HIF2α 与细胞通透性关系的研究进展

张　烨　蒋荣珍

摘　要　细胞通透性改变是炎性反应、组织缺氧以及细胞代谢障碍等多种疾病的重要病理过程，HIF2α 是细胞缺氧应答反应中重要的调节因子，可对多种基因的表达进行调控。HIF2α 可通过不同的信息调控途径，参与调节不同组织细胞通透性变化的病理性过程。

关键词　缺氧诱导因子 2α　细胞通透性　作用机制

中图分类号　R4　　**文献标识码**　A　　**DOI**　10.11969/j.issn.1673-548X.2018.01.004

缺氧诱导因子(hypoxia－inducible factor，HIF)是重要的氧平衡调节转录因子，但也受生长因子、金属离子、原癌基因、抑癌基因、细胞因子等非氧平衡因素的调节，在不同组织细胞的生理及病理过程中发挥着重要的调控作用。细胞通透性的改变可影响机体固有的屏障功能，导致炎症、血管功能障碍及代谢紊乱等多种病理过程。近来研究表明，HIF2α 既可作为致病性因子导致细胞通透性改变，也可以作为保护性因子保护细胞屏障功能。现就 HIF2α 与不同细胞通透性关系的研究做一综述。

缺氧诱导因子(hypoxia－inducible factor，HIF)是由 α、β 两个蛋白质亚基组成的异二聚体转录因子，1997 年，由 Tian 等[1]克隆出内皮 PAS 蛋白 1(endothelial PAS protein－1，EPAS1)，即缺氧诱导因子 2α(HIF2α)，为碱性螺旋－环－螺旋－PAS(bHLH－PAS)转录因子超家族成员，包含 bHLH 结构域、PAS 结构域、反式活化结构域及入核信号。HIF2α 与 HIF1α 在结构上有许多相似之处，二者约有 48% 的氨基酸序列具有同源性。HIF2α mRNA 在血管丰富的器官比如心脏、肺、胎盘中高度表达，HIF1α mRNA 虽可在人类所有组织中检测到，但在高度血管化的器官中表达水平并不高。HIF2α 通过缺氧反应元件(hypoxia －response elements，HREs)调控下游靶基因，其靶基因的启动子或增强子上有一段 <100bp 的 DNA 序列，即为缺氧反应元件，其核心为 5′－TACGTGCT－3′序列。HIF2α 通过 HREs 的识别序列与靶基因结合，诱导靶基因转录，从而介导细胞对缺氧的应答[2]。HIF2α 的靶基因包括促红细胞生成素(EPO)、血管内皮生长因子(VEGF)、血管内皮生长因子受体(VEGFR)、乳酸脱氢酶 A(LDHA)、3－磷酸甘油醛脱氢酶(GAPDH)、内皮素－1(ET－1)、转铁蛋白、酪氨酸羟化酶以及一氧化氮合酶(NOS)等，涉及多个血管生长或收缩、骨髓造血、能量代谢、儿茶酚胺合成及铁代谢等多个方面[3]。其中，大量研究显示 HIF2α 对 VEGF 及其受体的转录调节尤为明显，而且与 HIF1α 相比，HIF2α 更易于与 VEGF 增强子结合。Zimmer 等[4]应用 RNA 干扰的方法阻断 HIF2α 的表达，结果显示 VEGF 的表达降低，提示 VEGF 可能是 HIF2α 的靶分子。由于 VEGF 是重要的血管生成因子，也可增加血管通透性，并且在肠道上皮的凋亡中具有保护作用，HIF2α 通过 VEGF 调控血管及肠道通透性是其作用机制之一[5]。

一、HIF2α 与上皮细胞通透性

HIF 调节通路在肠上皮细胞通透性的病理过程中起着重要作用，Xue 等[6]研究发现，在结肠上皮细胞中，HIF2α 通过介导 myc 相关的锌指蛋白(myc associated zinc finger，MAZ)上调 TNF－α 的基因表达，增加肠道通透性，导致结肠炎易感性增加。而 Xie 等[7]研究发现，在结肠上皮细胞中，HIF2α 通过 MAZ 增加 caveolin－1(CAV－1)mRNA 及蛋白水平的表达，破坏肠道上皮细胞紧密连接蛋白(occludin)，增加肠上皮细胞屏障通透性，进而诱发结肠炎症或加重结肠癌的病情发展。提示 HIF2α 作为转录因子，通过激活相关细胞因子，导致结肠上皮细胞通透性增加，进而诱发结肠炎症。

基金项目：国家自然科学基金(面上项目)资助项目(81570444)；国家科技部“十二五”科技支撑计划项目(2014BAI05B05)；上海市卫生和计划生育委员会第四轮公共卫生行动计划重点学科建设计划(15GWZK0701)

作者单位：200233　上海交通大学附属第六人民医院、上海市产科重症监护中心、妇产科研究所

通讯作者：蒋荣珍，主任医师，电子信箱：jianrzh@163.com

在酒精性肝脏疾病(ALD)中,酒精诱导的肠上皮细胞通透性增加可增加内毒素吸收,引起内毒素血症,研究发现,HIF2α 可能参与肠道益生菌对肠道屏障功能保护作用的调控,从而缓解酒精性肝硬化引起的内毒素血症。Wang 等[8,9]用酒精喂养 C57BJ/6N 小鼠 8 周后发现,酒精造成小鼠回肠上皮的肠道上皮细胞保护肽 ITP 及 VEGF 蛋白水平显著减少,HIF2α 表达明显降低,肠道上皮细胞通透性增加,而给予酒精性肝病模型小鼠鼠李糖乳杆菌(lactobacillus rhamnosus GG, LGG)两周治疗后,ITP、VEGF 及 HIF2αmRNA 及蛋白水平均恢复正常,肠道上皮细胞通透性降低;与体外小肠上皮细胞的 Caco-2 细胞模型中研究结果一致;而小肠上皮细胞 HIF2α 基因敲除后,LGG 不能恢复 Caco-2 细胞模型 ITP 表达水平增加和细胞通透性降低的效应。提示在酒精性肝病小鼠模型中,LGG 通过增加 HIF2α 表达,上调小肠肠道上皮细胞保护基因和蛋白的表达,参与肠道上皮细胞通透性调节。

生理状态下,人类晶状体上皮细胞处于低氧状态,研究表明,低氧状态下晶状体上皮细胞 HIF2α 与 HIF1α 表达增加,促进晶状体上皮细胞合成 VEGF,增加抑制细胞凋亡蛋白 Bcl-2 的表达,阻止凋亡蛋白 BAX 移位至线粒体膜,从而抑制线粒体膜的去极化,降低线粒体膜通透性[10]。而单独抑制其上游调控因子 HIF1α 或 HIF2α 的蛋白表达均未减少 VEGF 的合成,只有同时抑制 HIF1α 与 HIF2α 表达,才能减少 VEGF 的表达。提示 HIF1α 与 HIF2α 均可以促进晶状体上皮细胞 VEGF 合成增加,调节晶状体上皮细胞线粒体膜通透性。另有研究发现:小鼠胚胎表皮亦处于低氧状态,小鼠胚胎表皮中 HIFs 通过调节丝聚蛋白(filaggrin, Flg)的表达参与小鼠胚胎皮肤屏障功能的调节。Wong 等[11]研究表明,缺氧处理原始角质细胞可诱导 HIF1α、HIF2α 及 Flg 的表达,而 HIF1α 和 HIF2α 缺失的缺氧原始角质细胞,出现 Flg 表达表达障碍,从而造成屏障功能障碍,表皮通透性增加,提示缺氧可能通过 HIF2α-Flg 通路调节小鼠胚胎上皮细胞的屏障作用。

二、HIF2α 与内皮细胞通透性

缺血再灌注损伤时,肺微血管内皮细胞(pulmonary microvascular endothelial cells, PMVEC)通透性增加,肺水肿形成。而水通道蛋白(aquaporin 1, AQP1)在细胞迁移、血管形成及器官再生中发挥重要调节作用。近期研究发现,在损伤后期 PMVEC 中 AQP1 表达显著增加,而抑制 AQP1 表达则可降低 HIF2α 的稳定性,提高 PMVEC 通透性,此时过表达 HIF2α 则可降低 PMVEC 通透性,提示 AQP1 通过增加 HIF2α 表达,降低微血管内皮细胞的通透性,从而缓解肺水肿症状[12]。另有研究发现,急性呼吸窘迫综合征(acute respiratory distress syndrome, ARDS)患者肺毛细血管内皮细胞屏障功能障碍,HIF2α 在血管内皮细胞中代偿性高表达,高表达 HIF2α 可促进血管内皮酪氨酸磷酸酶(vascular endothelial protein tyrosine phosphatase, VE-PTP)表达,降低血管内皮钙黏蛋白(VE-cadherin)磷酸化,提高黏附连接的完整性,阻止内皮屏障功能的丧失[13]。提示 HIF2α 在肺缺血再灌注与急性呼吸窘迫综合征患者血管内皮细胞屏障功能障碍的病理过程中起重要的保护作用。

HIF2α 与哮喘的发病过程密切相关。Lee 等[14]研究发现,哮喘患者支气管肺泡冲洗液的 VEGF、HIF1α、HIF2α 表达水平明显增加,且 VEGF 的表达与 HIF1α 及 HIF2α 水平的表达显著正相关,这提示哮喘发作时,缺氧条件下高表达 HIF1α 及 HIF2α 可能通过增加 VEGF 的表达,增加肺血管内皮细胞通透性,导致气道炎症及高反应性。另有研究发现,HIF2α 可能通过参与腺苷酸活化蛋白激酶(AMP-activated protein kinase, AMPK)调节职业病性哮喘血管通透性增加的过程。Park 等[15]对甲苯二异氰酸酯(toluene diisocyanate, TDI)诱导的哮喘小鼠模型进行研究,发现肺血管内皮细胞 HIF1α、HIF2α、VEGFA 增加,而 AMPK 激活剂 5-氨基-4 甲酰胺咪唑核糖核苷酸(5-aminoimidazole-4-carboxamide-1-β-D-ribofuranoside, AICAR)可明显降低 TID 诱导哮喘模型小鼠肺血管内皮细胞 HIF1α 及 HIF2α 表达,肺血管内皮细胞血浆渗出亦持续减少;抑制 HIF1α、HIF2α 表达后,TID 诱导哮喘模型小鼠肺血管内皮细胞 VEGFA 表达显著减少,血管通透性也相应降低。提示 AMPK 通过抑制 HIF1α(HIF2α)-VEGFA 信号途径改善 TDI 诱导的职业性哮喘患者的血管通透性。

胰岛素样生长因子结合蛋白(insulin-like growth factor binding proteins, IGFBPs),尤其是 IGFBP-3,可调节 HIF2α 对血管通透性的作用。Kim 等[16]构建卵清蛋白(ovalbumin, OVA)诱导的小鼠哮喘模型,结果发现 OVA 吸入 48h 后,肺组织中 HIFα、IGF-1、VEGF 蛋白表达水平均明显上升,而外源性的 IGFBP-3 注射可明显抑制此效应;HIF1α/HIF2α 或者 IGF-1 降表达也可抑制 OVA 吸入诱导的

VEGF 表达与血管内皮细胞的通透性水平。提示外源性 IGFBP－3 可通过抑制 HIF1α/HIF2α 通路或者 IGF－1 的活化，抑制 VEGF 的表达，从而降低 OVA 吸入诱导哮喘模型小鼠肺部血管内皮细胞的通透性。子痫前期患者胎盘中 HIF2α 的蛋白表达水平明显高于正常孕妇，亦有研究表明，子痫前期患者的肾小球血管内皮细胞通透性增加，对高分子蛋白屏障功能障碍，导致蛋白尿进行性增加，HIF2α 是否参与子痫前期患者的肾小球内皮细胞通透性的病理调节有待进一步研究[17～19]。

三、HIF2α 与其他组织细胞通透性

严重的脓毒血症以微血管功能障碍及血管渗漏为特点，而 HIF2α 可能参与调控毛细血管周细胞进而影响血管渗漏。近来研究表明，在脓毒血症中，LPS 抑制 Sirt3 的表达，促进 PHD2 表达，两种效应共同导致 HIF2α 水平下降，进而导致 Notch3 下降，周细胞缺失，微血管的通透性增加[20]。

以骨髓间充质干细胞（marrow mesenchymal stromal cell，MSC）模拟造血微环境的研究发现，缺氧可促进 MSC 中 VEGF－A、HIF2α 表达与单层 MSC 通透性增加，而 HIF2α 降表达可降低缺氧诱导的 VEGF－A 的表达与单层 MSC 通透性的作用[21]。提示 HIF2α－VEGF－A 信息途径可能介导了缺氧条件下骨髓间充质干细胞通透性增加的病理过程。

在急进性肾小球肾炎中，肾小球屏障功能障碍，表现为血尿、蛋白尿及进行性肾功能衰退，肾活检显示肾小球新月体形成。Ding 等[22]研究发现，抑制抑癌基因 VHL 表达，肾小球病理组织学检查显示新月体形成，而肾小球足细胞 HIF2α 过表达小鼠可获得与抑制 VHL 相似的试验结果，提示 HIF2α 过表达可能在急进性肾小球肾炎的尿蛋白形成等病理过程中起着重要调节作用。

四、展　望

细胞通透性增加是组织细胞病理损伤的重要过程，HIF2α 通过不同细胞信号转导途径调节不同组织细胞的生理性、炎性损伤性以及缺氧性通透性变化过程，在不同组织细胞的生理及病理过程中发挥着不同作用。比如，HIF2α 作为病理性因子参与结肠上皮细胞通透性增加的病理过程，却作为保护性因子阻止小肠上皮及晶状体上皮细胞通透性的改变。哮喘发作时，HIF2α 高表达参与气道高反应的病理过程，而在肺缺血再灌注及 ARDS 患者血管内皮细胞屏障功能障碍的病理过程中起着重要保护作用。可见，HIF2α 在不同组织细胞、不同疾病的细胞通透性改变的病理过程中发挥的作用也不尽相同，通过对 HIF2α 在各种通透性改变疾病过程中调控机制的研究，将有助于阐明细胞病理性通透性改变的调控分子与机制，为各种组织细胞病理性通透改变的治疗提供治疗靶点。

参考文献

1 Tian H，McKnight SL，Russel DW. Endothelial PAS domain protein 1（EPAS1），a transcription selectively expressed in endothelial cells［J］. Genes Develop，1997，11（1）：72－82

2 Sutherland RM，Ausserer WA，Murphy BJ，*et al*. Tumor hypoxia and heterogeneity：challenges and opportunities for the future［J］. Seminars Radiat Oncol，1996，6（1）：59－70

3 Zhang T，Niu X，Liao L，*et al*. The contributions of HIF－target genes to tumor growth in RCC［J］. Plos One，2013，8（11）：e80544

4 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（2）：89－95

5 Nakajima T，Ueda T，Takeyama Y，*et al*. Protective effects of vascular endothelial growth factor on intestinal epithelial apoptosis and bacterial translocation in experimental severe acute pancreatitis［J］. Pancreas，2007，34（4）：410－416

6 Xue X，Ramakrishnan S，Anderson E，*et al*. Endothelial PAS domain protein 1 activates the inflammatory response in the intestinal epithelium to promote colitis in mice［J］. Gastroenterology，2013，145（4）：831－841

7 Xie L，Xue X，Taylor M，*et al*. Hypoxia－inducible factor/MAZ－dependent induction of caveolin－1 regulates colon permeability through suppression of occludin，leading to hypoxia－induced inflammation［J］. Mol Cell Biol，2014，34（16）：3013－3023

8 Wang Y，Kirpich I，Liu Y，*et al*. Lactobacillus rhamnosus GG treatment potentiates intestinal hypoxia－inducible factor，promotes intestinal integrity and ameliorates alcohol－induced liver injury［J］. Am J Pathol，2011，179（6）：2866－2875

9 Wang Y，Liu Y，Sidhu A，*et al*. Lactobacillus rhamnosus GG culture supernatant ameliorates acute alcohol－induced intestinal permeability and liver injury［J］. AJP Gastrointest Liver Physiol，2012，303（1）：G32－41

10 Neelam S，Brooks MM，Cammarata PR. Lenticular cytoprotection. Part 1：the role of hypoxia inducible factors－1α and －2α and vascular endothelial growth factor in lens epithelial cell survival in hypoxia［J］. Mol Vision，2013，19（5）：1－15

11 Wong WJ，Richardson T，Seykora JT，*et al*. Hypoxia－inducible factors regulate filaggrin expression and epidermal barrier function［J］. J Inves Dermatol，2015，135（2）：454－461

12 Ge H，Zhu H，Xu N，*et al*. Increased lung ischemia－reperfusion injury in aquaporin 1 null mice is mediated via decreased HIF－2α stability［J］. Am J Respirat Cell Mol Biol，2015，54（6）：882－891

13 Gong H，Rehman J，Tang H，*et al*. HIF2α signaling inhibits adherens junctional disruption in acute lung injury［J］. J Clin Invest，2015，125（2）：652－654

（下转第 114 页）

参与了肿瘤的发生和发展。

本研究结果显示,在结节性甲状腺肿的患者标本中 caspase－3 的表达为 86.2%,大于甲状腺癌旁组织 82.2% 和分化型甲状腺的 53.5%,说明 caspase－3 可以促进组织细胞凋亡,但在肿瘤组织中其表达降低,从而使肿瘤的凋亡途径受到抑制,导致细胞过度增殖。且通过本实验证明 caspase－3 在分期愈晚和恶性程度愈高的癌症组织中表达率愈低。另外,笔者通过分析 survivin 和 caspase－3 在分化型甲状腺癌中的表达相关性,证实 survivin 蛋白的阳性表达与 caspase－3 蛋白的阳性表达有显著相关性($P < 0.01$),且呈负相关,survivin 蛋白表达愈高的甲状腺癌组中 caspase－3 表达越低,因此可以认为 survivin 抑制了 caspase－3 的激活,从而导致细胞的恶性增殖,导致正常细胞发展为肿瘤细胞;

目前的肿瘤与信号途径的研究中,关于甲状腺癌中 survivin 及 caspase－3 的研究未见报道,但其表达与其他肿瘤的关系发已获得一些有意义的结果。通过本实验可见 survivin 的高表达及同步 caspase－3 的表达下降与分化型甲状腺癌的发生、发展和转移有重要的关系。由于经费的不足、科研实验器材的限制,本实验仅采用免疫组织化学的方法进行研究,如果能够进一步从基因的角度研究,可能会得到凋亡途径中二者更确切的数据。总而言之,就目前研究表明,survivin 及 caspase－3 在分化型甲状腺癌的发生、发展过程中起到了重要作用。

参考文献

1 伍波,樊友本. 我国甲状腺癌治疗现状:不足、不规范和过度并存[J],中华内科杂志,2017,1(56):11－14

2 张丹,吕亮,申兴斌,等. 大肠癌中 survivin、NF－κB 及 caspase－3 的表达及意义[J],中国老年医学杂志,2017,2(37):549－552

3 Kitahara CM, Sosa JA. The changing incidence of thyriod cancer [J]. Nat Rev Endocrinol, 2016, 12(11), 646－653

4 张丹,马瑞,林从尧. 甲状腺癌组织中 Suriun 蛋白的表达及其意义的 Meta 分析[J]. 医学综述,2016,10(22):1973－1980

5 郭丽霞,兰竞丽,胡兆鹏,等. 血管内皮生长因子、S100A4 及生存素在甲状腺癌组织中的表达及其意义[J]. 中国基层医药,2016,10(23):1479－1482

6 史永亮. 血清 survivin 及抗体在甲状腺乳头状癌诊断中的临床价值[J]. 河北医药,2013,12(35):1854－1855

7 Wiedemuth R, Klink B, Topfer K, *et al*. Survivin safeguards chromosome numbers and protects from aneuploidy independently fromp53 [J]. Mol Cancer, 2014, 13(1):107－108

8 Yu S, Zhang Z, Zhang B, *et al*. Clinical significance of PIK3CAand survivin in primary adenosquamous lung carcinoma[J]. Med Oncol, 2014, 31(6):983－985

9 田忠成,邵飞飞,党雪菲,等. Survivin 在甲状腺癌中的表达及临床意义[J]. 中国实验诊断学,2014,3(18):390－393

10 Shintani M, Sangawa A, Yamao N, *et al*. Immunohistochemieal expression of nuclear and cytoplasmic survivin in gastrointestinalarcinoma [J]. Int J Clin Exp Pathol, 2013, 6(12):2919－2927

11 Gu Y, Jin S, Wang F. Clinic opathological significance of PI_3K, Akt and survivin expression in gastric cancer[J]. Biomed Pharmacother, 2014, 68(4):471－475

12 Grutter MG. Caspase: key players in programmed cell death[J]. Curr Opin Struct Biol, 2000, 10(6):649－655

13 BoidotR, Vegran F, Lizard－Nacol S. Transcriptional regulation of the survivin gene[J]. Mol Biol Rep, 2014, 41(1):233－240

14 郑国文. 大肠癌中 LIVIN 和 Survivin 的表达及相关性研究[J]. 实用医院临床杂志,2014,11(2):86－87

15 常玉珍,李秀梅,封敏,等. survivin、NF－κB 和 STAT－3mRNA 在宫颈癌中的表达及其临床意义[J]. 癌变·畸变·突变,2014,26(3):189－192

16 崔东旭,朱立君,刘宝林. 胆管癌中 Livin 蛋白和血管内皮生长因子的表达及与 caspase－3 的相关性研究[J]. 现代肿瘤医学,2010,18(6):1165－1167

17 王传艳,孟令新,丁兆军. PTEN, survivin 和 caspase－3 在食管鳞癌中的表达[J]. 现代肿瘤医学,2015,23(4):493－496

(收稿日期:2017－03－28)
(修回日期:2017－04－27)

(上接第 15 页)

14 Lee SY, Kwon S, Kim KH, *et al*. Expression of vascular endothelial growth factor and hypoxia－inducible factor in the airway of asthmatic patients[J]. Ann Allergy Asthma Immunol, 2006, 97(6):794－799

15 Park SJ, Lee KS, Kim SR, *et al*. AMPK activation reduces vascular permeability and airway inflammation by regulating HIF/VEGFA pathway in a murine model of toluene diisocyanate－induced asthma[J]. Inflamm Res, 2012, 61(10):1069－1083

16 Kim SR, Lee KS, Lee KB, *et al*. Recombinant IGFBP－3 inhibits allergic lung inflammation, VEGF production, and vascular leak in a mouse model of asthma[J]. Allergy, 2012, 67(7):869－877

17 Rajakumar A, Whitelock KA, Weissfeld LA, *et al*. Selective overexpression of the hypoxia－inducible transcription factor, HIF－2alpha, in placentas from women with preeclampsia[J]. Bio Reprod, 2001, 357(1):499－506

18 Liu W, Wang SJ, Lin QD. Study on the expressions of PHD and HIF in placentas from normal pregnant women and patients with preeclampsia[J]. Int J Biol Sci, 2014, 10(3):278－284

19 Sandoval RM, Wagner MC, Patel M, *et al*. Multiple factors influence glomerular albumin permeability in rats[J]. Journal of the American Society of Nephrology Jasn, 2012, 23(3):447－457

20 Zeng H, He X, Tuo Q, *et al*. LPS causes pericyte loss and microvascular dysfunction via disruption of Sirt3/angiopoietins/Tie－2 and HIF－2α/Notch3 pathways[J]. Sci Rep, 2016, 12(6):20931

21 Jing D, Wobus M, Poitz DM, *et al*. Oxygen tension plays a critical role in the hematopoietic microenvironment in vitro[J]. Haematologica, 2011, 97(3):331－339

22 Ding M, Coward RJ, Jeansson M, *et al*. Regulation of hypoxia－inducible factor 2－a is essential for integrity of the glomerular barrier [J]. Am J Physiol－Renal Physiol, 2013, 304(1):F120

(收稿日期:2017－03－22)
(修回日期:2017－04－08)