

• 综 述 •

缺氧诱导因子 HIF-2 α 和 HIF-1 α 在血管生成调控中的差别*

夏 宇¹综述, 江丽霞^{2 Δ} 审校

(1. 赣南医学院 2015 级研究生班, 江西赣州 341000; 2. 赣南医学院第一附属医院, 江西赣州 341000)

关键词: 缺氧诱导因子-1 α ; 缺氧诱导因子-2 α ; 血管内皮生长因子; Notch; 血管生成**DOI:** 10.3969/j.issn.1672-9455.2017.12.063 **文献标志码:** A **文章编号:** 1672-9455(2017)12-1838-03

恶性肿瘤在生长过程中, 由于组织增生过快必然会造成局部组织严重缺氧, 实体肿瘤形成过程中一个关键步骤就是对缺氧的适应。肿瘤的缺氧适应主要由缺氧诱导因子(HIF)调节, HIFs 通过诱导、调控血管生成相关基因, 如血管内皮生长因子(VEGF)、Notch 等的表达从而促进血管生成, 是肿瘤实现缺氧适应最重要的方式之一。HIF 是由 α 亚基和 β 亚基组成的异源二聚体。虽然 HIF-1 α 和 HIF-2 α 有着 42% 的相同氨基酸序列, 但许多研究表明二者在血管生成调控中存在差别, HIF-1 α 主要调控血管新生, 而 HIF-2 α 主要调控血管功能性成熟。本文就 HIF-1 α 、HIF-2 α 在血管生成调控中存在的差别综述如下。

1 缺氧诱导因子的结构及其调控机制

氧是细胞代谢、信号转导等的关键基质, 氧与多细胞生物的存活及正常生理功能密切相关。而缺氧是生理过程以及诸如恶性肿瘤等病理情况下的一个基本特征, 维持氧稳态最重要的分子机制是通过 HIF 诱导相关基因的表达从而介导细胞对缺氧的适应性反应。HIF 是 1992 年由 Semenza 和 Wang 首先发现的^[1], HIF 家族主要有 3 种亚型, 分别是 HIF-1、HIF-2 及 HIF-3, 其中参与调节细胞适应性缺氧的主要是 HIF-1 和 HIF-2。3 种 HIF 均是由一个独特的 α 亚基和一个 β 亚基[芳香烃受体核转位蛋白(ARNT)]形成的异源二聚体转录因子, 均含有相同的 HIF-1 β 亚基^[2], HIF-1 α 、HIF-2 α 、HIF-3 α 及 HIF-1 β 均具有哺乳动物基本的碱性螺旋-环-螺旋(bHLH)和 PAS(PRE-ARNT-SIM)结构, 属于 bHLH-PAS 家族^[3]。HIF 的 α 亚基是功能性和活性亚基, 被氧高度调节, β 亚基是结构性亚基, 不受氧调节。机体在正常氧浓度下, HIF 会不断的表达和降解, 使其在组织或细胞内表达量维持在较低水平, 而在缺氧的条件下则会稳定^[4]。常氧状态下, HIF 的降解主要依赖于脯氨酰羟化酶(PHD)对存在于 α 亚基中的脯氨酸残基的羟基化, 以及通过 pVHL 与泛素连接酶形成复合物, 通过泛素途径降解 α 亚基。一旦机体氧浓度降低, α 亚单位逃脱降解, 并移入核内, 与位于细胞核内的 ARNT(HIF-1 β)形成异源二聚体进而激活目的基因的转录, 发挥其生物活性^[2,5]。

生理情况下, 当机体的组织或细胞所处环境的氧浓度下降时, HIF-1 α 和 HIF-2 α 表达增加从而介导细胞对缺氧的适应性反应, 以维持机体的内环境稳态, 如促进胚胎发育^[6], 改变细胞能量代谢方式^[7], 促进小肠对铁的吸收^[8]等。同时, HIF-1 α 和 HIF-2 α 也在恶性肿瘤细胞的缺氧性适应中发挥着重要的生物

学作用, 由于肿瘤组织在生长过程中增生过快必然会造成局部组织严重缺氧, HIF 可通过诱导肿瘤血管生成, 改变细胞能量代谢等相关基因的表达从而实现肿瘤细胞的缺氧适应。已有大量研究发现 HIF-1 α 、HIF-2 α 在大多数实体瘤如肾癌、宫颈癌、膀胱癌、乳腺癌、神经胶质瘤等组织中高表达^[9], 并且通过调节肿瘤血管生成等使得肿瘤组织适应因细胞过度生长而导致的缺氧微环境, 对肿瘤的生长、侵袭有着重要的作用^[1,10-11]。尽管 HIF-1 α 、HIF-2 α 在肿瘤的发展中均有重要的作用, 但研究发现二者的具体作用机制是不同的, 且 HIF-1 α 、HIF-2 α 在调控病理性血管生成的具体作用也是存在差异的^[12]。目前临床上已经开始应用抗血管生成来靶向治疗肿瘤, 而 HIF-1 α 和 HIF-2 α 作为参与调控实体瘤血管生成的最重要的分子, 理解清楚二者在血管生成调节中的不同作用及其分子机制对靶向抑制血管生成治疗肿瘤具有十分重要的意义。

2 HIF-1 α 和 HIF-2 α 在血管生成过程中的作用差别

恶性肿瘤组织在生长的过程中也需要获得充足的氧以及对代谢产物进行清除, 以维持肿瘤的生长、增殖, 在这过程中, 最主要的就是通过调节血管的新生与功能重塑的方式而实现^[13]。在正常生理情况下, 由于促进血管生成的分子和抑制血管生成的分子的产生是平衡的, 因此成人的血管都是处于相对静止的状态^[13]。而在实体瘤中, 一旦组织周围已经存在血管提供的氧和营养物质不能满足肿瘤生长的需求, 肿瘤则会诱导新生血管形成。新生血管的发生机制主要有从已经存在的血管网中以出芽方式生成新的血管、血管祖细胞的分化、把已经存在的血管分割成更小的血管 3 个方面^[13], 其中以出芽方式生成新的血管是血管生成的主要方式, 刺激血管生成的分子如 VEGF 激活已存在于血管中的内皮细胞, 由于内皮细胞是一种具有高度可塑性的细胞, 因此在缺氧或 VEGF 的刺激下可以迅速从静止细胞转向具有生长活性的细胞进而形成血管^[14]。肿瘤的血管生成主要由 HIF 诱导, 虽然 HIF-1 α 和 HIF-2 α 结构高度相似, 但从许多方面比较来看二者都存在差别, 比如, 在脐带中, HIF-1 α 多表达于血管周围的平滑肌细胞中, 而 HIF-2 α 则多表达在内皮细胞中^[9]。且越来越多的研究表明二者调控的靶基因也是不同的, 在内皮细胞中, CXCR4 基因由 HIF-1 α 调控, 主要参与内皮细胞的迁移、增殖以及血管的出芽^[9], 而与血管功能成熟相关的 Notch 配体 Dll4 主要由 HIF-2 α 调控, 有研究表明在小鼠内皮细胞特异性敲除 HIF-2 α 后, 结果发现小鼠体内缺血的肌肉以及肿瘤组织内新生血管的

* 基金项目: 江西省自然科学基金资助项目(20132BAB205101); 赣南医学院研究生创新项目(YC2016-X004)。

 Δ 通信作者, E-mail: jlx7310@163.com。

数量增加,然而这些血管不能够有效重塑,因此整体血管区域是减少的,组织缺氧也是增加的,且这一效应与在肿瘤组织中抑制 Dll4/Notch 通路活性后产生的效应是一样的,进一步说明 HIF-2 α 特异性调控 Notch 配体 Dll4 从而促进血管的功能成熟^[12]。由此可见 HIF-1 α 和 HIF-2 α 在血管生成中的调控作用是互补且不重叠的。目前有关 HIF-1 α 和 HIF-2 α 在血管生成调控中的差别主要有以下 3 个方面。

2.1 HIF-1 α 和 HIF-2 α 在调控 Notch 信号影响血管生成中的差别 Notch 是一种高度保守的信号通路,Notch 家族由 4 种 Notch 受体(Notch1、Notch2、Notch3、Notch4)、5 种 Notch 配体(Jag1、Jag2、Dll1、Dll2、Dll3、Dll4)组成^[15],其激活方式是通过与膜结合的配体和邻近细胞上的 Notch 受体相互作用。在缺氧的微环境下,Notch 信号是增强的,其中包括细胞内的 Notch1 受体结构域可通过直接和 HIF 蛋白相互作用而稳定,近期的研究表明 HIF 还参与调控 Notch 配体 Jag2、Dll4 的表达,而这两种配体在肿瘤组织中的血管生成、发展中具有重要的作用^[16]。在 Notch 调控血管生成的过程中,新生血管管腔的形成主要依赖于 Dll4/Notch 信号通路的激活,Dll4 通过激活邻近细胞的 Notch 信号从而抑制 VEGFR-2 的表达和尖端细胞的形成^[11,14],防止内皮细胞过度出芽,同时保证新生血管管腔的形成,促进血管功能性成熟,进而使血管功能重塑;另一方面,表达于柄细胞上的 Jag 配体和 Notch1 结合会抑制 Dll4 的活性,从而维持尖端细胞对于 VEGF 刺激的敏感性,使之向外迁移形成新的分枝使得新生血管的数量不断增加^[11]。研究发现,在内皮细胞中,特异性敲除 HIF-2 α 后,Dll4 的表达明显受到抑制,而在敲除 HIF-1 α 后,对 Dll4 的表达仅产生了微弱的影响^[12];通过抑制葡萄膜黑色素瘤细胞中的 HIF-1 α ,结果发现 Notch 配体中 Jag2 的表达下降,说明 HIF-1 α 主要通过 Jag2 配体影响 Notch 活性^[15],从而促进血管出芽不断形成新的分枝。因此 HIF-1 α 和 HIF-2 α 在调控 Notch 配体从而影响血管生成中的作用是存在差别的,HIF-1 α 主要影响的是 Jag 配体,使新生血管的数目增加,而 HIF-2 α 影响的是 Dll4 配体,在血管的功能性成熟中具有重要的作用,只有血管新生且功能性成熟才能形成大量的功能正常的血管,从而为不断增殖的肿瘤组织提供氧及营养物质维持其生长,且肿瘤的血管生成也是实体瘤播散、转移的主要途径,由此可见,HIF-2 α 可通过促进肿瘤的血管功能性成熟形成具有功能的血管从而促进肿瘤的生长、侵袭及转移。

2.2 HIF-1 α 和 HIF-2 α 在调控 VEGF 影响血管生成中的差别 VEGF 是肿瘤刺激血管生长的主要细胞因子之一^[17],其包括 5 个家族成员:VEGFA,VEGFB,VEGFC,VEGFD 以及 PIGF^[18]。人 VEGF 基因位于染色体 6P12-P21 区,由 7 个内含子及 8 个外显子组成,长约 14 kb。VEGF 与 VEGF 受体(VEGFR)结合后能磷酸化自身细胞内蛋白质的酪氨酸,增加钙离子内流,活化磷脂酶 C,使细胞内磷酸肌醇水平增高,直接刺激内皮细胞增殖,促进血管生成^[17]。VEGF 是 HIF 最主要的靶基因,利用药物抑制 VEGF 已被证明是一种强有效的治疗肿瘤的方法。在缺氧的肿瘤微环境中,虽然 HIF-1 α 和 HIF-2 α 均可诱导 VEGF 家族相关基因的表达,影响血管生成从而调控肿瘤细胞对低氧的适应,如在动物缺血的后肢模型中,HIF-1 α 通过增加 VEGF 等细胞因子的分泌从而调控动物对缺

血反应的适应^[4],然而许多研究表明,HIF-2 α 更易与 VEGF 的启动子结合,与 VEGF mRNA 的表达高度相关^[9,17],而且在鼠肝脏血管瘤中,VEGF 及其他和血管生成相关的基因表达主要由 HIF-2 α 调控,在直肠肿瘤中,与选择性敲除 HIF-1 α 相比,敲除 HIF-2 α 后更能引起 VEGF 浓度的下降^[9];在神经母细胞瘤中,VEGF mRNA 的表达紧跟着 HIF2A(编码 HIF-2 α)基因表达之后^[19],进一步说明在很多肿瘤组织中 VEGF 的表达主要由 HIF-2 α 调控。由此可以看出,和 HIF-1 α 相比,HIF-2 α 对 VEGF 表达的调控作用更强,且在促进肿瘤的发生、发展中有更重要的作用,因此在许多类型的肿瘤中,HIF-2 α 将是更具有重要意义的治疗靶点。

2.3 不同缺氧浓度下,HIF-1 α 和 HIF-2 α 在血管生成调控中的作用差别 在缺氧的环境下,组织中 HIF-1 α 和 HIF-2 α 的表达均增加,而正常氧浓度下 HIF-1 α 、HIF-2 α 则会迅速降解。虽然 HIF-1 α 和 HIF-2 α 对缺氧反应的机制相似,但大量研究表明二者在不同的缺氧时间及不同氧浓度下的表达及功能具有差别。例如在神经母细胞瘤细胞中,HIF-1 α 主要表达在缺氧的早期,而在长期的缺氧过程中主要是 HIF-2 α 的表达升高,并伴随着 VEGF 的表达升高,说明在长期缺氧的状态下组织血管生成主要由 HIF-2 α 诱导^[20]。研究发现,HIF-2 α 在氧浓度为 2%~5%的环境下表达更多,而 HIF-1 α 则在氧浓度为 0%~2%浓度下表达更多^[20],说明二者功能上的不同可能与氧浓度的不同有关,如将人肺动脉内皮细胞暴露在不同的氧浓度(20%O₂、10%O₂、5%O₂),结果发现在缺氧情况下,内皮细胞增殖显著增加,并且发现在 5%氧浓度下,HIF-1 α 和 HIF-2 α 的表达均增加,而 10%氧浓度下只检测到 HIF-2 α 的表达升高^[21],说明在组织中中度缺氧的情况下,内皮细胞的增殖及血管生成主要由 HIF-2 α 诱导。由此可见,根据组织缺氧时间和缺氧程度的不同,参与调控内皮细胞增殖的 HIF 分子也不尽相同,可以根据组织的缺氧程度和缺氧时间选择不同的治疗靶标从而更有效地调控血管的生成。

3 结语与展望

由于 HIF 在恶性肿瘤的生长、侵袭和转移有着十分重要的作用,因此 HIF 一直是研究者关注的热点,HIF 家族由 α 亚基和 β 亚基组成,它们在对缺氧的应答中相互作用,使组织适应缺氧的微环境。虽然 HIF-1 α 、HIF-2 α 在基因序列上有明显的同源性,很多研究发现他们在肿瘤的进展中发挥重要但不同的作用。HIF-1 α 是研究最为广泛的亚型,被认为与肿瘤的侵袭性相关,但近年来越来越多的研究表明,HIF-2 α 与肿瘤的关系更为密切。与 HIF-1 α 相比,HIF-2 α 更易与 VEGF 的启动子结合、且可通过调控 Notch 配体 Dll4 的表达促进血管重塑、功能性成熟从而促进恶性肿瘤的生长、侵袭及转移。因此在肿瘤的针对性治疗上,HIF-2 α 可能是更有意义的靶点。

参考文献

- [1] 江丽霞,施桥发,施少华,等. 缺氧诱导因子-2 α 在子宫颈癌组织中的表达及临床意义[J]. 检验医学,2012,27(10):819-821.
- [2] Nordgren IK, Tavassoli A. Targeting tumour angiogenesis with small molecule inhibitors of hypoxia inducible factor [J]. Chem Soc Rev, 2011, 40(8): 4307-4317.

- [3] Wu DL, Potluri N, Lu JP, et al. Structural integration in hypoxia-inducible factors[J]. *Nature*, 2015, 524(7565): 303-308.
- [4] Hashimoto T, Shibasaki F. Hypoxia-Inducible factor as an angiogenic master Switch[J]. *Front Pediatr*, 2015, 3(1): 33-38.
- [5] Higashijima Y, Tanaka T, Nangaku M. Structure-based drug design for hypoxia-inducible factor prolyl-hydroxylase inhibitors and its therapeutic potential for the treatment of erythropoiesis-stimulating agent-resistant anemia: raising expectations for exploratory clinical trials[J]. *Expert Opin Drug Discov*, 2013, 8(8): 965-976.
- [6] Koeblitz L, Fiechtner B, Baus K, et al. Developmental expression and hypoxic induction of hypoxia inducible transcription factors in the zebrafish[J]. *PLoS One*, 2015, 10(6): e0128938.
- [7] Schönenberger MJ, Kovacs WJ. Hypoxia signaling pathways: modulators of oxygen-related organelles[J]. *Front Cell Dev Biol*, 2015, 3(1): 42-49.
- [8] Shah YM, Xie L. Hypoxia-inducible factors Link Iron homeostasis and erythropoiesis[J]. *Gastroenterology*, 2014, 146(3): 630-642.
- [9] Zhao J, Du F, Shen G, et al. The role of hypoxia-inducible factor-2 in digestive system cancers[J]. *Cell Death Dis*, 2015, 6(1): e1600.
- [10] Xiong J, Zhu FF, Nie MF. Hypoxia-inducible factor-2 α (HIF-2 α) mediates the effects of hypoxia on the promotion of HeLa cell viability, colony formation, and invasion capacity in vitro[J]. *Genet Mol Res*, 2015, 14(2): 3281-3292.
- [11] 韦忠红, 汪思亮, 盛晓波, 等. 出芽式肿瘤血管生成的分子调控机制[J]. *中国药理学通报*, 2013, 29(9): 1196-1200.
- [12] Skuli N, Majmundar AJ, Krock BL, et al. Endothelial HIF-2 α regulates murine pathological angiogenesis and revascularization processes[J]. *J Clin Invest*, 2012, 122(4): 1427-1443.
- [13] Rivera LB, Bergers G. Intertwined regulation of angiogenesis and immunity by myeloid cells[J]. *Trends Immunol*, 2015, 36(4): 240-249.
- [14] De Bock K, Georgiadou M, Carmeliet P. Role of endothelial cell metabolism in vessel sprouting[J]. *Cell Metab*, 2013, 18(5): 634-647.
- [15] Wu Z, Rowe GR, Lim KC, et al. A snail1/notch1 signaling axis controls embryonic vascular development[J]. *Nat Commun*, 2014, 5(9): 3998-4005.
- [16] Pietras A, Von Stedingk K, Lindgren DA, et al. JAG2 induction in hypoxic tumor cells alters notch signaling and enhances endothelial cell tube formation[J]. *Mol Cancer Res*, 2011, 9(5): 626-636.
- [17] Asnaghi L, Lin MH, Lim KS, et al. Hypoxia promotes uveal melanoma invasion through enhanced Notch and MAPK activation[J]. *PLoS One*, 2014, 9(8): e105372.
- [18] 张丽霞, 胡有长, 施桥发, 等. HIF-2 α , VEGF 在子宫颈鳞癌组织中的表达及其临床意义[J]. *中国组织化学与细胞化学*, 2014, 23(4): 313-318.
- [19] Wei K, Piecewicz SM, McGinnis LM, et al. A liver Hif-2 α -Irs2 pathway sensitizes hepatic insulin signaling and is modulated by Vegf inhibition[J]. *Nat Med*, 2013, 19(10): 1331-1338.
- [20] Hamidian A, Von Stedingk K, Thoren MM, et al. Differential regulation of HIF-1 α and HIF-2 α in neuroblastoma: Estrogen-related receptor α (ERR α) regulates HIF2A transcription and correlates to poor outcome[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2015, 461(3): 560-567.
- [21] Ahmad A, Ahmad S, Malcolm KC, et al. Differential regulation of pulmonary vascular cell growth by Hypoxia-Inducible transcription factor-1 α and Hypoxia-Inducible transcription factor-2 α [J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2013, 49(1): 78-85.

(收稿日期: 2017-02-15 修回日期: 2017-04-01)

• 综 述 •

ERCP 术后胰腺炎的预防策略: 药物与技术

郑 朝 综述, 孟宪志[△]审校

(哈尔滨医科大学附属第一医院微创胆道外科, 哈尔滨 150001)

关键词: 经内镜逆行胰胆管造影术; 胰腺炎; 支架; 药物**DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2017.12.064 文献标志码: A 文章编号: 1672-9455(2017)12-1840-04**

经内镜逆行胰胆管造影术(ERCP)于1968年首次报道,随着内镜技术的发展和进步,其在胆、胰疾病诊治中的作用愈发重要,但其相关的急性胰腺炎、出血、穿孔、感染等一系列并发

症却限制了其广泛应用,其中ERCP术后胰腺炎(PEP)为最常见、最严重的并发症,文献报道其发病率为1%~10%,高危患者发病率为30%^[1]。大多数患者ERCP术后并发急性胰腺炎

[△] 通信作者, E-mail: mengxianzhi@sina.com。