

论 著

(基础研究)

长链非编码 RNA HIF1 α -AS1 在血管内皮细胞缺氧损伤中的作用研究

王 微, 王 岩, 王超君, 卢芳芳, 凌 静

【摘要】 目的 检测长链非编码 RNA 缺氧诱导因子-1 α -反义链 1(lncRNA HIF-1 α -AS1)在缺氧缺血血管内皮细胞中的表达及对细胞缺氧应激损伤的影响。**方法** 原代培养人脐静脉血管内皮细胞并建立缺氧缺血模型,实时荧光定量聚合酶链式反应(Real-time PCR)方法从 95 种长链非编码 RNA 中筛选出缺氧缺血后表达差异显著的基因 lncRNA HIF-1 α -AS1。用流式细胞仪、TUNEL/Hoechst 检测细胞凋亡情况。siRNA 干扰 lncRNA HIF-1 α -AS1 表达后,通过乳酸脱氢酶漏出率、Western blot 检测超氧化物歧化酶 1(SOD1)表达等方法评估细胞损伤情况。**结果** 血管内皮细胞建立缺氧缺血模型后,lncRNA HIF-1 α -AS1 含量显著上升 1.98 倍($P<0.05$)。对 lncRNA HIF-1 α -AS1 进行干扰后,3 个干扰组细胞乳酸脱氢酶(LDH)漏出率与模型组相比显著下降,siRNA1 组为 $20.84\% \pm 2.64\%$ ($P<0.05$),siRNA2 组为 $19.82\% \pm 1.61\%$ ($P<0.01$),siRNA3 组为 $17.01\% \pm 0.24\%$ ($P<0.01$)。siRNA2 和 siRNA3 的 SOD1 基因 mRNA 水平显著上调($P<0.01$);2 组 SOD1 蛋白表达量也明显上升,siRNA2($P<0.05$),siRNA3($P<0.01$),细胞损伤减轻。**结论** 干扰 lncRNA HIF-1 α -AS1 的表达能够减轻血管内皮细胞缺氧缺血后的损伤,提高细胞的抗缺氧能力,这可能与 SOD1 表达量升高、乳酸脱氢酶漏出减少有关。

【关键词】 长链非编码 RNA;缺氧诱导因子;缺氧应激损伤;血管内皮细胞

【中图分类号】 R543.6 **【文献标志码】** A **【文章编号】** 1672-271X(2022)01-0001-05

【DOI】 10.3969/j.issn.1672-271X.2022.01.001

The study on long non-coding RNA hypoxia-inducible factor-1 α -antisense RNA1 in hypoxic injury of vascular endothelial cellsWANG Wei¹, WANG Yan², WANG Chao-jun¹, LU Fang-fang¹, LING Jing¹

(1. Department of Pharmacy and Equipment, Air Force Health Care Center for Special Services Hangzhou Area 1, Hangzhou 310007, Zhejiang, China; 2. College of Animal Science and Technology, Zhejiang Forest University, Hangzhou 311300, Zhejiang, China)

【Abstract】 Objective This study aimed to explore the mechanism of long non-coding RNA hypoxia-inducible factor-1 α -antisense RNA1 (lncRNA HIF-1 α -AS1) in vascular endothelial cell hypoxia stress injury. **Methods** In this study, the primary human umbilical vein endothelial cells (HUVEC) were cultured and oxygen-glucose deprivation model was established. The lncRNA HIF-1 α -AS1 was significantly increasing screened from 95 lncRNAs measured by Real-time PCR (RT-PCR). After RNA interference, anti-hypoxia stress of the cell ability was detected by the lactate dehydrogenase leakage rate and Western detection of superoxide dismutase1 (SOD1) expression *in vitro* to explore the specific role of this lncRNA in HUVEC. **Results** The expression of lncRNA HIF-1 α -AS1 was significantly increased by 1.98 times ($P<0.05$) after oxygen-glucose deprivation (OGD). After lncRNA HIF-1 α -AS1 interference, the leakage rate of lactate dehydrogenase (LDH) was significantly decreased, $20.84\% \pm 2.64\%$ ($P<0.05$), $19.82\% \pm 1.61\%$ ($P<0.01$) and $17.01\% \pm 0.24\%$ ($P<0.01$) in siRNA1 group, siRNA2 group and siRNA3 group, respectively. The mRNA levels of SOD1 gene in siRNA2 group and siRNA3 group were significantly up-regulated ($P<0.01$). The expression of SOD1 protein was also significantly increased in the two groups. The cell damage was reduced in siRNA2 group ($P<0.05$) and siRNA3 group ($P<0.01$). **Conclusion** Inhibition of lncRNA HIF-1 α -AS1 expression can reduce the stress damage of HUVEC after hypoxia, and improve the anti-hypoxia ability of cells, which may be related to the increase of SOD1 activity and the decrease of LDH leakage.

【Key words】 long non-coding RNAs; hypoxia-inducible factor-1 α ; hypoxia stress injury; vascular endothelial cell

基金项目:杭州市卫生科技计划项目(2014B01)

作者单位:310007 杭州,空军杭州特勤疗养中心疗养一区药械科(王 微、王超君、卢芳芳、凌 静);311300 杭州,浙江农林大学动物科技学院动物医学院(王 岩)

通信作者:凌 静,E-mail:yfwang1@163.com

0 引言

长链非编码 RNA (long non-coding RNAs, lncRNA) 与癌症发生、血栓形成、动脉粥样硬化等疾病过程均有一定的相关性^[1-5], 并通过多种不同机制调节转录因子的功能^[6-8]。机体缺氧可能导致内皮功能障碍、系统性炎症及氧化应激等, 进而产生的氧自由基能够介导脂质过氧化损伤, 是血管内皮损伤的主要诱因之一。为探讨 lncRNA 在缺氧后血管内皮损伤及修复过程中的机制, 通过原代培养的人脐静脉血管内皮细胞 (human umbilical vein endothelial cells, HUVEC) 建立氧糖剥夺模型, 筛选 95 种 lncRNA 在缺氧后的含量变化情况。其中长链非编码 RNA 缺氧诱导因子-1 α -反义链 1 (long non-coding RNA hypoxia-inducible factor-1 α -antisense RNA-1, lncRNA HIF-1 α -AS1) 表达量上升最为显著。缺氧诱导因子-1 α (hypoxia-inducible factor-1 α , HIF-1 α) 作为转录调节因子, 在与缺氧相关的心血管疾病、癌症等发生发展过程中起着重要作用^[9-12]。有研究表明, 高水平的 HIF1 α 提示机体处于缺氧应激状态^[13], HIF-1 α 表达与动脉粥样硬化性炎症斑块表型相关, 并在活化的巨噬细胞中上调^[14]。而 lncRNA HIF-1 α -AS1 在缺氧相关疾病中的报道较少, 本研究选择 lncRNA HIF1 α -AS1 作为缺氧应激的目标基因开展研究, 旨在探索 lncRNA HIF-1 α -AS1 与血管内皮细胞缺氧应激损伤的联系。

1 材料与方法

1.1 细胞及试剂 ①细胞来源: 在无菌条件下, 取健康产妇胎儿新鲜脐带 (产妇知情同意并自愿捐献), 长约 20 cm, 浸泡在添加抗生素的 M199 培养基中, 4℃ 保存, 在 2 h 内用于实验。②试剂: 胎牛血清 (Gibco BRL 公司), 胰蛋白酶 (Hyclone 公司), M199 高糖培养基 (Gibco BRL 公司), DAB 试剂盒 (中山公司), PrimeScript™ RT Master Mix (RR036A TaKaRa), Premix Taq (RR901A TaKaRa), UltraSYBR Mixture (CW0956 北京康为世纪生物科技有限公司), BCA 蛋白测定试剂盒 (P0010 碧云天生物技术有限公司), RIPALysis buffer (sc-364162 美国 Santa Cruz 公司), HIF-1 α 一抗 (sc-13515 美国 Santa Cruz 公司), 超氧化物歧化酶 1 (superoxide dismutase1, SOD1) 一抗 (sc-8636 美国 Santa Cruz 公司), β -actin 一抗 (4967 美国 CST 公司), 辣根过氧化物酶标记

的二抗 (A0545 Sigma), ECL 化学发光检测试剂盒 (BU-WB-03 南京铂优生物技术有限公司)。

1.2 HUVEC 培养原代培养 将脐带剪去两端 (约 2 cm), 注入 1×PBS 反复冲洗脐静脉数次, 注入 15 mL 的 0.125% 胰蛋白酶, 待脐静脉充盈, 使内膜与胰蛋白酶充分接触, 轻柔挤压管壁, 将含有内皮细胞的胰蛋白酶注入 50 mL 离心管, 加入 M199 高糖培养基 5 mL 终止酶反应, 再以 10 mL 1×PBS 冲洗血管腔, 流出液倒入离心管, 离心半径 13.5 cm, 1400 r/min 离心 10 min, 弃上清, 加入培养液制成细胞悬液。调整细胞数, 以 1×10^5 /mL 接种至纤维连接蛋白预包被的培养皿中。置于 5% CO₂, 37℃ 静止培养 4 h, 更换培养液, 除去未贴壁的细胞。每隔 2 天换液 1 次, 以维持细胞营养及内环境稳定。传代培养: 细胞长至单层融合时, 弃去培养液, 1×HEPES 洗涤, 加入 1 mL 0.125% 胰蛋白酶消化, 将液体弃去, 加入培养液 5 mL 吹打细胞至悬浮, 在新的培养板中加入 1 mL 细胞悬液和 4 mL HUVEC 培养液, 置于细胞培养箱 (37℃, 5% CO₂) 培养。

1.3 氧糖剥夺模型 (oxygen-glucose deprivation, OGD) 和细胞凋亡检测 HUVEC 细胞上清液更换为无糖培养基, 并置于三气培养箱 (5% CO₂/1% O₂/94% N₂) 中。以无氧糖剥夺组作为对照, OGD 24, 48, 72 h 的血管内皮细胞作为实验组, 分别用 Hoechst/Tunel 形态学和流式细胞仪 Annexin V/PI 检测其凋亡水平。因 48 h 细胞凋亡率显著, 后续试验均采用 OGD 48 h。

1.4 实时荧光定量 PCR 筛选 OGD 后 95 种 lncRNA 的相对表达量 细胞经 OGD 48 h 处理后弃去上清液, TRIZOL 法提取细胞总 RNA, 检测 A260/280, 调整浓度并逆转录为 cDNA。根据 95 种 lncRNA 序列分别设计引物并合成, 采用 ABI 公司的 StepOnePlus Real-time PCR System 进行实时荧光定量 PCR, 筛选 OGD 后基因表达差异。RT-PCR 反应条件为: 95℃ 预变性 10 min; 95℃ 变性 15 s, 60℃ 退火/延伸 1 min, 40 个循环, 每循环一次溶解曲线分析一次, 最后 60℃ 15 s。数据处理以 β -actin 为内参, 采用 Ct 值法 ($2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法) 分析目的基因的相对表达差异。

1.5 HIF-1 α siRNA 序列干扰 根据 GenBank 数据库提供的人 HIF-1 α 全长基因 (No. nm_001530) 设计合成的靶序列 mRNA 有 4 条, 从 5'-3' 分别为: GGACACAGAUUUAGACUUG、GAUG-

GAAGCACUAGACAAA、CGUGUUAUCUGUCGCU-UUG 和 GAUGAAAGAAUACCGAAU。siRNA 在 GenBank 数据库进行 BLAST 检索, 仅与人 HIF-1 α 序列相配。转染前 24 h 接种细胞六孔板和 96 孔板(培养液中不加抗生素)。24 h 后吸弃上清, 六孔板加入 2 mL 的转染混合物(含 10% 胎牛血清的 HUVEC 培养液 + 2 μ mol/L 的 siRNA + Dharma FECT 转染试剂 + 无抗生素 HUVEC 以一定比例混合); 荧光标志的阴性对照用以评价转染率。96 孔板加入 100 μ L 转染混合物。置于 37 $^{\circ}$ C、5% CO₂ 饱和湿度培养箱中培养 24~48 h。弃去上清液, 加入无血清 HUVEC 培养液(体积分数 95% N₂ 和 5% CO₂ 条件下培养)。取对数生长期且生长良好细胞用于后续实验。将细胞分成: 阴性对照组(无任何靶基因的 siRNA, 并经缺氧处理)和 3 个 lncRNA HIF-1 α -AS1 siRNA 干扰组(细胞经 siRNA 作用, 并经缺氧处理)。含有荧光物质的 siRNA 转染后, 荧光显微镜下观察转染效率, 经 RT-PCR 检测靶基因判定是否干扰成功。

1.6 乳酸脱氢酶(lactate dehydrogenase, LDH)漏出率评价细胞损伤 LDH 能催化乳酸生成丙酮酸, 丙酮酸与 2,4-二硝基苯肼反应生成丙酮酸二硝基苯腙, 在碱性溶液中呈棕红色, 通过比色可计算出酶活性。细胞转染并 OGD 预处理后, 每个样品收集培养液 100 μ L, 加入基质溶液 500 μ L、辅酶 I 100 μ L, 混匀后在 37 $^{\circ}$ C 下水浴 20 min。加入 0.4 mol/L NaOH 5 mL, 混匀, 室温放置 3 min, 于 440 nm 处测定 OD 值, 根据公式计算培养液 LDH 活性; 将待测培养孔内细胞加入等量 PBS, 刮板刮取细胞并收集到管中, 超声破碎后进行细胞匀浆液的 LDH 活性测定, 方法与培养液测定方法相同。根据公式: LDH 漏出率(%) = 培养液 LDH 活性 / (培养液 LDH 活性 + 细胞匀浆液 LDH 活性) \times 100%。

1.7 统计学分析 采用 SPSS 24.0 统计软件对数据进行统计学分析。计量资料以均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 2 组间差异比较采用 t 检验, 多组间差异比较采用单因素方差分析; 计数资料采用例数和百分比表示, 组间比较采用 χ^2 检验。以 $P \leq 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 缺氧诱导脐静脉血管内皮细胞损伤 Hoechst/Tunel 检测, 与对照组 4.86% \pm 0.91% (0 h) 相比, OGD

24 h 细胞无明显凋亡, 48 h、72 h 细胞凋亡率显著增加, 分别为 5.98% \pm 1.08% (24 h, $P > 0.05$), 11.76% \pm 1.59% (48 h, $P < 0.01$) 及 19.39% \pm 1.25% (72 h, $P < 0.01$), 见图 1a。流式细胞仪(PI/Annexin V 染色)检测结果与形态学检测趋势相同, 与对照组 3.37% \pm 0.87% (0 h) 相比, 缺氧细胞凋亡率分别为 5.97% \pm 1.88% (24 h, $P > 0.05$), 9.62% \pm 2.63% (48 h, $P < 0.01$), 10.74% \pm 2.56% (72 h, $P < 0.01$), 见图 1b。后续实验均采用 OGD 48 h。

2.2 RT-PCR 筛选缺氧调控的 lncRNA HUVEC 细胞 OGD 48 h 后, RT-PCR 检测出 HIF1 α -AS1、CDKN2B-AS5、BPESC1、CRB3-AS1、Fendrr 等 5 个 lncRNA 上调表达, 其中 HIF1 α -AS1 上调 1.98 倍 ($P < 0.05$), 见表 1。

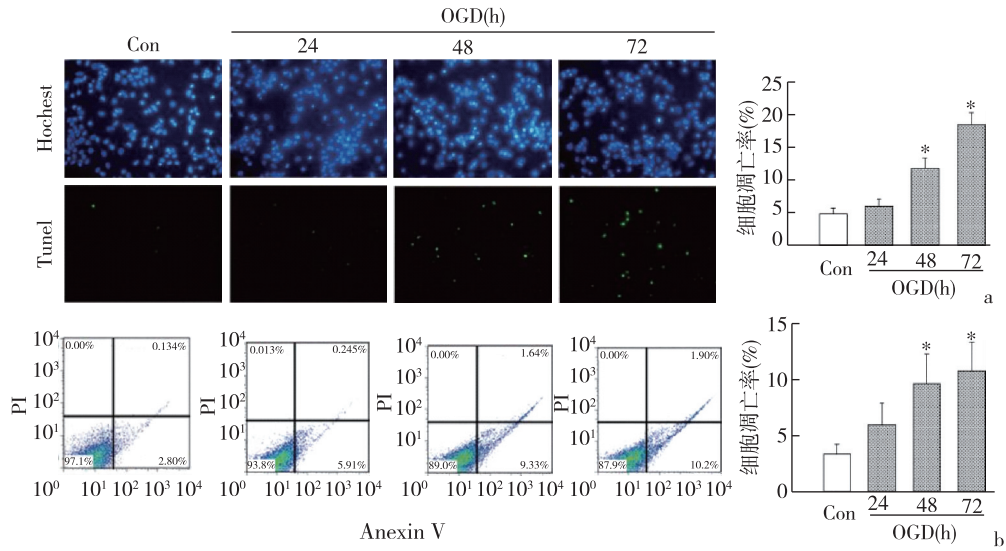
表 1 RT-PCR 筛选氧糖剥夺敏感的 lncRNA ($\bar{x} \pm s, n = 2$)

基因名称	染色体位点	基因类型	差异	表达值倍数
HIF1 α -AS1	chr14	antisense	上调	1.98*
CDKN2B-AS5	chr9	antisense	上调	1.33
BPESC1	chr3	lncRNA	上调	0.82
CRB3-AS1	chr21	antisense	上调	0.79
Fendrr	chr8	antisense	上调	1.26

* $P < 0.05$

2.3 HIF1 α -AS1 经 siRNA 处理后, HUVEC 损伤减轻 荧光标记的阴性对照提示同批次 siRNA 的细胞转染率约为 75%。RT-PCR 检测结果发现, 相比于阴性对照组, siRNA1、siRNA2、siRNA3 组 siRNA 干扰后相对表达水平有显著差异, 分别为 81.04% \pm 8.98% ($P < 0.05$), 56.81% \pm 4.97% ($P < 0.01$), 44.70% \pm 2.12% ($P < 0.01$), 其中 siRNA2 和 siRNA3 干扰效果较好, 见图 2a。进一步检测转染后细胞的 LDH 漏出率, 干扰内源 lncRNA HIF1 α -AS1 后, 与模型组 26.17% \pm 1.69% 相比, siRNA1、siRNA2、siRNA3 组 LDH 漏出率明显降低, 分别为 20.84% \pm 2.64% ($P < 0.05$), 19.82% \pm 1.61% ($P < 0.01$), 17.01% \pm 0.24% ($P < 0.01$), 见图 2b。

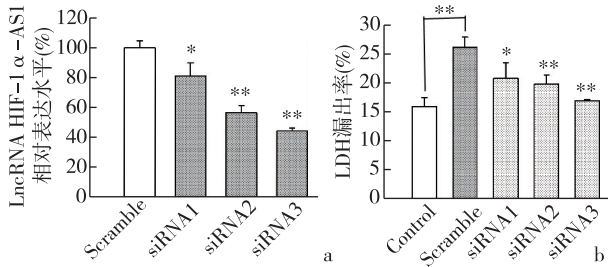
2.4 siRNA 干扰 lncRNA HIF-1 α -AS1 增加 SOD1 的 mRNA 水平及蛋白表达水平 与对照组相比, siRNA2 和 siRNA3 对 lncRNA HIF-1 α -AS1 进行干扰后, 2 组 SOD1 基因 mRNA 水平显著上调, siRNA2 组 ($P < 0.01$), siRNA3 组 ($P < 0.01$), 见图 3a; 2 组 SOD1 蛋白表达量也明显上升, siRNA2 ($P < 0.05$), siRNA3 ($P < 0.01$), 见图 3b。



a: Hoechst/Tunel 检测细胞凋亡 ($\times 200$); b: 流式细胞仪检测细胞凋亡

* $P < 0.01$

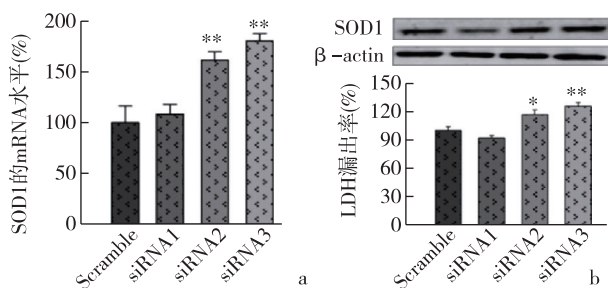
图 1 氧糖剥夺诱导人脐静脉血管内皮细胞损伤凋亡 ($n=3$)



a: siRNA 干扰后 lncRNA HIF-1α-AS1 的表达; b: siRNA 干扰后 LDH 漏出率

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

图 2 siRNA 干扰 lncRNA HIF-1α-AS1 减少脐静脉内皮细胞缺氧损伤 ($n=3$)



a: RT-PCR 方法检测 SOD1 基因 mRNA 水平; b: Western blot 方法检测 SOD1 蛋白水平

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

图 3 干扰 lncRNA HIF-1α-AS1 后 SOD1 基因和蛋白水平平均明显增加 ($n=3$)

3 讨 论

lncRNA 可多层面调控基因表达。本研究筛选出缺氧后差异表达上调的 lncRNA 共 5 个, BPESC1 与常染色体显性遗传病小眼睑综合征相关研究有见报道^[15]; CDKN2B-AS5 是一种抑癌基因, 在人类肿瘤细胞中表达异常^[16]; 而 Fendrr 则是在控制胚胎中胚层分化成心脏和体壁过程中的特异性 lncRNA^[17]; CRB3-AS1 在前列腺癌组织中表达上调, 同时调控细胞凋亡^[18]; 其中 HIF-1α-AS1 上调 1.98 倍 ($P < 0.05$), 其对应的转录因子 HIF-1α 与缺氧相关疾病有关且研究热度较高, 故选择其非编码 RNA 作为目标基因, 深入探究其与缺氧细胞损伤之间的关系。

细胞缺氧后转向无氧代谢, 导致乳酸聚积而发生损伤, LDH 会由细胞内漏出至培养液中, 通过测定 LDH 漏出率能够比较客观地反映细胞受损情况, 如有药物或基因干预, 则可进一步评价干预因素的作用。SOD1 又称 Cu/Zn 超氧化物歧化酶 (Cu/Zn SOD), 广泛分布于整个细胞, 包括溶酶体, 线粒体的膜间空间和内质网, 构成了对抗氧化应激的前线防御机制, 能够通过氧化还原反应将机体产生的自由基如超氧化物转化为分子氧和过氧化氢, 以减轻细胞损伤^[19]。在大量氧化应激下, 缺乏 SOD1 的小鼠会表现出多种病理症状, 包括肝细胞癌, 寿命缩短等^[20]。除了作为抗氧化酶, SOD1 的新功能, 包括暴露于氧化应激后核基因转录的激活, RNA 代谢的调节等也有报道^[21-22]。HUVEC 缺氧后 lncRNA HIF1α-AS1 增加,

细胞凋亡率升高、损伤加重。用 siRNA 干扰 lncRNA HIF1 α -AS1 后,3 个干扰组 LDH 漏出率显著下降, siRNA2 组和 siRNA3 组的 SOD1 基因 mRNA 水平显著上调,其 SOD1 蛋白表达量也明显上升,细胞损伤减轻,而 siRNA1 组干扰效率较低,细胞损伤虽然有所缓解,但 SOD1 的蛋白量没有变化。提示 lncRNA HIF1 α -AS1 含量变化幅度的大小对于细胞损伤的调节是有一定差异的。干扰 lncRNA HIF1 α -AS1 后,通过上调 SOD1 表达而提高细胞的抗缺氧能力,减轻缺氧应激损伤,这是一种反向调节作用。

HIF-1 α 在常氧条件下通过蛋白酶体途径快速降解,而缺氧条件下,可通过调节糖酵解酶、乳酸脱氢酶和丙酮酸脱氢酶激酶的表达来下调线粒体的氧气消耗,使细胞转为无氧糖酵解途径。本研究通过构建 lncRNA HIF1 α -AS1 沉默模型,检测缺氧条件下血管内皮细胞凋亡、损伤及细胞活力等状态,发现 lncRNA HIF1 α -AS1 的高表达与细胞的凋亡率升高相关,而低表达时细胞活力增加。lncRNA 并不编码蛋白,而是以 RNA 形式在表观遗传、转录及转录后调控基因的表达水平,参与细胞分化和发育^[23]。结果提示缺氧诱导因子对于细胞低氧损伤的调节过程也可以通过 lncRNA 的形式参与,证实了 lncRNA HIF1 α -AS1 可以作为防治缺氧内皮细胞损伤的靶标,但具体是在转录的哪个阶段调控还需要进一步的实验证实。

基于本研究结果,下步实验可以进一步探究凋亡相关的细胞信号通路,即有更加充分的分子生物学证据支持上述实验现象。另外,在动物模型上进行低压氧舱模拟上述各类缺氧环境,对比 lncRNA HIF1 α -AS1 的基因敲除前后缺氧症状的差异,为血管内皮细胞损伤相关疾病(动脉粥样硬化、血栓形成等)的分子调控和药物治疗靶点提供依据。

【参考文献】

- [1] 钟 科,唐富豪,潘 鑫,等. 长链非编码 RNA ReCAL 作为肾透明细胞癌预后标志物和靶向治疗反应预测因子的研究[J]. 东南国防医药,2021,23(4):337-344.
- [2] Barreca MM, Zichittella C, Alessandro R, et al. Hypoxia-Induced Non-Coding RNAs Controlling Cell Viability in Cancer [J]. Int J Mol Sci, 2021, 22(4):1857.
- [3] Huarte M. The emerging role of lncRNAs in cancer [J]. Nat Med, 2015, 21(11):1253-1261.
- [4] 蒋志俊,陈 洁,黎乐群. 长链非编码 RNA 在肝癌侵袭转移中的研究进展[J]. 医学研究生学报,2019,32(7):765-770.
- [5] Li H, Zhu H, Ge J. Long Noncoding RNA: Recent Updates in Atherosclerosis [J]. Int J Biol Sci, 2016, 12(7):898-910.
- [6] Ponting CP, Oliver PL, Reik W. Evolution and functions of long noncoding RNAs [J]. Cell, 2009, 136(4):629-641.
- [7] Djebali S, Davis CA, Merkel A, et al. Landscape of transcription in human cells [J]. Nature, 2012, 489(7414):101-108.
- [8] Batista PJ, Chang HY. Long noncoding RNAs: cellular address codes in development and disease [J]. Cell, 2013, 152(6):1298-1307.
- [9] Cui Z, Ren S, Lu J, et al. The prostate cancer-up-regulated long noncoding RNA PlncRNA-1 modulates apoptosis and proliferation through reciprocal regulation of androgen receptor [J]. Urol Oncol, 2013, 31(7):1117-1123.
- [10] Evans CE, Humphries J, Mattock K, et al. Hypoxia and upregulation of hypoxia-inducible factor 1 α stimulate venous thrombus recanalization [J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2010, 30(12):2443-2451.
- [11] Wang T, Leng YF, Zhang Y, et al. Oxidative stress and hypoxia-induced factor 1 α expression in gastric ischemia [J]. World J Gastroenterol, 2011, 17(14):1915-1922.
- [12] Patel TH, Kimura H, Weiss CR, et al. Constitutively active HIF-1 α improves perfusion and arterial remodeling in an endovascular model of limb ischemia [J]. Cardiovasc Res, 2005, 68:144-154.
- [13] 叶伟凤,陈 亮,熊 敏,等. 不同缺氧方式对大鼠缺氧诱导因子-1 α 及脑源性神经营养因子的表达和认知功能影响 [J]. 医学研究生学报,2017,30(6):569-573.
- [14] Vink A, Schoneveld AH, Lamers D, et al. HIF-1 α expression is associated with an atheromatous inflammatory plaque phenotype and upregulated in activated macrophages [J]. Atherosclerosis, 2007, 195: 69-75.
- [15] De Baere E, Fukushima Y, Small K, et al. Identification of BPESC1, a novel gene disrupted by a balanced chromosomal translocation, t(3;4) (q23;p15.2), in a patient with BPES [J]. Genomics, 2000,68(3):296-304.
- [16] Mafi Golchin M, Ghaderian SMH, Akhavan-Niaki H, et al. Analysis of two CDKN2B-AS polymorphisms in relation to coronary artery disease patients in north of Iran [J]. Int J Mol Cell Med, 2017, 6(1):31-37.
- [17] Leung A, Trac C, Jin W, et al. Novel long noncoding RNAs are regulated by angiotensin II in vascular smooth muscle cells [J]. Circ Res, 2013,113(3):266-278.
- [18] Mahara S, Lee PL, Feng M, et al. HIF1- α activation underlies a functional switch in the paradoxical role of Ezh2/PRC2 in breast cancer [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2016, 113(26):E3735-3744.
- [19] Trist BG, Hilton JB, Hare DJ, et al. Superoxide dismutase 1 in health and disease: how a front-line antioxidant becomes neurotoxic [J]. Angew Chem Int Ed Engl, 2021,60(17):9215-9246.
- [20] Park JH, Elpers C, Reunert J, et al. Marquardt, SOD1 deficiency: a novel syndrome distinct from amyotrophic lateral sclerosis [J]. Brain, 2019,142(8):2230-2237.
- [21] Eleutherio ECA, Silva Magalhães RS, de Araújo Brasil A, et al. SOD1, more than just an antioxidant [J]. Arch Biochem Biophys, 2021,697: 108701. doi: 10.1016/j.abb.2020.108701.
- [22] Banks CJ, Andersen JL. Mechanisms of SOD1 regulation by post-translational modifications [J]. Redox Biol, 2019, 26: 101270. doi: 10.1016/j.redox.2019.101270.
- [23] Fatica A, Bozzoni I. Long non-coding RNAs: new players in cell differentiation and development [J]. Nat Rev Genet, 2014, 15(1):7-21.

(收稿日期:2021-09-10; 修回日期:2021-12-06)

(责任编辑:叶华珍; 英文编辑:朱一超)