

DOI:10.3724/SP.J.1008.2014.01126

· 综 述 ·

高原适应性的基因学研究进展

薄磊¹, 赵志文¹, 刘金秀², 黄晶², 段文元^{2*}

1. 济南军区 456 医院检验科, 济南 250031

2. 济南军区总医院心血管病研究所, 济南 250022

[摘要] 高海拔世居民在缺氧、寒冷的环境下能够很好地生存。从生理角度分析,高海拔世居民具有较低血红蛋白浓度、更高的一氧化氮水平等特点。近年来的研究显示这些适应性的改变是具备遗传学基础的,这些研究给我们提供了多个基因在高原人群中的特征,例如 *EPAS1*、*EGLN1*、*CBARA1*、*VAV3*、*PPARA*、*eNOS* 等,涉及缺氧诱导途径、红细胞的生产以及血管舒张性物质的产生等。这些研究结果从遗传学角度给我们提供了新的线索,为我们揭示高原性自然环境选择的独特性、加深对高原疾病发生机制的理解、治疗和避免高原性疾病的发生提供了新的研究思路和策略。

[关键词] 高原适应性; *EPAS1*; 缺氧诱导因子; 遗传适应

[中图分类号] R 598.6 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 0258-879X(2014)10-1126-07

High altitude adaption: advance in genetics

BO Lei¹, ZHAO Zhi-wen¹, LIU Jin-xiu², HUANG Jing², DUAN Wen-yuan^{2*}

1. Department of Clinical Diagnosis, No. 456 Hospital of PLA, Jinan 250031, Shandong, China

2. The Cardiovascular Research Institute, General Hospital, PLA Jinan Military Area Command, Jinan 250022, Shandong, China

[Abstract] The indigenous populations of high altitude, physiologically with lower concentration of hemoglobin and higher level of nitric oxide, can be well-adapted to hypoxia and cold environment. Recent studies have revealed that these adaptive highland population possessed genetic bases, which involved a number of genes, such as *EPAS1*, *EGLN1*, *CBARA1*, *VAV3*, *PPARA*, and *eNOS*, associating with hypoxia-inducible pathway, production of red blood cells and vasodilator substances, etc. These findings provided new insights and strategies from genetics to uncover the unique natural environment selection, to understand the mechanisms of plateau diseases, finally to better prevent and treat them.

[Key words] altitude adaptability; *EPAS1*; hypoxia-inducible factor; genetic adaptation

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2014, 35(10):1126-1132]

全球 3 个主要的高海拔人群包括喜马拉雅山脉(涵盖青藏高原)的藏族、拉达克人和夏尔巴人,安第斯山脉的克丘亚语人和艾马拉人,北非的埃塞俄比亚人^[1]。高海拔环境的特点是低压、寒冷以及缺氧。其中缺氧容易导致细胞或者机体出现各种异常反应从而导致各种高原性疾病,例如高原性肺水肿(HAPE)和高原性脑水肿(HACE)^[2]。为适应这种高海拔环境,高原居住人群必须进行相应的改变,这种改变包括生理和遗传两个方面^[3]。这些生活在高海拔地区的人,适应着不同程度的缺氧和寒冷。与低海拔人群相比,他们具备更好的有氧运动能力,更

有效的氧运输效率,更大的静息通气量,更高的血氧饱和度,更低的血红蛋白水平以及在低氧环境下肺血管收缩反应性降低的能力^[4],这一系列改变有效地保证了高原人群的正常生活,而且我们有充分的理由相信这些改变是具备遗传学基础的^[1]。

鉴于不同高原人群遗传基础的差异性^[5],本文重点分析了近年来各类研究所发现的喜马拉雅山脉的高原人群和高原适应相关的基因。这些基因分别与肺通气^[6]、缺氧诱导途径^[5]、血管内皮生成^[7]、血红蛋白合成^[5]、线粒体的氧化呼吸链^[8]以及高原人群血液中 NO 的高浓度^[9]相关,现分别综述如下。

[收稿日期] 2014-02-16 **[接受日期]** 2014-06-05

[基金项目] 国家自然科学基金(31330038)。Supported by National Natural Science Foundation of China (31330038)。

[作者简介] 薄磊,主管技师。E-mail: boleil_sonic@163.com

* 通信作者(Corresponding author)。Tel: 0531-51636723, E-mail: dwy2115@126.com

1 肺通气相关基因

在高原环境下,肺通气量会大大增加以适应较低的氧分压。人们通过锻炼可以有效地减少其静息通气量,并降低其动脉氧分压。研究显示,不同高原地区的居民的静息通气量是不同的,在缺氧环境下通气量的改变也是不一样的^[6],该研究揭示了在缺氧环境下的肺通气受到基因、环境及其相互间作用的影响。近期的研究也指出,在缺氧诱导的途径中阿片样受体激动剂的编码基因(mu opioid receptor-encoding gene) *OPRM1* 起到了相当重要的作用,其主要作用是激动呼吸系统,增加心肺呼吸功能,以改善缺氧环境^[10]。

2 缺氧诱导途径和血管生成相关基因

缺氧诱导途径总共含有 200 多个相关基因,其中最关键的两个基因是 *EPAS1* 和 *EGLN1*^[5,11],前者与缺氧诱导的正性调节有关,是慢性缺氧相关基因的关键调节因素,参与促红细胞生成素(EPO)、血管内皮生长因子(VEGF)、内皮型一氧化氮合酶(eNOS)相关基因的上游调节^[7]。*EPAS1* 在肺部和胎盘组织上表达丰富,而这两种组织恰恰是成人和胎儿氧交换的关键组织^[12]。*EGLN1* 的作用则与之相反,它与缺氧诱导因子(HIF)-1 α 蛋白和 *EPAS1* 蛋白在正常氧分压下的降解有关,而在缺氧环境下,*EGLN1* 基因改变导致降解能力下降,从而间接升高 *EPAS1* 蛋白的水平并导致其所调控的缺氧有关的物质大量增加^[7, 12]。

血管内皮的生长主要与血管内皮生长因子有关。*EPAS1* 主要存在于内皮细胞中,能与芳香烃受体核转移蛋白(ARNT)一起形成异二聚体,调节一系列基因的转录和表达,维持机体正常的生长和发育^[13]。虽然 *EPAS1* 的发现很早,但是早期的研究仅仅指出 *EPAS1* 和缺氧诱导途径有关,其编码合成 HIF-2 α ^[14] 的水平在缺氧的环境下可明显升高^[15]。2010年,*EPAS1* 才被指出在低海拔人群和高海拔人群中存在明显差异。在该年的多项研究中数次提及该基因^[5, 16-18],其中一项研究指出 *EPAS1* 在高原人群中特异性最高,其人口分类统计值(PBS values)为 0.514。该研究在 87% 的藏族人群中发现了 *EPAS1* 的内含子中有一个 SNP 位点,而在汉族人群中该

SNP 位点的出现率只有 9%^[17]。这充分说明该基因在高原缺氧适应下具有重要的意义。同样有研究指出 *EPAS1* 的 3 个典型 SNP 位点 rs13419896(A)、rs4953354(G)、rs1868092(A)在高海拔人群中具有不同的差异性^[19]。

EPAS1 编码 HIF-2 α 蛋白,可以对许多缺氧诱导基因(包括 EPO)进行上层调节^[7]。而被升高的 EPO 放大了红血细胞前体的增殖和分化,从而增加血红蛋白水平。而血红蛋白水平的这种增高往往是慢性高原病的临床改变的基础诱因之一^[20]。因为这种血红蛋白水平的升高,增加的只是血液中的血氧含量,对于组织中氧的输送并没有起到任何作用,最终会导致低氧血症、缺氧性高血压以及高原性心脏病^[21]。

3 血红蛋白和血氧饱和度相关基因

血红蛋白是脊椎动物红细胞中的一种含铁的复合变构蛋白,由血红素和珠蛋白结合而成。其功能是运输氧和二氧化碳,维持血液酸碱平衡。血氧饱和度作为血液中与氧气结合的血红蛋白比例,是呼吸运动中的关键指标,所以血红蛋白及血氧饱和度一度被认为是高原低氧环境下高原适应的关键因素。早在 1975 年就有学者对机体在缺氧环境下血氧饱和度和氧合血红蛋白(HbO₂)的改变进行研究^[22]。在随后的研究中,研究人员从高原生物身上找到了许多基因层面上的血红蛋白主要结构的改变。在 1987 年就有人发现在安第斯鹅的血红蛋白 β -链的 55 号位上存在基因改变,使得亮氨酸(Leu)转变为丝氨酸(Ser),从而使其更适应高原飞行^[23]。后续相关研究发现,在高原环境下高海拔人群与低海拔人群的血氧饱和度有很大的差异,而且在高海拔缺氧环境下具备高血氧饱和度等位基因的人群具有较大的生育优势^[24]。另一项研究通过比较两个不同高原地区人群的平均血氧饱和度的显著差异,认为这一差异是不同地域自然选择的结果,是被遗传因素影响的^[25]。而在 2005 年的一项研究中,研究者通过对珠蛋白 cDNA 测序发现了两个基因变异,提示血红蛋白的基因变异可能和较高的血氧饱和度有关^[26]。此外,作为组成血红蛋白主要成分的 HBB 和 HBG2 的相关基因也是与其息息相关的^[17]。有研究利用血红蛋白水平进行分类,将不同水平的血红蛋白实验组

进行基因扫描从而挑选出众多具备差异性的基因,包括 *CBARA1*、*VAV 3*、*ARNT2*、*THRB*, 其中 *THRB* 和 *ARNT2* 与 HIF-1 通路有关^[27]。

最近的研究同样指出 *EGLN1* 和 *PPARA* 基因与血红蛋白的水平存在显著的负相关性^[5], *EGLN1* 基因的 SNP 位点 rs2275279 (T)、rs2790859 (T)、rs961154 (T) 和 *PPARA* 基因的 rs6520015 (T)、rs7292407 (C)、rs9627403 (A) 和这一负性调节具有一定的关系,虽然这几个基因的位点变异可以有效地说明高原人群血红蛋白降低的遗传基础,但是这几个基因如何参与血红蛋白的调控方式仍未明确。而最近的一项研究引入了一个新的 SNP 位点 rs186996510 (C), 该位点的纯合子 (CC) 型相较于其他纯合子 (GG) 型, 平均血红蛋白浓度要偏低约 7% 左右^[28]。

EPO 作为一个传统的评价红细胞生成和血红蛋白的指标, 是第一个被提出的低氧适应性指标。通过增加红细胞压积与血液黏稠度可以提高血液的携氧能力, 进而改善高原性缺氧的症状^[29]。在短期或长期处于高原缺氧环境下的人群, EPO 水平会明显升高, 在肺水肿的病患个体上尤为突出。有人发现处于海拔 3 440 m 的夏尔巴人的 EPO 水平 $[(23.1 \pm 11.2) \text{ mU/mL}]$ 与处于海拔 1 300 m 的非夏尔巴人 $[(22.5 \pm 15.4) \text{ mU/mL}]$ 持平, 这也就意味着高海拔人群对 EPO 水平有着较高的耐受性^[30]。同样, 目前对于 EPO 的遗传学研究仅限于生理改变上的描述, 对于其基因的研究并没有深入, 所知仅仅是在 *EPO* 基因的 D7S477 位置上找到一个 3434 C>T 的 SNP 序列与 EPO 的水平升高有关^[31]。

4 线粒体氧化呼吸链相关基因

线粒体氧化呼吸中的氧化磷酸化作为机体供能的主要途径, 其过程与氧气水平息息相关。1994 年有关高原人群线粒体 DNA 分析的研究指出, 高原人群与普通低海拔人群相比具有 50% 以上的特异性线粒体 DNA, 证实线粒体 DNA 的变异可能是影响高原适应性的重要因素之一^[32]。2011 年, Luo 等^[8] 研究发现藏族人群和汉族人群在 nt3010G 和 nt3970C 位点有显著区别。随后在线粒体 DNA 上发现了另外两个突变位点 3397A/G 和 3552T/A。通过实验发现, HAPE 患者的 3397G 和 3552A 显著高于对照

组^[33]。2013 年 Luo 等^[34] 提出线粒体 DNA 应该作为高原适应性的一个新的突破点。

5 肌肉结构改变相关基因

在高原环境下, 恶劣的环境气候产生的过量的活性氧 (ROS) 会导致肌肉退化和脂褐质的积累, 而这一现象在高原人群中却非常少见^[35]。Gelfi 等^[35] 通过对高低海拔人群的肌肉组织的研究确定了 7 个具有显著差异的调节蛋白, 其中谷胱甘肽-S-转移酶 P1-1 (GSTP1-1) 在藏族人群中明显增高, 并且在不同海拔居住的藏族人群中增高程度不同, 磷酸变位酶、NADH-泛醌氧化还原酶、 Δ^2 -烯脂酰辅酶 A 水合酶、肌红蛋白在高海拔人群中具有明显的上升改变, 甘油醛-3-磷酸脱氢酶和乳酸脱氢酶略有下调。目前为止, 尚没有相关的研究进一步分析是否存在差异性的等位基因。

6 NO 代谢相关基因

NO 曾被认为是内皮源型舒张因子 (sEDRP), 1987 年 Palmer 等^[36] 确认其本质是 NO。在生理情况下血管内皮细胞可产生内皮衍化舒张因子和内皮衍化收缩因子, 调节血管舒缩, 血管内皮细胞产生的 NO 通过细胞膜迅速传递至血管平滑肌细胞, 使平滑肌松弛, 动脉血管扩张, 从而调节血压和血流分布。内源性 NO 调节血管内皮生长, 触发血管活性物质, 促进血管生长与再生。血管内皮细胞产生的 NO 在生理、病理情况下均有保持血管内皮细胞完整性的作用。NO 在体内具有很强的舒张血管作用。实验证明, NO 作为一种强有力的脑血管扩张剂, 参与脑血管基本张力的调节^[37]。在 1996 年和 1998 年分别有研究报道通过吸入 NO 可改善高原性肺水肿的症状, 提高血氧饱和度并降低肺动脉压^[38-39]。随后 NO 在扩张血管、改善血流量、提高氧交换率等方面的作用在高原地区得以广泛研究。2010 年 Beall 等^[9] 汇总了大量文献后指出, 藏区高海拔人群的 NO 水平比低海拔人群高 2 倍; 健康的低海拔人群到高原后, 会迅速地发生 NO 水平降低, 但在 48 h 内会恢复到正常水平, 而后逐渐升高并超出正常值; 反之, 高原不适应人群的 NO 水平会持续降低。

NO 产生的关键酶是 eNOS, eNOS 编码基因的转录已被证实是被 EPAS1 表达的 HIF2 与 heNOS

启动子上的两个相邻的 HRE 位点的相互作用诱导的^[40]。Yi 等^[17]的研究也显示 EPAS1 可能增强 eNOS 的表达,并最终导致 NO 水平的升高。在另一项关于肺水肿患者的 eNOS 的研究中提出 eNOS 与 HIF2A 的关系^[41]。

7 其他与高原适应性相关的基因

尽管现在所提出的关于高原适应性的基因有很多,但本文仅重点介绍了几个较为突出与常见的基因。目前还发现其他一些基因在高海拔人群和低海

拔人群中具有较大的差异,但尚不能确切证实其影响高原适应的机制。常见的基因除了前文中重点提及的 EPAS1、EGLN1、HBB、HBG2、PPRA、eNOS 以外,还有 CAMK2D、HMOX2、PKLR、EDNRA、CYP17A1、ANGPTL4、PIK3R1、ADRB2 等众多基因(表 1)。这些基因在 2010—2012 年间在多项研究中被涉及到。其中有些已经被证实与高原适应性具有直接关系,而大多数尚处于空白阶段。在后续的研究中,我们期待能找到更多、更准确的证据来证实高原适应性的关键基因。

表 1 其他与高原适应性相关的基因

Tab 1 Other genes related to high altitude adaption

Gene	Related study								Variable site
	Simonson et al ^[5]	Beall et al ^[15]	Yi et al ^[16]	Bigham et al ^[18]	Peng et al ^[17]	Xu et al ^[11]	Wang et al ^[47]	Stobdan et al ^[1]	
EPAS1/HIF2A	★	★	★	★	★	★	★		rs13419896(A); rs4953354(G); rs1868092(A)
EGLN1/PHD2	★		★	★	★	★	★		rs2275279(T); rs2790859(T); rs961154(T); rs186996510(C)
PPARA	★		★						rs6520015(T); rs7292407(C); rs9627403(A)
HBB and HBG2	★								
HMOX2	★				★				
PKLR	★		★						
CAMK2D	★								
EDNRA	★								
PTEN	★								
CYP17A1	★								
CYP2E1	★								
ANGPTL4	★								
TGFBR3					★				
GCH1					★				
PIK3R1					★				
EPO								★	D7S477
CYP11B2								★	T-344C; A5160C
ADRB2								★	A46G; G79C
NOS3								★	Glu298Asp; G894T; 27-base-pair4b/4a; T-786C; A-922G

★ indicating the genes included in the related study

此外,目前的大多数研究集中在高低海拔人群的基因变异上,主要是一些 SNP 的研究,但也有人提出了从基因拷贝数变异(CNV)的角度来分析高原适应性。该研究对 29 名藏民进行检测,发现了 139 个基因拷贝数变异区(CNVRs),其中 14 个是新发现的。但是这些 CNV 中并没有找到相同的变异,仅仅能够指出的是,目前所发现的各种高原相关变异基因如 *EPAS1*、*EGLN1*、*ANGPT1*、*PPARA* 等都与此 139 个 CNVRs 重叠,藏民具有独特的 CNVRs,并与其婴儿的高存活率、皮肤色泽以及抗紫外线损伤有关^[42]。这也给我们进一步研究高原适应性提供了崭新的策略。

8 临床应用

大量的研究已经证实,在高海拔地区和低海拔地区人群间某些基因存在明显的差异,这些基因已被证实与 HIF 通路、造血和氧代谢有关,为进一步研究高原适应性打下了深厚的分子生物学基础。目前的高原性疾病分为急性高原性疾病(如 HAPE、HACE)和慢性高原性疾病(如高原性心脏病、高原性高血压)等,无论哪种疾病都已被证实和基因的多样性存在莫大的关系^[43-44]。

HAPE 的发生和众多基因有关,例如肾素-血管紧张素-醛固酮系统,在血管紧张素 II (Ang II) 的刺激下醛固酮合成酶生成醛固酮,而醛固酮合成酶又受到 *CYP11B2* 基因调节,醛固酮的升高又将导致肺动脉压的改变,最终诱导形成 HAPE^[45];同样,缺氧诱导途径也发挥了重要的作用,前面所介绍的 *EPAS1* 和 *EGLN1* 都在该过程中扮演了重要的角色^[30];而 NO、VEGF 等与 HAPE 的产生也密不可分^[45]。所以 HAPE 的产生和发生所涉及的基因众多,包括前文提及的 *EPAS1*、*EGLN1*、*CAMK2D*、*PPARA*、*EPO*、*NOS3*、*CYP11B2* 等。这些基因在不同的诱导途径中调节各种物质,最终引起机体的病理性改变而诱发 HAPE。

HACE 同样与血管紧张素和缺氧诱导途径有关,所涉及的基因和 HAPE 相近,其中 *VEGF* 和 *ANGPTL4* 基因作用尤为突出,前者主要在缺氧的情况下诱导血管生成,增加血管通透性,进而导致脑水肿^[46-47],后者可以在缺氧的环境下抑制 *VEGF* 的表达,从而降低血管内皮细胞的增殖和迁移,减少血管

渗漏,从而降低脑水肿的发生率^[48]。

与急性高原性疾病相对应的慢性高原性疾病则常常发生在高原原住民或者是高原上的长期工作者身上,这些人往往会出现不同程度的高血红蛋白、高原性高血压或者高原性心脏病。除了前面提到的 *EGLN1* 和 *EPAS1* 在缺氧诱导中的关键作用以外^[49],在最近一项研究中又发现了两个关键的基因 *SENP1* 和 *ANP32D*,前者和红细胞生成调节有关,后者是一个癌基因。通过该研究发现,在果蝇身上将这两个基因的同源基因下调能有效提高其在缺氧条件下的存活率,进而表明它在缺氧耐受中能起到重要的调节作用^[44]。

9 未来展望

高原适应性相关的基因学研究揭示了高原性自然环境选择的独特性,有利于我们从遗传学的角度深入理解人类高原适应性的形成机制,对于我们加深对高原疾病发生机制的理解以及治疗和避免高原性疾病的发生提供了新的研究思路和策略。有必要整合目前所发现的所有高原适应性研究的相关基因的分子机制和生理基础,将研究重心放在这些基因的变异是否有助于改善高原反应、提高高原适应性,以及是否有利于治疗急性或慢性高山病,例如 HAPE、HACE 等。同时,进一步的研究也可以筛选出对于高海拔环境不适应的人群,避免其进入高海拔地区而发生危险,或通过临床靶向干预减轻其高原反应的危险程度。

10 利益冲突

所有作者声明本文不涉及任何利益冲突。

[参考文献]

- [1] Stobdan T, Karar J, Pasha M A. High altitude adaptation: genetic perspectives[J]. High Alt Med Biol, 2008, 9:140-147.
- [2] Schoene R B. Illnesses at high altitude[J]. Chest, 2008, 134:402-416.
- [3] Martin D S, Levett D Z, Grocott M P, Montgomery H E. Variation in human performance in the hypoxic mountain environment[J]. Exp Physiol, 2010, 95: 463-470.
- [4] Beall C M. Two routes to functional adaptation: Tibetan

- and Andean high-altitude natives[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2007, 104: 8655-8660.
- [5] Simonson T S, Yang Y, Huff C D, Yun H, Qin G, Witherspoon D J, et al. Genetic evidence for high-altitude adaptation in Tibet[J]. *Science*, 2010, 329: 72-75.
- [6] Brutsaert T D. Population genetic aspects and phenotypic plasticity of ventilatory responses in high altitude natives[J]. *Respir Physiol Neurobiol*, 2007, 158: 151-160.
- [7] Hu C J, Wang L Y, Chodosh L A, Keith B, Simon M C. Differential roles of hypoxia-inducible factor 1alpha (HIF-1alpha) and HIF-2alpha in hypoxic gene regulation[J]. *Mol Cell Biol*, 2003, 23: 9361-9374.
- [8] Luo Y, Gao W, Liu F, Gao Y. Mitochondrial nt3010G-nt3970C haplotype is implicated in high-altitude adaptation of Tibetans[J]. *Mitochondrial DNA*, 2011, 22: 181-190.
- [9] Beall C M, Laskowski D, Erzurum S C. Nitric oxide in adaptation to altitude[J]. *Free Radic Biol Med*, 2012, 52: 1123-1134.
- [10] Ji L D, Qiu Y Q, Xu J, Irwin D M, Tam S C, Tang N L, et al. Genetic adaptation of the hypoxia-inducible factor pathway to oxygen pressure among Eurasian human populations[J]. *Mol Biol Evol*, 2012, 29: 3359-3370.
- [11] Xu S, Li S, Yang Y, Tan J, Lou H, Jin W, et al. A genome-wide search for signals of high-altitude adaptation in Tibetans[J]. *Mol Biol Evol*, 2011, 28: 1003-1011.
- [12] Patel S A, Simon M C. Biology of hypoxia-inducible factor-2alpha in development and disease[J]. *Cell Death Differ*, 2008, 15: 628-634.
- [13] Luo G, Gu Y Z, Jain S, Chan W K, Carr K M, Hogensch J B, et al. Molecular characterization of the murine HIF-1 alpha locus[J]. *Gene Expr*, 1997, 6: 287-299.
- [14] Wenger R H, Gassmann M. Oxygen(es) and the hypoxia-inducible factor-1[J]. *Biol Chem*, 1997, 378: 609-616.
- [15] O'Rourke J F, Tian Y M, Ratcliffe P J, Pugh C W. Oxygen-regulated and transactivating domains in endothelial PAS protein 1: comparison with hypoxia-inducible factor-1alpha[J]. *J Biol Chem*, 1999, 274: 2060-2071.
- [16] Beall C M, Cavalleri G L, Deng L, Elston R C, Gao Y, Knight J, et al. Natural selection on EPAS1 (HIF2alpha) associated with low hemoglobin concentration in Tibetan highlanders[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2010, 107: 11459-11464.
- [17] Yi X, Liang Y, Huerta-Sanchez E, Jin X, Cuo Z X, Pool J E, et al. Sequencing of 50 human exomes reveals adaptation to high altitude[J]. *Science*, 2010, 329: 75-78.
- [18] Bigham A, Bauchet M, Pinto D, Mao X, Akey J M, Mei R, et al. Identifying signatures of natural selection in Tibetan and Andean populations using dense genome scan data[J]. *PLoS Genet*, 2010, 6: e1001116.
- [19] Peng Y, Yang Z, Zhang H, Cui C, Qi X, Luo X, et al. Genetic variations in Tibetan populations and high-altitude adaptation at the Himalayas[J]. *Mol Biol Evol*, 2011, 28: 1075-1081.
- [20] Kobayashi N, Hanaoka M, Droma Y, Ito M, Katsuyama Y, Kubo K, et al. Polymorphisms of the tissue inhibitor of metalloproteinase 3 gene are associated with resistance to high-altitude pulmonary edema (HAPE) in a Japanese population: a case control study using polymorphic microsatellite markers[J]. *PLoS One*, 2013, 8: e71993.
- [21] Ou L C, Salceda S, Schuster S J, Dunnack L M, Brink-Johnsen T, Chen J, et al. Polycythemic responses to hypoxia: molecular and genetic mechanisms of chronic mountain sickness[J]. *J Appl Physiol (1985)*, 1998, 84: 1242-1251.
- [22] Bursaux E. [Affinity of hemoglobin for oxygen and tolerance to hypoxia][J]. *Poumon Coeur*, 1975, 31: 183-186.
- [23] Hiebl I, Braunitzer G, Schneegans D. The primary structures of the major and minor hemoglobin-components of adult Andean goose (*Chloephaga melanoptera*, Anatidae): the mutation Leu---Ser in position 55 of the beta-chains[J]. *Biol Chem Hoppe Seyler*, 1987, 368: 1559-1569.
- [24] Beall C M, Strohl K P, Blangero J, Williams-Blangero S, Decker M J, Brittenham G M, et al. Quantitative genetic analysis of arterial oxygen saturation in Tibetan highlanders[J]. *Hum Biol*, 1997, 69: 597-604.
- [25] Beall C M, Strohl K P, Blangero J, Williams-Blangero S, Decker M J, Brittenham G M, et al. Percent of oxygen saturation of arterial hemoglobin among Bolivian Aymara at 3,900-4,000 m[J]. *Am J Phys Anthropol*, 1999, 8: 41-51.
- [26] 董宏彬, 洪欣, 聂鸿靖, 肖忠海, 何贵祥, 黑沙汉, 等. 高原世居藏族 α , β 珠蛋白编码基因的克隆与测序[J]. *中国应用生理学杂志*, 2005, 21: 196-199.
- [27] Scheinfeldt L B, Soi S, Thompson S, Ranciaro A, Woldemeskel D, Beggs W, et al. Genetic adaptation to high altitude in the Ethiopian highlands[J]. *Genome Biol*, 2012, 13: R1.
- [28] Xiang K, Ouzhuluobu, Peng Y, Yang Z, Zhang X, Cui

- C, et al. Identification of a Tibetan-specific mutation in the hypoxic gene EGLN1 and its contribution to high-altitude adaptation[J]. *Mol Biol Evol*, 2013, 30: 1889-1898.
- [29] Ge R L, Witkowski S, Zhang Y, Alfrey C, Sivieri M, Karlsen T, et al. Determinants of erythropoietin release in response to short-term hypobaric hypoxia[J]. *J Appl Physiol*, 2002, 92: 2361-2367.
- [30] Hanaoka M, Droma Y, Basnyat B, Ito M, Kobayashi N, Katsuyama Y, et al. Genetic variants in EPAS1 contribute to adaptation to high-altitude hypoxia in sherpas [J]. *PLoS One*, 2012, 7: e50566.
- [31] Jedlickova K, Stockton D W, Chen H, Stray-Gundersen J, Witkowski S, Ri-Li G, et al. Search for genetic determinants of individual variability of the erythropoietin response to high altitude [J]. *Blood Cells Mol Dis*, 2003, 31: 175-182.
- [32] Torroni A, Miller J A, Moore L G, Zamudio S, Zhuang J, Droma T, et al. Mitochondrial DNA analysis in Tibet: implications for the origin of the Tibetan population and its adaptation to high altitude[J]. *Am J Phys Anthropol*, 1994, 93: 189-199.
- [33] Luo Y, Gao W, Chen Y, Liu F, Gao Y. Rare mitochondrial DNA polymorphisms are associated with high altitude pulmonary edema (HAPE) susceptibility in Han Chinese[J]. *Wilderness Environ Med*, 2012, 23: 128-132.
- [34] Luo Y, Yang X, Gao Y. Mitochondrial DNA response to high altitude: a new perspective on high-altitude adaptation[J]. *Mitochondrial DNA*, 2013, 24: 313-319.
- [35] Gelfi C, De Palma S, Ripamonti M, Eberini I, Wait R, Bajracharya A, et al. New aspects of altitude adaptation in Tibetans; a proteomic approach[J]. *FASEB J*, 2004, 18: 612-614.
- [36] Palmer R M, Ferrige A G, Moncada S. Nitric oxide release accounts for the biological activity of endothelium-derived relaxing factor[J]. *Nature*, 1987, 327: 524-526.
- [37] McPherson R W, Kirsch J R, Ghaly R F, Traystman R J. Effect of nitric oxide synthase inhibition on the cerebral vascular response to hypercapnia in primates[J]. *Stroke*, 1995, 26: 682-687.
- [38] Scherrer U, Vollenweider L, Delabays A, Saveic M, Eichenberger U, Kleger G R, et al. Inhaled nitric oxide for high-altitude pulmonary edema[J]. *N Engl J Med*, 1996, 334: 624-629.
- [39] Anand I S, Prasad B A, Chugh S S, Rao K R, Cornfield D N, Milla C E, et al. Effects of inhaled nitric oxide and oxygen in high-altitude pulmonary edema[J]. *Circulation*, 1998, 98: 2441-2445.
- [40] Coulet F, Nadaud S, Agrapart M, Soubrier F. Identification of hypoxia-response element in the human endothelial nitric-oxide synthase gene promoter [J]. *J Biol Chem*, 2003, 278: 46230-46240.
- [41] Lorenzo V F, Yang Y, Simonson T S, Nussenzweig R, Jorde L B, Prchal J T, et al. Erratum to: genetic adaptation to extreme hypoxia; study of high-altitude pulmonary edema in a three-generation Han Chinese family [J]. *Blood Cells Mol Dis*, 2010, 44: 198.
- [42] Zhang Y B, Li X, Zhang F, Wang D M, Yu J. A preliminary study of copy number variation in Tibetans[J]. *PLoS One*, 2012, 7: e41768.
- [43] 周文婷, 胡 扬. 急性高原病的遗传易感性[J]. *遗传*, 2013, 35: 141-150.
- [44] Zhou D, Udpa N, Ronen R, Stobdan T, Liang J, Appenzeller O, et al. Whole-genome sequencing uncovers the genetic basis of chronic mountain sickness in Andean highlanders [J]. *Am J Hum Genet*, 2013, 93: 452-462.
- [45] Luo Y, Zou Y, Gao Y. Gene polymorphisms and high-altitude pulmonary edema susceptibility; a 2011 update [J]. *Respiration*, 2012, 84: 155-162.
- [46] Hirooka T, Yamamoto C, Yasutake A, Eto K, Kaji T. Expression of VEGF-related proteins in cultured human brain microvascular endothelial cells and pericytes after exposure to methylmercury [J]. *J Toxicol Sci*, 2013, 38: 837-845.
- [47] Dohgu S, Yamauchi A, Takata F, Naito M, Tsuruo T, Higuchi S, et al. Transforming growth factor-beta1 up-regulates the tight junction and P-glycoprotein of brain microvascular endothelial cells[J]. *Cell Mol Neurobiol*, 2004, 24: 491-497.
- [48] Goodin J L, Pizarro-Matos J M, Prasad B M, Seiter T J, Weaver C R, Muza S R, et al. Evaluating the molecular basis for acute mountain sickness: hypoxia response gene expression patterns in warfighters and murine populations[J]. *Mil Med*, 2013, 178: 1256-1263.
- [49] Wang B, Zhang Y B, Zhang F, Lin H, Wang X, Wan N, et al. On the origin of Tibetans and their genetic basis in adapting high-altitude environments[J]. *PLoS One*, 2011, 6: e17002.