

抵当汤对高血压脑出血模型大鼠 低氧诱导因子-1 α 的影响

汤尔峰¹, 吴颢昕², 姜惟^{2*}

(南京中医药大学基础医学院中医基础理论及内经教研室, 南京 210046)

[摘要] 目的:探讨抵当汤对高血压脑出血模型大鼠脑组织低氧诱导因子-1 α (HIF-1 α)表达的影响。方法:将健康雄性SD大鼠随机分为假手术组、模型组、抵当汤低剂量组、中剂量组、高剂量组,采用腹腔注射垂体后叶注射液复制大鼠高血压模型,颅内注射自体血复制脑出血模型,给予低、中、高(3.78, 7.56, 15.12 g·kg⁻¹)3个剂量的抵当汤灌胃,治疗7d,分别用免疫组织化学法、蛋白免疫印迹法、聚合酶联反应法检测大鼠脑组织HIF-1 α 的表达。结果:抵当汤各治疗组HIF-1 α 阳性细胞、HIF-1 α 蛋白、HIF-1 α mRNA表达均显著高于模型组($P < 0.05$),其中低剂量组尤为明显。结论:抵当汤药理作用与上调大鼠脑组织HIF-1 α 表达密切相关。

[关键词] 抵当汤; 高血压脑出血; 低氧诱导因子-1 α

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)02-0230-05

Ameliorated Effects of Didang Decoction on Hypoxia-Induced Factor-1 α in Hypertensive Cerebral Hemorrhage Model Rats

TANG Er-feng¹, WU Hao-xin², JIANG Wei^{2*}

(Institute of Basic Medicine Basic Theory of Traditional Chinese Medicine (TCM) and Neijing Teaching and Research Section, Nanjing University of Traditional Chinese Medicine, Nanjing 210046, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the ameliorating effect of Didang decoction on hypoxia-inducible factor-1 α (HIF-1 α) in hypertensive cerebral hemorrhage model rats. **Method:** Healthy male Sprague-Dawley rats were randomly allotted to five groups as following: sham operation group, model group, Didang decoction low-dose group, middle-dose group, high-dose group, respectively. The hypertension was reproduced by intraperitoneal injection posterior pituitary injection, and then intracerebral injection autoblood was used to establish cerebral hemorrhage. Didang decoction was continuously treated for 7 days. The HIF-1 α was detected by immunohistochemistry, Western blotting, and polymerase chain reaction (PCR). **Result:** The HIF-1 α positive cells, HIF-1 α protein content, HIF-1 α mRNA expression significantly enhanced in Didang decoction treatment groups, particularly in the low-dose group ($P < 0.05$). **Conclusion:** Up-regulated the expression of HIF-1 α maybe involved in effects of Didang decoction.

[Key words] Didang decoction; hypertensive cerebral hemorrhage; hypoxia-inducible factor-1 α

研究表明,高血压脑出血后血肿周围存在一缺

血半暗带区,该区域的神经细胞处于一种因缺氧而导致的低代谢状态^[1]。HIF-1 α 是氧调控信息传导通路中的核转录因子,对缺氧特别敏感,高血压脑出血后的缺血缺氧将通过一系列复杂的信号传导途径引起细胞内HIF-1 α 表达增多,与靶基因结合促进其转录,使机体产生一系列低氧适应反应^[2]。近年来,有学者采用抵当汤治疗高血压脑出血,对降低患者死亡率和改善预后均有显著疗效^[3-4]。本研究将

[收稿日期] 20120613(018)

[基金项目] 南京中医药大学基础理论专项课题(08XJC01)

[第一作者] 汤尔峰,硕士研究生,从事中医脑病治则治法研究, Tel: 13855261260, E-mail: tangerfeng2009@163.com

[通讯作者] *姜惟,博士,教授,硕士生导师, E-mail: jw7958@126.com

通过观察抵当汤对高血压脑出血模型大鼠脑组织 HIF-1 α 表达的影响,探讨抵当汤的脑保护机制。

1 材料

1.1 药物 抵当汤药物组成为水蛭、虻虫、桃仁、大黄,药材购自南京中医药大学国医堂,鉴定人李益敏。垂体后叶注射液(批号 101138,安徽宏业药业有限公司)。

1.2 试剂 兔抗 HIF-1 α 抗体(批号 6008122,武汉博士德生物工程有限公司),免疫组化染色试剂盒(SP-9001,批号 861126,河北博海生物工程有限公司,包括 3% H₂O₂ 去离子水;试剂 A,封闭用正常山羊血清工作液;试剂 B,生物素标记山羊抗兔 IgG 二抗工作液(IgG/Bio);试剂 C,辣根酶标记链霉卵白素工作液(S-A/HRP),内参 β -肌动蛋白(β -Actin,批号 1102-1,杭州华安生物工程有限公司)。Trizol 试剂(Invitrogen life technologies),RNA 酶抑制剂(Epicentre),SuperScriptTM III Reverse Transcriptase(Invitrogen),5 \times RT 缓冲液(Invitrogen),2.5 mmol \cdot L⁻¹ dNTP 混合液(dATP,dGTP,dCTP 和 dTTP 各 2.5 mmol \cdot L⁻¹)(HyTest Ltd)。Oligo(dT)₁₈(上海生工生物工程有限公司)。引物由上海康成生物公司合成。

1.3 仪器 SR-5N 大鼠脑立体定位仪(日本成茂公司),CM2850 冰冻切片(澳大利亚 Histo-Line 公司),CKX41 荧光多功能显微镜(日本 Olympus 公司),DP72 显微数码 CCD(日本 Olympus 公司),DYY-7B 稳压稳流电泳仪(北京六一仪器厂),Anke TDL80-2B 台式离心机(上海安亭科学仪器厂),洁净工作台(上海博迅实业有限公司医疗设备厂),DK-8D 型电热恒温水槽(上海森信实验仪器有限公司),Gene Amp PCR System 9700 (Applied Biosystems);TaKaRa PCR Thermal Cycler(宝生物工程(中国)有限公司),Image Pro-Plus6.0 图像分析系统。

1.4 动物 SPF 级健康雄性 SD 大鼠 70 只,体重 180~220g,南京中医药大学实验动物中心提供,许可证号 SCXK(浙)20080033。

2 方法

2.1 动物分组 实验动物随机分为 5 组:假手术组、模型组、抵当汤低剂量组、中剂量组、高剂量组,每组 14 只。

2.2 造模 参照文献记载复制大鼠高血压模型^[5-6]:模型组及各治疗组大鼠均 ip 垂体后叶注射液 2 U \cdot kg⁻¹体重,1 次/d,共 2 周。2 周后采用改良 Nath 法复制脑出血模型^[7]:用 10% 水合氯醛(400 mg \cdot kg⁻¹)ip 麻醉大鼠,将大鼠仰卧位固定,右

侧腹股沟区备皮、消毒,切开皮肤及皮下组织,钝性分离出股动脉,远心端丝线结扎,用微量进样器(预先用 1% 肝素钠冲洗)自近心端抽取股动脉血 50 μ L,结扎近心端股动脉,缝合皮肤。俯卧位固定大鼠于脑立体定位仪上,常规备皮、消毒,沿矢状缝切开头皮,钝性分离出前囟。按脑立体定位图谱进行尾状核定位:以前囟为零点,于前囟后 1 mm,矢状缝右侧旁开 3 mm 处用手术刀尖钻直径 1 mm 骨窗,用微量进样器垂直进针 6 mm 至尾状核,缓慢注血 50 μ L,注血结束后留针 5 min,缝合头皮。假手术组腹腔、脑内注射 50 μ L 生理盐水,其余操作同上。

2.3 中药煎剂制备 抵当汤低剂量:水蛭 15 g,虻虫 2 g,桃仁 10 g,大黄 15 g;中剂量:水蛭 30 g,虻虫 4 g,桃仁 20 g,大黄 30 g;高剂量:水蛭 60 g,虻虫 8 g,桃仁 40 g,大黄 60 g。以上 3 种剂量的药物均煎煮 2 次,分别合并 2 次药液,浓缩为 0.756, 1.512, 3.024 g \cdot mL⁻¹,4 $^{\circ}$ C 保存备用。

2.4 给药 脑出血造模后第 1 天即开始灌胃给药,每天 1 次,共 7 d。给药剂量根据 70 kg 体重成人临床使用剂量换算(按人体与大鼠体表面积 0.018 的系数),即通过每 kg 体重占有体表面积相对比值计算大鼠给药剂量。各组每日剂量如下:低、中、高剂量组分别为 3.78,7.56,15.12 g \cdot kg⁻¹(相当于 70 kg 体重成人临床剂量及 2,4 倍临床剂量);假手术组及模型组给同体积生理盐水。

2.5 HIF-1 α 检测

2.5.1 免疫组织化学法 按常规方法,4% 多聚甲醛左心灌注取脑,以注射针道为中心,恒冷冰冻切片连续切取厚约 20 μ m 冠状切片。SABC 法免疫组化测定 HIF-1 α 阳性细胞的表达,步骤严格按照试剂盒说明书进行。HIF-1 α 阳性细胞在光镜下细胞浆或细胞核呈棕黄色或棕褐色颗粒。在 400 倍光镜下,随机观察并计数血肿周边区 5 个不重复视野,采用 Image Pro-Plus6.0 图像分析系统测定阳性细胞积分光度(IA),并计算其平均值。

2.5.2 蛋白免疫印迹法 切取右侧大脑血肿周围尾状核组织,加 1 mL RIPA 缓冲液(50 mmol \cdot L⁻¹ Tris-HCl,0.1% SDS,1% NP-40,1 mmol \cdot L⁻¹ EDTA,150 mmol \cdot L⁻¹ NaCl,1 mmol \cdot L⁻¹ PMSF,1 mg \cdot L⁻¹ 抑肽酶,1 mg \cdot L⁻¹ 亮抑肽酶,去离子水配置,pH 7.5)匀浆,12 000 r \cdot min⁻¹ 离心后取上清液。对所得上清液进行蛋白定量以确定电泳时样品的上样量,然后加入上样缓冲液(1% SDS,1% DTT,10 mmol \cdot L⁻¹ Tris-HCl,10% 甘油,1 mmol \cdot L⁻¹ EDTA,0.2% 溴酚

蓝,去离子水配置,pH 8.0)混合,在 95 ℃ 水浴锅中变性 5 min。变性的样品液经 SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳后,湿法将胶上的蛋白转移到 PVDF 膜上。转膜成功后,用 PBST(含 0.05% 吐温-20 的 PBS 液),稍加漂洗后放入封闭液(含 5% 脱脂奶粉的 PBST 液)中,37 ℃ 震荡 1 h。封闭结束后,一抗室温轻摇孵育 2 h 或 4 ℃ 静置过夜。PBST 漂洗 3 次后(每次 5 min),二抗室温孵育 1 h。PBST 再次漂洗 3 次,采用化学发光法,暗室曝光显影胶片。最后,将胶片上目的条带扫描进电脑,用 Bandscan 软件进行灰度分析。

2.5.3 聚合酶联反应法 ①RNA 提取:切取右侧大脑血肿周围尾状核组织,每 50 ~ 100 mg 组织样品,加入 1 mL 的 Trizol 试剂匀浆,室温放置 5 min。每管加入氯仿 0.2 mL,用手振荡混匀后室温放置 3 min,4 ℃ 下 12 000 r·min⁻¹ 离心,吸取上层无色水相于另一管中。按照 1 mL Trizol 加入 0.5 mL 异丙醇,混匀,室温放置 10 min。4 ℃ 下 12 000 r·min⁻¹ 离心 10 min,移去上清液,按照 1 mL Trizol 加入 75% 乙醇 1 mL,清洗 RNA 沉淀。4 ℃ 下 7 500 r·min⁻¹ 离心 5 min。去除上清,室温干燥。用 50 μL 无 RNA 酶的水溶解 RNA 沉淀,55 ~ 60 ℃ 孵育 10 min。用核酸蛋白分析仪测其含量。②cDNA 合成:配制退火混合物[RNA 2 μg,0.5 g·L⁻¹ Oligo(dT)₁₈ 1 μL,dNTPs Mix(2.5 mmol·L⁻¹)1.6 μL,加无 RNA 酶的 H₂O 至总体积 13 μL],混合液在 65 ℃ 水浴 5 min,冰上放置 2 min。短暂离心后,在离心管中依次加入 RT 反应液(5 × First-Strand Buffer 4 μL,0.1 MDTT 1 μL,RNase Inhibitor 1 μL,SuperScript III RT 1 μL),混合后 37 ℃ 恒温 1 min。移液枪轻轻吸打几次混合均匀,37 ℃ 温育 60 min,70 ℃ 温育 15 min 使酶失活,每 20 μL cDNA 加 120 μL 灭菌水混匀,置冰浴待用或 -20 ℃ 保存。③引物设计:引物设计用 Primer5.0 软件,并选用 GAPDH 作为内参基因以矫正 HIF-1α mRNA 含量。引物序列见表 1。④荧光定量 Realtime-PCR 反应:将所有 cDNA 样品分别配置 PCR 反应体系(2 × Master Mix 5 μL,10 μmol·L⁻¹

的 PCR 特异引物 F 0.5 μL,10 μmol·L⁻¹ 的 PCR 特异引物 R 0.5 μL,加水至总体积为 8 μL),轻弹管底将溶液混合,5 000 r·min⁻¹ 短暂离心。将 8 μL 混合液加到 384-PCR 板对应的每个孔中。再加入对应的 2 μL cDNA。小心粘上 Sealing Film 封口膜,并短暂离心混合。在设置 PCR 程序前将准备好的 PCR 板放在冰上。将上述 384-PCR 板置于 Realtime-PCR 仪上进行 PCR 反应。按以下程序进行:95 ℃,10 min;40 个 PCR 循环,循环条件为 95 ℃,10 s;60 ℃,60 s,72 ℃,60 s。最后 72 ℃ 延伸 10 min。反应结束后进行熔解曲线分析。

表 1 GAPDH 和 HIF-1α 的 CDNA 引物序列

基因	引物序列	产物长度 /bp
GAPDH	F:5'-GGAAGCTGTGGCGTGAT-3'	308
	R:5'-AAGGTGGAAGAATGGGAGTT-3'	
HIF-1α	F:5'-CTGATTGTGAACCCATTCT-3'	289
	R:5'-CAACCCAGACATATCCACCTC-3'	

2.6 统计学分析 采用 SPSS 19.0 统计软件包对实验数据进行统计学处理,计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组比较采用单因素方差分析,组间两两比较采用 LSD 检验(方差齐时)或 Dunnett. sT3 检验(方差不齐时), $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

3 结果

3.1 免疫组化 与假手术组比较,模型组大鼠脑组织 HIF-1α 阳性细胞表达增高,有显著性差异($P < 0.05$)。与模型组比较,各治疗组大鼠脑组织 HIF-1α 阳性细胞表达均显著增高(P 均 < 0.05)。各治疗组之间无显著性差异。见表 2,图 1。

表 2 各组大鼠脑组织 HIF-1α 阳性细胞免疫组化表达($\bar{x} \pm s, n = 6$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	HIF-1α
假手术	-	130.52 ± 6.64
模型	-	201.66 ± 6.66 ¹⁾
抵当汤	3.78	383.30 ± 4.02 ^{1,2)}
	7.56	365.04 ± 8.29 ^{1,2)}
	15.12	326.87 ± 4.83 ^{1,2)}

注:与假手术组比较¹⁾ $P < 0.05$;与模型组比较²⁾ $P < 0.05$ 。

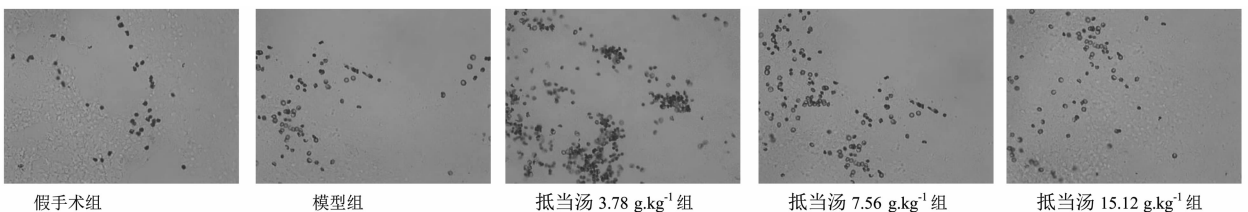


图 1 大鼠脑组织 HIF-1α 阳性细胞表达(免疫组织化学染色,×400)

3.2 蛋白免疫印迹 与假手术组比较,模型组大鼠脑组织 HIF-1 α 蛋白表达增高,有显著性差异($P < 0.05$)。与模型组比较,各治疗组大鼠脑组织 HIF-1 α 蛋白表达均显著增高($P < 0.05$)。各治疗组之间无显著性差异。见表 3。

3.3 聚合酶链反应 与假手术组比较,模型组大鼠脑组织 HIF-1 α mRNA 表达增高,有显著性差异($P < 0.05$)。与模型组比较,各治疗组大鼠脑组织 HIF-1 α mRNA 表达均显著增高($P < 0.05$)。各治疗组之间无显著性差异。见表 4。

表 3 各组大鼠脑组织 HIF-1 α

蛋白免疫印迹检测结果($\bar{x} \pm s, n = 5$)

灰度值

组别	剂量/g·kg ⁻¹	HIF-1 α
假手术	-	0.40 ± 0.02
模型	-	0.60 ± 0.03 ¹⁾
抵当汤	3.78	1.10 ± 0.05 ^{1,2)}
	7.56	0.91 ± 0.04 ^{1,2)}
	15.12	0.86 ± 0.04 ^{1,2)}

注:与假手术组比较,¹⁾ $P < 0.05$;与模型组比较,²⁾ $P < 0.05$ 。

表 4 各组大鼠脑组织 HIF-1 α mRNA 检测($\bar{x} \pm s, n = 3$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	GAPDH/Ct	HIF-1 α /Ct	ΔCt	$\Delta \Delta Ct$	$2^{-\Delta \Delta Ct}$
假手术	-	13.38 ± 0.53	19.65 ± 0.51	6.27	0.02	0.99
模型	-	13.67 ± 0.59	19.92 ± 0.63	6.25	0	1
抵当汤	3.78	13.21 ± 0.29	18.97 ± 0.58	5.76	-0.49	1.40 ²⁾
	7.56	13.24 ± 0.33	19.00 ± 0.48	5.76	-0.49	1.40 ²⁾
	15.12	13.07 ± 0.20	18.93 ± 0.07	5.86	-0.39	1.31 ²⁾

4 讨论

HIF-1 是 1992 年由 Semenza 等发现的一种氧依赖转录激活因子,通过与低氧反应元件(HRE)结合,引发下游基因的转录^[8]。HIF-1 由 α 和 β 2 个亚基组成异二聚体蛋白。HIF-1 β 为基础表达蛋白,而 HIF-1 α 为氧调节蛋白^[9]。HIF-1 α 在脑出血病理损伤中的保护机制可能有以下几方面:①HIF-1 α 可以通过靶基因促进血管内皮生长因子(VEGF)表达,进而促使新生血管生成,改善脑血流动力学,使脑缺血得以迅速恢复^[10-11];②HIF-1 α 可通过诱导丙酮酸脱氢酶激酶-1(PDK-1)的表达,使丙酮酸脱氢酶活性抑制,进而阻断了线粒体三羧酸循环,导致线粒体氧耗量下降,并使得细胞内氧张力增高,从而改善了脑缺血后的能量供应,细胞死亡下降,脑损伤得以减轻^[12]。③HIF-1 α 能促进 bcl-2 的表达而抑制 bax 的表达,从而减少神经元的凋亡^[13]。④HIF-1 α 能激活促红细胞生成素(EPO)基因的表达,使红细胞生成增加,提高携氧能力,从而使缺氧的组织细胞保持氧稳态及耐受低氧状态^[14-15]。

抵当汤出自《伤寒论》,由水蛭、虻虫、桃仁、大黄 4 味药物组成,具有活血化瘀、泻下通腑的作用。高血压脑出血急性期以气血上逆、血蓄于脑的标实为主,根据“急则治其标”的原则,应用抵当汤活血化瘀清脑窍之瘀血、泻下通腑降上逆之气机,从而达到全身气血调和、脏腑气机复常的目的。

本实验结果显示,抵当汤能上调大鼠脑组织

HIF-1 α 表达,改善脑细胞缺血缺氧,保护脑组织。其中,作为临床常用剂量的抵当汤低剂量组尤为明显,而增加剂量(临床常用剂量的 2, 4 倍)未能取得更好的结果。

[参考文献]

[1] 黄仁发,何泽云,刘劲松. 参麦注射液对脑出血大鼠血肿周边脑组织缺氧诱导因子 1- α 表达的影响[J]. 湖南中医药大学学报,2008,28(5):24.

[2] Jiang B H, Rue E, Wang G L, et al. Dimerization DNA binding and transactivation properties of hypoxia-inducible [J]. J Biol Chem,1996,(271):17770.

[3] 孙岩,张歌心. 抵当汤治疗脑出血 40 例疗效观察[J]. 浙江中医学院学报,1997,21(3):38.

[4] 何文彬,吴颖昕,樊鉴,等. 抵当口服液治疗高血压脑出血(急性期)的疗效观察[J]. 辽宁中医杂志,2001,28(7):417.

[5] 郭鹞. 人类疾病的动物模型[M]. 北京:人民卫生出版社,1982:364.

[6] 顾刚妹,毛位贞,陈慧,等. 苏丹红对大鼠血压的影响[J]. 时珍国医国药,2009,20(4):975.

[7] Nath F P, Jenkins A, Medelow A D, et al. Early hemodynamic changes in experimental intracerebral hemorrhage[J]. Neurosurg,1986,65:697.

[8] Wang G L, Semenza G L. A nuclear factor induced by hypoxia via de novo protein synthesis binds to the human erythropoietin gene enhancer at a site required for transcriptional activation [J]. Mol Cell Biol,1992,12(12):5447.

参芎化瘀胶囊对脑缺血再灌注损伤大鼠推荐使用剂量的研究及其对 VEGF 表达的影响

牛静, 李建民*, 赵雅宁, 马荣丽, 黄海玲, 张爱国
(河北联合大学护理与康复学院, 河北 唐山 063000)

[摘要] 目的: 筛选参芎化瘀胶囊对治疗全脑缺血再灌注损伤大鼠的推荐使用剂量, 为提高临床疗效奠定基础。方法: 成年健康雄性 SD 大鼠 110 只随机分为假手术组、模型组及参芎化瘀胶囊低、中、高剂量组 (240, 360, 480 mg·kg⁻¹), 改良的 Pulsineli 4 血管阻断 (4-VO) 法制作全脑缺血模型, 术后 24, 48, 72 h 苏木精-伊红 (HE) 染色观察各组脑组织病理学形态的变化; 72 h 后应用横木行走实验 (BWT) 和抓握力量测试评估并记录感觉运动整合功能水平; 选择最佳剂量组应用免疫组化法检测血管内皮生长因子 (VEGF) 的表达。结果: 与假手术组比较, 光镜下观察脑缺血后神经元内细胞形态明显受损伤, 神经元密度减少, 感觉运动整合功能水平明显降低 ($P < 0.01$); 与模型组比较, 参芎化瘀胶囊组神经元密度以及感觉运动检测评分均高于模型组 ($P < 0.05$), 上述变化在高剂量组最为明显。选择高剂量组进行免疫组化检测 VEGF, 假手术组呈较低水平表达; 与假手术组比较, 模型组表达明显增加 ($P < 0.05$), 参芎化瘀胶囊用药干预组 VEGF 表达进一步增加 ($P < 0.01$)。结论: 参芎化瘀胶囊对大鼠脑缺血再灌注损伤有治疗作用, 推荐剂量是 480 mg·kg⁻¹, 其疗效机制可能与促进 VEGF 表达有关。

[关键词] 参芎化瘀胶囊; 脑缺血再灌注; 血管内皮生长因子; 推荐剂量

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)02-0234-05

Study of Recommended Dose of Shenxiong Huayu Capsule in Rats with Cerebral Ischemia Reperfusion Injury and its Influence on the Expression of VEGF

NIU Jing, LI Jian-min*, ZHAO Ya-ning, MA Rong-li, HUANG Hai-ling, ZHANG Ai-guo
(Nursing and Rehabilitation Institute of Hebei United University, Tangshan 063000, China)

[收稿日期] 20120709(007)

[基金项目] 河北省卫生厅课题 (20110527); 河北省教育厅重点课题 (ZD2010106)

[第一作者] 牛静, 硕士研究生在读, 从事急危重症护理研究, Tel: 15081590672, E-mail: 779095569@qq.com

[通讯作者] * 李建民, Tel: 0315-3725385, E-mail: zyning789@126.com

- [9] 胡明, 肖新莉, 刘勇. 低氧诱导因子-1 研究进展[J]. 医学综述, 2006, 12(21): 1283.
- [10] Pugh C W, Ratcliffe P J. Regulation of angiogenesis by hypoxia: role of the HIF system [J]. Nat Med, 2003, 9: 677.
- [11] Mazure N M, Brahim-Horn M C, Pouyssegur J. Protein kinases and the hypoxia-inducible factor-1, two switches in angiogenesis [J]. Curr Pharm Des, 2003, 9: 531.
- [12] Papandreou I, Cairns R A, Fontana L, et al. HIF-1 mediates adaptation to hypoxia by actively down regulating mitochondrial oxygen consumption [J]. Cell Metab, 2006, 3(3): 187.
- [13] 于如同, 高文昌, 赵序元, 等. 腺病毒介导低氧诱导因子-1 α 基因对创伤性脑损伤后细胞凋亡的影响[J]. 实用临床医药杂志, 2004, 8(1): 27.
- [14] Matorne C, Pingatoarq Molinaro, Pardridge W M. et al. HIF-1 α reveals a binding activity to the promoter of iNOS gene after permanent middle cerebral artery occlusion [J]. Neurochem, 2004, 90(2): 368.
- [15] Yamakawa M, Liu LX, Date T. Hypoxia-inducible factor-1 mediates activation of cultured vascular endothelial cells by inducing multiple angiogenic factor [J]. Circ Res, 2003, 93(7): 664.

[责任编辑 聂淑琴]