基础研究 DOI:10.13406/j.cnki.cyxb.001455

# HO-1和HO-2在大鼠慢性脑血流低灌注状态下肝脏中的动态变化及意义

李 丹[1],余天平[2],张 鹏[2],陈 曜[3],李 昱[2]

(1. 重庆医科大学附属永川医院重症医学科,重庆 402160;2. 重庆医科大学基础医学院病理教研室,重庆 400016;3. 重庆医科大学附属第二医院感染科,重庆 400010)

【摘 要】**目的**:观察血红素加氧酶(heme oxyenase,HO)2 种同工酶 HO-1 和 HO-2 在慢性脑血流灌注不足大鼠的肝脏中的动态变化并探讨其意义。**方法**:42 只成年雄性 SD 大鼠,4 月龄,体质量 250~300 g,随机分为模型组和假手术组。假手术组只分离出双侧颈总动脉但不结扎,模型组行永久性双侧颈总动脉结扎术,然后将大鼠分别在术后 1、7、14、21、28 d 处死,分别用逆转录-聚合酶链式反应(reverse transcription-polymerase chain reaction,RT-PCR)和 Western blot 检测 HO-1 和 HO-2 的表达,并检测 HO 的活性变化。**结果**:RT-PCR 和 Western blot 显示,与假手术组比较,HO-1 mRNA 和蛋白水平在术后 1 d 即有增加,并在第 7 天达到高峰($P$=0.000,$P$=0.000);伴随着脑血流供应的代偿性恢复,HO-1 mRNA 和蛋白的表达在术后 14、21、28 d 都逐渐降低,但是和假手术组相比,在术后 14 d 和 21 d 时,差异都有统计学意义($P$=0.000,$P$=0.000)。这样的变化与 HO 的活性变化一致($P$=0.000)。然而 RT-PCR 和 Western blot 发现 HO-2 mRNA 和蛋白水平在慢性脑血流灌注不足的肝脏中没有变化($P$=0.604,$P$=0.329)。**结论**:血红素加氧酶和 HO-1 mRNA 以及蛋白的表达在慢性脑血流灌注不足的肝脏中增加,而 HO-2 mRNA 和蛋白的表达变化无统计学意义。提示 HO-1 通过增加血红素加氧酶活性保护肝脏免收慢性脑血流关注不足引起的损伤。

【关键词】血红素加氧酶-1;血红素加氧酶-2;肝脏;脑血流低灌注

【中图分类号】R743.9 【文献标志码】A 【收稿日期】2017-02-17

# Dynamic expressions of heme oxygenases in the livers of chronic cerebral hypoperfusion rats

*Li Dan[1], Yu Tianping[2], Zhang Peng[2], Chen Yao[3], Li Yu[2]*

*(1. Department of Intensive Care Unit, Yongchuan Hospital of Chongqing Medical University;*

*2. Teaching and Research Section of Pathology, College of Basic Medicine, Chongqing Medical University;*

*3. Department of Infectious Disease, the Second Affiliated Hospital, Chongqing Medical University)*

【Abstract】***Objective***: To observe the dynamic change of heme oxygenase-1(HO-1) and heme oxygenase-2(HO-2) in the livers of the rats with cerebral hypoperfusion, and to explore their significance. ***Methods***: Sixty 4-month-aged male SD rats, weighing 250 to 300 g, were enrolled and divided into model groups and sham group. Model groups were performed by permanent bilateral common carotid arteries occlusion(2 vessel occlusion, 2VO) and randomly divided into 5 groups(1, 7, 14, 21, 28 d after 2VO). The expressions of HO-1 and HO-2 at mRNA and protein levels were detected by RT-PCR and Western blot. HO activities were evaluated by ultraviolet specrophotometer. ***Results***: RT-PCR and Western blot results showed that the expression of HO-1 mRNA and protein were increased in the livers on 1 d after 2VO, and reached a peak on 7 d after 2VO($P$=0.000, $P$=0.000), accompanied by enhancement of HO activity($P$=0.000). Nevertheless, RT-PCR and Western blot showed that the expression of HO-2 didn't change with time gradient ($P$=0.604, $P$=0.329). ***Conclusion***: The activity of heme oxygenase and HO-1 mRNA and protein are increased in the livers of the rats with chronic cerebral hypoperfusion, but the expression of HO-2 at mRNA and protein level is not statistically changed, suggesting that HO-1 may play a protective role against liver injury induced by chronic cerebral hypoperfusion.

【Key words】heme oxygenase-1; heme oxygenase-2; liver; cerebral hypoperfusion

**作者介绍**:李 丹,Email:4255997@qq.com,
研究方向:神经重症的病理生理。

**通信作者**:李 昱,Email:liyu100@sina.com。

**基金项目**:国家自然科学基金资助项目(编号:30973154);重庆市科委基金资助项目(编号:CSTC,2009BB5270);重庆市教委基金资助项目(编号:KJ090301)。

**优先出版**:http://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1046.R.20171130.1014.010.html (2017-11-30)

血红素加氧酶(heme oxygenase,HO)系统能对氧化应激作动态变化,能催化血红素生成一氧化碳、二价铁离子和胆绿素[1-2]。在正常机体中,胆绿素很难积累,并很快由胆绿素还原酶还原成胆红素。这也说明在生理状态下其主要产物是胆红素[3]。同时,二价铁离子也很快被氧化为三价铁离子。另外,作为一种假定的神经递质,CO 被认为是胃肠系统中最好的内源性神经递质[4-5]。血红素加氧酶系统中有 2 种主要的同工酶,HO-1 和 HO-2[6]。HO-1 是一种诱导性酶,能够被多种刺激因子所诱导,尤其是与红细胞损伤有关的刺激因子,例如血红素及其他卟啉类化合物[7]。同时,HO-1 也被认为是一种热休克蛋白,主要存在于脾脏和肝脏中。相反,HO-2 是一种组织性酶,并主要存在于大脑和睾丸中,其在生理状态下主要发挥着血红素加氧酶活性的作用[8]。

许多学者认为 HO-1 在机体中起着抗炎性、抗增殖、抗凋亡、抗氧化的作用[9-11]。Hyun[12]和 Aztatzi-Santillán[13]等证明了 HO-1 在脑缺血中起着保护作用。然而 HO-2 在机体损伤后扮演的角色却不是很清楚。在过去十多年里,有许多学者描述了血红素加氧酶系统在肝脏疾病中的作用[14-16],但是几乎没有研究去探索在慢性脑血流低灌注状态下的肝脏中血红素加氧酶系统同工酶的变化。为此,本研究对慢性脑血流灌注不足是否会引起肝脏中血红素加氧酶同工酶的表达变化以及在术后不同时间点肝脏中 HO-1、HO-2 和血红素加氧酶活性的动态变化进行研究。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

42 只成年雄性 SD 大鼠,4 月龄,体质量 250~300 g。所有实验用动物均得到重庆医科大学动物保护和使用委员会的认可。6-磷酸葡萄糖、还原型辅酶Ⅱ(NADPH)、氯化正铁血红素和 6-磷酸葡萄糖脱氢酶购自美国 Sigma 公司;Brizol 试剂购自 BioFlux,Osaka,Japan;PCR 试剂盒购自 Promega,Madison,WI,USA; 蛋白裂解液和蛋白浓度测定试剂盒购自碧云天生物技术有限公司;兔抗鼠 HO-1 和 HO-2 多克隆抗体购自北京博奥森生物技术有限公司。

### 1.2 方法

1.2.1 动物模型 所有动物被随机分为假手术(Sham)组($n$=7)和模型组,用 3.5%的水合氯醛腹腔注射麻醉大鼠(1 mL/100 g)。假手术组只分离出双侧颈总动脉而不结扎,模型组行双侧颈总动脉永久性结扎术,待动物苏醒后,再将模型组大鼠随机分为 5 组,即术后 1 d 组($n$=7),术后 7 d 组($n$=7),术后 14 d 组($n$=7),术后 21 d 组($n$=7),术后 28 d 组($n$=7)。所有动物在手术前后均给予充足的水和食物,室温为 24~25 ℃,湿度为 40%~70%,12 h 光照,12 h 黑暗。然后将大鼠在不同时间段断头处死。

1.2.2 肝组织中 HO-1 和 HO-2 mRNA 表达变化 在不同时间段处死大鼠后,快速分离大鼠肝脏组织,液氮中保存。用总 RNA 抽提试剂提取总 RNA 后,反转录合成 cDNA 第一链,并以其为模板,分别对 HO-1 和 HO-2 进行 PCR 扩增,beta-actin 为内参照。引物序列为:HO-1 上游,5'-TGGCCCACG CATATACCCGCTA-3';HO-1 下游,5'-TGGGATTTTCCTC-GGGGCGTCT-3';HO-2 上游,5'-TAGCACCTCTGCCTGCC-AGCAT-3';HO-2 下游,5'-ACAAAACCTGGGTGTGGGCAGC-3';β-actin 上游,5'-AAGATCCTGACCGAGCGTGGCT-3';β-actin 下游,5'-ACGCAGCTCAGTAACAGTCCGC-3'。PCR 反应体系为 25 mL(双蒸水 8.5 mL,上、下游引物各 1 mL,Taq Mix12.5,cDNA 2 mL),共 35 个循环(94 ℃、30 s,60 ℃、30 s,72 ℃、45 s),4 ℃保存。2%琼脂糖凝胶电泳检测 PCR 产物 DNA,1 000 bp DNA Ladder 作分子量标准,Bio-rad 凝胶分析系统对 PCR 产物进行定量分析(Bio-Rad,Hercules,CA,USA)。HO-l 和 HO-2 mRNA 表达水平用 HO-1 或者 HO-2 和 β-actin 两电泳带光密度的比值描述。

1.2.3 肝组织中 HO-1 和 HO-2 蛋白表达变化 取出液氮冻存的肝脏组织,碾碎后加入蛋白裂解液,冰上放置 30 min,然后于 4 ℃,12 000 g 离心 10 min,分离上清液。蛋白浓度的测定采用 Bradford 方法。每孔加入 40 μg 蛋白进行 SDS-PAGE 电泳,蛋白电泳转移仪将分离后的蛋白条带转至硝酸纤维膜上,封闭液室温封闭 2 h;按 1:500 分别加入兔抗鼠 HO-1、HO-2 抗体,4 ℃孵育过夜;洗膜;按 1:1 000 加入羊抗兔抗体,室温孵育 2 h;化学发光试剂反应 2 min,发光成像仪取像并测定条带灰度值,以 HO-1 或 HO-2 灰度值与 beta-actin 灰度值的比值表示蛋白表达水平。

1.2.4 肝组织中血红素加氧酶活性检测 参照文献[17]的方法进行。分离肝脏,加 3 倍体积匀浆缓冲液(蔗糖 0.01 mol/L,三羟甲基氨基甲烷盐酸盐 0.01 mol/L,乙二胺四乙酸二钠 0.000 1 mol/L,pH 7.4),4 ℃匀浆;4 ℃超声处理 30 s;4 ℃,12 000 g 离心 10 min;取上清 0.2 mL,加反应混合液 0.8 mL(6-磷酸葡萄糖 2 mmol/L,6-磷酸葡萄糖脱氢酶 3.33 nkat,氯化正铁血红素 20 mmol/L,大鼠肝胞质 2 mg,NADPH 0.8 mmol/L)。酶促反应在加入 NADPH 后开始计时,37 ℃避光反应 1 h,加预冷氯仿 1 mL 终止反应并抽提生成的胆红素。7 500 r/min 离心 20 min,分离有机相。波长 464~530 nm 比色,氯仿调零(胆红素消光系数 40/(mmol·L·cm)。

### 1.3 统计学分析

采用 SPSS 18.0 进行统计学分析,所有数据均以均数±标准差表示,多组间比较采用单因素方差分析,组间两两比较采用 LSD-$t$ 检验,检验水准 $\alpha$=0.05。

## 2 结 果

### 2.1 肝组织中 HO-1 和 HO-2 mRNA 表达变化

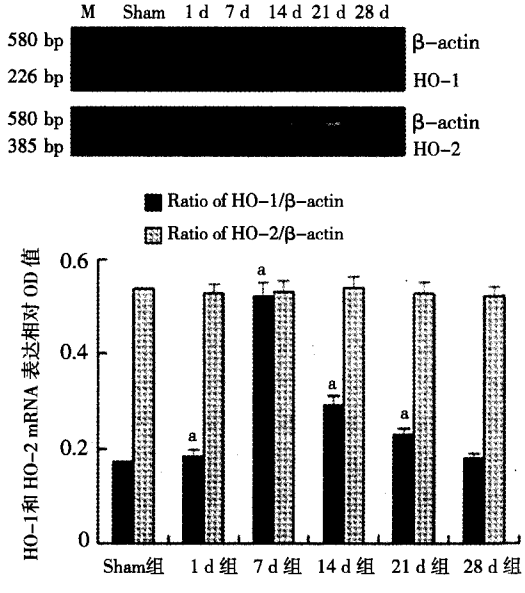
在慢性脑血流灌注不足后，和 Sham 组相比，肝组织中的 HO-1 mRNA 表达在术后不同时间点均有增加，并在第 7 天达到明显增高（$P$=0.000）。伴随着脑血流供应的代偿性恢复，HO-1 mRNA 的表达在术后 14、21、28 d 又逐渐降低，但是和假手术组相比，在术后 14 d 和 21 d 时，HO-1 mRNA 的增加仍有统计学意义（$P$=0.000，$P$=0.000）。然而，肝组织中 HO-2 mRNA 的表达在术后不同时间点变化无统计学意义（$P$=0.604）（表 1 和图 1）。

**表 1 各组 HO-1 和 HO-2 的 mRNA 表达水平（$n$=7）**

Tab.1 Expressions of HO-1 and HO-2 in each group（$n$=7）

| 组别 | HO-1 | HO-2 |
|---|---|---|
| Sham组 | 0.182 ± 0.013 | 0.527 ± 0.004 |
| 1 d 组 | 0.189 ± 0.038[a] | 0.524 ± 0.005[b] |
| 7 d 组 | 0.580 ± 0.035[a] | 0.529 ± 0.002[b] |
| 14 d 组 | 0.300 ± 0.039[a] | 0.531 ± 0.002[b] |
| 21 d 组 | 0.250 ± 0.033[a] | 0.529 ± 0.002[b] |
| 28 d 组 | 0.190 ± 0.040[a] | 0.527 ± 0.004[b] |
| $F$ 值 | 12 018.803 | 0.732 |
| $P$ 值 | 0.000 | 0.604 |

注：1 d，术后 1 d；7 d：术后 7 d；14 d：术后 14 d；21 d：术后 21 d；28 d：术后 28 d；a：与 Sham 组比较，$P$<0.01；b：与 Sham 组比较，$P$>0.05




1 d：术后 1 d；7 d：术后 7 d；14 d：术后 14 d；21 d：术后 21 d；28 d：术后 28 d；a：与 Sham 组相比，$P$ < 0.01

**图 1 肝组织中 HO-1 和 HO-2 mRNA 表达变化**

Fig.1 Expression of HO-1 and HO-2 at mRNA level in the liver tissues of the rats

### 2.2 肝组织中 HO-1 和 HO-2 蛋白表达变化

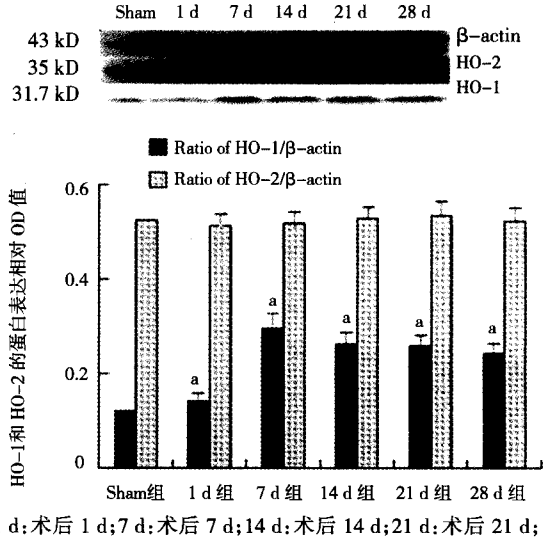
Western blot 检测发现，与 Sham 组相比，脑血流灌注不足的肝脏组织中的 HO-1 蛋白表达增加，并在术后第 7 天达到高峰（$P$=0.000）。同样，在术后 14、21、28 d 时，HO-1 的蛋白表达比术后第 7 天降低，但与 Sham 组相比，还是增加，仍有统计学意义（$P$=0.000，$P$=0.000，$P$=0.000）。相较于 HO-1，与 Sham 组相比，HO-2 的蛋白表达变化在脑血流低灌注状态下无统计学意义（$P$=0.329）（表 2，图 2）。

**表 2 各组 HO-1 和 HO-2 的蛋白表达水平（$n$=7）**

Tab.2 Expressions of HO-1 and HO-2 in each group（$n$=7）

| 组别 | HO-1 | HO-2 |
|---|---|---|
| Sham组 | 0.110 ± 0.003 | 0.520 ± 0.031 |
| 1 d 组 | 0.130 ± 0.003[a] | 0.519 ± 0.022[b] |
| 7 d 组 | 0.310 ± 0.003[a] | 0.518 ± 0.013[b] |
| 14 d 组 | 0.280 ± 0.004[a] | 0.519 ± 0.021[b] |
| 21 d 组 | 0.275 ± 0.004[a] | 0.520 ± 0.017[b] |
| 28 d 组 | 0.270 ± 0.004[a] | 0.520 ± 0.016[b] |
| $F$ 值 | 4 098.536 | 1.199 |
| $P$ 值 | 0.000 | 0.329 |

注：1 d，术后 1 d；7 d：术后 7 d；14 d：术后 14 d；21 d：术后 21 d；28 d：术后 28 d；a：与 Sham 组比较，$P$<0.01；b：与 Sham 组比较，$P$>0.05




1 d：术后 1 d；7 d：术后 7 d；14 d：术后 14 d；21 d：术后 21 d；28 d：术后 28 d；a：与 Sham 组相比，$P$ < 0.01

**图 2 肝组织中 HO-1 和 HO-2 蛋白表达变化**

Fig.2 Expression of HO-1 and HO-2 at protein level in the liver tissues of the rats

### 2.3 肝组织中血红素加氧酶活性检测

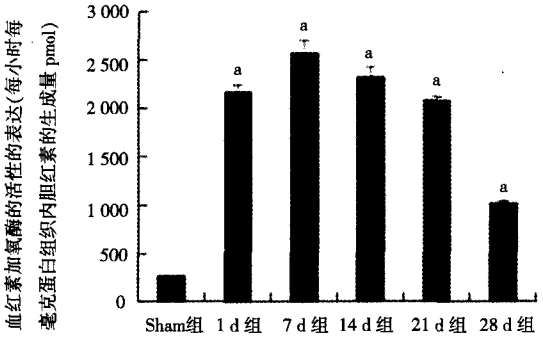
当肝组织处于脑血流低灌注状态下，血红素加氧酶活性呈时间依赖增加。和 Sham 组相比，血红素加氧酶的活性在术后 1 d 增加即有统计学意义（$P$=0.000），并持续到术后第 7 天（$P$=0.000）。然后在术后 14、21、28 d 逐渐降低（$P$=0.000，$P$=0.000，$P$=0.000）。血红素加氧酶活性的这种变化趋势与 HO-1 mRNA 和蛋白表达变化是一致的（表 3，图 3）。

表 3 各组血红素加氧酶活性检测($n$=7)

Tab.3 Activity of HO in the liver tissues of the rats in each group($n$=7)

| 组别 | HO活性 |
|---|---|
| Sham组 | 273.714 ± 1.799 |
| 1 d 组 | 2 212.714 ± 2.563[a] |
| 7 d 组 | 2 584.857 ± 2.410[a] |
| 14 d 组 | 2 355.143 ± 2.795[a] |
| 21 d 组 | 2 111.571 ± 2.878[a] |
| 28 d 组 | 991.714 ± 1.976[a] |
| $F$值 | 981 588.722 |
| $P$值 | 0.000 |

注：1 d，术后 1 d；7 d：术后 7 d；14 d：术后 14 d；21 d：术后 21 d；28 d：术后 28 d；a：与 Sham 组比较，$P$<0.01




a：与 Sham 组相比，$P$<0.05

图 3 肝组织中血红素加氧酶活性的表达

Fig.3 Activity of HO in the liver tissues of the rats

## 3 讨 论

作为血红素加氧酶系统中的 2 种主要的同工酶，HO-1 和 HO-2 在哺乳动物体内扮演着重要的角色。两者均能催化血红素生成一氧化碳、二价铁离子和胆绿素。HO-1 也被认为是一种热休克蛋白，能被多种刺激因子所诱导，包括缺血、低氧和其他有害因子[18-21]。Motterlini 等[22]发现 HO-1 能够被低氧所诱导表达，其 HO-1 mRNA 在严重的低氧环境中的不同时间段表达均增加，并伴随着血红素加氧酶活性的提高。另一些研究者发现，HO-1 的过表达能够保护肝脏免受缺血再灌注损伤，其保护机制是通过调节氧化应激因子和炎症因子的变化，如 TNF-α、iNOS、COX-2[23]。本研究也发现慢性脑血流灌注不足的肝脏组织中 HO-1 mRNA 和蛋白的表达是增加的，这些数据可能说明了 HO-1 在肝脏组织的损伤中起着保护作用。有趣的是，也有学者发现在大鼠和小鼠中肝脏的缺血再灌注损伤会诱导肾脏组织中 HO-1 的表达增加，其诱导表达的机制可能是通过 Nrf2 这条通路[24]。本研究证实大脑的慢性脑血流低灌注会引起肝脏组织 HO-1 mRNA 和蛋白表达的增加，说明在机体内，一种器官的损伤会引起远距离的另一器官的损害，表现为分子水平的变化。

相反，HO-2 是一种组织型酶，很难被诱导，主要在正常机体内发挥着降解血红素的作用。然而，Han 等[25]发现 HO-2 在心内膜处于缺氧状态下会表达增加。同时，有学者发现 HO-2 的减少会引起内皮细胞的激活[26]，增加脑水肿和炎症反应[27]，以及改变线粒体信号通路[28]等。Turkseven 等[28]发现血红素加氧酶活性在应用 HO-2 siRNA 后降低，在注射 CoPP 后活性增加。而另一些学者如 Bains 等[29]又发现在低氧状态下血红素加氧酶活性与 HO-1 的表达均增强。Chen 和 Regan[30]证实了在颅内出血的模型中血红素加氧酶活性在第 5 天达高峰，在第 8 天降至基线，其表达趋势与 HO-1 的表达一致。在本实验中，HO-2 mRNA 和蛋白的表达在慢性脑血流灌注不足的肝脏中变化无统计学意义，而血红素加氧酶活性在术后 7 d 增至最高，其变化趋势与 HO-1 mRNA和蛋白的表达一致。

本研究表明：血红素加氧酶活性和 HO-1 mRNA 和蛋白的表达均在慢性脑血流灌注不足的肝脏中增加，而 HO-2 mRNA 和蛋白的表达变化无统计学意义。这可能说明了 HO-1 通过增加血红素加氧酶活性能够保护肝脏免受慢性脑血流灌注不足的损伤。或许 HO-1 可以作为脑损伤引起的肝功能障碍的治疗靶点，但其具体机制还有待进一步研究。

## 参 考 文 献

[1] Schipper HM, Song W, Zukor H, et al. Heme oxygenase-1 and neurodegeneration: expanding frontiers of engagement[J]. J Neurochem, 2009, 110(2): 469-485.

[2] Unno M, Matsui T, Ikeda-Saito M. Structure and catalytic mechanism of heme oxygenase[J]. Nat Prod Rep, 2007, 24(3): 553-570.

[3] Dore S, Takahashi M, Ferris CD, et al. Bilirubin, formed by activation of heme oxygenase-2, protects neurons against oxidative stress injury[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1999, 96(5): 2445-2450.

[4] Farrugia G, Lei S, Lin X, et al. A major role for carbon monoxide as an endogenous hyperpolarizing factor in the gastrointestinal tract[J].

Proc Natl Acad Sci USA,2003,100(14):8567-8570.

[5] Verma A,Hirsch DJ,Glatt CE,et al. Carbon monoxide:a putative neural messenger[J]. Science,1993,259(5093):381-384.

[6] Maines MD. The heme oxygenase system: update 2005[J]. Antioxid Redox Signal,2005,7(11-12):1761-1766.

[7] Ferrandiz ML,Devesa I. Inducers of heme oxygenase-1[J]. Curr Pharm Des,2008,14(5):473-486.

[8] Yi L,Ragsdale SW. Evidence that the heme regulatory motifs in heme oxygenase-2 serve as a thiol/disulfide redox switch regulating heme binding[J]. J Biol Chem,2007,282(29):21056-21067.

[9] Chung HT,Pae HO,Cha YN. Role of heme oxygenase-1 in vascular disease[J]. Curr Pharm Des,2008,14(5):422-428.

[10] Blancou P,Tardif V,Simon T,et al. Immunoregulatory properties of heme oxygenase-1[J]. Methods in molecular biology,2011,677:247-268.

[11] Abdureyim S,Amat N,Umar A,et al. Anti-inflammatory,immunomodulatory,and heme oxygenase-1 inhibitory activities of ravan napas,a formulation of uighur traditional medicine,in a rat model of allergic asthma[J]. Evid Based Complement Alternat Med,2011,2011:pii725926.

[12] Hyun H,Lee J,Hwang DW,et al. Combinational therapy of ischemic brain stroke by delivery of heme oxygenase-1 gene and dexamethasone[J]. Biomaterials,2011,32(1):306-315.

[13] Aztatzi-Santillán E,Nares-López FE,Márquez-Valadez B,et al. The protective role of heme oxygenase-1 in cerebral ischemia[J]. Cent Nerv Syst Agents Med Chem,2010,10(4):310-316.

[14] Zeng Z,Huang HF,Chen MQ,et al. Heme oxygenase-1 protects donor livers from ischemia/reperfusion injury:the role of Kupffer cells [J]. World J Gastroenterol,2010,16(10):1285-1292.

[15] Kathirvel E,Chen P,Morgan K,et al. Oxidative stress and regulation of anti-oxidant enzymes in cytochrome P4502E1 transgenic mouse model of non-alcoholic fatty liver[J]. J Gastroenterol Hepatol,2010,25(6):1136-1143.

[16] Protzer U,Seyfried S,Quasdorff M,et al. Antiviral activity and hepatoprotection by heme oxygenase-1 in hepatitis B virus infection[J]. Gastroenterology,2007,133(4):1156-1165.

[17] Di Noia MA,Van Driesche S,Palmieri F,et al. Heme oxygenase-1 enhances renal mitochondrial transport carriers and cytochrome C oxidase activity in experimental diabetes[J]. J Biol Chem,2006,281(23):15687-15693.

[18] Zeynalov E,Shah ZA,Li RC,et al. Heme oxygenase 1 is associated with ischemic preconditioning-induced protection against brain ischemia[J]. Neurobiol Dis,2009,35(2):264-269.

[19] Vallabhaneni R,Kaczorowski DJ,Yaakovian MD,et al. Heme oxygenase 1 protects against hepatic hypoxia and injury from hemorrhage via regulation of cellular respiration[J]. Shock,2010,33(3):274-281.

[20] Takahashi K,Hara E,Suzuki H,et al. Expression of heme oxygenase isozyme mRNAs in the human brain and induction of heme oxygenase-1 by nitric oxide donors[J]. J Neurochem,1996,67(2):482-489.

[21] Yang ZX,Qin J,Du JB,et al. Febrile seizure,but not hyperthermia alone,induces the expression of heme oxygenase-1 in rat cortex[J]. Chin Med J (Engl),2006,119(3):191-196.

[22] Motterlini R,Foresti R,Bassi R,et al. Endothelial heme oxygenase-1 induction by hypoxia. Modulation by inducible nitric-oxide synthase and S-nitrosothiols[J]. J Biol Chem,2000,275(18):13613-13620.

[23] Yun N,Eum HA,Lee SM. Protective role of heme oxygenase-1 against liver damage caused by hepatic ischemia and reperfusion in rats [J]. Antioxid Redox Signal,2010,13(10):1503-1512.

[24] Tanaka Y,Maher JM,Chen C,et al. Hepatic ischemia-reperfusion induces renal heme oxygenase-1 via NF-E2-related factor 2 in rats and mice[J]. Mol Pharmacol,2007,71(3):817-825.

[25] Han F,Takeda K,Ono M,et al. Hypoxemia induces expression of heme oxygenase-1 and heme oxygenase-2 proteins in the mouse myocardium[J]. J Biochem,2010,147(1):143-151.

[26] Bellner L,Martinelli L,Halilovic A,et al. Heme oxygenase-2 deletion causes endothelial cell activation marked by oxidative stress,inflammation,and angiogenesis[J]. J Pharmacol Exp Ther,2009,331(3):925-932.

[27] Wang J,Dore S. Heme oxygenase 2 deficiency increases brain swelling and inflammation after intracerebral hemorrhage[J]. Neuroscience,2008,155(4):1133-1141.

[28] Turkseven S,Drummond G,Rezzani R,et al. Impact of silencing HO-2 on EC-SOD and the mitochondrial signaling pathway[J]. J Cell Biochem,2007,100(4):815-823.

[29] Bains SK,Foresti R,Howard J,et al. Human sickle cell blood modulates endothelial heme oxygenase activity:effects on vascular adhesion and reactivity[J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol,2010,30(2):305-312.

[30] Chen M,Regan RF. Time course of increased heournal me oxygenase activity and expression after experimental intracerebral hemorrhage:correlation with oxidative injury[J]. J Neurochem,2007,103(5):2015-2021.

（责任编辑：冉明会）