

文章编号: 1004-0374(2011)08-0753-09

缺氧诱导因子-1和缺氧诱导因子-2: 结构、功能及调节

姚青¹, 李筠¹, 张鹏¹, 卢玲^{1*}, 段存明^{1,2}

(1 中国海洋大学医药学院分子医学生物学实验室, 青岛 266003; 2 Department of Molecular, Cellular and Developmental Biology, University of Michigan, Ann Arbor, Michigan 48109)

摘要: 缺氧诱导因子-1(HIF-1)和缺氧诱导因子-2(HIF-2)是细胞应对缺氧时关键的转录因子, 在生物体生理及病理过程中有重要的作用。HIF由一个 α 亚基和一个 β 亚基组成二聚体。在蛋白水平上, HIF的稳定性及转录活性受到多种机制的调控, 除为人所熟知的 O_2 /PHDs/pVHL降解途径及FIH-1羟基化作用外, 分别针对HIF-1 α 和HIF-2 α 的特异性调控机制也相继被报道。从HIF-1 α 和HIF-2 α 的蛋白结构、稳定性调控、转录激活功能以及两者在细胞代谢、肿瘤发生中的作用等方面对两者的相似性和差异性进行综述。

关键词: HIF-1 α ; HIF-2 α ; 调控; 转录活性; 细胞代谢; 肿瘤发生

中图分类号: R318.04; Q786; R730.23

文献标志码: A

Hypoxia inducible factor (HIF)-1 and -2: structure, function, and regulation

YAO Qing¹, LI Yun¹, ZHANG Peng¹, LU Ling^{1*}, DUAN Cun-Ming^{1,2}

(1 School of Medicine and Pharmacy, Ocean University of China, Qingdao 266003, China; 2 Department of Molecular, Cellular and Developmental Biology, University of Michigan, Ann Arbor, Michigan 48109, USA)

Abstract: Hypoxia inducible factor-1 (HIF-1) and HIF-2 are crucial transcription factors mediating cellular response to hypoxia, which play important roles in a variety of physiological and pathological states in organisms. HIF proteins compose of an oxygen-dependent α -subunit and a constitutively expressed β -subunit. The levels of HIF- α , ranging from gene transcription to protein stability, is regulated by several mechanisms. Among these regulatory mechanisms, the O_2 /PHDs/pVHL degradation pathway and FIH-1 mediating hydroxylation are well investigated and understood. Recent reports suggest that other factors also regulate the levels of HIF- α . Some of these factors are unique to HIF-1 α or HIF-2 α . In this review, we compare and contrast the commonalities and differences of HIF-1 α and HIF-2 α in protein structure, regulation of protein stability, and function. Furthermore, we summarize the known biological actions of HIF, including their roles in cellular metabolism and tumor genesis.

Key words: HIF-1 α ; HIF-2 α ; regulation; transcriptional activity; cellular metabolism; tumor genesis

缺氧是一种常见的生理和病理现象。在胚胎发育时期处于快速增殖的细胞和肿瘤组织中快速生长的细胞中都能观察到缺氧现象的存在。为了应对缺氧胁迫, 生物有机体形成了一系列的调节机制, 例如通过增加葡萄糖酵解途径补充缺氧状态下由于氧化磷酸化的降低而造成的能量不足等。在多种调节途径中, 缺氧诱导因子 (hypoxia-inducible factors, HIFs) 是最主要的能够应答细胞内氧气浓度的降低而对多种基因进行调控的转录因子家族, 与生物体的生长、发育及一些疾病的发病机理都存在着密切

的关系。研究表明, HIF由 α 亚基和 β 亚基组成具有转录活性的异源二聚体。其中 α 亚基严格受到氧气浓度调控, 是HIF的调节亚基, 而 β 亚基则持续性表达。因此, 对HIF的研究主要集中在HIF- α , 哺乳动物一共存在三种HIF- α 亚基 (HIF-1 α 、

收稿日期: 2011-02-28; 修回日期: 2011-04-22

基金项目: 国家自然科学基金项目(30970357)

*通信作者: E-mail: linglu@ouc.edu.cn; Tel: 0532-82032957

HIF-2 α 和HIF-3 α),其中HIF-1 α 和HIF-2 α 是研究较多和较深入的^[1-4]。本文将针对HIF-1 α 和HIF-2 α 的结构和功能,对两者的蛋白稳定性调节、靶基因转录激活功能以及生物学效应等方面的异同进行阐述。

1 HIF-1 α 和HIF-2 α 的结构

HIF- α 亚基属于碱性螺旋-环-螺旋(basic-helix-loop-helix, bHLH)-PAS(Per/ARNT/Sim, PAS)超家族^[5]。HIF-1 α 蛋白含826个氨基酸残基, HIF-2 α 蛋白则含有869个氨基酸残基(图1)。在N-端,两者均含有bHLH、PAS-A和PAS-B结构域,同源性分别为99%、91%和96%^[6-7]。这些结构域可介导 α 亚基与 β 亚基形成二聚体并最终与靶基因增强子或启动子上的缺氧反应元件(hypoxia response element, HRE; 5'-RCGTG-3')结合。在C-端, HIF-1 α 和HIF-2 α 同样都具有保守的功能结构域,包括氧依赖的降解结构域(oxygen-dependent degradation domain, ODD)、两个转录激活结构域(N-terminal activation domain, NAD和C-terminal activation domain, CAD)^[3-4]。研究表明, NAD是HIF-1 α 和HIF-2 α 特异性调节不同靶基因时起主导作用的结构域^[8],而CAD的主要功能是在缺氧条件下富集转录辅助激活因子,如p300/CBP^[3,9]。HIF-1 α 的NAD和CAD之间576~785位氨基酸为抑制结构域(ID), ID能够降低该蛋白转录激活结构域的活性,在常氧时这种抑制作用更明显^[10], HIF-2 α 中是否也存在这样的结构域目前还未见文献报道。由于HIF-1 α 和HIF-2 α 是转录因子,因此,对它们的亚细胞定位研究也已取得了一定的进展。这两个蛋白中均存在一簇有功能的核定位信号(nuclear localization signal, NLS),使其在缺氧时能够特异性定位于细胞核内。两者的NLS都由富含碱性氨基酸(Lys和Arg)的片

段组成,但具体氨基酸组成及序列长短都不相同(HIF-1 α NLS: RKRKMEHDGSLFQAVGIGTLLQQP DDHAATTSLSWKR; HIF-2 α NLS: KRQLEYEKQAFQDPSGGDPPGGSTSHLMWKR)^[11-12]。

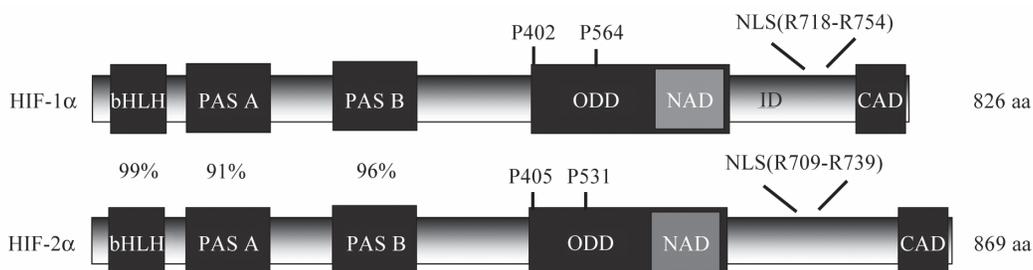
2 HIF-1 α 和HIF-2 α 表达的调节

2.1 O₂/PHDs/pVHL途径

常氧时, HIF-1 α 和HIF-2 α 的半衰期都非常短,在细胞中处于不断被合成和降解的过程。当氧气浓度降低时(通常为 $\leq 2\%O_2$), HIF- α 亚基的氧依赖降解途径被抑制^[13-14]。在HIF-1 α 和HIF-2 α 的氧依赖降解结构域中有两个特殊的脯氨酸残基(HIF-1 α 中为Pro402和Pro564; HIF-2 α 为Pro405和Pro531)能够被脯氨酸羟化酶(prolyl hydroxylase, PHD)识别并羟基化。被羟基化的HIF- α 与肿瘤抑制蛋白(von Hippel-Lindau protein, pVHL)结合, pVHL复合体能够富集elongin-C/elongin-B/cullin-2 E3泛素连接酶,最终使HIF- α 由26S蛋白酶体介导降解^[2-4,14](图2A)。在该降解途径中, PHD是起关键作用的酶,该种羟化酶是利用氧气和2-酮戊二酸作为底物,亚铁离子和抗坏血酸盐作为共作用因子的双加氧酶。哺乳动物中一共存在4种PHD成员(PHD1、PHD2、PHD3和P4H-TM),细胞体外实验表明, PHD1和PHD3更倾向于调节HIF-2 α ;而PHD2在调节HIF-1 α 方面更占优势, PHD2在体内是HIF-1 α 降解的关键限速酶^[1,5]。

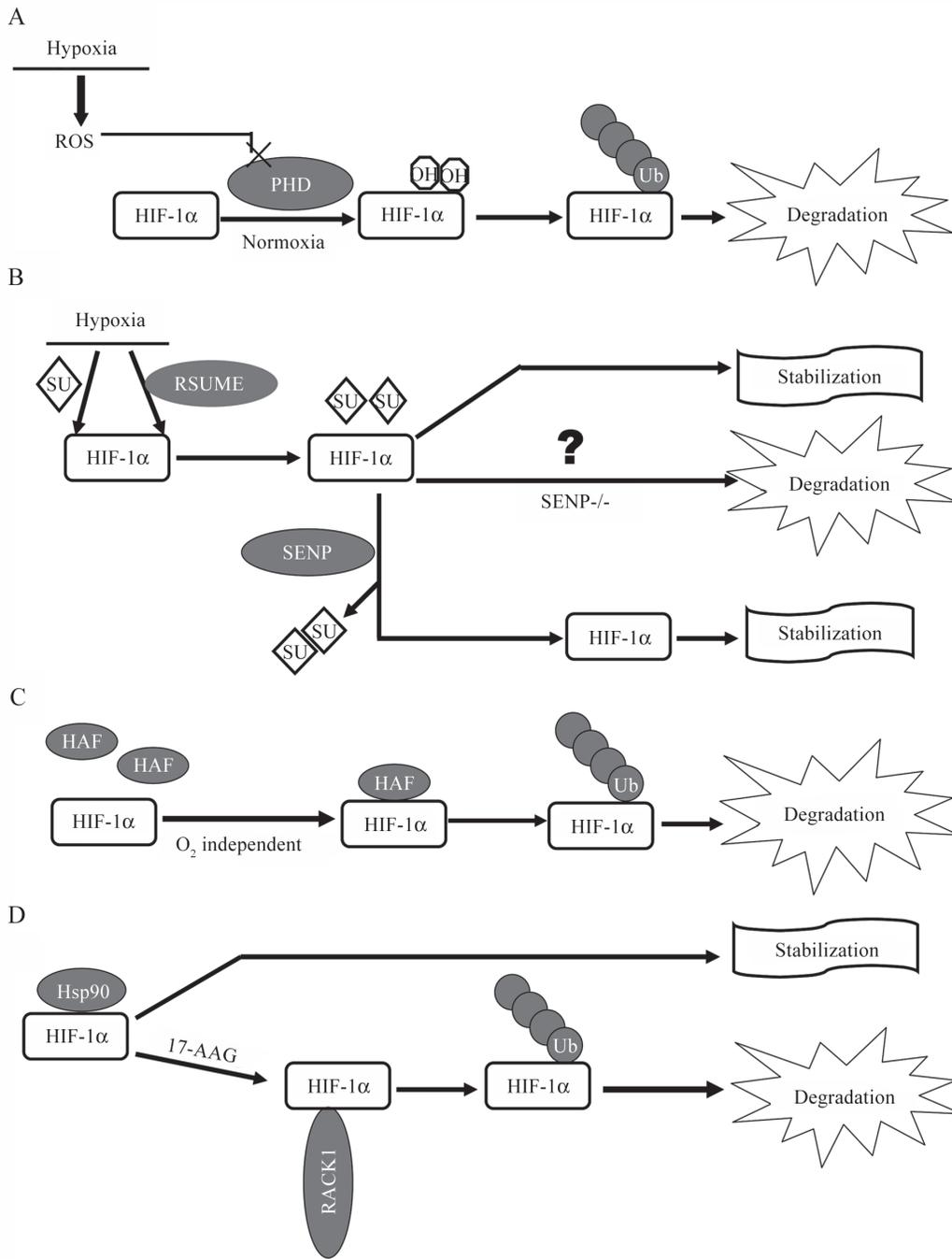
2.2 SUMO

SUMO(small ubiquitin-related modifier)化修饰与蛋白的泛素化的修饰较为类似,是近几年研究的热点。HIF- α 是SUMO修饰的靶蛋白之一。然而,根据现有的文献报道, HIF- α 的SUMO修饰对其稳定性是正调控还是负调控还没有一致的结论(图2B)。2004年, Shao等^[15]首次报道了缺氧可以上



bHLH、PASA、PASB、ODD、NAD、ID、CAD分别为两个蛋白的功能结构域; NLS为蛋白的核定位信号

图1 HIF-1 α 和HIF-2 α 的结构对比示意图



A: O₂/PHDs/pVHL途径: 常氧时, HIF-1α被PHD羟基化, 由pVHL复合体介导泛素化蛋白酶体降解; 缺氧时, PHD活性受到抑制, HIF-1α稳定并得以积累。**B:** SUMO化修饰对HIF-1α的调控: 缺氧时SUMO-1可以结合至HIF-1α, RSUME也可通过增强HIF-1α的SUMO化使其稳定性增强; 而SENP可通过对HIF-1α去SUMO化增强其稳定性。**C:** HAF可以作为E3连接酶与HIF-1α结合引起HIF-1α泛素化, 并最终经蛋白酶体途径降解。**D:** Hsp90与HIF-1α结合可增强其蛋白稳定性, 当Hsp90抑制剂17-AAG存在时, RACK1将Hsp90替换, 介导HIF-1α经泛素蛋白酶体降解。

图2 HIF-1α蛋白稳定性的调控途径

调成年小鼠脑部和心脏中 SUMO-1 的表达, 并检测到 SUMO-1 可以与 HIF-1α 结合, 推测 SUMO-1 能够增强 HIF-1α 蛋白的稳定性。HIF-1α 共存在两个

位点 (Lys391 和 Lys477) 可以被 SUMO-1 识别并修饰, 过表达 SUMO-1 使 HIF-1α 的蛋白稳定性增强^[16]。2007年, RSUME(RWD-containing sumoylation enhancer)

被证明可以受缺氧上调并且促进 HIF-1 α 的 SUMO 化。缺氧状态下, 沉默编码 RSUME 的基因使得内源性 HIF-1 α 的稳定性降低, 进一步说明 SUMO 可正调控 HIF-1 α 的表达^[17]。然而, 也有其他的研究小组报道 SUMO 修饰可负调控 HIF-1 α 的蛋白稳定性。SENP(Sentrin/SUMO-specific proteases) 是一种可对已被 SUMO 化修饰的蛋白去 SUMO 化的作用因子。相对于正常的 MEF 细胞系, Cheng 等^[18] 观察到只有在缺失 SENP1 的 MEF 细胞系中 HIF-1 α 才能被 SUMO 修饰, 并且被 SUMO 修饰的 HIF-1 α 经泛素蛋白酶体降解, 而当 SENP1 存在时, HIF-1 α 被去 SUMO 化进而使该蛋白的稳定性增强。该实验结果与之前的报道并不是一致的, 推测原因是, 之前的研究中过表达 SUMO 时没有沉默 SENP1 的基因表达, 于是 SENP1 使得 SUMO 化的 HIF-1 α 再被去 SUMO 化, 而去 SUMO 化的 HIF-1 α 蛋白稳定性增强得到积累^[16,18]。若这种解释是合理的, 那么 SUMO 化修饰对 HIF-1 α 的稳定性调控可能是负性的, 这有待于更多的实验加以验证。对于 HIF-2 α SUMO 修饰的研究也有报道, HIF-2 α 的 Lys394 能够被 SUMO 结合, RNF4 和 pVHL 能够介导 SUMO 修饰的 HIF-2 α 经蛋白酶体降解, 从这一实验结果看, SUMO 化修饰对 HIF-2 α 的稳定性调控是负性的^[19]。

2.3 缺氧相关因子

Koh 等^[20] 发现缺氧相关因子 (hypoxia-associated factor, HAF) 可以作为一种新的 E3 连接酶与 HIF-1 α 结合, 引起 HIF-1 α 泛素化并最终经蛋白酶体途径降解 (图 2C)。HAF 介导 HIF-1 α 的降解不依赖细胞内 O₂/PHD/pVHL 途径, 缺氧时 HAF 依然能够启动降解。HAF 的调节作用特异性针对 HIF-1 α , 无论是降解或是过表达 HAF 都没有引起 HIF-2 α 蛋白水平的变化^[20]。

2.4 ARD1介导的乙酰化

乙酰化也是常见的蛋白翻译后修饰方式, HIF-1 α ODD 中第 532 位的赖氨酸可被乙酰转移酶 ARD1 (arrest defective1) 乙酰化, 该酶为酵母与低等真核细胞蛋白 N-乙酰转移酶的同系物^[21-22]。被乙酰化的 HIF-1 α 与 pVHL 蛋白复合体的结合增强, HIF-1 α 最终通过泛素蛋白酶体的途径而降解^[23]。对于 HIF-2 α 的稳定性是否也会受到乙酰化修饰的调控目前还未见报道。

2.5 热休克蛋白

热休克蛋白 90(heat shock protein 90, Hsp90) 和热休克蛋白 70(Hsp70) 也能对 HIF-1 α 的稳定性产生

调控。Hsp90 能与 HIF-1 α 的 PAS 结构域结合而起到稳定 HIF-1 α 的作用, 在缺失 pVHL 的细胞系中 Hsp90 的特异性抑制剂 (17-AAG) 能够诱导 HIF-1 α 经蛋白酶体降解, 该降解机制需依赖于 RACK1 (receptor for activated C-kinase 1) 蛋白 (图 2D)。RACK1 将 Hsp90 替换后通过增强 HIF-1 α 与 E3 连接酶的结合而促进其通过泛素蛋白酶体降解的发生^[24-25]。Hsp70 可增强 HIF-1 α 与一种新的 E3 连接酶——CHIP(carboxyl terminus of Hsp70-interacting protein) 的结合而启动泛素蛋白酶体降解途径, 并且这种调节选择性作用于 HIF-1 α ^[26]。2010 年, Bento 等^[27] 的研究也进一步证明了 Hsp70/CHIP 的调节作用。在缺氧状态下, 细胞中丙酮醛的大量积累会增强 HIF-1 α 的降解, 这一过程是由 Hsp70/CHIP 介导的。

2.6 其他

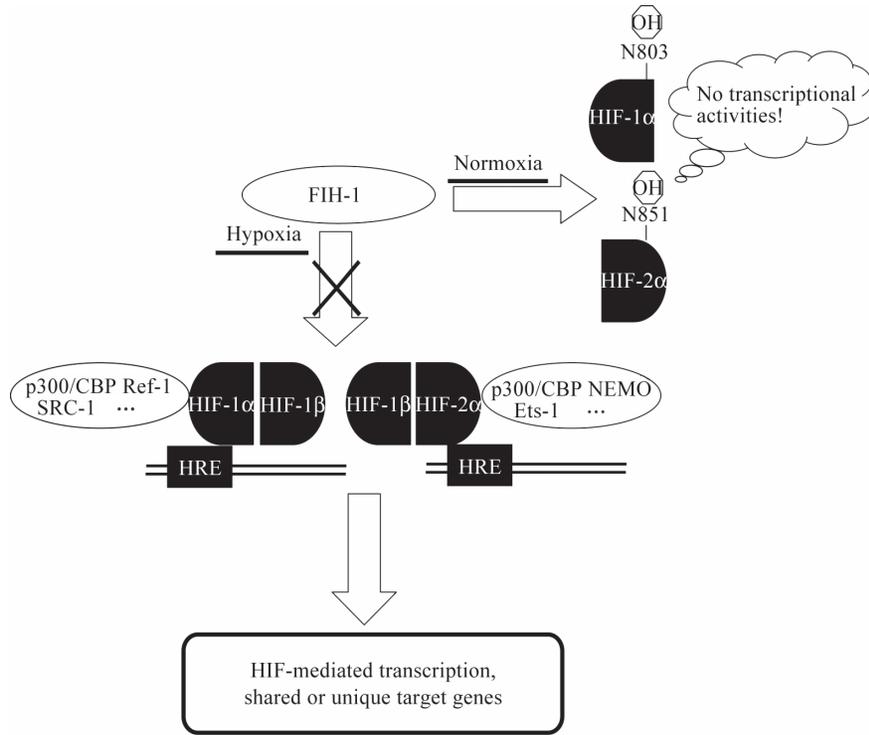
除上述途径外, HIF-1 α 蛋白的稳定性调控还存在其他不同的机制。例如在巨噬细胞中 HIF-1 α 第 533 位 Cys 的 S-亚硝基化可增强该蛋白的稳定性^[28]; c-Jun 也被报道能够通过 HIF-1 α 的 ODD 结构域的结合而阻止 HIF-1 α 泛素化降解途径^[29]。

3 HIF-1 α 和HIF-2 α 的转录激活功能

3.1 HIF-1 α 和HIF-2 α 转录激活功能的调节途径

HIF- α 亚基的转录功能受到另一羟化酶的调节, 即天冬氨酸羟化酶, 通常又被称为 HIF-1 α 抑制因子 (factor-inhibiting HIF-1 α , FIH-1)。同 PHD 类似, FIH-1 的催化功能同样需要氧气和 2-酮戊二酸作为底物。常氧时, FIH-1 可以对人类 HIF-1 α 的 Asn803 和小鼠 HIF-2 α 的 Asn851 位点进行羟基化修饰, 阻止 HIF- α 的 CAD 结构域富集共激活因子 p300/CBP 进而抑制 HIF 的转录激活功能。而缺氧能抑制 FIH-1 的羟基化作用, 未被修饰的 HIF- α 便能够成功地富集 p300/CBP 及其他一些辅助因子并与 HIF- β 形成有转录活性的复合体^[4,6] (图 3)。此外, 磷酸化、去乙酰化等都能对 HIF- α 的转录功能进行调控。

p42/p44 有丝分裂激活蛋白激酶 (MAPK) 可以磷酸化 HIF-1 α 和 HIF-2 α 并显著上调它们的转录活性^[30-31]。HIF-1 α 的 Thr796 和 HIF-2 α 的 Thr844 是受该磷酸化作用修饰的位点, 并且蛋白转录活性的上调是由于磷酸化加强了 CAD 的结构域和转录辅助激活因子 CBP 的结合能力^[32]。另外, p42/p44 MAPK 也能够磷酸化 HIF-1 α 的 Ser641 和 Ser643, 通过阻止 HIF-1 α 的出核而增加 HIF-1 α 在核内的积累, 从而增强其转录活性^[33]。最新研究表明, 依



常氧时, FIH-1能对HIF-1 α 的N803和HIF-2 α 的N851进行羟基化修饰, 导致HIF- α 失去对转录共激活因子的富集功能而丧失转录活性。缺氧时, FIH-1的催化功能受到抑制, HIF-1 α 与HIF-2 α 能够分别富集特定的转录共激活因子并最终与HIF-1 β 形成有功能的转录复合物, 通过结合靶基因上的HRE启动基因的表达。

图3 HIF的转录活性调控

赖 ATM(ataxia-telangiectasia mutated) 的 HIF-1 α Ser696 的磷酸化可显著上调对其靶基因 REDD1 的转录活性^[34]。

Sirtuins 是一种依赖 NAD⁺ 的组蛋白去乙酰酶, 研究发现 Sirtuins 亦可对 HIF 的活性进行调控^[35]。缺氧时细胞内 NAD⁺ 的减少导致 Sirt1 活性降低, 间接升高 HIF-1 α 的乙酰化水平, 最终增强 HIF-1 α 对靶基因的转录激活, 可见 Sirt1 对 HIF-1 α 的去乙酰化修饰可以抑制其转录功能的发挥^[36]。HIF-2 α 同样也可以受 Sirt1 去乙酰化修饰, 但与 HIF-1 α 不同的是, HIF-2 α 经过 Sirt1 去乙酰化后, 增强了对靶基因 EPO 的转录调控作用^[37]。

在发挥转录激活功能时, HIF 与 HRE 的结合不足以启动靶基因的表达^[3]。 α 亚基中的 CAD 结构域对转录辅助激活因子的富集是必不可少的一步。p300/CBP 是 HIF-1 和 HIF-2 发挥转录功能时共同的辅助激活因子, 但细胞内还有其他辅助激活因子的存在^[4], 如 Ref-1(redox effector factor-1)^[38-39]、PARP1 (poly(ADP-ribose)polymerase 1)^[40]、SRC-1(steroid receptor coactivator-1) 等都被证明是 HIF-1 α 的转录辅助激活因子^[41]。而 ETS 转录因子家族中的 ETS-1^[42]、

Elk-1^[43]以及 NEMO(NF- κ B essential modulator)^[44] 等能够特异性地与 HIF-2 α 结合, 上调 HIF-2 α 的转录激活功能。

3.2 HIF-1 α 和HIF-2 α 的靶基因

HIF-1 α 和 HIF-2 α 结构类似, 都具备结合 HRE 而启动靶基因表达的能力。因此, 两者存在一些共同的靶基因, 如血管内皮细胞生长因子 (VEGF)、肾上腺髓质素 (ADM)、葡萄糖载体蛋白 1(GLUT1)、白细胞介素 6(IL-6)、脂肪细胞分化相关蛋白 (ADPR) 等^[7], 但近年来也有 HIF-1 α 和 HIF-2 α 能够特异性调节不同的靶基因的报道^[4,45]。

在 786-O 和 HEK293 细胞系的体外研究发现, HIF-1 α 可以特异性上调糖酵解酶的表达, 如醛缩酶 A(ALDA)、醛缩酶 C(ALDC)、烯醇化酶 1(ENO1)、己糖激酶 1(HK1)、己糖激酶 2 (HK2)、乳酸脱氢酶 A(LDHA)、磷酸果糖激酶 L(PFKL)、磷酸甘油酸激酶 1(PGK1) 和 3-磷酸甘油醛脱氢酶 (GAPDH), 而 HIF-2 α 对此并不起作用^[22,45-46]。胰岛素样生长因子 II (IGF- II)、内皮素 -1(ET-1)、血小板源性生长因子 (PDGF)、血红素氧合酶 -1(HO-1)、诱导型 NO 合酶 (iNOS) 等均是 HIF-1 的特异性靶基因^[10,22]。近

几年,又有一些新的 HIF-1 α 的靶基因被陆续发现。胰岛素样生长因子结合蛋白-1(IGFBP-1)在缺氧情况下能够被上调, HIF-1 α 是该反应的诱导因子^[47]。ANKRD37 是一种相对分子质量很小的锚定蛋白,在哺乳动物和斑马鱼中较为保守,其具体功能目前还不是很明确。Benita 等^[48]综合计算机分析和实验手段发现 ANKRD37 是 HIF-1 α 新的靶基因。

相比于 HIF-1 α , HIF-2 α 也能够对一些特定的靶基因进行调节。VEGF 受体-2(Flk-1)是胚胎形成早期原生血管系统生成中必不可少的因素, HIF-2 α 对 Flk-1 转录水平的调节发挥了特异性的作用。HIF-2 可以通过与 Ets-1 转录辅助激活因子形成复合体结合至 Flk-1 启动子上的 HRE^[42]。利用 RNA 干扰技术沉默 HIF-2 α 后发现, CITED2、WISP2 以及 IGFBP3 也是特异性受到 HIF-2 α 调控的靶基因^[43]。Oct-4 是在干细胞自我更新中起重要作用的转录因子, HIF-2 α 能够特异性结合到 Oct-4 启动子区域并诱导其表达^[49]。除此之外,细胞周期蛋白(cyclin D1)、转化生长因子 α (TGF- α)在 RCC 细胞系中主要受 HIF-2 α 的调控,促进肿瘤的生长^[50]。在 Kras 诱导的人类非小细胞肺癌细胞系(NSCLC)中, Mazumdar 等^[51]敲除 HIF-2 α 后抑癌基因 *Scgb3a1* 的表达量随之降低,最终导致肿瘤的发展,随后证明 *Scgb3a1* 是 HIF-2 α 的直接靶基因。骨骼肌纤维型转换(skeletal muscle fiber-type switching)过程中的相关基因是 HIF-2 α 的特异性靶基因,如 MyoHC1、Myoglobin、Calmodulin2 和 Troponin I 的 mRNA 水平受 HIF-2 α 的诱导上调, MyoHCIIb 的 mRNA 水平却受 HIF-2 α 的诱导下调^[52]。

4 HIF-1和HIF-2在生物体代谢调节及肿瘤发生等方面的功能比较与分析

由于 HIF 家族的重要性,对 HIF-1 和 HIF-2 功能上的差异进行比较和分析也是热门的研究领域。

4.1 细胞代谢

生物体在生长发育过程中要经历多条代谢途径才能满足自身能量的需求,其中葡萄糖代谢及脂类代谢无疑是能量生成的主要来源。

在氧气和葡萄糖浓度正常的情况下,细胞经过线粒体呼吸链及 TCA 循环产生 ATP;在缺氧时生物体不得不由有氧代谢转向无氧代谢以满足机体对能量代谢的需要。在这一过程中, HIF-1 通过直接对多种基因进行转录水平的调控而发挥重要的作用。一方面,它可上调参与糖酵解过程中多种酶的

mRNA 水平(见上述 3.2 节);另一方面,又可通过上调丙酮酸脱氢酶激酶(PDK-1)基因表达而抑制线粒体呼吸链^[53]。HIF-2 在葡萄糖代谢的途径中对上述基因没有正调控的效应。786-O WT-8 细胞系中只能检测到 HIF-2 α 的蛋白表达,将该细胞放置缺氧环境培养时,没有检测到 PGK-1、LDH 等基因的 mRNA 水平的升高,而过表达 HIF-1 α 能够显著上调上述基因的表达水平;而在另一 HIF-1 α 和 HIF-2 α 均正常表达的细胞系 RCC-4 中观察到 PGK-1 和 LDH 的表达量受缺氧而增多的现象^[45]。可见,在葡萄糖代谢途径中, HIF-1 是发挥主导功能的调控因子。

除葡萄糖代谢外,脂类通过氧化磷酸化分解也是重要的能量来源之一。HIF-2 参与了该代谢途径。肝脏特异性缺失 pVHL 的小鼠表现出脂肪肝的症状,主要是脂肪酸 β -氧化途径的破坏,脂肪合成基因表达的下降以及脂肪储存能力的增强。缺失 pVHL 会引起 HIF-1 α 和 HIF-2 α 的累积。Rankin 等^[54]发现,当敲除 HIF-1 α 时上述症状并没有得到改善;而敲除 HIF-2 α 后,脂肪肝的发生与发展明显受到抑制,推测在维持机体脂肪酸代谢平衡中 HIF-2 α 是起到主要调控作用的因子。

4.2 肿瘤

基于对人类肿瘤组织切片样本及动物模型的分析发现, HIF 在肿瘤的发生及发展过程中起到了非常重要的作用。在人类膀胱癌、乳腺癌、结肠癌、肝癌、卵巢癌、胰腺癌、前列腺癌及肾癌中都能检测到 HIF-1 α 和 HIF-2 α 的高表达^[13,55]。在肿瘤发生的各个阶段, HIF-1 和 HIF-2 通过调节不同的靶基因发挥功能,包括血管生成、增殖、肿瘤干细胞等多个方面^[2]。

VEGF 作为促血管生成的众多因子之一,在许多类型的肿瘤组织中都有表达,不同的肿瘤细胞系或是动物模型实验均表明, HIF-1 α 和 HIF-2 α 可通过促进 VEGF 的表达而引起肿瘤的生长^[50,56-57]。然而,大量实验表明,在不同的组织中 VEGF 的表达同 HIF-2 较为一致,在成血管细胞瘤、非小叶细胞肺癌、嗜铬细胞瘤、膀胱癌中 HIF-2 均优先 HIF-1 诱导 VEGF 表达^[7,58]。HIF-1 也可不通过 VEGF 的作用而促进成胶质细胞瘤中的血管形成。HIF-1 可诱导肿瘤细胞中基质衍生因子 1 α (SDF1 α)的表达,而 SDF1 α 可通过募集骨髓衍生细胞(bone marrow-derived cells, BMDC)刺激新生血管的形成^[59]。

肿瘤的发生和发展是一个细胞不断增殖的过程,在缺失 pVHL 的肾癌细胞中, Raval 等^[50]发现

HIF-1 α 和 HIF-2 α 对癌症的发生具有相反的作用。HIF-1 α 通过上调促细胞凋亡因子 BNip3 的表达延缓肿瘤的生长, 而 HIF-2 α 可上调 cyclin D1、TGF- α 及 VEGF, 促进癌症的生长。HIF-2 α 对肿瘤细胞的增殖调控作用还可通过 c-Myc 来实现。c-Myc 也是一种转录因子, 它可调节参与细胞增殖、葡萄糖代谢、细胞凋亡及细胞分化的多种基因的表达。在肾癌细胞系 (RCC)、人胚胎肾源细胞 (HEK293) 及胚胎干细胞中均发现 HIF-2 α 可以增强 c-Myc 的活性并促进肿瘤的生长^[4,60]。HIF-2 α 较 HIF-1 α 在肾透明细胞癌中有更明显的表达, 意味着 HIF-2 α 在肾透明细胞癌的发生发展中具有优势作用^[58]。

肿瘤干细胞 (cancer stem cells, CSC) 在促进肿瘤生长过程中有很重要的作用。根据 CSC 理论, 肿瘤被认为是由一小部分不断增殖的、能够自我更新和分化成异种肿瘤细胞的细胞发展而来。近几年研究发现, HIF 与 CSC 的维持也存在一定的关系^[55,61]。在常氧或缺氧状态下, HIF-2 α 以及受其特异性调控的靶基因 (Oct-4、Serp1B9) 的表达量在神经胶质瘤干细胞 (GSC) 中都显著高于非肿瘤干细胞; 而 HIF-1 α 在肿瘤干细胞及非肿瘤干细胞中的表达量并无明显差异, 提示 HIF-2 α 可能是 GSC 中起关键作用的因子, 对神经胶质瘤的生长具有重要的促进作用^[62]。Soeda 等^[63] 报道缺氧可以促进神经胶质瘤衍生干细胞的自我更新能力, 上调 HIF-1 α 能进一步促进这一能力。可见 CSC 在促进肿瘤的生长以及保持未分化表型等能力上对 HIF 活性的依赖性是不可缺少的, 但目前对于 HIF-1 α 和 HIF-2 α 在 CSC 中哪个起到更重要的作用尚无定论^[61]。

综上所述, HIF-1 α 和 HIF-2 α 结构类似, 但两者的功能并不是冗余的。两者除具有共同作用的靶基因外, 还有各自特异性作用的基因, 相应地表现为其生物学效应的差别。细胞缺氧时, 其代谢途径会发生改变, HIF-1 α 能够专一性地调节糖酵解相关酶基因的表达, 而 HIF-2 α 却在脂肪酸代谢过程发挥更重要的功能。在肿瘤中, 细胞增殖过快并且血管形成不足, 导致局部缺氧。因此, HIF-1 α 和 HIF-2 α 与肿瘤的发生和发展也密不可分, 但两者的作用并非一致, 如在一些类型的肿瘤细胞中 HIF-2 α 通过上调 VEGF 表达促进肿瘤组织血管生成的作用优于 HIF-1 α , 而 HIF-1 α 可不通过上调 VEGF 表达促进成胶质细胞瘤中的血管形成; 在肾癌细胞中 HIF-2 α 可通过上调 cyclin D1、TGF- α 以及 c-Myc 等促进肿瘤细胞的增殖, 而 HIF-1 α 却通过上调

BNip3 的表达延缓肿瘤的生长。

5 总结与展望

HIF-1 α 是最早被发现的 HIF 成员, 并且由于其表达谱的广泛性, 相对于其他两个成员得到了更多和更深入的研究, 但是近些年 HIF-2 α 研究也逐渐得到关注。虽然 HIF-2 α 的表达并不是普遍性的, 但它的功能不仅仅局限于内皮细胞, 在很多情况下它的作用可独立于 HIF-1 α , 说明 HIF-2 α 的重要性也不可忽视。在蛋白质水平上, 除经典的羟基化酶 (PHD、FHL-1) 对 HIF- α 的蛋白稳定性和转录活性进行调控外, 越来越多的文献报道了一些新的调节机制, 包括一些特异性只针对 HIF-1 α 或 HIF-2 α 的机制。而近几年越来越多的报道同样证实 HIF-1 α 或 HIF-2 α 在例如细胞代谢、肿瘤发生等生理及病理过程中发挥着相似、独立, 甚至是相反的功能。这些研究成果均表明, HIF-1 α 和 HIF-2 α 在功能上的独立性和差异性。

虽然目前针对 HIF 的蛋白稳定性、转录活性及其它们在疾病中的作用有较多的研究和报道, 但目前尚有较多的问题亟待探讨和解决, 主要有以下几个方面: (1) 从目前已有的报道可知 SUMO 修饰对 HIF-1 α 有显著的影响, 但是 HIF-1 α 的 SUMO 化究竟对其蛋白稳定性起到正调控还是负调控作用目前尚存在争议, 需要更多的实验加以证明。(2) HIF-2 α 的蛋白稳定性调控是否也受到除 O₂/PHDs/pVHL 途径外其他多种类型的调节。虽然有文献报道 SUMO 亦可对 HIF-2 α 进行修饰进而调节其稳定性, 但某些针对 HIF-1 α 的调节途径或是其他新的机制是否也可能对 HIF-2 α 产生影响值得进一步探讨。(3) 在一些疾病的发生过程中, HIF- α 的表达量往往发生改变以调控下游基因表达水平的变化, 但是由于 HIF-1 α 和 HIF-2 α 有各自特异性的靶基因, 导致两者在功能上产生差异。若要将 HIF 作为一些疾病, 如缺血症、癌症等的靶向位点, 需针对不同疾病设计出能够特异性激活或抑制不同 HIF- α 亚基的靶向药物。目前已有研究小组得到了能特异性抑制不同 HIF- α 亚基的化合物^[64-65], 为新药的设计和开发奠定了基础。

[参 考 文 献]

- [1] Fong GH, Takeda K. Role and regulation of prolyl hydroxylase domain proteins. *Cell Death Differ*, 2008, 15(4): 635-41
- [2] Majmundar AJ, Wong WJ, Simon MC. Hypoxia-inducible

- factors and the response to hypoxic stress. *Mol Cell*, 2010, 40(2): 294-309
- [3] Patel SA, Simon MC. Biology of hypoxia-inducible factor-2 α in development and disease. *Cell Death Differ*, 2008, 15(4): 628-34
- [4] Loboda A, Jozkowicz A, Dulak J. HIF-1 and HIF-2 transcription factors--similar but not identical. *Mol Cell*, 2010, 29(5): 435-42
- [5] 张彩彩, 朱依纯. 低氧诱导因子-1功能调节及其机制. *生理通讯*, 2008, 27(2): 43-6
- [6] Lisy K, Peet DJ. Turn me on: regulating HIF transcriptional activity. *Cell Death Differ*, 2008, 15(4): 642-9
- [7] 杨盛力, 张万广, 陈孝平, 等. 缺氧诱导因子-1与缺氧诱导因子-2同肿瘤关系的比较. *肝胆外科杂志*, 2007, 15(6): 471-4
- [8] Hu CJ, Sataur A, Wang L, et al. The N-terminal transactivation domain confers target gene specificity of hypoxia-inducible factors HIF-1 α and HIF-2 α . *Mol Biol Cell*, 2007, 18(11): 4528-42
- [9] Arany Z, Huang LE, Eckner R, et al. An essential role for p300/CBP in the cellular response to hypoxia. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1996, 93(23): 12969-73
- [10] 马玲, 金玉楠, 于艳秋. 缺氧诱导因子新进展. *解剖科学进展*, 2009, 15(2): 237-41
- [11] Kallio PJ, Okamoto K, O'Brien S, et al. Signal transduction in hypoxic cells: inducible nuclear translocation and recruitment of the CBP/p300 coactivator by the hypoxia-inducible factor-1 α . *EMBO J*, 1998, 17(22): 6573-86
- [12] Luo JC, Shibuya M. A variant of nuclear localization signal of bipartite-type is required for the nuclear translocation of hypoxia inducible factors (1 α , 2 α and 3 α). *Oncogene*, 2001, 20(12): 1435-44
- [13] Bertout JA, Patel SA, Simon MC. The impact of O₂ availability on human cancer. *Nat Rev Cancer*, 2008, 8(12): 967-75
- [14] Weidemann A, Johnson RS. Biology of HIF-1 α . *Cell Death Differ*, 2008, 15(4): 621-7
- [15] Shao R, Zhang FP, Tian F, et al. Increase of SUMO-1 expression in response to hypoxia: direct interaction with HIF-1 α in adult mouse brain and heart *in vivo*. *FEBS Lett*, 2004, 569(1-3): 293-300
- [16] Bae SH, Jeong JW, Park JA, et al. Sumoylation increases HIF-1 α stability and its transcriptional activity. *Biochem Biophys Res Commun*, 2004, 324(1): 394-400
- [17] Carbia-Nagashima A, Gerez J, Perez-Castro C, et al. RSUME, a small RWD-containing protein, enhances SUMO conjugation and stabilizes HIF-1 α during hypoxia. *Cell*, 2007, 131(2): 309-23
- [18] Cheng J, Kang X, Zhang S, et al. SUMO-specific protease 1 is essential for stabilization of HIF1 α during hypoxia. *Cell*, 2007, 131(3): 584-95
- [19] van Hagen M, Overmeer RM, Abolvardi SS, et al. RNF4 and VHL regulate the proteasomal degradation of SUMO-conjugated hypoxia-inducible factor-2 α . *Nucleic Acids Res*, 2009, 38(6): 1922-31
- [20] Koh MY, Darnay BG, Powis G. Hypoxia-associated factor, a novel E3-ubiquitin ligase, binds and ubiquitinates hypoxia-inducible factor 1 α , leading to its oxygen-independent degradation. *Mol Cell Biol*, 2008, 28(23): 7081-95
- [21] Tribioli C, Mancini M, Plassart E, et al. Isolation of new genes in distal Xq28: transcriptional map and identification of a human homologue of the ARD1 N-acetyl transferase of *Saccharomyces cerevisiae*. *Hum Mol Genet*, 1994, 3(7): 1061-7
- [22] 赵小祺, 王春光. 缺氧诱导因子-1研究进展. *河北北方学院学报: 医学版*, 2009, 26(5): 73-5
- [23] Jeong JW, Bae MK, Ahn MY, et al. Regulation and destabilization of HIF-1 α by ARD1-mediated acetylation. *Cell*, 2002, 111(5): 709-20
- [24] Liu YV, Baek JH, Zhang H, et al. RACK1 competes with HSP90 for binding to HIF-1 α and is required for O₂-independent and HSP90 inhibitor-induced degradation of HIF-1 α . *Mol Cell*, 2007, 25(2): 207-17
- [25] Liu YV, Semenza GL. RACK1 vs. HSP90: competition for HIF-1 α degradation vs. stabilization. *Cell Cycle*, 2007, 6(6): 656-9
- [26] Luo W, Zhong J, Chang R, et al. Hsp70 and CHIP selectively mediate ubiquitination and degradation of hypoxia-inducible factor (HIF)-1 α but not HIF-2 α . *J Biol Chem*, 2009, 285(6): 3651-63
- [27] Bento CF, Fernandes R, Ramalho J, et al. The chaperone-dependent ubiquitin ligase CHIP targets HIF-1 α for degradation in the presence of methylglyoxal. *PLoS One*, 2010, 5(11): e15062
- [28] Li F, Sonveaux P, Rabbani ZN, et al. Regulation of HIF-1 α stability through S-nitrosylation. *Mol Cell*, 2007, 26(1): 63-74
- [29] Yu B, Miao ZH, Jiang Y, et al. c-Jun protects hypoxia-inducible factor-1 α from degradation via its oxygen-dependent degradation domain in a nontranscriptional manner. *Cancer Res*, 2009, 69(19): 7704-12
- [30] Conrad PW, Freeman TL, Beitner-Johnson D, et al. EPAS1 trans-activation during hypoxia requires p42/p44 MAPK. *J Biol Chem*, 1999, 274(47): 33709-13
- [31] Richard DE, Berra E, Gothie E, et al. p42/p44 mitogen-activated protein kinases phosphorylate hypoxia-inducible factor 1 α (HIF-1 α) and enhance the transcriptional activity of HIF-1. *J Biol Chem*, 1999, 274(46): 32631-7
- [32] Gradin K, Takasaki C, Fujii-Kuriyama Y, et al. The transcriptional activation function of the HIF-like factor requires phosphorylation at a conserved threonine. *J Biol Chem*, 2002, 277(26): 23508-14
- [33] Mylonis I, Chachami G, Samiotaki M, et al. Identification of MAPK phosphorylation sites and their role in the localization and activity of hypoxia-inducible factor-1 α . *J Biol Chem*, 2006, 281(44): 33095-106
- [34] Cam H, Easton JB, High A, et al. mTORC1 signaling under hypoxic conditions is controlled by ATM-dependent phosphorylation of HIF-1 α . *Mol Cell*, 2010, 40(4): 509-20
- [35] Haigis MC, Guarente LP. Mammalian sirtuins--emerging roles in physiology, aging, and calorie restriction. *Genes Dev*, 2006, 20(21): 2913-21

- [36] Lim JH, Lee YM, Chun YS, et al. Sirtuin 1 modulates cellular responses to hypoxia by deacetylating hypoxia-inducible factor 1 α . *Mol Cell*, 2010, 38(6): 864-78
- [37] Dioum EM, Chen R, Alexander MS, et al. Regulation of hypoxia-inducible factor 2 α signaling by the stress-responsive deacetylase sirtuin 1. *Science*, 2009, 324(5932): 1289-93
- [38] Gray MJ, Zhang J, Ellis LM, et al. HIF-1 α , STAT3, CBP/p300 and Ref-1/APE are components of a transcriptional complex that regulates Src-dependent hypoxia-induced expression of VEGF in pancreatic and prostate carcinomas. *Oncogene*, 2005, 24(19): 3110-20
- [39] Ziel KA, Campbell CC, Wilson GL, et al. Ref-1/Ape is critical for formation of the hypoxia-inducible transcriptional complex on the hypoxic response element of the rat pulmonary artery endothelial cell VEGF gene. *FASEB J*, 2004, 18(9): 986-8
- [40] Elser M, Borsig L, Hassa PO, et al. Poly(ADP-ribose) polymerase 1 promotes tumor cell survival by coactivating hypoxia-inducible factor-1-dependent gene expression. *Mol Cancer Res*, 2008, 6(2): 282-90
- [41] Ruas JL, Poellinger L, Pereira T. Role of CBP in regulating HIF-1-mediated activation of transcription. *J Cell Sci*, 2005, 118(Pt 2): 301-11
- [42] Elvert G, Kappel A, Heidenreich R, et al. Cooperative interaction of hypoxia-inducible factor-2 α (HIF-2 α) and Ets-1 in the transcriptional activation of vascular endothelial growth factor receptor-2 (Flk-1). *J Biol Chem*, 2003, 278(9): 7520-30
- [43] Aprelikova O, Wood M, Tackett S, et al. Role of ETS transcription factors in the hypoxia-inducible factor-2 target gene selection. *Cancer Res*, 2006, 66(11): 5641-7
- [44] Bracken CP, Whitelaw ML, Peet DJ. Activity of hypoxia-inducible factor 2 α is regulated by association with the NF- κ B essential modulator. *J Biol Chem*, 2005, 280(14): 14240-51
- [45] Hu CJ, Wang LY, Chodosh LA, et al. Differential roles of hypoxia-inducible factor 1 α (HIF-1 α) and HIF-2 α in hypoxic gene regulation. *Mol Cell Biol*, 2003, 23(24): 9361-74
- [46] 袁源, 钟竑. 缺氧诱导因子-1结构及功能的研究进展. *现代生物医学进展*, 2010, 10(5): 961-3
- [47] Kajimura S, Aida K, Duan C. Understanding hypoxia-induced gene expression in early development: *in vitro* and *in vivo* analysis of hypoxia-inducible factor 1-regulated zebra fish insulin-like growth factor binding protein 1 gene expression. *Mol Cell Biol*, 2006, 26(3): 1142-55
- [48] Benita Y, Kikuchi H, Smith AD, et al. An integrative genomics approach identifies hypoxia inducible factor-1 (HIF-1)-target genes that form the core response to hypoxia. *Nucleic Acids Res*, 2009, 37(14): 4587-602
- [49] Covello KL, Kehler J, Yu H, et al. HIF-2 α regulates Oct-4: effects of hypoxia on stem cell function, embryonic development, and tumor growth. *Genes Dev*, 2006, 20(5): 557-70
- [50] Raval RR, Lau KW, Tran MG, et al. Contrasting properties of hypoxia-inducible factor 1 (HIF-1) and HIF-2 in von Hippel-Lindau-associated renal cell carcinoma. *Mol Cell Biol*, 2005, 25(13): 5675-86
- [51] Mazumdar J, Hickey MM, Pant DK, et al. HIF-2 α deletion promotes Kras-driven lung tumor development. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2010, 107(32): 14182-7
- [52] Rasbach KA, Gupta RK, Ruas JL, et al. PGC-1 α regulates a HIF2 α -dependent switch in skeletal muscle fiber types. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2010, 107(50): 21866-71
- [53] Zhong L, D'Urso A, Toiber D, et al. The histone deacetylase Sirt6 regulates glucose homeostasis via Hif1 α . *Cell*, 2010, 140(2): 280-93
- [54] Rankin EB, Rha J, Selak MA, et al. Hypoxia-inducible factor 2 regulates hepatic lipid metabolism. *Mol Cell Biol*, 2009, 29(16): 4527-38
- [55] Rankin EB, Giaccia AJ. The role of hypoxia-inducible factors in tumorigenesis. *Cell Death Differ*, 2008, 15(4): 678-85
- [56] Ryan HE, Lo J, Johnson RS. HIF-1 α is required for solid tumor formation and embryonic vascularization. *EMBO J*, 1998, 17(11): 3005-15
- [57] Carroll VA, Ashcroft M. Role of hypoxia-inducible factor (HIF)-1 α versus HIF-2 α in the regulation of HIF target genes in response to hypoxia, insulin-like growth factor-I, or loss of von Hippel-Lindau function: implications for targeting the HIF pathway. *Cancer Res*, 2006, 66(12): 6264-70
- [58] 史阳阳, 彭芝兰. 缺氧诱导因子2的研究进展. *华西医学*, 2008, 23(5): 1194-5
- [59] Du R, Lu KV, Petritsch C, et al. HIF1 α induces the recruitment of bone marrow-derived vascular modulatory cells to regulate tumor angiogenesis and invasion. *Cancer Cell*, 2008, 13(3): 206-20
- [60] Gordan JD, Thompson CB, Simon MC. HIF and c-Myc: sibling rivals for control of cancer cell metabolism and proliferation. *Cancer Cell*, 2007, 12(2): 108-13
- [61] Heddleston JM, Li Z, Lathia JD, et al. Hypoxia inducible factors in cancer stem cells. *Br J Cancer*, 2010, 102(5): 789-95
- [62] Li Z, Bao S, Wu Q, et al. Hypoxia-inducible factors regulate tumorigenic capacity of glioma stem cells. *Cancer Cell*, 2009, 15(6): 501-13
- [63] Soeda A, Park M, Lee D, et al. Hypoxia promotes expansion of the CD133-positive glioma stem cells through activation of HIF-1 α . *Oncogene*, 2009, 28(45): 3949-59
- [64] Chau NM, Rogers P, Aherne W, et al. Identification of novel small molecule inhibitors of hypoxia-inducible factor-1 that differentially block hypoxia-inducible factor-1 activity and hypoxia-inducible factor-1 α induction in response to hypoxic stress and growth factors. *Cancer Res*, 2005, 65(11): 4918-28
- [65] Zimmer M, Ebert BL, Neil C, et al. Small-molecule inhibitors of HIF-2 α translation link its 5'UTR iron-responsive element to oxygen sensing. *Mol Cell*, 2008, 32(6): 838-48