

• 论著-临床基础研究 •

整合素连接激酶在低氧诱导肺动脉
高压发病机制中的作用*

鄢高亮¹ 盛祖龙¹ 周千星¹ 袁春菊¹
潘啸东¹ 陈中璞¹ 汤成春¹ 马根山¹

[摘要] **目的:**通过了解整合素连接激酶(ILK)及心肌素(myocardin)在低氧性肺动脉高压(PAH)大鼠肺组织及肺血管中的表达,探讨 ILK 在低氧性肺动脉高压发病机制中的作用。**方法:**48 只 SD 大鼠按随机数字表法分为常氧对照组和低氧 1 周、2 周、4 周组,低氧干预大鼠置于低氧仓内,氧浓度控制在 $(10.5 \pm 0.5)\%$,每日间断低氧 8 h(8:00~16:00)。测定各组大鼠肺动脉平均压(mPAP)、计算右室肥厚指数[右室/(左室+室间隔),RV/(LV+S)]、管壁厚度占血管外径的百分比(WT%) and 管壁面积占血管总面积的百分比(WA%);采用髓鞘碱性蛋白为底物通过液体闪烁仪测定 ILK 活性;实时定量 PCR 法测定肺动脉内 ILK、糖原合成激酶 β (GSK- β)及 myocardin mRNA 相对表达量;Western 印迹法检测肺动脉及培养的肺动脉平滑肌细胞(PASMC)胞质内 ILK、GSK- β 及 myocardin 蛋白相对表达量。**结果:**低氧 2 周组 mPAP、右室肥厚指数、WT%、WA%均显著高于常氧对照组(均 $P < 0.05$),低氧 4 周组差异更为显著。低氧 1 周组肺动脉内 ILK 活性即明显下降达 36%($P < 0.05$),低氧 2 周、4 周组 ILK 活性均较常氧对照组明显降低(均 $P < 0.05$)。低氧 4 周组 ILK mRNA 和蛋白相对表达量均显著低于常氧对照组(均 $P < 0.05$),myocardin mRNA 和蛋白表达变化与 ILK 相似(均 $P < 0.05$),而 GSK- β 的 mRNA 和蛋白表达量则呈相反趋势,显著高于常氧对照组(均 $P < 0.05$)。低氧培养 PASMC 24 h 后 ILK 及 myocardin 蛋白表达明显低于常氧对照组,而 GSK- β 蛋白水平则呈相反趋势,低氧可促进其表达增加(均 $P < 0.05$)。**结论:**慢性低氧引起 ILK 活性和表达下调,使其下游靶点 GSK- β 表达上调,进而降低 myocardin 表达水平,可能是导致 PAH 形成的重要机制。

[关键词] 整合素连接激酶;高血压,肺性;缺氧;大鼠

doi:10.13201/j.issn.1001-1439.2017.02.019

[中图分类号] R544.1 **[文献标志码]** A

Effect of integrin linked kinase in the pathogenesis of hypoxia-induced pulmonary hypertension in rats

YAN Gaoliang SHENG Zulong ZHOU Qianxing YUAN Chunju
PAN Xiaodong CHEN Zhongpu TANG Chengchun MA Genshan

(Department of Cardiology, Zhongda Hospital of Southeast University Medical School, Nanjing, 210009, China)

Corresponding author: YAN Gaoliang, E-mail: yanshipingguo@163.com

Abstract Objective: To explore the expression of integrin linked kinase and myocardin in the pathogenesis of hypoxia-induced pulmonary artery hypertension (PAH) in a rat model. **Method:** Forty-eight Sprague-Dawley rats were randomly divided into 4 groups ($n=12$ each). And the rats were exposed to normoxia or hypoxia for 1, 2, 4 weeks respectively. SD rats were exposed to chronic intermittent hypoxia [$PO_2:(10.5 \pm 0.5)\%$, 8:00-16:00]. Mean pulmonary arterial pressure (mPAP), right ventricular hypertrophy (RV/(LV+S)) and the index of wall thickness of small pulmonary artery (WT% and WA%) among groups were measured. The kinase activity of ILK was measured through myelin basic protein substrate by liquid scintillation counting. Real-time quantitative Polymerase Chain Reaction was performed to quantify the relatively mRNA levels of ILK, glycogen synthase kinase-3 beta (GSK- β), and myocardin. And western blot assay were employed to determine the relative expressions of proteins of ILK, GSK- β and myocardin. **Result:** The levels of mPAP, RV/(LV+S), WT% and WA% were significantly higher after 2 week hypoxia than those in normoxic control (all $P < 0.05$). And the levels of above in 4 weeks were further increased compared with normoxic control. The kinase activity of ILK was significantly decreased at 36% ($P < 0.05$) in 1 week after hypoxia compared with normoxic control, and the levels of kinase activity in 2, 4 weeks were also reduce compared with normoxic control (39%, 43%, all $P < 0.05$). The relative expression of ILK mRNA and protein were significantly decreased after 4 week hypoxia than that in normoxic control (all $P < 0.05$). And the similar variation tendency were observed in myocardin (all $P < 0.05$). However, the relative expression of GSK- β mRNA and protein were significantly increased after 4 week hypoxia than that in normoxic control (all $P < 0.05$). In vitro, the relative protein expression of ILK and myocardin were significantly reduced by

* 基金项目:国家自然科学基金(No:81600227,81370225)

¹ 东南大学附属中大医院心内科(南京,210009)

通信作者:鄢高亮,E-mail:yanshipingguo@163.com

hypoxia for 24 h compared with normoxia treatment in cultured pulmonary artery smooth muscle cells. However, the protein level of GSK-3 β were dramatically increased by hypoxia treatment. **Conclusion:** The down regulation of the kinase activity and expression of ILK under chronic hypoxia may further induce the up regulation of GSK-3 β , followed by downregulation of myocardin, which is probably implicated in the pathogenesis of PAH.

Key words integrin linked kinase;hypertension,pulmonary;hypoxia;rats

肺动脉高压(PAH)是心血管领域常见疾病,随肺血管重构进展可导致肺血管管壁增厚、管腔狭窄或纤维化甚至完全闭塞,最终导致右心肥大、急慢性心力衰竭(心衰)直至死亡^[1]。整合素连接激酶(ILK)是一种丝氨酸/苏氨酸激酶,可通过糖原合成激酶 3 β (GSK-3 β)来调节细胞的存活、增殖与凋亡^[2]。研究发现低氧可降低平滑肌细胞内心肌素(myocardin)表达,可能是参与低氧性 PAH 形成的重要机制^[3-4]。而新近研究发现,ILK 是与低氧应激有关众多胞内分子的上游应答者^[5]。目前国内外尚无 ILK、myocardin 与低氧性 PAH 肺血管重构发病机制的系统研究。本研究通过建立间断低氧性肺动脉高压大鼠模型,探讨 ILK 信号通路及 myocardin 在 PAH 分子机制中的作用,为肺动脉高压的临床药物治疗提供理论和实验依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物 6~8 周龄健康雄性 Sprague-Dawley(SD)大鼠 48 只,体重 150~180 g,寄养于东南大学动物实验中心。

1.1.2 主要材料 聚乙烯右心导管(中国医学科学院基础医学研究所);常压低氧培养箱(长沙华曦电子科技有限公司);RM6240BD 生理多导记录仪(四川成都仪器厂),酶标仪 Model 680(美国 BIO-RAD 公司);实时定量 PCR 扩增仪(美国 ABI 公司);倒置相差显微镜(德国 ZEISS 公司);Image-Pro Plus6.0 图像分析系统(美国 Media Cybernetics 公司);液体闪烁仪(美国 PACKARD 2250CA);胎牛血清(FBS)和 DMEM/F12 培养基及蛋白抽提试剂盒(德国 Promocell 公司);ILK 单克隆抗体、GSK-3 β 及 myocardin 单克隆抗体、 β -肌动蛋白(β -actin)单克隆抗体(美国 Santa Cruz 公司);辣根过氧化物酶标记的鼠 II 抗(北京天德悦公司);髓鞘碱性蛋白(MBP)底物及 γ -³²P-ATP 试剂盒(上海岚派生物科技有限公司);引物由上海吉玛制药技术有限公司合成。

1.2 方法

1.2.1 动物分组与模型构建 本研究方案经东南大学动物伦理委员会批准,48 只 SD 大鼠按随机数字表法均分为 4 组,常氧对照组及低氧 1 周、2 周、4 周组,各 12 只。常氧对照组大鼠以正常氧浓度(21%)仓内饲养。按常压间断低氧法建立大鼠 PAH 模型^[6]:将大鼠放在自制低氧舱内,充入氮气

使舱内氧浓度保持在(10.5 \pm 0.5)%,控制 CO₂ 浓度低于 3%;进行间断性低氧,每天 8 h(8:00~16:00)。所有大鼠均置于同一实验室内,自由进食饮水,恒温(22 \pm 2) $^{\circ}$ C、恒湿(55 \pm 5)%。

1.2.2 血液动力学及右心肥厚指数测定 结合既往文献报道方法^[6],大鼠干预结束后以 10%水合氯醛腹腔注射麻醉,分离右侧颈外静脉,将内径 0.9 mm 的聚苯乙烯软管插入血管,固定导管位置,导管另一端连接压力传感器,根据 RM6240BD 生理多导记录仪所显示的压力波形曲线和压力值来判断导管口所处的位置,当出现典型压力波形并稳定 3 min 后连续记录 6 次稳定数据,取其均值作为每只大鼠平均肺动脉压(mPAP)。测压结束后迅速剪开胸腔将完整心肺一同取出,并用生理盐水漂洗冲尽血液,沿房室沟剪去心房及大血管根部,分离右心室(RV)、左心室(LV)和室间隔(S)并依次称重,计算两者的比值[RV/(LV+S)]作为右心肥厚指数,以确定有无右心室肥厚。

1.2.3 大鼠肺血管形态学改变的检测 取左肺中下部,4%中性多聚甲醛溶液固定 24 h,沿肺门横断取材,石蜡包埋切片,进行苏木精-伊红染色,每组随机选取 6 个视野测定直径 50~150 μ m 肺小动脉,用 AxioVision 软件进行图像采集,Image-Pro Plus 6.0 软件进行图像分析,测量管壁厚度、血管外径、平均血管总面积和血管腔面积,计算出管壁厚度占血管外径的百分比(WT%)和管壁面积占血管总面积的百分比(WA%),来评价肺小动脉血管重构。

1.2.4 PASM C 的分离、培养、细胞鉴定和细胞缺氧模型的建立 按文献^[6]采用组织贴块法培养原代 PASM C。采用平滑肌 α 肌动蛋白单克隆抗体对培养的细胞进行免疫荧光鉴定。实验用 3~6 代细胞。缺氧细胞置入 37 $^{\circ}$ C、5%CO₂ 和 1%O₂ 培养箱内;常氧细胞置于 37 $^{\circ}$ C、5%CO₂ 和 21%O₂ 培养箱内。PASM C 以相同密度接种于 75 cm 培养皿中,待细胞生长至超融合状态(即 100%融合后再培养 24 h),然后血清饥饿处理 48~72 h 同步化,按实验分组将低血清培养基同时加至培养皿中,低氧培养箱中培育 24 h 后收集细胞蛋白组分,测定蛋白含量。

1.2.5 MBP 底物法测定肺组织 ILK 蛋白激酶活性 建立以 MBP 为底物的反应体系,含有:Tris 25 mmol/L, pH 7.5, MgCl₂ 5 mmol/L, EGTA

1 mmol/L, DTT 1 mmol/L, 10 μ g 可溶性检测蛋白, MBP 底物含量为 0.5 μ mol/L。并以重蒸馏水代替底物作为空白对照。反应液充分混匀后, 30 $^{\circ}$ C 温浴 10 min, 加入 2 μ l 终浓度为 40 μ mol/L 的 ATP(含 0.5 μ Ci γ - 32 P-ATP), 启动反应。30 $^{\circ}$ C 反应 10 min 后, 加入等体积 H_3PO_4 150 mmol/L 终止反应, 转移 20 μ l 混合液到磷酸纤维素滤纸条 (1 cm \times 2 cm) 上, 然后用 H_3PO_4 150 mmol/L 溶液反复冲洗滤纸条 6 次, 5 min/次, 以彻底除去游离的 γ - 32 P-ATP。乙醇脱水后, 将滤纸条自然风干, 放入盛有 10 ml 重蒸馏水的液闪瓶中, 作切伦科夫计数。蛋白激酶活性 (cpm \cdot μ g $^{-1}$ protein \cdot min $^{-1}$) = 含有酶液的活性值 - 空白对照值 - 重蒸馏水本底值。

1.2.6 实时定量分析 PCR 法检测肺动脉 ILK、GSK-3 β 及 myocardin mRNA 转录: 使用 Trizol 按试剂盒操作说明书提取动脉总 RNA, 用 Nano Drop2000 分光光度计检测 RNA 纯度及浓度。反转录反应合成 cDNA, 置于 -20 $^{\circ}$ C 保存。设计合成 ILK、 β -actin(内参) 等上下游引物。使用 ABI 的 TaqMan Universal PCR Master Mix 和 ABI 7900 荧光定量 PCR 仪进行荧光扩增, 比较阈值 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 进行定量分析。ILK 引物序列上游 5' TGGACGACATTTTCACTCA3'; 下游 5' CTGATTTAGGTCGTTCTCTGTGT 3', 扩增产物为 86 bp; GSK-3 β 引物序列上游 5' GACAGTGGTGTG-GATCAGTT 3', 下游 5' ATTTGCTCCCTTGTTGGT 3', 扩增产物为 65 bp; myocardin 引物序列上游 5' TCGCCTAACAACCATTACTTC 3', 下游 5' CTGGCATTCTCCACTTTCA 3', 扩增产物为 436 bp; 内参 β -actin 引物序列上游 5' GGTCATCACTATCGGCAAT 3', 下游 5' GTGTTGGCATAGAGGTCTT3', 扩增产物为 153 bp。各目的基因扩增条件相同: 95 $^{\circ}$ C 预变性 4 min; 95 $^{\circ}$ C 变性 5 s, 58 $^{\circ}$ C 退火 20 s, 72 $^{\circ}$ C 延伸 20 s, 共 30 个循环。各基因检测结果根据标准曲线由 StepOneTM 软件给出。

1.2.7 Western 印迹法测定 采用 Western 印迹法检测肺动脉及培养的 PASM 胞质内 ILK、

GSK-3 β 及 myocardin 蛋白表达 蛋白提取按 Promocell 蛋白抽提试剂盒说明书操作。每泳道上样 50~100 μ g 蛋白。用 8% 分离胶行聚丙烯酰胺凝胶电泳。电泳后转膜, 5% 脱脂牛奶封闭 1 h, 一抗 (1:2000) 4 $^{\circ}$ C 过夜, 辣根过氧化物酶标记二抗 (1:2500) 室温培育 2 h, 采用增强化学发光显影液进行显影, 以 Bio-Rad Geldoc2000 图像分析仪扫描分析。选用 β -actin 作为内参对照, 以目标条带的灰度值作为蛋白相对表达量。

1.3 统计学处理

采用 SPSS12.0 统计软件进行数据分析。所有数据进行正态性检验, 计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示; 计数资料以百分率表示。各组间数据的比较用单因素 ANOVA 法, 两两比较用 LSD 分析。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 低氧对 PAH 大鼠血液动力学改变和肺血管重构的影响

低氧 2 周组大鼠 mPAP、右心肥厚指数、WT% 及 WA% 均显著高于常氧对照组 (均 $P < 0.05$); 并随低氧时间的延长而呈逐渐增高的趋势, 与常氧对照组相比, 低氧 4 周组大鼠上述指标增高更明显, 差异有统计学意义 (均 $P < 0.05$) (表 1)。各组大鼠肺小动脉病理结果示: 常氧对照组大鼠肺小动脉管腔直径较大, 血管壁较薄; 低氧 2 周组大鼠 PASM 胞核增大、排列紊乱, 肺小动脉管腔明显狭窄, 血管壁显著增厚; 第 4 周上述变化更加明显, 平滑肌细胞增生更为显著, 造成血管管腔进一步狭窄, 并出现非肌型小动脉严重肌化以至于管腔接近完全闭塞 (图 1)。

2.2 低氧对 ILK 活性的影响

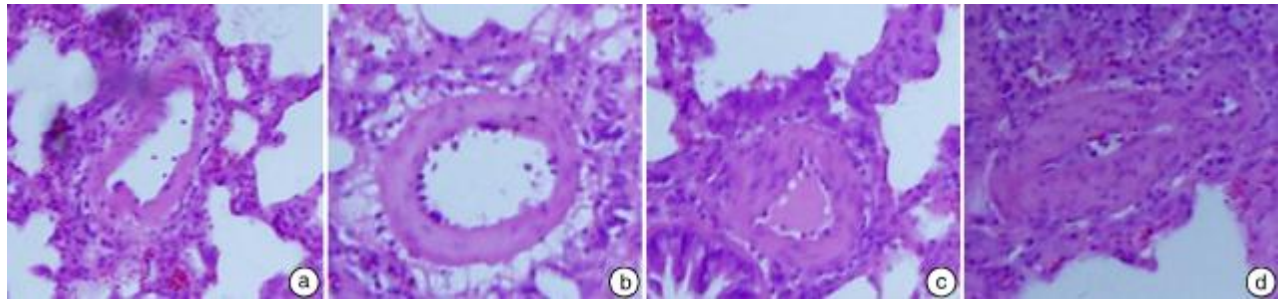
ILK 与保守的 Ser/Thr 蛋白激酶有高度的序列相似性, 提示 ILK 保留有残余的激酶活性。通过建立以 MBP 为底物的反应体系, 发现低氧 1 周组肺动脉内 ILK 活性即明显下降达 36% ($P < 0.05$), 低氧 2 周、4 周组 ILK 活性均较常氧对照组明显降低 (39%、43%, 均 $P < 0.05$) (图 2)。

表 1 各组大鼠 mPAP、右心肥厚指数、WT% 及 WA% 的比较

Table 1 Hemodynamics and right ventricle hypertrophy of rats in four groups

组别	只数	mPAP/mmHg $^{\Delta}$	右心肥厚指数/%	WT%/%	WA%/%
常氧对照组	12	18.6 \pm 1.6	23.6 \pm 1.8	18.1 \pm 1.6	38.4 \pm 2.9
低氧 1 周组	10	23.1 \pm 2.1	25.4 \pm 1.6	19.3 \pm 1.4	40.6 \pm 3.8
低氧 2 周组	9	27.6 \pm 2.7 ¹⁾	32.8 \pm 3.6 ¹⁾	27.6 \pm 1.8 ¹⁾²⁾	54.2 \pm 5.6 ¹⁾²⁾
低氧 4 周组	10	32.4 \pm 2.5 ¹⁾²⁾	38.3 \pm 3.9 ¹⁾²⁾	34.8 \pm 2.1 ¹⁾²⁾	70.6 \pm 6.2 ¹⁾²⁾³⁾
F		84.162	98.628	54.324	76.432
P		0.000	0.000	0.000	0.000

$^{\Delta}$ 1 mmHg=0.133 kPa。与常氧对照组比较, ¹⁾ $P < 0.05$; 与低氧 1 周组比较, ²⁾ $P < 0.05$; 与低氧 2 周组比较, ³⁾ $P < 0.05$ 。



苏木精-伊红染色(×200) a:常氧对照组;b:低氧1周组;c:低氧2周组,大鼠肺小动脉管腔明显狭窄,血管管壁显著增厚;d:低氧4周组,肺小动脉管腔进一步狭窄,接近完全闭塞。

图1 各组大鼠肺小动脉病理图片

Figure 1 Stained sections of four groups of rats

2.3 低氧对肺动脉 ILK、GSK-3β 及 myocardin mRNA 表达的影响

实时定量 PCR 显示:对照组肺动脉 ILK 及 myocardin mRNA 呈高表达,低氧 1 周组的相对定量无明显变化,低氧 2 周组有降低趋势,低氧 4 周组显著降低;而 GSK-3β mRNA 水平则呈相反趋势,随低氧时间的延长,其表达明显增加。见表 2。

2.4 低氧对肺动脉 ILK、GSK-3β 及 myocardin 蛋白表达的影响

Western Blot 免疫检测显示:常氧对照组肺动脉 ILK 及 myocardin 蛋白呈高表达,低氧 1 周组的相对定量无明显变化,低氧 2 周组有降低趋势,低氧 4 周组显著降低;而 GSK-3β 蛋白水平则呈相反趋势,随低

氧时间的延长,其表达明显增加。见表 3。

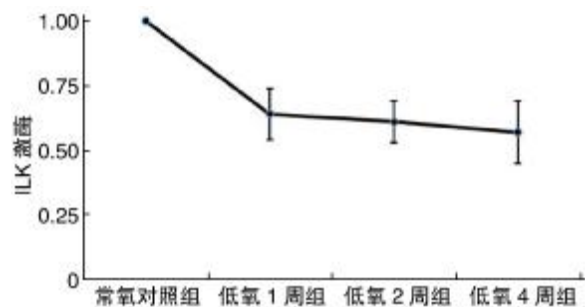


图2 低氧对 ILK 活性的影响

Figure 2 Effects of hypoxia on the activity of ILK kinase

表2 各组大鼠肺动脉内 ILK、GSK-3β 及 myocardin mRNA 表达水平

Table 2 The mRNA expression levels of ILK, GSK-3β and myocardin in four groups

组别	只数	ILK	GSK-3β	myocardin
常氧对照组	12	0.58±0.08	0.26±0.01	0.44±0.08
低氧1周组	10	0.42±0.06 ¹⁾	0.31±0.04 ¹⁾	0.36±0.07 ¹⁾
低氧2周组	9	0.34±0.07 ¹⁾²⁾	0.48±0.07 ¹⁾²⁾	0.21±0.04 ¹⁾²⁾
低氧4周组	10	0.12±0.03 ¹⁾²⁾³⁾	0.64±0.08 ¹⁾²⁾³⁾	0.12±0.03 ¹⁾²⁾³⁾
F 值		42.682	76.436	114.218
P 值		0.000	0.000	0.000

与常氧对照组比较,¹⁾ P<0.05;与低氧1周组比较,²⁾ P<0.05;与低氧2周组比较,³⁾ P<0.05。

表3 各组大鼠肺动脉内 ILK、GSK-3β 及 myocardin 蛋白表达水平

Table 3 The protein expression levels of ILK, GSK-3β and myocardin in four groups

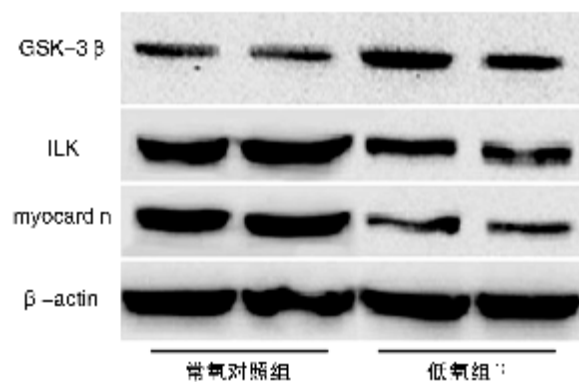
组别	只数	ILK	GSK-3β	myocardin
常氧对照组	12	0.46±0.06	0.18±0.02	0.36±0.07
低氧1周组	10	0.31±0.04 ¹⁾	0.22±0.04	0.30±0.09
低氧2周组	9	0.18±0.08 ¹⁾²⁾	0.26±0.07 ¹⁾²⁾	0.22±0.05 ¹⁾²⁾
低氧4周组	10	0.11±0.04 ¹⁾²⁾³⁾	0.28±0.09 ¹⁾²⁾³⁾	0.19±0.07 ¹⁾²⁾
F 值		86.423	58.362	74.324
P 值		0.000	0.000	0.000

与常氧对照组比较,¹⁾ P<0.05;与低氧1周组比较,²⁾ P<0.05;与低氧2周组比较,³⁾ P<0.05。

2.5 慢性低氧对 PASMC 胞内 ILK、GSK-3β 及 myocardin 表达的影响

采用 Western blot 检测发现,低氧 24 h 可明

显降低培养的 PASMC 胞质内 ILK 及 myocardin 蛋白表达,而 GSK-3β 蛋白水平则呈相反趋势,低氧可促进其表达增加(均 P<0.05),见图 3。



与常氧对照组比较,¹⁾ $P < 0.05$ 。

图3 常氧和慢性低氧24 h对PASM胞内ILK及myocardin表达的影响

Figure 3 The protein expressions of ILK and myocardin in PASM exposed to normoxic or hypoxia for 24 h

3 讨论

PAH发病机制复杂,迄今尚未完全阐明,且目前尚缺乏有效的治疗手段。目前针对PAH形成过程的几条重要途径研发出的新药物(如钙通道阻滞药、前列环素类似物、内皮素受体拮抗剂和5型磷酸二酯酶抑制剂)已相继在临床上应用,使得PAH患者的生活质量和预后相对改善,但是仍有部分患者在接受药物治疗后症状恶化,或由于药物不良反应难以耐受治疗。本研究通过慢性间断低氧法成功建立PAH大鼠模型,对于进一步深入探讨PAH肺血管重构的病理机制,寻找更有效更安全的靶向治疗药物具有重要意义。

ILK最早是由Hannigan等^[7]在用酵母双杂交的方法在研究整合素 $\beta 1$ 结合蛋白的过程中发现的,ILK是细胞信号途径和功能的调控中心,以依赖于磷脂酰肌醇-3激酶(PI3K)的方式激活,进而作用于下游的GSK-3 β ,通过参与多条信号通路的信号传导活动来调节细胞的多种生物学效应,是细胞信号级联的核心。ILK在细胞分化、发育、肿瘤生长等多种病理生理过程中具有广泛调控作用。随着研究的深入,ILK与血管生物学的研究逐渐成为热点,如Shen等^[8]发现ILK是维持主动血管收缩表型所必须的基因之一;Ho等^[9]通过建立大鼠颈动脉球囊损伤模型,发现ILK表达显著降低而血管平滑肌细胞增殖和迁移水平增加;新的研究也发现,ILK也是一种早期低氧反应性因子,是与低氧应激有关众多胞内分子的上游应答者,ILK表达也受缺氧调控^[5]。本课题组在对低氧性PAH模型的初步研究中,首次发现PAH大鼠肺动脉组织中ILK的mRNA和蛋白表达水平显著低于对照组,而其下游GSK-3 β 表达则与之相反,提示ILK信号通路在低氧性PAH的发病机制中具有重要作用。

研究发现低氧可促进PASM细胞核内myo-

cardin向胞质内转移,并显著降低其表达;过表达myocardin可逆转低氧诱导的平滑肌细胞收缩标志基因启动子活性下调。但是到目前为止,仅有的研究表明低氧可能通过促进血小板衍生生长因子BB释放、下调蛋白激酶G活性和(或)增强葡萄糖-6-磷酸脱氢酶活性等方式影响myocardin表达,参与PAH的过程^[3-4,10]。本实验结果显示,无论PAH肺动脉组织中或培养的PASM内ILK和myocardin水平均呈一致性降低,由此推测:低氧引起ILK活性和表达下调,继而使其下游靶点myocardin表达下调,可能是导致PAH形成的重要机制,但ILK影响低氧性PAH形成的确切机制仍有待进一步的深入研究。

参考文献

- [1] VOELKEL N F, MIZUNO S, BOGAARD H J. The role of hypoxia in pulmonary vascular diseases: a perspective[J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2013, 304: L457-465.
- [2] HANNIGAN G E, LEUNG-HAGESTEIJN C, FITZ-GIBBON L, et al. Regulation of cell adhesion and anchorage-dependent growth by a new beta 1-integrin-linked protein kinase[J]. *Nature*, 1996, 379: 91-96.
- [3] JIE W, GUO J, SHEN Z, et al. Contribution of myocardin in the hypoxia-induced phenotypic switching of rat pulmonary arterial smooth muscle cells[J]. *Exp Mol Pathol*, 2010, 89: 301-306.
- [4] CHETTIMADA S, GUPTA R, RAWAT D, et al. Gupte. hypoxia-induced glucose-6-phosphate dehydrogenase overexpression and -activation in pulmonary artery smooth muscle cells; implication in pulmonary hypertension[J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2015, 308: L287-300.
- [5] LEE S P, YOUN S W, CHO H J, et al. Integrin-linked kinase, a hypoxia-responsive molecule, controls post-natal vasculogenesis by recruitment of endothelial progenitor cells to ischemic tissue[J]. *Circulation*, 2006, 114: 150-159.
- [6] 鄢高亮, 胡圣大, 王庆捷, 等. 地高辛早期干预对低氧诱导肺动脉高压大鼠肺血管重构的影响及其机制[J]. *中华医学杂志*, 2014, 94(2): 139-143.
- [7] HANNIGAN G, TROUSSARD A A, DEDHAR S. Integrin-linked kinase: a cancer therapeutic target unique among its ILK[J]. *Nat Rev Cancer*, 2005, 5: 51-63.
- [8] SHEN D, LI J, LEPORE J J, et al. Aortic aneurysm generation in mice with targeted deletion of integrin-linked kinase in vascular smooth muscle cells[J]. *Circ Res*, 2011, 109: 616-628.
- [9] HO B, HOU G, PICKERING J G, et al. Integrin-linked kinase in the vascular smooth muscle cell response to injury[J]. *Am J Pathol*, 2008, 173: 278-288.
- [10] CHETTIMADA S, RAWAT D K, DEY N, et al. Glc-6-PD and PKG contribute to hypoxia-induced decrease in smooth muscle cell contractile phenotype proteins in pulmonary artery[J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2012, 303: L64-74.

(收稿日期:2016-09-19;修回日期:2016-12-13)