

• 实验研究 •

[文章编号] 1007-3949(2008)16-10-0796-05

缺血预适应对大鼠急性心肌梗死缺氧诱导因子 1 α 表达的影响及蛋白激酶 C 信号通路的作用

牛铁生¹, 齐国先², 付 鹏¹, 孙英贤¹

(中国医科大学 1. 盛京医院心内科, 辽宁省沈阳市 110004; 2 第一临床学院心内科, 辽宁省沈阳市 110001)

[关键词] 病理学与病理生理学; 缺氧诱导因子 1 α ; 心肌梗死; 缺血预适应; 蛋白激酶 C[摘要] 目的 研究缺血预适应后急性心肌梗死缺氧诱导因子 1 α 表达的变化及蛋白激酶 C 的信号传导作用。

方法 选择雄性 Wistar 大鼠 32 只, 随机分为 4 组: 缺血预适应组、单纯急性心肌梗死组、缺血预适应加蛋白激酶 C 抑制剂组和假手术组。缺血预适应加蛋白激酶 C 抑制剂组预适应前 10 min 静脉注射蛋白激酶 C 抑制剂白屈菜季铵碱 5 mg/kg, 然后结扎左前降支; 假手术组不结扎左前降支。1 天后, 10% 水合氯醛腹腔注射麻醉, 活体取出心脏, 测量心肌梗死面积, 测定缺氧诱导因子 1 α 和血管内皮生长因子 mRNA 表达, 蛋白印记分析检测缺氧诱导因子 1 α 和血管内皮生长因子蛋白的表达, 术前术后测定血管内皮生长因子含量。结果 缺氧诱导因子 1 α mRNA 表达, 缺血预适应组明显增加 ($P < 0.01$), 缺血预适应加蛋白激酶 C 抑制剂组与单纯急性心肌梗死组差异无显著性 ($P > 0.05$), 其蛋白表达有相同的变化。缺血预适应加蛋白激酶 C 抑制剂后, 缺氧诱导因子 1 α mRNA 表达明显减少 ($P < 0.01$), 其靶基因血管内皮生长因子 mRNA 表达也明显减少, 其蛋白表达有相同的变化。缺血预适应组心肌梗死面积 ($24.18\% \pm 2.25\%$) 明显小于缺血预适应加蛋白激酶 C 抑制剂组 ($38.11\% \pm 2.94\%$) 和单纯急性心肌梗死组 ($37.73\% \pm 3.32\%$; $P < 0.01$)。结论 缺氧诱导因子 1 α 的表达是缺血预适应重要的内源性保护机制, 其表达是依赖于蛋白激酶 C 的激活, 蛋白激酶 C 是缺氧诱导因子 1 α 表达的重要信号传导通路。

[中图分类号] R363

[文献标识码] A

The Impact of Ischemia-Preconditioning on Expression of Hypoxia Inducible Factor-1 α Gene in Acute Myocardial Infarction Rats and the Involvement of PKC Signal Pathway

NIU Tie-Sheng, QI Guo-Xian, FU Peng and SUN Ying-Xian

(Department of Cardiology, the Second Hospital of China Medical University, Shenyang 110004, China)

[KEY WORDS] Hypoxia Inducible Factor-1 α ; Myocardial Infarction; Ischemia-Preconditioning; Protein Kinase C[ABSTRACT] **Aim** To study the expression of hypoxia-inducible factor-1 α (HIF-1 α) in myocardial infarction rats and the role of protein kinase C (PKC) in signal pathway of hypoxia-inducible factor-1 α gene expression. **Methods**

32 healthy male Wistar rats were divided into four groups: ischemic preconditioning group, simple myocardial infarction group, ischemic preconditioning plus protein kinase C inhibitor group and sham-operation group. Rats in treated groups received ligation of the proximal left anterior descending coronary artery to induce acute myocardial infarction. The sham-operation group did not take ligation of coronary artery. In ischemic preconditioning plus PKC inhibitor group, rats were injected with the protein kinase C inhibitor (chelerythrine 5 mg/kg iv). After 1 day of operation, rats were killed.

Results The infarct size in ischemic preconditioning group decreased significantly than that in ischemic preconditioning plus protein kinase C inhibitor group and simple myocardial infarction group ($P < 0.01$). The hypoxia-inducible factor-1 α mRNA gene expression increased in ischemic preconditioning group more than that in ischemic preconditioning plus protein kinase C inhibitor group and simple myocardial infarction group. Hypoxia-inducible factor-1 α protein expression had the same change. **Conclusions** Hypoxia-inducible factor-1 α play a protective role in ischemic preconditioning; protein kinase C is the important signal pathway of hypoxia-inducible factor-1 α gene expression.

Murry等^[1]于 1986年因为发现反复短暂的心

肌缺血再灌注可以缩小心肌梗死面积、保护心肌的收缩和舒张功能而提出心肌缺血预适应 (ischemic preconditioning, IP) 这一概念。虽然 IP 现象已得到大家的共识, 但其确切机制尚不完全明了。鉴于缺血时缺氧诱导因子 1 α (hypoxia inducible factor-1 α , HIF-1 α) 的表达是引发各种缺氧应激蛋白表达的转

[收稿日期] 2008-09-03 [修回日期] 2008-10-18

[基金项目] 辽宁省自然科学基金 (20062106)

[作者简介] 牛铁生, 博士, 副教授, 硕士研究生导师, 研究方向为冠心病的基因治疗, 联系电话为 024-25944351 或 13998842337, E-mail 为 syniut@yahoo.com.cn; 齐国先, 教授, 博士研究生导师, 研究方向为冠心病的防治; 付鹏, 博士, 讲师, 研究方向为冠心病的基础与临床。

录因子,在缺血的适应性反应中起核心作用,因而可以设想缺血预处理可能是通过 HIF-1 α 表达及其促进下游相关基因的转录和表达来发挥保护效应的。而蛋白激酶 C (protein kinase C, PKC) 的信号传导对缺血预适应后急性心肌梗死 HIF-1 α 表达有何影响尚不十分清楚。基于此,本研究观察缺血预适应后急性心肌梗死 HIF-1 α 表达的变化及 PKC 的信号传导作用。

1 材料与方法

1.1 实验动物及实验试剂

雄性 Wistar 大鼠 32 只, 12~14 周龄, 体重 250~350 g 由中国医科大学附属盛京二院动物部提供。将实验分为 4 组, 缺血预适应组 (IP 组)、单纯急性心肌梗死组 (MI 组)、缺血预适应加 PKC 抑制剂组 (IP+I 组) 和假手术组。Chelerythrine 购自 Takara 公司, Trizole 购自 Gibco 公司, 逆转录试剂盒购自 Sigma 公司, PCR 引物由上海生工生物工程技术服务有限公司合成, HIF-1 α 、HO-1 单抗购自武汉博士德公司, 免疫组织化学染色试剂盒由武汉博士德公司提供。

1.2 心肌梗死模型建立

采用文献 [2] 方法结扎左前降支建立心肌梗死模型。缺血预适应组结扎左前降支 5 min 后松开套管, 反复 3 次, 然后结扎左前降支。缺血预适应加 PKC 抑制剂组预适应前 10 min 静脉注射 KPC 抑制剂白屈菜季铵碱 5 mg/kg 然后结扎左前降支。假手术组不结扎左前降支。

1.3 心肌梗死面积测量

24 h 处死大鼠后迅速取心脏, 去除左、右心房及右心室, 冲洗, 4% 多聚甲醛溶液固定, 沿左心室长轴由心尖至心底做横断厚切片, 将左心室分为 6 块, 石蜡包埋后行 5 μ m 切片, HE 染色, HE 染色后心肌梗死组织与正常组织交界明显, 心肌梗死组织心肌纤维溶解断裂, 细胞淡染, 大量炎性细胞浸润。染色心肌切片采用多媒体彩色病理图文分析系统进行图像分析, 自动测量每层心肌梗死面积占该层心肌总面积的百分比, 计算总心肌梗死面积占左心室心肌总面积的百分比。

1.4 逆转录聚合酶链反应测定缺氧诱导因子 1 α mRNA 和血管内皮生长因子 mRNA 的表达

Trizole 液提取总 RNA, 操作均按说明书进行。紫外分光光度计 (A₂₆₀/A₂₈₀) 检测 RNA 纯度。逆转录反应: 总 RNA 1 μ L (1 g/L), 5 \times MMLV Buffer 2

μ L, dNTP Mixture 0.5 μ L, Oligo dT Primer 0.5 μ L, RNase Inhibitor 0.25 μ L, MMLV RTase 0.25 μ L, RNase Free H₂O 0.5 μ L, 50 $^{\circ}$ C 反应 10 min。合成的 cDNA 在 -20 $^{\circ}$ C 保存用于 PCR。HIF-1 α 上游引物: 5'-GGT GCT AAC AGA TGA TGG TGA C-3', 下游引物: 5'-GGC TCA TAA CCC ATC AAC T-3', 扩增产物片段长度为 500 bp。 β -actin 为内参照, 上游引物: 5'-AAG AGA GGC ATC CTC ACC CT-3', 下游引物: 5'-TAC ATG GCT GGG GTG TTG AA-3', 扩增产物片段长度为 208 bp。血管内皮生长因子 (vascular endothelial growth factor, VEGF) 上游引物: 5'-CAA TGA TGA AGC CCT GGA GTG-3'; 下游引物: 5'-GTC TGC GGA TCT TGG ACA AAC-3', 扩增产物片段长度为 537 bp。PCR 扩增: PCR 反应体系 25 μ L, 加入 cDNA 2 μ L, cDNA Dilution Buffer 8 μ L, 2 \times RealTime RT-PCR Mix 12.5 μ L, dH₂O 0.5 μ L。扩增条件为 94 $^{\circ}$ C 预变性 30 s, 94 $^{\circ}$ C 变性 10 s, 60 $^{\circ}$ C 退火 1 min, 68 $^{\circ}$ C 延伸 1 min, 30 次循环; 68 $^{\circ}$ C 延伸 7 min, 4 $^{\circ}$ C 保存。采用自动电泳凝胶成像分析仪 (FluorSIM Multimager, BIORAD 公司) 及图像分析软件 (PDQuest, BIORAD 公司) 对电泳条带进行灰度分析, 以 β -actin 作为内参照, 计算 HIF-1 α mRNA 相对表达值及 VEGF mRNA 相对表达值。

1.5 蛋白质印记分析

各组心肌组织用裂解缓冲液提取总蛋白, 用 Bradford 方法测定蛋白浓度。等量蛋白质分别采用 12% SDS 或 5% SDS 聚丙烯酰胺凝胶垂直电泳进行分离, 然后转至醋酸纤维滤膜上, 室温下摇动封闭 (TBST+5% 脱脂奶粉) 1 h, 经洗膜后, 加入一抗 (1:500 稀释), 4 $^{\circ}$ C 过夜, 室温下洗膜后加入二抗 (1:1000 稀释), 最后用化学发光底物进行发光显迹。均以 GAPDH 为内参, 在自动电泳凝胶扫描仪上分析结果。

1.6 血管内皮生长因子含量测定

术前术后大鼠眶静脉采血 0.5 mL, 用 VEGF 试剂盒测定 VEGF 含量。

1.7 统计学方法

所有资料采用 $\bar{x} \pm s$ 表示。组内前后时间点比较采用配对 t 检验, 不同实验组资料间的比较采用独立样本 t 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 缺氧诱导因子 1 α 的表达

缺血预适应组 HIF-1 α 的阳性表达 (棕色颗粒)

明显增加,假手术组无明显表达,缺血预适应加 PKC 抑制剂组 HIF-1 α 表达比缺血预适应组明显减少(图 1)。

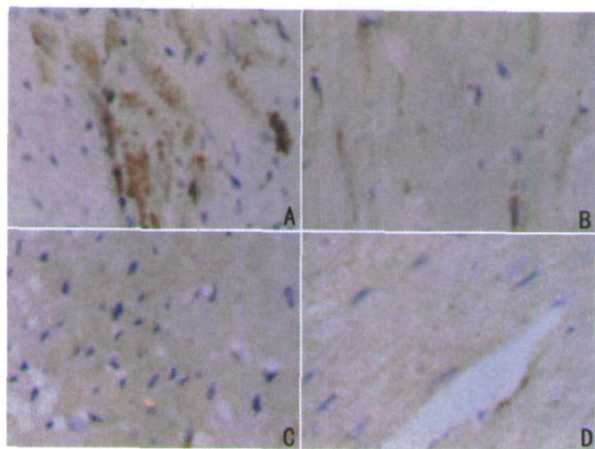


图 1 免疫组织化学染色 A 为缺血预适应组, B 为心肌梗死组, C 为缺血预适应加 PKC 抑制剂组, D 为假手术组。

2.2 缺氧诱导因子 1 α 和血管内皮生长因子 mRNA 的表达

缺血预适应组 HIF-1 α mRNA 表达比心肌梗死组及缺血预适应加 PKC 抑制剂组明显增加 ($P < 0.01$), 假手术组无明显表达, 缺血预适应加 PKC 抑制剂组比心肌梗死组 HIF-1 α mRNA 表达差异无显著性 ($P > 0.05$, 图 2, 图 3 和表 1)。

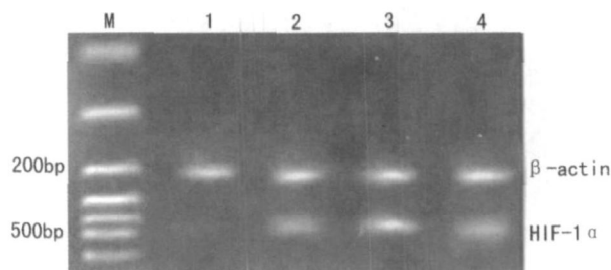


图 2 缺氧诱导因子 1 α mRNA 表达 1 为假手术组, 2 为心肌梗死组, 3 为缺血预适应组, 4 为缺血预适应加 PKC 抑制剂组。

2.3 缺氧诱导因子 1 α 和血管内皮生长因子蛋白的表达

缺血预适应组 HIF-1 α 蛋白表达比心肌梗死组及缺血预适应加 PKC 抑制剂组明显增加 ($P < 0.01$), 假手术组无明显表达, 缺血预适应加 PKC 抑制剂组比心肌梗死组 HIF-1 α 蛋白表达差异无显著性 ($P > 0.05$, 图 4, 图 5 和表 2)。

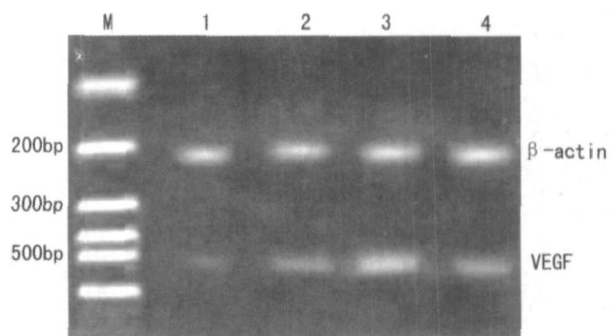


图 3 血管内皮生长因子 mRNA 的表达 1 为假手术组, 2 为心肌梗死组, 3 为缺血预适应组, 4 为缺血预适应加 PKC 抑制剂组。

表 1 缺氧诱导因子 1 α 和血管内皮生长因子 mRNA 的表达 ($\bar{x} \pm s$)

分组	HIF-1 α mRNA	VEGF mRNA
假手术组	0.243 \pm 0.029 ^a	0.318 \pm 0.022 ^a
MI 组	0.549 \pm 0.037 ^a	0.778 \pm 0.034 ^a
IP 组	0.812 \pm 0.039	1.201 \pm 0.069
IP+I 组	0.598 \pm 0.036 ^a	0.812 \pm 0.042 ^a

a 为 $P < 0.01$, 与 IP 组比较。

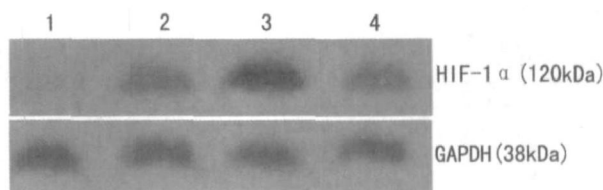


图 4 缺氧诱导因子 1 α 蛋白的表达 1 为假手术组, 2 为心肌梗死组, 3 为缺血预适应组, 4 为缺血预适应加 PKC 抑制剂组。

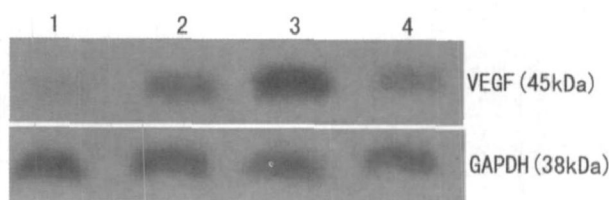


图 5 血管内皮生长因子蛋白的表达 1 为假手术组, 2 为心肌梗死组, 3 为缺血预适应组, 4 为缺血预适应加 PKC 抑制剂组。

2.4 血管内皮生长因子含量

假手术组术前术后 VEGF 含量无明显变化 ($P > 0.05$), 其余 3 组术后 VEGF 含量分别比术前明显增加 ($P < 0.01$)。缺血预适应组术后 VEGF 含量比心肌梗死组及缺血预适应加 PKC 抑制剂组明显增加 ($P < 0.01$), 缺血预适应加 PKC 抑制剂组比心肌梗死组术后 VEGF 含量无明显变化 ($P > 0.05$, 表 3)。

表 2 缺氧诱导因子 1 α 和血管内皮生长因子蛋白的表达 ($\bar{x} \pm s$)

分 组	HIF-1 α 蛋白	VEGF 蛋白
假手术组	0.224 \pm 0.031 ^a	0.321 \pm 0.028 ^a
M I组	0.562 \pm 0.049 ^a	0.727 \pm 0.044 ^a
IP组	0.823 \pm 0.038	0.612 \pm 0.042 ^a
IP+ I组	1.272 \pm 0.030	0.822 \pm 0.036 ^a

a为 $P < 0.01$, 与缺血预适应组比较。

表 3 术前和术后各组血中血管内皮生长因子的含量 (ng/L)

时 间	IP组	M I组	IP+ I组	假手术组
术前	0.8 \pm 0.3	0.9 \pm 0.5	0.7 \pm 0.3	0.8 \pm 0.2
术后	6.3 \pm 0.6 ^{ab}	3.0 \pm 0.5 ^a	3.6 \pm 0.4 ^a	0.9 \pm 0.3

a为 $P < 0.01$, 与术前比较, b为 $P < 0.01$, 与其他 3组比较。

2.5 心肌梗死面积

缺血预适应组心肌梗死面积为 $24.18\% \pm 2.25\%$, 明显小于缺血预适应加 PKC 抑制剂组的 $38.11\% \pm 2.94\%$ 和心肌梗死组的 $37.73\% \pm 3.32\%$, 差异有显著性 ($P < 0.01$), 缺血预适应加 PKC 抑制剂组与心肌梗死组差异无显著性。

3 讨论

近年来的研究表明, IP 存在双时相性: 早期阶段或经典预适应发生在缺血的即刻, 持续 2~3 h, 晚期阶段在首次缺血后 12~24 h 出现。HIF-1 α 是心肌缺血后一系列分子反应的启动因子之一, 也可作为心肌急性缺血的时间标志。虽然 IP 现象已得到大家的共识, 但其确切机制, 特别是 IP 引发的细胞内信号转导机制尚不完全明了, 对其作用机制的探讨, 也始终是 90 年代以来心肌保护研究领域的一个热点。较早一直认为 IP 是通过保护内皮细胞功能和减轻中性粒细胞介导的炎症反应发挥其保护作用。随着研究的不断深入, 对其机制的认识逐渐形成了较为系统的轮廓。心肌 IP 并不依赖于心肌缺血区侧支循环的增加, 在无侧支循环的动物模型上也已证实心肌 IP 效应的存在。预适应可能是通过刺激心脏合成并释放内源性心肌保护物质, 随后激活细胞内信号转导途径而发挥保护作用。其途径主要分为 3 个环节: (1) 内源性触发物质的释放并作用细胞膜; (2) 激活细胞内信号转导途径; (3) 产生效应物发挥作用。其中每一个环节都包含许多物质的参与, 它们的作用可能相互独立, 也可能相互交叉影响。

缺氧诱导因子 (HIF-1 α) 是细胞在缺氧条件下产生的核转录因子。在心肌缺氧条件下, 细胞核产生 HIF-1 α 与靶基因低氧反应元件的 HIF-1 α 结合点结合, 促进其转录, 引起细胞对缺氧的一系列反应^[3,4]。目前认为 IP 最为有效的内源性保护机制, 但其机理十分复杂, 涉及到众多内源性保护蛋白的参与, 究竟哪一种是关键性物质, 至今尚不明确。鉴于缺血时 HIF-1 α 的表达是引发各种缺氧应激蛋白表达的转录因子, 在缺血的适应性反应中起核心作用, 被认为是内源性保护机制的始动因子和共同途径, 因而可以设想缺血预处理可能是通过 HIF-1 α 表达及其促进下游相关基因的转录和表达来发挥保护效应的^[5,6]。已有实验证据表明 HIF-1 α 在心肌缺血预处理保护效应中均起着关键的作用^[7-9]。本研究显示, 缺血预适应组的 HIF-1 α mRNA 表达明显增加, 比假手术组、M I 组、IP+ I 组差异有显著性, 其靶基因 VEGF mRNA 也明显增加, 其蛋白表达有相同的变化。IP 组心肌梗死面积明显小于 IP+ I 组和 M I 组, 差异有显著性, 表明 HIF-1 α 参与了缺血预处理的心肌保护作用, 并可能是内源性保护机制的始动因子。

HIF-1 α 的激活信号转导途径以受体后多种蛋白激酶为主, 包括 PKC 和 MAPK 等。在 IP 时释放的内源性活性物质与相应的 G 蛋白偶联受体结合后, 激活磷脂酶, 分解二磷脂酰肌醇生成三磷酸肌醇 (IP₃) 和二酰基甘油 (DAG), 后者进一步激活 PKC 等通过磷酸化过程启动细胞内信号转导途径。PKC (包括各种亚型) 广泛存在于细胞, 能为许多效应物、生长因子、激素和神经递质激活。心肌存有多种不同的 PKC 亚型, 受体激活的 PKC 亚型至少是介导预适应保护作用的细胞内递质之一。目前尚不确定不同亚型 PKC 是否调节预适应保护作用的不同方面 (pH、生存能力)。但研究发现, 用不同预适应药物进行预处理可激活不同的 PKC, 产生不同方面的保护功能, 其中 PKC δ 可能参与 pH 和生存能力保护, 而 PKC η 则可能与心肌功能保护有关。另外一种假设认为, PKC 依赖的心肌保护与 PKC 从胞浆移位到细胞膜和细胞骨架有关。理由是秋水仙碱封闭微管活动 (与 PKC 移位有关), 阻断预适应保护作用。Ping 等^[10]用定量免疫印迹法证实了兔心肌缺血再灌注后 PKC ϵ 和 PKC η 同工酶的选择性移位。Liu 等^[11]在经过预适应处理的心肌细胞中, 用肽类阻滞剂阻断 PKC 亚型与各自受体的结合, 发现抗 PKC ϵ 肽阻断保护效果, 而抗 PKC β 、PKC δ 和 PKC η 肽对保护效果无影响。他们认为, PKC ϵ 同工酶单

独调节预适应的保护效果。PKC在缺血预处理的早期和晚期保护中都具有重要作用,研究证实,应用外源性 DAG 类似物豆蔻酸-12 佛波醇-13 乙醇脂(PMA)和 1-油酰-2-乙酰甘油的灌注能产生缺血预处理一样的保护作用,而使用 PKC 抑制剂白屈菜季铵碱可以抑制 G 蛋白,降低心肌缺血预适应^[12]。本研究显示,缺血预适应基础上使用 PKC 抑制剂白屈菜季铵碱静脉注射 5 mg/kg 后, HIF-1 α mRNA 表达明显减少,其靶基因 VEGF mRNA 也明显减少,其蛋白表达有相同的变化。说明 PKC 抑止剂 chelerythrine 阻抑了心肌缺血预适应对 HIF-1 α 的表达作用, HIF-1 α 的表达是依赖于 PKC 激活的,表明 PKC 是心肌缺血预适应中 HIF-1 α 表达的重要信号传导通路。Li 等^[13] 也认为 HIF-1 α 表达可能是通过 PKC 介导的,同本研究结果一致。但 HIF-1 α 表达的信号传导通路非常复杂,涉及众多因子,其具体机制仍不十分清楚,有待进一步的研究。

[参考文献]

- [1] Murry CE, Jennings RB, Weintraub KA. Preconditioning with ischemia: a delay of lethal cell injury in ischemic myocardium [J]. *Circulation*, 1986, **74** (5): 1124-1136
- [2] Zingarelli R, Hake PW, O'Connor M, et al. Differential regulation of activator protein-1 and heat shock factor in myocardial ischemia and reperfusion injury: role of poly(ADP-ribose) polymerase-1 [J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2004, **286** (4): H1408-1415
- [3] 牛铁生, 齐国先, 付鹏, 等. 缺氧诱导因子 1 α 对大鼠心肌缺血再灌注损伤的影响 [J]. 中国动脉硬化杂志, 2007, **15** (8): 595-598
- [4] 马雅鑫, 宋剑南. 缺氧诱导因子——一种缺氧条件下被激活的转录因子 [J]. 中国动脉硬化杂志, 2007, **15** (7): 528-528
- [5] Levy AP, Levy NS, Wegner S, et al. Transcriptional regulation of the rat vascular endothelial growth factor gene by hypoxia [J]. *Biol Chem*, 1995, **270** (22): 13333-13340
- [6] Kilo I, DuL, Sullivan CC, et al. Hypoxia-inducible factor 1- α reduces infarction and attenuates progression of cardiac dysfunction after myocardial infarction in the mouse [J]. *Am Coll Cardiol* 2005, **46** (11): 2116-124
- [7] Xi L, Taher M, Yin C, et al. Cobalt chloride induces delayed cardiac preconditioning in mice through selective activation of HIF-1 α and AP-1 and NOS signaling [J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2004, **287** (6): H2369-375
- [8] Lee HT, Emala CW. Preconditioning and adenosine protect human proximal tubule cells in an in vitro model of ischemic injury [J]. *Am J Soc Nephrol* 2002, **13** (11): 2753-761
- [9] Ockaili R, Natarajan R, Salhoum F, et al. HIF-1 activation attenuates postischemic myocardial injury: role for heme oxygenase-1 in modulating microvascular chemokine generation [J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2005, **289** (2): H542-H548
- [10] Ping P, Zhang J, Qiu Y, et al. Ischemic preconditioning induces selective translocation of protein kinase C isoforms ϵ and η in the heart of conscious rabbits without subcellular redistribution of total protein kinase C activity [J]. *Circ Res* 1997, **81** (3): 404-414
- [11] Liu GS, Cohen MV, Mochly-Rosen D, et al. Protein Kinase C- ϵ is responsible for the protection of preconditioning in rabbit cardiomyocytes [J]. *Mol Cell Cardiol* 1999, **31** (10): 1937-948
- [12] Tang XL, Kodani E, Takano H, et al. Protein tyrosine kinase signaling is necessary for NO donor-induced late preconditioning against myocardial stunning [J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2003, **284** (4): H1441-448
- [13] Li JP, Wang EF, Shamit Dutta, et al. Protein kinase C-mediated modulation of HIF-1 expression by the homeodomain protein CDP/Cut/Cux [J]. *Mol Cell Biol* 2007, **27** (20): 7345-355

(此文编辑 李玲玲)