

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2015.01.043

缺氧诱导因子与肾细胞癌关系的研究进展

田立志¹ 沈 阳² 项鹏程² 许 涛² 王晓民² 高 琳² 徐万海^{2△}

(1 大庆市红岗区人民医院泌尿外科 黑龙江 大庆 163000; 2 哈尔滨医科大学附属第四医院泌尿外科 黑龙江 哈尔滨 150001)

摘要: 缺氧诱导因子(hypoxia inducible factor, HIF) 对维持肿瘤细胞的能量代谢、肿瘤血管生成、促进肿瘤细胞增殖和转移起着重要作用,是肿瘤细胞低氧条件下产生的关键信号分子。本综述旨在总结前人研究,阐述 HIF 与肾癌细胞之间的内在关系。HIF 成员是参与肾癌细胞对缺氧应答反应中的关键因子,并通过靶基因的调节,促进新生血管的生成,导致肿瘤生长。其中,HIF-1 α 及 HIF-2 α 在促进新生血管的生成方面发挥着主要作用。HIF-1 α 及 HIF-2 α 与 VEGF 密切相关,随着其的表达增高,VEGF 在数量上及 mRNA 水平上均显著增高,显示其可通过调控 VEGF 参与肾癌血管生成,而 HIF-2 α 转录激活 VEGF mRNA 的特异性较 HIF-1 α 更强。HIF-3 α 可能存在的负性调控作用,其异构体 -4 的作用可能与 HIF-1 α 的负性调节有关,其可以阻止 HIF-1 α 与下游靶基因的缺氧反应元件(hypoxia response elements, HRE)结合,同时可在转录水平抑制 HIF-1 α 。HIF 在未来可能有成为肾细胞癌治疗的靶点。

关键词: 缺氧诱导因子;肾细胞癌;血管生成;缺氧反应基因

中图分类号: R737.11 **文献标识码:** A **文章编号:** 1673-6273(2015)01-188-03

The Research on Hypoxia Inducible Factor and Renal Cell Cancer

TIAN Li-zhi¹, SHEN Yang², XIANG Peng-cheng², XU Tao², WANG Xiao-min², GAO Lin², XU Wan-hai^{2△}

(1 Urology, People's Hospital of Daqing Honggang District, Daqing, Heilongjiang, 163000, China;

2 Urology, The Forth Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Harbin, Heilongjiang, 150001, China)

ABSTRACT: Hypoxia inducible factor (HIF) played an important role to maintain the energy metabolism of tumor cells, tumor angiogenesis, proliferation and metastasis of tumor cells, which was the key signal molecule in the tumor cells hypoxia. This review aimed to summarize previous research, elaborated the intrinsic relationship between HIF and renal cancer cell. Research showed that HIF members were involved in renal cancer cell on the key factor in the hypoxia response, which could promote angiogenesis and tumor growth through the regulation of target genes. Among them, HIF-1 α and HIF-2 α played an important role in promoting the formation of new blood vessels. HIF-1 α and HIF-2 α was highly correlated with VEGF, and VEGF and mRNA levels significantly increased with its expression increased in number, which showed participation in renal cell cancer angiogenesis through the regulation of VEGF. While the specificity of activating transcription of VEGF mRNA by HIF-2 α stronger than that by HIF-1 α . But HIF-3 α played negative regulation role, the negative regulation of -4 isomers might be related to HIF-1 α , which prevented HIF-1 α binding with the downstream target genes of hypoxia response elements (HRE), also at the level of transcription. HIF has become a renal cell cancer targeting new treatment target in the future.

Key word: Hypoxia inducible factor; Renal cell cancer; Angiogenesis; Hypoxia response gene

Chinese Library Classification: R737.11 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2015)01-188-03

前言

肾细胞癌(Renal cell cancer, RCC)是泌尿外科的常见肿瘤之一,约占成人肿瘤的 2.5%,大约占有原发性恶性肾肿瘤的 85-90%。肾脏是对缺氧比较敏感的器官,与大多数的肿瘤一样, RCC 在生长过程中经历缺氧、血管生成、再增殖的恶性循环,缺氧诱导因子(Hypoxia inducible factor, HIF)、血管生成与抑制因子在 RCC 的生长过程中发挥着关键的作用^[1,2]。在肿瘤细胞

生长过程中,细胞处于高代谢和低氧状态,细胞内的氧张力相对降低,细胞出现应答反应, HIF 在细胞应答反应中起着关键的调节作用。HIF 介导着多种靶基因转录,包括血管生成因子的表达,影响肿瘤血管的生成,在肿瘤增殖、侵袭、转移发挥着重要的作用。

1 HIF 成员、结构与功能

HIF 是由 α 亚基和 β 亚基组成的二聚体,具有生物学活性的亚基是 α 亚基,而 β 亚基是其具有标志性的结构亚基,目前发现的 HIF 成员包括 HIF-1 α 、HIF-2 α 及 HIF-3 α , 均以 α 亚基命名。HIF-1 α 的 N 端包含 bHLH 和 PAS 结构域,主要介导异源二聚体的形成及其与 DNA 的结合,而 C 端包含反式激活结构域,是转录激活作用的活性域之一^[3]。HIF-1 α 有两个活性

作者简介:田立志(1980-),男,硕士研究生,主要研究方向:泌尿系肿瘤, E-mail: chongchong80@163.com

△通讯作者:徐万海, E-mail: xuwanhai@163.com

(接受日期:2014-07-22 收稿日期:2014-08-17)

域,共同发挥作用。位于中心区的 NAD 与 ODDD 重叠,CAD 位于 C 末端。CAD 的功能主要依赖于转录共激活子 CBP/p300,在氧张力正常情况下,HIF-1 阻滞因子(FIH-1),阻滞其与 p300/CBP 相互作用,缺氧时,允许 CAD 和 CBP/p300 的相互作用。另外,在缺氧状态下,不仅 HIF-1 α 转录激活区域的活性增强,其数量水平显著增加,从而增加靶基因的转录活性^[4]。

HIF-2 α 和 HIF-1 α 蛋白结构相似,具有同源性,在功能上,HIF-2 α 作用的基因靶点、作用方式、与 HIF-1 α 也具有高度的相似性^[5]。与 HIF-1 α 不同的是,在分布上,HIF-2 α mRNA 的表达以内皮细胞、血管细胞为主;而在功能上,HIF-2 α 能够调节促红细胞生成素(EPO)的生成,家族性红血球增多症即由于 HIF-2 α 的变异导致^[6]。

目前,对 HIF-3 α 的作用研究尚未明确,不同于 HIF-1 α 与 HIF-2 α ,其缺少 C 末端转录激活域,mRNA 表达不受缺氧调控^[7]。低氧状态下 HIF-3 α 活性增强,它与 HIF1 β 形成二聚体并与 HRE 核心序列相结合,介导下游基因的表达。在人的肾脏中,HIF-3 α 的作用可能会抑制缺氧状态下 HIF 介导的靶基因转录,表现为相反的调节作用^[8]。

2 HIF 的调节机制

HIF 通过 α 活性亚基与靶基因的启动子/增强子结合,实现对靶基因的调控。HIF 的靶基因又称为缺氧反应基因(hypoxia response gene,HRG),HRG 的 HIF 识别点称为缺氧反应元件(hypoxia response elements,HRE)的基因序列。缺氧时,HIF 表达增加、活性增强,与 HRE 特异性的相结合,启动靶基因,调节靶基因的转录。目前已确定的 HIF-1 α 的靶基因已达近 200 种,包括肿瘤新生血管形成的生成及抑制因子、肿瘤细胞自噬和肿瘤细胞迁徙、转移、侵袭与转移等^[9-11]。VEGF 不仅受 HIF-1 α 的调节,同时也受 HIF-2 α 的调节,HIF-2 α 与下游的 VEGF 的 HRE 结合,激活 VEGF mRNA 的转录,同时在一定程度上增强了 VEGF mRNA 的稳定性。有研究报道,HIF-2 α 可与酪氨酸激酶 Tie-2 结合,促进血管内皮细胞增殖,在肿瘤新生血管形成方面发挥作用^[12]。此外,肿瘤细胞的凋亡因子 TGF- α 和 Cyclin D1 的表达也受 HIF-2 α 的调节,在肿瘤细胞的凋亡方面有着重要的意义^[13]。虽然目前对 HIF-3 α 的研究较少,其靶基因及作用机制未阐明,其可能与 HIF-1 α 及 HIF-2 α 有着相反的拮抗作用。

3 HIF 与肾细胞癌

与其他肿瘤细胞生长一样,肾癌组织细胞内常处于低氧状态,并出现适应性应答反应。应答中重要的内容新是新生血管的形成^[14,15],以此来满足肿瘤细胞生成需要。HIF 在肾癌细胞缺氧应答反应中发挥着关键作用。

3.1 HIF-1 α 与肾细胞癌

HIF-1 α 在正常肾组织中表达水平极低且已被讲解,故很难检测到。但在肾肿瘤组织中 HIF-1 α 的表达水平较高,尤其在 RCC 中,HIF-1 α 的表达明显增高^[16,17]。HIF- α 降解与 pVHL 密切相关,正常情况下,pVHL 使 HIF 与活化的泛素连接酶连接,并被与泛素连接酶相连的泛素结合酶快速降解。而在大多数肾透明细胞癌中,出现 VHL 基因突变或因高甲基化而失活,导致

pVHL 不能形成或受损,HIF- α 不能被降解而发生异常蓄积,形成 HIF 的高表达状态。大量蓄积的 HIF-1 α 通过调节靶基因的表达,影响着肾肿瘤的生长。VEGF 是目前已知的做用最强的血管生成因子,是肾肿瘤血管生成的主要调节因子,VEGF 的增加或活性增强,肿瘤新生血管的数量增加,肿瘤的生长速度加快和侵袭能力增强。HIF-1 α 可与 VEGF mRNA 上游的启动子或增强子序列结合,增强 VEGF mRNA 的转录,VEGF 的稳定性增加。通过 CD34 检测确定微血管密度(MVD)是检测肿瘤新生血管的重要指标,表示着肿瘤的生长、浸润、侵袭、转移程度,研究表明,HIF-1 α 的表达与 MVD 呈正相关关系^[18]。另一方面,HIF-1 α 使得肾肿瘤中与无氧糖酵解酶相关的 GLUT-1、糖酵解酶等在转录水平表达增加,肿瘤细胞的增殖提供能量^[19]。HIF-1 α 在 RCC 中发挥着重要的作用,成为调节 RCC 生长、浸润、侵袭、转移的重要靶点^[20,21]。

3.2 HIF-2 α 与肾细胞癌

HIF-2 α 与 HIF-1 α 有高度的同源性,虽然在缺氧应答中的作用不及 HIF-1 α 重要,但在肿瘤血管生成和细胞凋亡中也发挥了一定的作用。HIF-2 α 也可与 VEGF 的 HRE 结合^[22],促进肿瘤血管新生中发挥作用,且可在转录激活 VEGF mRNA 的特异性较 HIF-1 α 更强^[23]。另外,HIF-2 α 可影响细胞增殖,诱导细胞凋亡,作用可能与调控 Cyclin D1 的表达有关。HIF-2 α 的对肾细胞癌的生长尤其是肾癌新生血管的生成发挥重要作用,研究显示,HIF-2 α 的表达与 VEGF 及 MVD 呈正相关^[24]。Turner 等^[25]的研究显示,在 RCC 中,HIF 与 VEGF 高度相关,随着 HIF 的表达增高,VEGF 在数量上及 mRNA 水平上均显著增高,提示 HIF 可通过调控 VEGF 参与肾癌血管生成。Xia 等^[26]进一步研究了 HIF-2 α 与 VEGF 和 RCC 血管生成的关系,证实了 HIF-2 α 是调节 RCC 血管生成的关键因子。而应用 siRNA 阻断 HIF-2 α ,VEGF 的表达水平显著降低,与 Xia 的结果显示了一致性。

3.3 HIF-3 α 与肾细胞癌

目前对 HIF-3 α 的作用研究尚未明确。缺氧对 HIF-3 α 的影响仅限于在蛋白水平上,翻译修饰后以不同的异构体形式存在,不同的异构体可能具有不同的作用,目前已知的异构体至少有 5 种。异构体 -2 与异构体 -4 是肾细胞癌中主要的异构体形式^[28]。其中,异构体 -4 的作用可能与 HIF-1 α 的负性调节有关,其可以阻止 HIF-1 α 与下游靶基因的 HRE 结合,同时可在转录水平抑制 HIF-1 α ^[29]。

4 结语

综上所述,在肾细胞癌生长、增殖、转移过程中,由于代谢的加快,细胞内处于低氧状态,HIF 成员是参与肾细胞癌对缺氧应答反应中的关键因子,并通过靶基因的调节,促进新生血管的生成,促进肿瘤的生长。其中,HIF-1 α 及 HIF-2 α 在促进新生血管的生成方面发挥着主要作用,HIF-3 α 可能存在的负性调控作用。HIF 在未来可能有成为肾细胞癌靶向治疗的新目标。

参考文献(References)

- [1] Fishman M, Seigne J, Antonia S. Novel therapies for renal cell carcinoma[J]. Expert Opin Investig Drugs, 2001, 10(6):1033-1044

- [2] Pugh CW. Oxygen sensing in cancer [J]. *Ann Med*, 2003, 35 (6): 380-390
- [3] Jiang BH, Zheng JZ, Leung SW, et al. Transactivation and inhibitory domains of hypoxia-inducible factors [J]. *J Biol Chem*, 1999, 272 (31):19253
- [4] Jiang BH, Zheng JZ, Leung SW, et al. Transactivation and inhibitory domains of hypoxia-inducible factor 1 α . Modulation of transcriptional activity by oxygen tension [J]. *J Biol Chem*, 1997, 272 (31): 19253-19260
- [5] Tian H, McKnight SL, Russell DW. Endothelial PAS domain protein 1 (EPAS1), a transcription factor selectively expressed in endothelial cells[J]. *Genes Dev*, 1997, 11(1):72-82
- [6] Percy MJ, Furlow PW, Lucas GS, et al. A gain of function mutation in the hif2 α gene in familial erythrocytosis [J]. *N Engl J Med*, 2008, 358 (2):162
- [7] Heidbreder M, Frohlich F, Jöhren O, et al. Hypoxia rapidly activates HIF-3 α mRNA expression[J]. *FASEB J*, 2003, 17:1541-1543
- [8] Hara S, Hamada J, Kobayashi C, et al. Expression and characterization of hypoxia-inducible factor (hif)-3 α in human kidney: Suppression of hif mediated gene expression by hif-3 α [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2001, 287(4): 808
- [9] Kobayashi M, Nakagawa K. Metastasis and hypoxia-inducible factor [J]. *Gan To Kagaku Ryoho*, 2010, 37(11):2047-2051
- [10] Simon MC, Liu L, Barnhart BC, et al. Hypoxia-induced signaling in the cardiovascular system[J]. *Annu Rev Physiol*, 2008, 70:51-71
- [11] Ikeda E. Cellular response to tissue hypoxia and its involvement in disease progression[J]. *Pathol Int*, 2005, 55(10):603-610
- [12] Jeong CH, Lee YM, Choi KS, et al. Hypoxia-responsive element-mediated soluble Tie2 vector exhibits an anti-angiogenic activity in vitro under hypoxic condition[J]. *Int J Oncol*, 2005, 26(1):211-216
- [13] 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[J]. *Mol Cell Biol*, 2005, 25(13):5675-5686
- [14] Heckel M, Vaupel P. Tumor hypoxia: definitions and current clinical, biologic, and molecular aspects [J]. *J Natl Cancer Inst*, 2001, 93(4): 266-276
- [15] Brown JM. Exploiting the hypoxic cancer cell: mechanisms and therapeutic strategies[J]. *Mol Med Today*, 2000, 6(4):157-162
- [16] Chilov D, Camenisch G, Kvietikova I, et al. Induction and nuclear translocation of hypoxia-inducible factor-1 (HIF-1): heterodimerization with ARNT is not necessary for nuclear accumulation of HIF-1 α [J]. *J Cell Sci*, 1999, 112(Pt 8):1203-1212
- [17] Richard DE, Berra E, Pouyssegur J. Nonhypoxic pathway mediates the induction of hypoxia-inducible factor 1 α in vascular smooth muscle cells[J]. *J Biol Chem*, 2000, 275(35):26765-26771
- [18] Kilin F, Kayaselcuk F, Aygun C, et al. Experimental varicocele induces hypoxia inducible factor-1 α , vascular endothelial growth factor expression and angiogenesis in the rat testis [J]. *J Urol*, 2004, 172(3):1188-1191
- [19] Lidgren A, Bergh A, Grankvist K, et al. Glucose transporter-1 expression in renal cell carcinoma and its correlation with hypoxia inducible factor-1 α [J]. *BJU Int*, 2008, 101(4):480-484
- [20] Nagasawa H, Uto Y, Kirk KL, et al. Design of hypoxia-targeting drugs as new cancer chemotherapeutics[J]. *Biol Pharm Bull*, 2006, 29 (12):2335-2342
- [21] Rini BI, Atkins MB. Resistance to targeted therapy in renal-cell carcinoma[J]. *Lancet Oncol*, 2009, 10(10):992-1000
- [22] Nilsson I, Shibuya M, Wennström S. Differential activation of vascular genes by hypoxia in primary endothelial cells[J]. *Exp Cell Res*, 2004, 299(2):476-485
- [23] Krieg M, Haas R, Bräuch H, et al. Up-regulation of the hypoxia-inducible factors HIF-1 α and HIF-2 α under normoxic conditions in renal carcinoma cells by Hippel-Lindau tumor suppressor gene loss of function[J]. *Oncogene*, 2002, 21:4010
- [24] Shinojima T, Oya M, Takayanagi A, et al. Renal cancer cells lacking hypoxia inducible factor (HIF)-1 α expression maintain vascular endothelial growth factor expression through HIF-2 α [J]. *Carcinogenesis*, 2007, 28(3):529-536
- [25] Kondo K, Kim WY, Lechpammer M, et al. Inhibition of HIF2 α is sufficient to suppress pVHL-defective tumor growth [J]. *PLoS Biol*, 2003, 1:439-444
- [26] Xia G, Kageyama Y, Hayashi T, et al. Regulation of vascular endothelial growth factor transcription by endothelial PAS domain protein 1 (EPAS1) and possible involvement of EPAS1 in the angiogenesis of renal cell carcinoma[J]. *Cancer*, 2001, 91:1429-1436
- [27] Zimmer M, Doucette D, Siddiqui N, et al. Inhibition of hypoxia-inducible factor is sufficient for growth suppression of VHL-/- tumors [J]. *Mol Cancer Res*, 2004, 2: 89-95
- [28] Makino Y, Kanopka A, Wilson WJ, et al. Inhibitory PAS domain protein (IPAS) is a hypoxia-inducible splicing variant of the hypoxia-inducible factor-3 α locus[J]. *J Biol Chem*, 2002, 277:32405-32408
- [29] Maynard MA, Evans AJ, Shi W, et al. Dominant-negative HIF-3 α 4 suppresses VHL-null renal cell carcinoma progression [J]. *Cell Cycle*, 2007, 6(22):2810-2816