

碱性环境和高磷条件下大鼠胸主动脉平滑肌细胞成骨样表型转化中钙激活钾通道 mRNA 的表达

常立欣, 徐金升, 杨 硕, 白亚玲, 张胜雷, 张俊霞, 崔立文

(河北医科大学第四医院肾内科, 河北省石家庄市 050011)

[关键词] 碱性环境; 高磷; 血管平滑肌细胞; 钙激活钾通道; Runt 相关转录因子 2; 平滑肌 22 α ; 表型转化

[摘要] 目的 观察碱性环境中高磷诱导大鼠胸主动脉平滑肌细胞中电导钙激活钾通道(KCa3.1)与大电导钙激活钾通道(KCa1.1)表达的变化,以及探究钙激活钾通道与大鼠胸主动脉平滑肌细胞表型转化之间的关系。方法 采用组织块贴壁法培养原代大鼠主动脉平滑肌细胞,利用 10 mmol/L β -甘油磷酸钠制备血管平滑肌细胞钙化模型。使用 HCl 和 NaHCO₃ 调节培养基 pH 值。细胞随机分为 5 组:正常 pH 7.4 组、高磷 pH 7.4 组、高磷 pH 7.7 组、高磷 pH 8.0 组、TRAM-34 干预组,共培养 4 天。用逆转录-聚合酶链反应检测各组细胞中 KCa3.1、KCa1.1 α 、KCa1.1 β 、Runt 相关转录因子 2(Runx2)和平滑肌 22 α (SM22 α)表达。结果 与正常 pH 7.4 组相比,高磷组 Runx2 水平明显升高,且随着 pH 升高而表达量增加($P < 0.05$);高磷组 SM22 α 水平明显下降,且随着 pH 升高而表达量减少($P < 0.05$)。与正常 pH 7.4 组相比,高磷 pH 7.4 组 KCa3.1 表达升高($P < 0.05$),KCa1.1 α 表达下降($P < 0.05$)。在高磷组中,随着 pH 升高 KCa3.1、KCa1.1 α 表达量增加($P < 0.05$)。在同一组中 KCa3.1 表达高于 KCa1.1 α ($P < 0.05$)。KCa1.1 β 表达在 3 个高磷组间未见统计学差异($P > 0.05$)。与高磷 pH 8.0 组相比,TRAM-34 干预组 Runx2 mRNA 水平明显下降($P < 0.05$),SM22 α mRNA 水平明显上升($P < 0.05$)。相关分析显示,KCa3.1 表达与 Runx2 表达呈正相关($r = 0.945, P < 0.01$),与 SM22 α 表达呈负相关($r = -0.926, P < 0.01$);在正常 pH 7.4 组、高磷 pH 7.4 组中 KCa1.1 α 表达与 Runx2 表达呈负相关($r = -0.746, P = 0.029$),与 SM22 α 表达呈正相关($r = 0.971, P = 0.002$);在高磷 pH 7.7 组、高磷 pH 8.0 组中 KCa1.1 α 表达与 Runx2 表达呈正相关($r = 0.805, P = 0.002$),与 SM22 α 表达呈负相关($r = -0.806, P = 0.005$);KCa1.1 β 表达与 Runx2、SM22 α 表达不相关($r = 0.414, P = 0.356; r = -0.155, P = 0.714$)。结论 碱性环境中平滑肌细胞钙激活钾通道表达参与高磷诱导的大鼠胸主动脉平滑肌细胞的表型转化。

[中图分类号] R363

[文献标识码] A

Expression of Calcium-activated Potassium Channel mRNA in Rat Thoracic Aorta Smooth Muscle Cells Bone-like Phenotypic Transformation in the Condition of Alkaline Environment and High Phosphorus

CHANG Li-Xin, XU Jin-Sheng, YANG Shuo, BAI Ya-Ling, ZHANG Sheng-Lei, ZHANG Jun-Xia, and CUI Li-Wen

(Department of Nephrology, the Forth Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang, Hebei 050011, China)

[KEY WORDS] Alkaline Environment; High Phosphorus; Vascular Smooth Muscle Cell; Calcium-activated Potassium Channel; Runt-related Transcription Factor 2; Smooth Muscle 22 α ; Phenotypic Transformation

[ABSTRACT] **Aim** To observe the expression changes of intermediate conductance calcium-activated potassium channel (KCa3.1) and large conductance calcium-activated potassium channel (KCa1.1) in rat thoracic aorta smooth muscle cells induced by high phosphorus in alkaline environment; To explore the relationship between the KCa and the phenotype transformation of rat thoracic aorta smooth muscle cells. **Methods** Tissue block adherence method was used to culture primary rat aortic smooth muscle cells. Vascular smooth muscle cell (VSMC) calcification model was prepared

[收稿日期] 2015-06-04

[修回日期] 2015-07-23

[基金项目] 河北省自然科学基金资助项目(2012206157)

[作者简介] 常立欣,医学学士,护师,研究方向为慢性肾脏病血管钙化机制,E-mail 为 changlixin006@126.com。杨硕,硕士研究生,研究方向为慢性肾脏病血管钙化机制,E-mail 为 yyckg2@163.com。通讯作者徐金升,医学博士,主任医师,研究方向为慢性肾脏病血管钙化机制,E-mail 为 xjs5766@126.com。

with 10 mmol/L β -glycerol sodium phosphate. PH value of culture medium was regulated by using HCl and NaHCO_3 . Then the cells were divided into 5 groups: normal pH 7.4 group, high phosphorus pH 7.4 group, high phosphorus pH 7.7 group, high phosphorus pH 8.0 group, TRAM-34 intervention group, and cultured for 4 days. The expressions of KCa3.1, KCa1.1 α , KCa1.1 β , runt-related transcription factor 2 (Runx2) and smooth muscle 22 α (SM22 α) were detected by reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR) in each group cells. **Results** Compared with normal pH 7.4 group, the expression of Runx2 was increased in high phosphorus groups, and increased with the increase of pH ($P < 0.05$); the expression of SM22 α was reduced in high phosphorus groups, and reduced with the increase of pH ($P < 0.05$). Compared with normal pH 7.4 group, the expression of KCa3.1 was increased and the expression of KCa1.1 α was reduced in high phosphorus pH 7.4 group ($P < 0.05$). In the high phosphorus groups, the expressions of KCa3.1 and KCa1.1 α were increased with the increase of pH ($P < 0.05$). In the same group, the expression of KCa3.1 was more than KCa1.1 α ($P < 0.05$). There was no significant difference in KCa1.1 β expression among 3 high phosphorus groups ($P > 0.05$). Compared with high phosphorus pH 8.0 group, the expression of Runx2 was decreased and the expression of SM22 α added in TRAM-34 intervention group ($P < 0.05$). Correlation analysis showed that KCa3.1 expression was positively correlated with Runx2 expression ($r = 0.945$, $P < 0.01$) and was negatively correlated with SM22 α expression ($r = -0.926$, $P < 0.01$). KCa1.1 α expression was negatively correlated with Runx2 expression ($r = -0.746$, $P = 0.029$) and was positively correlated with SM22 α expression ($r = 0.971$, $P = 0.002$) in normal pH 7.4 group and high phosphorus pH 7.4 group. KCa1.1 α expression was positively correlated with Runx2 expression ($r = 0.805$, $P = 0.002$) and was negatively correlated with SM22 α expression ($r = -0.806$, $P = 0.005$) in high phosphorus pH 7.7 group and high phosphorus pH 8.0 group. The expression of KCa1.1 β was not correlated with the expression of Runx2 and SM22 α ($r = 0.414$, $P = 0.356$; $r = -0.155$, $P = 0.714$). **Conclusion** The expression of calcium-activated potassium channel in smooth muscle cells is involved in the phenotypic transformation of rat thoracic aorta smooth muscle cells induced by high phosphorus in alkaline environment.

心血管疾病是慢性肾脏病 (chronic kidney disease, CKD) 患者最常见并发症^[1], 也是终末期肾病 (end-stage renal disease, ESRD) 患者的首要致死原因^[2]。动脉血管钙化是 CKD 患者心血管疾病发生的重要病理生理机制之一^[3]。平滑肌细胞向成骨样或成软骨样转化则是动脉血管钙化发生的关键步骤^[4]。Runt 相关转录因子 2 (runt-related transcription factor 2, Runx2) 是调节成骨和软骨分化的关键转录因子, 平滑肌 22 α (smooth muscle 22 α , SM22 α) 是血管平滑肌细胞 (vascular smooth muscle cell, VSMC) 分化的标志蛋白之一。本课题组前期研究发现, 磷可诱导平滑肌细胞发生表型转化进而导致其钙化, 基质金属蛋白酶 2 表达升高可促进血管钙化发生^[5], 镁^[6]、维生素 K^[7] 可抑制高磷诱导的平滑肌细胞发生表型转化而发挥抑制钙化的作用。碳酸氢盐透析液的应用使人们关注碱性环境对心血管系统的影响。近期研究发现, 在碱性环境中体外培养的大鼠动脉平滑肌细胞可发生明显钙化^[8]。但碱性环境对高磷诱导的平滑肌细胞表型转化的影响目前尚不清楚。钙激活钾通道 (calcium-activated potassium channel, KCa) 是依赖钙激活的重要的钾离子通道, 在平滑肌细胞中广泛表达^[9], 参与多种细胞调节功能, 如平滑肌收缩^[10]、神经递质释放^[11]等, 推测其可能在血管钙化中起着重要作

用。鉴于此, 本研究探讨碱性环境对高磷诱导的平滑肌细胞表型转化的影响及 KCa 在其中的作用。

1 材料和方法

1.1 实验动物

选择 5 周龄健康雄性 SD 大鼠 6 只, 体重 80~100 g, 由河北医科大学动物实验中心提供, 动物合格证编号: 1305090。

1.2 试剂及仪器

胎牛血清 (fetal bovine serum, FBS)、DMEM 培养基 (dulbecco's modified eagle's medium) 购自美国 Gibco 公司; β -甘油磷酸购自美国 Sigma 公司; 逆转录-聚合酶链反应 (reverse transcription polymerase chain reaction, RT-PCR) 试剂盒购自美国 Thermo 公司, RT-PCR 引物由上海捷瑞生物工程有限公司合成。细胞培养箱购自美国 Sheldon 公司; 酸度计购自北京赛多利斯科学仪器有限公司; 倒置相差显微镜 (LH50A 型) 购自日本 Olympus 公司; RT-PCR 仪购自美国 Abi 公司。

1.3 VSMC 的培养

采用组织块贴壁法培养原代大鼠主动脉平滑肌细胞, 本实验室前期实验中曾使用此种方法^[5]。采用随机抽样法, 选取 2 只 5 周龄 SD 雄性大鼠 (80~100

g), 无菌条件下取胸主动脉, 仔细分离外膜, 使用机械法去除内膜, 将血管剪成约 1 mm×1 mm×1 mm 小块, 贴于培养瓶壁, 置于含 10% FBS 的 DMEM 培养基中, 放入 37°C、5% CO₂ 的孵箱中进行原代培养。VSMC 的鉴别方法同本实验室前期实验^[6]。

1.4 钙化 VSMC 的制备及分组

采用第 4 代细胞, 接种于培养瓶中, 分别进行下述实验: 体外血管钙化模型的建立参照文献 [5], 细胞在含有 10% FBS 的 DMEM 培养基中生长至汇合状态后, 钙化组 (即高磷组) 在原有基础上加入 10 mmol/L β-甘油磷酸 (钙化培养基), 正常对照组培养基不变。继续培养 4 天, 每天换液 1 次, 使用 10 mmol/L HCl 和 10 mmol/L NaHCO₃ 调整培养基 pH 值。实验分为 5 组: 正常 pH 7.4 组 (即正常对照组)、高磷 pH 7.4 组、高磷 pH 7.7 组、高磷 pH 8.0 组、TRAM-34 干预组 (在高磷 pH 8.0 组培养基基础上加入 20 nmol/L TRAM-34)。将剩余 4 只大鼠按照上述方法体外培养平滑肌细胞, 重复 2 次。

表 1. RT-PCR 目的基因引物序列

Table 1. Primer sequence used for RT-PCR

基 因		序 列	产物长度
KCa3.1	上游:	5'-CTGAGAGGCAGGCTGTCAATG-3'	217 bp
	下游:	5'-ACGTGTTTCTCCGCCTTGT-3'/CGCTCCGGCCACAAATCTC-3'	
KCa1.1α	上游:	5'-CTCCTCGTCTCGGTCCAC-3'	569 bp
	下游:	5'-CTTCCAGCCAGAACCACAGC-3'	
KCa1.1β	上游:	5'-AAGCTGGTGTATGGCCAGAA-3'	293 bp
	下游:	5'-TGGTTTTGATCCCGAGTGTC-3'	
Runx2	上游:	5'-CCGCACGACAACCGCACCAT-3'	289 bp
	下游:	5'-CGCTCCGGCCACAAATCTC-3'	
SM22α	上游:	5'-TTCTGCCTCAACATGGCCAAC-3'	249 bp
	下游:	5'-CACCTTCACTGGCTTGGATC-3'	
GAPDH	上游:	5'-CAAGGTCATCCATGACAACCTTTG-3'	496 bp
	下游:	5'-GTCCACCACCCTGTGTGTAG-3'	

1.6 统计学方法

数据分析采用 SPSS 15.0 软件分析, 符合正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 两组间均数比较采用 *t* 检验, 多组间均数比较采用单因素方差分析^[12]; 相关分析中, 符合正态分布的双变量采用 Pearson 检验。P<0.05 为差异有显著性。

1.5 RT-PCR 检测 KCa3.1、KCa1.1α、KCa1.1β、Runx2、SM22α mRNA 表达的变化

细胞总 RNA 提取采用 Trizol 一步法, 提取干预 4 天后正常对照组、高磷组细胞的总 RNA, 按照反转录试剂盒说明, 以 Oligo(dT)₁₈ 为引物, 在 20 μL 体系中合成 cDNA。以各组 cDNA 为模板, 分别加入大鼠 KCa3.1、KCa1.1α、KCa1.1β、Runx2、SM22α 上、下游引物进行 PCR, 磷酸甘油醛脱氢酶 (glyceraldehyde phosphate dehydrogenase, GAPDH) 作为内参照^[7]; 各引物序列见表 1。KCa3.1、KCa1.1α、KCa1.1β、GAPDH 20 μL 体系反应条件: 95°C 变性 30 s, 58°C 退火 30 s, 72°C 延伸 45 s, 循环 33 次, 继续 72°C 延伸 10 min。Runx2 20 μL 体系反应条件: 95°C 变性 30 s, 55°C 退火 30 s, 72°C 延伸 45 s, 循环 28 次, 继续 72°C 延伸 10 min。SM22α 20 μL 体系反应条件: 95°C 变性 30 s, 58°C 退火 30 s, 72°C 延伸 45 s, 循环 25 次, 继续 72°C 延伸 10 min。产物经 2% 琼脂糖凝胶电泳并采集图像进行分析。实验重复 3 次。

2 结 果

2.1 碱性环境对高磷诱导的平滑肌细胞 Runx2、SM22α mRNA 表达的影响

与正常 pH 7.4 组相比, 高磷组 Runx2 mRNA 水平明显升高 (P<0.05), 且随着 pH 升高而表达量增加 (P<0.05); 高磷组 SM22α mRNA 水平明显下降 (P<0.05), 且随着 pH 升高而表达量减少 (P<

0.05) (图1)。

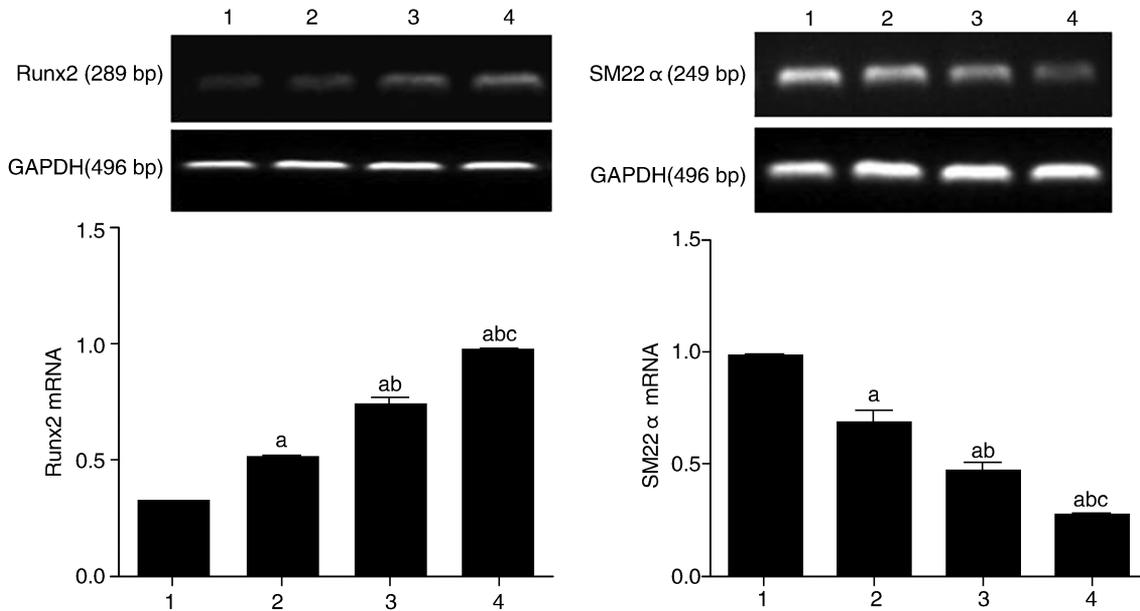


图1. 碱性环境对高磷诱导的平滑肌细胞 Runx2、SM22α mRNA 表达的影响 1为正常 pH 7.4 组,2为高磷 pH 7.4 组,3为高磷 pH 7.7 组,4为高磷 pH 8.0 组。a为 $P < 0.05$,与正常 pH 7.4 组相比;b为 $P < 0.05$,与高磷 pH 7.4 组相比;c为 $P < 0.05$,与高磷 pH 7.7 组相比。

Figure 1. Effect of alkaline environment on the expressions of Runx2 and SM22 mRNA in smooth muscle cell induced by high phosphorus

2.2 碱性环境对高磷诱导的平滑肌细胞钙激活钾通道 mRNA 表达的影响

与正常 pH 7.4 组相比,高磷 pH 7.4 组 KCa3.1 mRNA 表达升高 ($P < 0.05$),KCa1.1α mRNA 表达下降 ($P < 0.05$),KCa1.1β mRNA 表达在两组间未见统计学差异 ($P > 0.05$) (图2)。在高磷组中,随着 pH 升高 KCa3.1、KCa1.1α 表达量增加 ($P < 0.05$);在同一组中 KCa3.1 表达高于 KCa1.1α ($P < 0.05$);KCa1.1β 表达在 3 个高磷组间未见统计学差异 ($P > 0.05$) (图3)。

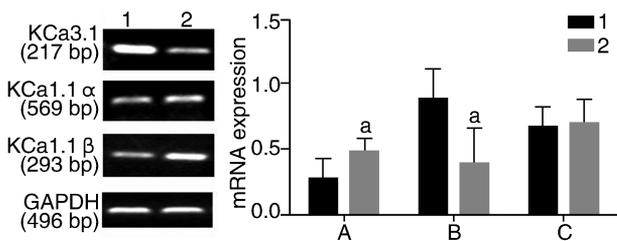


图2. 大鼠平滑肌细胞正常 pH 7.4 组、高磷 pH 7.4 组钙激活钾通道 mRNA 的表达水平 1为正常 pH 7.4 组,2为高磷 pH 7.4 组;A为 KCa3.1,B为 KCa1.1α,C为 KCa1.1β。a为 $P < 0.05$,与正常 pH 7.4 组相比。

Figure 2. The expressions of KCa3.1, KCa1.1α and KCa1.1β mRNA in normal pH 7.4 group and high phosphorus pH 7.4 group

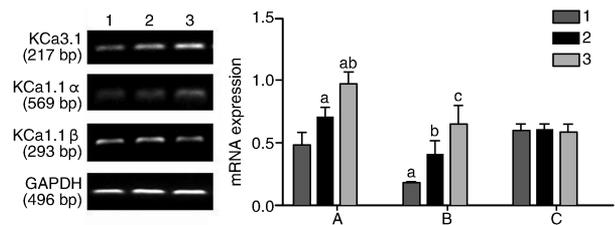


图3. 碱性环境对高磷诱导的平滑肌细胞 KCa3.1、KCa1.1α、KCa1.1β mRNA 表达的影响 1为高磷 pH 7.4 组,2为高磷 pH 7.7 组,3为高磷 pH 8.0 组;A为 KCa3.1,B为 KCa1.1α,C为 KCa1.1β。a为 $P < 0.05$,与 KCa3.1 高磷 pH 7.4 组相比;b为 $P < 0.05$,与 KCa3.1 高磷 pH 7.7 组相比;c为 $P < 0.05$,与 KCa3.1 高磷 pH 8.0 组相比。

Figure 3. Effect of alkaline environment on the expressions of KCa3.1, KCa1.1α and KCa1.1β mRNA in smooth muscle cell induced by high phosphorus

2.3 TRAM-34 干预对碱性环境中高磷诱导的平滑肌细胞 Runx2、SM22α mRNA 表达的影响

与高磷 pH 8.0 组相比,TRAM-34 干预组 Runx2 mRNA 水平明显下降 ($P < 0.05$),SM22α mRNA 水平明显上升 ($P < 0.05$;图4)。

2.4 钙激活钾通道与 Runx2、SM22α mRNA 表达之间的关系

相关性分析显示:KCa3.1 mRNA 表达与 Runx2 mRNA 表达呈正相关 ($r = 0.945, P < 0.01$),与

SM22 α mRNA 表达呈负相关($r = -0.926, P < 0.01$); 在正常 pH 7.4 组、高磷 pH 7.4 组中 KCa1.1 α mRNA 表达与 Runx2 mRNA 表达呈负相关($r = -0.746, P = 0.029$), 与 SM22 α mRNA 表达呈正相关($r = 0.971, P = 0.002$); 在高磷 pH 7.7 组、高磷 pH 8.0 组中 KCa1.1 α mRNA 表达与 Runx2 mRNA 表达呈正相关($r = 0.805, P = 0.002$), 与 SM22 α mRNA 表达呈负相关($r = -0.806, P = 0.005$); KCa1.1 β mRNA 表达与 Runx2、SM22 α mRNA 表达不相关($r = 0.414, P = 0.356; r = -0.155, P = 0.714$)。

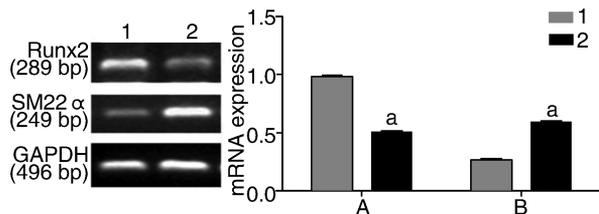


图 4. TRAM-34 干预对碱性环境中高磷诱导的平滑肌细胞 Runx2、SM22 α mRNA 表达的影响 1 为高磷 pH 8.0 组, 2 为 TRAM-34 干预组; A 为 Runx2, B 为 SM22 α 。a 为 $P < 0.05$, 与高磷 pH 8.0 组相比。

Figure 4. Effect of TRAM-34 intervention on the expressions of Runx2 and SM22 α mRNA in smooth muscle cell induced by high phosphorus in alkaline environment

3 讨论

透析患者在透析过程中使用碳酸氢盐透析液使机体处在碱性环境中, 以及 ESRD 患者常口服碳酸氢钠进行治疗, 使越来越多的研究关注患者体内碱性环境对 ESRD 患者的影响^[13]。Kirschbaum 研究发现由高碳酸氢盐透析液引起的代谢性碱中毒增加了 ESRD 患者血管钙化风险^[14]。在有关 CKD 患者血管钙化的研究中发现血管钙化并不是钙磷被动地在血管中沉积, 而是由平滑肌细胞主动参与的过程, 其中 VSMC 向成骨或成软骨样细胞表型转化是关键环节^[15]。Runx2 在此表型转化过程中扮演了重要角色。SM22 α 作为 VSMC 的标志蛋白, 也是平滑肌细胞的重要表型标志物。在前期预实验中, 我们在高磷干预下调整培养基 pH 值从 7.4 开始, 每组相差 0.1, 直到 8.0。我们通过噻唑蓝法检测发现平滑肌细胞在此 pH 范围的培养基中生长良好。为了放大造模效应, 更好地说明碱性环境对于高磷诱导的平滑肌细胞表型转化的作用, 我们选择了 3 个 pH 值 7.4、7.7、8.0 进行实验。本研究观察了碱性环境对高磷诱导的 VSMC Runx2 和 SM22 α

表达的影响, 结果发现碱性环境可增加高磷诱导的 VSMC Runx2 mRNA 的表达, 减少 SM22 α mRNA 的表达, 提示碱性环境可促进高磷诱导的血管平滑肌细胞发生表型转化。

钙激活钾通道是一类对细胞内 Ca^{2+} 浓度敏感的钾离子通道, 根据其电导容量分为 3 类: 大电导钙激活钾通道 (large conductance calcium-activated potassium channel, KCa1.1)、中电导钙激活钾通道 (intermediate conductance calcium-activated potassium channel, KCa3.1)、小电导钙激活钾通道 (small conductance calcium-activated potassium channel, KCa2.3)。KCa1.1 由 α 亚基 (KCa1.1 α) 和 β 亚基 (KCa1.1 β) 构成, 其中 α 亚基在胞内的羧基尾部含有对 Ca^{2+} 敏感的结构域, 可直接结合 Ca^{2+} ; β 亚基则影响门控通道的动力学和 Ca^{2+} 敏感性^[16]。KCa3.1 的碳端结构域可与 Ca^{2+} 传感器钙调蛋白紧密结合。胞内 Ca^{2+} 小幅度升高即可通过 Ca^{2+} -钙调蛋白介导的交联反应激活 KCa3.1^[17]。本实验中观察到高磷可促使平滑肌细胞 KCa1.1 α 低表达, KCa3.1 高表达; 相关分析显示 KCa1.1 α mRNA 表达与 Runx2 mRNA 表达呈负相关, 与 SM22 α mRNA 表达呈正相关; KCa3.1 mRNA 表达与 Runx2 mRNA 表达呈正相关, 与 SM22 α mRNA 表达呈负相关。提示 KCa3.1 高表达和 KCa1.1 α 低表达协同参与了高磷诱导的 VSMC Runx2 和 SM22 α mRNA 的表达, 为下一步研究钾钙通道在碱性环境对高磷诱导的平滑肌细胞表型转化中的作用奠定了基础。

早在上世纪 90 年代开始, 有很多研究发现碱性环境可以促进平滑肌细胞发生钙化^[18], 但截止目前有关碱对高磷诱导的平滑肌细胞表型转化中的作用研究较少。本课题组在前期有关高磷诱导的平滑肌细胞表型转化发生机制的系列研究基础上, 又进一步探讨了碱性环境对高磷诱导的平滑肌细胞表型转化中作用的可能机制。我们通过控制细胞培养基的 pH, 观察了不同程度的碱性环境对高磷诱导的平滑肌细胞 KCa3.1、KCa1.1 α 、KCa1.1 β mRNA 表达的影响, 结果显示碱呈浓度依赖性的促使 KCa3.1、KCa1.1 α mRNA 的表达, 其中对 KCa3.1 mRNA 表达的促进作用更大。因此, 我们使用 KCa3.1 特异性抑制剂 TRAM-34 对高磷 pH 8.0 组进行干预。结果显示, TRAM-34 可抑制 Runx2 的表达, 促进 SM22 α 的表达, 说明 TRAM-34 可抑制碱性环境中血管平滑肌细胞发生表型转化。相关分析显示 KCa3.1、KCa1.1 α mRNA 表达与 Runx2 mRNA 表达呈正相关, 与 SM22 α mRNA 表达呈负相关。这

些结果都提示碱性环境促进高磷诱导的血管平滑肌细胞发生表型转化可能是通过调控钙激活钾通道表达来实现的。

总之,碱性环境可促使高磷诱导的平滑肌细胞发生表型转化,其作用可能是通过调控 KCa3.1、KCa1.1 α 的表达来实现的。鉴于细胞的各种生物学功能是通过蛋白来实现的,本课题组接下来将对 KCa3.1、KCa1.1 α 、KCa1.1 β 蛋白表达与 Runx2 蛋白表达的关系继续研究。

[参考文献]

- [1] Duhn V, D'Orsi ET, Johnson S, et al. Breast arterial calcification; a marker of medial vascular calcification in chronic kidney disease[J]. *Clin J Am Soc Nephrol*, 2011, 6(2): 377-382.
- [2] Quarles LD. Reducing cardiovascular mortality in chronic kidney disease: something borrowed, something new[J]. *J Clin Invest*, 2013, 123(2): 542-543.
- [3] Raggi P, Bellasi A, Gamboa C, et al. All-cause mortality in hemodialysis patients with heart valve calcification[J]. *Clin J Am Soc Nephrol*, 2011, 6(8): 1 990-995.
- [4] Shanahan CM, Crouthamel MH, Kapustin A, et al. Arterial calcification in chronic kidney disease: key roles for calcium and phosphate [J]. *Circ Res*, 2011, 109(6): 697-711.
- [5] 张俊霞,徐金升,朱荣芳,等.慢性肾衰竭大鼠主动脉弹性功能与血管基质金属蛋白酶2表达及钙化间的关系[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2014, 22(2): 115-120.
- [6] Xu J, Bai Y, Jin J, et al. Magnesium modulates the expression levels of calcification-associated factors to inhibit calcification in a time-dependent manner [J]. *Exp Ther Med*, 2015, 9(3): 1 028-034.
- [7] 白亚玲,徐金升,张睦清,等.细胞凋亡在维生素 K₂ 抑制高磷诱导的大鼠血管平滑肌细胞钙化中的作用[J]. *中国全科医学*, 2015, 18(3): 278-282.
- [8] Lomashvili K, Garg P, O'Neill WC. Chemical and hormonal determinants of vascular calcification in vitro[J]. *Kidney Int*, 2006, 69(8): 1 464-470.
- [9] Shepherd MC, Duffy SM, Harris T, et al. KCa3.1 Ca²⁺ activated K⁺ channels regulate human airway smooth muscle proliferation[J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2007, 37(5): 525-531.
- [10] Huang C, Pollock CA, Chen XM. KCa3.1: a new player in progressive kidney disease[J]. *Curr Opin Nephrol Hypertens*, 2015, 24(1): 61-66.
- [11] Turner KL, Sontheimer H. KCa3.1 modulates neuroblast migration along the rostral migratory stream (RMS) in vivo[J]. *Cerebral Cortex*, 2014, 24(9): 2 388-400.
- [12] 李健芝,庾江东,胡丽,等.阿利吉仑对大鼠肾纤维化 TGF- β 1/Smad 信号通路的影响[J]. *中南医学科学杂志*, 2015, 43(1): 26-30.
- [13] Chou CC, Lunn CA, Murgolo NJ. KCa3.1: target and marker for cancer, autoimmune disorder and vascular inflammation? [J]. *Expert Rev Mol Diagn*, 2008, 8(2): 179-187.
- [14] Kirschbaum B. Effect of high bicarbonate hemodialysis on ionized calcium and risk of metastatic calcification [J]. *Clinica Chimica Acta*, 2004, 343(1-2): 231-236.
- [15] Schurgers LJ, Uitto J, Reutelingsperger CP. Vitamin K-dependent carboxylation of matrix Gla-protein; a crucial switch to control ectopic mineralization [J]. *Trends Mol Med*, 2013, 19(4): 217-226.
- [16] Hill MA, Yang Y, Ella SR, et al. Large conductance, Ca²⁺-activated K⁺ channels (BKCa) and arteriolar myogenic signaling [J]. *FEBS Lett*, 2010, 584(10): 2 033-042.
- [17] Bi D, Toyama K, Lemaitre V, et al. The intermediate conductance calcium-activated potassium channel KCa3.1 regulates vascular smooth muscle cell proliferation via controlling calcium-dependent signaling [J]. *J Biol Chem*, 2013, 288(22): 15 843-853.
- [18] Yamakage M, Kohro S, Yamauchi M, et al. The effects of extracellular pH on intracellular pH, Ca²⁺ and tension of canine tracheal smooth muscle strips[J]. *Life Sci*, 1995, 56(8): L175-L180.

(此文编辑 曾学清)