DOI:10.16016/j.2097-0927.202109095

血红蛋白α、β亚基在大鼠不同类型血管组织中的表达

臧家涛,李清晖,吴 跃,张紫森,刘良明 400042 重庆,陆军特色医学中心战伤休克与输血研究室

[摘要] **目的** 阐明大鼠血管组织是否表达血红蛋白(hemoglobin,Hb)α、β亚基,以及不同类型血管组织中的表达是否具有规律性。**方法** 通过RT-PCR、DNA测序和Western blot分析SD大鼠颈总动脉、颈外静脉、胸主动脉、肠系膜上动脉、肠系膜上静脉、股动脉、股静脉等血管组织是否表达Hb α、β亚基,采用探针qPCR分析其表达差异,激光共聚焦荧光显微技术分析表达Hb α、β亚基的细胞类型。**结果** 从上述血管组织中都扩增出与GenBank收录的大鼠Hb α、β亚基mRNA序列一致的DNA片段,同时通过Western blot检测到特异的Hb α、β亚基蛋白条带。qPCR结果显示不同血管组织中Hb α、β亚基的相对表达量存在差异,均在股静脉中表达最高(Hb α=7.23,Hb β=4.73),胸主动脉表达最低(Hb α=0.12,Hb β=0.11),且与其他血管比较差异有统计学意义($P<0.01$)。免疫荧光分析显示Hb α、β亚基由血管内皮细胞表达。**结论** Hb α、β亚基共同在大鼠传导、阻力、容量等不同类型血管组织中表达,其规律为相对表达量在阻力、容量血管中较高,而在传导血管中较低。

[关键词] 血红蛋白;血管;基因;表达
[中图法分类号] R322.12;R331.141;R394.2 [文献标志码] A

Expression of hemoglobin α and β subunits in different types of rat vasculatures

ZANG Jiatao, LI Qinghui, WU Yue, ZHANG Zisen, LIU Liangming Department of Shock and Transfusion, Army Medical Center of PLA, Chongqing, 400042, China

[**Abstract**] **Objective** To clarify whether hemoglobin (Hb) α and β subunits are expressed in rat blood vessels, and whether there are differences in expression levels between different types of vasculatures. **Methods** RT-PCR, DNA sequencing and Western blotting were used to detect the expression of Hb α and β subunits at mRNA and protein levels in common carotid artery, thoracic aorta, superior mesenteric artery, femoral artery, external jugular vein, superior mesenteric vein and femoral vein in SD rats. Relative expression levels of Hb α and β subunits in these vessels were determined by probe qPCR. The results of immunofluorescence assay for Hb α and β subunits in these vessels was further observed by laser confocal microscopy. **Results** Specific DNA fragments were amplified from different blood vessels by RT-PCR, and the sequences of these DNA fragments were identical to the mRNA sequences of rattus norvegicus Hb α and β subunits in GenBank database respectively. Protein peptides with correct molecular weights were detected using antibodies against Hb α and β subunits respectively from total protein extracts of these blood vessels by Western blotting. qPCR results indicated that the relative expression levels of Hb α and β subunits varied between different blood vessels, and it was significantly lower in the thoracic aorta (Hb α=0.12, Hb β=0.11) while higher in the femoral vein (Hb α=7.23, Hb β=4.73) ($P<0.01$). The results of immunofluorescence laser confocal microscopy indicated that Hb α and β subunits were expressed in vascular endothelial cells. **Conclusion** Hemoglobin α and β subunits are co-expressed in rat vasculatures, including

[基金项目] 国家自然科学基金重点项目(81830065)
[通信作者] 刘良明,E-mail:liangmingliu@yahoo.com

2097-0927/Copyright © 2022, 陆军军医大学(第三军医大学)。这篇开放获取文章遵循CC BY许可协议(https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/)

conduit, resistance and capacitance vessels, and the relative expression level is higher in the resistance and capacitance vessels but lower in the conduit vessels.

[**Key words**] hemoglobin; blood vessels; gene; expression

Supported by the Key Program of National Natural Science Foundation of China (81830065). Corresponding author: LIU Liangming, E-mail: liangmingliu@yahoo.com

血红蛋白(hemoglobin,Hb)是红细胞的主要成分,脊椎动物红细胞 Hb 主要由 α、β 亚基组成(胎儿、新生儿除外),以四聚体$(\alpha\beta)_2$的形式存在。红细胞 Hb 具有运输 O_2、CO_2,运输与调节其他气体分子(NO、CO、H_2S 等)的功能,还作为氧化酶参与氧化还原反应,是体内重要的蛋白质之一[1]。

在 19 世纪 70 年代之前,人们一直认为 Hb 只在红系细胞中表达,后来陆续发现多种非红系细胞也表达 Hb[2-13],但其功能和生理病理意义尚不清楚。2012 年,STRAUB 等[14]在《nature》杂志发表的文章报道,他们通过蛋白质免疫印迹(western blot,WB)、免疫荧光、定量聚合酶链式反应(quantitative polymerase chain reaction,qPCR)分析小鼠胸背动脉、颈动脉、肠系膜动脉、肠胃营养动脉等血管以及人骨骼肌血管中 Hb 的表达情况,发现在血管组织中 Hb α 亚基表达而 β 亚基不表达,在阻力血管中表达而在传导血管中不表达。2016 年,KOLLAU 等[15]报道猪冠状动脉中间层存在 Hb,经研究认为 Hb 来源于血管营养管内的红细胞而不是血管组织表达。阐明血管组织是否表达 Hb 及其表达的亚基类型,是功能和生理病理作用研究的基础,明确上述问题具有重要意义。

亚基组成是影响 Hb 功能的首要因素,已知红细胞 Hb 主要由 α、β 亚基组成。它们总是成对、共同表达,亚基缺失或突变将导致红细胞结构功能异常,发生地中海贫血等疾病[16-18];而多种非红系细胞 Hb 也是以 α、β 亚基的形式存在。此外,体内血管根据功能可分为传导、阻力、容量、交换等类型[19]。大动脉属于传导血管,动脉、微动脉属于阻力血管,静脉属于容量血管,毛细血管属于交换血管。传导、阻力、容量血管都由血管内皮细胞(vascular endothelial cell,VEC)、血管平滑肌细胞(vascular smooth muscle cell,VSMC)、成纤维细胞组成,Hb 只在阻力血管中表达的结论有必要进一步验证。因此,本研究首先采用基因表达研究的经典方案,从 mRNA 转录和蛋白翻译水平进行研究,阐明大鼠血管组织是否表达 Hb α、β 亚基;在此基础上分析不同类型血管组织中的表达是否存在差异性,是否具有一定的规律性。

1 材料与方法

1.1 实验动物

SD 大鼠来自陆军特色医学中心动物室。

1.2 实验材料

TRI reagent 购自美国 Sigma 公司;RNAstore reagent 购自天根生化科技(北京)有限公司;4S green 核酸染料购自上海生工生物工程有限公司;BM2000 核酸分子量标准购自北京博迈德生物技术有限公司;AMV 逆转录试剂盒购自美国 Promega 公司;PrimeSTAR®HS premix 高保真 DNA 聚合酶、Probe qPCR mix(2x)购自日本 TaKaRa 公司;定制引物、DNA 测序分析、Hb α Taqman 探针(#Rn00820725_g1)、Hb β Taqman 探针(#Rn00583657_g1)、GAPDH Taqman 探针(#Rn01775763_g1)购自美国 Invitrogen 公司;Hb α 抗体(#ab92492)购自美国 Abcam 公司;Hb β 抗体(#sc-390668)购自美国 Santa Cruz 公司;驴抗小鼠 IgG 抗体(#926-68072)、山羊抗兔 IgG 抗体(#926-32211)、山羊抗小鼠 IgG 抗体(#926-32210)购自美国 LI-COR 公司;β-actin 抗体购自武汉博士德生物工程有限公司;蛋白质分子量标准(#22616)购自美国 Thermofisher 公司;0.22 μm PVDF 膜购自美国 Millipore 公司;mouting medium with DAPI、山羊抗兔 IgG 抗体(FITC 标记)、山羊抗小鼠 IgG 抗体(TRITIC 标记)购自北京中杉金桥生物技术有限公司。

1.3 实验仪器

NanoDrop 1000 微量核酸蛋白测定仪购自美国 Thermo scientific 公司,qPCR 仪和 PCR 仪购自美国 Bio-Rad 公司,Odessey®CLx 远红外成像系统购自美国 LI-COR 公司,TCS SP5-Ⅱ激光共聚焦显微镜购自德国 Leica 公司。

1.4 方法

1.4.1 血管取材 将体质量约 200 g 的 SD 大鼠以 3%戊巴比妥钠麻醉,腹腔注射肝素钠溶液 500 U/kg 后等待 30 min。钝性分离颈总动脉(common carotid aorta,CCA)、颈外静脉(external jugular vein,EJV)、股动脉(femoral aorta,FA)、股静脉(femoral vein,FV)、肠

系膜上动脉(superior mesenteric aorta,SMA)。用一枚输液器针头进行腹主动脉穿刺,制备90%换血模型[20]。结扎大鼠股动脉近、远端后剪下血管,以冰预冷肝素钠生理盐水快速冲洗,迅速吸干水渍后浸没在冰预冷RNAstore reagent中。按照同样的方法依次取股静脉、肠系膜上动脉、颈总动脉、颈外静脉、肠系膜上静脉(superior mesenteric vein,SMV),最后打开胸腔剪下胸主动脉(thoracic aorta,TA)。将血管浸泡在RNAstore reagent中,在解剖显微镜下去除血管外的脂肪组织等。

1.4.2 RNA提取与逆转录-聚合酶链式反应(reverse transcript polymerase chain reaction,RT-PCR) 通过TRIzol-氯仿法[21]提取血管组织总RNA,测定总RNA浓度后以甲醛变性琼脂糖凝胶电泳分析总RNA质量。将28S/18S比值接近2.0的总RNA样本逆转录为cDNA,20.0 μL反应体系中总RNA用量1.0 μg。利用PrimeSTAR® HS高保真酶进行PCR扩增反应,总反应体系20.0 μL,其中cDNA 1.0 μL,正、反向引物各0.5 μL。采用跨外显子引物,序列及退火温度见表1。PCR反应条件为:95 ℃ 2 min;95 ℃ 30 s,退火30 s,72 ℃ 30 s,循环扩增N次($N_{\beta\text{-actin}}=30$,$N_{Hb}=40$);72 ℃ 2 min。

表1 大鼠血红蛋白α、β亚基RT-PCR引物

靶基因	引物序列(5'→3')	退火温度
Hb α	正向 GGCCCTACAGAGGATGTTCG 反向 GAGGCGGCTTAACGGTACTT	58 ℃
Hb β	正向 CTGTGGGGAAAGGTGAACCC 反向 CCAGGAGCCTGAAGTTCTCA	58 ℃
β-actin	正向 CAGCCTTCCTTCCTGGGTATG 反向 AGGGTGTAAAACGCAGCTCA	60 ℃

1.4.3 DNA测序与比对分析 PCR产物进行琼脂糖凝胶电泳,根据核酸分子量标准估测DNA片段的长度,将与理论产物长度一致的DNA片段凝胶切下进行测序分析。通过DNASTAR 8.1.3软件进行比对分析,靶序列为GenBank数据库收录的大鼠Hb α mRNA、Hb β mRNA。

1.4.4 总蛋白提取 血管组织总蛋白从TRIzol-氯仿法提取总RNA的氯仿层中提取,参照SIMÃO等[21]建立的方法操作。

1.4.5 Western blot检测 通过BCA试剂盒测定总蛋白浓度后,进行十二烷基磺酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis,SDS-PAGE),分离胶浓度17%(质量体积分数),上样量100 μg。电泳完成后通过半转膜仪将凝胶中的蛋白转到0.22 μm PVDF膜上,转膜条件18 V 30 min。PVDF膜以脱脂奶粉封闭,Hb α抗体、Hb β抗体稀释比例1∶500,4 ℃孵育72 h;β-actin抗体稀释比例1∶1 000,37 ℃孵育1 h;二抗稀释比例1∶10 000,37 ℃孵育1 h。PVDF膜上的荧光信号通过Odessey® CLx远红外成像系统检测。通过Image J软件测定蛋白条带的灰度值,分析不同类型血管组织中Hb α、β亚基的相对蛋白表达量,动脉血管将颈总动脉的表达量设为1.0,静脉血管将颈外静脉的表达量设为1.0。

1.4.6 激光共聚焦荧光显微技术分析 按照1.4.1的方法取下SD大鼠胸主动脉、颈动脉、股静脉,用手术刀片在冰水浴中切下长度约3 mm的血管环,浸没在包埋剂中-20 ℃冷冻1 h,冰冻切片厚度15 μm。组织切片浸没在4%(质量体积分数)多聚甲醛中室温固定15 min,以PBS洗涤5 min × 3次;以0.3%(体积分数)的Triton X-100(用PBS稀释)37 ℃破膜30 min,再以即用型山羊血清37 ℃封闭1 h。Hb α、Hb β亚基抗体用PBS按照1∶100(体积分数)的比例稀释,4 ℃孵育72 h,以PBS洗涤5 min × 3次。山羊抗小鼠IgG抗体、山羊抗兔IgG抗体用PBS按照1∶200(体积分数)的比例稀释,37 ℃避光孵育2 h。DAPI用PBS按照1∶200(体积分数)的比例稀释,37 ℃避光孵育15 min,以PBS洗涤5 min × 3次。滴加荧光封片剂后盖上盖玻片,在激光共聚焦显微镜下采集荧光数字图像。

1.4.7 qPCR分析 总体积20.0 μL的qPCR反应体系中,含cDNA 1.0 μL,商品化Taqman探针1.0 μL。反应条件为:95 ℃ 30 s;95 ℃ 5 s,60 ℃ 30 s,循环扩增40次。SD大鼠血管包括颈动脉、胸主动脉、肠系膜上动脉、肠系膜上静脉、股静脉,每组设3个复孔,以GAPDH为内参,阴性对照孔不含cDNA模板。相对表达量以$2^{-\triangle\triangle Ct}$计算,设定颈动脉的表达量为1.0。

1.5 统计学分析

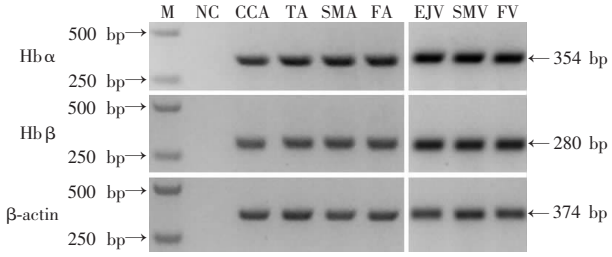
采用SPSS 20.0统计学软件,各组数据以$\bar{x}\pm s$表示,各组间数据差异比较采用t检验,$P<0.05$表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 Hb α、β亚基mRNA共同在SD大鼠不同类型血管组织中转录

以大鼠动脉(颈总动脉、胸主动脉、股动脉、肠系膜上动脉)、静脉(颈外静脉、肠系膜上静脉、股静脉)血管cDNA为模板,以跨外显子的大鼠Hb α、β亚基

引物进行 PCR 扩增,从上述血管中都扩增出单一 DNA 片段,见图 1。大鼠 Hb α、β 亚基引物都是跨外显子的,当存在基因组 DNA 污染时,扩增的 DNA 片段长度将发生显著改变。通过核酸分子量标准比较发现,扩增的 DNA 片段分别与理论预测的大鼠 Hb α、β 亚基 RT-PCR 产物长度一致,由此可以确定扩增得到的 DNA 片段来自 cDNA 而非基因组 DNA。



M:DNA 分子量标准;NC:negative control,RT-PCR 质控;CCA:颈总动脉;TA:胸主动脉;SMA:肠系膜上动脉;FA:股动脉;EJV:颈外静脉;SMV:肠系膜上静脉;FV:股静脉

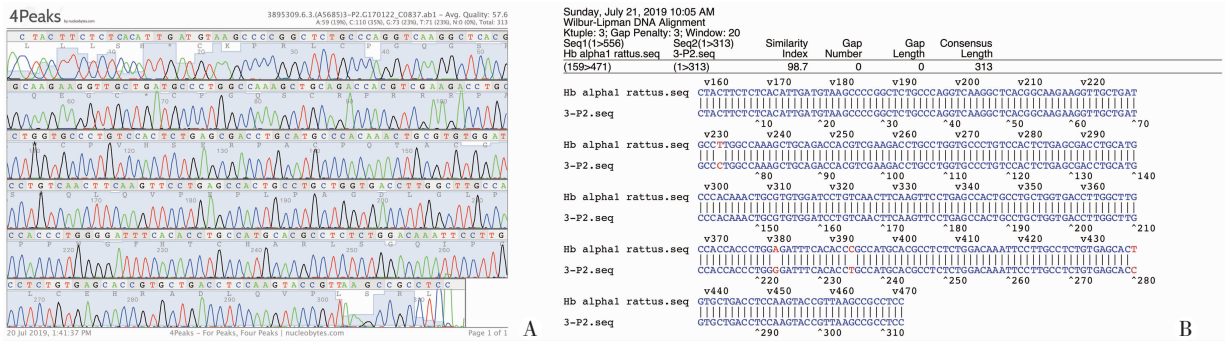
图 1 RT-PCR 检测 SD 大鼠不同类型血管组织 Hb α、β 亚基 mRNA 表达

将上述 RT-PCR 产物条带切下进行 DNA 测序分析,测得序列与 GenBank 收录的挪威大鼠(Rattus norvegicus)Hb α、β 亚基 mRNA 序列进行比对分析。结果显示,Hb α 亚基 RT-PCR 产物序列与 Hb α mRNA(序列号为 NM_013096)相同,见图 2;Hb β 亚基 RT-PCR 产物序列与 Hb β mRNA(序列号为 NM_033234)相同,见图 3。

本部分实验结果在基因转录水平证实 Hb α、β 亚基在血管组织中共同表达,且在传导、容量、阻力等不同类型血管组织中都表达。

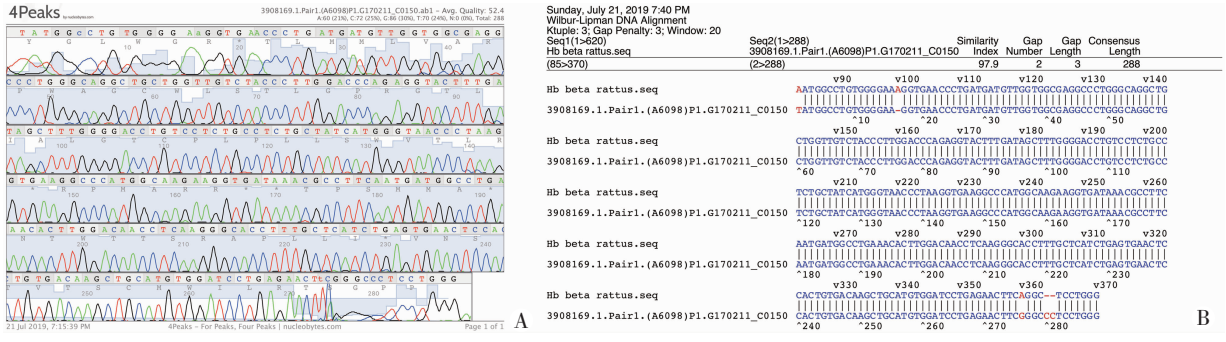
2.2 Hb α、β 亚基蛋白在不同类型血管组织中翻译

有的基因存在转录的 mRNA 不进行蛋白翻译的情况,为了验证 Hb α、β 亚基是否在血管组织中表达,进一步分析 Hb α、β 亚基的蛋白表达情况。结果显示,Hb α、β 亚基蛋白在血管组织总蛋白中同时存在,提示 Hb α、β 亚基 mRNA 翻译成蛋白质;此外,不同类型血管组织中检测到 Hb α、β 亚基蛋白质,提示 Hb α、β 亚基在不同类型血管组织中都表达,但表达水平存在一定的差异,胸主动脉的相对表达量最低($P<0.05$),见图 4。



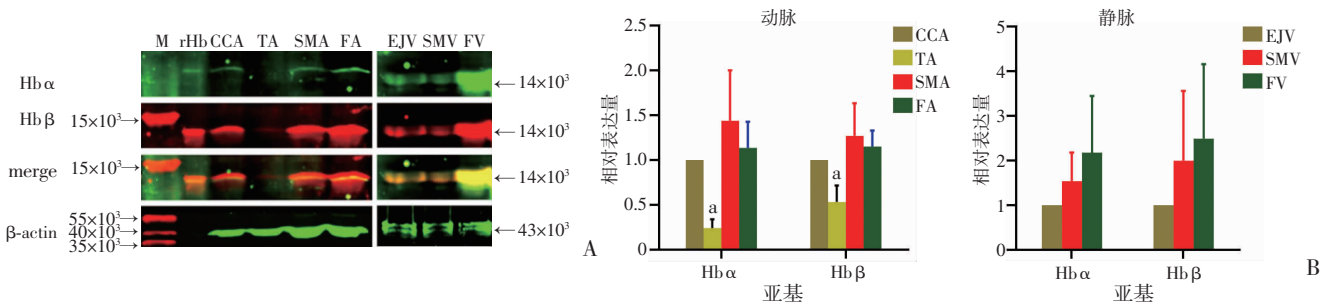
A:Hb α 亚基 RT-PCR 产物测序图谱(样品编号为 3-P2);B:RT-PCR 产物序列与 GenBank 收录的 Hb α mRNA 序列(编号 NM_013096)的比对分析结果

图 2 SD 大鼠不同类型血管组织 Hb α 亚基 RT-PCR 产物 DNA 测序与比对分析



A:Hb β 亚基 RT-PCR 产物测序图谱(样品编号为 P1);B:RT-PCR 产物序列与 GenBank 收录的 Hb β mRNA 序列(编号 NM_033234)的比对分析结果

图 3 SD 大鼠不同类型血管组织 Hb β 亚基 RT-PCR 产物 DNA 测序与比对分析



M:蛋白质分子量标准;rHb:大鼠红细胞血红蛋白;CCA:颈总动脉;TA:胸主动脉;SMA:肠系膜上动脉;FA:股动脉;EJV:颈外静脉;SMV:肠系膜上静脉;FV:股静脉;红色荧光:检测波长 680 nm;绿色荧光:检测波长 800 nm;merge:红外荧光波长 680 nm、800 nm 图像叠加;a:$P<0.05$,与其他血管组织比较

A:Western blot 结果;B:不同类型血管组织中 Hb α、β 亚基蛋白相对表达量

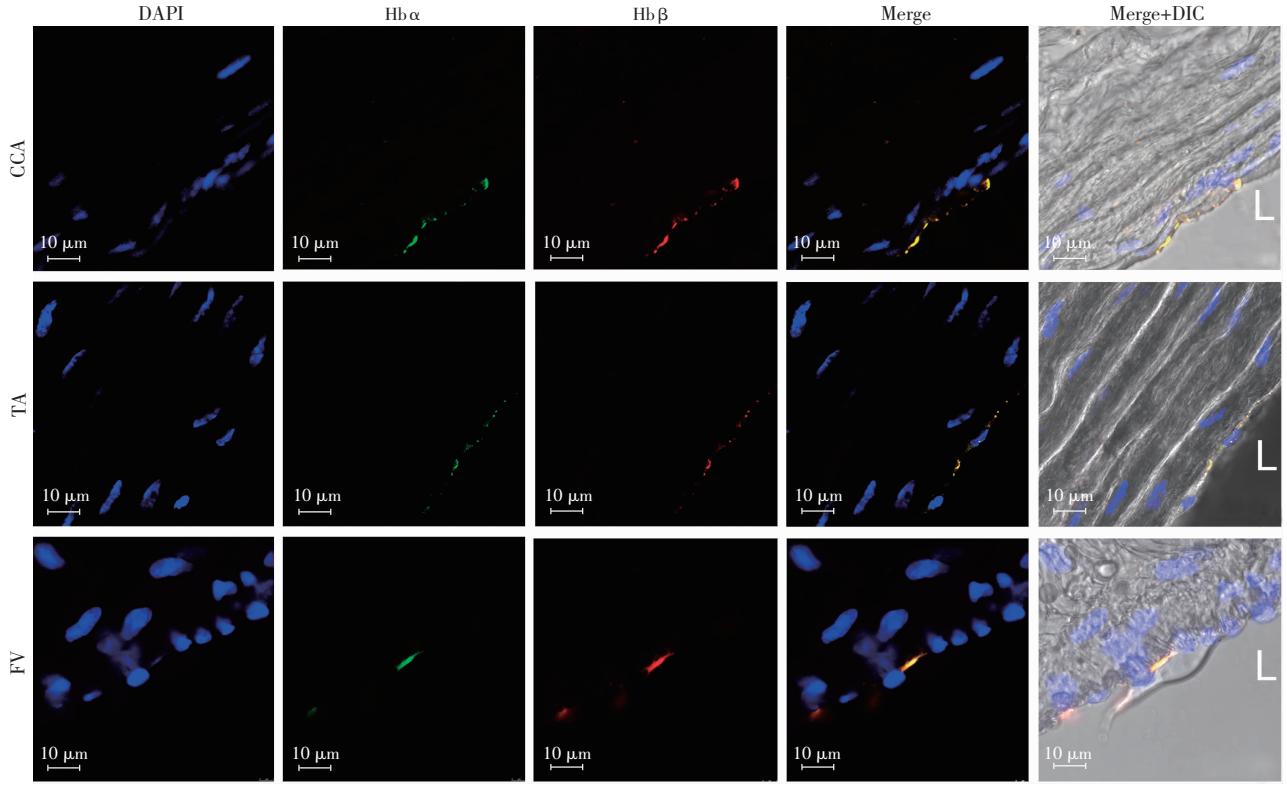
图 4 Western blot 检测 SD 大鼠不同类型血管组织中 Hb α、β 亚基的蛋白表达

2.3 血管组织中 Hb α、β 亚基主要由血管内皮细胞表达

以激光共聚焦显微镜观察颈总动脉、胸主动脉、股静脉等血管组织中 Hb α、β 亚基的免疫荧光,发现 Hb α 亚基的绿色荧光和 Hb β 亚基的红色荧光共定位分布于血管内皮细胞中,血管平滑肌细胞、成纤维细胞中未观察到免疫荧光,见图 5。提示不同类型血管组织中 Hb α、β 亚基主要由血管内皮细胞表达。结果还显示 Hb α、β 亚基仅在少量血管内皮细胞中表达,而不是所有血管内皮细胞都表达。

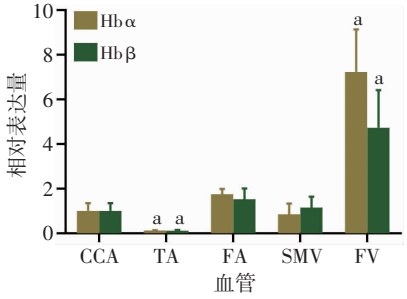
2.4 不同类型血管组织中 Hb α、β 亚基表达差异

qPCR 检测不同类型血管组织中 Hb α、β 亚基的表达差异,结果显示颈总动脉、胸主动脉、股动脉、肠系膜上静脉、股静脉等不同类型血管组织中 Hb α、β 亚基的表达存在差异性。与其他血管比较,胸主动脉中的相对表达量最低($P<0.01$),股静脉中的相对表达量最高($P<0.01$),见图 6。不同类型血管中 Hb α、β 亚基的表达水平总体呈以下规律:在阻力、容量血管中的相对表达量较高,在传导血管中的相对表达量较低。



DAPI:4',6-二脒基-2-苯基吲哚;Hb α:血红蛋白 α 亚基,二抗以 FITC 标记;Hb β:血红蛋白 β 亚基,二抗以 TRITIC 标记;Merge:DAPI、Hb α、Hb β 荧光图像叠加;DIC:微分干涉差(相差);Merge+DIC:DAPI、Hb α 图像、Hb β 图像、DIC 图像叠加;CCA:颈总动脉;TA:胸主动脉;FV:股静脉;L:血管腔

图 5 激光共聚焦荧光显微技术分析 SD 大鼠不同类型血管组织中 Hb α、β 亚基的蛋白表达



CCA:颈总动脉;TA:胸主动脉;FA:股动脉;SMV:肠系膜上静脉;FV:股静脉;a:$P<0.01$,与其他各组比较

图 6 qPCR 分析 SD 大鼠不同类型血管组织中 Hb α、β 亚基的相对表达水平

3 讨论

从 20 世纪 70 年代起人们陆续发现晶状体[5]、视网膜色素上皮细胞[6]、Ⅱ型肺泡上皮细胞[7-9]、多巴胺能神经元 A9 细胞[13]等非红系细胞也表达 Hb。这些非红系细胞 Hb 的功能尚未阐明,提示人们对 Hb 的认识才刚刚开始。关于血管组织是否表达 Hb,STRAUB 等[14]、KOLLAU 等[15]先后开展研究,前者发现血管组织表达 Hb α 亚基而不表达 Hb β 亚基,在阻力血管中表达而在传导血管中不表达,后者在猪冠状动脉平滑肌层发现 Hb α、β 亚基,但认为其来源于血管营养管内的红细胞。因此,有必要进一步明确不同类型血管组织是否表达 Hb 以及其主要亚基类型 α、β 亚基的表达情况。

确认基因表达需要从 mRNA 转录和蛋白翻译两个水平同时进行[22-23]。mRNA 转录水平的标准分析方法是 RT-PCR 和 DNA 测序,RT-PCR 以指数方式扩增目的 DNA,因而能够发现拷贝数极低的基因,是目前灵敏度最高的基因表达分析方法;对扩增的 DNA 片段进行测序分析,将扩增片段序列与 GenBank 数据库收录数据进行比对即可确定目的基因 mRNA 是否存在。本研究通过 RT-PCR 和 DNA 测序发现 Hb α、β 亚基 mRNA 在 SD 大鼠血管中存在,且在传导、阻力、容量血管中同时存在 Hb α、β 亚基 mRNA,从而证实大鼠不同类型血管组织中同时存在 Hb α、β 亚基的基因表达。通过采用跨外显子的引物可排除基因组 DNA 污染的可能性,但还不能完全排除红系细胞污染的可能性,还需要通过其他实验进一步确认 Hb α、β 亚基 mRNA 由血管组织表达的结论。

Western blot 通过抗体、荧光/法学发光的组合放大效应对蛋白多肽进行定性及半定量鉴定分析,是蛋白表达的标准分析方法。本研究首先使用 STRAUB 等[14]使用的 Hb α 亚基抗体(#102758,Abcam)对大鼠红细胞 Hb、血管 Hb 进行鉴定,但发现文中检测的 Hb 分子量为 17 000,与抗体说明书不符,而一条非特异蛋白条带分子量约为 17 000。Western blot 结果受抗原丰度、抗原-抗体亲和力、结合特异性、膜转移效率等诸多因素的影响[24]。本研究更换了 Hb α 亚基抗体后,从大鼠血管组织中检测到特异的 Hb α 亚基条带,其分子量与大鼠红细胞 Hb 对照品一致,且与已知的 Hb α 亚基分子量符合。STRAUB 等[14]未能通过 Western blot 从颈动脉中检测到 Hb β 亚基,可能与他们使用的抗体、实验方法等有关。本研究进一步通过激光共聚焦荧光显微技术分析初步明确 Hb α、β 亚基主要由血管内皮细胞表达,同时排除了红系细胞污染的可能性。研究还发现 Hb α、β 亚基只在少量血管内皮细胞中表达,其机制尚不清楚,有待进一步研究。

STRAUB 等[14]报道 Hb α 亚基在阻力血管的 VEC 中表达,通过调节释放到 VSMC 中 NO 的量发挥血管舒缩调控功能。Hb 的功能主要决定于亚基组成,任一 Hb 亚基都具有结合 O_2 和 CO_2、结合和调节 NO 等分子、催化氧化还原反应的能力,但只有由两种不同亚基组成的 Hb 四聚体才具有变构能力,发挥运输 O_2、CO_2 的功能[1]。本研究发现 Hb α、β 亚基在血管组织中共同表达,理论上它们可组成 $(\alpha\beta)_2$ 四聚体并具备与红细胞 Hb 相同的能力,如运输 O_2、通过调节 NO 释放调控血管舒缩功能、参与氧化还原反应等。结合 Hb α、β 亚基在传导、阻力、容量等不同类型血管中共同表达的结果,推测血管组织表达的 Hb α、β 亚基通过调节 NO 释放发挥血管舒缩调控功能的可能性很低,可能具有以下功能:①携氧功能,向高耗氧的 VSMC 供氧;②参与 VEC 内的氧化还原反应;③作为氧感受器;④参与 Fe 转运与代谢。

总之,本研究发现 Hb α、β 亚基在大鼠血管组织中共同表达且在传导、阻力、容量等不同类型血管组织中普遍表达的现象,且大鼠血管组织中 Hb 的表达具有一定的规律性。后续研究将进一步确认上述结论,并阐明 Hb α、β 亚基在血管组织中的表达部位、细胞类型、分布特点,为血管组织表达 Hb 的功能研究奠定基础。

参考文献:

[1] GELL D A. Structure and function of haemoglobins[J]. Blood Cells Mol Dis, 2018, 70: 13-42. DOI:10.1016/j.bcmd.2017.10.006.

[2] GROUDINE M, WEINTRAUB H. Rous sarcoma virus activates embryonic globin genes in chicken fibroblasts[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1975, 72(11): 4464-4468. DOI:

10.1073/pnas.72.11.4464.

[3] CHEUNG P, PANNING B, SMILEY J R. Herpes simplex virus immediate-early proteins ICP_0 and ICP_4 activate the endogenous human alpha-globin gene in nonerythroid cells [J]. J Virol, 1997, 71(3): 1784-1793. DOI:10.1128/jvi.71.3.1784-1793.1997.

[4] LIU L, ZENG M, STAMLER J S. Hemoglobin induction in mouse macrophages[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1999, 96(12): 6643-6647. DOI:10.1073/pnas.96.12.6643.

[5] WRIDE M A, MANSERGH F C, ADAMS S, *et al*. Expression profiling and gene discovery in the mouse lens [J]. Mol Vis, 2003, 9: 360-396.

[6] TEZEL T H, GENG L J, LATO E B, *et al*. Synthesis and secretion of hemoglobin by retinal pigment epithelium[J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2009, 50(4): 1911-1919. DOI:10.1167/iovs.07-1372.

[7] BHASKARAN M, CHEN H F, CHEN Z, *et al*. Hemoglobin is expressed in alveolar epithelial type II cells[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2005, 333(4): 1348-1352. DOI:10.1016/j.bbrc.2005.06.042.

[8] NEWTON D A, RAO K M, DLUHY R A, *et al*. Hemoglobin is expressed by alveolar epithelial cells[J]. J Biol Chem, 2006, 281(9): 5668-5676. DOI:10.1074/jbc.M509314200.

[9] GREK C L, NEWTON D A, SPYROPOULOS D D, *et al*. Hypoxia up-regulates expression of hemoglobin in alveolar epithelial cells[J]. Am J Respir Cell Mol Biol, 2011, 44(4): 439-447. DOI:10.1165/rcmb.2009-0307oc.

[10] DASSEN H, KAMPS R, PUNYADEERA C, *et al*. Haemoglobin expression in human endometrium[J]. Hum Reprod, 2008, 23(3): 635-641. DOI:10.1093/humrep/dem430.

[11] PATGAONKAR M, ARANHA C, BHONDE G, *et al*. Identification and characterization of anti-microbial peptides from rabbit vaginal fluid[J]. Vet Immunol Immunopathol, 2011, 139(2/3/4): 176-186. DOI:10.1016/j.vetimm.2010.10.012.

[12] NISHI H, INAGI R, KATO H, *et al*. Hemoglobin is expressed by mesangial cells and reduces oxidant stress[J]. J Am Soc Nephrol, 2008, 19(8): 1500-1508. DOI:10.1681/ASN.2007101085.

[13] BIAGIOLI M, PINTO M, CESSELLI D, *et al*. Unexpected expression of alpha- and beta-globin in mesencephalic dopaminergic neurons and glial cells[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2009, 106(36): 15454-15459. DOI:10.1073/pnas.0813216106.

[14] STRAUB A C, LOHMAN A W, BILLAUD M, *et al*. Endothelial cell expression of haemoglobin α regulates nitric oxide signaling[J]. Nature, 2012, 491(7424): 473-477. DOI:10.1038/nature11626.

[15] KOLLAU A, RUSSWURM M, NEUBAUER A, *et al*. Scavenging of nitric oxide by hemoglobin in the Tunica media of porcine coronary arteries[J]. Nitric Oxide, 2016, 54: 8-14. DOI:10.1016/j.niox.2016.01.005.

[16] SCHEPS K G, HASENAHUER M A, PARISI G, *et al*. Two novel unstable hemoglobin variants due to in-frame deletions of key amino acids in the β-globin chain[J]. Eur J Haematol, 2018, 100(6): 529-535. DOI:10.1111/ejh.13029.

[17] CHAROENKWAN P, NATESIRINILKUL R, CHOEYPRASERT W, *et al*. Coinheritance of hereditary elliptocytosis and deletional hemoglobin H disease[J]. J Pediatr Hematol Oncol, 2017, 39(2): e69-e70. DOI:10.1097/mph.0000000000000750.

[18] HUANG K, GE S J, YI W, *et al*. Interactions of unstable hemoglobin Rush with thalassemia and hemoglobin E result in thalassemia intermedia[J]. Hematology, 2019, 24(1): 459-466. DOI:10.1080/16078454.2019.1621020.

[19] TUCKER W D, ARORA Y, MAHAJAN K. Anatomy, Blood Vessels[M]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing, 2021.

[20] TAKASE B, HIGASHIMURA Y, ASAHINA H, *et al*. Liposome-encapsulated hemoglobin (HbV) transfusion rescues rats undergoing progressive lethal 85% hemorrhage as a result of an anti-arrhythmogenic effect on the myocardium[J]. Artif Organs, 2021, 45(11): 1391-1404. DOI:10.1111/aor.14033.

[21] SIMÃO A L, BORRALHO P M, STEER C J, *et al*. Isolation of mitochondria from liver and extraction of total RNA and protein: analyses of miRNA and protein expression [J]. Methods Mol Biol, 2021, 2310: 1-15. DOI:10.1007/978-1-0716-1433-4_1.

[22] YANG W, ZHU W W, YANG Y F, *et al*. Exosomal miR-100-5p inhibits osteogenesis of hBMSCs and angiogenesis of HUVECs by suppressing the BMPR2/Smad1/5/9 signalling pathway[J]. Stem Cell Res Ther, 2021, 12(1): 390. DOI:10.1186/s13287-021-02438-y.

[23] ZHAO R S, SONG J, JIN Y Q, *et al*. Long noncoding RNA HOXC-AS3 enhances the progression of cervical cancer *via* activating ErbB signaling pathway[J]. J Mol Histol, 2021, 52(5): 991-1006. DOI:10.1007/s10735-021-10007-z.

[24] ALEGRIA-SCHAFFER A, LODGE A, VATTEM K. Performing and optimizing Western blots with an emphasis on chemiluminescent detection[J]. Methods Enzymol, 2009, 463: 573-599. DOI:10.1016/S0076-6879(09)63033-0.

(收稿:2021-09-13;修回:2021-11-02)

(编辑 汪勤俭)