

不同突出类型腰椎髓核中缺氧诱导因子1 α 的表达

刘兴振, 傅智轶, 沈康平, 金文杰, 吴玉杰(上海交通大学医学院附属第三人民医院骨科, 上海市 201900)

文章亮点:

- 1 有关缺氧诱导因子 1 α 在腰椎间盘中的表达已有报道, 实验对突出型和游离型腰椎间盘突出症中缺氧诱导因子 1 α 的表达做进一步研究, 以便了解突出类型与缺氧诱导因子 1 α 表达之间的关系。
- 2 本组结果提示, 腰椎间盘突出症髓核组织中缺氧诱导因子 1 α 的表达与突出类型有关, 在脱垂游离型中表达最高。

关键词:

组织构建; 椎间盘突出; 髓核组织; 缺氧诱导因子 1 α

主题词:

椎间盘移位; 脊髓; 缺氧诱导因子 1

摘要

背景: 椎间盘内为缺氧的环境, 研究发现缺氧诱导因子 1 在调节缺氧诱导的基因表达中起重要作用。缺氧诱导因子 1 由 α 和 β 两种亚基组成, 其中缺氧诱导因子 1 α 决定缺氧诱导因子 1 的稳定和活性。

目的: 观察缺氧诱导因子 1 α 在人不同突出类型腰椎间盘突出症髓核中的表达, 判断各组之间的关系。

方法: 取腰椎髓核组织标本 60 例, 41 例取自 L₄₋₅ 髓核组织, 19 例为 L_{5-S}₁。髓核组织分为突出组、游离组各 30 例。同时选取腰椎骨折脱位患者的腰椎髓核组织标本 10 例作为对照组。采用苏木精-伊红、链霉素-过氧化氢酶免疫组织化学技术, 观察各组突出腰椎髓核组织学变化并测定缺氧诱导因子 1 α 的表达。

结果与结论: 游离组、突出组和对照组都可观察到缺氧诱导因子 1 α 的表达, 分别为(58.2 \pm 7.5)%, (27.3 \pm 2.3)% 和(10.5 \pm 4.7)%。游离组缺氧诱导因子 1 α 在髓核的表达显著高于突出组和对照组($P < 0.01$)。结果提示腰椎间盘突出症髓核组织中缺氧诱导因子 1 α 的表达与突出类型有关, 在脱垂游离型中表达最高。

刘兴振, 傅智轶, 沈康平, 金文杰, 吴玉杰. 不同突出类型腰椎髓核中缺氧诱导因子 1 α 的表达[J]. 中国组织工程研究, 2015, 19(29):4700-4704.

doi:10.3969/j.issn.2095-4344.2015.29.021

Expression of hypoxia inducible factor-1 alpha in human lumbar nucleus pulposus of different herniated types

Liu Xing-zhen, Fu Zhi-yi, Shen Kang-ping, Jin Wen-jie, Wu Yu-jie (Department of Orthopedics, Third People's Hospital, Medical School of Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 201900, China)

Abstract

BACKGROUND: Under hypoxic environment, hypoxia inducible factor-1 plays an important role in regulation of hypoxia-induced gene expression in the intervertebral disc. Hypoxia-inducible factor-1 consists of α and β subunits, and which hypoxia inducible factor-1 α determines the stability and activity of hypoxia-inducible factor-1.

OBJECTIVE: To observe the expression of hypoxia inducible factor-1 α in the human lumbar nucleus pulposus of different herniated types and to judge their relationships.

METHODS: A total of 60 nucleus pulposus samples were harvested from the lumbar vertebra, including 41 from L₄₋₅ and 19 from L_{5-S}₁, and then divided into protruded group and sequestered group, with 30 cases in each group. Meanwhile, another 10 samples of lumbar nucleus pulposus served as controls. Hematoxylin-eosin staining and streptavidin-biotin peroxidase complex immunohistochemical technique were used to observe the expression of hypoxia inducible factor-1 α in the human lumbar nucleus pulposus in different groups.

RESULTS AND CONCLUSION: The expression level of hypoxia inducible factor-1 α was (58.2 \pm 7.5)% in the sequestered group, (27.3 \pm 2.3)% in the protruded group, and (10.5 \pm 4.7)% in the control group, which was significantly higher in the sequestered group than the other two groups ($P < 0.01$). These findings indicate that the expression of hypoxia inducible factor-1 α in the lumbar nucleus pulposus is associated with the herniated types, which is the highest in the prolapse sequestered type.

Subject headings: Intervertebral Disk Displacement; Spinal Cord; Hypoxia-Inducible Factor 1

Liu XZ, Fu ZY, Shen KP, Jin WJ, Wu YJ. Expression of hypoxia inducible factor-1 alpha in human lumbar nucleus pulposus of different herniated types. Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu. 2015;19(29):4700-4704.

刘兴振, 男, 1982 年生, 山东省聊城市人, 汉族, 2010 年上海交通大学医学院毕业, 硕士, 医师, 主要从事脊柱外科研究。

通讯作者: 傅智轶, 硕士, 主治医师, 上海交通大学医学院附属第三人民医院骨科, 上海市 201900

中图分类号:R318

文献标识码:B

文章编号:2095-4344

(2015)29-04700-05

稿件接受: 2015-05-07

http://www.crter.org

Liu Xing-zhen, Master, Physician, Department of Orthopedics, Third People's Hospital, Medical School of Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 201900, China

Corresponding author: Fu Zhi-yi, Master, Attending physician, Department of Orthopedics, Third People's Hospital, Medical School of Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 201900, China

Accepted: 2015-05-07

0 引言 Introduction

腰椎间盘突出症是骨科的常见病和多发病, 大部分患者可以采取非手术治疗, 但是对于其中10%-20%的患者, 经过规范保守治疗效果欠佳或者反复发作, 可考虑采用手术治疗^[1]。

椎间盘是人体内最大的无血管组织, 由纤维环、髓核及软骨终板3部分组成, 其营养通路主要依赖终板途径和纤维环途径^[2], 伴随着机体的不断老化, 椎间盘周围的血管组织数量逐渐减少, 软骨终板日益逐渐钙化, 氧气等大部分营养物质的供给及代谢废物的运输均受到阻滞^[3], 最终腰椎间盘突出形成缺氧微环境。

缺氧诱导因子1是一个普遍存在于人和哺乳动物细胞内的缺氧应答因子, 在调节缺氧诱导的基因表达中起重要作用^[4]。缺氧诱导因子1 α 决定缺氧诱导因子1的稳定和活性。缺氧微环境如何导致椎间盘退变及椎间盘退变是否与缺氧诱导因子1 α 有关, 均成为学者研究热点。有关缺氧诱导因子1 α 在腰椎间盘突出中的表达已有报道, 本实验在此基础上对突出型和游离型腰椎间盘突出症中缺氧诱导因子1 α 的表达做进一步研究, 以便了解突出类型与缺氧诱导因子1 α 表达之间的关系。

1 材料和方法 Materials and methods

设计: 分组对照观察。

时间及地点: 实验于2010年1月至2014年2月在上海交通大学医学院附属第三人民医院完成。

材料:

缺氧诱导因子1 α 在不同突出类型腰椎髓核中的表达试剂与仪器:

试剂与仪器	来源
小鼠抗人单克隆抗体缺氧诱导因子1 α (即用型)	SANTA CRUZ BIOTECHNOLOGY
二抗(羊抗小鼠, 即用型)、二氨基联苯胺溶液(DAB 显色剂)	SANTA CRUZ BIOTECHNOLOGY
枸橼酸溶液(即用型)、PBS 溶液(即用型)	上海长岛生物技术有限公司, 中国
微升微量进样器	上海安亭微量进样器厂
石蜡切片机、光学显微镜、OLYMPUS IX51 型倒置荧光显微镜	上海交通大学附属第三人民医院病理科、实验中心提供

髓核组织标本选择及分组: 髓核组织标本选自本院2010年1月至2014年2月腰椎间盘突出症患者60例。手术方法均为腰椎后路椎板开窗髓核摘除。男34例, 女26例, 年龄20-71岁, 平均年龄52.0岁, 41例取自L₄₋₅髓核组织, 19例为L_{5-S₁}髓核组织。髓核组织分为突出组、游离组各30例。同时选取腰椎骨折脱位患者的腰椎髓核组织标本10例作为对照组, 男9例, 女1例, 年龄27-55岁, 平均年龄为40.0岁。每组患者均知情同意。

诊断标准: 符合腰椎间盘突出症的诊断标准, 采用1983年Mcculloch制定的标准, 即: ①腿痛大于腰痛。②神

经支配区的感觉减退。③直腿抬高小于正常的50%。④腱反射异常。⑤加强试验阳性。

纳入标准: 不伴有腰椎管狭窄及其他退行性疾病, 经X射线、CT和MRI证实腰椎间盘突出症者。

排除标准: 慢性呼吸系统疾病、糖尿病、贫血等缺血缺氧性疾病除外。

实验方法:

标本处理: 将手术中取出的3组髓核组织, 体积分数4%甲醛溶液中固定, 石蜡包埋。每个髓核标本4 μ m连续贴邻切片共4张, 2张行苏木精-伊红染色, 2张用于缺氧诱导因子1 α 免疫组织化学染色。所有检测对象都经过患者本人同意。

髓核组织切片苏木精-伊红染色: 髓核标本二甲苯脱蜡, 乙醇梯度水化, 苏木精染色, 5 min, 标记细胞核。乙醇分化, 10 s, 去除非特异性染色。伊红染色, 1min, 标记细胞浆。乙醇梯度脱水。二甲苯溶液增强切片透光度。干燥后封固。

髓核组织切片缺氧诱导因子1 α 染色: 髓核标本二甲苯脱蜡。乙醇梯度水化。体积分数3% H₂O₂溶液, 30 min, 封闭内源性过氧化物酶。切片浸入枸橼酸溶液中, 微波加热15 min, 抗原修复。室温下冷区, PBS冲洗3遍, 5 min/次。单克隆抗体缺氧诱导因子1 α , 50 μ L, 室温下1 h。PBS冲洗3遍, 5 min/次。二抗, 50 μ L, 室温下1 h。PBS冲洗3遍, 5 min/次。DAB溶液染色, 显微镜观察后中止染色。室温水冲洗5 min。苏木精复染5 min, 标记细胞核。乙醇分化10 s, 去除非特异性染色。室温水冲洗5 min。乙醇梯度脱水。二甲苯溶液增强切片透光度。干燥后封固。

结果判读: 单克隆抗体缺氧诱导因子1 α 免疫组织化学染色标记后, 显微镜下可见髓核细胞核或细胞浆呈棕褐色, 即为阳性细胞。每个标本计数8个高倍镜(\times 200)下视野内的所有阳性细胞个数和所有细胞数, 求其比值。

计算公式: 阳性细胞百分比 = $\frac{\text{所有阳性细胞数}}{\text{所有细胞数}} \times 100\%$

每张切片由2名观察者分别读片得出, 如2位观察者读片结果相差较大, 则重复行免疫组织化学实验。

主要观察指标: ①各组髓核组织苏木精-伊红染色形态学观察。②免疫组织化学方法观察各组髓核组织缺氧诱导因子1 α 表达情况。

统计学分析: 应用SPSS 13.0统计软件, 采用单因素方差分析法中SNK检验分析总体差异及各组间差异, $P < 0.01$ 时被认为差异有显著性意义。

2 结果 Results

2.1 各组髓核组织苏木精-伊红染色形态学观察 应用光镜观察患者腰椎髓核组织形态: 突出组可见髓核基质中胶原纤维粗细不均、排列紊乱, 发生断裂(图1A)。游离组髓核基质发生玻璃样变, 呈灶状、片状均质红染区, 有的坏死物液化、吸收, 遗留下长短不一、大小不等的蜂窝状、

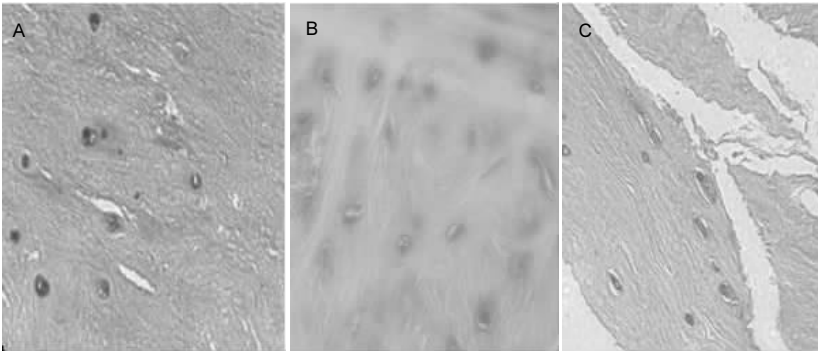


图1 不同突出类型腰椎髓核组织形态(苏木精-伊红染色, $\times 200$)

Figure 1 Morphology of nucleus pulposus of different herniated types (hematoxylin-eosin staining, $\times 200$)

图注: A为突出组可见髓核基质中胶原纤维粗细不均、排列紊乱, 发生断裂; B为游离组髓核基质发生玻璃样变, 有坏死物液化、吸收, 有蜂窝状、囊泡状空腔和裂隙; C为对照组髓核基质中胶原纤维排列整齐, 粗细相等。

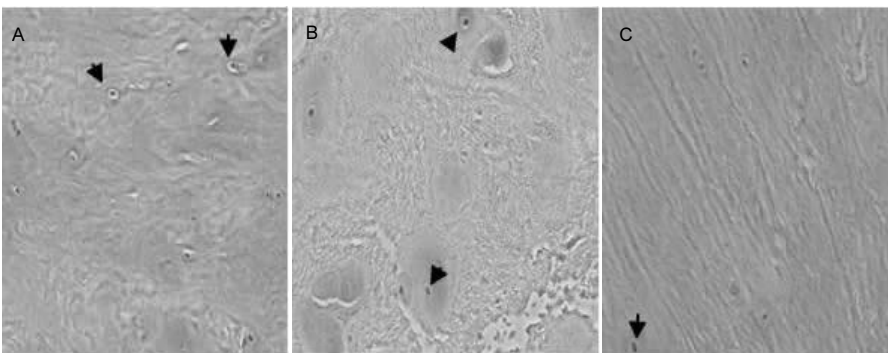


图2 缺氧诱导因子1 α 在髓核组织中的表达(链菌素生物素-过氧化物酶标记物法, $\times 200$)

Figure 2 Expression of hypoxia inducible factor-1 α in nucleus pulposus (streptavidin-biotin peroxidase complex method, $\times 200$)

图注: A突出组; B游离组; C对照组。游离组髓核组织中缺氧诱导因子1 α 表达高于突出组和对照组。

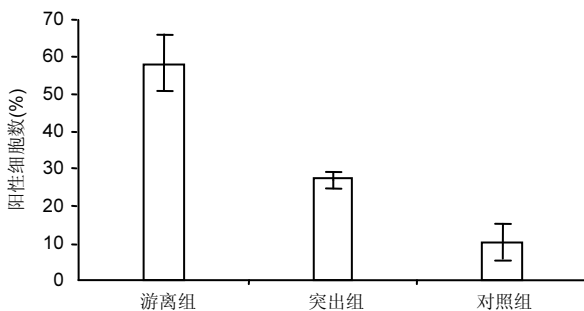


图3 缺氧诱导因子1 α 在3组髓核组织都有表达

Figure 3 The expression of hypoxia inducible factor-1 α in the human lumbar nucleus pulposus in different groups

图注: 缺氧诱导因子1 α 在游离组的表达最高, 突出组高于对照组。

囊泡状空腔和裂隙(图1B)。对照组髓核基质中胶原纤维排列整齐, 粗细相等(图1C)。

2.2 免疫组织化学方法观察各组髓核组织缺氧诱导因子1 α 表达情况 游离组、突出组和对照组都可观察到缺氧诱导因子1 α 的表达(图2), 分别为(58.2 \pm 7.5)%、(27.3 \pm 2.3)%和(10.5 \pm 4.7)%。缺氧诱导因子1 α 在游离组髓核组织中的表达高于突出组和对照组, 突出组高于对照组(图3), 差异有显著性意义($P < 0.01$)。

3 讨论 Discussion

腰椎间盘突出症的分型方法较多, 各有其根据及侧重点。从病理变化及CT、MRI发现, 结合治疗方法可分为膨隆型、突出型、脱垂游离型、Schmorl结节及经骨突出型。其中突出型和脱垂游离型常需手术治疗。该病严重时压迫马尾神经造成尿便失禁, 或压迫神经根造成足下垂, 严重影响患者的生活质量。在成人丧失劳动能力的原因中, 下腰痛位居第3位, 腰椎间盘突出为下腰痛的主要病因^[5-6]。因此, 腰椎间盘突出症的治疗应引起足够的重视。椎间盘退行性变是椎间盘突出症的基本原因。骨髓核细胞的可替代型细胞存活减少、代谢活性降低、基质产生减少和营养不良性钙化或许可能成为椎间盘退化的关键促进因素^[7]。有研究表明人类椎间盘组织在20岁后逐渐退变, 而衰老、遗传、心理、肥胖、脊柱过度轴向负荷等多种因素都可以加快椎间盘退变^[8]。椎间盘退变的主要组织形态改变表现为髓核细胞坏死、变性, 细胞外基质的合成减少^[9]。随着年龄增长, 纤维环和髓核含水量逐渐减少, 使髓核张力下降, 椎间盘变薄。

椎间盘是人体最早发生退行性变的组织之一, 正常椎间盘是一个无血管的组织。椎间盘营养供应主要是通过两个途径被动扩散而来, 一是终板途径, 即椎体内血管

的营养物质通过骨髓腔血窦-软骨终板界面扩散到椎间盘, 营养髓核与纤维环内层, 是椎间盘主要的营养途径; 二是纤维环途径, 即纤维环表面血管营养纤维环外层^[10-11], 营养范围相对较小, 是椎间盘营养的次要途径。椎间盘所需的氧、葡萄糖和基质代谢所需的氨基酸、硫酸盐等主要营养成分, 通过周围的毛细血管, 经椎间盘致密的细胞外基质来营养位于中心的髓核内细胞, 而椎间盘的代谢废物通过相反的途径排泄至周围的毛细血管中。机体生长发育和老化过程中, 椎间盘中央部位细胞和基质的改变主要是营养供应减少, 营养不足被认为是造成椎间盘退变的基本因素。椎间盘细胞需要营养成分以维持其活性和功能, 其能量的主要提供形式是糖酵解, 椎间盘以较高的比例消耗葡萄糖和产生乳酸, 故充足的葡萄糖是维持椎间盘细胞活性所必须的。椎间盘细胞主要以糖酵解形式生成ATP, 同时也产生乳酸, 椎间盘中心为低氧浓度, 为缺氧的环境^[12]。

缺氧诱导因子1是一个普遍存在于人和哺乳动物细胞内的缺氧应答因子, 是细胞在缺氧环境下重要的转录因子^[13]。缺氧诱导因子属于核蛋白^[14], 通常在组织处于缺血缺氧的状态下形成, 缺氧诱导因子可以和靶基因结合, 从而造成机体对缺血缺氧形成耐受性。它最先由Semenza于1992年在缺氧诱导的细胞核抽提物中发现^[15]。缺氧诱导因子1的发现使人们对缺血、缺氧状态下机体各种应答反应机制的研究更加深入。缺氧诱导因子1属于DNA结合蛋白, 主要以异源二聚体的形式存在, 由缺氧诱导因子1 α 和缺氧诱导因子1 β 两种亚基组成^[16-17]。缺氧诱导因子1的稳定和活性是由缺氧诱导因子1 α 决定的^[18], 缺氧诱导因子1 α 蛋白可作为低氧的指标^[19]。

缺氧诱导因子1 α 的调节受到多种因素的影响, 且缺氧诱导因子1 α 是专一受O₂调节的亚基, 在常氧下极不稳定, 而缺氧则抑制其降解, 缺氧诱导因子1 α 可促进糖酵解蛋白酶的表达和激活, 从而对细胞起保护作用^[20]。缺氧抑制因子可阻断 α 亚基与转录共激活因子的结合, 从而抑制缺氧诱导因子1的转录^[21]。在缺氧条件下, 线粒体活性氧(ROS)的增加可阻止缺氧诱导因子1 α 羟基化, 从而可上调缺氧诱导因子1 α 和其下游靶基因^[22]。

缺氧诱导因子1 α 家族还包括缺氧诱导因子2 α 和缺氧诱导因子3 α , 其中缺氧诱导因子2 α 在结构和功能上与缺氧诱导因子1 α 类似, 而缺氧诱导因子3 α 由于缺少一个缺氧诱导域, 所以在功能上和前两者存在区别。缺氧诱导因子1 α 的研究最为透彻, 在很多有关缺氧的研究中, 它被作为主要的调控因子来研究, 且被证实很多的生理及病理过程中起重要作用^[23]。缺氧诱导因子1 α 在人类关节软骨及大鼠髓核细胞中可检测到其表达。椎间盘是人体最大的无血管组织, 其组织形态及生理结构与软骨细胞相似; 并且椎间盘内是一个缺氧的环境, 而缺氧诱导因子1 α 在缺氧的条件下比较稳定。近来国内外学者在患者突出的椎间盘中监测

到了缺氧诱导因子1 α 的表达^[24-25]。王俊丰等^[26]研究发现退变椎间盘组织中 缺氧诱导因子1 α 和血管内皮生长因子呈高表达, 且各组中缺氧诱导因子1 α 和血管内皮生长因子的表达均高度相关。

本实验同样在退行性变的人腰椎间盘髓核组织中检测到了缺氧诱导因子1 α 的表达。结果显示缺氧诱导因子1 α 在游离组的表达明显高于突出组, 突出组高于对照组。推测: ①椎间盘内为缺氧的环境, 缺氧诱导因子1 α 是专一受O₂调节的亚基, 在常氧下极不稳定, 而缺氧则抑制其降解, 与一系列缺氧反应靶基因上的特定结合位点—缺氧反应元件(HRE)结合, 从而启动靶基因的转录表达。这些靶基因分别与能量代谢、血管生成、细胞生长、细胞增殖、细胞凋亡、缺氧条件下的基质产生、糖代谢、铁代谢、血管舒缩和肿瘤耐药等密切相关^[27], 从而对细胞起保护作用^[20]。②缺氧诱导因子1 α 在各组的表达不同, 可能与各组髓核营养来源有关, 游离组缺氧程度大于突出组。椎间盘是一个无血管组织, 其营养和代谢的提供主要依靠周围血管通过软骨终板的扩散、渗透来完成^[28]。破裂型髓核已突破纤维环, 但因后总韧带的限制, 其突出区域不会太大, 可部分依靠周围的软骨终板、纤维环获取营养; 游离型髓核游离于椎管内, 突出的区域范围大, 营养来源匮乏, 故缺氧程度较突出组严重^[29]。

缺氧诱导因子1 α 作为机体细胞适应低氧的重要转录调节因子, 在椎间盘细胞的低氧生存过程中一定起到了至关重要的作用, 缺氧诱导因子1 α 的高表达可能是机体为延缓椎间盘退行性变而做出的保护反应, 机体可能通过上调缺氧诱导因子1 α 的表达, 并进而通过一系列复杂的机制来延缓椎间盘细胞的衰老。腰椎间盘突出是一个复杂的过程, 受多因素多环节的影响, 其机制至今不明, 不同年龄段腰椎间盘突出病因也不全相同, 进一步阐明缺氧诱导因子1 α 在不同类型椎间盘突出中的表达, 有望进一步阐明椎间盘退行性变的病理生理过程。

作者贡献: 设计为通讯作者、实施为第一作者、评估者为第三、四及第五作者, 评估为盲法评估。

利益冲突: 文章及内容不涉及相关利益冲突。

伦理要求: 本实验所用的椎间盘组织为患者腰椎后路椎板开窗髓核摘除术中取出的废弃组织, 对患者无伤害。参与实验的患病个体及其家属自愿参加, 所有患者对实验过程完全知情同意, 在充分了解本治疗方案的前提下签署“知情同意书”。

学术术语: 缺氧诱导因子 1—即低氧诱导因子 1(hypoxia inducible factor-1, HIF-1)是1992年Semenza和Wang首先发现的, 随后确立了缺氧诱导因子1的结构, 并证明了其cDNA的编码顺序。缺氧诱导因子1普遍存在于人和哺乳动物细胞内, 常氧下(体积分数21%O₂)也有表达, 但合成的缺氧诱导因子1蛋白很快即被细胞内氧依赖性泛素蛋白酶降解途径所降解, 只有在缺氧条件下缺氧诱导因子1才可稳定表达。

作者声明: 文章为原创作品, 无抄袭剽窃, 无泄密及署名和专利争议, 内容及数据真实, 文责自负。

4 参考文献 References

- [1] 郭鑫,皮国富,刘宏建,等.通道下经椎间孔腰椎椎体间融合术治疗单节段腰椎间盘突出症[J].中华实验外科杂志,2015,32(3):650-652.
- [2] Kang SK,Cho NS,Jang S. N-(5-Sulfanyl-idene-4,5-dihydro-1,3,4-thia-diazol-2-yl) acetamide dimethyl sulfoxide disolvate. Acta Crystallogr Sect E Struct Rep Onl. 2012;68(Pt 1):224.
- [3] Rodtiguez AG,Rodtiguez-Soto AE,Rurghardt AJ,et al. Morphology of the human vertebral endplate.J Orthop Res. 2012;30(2):280-287.
- [4] Jeong JW,Bae MK,Ahn MY,et al.Regulation and destabilization of HIF-1 alpha b- y ARD1-mediated acetylation. Cell.2002;111(5):709-720.
- [5] Mabeesh NJ,Amir S.Hypoxia-inducible factor(HIF) in human tumorigenesis. Hi- stol Histopathol[R].2007;22(5):559-572.
- [6] Ratcliffe PJ.HIF-1 and HIF-2:working alone or together in hypoxia?.J Clin Invest.2007;117(4):862-865.
- [7] Apeldoorn AT,Bosmans JE,Ostelo RW,et al.Cost-effectiveness of a classifcat-ion-based system for sub-acute and chronic low back pain.Eur spine.2012;21(11):1290-1300.
- [8] Guo T M,Liu M,Zhang Y G,et al.Association between caspase-9 promoter region poly morphisms and discogenic low back pain.Connect Tissue Res.2011;52(2):133-138.
- [9] Anderson DG,Tannoury C.Molecular pathogenic factors in ymptomatic disc degener- ation.Spine J.2005;5(6 Suppl):260-266.
- [10] Sakamoto T,Seiki M.Mint3 enhances the activity of hypoxia-inducible factor-1 in macrophages by suppressing the activity of factor inhibiting HIF-1.Biol Chen. 2009;9(2):1-15.
- [11] Lin CW,Haas M,Maher CG,et al.Cost-effectiveness of guideline-endorsed trea- tments for low back pain:a systematic review.Eur Spine.2011;20(12):1024-1038.
- [12] Gassmann M,Chilov D,Wenger RH.Regulation of the hypoxia-inducible factor-1 alpha. ARNT is not necessary for hypoxic induction of HIF-1 alpha in the nucle- us.Adv Exp Med Biol.2000;475:87-99.
- [13] Yang Y,Bai J,Shen R,et al.Polo-like kinase 3 functions as a tumor suppressor and is a negative regulator of hypoxia-inducible factor-1 alpha under hypoxic conditions.Cancer Res.2008;68(11):4077-4085.
- [14] Singh N,Sharma G,Mishra V.Hypoxia inducible factor-1:its potential role in cerebral ischemia.Cell Mol Neurobiol. 2012;32(4):491-507.
- [15] Lancaster DE,McNeill LA,McDonough MA,et al.Disruption of dimerization and substrate phosphorylation inhibit factor inhibiting hypoxia-inducible factor(FIH) activity. Bio- chem J. 2004;383(pt.3):429-437.
- [16] Schaile EV,Windschugl J,Bobkiewicz W,et al. 2-Methoxyestradiol confers neuro- protection and inhibits a maladaptive HIF-1 α reponse after traumatic brain inju- ry in mice.J Neurochem.2014;129(6):940-954.
- [17] Loboda A,Jozkowicz A,Dulak J.HIF-1 and HIF-2 transcription factors-similar but not identical.Molecules and cells. 2010; 29(5):435-442.
- [18] Ramamoorthy P,Shi H.Ischemia induces different levels of hypoxia inducible factor-1 α protein expression in interneurons and pyramidal neurons.Acta ne- uropathol Commun.2014;2:51.
- [19] Higgins DF,Biju MP,Akai Y,et al.Hypoxic induction of Ctgf is directly mediated by Hif-1.Am J Physiol Renal Physiol.2004; 287:F1223-1232.
- [20] Marin-Hernandez A,Gallardo-perez JC,Ralph SJ,et al.HIF-1alpha modulates ene- rgy metabolism in cancer cells by inducing overexpression of specific glycolytic isoforms.Mini Rev Med Chem.2009;9(9):1084 -1101 .
- [21] Karuppagounder SS,Ratan RR.Hypoxia-inducible factor prolyl hydroxylase inhib- ition:robust new target or another big bust for stroke therapeutics.J Cere Blood Flow Metab. 2012;32(7):1347-1361.
- [22] Singh N,Sharma G,Mishra V.Hypoxia inducible factor-1:its potential role in cerebral ischemia.J Cell Mol Neurobiol. 2012;32(4):491-507.
- [23] 韩毅力,程永毅,徐永刚.低氧条件下HIF-1 α 对HGF表达影响的观察[J].中华肿瘤防治杂志,2012,18(18):1377-1379.
- [24] Lando D,Peet DJ,Gorman JJ,et al. FIH-1 is an asparaginyl hydroxylase enzyme that regulates the transcriptional activity of hypoxia- inducible Factor.Genes Dev. 2002;16(12):1466-1471.
- [25] Carrozza MJ,Utley RT,Wrkman JL,et al. The diverse functions of histone acetyl- transferase complexes.Trends Genet. 2003; 19(6): 321 -329.
- [26] 王俊丰,贾长青,刘洪亮,等.缺氧诱导因子-1 α 和血管内皮生长因子在突出腰椎间盘中的表达及意义[J].中国组织化学与细胞化学杂志,2008,17(1):65-69.
- [27] Bishop T,Gallagher D,Pascual A,et al.Abnormal sympathoadrenal development and systemic hypotension in PHD3-/-mice.Mol Cell Biol.2008;28:3386-3400.
- [28] Chandel NS,Simon MC.Hypoxia-inducible factor:roles in development, physiol- ogy, and disease.Cell Death Differ. 2008;15(4):619-620.
- [29] Vengellur A,Lapres JJ.The role of hypoxia inducible factor 1 alpha in cobalt chl-ride induced cell death in mouse embryonic fibroblasts.Toxicol Sci.2004; 82(2):638-646.