

# 大鼠慢性高眼压下视网膜损伤中 HIF-1 $\alpha$ 和 caspase-9 的作用

归东梅, 杨 颺, 李 迅, 高殿文

作者单位: (110003) 中国辽宁省沈阳市, 中国医科大学附属盛京医院眼科

作者简介: 归东梅, 女, 博士, 副教授, 副主任医师, 研究方向: 青光眼视神经保护。

通讯作者: 归东梅. guidongmei2004@yahoo. com. cn

收稿日期: 2010-04-22 修回日期: 2010-06-01

## Role of HIF-1 $\alpha$ and caspase-9 signal in rat retinal injure on chronic high ocular pressure

Dong-Mei Gui, Yang Yang, Xun Li, Dian-Wen Gao

Department of Ophthalmology, the Shengjing Affiliated Hospital, China Medical University, Shenyang 110003, China

**Correspondence to:** Dong-Mei Gui. Department of Ophthalmology, the Shengjing Affiliated Hospital, China Medical University, Shenyang 110003, China. guidongmei2004@yahoo. com. cn

Received: 2010-04-22 Accepted: 2010-06-01

### Abstract

• **AIM:** To research the mRNA and protein expressions of hypoxia-inducible factor-1 $\alpha$  (HIF-1 $\alpha$ ) and caspase-9 in normal retina and ocular hypertention retina, investigate the relation of glaucomatous retinal degeneration and HIF-1 $\alpha$  and caspase-9 signal transduction path.

• **METHODS:** Coagulating two episcleral veins unilaterally in rats with electric coagulator to establish the glaucoma model. Use immunochemistry, PT-PCR and Western Blot analysis to examine the expression of HIF-1 $\alpha$  and caspase-9 genes.

• **RESULTS:** The expression of HIF-1 $\alpha$  and caspase-9 were very faint immunostaining in normal retina. In the glaucomatous retina, immunostaining for HIF-1 $\alpha$  and caspase-9 was predominant in the retinal ganglion cell layer and the inner nuclear. In RT-PCR and Western Blot, HIF-1 $\alpha$  and caspase-9 genes mRNA and protein were faintly expressed in normal rat retina, and the expression of them increased in IOP elevation model rats with the time going on. The peak expression of HIF-1 $\alpha$  was on the 7<sup>th</sup> day after IOP elevated. The peak expression of caspase-9 was on the 14<sup>th</sup> day then decreased but still maintained at a higher level. The expression among experimental groups was statistically different compared with the control group.

• **CONCLUSION:** HIF-1 $\alpha$  and caspase-9 participates in signal transduction of retinal neurons apoptosis during retinal injury on chronic high ocular pressure.

• **KEYWORDS:** HIF-1 $\alpha$ ; caspase-9; ocular hypertension; retina

Gui DM, Yang Y, Li X, *et al.* Role of HIF-1 $\alpha$  and caspase-9 signal in rat retinal injure on chronic high ocular pressure. *Int J Ophthalmol (Guoji Yanke Zazhi)* 2010;10(7):1269-1273

### 摘要

**目的:** 探讨 HIF-1 $\alpha$  和 caspase-9 表达与高血压视网膜损伤的关系。

**方法:** 大鼠 60 只随机分为 6 组, 每组 10 只 20 眼。分别为假手术对照组; 高眼压 3, 7, 14, 21, 28d 组。巩膜静脉烧烙法制作高眼压模型。应用免疫组织化学法, RT-PCR 法, Western 印迹法检测各组视网膜组织中 HIF-1 $\alpha$  和 caspase-9 基因 mRNA 及蛋白表达。

**结果:** HIF-1 $\alpha$  和 caspase-9 阳性染色主要位于视网膜内层即视网膜节细胞层和内颗粒层。HIF-1 $\alpha$  和 caspase-9 mRNA 和蛋白在正常视网膜中有低浓度的表达, 高眼压 3d 后, 表达明显上升, HIF-1 $\alpha$  到 7d 时达到高峰, caspase-9 到 14d 达到高峰, 随后有所下降, 但仍明显高于正常组的表达水平, 差异有统计学意义。

**结论:** HIF-1 $\alpha$  和 caspase-9 是青光神经节细胞凋亡的发生和进展中重要的病理生理机制。

**关键词:** HIF-1 $\alpha$ ; caspase-9; 高眼压; 视网膜

DOI: 10. 3969/j. issn. 1672-5123. 2010. 07. 010

归东梅, 杨颺, 李迅, 等. 大鼠慢性高眼压下视网膜损伤中 HIF-1 $\alpha$  和 caspase-9 的作用. 国际眼科杂志 2010;10(7):1269-1273

### 0 引言

青光眼下视网膜神经节细胞的死亡方式是凋亡。caspase 是近年来凋亡研究的热点, 它的活化是导致细胞凋亡的中心环节。caspase-9 作为凋亡的启动子, 是否参与了青光眼下视网膜神经节细胞的损伤, 研究较少; 另外研究表明缺氧诱导因子 1 $\alpha$  (hypoxia-inducible factor-1 $\alpha$ , HIF-1 $\alpha$ ) 是与缺氧关系最密切转录因子<sup>[1]</sup>, 而 caspase-9 作为受 HIF-1 $\alpha$  调控的下游靶基因, 两者是否共同参与了青光眼视网膜节细胞损伤。以往文献没有报道。我们通过对 HIF-1 $\alpha$  及其下游氧适应相关靶基因 caspase-9 在高眼压下视网膜中的表达及其特点进行研究, 探讨 HIF-1 $\alpha$  和 caspase-9 信号传导途径在高眼压下视网膜节细胞损伤中的作用。

### 1 材料和方法

**1.1 材料** 出生 40~50d 的 Wistar 大鼠 60 只(中国医科大学实验动物中心提供), 体质量 200~250g, 雄性, 无眼疾。随机分为 6 组, 每组 10 只 20 眼。分别为假手术对照组; 高眼压 3, 7, 14, 21, 28d 组。动物模型的制备: 100g/L 水合氯醛 3mL/kg ip, 完全麻醉后, 用倍诺喜点眼 2 次行眼表麻醉, 剪开颞侧及上方球结膜, 暴露巩膜浅层静脉, 大鼠眼球鼻侧、颞侧、颞上及颞下各有一条浅层静脉。用热凝止血器烧烙 2 或 3 条浅层巩膜静脉, 对照组只打开球结膜, 巩膜静脉

表1 目的基因 HIF-1 $\alpha$  和 caspase-9 及内参照基因 GAPDH 的 PCR 引物序列及产物大小

基因	引物序列	PCR 产物大小(bp)
GAPDH	上游引物:5'-ACC ACA GTC CAT GCC ATC AC-3'	452
	下游引物:5'-TCC ACC ACC CCT GTT GCT GTA-3'	
HIF-1 $\alpha$	上游引物:5'-CTG ATT GCA TCT CCA CCT TCT ACC-3'	343
	下游引物:5'-TTC CAA GAA AGC GAC ATA GTA GGG-3'	
caspase-9	上游引物:5'-TTT AAG CTC TCA GAA GAC ATG-3'	363
	下游引物:5'-TGT TGA AGT ACA GAC AGT ACC CCCA-3'	

不做处理;结膜切口不做缝合,术用地塞米松滴眼液及红霉素眼膏点眼 1 次。大鼠眼压用 Tono-pen II 型笔式眼压计测量。测量分别于术前、术后 30min;3,7,14,21,28d 进行。眼压超过术前 40% 的手术眼为建模成功<sup>[2]</sup>。

**1.2 方法** 不同组的动物处死后立即摘除双眼球,置入 0℃ 生理盐水中,沿睫状体平坦部冠状面切开眼球,弃去眼前节,小心完整分离视网膜后用滤纸尽可能吸干水分放入冻存管中立即置于液氮中,24h 后贮存在 -80℃ 冰箱保存,备 RNA 和蛋白质的抽提。另外待行免疫组化的动物处死后立即摘除双眼球,生理盐水冲洗 3~5 次,用 1mL 注射器自视神经处向眼内注入 100g/L 中性甲醛溶液 0.3mL。再将整个眼球置于 100g/L 中性甲醛溶液中固定 8~24h,行低温石蜡包埋(低于 60℃),制成蜡块,置 -20℃ 冰箱干燥保存,待切片及免疫组化染色。

**1.2.1 目的基因 mRNA 表达的检测** 总 RNA 的提取按照美国 Gibco 公司的 Trizol 试剂盒方法提取各组总 RNA。内参照基因 GAPDH,目的基因 HIF-1 $\alpha$  引物参照参考文献[3,4]合成;caspase-9 引物应用 Primer Express 3.0 软件自行设计。引物均由大连宝生物工程公司合成(表 1)。95℃ 5min 逆转录,94℃ 40s 变性,60℃ 40s 退火,72℃ 60s 延伸,共 32 个循环。扩增产物经 15g/L 琼脂糖凝胶电泳。于 UVIpro 凝胶图像分析系统下观察并摄像,并用 Floorchem V2.0 软件进行扫描分析,以目的基因条带的吸光度容积(A)与 GAPDH 条带吸光度容积的比值作为目的基因 mRNA 的相对含量。

**1.2.2 蛋白质表达的检测** Western 印迹方法:将剪碎的视网膜组织超声匀浆后,12000r/min 离心 30min,取上清,酚试剂法测定蛋白浓度,将各组蛋白浓度调至同一水平。取蛋白 30 $\mu$ L,加入样本缓冲液煮沸 5min,150g/L SDS-PAGE 电泳,然后电转膜到硝酸纤维素膜上,用 TBS (20mmol/L Tris-HCl,150mmol/L NaCl, pH 7.4) 配制的 8% 脱脂奶粉室温封闭 1h。兔抗大鼠 HIF-1 $\alpha$  和 caspase-9 一抗(武汉博士德公司,工作浓度 1:200) 4℃ 孵育过夜。TTBS (TBS 加入 1g/L Tween20) 洗膜,二抗(辣根过氧化物酶标记的羊抗兔 IgG, 1:2000) 室温孵育 2h。加入显色液 15~30min 后终止,显色后行计算机扫描,结果用 Floor-chem V2.0 软件进行扫描分析,以目的蛋白条带的吸光度容积与  $\beta$ -actin 条带吸光度容积的比值作为目的蛋白的相对含量。另以兔抗大鼠 HIF-1 $\alpha$  蛋白抗体,兔抗大鼠 caspase-9 蛋白抗体为一抗,SABC 试剂盒(武汉博士德生物工程公司提供),具体方法参照试剂盒说明书。结果判定:阳性细胞为胞质或胞核内有黄色或棕黄色颗粒沉积。每张切片分别选取 5 个不连续的高倍视野,采用 OLYMPUS/BX51/Evolution MP5.0 摄像系统采集图像后转入 MetaMorph 显微图像分析系统,设定阳性细胞阈值和测量框区,我们设定测量面积即统计场面积为 800  $\times$  800 像

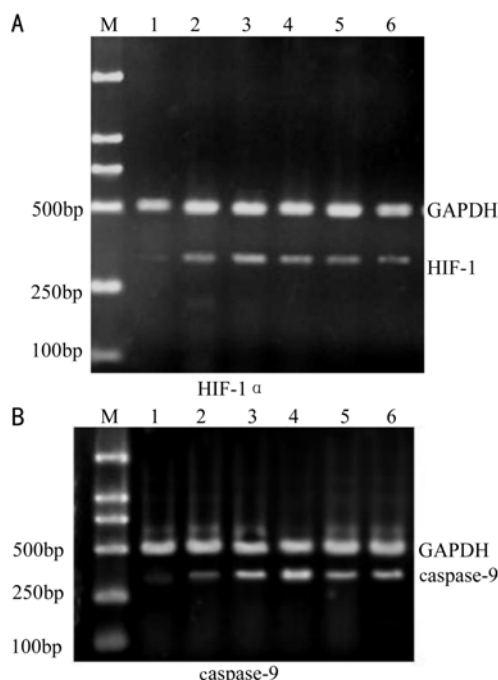


图1 大鼠视网膜 HIF-1 $\alpha$  和 caspase-9 mRNA 表达 A: HIF-1 $\alpha$  (M: DNA ladder 1;对照组;2~6:高血压 3,7,14,21,28d 组);B: caspase-9(M: DNA ladder 1;对照组;2~6:高血压 3,7,14,21,28d 组)。

素点(计算后为 13650 $\mu$ m<sup>2</sup>),测定阳性细胞的积分吸光度(integrated,A)进行分析,判定阳性细胞的表达强度。

统计学分析:统计结果均以均数  $\pm$  标准差表示,多组均数间的比较用 OneWay-ANOVA 分析,均用 SPSS 12.0 软件进行统计分析, $P < 0.05$  为有统计学意义。

**2 结果**

**2.1 HIF-1 $\alpha$  和 caspase-9mRNA 表达** HIF-1 $\alpha$  和 caspase-9 基因在正常视网膜中有低浓度的表达,高血压 3d 后,表达明显上升,HIF-1 $\alpha$  基因到 7d 时达到高峰;caspase-9 基因到 14d 时达到高峰;随后有所下降,但仍明显高于正常组的表达水平,差异有统计学意义( $P < 0.05$ ,图 1,表 2)。

**2.2 HIF-1 $\alpha$  和 caspase-9 蛋白的表达** 正常对照的视网膜各层细胞的胞质和胞核无阳性染色或极弱阳性染色;在实验组表现为在细胞胞核和/或胞质的不同程度的褐色或黄色阳性染色。HIF-1 $\alpha$  和 caspase-9 的免疫阳性染色主要位于视网膜内层,即视网膜节细胞层和内颗粒层。另外,HIF-1 $\alpha$  和 caspase-9 阳性染色还见于视网膜的视锥,视杆细胞的内层。在阳性染色的强度方面,高血压前为弱表达,随着高血压时间的推移,表达逐渐增强,在高血压后 3d,阳性表达显著增加,7 和 14d 达到高峰,后略有降低,但仍明显高于对照组。差异有统计学意义( $P < 0.05$ ,图 2,3,表 3)。

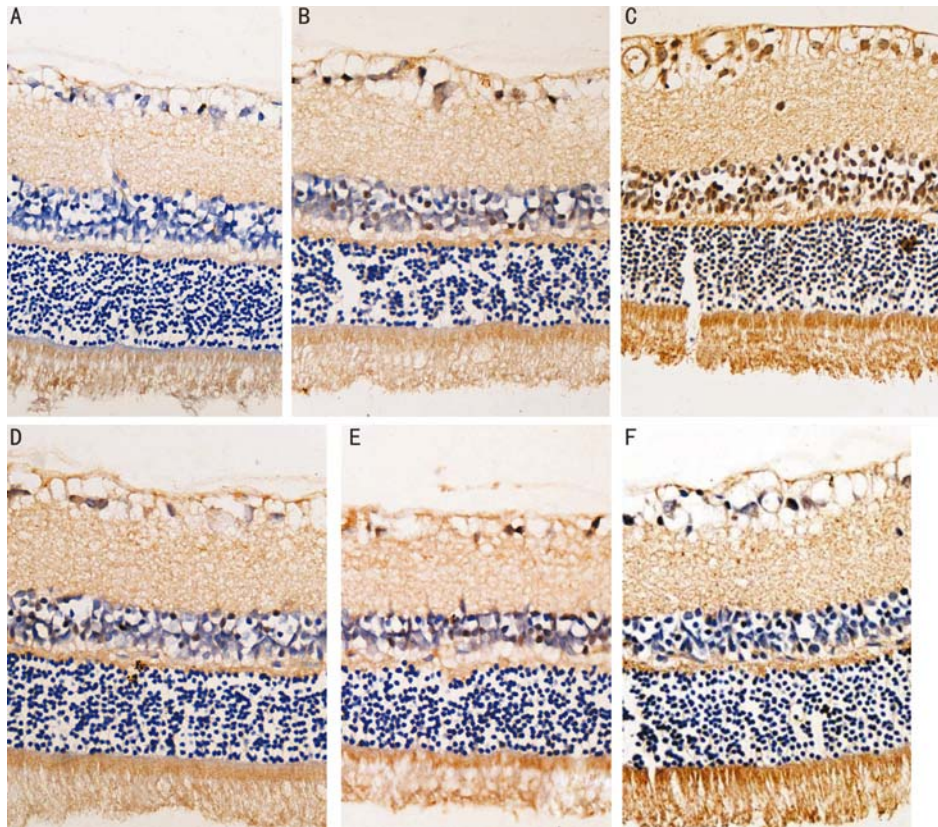


图2 大鼠视网膜 HIF-1 $\alpha$  蛋白表达 A:对照组;B~F:高眼压 3,7,14,21,28d 组。

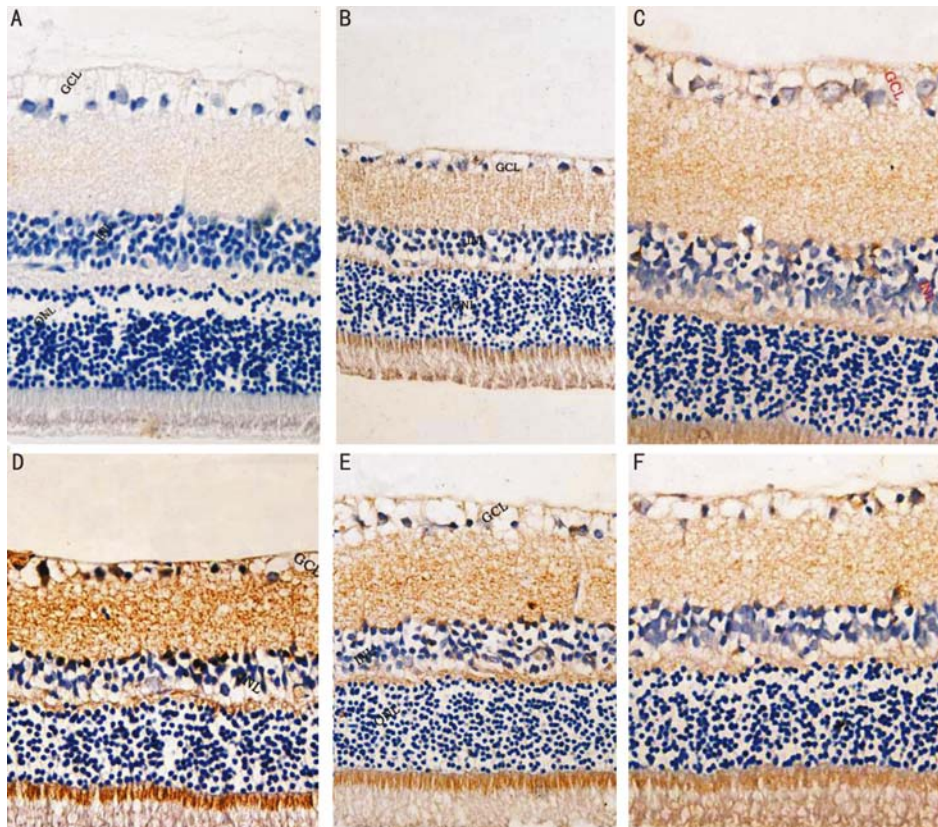


图3 大鼠视网膜 caspase-9 蛋白表达 A:对照组;B~F:高眼压 3,7,14,21,28d 组。

另外,Western 印迹法表明 HIF-1 $\alpha$  和 caspase-9 蛋白在正常视网膜中有低浓度的表达,高眼压 3d 后,表达明显上升,HIF-1 $\alpha$  到 7d 时达到高峰,caspase-9 到 14d 时达到高峰;随后有所下降,但仍明显高于正常组的表达水平,差异有统计学意义( $P < 0.05$ ,图 4,表 4)。

2.3 HIF-1 $\alpha$ mRNA 与 caspase-9mRNA 表达的关系  
 caspase-9mRNA 时空性表达与 HIF-1 $\alpha$ mRNA 时空性表达密切相关,三种相关性的分析方法:Pearson Correlation 0.599 ( $P < 0.01$ ),Kendall's Correlation 0.345 ( $P < 0.05$ ),Spearman's Correlation 0.516 ( $P < 0.01$ ),均表明有统计学意义( $P < 0.05$ )。



表2 大鼠视网膜 HIF-1 $\alpha$  和 caspase-9 表达量

组别	HIF-1 $\alpha$ mRNA/GAPDH	caspase-9mRNA/GAPDH
对照组	0.248 $\pm$ 0.0867	0.146 $\pm$ 0.0439
高眼压		
3d组	0.408 $\pm$ 0.0286 <sup>b</sup>	0.350 $\pm$ 0.0418 <sup>b</sup>
7d组	0.512 $\pm$ 0.0276 <sup>b</sup>	0.530 $\pm$ 0.0629 <sup>b</sup>
14d组	0.406 $\pm$ 0.0321 <sup>b</sup>	0.696 $\pm$ 0.0445 <sup>b</sup>
21d组	0.342 $\pm$ 0.0438 <sup>a</sup>	0.390 $\pm$ 0.0367 <sup>b</sup>
28d组	0.338 $\pm$ 0.0259 <sup>a</sup>	0.412 $\pm$ 0.0432 <sup>b</sup>

<sup>a</sup>P < 0.05, <sup>b</sup>P < 0.01 vs 对照组。

表3 大鼠视网膜 HIF-1 $\alpha$  和 caspase-9 蛋白表达

组别	HIF-1 $\alpha$ 蛋白	caspase-9 蛋白
对照组	10.0 $\pm$ 5.4	13.6 $\pm$ 2.6
高眼压		
3d组	49.8 $\pm$ 6.7 <sup>b</sup>	23.8 $\pm$ 3.6
7d组	86.3 $\pm$ 9.3 <sup>b</sup>	26.0 $\pm$ 4.0 <sup>a</sup>
14d组	55.9 $\pm$ 5.0 <sup>b</sup>	56.5 $\pm$ 8.6 <sup>b</sup>
21d组	48.4 $\pm$ 3.1 <sup>b</sup>	36.7 $\pm$ 6.8 <sup>b</sup>
28d组	44.2 $\pm$ 4.8 <sup>b</sup>	29.5 $\pm$ 3.2 <sup>a</sup>

<sup>a</sup>P < 0.05, <sup>b</sup>P < 0.01 vs 对照组。

表4 大鼠视网膜 HIF-1 $\alpha$  和 caspase-9 蛋白表达

组别	HIF-1 $\alpha$ / $\beta$ -actin	caspase-9/ $\beta$ -actin
对照组	0.084 $\pm$ 0.021	0.184 $\pm$ 0.031
高眼压		
3d组	0.210 $\pm$ 0.026 <sup>a</sup>	0.222 $\pm$ 0.026
7d组	0.624 $\pm$ 0.030 <sup>b</sup>	0.376 $\pm$ 0.021 <sup>a</sup>
14d组	0.456 $\pm$ 0.030 <sup>b</sup>	0.552 $\pm$ 0.044 <sup>b</sup>
21d组	0.274 $\pm$ 0.027 <sup>a</sup>	0.318 $\pm$ 0.041 <sup>a</sup>
28d组	0.242 $\pm$ 0.019 <sup>a</sup>	0.306 $\pm$ 0.021 <sup>a</sup>

<sup>a</sup>P < 0.05, <sup>b</sup>P < 0.01 vs 对照组。

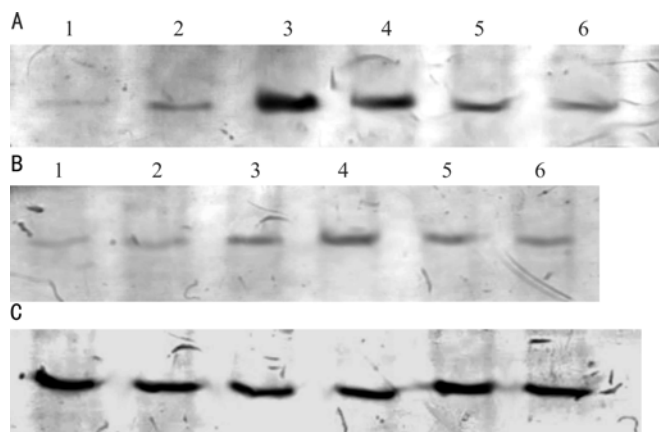


图4 大鼠视网膜 HIF-1 $\alpha$  和 caspase-9 蛋白的表达 A:1:对照组; 2~6:高眼压3,7,17,21,28d组; B:1:对照组; 2~6:高眼压3,7,17,21,28d组; C: $\beta$ -actin。

### 3 讨论

HIF-1 $\alpha$  是1992年在低氧诱导的肝细胞癌细胞株 Hep3B 细胞核提取物中发现的一种蛋白质,作为一个参与低氧信号转导的主要核转录因子,活化后的 HIF-1 $\alpha$  与其

靶基因上的 HIF-1 $\alpha$  结合位点结合,形成转录起始复合物,启动靶基因的转录,编码其特定的蛋白质后发挥其生物学功能。目前已确定的 HIF-1 $\alpha$  靶基因近 50 种,包括 iNOS, COX-2, caspase-9 等。目前关于青光眼与 HIF-1 $\alpha$  的研究很少。Tezel 等<sup>[5]</sup> 利用免疫组织化学方法观察到青光眼患者中视网膜和视神经的 HIF-1 $\alpha$  的表达发现明显高于正常人,而且高表达区与视野缺失区一致,提出青光眼的视网膜可能存在缺氧。

caspase 是近年来凋亡研究的热点,它的活化是导致细胞凋亡的中心环节。它们均具有在天冬氨酸残基后切断肽键的能力,转染不同细胞后可诱导凋亡,统称为 caspase 家族。迄今为止已鉴定了 14 种此类蛋白酶,按其被发现的先后顺序分别称为 caspase 1~14。根据 caspase 一级结构及其 N 端原结构域的长短,可将其分为两大类:(1) 启动子 caspase, 主要起激发和调节凋亡的始动作用,包括 caspase-1,2,4,5,8,9,10。(2) 效应子 caspase, 主要对底物蛋白质进行酶解作用,直接介导凋亡实施,包括 caspase-3,6,7,14。不同的启动性 caspase 通过不同途径介导不同的凋亡信号,研究表明主要有两种途径:(1) caspase-8 介导的死亡受体相关信号的死亡受体途径,发生在细胞膜部位;(2) caspase-9 介导的细胞毒性的死亡信号的线粒体途径,发生在细胞核的线粒体部位。在多种应激因素作用下,激活的 caspase-9 将活化 caspase-3, 后者是凋亡的执行人,是细胞凋亡蛋白酶级联反应的必经之路。所以 caspase-9 作为凋亡的启动子,是细胞发生凋亡的最早的信号。以往的研究表明高眼压后,视网膜神经节细胞发生凋亡,caspase-9 的表达有增强<sup>[6,9]</sup>。

我们利用免疫组织化学法,RT-PCR 和 Western-blot 发现,在正常对照组中 HIF-1 $\alpha$  和 caspase-9 的阳性表达是没有或极弱的,这与 HIF-1 $\alpha$  在常氧条件下含氧量正常的组织中以及 caspase-9 在没有应激因素作用下是不表达或组成性的低表达的特征相一致的。而 HIF-1 $\alpha$  在慢性高眼压大鼠视网膜中的表达明显高于正常对照组。HIF-1 $\alpha$  作为参与低氧信号转导的起始和主要转录因子,只能被低氧所诱导而激活表达;这就表明如果存在 HIF-1 $\alpha$  高表达的区域就意味着该区域氧输送减少和处于缺氧负荷状态。因此我们的研究由于 HIF-1 $\alpha$  的高表达而表明在高眼压下视网膜组织缺氧是存在的,缺氧信号是青光眼性视网膜神经变性病理机制的一个重要因素。另外我们还发现在高眼压后的视网膜中,HIF-1 $\alpha$  阳性表达主要位于视网膜的内层即节细胞层和内核层,而在外核层没有表达。视网膜的内层是由视网膜中央动脉系统提供能量的,而视网膜的外层是由脉络膜血管系统提供能量的,我们认为,在视网膜内层的 HIF-1 $\alpha$  的强表达并不足以说明组织缺氧只存在于视网膜中央动脉循环系统血供区域,因为首先有关血液动力学的研究表明在青光眼中视网膜和脉络膜循环系统均存在血管的异常,其次在青光眼时,无论是高眼压,还是缺血的损伤信号对视网膜各层是一致的,这样视网膜各层的缺氧负荷也应是相同的。因而缺氧诱导的 HIF-1 $\alpha$  的激活在不同层不同的原因只能是 HIF-1 $\alpha$  在不同层存在着有差别的激活。这种差别来源于不同层细胞对缺氧信号的敏感性和耐受性不同。也说明了视网膜内层细胞对缺氧敏感,而对缺氧损伤的耐受性差。同样通过免疫组化染色,我们发现同 HIF-1 $\alpha$  一样,caspase-9 的阳性表达位于视网膜的内层,即节细胞层和内核层,外核层鲜有表达,另外在光感受器的内外节处也有阳性表达。这表明 caspase-9 作

为启动子也参与了青光眼早期节细胞凋亡的过程。

我们认为 HIF-1 $\alpha$  的激活以及其下游靶基因转录是青光眼视网膜损伤的重要的病理机制。首先在慢性高血压后视网膜的光镜和电镜下视网膜的损伤改变发生在视网膜的内层,而以往的研究也表明青光眼的视网膜的损害为节细胞的凋亡。我们的研究发现 HIF-1 $\alpha$  和 caspase-9 的阳性表达也位于视网膜的内层,这与青光眼视网膜损伤的区域是一致的。其次我们发现,在高血压后的早期即出现了 HIF-1 $\alpha$  的激活,7d 时达到高峰,后虽有下降但仍维持在一个高表达的水平。这种 HIF-1 $\alpha$  持续高表达意味着视网膜在高血压后存在着一个持续性的缺氧损害或反复发作性的组织缺氧。这与青光眼的视神经损害是一个长期慢性而持续的过程相一致。但 caspase-9 的高峰均滞后于 HIF-1 $\alpha$  的 7d,而是高血压的 14d。说明视网膜节细胞的大量凋亡还要更晚些;再次通过相关性分析, caspase-9 mRNA 和蛋白时空性表达与 HIF-1 $\alpha$  蛋白时空性表达密切相关,三种相关性的分析方法均表明有统计学意义( $P < 0.05$ )。这些在不同水平的时空表达的特征和他们之间密切相关性表明在高血压后,在早期 HIF-1 $\alpha$  就首先被激活,活化后的 HIF-1 $\alpha$  与其靶基因 caspase-9 上的 HIF-1 $\alpha$  结合位点结合,形成转录起始复合物,启动靶基因的转录后,编码他们特定的蛋白质后导致节细胞的凋亡。这也符合低氧信号级联反应的时空表达关系。也说明了作为低氧适应基因 caspase-9 也参与了高血压后视网膜的神经损伤过程。但在缺氧早期我们认为,作为低氧适应性基因, HIF-1 $\alpha$ , caspase-9 的过量表达是对缺氧的适应性反应来维持氧稳态,因此并没有发生视网膜功能和结构的明显改变。但随着高血压持续性进行,氧稳态就难以维持,而导致他们高峰性的表达,则成为视网膜缺氧损伤的重要因素。至于后 2wk 表达比高峰期的下降的原因一方面可能与他们对缺氧的敏感性有降低和耐受性增强有关,另一方面可能与视网膜损伤后节细胞数目减少有关。最后,我们还发现,在高血压后 7d 在视网膜的光感受器内外节 HIF-1 $\alpha$  和 caspase-9 表达为强阳性,我们知道内外节所含有的感光色素是我们暗视觉形成的基础,目前的研究提出暗适应过程减慢是青光眼早期的症状之一。而视网膜缺氧,

HIF-1 $\alpha$  的激活同时也发生于高血压后的早期,由此我们大胆的推测青光眼的早期光感觉的改变与视网膜缺氧, HIF-1 $\alpha$  和 caspase-9 激活密切相关。

总之,由于 HIF-1 $\alpha$  的表达是缺氧负荷的直接指示信号,我们的研究就证实了无论是高血压的机械压迫还是血管异常的缺血均可导致青光眼早期的氧适应异常。而 HIF-1 $\alpha$  和 caspase-9 的信号途径是青光眼神经变性的发生和进展中重要的病理生理机制。HIF-1 $\alpha$  作为“扳机点”调节着广泛的低氧诱导适应基因在细胞内的转录,并发挥他们蛋白质的不同生物学特征,如 caspase-9 启动凋亡的作用而最终决定了高血压下视网膜中的对缺氧负荷反应的细胞的最终命运。

#### 参考文献

- 1 Semenza GL. HIF-1 and mechanisms of hypoxia sensing. *Curr Opin Cell Biol* 2001;13(2):167-171
- 2 刘东敬,陈晓明,盘如刚,等. 大鼠慢性高血压模型的建立及玻璃体游离谷氨酸变化的实验研究. *眼科研究* 2008;26(5):343-346
- 3 Mahon PC, Hirota K, Semenza GL, et al. FIH-1: a novel protein that interacts with HIF-1 $\alpha$  transcriptional activity. *Genes Develop* 2001;15(20):2675-2686
- 4 Londo D, Peet DJ, Gorman JJ, et al. FIH-1 is an asparaginyl hydroxylase enzyme that regulates the transcriptional activity of hypoxia-inducible factor. *Genes Develop* 2002;16(12):1466-1471
- 5 Tezel G, Wax MB. Hypoxia-inducible factor 1 $\alpha$  in the glaucomatous retina and optic nerve head. *Arch Ophthalmol* 2004;122(9):1348-1356
- 6 Huang W, Dobberfuhr A, Filippopoulos T, et al. Transcriptional up-regulation and activation of initiating caspases in experimental glaucoma. *Am J Pathol* 2005;167(3):673-681
- 7 Ando A, Yamazaki Y, Kaneko S, et al. Cytoprotection by nipradilol, an anti glaucomatous agent, via down-regulation of apoptosis related gene expression and activation of NF-kappaB. *Exp Eye Res* 2005;80(4):501-507
- 8 Hänninen VA, Pantcheva MB, Freeman EE, et al. Activation of caspase 9 in a rat model of experimental glaucoma. *Curr Eye Res* 2002;25(6):389-395
- 9 Das A, Garner DP, DelRe AM, et al. Calpeptin provides functional neuroprotection to rat retinal ganglion cells following Ca<sup>2+</sup> influx. *Brain Res* 2006;1084(1):146-157