

低氧诱导因子 1 α 与血管钙化关系的研究进展

冉茂霞 综述, 欧三桃 审校

(西南医科大学附属医院肾病内科, 四川省泸州市 646000)

[关键词] 低氧诱导因子 1 α ; 血管平滑肌细胞; 血管钙化

[摘要] 低氧诱导因子 1 α (HIF-1 α)是细胞在低氧环境下产生的高度特异性核转录因子,在骨形成及骨再生修复中发挥重要作用。血管钙化是一个与骨形成类似、主动调节的复杂生物学过程,是心血管死亡率增加的主要危险因素,但其发生机制尚未完全阐明。新近的研究表明 HIF-1 α 可通过调节血管平滑肌细胞(VSMC)成骨样分化、糖代谢途径、炎症、Notch 信号通路等机制参与血管钙化。本文就 HIF-1 α 与血管钙化的关系作一综述。

[中图分类号] R341

[文献标识码] A

Research progress on the relationship between hypoxia inducible factor-1 α and vascular calcification

RAN Maoxia, OU Santao

(Department of Nephrology, the Affiliated Hospital of Southwest Medical University, Luzhou, Sichuan 646000, China)

[KEY WORDS] hypoxia inducible factor-1 α ; vascular smooth muscle cells; vascular calcification

[ABSTRACT] Hypoxia inducible factor-1 α (HIF-1 α) is a highly specific nuclear transcription factor produced by cells in hypoxic environment, which plays an important role in the bone formation and bone regeneration. Vascular calcification is a complex biological process similar to bone formation and actively regulated. It is a major risk factor for increased cardiovascular mortality, but its mechanism has not been fully elucidated. Recent studies have shown that HIF-1 α may be involved in vascular calcification through the mechanism such as osteogenic differentiation of vascular smooth muscle cells (VSMC), glycometabolism pathway, inflammation and Notch signaling pathway. This paper reviews the relationship between HIF-1 α and vascular calcification.

血管钙化是一个主动调节、多因素参与、类似于骨矿化作用的复杂动态生物学过程,是慢性肾脏病(chronic kidney disease, CKD)、糖尿病血管病变、高血压、动脉粥样硬化、血管损伤和衰老等普遍存在的共同病理变化^[1],已成为心血管死亡率和总死亡率增加的主要危险因素。随着社会老龄化增加以及 CKD、糖尿病、高血压等发病率的增加,血管钙化的发病率也越来越高。因此,对血管钙化的机制研究、有效预防及治疗靶点的探索显得尤为重要。近年来较多研究表明低氧诱导因子 1 α (hypoxia inducible factor-1 α , HIF-1 α)可能通过血管平滑肌细胞(vascular smooth muscle cells, VSMC)收缩表型向成骨样表型转分化、糖代谢途径、炎症、细胞自噬及细胞凋亡等复杂机制参与血管钙化的发生发展,并在

其中扮演着重要角色,因此本文就 HIF-1 α 与血管钙化的密切关系作一综述。

1 HIF-1 α 的结构、功能及调控

1.1 HIF-1 α 的结构

HIF-1 由 α 和 β 亚基组成,是低氧环境下细胞适应性反应的关键调控因子,表达于所有有核细胞中^[2]。HIF-1 α 是 HIF-1 的活性及功能亚基,由 826 个氨基酸组成,分子量约 120 kDa,其结构复杂(图 1),含有 bHLH/PAS 结构域、氧依赖性降解结构域(oxygen-dependent degradation domain, ODDD)、抑制结构域(inhibitory domain, ID)和两个反式激活域(transactivation domain, AD)^[3]。HIF-1 β 是 HIF-1

[收稿日期] 2018-10-01

[修回日期] 2018-11-26

[基金项目] 泸州市科技计划项目[2016-S-67(9/23)]

[作者简介] 冉茂霞,硕士研究生,研究方向为糖尿病肾病与血管钙化,E-mail 为 864497527@qq.com。通信作者欧三桃,博士,主任医师,教授,研究方向为糖尿病肾病与血管钙化,E-mail 为 ousantao@163.com。

的结构性亚基,在细胞核中稳定表达,不受氧浓度影响。

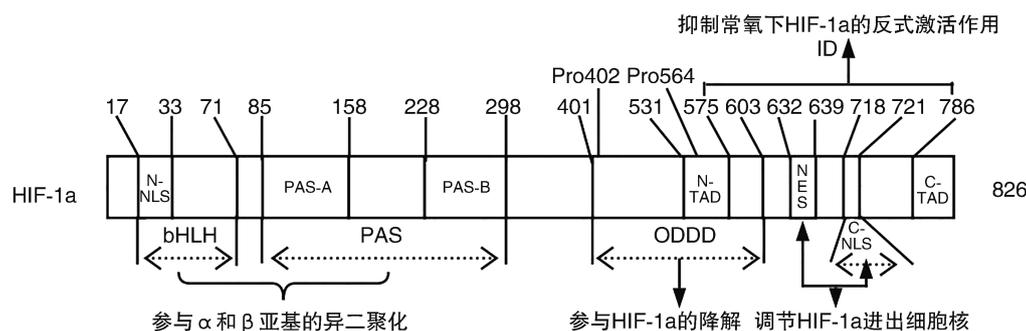


图 1. HIF-1 α 的结构示意图

Figure 1. Structural schematic diagram of HIF-1 α

1.2 HIF-1 α 的功能

HIF-1 α 可调节 100 种以上目标基因,其生物学功能亦是复杂多样的。有证据显示,HIF-1 α 通过上调血管内皮生长因子 A (vascular endothelial growth factor A, VEGFA),促进血管生成,在成骨样分化、成软骨样分化、骨形成发育中发挥重要的作用^[4-7]。HIF-1 α 活化后可激活诱导型一氧化氮合酶 (inducible nitric oxide synthase, iNOS)、核因子 κ B (nuclear factor- κ B, NF- κ B),从而诱导炎症的发生发展^[2,8]。此外,HIF-1 α 还可介导细胞自噬^[9-10]及细胞凋亡^[11],并且在糖代谢^[12-13]及红细胞生成中扮演着重要角色。

1.3 HIF-1 α 的调控

HIF-1 α 水平受多因素调控。在合成阶段,HIF-1 α 受细胞因子(如 TNF- α)、microRNA^[14]等调节。在降解阶段由氧依赖性和非氧依赖性调控。正常氧浓度下,HIF-1 α 的 ODDD 上第 402 和 564 位脯氨酸残基被脯氨酸羟化酶 (prolyl hydroxylase domain, PHD) 羟化,羟化后的脯氨酸被 VHL-E3 泛素连接酶识别,导致 HIF-1 α 泛素化,并经蛋白酶体途径迅速降解^[4],半衰期约为 5 min^[15]。而在缺氧状态下,PHD 活性丧失,HIF-1 α 降解减少,最终导致 HIF-1 α 增加。此外,活性氧 (reactive oxygen species, ROS) 可抑制 PHD 活性,进而使 HIF-1 α 增加^[16]。非氧依赖性调控中,变价金属离子、小泛素样修饰蛋白 1 可稳定并激活 HIF-1 α ^[17-18]。

2 血管钙化概述

近年来认为血管钙化是一个类似于骨发育代谢和软骨形成、多因素参与、可调控的主动生物学

过程,主要包括血管内膜钙化、中膜钙化、瓣膜钙化和钙化防御等。血管钙化是 CKD 患者心血管事件的首要原因,显著增加了充血性心力衰竭、收缩性高血压、心肌梗死等不良临床事件的发生。然而其发病机制错综复杂,目前尚未完全明确,目前认为可能与以下机制有关:①系统性炎症及局部炎症;②各种诱导物如氧化脂质、糖基化终末产物 (advanced glycosylation end products, AGE)、磷酸盐、尿毒症毒素、细胞因子、ROS 等刺激 VSMC 向成骨样表型转化^[19];③体内促/抗钙化因子失衡,即促钙化因子(如 BMP-2、RUNX2 等)表达上调,钙化抑制因子(如胎球蛋白 A、骨桥蛋白等)表达下调;④细胞凋亡^[20];⑤细胞自噬^[21];⑥基因突变(如 ENPP1 和 ABCC6)也可导致遗传性血管钙化疾病^[19]。此外,FGF-23/Klotho 轴、BMP 信号通路、Notch 信号通路、wnt/ β -catenin 信号通路^[22]、microRNA^[23]等也参与了血管钙化。这些机制相互交错形成复杂的网络,促进病理状态下血管钙化的发生发展。

3 HIF-1 α 与血管钙化

3.1 HIF-1 α 与血管内膜钙化

血管内膜钙化与动脉粥样硬化 (atherosclerosis, As) 密切相关。动脉粥样硬化性钙化 (atherosclerotic calcification, AC) 出现较早,可在亚临床 As 的早期过程中发生,在脂质条纹形成后即可检测到钙化的存在。研究显示,在 As 初期的炎症环境中,血管紧张素 II、TNF- α 、IL-1、轻度氧化型低密度脂蛋白 (mildly oxidized low density lipoprotein, mox-LDL) 等可激活内皮细胞 HIF-1 α ^[2,24], HIF-1 α 又可上调

iNOS、ROS、NF- κ B、单核细胞趋化蛋白 1 (monocyte chemoattractant protein, MCP-1) 等表达, 进而促进 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 等炎症因子的产生以及巨噬细胞向 M1 促炎型极化, 形成“炎症-HIF-1 α -炎症”恶性循环(图 2), 扩大炎症作用, 导致内皮细胞功能障碍。此外, HIF-1 还可通过上调 VEGF、VEGFR 促进病变处新生血管形成, 增加血流动力学不稳定性, 加重 As 斑块病变。而 As 斑块病变的加重可导致组织缺氧加重, 增强 HIF-1 α 的表达和活化, 如此形成恶性循环, 进一步促进 As 的发生发展^[2]。Gross 等^[25]对 23 例 CKD 患者及 23 例不伴有肾脏病的冠状动脉粥样硬

化患者尸检发现, CKD 组冠状动脉斑块钙化的例数明显多于无肾脏病组, 且其冠状动脉内膜 HIF-1 α 表达明显增加。Li 等^[26]通过对 405 例无心血管疾病症状的 2 型糖尿病患者的研究发现, 冠状动脉钙化积分 (coronary artery calcification scores, CACS) 较高的患者血清 HIF-1 α 水平明显增加, 且 HIF-1 α 水平与 IL-6、CRP、CACS 呈显著正相关。此外, 多元 Logistic 回归及 ROC 曲线分析显示, 血清 HIF-1 α 水平能独立预测 CAC 的存在及其严重程度, 表明 HIF-1 α 可能是 CAC 的独立预测因子及危险因素。且 HIF-1 α 还可与炎症因子相互作用, 参与糖尿病患者的血管钙化。

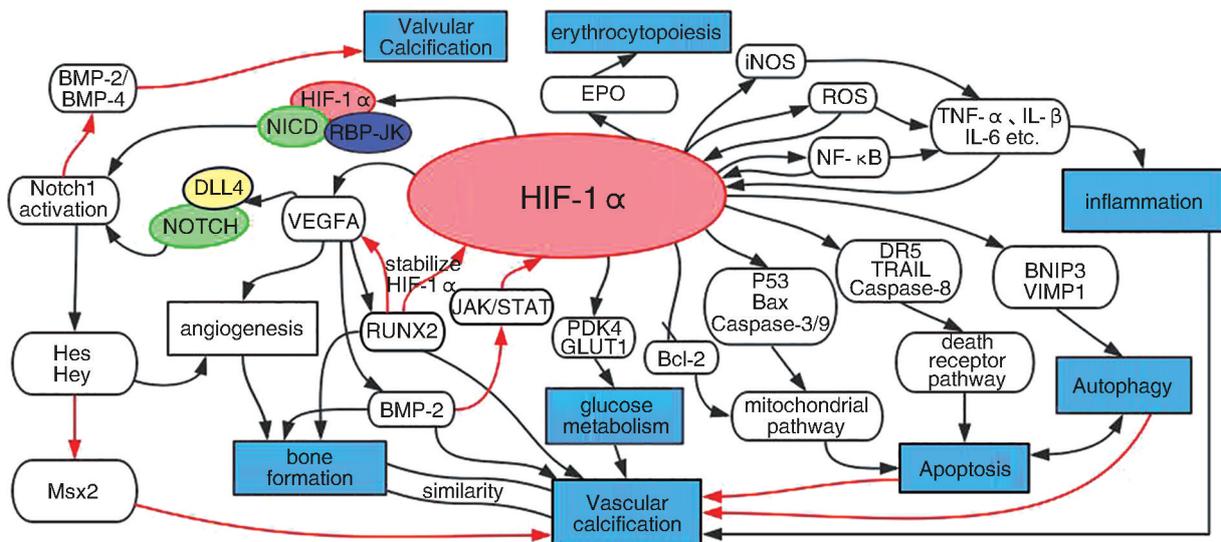


图 2. HIF-1 α 参与血管钙化的相关机制示意图

Figure 2. The schematic diagram of the mechanism of HIF-1 α involved in vascular calcification

3.2 HIF-1 α 与血管中膜钙化

中膜钙化又称 Monckeberg 硬化, 可与 As 病变共同存在, 也可独立于 As, 常见于 CKD、糖尿病、高血压、衰老等, 其中心环节是 VSMC 的成骨样分化。研究显示, HIF-1 α 通过促进 VSMC 成骨样分化、调节糖代谢途径及炎症等机制参与血管钙化(图 2)。

3.2.1 HIF-1 α 可促进 VSMC 成骨样分化参与血管钙化 Moka 等^[27]研究发现, 在 5/6 肾切除联合高磷高钙饮食诱导的 CKD 血管钙化大鼠模型中, 钙化的主动脉 VSMC 相关标志物 ACTA2、SM22 表达减少, 而 HIF-1 α 及其靶基因 VEGFA mRNA、葡萄糖转运体 1 (glucose transporter type 1, GLUT1) mRNA 表达明显增加。HiPO₄ 刺激 VSMC 后, 其钙含量、HIF-1 α 及其靶基因、BMP-2、RUNX2 的表达较对照组明显升高, 联合去铁胺或低氧刺激后则表达升高

更明显; 而特异性失活 HIF-1 α 后, 其钙含量、BMP-2、RUNX2 的表达较对照组无明显变化, 表明 HiPO₄ 可通过 HIF-1 α 信号通路介导 VSMC 成骨样分化和钙化。Idelevich 等^[12]在 1, 25-(OH)₂ VitD₃ 诱导的血管钙化大鼠模型中发现, 钙化的主动脉上骨钙素 (bone Gla protein, BGP)、HIF-1 α 、RUNX2、Sox9 表达升高, 且在 BGP 诱导的 VSMC 钙化中, HIF-1 α 、RUNX2、Sox9 表达也明显增加。同时, 还观察到 HIF-1 α 的诱导激活剂 CoCl₂ 刺激 VSMC 后 RUNX2 表达显著升高, α -SMA 表达降低, 而利用 siRNA 抑制 HIF-1 α 表达后则逆转了这一作用, 表明 HIF-1 α 参与了 VSMC 的成骨样分化和血管钙化。此外, 血管壁上的一些骨祖细胞 (如骨髓间充质干细胞、血管间充质细胞、上皮-间充质转化的内皮细胞等) 也参与了血管钙化的发生发展^[19], 研究也表明 HIF-

1 α 可促进体外培养的骨髓间充质干细胞成骨样分化^[28],提示 HIF-1 α 可能通过促进血管壁上的骨祖细胞成骨样分化而参与血管钙化。

3.2.2 HIF-1 α 通过糖代谢途径参与血管钙化

丙酮酸脱氢酶激酶 4 (pyruvate dehydrogenase kinase 4, PDK4) 是调节丙酮酸脱氢酶复合体活性的关键酶,在丙酮酸氧化和体内葡萄糖平衡的维持中发挥重要作用。低氧状态下, HIF-1 α 可诱导 PDK4 的表达^[13],而 PDK4 可通过氧化应激、细胞凋亡等机制导致血管钙化^[29]。Zhu 等^[13]发现 AGE 可以增强 VSMC 中 HIF-1 α 、VGEFA、GLUT1、PDK4、RUNX2、ALP 的表达,稳定 HIF-1 α 可显著增加 PDK4 的表达,表明 HIF-1 α /PDK4 途径可能是 AGE 诱导血管钙化的机制之一。在 1,25(OH)₂ VitD₃ 诱导的大鼠血管钙化模型中,主动脉 BGP、HIF-1 α 、磷酸果糖激酶 (phosphor fructo kinase, PFK) mRNA 表达显著升高, VSMC 经 BGP 干预后, HIF-1 α 、PFK、GLUT1、RUNX2、Sox9 及 ALP 的表达明显升高,抑制 HIF-1 α 的表达后可抵消 BGP 的上述作用,表明 BGP 可能通过增加 HIF-1 α 依赖的糖代谢,进而促进血管钙化^[12]。

3.2.3 HIF-1 α 通过炎症等其他途径参与血管钙化

CKD 患者由于贫血、微血管病变、线粒体功能障碍等机制导致机体往往处于低氧状态,而长期慢性缺氧使体内 HIF-1 α 的表达增加。研究显示, HIF-1 α 可上调 iNOS、激活 NF- κ B 信号、增加 ROS 产生,最终导致 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6、IL-2、蛋白激酶 B、丝裂原活化蛋白激酶 (mitogen-activated protein kinase, MAPK) 等表达增加,诱导炎症产生。而这些炎症相关因子如 TNF- α 、IL-1 β 、NF- κ B 及 ROS 又可上调 HIF-1 α 的表达,使炎症、氧化应激、HIF-1 α 形成复杂网络,相互促进^[2,8]。炎症与氧化应激相互协同促进血管钙化的发生发展,提示 HIF-1 α 可能通过炎症、氧化应激途径参与血管钙化。炎症可诱导 HIF-1 α 表达、激活 Notch1 信号通路,而 HIF-1 α 又可与 Notch1 胞内结构域 (notch intracellular domain, NICD) 直接结合,增强 RBP-JK 的表达^[4],进一步促进血管钙化^[30]。此外, HIF-1 α 还可通过腺病毒 E1B 19kDa 相互作用蛋白 3 (adenovirus E1B19 kDa interacting protein 3, BNIP3) 或液泡膜蛋白 1 (vacuole membrane protein 1, VIMP1) 途径参与细胞自噬^[9-10]、线粒体途径及死亡受体 (death receptor, DR) 途径诱导细胞凋亡^[11],而细胞凋亡及细胞自噬又是血管钙化发生发展的重要机制之一^[20-21],提示 HIF-1 α 可能通过诱导细胞凋亡及自噬进而在血管钙化中扮

演着重要角色,未来需要更多的研究以阐明其具体机制。

3.3 HIF-1 α 与瓣膜钙化

瓣膜钙化作为血管钙化的重要病理类型之一,其发生与炎症反应、氧化应激、机械应激相关,在钙化的早期阶段可有新生血管形成。Stephens 等^[31]对钙化的主动脉瓣研究发现, HIF-1 α 与骨化相关蛋白 BMP-2、S-100 共表达于主动脉瓣的钙化结节内,且与透明质酸的转换相关,提示低氧与透明质酸的稳态及主动脉钙化相关。Perrotta 等^[32]通过对 19 例钙化性主动脉瓣狭窄患者的研究发现,瓣膜钙化区 HIF-1 α 、VEGF 的表达较非钙化区更高,且钙化区周围有大量的新生血管形成,同时也有 HIF-1 α 、VEGF 的表达,提示在主动脉瓣病变过程中,复杂的基质结构重塑可能诱导瓣叶氧供减少,进而使 HIF-1 α 稳定,表达增加。此外, HIF-1 α 还可通过上调 VEGF 促进新生血管形成,进一步促进瓣膜钙化。研究显示, HIF-1 α 可与 NICD 结合,并上调 Notch 下游基因 RBP-JAK、Hes1、Hey1、Hey2 等的表达^[4]。而钙化的人心脏瓣膜间质细胞中 Notch1、BMP-4 表达升高^[33], Notch1 又可通过调节 BMP-2/BMP-4 的表达促进心脏瓣膜间质细胞成骨样转变,进而参与心脏瓣膜钙化的发生发展^[34],提示 HIF-1 α 可能通过活化 Notch 信号通路促进瓣膜钙化。

4 结 语

总之, HIF-1 α 的生物学功能复杂,受多种因子及信号通路的调节,并通过多种途径直接或间接参与 VSMC 成骨样分化及血管钙化的发生发展,有望成为血管钙化的独立危险因素、预测指标及防治靶点。然而, HIF-1 α 参与血管钙化的具体机制仍未完全明确,因此需要进一步探索 HIF-1 α 信号通路参与血管钙化的机制,进而为血管钙化的防治提供新思路和新靶点。

[参考文献]

- [1] 黄辉. 血管钙化的基础和转化研究的探索[J]. 中山大学学报 (医学科学版), 2017, 38(2): 184-188.
- [2] Jain T, Nikolopoulou EA, Xu Q, et al. Hypoxia inducible factor as a therapeutic target for atherosclerosis[J]. Pharmacol Ther, 2018, 183: 22-33.
- [3] 赵琛, 谭斐. 低氧诱导因子-1 激活的调节[J]. 生命科学, 2013, 25(1): 40-46.
- [4] Landor SK, Lendahl U. The interplay between the cellular hypoxic response and Notch signaling[J]. Exp Cell Res, 2017, 356(2):

- 146-151.
- [5] Liao J, Wei Q, Zou Y, et al. Notch signaling augments BMP9-induced bone formation by promoting the osteogenesis-angiogenesis coupling process in mesenchymal stem cells (MSCs)[J]. *Cell Physiol Biochem*, 2017, 41(5): 1905-1923.
- [6] Belmokhtar K, Bourguignon T, Worou ME, et al. Regeneration of three layers vascular wall by using BMP2-treated MSC involving HIF-1 α and Id1 expressions through JAK/STAT pathways[J]. *Stem Cell Rev*, 2011, 7(4): 847-859.
- [7] Pan W, Cao Z, Jia S, et al. Synergistic enhancement of bone regeneration by LMP-1 and HIF-1 α delivered by adipose derived stem cells[J]. *Biotechnol Lett*, 2016, 38(3): 377-384.
- [8] 邹荣军, 石婉婷, 陶俊, 等. HIF-1 α 调节糖尿病血管平滑肌成骨样变的研究进展[J]. *生理科学进展*, 2017(5): 370-375.
- [9] Wang X, Ribeiro M, Iracheta-Vellve A, et al. Macrophage-specific HIF-1 α contributes to impaired autophagic flux in non-alcoholic steatohepatitis[J]. *Hepatology*, 2018, DOI: 10.1002/hep.30215.
- [10] Rodríguez ME, Catrincio C, Ropolo A, et al. A novel HIF-1 α /VMP1-autophagic pathway induces resistance to photodynamic therapy in colon cancer cells[J]. *Photochem Photobiol Sci*, 2017, 16(11): 1631-1642.
- [11] Yin J, Ni B, Liao WG, et al. Hypoxia-induced apoptosis of mouse spermatocytes is mediated by HIF-1 α through a death receptor pathway and a mitochondrial pathway[J]. *J Cell Physiol*, 2018, 233(2): 1146-1155.
- [12] Idelevich AI, Rais Y, Monsonigo-Ornan E. Bone gla protein increases HIF-1 α -dependent glucose metabolism and induces cartilage and vascular calcification [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2011, 31(9): e55-71.
- [13] Zhu Y, Ma WQ, Han XQ, et al. Advanced glycation end products accelerate calcification in VSMCs through HIF-1 α /PDK4 activation and suppress glucose metabolism[J]. *Sci Rep*, 2018, 8(1): 13730.
- [14] Liu Y, Nie H, Zhang K, et al. A feedback regulatory loop between HIF-1 α and miR-21 in response to hypoxia in cardiomyocytes[J]. *FEBS Lett*, 2014, 588(17): 3137-3146.
- [15] Lee SH, Manandhar S, Lee YM. Roles of RUNX in hypoxia-induced responses and angiogenesis[J]. *Adv Exp Med Biol*, 2017, 962: 449-469.
- [16] Niecknig H, Tug S, Reyes BD, et al. Role of reactive oxygen species in the regulation of HIF-1 by prolyl hydroxylase 2 under mild hypoxia[J]. *Free Radic Res*, 2012, 46(6): 705-717.
- [17] Kim J, So D, Shin HW, et al. HIF-1 α upregulation due to depletion of the free ubiquitin pool[J]. *J Korean Med Sci*, 2015, 30(10): 1388-1395.
- [18] Han X, Wang XL, Li Q, et al. HIF-1 α Sumoylation affects the stability and transcriptional activity of HIF-1 α in human lens epithelial cells[J]. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*, 2015, 253(8): 1279-1290.
- [19] Demer LL, Tintut Y. Inflammatory, metabolic, and genetic mechanisms of vascular calcification[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2014, 34(4): 715-723.
- [20] Ponnusamy A, Sinha S, Hyde GD, et al. FTI-277 inhibits smooth muscle cell calcification by up-regulating PI3K/Akt signaling and inhibiting apoptosis[J]. *PLoS One*, 2018, 13(4): e0196232.
- [21] 蒲江, 欧三桃. 血管平滑肌细胞自噬与血管钙化关系的研究进展[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2017, 25(3): 321-324.
- [22] Jin X, Rong S, Yuan W, et al. High mobility group box 1 promotes aortic calcification in chronic kidney disease via the Wnt/ β -catenin pathway[J]. *Front Physiol*, 2018, 9: 665.
- [23] Nanoudis S, Pikilidou M, Yavropoulou M, et al. The role of microRNAs in arterial stiffness and arterial calcification. An update and review of the literature[J]. *Front Genet*, 2017, 8: 209.
- [24] Scholz CC, Taylor CT. Targeting the HIF pathway in inflammation and immunity[J]. *Curr Opin Pharmacol*, 2013, 13(4): 646-653.
- [25] Gross ML, Meyer HP, Ziebart H, et al. Calcification of coronary intima and media: immunohistochemistry, backscatter imaging, and x-ray analysis in renal and nonrenal patients[J]. *Clin J Am Soc Nephrol*, 2007, 2(1): 121-134.
- [26] Li G, Lu WH, Ai R, et al. The relationship between serum hypoxia-inducible factor 1 α and coronary artery calcification in asymptomatic type 2 diabetic patients [J]. *Cardiovasc Diabetol*, 2014, 13: 52.
- [27] Mokas S, Larivière R, Lamallice L, et al. Hypoxia-inducible factor-1 plays a role in phosphate-induced vascular smooth muscle cell calcification[J]. *Kidney Int*, 2016, 90(3): 598-609.
- [28] Li H, Liu D, Li C, et al. Exosomes secreted from mutant-HIF-1 α -modified bone-marrow-derived mesenchymal stem cells attenuate early steroid-induced avascular necrosis of femoral head in rabbit [J]. *Cell Biol Int*, 2017, 41(12): 1379-1390.
- [29] Ma WQ, Sun XJ, Wang Y, et al. Restoring mitochondrial biogenesis with metformin attenuates β -GP-induced phenotypic transformation of VSMCs into an osteogenic phenotype via inhibition of PDK4/oxidative stress-mediated apoptosis[J]. *Mol Cell Endocrinol*, 2018, DOI: 10.1016/j.mce.2018.08.012.
- [30] Gong C, Li L, Qin C, et al. The involvement of Notch1-RBP-Jk/Msx2 signaling pathway in aortic calcification of diabetic nephropathy rats[J]. *J Diabetes Res*, 2017, 2017: 8968523.
- [31] Stephens EH, Saltarrelli JG Jr, Balaoging LR, et al. Hyaluronan turnover and hypoxic brown adipocytic differentiation are colocalized with ossification in calcified human aortic valves [J]. *Pathol Res Pract*, 2012, 208(11): 642-650.
- [32] Perrotta I, Moraca FM, Sciangula A, et al. HIF-1 α and VEGF: Immunohistochemical profile and possible function in human aortic valve stenosis[J]. *Ultrastruct Pathol*, 2015, 39(3): 1-9.
- [33] 叶挺, 程治源, 凌秋洋, 等. Notch1 蛋白在人心脏瓣膜间质细胞凋亡与钙化关系中的作用[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2017, 25(2): 122-128.
- [34] Ling QY, Liu J, Xu BD, et al. Upregulated Notch1 expression promotes bone morphogenetic protein-2/4 expression of calcified human heart valve interstitial cells[J]. *Zhonghua Xin Xue Guan Bing Za Zhi*, 2016, 44(3): 255-259.