

低氧诱导因子-1 与造血调控*

曾东风 综述, 孔佩艳[△] 审校

(第三军医大学新桥医院血液科/重庆市医学重点学科, 重庆 400037)

关键词: 缺氧诱导因子 1; 骨髓; 造血调控; 缺氧微环境**DOI:** 10.3969/j.issn.1673-4130.2011.11.010**文献标识码:** A**文章编号:** 1673-4130(2011)11-1168-03

造血干/祖细胞的增殖、分化是依赖多种体液因子进行调节的,目前已经发现的参与造血调控的因子包括造血生长因子、造血抑制因子以及转录调控因子^[1]。其中,转录调控因子在调控造血分化的过程中发挥着关键性的作用,其通过对造血干/祖细胞基因表达的顺式和反式调控,决定着细胞的分化方向以及增殖特性。低氧诱导因子-1 (HIF-1)是近年来发现的能够在特异性缺氧环境下发挥活性的转录因子,其主要功能调节亚单位为 HIF-1 α ^[2]。研究表明, HIF-1 可以在正常和异常的骨髓内局部低氧环境中对造血细胞发挥重要的转录调控作用。本文就相关内容作一综述。

1 HIF-1 的结构和功能

HIF-1 是 Semenza^[3]在 1992 年研究缺氧条件下促红细胞生成素的 3'增强子时发现的,它以异源二聚体形式存在,由 HIF-1 α 和 HIF-1 β 两个亚基组成,其中 HIF-1 β 为芳香烃受体核转运子,在细胞内稳定表达,而 HIF-1 α 的表达则因在不同条件下存在显著差异,而成为 HIF-1 的主要功能和调节亚基,直接决定了 HIF-1 的生物活性。人 HIF-1 α 的 cDNA 全长为 3 720 bp,开放阅读框 2 478 bp,编码 826 个氨基酸,5'和 3'非翻译区分别为 28 和 1 211 bp,位于第 14 号染色体(14q21-24)。人 HIF-1 β 的 cDNA 序列和已知的芳香烃受体核转位蛋白 (ARNT)相同,全长为 2 604 bp,开放阅读框 2 367 bp,编码 789 个氨基酸,5'和 3'非翻译区分别为 56 和 188 bp,在其基因中有一个长 45 bp 的可变外显子,编码 15 个氨基酸,位于第 1 号染色体 (1q21)^[4-5]。两个亚基的氨基末端均含有碱性螺旋-环-螺旋 (bHLH) 和 PAS (PER-ARNT-Sim) 同源性结构域,因此,均属于 BHLH/PAS 转录因子超家族成员^[6]。

HIF-1 α 作为 HIF-1 重要的功能调节亚基,其生物学活性主要是通过其两端 (N 端和 C 端) 的反式转录激活区域 (TAD) 和位于中间的氧依赖降解区 (oxygen ODD) 的调控而实现完成的^[7]。HIF-1 α 在常氧情况下半衰期极短,通过泛素-蛋白酶体途径降解,低氧时,该途径受抑制, HIF-1 α 得以进入胞核与 HIF-1 β 结合,形成复合体,并激活 HIF-1 功能。HIF-1 激活后,因其反式转录激活区域的存在,能够与包含有低氧反应元件 (HRE) 的靶基因结合,激活相应靶基因的转录来实现功能。目前发现的靶基因有:血管内皮生长因子 (VEGF)、VEGF 受体 (VEGFR);参与糖酵解的相关蛋白:葡萄糖载体蛋白 1、3 (GLUT1, GLUT3)、腺苷酸激酶 (AK1) 等编码基因;促红细胞生成素 (EPO) 编码基因;血红素加氧酶 (HO21) 和诱导型 NO

合酶 (iNOS) 编码基因;内皮素 21 (ET21)、 α 及 β_2 -肾上腺素能受体、肾上腺髓质素 (AM)、酪氨酸羟化酶 (TH); p21、p53、转铁蛋白 (TF) 及其受体 (TFR)、胰岛素样生长因子 II (IGF2 II) 编码基因^[8-9]。

2 HIF-1 参与的正常造血调控

造血调控是在造血微环境中由多种细胞因子和造血组织参与的复杂过程,既往的研究表明,正常的造血微环境本身存在低氧分布以及供氧不均,与造血相关的组织,包括骨髓、胸腺以及淋巴结,均存在低氧分压区^[10]。干/祖细胞的增殖、发育、聚积并形成功能性血管的过程均受组织氧分压和缺氧的影响。低氧环境的存在,一方面调控造血相关因子的表达和分布,进而参与到后续对造血干/祖细胞的生长增殖的调控。另一方面,还可以通过对细胞因子的转录调节影响造血组织局部血管形成以及造血干/祖细胞的迁移、分化。

2.1 HIF-1 对造血干/祖细胞生长、分化的调控 缺氧参与造血调控的研究最早源于对缺氧后 EPO 表达变化的认识,这也是人们开始发现和认识 HIF-1 的过程^[3]。EPO 是一类由成人肾间质成纤维细胞和胚胎造血细胞合成分泌的细胞生长调控因子,被释放入血后, EPO 能进入骨髓,进而调控红细胞的生成,抑制造血祖细胞的凋亡。研究发现,低氧刺激肾脏分泌 EPO 是红细胞增多的重要原因,进一步的研究发现, EPO 的 3'端增强子部位存在低氧结合区,即与 HIF-1 结合的部位。低氧刺激 HIF-1 α 表达上调后, HIF-1 α 与 EPO 编码基因低氧结合区域结合后,激活 EPO 表达,进而产生促进红细胞生成的作用。激活 EPO 后引起的对红系干/祖细胞的调控,还涉及到自分泌活动因子 (AMF) 的表达以及对红系造血干/祖细胞迁移能力的调控。Mikami 等^[11]通过研究缺氧对红系造血祖细胞系 UT-7/Epo 的影响发现,在缺氧环境中,红系祖细胞 HIF-1 α 和 AMF 表达均可出现明显上调,同时, UT-7/Epo 细胞在形态上出现了伪足样结构,活力明显增强。在应用了 HIF-1 α 拮抗剂后, AMF 表达相应下降,而拮抗 AMF 表达可以明显影响 UT-7/Epo 细胞系的活力。上述研究表明,在缺氧对红系造血调控中, HIF-1 α 通过 AMF 表达实现了对红系造血祖细胞功能的影响。研究还发现,在缺氧条件下将 UT-7/Epo 与骨髓基质细胞共培养后, UT-7/Epo 的迁移活性明显增强,同时还可以明显抑制 UT-7/Epo 的细胞凋亡。

TPO 作为一种关键的、必需的造血细胞因子,能够支持造血干/祖细胞的存活、自我更新,支持巨核细胞的生长和分化以

* 基金项目:全军医学科研“十一五”计划面上项目 (06MB238);新桥医院 1520 人才基金资助项目 (2006)。 [△] 通讯作者, E-mail: peiy-ankong@yahoo. com. cn。

及活化血小板的功能。TPO 上述功能是通过调控几种转录因子(同源结构域蛋白 HOXB4 和 HOXA9)的表达程度和细胞定位来实现的。研究表明, TPO 能够刺激另外一种重要的与造血干细胞生理紧密联系的细胞因子 VEGF 的生成, 促进其在特定的干细胞内存在并扩增。和其他细胞因子的作用相似, TPO 促进 VEGF 的表达是依赖于促 VEGF 表达的前体转录因子 HIF-1 α 的稳定性和活性决定的。所有的观察表明, 骨髓微环境本身是缺氧的, 而缺氧是调节造血干细胞活性的重要因素, TPO 是能够模拟缺氧并控制造血干细胞周期性变化所必需的基因, 进而实现对造血细胞尤其是巨核细胞生长分化的调节^[12]。

HIF-1 α 的信号转导通路还涉及到对造血干/祖细胞分化、凋亡的调节。HIF-1 α 参与糖酵解途径的调控, 能够促进干/祖细胞的有丝分裂和生长^[13]。HIF-1 α 对 VEGF 的调控对于造血干/祖细胞的生长起到明显的保护作用^[14]。同时, HIF-1 α 还可能参与了对造血细胞功能的调控, Kojima 等^[15]研究了 HIF-1 α 对于成熟 T、B 淋巴细胞的影响后发现, HIF-1 α 表达的缺失可能会导致成熟的细胞毒 T 淋巴细胞减少以及阻断 B 淋巴细胞在骨髓当中的正常发育。HIF-1 α 可能是造血细胞生长、成熟过程中的重要转录因子。此外, HIF-1 α 直接参与了对造血干/祖细胞凋亡的调控, HIF-1 α 可以下调抗凋亡基因 Bcl-2 和 Bcl-x(L) 的表达, 促进缺氧诱导的细胞凋亡^[16]。

2.2 HIF-1 与造血干/祖细胞的迁移和归巢 骨髓基质细胞分泌的 SDF-1 和其受体 CXCR4 是介导干/祖细胞聚集的重要因子, 研究表明, CD34⁺ 细胞可以在 SDF-1 的浓度梯度趋化下进行细胞迁移, 这种作用与其表达在干/祖细胞表面的 CXCR4 受体密切相关。而 SDF-1 的表达可能直接受控于 HIF-1, SDF-1 的表达和缺氧在骨髓小龛中同时存在, 表明缺氧可能是祖细胞运输和功能实现的基本必需^[17]。缺血的组织可以形成一个条件性的干细胞龛室, 通过缺氧调节 SDF-1 表达来影响对干/祖细胞的聚集和贮留。Ceranini 和 Curtner^[18]在对 HIF-1 α 调控内皮细胞 SDF-1 的表达研究中发现, 不同缺氧浓度的内皮细胞存在对应梯度的 SDF-1 表达, 同时, 通过改变氧浓度进而实现 HIF-1 对 SDF-1 表达的调控, 可以明显改变 SDF-1 诱导的对 CXCR4 阳性干/祖细胞的迁移作用。

3 HIF-1 参与的异常造血调控

HIF-1 参与的异常造血调控涉及到两方面的内容, 一是 HIF-1 直接参与的对异常造血(干)细胞的调控, 这一过程涉及到 HIF-1 α 对细胞增殖、凋亡以及分化的直接调控; 另一部分是 HIF-1 参与的对骨髓造血微环境的调控, 血液系统疾病尤其是血液系统恶性肿瘤的发生、发展和骨髓造血微环境的异常密切相关, 骨髓造血微环境的异常涉及到多种细胞因子分泌和转录调控的异常。由于 HIF-1 本身涉及到多种信号转导通路, 其异常的累积和缺失可能是形成造血微环境内细胞因子表达异常的重要原因。

3.1 HIF-1 α 与白血病 HIF-1 对白血病的调控存在两面性, 一方面, 外源性的调控 HIF-1 α 表达上调, 可以促进白血病细胞的分化和凋亡。Huang 等^[19]在对急性髓系白血病细胞株的研究发现, 在低氧状态下, 急性髓系白血病细胞株 HIF-1 表达及其转录活性均明显增加, 并发现细胞生长受到抑制, 但其活性未受明显影响, 显微镜下观察细胞发生核染色质固缩、核浆

比例减小等分化形态改变。此外, 缺氧所致的 HIF-1 α 表达上调, 可以通过激活 Caspase3 活性、调控野生型 P53 表达以及下调抗凋亡基因 Bcl-2 和 Bcl-x(L) 的表达促进白血病细胞的凋亡, 通过 2-脱氧-D-核糖(2-deoxy-D-ribose)抑制 HIF-1 α 活性, 可以有效地减少白血病细胞系(HL60)的凋亡^[20]。

另一方面, 白血病 HIF-1 α 的上调, 可能是白血病细胞能够耐受局部的缺氧微环境并生存、发展的重要调节机制。Mayerhofer 等^[21]研究表明, 含有 BCR/ABL 融合基因的白血病细胞可能通过 PI3K 通路增强 HIF-1 的表达和转录活性。Wellmann 等^[22]研究也发现, 急性淋巴细胞白血病患者其骨髓切片中细胞 HIF-1 α 表达明显上调, 且这种上调与 VEGF 的表达呈正相关, 并直接与患者的预后不良存在明显联系。前文中提到 HIF-1 α 参与调控的 SDF-1/CXCR4 对造血干/祖细胞趋化回髓的调控, 在白血病的进程中, 有理由推测, HIF-1 α 可能通过对 SDF-1/CXCR4 轴的调控实现对白血病原始细胞的迁移回髓, 进而导致白血病的复发和耐药。因此, 白血病自身 HIF-1 α 表达的上调及其激活的下游调控基因(如 VEGF 等)表达可能是白血病发展、预后的重要因素。

3.2 HIF-1 与其他血液恶性肿瘤 对淋巴瘤和多发性骨髓瘤的研究表明, 淋巴瘤细胞和骨髓瘤细胞均存在 HIF-1 α 的阳性表达, 但其表达与实体肿瘤相比较弱^[23-24]。HIF-1 α 的阳性表达与肿瘤细胞增殖以及局部新生血管相关, 但随着局部血管丰度增加, HIF-1 的表达可能下降。因此, HIF-1 在淋巴瘤和多发性骨髓瘤的表达似乎是缺氧调控后的结果。

4 以 HIF-1 为靶点在血液肿瘤治疗的展望

如前所述, HIF-1 在对造血调控过程中存在着正反两个方面的作用。一方面, 缺氧诱导的 HIF-1 α 的表达上调可能促进原始细胞的分化、凋亡, Jiang 等^[25]应用去铁草酰胺(DFO)模拟缺氧微环境的形成实验中发现, 通过 DFO 诱导的局部缺氧环境可导致 HIF-1 α 的快速聚积, 进而促进急性髓系白血病细胞的分化作用。因此, 通过增强白血病细胞本身 HIF-1 α 的表达可能是诱导白血病分化及凋亡治疗的有效方法。另一方面, 白血病在形成的过程中形成了局部的缺氧微环境, 通过上调 HIF-1 α 的表达进而调控 VEGF、EPO 等下游基因, 促进局部血管新生以及白血病细胞的细胞黏附和迁移, 使白血病细胞耐受缺氧并增强抗凋亡能力和对化疗药物的耐受性。参与这一过程的主要是构成白血病缺氧微环境的细胞基质, 因此, 以 HIF-1 α 为靶点抑制其在骨髓基质的表达, 可以有效地实现对其下游基因 VEGF 等的调控, 实现针对白血病血管新生以及细胞黏附的生物治疗。

参考文献

- [1] Shav TY, Zipori D. The role of activin a in regulation of hemopoiesis[J]. Stem Cells, 2002, 20(6):493-500.
- [2] Jiang BH, Zheng JZ, Leung SW, et al. Transactivation and inhibitory domain of hypoxia inducible factor 1 α : modulation of transcriptional activity by oxygentension[J]. J Biol Chem, 1997, 272(31):19253-19260.
- [3] Semenza GL. Perspectives on oxygen sensing[J]. Cell, 1999, 98(3):281-284.
- [4] Schumacker PT. Hypoxia-inducible factor-1(HIF-1)[J]. Crit Care Med, 2005, 33(12):S423-425.

- [5] Dery MA, Michaud MD, Richard DE. Hypoxia-inducible factor 1: regulation by hypoxic and non-hypoxic activators[J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2005, 37(3): 535-540.
- [6] Zhou J, Brune B. Cytokines and hormones in the regulation of hypoxia inducible factor-1alpha (HIF-1 α) [J]. *Cardiovasc Hematol Agents Med Chem*, 2006, 4(3): 189-197.
- [7] Huang LE, Gu J, Schau M. Regulation of hypoxia-inducible factor 1alpha is mediated by an O₂-dependent degradation domain via the ubiquitin-proteasome pathway[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1998, 95(14): 7987-7992.
- [8] Semenza GL, Shimoda LA, Prabhakar NR. Regulation of gene expression by HIF-1[J]. *Novartis Found Symp*, 2006, 272: 2-14, 33-36.
- [9] Losso JN, Bawadi HA. Hypoxia inducible factor pathways as targets for functional foods[J]. *J Agric Food Chem*, 2005, 53(10): 3751-3768.
- [10] Gol'dberg ED, Dygai AM, Zyuz'kov GN. Mechanisms of changes in the erythroid hemopoietic stem during hypoxias of different severity[J]. *Bull Exp Biol Med*, 2002, 134(2): 122-125.
- [11] Mikami M, Sadahira Y, Haga A, et al. Hypoxia-inducible factor-1 drives the motility of the erythroid progenitor cell line, UT-7/Epo, via autocrine motility factor[J]. *Exp Hematol*, 2005, 33(5): 531-541.
- [12] Yoshida K, Kirito K, Yongzhen H, et al. Thrombopoietin (TPO) regulates HIF-1 α levels through generation of mitochondrial reactive oxygen species[J]. *Int J Hematol*, 2008, 88(1): 43-51.
- [13] Hayashi M, Sakata M, Takeda T, et al. Induction of glucose transporter 1 expression through hypoxia-inducible factor 1alpha under hypoxic conditions in trophoblast-derived cells[J]. *J Endocrinol*, 2004, 183(1): 145-154.
- [14] Jin KL, Mao XO, Greenberg DA. Vascular endothelial growth factor, direct neuroprotective effect in vitro ischemia[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2000, 97(18): 10242-10247.
- [15] Kojima H, Sitkovsky MV, Cascalho M. HIF-1 alpha deficiency perturbs T and B cell functions[J]. *Curr Pharm Des*, 2003, 9(23): 1827-1832.
- [16] Zhou J, Callapina M, Goodall GJ, et al. Functional integrity of nuclear factor kappaB, phosphatidylinositol 3'-kinase, and mitogen-activated protein kinase signaling allows tumor necrosis factor alpha-evoked Bcl-2 expression to provoke internal ribosome entry site-dependent translation of hypoxia-inducible factor 1alpha[J]. *Cancer Res*, 2004, 64(24): 9041-9048.
- [17] Ceradini DJ, Kulkarni AR, Callaghan MJ, et al. Progenitor cell trafficking is regulated by hypoxic gradients through HIF-1 induction of SDF-1[J]. *Nat Med*, 2004, 10(8): 858-864.
- [18] Ceradini DJ, Gurtner GC. Homing to hypoxia: HIF-1 as a mediator of progenitor cell recruitment to injured tissue[J]. *Trends Cardiovasc Med*, 2005, 15(2): 57-63.
- [19] Huang Y, Du KM, Xue ZH, et al. Cobalt chloride and low oxygen tension trigger differentiation of acute myeloid leukemic cells: possible mediation of hypoxia-inducible factor-1alpha[J]. *Leukemia*, 2003, 17(11): 2065-2073.
- [20] Ikeda R, Furukawa T, Kitazono M, et al. Molecular basis for the inhibition of hypoxia-induced apoptosis by 2-deoxy-D-ribose[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2002, 291(4): 806-812.
- [21] Mayerhofer M, Valent P, Sperr WR, et al. BCR/ABL induces expression of vascular endothelial growth factor and its transcriptional activator, hypoxia inducible factor-1alpha, through a pathway involving phosphoinositide 3-kinase and the mammalian target of rapamycin[J]. *Blood*, 2002, 100(10): 3767-3775.
- [22] Wellmann S, Guschmann M, Griethe W, et al. Activation of the HIF pathway in childhood ALL, prognostic implications of VEGF[J]. *Leukemia*, 2004, 18(5): 926-933.
- [23] Asosingh K, de Raeye H, de Ridder M, et al. Role of the hypoxic bone marrow microenvironment in 5T2MM murine myeloma tumor progression[J]. *Haematologica*, 2005, 90(6): 810-817.
- [24] Stewart M, Talks K, Leek R, et al. Expression of angiogenic factors and hypoxia inducible factors HIF 1, HIF 2 and CA IX in non-Hodgkin's lymphoma[J]. *Histopathology*, 2002, 40(3): 253-260.
- [25] Jiang Y, Xue ZH, Shen WZ, et al. Desferrioxamine induces leukemic cell differentiation potentially by hypoxia-inducible factor-1 alpha that augments transcriptional activity of CCAAT/enhancer-binding protein-alpha[J]. *Leukemia*, 2005, 19(7): 1239-1247.

(收稿日期: 2011-03-07)

• 综 述 •

Cx43 介导的 GJIC 功能在白血病的研究进展

樊智敏, 刘 耀 综述, 张 曦[△], 高 力 审校

(第三军医大学新桥医院血液科/重庆市医学重点学科, 重庆 400037)

关键词: 连接蛋白 43 白血病; 骨髓基质细胞; 间隙连接细胞间通讯

DOI: 10. 3969/j. issn. 1673-4130. 2011. 11. 011

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2011)11-1170-03

间隙连接细胞间通讯(GJIC)是相邻细胞间普遍存在的直接通讯方式,参与细胞间的物质交换和信号的传递。GJIC 是 1 种高效、快速的传递方式,对细胞的新陈代谢、内环境的稳定及许多生理过程(如增殖、分化、凋亡等)发挥着重要的调节作

用。GJIC 的物质基础是相邻细胞膜上连接子耦联形成的通讯通道,每个连接子含 6 个连接蛋白(Connexon, Cx)。Cx 是 1 个较保守的蛋白家族,至今在人类中已经发现 21 种,依据相对分子质量命名,如 Cx26、Cx32、Cx43 等。其中 Cx43 是存在于细

[△] 通讯作者, E-mail: zhangxxi@sina. com。