

· 临床论著 ·

青黄散联合健脾补肾方对骨髓增生异常综合征患者 HDAC1 基因去甲基化的影响

高 飞¹ 许勇钢² 王洪志² 王德秀² 朱千贇² 麻 柔²

摘要 **目的** 探讨青黄散联合健脾补肾方提高骨髓增生异常综合征(MDS)患者外周血红蛋白机制。**方法** 选择2016年2月—2018年2月在中国中医科学院西苑医院及首都医科大学附属北京中医医院血液科就诊的30例MDS患者,采用青黄散联合健脾补肾方治疗6个月。采用血细胞分析仪检测患者治疗前后血常规,亚硝酸氢盐测序法(BSP)检测治疗前后骨髓HDAC1基因甲基化变化,Real-time PCR检测治疗前后HDAC1 mRNA及缺氧诱导因子-1 α (HIF-1 α)mRNA变化,采用自身前后对照的方法比较治疗前后上述指标的差异。**结果** 治疗前MDS骨髓标本中,HDAC1基因启动子区CpG_1、CpG_5、CpG_12、CpG_23位点呈高甲基化,分别为58.67%、85.67%、63.89%、71.63%,治疗后,上述HDAC1基因启动子区4个甲基化位点呈低甲基化状态,分别为0.67%、0、1.33%、1.33%;治疗后HDAC1 mRNA相对表达量较治疗前增加了4.9倍($P < 0.01$),HIF-1 α mRNA相对表达量较治疗前增加了7.5倍($P < 0.05$)。**结论** 青黄散联合健脾补肾方可通过降低HDAC1基因高甲基化增加下游HIF-1 α mRNA表达,发挥提高外周血红蛋白作用。

关键词 青黄散;健脾补肾方;骨髓增生异常综合征;HDAC1基因;甲基化;缺氧诱导因子-1 α mRNA

Effect of Qinghuang Powder Combined with Jianpi Bushen Prescription on HDAC1 Gene Demethylation of Patients with Myelodysplastic Syndromes GAO Fei¹, XU Yong-gang², WANG Hong-zhi², WANG De-xiu², ZHU Qian-ze², and MA Rou² 1 Oncology Department, Beijing Chinese Medicine Hospital Affiliated to Capital Medical University, Beijing(100010); 2 Hematology Department, Xiyuan Hospital of China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing(100091)

ABSTRACT **Objective** To investigate the mechanism of Qinghuang Powder combined with Jianpi Bushen Prescription in improving peripheral hemoglobin of myelodysplastic syndromes (MDS) patients. **Methods** Totally 30 MDS patients were recruited in the hematology department of Xiyuan Hospital of China Academy of Chinese Medical Sciences and Beijing Chinese Medicine Hospital affiliated to Capital Medical University from February 2016 to February 2018. The patients were treated by Qinghuang Powder combined with Jianpi Bushen Prescription for 6 months. Blood cell analyzer was used to determine the blood index before and after treatment, the methylation status of HDAC1 gene and the level of HDAC1 mRNA, HIF-1 α mRNA expression in bone marrow were detected by BSP and RT-PCR before and after treatment. **Results** In 30 cases of MDS bone marrow specimens before treatment, the HDAC1 gene promoter CpG_1, CpG_5, CpG_12 and CpG_23 showed high methylation status, which were 58.67%, 85.67%, 63.89%, 71.63% respectively. After treatment, 4 promoter of the HDAC1 gene mentioned above showed low methylation status, they were 0.67%, 0, 1.33%, 1.33% respectively. After treatment, the relative expression of HDAC1 mRNA increased by 4.9 times compared with that before treatment ($P < 0.01$); the relative expression of HIF-1 α mRNA increased by 7.5 times compared with that before treatment ($P < 0.05$). **Conclusion** The mechanism of Qinghuang Powder combined with Jianpi Bushen Prescription for increasing hemoglobin levels is to make HDAC1 gene demethylation which can increase

基金项目:国家自然科学基金青年项目(No. 81503516);北京市自然科学基金面上项目(No. 7172100)

作者单位:1.首都医科大学附属北京中医医院肿瘤科(北京 100010);2.中国中医科学院西苑医院血液科(北京 100091)

通讯作者:麻 柔, Tel: 010-62835627; E-mail: xyxsys@163.com

DOI: 10.7661/j. cjim. 20181103. 363

HIF-1 α mRNA content.

KEYWORDS Qinghuang Powder; Jianpi Bushen Prescription; myelodysplastic syndromes; HDAC1 gene; methylation; hypoxia inducible factor-1 α mRNA

骨髓增生异常综合征(myelodysplastic syndromes, MDS)是起源于造血干细胞的一组异质性髓系克隆性疾病,表现为髓系细胞分化及发育异常,具有无效造血、难治性的血细胞减少、高风险向急性髓系白血病转化的特点^[1]。既往研究表明,青黄散联合健脾补肾方临床应用有效率在 70% 以上^[2]。治疗 MDS 有效患者中,其外周血常规以 RBC、HGB 恢复最快^[3],但具体机制仍不明。本研究以应用青黄散联合健脾补肾方的 MDS 患者为研究对象,通过检测治疗前后 HDAC1 基因甲基化状态,探讨 HDAC1 基因对下游缺氧诱导因子-1 α (hypoxia inducible factor-1 α , HIF-1 α) mRNA 表达影响,以期揭示青黄散联合健脾补肾方提升 MDS 患者 HGB 机制。

资料与方法

1 诊断标准 参照 2006 年维也纳国际会议 MDS 最低诊断标准^[4]。MDS 分类标准参照 2008 年 WHO 标准^[5]。

2 纳入及排除标准 纳入标准:符合 MDS 诊断标准者;自愿受试,并签署知情同意书者;18 ~ 75 岁;无严重心、肝、肾合并症;未参加其他临床研究。排除标准:精神病不能配合治疗患者;妊娠、哺乳期妇女及精神病患者;对青黛、雄黄成分有过敏者。

3 一般资料 30 例均为 2016 年 2 月—2018 年 2 月期间在中国中医科学院西苑医院及首都医科大学附属北京中医医院血液科门诊的 MDS 患者,女性 15 例,男性 15 例,年龄 21 ~ 75 岁,平均(42.90 $\pm$ 16.68)岁。其中 RAEB 4 例,RCMD 24 例,RA 2 例。染色体情况:未发现异常核型患者 25 例,三体 8 患者 2 例,亚二倍体患者 1 例,其他异常核型患者 2 例。本研究通过首都医科大学附属北京中医医院伦理委员会(No. 2015BL-063-02)及中国中医科学院西苑医院伦理委员会批准(No. 2016XLA128-2)。

4 治疗方法 青黄散(青黛、雄黄普通粉末,均购自中国药材公司,雄黄超微粉碎,青黛、雄黄按 2:1 研末混匀盛入胶囊,每粒胶囊重 0.3 g。由中国中医科学院西苑医院制剂室加工制成)每日 1 次,每次 1 粒,晚饭后服用。健脾补肾方:生地黄 15 g 熟地黄 15 g 山萸肉 10 g 山药 10 g 牡丹皮 10 g 茯苓 20 g 泽泻 10 g 女贞子 30 g 补骨脂 15 g 枸杞

子 20 g 锁阳 20 g 菟丝子 15 g 制何首乌 10 g 巴戟天 10 g 桑葚 30 g 太子参 30 g 炒白术 10 g。水煎服,每日 1 剂,分 2 次服用,每次药量 200 mL。康力龙(2 mg,广西南宁百会药业,批号: H45020728)6 ~ 8 mg/日。连用 3 个月为 1 个疗程,2 个疗程结束后判断疗效。除此以外,任何与本方案有关的中西药物均不得使用。

5 观察指标及方法 检测分析治疗前后血常规、骨髓 HDAC1 基因甲基化情况、骨髓 HDAC1 mRNA 和 HIF-1 α mRNA 表达情况。

5.1 试剂与仪器 EZ DNA Methylation-Gold Kit(ZYMO 公司,catlog D5006);DNA 纯化回收试剂盒(北京天根生化科技有限公司,批号: DP209-03);Taq 酶 Platinum Taq DNA Polymerase, High Fidelity(Thermo,批号: 11304-029);p-Easy T1 Cloning 载体连接试剂盒(北京全式金生物技术有限公司,批号: CT101-02);Trizol 总 RNA 提取试剂[天根生化科技(北京)有限公司,批号: DP405-02];PrimeScript RT reagent Kit with gDNA Eraser: TaKaRa RR047B;SYBR Premix Ex Taq II (TliRNaseH Plus), ROX plus: TaKaRa RR82LR;DL2,000 DNA Marker: TaKaRa 3427Q。NAS-99 分光光度计(ACTGene 公司);BC-subMIDI 电泳槽(北京百晶生物技术有限公司);Verity PCR 仪(ABI 公司);HW · SY11-K 台式恒温金属浴(Tomos Biotools 公司);分光光度计: NanoDrop 2000 Thermo Scientific;凝胶成像系统: Tanon 1600 上海天能科技有限公司;荧光定量 PCR 仪: ABI StepOnePlus Applied Biosystems。

5.2 亚硫酸氢盐测序法检测 HDAC1 基因甲基化 使用 DNA 试剂盒从 MDS 患者骨髓中提取基因组 DNA,紫外分光光度计检测 DNA 含量和纯度,EZ DNA Methylation - Gold Kit 试剂盒进行亚硫酸氢盐修饰并纯化,置于 -20 $^{\circ}$ C 保存备用。根据基因序列信息,使用 Primer 5 软件设计引物并合成(表 1)。PCR 反应体系为 25 μ L,含修饰后 DNA 模板(稀释 5 倍)2 μ L,Primers(10 mmol/L)1 μ L,dNTP(10 mmol/L)0.5 μ L,Mg²⁺(50 mmol/L)1 μ L,10 $\times$ PCR Buffer 2.5 μ L,Taq 酶 0.1 μ L,加入 ddH₂O 至 25 μ L。循环参数: 94 $^{\circ}$ C 预变性 3 min,94 $^{\circ}$ C 变性 30 s,55 $^{\circ}$ C 退火

30 s, 72 ℃ 延伸 30 s, 循环 30 次, 72 ℃ 再延伸 10 min。将 PCR 反应产物经 2% 琼脂糖检测, 切胶, 使用 DNA 纯化回收试剂盒纯化产物; 取纯化产物进行克隆测序。BSP 扩增产物为 HDAC1 基因启动子区的 CpG 岛部位, 包含了多个 CpG 位点 (CpG_1—CpG_23)。采取克隆测序对每一个 CpG 位点的甲基化状态进行分析, 每个样本测 10 个克隆, 计算其 CpG 位点的甲基化阳性率。单个 CpG 位点甲基化阳性率 = 该位点甲基化的 CpG 克隆数/总克隆数 (10), 扩增的启动子区 CpG 位点甲基化的总阳性率 (%) = 甲基化的 CpG 位点数/总 CpG 位点数 × 100%。

表 1 HDAC1 基因甲基化引物序列及扩增片段长度		
引物名称	引物序列(5'-3')	产物长度(bp)
HDAC1 基因	F:TTTATTTGTGTAGATTTTGGTAT R:TCCAACCTCAACCTCCAAAT	388

5.3 Real-time PCR 检测 HDAC1 mRNA 表达 HDAC1 引物在北京 Invitrogen 公司合成。引物见表 2。采用 Trizol 总 RNA 提取试剂进行样本 RNA 提取, 实验操作按产品说明书进行。应用紫外吸收测定法检测 RNA 浓度和纯度。采用反转录试剂盒进行 cDNA 反转录, 将所 cDNA 样品分别配置 Real-time PCR 反应体系, 在 Real-time PCR 仪上进行 PCR 反应。PCR 反应条件如下: 95 ℃, 30 s; 40 个 PCR 循环[95 ℃, 5 s; 60 ℃, 40 s (收集荧光)]。为了建立 PCR 产物的熔解曲线, 扩增反应结束后, 按 (95 ℃, 10 s; 60 ℃, 60 s; 95 ℃, 15 s); 并从 60 ℃ 缓慢加热到 99 ℃ (仪器自动进行-Ramp Rate 为 0.05 ℃/s)。各样品的目的基因和内参分别进行 Real-time PCR 反应, 每个样本检测 3 个复孔, 取平均值作为最终表达量。数据采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法进行分析。

表 2 Real-time PCR 扩增引物序列及扩增片段长度		
引物名称	引物序列(5'-3')	片段长度(bp)
HDAC1	F:GTGGCTGGGTCTTCAAGGAT R:GCCAGTGGGAAGGTACGAAA	96
GAPDH	F:CCCTTCATTGACCTCAACTACATG R:TGGGATTTCCATTGATGACAAGC	115

5.4 Real-time PCR 检测 HIF-1α mRNA 表达 HIF-1α 引物在北京 Invitrogen 公司合成。引物见表 3。其余步骤同 5.3。

6 统计学方法 采用 SPSS 19.0 软件进行统计分析。计量资料采用 $\bar{x} \pm s$ 进行统计描述; 采用配对样本 t 检验比较同组之间治疗前后差异。所有统计检验均采用双侧检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

表 3 Real-time PCR 扩增引物序列及扩增片段长度		
引物名称	引物序列(5'-3')	片段长度(bp)
HIF-1α	F:GAACGTGCGAAAAAGAAAGTCTCG R:CCTTATCAAGATGCGAACTCACA	124
β-actin	F:ATTGCCGACAGGATGCAGAA R:GCTGATCCACATCTGCTGGAA	150

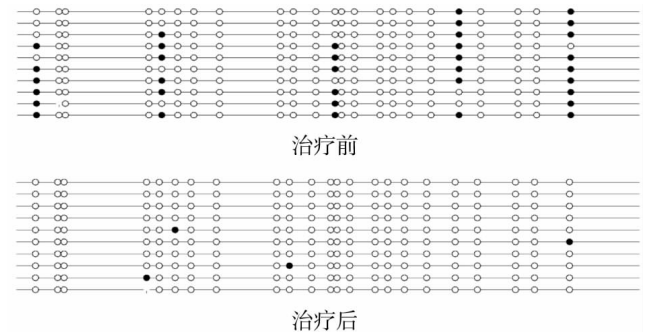
结 果

1 30 例 MDS 患者治疗前后外周血 WBC、HGB、PLT 比较 (表 4) 与治疗前比较, MDS 患者经青黄散联合健脾补肾方治疗后外周血 WBC、HGB、PLT 均有明显升高 ($P < 0.01$, $P < 0.05$)。

表 4 30 例 MDS 患者治疗前后外周血 WBC、HGB、PLT 比较($\bar{x} \pm s$)				
时间	例数	WBC ($\times 10^9/L$)	HGB (g/L)	PLT ($\times 10^9/L$)
治疗前	30	2.97 ± 1.27	70.28 ± 17.31	44.44 ± 47.62
治疗后	30	3.62 ± 1.61	103.52 ± 37.84	64.42 ± 59.30
P 值		0.004	0.000	0.036

2 HDAC1 基因启动子甲基化阳性比例比较 (表 5, 图 1) 在 30 例 MDS 患者治疗前骨髓标本中, HDAC1 基因启动子区 CpG_1、CpG_5、CpG_12、CpG_23 位点呈高甲基化状态, 经青黄散联合健脾补肾方治疗后, 上述 HDAC1 基因启动子区 4 个甲基化位点呈低甲基化状态, 差异有统计学意义 ($P < 0.01$), 而其余 19 个 CpG 位点治疗前后甲基化未见明显变化。

表 5 30 例 MDS 患者治疗前后 HDAC1 基因启动子甲基化阳性比例比较 (%)				
时间	HDAC1 基因启动子区			
	CpG_1	CpG_5	CpG_12	CpG_23
治疗前	58.67	85.67	63.89	71.63
治疗后	0.67	0	1.33	1.33
t 值	23.54	48.30	25.72	26.65
P 值	0.000	0.000	0.000	0.000



注: 图中实心圆代表发生甲基化的 CG 位点, 空心圆代表未发生甲基化的 CG 位点

图 1 MDS 患者治疗前后 HDAC1 基因 CpG 位点甲基化测序结果

3 HDAC1 mRNA 表达分析(图 2、3) 治疗后 HDAC1 mRNA 相对表达量明显高于治疗前,增加了 4.9 倍($P<0.01$)。

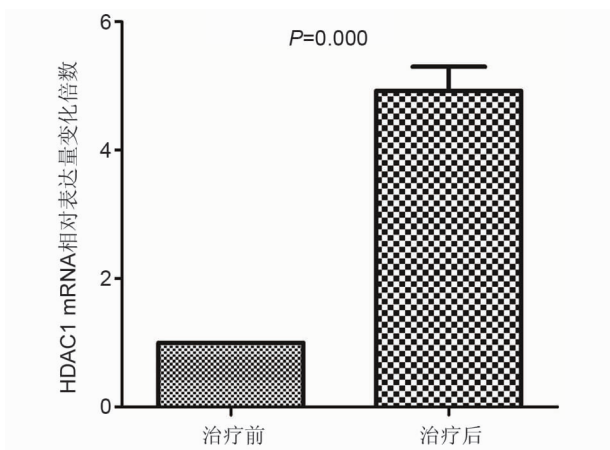


图 2 治疗前后骨髓细胞中 HDAC1 mRNA 相对表达量变化

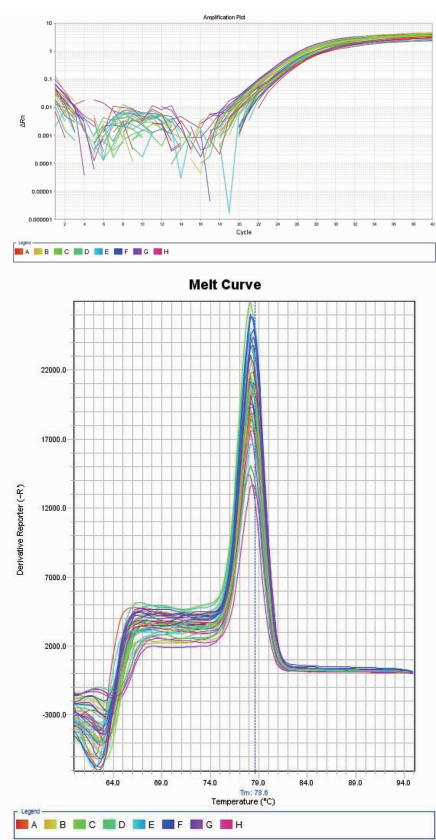


图 3 实时定量 HDAC1mRNA PCR 扩增曲线和溶解曲线

4 HIF-1 α mRNA 表达分析(图 4、5) 治疗后 HIF-1 α mRNA 相对表达量明显高于治疗前,增加了 7.5 倍($P<0.05$)。

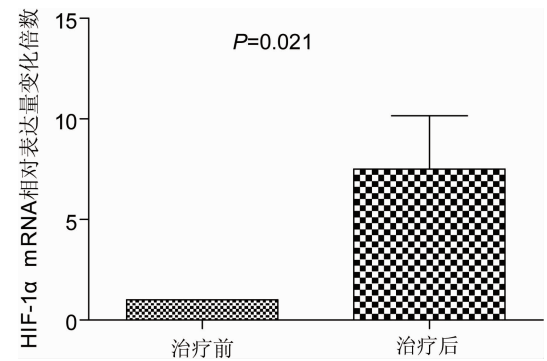


图 4 治疗前后骨髓细胞中 HIF-1 α mRNA 相对表达量变化

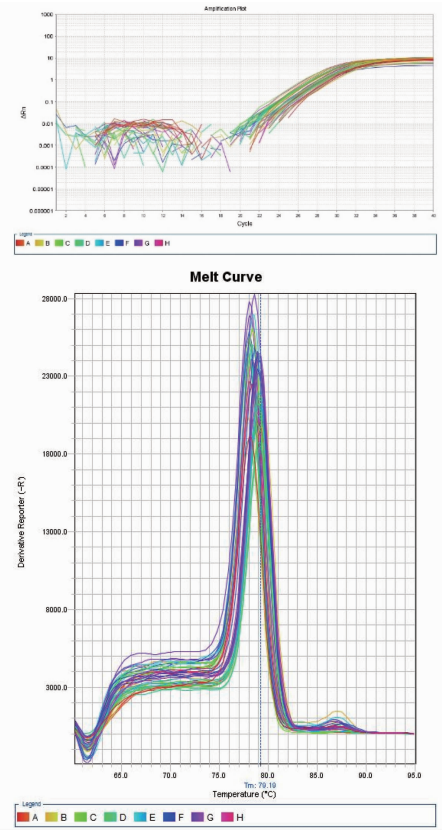


图 5 实时定量 HIF-1 α mRNA PCR 扩增曲线和溶解曲线

讨 论

2009 年在 *New England Journal of Medicine* 首次发表,表观遗传学与遗传学之间的相互作用产生了 MDS 的细胞克隆改变,并不断扩大和演变,导致 MDS 表型异质性、无效造血及向白血病转化是其发病过程中的重要环节^[6]。表观遗传学主要包括 DNA 甲基化、组蛋白共价修饰和非编码调节性 RNA,其中与 MDS 最为密切相关的是 DNA 甲基化^[7]。研究表明,MDS 患者表现为总体 DNA 高甲基化^[8,9]。有学者运

用高通量测序技术对 MDS 患者与正常志愿者的 CD34⁺ 细胞 CpG 位点的甲基化差异进行分析,发现了 > 700 个特异性的高甲基化基因^[10]。Rou M 等^[11]应用 GeneChip Human Promoter 1.0 Array 检测,比对 MDS 患者与正常人群的基因,共筛选出 13 个高甲基化基因(HDAC1 基因为其中之一),进一步证实 DNA 异常甲基化与 MDS 发病密切相关。

HDAC1 为组蛋白去乙酰化酶 1,位于染色体 1p34,是表观遗传调控的关键酶,通过使蛋白质去乙酰化来调节基因表达,与细胞周期、基因转录有关。在实体瘤研究中,目前多数研究表明 HDAC1 蛋白的高表达与肿瘤患者的临床分期、远处转移、预后呈负相关^[12,13]。在血液系统肿瘤中,HDAC1 基因状态及表达与之相反。本研究结果显示,在 MDS 患者中,HDAC1 基因呈高甲基化状态,而经过青黄散联合健脾补肾方治疗后,HDAC1 基因甲基化程度下降,表明以青黄散为主的治疗方案有去 HDAC1 基因甲基化作用。

免疫沉淀和体外结合实验证实,HDAC1 基因表达产物直接结合 HIF-1 α 氧依赖降解域,通过对 HIF-1 α 去乙酰化修饰减少其降解,增强 HIF-1 α 的稳定性,从而导致 HIF-1 α 蛋白积累^[14,15]。而 HDAC1 抑制剂可显著降低 HIF-1 α 蛋白水平^[16]。Moline Y 等^[17]研究证实,HDAC1 基因表达与 HIF-1 α 蛋白水平呈正相关,提高 HDAC1 基因活性可增加 HIF-1 α 蛋白水平。Reynoso-Roldán A 等^[18]在 HaCaT 细胞中发现,HDAC1 可通过 HIF-1 α 信号通路增加 HIF-1 下游靶基因表达。

在本项研究中,检测了 MDS 患者应用青黄散联合健脾补肾方治疗前后的血常规变化,结果显示,治疗后患者 WBC、HGB、PLT 较治疗前有明显上升,表明青黄散联合健脾补肾方具有明显提升 MDS 患者 WBC、HGB、PLT 功效。笔者应用 Real-time PCR 检测了经青黄散为主的治疗方案治疗前后骨髓 HIF-1 α mRNA 表达情况,结果显示青黄散联合健脾补肾方可提高骨髓单个核细胞内 HIF-1 α 的表达。在另一项研究中,应用流式细胞仪检测了治疗前后 HIF-1 α 平均荧光强度,结果提示 HIF-1 α 平均荧光强度均较治疗前增强^[19]。相关研究结果表明本治疗方案可增加骨髓细胞 HIF-1 α 的表达。

潘雪莉等^[20]研究砷剂对人 HaCaT 细胞中 HDAC1 蛋白表达的影响,结果提示砷剂可增加 HDAC1 蛋白表达,随着砷剂剂量增加,HDAC1 蛋白表达逐渐增强。Li YN 等^[21]研究认为砷剂通过 NADPH 氧化酶和线粒体之间的相互作用抑制脯氨酰羟化酶的

活性,导致 HIF-1 α 蛋白积累。也有研究报道,砷能够通过 HIF-1 α 的蓄积诱导下游靶基因的表达^[22,23]。综合以上结果,青黄散联合健脾补肾方提高 MDS 患者的 HGB 可能机制是通过降低 HDAC1 基因甲基化水平,恢复 HDAC1 基因表达和功能,增加 HIF-1 α 基因转录活性,提高 HIF-1 α mRNA 含量,增加 HIF-1 α 水平,从而发挥升 HGB 作用的。本治疗方案中的康力龙同样具有刺激造血的作用,与青黄散不同,康力龙是蛋白同化雄激素,其代谢产物能刺激多能干细胞从 G0 期进入增殖周期,同时使促红细胞生成刺激增多^[24]。除了两者作用机制的差异外,青黄散能够降低 HDAC1 基因甲基化水平,而康力龙则不具备这样的作用。

利益冲突:所有作者声明无相关利益冲突。

参 考 文 献

- [1] Papaemmanuil E, Gerstung M, Malcovati L, et al. Clinical and biological implications of driver mutations in myelodysplastic syndromes [J]. *Blood*, 2013, 122(22): 3616–3627.
- [2] Xu S, Ma R, Hu XM, et al. Clinical observation of the treatment of myelodysplastic syndrome mainly with Qinghuang Powder [J]. *Chin J Integr Med*, 2011, 17(11): 834–839.
- [3] 高飞, 麻柔, 胡晓梅, 等. 青黄散为主治疗伴有原始细胞增多的骨髓增生异常综合征远期疗效的初步观察 [J]. *临床血液学杂志*, 2013, 26(1): 16–18.
- [4] Valent P, Horny HP, Bennett JM, et al. Definitions and standards in the diagnosis and treatment of the myelodysplastic syndromes: Consensus statements and report from a working conference [J]. *Leuk Res*, 2007, 31(6): 727–736.
- [5] Vardiman JW, Thiele J, Arber DA, et al. The 2008 revision of the World Health Organization (WHO) classification of myeloid neoplasms and acute leukemia: rationale and important changes [J]. *Blood*, 2009, 114(5): 937–951.
- [6] Tefferi A, Vardiman JW. Myelodysplastic syndromes [J]. *N Engl J Med*, 2009, 361(19): 1872–1885.
- [7] Khan H, Vale C, Bhagat T, et al. Role of DNA methylation in the pathogenesis and treatment of myelodysplastic syndromes [J]. *Semin Hematol*, 2013, 50(1): 16–37.
- [8] Al Ustwani O, Ford LA, Sait SJ, et al. Myelodysplastic syndromes and autoimmune diseases—a case series and review of literature [J]. *Leuk Res*, 2013, 37(8): 894–899.

- [9] Machnes ZM, Huang TC, Chang PK, et al. DNA methylation mediates persistent epileptiform activity *in vitro* and *in vivo* [J]. PLoS One, 2013, 8 (10): e76299.
- [10] Figueroa ME, Skrabanek L, Li Y, et al. MDS and secondary AML display unique patterns and abundance of aberrant DNA methylation [J]. Blood, 2009, 114(16): 3448–3458.
- [11] Shuzhen S, Rou M, Xiaomei H, et al. Karyotype and DNA-methylation responses in myelodysplastic syndromes following treatment with traditional Chinese formula containing arsenic [J]. Evid Based Complement Alternat Med, 2012, 2012: 969476.
- [12] Zhang Z, Yamashita H, Toyama T, et al. Quantitation of HDAC1 mRNA expression in invasive carcinoma of the breast [J]. Breast Cancer Res Treat, 2005, 94(1): 11–16.
- [13] 朱晓霞, 杨磊, 王昊飞, 等. HDAC1 蛋白在非小细胞肺癌中的表达及临床意义 [J]. 实用医学杂志, 2010, (15): 2720–2722.
- [14] Yoo YG, Kong G, Lee MO. Metastasis-associated protein 1 enhances stability of hypoxia-inducible factor-1 α protein by recruiting histone deacetylase 1 [J]. Embo J, 2006, 25(6): 1231–1241.
- [15] Kim SH, Jeong JW, Park JA, et al. Regulation of the HIF-1 α stability by histone deacetylases [J]. Oncol Rep, 2007, 17(3): 647–651.
- [16] 魏巍. E3 泛素连接酶 CHIP 介导 HIF-1 α 降解的机制探讨 [D]. 北京: 中国人民解放军军事医学科学院, 2008.
- [17] Morine Y, Shimada M, Iwahashi S, et al. Role of histone deacetylase expression in intrahepatic cholangiocarcinoma [J]. Surgery, 2012, 151 (3): 412–419.
- [18] Reynoso-Roldán A, Roldán ML, Cancino-Diaz JC, et al. Vascular endothelial growth factor production is induced by histone deacetylase 1 and suppressed by von Hippel-Lindau protein in HaCaT cells [J]. Clin Invest Med, 2012, 35(6): E340–E350.
- [19] 高飞, 许勇钢, 杨晓红, 等. 青黄散联合健脾补肾中药对骨髓增生异常综合征患者骨髓单个核细胞内缺氧诱导因子-1 α 的影响 [J]. 中国中西医结合杂志, 2014, 34(2): 174–178.
- [20] 潘雪莉, 张爱华. 亚砷酸钠对 HaCaT 细胞中 DNMT1、HDAC1 基因 mRNA 转录及蛋白表达的影响 [J]. 环境与健康杂志, 2011, 28(3): 196–199.
- [21] Li YN, Xi MM, Guo Y, et al. NADPH oxidase-mitochondria axis-derived ROS mediate arsenite-induced HIF-1 α stabilization by inhibiting prolyl hydroxylases activity [J]. Toxicol Lett, 2014, 224(2): 165–174.
- [22] 文文. 低氧诱导因子-1 负调控 Cyclin D1 的分子机制及其在肿瘤化疗抵抗中的作用研究 [D]. 上海: 第二军医大学, 2009.
- [23] Xu Y, Li Y, Li H, et al. The accumulations of HIF-1 α and HIF-2 α by JNK and ERK are involved in biphasic effects induced by different levels of arsenite in human bronchial epithelial cells [J]. Toxicol Appl Pharmacol, 2013, 266 (2): 187–197.
- [24] 吴涛, 于红涛, 张忠强, 等. 环孢素 A 联合康力龙治疗慢性再生障碍性贫血疗效研究 [J]. 中国现代医生, 2013, 51(26): 69–70.

(收稿: 2018-07-04 在线: 2018-12-04)

责任编辑: 赵芳芳