

致心律失常性右心室心肌病致病蛋白的挖掘 *

崔 丹¹ 闫玉清^{1△} 李 琬² 陈丽娜^{2△} 李为国² 太京燮² 张良才² 宿 滨² 李心玲¹

(1 哈尔滨师范大学生命科学与技术学院 黑龙江 哈尔滨 150025;

2 哈尔滨医科大学生物信息科学与技术学院 黑龙江 哈尔滨 150081)

摘要 目的 鉴定疾病蛋白对深入理解致心律失常性右心室心肌病(ARVC)致病机制至关重要。可以采用计算生物学的方法,在 ARVC 疾病相关网络中挖掘新的潜在的致病蛋白。方法 本文整合 HPRD 和 BioGRID 的蛋白质互作数据,获得了较为全面且真实可靠的蛋白质互作数据,通过结合文本挖掘和统计学检验筛选出 ARVC 种子蛋白,应用最近邻居扩增的方法,构建 ARVC 蛋白质互作网络(PPIN),并采用 PRINCESS 法则对网络中每对互作蛋白加权,最后,基于 ARVC 关联得分策略对网络中的每个蛋白质打分并排序。结果:分析发现排序前 50 的候选蛋白大都与 ARVC 关系密切,如 PRKCA, CDH1, SMAD4, SMAD2, CDH5, CTNNA1, DSC1 等在调节心肌收缩、细胞程序性死亡、心脏的发育过程及维持桥粒的完整性方面起重要作用。结论 我们提出的方法为鉴定与 ARVC 致病机制相关的新致病蛋白提供了有效的途径。

关键词 致心律失常性右心室心肌病;蛋白质互作网络;致病蛋白

中图分类号 R541.7 R542.2 文献标识码 A 文章编号 1673-6273(2012)18-3425-05

Mining Arrhythmogenic Right Ventricular Cardiomyopathy Potential Disease Protein*

CUI Dan¹, YAN Yu-qing^{1△}, LI Wan², CHEN Li-na^{2△}, LI Wei-guo², TAI Jing-xie², ZHANG Liang-cai², SU Bin², LI Xin-ling¹

(1 College of Life Science and Biotechnology, Harbin Normal University, Harbin, 150025, China;

2 College of Bioinformatics Science and Technology, Harbin Medical University, Harbin, 150081, China)

ABSTRACT Objective: Identification of disease proteins is important to understand the mechanism of Arrhythmogenic Right Ventricular Cardiomyopathy (ARVC). Computational biological methods can be used to mine potential disease proteins in disease-related network. **Methods:** We integrated protein-protein interaction data from HPRD and BioGRID databases to obtain a more comprehensive and trustworthy protein-protein interaction data. The method of text mining combined with statistical tests was used to screen ARVC candidate proteins. ARVC-Protein-Protein Interaction Network (PPIN) was built through the nearest-neighbor expansion method and weighted each protein pair in the network using PRINCESS. Then an ARVC-related score strategy was presented to rank each protein of the network. **Results:** Top 50 candidate proteins were analyzed, and most candidate proteins were closely associated with ARVC, such as PRKCA, CDH1, SMAD4, SMAD2, CDH5, CTNNA1, DSC1. They played an important role in regulating myocardial contractility, cell degeneration, heart development and maintaining the integrity of desmosomes. **Conclusions:** Our approach reported here provides new insights for the identification of disease genes, and will be helpful for the studies on the pathogenesis of ARVC in depth.

Key words: Arrhythmogenic Right Ventricular Cardiomyopathy; Protein-protein interaction network; Disease protein

Chinese Library Classification(CLC): R541.7, R542.2 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2012)18-3425-05

前言

致心律失常性右心室心肌病 (Arrhythmogenic Right Ventricular Cardiomyopathy, ARVC) 是一种原发性心肌病,主要特征为右心室心肌部分或全部被纤维或脂肪组织所替代,从而导致心力衰竭、心律失常、猝死。严重威胁着人类的健康。研究认为 ARVC 是一种复杂遗传病^[1]。它具有明显的家族倾向,主要是常染色体显性遗传,也存在少数常染色体隐性遗传(如 NAXOS 病)其发生与发展是在生物环境因素背景下,多个致病基因相互作用的结果^[2]。一些分子遗传学研究证实编码桥粒蛋白的基

因突变能够导致 ARVC。目前已确定遗传位点的致病基因有 12 个,如斑珠蛋白 (JUP),桥粒斑蛋白 (DSP),亲斑蛋白 2 (PKP2)以及桥粒芯蛋白等的突变均能引发 ARVC^[3]。预测并鉴定 ARVC 的致病基因对深入理解疾病的分子基础,从而进一步提高疾病的诊断及治疗手段有着重要的意义。

近年来,复杂疾病候选基因的挖掘方法主要是基于蛋白互作网络^[4]。蛋白质是通过相互协作发挥其功能的^[5]。基于人类疾病网络及疾病基因网络的研究证明,致病基因比非致病基因彼此之间有更多的互作,并共享相同的 GO terms^[6]。直接互作的蛋白质之间有相同或相似的作用^[7]。可以基于网络研究蛋白质

* 基金项目 黑龙江省教育厅基金(12511271),黑龙江省自然科学基金(D200834)

作者简介 崔丹(1985-),女,硕士,主要研究方向 遗传学、生物信息学 电话:0451-86674768 E-mail: xuidan61@sina.com

△通讯作者 闫玉清 E-mail: yanyq66@hotmail.com 陈丽娜 E-mail: chenlina@ems.hrbmu.edu.cn

(收稿日期 2012-02-10 接受日期 2012-03-20)

与疾病的关联性。但任何一个数据库都不可能收录所有的蛋白质互作数据,通过整合网络可以获得真实可靠且较为全面的蛋白质互作数据。JAKE 等利用 OMIM 数据库中检索描述中包含“疾病名称”的基因作为已知的致病基因,通过最近邻居扩增法构建疾病关联网络来挖掘可能与疾病相关联的候选基因,但这种简单的基于条件匹配的致病基因检索方法比较粗糙,可能存在假阳性或漏掉假阴性基因^[8]。Ozgur 等提出基于网络分析并结合文献挖掘的方法预测疾病相关的基因能够改善这种情况^[9]。为了更准确而全面的阐述疾病和基因之间的关系,应在网络分析基础上,结合功能富集分析来进一步证实。可根据功能相似的基因可能表现相似的疾病表型这一理论,对网络预测得到的候选蛋白进行 GO 功能富集分析研究^[6,7]。

本文利用 ARVC 的“种子蛋白”及整合网络中的蛋白质互作数据,构建 ARVC 关联的蛋白质互作网络(ARVC-Related Proteins and Protein Interaction Network, ARVC-PPIN)。并通过功能富集分析和文献对网络中挖掘到的 ARVC 候选蛋白进行证实,来了解 ARVC 致病机制和发现潜在的疾病相关联的候选蛋白。

1 材料和方法

1.1 ARVC“种子蛋白”的筛选

首先从 KEGG 数据库(<http://genome.jp/kegg/>)下载人类全部通路(共 216 条),通过文献挖掘的方法在 NCBI 数据库中查询有文献记载的和 ARVC 相关联的通路。筛选与 ARVC 疾病显著相关的通路(卡方检验 $P < 0.05$),再对每一条筛选出的通路中的每个基因分别进行文献挖掘,筛选出 ARVC 疾病显著的基因(卡方检验 $P < 0.05$)。通过两次筛选共获得 32 个与 ARVC 相关联的致病基因,即种子基因。

利用 HGNC (HUGO Gene Nomenclature Committee, <http://www.genenames.org>)数据库^[10],将得到的种子基因转化为相应的蛋白质的标准符号,得到与 32 个种子基因一一对应的蛋白,本研究将其命名为“种子蛋白”。

1.2 加权 ARVC-PPIN 的构建

HPRD 数据库(版本 9)是一个整合了来自真实的人类蛋白质相互作用实验的数据库,包括蛋白质互作、翻译后修饰及组织表达等信息,且所有的信息均通过生物学家阅读文献并分析整合而来^[11]。去掉其中蛋白质的自身互作,包含了 9 871 个蛋白质,40 618 对互作的人类蛋白质互作网络。BioGRID 数据库(版本 3.1.81)是一个有文献记载的蛋白质及遗传互作数据库。包含 39 155 个蛋白及 219 750 对互作。本文整合了 HPRD 及 BioGRID 这两个信息量大且相对真实可靠的数据库获得较为全面的蛋白质互作数据,并从中提取互作蛋白。通过最近邻扩增的方法,提取 32 个“ARVC 种子蛋白”及与其直接互作的蛋白质,构建整合的 ARVC-PPIN。网络中,去掉其中蛋白质的自身互作,共包含 761 个节点,887 条边。并对网络中的每个边设定互作可信度得分。

PRINCESS 采用 Bayesianr 的方法来评估蛋白质及其互作蛋白的生物相关性。PRINCESS 的主要策略是基于标准数据库的黄金准则用似然比来评估生物证据的可信度。Bayesian 网络方法,整合了多种混杂的生物学证据,包括模式生物的蛋白质

互作、功能注释、基因表达、基因组背景、网络拓扑结构等资源计算出整合得分“似然比”来评估通过高通量实验鉴定了的人类蛋白互作可信度,具有出高度敏感及特异性^[12]。

本研究采用 PRINCESS 人类高通量蛋白质互作可信度打分系统对网络中的每条边设定可信度得分。对将得分进行 0-1 标准化处理。作为互作蛋白的“可信度”,并以此获得加权的 ARVC-PPIN。

1.3 ARVC 疾病关联性得分

我们提出一个 ARVC 疾病关联性得分策略,对网络中每一个蛋白质进行打分,来衡量每一蛋白质对 ARVC-PPIN 的贡献程度。ARVC-PPIN 中蛋白质与网络中其它蛋白质连接的能力的强弱,体现了此蛋白质与 ARVC 的关联程度。因此,我们对网络中的每个蛋白 i 引入一个相关功能关联得分 S_i ,即该蛋白质的 ARVC 疾病关联性得分^[8]:

$$S_i = \exp \left\{ k \times \ln \left(\sum_{j \in N(i)} P(i,j) \right) - \ln \left(\sum_{j \in N(i)} N(i,j) \right) \right\} \quad (2)$$

其中 i 和 j 代表网络中的蛋白质, k 是一个经验常数($k > 1$; 这里我们设 $k=2$); $N(i)$ 是 ARVC-PPIN 中与蛋白质 i 互作的蛋白质集合, $P(i,j)$ 是蛋白质 i 和 j 互作可信度,如果蛋白质 j 与 i 互作且属于 ARVC-PPIN,则 $N(i,j)$ 的值为 1,否则为 0。

ARVC-PPIN 中的蛋白质 S_i 得分越大,这个蛋白质与疾病越相关。根据计算出的 S_i 得分对网络中的蛋白质排序,排序在前的非种子蛋白则可作为 ARVC 候选蛋白。

1.4 ARVC 种子蛋白与候选蛋白的功能富集分析

利用 DAVID 数据库(版本 6.7, <http://david.abcc.ncifcrf.gov/>)下的功能注释工具,通过超几何分布对种子蛋白和其它排序在前 150 的候选蛋白进行 Gene Ontology 功能富集分析(显著性水平为 0.01),来进一步考察得到的候选蛋白与 ARVC 的功能关联性^[13,14]。

2 结果

2.1 候选蛋白质排序结果及分析

在 ARVC-PPIN 网络中,疾病关联性得分在前 18 位的蛋白质均为种子蛋白对候选蛋白进行排序,其中排序在 1-10 位的候选蛋白(见表 1)。

分析发现这些蛋白质大多数与各类心肌病有着密切的关系。如 Kooij 等在小鼠研究中发现蛋白激酶 PRKCA (rank 2),能够调节心肌收缩和 Ca^{2+} 平衡^[15]。Martí nez 等在研究中发现 CDH1(rank 3)是上皮细胞转型成间叶细胞过程(EMT)中的主要调节者之一,而 EMT 能够使心脏血管祖先细胞分化成各类细胞,如心脏间隙纤维及心肌细胞在内的冠状动脉平滑肌细胞、内皮细胞等^[16]。它的发现有利于从分子水平深入认识心脏病的致病机制。SMAD4(rank 4)能够编码 TGF- β 超家族通路中一些常见的细胞内介质^[17]。它们能调节多个细胞进程,如细胞分化、细胞程序性死亡等。而目前的研究认为 ARVC 的疾病机理可能与细胞的程序性死亡有密切相关。CTNNA1 (rank 5)和 DSC1(rank 9)均属于钙粘着蛋白家族中的成员。钙粘着蛋白通过内聚力控制细胞间联接,而粘着连接是心脏组织的完整性的重要组成部分^[18,19]。且钙粘着蛋白是桥粒的组分之一,也是细胞连接、细胞粘着形成所必需的。桥粒的完整对维持间隙连接、细

胞间电偶联的应答通道的正常功能、及心肌细胞的生长和分化起到必不可少的作用^[20]。而目前的研究普遍认为 ARVC 是一种桥粒疾病^[21]。此外, SMAD2(rank 6) 是一个信号转导蛋白及调控子, 能调节多种信号通路及细胞进程。如细胞增殖、细胞程序性死亡及分化。CDH5(rank 7)在心脏中表达, 它在心脏的发育中起重要作用^[16]。PSEN1(rank 8)目前还没有文献证实与及心脏的关系, 但突变能导致在培养细菌模型中细胞粘着紊乱^[22]。而 ARVC 的疾病机制可能与细胞粘着有关。SMAD3(rank 10)可能

整合到 TGFB1 信号通路中, TGFB1 信号在心脏重构及纤维化及过度生长中起重要作用^[23]。TGFB1 受体 I 和 II 与 SMAD3 磷酸化的降低及心脏收缩性的下降相关^[24]。Amati 等认为 ARVC 的发病机制是由于肌细胞向成熟的脂肪细胞转分化的结果^[25]。SMAD3 的正常表达能够防止心肌细胞的纤维化^[26]。它的缺失能够导致成纤维细胞的过度生长及损伤纤维细胞的转分化^[27]。因此它们都很可能是 ARVC 致病蛋白。

表 1 ARVC-PPIN 中候选前 10 的蛋白质
Table 1 Top 10 candidate proteins in the ARVC-PPIN

Rank	Score	Gene	Symbol	Protein Description
1	4.198945		SRC	V-src sarcoma (Schmidt-Ruppin A-2)
2	3.581556		PRKCA	Protein kinase C, alpha
3	3.36539		CDH1	Cadherin 1, type 1, E-cadherin
4	2.948225		SMAD4	Mothers against DPP homolog 4
5	2.9403		CTNNA1	Catenin, alpha 1
6	2.896901		SMAD2	SMAD family member 2
7	2.757125		CDH5	Cadherin 5
8	2.663976		PSEN1	Presenilin 1
9	2.595321		DSC1	Desmocollin 1
10	2.475208		SMAD3	SMAD family member 3

2.2 ARVC 候选蛋白的功能富集

通过富集分析发现, 大部分已知的致病基因及预测得到的排秩在前 150 的候选基因主要分布在心肌收缩、心脏肌肉组织发育及形态建成、心脏发育这几个生物学过程中。这些基因(如 DSC2、PKP2、DSP、PG 等)与心脏形态的早期构建及心肌收缩等功能密切相关^[28, 29]。

ARVC 种子蛋白及预测得到的新蛋白主要富集在以下几个功能类中(如表 1 所示): cardiac muscle tissue morphogenesis、heart contraction、cardiac muscle tissue development、heart development、heart morphogenesis(P<0.05)。目前普遍认为 ARVC 的典型特点是心肌细胞逐渐被纤维或脂肪所替代, 且有文献证

实这些功能类与心肌细胞的正常发育及 ARVC 的发病机制有密切的关系。

通过富集分析可以发现每个与 ARVC 致病机制相关的 GOTERM 中所富集的蛋白质大部分是我们在初期通过文献挖掘所获得的与疾病相关联的种子蛋白(见表 2), 这些种子蛋白主要包括 TNNT2、MYL2、TNNI3、TPM1、RYR2、PKP2、MYH7、MYBPC3 等, 这些蛋白所行使的功能与 ARVC 的发生与发展进程密切相关, 与种子蛋白富集在相同功能类中的候选蛋白有 SMAD7、SMAD2 等, 它们均与 ARVC 的致病机制有着密切的关系。

表 2 ARVC 疾病相关联的排秩前 150 蛋白质在功能类中的富集情况
Table 2 GO terms enriched in ARVC-related proteins and the top 150 candidates

Rank ^b		Rank ^b		
NO.		1-50	1-100	1-150
GO Term ^a				
Cardiac muscle tissue morphogenesis		9(8)*	9(8)	9(8)
Heart contraction		6(6)	6(6)	6(6)
Cardiac muscle tissue development		9(8)	9(8)	9(8)
Heart development		17(12)	19(12)	20(12)
Heart morphogenesis		10(8)	10(8)	11(8)

注 a 与 ARVC 疾病关联的功能类 b 排秩在前 1 到 150 候选蛋白; * 功能类中所包含的种子蛋白数目。
Note: a the ARVC-related GO Term; b the seed proteins and candidate proteins of top 1-150; * the numbers of seed proteins in the GO Term.

2.3 网络拓扑性质的分析

对网络中蛋白质的度和介数的计算分析发现,整合网络的度分布情况为大部分节点的度较小,符合 power law 法则(如图 1-A)。同时分别对排秩前 50-150 的候选蛋白的度及介数进行研究发现,度和介数与网络中蛋白质的排秩有一定的相关性,

随着秩数的变大,其候选蛋白的度及介数逐渐降低(如图 1-C,1-D)。分别对排秩在前 50,前 100,前 150 的候选蛋白之间的功能相似性(GOSim)进行比较发现,随着秩数的变大,其候选蛋白之间的功能相似性逐渐降低(如图 1-B)。

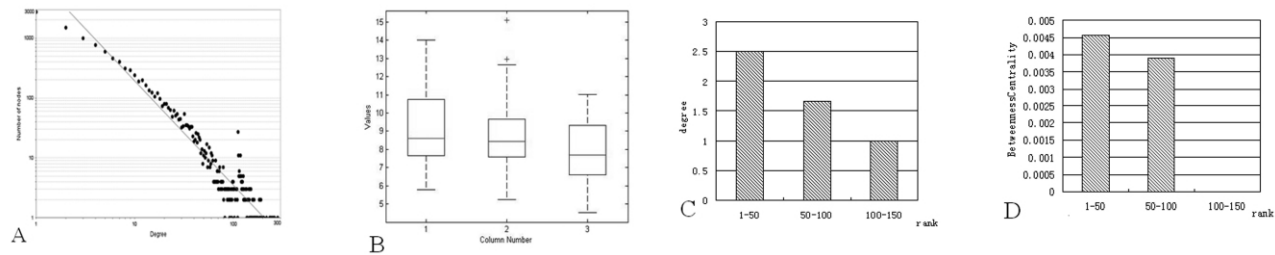


图 1 网络属性分析

Fig. 1 Network properties analysis

3 讨论

本研究利用文本挖掘结合统计学检验筛选 ARVC 相关的种子蛋白。以种子蛋白为核心,用最近邻扩增的方法构建 ARVC-PPIN,并对网络中的蛋白质互作加权,提出 ARVC 疾病关联性打分策略,以此对网络中的每一个蛋白质打分并排秩,分析了前 150 的候选蛋白与疾病的关联性。通过以下几种方法证明了我们方法的有效性。(1)文献证实。通过文献证实排秩在前候选蛋白与疾病关联性更密切。(2)GO 富集分析。通过分析发现种子蛋白及候选蛋白大多富集在疾病相关的功能类中。本方法的优势在于,首先基于文本挖掘及统计学检验获得疾病关联的通路,并从这些通路中获取种子蛋白及其互作蛋白来建立疾病特异性网络,增加了种子蛋白的可信度。其次在以疾病相关的种子蛋白为核心建立的 ARVC-PPIN 中,互作蛋白高特异的与疾病蛋白连接,减少了混杂连接,具有较好的保真度和较高的互作可信度,更易获得与疾病关联的候选蛋白。在加权的 ARVC-PPIN 网络中,采用疾病关联性打分策略,可以衡量网络中蛋白质与疾病关联强弱程度,高分的候选蛋白,与疾病关联程度更为紧密。因此,采用疾病关联性得分策略对网络的种子蛋白及候选蛋白打分并排秩,获得了很多新的可能与 ARVC 疾病密切相关联的候选蛋白。

4 结论

通过以上分析,本研究发现这种基于种子蛋白建立的 ARVC-PPIN 的方法、疾病关联性得分策略的有效性,成功的完成了 ARVC 相关的研究,为发现遗传的风险基因,理解遗传疾病的分子基础起到重要作用。研究人类 ARVC 疾病进程、疾病机制打开了新的研究思路,同时也给其它复杂疾病的研究提供了参考。

参考文献(References)

[1] Awad MM, Calkins H, Judge DP. Mechanisms of disease: molecular genetics of arrhythmogenic right ventricular dysplasia/cardiomyopathy[J]. Nat Clin Pract Cardiovasc Med, 2008, 5(5):258-267
[2] Hindorf LA, Gillanders EM, Manolio TA. Genetic architecture of cancer and other complex diseases: lessons learned and future directions

[J]. Carcinogenesis, 2011, 32(7):945-954
[3] Azaouagh A, Churzidse S, Konorza T, et al. Arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy/dysplasia: a review and update [J]. Clin Res Cardiol, 2011, 100(5):383-394
[4] Han JD, Bertin N, Hao T, et al. Evidence for dynamically organized modularity in the yeast protein-protein interaction network[J]. Nature, 2004, 430(6995):88-93
[5] Sharan R, Ulitsky I, Shamir R. Network-based prediction of protein function[J]. Mol Syst Biol, 2007, 3:88-92
[6] Goh KI, Cusick ME, Valle D, et al. The human disease network[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2007, 104(21):8685-8690
[7] Wang L, Tu Z, Sun F. A network-based integrative approach to prioritize reliable hits from multiple genome-wide RNAi screens in Drosophila[J]. BMC Genomics, 2009, 10:220-226
[8] Chen JY, Shen C, Sivachenko AY. Mining Alzheimer disease relevant proteins from integrated protein interactome data [J]. Pac Symp Biocomput, 2006:367-378
[9] Ozgur A, Vu T, Erkan G, et al. Identifying gene-disease associations using centrality on a literature mined gene-interaction network[J]. Bioinformatics, 2008, 24(13):277-285
[10] Seal RL, Gordon SM, Lush MJ, et al. genenames.org: the HGNC resources in 2011 [J]. Nucleic Acids Res, 2011, 39 (Database issue): D514-519
[11] Keshava Prasad TS, Goel R, Kandasamy K, et al. Human protein reference database--2009 update [J]. Nucleic Acids Res, 2009, 37 (Database issue):D767-772
[12] Lin X, Liu M, Chen XW. Assessing reliability of protein-protein interactions by integrative analysis of data in model organisms[J]. BMC Bioinformatics, 2009, 10(Suppl 4): 5-9
[13] Huang da W, Sherman BT, Lempicki RA. Systematic and integrative analysis of large gene lists using DAVID bioinformatics resources[J]. Nat Protoc, 2009, 4(1):44-57
[14] Dennis G, Sherman BT, Hosack DA, et al. DAVID: Database for annotation, visualization, and integrated discovery [J]. Genome Biol, 2003, 4(5):3
[15] Kooij V, Boontje N, Zaremba R, et al. Protein kinase C alpha and epsilon phosphorylation of troponin and myosin binding protein C re-

- duce Ca^{2+} sensitivity in human myocardium [J]. Basic Res Cardiol, 2010, 105(2):289-300
- [16] Martinez-Estrada OM, Lettice LA, Essafi A, et al. Wt1 is required for cardiovascular progenitor cell formation through transcriptional control of Snail and E-cadherin[J]. Nat Genet, 2010, 42(1):89-93
- [17] Nikolic A, Kojic S, Knezevic S, et al. Structural and functional analysis of SMAD4 gene promoter in malignant pancreatic and colorectal tissues: detection of two novel polymorphic nucleotide repeats [J]. Cancer Epidemiol, 2011, 35(3):265-271
- [18] Lyon CA, Koutsouki E, Aguilera CM, et al. Inhibition of N-cadherin retards smooth muscle cell migration and intimal thickening via induction of apoptosis[J]. J Vasc Surg, 2010, 52(5):1301-1309
- [19] Khan K, Hardy R, Haq A, et al. Desmocollin switching in colorectal cancer[J]. Br J Cancer, 2006, 95(10):1367-1370
- [20] Kaplan SR, Gard JJ, Protonotarios N, et al. Remodeling of myocyte gap junctions in arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy due to a deletion in plakoglobin (Naxos disease)[J]. Heart Rhythm, 2004, 1(1):3-11
- [21] Saffitz JE. Arrhythmogenic cardiomyopathy and abnormalities of cell-to-cell coupling[J]. Heart Rhythm, 2009, 6(8 Suppl):S62-65
- [22] Shvartsman AL, Sarantseva SV, Runova OL, et al. Familial alzheimer's disease mutations in the presenilin 1 gene reduce cell-cell adhesion in transfected fibroblasts[J]. Biofizika, 2010, 55(5):862-867
- [23] Dobaczewski M, Chen W, Frangogiannis NG. Transforming growth factor (TGF)-beta signaling in cardiac remodeling[J]. J Mol Cell Cardiol, 2011, 51(4):600-606
- [24] Cieslik KA, Trial J, Entman ML. Defective myofibroblast formation from mesenchymal stem cells in the aging murine heart rescue by activation of the AMPK pathway [J]. Am J Pathol, 2011, 179 (4): 1792-1806
- [25] d'Amati G, di Gioia CR, Giordano C, et al. Myocyte transdifferentiation: a possible pathogenetic mechanism for arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy [J]. Arch Pathol Lab Med, 2000, 124(2): 287-290
- [26] Bujak M, Ren G, Kweon HJ, et al. Essential role of Smad3 in infarct healing and in the pathogenesis of cardiac remodeling[J]. Circulation, 2007, 116(19):2127-2138
- [27] Dobaczewski M, Bujak M, Li N, et al. Smad3 signaling critically regulates fibroblast phenotype and function in healing myocardial infarction[J]. Circ Res, 2010, 107(3):418-428
- [28] Dokuparti MV, Pamuru PR, Thakkar B, et al. Etiopathogenesis of arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy [J]. J Hum Genet, 2005, 50(8):375-381
- [29] Grossmann KS, Grund C, Huelsken J, et al. Requirement of plakophilin 2 for heart morphogenesis and cardiac junction formation [J]. J Cell Biol, 2004, 167(1):149-160

(上接第 3454 页)

- Zhou Guang-ji, Xu Hai-wei, Qu Ji-fu. Pancreatic development and related genes regulation[J]. Chin J Pancreatol, 2006, 6(5): 303-305
- [16] G.Q. Gu, J.M. Wells, D. Dombkowski, et al. Global expression analysis of gene regulatory pathways during endocrine pancreatic development[J]. Development, 2004, 131: 165-179
- [17] Eleni Roussa, Wolfgang, Nastainczyk. Differential expression of electrogenic NBC1 (SLC4A4) variants in rat kidney and pancreas[J]. Biochemical and Biophysical Research Communications, 2004, 314: 382-389
- [18] David J. Hill, Bertr, Duvillie. Pancreatic development and adult diabetes [J]. International Pediatric Research Foundation, 2000, 48(3): 269-274
- [19] 周国民, 钟翠平. 组织胚胎学 [M]. 上海: 复旦大学出版社, 2005: 158-160
- Zhou Guo-min, Zhong Cui-ping. Histology and Embryology [M]. Shanghai: Fu Dan University Press, 2005: 158-160
- [20] Rona G, Giffard, Marios C. The electrogenic sodium bicarbonate cotransporter: developmental expression in rat brain and possible role in acid vulnerability [J]. The Journal of Neuroscience, 2000, 20 (3): 1001-1008
- [21] Gawenis LR, Bradford EM, Prasad V, et al. Colonic anion secretory defects and metabolic acidosis in mice lacking the NBC1 $\text{Na}^+/\text{HCO}_3^-$ cotransporter[J]. J Biol Chem 2007, 282: 9042-9052