

DOI: 10.16781/j.0258-879x.2019.03.0316

· 论 著 ·

骨桥蛋白通过 PI3K/Akt 信号通路激活胰腺星形细胞

安 薇, 施新岗, 朱建伟, 李桂香, 孙 畅*

海军军医大学(第二军医大学)长海医院消化内科, 上海 200433

[摘要] **目的** 探讨骨桥蛋白(OPN)对胰腺星形细胞(PSC)的影响及其机制。**方法** 构建 OPN 慢病毒过表达载体(OPN-O/E)并转染 PSC, 设置空载体转染细胞作为对照组。分别采用 CCK-8 实验和 Transwell 小室检测 OPN-O/E 转染及 OPN-O/E 转染联合 Akt 抑制剂 LY294002 (10 $\mu\text{mol/L}$ 、50 $\mu\text{mol/L}$) 处理后 PSC 增殖活性和趋化活性, 采用蛋白质印迹法检测 α -平滑肌肌动蛋白(α -SMA)及 PI3K/Akt 信号通路相关蛋白的表达。**结果** OPN-O/E 转染上调 OPN 表达后, PSC 增殖活性增高、趋化活性增高, 细胞中磷酸化 PI3K (p-PI3K)、磷酸化 Akt (p-Akt) 和 α -SMA 表达水平均增高, 与对照组比较差异均有统计学意义 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$); 细胞中 PI3K 和 Akt 表达水平与对照组相比差异均无统计学意义 (P 均 > 0.05)。使用 10 $\mu\text{mol/L}$ 或 50 $\mu\text{mol/L}$ Akt 抑制剂 LY294002 干预后, 细胞中 α -SMA 及 p-Akt 的表达被抑制, 与 OPN-O/E 组相比差异均有统计学意义 (P 均 < 0.01), Akt 的表达无明显变化。**结论** OPN 通过 PI3K/Akt 信号通路介导 PSC 活化, 活化后 PSC 的增殖及趋化活性也增强。

[关键词] 骨桥蛋白; 胰腺星形细胞; PI3K/Akt 信号通路; α -平滑肌肌动蛋白**[中图分类号]** R 576.2 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 0258-879X(2019)03-0316-05

Osteopontin activates pancreatic stellate cells through PI3K/Akt signaling pathway

AN Wei, SHI Xin-gang, ZHU Jian-wei, LI Gui-xiang, SUN Chang*

Department of Gastroenterology, Changhai Hospital, Naval Medical University (Second Military Medical University), Shanghai 200433, China

[Abstract] **Objective** To explore the effect of osteopontin (OPN) on pancreatic stellate cell (PSC) and its mechanisms. **Methods** We transfected PSC with OPN lentiviral overexpression vector (OPN-O/E) and constructed empty vector control cells (control group). After PSCs were treated with OPN-O/E or OPN-O/E in combination with Akt inhibitor LY294002 (10 $\mu\text{mol/L}$ and 50 $\mu\text{mol/L}$), the proliferation ability and chemotactic activity were detected by CCK-8 and Transwell assays, respectively. The expression levels of α -smooth muscle actin (α -SMA) and related proteins of PI3K/Akt signal pathway were determined by Western blotting. **Results** Compared with the control group, proliferation ability and chemotactic activity of PCS were significantly increased in the OPN-O/E group, and the expression levels of phosphorylated-PI3K (p-PI3K), phosphorylated-Akt (p-Akt) and α -SMA were also significantly increased ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). There were no significant differences in the expression levels of PI3K or Akt between the OPN-O/E and control groups (both $P > 0.05$). Compared with the OPN-O/E group, the expression levels of α -SMA and p-Akt were significantly inhibited in the PCS treated with 10 $\mu\text{mol/L}$ or 50 $\mu\text{mol/L}$ LY294002 (all $P < 0.01$); however, there was no significant difference in the Akt expression. **Conclusion** OPN can activate PSC through the PI3K/Akt signaling pathway, and the proliferation ability and chemotactic activity of activated PSC are also increased.

[Key words] osteopontin; pancreatic stellate cells; PI3K/Akt signaling pathway; α -smooth muscle actin

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2019, 40(3): 316-320]

慢性胰腺炎 (chronic pancreatitis, CP) 是一种慢性不可逆性疾病, 以胰腺实质破坏、炎症细

胞浸润及广泛纤维化为主要特征, 最终引起胰腺内分泌和外分泌功能不足, 严重影响患者的生命

[收稿日期] 2018-09-16 **[接受日期]** 2019-01-09**[基金项目]** 国家自然科学基金(81400669, 81470885), 上海市卫生和计划生育委员会科研课题(20144Y0255), 第二军医大学青年启动基金(2013QN13)。Supported by National Natural Science Foundation of China (81400669, 81470885), Scientific Research Project of Shanghai Municipal Commission of Health and Family Planning (20144Y0255), and Youth Initial Research Fund of Second Military Medical University (2013QN13)。**[作者简介]** 安 薇, 博士, 讲师、主治医师。E-mail: anweisusan@163.com

*通信作者(Corresponding author). Tel: 021-31161345, E-mail: sunchang8211@163.com

质量^[1]。胰腺星形细胞 (pancreatic stellate cell, PSC) 的发现及其分离培养方法的建立, 在很大程度上推动了胰腺纤维化的研究进展^[2]。骨桥蛋白 (osteopontin, OPN) 也被称为分泌型酸蛋白 1, 广泛表达于人体平滑肌细胞、内皮细胞及骨组织细胞等, 参与骨组织矿化与重建。在炎症、肿瘤、免疫性疾病及纤维化疾病等病理状态下, OPN 出现异常表达^[3-6]; 研究还发现 OPN 在心肌纤维化、肾间质纤维化及肝硬化中扮演重要角色^[7-9]。OPN 能激活肝星形细胞, 使其过表达 α -平滑肌肌动蛋白 (α -smooth muscle actin, α -SMA) 及 I 型胶原蛋白 (collagen protein I, col I), 并促进肝星形细胞的增殖、迁移及趋化活性, 基因剔除 OPN 表达可减轻四氯化碳、硫代乙酰胺所致的慢性肝损伤及肝纤维化程度^[9]。2002 年 Nakamura 等^[10]发现 OPN 在大多数 CP 患者胰腺组织中表达, 特别是有钙化或结石的患者, 推测 OPN 与 CP 患者发生钙化或结石密切相关。本课题组前期在大鼠 CP 模型中发现 OPN 在纤维化的胰腺组织中过表达, 并与胰腺纤维化程度呈正相关^[11]。本研究旨在探讨 OPN 对 PSC 的影响及其可能的机制。

1 材料和方法

1.1 OPN 慢病毒过表达载体 (OPN-O/E) 的构建与验证 靶向 OPN 的慢病毒过表达载体引物序列: 上游引物 5'-ACT GTC GGG ATC AAC ATG AGA ATT GCA GTG ATT TG-3', 下游引物 5'-AAC CAC TTT GTA CAA TTA ATT GAC CTC AGA AGA TG-3'; OPN-O/E 购自上海亚载生物科技有限公司。构建步骤简述如下: 通过软件设计 OPN-O/E 引物; 以 PCR 法获取 OPN 过表达片段; 然后进行载体酶切, 载体为 pLX304-Blast-V5 载体, 内切酶为 *Sac* I 和 *Nhe* I; 酶切载体胶回收, 采用 LIC 连接酶方法连接载体与片段; 挑取重组阳性克隆行 PCR 及测序鉴定; OPN-O/E 慢病毒质粒用 Lipofectamine 2000 (美国 Invitrogen Life Technologies 公司) 转染 293T 细胞 (上海亚载生物科技有限公司), 转染 72 h 后收集培养液上清过滤浓缩; 最后测定浓缩液病毒的滴度。阴性对照 (OPN-control) 也采用同样的方法构建。PSC 为 HPaSteC 细胞系, 购自美国 Sciencell 公司, 由海军军医大学 (第二军医大学) 长海医院消化内科实验室保存, 常规培养、传代。取对数生长期

的 PSC, 以每瓶 1.5×10^5 个细胞接种于细胞培养瓶中, 培养 24 h 后分为 OPN-O/E 组及对照组。在培养液中加入病毒原液 (感染复数为 50) 及聚凝胺 ($8 \mu\text{g/mL}$ 左右, 上海亚载生物科技有限公司), 轻轻混匀后加入对应细胞培养瓶中, 24 h 后更换完全培养液; 转染 48 h 后观察荧光表达, 并收集细胞提取 RNA 进行验证。用 TRIzol 试剂 (美国 Invitrogen Life Technologies 公司) 提取总 RNA, 采用反转录试剂盒 (美国 Fermentas 公司) 反转录获得 cDNA, 应用实时荧光定量 PCR 法检测 OPN-O/E 组及对照组 OPN mRNA 水平。引物序列由上海亚载生物科技有限公司合成, OPN 上游引物: 5'-GAA GTT TCG CAG ACC TGA CAT-3', 下游引物: 5'-GTA TGC ACC ATT CAA CTC CTCG-3'; GAPDH (内参照) 上游引物: 5'-GGA GCG AGA TCC CTC CAA AAT-3', 下游引物: 5'-GGC TGT TGT CAT ACT TCT CAT GG-3'。PCR 反应条件: 95°C 3 min, 95°C 7 s, 57°C 10 s, 72°C 15 s 45 个循环。经仪器自带软件获取 Ct 值, 以对照组表达量为 1, 通过公式 $2^{-\Delta\text{Ct}}$ 计算 OPN mRNA 的相对表达量。

1.2 细胞增殖活性检测 采用 CCK-8 试剂盒 (美国 BBI Life Sciences 公司) 进行。用多聚赖氨酸 (美国 Sciencell 公司) 处理 96 孔板, 将 PSC 铺进 96 孔板内, 每孔约 3 000 个细胞, 次日进行慢病毒转染, 转染 48 h 后更换培养液, 同时在 OPN-O/E 组及对照组每孔加入 $10 \mu\text{L}$ CCK-8 试剂, 在 37°C 细胞培养箱中避光孵育 1 h, 用酶标仪检测各组 450 nm 波长处的光密度值。

1.3 细胞趋化活性检测 用多聚赖氨酸处理 Transwell 小室 (美国 Corning 公司, 货号 354480)。将 OPN-O/E 组及对照组细胞消化, 离心去上清后加入无血清培养液重悬, 将细胞密度调至 $1 \times 10^6/\text{mL}$, 取 $200 \mu\text{L}$ 细胞悬液加入小室上层, 下层加入完全培养液, 放回培养箱。24 h 后取出小室, 用 PBS 清洗后加入 4% 甲醛固定 30 min, 用结晶紫染色 30 min, 磷酸盐缓冲液清洗后用棉签擦除上室内多余的细胞, 随机选 5 个 100 倍视野拍照计数。

1.4 蛋白质印迹法检测 收集细胞加入裂解液及蛋白酶抑制剂, 提取总蛋白, 用 BCA 法测定蛋白质浓度 (BCA 试剂盒购于上海碧云天公司)。取 $50 \mu\text{g}$ 蛋白行常规蛋白质印迹分析, 最后用 ECL 化学发光法显影 (ECL 显影液购于美国 Millipore 公

司),采用 ImageJ 软件计算灰度值,以各组目的蛋白与 Tubulin (内参照)灰度值的比值作为目的蛋白的相对表达量。独立实验重复 3 次。OPN 抗体(稀释比例为 1:1 000)、 α -SMA 抗体(1:300)均购自英国 Abcam 公司, Tubulin 抗体(1:5000)购自上海亚载生物科技有限公司、PI3KC 抗体(1:1 000)、p-PI3KC 抗体(1:1 000)、Akt 抗体(1:1 000)、p-Akt 抗体(1:1 000)均购自美国 CST 公司,辣根过氧化物酶标记二抗(1:5 000)购自英国 Abcam 公司, Akt 抑制剂 LY294002 (10 μ mol/L、50 μ mol/L)购自美国 CST 公司。

1.5 统计学处理 采用 SPSS 18.0 软件进行数据处理。呈正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组间比较采用两独立样本 t 检验。检验水准 (α) 为 0.05。

2 结果

2.1 OPN-O/E 转染效果的验证 用慢病毒质粒转染 PSC 48 h 后,对照组细胞贴壁呈条索状,而 OPN-O/E 组细胞逐渐呈多角形及星形(图 1),但两组之间荧光表达率差异并无统计学意义 [(78.57 \pm 2.87)% vs (77.77 \pm 1.84)%, $t=0.41$, $P=0.705$]。实时荧光定量 PCR 结果显示 OPN-O/E 组 *OPN* mRNA 的相对表达量为 2.08 \pm 0.18,与对照组(1.00 \pm 0.10)相比差异有统计学意义 ($t=-9.07$, $P=0.001$),证实所构建的慢病毒载体能有效上调 *OPN* 的表达。

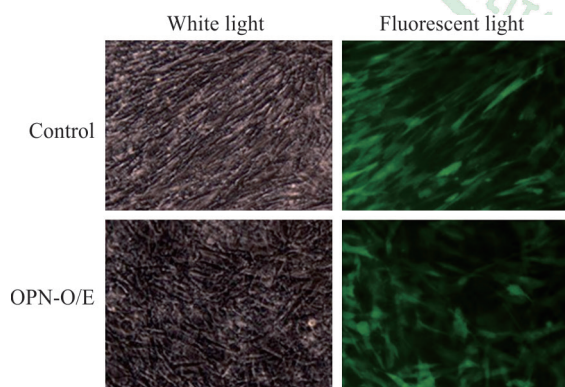


图 1 *OPN* 慢病毒过表达载体 (OPN-O/E) 转染 PSC 48 h 后白光及荧光显微镜下的表现

Fig 1 PSC transfected with *OPN* lentiviral overexpression vector (OPN-O/E) under white light and fluorescence microscope

OPN: Osteopontin; PSC: Pancreatic stellate cell. Original magnification: $\times 200$

2.2 *OPN* 过表达对 PSC 增殖活性、趋化活性的影响 采用 CCK-8 实验检测细胞增殖活性,结

果显示上调 *OPN* 表达后 PSC 增殖活性增加, OPN-O/E 组与对照组的光密度值分别为 1.04 \pm 0.03 与 0.59 \pm 0.04, 两组差异有统计学意义 ($t=-17.78$, $P<0.01$)。上调 *OPN* 表达后 PSC 趋化活性也增加(图 2), OPN-O/E 组和对照组穿过小室的细胞数分别为 960.00 \pm 76.47、589.33 \pm 88.79, 两组差异有统计学意义 ($t=-4.79$, $P=0.017$)。

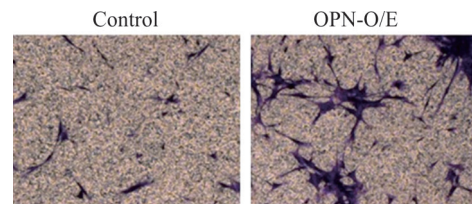


图 2 骨桥蛋白过表达对 PSC 趋化活性的影响

Fig 2 Effect of osteopontin overexpression on chemotactic activity of PSC

PSC: Pancreatic stellate cell; OPN-O/E: Osteopontin lentivirus overexpression vector. Original magnification: $\times 200$

2.3 上调 *OPN* 表达对 PSC 活性及 PI3K/Akt 信号通路的影响 OPN-O/E 组 *OPN* 蛋白的相对表达量较对照组增加 (4.42 \pm 0.15 vs 1.54 \pm 0.13, $t=-25.45$, $P<0.01$)。OPN-O/E 组 α -SMA 蛋白的相对表达量高于对照组 (4.35 \pm 0.26 vs 1.21 \pm 0.10, $t=-19.46$, $P<0.01$), 提示上调 *OPN* 表达可诱导 PSC 转为活化状态。上调 *OPN* 表达后 p-PI3K 及 p-Akt 蛋白的相对表达量也较对照组增加 (2.00 \pm 0.26 vs 1.12 \pm 0.36, $t=-3.43$, $P=0.027$; 1.47 \pm 0.11 vs 0.52 \pm 0.04, $t=-14.60$, $P<0.01$); 而上调 *OPN* 表达后 PI3K 与 Akt 蛋白的相对表达量与对照组相比无明显改变 (3.85 \pm 0.27 vs 3.75 \pm 0.41, $t=-0.37$, $P=0.727$; 1.20 \pm 0.08 vs 1.23 \pm 0.06, $t=0.46$, $P=0.667$)。见图 3。

2.4 Akt 抑制剂对 *OPN* 过表达介导的 PSC 活化的影响 转染 OPN-O/E 48 h 后加入不同浓度的 Akt 抑制剂 LY294002, 以加入等体积的磷酸盐缓冲液为对照, 处理 1 h 后检测 α -SMA、p-Akt 及 Akt 蛋白的表达。蛋白质印迹法结果(图 4, 表 1)显示, 无论 LY294002 的浓度是 10 μ mol/L 还是 50 μ mol/L 均可有效抑制 α -SMA 及 p-Akt 蛋白的表达, 与 OPN-O/E 组相比差异均有统计学意义 (α -SMA: $t=19.90$ 、45.06, P 均 <0.01 ; p-Akt: $t=16.81$ 、22.08, P 均 <0.01); 而 Akt 蛋白的表达则无明显变化 ($t=-0.90$ 、 -0.35 , P 均 >0.05)。

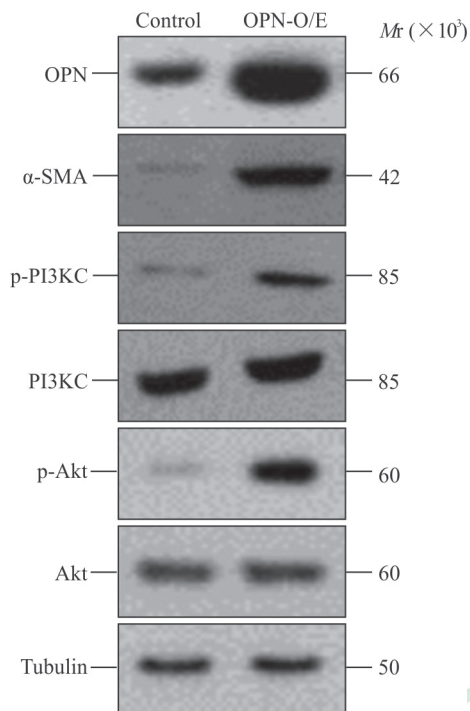


图 3 上调 OPN 表达对 PSC α-SMA 及 PI3K/Akt 信号通路相关蛋白表达的影响

Fig 3 Effect of OPN up-regulation on expression of α-SMA and PI3K/Akt pathway-related proteins in PSC

Western blotting results. OPN: Osteopontin; PSC: Pancreatic stellate cell; α-SMA: α-Smooth muscle actin; OPN-O/E: Osteopontin lentivirus overexpression vector; p-PI3KC: Phosphorylated-PI3KC; p-Akt: Phosphorylated-Akt

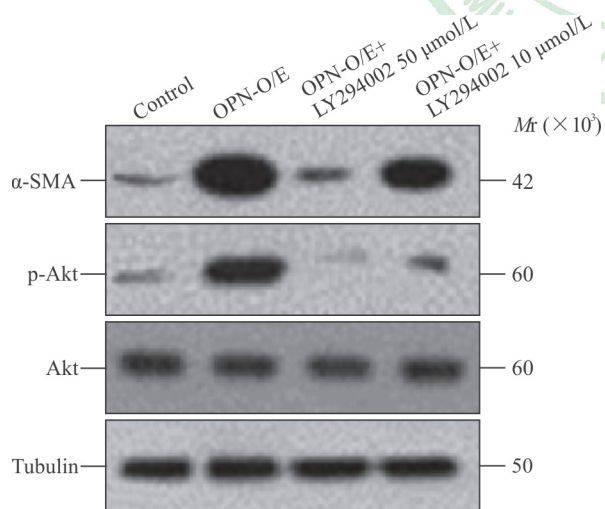


图 4 Akt 抑制剂 LY294002 对 OPN 过表达 PSC 中 α-SMA、p-Akt 及 Akt 蛋白表达的影响

Fig 4 Effect of Akt inhibitor LY294002 on expression of α-SMA, p-Akt and Akt in OPN overexpression-PSC

Western blotting results. OPN: Osteopontin; PSC: Pancreatic stellate cell; α-SMA: α-Smooth muscle actin; p-Akt: Phosphorylated-Akt; OPN-O/E: Osteopontin lentivirus overexpression vector

表 1 Akt 抑制剂 LY294002 处理后 PSC 中 α-SMA、p-Akt 及 Akt 蛋白的相对表达量

Tab 1 Relative expression of α-SMA, p-Akt and Akt in PSC treated with Akt inhibitor LY294002

n = 3, $\bar{x} \pm s$

Group	α-SMA	p-Akt	Akt
OPN-O/E	4.52 ± 0.15	2.29 ± 0.09	1.25 ± 0.02
OPN-O/E+ LY294002 10 μmol/L	2.77 ± 0.04**	0.98 ± 0.10**	1.25 ± 0.03
OPN-O/E+ LY294002 50 μmol/L	0.66 ± 0.01**	0.50 ± 0.11**	1.26 ± 0.02

PSC: Pancreatic stellate cell; α-SMA: α-Smooth muscle actin; p-Akt: Phosphorylated-Akt; OPN-O/E: Osteopontin lentivirus overexpression vector. ***P* < 0.01 vs OPN-O/E group

3 讨论

OPN 是一种分泌型糖蛋白, 作为细胞因子及细胞外基质蛋白其参与了组织重建、骨重建、炎症渗出及肿瘤转移等生理及病理过程^[6]。研究发现, OPN 在瘢痕及纤维化组织 (如肾纤维化组织、肝纤维组织、肺纤维化组织等) 过表达, 且与机体的促纤维化作用密切相关^[10,12-13]。有关 OPN 在 CP 的胰腺纤维化中的作用研究甚少, Rychlíková 等^[13]发现 CP 患者 OPN 的浓度高于 2 型糖尿病患者及正常人, 特别在伴有钙化和结石的患者中。PSC 与肝星形细胞同源, 主要位于胰腺腺泡、导管及血管周围, 静止状态时呈条索状或纺锤状, 细胞质富含维生素 A 脂滴, 一旦被激活其形态向多角形或星形转变, 维生素 A 脂滴消失, 取而代之表达特异性标志物 α-SMA, 增殖、迁移活性等也明显提高, 释放多种细胞因子及生长因子, 合成大量细胞外基质成分, 最终导致胰腺纤维化^[14]。本实验结果显示, 上调 OPN 不仅可以激活 PSC 表达 α-SMA, 而且促进其增殖及趋化活性, 进一步证实 OPN 可以通过激活 PSC 参与胰腺纤维化的形成。PI3K/Akt 信号通路是参与 PSC 活化的重要通路之一, 在血小板源性生长因子、乙醇、乙醛等公认的 PSC 激动剂激活 PSC 的过程中 PI3K/Akt 信号通路均起主要作用。PI3K/Akt 信号通路还参与了 OPN 下游的重要作用机制。有研究表明 OPN 通过激活 PI3K/Akt 信号通路促进瘦素介导的肝纤维化^[15]、上调血管生长因子表达^[16]及促进肿瘤新生血管的形成^[17]。本实验结果显示, 上调 OPN 表达后 PI3K/Akt 信号通路中 p-PI3K 及 p-Akt 的表达增加, 给予 10 μmol/L 或 50 μmol/L Akt 特异性抑制剂

LY294002 处理后,上调 *OPN* 表达引起的 α -SMA 及 p-Akt 过表达被抑制,表明 *OPN* 可以通过激活 PI3K/Akt 信号通路介导 PSC 的活化。综上,我们认为 *OPN* 通过激活 PI3K/Akt 信号通路介导 PSC 活化,进而参与了胰腺纤维化。

[参 考 文 献]

- [1] LEW D, AFGHANI E, PANDOL S. Chronic pancreatitis: current status and challenges for prevention and treatment[J]. *Dig Dis Sci*, 2017, 62: 1702-1712.
- [2] BACHEM M G, SCHNEIDER E, GROSS H, WEIDENBACH H, SCHMID R M, MENKE A, et al. Identification, culture, and characterization of pancreatic stellate cells in rats and humans[J]. *Gastroenterology*, 1998, 115: 421-432.
- [3] UCHIBORI T, MATSUDA K, SHIMODAIRA T, SUGANO M, UEHARA T, HONDA T. IL-6 trans-signaling is another pathway to upregulate osteopontin[J]. *Cytokine*, 2017, 90: 88-95.
- [4] ZHANG H, GUO M, CHEN J H, WANG Z, DU X F, LIU P X, et al. Osteopontin knockdown inhibits α_v , β_3 integrin-induced cell migration and invasion and promotes apoptosis of breast cancer cells by inducing autophagy and inactivating the PI3K/Akt/mTOR pathway[J]. *Cell Physiol Biochem*, 2014, 33: 991-1002.
- [5] DIANZANI C, BELLAVISTA E, LIEPE J, VERDERIO C, MARTUCCI M, SANTORO A, et al. Extracellular proteasome-osteopontin circuit regulates cell migration with implications in multiple sclerosis[J/OL]. *Sci Rep*, 2017, 7: 43718. doi: 10.1038/srep43718.
- [6] DONG B, PANG T T. LncRNA H19 contributes to Rh2-mediated MC3T3-E1 cell proliferation by regulation of osteopontin[J]. *Cell Mol Biol (Noisy-le-grand)*, 2017, 63: 1-6.
- [7] LOK S I, NOUS F M, VAN KUIK J, VAN DER WEIDE P, WINKENS B, KEMPERMAN H, et al. Myocardial fibrosis and pro-fibrotic markers in end-stage heart failure patients during continuous-flow left ventricular assist device support[J]. *Eur J Cardiothorac Surg*, 2015, 48: 407-415.
- [8] SAKURAYA K, ENDO A, SOMEYA T, HIRANO D, MURANO Y, FUJINAGA S, et al. The synergistic effect of mizoribine and a direct renin inhibitor, aliskiren, on unilateral ureteral obstruction induced renal fibrosis in rats[J]. *J Urol*, 2014, 191: 1139-1146.
- [9] CHEN Y, OU Y, DONG J, YANG G, ZENG Z, LIU Y, et al. Osteopontin promotes collagen I synthesis in hepatic stellate cells by miRNA-129-5p inhibition[J]. *Exp Cell Res*, 2018, 362: 343-348.
- [10] NAKAMURA M, OKA M, IIZUKA N, KAWAUCHI S, GONDO T, UENO T, et al. Osteopontin expression in chronic pancreatitis[J]. *Pancreas*, 2002, 25: 182-187.
- [11] 王域玲, 安徽, 李桂香, 朱建伟, 蒋斐. 骨桥蛋白在大鼠慢性胰腺炎中的表达及意义[J]. *中华胰腺病杂志*, 2018, 18: 251-255.
- [12] KHALIULLIN T O, KISIN E R, MURRAY A R, YANAMALA N, SHURIN M R, GUTKIN D W, et al. Mediation of the single-walled carbon nanotubes induced pulmonary fibrogenic response by osteopontin and TGF- β 1[J]. *Exp Lung Res*, 2017, 43: 311-326.
- [13] RYCHLÍKOVÁ J, VECKA M, JÁCHYMOVÁ M, MACÁŠEK J, HRABÁK P, ZEMAN M, et al. Osteopontin as a discriminating marker for pancreatic cancer and chronic pancreatitis[J]. *Cancer Biomark*, 2016, 17: 55-65.
- [14] ERKAN M, WEIS N, PAN Z, SCHWAGER C, SAMKHARADZE T, JIANG X, et al. Organ-, inflammation- and cancer specific transcriptional fingerprints of pancreatic and hepatic stellate cells[J/OL]. *Mol Cancer*, 2010, 9: 88. doi: 10.1186/1476-4598-9-88.
- [15] COOMBES J D, CHOI S S, SWIDERSKA-SYN M, MANKA P, REID D T, PALMA E, et al. Osteopontin is a proximal effector of leptin-mediated non-alcoholic steatohepatitis (NASH) fibrosis[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2016, 1862: 135-144.
- [16] XU J, YI Y, LI L, ZHANG W, WANG J. Osteopontin induces vascular endothelial growth factor expression in articular cartilage through PI3K/AKT and ERK1/2 signaling[J]. *Mol Med Rep*, 2015, 12: 4708-4712.
- [17] DAI J, PENG L, FAN K, WANG H, WEI R, JI G, et al. Osteopontin induces angiogenesis through activation of PI3K/AKT and ERK1/2 in endothelial cells[J]. *Oncogene*, 2009, 28: 3412-3422.

[本文编辑] 尹 茶