

· 基础研究 ·

慢性肾衰竭大鼠血清对主动脉平滑肌细胞组蛋白乙酰转移酶 p300 及激活转录因子 4 表达的影响

张耀全 胡宏 姚霞娟 陈燕

【摘要】 目的 研究慢性肾衰竭大鼠血清对主动脉血管平滑肌细胞(VSMC)泛素-蛋白酶体系统、激活转录因子 4(ATF4)及组蛋白乙酰转移酶 p300 表达的影响,初步探讨慢性肾衰竭血清对主动脉 VSMC 作用的可能机制。**方法** 建立慢性肾衰竭大鼠模型,采集其血清;采用原代培养的大鼠主动脉 VSMC,分正常组(正常大鼠血清刺激)和慢性肾衰竭血清组(慢性肾衰竭血清刺激)。用不同大鼠血清刺激 72 h 后,分别采用实时定量 PCR、Western 印迹及特异底物反应法检测慢性肾衰竭血清对 VSMC 泛素、泛素激活酶(ubiquitin activating enzyme,简称 E1)、 β 转导重复相容蛋白 1(β -transducin repeat containing protein 1, β -TrCP1)、p300 及 ATF4 mRNA 表达, E1、 β -TrCP1、p300 及 ATF4 蛋白表达及蛋白酶体活性的影响。**结果** (1)慢性肾衰竭血清使主动脉 VSMC 泛素、E1、 β -TrCP1、p300 及 ATF4 mRNA 表达增加,与正常组相比,差异均有统计学意义($P < 0.01$),随时间延长;慢性肾衰竭血清组泛素、E1、 β -TrCP1、p300 及 ATF4 mRNA 表达逐渐升高,差异有统计学意义($P < 0.01$)。(2)慢性肾衰竭血清使主动脉 VSMC E1、 β -TrCP1、p300 及 ATF4 蛋白表达增加,与正常组相比,差异均有统计学意义($P < 0.01$);随时间延长,慢性肾衰竭血清组 E1、 β -TrCP1 及 p300 蛋白表达逐渐升高,差异有统计学意义($P < 0.01$)。ATF4 表达有下降趋势,但差异无统计学意义($P > 0.05$)。(3)慢性肾衰竭血清刺激后蛋白酶体活性增强,与对照组相比,差异均有统计学意义($P < 0.01$);随时间延长,慢性肾衰竭血清组蛋白酶体活性逐渐升高($P < 0.01$)。**结论** 慢性肾衰竭血清可致大鼠主动脉 VSMC 泛素-蛋白酶体途径活化,但其对 ATF4 的降解受阻,可能和 p300 表达增高有关。这为进一步采取措施,防治慢性肾衰竭血管病变提供了一定的理论和实验依据。

【关键词】 肾功能衰竭,慢性; 肌细胞,平滑肌; 泛素; 组蛋白乙酰基转移酶; 转录激活因子 4

Effects of chronic renal failure rat serum on histone acetyltransferase p300 and activation of activating transcription factor 4 of arterial smooth muscle cells cultured *in vitro* ZHANG Yao-quan, HU Hong, YAO Xia-juan, CHEN Yan. Department of Nephrology, Jiangyin Hospital, Southeast University Medical College, Jiangyin 214400, China

【Abstract】 Objective To investigate the effects of the rat serum with chronic renal failure (CRF) on ubiquitin - proteasome pathway, histone acetyltransferase p300 and activation of activating transcription factor 4(ATF4) of rat arterial vascular smooth muscle cells(VSMCs) cultured *in vitro*, and explore the possible mechanism. **Methods** To establish the rat model of CRF by 5/6 nephrectomy, VSMCs were incubated in the media with the 10% of CRF serum or control serum *in vitro*. The mRNA

DOI: 10.3760/cma.j.issn.1001-7097.2013.12.009

基金项目:江苏省分子和功能影像重点实验室开放研究基金(PYZX2011010);江苏省无锡市科技局指令性课题(CSEW1N1114)

作者单位:214400 江苏省江阴市,东南大学医学院附属江阴医院肾内科

expressions of ubiquitin(Ub), ubiquitin activating enzyme(E1), ubiquitin ligases enzymes (β -transducin repeat containing protein 1, β -TrCP1), p300 and ATF4 in the rat VSMCs were examined by using real-time PCR. Expressions of E1, β -TrCP1, p300 and ATF4 proteins in response to the CRF serum in VSMCs were determined by Western blotting analysis. The enzyme activities of 20S proteasomes in the total protein were examined by using three special fluorogenic peptide substrates. **Results** The CRF serum significantly promoted the mRNA expressions of Ub, E1, β -TrCP1, p300 and ATF4 in VSMCs in a time dependent manner. Compared with that in control serum group, the mRNA levels of Ub, E1, β -TrCP1, p300 and ATF4 in CRF serum group increased significantly ($P < 0.01$). The CRF serum also increased the protein expressions of E1, β -TrCP1 and p300 in a time dependent manner. The expression of ATF4 was decreased, but the difference was not significant ($P > 0.05$). Compared with that in control serum group, the protein expressions of E1, β -TrCP1, p300 and ATF4 in CRF serum group increased significantly ($P < 0.01$). The activities of 20S proteasomes in the CRF serum group were significantly increased in a time dependent manner. Compared with that in control serum group, the activities of 20S proteasomes in the CRF serum group increased significantly ($P < 0.01$). **Conclusions**

The serum of CRF rat can effectively active the ubiquitin - proteasome pathway, but ATF4 ubiquitinated degradation is blocked. The latter may be associated with increased expression of p300.

【Key words】 Kidney failure, chronic; Myocytes, smooth muscle; Ubiquitin; Histone acyltransferases; Activating transcription factor 4

心血管疾病是慢性肾衰竭(CRF)患者首位死亡病因,占CRF患者总病死率的50%左右^[1]。CRF患者好发心血管疾病的机制较为复杂,其中血管钙化是重要的原因之一。血管平滑肌细胞(VSMC)是血管钙化重要的效应细胞,研究其在CRF时发生了那些病理生理改变,具有极其重要的理论和实用价值。

有研究表明,内质网应激(ERS)参与了VSMC钙化的过程,其中持续高表达的激活转录因子4(ATF4)对促进VSMC向成骨样细胞分化、维持成骨样细胞表型具有非常重要的作用^[2-4]。我们既往研究表明,CRF血清能诱导VSMC发生ERS,同时活化ATF4信号通路,ATF4活性明显增加^[5]。生理情况下ATF4 mRNA在体内细胞中均可表达,但蛋白一般不表达或不能被检测到,仅在成骨细胞中大量表达^[7]。其原因主要是ATF4蛋白瞬时表达后被泛素-蛋白酶体系统迅速降解。那么CRF时VSMC中ATF4蛋白为何不能被迅速降解,是因为泛素-蛋白酶体系统没有活化,还是有其他原因抑制了ATF4的泛素化降解?组蛋白乙酰转移酶p300是ATF4翻译后重要调控因子,其不仅能参与ATF4的乙酰化,还能和ATF4结合,具有调控其泛素化降解的作用^[7-8]。CRF时血管平滑肌细胞p300的表达变化情况目前并不清楚。为此本研究采用CRF大鼠血清刺激体外培养的主动脉VSMC,观察泛素-蛋白酶体系统活性及ATF4和

p300的表达变化,为进一步调控ATF4的表达提供理论和实验依据。

材料与amp;方法

一、材料

1. 实验动物: 6~8周龄SPF级雄性Wistar大鼠40只,体质量(220 ± 15)g,随机分为2组,每组20只。其中1组用于制作CRF模型,并采集其血清,另1组用于采集正常大鼠血清。行经典5/6肾切除术制作CRF模型,即先行右肾切除术,1周后切除左肾2/3的皮质。另取6周龄SPF级雄性Wistar大鼠10只,体质量(150 ± 15)g,用于细胞培养。以上动物均由第三军医大学实验动物中心提供。

2. 主要试剂及仪器: DMEM-F12培养基、胎牛血清(美国Hyclone); β -actin抗体(深圳晶美);兔抗泛素激活酶(ubiquitin activating enzyme,简称E1)抗体(美国Millipore);羊抗泛素多克隆一抗(美国Chemicon);兔抗p300多克隆抗体、兔抗ATF4(c-20)多克隆抗体、兔抗 β 转导重复相容蛋白1(β -transducin repeat containing protein 1, β -TrCP1)多克隆抗体、辣根过氧化物酶(HRP)标记羊抗兔二抗(美国Santa Cruz);细胞裂解液(上海申能博彩);RNAout试剂盒(绵阳天泽基因公司);RT-PCR试剂盒(北京博大泰克);SYBR Green

PCR 试剂盒(日本 TaKaRa);蛋白酶体特异性底物(美国 Sigma);增强化学发光(ECL)显影试剂盒(美国 Pierce);美国 Bio-Rad 荧光定量 PCR 仪;垂直电泳槽和电泳仪(北京六一仪器厂);凝胶成像系统(5500,美国 Alphaimager)。

二、方法

1. 血清采集方法: CRF 模型组术后 12 周将大鼠麻醉后剪开腹腔,直接从腹主动脉抽血,分离血清,混合,0.22 μm 微孔滤膜过滤、分装,-70 $^{\circ}\text{C}$ 冻存备用。血清生化检查:尿素氮(BUN) 28.76 mmol/L,肌酐(Scr) 250.80 $\mu\text{mol/L}$, K^{+} 5.90 mmol/L, Na^{+} 143.20 mmol/L, Cl^{-} 102.23 mmol/L, CO_2CP 22 mmol/L。正常血清的采集方法和 CRF 血清相同,血清生化检查:BUN 7.75 mmol/L,Scr 56.60 $\mu\text{mol/L}$, K^{+} 4.60 mmol/L, Na^{+} 134.20 mmol/L, Cl^{-} 95.32 mmol/L, CO_2CP 24 mmol/L。

2. 大鼠主动脉 VSMC 原代培养、鉴定及分组: 无菌条件下取出大鼠主动脉,细心剥离外膜,刮除内膜,剪成 1 mm \times 1 mm 大小,以贴块法进行 VSMC 的原代培养,置入含 20%胎牛血清的 DMEM-F12 培养基中,37 $^{\circ}\text{C}$ 5% CO_2 培养箱中培养,细胞长到 80%融合时用胰酶消化传代,以一定密度接种到新培养瓶中进行扩增培养。实验用 3~5 代细胞。VSMC 鉴定采用形态学和 α 平滑肌肌动蛋白(α -SMA)免疫荧光鉴定。实验分为 2 组:正常血清组:采用 10%的正常大鼠血清培养;CRF 血清组:采用 10%CRF 大鼠血清刺激。细胞培养 72 h,设 3 个时相点:24 h、48 h、72 h,在不同的时相点进行相关实验。

3. 实时定量 PCR 法检测泛素、E1、 β -TrCP1、p300 及 ATF4 mRNA 表达: 培养细胞无血清同步于 G0 期后,加入 10%正常血清或 CRF 血清刺激不同的时间后,加入 RNAout 抽提剂,按试剂盒说明书进行总 RNA 提取,按照 SYBR Green PCR 试剂盒说明书,在 Bio-Rad 荧光定量 PCR 仪上进行扩增。引物由上海生物工程技术有限公司设计合成,引物序列如下:泛素正义链 5'-TGG CCG TAC TCT TTC TGA-3',反义链 5'-CTC CAC TTC CAG GGT GAT-3';E1 正义链 5'-AGC CTA ATG GTG AGG AGA TG-3',反义链 5'-TCA GCG GAT GGT GTA TCG-3'; β -TrCP 正义链 5'-ATG CAA GCG AAT TCT CAC AGG-3',反义链 5'-GGA ACG ATC TTT GGA GCA GGT-3';ATF4 正义链 5'-GTT GGT

CAG TDC CTC AGA CA-3',反义链 5'-CAT TCG AAA CAG AGC ATC GA-3';p300 正义链 5'-GGG ACT AAC CAA TGG TGG TG-3',反义链 5'-ATT GGG AGA AGT CAA GCC TG-3'; β -actin 正义链 5'-GAG CTA CGA GCT GCC TGA CG-3',反义链 5'-CCT AGA AGC ATT TGC GGT GG-3'。计算 mRNA 的相对表达量 $\Delta\text{Ct} = \text{Ct}_{\text{目的}} - \text{Ct}_{\text{内参}}$,与对照组比较, $\Delta\Delta\text{Ct} = \Delta\text{Ct}_{\text{干预组}} - \Delta\text{Ct}_{\text{对照组}}$ 。mRNA 的倍数变化等于 $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$ 。

4. Western 印迹法检测平滑肌细胞中 E1、 β -TrCP1、p300 及 ATF4 蛋白的表达:(1)培养细胞无血清同步于 G0 期后,10%正常血清或 CRF 血清干预不同的时间后提取细胞总蛋白质并定量。(2)电泳、转膜、抗体孵育、发光:取 20 μg 蛋白样品经 10% SDS-PAGE 凝胶电泳,转膜,5%脱脂奶粉室温封闭 2 h;分别加入抗体 E1(1:2000)、ATF4(1:400)、 β -TrCP1(1:1000)、p300(1:1000)、 β -actin(1:1000) 4 $^{\circ}\text{C}$ 孵育过夜。以 HRP 标记的 IgG 二抗(1:10 000)室温孵育 1 h,洗膜后,加入发光底物显色,凝胶成像仪成像、分析。

5. 蛋白酶体活性检测: 细胞在 10%正常血清或 CRF 血清刺激后,分别在 24 h、48 h、72 h 进行如下实验。(1)以冰浴的 0.01 mol/L PBS 洗涤细胞,细胞刮轻轻刮下细胞,4 $^{\circ}\text{C}$ 1000 \times g 离心 5 min,细胞沉淀用 1 \times PBS 洗 2 次,转入 EP 管中,加 20 mmol/L Tris(pH 7.6) 1 ml,先放置液氮中 5 min,再 37 $^{\circ}\text{C}$ 水浴 5 min,交替 3 次。13 000 \times g 离心 10 min,取上清。(2)用 Bradford 法测定蛋白浓度。(3)各组每次均用含 20 μg 细胞总蛋白提取液,分别与蛋白酶体特异底物 S、Z、B(底物 S: N-Succinyl-Leu-Leu-Val-Tyr-7-Amido-4-Methyleoumarin,相对分子质量 763.9,激发和发射波长为 380 nm 和 440 nm,反映糜蛋白酶样活性。底物 Z: Z-Leu-Leu-Glu- β -naphthylamide,相对分子质量 632.8,激发和发射波长 335 nm 和 410 nm,反映多肽-谷氨酰-多肽水解酶活性;底物 B: Boc-Gln-Ala-Arg-7-amido-4-methylcoumarin hydrochloride,相对分子质量 667.2,激发和发射波长 380 nm 和 440 nm,反映胰蛋白酶活性)在 37 $^{\circ}\text{C}$ 水浴 30 min(底物终浓度为 10 $\mu\text{mol/L}$,缓冲液为 pH 8.0 HEPES,反应体系为 500 μl)。然后同体积冰乙醇终止反应,加去离子水 3 ml。最后采用荧光酶标仪进行荧光测定,以吸光度(A)值反映酶活性,A 值与蛋白酶体活性成正相关。

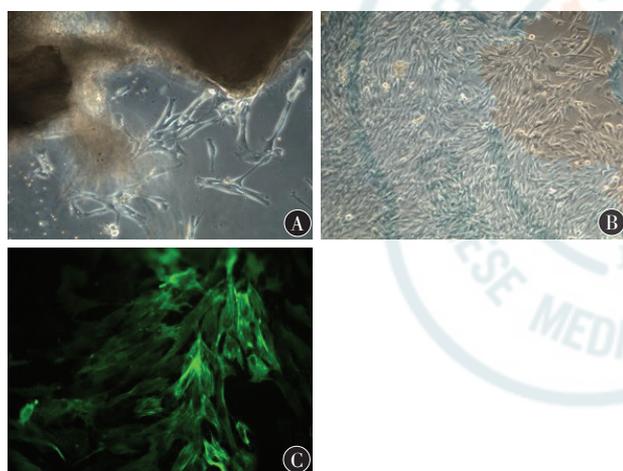
各组样本均做 3 个平行管,实验重复 3 次。

三、统计学方法

计量数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组间不同指标采用两因素析因设计方差分析,组内不同时相点之间采用 SNK 法进行多重比较,使用 SPSS 10.0 软件进行分析, $P < 0.05$ 视为差异有统计学意义。

结 果

1. 大鼠主动脉 VSMC 的鉴定: 主动脉贴块后 3~5 d 即有细胞从组织块周围爬出, 10 d 后进行传代。倒置相差显微镜镜下观察细胞大多呈长梭形, 融合后呈典型的“峰”“谷”样生长状态, α -SMA 免疫荧光染色阳性, 在胞质中可见肌丝样结构, 见图 1。

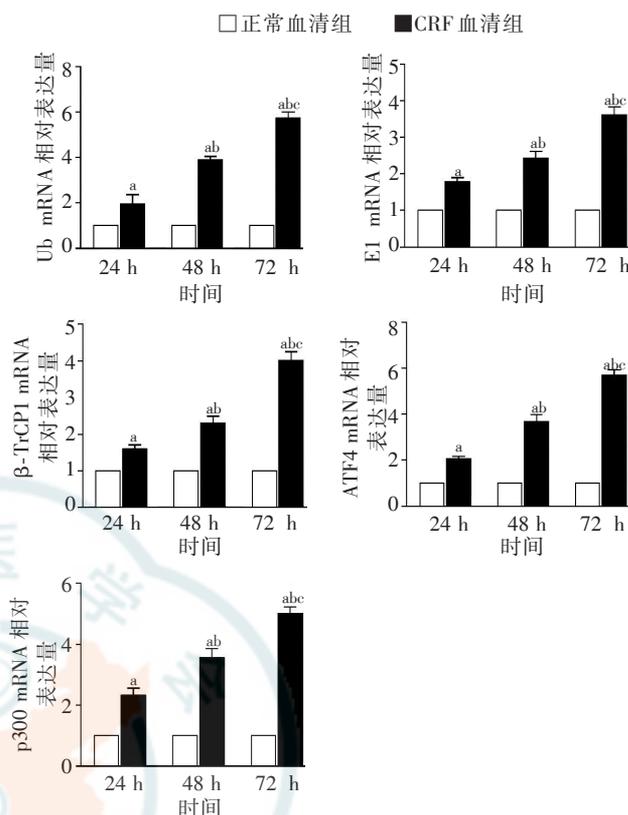


注: A: 贴块法培养大鼠主动脉 VSMC 第 5 天($\times 200$); B: 大鼠主动脉 VSMC 呈“峰”“谷”样生长($\times 100$); C: 细胞 α -SMA 染色阳性(免疫荧光 $\times 400$)

图 1 主动脉 VSMC 的形态特征鉴定

2. CRF 大鼠血清刺激主动脉 VSMC 不同时间后泛素、E1、 β -TrCP1、ATF4 及 p300 mRNA 表达变化: CRF 血清刺激后平滑肌细胞泛素、E1、 β -TrCP1、p300 及 ATF4 mRNA 表达均上调, 与正常血清组相比差异均有统计学意义 ($P < 0.01$)。随时间的延长, 正常血清组泛素、E1、 β -TrCP1、p300 及 ATF4 mRNA 表达无明显变化; CRF 血清组泛素、E1、 β -TrCP1、p300 及 ATF4 mRNA 表达逐渐升高, 差异有统计学意义 ($P < 0.01$)。见图 2。

3. CRF 大鼠血清刺激主动脉 VSMC 不同时间后 E1、 β -TrCP1、ATF4 及 p300 蛋白的表达: CRF



注: 与正常血清组比较, $^a P < 0.01$; 与同组 24 h 比较, $^b P < 0.01$; 与同组 48 h 比较, $^c P < 0.01$

图 2 两组不同时间点泛素、E1、 β -TrCP1、ATF4 及 p300 mRNA 的表达(实时定量 PCR)

血清刺激平滑肌细胞后 E1、 β -TrCP1、ATF4 及 p300 蛋白表达均上调, 与正常血清组差异均有统计学意义 ($P < 0.01$)。随时间的延长, 正常血清组 E1、 β -TrCP1、ATF4 及 p300 蛋白表达无明显变化; CRF 血清组 E1、 β -TrCP1 及 p300 表达逐渐升高, 差异有统计学意义 ($P < 0.01$), ATF4 表达似有下降趋势, 但差异无统计学意义。见图 3。

4. CRF 血清对大鼠主动脉 VSMC 蛋白酶体活性的影响: CRF 血清作用后能使 VSMC 蛋白酶体的活性有所增加, 与正常血清组相比差异有统计学意义 ($P < 0.01$)。随时间的延长, 正常血清组蛋白酶体活性无明显变化; CRF 血清组蛋白酶体活性逐渐升高, 差异有统计学意义 ($P < 0.01$)。见表 1。

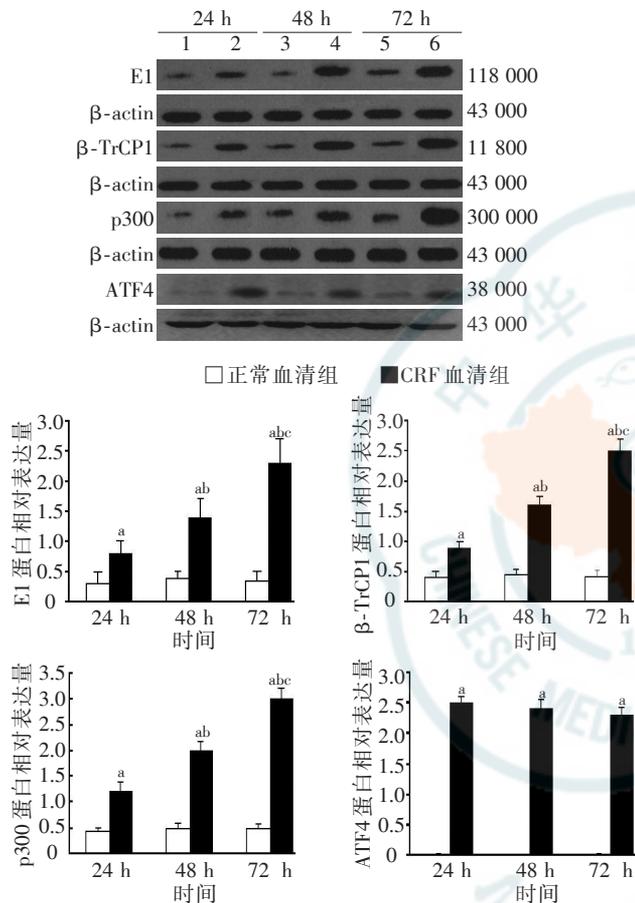
讨 论

血管钙化是 CRF 好发心血管并发症的重要原因之一, 是一个与骨矿化过程相似的 VSMC 主动调控过程。主要特征是 VSMC 在外界因素的作用下, 失去平滑肌细胞的表型特征, 转化为成骨样

表 1 CRF 血清对主动脉 VSMC 蛋白酶体 20S 亚基活性的影响 ($A, \bar{x} \pm s, n = 3$)

组别	底物 S			底物 Z			底物 B		
	24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h
正常血清组	52.7±2.5	55.3±11.0	54.3±5.5	132.3±2.5	131.3±5.8	132.7±8.7	94.6±4.2	95.0±5.0	95.2±4.5
CRF 血清组	96.3±3.8 ^a	125.3±5.0 ^{ab}	146.0±5.3 ^{abc}	237.7±2.7 ^a	330.7±12.9 ^{ab}	391.6±7.6 ^{abc}	192.7±6.4 ^a	290.6±11.0 ^{ab}	381.3±10.0 ^{abc}

注:与正常血清组比较,^a $P < 0.01$;与同组 24 h 比较,^b $P < 0.01$;与同组 48 h 比较,^c $P < 0.01$



注:1、3、5:正常血清组;2、4、6:CRF 血清组;与正常血清组比较,^a $P < 0.01$;与同组 24 h 比较,^b $P < 0.01$;与同组 48 h 比较,^c $P < 0.01$

图 3 两组不同时间点 E1、 β -TrCP1、ATF4 及 p300 蛋白的表达 (Western 印迹)

细胞。有研究表明 ATF4 是 VSMC 向成骨样细胞转化过程中的关键性调控因子^[4]。目前只发现 Runx2、核心结合因子 α -1(Cbfa-1)和 ATF4 可诱导非成骨系细胞表达成骨细胞特异型基因骨钙素^[9-10]。ATF4 同时也是内质网应激(ERS)过程中重要的信号因子^[11]。Masuda 等^[4]研究发现在硬脂酸刺激的 VSMC 钙化过程中总 ATF4 及磷酸化的 ATF4 均大量表达,其参与了硬脂酸导致的 VSMC 表型转化和钙化的过程,抑制 ATF4 的表达能抑制 VSMC

向成骨细胞表型转化及钙化。

本研究表明,CRF 血清刺激主动脉 VSMC 后 ATF4 不仅 mRNA 表达升高,其蛋白表达同样也持续升高,其原因目前并不清楚。本研究同时检测了泛素-蛋白酶体系统相关组分的变化:Ub、E1 mRNA 的表达及 E1 蛋白的表达均明显升高,蛋白酶体活性明显增强,且随着时间的延长,蛋白酶体系统活性继续增强。这说明 ATF4 蛋白表达的持续升高并非由于泛素-蛋白酶体系统未活化所致,应该有其他的原因。当然泛素-蛋白酶体系统功能的特异性是由 E3 酶决定,E3 酶具有组织分布和底物识别的专一性。ATF4 的特异性 E3 酶为 β -TrCP1^[12]。本研究发现 β -TrCP1 基因和蛋白的表达均明显升高,且随着时间的延长表达逐渐升高,这说明 ATF4 表达的持续升高并非其特异性 E3 酶表达下降所致。

ATF4 作为转录因子,一般常在翻译后受到多种修饰,如磷酸化、乙酰化、泛素化及 SUMO (small ubiquitin-related modifier) 化等,从而达到其精确调控基因转录的功能。现有研究表明,组蛋白乙酰转移酶 p300 是 ATF4 翻译后重要调控因子,其不仅能参与 ATF4 的乙酰化,还能和 ATF4 结合,具有调控其泛素化降解的作用^[7-8]。p300 蛋白是一种相对分子质量为 300 000 的大分子蛋白,在各种哺乳动物细胞中均有表达,其在不同物种间高度保守。其蛋白中含有多个结构域,如 TAZ 锌指结构域(与靶 DNA 结合所必需)、KIX 结构域(与 CREB 结合所必需)、Bromo 结构域(可以结合与乙酰化赖氨酸相互作用的特异性序列)、HAT 结构域和 ZZ 锌指结构域等。p300 可以与多种转录因子或染色质相关蛋白相互结合、相互作用,从表观调控角度调控基因的时序表达,参与多种细胞的活动。

那么是否由于 p300 抑制了 ATF4 的泛素化降解,导致其持续存在? 本研究发现 CRF 血清刺激后 p300 mRNA 和蛋白的表达均明显上调,且随时

间的延长 p300 表达逐渐增高。由于 p300 对 ATF4 的特殊作用, 我们有理由推测 ATF4 的持续高表达可能和 p300 抑制了泛素蛋白酶体系的作用有关。当然这仍需要进一步研究, 特别是对 p300 进行正反两方面调控研究方能明确这一推测。

总之, 慢性肾衰竭血清刺激主动脉血管平滑肌细胞, ATF4 蛋白表达能持续增高, 其原因并非泛素蛋白酶体系未活化, 可能有其他原因抑制了其功能。p300 表达持续增高可能是其中原因之一。

参 考 文 献

[1] Ueda M. Clinical relevance of coronary artery calcification, as a risk factor for plaque rupture: viewpoint from pathology. Clin Calcium, 2010, 20: 1656-1662.

[2] Duan X, Zhou Y, Teng X, et al. Endoplasmic reticulum stress-mediated apoptosis is activated in vascular calcification. Biochem Biophys Res Commun, 2009, 387: 694-699.

[3] Liberman M, Johnson RC, Handy DE, et al. Bone morphogenetic protein-2 activates NADPH oxidase to increase endoplasmic reticulum stress and human coronary artery smooth muscle cell. Biochem Biophys Res Commun, 2011, 413: 436-441.

[4] Masuda M, Ting TC, Levi M, et al. Activating transcription factor 4 regulates stearate - induced vascular calcification. J Lipid Res, 2012, 53: 1543-1552.

[5] 张耀全, 冯兵, 袁发焕. 慢性肾衰竭大鼠血清诱发主动脉平滑肌细胞内质网应激及激活转录因子 4 活化. 中华肾

脏病杂志, 2009, 25: 706-710.

[6] Yang X, Karsenty G. ATF4, the osteoblast accumulation of which is determined post-translationally, can induce osteoblast-specific gene expression in non - osteoblastic cells. J Biol Chem, 2004, 279: 47109-47114.

[7] Lassot I, Estrabaud E, Emiliani S. p300 modulates ATF4 stability and transcriptional activity independently of its acetyltransferase domain. J Biol Chem, 2005, 280: 41537 - 41545.

[8] Suzuki T, Osumi N, Wakamatsu Y. Stabilization of ATF4 protein is required for the regulation of epithelial - mesenchymal transition of the avian neural crest. Dev Biol, 2010, 344: 658-668.

[9] Liu TM, Lee EH. Transcriptional regulatory cascades in Runx2 - dependent bone development. Tissue Eng Part B Rev, 2013, 19: 254-263.

[10] Xiao G, Jiang D, Ge C, et al. Cooperative interactions between activating transcription factor 4 and Runx2/Cbfa1 stimulate osteoblast - specific osteocalcin gene expression. J Biol Chem, 2005, 280: 30689-30696.

[11] Chiang CK, Nangaku M, Tanaka T, et al. Endoplasmic reticulum (ER) stress signal impairs erythropoietin production: a role for ATF4. Am J Physiol Cell Physiol, 2013, 304: C342-C353.

[12] Pons J, Evrard-Todeschi N, Bertho G, et al. Phosphorylation-dependent structure of ATF4 peptides derived from a human ATF4 protein, a member of the family of transcription factors. Peptides, 2007, 28: 2253-2267.

(收稿日期: 2013-07-26)

(本文编辑: 杨克魁)

· 读者 · 作者 · 编者 ·

本刊可直接用缩写的一些常用词汇

本刊对以下一些大家都比较熟悉的常用词汇将允许直接用缩写, 即第一次出现时, 可以不标注中文。

血压(BP)	变异系数(CV)	终末期肾病(ESRD)	丙型肝炎病毒(HCV)
血小板(Plt)	胎牛血清(FBS)	急性肾衰竭(ARF)	辅助性 T 淋巴细胞(Th)
干扰素(IFN)	一氧化氮(NO)	慢性肾衰竭(CRF)	自然杀伤细胞(NK 细胞)
心电图(ECC)	腹膜透析(PD)	重症监护病房(ICU)	人类免疫缺陷病毒(HIV)
红细胞(RBC)	血液透析(HD)	肾小球滤过率(GFR)	酶联免疫吸附测定(ELISA)
白细胞(WBC)	IgA 肾病(IgAN)	心脏监护病房(CCU)	反转录-聚合酶链反应(RT-PCR)
艾滋病(AIDS)	狼疮肾炎(LN)	肿瘤坏死因子(TNF)	严重急性呼吸窘迫综合征(ARDS)
血尿素氮(BUN)	白细胞介素(IL)	磷酸盐缓冲液(PBS)	动脉血二氧化碳分压(PaCO ₂)
糖尿病(DM)	糖尿病肾病(DN)	丙氨酸转氨酶(ALT)	乙型肝炎病毒 e 抗原(HBeAg)
血肌酐(Scr)	肾病综合征(NS)	天冬氨酸转氨酶(AST)	乙型肝炎病毒 e 抗体(抗-HBe)
舒张压(DBP)	体质量指数(BMI)	动脉血氧分压(PaO ₂)	乙型肝炎病毒表面抗原(HBsAg)
收缩压(SBP)	磁共振成像(MRI)	甲型肝炎病毒(HAV)	乙型肝炎病毒表面抗体(抗-HBs)
血红蛋白(Hb)	核因子-κB(NF-κB)	乙型肝炎病毒(HBV)	乙型肝炎病毒核心抗体(抗-HBc)