

# 缺氧通过 HIF-1 $\alpha$ /PCSK9 信号途径诱导神经细胞凋亡

刘录山<sup>1</sup>, 邓懿铭<sup>1</sup>, 李清<sup>2</sup>

(1. 南华大学心血管疾病研究所 动脉硬化化学湖南省重点实验室 湖南省动脉硬化性疾病国际科技合作与创新联合实验室, 湖南省衡阳市 421001; 2. 湖南环境生物职业技术学院病理学教研室, 湖南省衡阳市 421001)

[专家简介] 刘录山, 博士, 博士后, 三级教授, 博士研究生导师, 现任动脉硬化化学湖南省重点实验室副主任, 南华大学心血管病研究所所长, 湖南省新世纪 121 人才和湖南省医学学科带头人, 湖南省青年骨干教师。兼任《中国动脉硬化杂志》常务编委、《中南医学科学杂志》编委、《Nutrition & Metabolism》、《Acta Pharmacologica Sinica》等特邀审稿人。担任中国病理生理学会动脉粥样硬化专业委员会委员兼秘书长, 国际动脉粥样硬化学会中国分会常务理事兼秘书长, 中国转化医学联盟细胞生物学会分会委员。主要研究领域是前蛋白转化酶枯草溶菌素 9 与心脑血管(神经)生物学功能研究。主持国家级和省部级项目 10 余项, 发表论文 80 余篇, 以第一作者或通信作者发表 SCI 收录论文 20 余篇。主编教材 1 部, 参编教材 4 部, 专著 3 部。



[关键词] 前蛋白转化酶枯草溶菌素 9; 缺氧诱导因子-1 $\alpha$ ; 凋亡; 缺氧; 缺氧缺血性脑损伤

[摘要] 目的 研究缺氧是否通过上调缺氧诱导因子 1 $\alpha$  (HIF-1 $\alpha$ ) 水平而调控前蛋白转化酶枯草溶菌素 9 (PCSK9) 表达并诱导神经细胞凋亡。方法 分别用 0、125、250、500  $\mu\text{mol/L}$  氯化钴 ( $\text{CoCl}_2$ ) 处理 PC12 细胞, 蛋白印迹法检测其 PCSK9 及 HIF-1 $\alpha$  表达; Hoechst33258 核染色及流式细胞术检测  $\text{CoCl}_2$  对 PC12 细胞凋亡的影响。用 250  $\mu\text{mol/L}$   $\text{CoCl}_2$  处理 PC12 细胞 0、6、12、24 h, 蛋白印迹法检测其 PCSK9 及 HIF-1 $\alpha$  表达。不同浓度 HIF-1 $\alpha$  激动剂二甲基乙二酰基甘氨酸 (DMOG) 或 HIF-1 $\alpha$  抑制剂非西呱 (YC-1) 处理 PC12 细胞 24 h, 检测 PCSK9、HIF-1 $\alpha$ 、胱天蛋白酶 3 (Caspase-3)、Caspase-9 的表达及对 PC12 细胞凋亡的影响。PC12 细胞经 PCSK9 siRNA 转染后与 250  $\mu\text{mol/L}$   $\text{CoCl}_2$  孵育, 检测对 PC12 细胞凋亡的影响及 PCSK9、HIF-1 $\alpha$ 、Caspase-3、Caspase-9 蛋白的表达。结果 PCSK9、HIF-1 $\alpha$  的表达及细胞凋亡程度呈  $\text{CoCl}_2$  浓度与时间依赖性增高。PC12 细胞中 HIF-1 $\alpha$  和 PCSK9 的表达呈 DMOG 浓度依赖性增高, Caspase-3、Caspase-9 表达及 PC12 细胞凋亡率呈 DMOG 浓度依赖性降低; PC12 细胞中 HIF-1 $\alpha$  和 PCSK9 的表达呈 YC-1 浓度依赖性降低, Caspase-3、Caspase-9 表达及 PC12 细胞凋亡率呈 YC-1 浓度依赖性升高。与空白组及无义 RNA 组比较, PCSK9 siRNA 转染组 Caspase-3、Caspase-9 表达减少, 凋亡程度降低。结论 细胞缺氧状态下 HIF-1 $\alpha$  水平的增高能上调 PCSK9 表达并调控神经细胞凋亡。

[中图分类号] Q252

[文献标识码] A

## Hypoxia induces neuronal apoptosis through HIF-1 $\alpha$ /PCSK9 signaling pathway

LIU Lushan<sup>1</sup>, DENG Yiming<sup>1</sup>, LI Qing<sup>2</sup>

(1. Institute of Cardiovascular Disease, University of South China & Key Laboratory for Arteriosclerosis of Hunan Province & Human International Scientific and Technological Cooperation Base of Arteriosclerotic Disease, Hengyang, Hunan 421001, China; 2. Department of Pathology, Hunan Polytechnic of Environment and Biology, Hengyang, Hunan 421001, China)

[KEY WORDS] PCSK9; HIF-1 $\alpha$ ; apoptosis; hypoxia; ischemic brain injury

[ABSTRACT] **Aim** To unravel if hypoxia elevates the expression of proprotein convertase subtilisin-kexin type 9 (PCSK9) by up-regulating expression of hypoxia-induced factor-1 alpha (HIF-1 $\alpha$ ) to mediate neuronal apoptosis.

**Methods** PC12 cells were treated with 0, 125, 250 and 500  $\mu\text{mol/L}$   $\text{CoCl}_2$ , respectively, and the expression of PCSK9 and HIF-1 $\alpha$  were detected by western blot. Hoechst33258 nuclear staining and flow cytometry were used to detect the

[收稿日期] 2021-03-04

[修回日期] 2021-04-23

[基金项目] 国家自然科学基金(81370376); 湖南省自然科学基金(2018JJ2343)

[作者简介] 邓懿铭, 硕士研究生, 研究方向为心脑血管疾病, E-mail 为 348874790@qq.com。通信作者刘录山, 博士, 博士后, 三级教授, 博士研究生导师, 研究方向为 PCSK9 与心脑血管(神经)生物学功能, E-mail 为 liuls2000@163.com。

effect of  $\text{CoCl}_2$  on PC12 cell apoptosis. PC12 cells were treated with 250  $\mu\text{mol/L}$   $\text{CoCl}_2$  for 0, 6, 12 and 24 h, and the expression of PCSK9 and HIF-1 $\alpha$  were detected by western blot. PC12 cells were treated with different concentrations of HIF-1 $\alpha$  agonist dimethylglycoglycine (DMOG) or HIF-1 $\alpha$  inhibitor rifeciperum (YC-1) for 24 h, and the expression of PCSK9, HIF-1 $\alpha$ , Caspase-3 and Caspase-9 and their effects on apoptosis of PC12 cells were detected. PC12 cells were transfected with PCSK9 siRNA and incubated with 250  $\mu\text{mol/L}$   $\text{CoCl}_2$  to detect the effect of PCSK9 apoptosis and the expression of PCSK9, HIF-1 $\alpha$ , Caspase-3 and Caspase-9 proteins. **Results** Expression of PCSK9 and HIF-1 $\alpha$  and the degree of apoptosis increased in a time - dependent manner with the concentration of  $\text{CoCl}_2$ . Expression of HIF-1 $\alpha$  and PCSK9 in PC12 cells increased in a DMOG concentration-dependent manner, while the expression of Caspase-3 and Caspase-9 and the apoptosis rate of PC12 cells decreased in a DMOG concentration-dependent manner. Expression of HIF-1 $\alpha$  and PCSK9 in PC12 cells decreased in a YC-1 concentration-dependent manner, while the expression of Caspase-3 and Caspase-9 and the apoptosis rate of PC12 cells increased in a YC-1 concentration-dependent manner. Compared with blank group and meaningless RNA group, the expression of Caspase-3 and Caspase-9 in PCSK9 siRNA transfection group decreased, and the degree of apoptosis decreased. **Conclusion** Hypoxia increases the level of HIF-1 $\alpha$  and promotes the expression of PCSK9 to regulate neuronal apoptosis.

缺血缺氧性脑损伤通常由脑组织出现急性或慢性的局部或完全缺氧所导致,临床上以新生儿窒息引起的脑损伤多见<sup>[1]</sup>,是引起神经系统损伤的主要原因,在此过程中神经细胞凋亡起着重要作用<sup>[2]</sup>。

缺氧诱导因子-1 $\alpha$ (hypoxia inducible factor, HIF-1 $\alpha$ )是一类真核细胞转录因子,在细胞处于低氧状态时其表达水平升高以应激性地对抗内环境改变<sup>[3-4]</sup>。研究表明前蛋白转化酶枯草溶菌素9(proprotein convertase subtilisin/kexin type 9, PCSK9)与神经细胞凋亡存在相关性<sup>[5]</sup>。本课题研究缺氧是否通过调节 HIF-1 $\alpha$  表达上调 PCSK9 水平引起神经细胞凋亡,旨在为缺血缺氧性损伤的防治提供潜在的治疗靶点。

## 1 材料和方法

### 1.1 试剂与仪器

PC12 细胞购自中科院上海细胞库;氯化钴( $\text{CoCl}_2$ )购于美国西格玛公司;DMEM 培养基购于美国 Hyclone 公司;ECL 化学发光检测试剂盒购自湖南艾佳生物科技公司;胎牛血清购自天津市灏洋生物制品公司;Hoechst 33258 染色剂购自江苏碧云天生物有限公司;PCSK9、HIF-1 $\alpha$ 、Caspase-3、Caspase-9、 $\beta$ -actin 兔抗人多克隆抗体均购自 Proteintech 公司;Lip 2000 转染试剂、台盼蓝染色液购自北京索莱宝公司;缺氧诱导因子抑制剂利非西呱(YC-1)、缺氧诱导因子激动剂二甲基乙二酰基甘氨酸(DMOG)购自美国 Selleck 公司;PCSK9 小干扰 RNA(PCSK9 small interfering RNA, PCSK9 siRNA)购自吉凯基因。倒置光学显微镜购自日本 Olympus

公司;倒置荧光显微镜购自日本尼康公司;化学发光成像系统购自上海天能公司;凝胶电泳系统购自美国 BIO-RAD 公司;Aria II 流式细胞仪购自美国 BD 公司。

### 1.2 细胞培养及分组

PC12 细胞于含有 10% 胎牛血清及 1% 青/链霉素的 DMEM 培养基中,37  $^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$  条件下培养。2~3 天定期更换培养基,融合度 70%~80% 进行传代。使用不同浓度  $\text{CoCl}_2$ (0、125、250、500  $\mu\text{mol/L}$ ) 孵育 PC12 细胞 24 h 并观察  $\text{CoCl}_2$  对 PC12 细胞的影响;使用不同浓度 DMOG(0、250、500、1 000  $\mu\text{mol/L}$ ) 与 250  $\mu\text{mol/L}$   $\text{CoCl}_2$  共孵育 PC12 细胞 24 h 并观察 DMOG 对 PC12 细胞的影响;使用不同浓度 YC-1(0、1、10、50  $\mu\text{mol/L}$ ) 与 250  $\mu\text{mol/L}$   $\text{CoCl}_2$  共孵育 PC12 细胞 24 h 并观察 YC-1 对 PC12 细胞的影响。细胞转染实验中,无义 RNA 组为 siCtrl+250  $\mu\text{mol/L}$   $\text{CoCl}_2$ , PCSK9 siRNA 组为 siPCSK9+250  $\mu\text{mol/L}$   $\text{CoCl}_2$ 。

### 1.3 蛋白印迹分析

对各个分组中的 PC12 细胞分别进行处理后提取总蛋白,在培养瓶中加入 RIPA 裂解液充分作用,采用 BCA 法进行蛋白含量测定,取含有 30  $\mu\text{g}$  蛋白的样本进行蛋白印迹法检测,电泳后电转移至 PVDF 膜,5% 脱脂牛奶室温下作用 2 h,4  $^{\circ}\text{C}$  孵育 1:1 000 稀释的 PCSK9、HIF-1 $\alpha$ 、Caspase-3、Caspase-9 一抗或 1:5 000 稀释的  $\beta$ -actin 一抗过夜,洗膜 3 次后室温孵育 1:2 000 稀释的二抗 1 h,ECL 化学发光法得到条带并计算蛋白相对表达水平。

### 1.4 Hoechst 33258 核染色检测细胞凋亡

PC12 细胞分别进行处理后,以 1 $\times$ PBS 润洗细胞 3 次,4% 多聚甲醛固定 30 min,蒸馏水润洗 3 次,

10 min/次,每孔加入 Hoechst 33258 染液于避光条件下作用 25 min,蒸馏水润洗 3 次,10 min/次。甘油封片,于倒置荧光显微镜下观察并拍照。

### 1.5 Annexin V-FITC/PI 染色

处理各组 PC12 细胞后,0.25% 的胰酶 1 mL 消化适度后终止,吹打混匀后离心 1 000 r/min 10 min,收集细胞并以 1×Binding Buffer 重悬,离心 2 000 r/min 5 min,洗涤。1×Binding Buffer 再次重悬,离心 2 000 r/min 5 min 后再次加入缓冲液重悬混匀后继续加 5 μL Annexin V-FITC 进行染色,于常温下孵育 15 min 后再补入 5 μL PI 与 200 μL 缓冲液后使用流式细胞仪进行检测并计数。

### 1.6 细胞转染

PC12 细胞接种于 24 孔板中待融合度达 30% ~ 50% 后转染,通过脂质体 Lip2000 使无义 siRNA 与 PCSK9 siRNA 分别转染 PC12 细胞,并分别标记为无义 RNA 组与 PCSK9 siRNA 组,37 °C 培养箱中转染 48 h 后检测转染效率。PCSK9 siRNA 正义链为 5'-GGAGGAUAGCCUGGUUGAUdTdT-3',反义链为 3'-dTdT TCCUCCUAUCGGACCAACUA-5';阴性对照 siRNA 由吉凯基因公司提供。

### 1.7 统计分析

所有实验重复 3 次,数据结果用  $\bar{x} \pm s$  表示。采用 SPSS 12.0 软件分析, $P < 0.05$  为差异有显著性。

## 2 结果

### 2.1 CoCl<sub>2</sub> 对 PC12 细胞中 HIF-1α 和 PCSK9 表达的影响

与 0 μmol/L CoCl<sub>2</sub> 组比较,其他 CoCl<sub>2</sub> 处理组 HIF-1α 和 PCSK9 表达升高且随 CoCl<sub>2</sub> 浓度的增加

呈递增趋势(图 1)。用 250 μmol/L CoCl<sub>2</sub> 处理 PC12 细胞 0、6、12、24 h,随着处理时间延长,HIF-1α 和 PCSK9 表达呈递增趋势(图 1)。

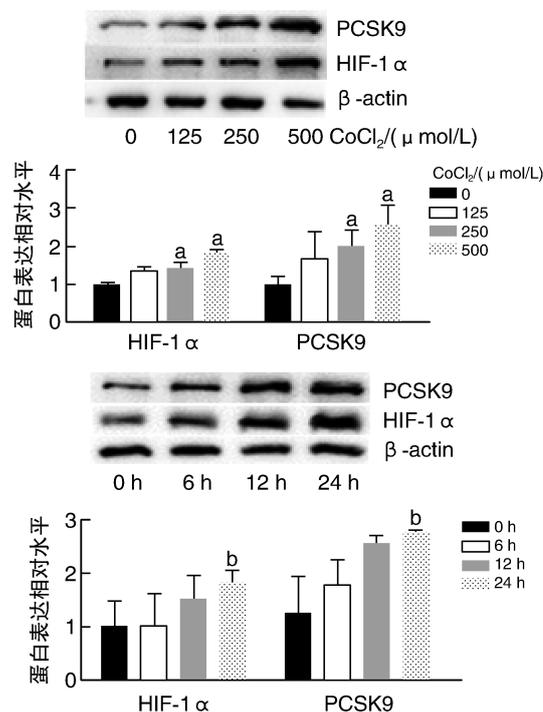


图 1 不同浓度或不同时间 CoCl<sub>2</sub> 处理 PC12 细胞对 HIF-1α 及 PCSK9 表达影响  
a 为  $P < 0.05$ ,与 0 μmol/L CoCl<sub>2</sub> 组比较;  
b 为  $P < 0.05$ ,与 0 h 比较。

### 2.2 CoCl<sub>2</sub> 呈浓度依赖性促进 PC12 细胞的凋亡

结果显示随着 CoCl<sub>2</sub> 浓度的增高,与核染剂 Hoechst33258 结合而呈致密浓染或呈碎块状致密浓染区域逐渐增多;流式细胞术检测显示凋亡率也随之递增(图 2)。

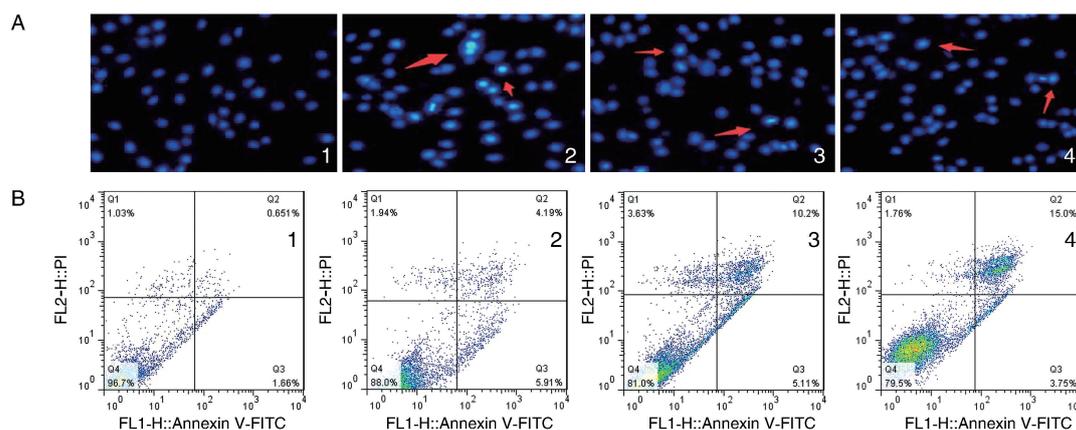


图 2 CoCl<sub>2</sub> 呈浓度依赖性促进 PC12 细胞的凋亡

A 为 Hoechst33258 染色(200×),箭头所示处为凋亡细胞;B 为流式细胞术。

1、2、3、4 分别为 0、125、250、500 μmol/L 的 CoCl<sub>2</sub> 处理组。

### 2.3 DMOG 对 PC12 细胞 HIF-1 $\alpha$ 、PCSK9 表达以及凋亡的影响

各浓度组 DMOG 均能在 CoCl<sub>2</sub> 诱导的低氧状态下上调 PC12 细胞中 HIF-1 $\alpha$ 、PCSK9 的表达并下调 Caspase-3、Caspase-9 的表达(图 3)。Hoechst33258 染色结果及流式细胞术检测结果显示,DMOG 呈浓度依赖性抑制 CoCl<sub>2</sub> 导致的 PC12 凋亡(图 4)。

### 2.4 YC-1 对 PC12 细胞 PCSK9、HIF-1 $\alpha$ 表达以及 PC12 细胞凋亡的影响

各浓度组 YC-1 均能在 CoCl<sub>2</sub> 诱导的低氧状态下下调 PC12 细胞中 PCSK9、HIF-1 $\alpha$  的表达并上调 Caspase-3、Caspase-9 的表达且表现出浓度依赖性(图 5)。Hoechst33258 染色结果及流式细胞术检测结果显示,YC-1 呈浓度依赖性促进 PC12 凋亡(图 6)。

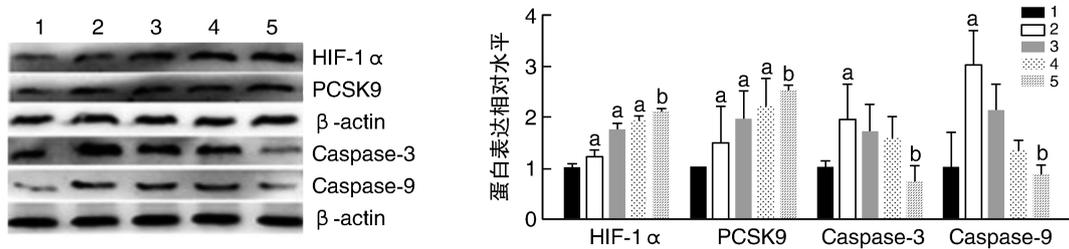


图 3 DMOG 对 PC12 细胞 HIF-1 $\alpha$  和 PCSK9 表达以及凋亡的影响

1 为空白对照组;2 为 250  $\mu\text{mol/L}$  CoCl<sub>2</sub> 组;3 为 250  $\mu\text{mol/L}$  CoCl<sub>2</sub>+250  $\mu\text{mol/L}$  DMOG 组;  
4 为 250  $\mu\text{mol/L}$  CoCl<sub>2</sub>+500  $\mu\text{mol/L}$  DMOG 组;5 为 250  $\mu\text{mol/L}$  CoCl<sub>2</sub>+1 000  $\mu\text{mol/L}$  DMOG 组。  
a 为  $P<0.05$ ,与空白对照组比较;b 为  $P<0.05$ ,与 250  $\mu\text{mol/L}$  CoCl<sub>2</sub> 组比较。

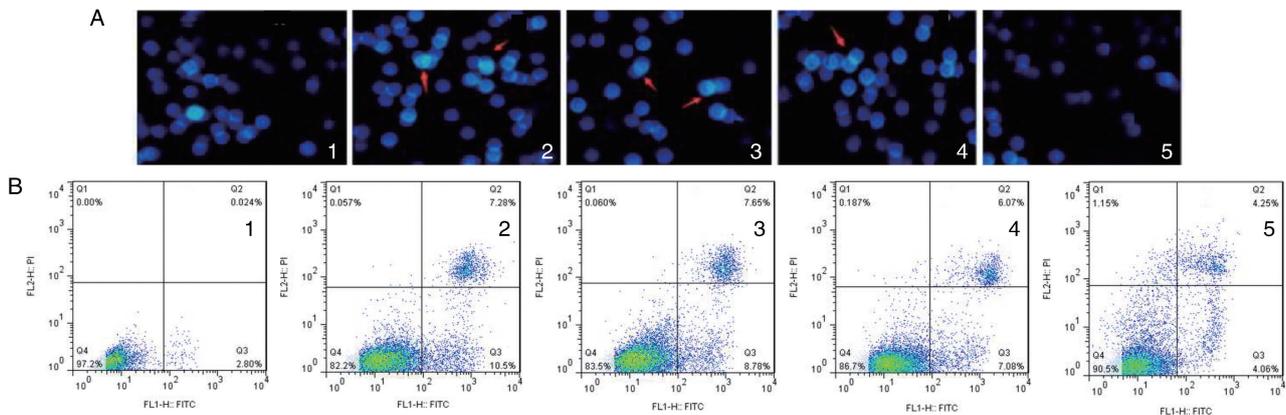


图 4 DMOG 呈浓度依赖性降低 PC12 细胞凋亡水平

A 为 Hoechst33258 染色(200 $\times$ ),箭头所示处为凋亡细胞;B 为流式细胞术。

1 为空白对照组;2 为 250  $\mu\text{mol/L}$  CoCl<sub>2</sub> 组;3 为 250  $\mu\text{mol/L}$  CoCl<sub>2</sub>+250  $\mu\text{mol/L}$  DMOG 组;  
4 为 250  $\mu\text{mol/L}$  CoCl<sub>2</sub>+500  $\mu\text{mol/L}$  DMOG 组;5 为 250  $\mu\text{mol/L}$  CoCl<sub>2</sub>+1 000  $\mu\text{mol/L}$  DMOG 组。

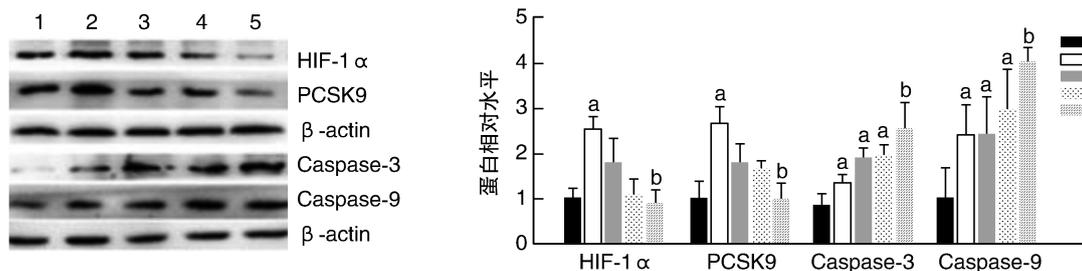


图 5 不同浓度 HIF-1 $\alpha$  抑制剂 YC-1 对 PC12 细胞 HIF-1 $\alpha$ 、PCSK9 及凋亡相关蛋白表达的影响

1 为空白对照组;2 为 250  $\mu\text{mol/L}$  CoCl<sub>2</sub> 组;3 为 250  $\mu\text{mol/L}$  CoCl<sub>2</sub>+1  $\mu\text{mol/L}$  YC-1 组;  
4 为 250  $\mu\text{mol/L}$  CoCl<sub>2</sub>+10  $\mu\text{mol/L}$  YC-1 组;5 为 250  $\mu\text{mol/L}$  CoCl<sub>2</sub>+50  $\mu\text{mol/L}$  YC-1 组。  
a 为  $P<0.05$ ,与空白对照组比较;b 为  $P<0.05$ ,与 250  $\mu\text{mol/L}$  CoCl<sub>2</sub> 组比较。

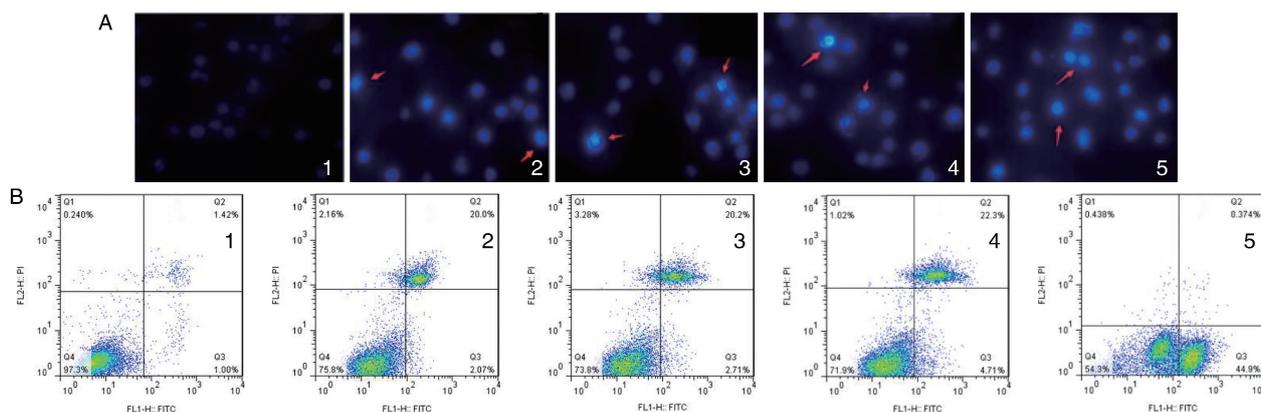


图 6 YC-1 呈浓度依赖性增加 PC12 细胞凋亡水平

A 为 Hoechst33258 染色(200×), 箭头所示处为凋亡细胞; B 为流式细胞术。

1 为空白对照组; 2 为 250 μmol/L CoCl<sub>2</sub> 组; 3 为 250 μmol/L CoCl<sub>2</sub>+1 μmol/L YC-1 组; 4 为 250 μmol/L CoCl<sub>2</sub>+10 μmol/L YC-1 组; 5 为 250 μmol/L CoCl<sub>2</sub>+50 μmol/L YC-1 组。

### 2.5 PCSK9 siRNA 转染结果鉴定

与空白组及无义 RNA 组比较, siPCSK9 组基因表达显著下调, 证明转染效率较高, 转染成功(图 7)。

### 2.6 PCSK9 siRNA 转染对 PC12 细胞凋亡的影响

为进一步探究 PCSK9 在 CoCl<sub>2</sub> 诱导的 PC12 细胞凋亡中的作用, 进行如下分组: 空白对照组; 250 μmol/L CoCl<sub>2</sub> 组; 250 μmol/L CoCl<sub>2</sub>+无义 RNA 组; 250 μmol/L CoCl<sub>2</sub>+PCSK9 siRNA 组。Western blot 检测显示, 与无义 RNA 组比较, 250 μmol/L CoCl<sub>2</sub>+PCSK9 siRNA 组 PCSK9 表达降低且 Caspase-3、Caspase-9 表达均减少(图 8)。Hoechst33258 荧光染色及流式细胞术检测结果显示, 干扰 PCSK9 表达可降低 CoCl<sub>2</sub> 导致的 PC12 凋亡(图 9)。

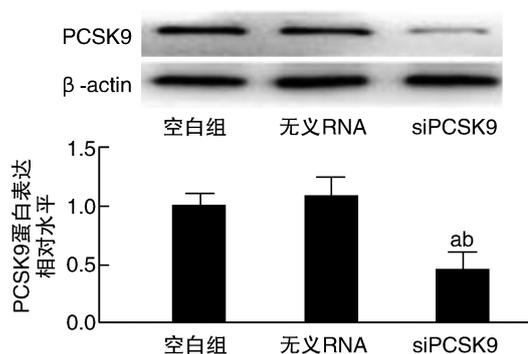


图 7 PCSK9 siRNA 有效降低了 PC12 细胞中 PCSK9 表达( $n=3$ )

a 为  $P<0.05$ , 与无义 RNA 组比较; b 为  $P<0.05$ , 与空白组比较。

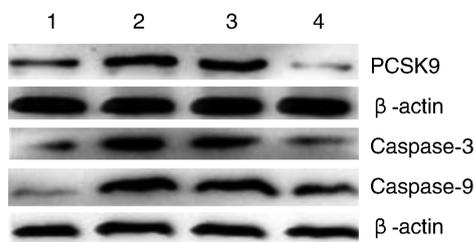
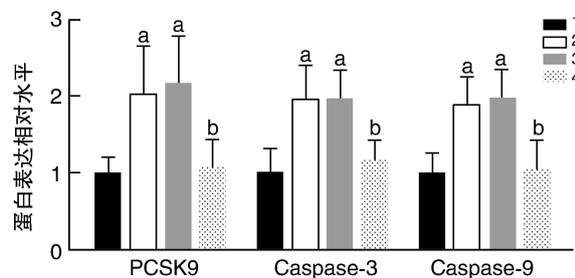


图 8 PCSK9 siRNA 对 CoCl<sub>2</sub> 诱导的 PC12 细胞中 PCSK9 及凋亡相关蛋白表达的影响

1 为空白对照组; 2 为 250 μmol/L CoCl<sub>2</sub> 组; 3 为 250 μmol/L CoCl<sub>2</sub>+无义 RNA 组; 4 为 250 μmol/L CoCl<sub>2</sub>+PCSK9 siRNA 组。

a 为  $P<0.05$ , 与空白对照组比较; b 为  $P<0.05$ , 与 250 μmol/L CoCl<sub>2</sub> 组比较。



## 3 讨论

心脑血管疾病等慢性病引起的慢性缺血缺氧仍是目前一大难题。课题组前期研究发现 oxLDL 促使 PC12 细胞凋亡是 PCSK9 通过 Bcl-2/Bax-Caspase-9/3

信号通路所诱导<sup>[6]</sup>, 提示 PCSK9 具有促神经细胞凋亡的作用。

HIF-1 是一类细胞缺氧相关转录因子, 细胞低氧应激下其表达上调可激活多条相关通路, 但其在缺氧损伤中的作用及机制仍具有争议性<sup>[7-8]</sup>, 细胞种属特

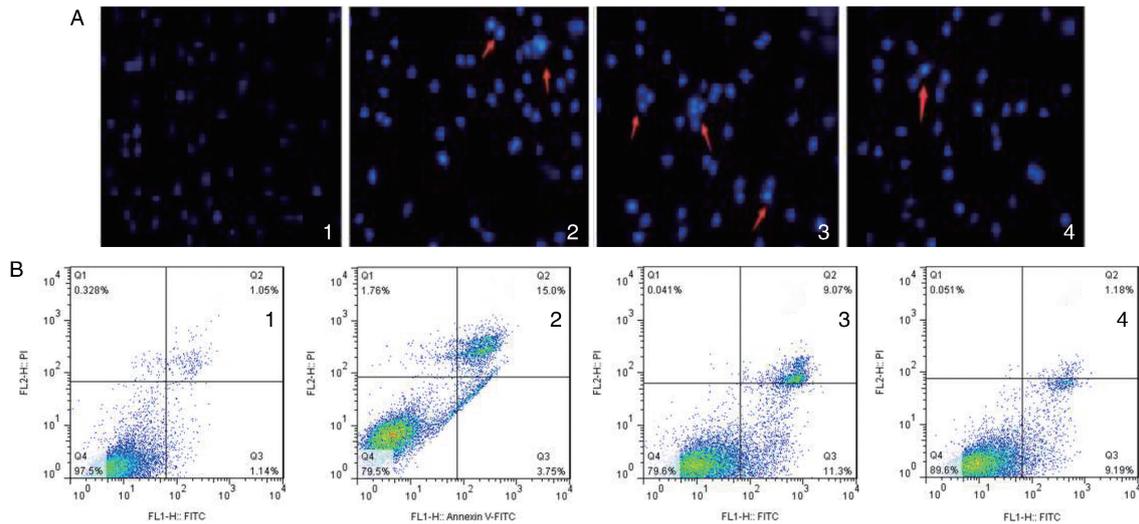


图9 PCSK9 siRNA 下调 PC12 细胞凋亡水平

A 为 Hoechst33258 染色, 200 $\times$ , 箭头所示处为凋亡细胞; B 为流式细胞术

1 为空白对照组; 2 为 250  $\mu\text{mol/L}$  CoCl<sub>2</sub> 组; 3 为 250  $\mu\text{mol/L}$  CoCl<sub>2</sub> + 无义 RNA 组; 4 为 250  $\mu\text{mol/L}$  CoCl<sub>2</sub> + PCSK9 siRNA 组

异性及浓度相关的双向性调节可能是其原因。

缺血缺氧性脑损伤发病机制复杂, 氧化应激、谷氨酸兴奋性神经毒性、炎症、钙超载等都是其中可能的分子机制, 而神经细胞凋亡或坏死是其最终结果<sup>[9]</sup>。细胞凋亡是一种多基因严格控制的细胞自主性、有序性的死亡, 正常水平的凋亡在调节细胞周期、维持内环境稳态及个体发育中有着重要意义, 而既往神经学研究显示神经细胞的加速凋亡是神经退行性变的重要原因。研究表明缺氧使神经细胞凋亡增加<sup>[10]</sup>, 且缺氧能使神经细胞 HIF-1 $\alpha$  表达增加<sup>[8]</sup>。本研究中选用 CoCl<sub>2</sub> 作为细胞缺氧模拟剂对 PC12 进行缺氧干预<sup>[11]</sup>, 进一步通过分级干预探究 PCSK9 与 HIF-1 $\alpha$  在神经细胞凋亡中的作用机制。结果表明: CoCl<sub>2</sub> 处理下 PC12 细胞中 PCSK9、HIF-1 $\alpha$  以及细胞凋亡水平较对照组升高, PCSK9 siRNA 转染后, CoCl<sub>2</sub> 处理下 PC12 细胞凋亡水平较转染对照组下降, 表明低氧状态下 PC12 细胞凋亡水平升高, 而 HIF-1 $\alpha$  介导的 PCSK9 表达上调是其潜在的分子机制。

综上所述, CoCl<sub>2</sub> 诱导的细胞缺氧状态能上调 PC12 细胞凋亡水平, HIF-1 $\alpha$  介导的 PCSK9 表达上调是其潜在分子机制。这为缺血缺氧性脑损伤的防治提供了分子生物学依据, 为缺血缺氧性脑损伤的靶向防治提供更多思路。

#### [参考文献]

- [1] LAPTOOK A R. Birth asphyxia and hypoxic-ischemic brain injury in the preterm infant[J]. Clin Perinatol, 2016, 43(3): 529-45.
- [2] WIXEY J A, Reinebrant H E, Chand K K, et al. Disruption to the 5-HT7 receptor following hypoxia-ischemia in the immature rodent brain[J]. Neurochem Res, 2018, 43(3): 711-20.
- [3] LI Y L, ZHANG N Y, HU X, et al. Evodiamine induces apoptosis and promotes hepatocellular carcinoma cell death induced by vorinostat via downregulating HIF-1 $\alpha$  under hypoxia[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2018, 498(3): 481-486.
- [4] 孙瑞雪, 姜泓, 张宁梅, 等. 血清 Copeptin、HIF-1 $\alpha$ 、CT-1 水平与新生儿败血症心肌损伤的相关性分析[J]. 中南医学科学杂志, 2019(5): 462-464.
- [5] GIUGLIANO R P, MACH F, ZAVITZ K, et al. Cognitive function in a randomized trial of evolocumab[J]. N Engl J Med, 2017, 377(7): 633-643.
- [6] WU C Y, TANG Z H, JIANG L, et al. PCSK9 siRNA inhibits HUVEC apoptosis induced by ox-LDL via Bcl/Bax-caspase9-caspase3 pathway[J]. Mol Cell Biochem, 2011, 359(1-2): 347-358.
- [7] WU K, ZHOU K, WANG Y, et al. Stabilization of HIF-1 $\alpha$  by FG-4592 promotes functional recovery and neural protection in experimental spinal cord injury[J]. Brain Res, 2016, 1632: 19-26.
- [8] ZHOU J, LI C, YAO W, et al. Hypoxia-inducible factor-1 $\alpha$ -dependent autophagy plays a role in glycolysis switch in mouse granulosa cells[J]. Biol Reprod, 2018, 99(2): 308-318.
- [9] TEN V S, STARKOV A. Hypoxic-ischemic injury in the developing brain: the role of reactive oxygen species originating in mitochondria [J]. Neurol Res Int, 2012, 2012: 542976.
- [10] WANG Y, PANG Q J, LIU J T, et al. Down-regulated miR-448 relieves spinal cord ischemia/reperfusion injury by up-regulating SIRT1[J]. Braz J Med Biol Res, 2018, 51(5): e7319.
- [11] PIRET J P, MOTTET D, RAES M, et al. CoCl<sub>2</sub>, a chemical inducer of hypoxia-inducible factor-1, and hypoxia reduce apoptotic cell death in hepatoma cell line HepG2[J]. Ann N Y Acad Sci, 2002, 973: 443-447.

(此文编辑 蒋湘莲)