

临床与基础
桥接研究Clinical and Basic
Bridging Research儿茶素介导肠道 HIF2 α 铁代谢途径对高原红细胞增多症小鼠作用的研究Research of catechin – mediated intestinal HIF2 α iron metabolism pathway in plateau polycythemia mice刘 芳, 张 茜, 赵梦瑶,
罗世凯, 邵 勇(青海大学 医学院 生物化学教研室, 青海 西宁
810000)LIU Fang, ZHANG Qian,
ZHAO Meng – yao, LUO Shi – kai,
SHAO Yong(Department of Biochemistry, Medical
College of Qinghai University, Xining
810000, Qinghai Province, China)基金项目: 青海省科技厅基础 Research 计划应用基
础研究基金资助项目 (2022 – ZJ –
720)作者简介: 刘芳 (1972 –), 女, 博士, 教授, 主要
从事高原红细胞增多症的发病机制
相关研究

通信作者: 刘芳

MP: 13997237213

E – mail: Fang894532@163.com

摘要:目的 探究儿茶素 (CAT) 通过介导肠道缺氧诱导因子 – 2 α (HIF2 α) 铁代谢途径对高原红细胞增多症模型小鼠的作用机制。**方法** SPF 级 Balb/c 雄性小鼠随机分为对照组 (饲养于正常大气压环境; 中国青海省东北部, 海拔 2 260 m, 北纬 36°73', 东经 101°75', 不做任何处理)、模型组 (饲养于高原低氧环境; 中国青海省西南部某地, 海拔 4 208 m, 北纬 32°90', 东经 95°25', 不做任何处理)、实验组 (基于模型组, 于第 29 至第 35 d 每天 1 次灌胃 100 mg · kg⁻¹ CAT) 和 oe – HIF2 α 组 (基于实验组, 于第 34 至 35 d, 每天尾静脉注射慢病毒包被的 oe – HIF2 α 质粒)。用实时荧光定量聚合酶链式反应检测肠组织 HIF2 α mRNA 相对表达水平; 用蛋白质印迹法检测肠组织中 HIF2 α 、B 细胞淋巴瘤 – 2 (Bcl – 2)、Bcl – 2 相关 X 蛋白 (Bax)、剪切型半胱氨酸 – 天冬氨酸蛋白酶 3 (Cleaved – Caspase3)、铁转运蛋白 (FPN)、转铁蛋白受体 (TFRC)、骨髓红细胞中 GATA 结合因子 1 (GATA – 1) 和促红细胞生成素受体 (EpoR) 蛋白相对表达水平; 用全自动血液分析仪检测外周血中血红蛋白、红细胞计数和红细胞压积水平; 用分光光度法检测肠组织超氧化物歧化酶 (SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH – Px) 的活力及丙二醛 (MDA) 含量; 用免疫荧光染色实验检测肠组织中铁蛋白 (Ferritin) 的阳性表达。**结果** 对照组、模型组和实验组的 HIF2 α mRNA 相对表达水平分别为 1.00 ± 0.18、1.61 ± 0.16 和 1.21 ± 0.13; 对照组、模型组、实验组和 oe – HIF2 α 组的血红蛋白水平分别为 (132.91 ± 11.44)、(221.37 ± 26.92)、(178.65 ± 19.32) 和 (206.33 ± 21.37) g · L⁻¹, 红细胞计数水平分别为 (4.79 ± 0.75)、(9.26 ± 1.11)、(6.08 ± 1.03) 和 (7.74 ± 0.96) × 10¹² · L⁻¹, 红细胞压积水平分别为 (44.17 ± 4.06)%、(63.58 ± 6.38)%、(51.79 ± 4.45)% 和 (58.24 ± 5.07)%, GATA – 1 蛋白相对表达水平分别为 1.00 ± 0.17、2.03 ± 0.33、1.52 ± 0.19 和 1.80 ± 0.23, EpoR 相对表达水平分别为 1.00 ± 0.11、1.83 ± 0.31、1.29 ± 0.20 和 1.62 ± 0.24, Ferritin 相对荧光强度分别为 1.00 ± 0.12、7.86 ± 0.97、2.97 ± 0.49 和 4.75 ± 0.51, FPN 蛋白相对表达水平分别为 1.00 ± 0.14、1.69 ± 0.25、1.31 ± 0.18 和 1.52 ± 0.19, TFRC 蛋白相对表达水平分别为 1.00 ± 0.10、2.18 ± 0.23、1.67 ± 0.15 和 1.86 ± 0.15。模型组上述指标与对照组相比, 实验组与模型组相比, oe – HIF2 α 组与实验组相比, 在统计学上差异均有统计学意义 (均 $P < 0.05$)。**结论** CAT 可以通过介导肠道 HIF2 α 表达, 抑制高原红细胞增多症小鼠肠道中细胞凋亡、氧化应激和铁代谢亢进, 对高原红细胞增多症发挥防治作用。

关键词: 儿茶素; 高原红细胞增多症; 缺氧诱导因子 – 2 α ; 氧化应激; 细胞凋亡; 铁代谢

DOI: 10.13699/j.cnki.1001 – 6821.2026.11.010

中图分类号: R551.3

文献标志码: A

文章编号: 1001 – 6821 (2026) 11 – 1560 – 07

Abstract: Objective To explore the mechanism of action of catechin

(CAT) on mice with a model of high altitude polycythemia through mediating the intestinal hypoxia – inducible factor – 2α (HIF 2α) iron metabolism pathway. **Methods** SPF – grade male Balb/c mice were randomly divided into control group (reared in a normal atmospheric pressure environment; northeastern Qinghai province, China, at an altitude of 2 260 m, 36°73′ north latitude, 101°75′ east longitude, without any treatment), model group (reared in a high – altitude hypoxic environment; a certain place in southwestern Qinghai province, China, at an altitude of 4 208 m, 32°90′ north latitude, 95°25′ east longitude, without any treatment), the experimental group (based on model group, intragastrically administered with 100 mg · kg⁻¹ CAT once a day from the 29th to the 35th day) and the oe – HIF 2α group (based on experimental group, intravenously injected with lentivirus – coated oe – HIF 2α plasmids by the tail vein once a day from the 34th to the 35th day). Real – time fluorescence quantitative polymerase chain reaction was used to detect the relative expression level of HIF 2α mRNA in intestinal tissues; Western blot assay was used to detect the relative expression levels of HIF 2α , B – cell lymphoma – 2 (Bcl – 2), Bcl – 2 associated X protein (Bax), cleaved – cysteine – aspartic acid protease 3 (Cleaved – Caspase3), ferroportin (FPN), transferrin receptor (TFRC) in intestinal tissues, as well as the relative expression levels of GATA binding factor 1 (GATA – 1) and erythropoietin receptor (EpoR) in bone marrow red blood cells; automatic hematology analyzer was used to detect the levels of hemoglobin, red blood cell count and hematocrit in peripheral blood; the spectrophotometric method was used to detect the activities of superoxide dismutase (SOD), glutathione peroxidase (GSH – Px) and content of malondialdehyde (MDA) in intestinal tissues; the immunofluorescence staining assay was used to detect the positive expression of ferritin (Ferritin) in intestinal tissues. **Results** The relative expression levels of HIF 2α mRNA in control group, model group and experimental group were 1.00 ± 0.18 , 1.61 ± 0.16 and 1.21 ± 0.13 , respectively; the hemoglobin levels in control group, model group, experimental group and oe – HIF 2α group were (132.91 ± 11.44), (221.37 ± 26.92), (178.65 ± 19.32) and (206.33 ± 21.37) g · L⁻¹, respectively; the red blood cell count levels were (4.79 ± 0.75), (9.26 ± 1.11), (6.08 ± 1.03) and (7.74 ± 0.96) × 10¹² · L⁻¹, respectively; the hematocrit levels were (44.17 ± 4.06)%, (63.58 ± 6.38)%, (51.79 ± 4.45)% and (58.24 ± 5.07)%, respectively; the relative expression levels of GATA – 1 protein were 1.00 ± 0.17 , 2.03 ± 0.33 , 1.52 ± 0.19 and 1.80 ± 0.23 , respectively; the relative expression levels of EpoR were 1.00 ± 0.11 , 1.83 ± 0.31 , 1.29 ± 0.20 and 1.62 ± 0.24 , respectively; the relative fluorescence intensities of Ferritin were 1.00 ± 0.12 , 7.86 ± 0.97 , 2.97 ± 0.49 and 4.75 ± 0.51 , respectively; the relative expression levels of FPN protein were 1.00 ± 0.14 , 1.69 ± 0.25 , 1.31 ± 0.18 and 1.52 ± 0.19 , respectively; the relative expression levels of TFRC protein were 1.00 ± 0.10 , 2.18 ± 0.23 , 1.67 ± 0.15 and 1.86 ± 0.15 , respectively. There were statistically significant differences in the above – mentioned indicators between model group and control group, between experimental group and model group, and between oe – HIF 2α group and experimental group (all $P < 0.05$). **Conclusion** CAT can inhibit cell apoptosis, oxidative stress and excessive iron metabolism in the intestines of mice with high altitude polycythemia by mediating the expression of intestinal HIF 2α , and play a role in the prevention and treatment of high altitude polycythemia.

Key words: catechin; high altitude polycythemia; hypoxia – inducible factor – 2α ; oxidative stress; cell apoptosis; iron metabolism

高原红细胞增多症 (high altitude polycythemia, HAPE) 是发生于青藏高原常住人群中的一种慢性高原病, 以红细胞代偿性过度增殖和严重低氧血症为核心特征, 发病率高达 5% ~ 18%^[1]。传统研究多聚焦于提高由急性高原缺氧引起的心、脑、肺等终末器官损伤的保护作用^[2]。肠道作为铁吸收的关键器官, 其局部缺氧诱导因子 – 2α (hypoxia – inducible factor – 2α , HIF 2α) 介导的铁代谢失衡可

能通过增加血红蛋白合成进一步加剧红细胞过度增生^[3]。课题组前期研究发现, 高原低氧可激活肠道 HIF 2α 信号并上调铁代谢相关蛋白表达。沙棘是药食两用资源, 儿茶素 (catechin, CAT) 作为其中主要的黄酮成分, 已被证实可通过抑制氧化应激和炎症反应对心、脑、肺组织缺氧损伤发挥保护作用^[4], 但其在高原红细胞增多症肠道中的作用仍需进一步研究。本研究旨在探讨 CAT 通过靶向肠道

HIF2 α 铁代谢途径,对高原低氧暴露的红细胞增多症小鼠的作用及机制。

材料与方法

1 材料

实验动物 SPF级 Balb/c 雄性小鼠 40 只, 6~8 周龄,体质量 20~25 g,购自北京华阜康生物科技股份有限公司,动物生产许可证号:SCXK(京)2019-0008,动物使用许可证号:SYXK(京)2019-0022。本实验经青海大学医学院医学科学研究伦理委员会审批(伦理批号:SL202102-10)。

药品与试剂 CAT,规格:每瓶 20 mg,纯度: $\geq 98\%$,批号:S01HB191501,上海源叶生物科技有限公司生产;兔源 HIF2 α 、B 细胞淋巴瘤-2(B-cell lymphoma-2, Bcl-2)、Bcl-2 相关 X 蛋白(Bcl-2-associated X protein, Bax)、剪切型半胱氨酸-天冬氨酸蛋白酶 3(cleaved-cysteine-aspartic acid protease 3, Cleaved-Caspase3)、GATA 结合因子 1(GATA-binding factor 1, GATA-1)和转铁蛋白受体(transferrin receptor, TFRC)抗体,均由美国 CST 公司生产;兔源铁转运蛋白(ferroportin, FPN)、促红细胞生成素受体(erythropoietin receptor, EpoR)抗体及山羊抗兔二抗,均由湖北武汉三鹰生物技术有限公司生产;兔源铁蛋白(Ferritin)抗体,英国 Abcam 公司生产;超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)测定试剂盒,北京索莱宝科技有限公司生产;丙二醛(malondialdehyde, MDA)试剂盒,上海恒远生物科技有限公司生产;谷胱甘肽过氧化物酶(glutathione peroxidase, GSH-Px)测定试剂盒,江苏南京建成生物工程研究所生产。

仪器 Light Cycler 96 实时荧光定量聚合酶链式反应(quantitative real-time polymerase chain reaction, qRT-PCR)仪,瑞士 Hoffmann-La Roche 公司产品;SYSMEX XT-2000i 全自动血液分析仪,日本希森美康公司产品;Cary 60 紫外可见分光光度计,美国安捷伦科技(中国)有限公司产品;BX51 荧光显微镜,日本奥林巴斯株式会社产品。

2 实验方法

2.1 模型构建^[5]

小鼠在正常大气压和氧气环境下(中国青海省东北部,海拔 2 260 m,北纬 36°73',东经 101°75')适应性喂养 1 周后,将小鼠饲养于高原低氧环境(中国青海省西南部某地,海拔 4 208 m,北纬 32°90',东经

95°25')35 d,进行模型构建。

2.2 动物分组与处理方法

将小鼠随机分为 4 组:对照组、模型组、实验组和 oe-HIF2 α 组,每组 10 只。对照组小鼠饲养于正常大气压环境 35 d,不做任何处理。模型组小鼠饲养于高原低氧环境,不做任何处理。实验组小鼠在模型组的基础上,于第 29 至第 35 d 每天 1 次灌胃 100 mg·kg⁻¹ CAT。oe-HIF2 α 组小鼠在实验组的基础上,于第 34 至 35 d,每天通过尾静脉注射慢病毒包被的 oe-HIF2 α 质粒(1×10^9 TU·mL⁻¹)。

2.3 生长性能测定

统计各组小鼠的体质量及采食量。

2.4 qRT-PCR 实验法检测小鼠肠组织中 HIF2 α mRNA 相对表达水平^[6]

取各组小鼠适量回肠组织,在研钵中使用液氮冷冻研磨成粉,取粉末 0.1 g,用 TRIzol 试剂提取总 RNA,用分光光度计分析其浓度,随后反转成 cDNA,进行 qRT-PCR 实验,以甘油醛-3-磷酸脱氢酶(glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, GAPDH)为管家基因,用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算 HIF-2 α mRNA 的相对表达水平。引物序列如下,HIF-2 α 上游引物:5'-GGACAGCAAGACTTTCCTGAGC-3',下游引物:5'-GGTAGAACTCATAGGCAGAGCG-3';GAPDH 上游引物:5'-AGGTCGGTGTGAACGGATTTC-3',下游引物:5'-GGGGTCGTTGATGGCAACA-3'。

2.5 蛋白质印迹法检测相关蛋白相对表达水平^[7]

腹腔注射 100 mg·kg⁻¹ 氨基甲酸乙酯麻醉小鼠,采血后放血处死,解剖取出完整的股骨、胫骨及回肠组织。用 0.01 mol·L⁻¹ 1×磷酸盐缓冲液冲洗小鼠双后肢股骨和胫骨中的骨髓液,200 目滤网过滤后,选择密度梯度离心法分离出红细胞备用。提取小鼠回肠组织及骨髓红细胞总蛋白,用二喹啉甲酸试剂盒测定蛋白浓度。取样品 30 μ g 经电泳、转膜、封闭后,加入一抗(1:1 000)于 4℃ 孵育过夜。洗膜后,加入辣根过氧化物酶标记的山羊抗兔二抗(1:5 000)室温孵育 1 h,洗膜后加入增强化学发光试剂显影,用 Image J 软件分析条带灰度值。分别检测回肠组织中 HIF2 α 、Bcl-2、Bax、Cleaved-Caspase3、FPN 和 TFRC 及骨髓红细胞中 GATA-1 和 EpoR 蛋白相对表达水平。

2.6 全自动血液分析仪测定各组小鼠外周血中血液学指标^[7]

各组小鼠通过眼眶静脉丛采血 1.0 mL,将采集到的血液放入全自动血液分析仪样品架中对外周血中

的血红蛋白、红细胞计数和红细胞压积水平进行检测。

2.7 分光光度法检测各组小鼠肠组织氧化应激相关指标

取各组小鼠回肠组织,严格按照试剂盒说明书步骤对组织样本进行处理,用分光光度计检测肠组织中 SOD、GSH - Px 酶活及 MDA 含量。

2.8 免疫荧光染色实验法检测小鼠肠组织中 Ferritin 阳性表达^[8]

将各组小鼠回肠组织于 4% 多聚甲醛固定后,常规石蜡包埋切片,石蜡切片置于 60 °C 烤片台上烤片 5 h,梯度脱蜡至水,常规热修复后,置于内源性过氧化物酶封闭液中避光孵育 15 min,洗去封闭液,置于含 0.05% 体积分数吐温 20 的磷酸盐缓冲液中浸泡 3 min,清洗后,滴加 Ferritin (1:100) 4 °C 孵育过夜,用 CoraLite® Plus 750 标记山羊抗兔二抗 (1:1 000) 室温孵育 50 min,用 4',6-二脒基-2-苯基吲哚 (4',6-dibenzylidene-2-phenylindole, DAPI) 复染细胞核,抗荧光淬灭剂封片,用荧光显微镜观察拍照。

3 统计学处理

用 SPSS 26.0 软件进行统计分析。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较用单因素方差分析 (One - way ANOVA),两两比较用 LSD - *t* 检验。

结 果

1 CAT 对各组小鼠体质量及摄食量水平的影响

与对照组相比,模型组小鼠的体质量及摄食量均显著降低 (均 $P < 0.001$)。与模型组相比,实验组小鼠的体质量及摄食量均显著升高 ($P < 0.01$, $P < 0.001$),见表 1。

2 CAT 对各组小鼠肠组织 HIF2 α 水平的影响

通过 qRT - PCR 法和蛋白质印迹法检测各组小鼠肠组织中 HIF2 α mRNA 和蛋白相对表达水平,对照组、模型组和实验组小鼠肠组织中的 HIF2 α mRNA 相对表达水平分别为 1.00 ± 0.18 、 1.61 ± 0.16 和 1.21 ± 0.13 ; HIF2 α 蛋白相对表达水平分别为 1.00 ± 0.11 、 1.85 ± 0.23 和 1.34 ± 0.15 ,模型组的上述指标均显著高于对照组 (均 $P < 0.001$),实验组的上述指标均显著低于模型组 (均 $P < 0.001$)。

3 CAT 通过 HIF2 α 对各组小鼠血液学指标及红细胞增殖水平的影响

与对照组相比,模型组小鼠外周血中血红蛋白、

红细胞计数和红细胞压积水平均显著升高 (均 $P < 0.001$);与模型组相比,实验组小鼠外周血中血红蛋白、红细胞计数和红细胞压积水平均显著降低 (均 $P < 0.001$);与实验组相比,oe - HIF2 α 组小鼠外周血中血红蛋白、红细胞计数和红细胞压积水平均显著升高 (均 $P < 0.01$),见表 2。

蛋白质印迹法显示:与对照组相比,模型组小鼠骨髓中的 GATA - 1 和 EpoR 蛋白相对表达水平均显著升高 (均 $P < 0.001$);与模型组相比,实验组小鼠骨髓中的 GATA - 1 和 EpoR 蛋白相对表达水平均显著降低 (均 $P < 0.001$);与实验组相比,oe - HIF2 α 组小鼠骨髓中的 GATA - 1 和 EpoR 蛋白相对表达水平均显著升高 (均 $P < 0.01$),见图 1 和表 2。

4 CAT 通过 HIF2 α 影响各组小鼠肠组织氧化应激

分光光度法显示:与对照组相比,模型组小鼠肠组织中 SOD 和 GSH - Px 酶活均显著降低 (均 $P < 0.001$),MDA 水平显著升高 ($P < 0.001$);与模型组相比,实验组小鼠肠组织中 SOD 和 GSH - Px 酶活均显著升高 ($P < 0.05$, $P < 0.001$),MDA 水平显著降低 ($P < 0.001$);与实验组相比,oe - HIF2 α 组小鼠肠组织中 SOD 和 GSH - Px 酶活均显著降低 (均 $P < 0.05$),MDA 水平显著升高 ($P < 0.01$),见表 3。

5 CAT 通过 HIF2 α 影响各组小鼠肠组织细胞凋亡

蛋白质印迹法显示:与对照组相比,模型组小鼠肠组织中的 Bcl - 2 蛋白相对表达水平显著降

表 1 各组小鼠的体质量及摄食量水平的比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Comparison of weight and food intake levels of mice in each group ($\bar{x} \pm s$)

Group	<i>n</i>	Weight (g)	Food intake (g · d ⁻¹)
Control	10	23.65 ± 2.23	5.64 ± 0.80
Model	10	18.13 ± 1.41 ***	3.17 ± 0.42 ***
Experimental	10	21.42 ± 1.63 $\Delta\Delta\Delta$	4.21 ± 0.73 $\Delta\Delta$

Control group: Raised in a normal atmospheric pressure environment (northeastern Qinghai province, China, altitude 2 260 m, 36°73' north latitude, 101°75' east longitude) without any treatment; Model group: Raised in a high - altitude hypoxic environment (a location in southwestern Qinghai province, China, altitude 4 208 m, 32°90' north latitude, 95°25' east longitude) without any treatment; Experimental group: Based on model group, intragastrically administered experimental once daily from day 29 to day 35; oe - HIF2 α group: Based on experimental group, intravenously injected with lentivirus - encapsulated oe - HIF2 α plasmid by the tail vein once daily from day 34 to day 35; Compared with control group, *** $P < 0.001$; Compared with model group, $\Delta\Delta P < 0.01$, $\Delta\Delta\Delta P < 0.001$.

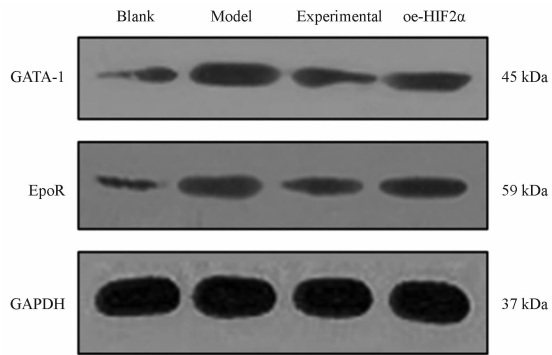


图1 用蛋白质印迹法检测各组小鼠骨髓中GATA结合因子1 (GATA-1)和促红细胞生成素受体(EpoR)蛋白相对表达水平

Figure 1 The relative expression levels of GATA-binding factor 1 (GATA-1) and erythropoietin receptor (EpoR) protein in the bone marrow of mice in each group detected by Western blot
GAPDH: Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase.

低(均 $P < 0.001$), Bax和Cleaved-Caspase3蛋白相对表达水平均显著升高(均 $P < 0.001$);与模型组相比,实验组小鼠肠组织中的Bcl-2蛋白相对表达水平显著升高(均 $P < 0.001$), Bax和Cleaved-Caspase3蛋白相对表达水平均显著降低(均 $P < 0.001$);与实验组相比,oe-HIF2 α 组小鼠肠组织中的Bcl-2蛋白相对表达水平显著降

低(均 $P < 0.001$), Bax和Cleaved-Caspase3蛋白相对表达水平均显著升高(均 $P < 0.001$),图2和表4。

6 CAT通过HIF2 α 影响各组小鼠肠组织铁代谢

免疫荧光染色实验显示:对照组、模型组、试验组和oe-HIF2 α 组小鼠肠组织中的Ferritin蛋白荧光强度分别为 1.00 ± 0.12 、 7.86 ± 0.97 、 2.97 ± 0.49 和

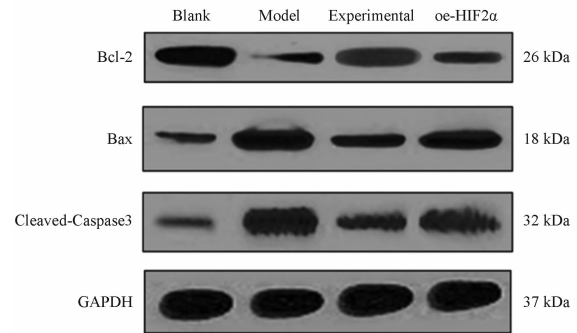


图2 蛋白质印迹法检测各组小鼠肠组织中凋亡相关蛋白相对表达水平

Figure 2 The relative expression levels of apoptosis-related proteins in the intestinal tissues of mice in each group detected by Western blot

Bcl-2: B-cell lymphoma-2; Bax: Bcl-2-associated X protein; Cleaved-Caspase3: Cleaved-cysteine-aspartic acid protease 3.

表2 各组小鼠血液学指标水平与骨髓中GATA-1和EpoR蛋白相对表达水平的比较($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Comparison of hematological parameters and relative expression levels of GATA-1 and EpoR protein in the bone marrow among different mouse groups ($\bar{x} \pm s$)

Group	<i>n</i>	Haemoglobin ($\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$)	Red blood cell count ($\times 10^{12} \cdot \text{L}^{-1}$)	Hematocrit (%)	GATA-1	EpoR
Control	10	132.91 ± 11.44	4.79 ± 0.75	44.17 ± 4.06	1.00 ± 0.17	1.00 ± 0.11
Model	10	$221.37 \pm 26.92^{***}$	$9.26 \pm 1.11^{***}$	$63.58 \pm 6.38^{***}$	$2.03 \pm 0.33^{***}$	$1.83 \pm 0.31^{***}$
Experimental	10	$178.65 \pm 19.32^{\Delta\Delta\Delta}$	$6.08 \pm 1.03^{\Delta\Delta\Delta}$	$51.79 \pm 4.45^{\Delta\Delta\Delta}$	$1.52 \pm 0.19^{\Delta\Delta\Delta}$	$1.29 \pm 0.20^{\Delta\Delta\Delta}$
oe-HIF2 α	10	$206.33 \pm 21.37^{\blacktriangle\blacktriangle}$	$7.74 \pm 0.96^{\blacktriangle\blacktriangle}$	$58.24 \pm 5.07^{\blacktriangle\blacktriangle}$	$1.80 \pm 0.23^{\blacktriangle\blacktriangle}$	$1.62 \pm 0.24^{\blacktriangle\blacktriangle}$

GATA-1: GATA-binding factor 1; EpoR: Erythropoietin receptor; Compared with control group, $^{***}P < 0.001$; Compared with model group, $^{\Delta\Delta\Delta}P < 0.001$; Compared with experimental group, $^{\blacktriangle\blacktriangle}P < 0.01$.

表3 各组小鼠肠组织中氧化应激指标相对水平的比较($\bar{x} \pm s$)

Table 3 Comparison of the relative levels of oxidative stress indexes in the intestinal tissues of mice in each group ($\bar{x} \pm s$)

Group	<i>n</i>	SOD($\text{U} \cdot \text{mg}^{-1}$)	MDA($\text{nmol} \cdot \text{mg}^{-1}$)	GSH-Px($\text{U} \cdot \text{mg}^{-1}$)
Control	10	1.00 ± 0.15	1.00 ± 0.12	1.00 ± 0.18
Model	10	$0.34 \pm 0.27^{***}$	$2.09 \pm 0.38^{***}$	$0.30 \pm 0.04^{***}$
Experimental	10	$0.63 \pm 0.18^{\Delta}$	$1.43 \pm 0.20^{\Delta\Delta\Delta}$	$0.72 \pm 0.25^{\Delta\Delta\Delta}$
oe-HIF2 α	10	$0.42 \pm 0.22^{\blacktriangle}$	$1.82 \pm 0.31^{\blacktriangle\blacktriangle}$	$0.48 \pm 0.21^{\blacktriangle}$

SOD: Superoxide dismutase; MDA: Malondialdehyde; GSH-Px: Glutathione peroxidase; Compared with control group, $^{***}P < 0.001$; Compared with model group, $^{\Delta}P < 0.05$, $^{\Delta\Delta\Delta}P < 0.001$; Compared with experimental group, $^{\blacktriangle}P < 0.05$, $^{\blacktriangle\blacktriangle}P < 0.01$.

4.75 ± 0.51。与对照组相比,模型组的上述指标显著升高($P < 0.001$);与模型组相比,实验组的上述指标显著降低($P < 0.001$);与实验组相比,oe-HIF2 α 组的上述指标显著升高($P < 0.001$)。

蛋白质印迹法显示,与对照组相比,模型组小鼠肠组织中的 FPN 和 TFRC 蛋白相对表达水平均显著升高(均 $P < 0.001$);与模型组相比,实验组小鼠肠组织中的 FPN 和 TFRC 蛋白相对表达水平均显著降低($P < 0.01$, $P < 0.001$);与实验组相比,oe-HIF2 α 组小鼠肠组织中的 FPN 和 TFRC 蛋白相对表达水平均显著升高($P < 0.05$, $P < 0.01$),见表 5。

表 4 各组小鼠肠组织中凋亡相关蛋白相对表达水平的比较($\bar{x} \pm s$)

Table 4 Comparison of the relative expression levels of apoptosis-related proteins in the intestinal tissues of mice in each group ($\bar{x} \pm s$)

Group	n	Bcl-2	Bax	Cleaved-Caspase3
Control	10	1.00 ± 0.15	1.00 ± 0.14	1.00 ± 0.12
Model	10	0.27 ± 0.05***	2.13 ± 0.27***	2.41 ± 0.43***
Experimental	10	0.83 ± 0.10 $\Delta\Delta\Delta$	1.36 ± 0.17 $\Delta\Delta\Delta$	1.45 ± 0.19 $\Delta\Delta\Delta$
oe-HIF2 α	10	0.43 ± 0.07 $\Delta\Delta\Delta$	1.85 ± 0.20 $\Delta\Delta\Delta$	2.06 ± 0.39 $\Delta\Delta\Delta$

Compared with control group, *** $P < 0.001$; Compared with model group, $\Delta\Delta\Delta P < 0.001$; Compared with experimental group, $\Delta\Delta\Delta P < 0.001$.

讨 论

高原红细胞增多症患者表现出红细胞、血红蛋白和红细胞压积值显著升高,同时动脉血氧饱和度降低^[9]。本研究中,与对照组相比,模型组小鼠血红蛋白含量、红细胞计数和红细胞压积值均显著升高,说明小鼠为适应低压低氧环境,红细胞数量明显增加,但其携氧能力显著下降。与既往文献报道的低压低氧室建立的高原红细胞增多症模型大鼠血液学变化相一致^[10],符合青海慢性高原病诊断标准,表明本研究小鼠高原红细胞增多症模型复制成功。

CAT 是沙棘总黄酮中的重要成分,具有抗炎、抗癌、抗氧化应激、抗高血压和抗溃疡等作用^[11]。有研究指出,表没食子儿茶素没食子酸酯作为 CAT 的成分之一,用于治疗高海拔低压缺氧诱导的心肌损伤或海马体损伤大鼠,能够显著缓解氧化应激和细胞凋亡,降低血液中的炎症因子水平,有潜力成为治疗低压缺氧诱导组织损伤的天然化合物^[12-13]。HIF2 α 是机体缺氧时最早产生的转录调节因子之一,且在肠道中的转录对调节全身性铁稳态至关重要^[14]。有研究显示,高海拔缺氧触发的肠道 HIF2 α 激活可以通过上调铁吸收和铁转运相关基因(如二价金属离子转运体 1、

表 5 各组小鼠肠组织中铁转运蛋白(FPN)和转铁蛋白受体(TFRC)蛋白相对表达水平的比较($\bar{x} \pm s$)

Table 5 Comparison of the relative expression levels of ferroportin (FPN) and transferrin receptor (TFRC) proteins in the intestinal tissues of mice in each group ($\bar{x} \pm s$)

Group	n	FPN	TFRC
Blank	10	1.00 ± 0.14	1.00 ± 0.10
Model	10	1.69 ± 0.25***	2.18 ± 0.23***
Experimental	10	1.31 ± 0.18 $\Delta\Delta$	1.67 ± 0.15 $\Delta\Delta\Delta$
oe-HIF2 α	10	1.52 ± 0.19 Δ	1.86 ± 0.15 $\Delta\Delta$

FPN: Ferroportin; TFRC: Transferrin receptor; Compared with control group, *** $P < 0.001$; Compared with model group, $\Delta\Delta P < 0.01$, $\Delta\Delta\Delta P < 0.001$; Compared with experimental group, $\Delta P < 0.05$, $\Delta\Delta P < 0.01$.

十二指肠细胞色素 b、FPN、TFRC),导致铁的吸收、利用和储存增加,并诱发红细胞增多;而抑制肠道 HIF2 α 信号传导可以明显改善红细胞增多症^[15]。EpoR 作为红细胞发育过程中重要的调节激素受体,与红系祖细胞的增殖、分化和成熟相关,其转录激活受红系造血调控转录因子 GATA-1 活性的影响,GATA-1 表达异常可能影响 EpoR 基因表达并致红细胞增殖分化异常^[16]。本研究发现,模型组小鼠肠组织中 HIF2 α 呈高表达状态,骨髓中红细胞增殖关键蛋白 GATA-1 和 EpoR 水平及肠组织铁代谢相关蛋白 Ferritin、FPN 和 TFRC 水平均显著升高,与此前报道相一致^[7]。LIU 等^[17]发现,沙棘总黄酮通过应激诱导蛋白 Sestrin 1/Kelch 样 ECH 相关蛋白 1/核因子红细胞 2 相关因子 2(Sestrin 1/Kelch-like ECH-associated protein 1/nuclear factor erythroid 2-related factor 2, Sesn1/Keap1/Nrf2) 轴促进 HIF2 α 降解达到类似效果,说明高原低氧诱导的肠道 HIF2 α 激活能够引发铁代谢亢进及红细胞异常增殖,CAT 通过下调 HIF2 α 抑制肠铁代谢通路,逆转高原低氧诱导的铁代谢亢进与红细胞异常增殖。长期处于高原低氧环境不仅会直接损伤消化道黏膜,还可以通过引发血液粘度增加,影响全身各组织器官灌注,加重组织缺氧损伤^[18]。有研究指出,高原红细胞症患者的肠道菌群变化和代

谢紊乱与红细胞比容呈正相关^[19]。贾守宁等^[20]的蛋白质组学研究表明,红景天苷通过调节氧化应激改善高原红细胞增多症大鼠症状。本研究显示,CAT处理后可以干扰肠道 HIF2 α 激活,使高原红细胞增多症小鼠肠组织中脂质过氧化产物 MDA 含量、促凋亡蛋白 Bax 和凋亡效应蛋白 Cleaved - Caspase3 表达均显著降低,抗氧化酶 SOD 与 GSH - Px 活力和抗细胞凋亡蛋白 Bcl - 2 表达均显著升高,这说明 CAT 可以通过调控肠道 HIF2 α 来抑制肠细胞凋亡和氧化应激的发生,对肠道缺氧损伤发挥保护作用,进而改善高原红细胞增多症这类代谢疾病。

本研究提示:CAT 可以通过靶向抑制肠道 HIF2 α 的表达,打断“缺氧 - HIF2 α - 铁吸收亢进 - 红细胞过度增殖”的恶性循环,其机制与减轻肠道氧化应激及细胞凋亡密切相关。

参考文献:

- [1] QILE M, XU Q, YE Y, *et al.* Erythrocytes display metabolic changes in high - altitude polycythemia [J]. *High Alt Med Biol*, 2023, 24 (2): 104—109.
- [2] 张宇轩, 钱庆元, 王芃, 等. 提高低压低氧环境下红细胞氧亲和力的策略及潜在药物 [J]. *中国现代应用药学*, 2023, 40 (16): 2315—2328.
- [3] OGAWA C, TSUCHIYA K, MAEDA K. Hypoxia - inducible factor prolyl hydroxylase inhibitors and iron metabolism [J]. *Int J Mol Sci*, 2023, 24 (3): 3037.
- [4] 赵安鹏, 马江红, 王子晗, 等. 儿茶素对急性高原缺氧损伤的保护作用 [J]. *中国药理学通报*, 2023, 39 (6): 1097—1104.
- [5] 陶海萍, 李双, 贾功雪, 等. 高原低氧胁迫对小鼠肝脏功能及基因表达的影响 [J]. *兽类学报*, 2022, 42 (05): 590—600.
- [6] 翟国亮, 崔燕, 余四九, 等. HIF - 2 α /LP 及 LEPR 在不同年龄牦牛肺组织中的表达 [J]. *中国兽医科学*, 2024, 54 (9): 1259—1266.
- [7] ZHOU S, YAN J, SONG K, *et al.* High - altitude hypoxia induces excessive erythrocytosis in mice *via* upregulation of the intestinal HIF2 α /iron - metabolism pathway [J]. *Biomedicine*, 2023, 11 (11): 2992.
- [8] 秦合伟, 孙孟艳, 王梦楠, 等. 黄芪甲苷控 Nr2/HO - 1/GPX4 通路抑制铁死亡改善 ApoE^{-/-} 小鼠动脉粥样硬化的机制研究 [J]. *中国中药杂志*, 2024, 49 (13): 3619—3626.
- [9] WANG H, TANG C, DANG Z, *et al.* Clinicopathological characteristics of high - altitude polycythemia - related kidney disease in tibetan inhabitants [J]. *Kidney Int*, 2022, 102 (1): 196—206.
- [10] YU S, YE Y, WUREN T, *et al.* Alteration in the number, morphology, function, and metabolism of erythrocytes in high - altitude polycythemia [J/OL]. *Front Physiol*, 2024, 15 : e1359357. 2024 - 02 - 15 [2025 - 04 - 03]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/38426208/>.
- [11] BARANWAL A, AGGARWAL P, RAI A, *et al.* Pharmacological actions and underlying mechanisms of catechin: A review [J]. *Mini Rev Med Chem*, 2022, 22 (5): 821—833.
- [12] CHEN H, CHEN C, QIN Y, *et al.* Protective effects of epigallocatechin - 3 - gallate counteracting the chronic hypobaric hypoxia - induced myocardial injury in plain - grown rats at high altitude [J]. *Cell Stress Chaperones*, 2023, 28 (6): 921—933.
- [13] CHEN C, LI B, CHEN H, *et al.* Epigallocatechin - 3 - gallate ameliorated iron accumulation and apoptosis and promoted neuronal regeneration and memory/cognitive functions in the hippocampus induced by exposure to a chronic high - altitude hypoxia environment [J]. *Neurochem Res*, 2022, 47 (8): 2254—2262.
- [14] DAS N K, SCHWARTZ A J, BARTHEL G, *et al.* Microbial metabolite signaling is required for systemic iron homeostasis [J]. *Cell Metab*, 2020, 31 (1): 115—130.
- [15] 刘凤云, 李愈娟, 胡琳, 等. 长期慢性低氧对牦牛和黄牛血液中 HIF - 2 α /EPO 水平及红细胞相关指标的影响 [J]. *西北农业学报*, 2016, 25 (4): 490—495.
- [16] 刘芳, 丁瑾, 魏巍, 等. GATA - 1 对高原红细胞增多症模型大鼠骨髓 CD71⁺ 细胞 EpoR 表达的影响 [J]. *中国实验血液学杂志*, 2016, 24 (3): 884—891.
- [17] LIU F, LI T T, SHAO Y, *et al.* Proteomic analysis reveals proteins and pathways associated with the effects of *Hippophae rhamnoides* L. total flavonoids on ameliorating excessive erythropoiesis in high - altitude polycythemia mice [J/OL]. *J Ethnopharmacol*, 2025, 350 : 119996. 2025 - 06 - 25 [2026 - 01 - 20]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/40403894/>.
- [18] 许颖, 次仁央金. 高原红细胞增多症与消化性溃疡出血的关系 [J]. *北京大学学报(医学版)*, 2022, 54 (1): 161—165.
- [19] 王晓岩, 门香宇, 吕娟娟, 等. 高原红细胞增多症患者肠道菌群变化研究 [J]. *中国微生态学杂志*, 2021, 33 (10): 1134—1138.
- [20] 贾守宁, 张庆光, 马春花, 等. 红景天苷干预前后高原红细胞增多症大鼠红细胞膜的蛋白质组学研究 [J]. *中国中药杂志*, 2020, 45 (19): 4719—4724.

(本文编辑:马凌云 收稿日期 2026 - 03 - 15)