

缺氧诱导因子-1 α 在缺血性心脏病中的研究进展

申进增 伊琳 何亚丽 寇雨顺 黎永祥 李梦瑶

【摘要】 心脏是体内对缺血缺氧最敏感的器官之一。缺氧诱导因子-1 α (HIF-1 α)是普遍存在于哺乳动物细胞内维持机体氧稳态的主要调控转录因子,其通过调节血氧利用、葡萄糖代谢、血管生成、心肌细胞凋亡等过程,参与多种缺血性心脏病的适应性反应。

【关键词】 缺氧诱导因子-1 α ;缺血性心脏病;氧稳态

doi:10.3969/j.issn.1673-6583.2021.04.001

缺氧诱导因子-1 α (HIF-1 α)是由受氧浓度精确调节的 α 亚基和稳定表达的 β 亚基组成的异源二聚体,属于碱性螺旋-环-螺旋/PAS蛋白家族成员,其蛋白的功能区域由节律调节蛋白、核转位子和发育调节因子组成^[1]。HIF-1的 β 亚基定位于人1号染色体q21区,在细胞核内稳定表达,不受氧浓度变化的影响。HIF-1 α 亚基位于人14号染色体,是HIF-1的活性亚基和调节亚基,其转录活性和蛋白稳定性均由细胞内氧浓度调节。HIF-1 α 通过调节血氧利用、葡萄糖代谢、血管生成、心肌细胞凋亡等过程,参与多种缺血性心脏病的适应性反应。

1 HIF-1 α 与氧稳态

氧稳态是指组织中的各个细胞能得到充足的氧气和养分供应,机体处于氧供需平衡的状态。心脏是维持氧稳态最重要的器官。HIF-1 α 表达水平取决于其富含的GC启动子的活化程度。常氧状态下,HIF-1 α 蛋白在大多数细胞中的半衰期仅为5~10 min,其脯氨酸残基被脯氨酸羟化酶(PHD)羟基化后被 von Hippel-Lindau 因子识别,通过氧依赖性-泛素蛋白酶途径迅速降解,从而在细胞内维持较低水平^[2]。缺氧环境下,PHD活性受抑,HIF-1 α 开始稳定表达并从胞质迁移至胞核内,与胞核内的HIF-1 β 结合成富有活性的二聚体,活化后的HIF-1与目的基因调节区域中的缺氧反应元件和转录辅激活因子p30结合,形成转录起始复合体,诱导下游基因表达^[3]。Schödel等^[4]运用全基因组染色质免疫共沉淀技术综合分析缺氧诱导下HIF-1结合的

人类靶基因位点,发现HIF-1 α 调控的基因数量超过1 000个,包括促红细胞生成素、血管内皮生长因子(VEGF)、诱导型一氧化氮合酶(iNO)、葡萄糖转运体1(GLUT1),内皮素-1(ET-1)等的编码基因。

2 HIF-1 α 在缺血性心脏病中的作用机制

2.1 HIF-1 α 与葡萄糖代谢

在缺氧状态下,HIF-1 α 调控下游众多基因的转录表达,从而调控多种生理病理过程^[5]。葡萄糖是心脏的主要能量来源,主要由葡萄糖转运体4(GLUT4)转运至心肌线粒体给心肌供能。在动物模型中,GLUT4激活可增加心肌葡萄糖氧化,防止心肌细胞凋亡,改善缺血后的心功能^[6]。HIF-1 α 可通过调节心肌GLUT4和丙酮酸激酶M2亚型(PKM2)的表达,增加心肌葡萄糖的摄取和转运,以持续给予代偿性能量供应^[7]。研究表明,丹芪片可能通过调节HIF-1 α /过氧化物酶体增殖物激活受体 γ 辅助活化因子-1 α (PGC1 α)信号通路,改善心肌葡萄糖摄取和转运、线粒体生物合成和氧化磷酸化^[8]。

多种微小RNA(miRNA)参与调控HIF-1 α ^[9],促进心肌葡萄糖代谢。miR-186是参与HIF-1 α 转录调控的关键因素,在细胞缺氧耐受中,miR-186可以与HIF-1 α 的mRNA靶向结合,抑制HIF-1 α 蛋白合成^[10]。HIF-1 α 在机体缺血缺氧过程中通过靶向调控GLUT1的表达,提高外周血葡萄糖向血管内皮细胞转运,参与失血性休克早期对血管内皮细胞线粒体功能的保护。在休克过程中,HIF-1 α 的高表达可使血管内皮细胞代谢状态发生改变,提高葡萄糖转运,减轻线粒体损伤。而缺氧相关miRNA的表达可抑制HIF-1 α 转录,加重细胞损

伤。干预这一调控和反馈机制或许能治疗休克。杨海帆等^[11]通过电镜发现干扰 miR-186 可以明显减轻线粒体损伤 ($P = 0.0297$), 这可能与干扰 miR-186 表达可减轻其对 HIF-1 α 的转录调控、促进 HIF-1 α 蛋白表达、改善葡萄糖向线粒体转运和供能有关。另有研究表明, miR-130a-3p 过表达可通过靶向作用于 HIF-1 α , 抑制低氧条件下的糖酵解^[12]。而心肌缺血再灌注后糖酵解的增加可以减少线粒体活性氧(ROS)的产生和缺血再灌注损伤期间的细胞死亡^[13]。所以, 通过对相关靶点的调控, 增加心肌缺血再灌注后的葡萄糖代谢是有益的。

2.2 HIF-1 α 与血管内皮

血管内皮细胞(VEC)直接与血液接触, 机体缺氧时, VEC 能对缺氧刺激作出迅速反应。缺氧诱导的血管内皮细胞损伤是心肌梗死、冠状动脉粥样硬化性心脏病(冠心病)等缺血性心脏病病理生理机制的重要因素。VEGF 可促进血管生成并诱导血管内皮细胞生长^[14], 有证据表明低氧预处理可诱导 ET-1 释放, 从而上调 HIF-1 α 水平, 增加 VEGF 的产生, 从而改善内皮依赖性舒张功能和心肌缺血再灌注损伤^[15]。李亚博等^[16]采用缺氧诱导人脐静脉内皮细胞(HUVEC)模拟缺氧诱导的血管内皮损伤, 发现缺氧条件下 HUVEC 中 SP-1 表达增加, 而 miR-135b 表达减少, miR-135b 可以抑制 SP-1 蛋白的表达, 而 miR-135b 的抑制剂可以增加 SP-1 蛋白的表达, 说明 miR-135b 靶向调控 SP-1 蛋白。研究发现, 抑制 SP-1 可以减少 HIF-1 α 对上皮细胞的影响^[17]。因此, SP-1/miR-135b/HIF-1 α 轴可能在缺氧诱导的血管内皮损伤中起重要作用。在利用缺氧处理 HUVEC 模拟血管内皮损伤的研究中, 发现转移相关肺腺癌转录本 1(MALAT1)通过靶向作用于 miR-19b-3p, 调控下游 HIF-1 α 。MALAT1 基因敲除可提高 miR-19b-3p 表达水平, 抑制 HIF-1 α 表达水平, 从而减少 HYP 诱导的 HUVEC 凋亡、自噬和炎症反应^[18]。Ling 等^[19]的研究也发现硫化氢(H_2S)供体可以促进核因子 E2 相关因子 2(Nrf2)/HIF-1 α 信号通路激活, 进而促进 HUVEC 迁移, 抑制新生内膜增生, 预防血管的再狭窄。内皮细胞 HIF-1 α 信号转导可激活 Sox17 的转录和表达, 而 Sox17 可使小鼠血管内皮细胞再生并提高其存活率^[20]。血管重建和血管生成是改善缺血组织灌注的必要条件。缺血引起的低氧环境是 HIF-1 α 上调和激活的有力刺激, 可诱导促血管生成基因表达。

有研究证实酪氨酸磷酸酶 2(SHP-2)可以促进缺氧介导的 HIF-1 α 上调, 促使体内血运重建^[21]。这一过程是 Src 激酶/p38 丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)信号通路通过 SHP-2 抑制 26S 蛋白水解酶活性来实现的^[22]。因此, HIF-1 α 在保护血管内皮免受缺氧损伤和促进血运重建中均发挥重要作用。

2.3 HIF-1 α 与心肌细胞

缺氧是急性心肌梗死(AMI)等缺血性心脏病的主要特征, HIF-1 α 通过多种途径对心肌细胞起作用。在缺氧状态下, HIF-1 α 可以调控促红细胞生成素, 通过激活磷脂酰肌醇-3-激酶(PI3K)/蛋白激酶 B(Akt)细胞存活途径, 使凋亡因子 caspase-3 活性降低, 而且促红细胞生成素在体内和体外也有直接改善左室功能的作用^[23]。HIF-1 α 还可通过糖原合酶激酶-3 β (GSK-3 β)上调心肌缺血/再灌注大鼠心肌组织线粒体内膜的关键因子 UCP3 的表达水平, 通过线粒体途径介导 HIF-1 α 对心肌缺血/再灌注损伤的保护作用^[24]。还有研究发现, 利用超声靶向微泡破坏(UTMD)介导脯氨酸羟化酶 2(PHD2)-shRNA 修饰骨髓间充质干细胞, 可通过 HIF-1 α 依赖机制提高骨髓间充质干细胞存活率, 减少心肌细胞凋亡, 缩小梗死面积, 增加血管密度, 改善心功能^[25]。

miR-10b-5p 可影响血管生成并参与动脉粥样硬化的病理过程^[26]。在肥厚型心肌病的患者血清中可检测到 miR-10b-5p 水平升高^[27-28]。Wu 等^[29]研究发现, 小鼠在 AMI 后 HIF-1 α 水平急剧升高, miR-10b-5p 水平降低, 提示 HIF-1 α 的高表达抑制了 miR-10b-5p 的表达, 而 miR-10b-5p 在体内和体外的高表达都减少了缺氧诱导的心肌细胞凋亡, 从而保护心肌。磷酸酶和张力蛋白同源物(PTEN)是 miR-10b-5p 的潜在靶基因, PTEN 对 PI3K/Akt 信号通路的激活起负向调节作用^[30]。PI3K/Akt/内皮型一氧化氮合酶(eNOS)信号通路是细胞内重要的信号转导通路, 在对抗心肌缺血再灌注损伤、抑制细胞凋亡中发挥重要作用^[31], PI3K 是细胞内磷脂酰肌醇激酶, 其激活后可以产生第二信使, 通过与 Akt 结合, 促进 Akt 磷酸化, Akt 能通过调节相关生长因子诱导心肌细胞的生长、增殖^[32]。PI3K/Akt 信号通路与脑血流功能密切相关, 其可通过 PI3K/Akt/eNOS/一氧化氮(NO)途径调节脑血流量, 起到改善脑循环的作用^[33]。综上所述,

miR-10b-5p 直接作用于靶基因 *PTEN*, 而 miR-10b-5p 的表达受 HIF-1 α 信号传导途径调控。因此, 缺氧会增强心肌细胞中 *HIF-1 α* 的表达并抑制 miR-10b-5p 的表达, 引起 *PTEN* 表达增加, 最终导致心肌梗死后大量心肌细胞凋亡和心脏功能受损。

心肌再灌注是挽救存活心肌的基础, 但冠状动脉血流的恢复可引起缺血再灌注损伤, 尽可能减少缺血再灌注是影响患者预后的关键。Bcl-2/腺病毒 E1B19 000 相互作用蛋白 3 (BNIP3) 是存在于线粒体中的促凋亡蛋白, 它通过诱导线粒体功能障碍在缺血再灌注损伤中发挥重要作用^[34], 而 HIF-1 α 参与这一过程。Zhang 等^[35]的研究表明, 在氧-葡萄糖剥夺/恢复 (OGD/R) 损伤诱导 H9C2 细胞自噬过程中, HIF-1 α 同步调节 BNIP3, OGD/R 损伤可增加 HIF-1 α 的表达, 激活下游 BNIP3, 进而触发线粒体依赖性自噬。而 BNIP3 诱导自噬是 H9C2 细胞的一种生存机制。Yang 等^[36]的研究证实, 七氟醚后处理可上调 HIF-1 α 和 BNIP3 蛋白表达, 促进因缺氧/复氧损伤导致的积聚的心肌细胞自噬小体的清除, 减少细胞损伤。小檗碱 (BBR) 也可以通过增强 HIF-1 α 与 BNIP3 启动子的结合, 诱导 *BNIP3* 的表达。BBR 通过诱导心肌细胞增殖、抑制心肌细胞凋亡和诱导 HIF-1 α /BNIP3 途径, 在心肌缺血再灌注损伤中发挥保护作用^[37]。

3 问题与展望

HIF-1 α 作为缺氧条件下的重要转录因子, 有望成为缺血性心脏病的治疗靶点。近年来, 较多研究都致力于探索使用 HIF-1 α 抑制剂治疗疾病, 但是针对 HIF-1 α 靶向调节的研究还比较少, 而且靶向调节 HIF-1 α 治疗缺血性心脏病的研究大都集中在动物模型中, 未来还需要深入研究靶向调节 HIF-1 α 活性及信号通路的药物, 以使缺血性心脏病患者受益。

参 考 文 献

- [1] 林烨, 汪芳. HIF-1 在心血管疾病中的作用机制[J]. 中国分子心脏病学杂志, 2015, 15(1):1226-1229.
- [2] 陈斌, 陶敏, 康品方, 等. 缺氧诱导因子-1 α 与心血管疾病的研究进展[J]. 中国老年学杂志, 2018, 38(11):2788-2791.
- [3] Zhang LQ, Cui H, Wang L, et al. Role of microRNA-29a in the development of diabetic retinopathy by targeting AGT gene in a rat model[J]. Exp Mol Pathol, 2017, 102(2):296-302.
- [4] Schödel J, Oikonomopoulos S, Ragoussis J, et al. High-resolution genome-wide mapping of HIF-binding sites by ChIP-seq[J]. Blood, 2011, 117(23):e207-e217.

- [5] Adamovich Y, Ladeux B, Golik M, et al. Rhythmic oxygen levels reset circadian clocks through HIF1 α [J]. Cell Metab, 2017, 25(1):93-101.
- [6] Lee SY, Villagrana M. Differences in risk and protective factors between crossover and non-crossover youth in juvenile justice[J]. Children and Youth Services Review, 2015, 58: 18-27.
- [7] Rees ML, Subramaniam J, Li Y, et al. A PKM2 signature in the failing heart[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2015, 459(3):430-436.
- [8] Zhang Q, Guo D, Wang Y, et al. Danqi pill protects against heart failure post-acute myocardial infarction via HIF-1 α /PGC-1 α mediated glucose metabolism pathway[J]. Front Pharmacol, 2020, 11:458.
- [9] Liu L, Wang Y, Bai R, et al. MiR-186 inhibited aerobic glycolysis in gastric cancer via HIF-1 α regulation [J]. Oncogenesis, 2016, 5(5):e224.
- [10] Liao G, Liu X, Wu D, et al. MORC2 promotes cell growth and metastasis in human cholangiocarcinoma and is negatively regulated by miR-186-5p [J]. Aging, 2019, 11 (11): 3639-3649.
- [11] 杨海帆, 谢建刚, 张金铭, 等. 抑制 miR-186 表达可减轻缺氧状态下血管内皮细胞线粒体的损伤[J]. 南方医科大学学报, 2019, 39(8):898-903.
- [12] Hu M, Fu Q, Jing C, et al. LncRNA HOTAIR knockdown inhibits glycolysis by regulating miR-130a-3p/HIF1A in hepatocellular carcinoma under hypoxia [J]. Biomed Pharmacother, 2020, 125:109703.
- [13] Beltran C, Pardo R, Bou-Teen D, et al. Enhancing glycolysis protects against ischemia-reperfusion injury by reducing ROS production[J]. Metabolites, 2020, 10(4):132.
- [14] Domigan CK, Warren CM, Antanesian V, et al. Autocrine VEGF maintains endothelial survival through regulation of metabolism and autophagy[J]. J Cell Sci, 2015, 128(12): 2236-2248.
- [15] Hong XY, Hong X, Gu WW, et al. Cardioprotection and improvement in endothelial-dependent vasodilation during late-phase of whole body hypoxic preconditioning in spontaneously hypertensive rats via VEGF and endothelin-1 [J]. Eur J Pharmacol, 2019, 842:79-88.
- [16] 李亚博, 王佩, 陈一, 等. 缺氧诱导血管内皮细胞损伤的机制研究[J]. 中国实验诊断学, 2019, 23(5):871-873.
- [17] Liu Y, Zou J, Li B, et al. RUNX3 modulates hypoxia-induced endothelial-to-mesenchymal transition of human cardiac microvascular endothelial cells[J]. Int J Mol Med, 2017, 40(1):65-74.
- [18] Liu H, Shi C, Deng Y. MALAT1 affects hypoxia-induced vascular endothelial cell injury and autophagy by regulating miR-19b-3p/HIF-1 α axis[J]. Mol Cell Biochem, 2020, 466 (1/2):25-34.
- [19] Ling K, Xu A, Chen Y, et al. Protective effect of a hydrogen sulfide donor on balloon injury-induced restenosis via the

- Nrf2/HIF-1 α signaling pathway[J]. Int J Mol Med, 2019, 43(3):1299-1310.
- [20] Liu M, Zhang L, Marsboom G, et al. Sox17 is required for endothelial regeneration following inflammation-induced vascular injury[J]. Nat Commun, 2019, 10(1):2126.
- [21] Heun Y, Pogoda K, Anton M, et al. HIF-1 α dependent wound healing angiogenesis in vivo can be controlled by site-specific lentiviral magnetic targeting of SHP-2[J]. Mol Ther, 2017, 25(7):1616-1627.
- [22] Heun Y, Grundler GK, Pogoda K, et al. The phosphatase SHP-2 activates HIF-1 α in wounds in vivo by inhibition of 26S proteasome activity [J]. Int J Mol Sci, 2019, 20(18):4404.
- [23] Bogoyevitch M. An update on the cardiac effects of erythropoietin cardioprotection by erythropoietin and the lessons learnt from studies in neuroprotection[J]. Cardiovasc Res, 2004, 63(2):208-216.
- [24] 张妞妞, 曾先燕, 王文香, 等. 糖原合成酶激酶-3 β 介导低氧诱导因子-1 α 抗心肌缺血/再灌注损伤的作用[J]. 中国生物制品学杂志, 2020, 33(4):371-377.
- [25] Sun Z, Xie Y, Lee RJ, et al. Myocardium-targeted transplantation of PHD2 shRNA-modified bone mesenchymal stem cells through ultrasound-targeted microbubble destruction protects the heart from acute myocardial infarction[J]. Theranostics, 2020, 10(11):4967-4982.
- [26] Agrawal R, Pandey P, Jha P, et al. Hypoxic signature of microRNAs in glioblastoma: insights from small RNA deep sequencing[J]. BMC Genomics, 2014, 15(1):686.
- [27] Wang X, Ling CC, Li L, et al. MicroRNA-10a/10b represses a novel target gene mib1 to regulate angiogenesis [J]. Cardiovasc Res, 2016, 110(1):140-150.
- [28] Wang D, Wang W, Lin W, et al. Apoptotic cell induction of miR-10b in macrophages contributes to advanced atherosclerosis progression in ApoE^{-/-} mice[J]. Cardiovasc Res, 2018, 114(13):1794-1805.
- [29] Wu L, Chen Y, Chen Y, et al. Effect of HIF-1 α /miR-10b-5p/ PTEN on hypoxia-induced cardiomyocyte apoptosis[J]. J Am Heart Assoc, 2019, 8(18):e011948.
- [30] Bahena-Ocampo I, Espinosa M, Ceballos-Cancino G, et al. miR-10b expression in breast cancer stem cells supports self-renewal through negative PTEN regulation and sustained AKT activation[J]. EMBO Rep, 2016, 17(7):1081.
- [31] 高翔, 高全, 李涛, 等. 葛根素预处理保护心肌缺血再灌注损伤的机制[J]. 贵阳医学院学报, 2007, 32(1):37-41.
- [32] 储佳佳, 李积东, 雷霖, 等. 柚皮苷对高糖诱导的血管内皮细胞损伤及 PI3K/AKT/eNOS 信号通路的影响[J]. 中国病理生理杂志, 2015, 31(4):625-629.
- [33] 朱金墙, 宋宛珊, 马妍, 等. PI3K/Akt 信号通路与血管性痴呆的关系及中药干预作用研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志, 2016, 22(9):223-229.
- [34] Filippi I, Saltarella I, Aldinucci C, et al. Different adaptive responses to hypoxia in normal and multiple myeloma endothelial cells[J]. Cell Physiol Biochem, 2018, 46(1):203-212.
- [35] Zhang Y, Liu D, Hu H, et al. HIF-1 α /BNIP3 signaling pathway-induced-autophagy plays protective role during myocardial ischemia-reperfusion injury [J]. Biomed Pharmacother, 2019, 120:109464.
- [36] Yang L, Wu J, Xie P, et al. Sevoflurane postconditioning alleviates hypoxia-reoxygenation injury of cardiomyocytes by promoting mitochondrial autophagy through the HIF-1/BNIP3 signaling pathway[J]. Peer J, 2019, 7:e7165.
- [37] Zhu N, Li J, Li Y, et al. Berberine protects against simulated ischemia/reperfusion injury-induced H9C2 cardiomyocytes apoptosis in vitro and myocardial ischemia/reperfusion-induced apoptosis in vivo by regulating the mitophagy-mediated HIF-1 α /BNIP3 pathway [J]. Front Pharmacol, 2020, 11:367.

(收稿:2020-09-16 修回:2021-02-23)

(本文编辑:胡晓静)