

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2018.29.005  
文章编号: 1005-8982 (2018) 29-0025-06

## 同型半胱氨酸对 *FABP4* 启动子活性的影响 \*

熊建团<sup>1</sup>, 李旭生<sup>2</sup>, 杨安宁<sup>3</sup>, 杨松昊<sup>3</sup>, 邓梅<sup>3</sup>, 王磊<sup>3</sup>, 高源<sup>3</sup>, 李南<sup>1</sup>, 杨晓玲<sup>3</sup>,  
贾月霞<sup>3</sup>, 姜怡邓<sup>3</sup>

(1. 宁夏医科大学 药学院, 宁夏 银川 750004; 2. 宁夏医科大学总医院 骨科, 宁夏 银川 750004; 3. 宁夏医科大学 基础医学院, 宁夏 银川 750004)

**摘要: 目的** 通过克隆脂肪酸结合蛋白 4 (*FABP4*) 基因启动子, 确定其活性核心区和功能片段, 分析心血管疾病独立危险因素同型半胱氨酸 (Hcy) 对 *FABP4* 启动子活性的影响。**方法** 应用生物信息学预测 *FABP4* 基因启动子区顺式转录作用元件和反式作用因子, 以 pGL3-Basic 为载体, 采用基因重组法构建启动子截取片段, 转染 HEK-293A 细胞, 观察不同截取片段的荧光素酶活性变化, 确定活性最强的片段。进一步将核心启动子片段 (-2000/-1) 转染巨噬细胞, 观察不同浓度 Hcy 和 DNA 甲基化抑制剂 5-氮杂胞苷 (AZC) 对 *FABP4* 基因启动子活性的影响。**结果** 不同长度截取片段转染 HEK-293A 细胞后检测荧光素酶活性结果显示, 与 pGL3 对照组比较, -2000/-1 片段转录活性最强。将核心启动子片段 (-2000/-1) 转染巨噬细胞并用不同浓度 Hcy 干预后, 与 0  $\mu\text{mol/L}$  Hcy 组比较, 100 和 200  $\mu\text{mol/L}$  Hcy 组启动活性升高; 与 100  $\mu\text{mol/L}$  Hcy 组比较, 在 100  $\mu\text{mol/L}$  Hcy 基础上用 AZC 干预后, *FABP4* 基因启动活性升高 ( $P < 0.05$ )。**结论** 成功克隆 *FABP4* 启动子的 4 个片段, 且确定 *FABP4* 基因核心启动子位于 -2000/-1 片段; Hcy 可以促进 *FABP4* 基因核心启动子片段活性, 补充 AZC 后可以进一步促进 Hcy 引起的 *FABP4* 启动子活性升高。

**关键词:** *FABP4*; 启动子活性; 同型半胱氨酸

**中图分类号:** R36

**文献标识码:** A

## Effect of homocysteine on activity of human *FABP4* promoter in macrophages\*

Jian-tuan Xiong<sup>1</sup>, Xu-sheng Li<sup>2</sup>, An-ning Yang<sup>3</sup>, Song-hao Yang<sup>3</sup>, Mei Deng<sup>3</sup>, Lei Wang<sup>3</sup>,  
Yuan Gao<sup>3</sup>, Nan Li<sup>1</sup>, Xiao-ling Yang<sup>3</sup>, Yue-xia Jia<sup>3</sup>, Yi-deng Jiang<sup>3</sup>

(1. College of Pharmacy, Ningxia Medical University, Yinchuan, Ningxia 750004, China; 2. Department of Orthopedics, General Hospital of Ningxia Medical University, Yinchuan, Ningxia 750004, China; 3. Basic Medical College, Ningxia Medical University, Yinchuan, Ningxia 750004, China)

**Abstract: Objective** To clone the promoter of fatty acid-binding protein 4 (*FABP4*) and determine its core active region and functional fragment, and meanwhile to determine the effect of homocysteine (Hcy), an independent risk factor for cardiac vascular disease, on the activity of *FABP4* promoter so as to provide an experimental basis for further research on the function of *FABP4*. **Methods** Cis-acting elements and transacting factors were predicted in the promoter region of *FABP4* by bioinformatics. The promoter interception fragments were constructed with pGL3-basic vector by gene recombination. The interception fragment with strongest activity

收稿日期: 2018-05-15

\* 基金项目: 国家自然科学基金 (No: 81560084); 宁夏自然科学基金 (No: NZ16063); 宁夏高等学校科学研究项目 (No: NGY2016087)

[通信作者] 姜怡邓, E-mail: nyxxgjyd@163.com

was identified by observing the changes in luciferase activity after transfecting different fragments into HEK-293A cells. Meanwhile, after transfection of core promoter fragment (-2000/-1) into macrophages, the effect of different concentrations of Hcy and DNA methylation inhibitor 5-azacytidine (AZC) on the promoter activity of *FABP4* gene was detected. **Results** After transfection of HEK-293A cells with interception fragments of different length, the detection of luciferase activity showed that the transcription activity of -2000/-1 fragment was the strongest in comparison with the pGL3 control group. After transfecting macrophages with core promoter fragment -2000/-1 and treating these cells with different concentrations of Hcy, the promoter activity was significantly increased in the 100 and 200  $\mu\text{mol/L}$  Hcy groups compared with the 0  $\mu\text{mol/L}$  Hcy group; compared with the 100  $\mu\text{mol/L}$  Hcy group, the promoter activity of *FABP4* gene was further increased after intervention with AZC on the basis of 100  $\mu\text{mol/L}$  Hcy ( $P < 0.05$ ). **Conclusions** The four fragments of *FABP4* promoter have been successfully cloned and the core promoter region of *FABP4* is located in the -2000/-1 fragment. Hcy can promote the activity of the core promoter fragment of *FABP4* gene, supplementation of AZC can further increase the Hcy-induced activity of *FABP4* promoter.

**Keywords:** *FABP4*; promoter activity; homocysteine; macrophage

脂肪型脂肪酸结合蛋白 4 (fatty acid binding protein 4, FABP4) 属于脂肪酸结合蛋白大家族的重要成员, 主要在脂肪组织中高度表达, 在巨噬细胞中也有大量表达<sup>[1]</sup>。近年来研究表明, FABP4 在肥胖和动脉粥样硬化的发生中发挥重要作用<sup>[2]</sup>。FABP4 表达缺失可通过降低炎症因子在巨噬细胞中的表达, 保护高血脂老鼠避免动脉粥样硬化的发生<sup>[3]</sup>。目前国内关于 *FABP4* 基因启动子的研究较少。同型半胱氨酸 (Homocysteine, Hcy) 是心脑血管疾病的独立危险因素, 通过多种机制影响基因表达, 参与疾病发生、发展<sup>[4]</sup>。本研究以人源 *FABP4* 基因为研究对象, 成功克隆 *FABP4* 基因启动子, 分析确定影响 *FABP4* 基因启动子活性的核心区域, 为进一步开展功能研究提供实验基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 主要设备和试剂

L-Hcy 和佛波酯 (phorbol 12-myristate 13-acetate, PMA) (德国 Sigma-Aldric 公司), 二氧化碳  $\text{CO}_2$  培养箱 HF90 (上海力新仪器有限公司), 胎牛血清 (杭州四季青生物工程材料有限公司), 青霉素、链霉素、PBS 缓冲液、DMEM 和 RPMI 1640 培养基购自美国 Hyclone 公司, 相差显微镜 (日本尼康公司), 荧光素酶检测仪器 (美国普洛麦格公司), PrimeSTAR HS DNA polymerase (大连宝生生物工程公司有限公司), 限制性内切酶 XhoI、Hind III、T4 DNA 快速连接酶、DNA Marker 及转染试剂 Lipofectamine™ 3000 购自美国 Invitrogen 公司, DNA 提取试剂盒、凝胶回收纯化试剂盒、DNA 纯化试剂盒及双荧光素酶检测试剂盒

购自美国普洛麦格公司, 质粒纯化试剂盒 (北京天根生化科技有限公司), pGL3-Basic 质粒、pRL-TK 质粒由本实验室保存, HEK-293A 细胞 (四川大学华西医学院), 实验中所用引物及测序由上海英俊生物有限公司完成。

### 1.2 启动子序列分析

根据 GenBank 中人 *FABP4* 基因的序列 (GenBank: CR456903.1), 查找启动子区 2 000 bp 区域, 分别根据 [http://fruitfly.org:9005/seq\\_tools/promoter.html](http://fruitfly.org:9005/seq_tools/promoter.html)、<http://www.urogene.org/methprimer/index1.html> 网站预测启动子结合序列和甲基化岛分布情况的结果。

### 1.3 *FABP4* 基因启动子报告基因载体的构建

将人 *FABP4* 启动子初步分为 4 个片段, 分别为 -500/-1、-1000/-1、-2000/-1、-2000/-1501, 利用 Primer 5 设计合成 4 对特异引物获得相应片段, 并在 5' 端和 3' 端分别添加 XhoI 和 Hind III 酶切位点, 引物序列见附表。将目的片段从亚克隆载体上切割并

附表 *FABP4* 基因启动子片段引物设计

| 基因          | 引物序列 (5' -3')                      | 长度 / bp |
|-------------|------------------------------------|---------|
| -500/-1     | 正向: CCGCTCGAGTTATTTATTTTGTTTTAAATC | 500     |
|             | 反向: CCCAAGCTTGACCCTCTTGAGTCCAG     |         |
| -1000/-1    | 正向: CCGCTCGAGCAGTGGGATACACAGT      | 1 000   |
|             | 反向: CCCAAGCTTGACCCTCTTGAGTCCAG     |         |
| -2000/-1    | 正向: CCGCTCGAGTCACTTATAAGTGGGAGC    | 2 000   |
|             | 反向: CCCAAGCTTGACCCTCTTGAGTCCAG     |         |
| -2000/-1501 | 正向: CCGCTCGAGTCACTTATAAGTGGGAGC    | 500     |
|             | 反向: CCCAAGCTTCTGGACTTTTGTAGTGAATC  |         |

回收, 回收目的片段并与 pGL3-Basic 载体连接, 利用双酶切方法筛选并测序鉴定。

## 1.4 细胞培养

HEK-293A 工具细胞使用 DMEM 培养基, THP-1 单核细胞使用 RPMI 1640 培养液, 均含 12% 胎牛血清。于 37 ℃、5% CO<sub>2</sub> 环境中静置培养。以 500 nmol/L PMA 培养液孵育 THP-1 单核细胞 48 h, 单核细胞即分化为巨噬细胞, 然后给予不同浓度 (0、50、100、200 和 500 μmol/L) Hcy 干预 24 h 后进行后续实验。

## 1.5 FABP4 基因启动子活性分析

将细胞接种于 6 孔板中, 待细胞生长至 80% 汇合时, 采用 Lipofectamine™ 3000 转染细胞。转染 DNA 总量为 2 μg/孔, pGL3-FABP4 不同大小片段质粒与海肾荧光素酶报告基因载体 (pRL2TK) 的比值为 100 : 1。将海肾荧光素酶报告基因载体作为内源参照, 以消除由于转染效率及细胞活性等因素带来的差异。转染 48 h 后, 按照 Promega 公司荧光素酶报告基因检测试剂盒说明书, 进行荧光素酶活性检测。实验重复 6 次, 每次 3 个平行实验, 启动子相对活性以目的基因荧光与海肾荧光的比值 (Fluc/Rluc) 表示。

## 1.6 统计学方法

数据分析采用 GraphPad Software 6.0 统计软件, 计量资料以均数 ± 标准差 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示, 多组比较用方差分析, 两两比较用 SNK - *q* 检验,  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 FABP4 基因核心启动子预测分析

通过 BDGP 生物信息学网站预测, 发现在 FABP4 启动子区 2 000 bp 的范围内含有 2 个可能的核心启动子位点, 并且得分均 >0.95 (满分 1.00 分)。见图 1。

### Promoter predictions for seq0 :

| Start | End  | Score | Promoter Sequence                                  |
|-------|------|-------|--|
| 1176  | 1226 | 0.95  | TGGTCACGTATATAAAGAAGGATATGGTITGGTGGCTTGTGACACACA   |
| 1621  | 1671 | 0.96  | AAC7GCAATTTAATAACACCCOCACACACACACACAAAATAGGTCGAGAG |

图 1 FABP4 基因核心启动子预测分析

### 2.2 FABP4 基因启动子区 CpG 岛生物学预测

通过 Methprimer 网站预测, 笔者观察到在 FABP4 启动子区 2 000 bp 范围内没有 CpG 岛的存在, 但是有一段 CpG 二核苷酸位点相对集中的区域, 并且可以在这个相对集中的区域设计甲基化与非甲基化引物, 观察 FABP4 基因启动子甲基化程度的改变。见图 2。

### 2.3 FABP4 基因启动子转录起始位点的预测

用生物信息学方法进行分析比对 FABP4 基因启动子 2 000 bp 序列, 发现在位于转录起始的 -67 碱基位置和转录起始的 -1548 碱基位置含有 CAAT 盒, 而位于转录起始的 -808 碱基位置含有 TATA 盒。见图 3。

### 2.4 FABP4 基因启动子区不同截取片段 PCR 产物

通过普通 PCR 扩增得到与预测截取片段大小相等且规整单一的 PCR 产物。其中, -2000/-1501 片段组、-500/-1 片段组、-1000/-1 片段组、-2000/-1 片段组长度分别为 500、500、1 000 和 2 000 bp。见图 4。

### 2.5 FABP4 基因启动子不同截取片段 pGL3 载体双酶切结果

将构建好的 FABP4 基因启动子不同截取片段 pGL3 载体经 Hind 和 XhoI 双酶切后用电泳法分离, 均被切出大小约 4 000 bp 的大片段条带和与之相对应的与 PCR 产物相大小一致的小片段条带。其中, -2000/-1501 片段组、-500/-1 片段组、-1000/-1 片段组、-2000/-1 片段组长度分别为 500、500、1 000

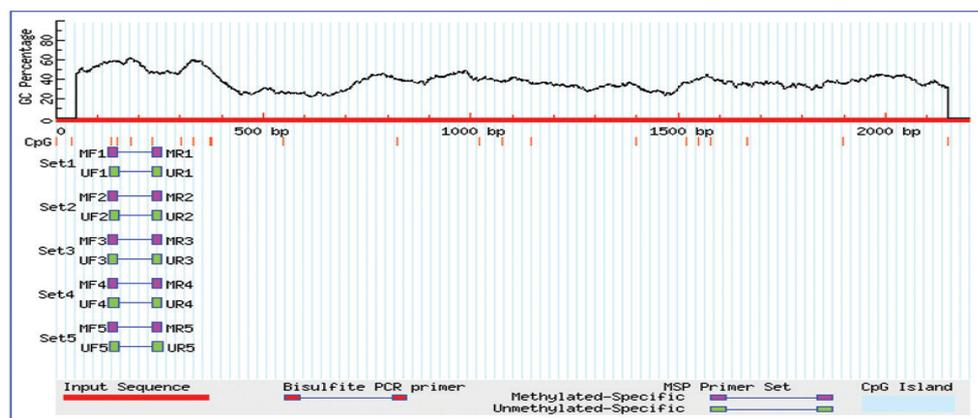
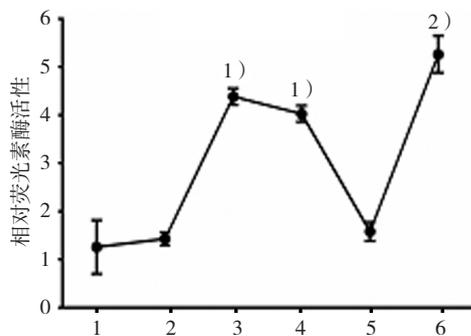


图 2 FABP4 基因启动子区 CpG 位点分析



500  $\mu\text{mol/L}$  Hcy 组, 以及 100  $\mu\text{mol/L}$  Hcy + AZC 组细胞中相对荧光素酶活性分别为 (1.260  $\pm$  0.5585)、(1.430  $\pm$  0.1383)、(4.386  $\pm$  0.1711)、(4.029  $\pm$  0.1673)、(1.582  $\pm$  0.1952) 和 (5.265  $\pm$  0.3834), 经单因素方差分析, 差异有统计学意义 ( $F=98.000$ ,  $P=0.000$ )。进一步两两比较经 SNK- $q$  检验, 50 和 500  $\mu\text{mol/L}$  Hcy 组与 0  $\mu\text{mol/L}$  Hcy 组比较, 差异无统计学意义 ( $P=0.636$  和 0.400); 100 和 200  $\mu\text{mol/L}$  Hcy 组高于 0  $\mu\text{mol/L}$  Hcy 组 (均  $P=0.001$ ); 100  $\mu\text{mol/L}$  Hcy 组用 DNA 甲基转移酶抑制剂 AZC 作用后, *FABP4* 基因启动子活性升高 ( $P=0.002$ ), 提示 Hcy 可以增加巨噬细胞内 *FABP4* 核心启动子片段的活性, 而 DNA 甲基转移酶抑制剂 AZC 可以进一步促进 Hcy 对 *FABP4* 启动子活性的影响。见图 7。



1: 0  $\mu\text{mol/L}$  Hcy 组; 2: 50  $\mu\text{mol/L}$  Hcy 组; 3: 100  $\mu\text{mol/L}$  Hcy 组; 4: 200  $\mu\text{mol/L}$  Hcy 组; 5: 500  $\mu\text{mol/L}$  Hcy 组; 6: 100  $\mu\text{mol/L}$  Hcy + AZC 组。1) 与 0  $\mu\text{mol/L}$  Hcy 组比较,  $P < 0.05$ ; 2) 与 100  $\mu\text{mol/L}$  Hcy 组比较,  $P < 0.05$

图 7 不同浓度 Hcy 对 *FABP4* 基因核心启动子活性的影响

### 3 讨论

本研究发现人 *FABP4* 基因 2 000 bp 长度的启动子区含有 3 个转录起始结合位点, 即由 2 个启动子区负责转录调控, 分别位于 -2000/-1051、-500/-1 和 -1000/-500 区域, 分别为 -2000/-1051 区域 CAAT 盒 (序列为 CCAAT)、位于 -500/-1 区域 CAAT 盒 (序列为 CCAAT) 和 -1000/-500 区域的 TATA 盒 (序列为 TATAAAA)。一般真核生物中蛋白质编码基因的核心启动子元件分 4 类: ①传统的 TATA 盒; ②上游核心启动子元件; ③下游启动子元件; ④起始子。起始子只起转录起始并无转录调节作用, 而上游启动子元件包括 CAAT 盒和 GC 盒等, 能通过 TF II -D 复合物的识别和结合来调节转录起始的频率, 从而提高转录效率, 但并不是所有启动子都含有这些转录基本元件<sup>[5]</sup>。

CAAT 盒是转录因子 CBF 在 DNA 序列上的识别结合位点, 其序列格式为 CCAAT。CAAT 盒位于所转录的真核生物基因的近端启动子, 与其他启动子元件相互调节而发挥作用, 通过控制转录起始的频率从而控制启动子的转录活性, 是真核生物基因常有的基本转录区<sup>[6]</sup>。而 TATA 盒是另一个重要基础元件, 是转录因子 TBP 识别的 DNA 序列, 其序列格式通常为 TATAWAW (W 代表 A 或 T)。通常认为, 含有 TATA 盒的启动子可能参与组织特异性基因的转录调控, 而 TATA 盒本身并无转录活性, 如果表现出转录活性需要其他结构基因共同调控<sup>[7]</sup>。在 *FABP* 基因 2 000 bp 启动子区内, CAAT 盒位于转录起始的 -67 碱基位置和转录起始的 -1548 碱基位置, 对应存在的片段为 -500/-1 片段和 -1501/-2000 即表现出来转录活性, 可以推测 *FABP4* 基因是由 CAAT 盒组成的核心启动子。而 TATA 盒则位于转录起始的 -808 碱基位置, 存在于 -1000/-1 片段内而无转录活性, 则 TATA 盒在 *FABP4* 转录中可能未起到转录活性作用。

基因启动子和丰富的 CpG 序列 (GC 位点通常未甲基化) 中的甲基化修饰被认为与基因表达调控高度相关, 是体内重要的转录调控方式<sup>[8]</sup>。一般来说, CpG 岛通常是基因中 GC 含量为 60%、CpG 出现率达到 0.65、长度为 500 bp 的序列, 就算这些区域没有 CpG 岛也有丰富的 CpG 位点, 可被甲基化修饰调控<sup>[9]</sup>。在 *FABP4* 基因启动子区里, GC 含量相对较少, 约为 38%, 在 -2000/-1501 片段中 GC 相对集中, 含量也仅有 47%, 因此, *FABP4* 基因启动子不含 CpG 岛, 其调控可能受到散在分布的 GC 灵活调控。*FABP4* 基因启动子可能是组织特异性表达的基因启动子, CpG 位点参与基因表达调控的因素之一。-2000/-1501 片段的转录活性高于对照组。由此证明, *FABP4* 基因本身 CpG 位点相对集中区域也具有启动基因表达的能力。-2000/-1 片段转录活性高于 -500/-1 片段, 可以推测 CpG 对 *FABP4* 基因启动子转录调控起一定促进作用, 参与 *FABP4* 基因表达调控。本研究还发现, *FABP4* 基因启动子 -1000/-500 片段含有 2 个 AML-1a 结合区域 (序列分别 ACACAC 和 ACATAA)。AML-1a 是一种具有与 DNA 结合的空间结构域, 其缺乏相应转录激活结构域的转录调节蛋白, 导致靶基因不能正常转录的机制可能是: 一方面, AML-1a 与 DNA 结合的结构域能够和 AML1b/1c 竞争结合靶基因 DNA 结合位点, 从而抑制转录; 另一方面, AML-1a 通过改变

基因 CpG 位点中胞嘧啶 (C) 甲基化修饰生成 5- 甲基胞嘧啶 (5mC) 调控基因转录, 该过程在转录调控中最早发生, 随后通过激活或抑制转录因子与 DNA 结合而调节基因转录, 这一调控主要集中在 GC 位点密集区<sup>[10]</sup>。实验中 *FABP4* 基因启动子 -1000/-1 片段的转录活性低于 -500/-1 片段, 但荧光素酶活性与对照组比较无变化。由此推测 *FABP4* 基因 -1000/-1 片段启动转录过程中可能有负相关调节转录因子参与, 或者有相关沉默子起关键作用。AML-1a 是否是负责 *FABP4* 基因负调控主要的因子及相关转录沉默子的有待进一步研究。同时, 包含丰富 CpG-2000/-1501 片段的 -2000/-1 片段活性与 -1000/-1 片段相比又进一步增强, 推测 -2000/-1501 片段对 *FABP4* 基因启动子转录活性有非常重要的作用。此外, 对照载体 pRL-TK 所携带的启动子是 HSV 1-tk 基因自身启动子, 属中等强度启动子<sup>[11]</sup>。实验中笔者发现 *FABP4* 基因启动子的启动活性均 <40%TK 启动活性, 由此推测 *FABP4* 基因启动子启动基因表达能力较弱。使用不同浓度 Hcy 干预细胞后, 100 μmol/L Hcy 组启动活性最强。Hcy 在体内主要通过 2 种方式进行代谢: 当蛋氨酸过量时, 同型半胱氨酸通过转硫化通路代谢, 生成胱硫醚 (维生素 B6 为辅助因子), 继而转变为半胱氨酸; 当蛋氨酸含量较低时, Hcy 主要通过蛋氨酸循环途径进行代谢<sup>[12]</sup>。SAM 协助调解的 Hcy 被再甲基化形成蛋氨酸需要甲基四氢叶酸和维生素 B12 作为辅助因子, 而自然界真核细胞内甲基化修饰反应唯一甲基来源只有 SAM<sup>[13]</sup>。由此推断, 当 Hcy 浓度过高时, 迅速消耗培养基中的叶酸和维生素 B12, SAM 产生减少, *FABP4* 启动子 CpG 转甲基减少, DNA 发生去甲基化, 使转录增强。给予叶酸和维生素 B12 干预后, 启动子活性约降低 10%, 说明补充一定量的叶酸和维生素 B12 后, SAM 产生进一步增多, 转甲基能力增强, DNA 发生甲基化位点增多, 使转录减低。

综上所述, 本实验证实 *FABP4* 基因启动子属于弱启动子, *FABP4* 基因核心启动子由 CAAT 盒组成, 部分 CpG 位点参与 *FABP4* 基因转录调控, AML-1a 可能是调控 *FABP4* 基因转录的负性转录因子, 而 CpG

位点与转录因子、沉默子的相互作用有待进一步研究。本研究为进一步研究 *FABP4* 基因的功能提供实验基础。

#### 参 考 文 献:

- [1] 郭伟, 马胜超, 张辉, 等. 脂肪酸结合蛋白 4 在 Hcy 致泡沫细胞胆固醇聚积中的作用 [J]. 中国动脉硬化杂志, 2016, 8: 757-762.
- [2] YANG A N, ZHANG H P, SUN Y, et al. High-methionine diets accelerate atherosclerosis by HHcy-mediated *FABP4* gene demethylation pathway via DNMT1 in ApoE (-/-) mice[J]. FEBS Lett, 2015, 589: 3998-4009.
- [3] STEVERSON D J R, TIAN L, FU Y, et al. Tribbles homolog 3 promotes foam cell formation associated with decreased proinflammatory cytokine production in macrophages: evidence for reciprocal regulation of cholesterol uptake and inflammation[J]. Metab Syndr Relat Disord, 2016, 14(1): 7-15.
- [4] JIANG Y, MA S, ZHANG H, et al. *FABP4*-mediated homocysteine-induced cholesterol accumulation in THP-1 monocyte-derived macrophages and the potential epigenetic mechanism[J]. Mol Med Rep, 2016, 14(1): 969-976.
- [5] 贺飞燕, 闫建俊, 白云凤, 等. 启动子的类型及应用 [J]. 山西农业科学, 2017, 01: 115-120.
- [6] 李素云. STGC3 基因转录调控元件鉴定及功能位点分析 [D]. 衡阳: 南华大学, 2015.
- [7] 孙美涛, 王昀, 李月, 等. hMTERF3 基因启动子区的生物信息学分析 [J]. 大理大学学报, 2017, 2: 40-45.
- [8] 薛梅, 李旭, 陈葳. 人 UCA1 基因转录调控的生物信息学分析与鉴定 [J]. 南方医科大学学报, 2013, 11: 1596-1599.
- [9] 许登高, 周扬, 潘庆杰. 哺乳动物 CpG 岛甲基化研究进展 [J]. 青岛农业大学学报 (自然科学版), 2012, 4: 252-260.
- [10] ZHANG C G, WANG H, NIU Z G, et al. Tax is involved in up-regulation of HMGB1 expression levels by interaction with C/EBP[J]. Asian Pac J Cancer Prev, 2013, 14(1): 359-365.
- [11] 黄暨生, 张广献, 谭宇蕙, 等. 绿色荧光蛋白示踪的 HSV1-tk/GCV 系统重组慢病毒载体的构建及活性检测 [J]. 广州中医药大学学报, 2016, 03: 384-388.
- [12] 赵丽, 焦运, 杨安宁, 等. miR-124 及其启动子区 DNA 甲基化在同型半胱氨酸致动脉粥样硬化中的作用 [J]. 生理学报, 2015, 2: 207-213.
- [13] YANG A, SUN Y, MAO C, et al. Folate protects hepatocytes of hyperhomocysteinemia mice from apoptosis via cystic fibrosis transmembrane conductance regulator (CFTR)-activated endoplasmic reticulum stress[J]. J Cell Biochem, 2017, 118(9): 2921-2932.

(童颖丹 编辑)