

缺氧诱导因子在动脉粥样硬化中的调节作用

马雅奎 综述, 宋剑南 审校

(中国中医科学院中医基础理论研究所 北京 100700)

[关键词] 病理与病理生理学; 缺氧诱导因子; 动脉粥样硬化; 基因治疗

[摘要] 缺血性心脑血管疾病导致心脑血管组织缺氧, 对心脏和脑组织造成进一步的损伤。对于缺氧这一病理生理刺激, 机体通过适应性的变化调节机制维持自身的稳定。缺氧激活的缺氧诱导因子通过调节一系列靶基因如血管内皮生长因子、肾上腺髓质素、一氧化氮合成酶 2 和血红素加氧酶 1 等, 进一步来调节血管舒张和新生血管生成、红细胞生成和抗炎反应, 从而改善心脑血管组织缺氧和损伤。近年来, 通过构建载体提高缺氧诱导因子表达水平, 进一步调控缺氧诱导因子靶基因表达, 从而改善缺血组织中血液供应, 在动脉粥样硬化及其所致的缺血性心脑血管疾病基因治疗的实验和临床中取得很大进展。

[中图分类号] R363

[文献标识码] A

心脏和脑组织血流减少或暂停, 导致心脑血管组织缺氧, 对心脏和脑组织造成进一步的损伤。对于缺氧这一病理生理刺激, 机体可通过适应性的变化调节机制来维持自身的稳定。其中, 缺氧激活的缺氧诱导因子(hypoxia inducible factor, HIF)是目前为止发现的唯一的在特异性缺氧状态下发挥活性的转录因子。HIF 通过调节一系列的靶基因表达, 进一步影响血管舒张和新生血管生成、红细胞生成和抗炎反应, 从而减轻心脑血管组织缺氧造成的损伤。随着对 HIF 生理调节作用的研究, 近年来, 应用 HIF 表达载体治疗缺血性心脑血管疾病也已取得了卓有成效的进展, 其应用前景诱人。本文将对此作扼要介绍。

1 缺氧诱导因子的结构和性质

Semenza 等于 1991 年发现 HIF-1 基因。HIF-1 是由 HIF-1 α 和 HIF-1 β 亚单位组成的异源二聚体转录因子。HIF-1 α 位于人染色体 14q21-q24, 其编码蛋白含有 826 个氨基酸, 分子量为 120 kDa, HIF-1 β 为分子量 91~94 kDa 的蛋白质, 含有 774~789 个氨基酸。

HIF-1 β 在细胞中稳定表达。而 HIF-1 α 在正常氧浓度时, 迅速降解, 半衰期不到 5 min。HIF-1 α 的降解受 E3 泛素化—蛋白连接酶依赖性降解机制调控^[1]。有氧时, 氧敏感的脯氨酰羟化酶(prolyl hydroxylase, PHD)羟基化 HIF-1 α 氧依赖降解区(oxygen dependent degradation domain, ODD)的脯氨酸残基(p402 和 p564)^[2, 3]。肿瘤抑制蛋白 pVHL(von hippel lindau)

能识别并与 p564 羟基化的 HIF-1 α 结合, E3 泛素化—蛋白连接酶通过识别 pVHL, 泛素化 HIF-1 α , 并介导蛋白酶体连接酶复合物降解 HIF-1 α ^[4]。而在缺氧情况下, 由于氧依赖的 PHD 酶活性下降, HIF-1 α 降解受到抑制, 其半衰期明显延长, 稳定的 HIF-1 α 和 HIF-1 β 形成异源二聚体。另外, 缺氧抑制氧敏感的天冬氨酰羟化酶, 又称 HIF-1 抑制因子(factor inhibiting HIF-1, FIH-1)的活性^[5], 使 HIF-1 的 C 端转录激活区(C-transactivation domain, C-TAD)的天冬氨酸 Asp803 不再被其羟化, 这样 HIF-1 α 就能与转录共激活因子 p300 及甾体类受体共激活因子(steroid receptor coactivator-1, SRC-1)结合形成转录复合物, 与靶基因(如 VEGF) DNA 调节区缺氧反应元件(hypoxia response element, HRE)上的缺氧诱导因子结合位点(HIF-binding site, HBS)结合, 通过 p300/SRC-1 介导启动靶基因转录^[6, 7]。HIF-1 α 同源蛋白 HIF-2 α (又称 EPAS1、MOP2、HLP 和 HRF)能替代 HIF-1 α 和 HIF-1 β 形成异源二聚体结合于同样的 DNA 序列。但由于他们结合于不同的靶基因或者在不同的组织中表达, 所以他们的功能并不重叠^[8, 9]。

在体实验发现, 当心脏左前降支动脉关闭长达 1 min, 缺血中心氧浓度降至 0, 氧浓度从缺血中心到周边逐渐增高, HIF-1 α 则逆向积聚。此外, HIF-1 在氧含量正常情况下也可以被一些受体介导的因子如生长因子、细胞因子和激素等所诱导, 但效应远远低于缺氧因素。缺氧通过磷脂酰肌醇 3 激酶(PI3K)和丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)信号传导通路调控 HIF-1 及其靶基因的表达^[10]。

2 缺氧诱导因子的生理功能

缺氧诱导因子的功能主要包括调节: ①促红细胞生成素(erythropoietin, Epo)的表达^[11]; ②血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)和促血管生成的其他血管源性因子的表达; ③特定位点的肿瘤生成; ④器官发生过程中的血管生成^[12]; ⑤缺血预处理; ⑥参与细胞炎症反应的代谢酶调节^[18]。

[收稿日期] 2008-05-04 [修回日期] 2008-09-10

[基金项目] 中国中医科学院自主选题研究项目(YZ-0608)

[作者简介] 马雅奎, 博士, 副研究员, 从事缺氧调节因子的调控机制的研究, 联系电话为 010-64014411-2505, 13691325806, E-mail 为 yaluanna@yahoo.com。宋剑南, 研究员, 博士研究生导师, 长期从事高脂血症及动脉粥样硬化的分子生物学和中药药理学及生物工程技术等方面的研究, 是中医痰及瘀相关实验研究的开拓者之一, 提出了一系列有关痰及瘀相关等的理论假说和学术观点, 联系电话为 010-64076065, 13683191642, E-mail 为 jns2003@sina.com.cn。

促红细胞生成素是研究最早的 HIF-1 靶基因。随后大量的研究证实, HIF 转录调节活性不仅仅局限于产生促红细胞生成素, 而是几乎所有哺乳动物细胞系受缺氧后的普遍反应。受 HIF-1 调节的靶基因涉及红细胞的产生、细胞的增殖、分化和生存、葡萄糖和能量的代谢、铁代谢、基质的代谢、pH 值调节等多方面^[13, 14]。值得注意的是 HIF-1 调节许多与血管舒缩和血管形成有关的基因, 如: 血管内皮生长因子 (vascular endothelial growth factor, VEGF)、血管内皮生长因子受体 2 (vascular endothelial growth factor receptor-2, VEGFR-2, 又称为 Flt-1)、纤溶酶原激活剂抑制因子 1 (plasminogen activator inhibitor 1, PAI-1)、肾上腺髓质素 (adrenomedullin, ADM)、内皮素 1 (endothelin-1, ET-1)、一氧化氮合酶 2 (nitric oxide synthase-2, NOS-2)、血红素加氧酶 1 (heme oxygenase 1, HO-1) 和 $\alpha 1\beta$ 肾上腺素受体 ($\alpha 1\beta$ -adrenergic receptor) 等。HIF-1 调控的这些基因和蛋白均以不同的方式参与了细胞对缺氧的适应过程, 从而增加了细胞在缺氧环境下的生存能力。特别是 VEGF 和促血管生成的其他血管源性因子的表达, 在动脉硬化导致的缺血过程中新生血管生成、缺血预处理和细胞炎症反应中起到了重要作用^[9]。以下介绍主要参与调节血管舒张和血管形成的 HIF 靶基因。

3 缺氧诱导因子调节的血管舒缩和血管形成相关基因

3.1 肾上腺髓质素

肾上腺髓质素是日本学者 Kitamura 等 1993 年在嗜铬细胞中发现的一种 52 个氨基酸的多肽。ADM 的化学结构与降钙素基因相关肽和淀粉样纤维蛋白相似, 同属于一个肽家族, 有相似的生物学效应和受体间的交叉反应性。ADM 在血管内皮细胞、血管平滑肌细胞和纤维母细胞瘤表达, 在体内心、肝、肾、肾上腺、肺和脑等多种组织器官中广泛存在。作为血管舒张肽, ADM 的作用涉及支气管扩张, 神经递质、生长因子、激素释放调控、血管生成、抗凋亡和主要调控水、钠平衡等。在下肢缺血大鼠移植实验中发现 ADM 促进新血管生成^[15]。缺氧通过激活 HIF-1 诱导 ADM 及 ADM 的受体的一个成分——降钙素受体样受体的表达, 促进缺氧条件下血管舒张和新血管生成^[16]。ADM 的调节机制在不同的物种、同一物种的不同大小的血管、血管的不同区域有所不同。其调节方式主要有通过: ①钙调蛋白激活磷脂酰肌醇 3 激酶 (PI3K) 和蛋白激酶 B (Akt), 磷酸化一氧化氮合酶产生一氧化氮, 一氧化氮环化鸟苷酸, 产生的环鸟苷酸使血管扩张; ②增加平滑肌细胞内环腺苷酸水平, 减少 Ca^{2+} 浓度和激活 K^+ 通道, 使血管扩张。ADM 还通过促进血管内皮细胞的增殖和迁移以及减少活性氧簇 (reactive oxygen species, ROS) 分泌, 以保护损伤的血管和防止动脉粥样硬化^[17]; 通过抑制血管平滑肌细胞的增殖和迁移以抑制球囊损伤后的血管再狭窄^[18]。

3.2 一氧化氮合酶

一氧化氮合酶有三种异构体, 即神经型 (nNOS 或 NOS-1), 内皮细胞型 (ecNOS 或 NOS-3) 和诱导型 (iNOS 或 NOS-2)。

前两型存在于生理状态下, 产生少量生理浓度的 NO, 介导一系列的生理功能。NOS-2 在生理状态下不存在, 巨噬细胞、T 淋巴细胞、中性粒细胞、成纤维细胞、血管内皮细胞和血管平滑肌细胞受到刺激时才高表达, 介导一系列的免疫病理过程。缺氧促进 NOS-2 基因的转录, 通过 HIF-1 结合于 NOS-2 启动区的 HRE 上 HBS, 促使 NOS-2 表达^[19]。另外, 2-甲酸吡啶 (picolinic acid, PA) 和去铁胺 (desferrioxamine) 引导 NOS-2 表达也是通过 HIF-1 的激活途径。NOS 通过催化 L-精氨酸产生一氧化氮来发挥一系列生物效应, 如: 松弛平滑肌、舒张血管、抑制平滑肌增殖、抑制血小板黏附和聚集、保护细胞和增加神经递质释放等^[20]。

3.3 血红素加氧酶 1

血红素加氧酶 1 (也称热休克蛋白 32, HSP32) 在缺氧应激、内毒素、过氧化氢、重金属、紫外线、细胞因子和生长因子等刺激时, 在肝、脾、心、肺、脑组织和血管内皮细胞、平滑肌细胞和巨噬细胞中表达。HO-1 及其代谢产物 (胆红素和一氧化碳) 可通过不同的途径降低动脉硬化、冠心病的发生。此外, HO-1 还通过调节细胞周期促进血管内皮细胞增生抑制平滑肌增殖; 分解血红蛋白, 减少了血红蛋白对心肌细胞的损伤; 促进铁蛋白合成增加减轻了由细胞内铁引起的细胞损伤和慢性炎症^[21, 22]。

3.4 血管内皮生长因子

血管内皮生长因子 mRNA 主要在缺氧的心肌细胞内表达。缺氧是诱导心肌细胞表达 VEGF 最强烈的因素之一。研究发现, 在 VEGF 的启动区内有 HRE, HIF-1 与 HRE 结合, 促进 VEGF 转录^[23]。缺氧引起的 VEGF 的上调不仅仅通过加快 HIF-1 介导的 VEGF 转录速度, 而且还通过缺氧诱导的蛋白 (hypoxia induced proteins) 结合到 VEGF 3'-UTR 序列上, 以稳定 VEGF mRNA。因此, 缺氧促进 VEGF 的表达是通过转录和转录后两条途径进行的。

血管内皮生长因子是目前已知的最关键的血管生成促进因子, 也是最早发现的能为缺氧所诱导的促血管生成因子。它能通过与特异性受体结合刺激内皮细胞的增殖和移行、增加血管通透性, 促进血管形成^[24]。VEGF 是通过 VEGF 受体 2 (VEGFR2/Flk-1) 结合而发挥作用。VEGFR-1 没有促进血管形成作用, VEGF 还是目前已知的最有效的血管通透因子, 主要是由于通过后毛细血管和后静脉对大分子的通透性。VEGF 还对整个血管系统的内皮细胞有促有丝分裂作用, 它是目前已知的最有选择性的血管内皮细胞的有丝分裂剂。另外, VEGF 还通过血管内皮细胞引起一些非有丝分裂反应, 包括趋化性、纤维蛋白溶酶和胶原酶的表达, 以促进生长的毛细血管通透侵入组织。

4 缺氧诱导因子在动脉粥样硬化中的调节作用

血管生成和炎症是动脉粥样硬化 (atherosclerosis, As) 形成、发展及斑块破裂的重要特征。转录因子 HIF-1 是血管生成的主要调节因子, 它通过激活上述靶基因的表达而促进血管生成; 同时 HIF-1 还在 As 中调节炎症反应和先天免疫^[25]。体外实验发现缺氧诱导巨噬细胞表达脂蛋白氧化酶 2, 从而

氧化低密度脂蛋白^[26];缺氧还促进 As 斑块内巨噬细胞表达 SR-A、CD36 和 LOX-1 等清道夫受体以及极低密度脂蛋白受体,使斑块内脂质进一步吸收^[27]。临床研究也发现 As 病人氧化低密度脂蛋白诱导 HIF-1 α 的表达和聚集^[28],As 缺损斑块缺氧区激活的 HIF-1 α 进一步诱导巨噬细胞、泡沫细胞表达多种炎症因子等 As 相关基因^[29],如促进血管内皮细胞、平滑肌细胞增殖和迁移的白介素 8 和移动抑制因子(MIF)^[29];促进血管生成的 VEGF;促进斑块纤维帽胶原蛋白降解,导致斑块破裂的基质金属蛋白酶(MMP)^[30]和白细胞介素-1(IL-1)、肿瘤坏死因子- α 等炎症因子的表达^[26],从而将炎症和 As 紧密联系在一起。

5 缺氧诱导因子在缺血性心脑血管疾病的基因治疗的应用前景

由于 HIF-1 的靶基因具有改善缺血组织血供的功能,因此, HIF-1 成为了缺血性心脑血管疾病的潜在治疗靶点。脑缺血动物实验研究表明,缺氧模拟药氯化钴(CoCl_2)和去铁胺(desferrioxamine)预处理诱导 HIF-1 表达,随之上调血管内皮生长因子、红细胞生成素等基因,对大脑保护作用可分别达到 75% 和 56%^[31]。除了药物治疗外,与 HIF 相关的基因治疗实验和临床中取得很大进展^[32]。通过直接增加 HIF-1 α 表达水平达到治疗目的:此种治疗方式通过病毒载体将其导入心肌细胞中,使其稳定表达,从而上调 VEGF、葡萄糖转运蛋白 1(Glut-1)、葡萄糖转运蛋白 4(Glut-4)、热休克蛋白 70(HSP70) 和 NOS-2 等靶基因表达。此种方式不依赖氧浓度。Date 等^[33]应用重组腺病毒载体 Ad2/HIF-1 α /VP16 预处理,保护缺血再灌注的心肌。此外,这种载体还用于进行性 As 和组织缺血治疗。Rajagopalan 等^[34]报道了应用此载体临床治疗严重的下肢缺血患者 34 例。其中,32 例伴有疼痛、18 例伴有溃疡,16 例同时伴有疼痛和溃疡。经过一年治疗观察,发现伴有疼痛患者中有 14 例疼痛完全消失,溃疡患者中有 5 例溃疡完全治愈。临床一期的研究证明重组腺病毒载体 Ad2/HIF-1 α /VP16 可进一步进行临床二期的试验,有望广泛用于治疗患有下肢严重缺血的病人。④应用 HIF 的 HRE 序列驱动特异靶基因表达:此方法将 3~9 个含有 HBS 的 HRE 序列与治疗基因构建在同一载体中^[35]。在氧浓度正常时,治疗基因不表达。一旦氧浓度降低, HIF-1 α 表达增多, HIF-1 α 和 HIF-1 β 形成 HIF-1 转录因子连接到靶基因的 HRE 上,诱导治疗的靶基因表达。⑤在心血管系统中特定表达的载体:这种基因治疗需要构建二种载体。第一种载体是将 ODD 编码的序列构建在细胞特异的启动子控制下,如心肌轻链启动子,使这种载体只在心肌细胞中表达。第二种载体由治疗基因组成,如 HO-1,由 GAL4 连接序列驱动。这二种载体同时介导入缺血的心脏中,由于心肌轻链启动子的特异性表达 ODD 只出现在心肌细胞中,缺氧使 ODD 稳定,导致整个激活因子 GAL4-ODD-p65AD 稳定,通过 GAL4 连接序列诱导治疗基因 HO-1 在缺血心肌局部表达^[36]。

上述方法直接或间接通过调节 HIF 进一步调控靶基因,从而抑制血管收缩,促进血管生成,重建血运,改善缺血组织

中血液供应,减少缺血造成的损伤。作为成为一种新的治疗手段,目前 HIF-1 的基因治疗还在实验室研究和一期临床研究的阶段,临床应用尚存在一定的风险,不仅需要解决包括治疗基因的定向运输和定点整合,克服载体本身及外源基因在体内的随机整合等载体的安全性、有效性的问题;而且需要达到精细调节导入治疗基因的表达。只有进一步发展基因转移技术和调节治疗基因表达的模式,才能保证 HIF-1 的基因治疗的安全性和临床疗效,使其广泛地应用于临床缺血性心脑血管疾病的治疗中。

[参考文献]

- [1] Salceda S and Caro J. Hypoxia-inducible factor 1 α (HIF-1 α) protein is rapidly degraded by the ubiquitin-proteasome system under normoxic conditions: its stabilization by hypoxia depends upon redox-induced changes [J]. *J Biol Chem*, 1997, **272** (36): 22 642-647.
- [2] Epstein AC, Gleadle IM, McNeill LA, et al. C elegans EGL-9 and mammalian homologs define a family of dioxygenases that regulate HIF by prolyl hydroxylation [J]. *Cell*, 2001, **107** (1): 43-54.
- [3] Ivan M, Kondo K, Yang H, et al. HIF-1 α targeted for VHL-mediated destruction by proline hydroxylation: implications for O₂ sensing [J]. *Science*, 2001, **292** (5 516): 464-468.
- [4] Maxwell PH, Wiesener MS, Chang GW, et al. The tumor suppressor protein VHL targets hypoxia-inducible factors for oxygen-dependent proteolysis [J]. *Nature*, 1999, **399** (6 733): 271-275.
- [5] Mahon PC, Hirota K and Semenza GL. FIH: a novel protein that interacts with HIF-1 α and VHL to mediate repression of HIF-1 transcriptional activity [J]. *Genes Dev*, 2001, **15** (20): 2 675-686.
- [6] Carrero P, Okamoto K, Coumault P, et al. Redox-regulated recruitment of the transcriptional coactivators CREB-binding protein and SRC-1 to hypoxia-inducible factor 1 α [J]. *Mol Cell Biol*, 2000, **20** (1): 402-415.
- [7] Lando D, Peet DJ, Whelan DA, et al. Asparagine hydroxylation of the transcription activation domain: A hypoxic switch [J]. *Science*, 2002, **295** (5 556): 858-861.
- [8] Daniel TO. Overview: Integrating renal hypoxia signals in development and disease [J]. *J Am Soc Nephrol*, 2003, **14** (11): 2 693-694.
- [9] Warnecke C, Zaborowska Z, Kurreck J, et al. Differentiating the functional role of hypoxia-inducible factor (HIF)-1 α and HIF-2 α (EPAS1) by the use of RNA interference: erythropoietin is HIF-2 α target gene in Hep3B and Kelly cells [J]. *FASEB J*, 2004, **18** (12): 1 462-464.
- [10] Bilton RL and Booker GW. The subtle side to hypoxia-inducible factor (HIF α) regulation [J]. *Eur J Biochem*, 2003, **270** (5): 791-798.
- [11] 杨华,夏章勇,苗滢,等.缺氧诱导因子-1 α 和血清促红细胞生成素在脑出血患者中的表达及意义[J]. *中风与神经疾病杂志*, 2008, **25** (1): 30-32.
- [12] 姜萌,王长谦,王彬尧,等.低氧诱导因子在低氧中对人外周血内皮祖细胞分化的影响[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2006, **14** (5): 382-386.
- [13] 谭小玲,高钰琪. HIF-1 α 选择剪接异构体的结构及其功能[J]. *生理科学进展*, 2008, **39** (3): 271-275.
- [14] 杨军,胡新华,张强,等.缺氧诱导因子 1 α 及其相关基因在腹主动脉瘤中的表达[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2004, **12** (5): 507-510.
- [15] Iwase T, Nagaya N, Fujii T, et al. Adrenomedullin enhances angiogenic potency of bone marrow transplantation in a rat model of hindlimb ischemia [J]. *Circulation*, 2005, **111** (3): 356-362.
- [16] Nagaya N, Mori H, Murakami S, et al. Adrenomedullin: angiogenesis and gene therapy [J]. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 2005, **288** (6): R1 432-R1 437.
- [17] Miyashita K, Itoh H, Sawada N, et al. Adrenomedullin provokes endothelial Akt activation and promotes vascular regeneration both in vitro and in vivo [J]. *FEBS Lett*, 2003, **544** (1-3): 86-92.
- [18] Yoshimoto T, Fukui N, Sato R, et al. Antioxidant effect of adrenomedullin on angiotensin II-induced reactive oxygen species generation in vascular smooth muscle cells [J]. *Endocrinology*, 2004, **145** (7): 3 331-337.

(下转第 746 页)

(上接第 742 页)

- [19] Motterlini R, Foresti R, Bassi R, et al. Endothelial heme oxygenase-1 induction by hypoxia: modulation by inducible nitric oxide synthase and *s*-nitrosothiols [J]. *J Biol Chem*, 2000, **275** (18): 13 613-620.
- [20] 蒙伶俐, 孙少华, 张军荣, 等. 经体表创伤后肾脏组织中缺氧诱导因子-1 α 表达的调控[J]. 第四军医大学学报, 2005, **26** (14): 1 311-314.
- [21] Loboda A, Jazwa A, Jozkowicz A, et al. Atorvastatin prevents hypoxia-induced inhibition of endothelial nitric oxide synthase expression but does not affect heme oxygenase-1 in human microvascular endothelial cells [J]. *Atherosclerosis*, 2006, **187** (1): 26-30.
- [22] Deng YM, Wu BJ, Witting PK, et al. Probucol protects against smooth muscle cell proliferation by upregulating heme oxygenase-1 [J]. *Circulation*, 2004, **110** (13): 1 855-860.
- [23] Tsuzuki Y, Fukumura D, Oosthuysen B, et al. Vascular endothelial growth factor (VEGF) modulation by targeting hypoxia-inducible factor-1 α (hypoxia response element) VEGF cascade differentially regulates vascular response and growth rate in tumors [J]. *Cancer Res*, 2000, **60** (22): 6 248-252.
- [24] 谷依学, 李汉贤, 王汉群. 缺氧诱导因子-1 及血管内皮生长因子的表达与胃癌生物学行为的关系[J]. 南华大学学报(医学版), 2005, **33** (1): 13-15.
- [25] Ruas JL, Lendahl U and Poellinger L. Modulation of vascular gene expression by hypoxia [J]. *Curr Opin Lipidol*, 2007, **18** (5): 508-514.
- [26] Rydberg EK, Krettek A, Ullström C, et al. Hypoxia increases LDL oxidation and expression of 15-lipoxygenase-2 in human macrophages [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2004, **24** (5): 2 040-045.
- [27] Jiang G, Li T, Qiu Y, et al. RNA interference for HIF-1 α inhibits foam cells formation in vitro [J]. *Eur J Pharmacol*, 2007, **562** (3): 183-190.
- [28] Shatrov VA, Sumbayev VV, Zhou J, et al. Oxidized low-density lipoprotein (α LDL) triggers hypoxia-inducible factor-1 α (HIF-1 α) accumulation via redox-dependent mechanisms [J]. *Blood*, 2003, **101** (12): 4 847-849.
- [29] Rydberg EK, Salomonsson L, Hultén LM, et al. Hypoxia increases 25-hydroxycholesterol-induced interleukin-8 protein secretion in human macrophages [J]. *Atherosclerosis*, 2003, **170** (2): 245-252.
- [30] Deguchi JO, Aikawa M, Tung CH, et al. Inflammation in atherosclerosis: visualizing matrix metalloproteinase action in macrophages in vivo [J]. *Circulation*, 2006, **114** (1): 55-62.
- [31] Sharp FR, Ran R, Lu A, et al. Hypoxia preconditioning protects against ischemic brain injury [J]. *NeuroRx*, 2004, **1** (1): 26-35.
- [32] Jazwa A, Jozkowicz A, Dulak J. New vectors and strategies for cardiovascular gene therapy [J]. *Curr Gene Ther*, 2007, **7** (1): 7-23.
- [33] Date T, Mochizuki S, Belanger AJ, et al. Expression of constitutively stable hybrid hypoxia-inducible factor-1 α protects cultured rat cardiomyocytes against stimulated ischemia/reperfusion injury [J]. *Am J physiol cell Physiol*, 2005, **288** (2): C314-C320.
- [34] Rajagopalan S, Olin J, Deitcher S, et al. Use of a constitutively active hypoxia-inducible factor-1 α transgene as a therapeutic strategy in non-option critical limb ischemia patients. Phase I dose escalation experience [J]. *Circulation*, 2007, **115** (10): 1 234-243.
- [35] Su H, Joho S, Huang Y, et al. Adenovirus-associated viral vector delivers cardiac-specific and hypoxia-inducible VEGF expression in ischemic mouse hearts [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2004, **101** (46): 16 280-285.
- [36] Tang YL, Tang Y, Zhang YC, et al. Protection from ischemic heart injury by a vigilant heme oxygenase-1 plasmid system [J]. *Hypertension*, 2004, **43** (4): 746-751.

(此文编辑 李小玲)