

大鼠胚胎发育期 NBC1 在胰腺的表达与定位

曹丽华¹ 刘莉洁² 程 梅² 德 伟^{2△}

(1 南京市浦口区中心医院内分泌科 江苏 南京 211800 ; 2 南京医科大学生物化学与分子生物学系 江苏 南京 210029)

摘要 目的 探讨碳酸氢钠协同转运载体(NBC1)在大鼠胰腺胚胎发育期不同阶段核酸、蛋白水平的动态变化以及在腺泡和 β 细胞的定位表达。方法 :采用高密度寡核苷酸芯片对孕 12.5 d (E12.5)、E15.5、E18.5、新生和成年胰腺进行基因转录水平分析,用 RT-PCR 和 Western blot 分别验证了 NBC1 核酸和蛋白在 E15.5、E18.5、新生和成年时期胰腺中的表达情况,用 Double fluorescence immunohistochemistry 分析了 NBC1 在 E18.5、新生和成年时期胰腺腺泡和 β 细胞的定位表达。结果 :在大鼠胰腺胚胎发育过程中,NBC1 核酸、蛋白在 E18.5 时特异高表达,新生下降直至成年最低,在腺泡基底侧膜和 β 细胞膜有强烈的阳性信号,且在成年胰腺中 β 细胞膜阳性信号较腺泡基底侧膜强。NBC1 的表达变化与其功能近似基因的表达趋势相反,而与其协同发挥作用的基因及胰腺特异基因的表达趋势一致。结论 :NBC1 在胰腺发育过程中不仅与结构形成而且与功能发挥相关。

关键词 NBC1 ;胰腺发育 ;高密度寡核苷酸芯片 ;免疫定位

中图分类号 :Q95-3, Q78 文献标识码 :A 文章编号 :1673-6273(2012)18-3450-05

Expression and Localization of NBC1 during Rat Embryonic Pancreatic Development

CAO Li-hua¹, LIU Li-jie², CHENG Mei², DE Wei^{2△}

(1 Nanjing Pukou Central Hospital, Nanjing Jiangsu, 211800, China;

2 Biochemistry and Molecular Biology Department, Nanjing Medical University, Nanjing Jiangsu 210029, China)

ABSTRACT Objective: To investigate the differential expression of electrogenic $\text{Na}^+/\text{HCO}_3^-$ cotransporter NBC1 (SLC4A4) and its localization on the acinar and β cells in the rat embryonic pancreas of different developmental stages. **Methods:** The expression patterns of embryonic day 12.5 (E12.5), E15.5, E18.5, newborn and adult rat were detected using the GeneChip RAE 230A. The expression level of NBC1 at embryonic day E15.5, E18.5, newborn and adult rat was detected by RT-PCR and Western blot analysis. The localization of NBC1 on acinar and β cells at E18.5, newborn and adult rat was identified by Double fluorescence immunohistochemistry. **Results:** During rat embryonic pancreas development, the mRNA and protein of NBC1 had its highest expression level at E18.5, then it decreased dramatically at adult rat which had the lowest expression. Strong positive signal of NBC1 protein was observed in the basolateral plasma membrane of acinar cells and the plasma membrane of β cells although positive staining was more weaker at acinar cells and more stronger at β cells in the adult rat. The expression tendency of adult rat specific genes and the genes cooperated with NBC1 were consistent with the expression profile of NBC1. By contrast, the expression level of the gene whose function was similar with that of NBC1 was opposite to the expression pattern of NBC1. **Conclusions:** NBC1 might not only play important roles in pancreatic embryonic development but has some connection with the pancreatic function.

Key words: NBC1(SLC4A4); Pancreatic development; GeneChip; Immunofluorescence

Chinese Library Classification(CLC): Q95-3, Q78 **Document code:** A

Article ID:1673-6273(2012)18-3450-05

前言

NBC1 是碳酸氢盐载体超家族的成员之一,属于膜整合协同转运蛋白。几乎所有组织器官都表达 NBC 家族的某一成员。NBC1 在维持细胞容积、离子转运、介导细胞迁移和调节细胞内外酸碱平衡等生理过程中发挥相应作用^[1-4]。1997 年,第一个 NBC1 被 Romero 从美西螈属动物肾脏首次克隆获得,之后陆续在胰腺、心和眼等克隆得到该载体^[5-7]。本课题组前期研究结果显示 NBC1 在大鼠出生后胰腺重塑旺盛期特异高表达,而在

凋亡旺盛期表达最低,提示 NBC1 可能参与出生后胰腺发育及胰岛结构重塑^[8]。为进一步探讨 NBC1 在胚胎发育期胰腺形成过程中的动态表达及定位,本研究应用基因芯片技术建立大鼠胰腺胚胎发育期的基因表达谱,并以新生和成年为对照,明确胚胎胰腺发育过程中的特异基因及其细胞分化、迁移、黏附和增殖等相关基因的表达趋势,从核酸和蛋白水平验证 NBC1 在大鼠胚胎胰腺发育不同阶段的表达差异,应用免疫荧光双标明确其在胰腺腺泡和 β 细胞的定位表达。

1 材料与方法

1.1 材料

成年 SD 大鼠 45 只,雌 15 只,雄 30 只,均 250 g 左右,由南京医科大学实验动物中心提供。于每日 18:00,将雌雄以 1:2 合

作者简介:曹丽华(1980-),女,硕士,医师,主要研究方向:胰腺发育与糖尿病病因学研究,E-mail: feiran519@126.com

△通讯作者:德伟,教授,E-mail: dewei@njmu.edu.cn

(收稿日期:2011-12-30 接受日期:2012-01-25)

笼,次日检测有阴栓者,定为受精 0.5 d (embryonic day 0.5, E0.5),取 E12.5、E15.5、E18.5 胚胎胰腺以及新生(出生当天)、成年大鼠胰腺。

试验器材 PCR 仪(德国 Eppendorf)、XTL-VI 解剖镜(江西凤凰光学仪器有限公司)、RNA 转录标记试剂盒、大鼠表达谱芯片 RAE230A、芯片杂交炉、扫描仪、数据采集软件和微阵列分析软件(美国 Affymetrix)。试剂:Tripure® 试剂(美国,invitrogen)、RNA 纯化试剂盒(德国,Qiagen)、RT-PCR 试剂盒(日本,Takara)、引物(中国,北京赛百盛基因有限公司)、膜蛋白提取试剂盒(中国,南京凯基生物科技发展有限公司)、兔抗大鼠 NBC1 一抗(ab3208 或 ab3212,1:500;millipore)、小鼠抗大鼠淀粉酶一抗(sc-45667,1:500; Santa Cruz Biotechnology, inc)、小鼠抗大鼠胰岛素一抗(ab6995,1:2000; abcam)、羊抗兔辣根过氧化物酶标志二抗(1858415,1:10000 Pierce)、cy3(红色荧光)标记的驴抗小鼠二抗(AP192C,1:400; Chemicon inc)、FITC(绿色荧光)标记的驴抗兔二抗(AP-182F,1:200,Chemicon, inc);水性封片剂(G0918; Sigma)、Western 细胞裂解液(中国,碧云天生物技术研究)、蛋白酶抑制剂 Cocktail(美国, sigma)。

1.2 方法

1.2.1 胰腺组织分离 取 E15.5、E18.5 母鼠,引颈处死,分离出胚胎,解剖镜下用显微镊子取出胰腺,新生、成年大鼠直接分离出胰腺,成年大鼠 2 月龄左右, PBS 迅速冲洗并在液氮中冷冻^[9]。

1.2.2 RNA 提取及寡核苷酸芯片分析 mRNA 表达 根据 Tripure® 说明提取总 RNA。总 RNA 分装后 -80℃ 冰箱保存。利用 RNA 纯化试剂盒纯化总 RNA。分别取 15 μg E12.5、E15.5、E18.5、新生和成年大鼠胰腺总 RNA 为模板合成双链 cDNA,采用 RNA 转录标记试剂盒体外转录生成生物素标记的 cRNA,再经纯化和片段化处理后,取 30 μg cRNA 与大鼠表达谱芯片 RAE230A 杂交,洗脱后,用链霉亲和素-藻红蛋白进行染色扫描检测信号,对获得的信号在微阵列分析软件上进行数据分析并对样品的表达结果采用线性度量的方法在样品间进行校准。

1.2.3 RT-PCR Genebank 提供 NBC1 基因序列,Primer5.0 设计扩增引物分别用 1 μg 的 E15.5、E18.5、新生和成年大鼠四个时期(每组 6 只)胰腺组织总 RNA 进行反转录:30℃ 10 min, 42℃ 30 min, 95℃ 5 min, 5℃ 5 min, 合成 cDNA。PCR 扩增: NBC1 上游引物 5'-CTA CCT CTT CTC CCA GCA CGA C-3', 下游引物 5'-TGG TTT CTG TTC CCT TGT TCC T -3', 预计扩

增产物 402 bp; 18 s rRNA 为内参照,18 s rRNA 上游引物: 5'-ACG AAC CAG AGC GAA AGC-3',下游引物 5'-GGA CAT CTA AGG GCA TCA CAG-3',预计扩增产物 538 bp。NBC1 的 PCR 条件: 95℃ 2 min, 95℃ 30 s, 53℃ 30 s, 72℃ 1 min, 72℃ 10 min, 29 个循环;18 s rRNA 的 PCR 条件:95℃ 2 min, 95℃ 30 s, 53℃ 30s, 72℃ 1 min, 25 个循环。优化条件后,在指数上升期选取最佳循环数。结果重复 3 次。

1.2.4 Western blot 分别取 E15.5 的胰腺 30 只, E18.5 的胰腺 10 只,新生大鼠胰腺 6 只,成年大鼠 6 只(雌雄各 3 只),收集各时期样本 200~300 mg,冰上剪碎,分别按 1:5(m/v)加蛋白裂解液。裂解液中加入蛋白酶抑制剂 cocktail 按 1:1000(v/v) 然后按试剂盒步骤提取膜蛋白。用 Bradford 法测蛋白浓度,分装后 -80℃ 冻存备用。将上述提取的胰腺发育各时期的膜蛋白,进行 SDS-PAGE 转膜后以兔抗大鼠 NBC1 为一抗,羊抗兔 IgG 为二抗,进行杂交,检测其相对分子质量约 145 KDa。结果重复 3 次。胚胎发育期无固定内参照,所以实验无内参^[10],仅用 Bradford 法定量蛋白。

1.2.5 Double fluorescence immunohistochemistry 四个时期的胰腺经 4%多聚甲醛固定、石蜡包埋后,连续切片,片厚约 5 μm。简要过程:切片常规脱蜡水化,微波抗原修复 25 分钟; 1% 小牛血清封闭非特异性抗原 30 分钟, PBS 漂洗 15 分钟; NBC1 一抗 4℃ 孵育过夜, PBS 漂洗 3 次,每次 15 分钟, FITC 标记二抗 37℃ 孵育 30 分钟, PBS 漂洗 3 次,每次 15 分钟, 淀粉酶或胰岛素一抗 37℃ 孵育 80 分钟, PBS 漂洗 3 次,每次 15 分钟, CY3 标记二抗 37℃ 孵育 30 分钟, PBS 漂洗 3 次,每次 15 分钟,自然风干,脱水透明并封片, 4℃ 孵育过夜待水溶性封片剂干燥后拍片^[11]。E15.5 时没有形成较完整的形态结构^[12],故结果未显示。图像放大 400 倍。

1.3 统计学处理

数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示,各发育阶段之间分析采用方差分析,所有数据经 SPSS10.0 处理, *P<0.05 表示有统计学意义。

2 结果

2.1 NBC1、胰腺特异性基因在大鼠胰腺发育各阶段的表达谱 胰岛素(Insulin 1、Insulin 2)、淀粉酶(Amylase 1、Amylase 2)、NBC1 基因在大鼠胰腺发育不同阶段的表达变化:各基因从 E15.5 开始出现明显高表达, E18.5 时达高峰,新生下降,成年时期胰腺特异基因维持表达量而 NBC1 基因表达未检测到。

表 1 两组其他资料比较情况
Table 1 The comparison of other data in two groups

Gene Name	Probe NO.	E12.5	E15.5	E18.5	Newborn	Adult
Insulin 1	1387815_at	159.3	P	617.7	P	11039.5
Insulin 2	1370077_at	9.6	A	392	P	11182.2
Amylase 1	1375144_at	19.3	A	8497.4	P	16636.6
Amylase 2	1369503_at	0.3	A	4199.8	P	11601.2
Slc4a4	1375823_at	28.3	A	90.8	P	118.9

注 P: present ;A: absent. P: 检测到。A:未检测到。

2.2 NBC1 功能相关基因在大鼠胰腺发育各阶段的表达谱

与细胞迁移黏附相关的基因如基质金属蛋白酶(matrix metalloproteases, MMPs)^[13]、间皮素(mesothelin)^[14]、钠氢交换体(sodium/hydrogen exchanger Slc9a3r2) ;与离子转运、调节细胞内外酸碱平衡和维持细胞容积相关的基因如钠氢交换体(sodium/hydrogen exchanger Slc9a3r2)、钠钙交换体(sodium/calcium

exchanger Slc8a2) ;对 NBC1 进行调节的基因如碳酸酐酶(carbonic anhydrase)、碳酸酐酶(carbonic anhydrase I)。各基因在大鼠胰腺发育不同阶段的表达变化:钠氢交换体在 E15.5 时明显高表达 ,E18.5 时表达最低 ,新生上升 ;其它与 NBC1 协同发挥作用的各基因在 E18.5 时表达量达高峰 ,新生下降直到成年最低。

表 2 NBC1 及相关基因在大鼠胰腺不同发育期的表达变化

Table 2 Expression profile of NBC1 relative genes measured by GeneChip in the development of rat pancreas

Gene Name	Probe NO.	E12.5		E15.5		E18.5		Newborn		Adult	
MMP2	1369825_at	14.2	A	163	P	171.3	P	17.1	P	11.3	A
Mesothelin	1368441_at	18.7	A	220	A	668.7	P	487.1	P	91.1	P
slc9a3r2	1388831_at	44.1	P	130	P	160.7	A	79.2	P	62.3	P
Slc8a2	1387564_at	5.7	A	179	P	181.5	P	16.5	A	11.9	A
CA	1386922_at	257	P	692	P	3603	P	1004	P	3.5	A
CA	1372374_at	12.3	A	357	P	2179	P	1301	P	9.9	A

注 P: present ;A: absent. P: 检测到。A:未检测到。

2.3 NBC1 的 RT-PCR 结果及与芯片结果的比较

RT-PCR 的结果在核酸水平显示了 NBC1 在大鼠胰腺不同发育时期的差异表达 NBC1 在 E18.5 表达量最高 ,成年期最低(图 1A)。取 RT-PCR 三次结果灰度扫描平均值与芯片结果做趋势图比较(图 2B)。E18.5 与 E15.5、新生及成年相比有显著差异(*P<0.05)。

2.4 NBC1 的 Western Blot 结果及与 RT-PCR 结果的比较

Western Blot 的结果在蛋白水平显示了 NBC1 在大鼠胰腺不同发育时期的差异表达 NBC1 在 E18.5 表达量最高 ,成年期最低(图 2A)。分别取 Western Blot 与 RT-PCR 三次结果灰度扫描

描平均值做趋势图比较(图 2B)。E18.5 与 E15.5、新生、成年相比有显著差异(*P<0.05)。

2.5 NBC1 的 Double fluorescence immunohistochemistry 结果

Double fluorescence immunohistochemistry 结果明确了在 E18.5、新生及成年三个时期 NBC1 与腺泡、β 细胞定位关系(图 3 A)。E18.5 时 NBC1 在胰腺各细胞广泛表达 ,且与淀粉酶和胰岛素阳性细胞有大量共表达(图 3 A A-C)。新生期胰腺形态结构已经形成时 ,结果显示 NBC1 表达在腺泡基底侧膜及 β 细胞膜上(图 3 A D-F)。成年期腺泡基底侧膜 NBC1 的阳性信号较弱而 β 细胞膜的阳性信号却较强(图 3 A G-I)。

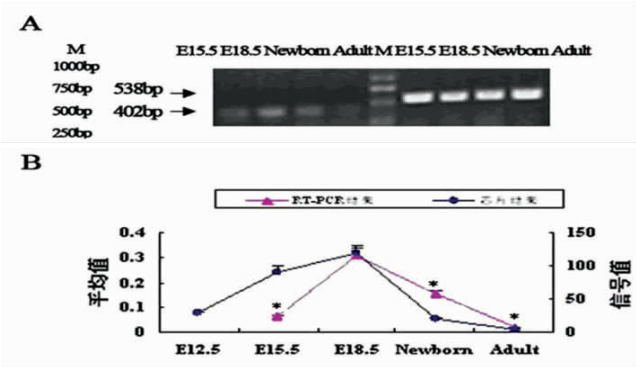


图 1 A: 大鼠胰腺不同发育期的 NBC1 mRNA 扩增产物及相应内参。 B: 用 18S rRNA 标准化后与芯片结果进行趋势分析。 结果有统计学差异(*P<0.05)

Fig.1 A: NBC1 mRNA expression level in pancreas of different developmental stages measured by RT-PCR. B: NBC1 expression profile was normalized by 18S rRNA and analyzed with NBC1 mRNA expression tendency. Values presented are $\bar{x} \pm s$ from three determinations(*P<0.05)

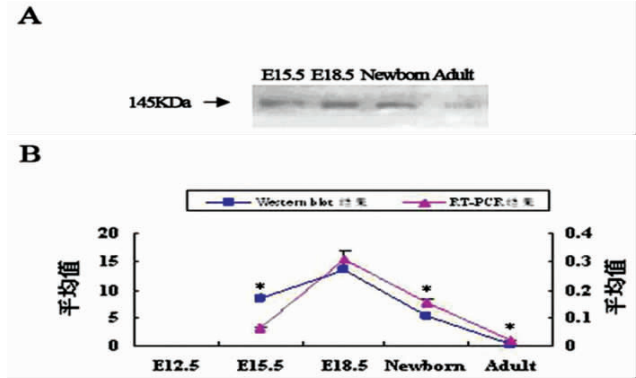


图 2 A:大鼠胰腺不同发育时期的 NBC1 Western Blot 结果。 B: NBC1 Western Blot 与 RT-PCR 趋势分析。结果有统计学差异 (*P<0.05)

Fig.2 A: Western blot analysis of NBC1 in pancreas of different developmental stages. B: The NBC1 mRNA and protein expression profile was analyzed. Values presented are $\bar{x} \pm s$ from three determinations(*P<0.05)

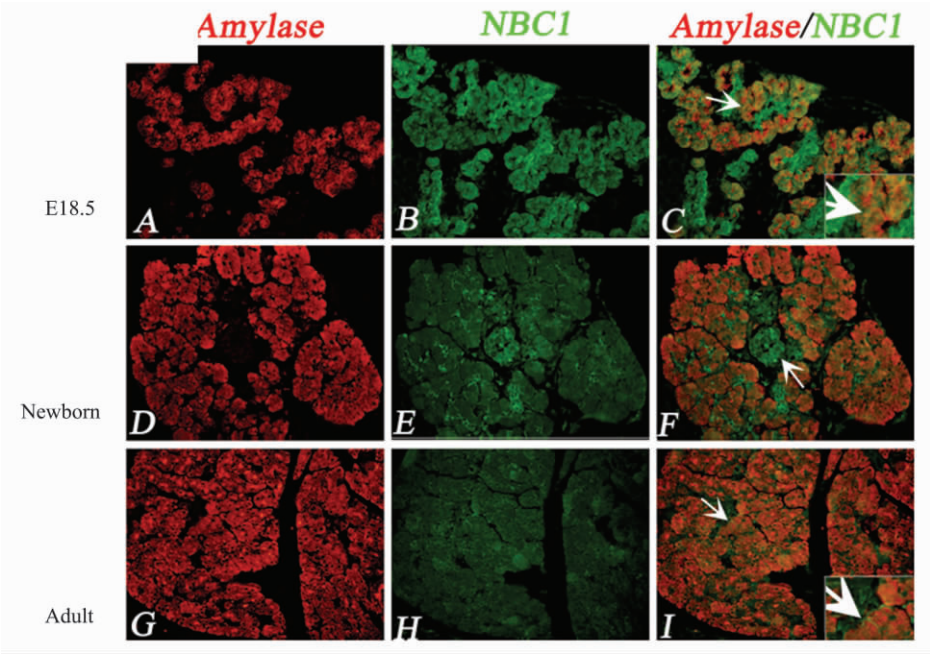


图 3 NBC1(绿)与胰腺淀粉酶(红)在 E18.5、新生和成年大鼠胰腺的免疫荧光共定位。

NBC1 阳性信号出现在胰腺腺泡基底侧膜和胰岛细胞膜。(箭头,放大)

Fig.3 Immunofluorescence localization of the NBC1 and amylase in pancreas of E18.5, newborn and adult rat. Specific NBC1 immunostaining was present at the basolateral side of acinar cells and the plasma membrane of islet cells. (arrow, higher magnifications).

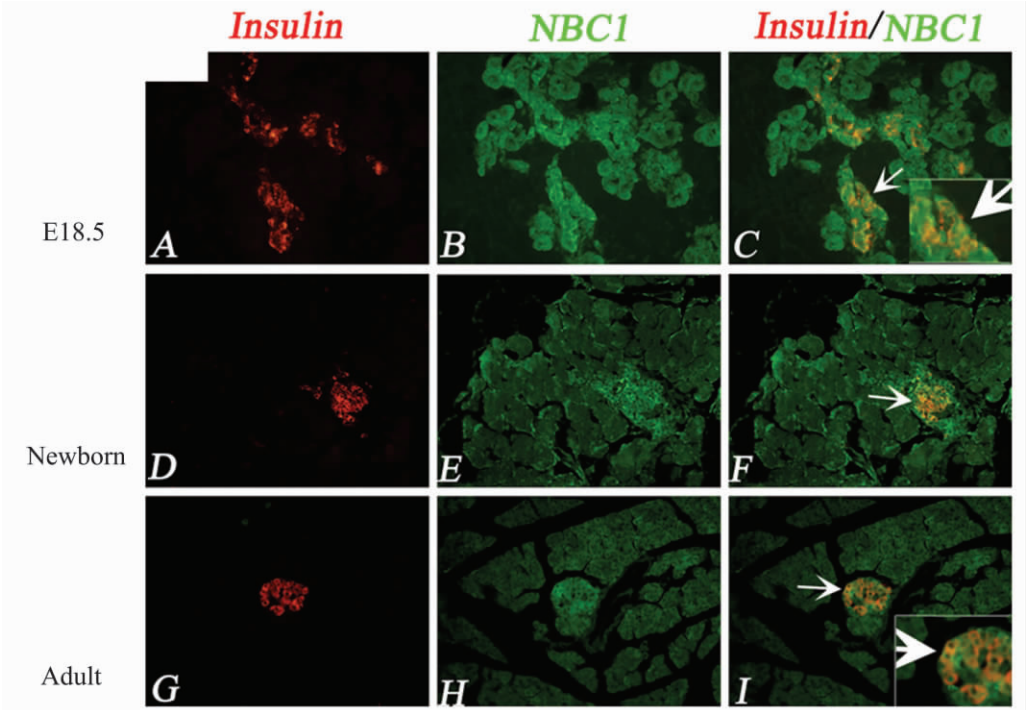


图 4 NBC1(绿)与胰岛素(红)在 E18.5、新生和成年大鼠胰腺的免疫荧光共定位。NBC1 与胰岛素在β 细胞膜共定位)。(箭头,放大)

Fig.4 Immunofluorescence localization of the NBC1 and insulin in pancreas of E18.5, newborn and adult rat. NBC1 and insulin colocalized at the plasma membrane of β cells. (arrow, higher magnification).

3 讨论

大鼠胰腺胚胎发育从形态学上大致分为三个阶段:第一阶段 E8.5 至 E12.5 胚胎胰腺背、腹胰芽形成;第二阶段 E12.5 至 E15.5 胚胎胰腺内、外分泌细胞分化;第三阶段 E15.5 至 E18.5 胰岛及胰腺典型结构初步形成。E15.5 至新生是大鼠胰腺生长

过程中各种内外分泌细胞大量增殖、迁移黏附相互聚集形成典型胰腺结构、功能开始逐步完善的关键时期^[15]。胰腺的胚胎发生和胰岛的形成过程均受到多种基因和分子信号的调节,深入研究这些分子事件在胰腺发生、胰岛分化及胰岛形成过程中的作用,对糖尿病、胰腺癌、胰腺炎等疾病的治疗有重要意义^[16]。本课题组应用芯片技术确立 E12.5、E15.5、E18.5、新生及

成年胰腺的基因表达谱,以新生、成年胰腺作为对照,全景式地展现胰腺在胚胎发育不同阶段基因的表达情况,为确保胰腺取材的准确可靠,应用 RT-PCR 检测各时期样本胰岛素和胰高血糖素 mRNA 的表达。基因芯片结果提示 NBC1 在胚胎发育中后期与胰腺特异性基因表达趋势一致,即 E15.5 出现明显高表达, E18.5 时达高峰,新生下降。成年期大鼠在胰腺中未检测到 NBC1,而胰腺特异性基因维持表达量并发挥功能,这种与成年期相反的表达恰好佐证了 NBC1 对中长期胚胎胰腺的发育起重要作用。NBC1 功能相关基因在大鼠胚胎胰腺发育各阶段的表达谱显示协同 NBC1 发挥作用的各基因与 NBC1 基因表达趋势高度一致,但钠氢交换体这一功能和 NBC1 极其相似的基因在 E18.5 表达最低,这一现象从另一个侧面佐证了在大鼠胰腺胚胎发育中后期可能是 NBC1 协同其他蛋白主要发挥了离子转运、调节细胞内外酸碱平衡、维持细胞容积和介导细胞迁移等功能。为验证 NBC1 在芯片中的表达变化,提取各期总 mRNA 用 RT-PCR 检测 NBC1 在不同发育时期核酸表达情况并与芯片结果进行趋势对比,结果显示两者表达趋势基本一致。用 Western Blot 检测了 NBC1 在不同发育时期的蛋白表达,同时和 RT-PCR 结果做趋势对比,发现 NBC1 蛋白和核酸表达趋势基本一致,其中成年期核酸和蛋白的结果与文献报道相一致^[17]。由此推断在 E18.5 高表达的 NBC1 核酸可能正确翻译为相应的功能蛋白,发挥相应作用。

生物化学和结构研究已经表明胚胎发育中后期是胰腺器官形成的关键阶段,尤其在 E15.5 至新生这段时期内外分泌细胞大量增殖生长、迁移黏附形成成熟胰腺结构,而且可以检测到大量的胰腺标志性分泌物——淀粉酶和胰岛素^[7,18]。功能蛋白作用的发挥与其定位密切相关,因此采用 Double fluorescence immunohistochemistry 明确 NBC1 在大鼠胰腺胚胎发育 E18.5 的腺泡和 β 细胞的定位,同时以新生及成年做对照。结果显示 E18.5 时 NBC1 在胰腺细胞广泛表达,与淀粉酶和胰岛素阳性细胞有大量共表达,之后在腺泡基底侧膜的表达信号渐渐变弱,成年最低,相反在胰岛 β 细胞膜的阳性信号却增强,提示 NBC1 不仅在胰腺结构形成过程和功能完善中发挥重要作用而且与成年后胰腺功能发挥相关。然而核酸和蛋白结果提示 NBC1 的表达在 E18.5 最多,新生下降到成年最低,可能由于胰腺不断发育,腺泡占胰腺总体积比例逐渐增多而胰岛却减少,到成年时期胰岛仅占胰腺总体积的 1.5% 左右^[19],这也可能是表 1 中芯片结果未检测到 NBC1 在成年时期表达的原因。

4 结论

本研究应用基因芯片技术检测在大鼠胰腺胚胎发育过程中, NBC1 及协同作用的各基因表达高峰出现在胰腺特异性基因旺盛增殖、典型结构形成和功能完善的关键阶段,即 E12.5 至新生这一特殊阶段。RT-PCR 和 Western blot 的结果在核酸和蛋白水平上验证了 NBC1 在 E18.5 时的特异高表达及其在不同发育期的动态变化。Double fluorescence immunohistochemistry 明确了 NBC1 在胰腺胚胎发育后期直至成年的腺泡和 β 细胞膜的定位,这些结果均提示 NBC1 可能参与中后期胚胎胰腺发育,在该时期发挥重要作用,而且在成年后可能与胰腺功能发挥相关。已有研究表明 NBC1 在大鼠胚胎脑发育晚期

协同各离子载体起调节酸碱平衡、转运电解质等重要作用^[20]。而在成年小鼠结肠,如果缺失 NBC1 易致代谢性酸中毒^[21]。本研究通过明确 NBC1 在胰腺胚胎发育过程中的表达及定位,希望能给揭示胰腺发育的基本规律及对胰腺相关疾病的认识和治疗提供一些实验室依据。

参考文献(References)

- [1] J. R. Taylor, E. M. Mager, M. Grosell. Basolateral NBCe1 plays a rate-limiting role in transepithelial intestinal HCO_3^- secretion, contributing to marine fish osmoregulation[J]. The Journal of Experimental Biology, 2010, 213: 459-468
- [2] Guixian Wang, Soo Wan Kim, Troels Ring, et al. Ureter obstruction alters expression of renal acid-base transport proteins in rat kidney[J]. Am J Physiol Renal Physiol, 2008, 295: F497-F506
- [3] Schwab, H. Rossmann, M. Klein. Functional role of $\text{Na}^+/\text{HCO}_3^-$ co-transport in migration of transformed renal epithelial cells[J]. J Physiol, 2005, 568: 445-458
- [4] Michael F Romero. The electrogenic $\text{Na}^+/\text{HCO}_3^-$ cotransporter[J]. JOP. J. Pancreas, 2001, 2 (4 Suppl): 182-191
- [5] Romero MF, Hediger MA, Boupaep EL, et al. Expression cloning and characterization of a renal electrogenic $\text{Na}^+/\text{HCO}_3^-$ cotransporter[J]. Nature, 1997, 387: 409-413
- [6] B.H. Min, S.Y. Jeong, S.W. Kang, et al. Transient expression of clusterin (sulfated glycoprotein-2) during development of rat pancreas[J]. Journal of Endocrinology, 1998, 158: 43-52
- [7] Dean Bok, Matthew J. Schibler, et al. Immunolocalization of electrogenic sodium-bicarbonate cotransporters pNBC1 and kNBC1 in the rat eye[J]. Am J Physiol Renal Physiol, 2001, 281: F920-F935
- [8] 曹丽华, 石慧, 侯良芹, 等. NBC1 在大鼠生后胰腺发育中的表达[J]. 现代生物医学进展, 2008, 4: 616-618
Cao Li-hua, Shi Hui, Hou Liang-qin, et al. Expression of NBC1 during rat pancreas postnatal development [J]. Progress in Modern Biomedicine, 2008, 4: 616-618
- [9] 倪雪峰, 袁栋, 程志祥, 等. 巢蛋白在大鼠胚胎、新生及成年胰腺中的表达变化[J]. 第四军医大学学报, 2004, 25(3): 193-196
Ni Xue-feng, Yuan Li, Cheng Zhi-xiang, et al. Expression and location of nestin in pancreas of E18.5, newborn and adult rats [J]. J Fourth Med Univ, 2004, 25(3): 193-196
- [10] Nina Kaur Yashpal, Jinming Li, Michael B. Wheeler, et al. Expression of $\beta 1$ integrin receptors during rat pancreas development-Sites and Dynamics[J]. Endocrinology, 2005, 146: 1798-1807
- [11] Lijie Liu, Jing Guo, Wei De, et al. Alpha-fetoprotein is dynamically expressed in rat pancreas during development [J]. Develop. Growth Differ, 2007, 49: 669-681
- [12] Perez S E, Cano D A, Dao-Pick T, et al. Matrix metalloproteinases 2 and 9 are dispensable for pancreatic islet formation and function in vivo[J]. Diabetes, 2005, 54(3): 694-701
- [13] Rump A, Morikawa Y. Binding of ovarian cancer antigen CA125/MUC16 to mesothelin mediates cell adhesion[J]. J Biol Chem, 2004, 279 (10): 9190-9198
- [14] J. M. W. Slack. Developmental biology of the pancreas [J]. Development, 1995, 121: 1569-1580
- [15] 周光纪, 徐海伟, 屈纪富. 胰腺的发育及其相关基因调控 [J]. 胰腺病学, 2006, 6(5): 303-305

(下转第 3429 页)

- 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