

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2017.10.047

低氧诱导因子在肾透明细胞癌中作用的研究进展*

项鹏程 孙鹏程 刘玉伟 卢云汉 徐万海[△]

(哈尔滨医科大学附属第四医院 黑龙江 哈尔滨 150001)

摘要: VHL 基因具有调节转录、稳定细胞生长相关基因和调节细胞周期的功能,其突变、缺失、重排和超甲基化与肾细胞癌(RCC)的发生密切相关。VHL 基因产物 VHL 肿瘤抑制蛋白(pVHL)是泛素连接酶的成分,具有调节低氧诱导因子(HIF)稳定性的作用。HIF 家族主要包含三种 HIF α 因子(HIF1 α 、HIF2 α 、HIF3 α)和两种 HIF β 因子(HIF1 β 、HIF2 β)。HIF1 α 位于 14q 染色体上,在肾透明细胞癌中该染色体经常缺失,且这种 14q 的缺失常伴有预后不良。HIF2 α 的表达异常促进了 pVHL 缺陷型肾透明细胞癌中的发生。目前,抑制 HIF2 α 及其下游的血管内皮生长因子(VEGF)的药物都处于临床试验的不同阶段,已有四种 VEGF 抑制剂获准用于肾透明细胞癌的治疗。选择抑制 HIF 或具有 HIF 靶基因抑制选择性的药物进行研究,可能为肾透明细胞癌的治疗提供新的方法。本文就 HIF 在 VHL 蛋白缺陷型肾透明细胞癌中作用的研究进展进行了综述。

关键词: 肾透明细胞癌;VHL 基因;低氧诱导因子;血管内皮生长因子

中图分类号: R730.2 **文献标识码:** A **文章编号:** 1673-6273(2017)10-1975-06

Research Progress of the Role of Hypoxia-inducible Factor in Renal Cell Carcinoma*

XIANG Peng-cheng, SUN Peng-cheng, LIU Yu-wei, LU Yun-han, XU Wan-hai[△]

(The fourth hospital of Harbin Medical University, Harbin, Heilongjiang, 150001, China)

ABSTRACT: VHL gene has the function of regulating transcription, stabilizing cell growth related gene and regulating the cell cycle, the mutations, deletions, rearrangements and hypermethylation of VHL gene are closely related with the renal cell carcinoma (RCC). VHL gene product (pVHL) is a component of the ubiquitin ligase, which can regulate the stability of hypoxia-inducible factor (HIF). HIF family includes three kinds of HIF α factors (HIF1 α , HIF2 α , HIF3 α) and two kinds of HIF β factors (HIF1 β , HIF2 β). HIF1 α is located on the chromosome 14q which is often missing in renal clear cell carcinoma and related to the poor prognosis. Abnormal expression of HIF2 α promotes the incidence of pVHL-deficient renal cell carcinoma. Currently, the drugs which can inhibit HIF2 α and its downstream vascular endothelial growth factor(VEGF) are in various stages of clinical trials, and there are four types of VEGF inhibitors approved for the treatment of renal cell carcinoma. So the research on the drugs that can inhibit HIF or HIF target genes may offer a new method for the treatment of renal clear cell carcinoma. In this paper, the research progress of role of HIF in pVHL-deficient renal cell carcinoma is reviewed.

Key words: Renal clear cell carcinoma (RCC); Von Hippel-Lindau (VHL); Hypoxia-inducible factor (HIF); Vascular endothelial growth factor(VEGF)

Chinese Library Classification(CLC): R730.2 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2017)10-1975-06

前言

近年来,肾透明细胞癌在泌尿系统肿瘤中的发病率有所升高,因其对术后放疗、化疗均不敏感,转移率和复发率也较高。因此,针对肾细胞癌的靶向治疗和靶向基因已成为研究热点。已有研究发现 Von Hippel-Lindau(VHL)基因以及缺氧诱导因子(hypoxia-inducible factor, HIF)和肾透明细胞癌的发生有关。本文总结了近几年有关肾细胞癌中 VHL 基因和缺氧诱导因子之间的关系的研究进展,以期开发靶向治疗肾癌的药物提供更多客观的理论参考依据。

1 VHL 基因的结构和功能

1.1 VHL 基因的结构

VHL 基因位于 3p25-26 染色体上,其编码序列包括三个外显子,第 2 外显子在转录时可变剪接的 mRNA。VHL 启动子内没有 TATA-CCAAT 盒,主要含有多个结合 S1、AP-2、PAX 的结合位点和核呼吸因子转录因子。VHL 可以编码两种蛋白 pVHL30 和 pVHL19,前者分子量为 30kDa,来自内部翻译起始的 213 个氨基酸多肽;后者分子量为 19kDa,来自内部翻译起始的 180 个氨基酸多肽。二者的区别在于 8 个氨基酸末端重复

* 基金项目:国家自然科学基金青年科学基金项目(30900354)

作者简介:项鹏程(1987-),男,医学硕士,主要研究方向:肾细胞癌的基因治疗,电话:13654556852, E-mail: xiaocheng868@hotmail.com

[△] 通讯作者:徐万海,教授,博士生导师, E-mail: xuwanhai@163.com

(收稿日期:2016-05-12 接受日期:2016-06-10)

存在以及在细胞中的不同定位,pVHL19 主要定位于细胞核而 pVHL30 主要定位在细胞核和细胞质,pVHL 在细胞质中可以通过微小管的连接使剪接的 mRNA 在特异的组织细胞中表达。

1.2 VHL 基因的功能及与肾透明细胞癌的关系

VHL 基因具有调节转录、稳定细胞生长相关基因和调节细胞周期的功能。VHL 的基因产物 pVHL 是泛素连接酶的成分,具有调节 HIF 转录因子稳定性的作用。VHL 基因突变、缺失、重排和超甲基化与肾细胞癌(RCC)的发生密切相关。研究表明定位于 3p25 染色体的 VHL 抑癌基因有潜在缺陷的人易患肾透明细胞癌、中枢神经系统血管母细胞瘤和嗜铬细胞瘤(VHL 病)^[1]。易感细胞中野生型等位基因的失活导致肿瘤的生长,其原因可能是体细胞突变或者超甲基化,这也是肾癌最常见的散发性肾透明细胞癌的形式。

许多研究表明在散发性肾透明细胞癌中,VHL 基因突变的频率接近 50%,且随着更新、更敏感的测序法的应用增加,此频率可能会更高^[2]。一些缺乏检测 VHL 基因突变或甲基化的肾癌细胞仍然显示 mRNA 的分布与 VHL 基因失活的一致性,表明这些肿瘤的表现遗传变化直接会对 VHL 基因位点有损害或者间接影响 VHL 基因产物(VHL 蛋白)的功能^[23]。对肾癌患者 VHL 基因的研究表明,在人的肾脏中,VHL 基因失活可以导致癌前囊肿,但并不一定会完全引起恶性转化^[4,5]。肾透明细胞癌中许多非随机基因组包括 14q 和 5q 染色体的损失和放大的异常情况已被发现,这些染色体中可能分别隐藏有一个或多个癌蛋白与肿瘤抑制蛋白。此外,基因组序列分析还揭示了肾透明细胞癌中一系列与 VHL 基因类似的基因都在进行循环突变,包括 PBRM1、SETD2 和 JARID1C^[6]。有趣的是,位于 3p 染色体上的 PBRM1 和 SETD2 与 VHL 很有可能有关联并一同引起了 3p 染色体的大面积缺失。该基因 PBRM1 的表达产物 BAF180 是一个通过核小体复位影响基因表达的染色质重组复合物的一部分^[7,8]。BAF180 的缺失可以减弱 p53 对目标 p21 的诱导,作为一个细胞周期蛋白依赖性激酶抑制剂,对某些特殊的应激产生反应。SETD2 和 JARID1C 都是组蛋白甲基化酶,组蛋白甲基化标记物均通过特殊的蛋白质阅读来控制染色质的结构和转录^[8,9]。PBRM1、SETD2 和 JARID1C 很有可能由于 VHL 的缺失在很多途径发挥作用,如严重的 VHL 缺失会导致多种类型的细胞衰老^[10,11],我们认为这些变化都需要诸如 BAF180、SETD2 或 JARID1C 蛋白的作用。有研究显示,pVHL 蛋白的失活直接诱导了 JARID1C,进一步抑制增殖^[12]。

1.3 VHL 基因的表达产物

VHL 基因的起始密码子可以在框架内分别编码两种不同的蛋白质^[13],为了简单起见,这两种蛋白统称为 pVHL 蛋白,因其许多生物化学特性和细胞基础测定中都十分类似。pVHL 蛋白是一种多功能蛋白质,有关该蛋白的功能的研究和探索已十分深入。目前已知因泛素化作用,其与肾透明细胞癌的发生发展都具有相关性,尤其 pVHL 蛋白还同时和 elongin B、elongin C、Cul2Rbx1 作为泛素化连接酶复合物的底物的识别亚基^[14]。在富氧的条件下,这种复合物直接和异源二聚体转录因子 HIF (缺氧诱导因子)的 α 亚基结合,并针对其蛋白酶体降解。在低氧或细胞中 pVHL 蛋白缺陷的情况下,HIF α 与 pVHL 蛋白分

离,并与 HIF β 亚基二聚化,共同转录激活 100-200 个基因,其中许多基因被认为是促进适应低氧环境的基因^[15]。pVHL 蛋白含有两个错义突变位点,称为 α 域和 β 域, α 结构域直接和 elonginC 形成泛素结合物,而 β 结构域直接结合 HIF α 。肾癌的发生风险与不同种系 VHL 等位基因有关,且和同程度的蛋白质的损害、HIF 的调节规律都有相关性^[15]。此外,所有在遗传学可检测到的 VHL 基因突变和散发肾透明细胞癌的研究都证实 pVHL 蛋白有抑制 HIF 的能力。本文包括临床前研究概述,目的是强调 HIF 在 VHL 蛋白缺陷型肾癌中的重要性。

2 HIF 的结构和功能

2.1 HIF 的结构

HIF 即缺氧诱导因子,其家族主要包含三种 HIF α 因子 (HIF1 α 、HIF2 α 、HIF3 α) 和两种 HIF β 因子 (HIF1 β 、HIF2 β)^[16]。HIF β 因子往往和 ARNT(芳香烃受体核转运蛋白)有关;HIF1 α 是 HIF α 家族的主要表达产物,而 HIF2 α 表达则十分局限。

2.1.1 HIF 蛋白的转录 HIF 蛋白是碱性螺旋-环-螺旋成员 PAS 家族 DNA 结合转录因子和识别核心序列 5'-RCGTG-3' 其中 R 嘌呤的基本成员。HIF1 α 和 HIF2 α 都有两个专用的转录激活结构域 NTAD 和 CTAD,当结合到 DNA 上时可以激活转录^[17]。HIF3 α 由于经过广泛的 mRNA 剪接,缺乏反式激活结构域,可通过竞争性抑制具有反式激活能力的 HIF α 蛋白异构体^[17]。

2.1.2 HIF 蛋白的识别 HIF α 对 pVHL 蛋白的识别要求 HIF α 在一个或两个保守的脯氨酸残基被羟基化,而且在 NTAD 端是由 EglN 成员(也称为 PHD)系列脯氨酰羟化酶序列之内^[18,19]。这种翻译后修饰是依赖有氧环境的,通过 pVHL 蛋白耦合 HIF α 泛素化。这种作用在 HIF1 α 中存在,但 HIF2 α 中没有,可以通过包含 pVHL 蛋白在内的羟化反应不敏感的泛素连接酶复合物证实^[20-22]。

2.1.3 HIF 蛋白的羟基化 HIF α 也可以在 CTAD 端内被残留的天冬酰胺羟化酶 FIH1 羟基化,这将导致 CTAD 活性的减弱。这种天冬酰胺羟基化反应和脯氨酰羟基化反应类似,需要分子内的有氧环境,然而氧气 FIH1 的 K_m 值是低于 EglN 成员的 K_m 值的^[23]。因此,FIH1 在缺氧的环境下也能保持中等水平的活性以稳定 HIF α 从而调节低氧反应^[24]。需要注意的是,HIF2 α 的 CTAD 和 FIH1 的 CTAD 相对具有抵抗性。不同的 HIF 靶基因在不同的 FIH1 敏感性和抑制性都不同,可能反映在 NTAD 与 CTAD 活动和 HIF1 α 与 HIF2 α 的活动的差别性。

2.2 HIF 的功能

HIF 可以诱导其一系列的靶基因在细胞和组织中表达,并且抑制其它有关基因的表达,如促红细胞生成素,其在成人肾脏细胞中由于此作用被抑制。由于 HIF1 α 和 HIF2 α 基因调控的细胞很多生理作用是重叠的,但不完全相同,且两个旁系同源物由于 HIF 靶基因的调控可以在不同的细胞环境中不同。如许多基因的糖酵解过程主要由 HIF1 α 而 HIF2 α 是该反应的一级调节器,并且在肾癌细胞中的细胞周期素 D1 也是如此^[25]。血管内皮生长因子(VEGF)在肾癌细胞中通过 pVHL 由 HIF2 α 调控,而在乳腺癌中则由 HIF1 α 调控。HIF1 α 和 HIF2 α 的不同调控反映了一系列包括顺式作用或非 HIF 转录因子等因素的影响。

3 HIF 与肾透明细胞癌的关系

3.1 HIF1 α 与肾透明细胞癌的关系

HIF1 α 位于 14q 染色体上,在肾透明细胞癌中该染色体经常缺失,且这种 14q 的缺失常伴有预后不良。许多肾透明细胞癌系会包含有局部的纯合子,而 HIF1 α 的缺失直接导致蛋白表达障碍。而且由于 mRNA 剪接去除了 HIF1 α 周围的外显子序列会导致表达出异常 HIF1 α 的异构体,如果接着再导入野生型 HIF1 α ,但并非这些异构的 HIF1 α 种系,会发现在这种缺乏内源性野生型的 HIF1 α ,也可以在体外和体内抑制肾癌细胞的增殖。与此相反,由 shRNA 介导的在肾透明细胞癌株内的 HIF1 α 的下调即保留内源性野生型的 HIF1 α ,可以刺激肾癌细胞在体外和体内的增殖^[26]。

与这些观察相一致的很多研究表明,许多肾透明细胞癌不产生或产生非常低的 HIF1 α 水平,因此 HIF1 α 的下调在 14q 染色体缺失的肿瘤中扮演了十分重要的角色^[26,27]。肾透明细胞癌中经常会有保留了野生型 HIF1 α 等位基因的情况。虽然记录这些 HIF1 α 等位基因在技术上会有困难(例如由于从肿瘤 DNA 和宿主 DNA 混杂在一起不好分离),但该研究提高了由于 HIF1 α 单倍剂量不足而促进体内肿瘤发生并且减少其传代和转移过程的可能性。值得注意的是,癌细胞系经常在转移病灶中重新建立,特别是对于那些为了达到治愈目的而接受肾切除手术的未发生转移的患者,这种补入新的缺失因子的方法在肾癌的原发肿瘤中也许是一个为时已晚的治疗手段。

虽然这种方法很少见,包括错义突变在内的 HIF1 α 基因突变,也已明确地在肾透明细胞癌中被描述和验证,这些突变互相影响 HIF1 α 的作用,当重新导入肾透明细胞癌时,癌细胞系缺乏内源性的野生型 HIF1 α 而被抑制。总体而言,这些发现都支持野生型 HIF1 α 在肾癌中作为一种肿瘤抑制剂,与 14q 缺失的典型肿瘤的靶向治疗相关。虽然, HIF α 通常被认为是作为一种癌基因蛋白,但其首先应该被认为是一种肿瘤抑制剂,如损失 HIF1 α 之后在胚胎干细胞会形成畸胎瘤,在裸鼠体内会产生原位生长的星形胶质细胞,并在一些白血病模型中偶尔存在^[28-30]。

3.2 HIF2 α 与肾细胞癌的关系

很多研究都表明 HIF2 α 在 pVHL 缺陷型肾透明细胞癌中的重要性,如对 VHL-/- 肾透明细胞癌患者的研究发现,许多患者表达 HIF2 α 而并不表达 HIF1 α ,而在去除了 HIF2 α 的 VHL-/- 的细胞系在裸鼠身上仍然可以成瘤,就像恢复了 pVHL 蛋白的功能一样。相反,表达过多的 HIF2 α 而非 HIF1 α ,可以掩盖 pVHL 蛋白的抑癌作用,在裸鼠移植瘤模型中也得以证实。在敲除 VHL 基因的小鼠模型中,HIF2 α 在病理学基础上是一种十分必要和充分的因子^[31]。有趣的是,在 VHL 患者肾脏癌前病变中,HIF2 α 就有初始的改变,而 HIF2 α 的寡核苷酸多态性(SNPs)与一般人群肾癌的发病风险相关。此外,相对于 HIF1 α 的致癌作用,有些基因可能是被 HIF2 α 优先激活。

3.3 HIF1 α 和 HIF2 α 的区别

HIF1 α 和 HIF2 α 之间的差别可能最终取决于它们对肾细胞癌的相对不同的致癌作用。首先,HIF1 α 的 CTAD 序列在理论上会在 VHL-/- 细胞中由 FIH1 沉默,原因我们在上文中已经

概述,除非这些细胞置于缺氧的环境中。如果这种情况发生,转录错误的 HIF1 α 可能作为一个显性负相竞争取代 HIF2 α ,这在很大程度上是不受 FIH1 调控的,而是从特定的 HIF 靶基因决定。事实上,有一些 HIF 靶标基因当 HIF1 α ,在 VHL-/- 肾癌细胞中被下调时是增加的。结构功能研究表明,无论是 HIF2 α 的 NTAD 序列还是 CTAD 序列对促进肾癌细胞的生长都是有作用的^[31]。

其次,一些 HIF 的靶基因可能是主要通过 HIF1 α 抑制肾癌细胞生长和/或另一些 HIF 靶基因主要是由 HIF2 α 来促进肾癌细胞生长的。在这方面,一些在 pVHL 蛋白缺陷的肾透明细胞癌中由 HIF1 α 调控的基因是具有肿瘤抑制功能的,包括 BNIP3、REDD1、TXNIP 和 ZAC1。巧合的是,ZAC1 映射到染色体 6q23,而这是 VHL 相关肾癌、脊髓血管母细胞瘤和嗜铬细胞瘤中经常缺失的部位。

最后,HIF1 α 和 HIF2 α 之间的区别还在于与它们在信号通路中能上调或下调某些因子的能力。要么是由于 HIF 靶基因之间的不同调控,要么是由于 HIF 的非经典功能。例如,在一些体系中,HIF2 α 可以增强 c-Myc 的活性而 HIF1 α 却抑制它的活性。已经有人提出一些非相互性的特殊机制理论解释为何 HIF2 α 会增强 c-Myc 基因的活性。与此一致,HIF1 α 增强 p53 的功能,而 HIF2 α 抑制其功能。因此,肾透明细胞癌细胞缺乏 HIF1 α 降低了对遗传毒性因子的敏感性^[31,32]。

4 HIF 对肾透明细胞癌靶向治疗作用

4.1 HIF2 α 的靶向治疗作用

针对 HIF α 特别是 HIF2 α ,也许对肾透明细胞癌有治疗作用。然而除了类固醇激素受体,DNA 结合转录因子在传统上一直难以用于临床。很多人例如 Semenza 和他的同事们尝试将小分子吡啶黄直接绑定到 HIF1 α 和 HIF2 α 上,并干扰其与 HIF1 β 二聚化的能力^[33],在体外也获得了成功。siRNA 对 HIF2 α 的靶向性也许在全身 siRNA 传递方式变得可用的时候会成为一个选择的方向。

有两组筛选药物至少在 VHL-/- 肾癌细胞中间接地起到了抑制 HIF2 α 的作用^[33,34]。Iliopoulos 和他的同事在非 mTOR 依赖的方式鉴定出具有促进铁调节蛋白能力的分子,可以抑制 HIF2 α 翻译。随后的研究表明,内源性抗炎性细胞因子 15-脱氧-氧(12,14)-前列腺素 J(2)表现出类似的行为^[35]。美国国家癌症研究所确定了一些天然的具有潜在 HIF2 α 激动剂性质的产物^[33],但这些化学药物的特异性还有待确定。包括 mTOR 抑制剂、HSP90 抑制剂和 HDAC 抑制剂在内的许多其它化合物也被发现具有间接下调 HIF α 的能力。mTOR 抑制剂将会下调肿瘤细胞中的 HIF 的水平以及生长因子信号肽水平。事实上,二雷帕霉素样 mTOR 抑制剂(rapalogs)依维莫司和替西罗莫司已被批准用于肾癌的基础随机临床试验性治疗^[36]。

不幸的是,在肾癌的临床治疗中,mTOR 抑制剂的活性是相当温和的,这可能反映了 rapalogs 首先在所谓的 TORC1 复合物中抑制 mTOR,而对在 TORC2 复合物中的 mTOR 的作用很小这一事实。相对于 HIF2 α ,TORC1 的优先抑制对 HIF1 α 的影响也反常地增加了上游酪氨酸激酶受体信号由于 TORC1 依赖的损失反馈途径。临床前模型表明,mTOR 抑制剂具有抑制

TORC1 和 TORC2 的能力,可以抑制 HIF2 α 水平和肾致癌作用,而且比 rapalogs 更加有效^[37]。

4.2 HIF 的靶基因调控

HIF 的转录可以激活上百个基因,且一些基因是由 HIF 在很多组织中来调节,而有的则是通过 HIF 在一些特定细胞和组织中调节。一些 HIF 的靶基因是优先通过 HIF1 α 调控,另一些优先由 HIF2 α 调控。许多的 HIF 靶基因在 pVHL 蛋白缺陷的肾透明细胞癌中是正调节的,包括只产生 HIF2 α 的那些细胞,它们被认为具有促进肿瘤形成的作用。

4.3 HIF 与 VEGF

肾癌中含有大量新生血管,而且会产生过量的与 HIF 关联的 VEGF。事实上,在上皮性肿瘤中,肾癌的 VEGF 含量水平是最高的。在肿瘤生长的过程中,由于 VEGF 的诱导引起的 pVHL 蛋白的损失将会减少激活另一种血管生成因子时的选择压力。与此相反,在其它实体肿瘤中,和 VEGF 一样,许多血管原的因子都会发挥作用。与这种观点相一致的例子有很多,肾癌是一种实体肿瘤,而且 VEGF 抑制剂在肿瘤消退和疾病活动进展中都发挥了不可替代的作用。目前,包括血管内皮生长因子的中和抗体贝伐单抗以及 VEGF 受体拮抗剂舒尼替尼、索拉非尼、帕唑帕尼都已批准用于治疗肾透明细胞癌,许多有效的随机临床试验数据都可以证明其效果和影响^[38,39]。然而,这些药物并不能治愈肾癌。许多能增强药物的专一性和效力的第二代 VEGF 受体拮抗剂目前还在进行临床试验中,我们希望较之于现有的药物组合,这些药物会产生更好的临床效果。在人类体内掌握好抑制 VEGF 的安全用药浓度范围将有很大的挑战性。例如,血管内皮生长因子拮抗剂的治疗组合已经证实与微血管病性溶血性贫血有关,推测是由于该反应对靶血管内皮细胞产生了损伤^[40]。

4.4 HIF 与 PDGF

除了 VEGF 之外,HIF 也可以调节血小板衍生生长因子 β (以下简称 PDGF),它可以滋养血管周细胞。新生的血管组织缺乏血管周细胞,对 VEGF 的含量十分敏感,这也许解释了为何几乎所有的实验小鼠身上快速增长的肿瘤异种移植对血管内皮生长因子拮抗剂如此敏感。一旦血管成熟并包埋于血管周细胞,它们就会变得不那么依赖于 VEGF 了。因此,这也解释了大部分血管内皮生长因子受体拮抗剂也能抑制 PDGF 受体的潜在性。不管 PDGF 受体是否被阻断,真正有助于血管内皮生长因子受体拮抗剂的活性仍然是一个值得探讨的问题。此外,在肾癌的临床治疗中,也有研究表明 PDGF 本身也会被显著的抑制^[41]。

4.5 HIF 与 EGFR 和 C-met

肾癌经常表达过量的转化生长因子 TGF α 及其受体表皮生长因子受体 EGFR^[42]。TGF α 是 HIF 的靶基因,且在 pVHL 蛋白缺失时能增强表皮生长因子受体的翻译,并延迟 EGFR 的细胞内摄作用^[43,44]。在小鼠模型中阻断 EGFR 的信号转导也可以抑制肾细胞癌的体内生长。然而到目前为止,EGFR 抑制剂用于治疗人类肾癌是无效的^[45]。这种明显的脱节可能提示 EGFR 是对肾癌细胞系有依赖性的,无论生长在塑料或免疫缺陷的老鼠模型上,只有该细胞系开始生长和繁殖后才有效果;另一个

原因可能是 EGFR 抑制剂的药效是不起作用的,即人体内根本没有充分的抑制表皮生长因子受体。最近的许多研究还表明可能有第三种可能性,即其它的癌症对 EGFR 抑制剂的多种形式的影响产生了这种结果。在这些研究中,这些抵抗性被认为与活化的 C-Met 的侧枝信号有关^[46,47]。C-Met 是一个肾癌基因扩增子,位于 7 号染色体上,pVHL 蛋白缺失可以通过一系列复杂的机制激活 C-Met^[45-47]。有趣的是,pVHL 蛋白缺陷的细胞更多地依赖于 C-Met 而并不是其 pVHL 蛋白类似物^[48]。人类对肿瘤异种移植物的研究经常低估了 C-Met 的重要性,这是因为小鼠的 C-Met 和 HGF 配体蛋白与人类 C-Met 蛋白不能完全结合^[49]。这些因素以及 C-Met 在血管生成中的作用,表明了 C-Met 在肾透明细胞癌中的重要性。

4.6 HIF 与 CyclinD1

在 pVHL 蛋白缺陷的肾癌细胞中,区别于其它类型的细胞,HIF 可以诱导产生(但不是抑制)细胞周期蛋白 D1^[48]。此外,pVHL 蛋白缺陷的肾癌细胞对细胞周期蛋白 D1 的催化剂 Cdk6 十分敏感^[48]。在许多肾透明细胞癌的终末期时,细胞周期蛋白 D/Cdk 的抑制剂 16/Ink4A 都会持续的损失。如果用相对特异性不强的激酶抑制剂来抑制多种 Cdk 家族的成员会发现没有对肾癌产生显著的作用,这可能是因为脱靶毒性有效阻止了给药。这也为研究出新的对 Cdk6 及其同源基因 Cdk4 有更大的特异性的抑制性药物或因子提供了客观依据。

4.7 HIF 与去甲基酶组蛋白

HIF 可以诱导表达一些含 JmjC 结构的组蛋白去甲基化酶。在缺氧的条件下,这种诱导可以提供一种代偿方式,因为催化这些酶的反应都需要有氧环境。然而在 pVHL 蛋白缺陷的肿瘤细胞中,这也可能有助于改变基因表达和转录。在肾癌中,由于组蛋白甲基化酶(SETD2)和去甲基化酶(UTX,JARID1C)的突变,失去调控的组蛋白甲基化酶可以促进肾脏癌变。任何由 HIF 引起的可以发生和维持功能的脱甲基酶对 pVHL 蛋白缺陷的肾透明细胞癌的重要性是不是正确还有待考虑和研究,例如在有一项研究中,由 shRNA 介导的 JMJD1A 的下调导致了肾细胞癌的生长受到了抑制^[50]。

5 结论

VHL 肿瘤蛋白失活是肾透明细胞癌的典型病变,会导致 HIF 的异常调节。HIF2 α 在肾透明细胞癌中作为 pVHL 蛋白缺陷的癌蛋白,而 HIF1 α 是一种肿瘤抑制基因,且是 14q 缺失型肿瘤的靶基因。这些研究为我们提供了治疗肾透明细胞癌的基础,选择抑制 HIF 或具有 HIF 靶基因抑制选择性的药物进行研究,可能为肾透明细胞癌的治疗提供新的方法。

参考文献(References)

- [1] Maher E, Kaelin WG. von Hippel-Lindau disease [J]. Medicine, 1997, 76(6): 381-391
- [2] Beroukhir R, Brunet JP, Di Napoli A, et al. Patterns of gene expression and copy-number alterations in von Hippel-Lindau disease-associated and sporadic clear cell carcinoma of the kidney[J]. Cancer Research, 2009, 69(11): 4674-4681
- [3] Furge KA, Tan MH, Dykema K, et al. Identification of deregulated oncogenic pathways in renal cell carcinoma: an integrated

- oncogenomic approach based on gene expression profiling [J]. *Oncogene*, 2007, 26(9): 1346-1350
- [4] Rankin EB, Tomaszewski JE, Haase VH. Renal cyst development in mice with conditional inactivation of the von Hippel-Lindau tumor suppressor[J]. *Cancer research*, 2006, 66(5): 2576-2583
- [5] Montani M, Heinemann K, von Teichman A, et al. VHL-gene deletion in single renal tubular epithelial cells and renal tubular cysts: further evidence for a cyst-dependent progression pathway of clear cell renal carcinoma in von Hippel-Lindau disease [J]. *American Journal of Surgical Pathology*, 2010, 34(6): 806-815
- [6] Varela I, Tarpey P, Raine K, et al. Exome sequencing identifies frequent mutation of the SWI/SNF complex gene PBRM1 in renal carcinoma[J]. *Nature*, 2011, 469(7331): 539-542
- [7] Burrows AE, Smogorzewska A, Elledge SJ. Polybromo-associated BRG1 associated factor components BRD7 and BAF180 are critical regulators of p53 required for induction of replicative senescence[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2010, 107(32): 14280-14285
- [8] Xia W, Nagase S, Montia AG, et al. BAF180 is a critical regulator of p21 induction and a tumor suppressor mutated in breast cancer[J]. *Cancer Research*, 2008, 68(6): 1667-1674
- [9] Pedersen MT, Helin K. Histone demethylases in development and disease[J]. *Trends in Cell Biology*, 2010, 20(11): 662-671
- [10] Varier RA, Timmers HT. Histone lysine methylation and demethylation pathways in cancer [J]. *Biochimica et Biophysica Acta*, 2011, 1815(1): 75-89
- [11] Young AP, Schlisio S, Minamishima YA, et al. VHL loss activates a HIF-independent senescence programme mediated by Rb and p400 [J]. *Nature Cell Biology*, 2008, 10(3): 361-369
- [12] Welford SM, Dorie MJ, Li X, et al. Renal oxygenation suppresses VHL loss-induced senescence that is caused by increased sensitivity to oxidative stress [J]. *Molecular and Cellular Biology*, 2010, 30(19): 4595-4603
- [13] Kaelin Jr WG. The von Hippel-Lindau protein, HIF hydroxylation, and oxygen sensing [J]. *Biochemical and biophysical research communications*, 2005, 338(1): 627-638
- [14] Niu X, Zhang T, Liao L, et al. The von Hippel-Lindau tumor suppressor protein regulates gene expression and tumor growth Q2 through histone demethylase JARID1C [J]. *Oncogene*, 2012, 31(6): 776-786
- [15] Semenza GL. Oxygen sensing, homeostasis, and disease [J]. *New England Journal of Medicine*, 2011, 365(6): 537-547
- [16] Li L, Zhang L, Zhang X, et al. Hypoxia-inducible factor linked to differential kidney cancer risk seen with type 2A and type 2B VHL mutations [J]. *Molecular and Cellular Biology*, 2007, 27(15): 5381-5392
- [17] Kaelin Jr WG, Ratcliffe PJ. Oxygen sensing by metazoans: the central role of the HIF hydroxylase pathway[J]. *Molecular Cell*, 2008, 30(4): 393-402
- [18] Maynard MA, Qi H, Chung J, et al. Multiple splice variants of the human HIF-3 alpha locus are targets of the von Hippel-Lindau E3 ubiquitin ligase complex [J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2003, 278(13): 11032-11040
- [19] Bruick R, McKnight S. A conserved family of prolyl-4-hydroxylases that modify HIF[J]. *Science*, 2001, 294(5545): 1337-1340
- [20] Liu YV, Baek JH, Zhang H, et al. RACK1 competes with HSP90 for binding to HIF-1 and is required for O₂-independent and HSP90 inhibitor-induced degradation of HIF-1alpha [J]. *Molecular Cell*, 2007, 25(2): 207-217
- [21] Luo W, Zhong J, Chang R, et al. Hsp70 and CHIP selectively mediate ubiquitination and degradation of hypoxia-inducible factor (HIF)-1α but not HIF-2α [J]. *Journal of biological chemistry*, 2010, 285(6): 3651-3663
- [22] Bento CF, Fernandes R, Ramalho J, et al. The chaperone-dependent ubiquitin ligase CHIP targets HIF-1alpha for degradation in the presence of methylglyoxal[J]. *PLoS One*, 2010, 5(11): e15062
- [23] Dayan F, Roux D, Brahimi-Horn MC, et al. The oxygen sensor factor-inhibiting hypoxia-inducible factor-1 controls expression of distinct genes through the bifunctional transcriptional character of hypoxia-inducible factor-1α [J]. *Cancer research*, 2006, 66(7): 3688-3698
- [24] Kaelin Jr WG, Ratcliffe PJ. Oxygen sensing by metazoans: the central role of the HIF hydroxylase pathway [J]. *Molecular cell*, 2008, 30(4): 393-402
- [25] Hu CJ, Sataur A, Wang L, et al. The N-terminal transactivation domain confers target gene specificity of hypoxia-inducible factors HIF-1alpha and HIF-2alpha [J]. *Molecular Biology of the Cell*, 2007, 18(11): 4528-4542
- [26] Gordan JD, Lal P, Dondeti VR, et al. HIF-alpha effects on c-Myc distinguish two subtypes of sporadic VHL-deficient clear cell renal carcinoma[J]. *Cancer Cells*, 2008, 14(6): 435-446
- [27] Wu X, Scelo G, Purdue MP, et al. A genome-wide association study identifies a novel susceptibility locus for renal cell carcinoma on 12p11.23[J]. *Human molecular genetics*, 2012, 21(2): 456-462
- [28] Klatte T, Kroeger N, Rampers, et al. Gain of chromosome 8q is associated with metastases and poor survival of patients with clear cell renal cell carcinoma[J]. *Cancer*, 2012, 118(23): 5777-5782
- [29] Zhang J, Chen GQ. Hypoxia-HIF-1alpha-C/EBPalpha/Runx1 signaling in leukemic cell differentiation [J]. *Pathophysiology*, 2009, 16(4): 297-303
- [30] Zhang J, Song LP, Huang Y, et al. Accumulation of hypoxia-inducible factor-1 alpha protein and its role in the differentiation of myeloid leukemic cells induced by all-trans retinoic acid[J]. *Haematologica*, 2008, 93(10): 1480-1487
- [31] Bertout JA, Majumdar AJ, Gordan JD, et al. HIF2alpha inhibition promotes p53 pathway activity, tumor cell death, and radiation responses[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2009, 106(34): 14391-14396
- [32] Roberts AM, Watson IR, Evans AJ, et al. Suppression of hypoxia-inducible factor 2alpha restores p53 activity via Hdm2 and reverses chemoresistance of renal carcinoma cells [J]. *Cancer Research*, 2009, 69(23): 9056-9064
- [33] Lee K, Zhang H, Semenza GL, et al. Acriflavine inhibits HIF-1 dimerization, tumorigrowth, and vascularization[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2009, 106(42): 17910-17915

- [34] Bokesch HR, Gardella RS, Rabe DC, et al. A new hypoxia inducible factor-2 inhibitory pyrrolinone alkaloid from roots and stems of *Piper sarmentosum*[J]. Chemical and Pharmaceutical Bulletin, 2011, 59(9): 1178-1179
- [35] Zimmer M, Lamb J, Ebert BL, et al. The connectivity map links iron regulatory protein-1-mediated inhibition of hypoxia-inducible factor-2 α translation to the anti-inflammatory 15-deoxy Δ 12,14-prostaglandin J2[J]. Cancer Research, 2010,70(8): 3071-3079
- [36] Sternberg CN, Davis ID, Mardiak J, et al. Pazopanib in locally advanced or metastatic renal cell carcinoma: results of a randomized phase III trial [J]. Journal of Clinical Oncology, 2010, 28 (6): 1061-1068
- [37] Cho DC, Cohen MB, Panka DJ, et al. The efficacy of the novel dual PI3-kinase/mTOR inhibitor NVP-BEZ235 compared with rapamycin in renal cell carcinoma [J]. Clinical Cancer Research, 2010, 16(14): 3628-3638
- [38] Escudier B, Bellmunt J, Né grier S, et al. Phase III trial of bevacizumab plus interferon α -2a in patients with metastatic renal cell carcinoma (AVOREN): final analysis of overall survival [J]. Journal of Clinical Oncology, 2010, 28(13): 2144-2150
- [39] Hutson TE, Davis ID, Machiels JP, et al. Efficacy and safety of pazopanib in patients with metastatic renal cell carcinoma[J]. Journal of Clinical Oncology, 2010, 28(3): 475-480
- [40] Rini BI, Garcia JA, Cooney MM, et al. Toxicity of sunitinib plus bevacizumab in renal cell carcinoma[J]. Journal of Clinical Oncology, 2010, 28(17): e284-5[author reply e286-7]
- [41] Zhang H, Ye D, Yao X, et al. Role of KIT expression in the prognosis of clear cell renal cell carcinomas in Chinese patients [J]. Journal of cancer research and clinical oncology, 2009, 135(2): 249-253
- [42] Merseburger AS, Hennenlotter J, Simon P, et al. Membranous expression and prognostic implications of epidermal growth factor receptor protein in human renal cell cancer [J]. Anticancer Research, 2005, 25(3B): 1901-1907
- [43] Wang Y, Roche O, Yan MS, et al. Regulation of endocytosis via the oxygen-sensing pathway[J]. Nature Medicine, 2009, 15(3): 319-324
- [44] Franovic A, Holterman CE, Payette J, et al. Human cancers converge at the HIF-2 α oncogenic axis [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2009, 106(50): 21306-21311
- [45] Flaig TW, Costa LJ, Gustafson DL, et al. Safety and efficacy of the combination of erlotinib and sirolimus for the treatment of metastatic renal cell carcinoma after failure of sunitinib or sorafenib [J]. British journal of cancer, 2010, 103(6): 796-801
- [46] Engelman JA, Zejnullahu K, Mitsudomi T, et al. MET amplification leads to gefitinib resistance in lung cancer by activating ERBB3 signaling[J]. Science, 2007, 316(5827): 1039-1043
- [47] Stommel JM, Kimmelman AC, Ying H, et al. Coactivation of receptor tyrosine kinases affects the response of tumor cells to targeted therapies[J]. Science, 2007, 318(5848): 287-290
- [48] Baldwin A, Grueneberg DA, Hellner K, et al. Kinase requirements in human cells: V.Synthetic lethal interactions between p53 and the protein kinases SGK2 and PAK3 [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences, 2010, 107(28): 12463-12468
- [49] Zhang YW, Staal B, Essenburg C, et al. MET kinase inhibitor SGX523 synergizes with epidermal growth factor receptor inhibitor erlotinib in a hepatocyte growth factor-dependent fashion to suppress carcinoma growth[J]. Cancer Research, 2010, 70(17): 6880-6890
- [50] Krieg AJ, Rankin EB, Chan D, et al. Regulation of the histone demethylase JMJD1A by hypoxia-inducible factor1 α enhances hypoxic gene expression and tumor growth[J]. Molecular and Cellular Biology, 2010, 30(1): 344-353

(上接第 1913 页)

- Deng Xian-feng, Zhu Feng, Chen Wei, et al. Research on the Relation between Type 2 Diabetes Mellitus and Dry Eye Disease and Analysis on the Risk Factors [J]. Progress in Modern Biomedicine, 2016, 16 (13): 2503-2506
- [11] Nambiar V S, Kosambia P. Risk assessment of Vitamin A Deficiency in children[J]. Inter J Biol Pharm Allied Sci, 2013, 2(10): 1908-1926
- [12] Shao Y, Yu Y, Yu J, et al. Experimental study on efficiency of Spanishneedles Herb eye drops in treating perimenopausal xerophthalmia in rabbits[J]. China journal of Chinese materia medica, 2015, 40(6): 1151-1155
- [13] Agrawal V K, Agrawal P. Prevalence and determinants of xerophthalmia in rural children [J]. International Journal of Medical Science and Public Health, 2013, 2(1): 94-97
- [14] Li Y, Bookman A M. FRI0432 Limited Scleroderma (Crest Syndrome) is Associated with Worse Xerostomia and Xerophthalmia in Patients Being Evaluated for Primary Sjogren's Syndrome [J]. Annals of the Rheumatic Diseases, 2015, 74(2): 583-584
- [15] Zhou Y, Lefante J, Rice J, et al. Using modified approaches on marginal regression analysis of longitudinal data with time dependent covariates[J]. Statistics in medicine, 2014, 33(19): 3354-3364
- [16] Fini G, Cascino F, Moricca L M, et al. Parotid gland oncocytoma in HCV-positive patient with non-Hodgkin's lymphoma. Case report[J]. Il Giornale di chirurgia, 2013, 34(1-2): 18
- [17] Hsu H Y, Tsai I L, Kuo L L, et al. Herpetic keratouveitis mixed with bilateral Pseudomonas corneal ulcers in vitamin A deficiency [J]. Journal of the Formosan Medical Association, 2015, 114(2): 184-187
- [18] Li Z, Mu G, Chen W, et al. Comparative evaluation of topical pranopfen and fluorometholone in cases with chronic allergic conjunctivitis[J]. Cornea, 2013, 32(5): 579-582
- [19] Li Y H, Wen Q, Fan T J, et al. Dose dependent cytotoxicity of pranopfen in cultured human corneal endothelial cells by inducing apoptosis[J]. Drug and chemical toxicology, 2015, 38(1): 16-21
- [20] Agrawal S, Agrawal P. Vitamin A supplementation among children in India: Does their socioeconomic status and the economic and social development status of their state of residence make a difference?[J]. International journal of medicine and public health, 2013, 3(1): 48