

高压氧对脑出血大鼠脑内血管新生的影响

彭争荣¹ 杨阿莉¹ 杨期东²

摘要

目的:探讨高压氧对脑出血大鼠脑内血管新生的作用机制。

方法:将120只SD大鼠随机分为假手术组、脑出血组和高压氧组。采用组织切片HE染色显微镜下观察各组大鼠血肿周围脑组织新生血管形成情况;采用免疫组织化学分析方法检测各组大鼠脑内缺氧诱导因子(HIF)1- α 、血管内皮生长因子(VEGF)的蛋白表达含量;采用荧光定量RT-PCR方法测定各组大鼠脑组织HIF1- α mRNA、VEGF mRNA的表达水平。

结果:血肿周围脑组织切片经HE染色后光镜下观察可见,随着出血后时间延长,高压氧组血肿已基本吸收,较脑出血组可见大量分布的血管样结构和微血管,新生血管数目明显增多,假手术组未见明显血肿及新生血管的病理改变。脑出血组和高压氧组HIF1- α 和VEGF蛋白表达在第14、21、28天比较差异均有显著性意义($P < 0.01$)。三组(假手术组、脑出血组、高压氧组)比较,高压氧组HIF1- α mRNA、VEGF mRNA表达值分别高于脑出血组和假手术组,HIF1- α mRNA在第14、21、28天时三组比较差异均有显著性意义($P < 0.05$);VEGF mRNA在第21、28天时三组比较差异均有显著性意义($P < 0.05$)。

结论:高压氧能增加脑出血大鼠脑内HIF1- α 、VEGF蛋白和mRNA表达水平,促进新生血管形成,加快血肿吸收,改善脑出血大鼠损伤神经功能,促进其康复。

关键词 脑出血;高压氧;血管新生

中图分类号:R743.34, R459.6 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-1242(2014)-12-1113-06

The effect of hyperbaric oxygen on intracerebral angiogenesis in rats with intracerebral hemorrhage/
PENG Zhengrong, YANG Ali, YANG Qidong/Chinese Journal of Rehabilitation Medicine,2014,29(12):
1113—1118

Abstract

Objective: To investigate the effect of hyperbaric oxygen (HBO) on intracerebral angiogenesis in rats with intracerebral hemorrhage (ICH).

Method: One hundred and twenty healthy SD rats were randomly divided into 3 groups as sham operation group, ICH group and HBO group. The angiogenesis in brain tissue of rats in each group were observed by HE staining. The protein expressions of hypoxia inducible factor 1- α (HIF1- α) and vascular endothelial growth factor(VEGF) in rat's brain were measured by immunohistochemistry, while the mRNA expression levels of HIF1- α and VEGF were determined using quantitative real-time PCR.

Result: A large number of vessel-like structures and microvessels were observed in perihematomal brain tissues in HBO group, with a trend of significant increase of microvessel counts. There were significant differences in HIF1- α and VEGF protein levels between HBO and ICH groups at the 14th, 21st and 28th days ($P < 0.01$); Similarly, the expression levels of HIF1- α and VEGF mRNA in HBO group were significantly higher than that in sham operation and ICH groups. At the 14th, 21st and 28th days, the expression levels of HIF1- α mRNA in the 3 groups differed significantly from each other ($P < 0.05$). At the 21st and 28th days, the expression lev-

DOI:10.3969/j.issn.1001-1242.2014.12.003

1 中南大学湘雅医院高压氧科,长沙,410008; 2 中南大学湘雅医院神经病学研究所

作者简介:彭争荣,男,副主任医师;收稿日期:2013-10-20

els of VEGF mRNA in the 3 groups differed significantly from each other ($P < 0.05$).

Conclusion: HBO can significantly promote the expressions of HIF1- α and VEGF at both mRNA and protein levels in rats with ICH, promote the formation of new blood vessels, accelerate the absorption of hematoma, hence resulting in a rapid rehabilitation.

Author's address Department of Hyperbaric Oxygen, Xiangya Hospital of Central South University, Changsha, 410008

Key word intracerebral hemorrhage; hyperbaric oxygen; angiogenesis

脑出血(intracerebral hemorrhage, ICH)后新生血管形成增加受损脑组织的供血供氧,有利于脑组织修复^[1]。高压氧(hyperbaric oxygen, HBO)可增加脑组织的供氧,改善微循环,促进损伤组织血管再生,促进神经功能恢复^[2]。但国内外关于高压氧对脑出血血管新生影响机制的研究较少,机制尚不清楚。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

健康清洁级SD大鼠(中南大学医学实验动物中心提供),免疫组化染色试剂盒(武汉博士德),脑内缺氧诱导因子(hypoxia inducible factor, HIF)-1 α 抗体(Bioworld公司),血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)抗体(Bioworld公司),DAB显色试剂盒(武汉博士德),dNTPs(Gen-View公司),随机引物(北京鼎国),动物实验氧舱(武汉七零一),图像采集与分析系统(ChemiGenius公司),荧光定量PCR仪(美国ABI),激光共聚焦显微镜(Zeiss公司)。

1.2 方法

1.2.1 实验动物分组:健康清洁级SD大鼠120只随机分为假手术组、脑出血组、高压氧组,每组40只。分别于术后第4、7、14、21、28天随机抽取各组大鼠8只进行各项检测,每组5只进行免疫组化实验;每组3只进行荧光定量PCR实验。

1.2.2 造模:10%水合氯醛(400g/kg)经腹腔麻醉大鼠后,将大鼠固定在鼠脑立体定位仪上,按无菌操作原则局部消毒,手术刀纵向切开皮肤暴露颅骨,确定前囟,参照文献中的实验方法^[3],选择在前囟后1.40mm,矢状缝向右3.20mm钻孔,以微量注射器缓慢垂直进针5.60mm,定位于近内囊的苍白球内,注入2.5 μ l以生理盐水配制的0.2U/ μ l VII型胶原酶,匀速将溶液2min注完,留针5min,退0.50mm,再留针

5min后拔出针头,缝合皮肤并消毒。假手术组以同样方法在此点注入等体积灭菌生理盐水。

1.2.3 高压氧处理:将高压氧组大鼠在模型制作3h后置于动物舱内,关紧舱门,以5—8L/min氧流量均匀变速加压,加压时间为15min,当舱内压力达到0.20MPa时开始稳压,稳压时氧浓度85%以上,稳压60min后匀速减压,减压时间为15min,总治疗时间为90min^[4]。脑出血组和假手术组大鼠也置于动物舱内90min,不加压,吸空气。三组大鼠均每日1次,连续4d、7d、14d、21d、28d。

1.2.4 动物取材:大鼠经腹腔注射10%水合氯醛(400mg/kg)进行麻醉。大鼠仰卧位,在剑突下切开一横切口,剪断两侧肋骨,充分暴露心脏,于心尖与躯干纵轴成45°—60°向上进针,待针头插入升主动脉(同时钳夹腹主动脉),用止血钳固定针头,迅速剪开右心耳。①组织学取材:快速滴入37℃预热生理盐水100ml,继以250ml灌注固定液灌入,先在5min内快速滴入约100ml,余液在25min内滴完。剥开颅骨,取全脑,去小脑,入前灌注液固定24h后,石蜡包埋,切片机上连续切片,片厚约为5 μ m。②分子生物学取材:快速滴入4℃预冷生理盐水100ml,断头开颅取脑,将脑组织置于冰盘上焦碳酸二乙酯(DEPC)水处理的培养皿上,分离右侧脑组织,取以苍白球(血肿)为中心的基底核部分脑髓质约100mg置于冻存管中,浸入液氮后,转移至-80℃保存备用。

1.2.5 HE染色:切片脱蜡至水,梯度酒精脱水,苏木精液染胞核3min,1%盐酸酒精分化30s,1%氨水反蓝30s,1%伊红复染胞浆1.5min,梯度酒精脱水,二甲苯透明,中性树胶封片,显微镜下观察血肿周围脑组织新生血管形成情况。

1.2.6 免疫组织化学分析:切片脱蜡至水,放于3% H₂O₂/甲醇溶液中室温处理15min,0.01mol/l的枸橼酸盐缓冲液微波抗原修复30min,PBS洗5min,滴加

正常山羊血清封闭液 37℃ 孵育 30min, 甩去多余液体, 滴加一抗工作液, 4℃ 冰箱孵育过夜, 然后滴加生物素化二抗工作液 (山羊抗兔 IgG), 37℃ 孵育 45min, 再滴加辣根酶标记链霉卵白素工作液 37℃ 孵育 30min, 二氨基联苯胺 (DAB) 显色 5min, 蒸馏水充分冲洗后苏木素轻度复染, 酒精梯度脱水, 二甲苯透明, 中性树胶封片。光学显微镜下观察结果, HIF1- α 、VEGF 阳性表达为由浅至深棕黄色着色, 主要表达定位于细胞浆和细胞膜。在显微镜下对图像进行拍摄, 再通过图像采集与分析系统获得每组平均光密度值, 然后进行比较判定。

1.2.7 免疫荧光定量逆转录聚合酶链反应 (RT-PCR):引物委托鼎国昌盛生物技术有限责任公司合成, 具体的引物序列见表 1。按 Trizol 试剂说明书操作提得各标本总 RNA, 并溶解于 20 μ l 去 RNA 酶的灭菌双蒸水 (DEPC 处理双蒸水) 中, 经 1% 琼脂糖凝胶电泳检测总 RNA 的完整性, 并测定 A260/A280 比值在 1.7—2.0 之间, 说明总 RNA 样品纯度理想, 其余放在 -80℃ 冰箱中保存备用。cDNA 的合成严格按照逆转录试剂盒说明书进行操作。逆转录反应体系含 5 $\times$ 缓冲液 (Buffer) 4 μ l, DEPC 处理双蒸水 8.5 μ l, 10mmol/L dNTPs 1 μ l, RNA 酶抑制剂 1 μ l, 200U/ μ l MMLV 逆转录酶 1 μ l, 随机引物 0.5 μ l, 50 μ mol/L Oligo (dT)18 1 μ l, 总 RNA 4 μ l, 共 20 μ l。反应条件为 30℃ 10min, 42℃ 60min, 99℃ 5min, 4℃ 5min。-20℃ 保存备用。PCR 反应体系: cDNA 产物 1 μ l, 10 μ mol/L 目的基因上下游引物各 0.5 μ l, 2 $\times$ Mix 12.5 μ l, 10 $\times$ Sybr Green I 1 μ l, 灭菌蒸馏水 9.5 μ l, 共 25 μ l。PCR 反应条件: 94℃ 预变性 2min, 94℃ 变性 30s, [β -肌动蛋白 (actin) 基因 61℃, VEGF 基因 60℃, HIF- α 基因 63℃] 退火 30s, 72℃ 延伸 30s, 共 40 个循环, 最后 4℃ 冷却。反应在 ABI PRISM 7700PCR 仪上进行, 定量结果以 CT 值给出, 计算样本的 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 值, 目的基因各组最终值以内参基因为基准, 取相对值后再进行比较。

表 1 引物信息

目的基因	引物序列	产物长度(bp)
β -actin	F:ACAGCAACAGGGTGGTGGACR: TTTGAGGGTGCAGCGAACTT	252
VEGF	F:TAGACCTCTCACCAGAAAGACR: CAGGAATCCCAGAAACAAAAC	277
HIF- α	F:TGTCTCCATTACCTGCCTCTGR: GATTCTTCGCTTCTGTGTCTTCA	297

比较。

1.3 统计学分析

各项指标测定结果用均数 $\pm$ 标准差表示, 统计分析软件 SPSS 20.0 及 Excel 2007 进行数据分析。两组间比较采用成组设计均数 t 检验, 多组间比较采用完全随机设计资料的单因素方差分析, 方差齐者采用 LSD 检验进行均数间多重比较, 而方差不齐者采用 Tamhane's T^2 法进行分析。

2 结果

2.1 实验信息评价

本研究共有 120 只大鼠进入实验, 假手术组有 2 只, 脑出血组有 4 只, 高压氧组有 4 只大鼠分别在麻醉及造模过程中死亡, 均于其后予以补充。高压氧处理过程中未出现动物死亡, 也未出现不良反应 (如氧中毒、减压病和气压伤等)。假手术组未见明显神经功能缺损症状与体征。

2.2 HE 染色结果

见图 1。光镜下可见血肿周围脑组织存在水肿, 变性和坏死, 可见大量的炎症细胞浸润。出血后第 7 天与第 4 天相比, 脑出血组与高压氧组均可见水肿较之明显减轻, 可见较多的血管样内皮细胞, 但高压氧组可见更多的血管样结构和微血管 (箭头)。第 14—28 天, 脑出血组血管样结构和微血管较多出现, 而高压氧组脑组织已无水肿, 可见大量分布的血管样结构和微血管, 新生血管数目明显增多。假手术组未见明显水肿及上述各时段的病理改变。

2.3 免疫组化结果

2.3.1 HIF1- α 表达:见图 2。假手术组动物脑内未见 HIF1- α 的阳性表达。脑出血组第 4 天后, 血肿周围即出现 HIF1- α 阳性表达的微血管 (箭头), 持续至第 14 天未见明显增加; 高压氧组第 4 天起 HIF1- α 血肿周围也出现阳性微血管表现, 但第 14 天后即可见高压氧组 HIF1- α 阳性表达微血管数目较脑出血组明显增多, 差异有显著性意义 ($P < 0.01$)。见表 2。

2.3.2 VEGF 表达:假手术组动物脑内未见 VEGF 的阳性表达。脑出血组 4 天后, 血肿周围即出现 VEGF 阳性表达微血管 (箭头), 脑出血组第 21 天后, 血肿周围 VEGF 表达的阳性微血管数目未见增多; 高压氧组第 4 天血肿周围也出现 VEGF 表达阳性微

图1 每组不同时间点脑组织切片HE染色图

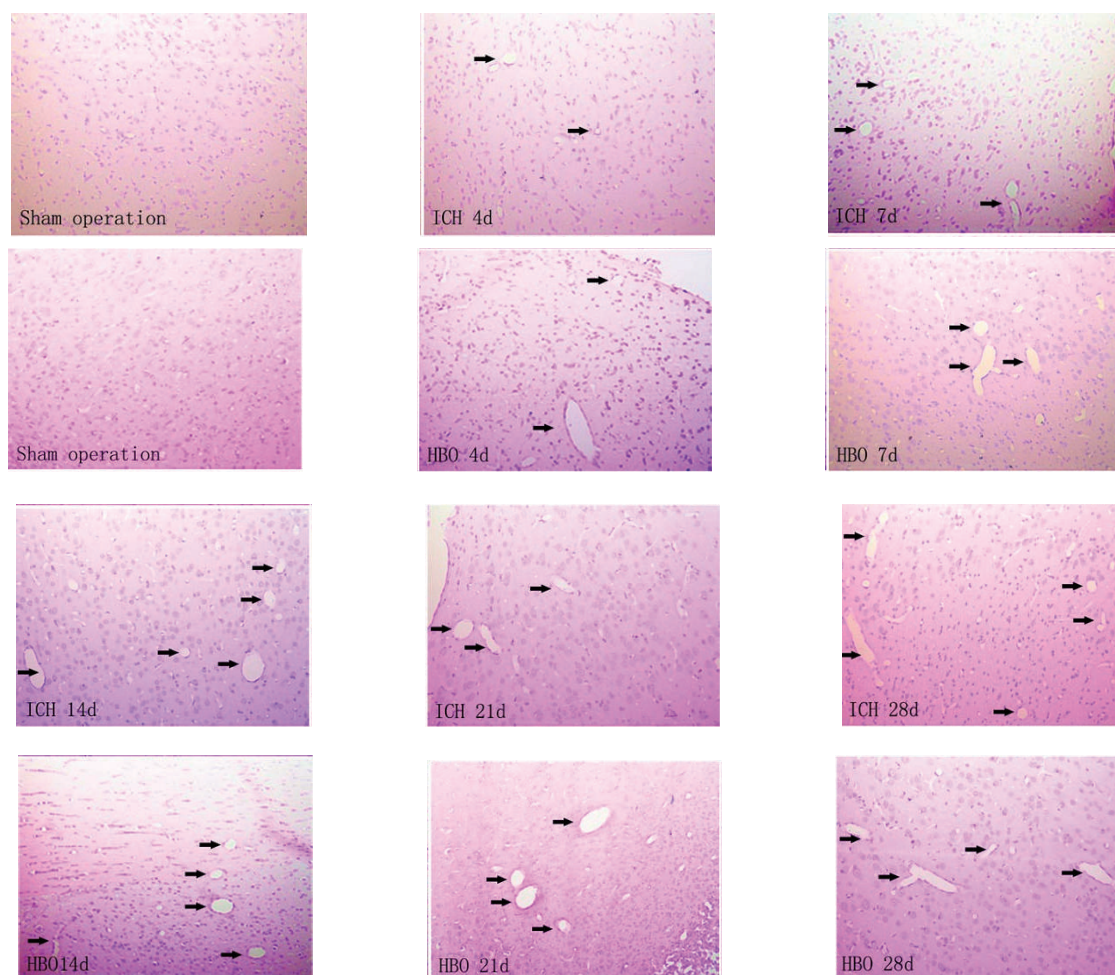


图2 脑组织HIF1- α 免疫组化染色图

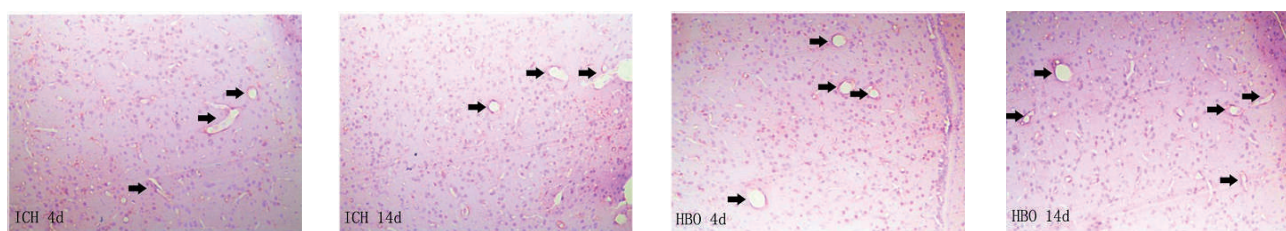
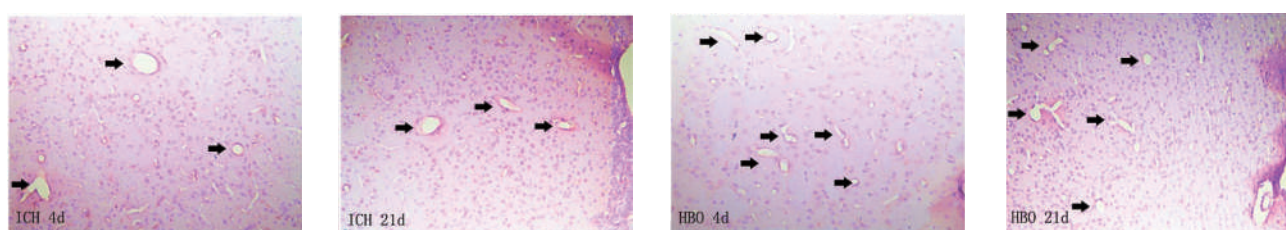


图3 脑组织VEGF免疫组化染色图



血管,未较脑出血组有明显增多($P>0.05$),而高压氧组第21天后 VEGF 表达阳性微血管数目较脑出血组明显增多,微血管呈扩张形态。差异均有显著性意义($P<0.01$)。见表2。

2.4 免疫荧光定量 RT-PCR 结果

2.4.1 HIF1- α mRNA 表达:假手术组 HIF1- α mRNA 表达值不随时间增加而改变,数值较小;在第14、21、28天时间点三组比较差异均有显著性意

义($P<0.05$),高压氧组与脑出血组比较差异均有显著性意义($P<0.05$)。见表3。

2.4.2 VEGF mRNA 表达:假手术组 VEGF mRNA 表达值不随时间增加而增加,数值较小;在第21、28天时三组比较差异均有显著性意义($P<0.05$),高压氧组与脑出血组比较差异均有显著性意义($P<0.01$)。见表3。

表2 脑出血组和高压氧组 HIF1- α 、VEGF 蛋白表达

($\bar{x}\pm s$)

组别	HIF1- α					VEGF				
	第4天	第7天	第14天	第21天	第28天	第4天	第7天	第14天	第21天	第28天
脑出血组	30.39 $\pm$ 5.11	26.74 $\pm$ 4.97	16.88 $\pm$ 1.63	6.01 $\pm$ 2.65	5.70 $\pm$ 2.07	9.68 $\pm$ 2.52	22.88 $\pm$ 1.92	32.39 $\pm$ 2.08	23.41 $\pm$ 3.07	8.37 $\pm$ 4.02
高压氧组	32.03 $\pm$ 4.37	35.76 $\pm$ 3.70	49.74 $\pm$ 4.68 ^①	31.39 $\pm$ 2.53 ^①	20.74 $\pm$ 4.04 ^①	10.36 $\pm$ 4.05	26.43 $\pm$ 2.13	47.74 $\pm$ 5.06 ^②	63.05 $\pm$ 3.59 ^②	26.41 $\pm$ 2.55 ^②

与同时时间点脑出血组比较:① $P<0.01$;与各时间点脑出血组比较:② $P<0.01$

表3 三组 HIF1- α mRNA、VEGF mRNA 的表达

($\bar{x}\pm s$)

组别	HIF1- α mRNA					VEGF mRNA				
	第4天	第7天	第14天	第21天	第28天	第4天	第7天	第14天	第21天	第28天
假手术组	0.02 $\pm$ 0.01	0.02 $\pm$ 0.01	0.02 $\pm$ 0.01	0.02 $\pm$ 0.01	0.02 $\pm$ 0.01	0.04 $\pm$ 0.02	0.04 $\pm$ 0.02	0.04 $\pm$ 0.02	0.04 $\pm$ 0.02	0.04 $\pm$ 0.02
脑出血组	0.49 $\pm$ 0.29	0.41 $\pm$ 0.22	0.40 $\pm$ 80.1 ^①	0.39 $\pm$ 0.21 ^①	0.38 $\pm$ 0.10 ^①	0.38 $\pm$ 0.30	0.53 $\pm$ 0.13	0.52 $\pm$ 0.31	0.34 $\pm$ 0.13 ^⑤	0.32 $\pm$ 0.05 ^⑤
高压氧组	0.54 $\pm$ 0.33	0.60 $\pm$ 0.38	0.68 $\pm$ 0.17 ^{②③}	0.94 $\pm$ 0.22 ^{②④}	0.87 $\pm$ 0.21 ^{②④}	0.69 $\pm$ 0.34	0.72 $\pm$ 0.52	0.77 $\pm$ 0.59	0.85 $\pm$ 0.16 ^{⑥⑦}	1.00 $\pm$ 0.22 ^{⑥⑦}

与同时时间点假手术组比较:① $P<0.05$;② $P<0.01$;与同时时间点脑出血组比较:③ $P<0.05$;④ $P<0.01$;与同时时间点假手术组比较:⑤ $P<0.05$;⑥ $P<0.01$;与同时时间点脑出血组比较:⑦ $P<0.01$

3 讨论

脑出血是中老年人的常见病,发病急、致残率高^[5]。脑出血的预后受多种因素影响^[6],其中在缺血半暗带诱导新生血管形成^[7],及时恢复受累脑组织的再灌注和供氧,是影响脑出血预后的关键因素^[8]。

3.1 高压氧与脑出血的脑内血管新生

脑新生血管形成有助于恢复脑组织的供血和供氧,对抗缺氧缺血损伤和促进组织与神经细胞的修复,从而挽救濒死的神经细胞,在治疗脑出血与降低脑出血患者病死率及致残率中起重要作用^[9]。高压氧可改善损伤组织氧供,纠正酸中毒,改善微循环,促进损伤组织血管新生,加速侧支循环建立,从而有利于损伤组织的修复和伤口愈合^[10]。本研究图1结果可见,脑出血后第7天与第4天相比,脑出血组与高压氧组均可见较多的血管样内皮细胞,但高压氧组可见更多的血管样结构和微血管。第14—28天,脑出血组血管样结构和微血管较多出现,但高压氧组可见大量分布的血管样结构和微血管,新生血管

数目明显增多。这说明高压氧能增加脑血肿周围组织的氧供,改善脑组织和细胞缺氧,促进血管内皮细胞增殖与再生,促使血管样结构和微血管的形成,进一步促进脑出血血肿周围脑组织血管的新生。

3.2 高压氧对脑出血血管新生调节因子的影响

3.2.1 HIF1- α 的表达影响:HIF-1 α 是低氧诱导细胞所产生的一种转录因子,是氧调控信息传递通路中的重要因子^[11]。在脑出血发生后,脑出血灶周围脑组织中 VEGF 高表达,与 HIF-1 α 存在正相关关系^[12]。HIF-1 可增加 VEGF mRNA 的稳定性并增加 VEGF 的转录活性,改善血管通透性,消除组织水肿^[13]。本实验中表2,图2结果显示,在高压氧处理第14天时,HIF1- α 蛋白的含量继续增加并达到高峰,其后才逐渐下降,且14天 HIF1- α 阳性表达微血管数目也明显增多,两组在第14、21、28天比较差异有显著性意义,这机制可能为反复暴露在高压氧环境中,使得 HIF1- α 的生成量大大增加,并足以对抗泛素的降解,目前已有研究证实^[14]高压氧可增加一氧化氮及一些

自由基的含量,这些物质能诱导 HIF1- α 表达上调。本实验表3结果也显示,高压氧组 HIF1- α mRNA 的表达量在第4—21天时逐渐增加,直到第21天时达到高峰值。三组在第14、21、28天时比较差异均有显著性意义,高压氧组与脑出血组比较差异均有显著性意义,这说明高压氧可促进 HIF1- α mRNA 的表达,从而提高 HIF1- α 蛋白含量。

3.2.2 VEGF 的表达影响: VEGF 是细胞因子的一种,分布于血管内皮细胞、巨噬细胞、霍夫包细胞及滋养层细胞表面。VEGF 在与血管内皮细胞增生相关的病理生理机制中占中心调控地位^[15]。缺氧时 HIF-1 α 与 VEGF 基因的 HRE 结合后,促进 VEGF 转录和表达,进而作用于血管内皮细胞表面的 VEGFR-1 和 VEGFR-2,从而激活了一系列的缺血转导通路,诱导新生血管的形成。本研究表2结果显示,高压氧组 VEGF 蛋白的表达在第4—21天一直增加,在第21天才达到高峰,VEGF mRNA 的表达也是如此(表3),直到第28天仍然表达增高。高压氧组第21天 VEGF 表达阳性微血管数目也较脑出血明显增多。脑出血组和高压氧组比较,VEGF 和 VEGF mRNA 的表达值在第14、21、28天差异均有显著性意义。本实验结果显示,这与高压氧促进 HIF1- α 和 HIF1- α mRNA 的表达相对应,能进一步加强诱导脑血肿周围新生血管的形成。高压氧处理能增加 VEGF 表达在 Khan M 等^[16]研究中得到了证实。

总之,高压氧治疗可以促进血管新生相关因子 HIF1- α 、VEGF 的表达,促进血肿周围大量形成血管样结构和微血管,使新生血管数目明显增多,从而增加局部脑血流,改善脑组织及神经细胞的缺血缺氧,促进脑血肿的吸收,促进脑出血受损神经功能的恢复。

参考文献

- [1] Sangha N, Gonzales NR. Treatment targets in intracerebral hemorrhage[J]. Neurotherapeutics, 2011, 8(3):374—387.
- [2] Tang X, Yin X, Zhang T, et al. The effect of hyperbaric oxygen on clinical outcome of patients after resection of meningiomas with conspicuous peritumoral brain edema[J]. Undersea Hyperb Med, 2011, 38(2):109—115.
- [3] Rosenberg GA, Mun-Bryce S, Wesley M, et al. Collagenase-induced intracerebral hemorrhage in rats[J]. Stroke, 1990, 21(5):801—807.
- [4] Lou M, Eschenfelder CC, Herdegen T, et al. Therapeutic window for use of hyperbaric oxygenation in focal transient ischemia in rats[J]. Stroke, 2004, 35(2):578—583.
- [5] Wang WJ, Lu JJ, Wang YJ, et al. Clinical characteristics, management, and functional outcomes in Chinese patients within the first year after intracerebral hemorrhage: analysis from China National Stroke Registry[J]. CNS Neurosci Ther, 2012, 18(9):773—780.
- [6] Brown RD, Whisnant JP, Sicks JD, et al. Stroke incidence, prevalence and survival: secular trends in Rochester, Minnesota, through 1989[J]. Stroke, 1996, 27(3):373—380.
- [7] Risau W. Mechanisms of angiogenesis[J]. Nature, 1997, 386(6626):671—674.
- [8] Mayer SA, Lignelli A, Fink ME, et al. Perilesional blood flow and edema formation in acute intracerebral hemorrhage: a SPECT study[J]. Stroke, 1998, 29(9):1791—1798.
- [9] Emanuelli C, Madeddu P. Angiogenesis gene therapy to rescue ischaemic tissues: achievements and future directions[J]. Br J Pharmacol, 2001, 133(7):951—958.
- [10] Asano T, Kaneko E, Shinozaki S, et al. Hyperbaric oxygen induces basic fibroblast growth factor and hepatocyte growth factor expression, and enhances blood perfusion and muscle regeneration in mouse ischemic hind limbs[J]. Circ J, 2007, 71(3):405—411.
- [11] Jiang BH, Rue E, Wang GL, et al. Dimerization, DNA binding, and transactivation properties of hypoxia-inducible factor 1[J]. J Biol Chem, 1996, 271(30):17771—17778.
- [12] Tang CP, Guo SG, Huang XM, et al. Investigation of the perihematoma expression of hypoxia-inducible factor-1 α and VEGF[J]. Chin J Modern Med, 2005, 15(9):1305—1307.
- [13] Cramer T, Schipani E, Johnson RS, et al. Expression of VEGF isoforms by epiphyseal chondrocytes during low-oxygen tension is HIF-1 α dependent[J]. Osteoarthritis Cartilage, 2004, 12(6):433—439.
- [14] Semenza GL. HIF-1: mediator of physiological and pathophysiological responses to hypoxia[J]. J Appl Physiol, 2000, 88(4):1474—1480.
- [15] Kimura R, Nakase H, Tamaki R, et al. Vascular endothelial growth factor antagonist reduces brain edema formation and venous infarction[J]. Stroke, 2005, 36(6):1259—1263.
- [16] Khan M, Meduru S, Pandian RP, et al. Effect of oxygenation on stem-cell therapy for myocardial infarction[J]. Adv Exp Med Biol, 2011, (701):175—181.