

低压低氧对 SD 大鼠肺动脉压及肺组织骨桥蛋白表达的影响

刘杰¹, 刘川川², 刘辉琦¹, 吴穹¹, 曹学锋¹, 王生兰¹

(1. 青海大学医学院病理生理教研室; 2. 青海大学医学院 2014 级病理生理学研究生学院, 青海省西宁市 810001)

[关键词] 低压低氧; 肺动脉高压; 骨桥蛋白; 肺组织

[摘要] **目的** 观察不同时间低压低氧刺激下 SD 大鼠肺动脉压及肺组织骨桥蛋白(OPN)表达的变化,探讨 OPN 在肺动脉高压发病机制中的作用。**方法** 将 30 只 SD 大鼠随机分成 5 组:对照组(海拔 2 260 m)、低压低氧(低压氧舱模拟 5 000 m 海拔)1 天组、7 天组、14 天组、21 天组,每组动物均测定平均肺动脉压(mPAP)和右心室壁厚指数[RV/(LV+S)];并分别采用 RT-PCR 法检测各组大鼠肺组织中 OPN mRNA 的水平,Western blot 技术检测各组大鼠肺组织中 OPN 蛋白表达水平。**结果** 低压低氧 1 天、7 天、14 天、21 天组动物 mPAP 均高于对照组($P < 0.05$),1 天、7 天、14 天组呈逐渐增高趋势、21 天组 mPAP 下降,差异有显著性($P < 0.05$);低压低氧 7 天组、14 天组、21 天组动物呈现随低氧时间延长 RV/(LV+S)逐渐增高的趋势、均高于对照组和 1 天组($P < 0.05$),但 1 天组、7 天组和对照组间差异无显著性($P > 0.05$);RT-PCR 法和 Western blot 法结果显示低压低氧 1 天、7 天、14 天、21 天组动物肺组织中 OPNmRNA、OPN 蛋白表达水平与对照组比较均增高($P < 0.05$)。**结论** 低压低氧刺激可使 mPAP 和 RV/(LV+S)增高并促进大鼠肺组织 OPN 的表达增高,因此 OPN 可能参与高原性心脏病形成中肺动脉压的增高和右心室重塑。

[中图分类号] R363

[文献标识码] A

Effect of Hypobaric Hypoxia on Pulmonary Hypertension and Expression of Osteopontin at SD Rat

LIU Jie¹, LIU Chuan-Chuan², LIU Hui-Qi¹, WU Qiong¹, CAO Xue-Feng¹, and WANG Sheng-Lan¹

(1. Pathophysiology Department of Medical College of Qinghai University ;2. 2014 Graduate Student of Pathophysiology Specialty of Medical College of Qinghai University , Xining, Qinghai 810001, China)

[KEY WORDS] Hypobaric Hypoxia; Pulmonary Hypertension; Osteopontin; Lung Tissue

[ABSTRACT] **Aim** To observe changes of pulmonary hypertension and expression of OPN in lung tissue of rat at the state of hypobaric hypoxia at different time and study effect of OPN on pulmonary hypertension. **Methods** 30 SD rats were divided into 5 groups: Control group(2 260 sea Level), hypobaric hypoxia (simulate 5000m sea level) 1 d, 7 d, 14 d, 21 d group. Mean pulmonary arterial pressure (mPAP), [RV/(LV+S)] of each group were detected. RT-PCR and Western-Blot were used to detect OPN mRNA and protein level in lung tissue of rat. **Results** mPAP level of hypobaric hypoxia group(1 d, 7 d, 14 d, 21 d) is higher than control group($P < 0.05$) and increases according to days as 1 d, 7 d, 14 d but decreases in 21 d group($P < 0.05$). Compared with Control group and 1d group, RV/(LV+S) in hypobaric hypoxia group(7 d, 14 d, 21 d) is higher and higher($P < 0.05$), but there is no difference between 1d and 7 d group($P > 0.05$). OPN mRNA, OPN level in lung detected by RT-PCR and Western-Blot of hypobaric hypoxia group(1d, 7d, 14d, 21d) is higher than control group. **Conclusion** Hypobaric hypoxia increase mPAP and RV/(LV+S) level and expression of OPN. OPN play roles in increasing of pulmonary artery pressure and right ventricular remodeling of high altitude heart disease.

高原低压低氧环境是引发多种高原病的关键因素^[1],低氧是呼吸系统多种疾病共同的病理生理

[收稿日期] 2015-05-27

[修回日期] 2015-08-20

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目(81160031)

[作者简介] 刘杰, 硕士, 副教授, 研究方向为病理生理学, E-mail 为 pgif@163.com。通讯作者王生兰, 硕士, 教授, 研究方向为心血管病理生理学, E-mail 为 zlw6996@163.com。

特征,持续的低氧可使肺血管内皮细胞功能、代谢和结构发生改变,成为肺动脉高压发生的始动因素;同时缺氧的刺激使机体多种血管活性物质的合成和分泌异常,引起肺血管平滑肌细胞增殖和凋亡失衡,导致肺血管结构重塑,甚至发生低氧性肺动脉高压(hypoxic pulmonary hypertension, HPH), HPH是一种以低氧性肺血管收缩和肺血管重塑为主要发病环节,导致肺血管阻力的增加的病理过程,是慢性阻塞性肺疾病向肺心病发展的中心环节^[1-4]。HPH的发生机制涉及离子通道机制、细胞机制、血管活性物质失衡机制、肺血管反应性机制等诸多方面^[5]。骨桥蛋白(osteopontin, OPN)是细胞外基质中的一种具有参与细胞黏附、增殖和迁移等多种功能的糖蛋白,能参与骨代谢、肿瘤的生长转移、炎症与免疫等,它能促进血管平滑肌细胞、外膜细胞的迁移,被认为是血管损伤修复过程中重要的始动因素,OPN的升高可加速血管重塑,造成管腔狭窄、血管弹性减退等病理性改变^[6-8]。在不同低压低氧环境下OPN与HPH的关系报道较少,本课题拟通过观察低压低氧对大鼠平均肺动脉压(mean pulmonary arterial pressure, mPAP)及肺组织OPN表达水平的变化,探讨肺组织中OPN表达在高原HPH的发生发展中的作用及其意义,为高原性肺动脉高压、肺源性心脏病的预防和治疗提供理论依据和治疗靶点。

1 材料与方法

1.1 实验动物分组

健康SD大鼠30只,清洁级,雌雄各半,由兰州中医学院实验动物中心提供。将实验大鼠随机分为5组,每组6只:对照组:饲养于本地机能实验室(西宁,海拔2 260 m);低压低氧组(n=24):分为低压低氧1天组、7天组、14天组、21天组4个小组,每组低压低氧动物分别置于低压氧舱(低压氧舱,海拔5 000 m)中1天、7天、14天、21天,每天低压低氧处理20 h。

1.2 主要仪器和试剂选择

应用低压氧舱模拟海拔5 000 m低压低氧环境;BL-420S生物采集系统记录大鼠平均肺动脉压(mPAP);Biozol总RNA提取试剂盒和RT-PCR两步法试剂盒购自博瑞克公司;根据Gene Bank资料,以OPN mRNA和糖体蛋白L19mRNA为模板,PCR扩增引物由Invitrogen合成,OPN和内参照 β -ACTIN一抗、二抗购于Sigma公司。

1.3 mPAP测定

各组SD大鼠饲养到规定时间,用戊巴比妥钠(40 mg/kg)腹腔注射麻醉,仰卧固定、行颈正中切口,分离右颈外静脉,按文献报道^[9]的右心导管法自大鼠右侧颈外静脉插入充有0.2%肝素的聚乙烯微导管(外径1.1 mm,内径0.9 mm),导管的另一端与BL-420S生物压力传感器相连,在压力波形的引导下,导管经上腔静脉进入右房、三尖瓣口、右心室,最后进入肺动脉干,监测压力变化,采集和记录5 min mPAP。

1.4 心肺组织取材和处理

完成每只动物mPAP的测定和记录后,迅速处死动物,快速取出心、肺,沿室间隔剪下右心室(RV),剪去右心房组织,分别称取右心室(right ventricle, RV)、左心室(left ventricle, LV)和室间隔(interventricular septum, S)的重量,计算右心室肥厚指数 $[RV/(LV+S)]$,以反映RV肥厚程度。肺组织置于液氮内并转存于-70℃超低温冰箱内冷冻待测。

1.5 RT-PCR法检测肺组织中OPN mRNA的表达

以核糖体蛋白(L19)为内参照,OPN和L19引物序列见表1。根据Biozol总RNA提取试剂盒说明从冻存的各组SD大鼠肺组织中提取总RNA。采用20 μ L反应体系,使用逆转录酶反应合成cDNA,并分别应用上下游引物进行PCR扩增,扩增条件为OPN 94℃变性1 min \rightarrow 57℃退火1 min \rightarrow 72℃延伸1 min,扩增30个循环,72℃延伸10 min。扩增反应完毕后取终产物5 μ L在2%琼脂糖凝胶中电泳分析,照像,扫描后用Quantity one软件分析,结果以OPN基因与内参L19基因条带灰度比值表示目的基因OPN mRNA相对表达水平。

表1. OPN和L19基因PCR扩增的特异性引物序列

Table 1. PCR primer of OPN and L19

基因名称	引物序列	扩增片段长度
OPN	正义5'-TGG CTT ACG GAC TGA GGT CA-3' 反义5'-GAC CTC AGA AGA TGA ACT CT-3'	486 bp
L19(内参)	正义5'-CTG AAG GTC AAA GGG AAT GTG-3' 反义5'-GGA CAG AGTCTTGATGATCTC-3'	194 bp

1.6 Western blot测定肺组织OPN蛋白含量

利用Western blot法测定肺组织OPN蛋白含量,选用肌动蛋白(β -actin蛋白)为内参。将-70℃冰箱保存的各组SD大鼠的肺组织取100 mg放于

EP 管中,用超声仪冰上碾碎后,按 10 倍体积加细胞裂解液(预先加入 1/100 体积 PSMF)提取蛋白,用相应的 Western blot 缓冲液处理,常规 SDS-PAGE 电泳,将蛋白转膜到 PVDF 膜上,5% 脱脂奶粉室温封闭,并用相应的一抗 4℃ 孵育过夜,洗涤后二抗孵育,凝胶成像系统照像,对 Western blot 结果进行扫描后,运用计算机软件进行分析条带的灰度值,以 OPN 和 β -actin 蛋白条带的灰度值的比值表示 OPN 表达水平。

1.7 统计学处理

全部实验数据应用 SPSS 19.0 软件统计分析,用 $\bar{x} \pm s$ 表示,应用单因素方差分析,方差齐性者采用 LSD 法,方差不齐时采用 Dunnett 法,组间比较则使用 Students-Newman Keuls t 检验, $\alpha = 0.05$ 为检验水准。

2 结果

2.1 不同低压低氧组 SD 大鼠 mPAP 和 RV/(LV + S) 的变化

通过监测各组大鼠 mPAP 结果发现:低压低氧 1 天、7 天、14 天、21 天组动物 mPAP 均高于对照组 ($P < 0.05$),低压低氧 1 天、7 天、14 天组动物 mPAP 呈逐渐增高趋势,21 天组 mPAP 下降,7 天、14 天、21 天组各组间差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。低压低氧 14 天、21 天组动物 RV/(LV + S) 呈逐渐增高趋势,均高于对照组和 1 天、7 天组 ($P < 0.05$),但低压低氧 1 天组、7 天组和对照组间动物 RV/(LV + S) 差异无显著性 ($P > 0.05$; 表 2)。

表 2. 不同低压低氧组 SD 大鼠平均肺动脉压 (mPAP) 和右心室肥厚指数 [RV/(LV + S)] 的情况 ($\bar{x} \pm s$)

Table 2. mPAP and [RV/(LV + S)] of SD rat in different hypobaric hypoxia group

分 组	n	mPAP (mmHg)	RV/(LV + S)
对照组	6	11.0333 ± 4.61097	0.2330 ± 0.01955
1 天组	6	17.9317 ± 3.25521 ^a	0.2274 ± 0.1541
7 天组	6	26.2972 ± 1.17623 ^{ab}	0.2540 ± 0.02658
14 天组	6	29.4675 ± 5.23159 ^{ab}	0.3297 ± 0.02381 ^{abc}
21 天组	6	26.5649 ± 3.20115 ^{ab}	0.3542 ± 0.02672 ^{abc}

a 为 $P < 0.05$,与对照组比较; b 为 $P < 0.05$,与 1 天组比较; c 为 $P < 0.05$,与 7 天组比较。

2.2 不同低压低氧组 SD 大鼠肺组织 OPN 蛋白的表达

通过 RT-PCR 法检测肺组织 OPN mRNA 与内参 L19 mRNA 条带的灰度值,并计算两者灰度值的比值来反映各组动物肺组织中 OPN mRNA 相对表达情况,发现低压低氧后 OPN mRNA 表达明显增高,低压低氧 1 天、7 天、14 天、21 天组动物肺组织中的 OPN mRNA 表达水平均高于对照组 ($P < 0.05$; 图 1 和表 3),但低压低氧 1 天、7 天、14 天组间差异无统计学意义 ($P > 0.05$),低压低氧 21 天组与低压低氧 1 天、14 天组比较动物肺组织中的 OPN mRNA 表达水平最高 ($P < 0.05$)。

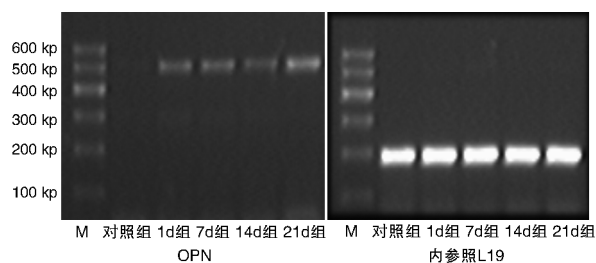


图 1. 不同低压低氧条件组 SD 大鼠肺组织 OPN mRNA 的表达

Figure 1. OPN mRNA expression level in SD lung of different hypobaric hypoxia group

通过 Western blot 方法并以 β -actin 为内参照,测定肺组织 OPN 与内参 β -actin 的条带灰度值,计算两者的条带灰度值比值来反映各组动物肺组织中 OPN 蛋白的相对水平,发现低压低氧 1 天、7 天、14 天、21 天组动物肺组织中的 OPN 蛋白的表达水平均高于对照组 ($P < 0.05$; 图 2 和表 3)。

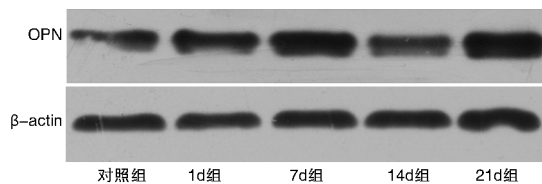


图 2. 不同低压低氧条件组 SD 大鼠肺组织 OPN 的表达

Figure 2. OPN expression level in SD lung of different hypobaric hypoxia group

综合 RT-PCR 和 Western blot 的检测结果可明显发现低压低氧 1 天、7 天、14 天、21 天组动物肺组织中 OPN 的表达出现了增高的趋势。

表 3. 不同低压低氧组 SD 大鼠肺组织 OPN 表达的变化 ($\bar{x} \pm s$) 的情况

Table 3. OPN expression level in SD lung of different hypobaric hypoxia group

分 组	n	OPN mRNA	OPN 蛋白
对照组	3	0.0945 ± 0.05268	0.9750 ± 0.03536
1 天组	3	0.5689 ± 0.08822 ^a	1.5400 ± 0.05657 ^a
7 天组	3	0.6032 ± 0.05839 ^a	1.7350 ± 0.06364 ^{ab}
14 天组	3	0.5443 ± 0.05257 ^a	1.2100 ± 0.04243 ^{abc}
21 天组	3	0.7001 ± 0.06343 ^{abcd}	1.5650 ± 0.04950 ^{acd}

a 为 $P < 0.05$, 与对照组比较; b 为 $P < 0.05$, 与 1 天组比较; c 为 $P < 0.05$, 与 7 天组比较; d 为 $P < 0.05$, 与 14 天组比较。

3 讨 论

低氧性肺动脉高压 (hypoxic pulmonary hypertension, HPH) 是因慢性低氧刺激、以肺动脉压力和肺血管阻力升高为特点的一组血管收缩、血管重塑和原位血栓形成, 最终引发肺动脉高压, 甚至造成右心负荷增加、右心衰竭的病理生理综合征^[5]。在高原低氧环境下, 适度的肺动脉压力增高是机体应对缺氧时产生的一种适应性反应, 但对于一些易感机体, 肺动脉压会显著升高, 甚至超过体循环压力, 引起高原 HPH。高原 HPH 易发生于平原移居或由中海拔到更高海拔处的居民, 其发病率随海拔高度的升高而增高。HPH 的发生被认为可能是多因素、多机制错综复杂的病理过程。

OPN 分子量为 44 ~ 75 kDa, OPN 的编码基因位于染色体 4q13 位点上, 是一种细胞外基质中具有多种生物学功能的分泌性、非胶原型磷酸化糖蛋白, 富含精氨酸-甘氨酸-天冬氨酸 (Arg- Gly- Asp, RGD) 序列、整合素、钙结合域及凝血酶裂解位点等功能结合区, 可在血管内皮细胞、血管平滑肌细胞、巨噬细胞、破骨细胞等细胞以及多种组织和体液中广泛表达。研究发现 OPN 主要通过两种机制发挥细胞信号分子的作用: 一种方式是以 RGD 依赖方式与整合蛋白 (integrin) $\alpha\beta 3$ 结合发挥其生物学活性^[10-12]; 另一种方式是以非 RGD 依赖方式与细胞表面黏附性糖蛋白 CD44 结合^[13-17]。通过这两种作用方式激活细胞内特异性信号传导系统, 介导细胞间的粘附、炎症与免疫、增殖和凋亡, 调节矿化组织的形成和重塑、参与骨代谢、诱发新生血管形成、参与肿瘤的生长转移等。在正常的动脉壁中 OPN 表达甚微或几乎不表达, 但在机械损伤、压力负荷或缺血、缺氧等刺激因素作用下, 内皮细胞、血管平滑

肌细胞释放血管活性物质, 如血管紧张素 II (Ang II)、血小板衍生因子、成纤维细胞生长因子、表皮生长因子、转化生长因子等均能够刺激内皮细胞和血管平滑肌细胞过度表达 OPN, 促进平滑肌细胞、血管内皮细胞、巨噬细胞等多种细胞与细胞外基质黏附, 为血管新生内膜的形成奠定基础, 进而加速血管弹性减退、血管重塑、血管钙化, 造成管腔狭窄等病理性改变^[6-8, 18]。

有研究发现, 原发性肺动脉高压病人血浆和肺组织中 OPN 的表达增加, 常压低氧 2 周 FGF-1 通过 Ras/MEK1/2 和 Ras/JNK 诱导肺组织中 OPN 表达增加^[19]; 慢性低 O₂ 高 CO₂ 能够刺激大鼠肺组织和肺动脉 OPN 及其基因表达增强^[20-21]。AngII 又通过和 AT1 受体结合, 通过异三聚体 G 蛋白 Gq/11 蛋白, 激活 Src 家族/Ras/ERK 信号通路、P38 MAPK 信号途径, 以及转录因子 Ets-1 和表皮生长因子的参与, 促进 OPN 的表达升高^[22], 此外, OPN 又可通过与整合素 $\alpha 1$ 和 $\alpha \nu \beta 3$ 结合而介导 AngII 对心肌细胞的作用, 因此 OPN 被认为是 AngII 导致心肌纤维化过程中的一个重要介质, 参与心脏损害后心肌重塑、冠状动脉狭窄等病理过程, 促进心力衰竭的进展^[23]。

本研究通过低压氧舱模拟海拔 5 000 m 的高原低压低氧环境, 排除温度、湿度、风沙、辐射等因素的影响, 复制低压低氧性肺动脉高压的 SD 大鼠的动物模型, mPAP 实验结果可推测海拔 5 000 m 急性低压低氧可导致大鼠肺动脉高压的形成, 甚至导致 HPH 的发生, 但随着低氧刺激时间的延长, 大鼠对低氧刺激开始产生适应性改变, 肺动脉高压有所缓解。RV/(LV + S) 实验结果可判断海拔 5 000 m 慢性低压性低氧可造成大鼠右心的肥厚, 并随低压低氧时间的延长, 右心的肥厚呈现逐渐加重的趋势。结果显示 mPAP 和 RV/(LV + S) 在低压低氧后 1 天组、7 天组、14 天组升高趋势, 随低氧时间的延长右心室重塑可能为动物发生代偿适应性改变、降低肺动脉压有促进作用。

RT-PCR 和 Western blot 的检测结果显示低压低氧刺激后引起 SD 大鼠肺组织 OPNmRNA 水平和 OPN 蛋白的表达的增高, 此结果与其他学者的实验结果相一致^[19-22], 并且本实验发现两种实验方法 OPNmRNA 水平和 OPN 的表达均出现与动物 mPAP 增高有相似的变化趋势。由此推测海拔 5 000 m 高度的低压低氧环境刺激可导致肺组织中 OPN 的表达增加, 可能促进了 HPH 的发生, 并对 RV 代偿/失代偿性肥厚可能有促进作用。

根据本实验结果推测 HPH 发生的病理生理学机制可能为低压低氧刺激下肺组织中 OPN 表达增高,刺激肺血管内皮细胞、平滑肌细胞,使血管发生重塑,肺阻力增高,导致 HPH 发生;同时低氧、OPN 增高等刺激 Ang II 等因子分泌,导致心肌重塑。OPN 表达的增高一方面可提高心肺组织对低压低氧刺激的适应性变化,对机体有积极的保护作用,另一方面因严重低氧刺激 OPN 异常表达也可能加重肺动脉高压的形成,造成机体的损伤。

因此本实验通过观测 SD 大鼠在低压氧舱 5 000 m 海拔的低压低氧环境下 mPAP、RV/(LV+S)、肺组织 OPNmRNA 水平和 OPN 蛋白表达的变化,推测低压低氧刺激可促进大鼠肺组织 OPN 的表达增高,OPN 的表达变化与大鼠低压低氧性肺动脉压的增高、右心室的重塑有关,参与了 HPH 的形成,但肺组织中 OPN 变化与 HPH 间的具体发生机制还有待于进一步研究探讨。

[参考文献]

[1] Chen YF, Feng JA, Li P, et al. Atrial natriuretic peptide-dependent modulation of hypoxia-induced pulmonary vascular remodeling [J]. *Life Sci*, 2006, 79(14): 1 357-365.

[2] Fediuk J, Sikarwar AS, Lizotte PP, et al. Hypoxia increases pulmonary arterial thromboxane receptor internalization independent of receptor sensitization[J]. *Pulm Pharmacol Ther*, 2015, 30: 1-10.

[3] Pugliese SC, Poth JM, Fini MA, et al. The role of inflammation in hypoxic pulmonary hypertension: from cellular mechanisms to clinical phenotypes[J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2015, 308(3): L229-252.

[4] Golombek S, Suttner D, Ehrlich R, et al. Target versus actual oxygenation index at initiation of inhaled nitric oxide in neonates with hypoxic respiratory failure: survey results from 128 patient cases [J]. *Perinat Med*, 2014, 42(6): 685-692.

[5] 崔建华. 缺氧性肺动脉高压形成机制的研究进展[J]. *西北国防医学杂志*, 2013, 34(3): 251-255.

[6] Anwar A, Li M, Frid MG, et al. Osteopontin is an endogenous modulator of the constitutively activated phenotype of pulmonary adventitial fibroblasts in hypoxic pulmonary hypertension [J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2012, 303(1): L1-L11.

[7] Zhang Y, Hu Y, Luo Z, et al. Simultaneous delivery of BMP-2 factor and anti-osteoporotic drugs using hyaluronan-assembled nanocomposite for synergistic regulation on the behaviors of osteoblasts and osteoclasts in vitro [J]. *Biomater Sci Polym Ed*, 2015, 26(5): 290-310.

[8] Kang CG, Han HJ, Lee HJ, et al. Rho-associated kinase signaling is required for osteopontin-induced cell invasion through inactivating cofilin in human non-small cell lung cancer cell lines [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2015, 25(9): 1 956-960.

[9] PEI JM, SUN X, GUO HT, et al. U50,488H Depresses pulmonary

pressure in rats subjected to chronic hypoxia [J]. *Cardiovasc Pharmacol*, 2006, 47(4): 594-598.

- [10] Shao Z, Morser J, and Leung LL. Thrombin cleavage of osteopontin disrupts a pro-chemotactic sequence for dendritic cells, which is compensated by the release of its pro-chemotactic C-terminal fragment [J]. *Biol Chem*, 2014, 289(39): 27 146-158.
- [11] Hui T, Sorensen ES, and Rittling SR. Osteopontin binding to the alpha 4 integrin requires highest affinity integrin conformation, but is independent of post-translational modifications of osteopontin [J]. *Matrix Biol*, 2015, 41: 19-25.
- [12] Klaning E, Christensen B, Bajic G, et al. Multiple low-affinity interactions support binding of human osteopontin to integrin alphabeta [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2015, 1 854(8): 930-938.
- [13] Poggio P, Branchetti E, Grau JB, et al. Osteopontin-CD44v6 interaction mediates calcium deposition via phospho-Akt in valve interstitial cells from patients with noncalcified aortic valve sclerosis [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2014, 34(9): 2 086-094.
- [14] Johnson G. A, Burghardt RC, and Bazer FW. Osteopontin: a leading candidate adhesion molecule for implantation in pigs and sheep [J]. *Anim Sci Biotechnol*, 2014, 5(2): 177-190.
- [15] Qiu Y, Hu Y, Zhang ZY, et al. Genetic association of osteopontin (OPN) and its receptor CD44 genes with susceptibility to Chinese gastric cancer patients [J]. *Cancer Res Clin Oncol*, 2014, 140(12): 2 143-156.
- [16] Fok TC, Lapointe H, Tuck AB, et al. Expression and localization of osteopontin, homing cell adhesion molecule/CD44, and integrin $\alpha v \beta_3$ in mucoepidermoid carcinoma and acinic cell adenocarcinoma of salivary gland origin [J]. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol*, 2014, 118(3): 320-329.
- [17] Megapatche AP, Erb U, Buchler MW, et al. CD44v10, osteopontin and lymphoma growth retardation by a CD44v10-specific antibody [J]. *Immunol Cell Biol*, 2014, 92(8): 709-720.
- [18] 吴思,谢培豪. 骨桥蛋白的研究现状 [J]. *广东医学院学报*, 2014, 32(1): 96-98.
- [19] 林全,王良兴,罗遐杰,等. 低氧和高二氧化碳作用下肺动脉高压形成过程中骨桥蛋白表达与分布的实验研究 [J]. *中国病理生理杂志*, 2007, 23(6): 1 093-097.
- [20] Denhardt DT, Mistretta D, Chambers AF, et al. Transcriptional regulation of osteopontin and the metastatic phenotype: evidence for a Ras-activated enhancer in the human OPN promoter [J]. *Clin Exp Metastasis*, 2003, 20(1): 77-84.
- [21] Li C, Yang CW, Park CW, et al. Long-term treatment with ramipril attenuates renal osteopontin expression in diabetic rats [J]. *Kidney Int*, 2003, 63(2): 454-463.
- [22] Abe K, Nakashima H, Ishida M, et al. Angiotensin II-induced osteopontin expression in vascular smooth muscle cells involves Gq/11, Ras, ERK, Src and Ets-1 [J]. *Hypertens Res*, 2008, 31(5): 987-998.
- [23] Qiu ZB, Xu H, Duan C, et al. Osteopontin is required for angiotensin II-induced migration of vascular smooth muscle cells [J]. *Pharmazie*, 2012, 67(6): 553-558.

(此文编辑 李玲玲)