购自 Cell signaling technology 公司。本研究所用实验动物均经已通过本院科学伦理委员会审核批准,批准文件:厦儿科伦审[2021]104 号。

1.2 动物造模和分组

1.2.1 动物造模 雄性 Balb/C 小鼠行尾静脉注射能够敲低小鼠体内 PHLDA1 表达量的包裹有 U6-shPHLDA1 敲降质粒的 AAV9 腺病毒(AAV9-U6-shPHLDA1)或无敲降功能的仅包裹有 U6 质粒的腺病毒(AAV9-U6),病毒浓度为 1.5×10^{12} $\mu\text{g}/\text{mL}$,每只小鼠体内注射 3.0×10^{11} μg 病毒。注射前将小鼠放入固定器并充分暴露尾巴,用生理盐水稀释后的病毒经尾静脉注入小鼠体内,进针时观察血液是否回流,确保进入到静脉。持续观察小鼠状态,2 周后进行 MI 造模。在麻醉[行 2% 戊巴比妥钠溶液(10 mL/kg)腹腔注射]后采取仰卧位固定,连接呼吸机辅助呼

吸,消毒皮肤并在胸部备皮。沿左侧第 3、4 肋间(或心脏搏动最明显处)纵向剪开左胸部皮肤约 1 cm,并将皮下组织及胸肌逐层钝性分离。在心脏搏动最明显处开胸,迅速挤出心脏。实验组(即 MI 组)用缝合针于肺动脉圆锥与左心耳之间,左心耳底部 1 mm 处进针,深度约 0.2 mm,打双结系紧以结扎左前降动脉近端,造成心肌缺血(心壁颜色变白);对照组(即 Sham 组)只穿线,不结扎;将心脏重新放回胸腔,在清理胸腔和挤出胸腔内空气后缝合伤口并消毒手术区^[10-12]。待小鼠状态稳定后移除呼吸机并放回笼内。造模 2 周后所有小鼠实行安乐死并测定小鼠生存率,留取小鼠心脏进行后续实验。

1.2.2 分组 体内敲低 PHLDA1:20 只小鼠被随机分为两组,每组 10 只。Sham 组:其中 5 只尾静脉注射 AAV9-U6,不调控 PHLDA1 表达水平,为 Sham-WT 组,另外 5 只尾静脉注射 AAV9-U6-shPHLDA1,敲低 PHLDA1 表达水平,为 Sham-shPHLDA1 组;MI 组:其中 5 只尾静脉注射 AAV9-U6,不调控 PHLDA1 表达水平,为 MI-WT 组;另外 5 只尾静脉注射 AAV9-U6-shPHLDA1,敲低 PHLDA1 表达水平,为 MI-shPHLDA1 组。

体内过表达 PHLDA1:20 只小鼠被随机分为两组,每组 10 只。Sham 组:其中 5 只尾静脉注射 AAV9-U6,不调控 PHLDA1 表达水平,为 Sham-WT 组,另外 5 只尾静脉注射 AAV9-PHLDA1,过表达 PHLDA1,为 Sham-PHLDA1 组;MI 组:其中 5 只尾静脉注射 AAV9-U6,不调控 PHLDA1 表达水平,为 MI-WT 组;另外 5 只尾静脉注射 AAV9-PHLDA1,过表达 PHLDA1,为 MI-PHLDA1 组。

1.3 实验方法

1.3.1 PHLDA1 mRNA 表达检测 根据试剂说明书,使用 Trizol 试剂对小鼠心肌组织细胞 RNA 进行提取。加入 Trizol 试剂制备心肌组织细胞悬液,加入三氯甲烷萃取,上清中加入异丙醇。离心后,将 75% 乙醇洗涤的 RNA 溶于无核酸酶的水中并检测其浓度。以 1 μg 的总 RNA 为模板合成 cDNA。在 qPCR 扩增之前,设计和验证特定引物。qPCR 采用 SYBR Green 检测,总体积为 20 μL 。PCR 反应混合物为:cDNA 模板 1 μL ,正向引物 0.6 μL ,反向引物 0.6 μL ,SuperReal PreMix Plus 10 μL 。PHLDA1 正向引物(5'-3')AGCAGCAGCAACAGCAGCAG,反向引物(5'-3')TCCACGCAGTCTACAGTCTTCATATG;内参 GAPDH 正向引物(5'-3')CACTGAG-GACCAGGTTGTCT,反向引物(5'-3')TCCAC-CACCCTGTTGCTGTA。热循环程序:先在 95 $^{\circ}\text{C}$ 初始变性 3 min,再在 95 $^{\circ}\text{C}$ 条件下变性 5 s,在 58 $^{\circ}\text{C}$ 条件退火 10 s,在 72 $^{\circ}\text{C}$ 条件下延伸 31 s,循环 40 次。最

后进行熔化曲线分析,以确认扩增的特异性。使用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 方法计算相对表达水平。

1.3.2 免疫荧光分析 在室温用 4.0%多聚甲醛固定复温后的冰冻心脏组织切片(4 μm)10 min。固定后,用含 0.1% Tween-20(TBST)的 tris 缓冲液洗涤 3 次,去除多余的固定物。用含 0.5% Triton X-100 的 TBST 对样品打孔(10 min),再用 TBST(3.0% BSA)封闭。稀释后的一抗(1:1 000)与样品在 4 $^{\circ}\text{C}$ 下孵育过 1 夜。第 2 天取出玻片复温后回收一抗,清洗同上。以下步骤需避光操作:滴加对应二抗(1:5 000),室温下在暗盒中孵育 2 h,弃二抗后清洗同前,滴加抗荧光淬灭剂(含 DAPI)进行核染色并拍照。

1.3.3 免疫印迹分析 心肌组织总蛋白由含有蛋白酶和磷酸酶抑制剂的 RIPA 缓冲液提取而成。按照生产厂家的说明书,用 BCA 试剂盒测定蛋白浓度,调整样品浓度为 3 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$,95 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 5 min。通过 SDS-PAGE 溶解变性蛋白样品。根据转移效率和相对分子质量的不同,在 300 mA 下将蛋白转移至 PVDF 膜。室温下将 PVDF 膜在含 5.0%脱脂乳的 TBST 中孵育 1 h,防止非特异性结合。加入一抗(1:1 000)后 4 $^{\circ}\text{C}$ 孵育过夜。次日,回收一抗后用 TBST 洗涤 3 次,每次 15 min。将膜与酶标二抗(1:5 000)在室温下孵育 1 h。洗涤同前,使用增强型化学发光(ECL)底物观察蛋白质条带。

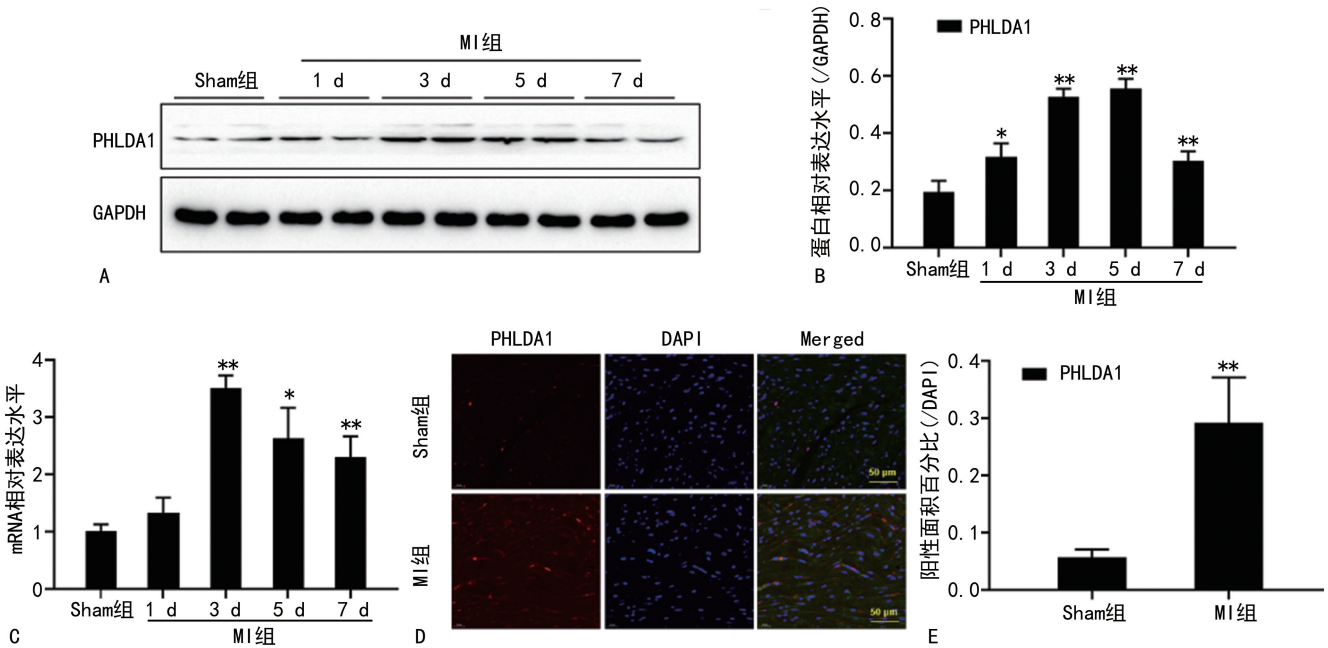
1.3.4 HE 染色和 Masson 染色 取心脏组织石蜡

切片(4 μm)在 60 $^{\circ}\text{C}$ 烘箱中烘片 2 h 进行脱蜡,趁热将玻片置于二甲苯中 30 min;依次经系列梯度乙醇(50%、70%、83%、95%、100%、100%)脱水,采用高压法行抗原修复,用 0.5% Triton X-100 在室温下打孔 10 min,清洗同上;滴加 H_2O_2 ,静置 10 min,室温下滴入 5%山羊血清封闭 1 h。分别按照 HE 试剂盒和 Masson 试剂盒进行组织染色,再次梯度乙醇脱水、清除二甲苯和装片,光学显微镜下观察和拍摄,进行组织病理学分析以评估组织形态和细胞结构。

1.4 统计学处理 采用 GraphPad Prism10.1 版统计学软件进行数据处理及统计分析。符合正态分布的计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示,组间比较采用非配对 t 检验或配对 t 检验,多组间比较采用单因素方差分析;计数资料以频数或百分率表示,组间比较采用 χ^2 检验。以中位生存时间表示小鼠的生存时间并绘制生存曲线。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 PHLDA1 在 MI 小鼠中的表达 qPCR 和免疫印迹分析结果表明,在成功建立的 MI 小鼠中,PHLDA1 表达水平先升高,后降低。免疫印迹分析结果中,PHLDA1 表达水平在第 5 天最高;qPCR 结果中,PHLDA1 表达水平在第 3 天最高。免疫荧光分析结果显示,PHLDA1 表达水平在 MI 小鼠中升高。见图 1。



注:A为免疫印迹分析 PHLDA1 在不同时间内的表达,B为免疫印迹分析定量结果,C为 PHLDA1 mRNA 相对表达水平,D为 PHLDA1 免疫荧光分析 PHLDA1 在不同时间内的表达,E为免疫荧光分析定量结果;与对照组比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$ 。

图 1 MI 模型中 PHLDA1 的表达

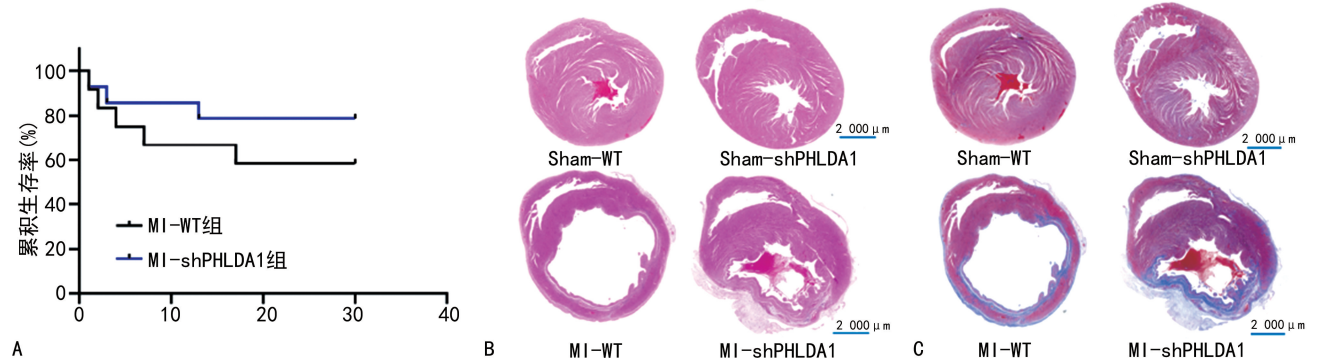
2.2 敲低 PHLDA1 可提高 MI 小鼠生存率 为了进一步阐明 PHLDA1 在 MI 进展中可能的作用,笔者研

究了敲低 PHLDA1 对 MI 结局的影响。在敲低 PHLDA1 后,MI 小鼠的累积生存率显著升高。HE

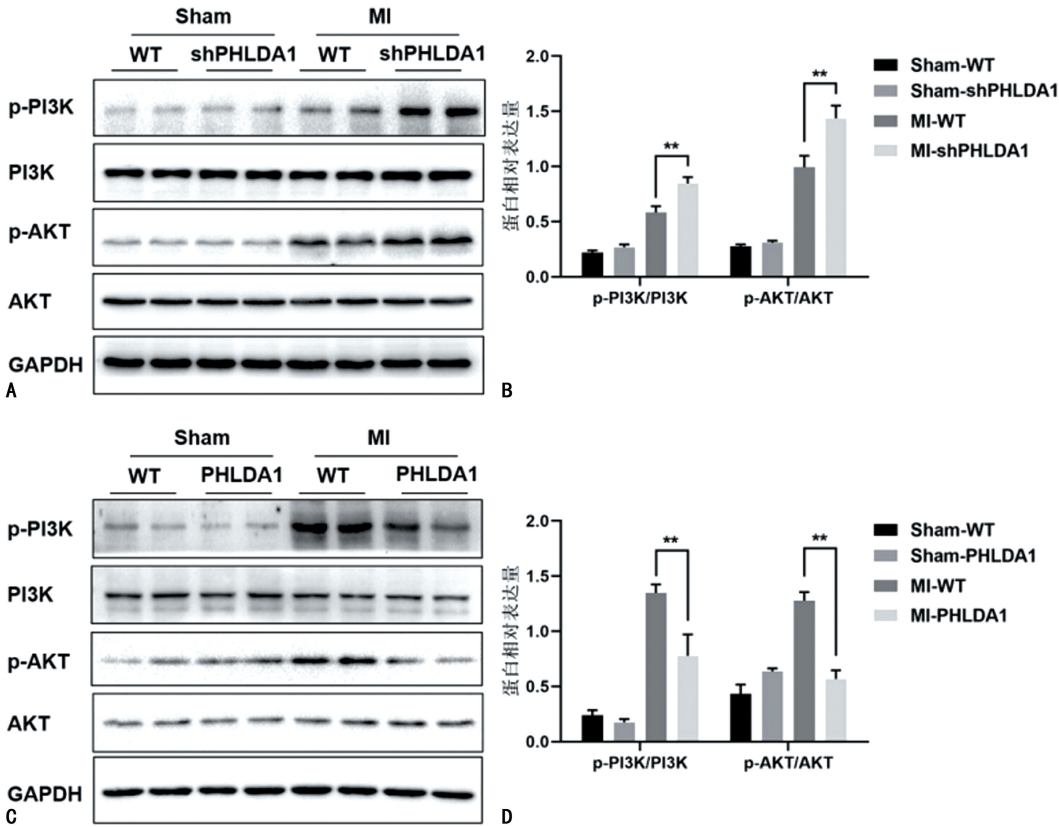
染色和 Masson 染色结果表明,敲低 PHLDA1 后,MI 小鼠的心肌结构得到改善,细胞破坏减少,纤维断裂减少,梗死面积降低。见图 2。

2.3 PI3K/Akt 磷酸化受 PHLDA1 表达的影响 为了研究受 PHLDA1 影响的信号通路,笔者进一步分析了 MI 小鼠中 PI3K/Akt 通路的激活情况。免疫印

迹分析结果显示,敲低 PHLDA1 后,MI 组 PI3K 和 Akt 磷酸化水平显著提高($P<0.05$),Sham 组没有观察到这种现象。相反,过表达 PHLDA1 后,MI 组 PI3K 和 Akt 磷酸化水平显著下降($P<0.05$)。见图 3。



注:A为敲低 PHLDA1 基因后 MI 小鼠的生存曲线,B为 HE 染色结果,C为 Masson 染色结果。
图 2 阻断 PHLDA1 可提高 MI 小鼠生存率



注:A为敲低 PHLDA1 后 MI 小鼠中 PI3K 和 Akt 磷酸化水平变化情况,B为相应免疫印迹分析定量结果,C为过表达 PHLDA1 后 MI 小鼠中 PI3K 和 Akt 磷酸化水平变化情况,D为相应免疫印迹分析定量结果;* 为 $P<0.05$ 。

图 3 PHLDA1 表达水平影响 PI3K/Akt 磷酸化

3 讨 论

目前国内外对 PHLDA1 的研究主要围绕其在经典细胞中的调节作用,包括 p53、Akt、肿瘤坏死因子(TNF)和 Bax 等关键因子参与的调节^[5,8,13]。但 PHLDA1 和 ICM 相关的报道较少。本研究通过探究

PHLDA1 在 MI 中的表达,发现了其与 MI 相关的潜在信号通路。

Pleckstrin 同源结构域类蛋白根据不同的功能,分为 PHLDA 和 PHLDB 两个家族,每个家族由 3 个不同成员组成^[14]。PHLDA 家族中的成员与抑制肿

瘤细胞生长的信号通路和抑制肿瘤发生等过程有关^[15-18]。有研究发现,PHLDA1 参与氧化应激和炎症反应,以及 PHLDA1 在调节脂多糖激活的 TLR4 信号通路中的潜在作用^[19]。还有研究发现,PHLDA1 在氧化应激诱导的心肌缺血再灌注损伤中呈高表达,这种过度表达加重了心肌细胞损伤^[5]。此外,越来越多的证据支持 PHLDA1 可作为肝缺血/再灌注损伤^[20]和 ICM^[21]等疾病的新治疗靶点。这些证据为探索 MI 中 PHLDA1 的潜在作用和机制提供了参考方向。本研究结果显示,在 MI 小鼠中 PHLDA1 表达水平显著增加,表明 PHLDA1 与疾病的发生发展相关,与 GUO 等^[5]和 WANG 等^[21]的报道基本一致。CHEN 等^[22]的研究发现,免疫细胞(如巨噬细胞 M1 和肥大细胞)的激活及浸润增加可能导致 MI 加重,甚至导致心力衰竭,抑制 PHLDA1 可通过降低免疫细胞激活和心肌浸润参与调控 MI 的发展。MENG 等^[23]发现,抑制 PHLDA3 的表达可通过 Akt/Nrf2 轴减轻氧化应激和炎症的影响,从而缓解心肌缺血/再灌注损伤。MI 患者心肌组织中胶原沉积增加是心肌纤维化的重要特征。有研究表明,PHLDA1 可能与纤维化相关蛋白的表达有关,从而影响心肌纤维化的程度^[24]。本研究进一步证明了 PHLDA1 在 MI 中具有相似功能,笔者利用 shRNA 敲低小鼠心脏中 PHLDA1 的表达,结果显示,抑制 PHLDA1 的表达提高了小鼠的存活率和整体健康状况,如心脏形态的恢复、炎症改善、纤维断裂的减少和梗死面积的缩小。这些结果表明,PHLDA1 可以作为调节缺血性心肌损伤严重程度的靶点,提示其潜在的治疗相关性。

在 MI 中,PI3K/Akt 通路激活协同抗氧化、抗炎和自噬活性及抑制线粒体功能障碍和心肌细胞凋亡来提供心肌保护,提示该通路可能对心肌组织的修复起到关键作用^[25]。有研究发现,PHLDA1 在细胞凋亡中发挥了重要作用^[21]。SONG 等^[26]证明了 PHLDA1 是 p53 的靶基因,介导细胞凋亡时,p53 和 PHLDA1 基因的启动子区域结合并可能通过抑制 Akt 信号通路促进细胞凋亡,因此 PHLDA1 可能成为 MI 的新型分子标志物。此外,PHLDA1 可能与调控细胞凋亡的重要因子 Bcl-2 家族蛋白发生相互作用,具体而言,PHLDA1 的过表达可能抑制抗凋亡蛋白 Bcl-2 的功能,从而促进细胞凋亡^[5]。ZHOU 等^[9]报道,在小鼠心肌细胞中抑制 PHLDA1 的表达可激活 PI3K/Akt 轴缓解阿霉素诱导的心肌细胞毒性,进而提高心肌细胞存活率。本研究发现,在 MI 小鼠中抑制 PHLDA1 的表达能够促进 PI3K/Akt 磷酸化,PHLDA1 表达增加会显著抑制 PI3K/Akt 磷酸化。WANG 等^[21]报道了 PHLDA2 可通过 PI3K/Akt 信号通路调节大肠癌中的上皮-间质转换和自噬影响细

胞凋亡和侵袭等。抑制 PHLDA3 的表达可通过激活 PI3K/Akt 轴减弱内质网应激诱导的细胞凋亡来减轻心肌缺血/再灌注损伤^[27]。这些结果表明,PHLDA1 可能与 PHLDA 家族的其他成员相似,能抑制 PI3K/Akt 信号通路,且 PHLDA1 参与 MI 发病的机制可能与抑制这一关键信号通路相关。因此,本研究提供了 PHLDA1 可通过 PI3K/Akt 信号轴调控 ICM 的证据,为 MI 的潜在治疗方法提供了新的见解。

目前,有研究已经证明了短发夹 RNA(shRNA)干扰疗法可作为治疗心肌缺血的一种新的方法^[28]。在体外和体内模型中,使用 shRNA 抑制脯氨酰羟化酶结构域蛋白 2 可显著增强血管生成和心肌收缩能力^[28]。这些发现突出了基因沉默策略在促进缺血条件下对组织修复和改善心功能方面的治疗潜力。在一项相关研究中,与对照组相比,经脯氨酰羟化酶结构域蛋白 2 靶向 shRNA 修饰的骨髓干细胞移植可显著改善心脏预后,包括提高细胞存活率、减少心肌凋亡、减小梗死面积、增强血管密度和改善整体心功能^[29]。这些研究为基于 shRNA 的干预措施可提升 ICM 的治疗效果及开发针对其他基因(如 PHLDA1)的类似策略来预防或减轻 ICM 提供了理论依据。因此,优化 PHLDA1 shRNA 治疗是有效治疗 ICM 的新方向,这是本项目正在进行的重点研究工作。

综上所述,本研究提供了抑制 PHLDA1 表达在 MI 中具有保护作用的证据,证明了 PHLDA1 在 MI 中的表达与疾病进展程度相关。敲低 PHLDA1 基因可显著提高 MI 小鼠的生存率并改善预后,提示 PHLDA1 是治疗 ICM 的一个有前景的治疗靶点。本研究为未来探究基于 PHLDA1 shRNA 的疗法来改善 ICM 心脏结局的研究奠定了基础。但本研究未分析 PHLDA1 在 MI 模型中对炎症、氧化应激和细胞凋亡等的作用和具体机制,有待后续进一步研究。

参考文献

- [1] DEL BUONO M G, MORONI F, MONTONE R A, et al. Ischemic cardiomyopathy and heart failure after acute myocardial infarction[J]. Curr Cardiol Rep, 2022, 24(10): 1505-1515.
- [2] LIU Y, ZHAO H, CHEN N, et al. PHLDA1 knockdown alleviates mitochondrial dysfunction and endoplasmic reticulum stress-induced neuronal apoptosis via activating PPAR γ in cerebral ischemia-reperfusion injury[J]. Brain Res Bull, 2023, 194: 23-34.
- [3] GONG M, LIANG W, LU Q, et al. PHLDA1 knockdown inhibits inflammation and oxidative stress by regulating JNK/ERK pathway, and plays a protective role in sepsis-induced acute kidney injury[J]. Allergol Immunopathol (Madr), 2022, 50(6): 1-9.

- [4] SAKTHIANANDESWAREN A, CHRISTIE M, D'AN-DRETI C, et al. PHLDA1 expression marks the putative epithelial stem cells and contributes to intestinal tumori-genesis[J]. *Cancer Res*, 2011, 71(10):3709-3719.
- [5] GUO Y, JIA P, CHEN Y, et al. PHLDA1 is a new thera-peutic target of oxidative stress and ischemia reperfusion-induced myocardial injury[J]. *Life Sci*, 2020, 245:117347.
- [6] 王鸿雁, 白雪, 周翔. 脑梗死患者血浆 miR-129-5p、PHL-DA1 水平与颈动脉粥样硬化斑块性质及神经功能损伤程-度的关系研究[J]. *国际检验医学杂志*, 2024, 45(20): 2539-2542.
- [7] VERGADI E, IERONYMAKI E. Akt signaling pathway in macrophage activation and M1/M2 polarization[J]. *Journal Immunol*, 2017, 198(3):1006-1014.
- [8] CHEN Y, TAKIKAWA M, TSUTSUMI S, et al. PHL-DA1, another PHLDA family protein that inhibits Akt [J]. *Cancer Sci*, 2018, 109(11):3532-3542.
- [9] ZHOU D P, DENG L C, FENG X, et al. FGF10 mitigates doxorubicin-induced myocardial toxicity in mice via acti-vation of FGFR2b/PHLDA1/AKT axis[J]. *Acta Phar-macol Sin*, 2023, 44(10):2004-2018.
- [10] 王峰蕾, 赵阳阳, 于金玲, 等. 芪茛强心胶囊对心力衰竭小-鼠心肌内皮间充质作用及机制研究[J]. *国际检验医学杂-志*, 2024, 45(22):2789-2794.
- [11] 张浩, 侯迈, 胡盛寿. 小鼠心肌梗死模型的建立和无创超-声评价[J]. *中国微创外科杂志*, 2007, 7(11):1111-1112.
- [12] 刘建, 范慧敏, 汪进益, 等. 小鼠心梗模型的建立与无创评-价[J]. *中国实验动物学报*, 2010, 18(3):196-198.
- [13] SONG X, ZHOU L, YANG W, et al. PHLDA1 is a P53 target gene involved in P53-mediated cell apoptosis[J]. *Molecular and cellular biochemistry*, 2024, 479(3):653-664.
- [14] FUSELIER T T, LU H. PHLDA class proteins; a family of new players in the p53 network[J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(10):3543-3552.
- [15] BALDAVIRA C M, MACHADO-RUGOLO J, PRIETO T G, et al. The expression patterns and prognostic signifi-cance of pleckstrin homology-like domain family A (PHLDA) in lung cancer and malignant mesothelioma [J]. *J Thorac Dis*, 2021, 13(2):689-707.
- [16] FLAVIA R M, MAIRA A V, RENAN G, et al. Prognos-tic and predictive value of pleckstrin homology-like do-main, family A family members in breast cancer[J]. *Bio-mark Med*, 2020, 16(14):1537-1552.
- [17] DUAN Y, DU Y, GU Z, et al. Prognostic value, immune signature, and molecular mechanisms of the PHLDA family in pancreatic adenocarcinoma[J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(18):10316.
- [18] 赵士博, 马汉俊, 吴忠港, 等. 普列克底物蛋白同源结构域家 A 成员 1 蛋白在肿瘤中的研究进展[J]. *中国医学科学-学院学报*, 2022, 44(5):863-867.
- [19] PENG H, WANG J, SONG X, et al. PHLDA1 suppresses TLR4-triggered proinflammatory cytokine production by interaction with tollip [J]. *Front Immunol*, 2022, 13: 731500.
- [20] LUO Y H, HUANG Z T, ZONG K Z, et al. miR-194 a-meliorates hepatic ischemia/reperfusion injury via targe-ting PHLDA1 in a TRAF6-dependent manner[J]. *Int Im-munopharmacol*, 2021, 96:107604.
- [21] WANG J, WANG F, ZHU J, et al. Transcriptome profi-ling reveals PHLDA1 as a novel molecular marker for is-chemic cardiomyopathy[J]. *J Mol Neurosci*, 2018, 65(1): 102-109.
- [22] CHEN X, ZHANG Q, ZHANG Q. Predicting potential biomarkers and immune infiltration characteristics in heart failure[J]. *Math Biosci Eng*, 2022, 19(9):8671-8688.
- [23] MENG X, ZHANG L, HAN B, et al. PHLDA3 inhibition protects against myocardial ischemia/reperfusion injury by alleviating oxidative stress and inflammatory response via the Akt/Nrf2 axis[J]. *Environ Toxicol*, 2021, 36(11): 2266-2277.
- [24] TAKASHI I T O, YUUKI H, KEITA K, et al. Tissue tau-rine depletion induces profibrotic pattern of gene expres-sion and causes aging-related cardiac fibrosis in heart in mice[J]. *Biol Pharm Bull*, 2018, 41(10):1561-1566.
- [25] DENG R M, ZHOU J. The role of PI3K/AKT signaling pathway in myocardial ischemia-reperfusion injury[J]. *Int Immunopharmacol*, 2023, 123:110714.
- [26] SONG X, ZHOU L, YANG W, et al. PHLDA1 is a P53 target gene involved in P53-mediated cell apoptosis[J]. *Mol Cell Biochem*, 2024, 479(3):654-666.
- [27] LIU K, CHEN Y, AI F, et al. PHLDA3 inhibition attenu-ates endoplasmic reticulum stress-induced apoptosis in myocardial hypoxia/reoxygenation injury by activating the PI3K/AKT signaling pathway[J]. *Exp Ther Med*, 2021, 21(6):10045.
- [28] HUANG M, CHAN D A, JIA F, et al. Short hairpin RNA interference therapy for ischemic heart disease[J]. *Circu-lation*, 2008, 118(14 Suppl):226-233.
- [29] SUN Z, XIE Y, LEE R J, et al. Myocardium-targeted transplantation of PHD2 shRNA-modified bone mesen-chymal stem cells through ultrasound-targeted micro-bubble destruction protects the heart from acute myocar-dial infarction [J]. *Theranostics*, 2020, 10(11):4967-4682.