

HIF-1 在眼科相关疾病中的研究进展

付敏^{1,2}, 杜之渝¹

作者单位:¹(400000)中国重庆市,重庆医科大学第二附属医院眼科;²(610500)中国四川省成都市,成都医学院第一附属医院眼科

作者简介:付敏,女,重庆医科大学在读硕士研究生,医师,研究方向:白内障。

通讯作者:杜之渝,男,教授,主任医师,硕士研究生导师,《中华眼科杂志》通讯编委,《中国实用眼科》杂志和《眼科新进展》杂志编委,中华医学会眼科分会委员,教育部科技成果评审专家,研究方向:白内障与屈光不正。dr.duzhiyu@163.com

收稿日期:2011-11-24 修回日期:2012-01-06

Research progress of HIF-1 in eye related disease

Min Fu^{1,2}, Zhi-Yu Du¹

¹Department of Ophthalmology, the Second Affiliated Hospital of Chongqing Medical University, Chongqing 400000, China;

²Department of Ophthalmology, the First Affiliated Hospital of Chengdu Medical College, Chengdu 610500, Sichuan Province, China

Correspondence to: Zhi-Yu Du. Department of Ophthalmology, the Second Affiliated Hospital of Chongqing Medical University, Chongqing 400000, China. dr.duzhiyu@163.com

Received: 2011-11-24 Accepted: 2012-01-06

Abstract

• Many eye lesions which can lead to ischemia and anoxia of the related parts and even the formation of new blood vessels has greatly affected the treatment of patients and prognosis. In the study of relevant factors for new blood vessels formation, hypoxia-inducible factor 1 (HIF-1) research becomes one of the emerging hot spots, its positive expression in the related lesions and mechanism discussion provides new treatment strategies for clinical treatment. Now the HIF-1 research progresses in the eye related disease are reviewed in this paper.

• KEYWORDS: HIF-1; ophthalmic vascular disease; research progress

Fu M, Du ZY. Research progress of HIF-1 in eye related disease. *Guji Yanke Zazhi (Int Eye Sci)* 2012;12(3):468-471

摘要

眼科多种病变均可导致相关部位的缺血缺氧甚至新生血管的形成,极大地影响了患者的治疗和预后,在新生血管形成的相关因素的研究中,缺氧诱导因子(hypoxia-

inducible factor 1, HIF-1)的研究成为其中的一个新兴热点,其在相关病变中的阳性表达及机制探讨为临床治疗提供了新的治疗策略。现将 HIF-1 在眼科相关疾病中的研究进展做一综述。

关键词: HIF-1; 眼科血管病变; 研究进展

DOI: 10.3969/j.issn.1672-5123.2012.03.27

付敏,杜之渝. HIF-1 在眼科相关疾病中的研究进展. 国际眼科杂志 2012;12(3):468-471

0 引言

正常角膜组织内没有血管,但在外伤、感染、免疫排斥及其他情况下,血管可爬入角膜形成角膜新生血管。角膜新生血管的产生虽然在消除感染、促进伤口愈合、阻止角膜基质溶解等方面起到一定的积极作用,但它可破坏角膜正常的免疫赦免状态,使角膜透明度降低,严重影响视力。眼部多种疾病可引起虹膜、脉络膜、视网膜等组织缺血缺氧,产生新生血管或导致神经组织的损伤,严重时可能导致不可逆的视功能损害甚至完全失明。近年来,眼部新生血管的相关研究已成为国内外眼科专家的热点研究,由于其治疗较为棘手,故在此方面做了大量的临床与实验研究,其中以检测观察缺氧诱导因子(hypoxia-inducible factor 1, HIF-1)的表达情况及其机制最为多见。现将 HIF-1 与眼科疾病的相关性研究综述如下。

1 HIF-1 相关概述

HIF-1 是 Semenza 等^[1]于 1992 年首次在低氧情况下的肝癌细胞株细胞核提取物中发现的低氧反应元件上的蛋白,并命名为 HIF-1。HIF-1 包括 HIF-1 α 与 HIF-1 β 两个亚型,二者同属于 bHLH 转录因子家族,而 HIF-1 的活性主要由前者的氧调节亚基及功能亚基决定^[2]。在常氧条件下,细胞内 HIF-1 α 不稳定,半衰期不到 5min, HIF-1 α 亚基在不断合成的同时,又不断经泛素-蛋白酶小体途径水解,一般很少检测到^[3]。但在缺氧条件下, HIF-1 α 降解受阻,细胞浆内积聚增多,向细胞核内转移,与 HIF-1 β 结合成 HIF-1 分子。只有 α 亚基和 β 亚基聚合, HIF-1 才具有活性,才能发挥其转录调控作用。

HIF-1 是缺氧条件下的一类转录因子,在哺乳动物与人体内广泛存在。缺氧时 HIF-1 活化,与靶基因上的缺氧反应元件结合,进而激活靶基因的转录。HIF-1 的靶基因数目多达 60 余种,涉及肿瘤能量、血管生成、转移、离子和儿茶酚胺代谢等,主要编码促红细胞生成素、血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)、血红素氧合酶-1 和诱导型一氧化氮合酶等。HIF-1 的重要生物学作用之一是促进血管生成。HIF-1 通过介导转录相关

基因直接参与血管生成的全过程: (1) 血管生成启动阶段: 可以通过合成一氧化氮 (nitric oxide, NO) 使血管舒张, 上调 VEGF 及受体的表达而使血管通透性增加; (2) 进展阶段: 通过上调金属蛋白水解酶而降解细胞外基质, VEGF 诱导血管内皮细胞迁徙和增生, 同时在血管生成素-2 的参与下, 形成结节状或锥体状血管芽; (3) 形成阶段: 在 VEGF、血管生成素-1 及整合素的作用下, 单个血管芽胚生长变形形成血管腔, 并与邻近血管芽相互吻合成血管网; (4) 塑形及改造阶段: 通过血小板衍生生长因子、血管生成素-1 等, 使血管平滑肌或其他细胞迁移包绕新生血管, 产生细胞外基质, 从而形成完整的血管壁结构, 其中 HIF-1 对 VEGF 的表达调控相当重要^[4]。May 等^[5]研究表明, 增生活跃的机体组织在缺氧状态下, HIF-1 能大量活化并激活 VEGF 转录, 而大量表达的 VEGF 又能刺激血管组织的增生, 提高血管通透性, 二者相互调节, 共同促进新生血管的形成。

2 HIF-1 在结膜疾病中的研究进展

结膜是由睑缘部末端开始覆盖于眼睑后面和巩膜前面的一层半透明黏膜组织。在慢性炎症性病变如翼状胬肉中, 发现结膜上皮层复层鳞状上皮化生明显, 头部浅基质层有较多成纤维细胞和大量新生血管伴有炎性细胞浸润。李明渊等^[6]采用免疫组织化学法研究 HIF-1 与 VEGF 在 32 例翼状胬肉与 11 例正常人球结膜组织中的表达, 结果显示两组间 HIF-1 与 VEGF 的表达差异有统计学意义, 且翼状胬肉中 HIF-1 与 VEGF 的表达呈正相关 ($P < 0.05$), 提示在翼状胬肉中 HIF-1 可能参与对 VEGF 的调控, 并参与翼状胬肉的发生和发展。考虑其作用机制可能为: 在翼状胬肉的起始阶段, 由于某种机制导致球结膜组织缺氧或随着翼状胬肉不断生长、体积增大, 血供相对不足发生缺氧坏死, 诱导 HIF-1 过度表达。HIF-1 能增强其下游靶基因 VEGF 的表达, 从而激活一系列的缺氧转导通路, 诱导新生血管的生成, 促进翼状胬肉的发展和浸润。翼状胬肉的发病机制至今未明, HIF-1 与 VEGF 在翼状胬肉中的高表达, 有望让我们从基因水平找到该病的病因和发病机制, 从而为进一步的治疗找到方向。其它的结膜病变如结膜外伤导致的睑球粘连、假性翼状胬肉以及结膜肿瘤中是否也存在着 HIF-1 与 VEGF 的高表达, 我们对此所知甚少, 有待我们进一步地研究和分析。

3 HIF-1 在角膜疾病中的研究进展

研究发现角膜新生血管的产生受 VEGF 和 HIF-1 及核转录因子等多种因素共同影响^[7]。Henke 等^[8]曾建立大鼠角膜碱烧伤模型, 观察角膜新生血管的生长情况, 并用 HE 染色法检测各时间点角膜 VEGF 及 HIF-1 的表达情况, 结果发现 HIF-1 在正常角膜内皮细胞有少量表达, 而 VEGF 不表达, 角膜碱烧伤后第 3d VEGF 及 HIF-1 均在角膜上开始表达, 第 7d 达高峰, 第 14d 开始下降, 说明 VEGF 及 HIF-1 均参与了角膜新生血管的形成过程, 且随时间延长及剂量增加表达增强。Sonoda 等^[9]研究发现, 在正常大鼠角膜组织中 HIF-1 不表达或弱表达, 而碱烧伤后 1d HIF-1 表达开始增强, 第 7d 时表达最强, 14d 后开始逐渐下降, 21d 时仍有弱表达。由此可见, 角膜碱烧伤可致角

膜组织缺氧, 在缺氧条件下 HIF-1 可调节下游的 VEGF 转录, 增加其表达, 从而促进角膜新生血管的形成。角膜的新生血管不仅导致视力严重受损下降, 还破坏了角膜正常的免疫赦免状态, 大大降低了角膜移植等后续治疗的有效率和成功率。徐洋涛等^[10]研究发现, 传统中药三氧化二砷可通过抑制 HIF-1 α 和 NO 合成酶及 VEGF 表达而抑制角膜新生血管的形成, 为药物抑制角膜新生血管的形成提供了一种可能性。赵君等^[11]研究发现, 异常增生的微血管与小鼠角膜碱烧伤的预后有关, VEGF 和 HIF-1 二者间动态平衡的失调促进了角膜组织中的微血管生成, 如何重建二者间的正常调节关系可能是其治疗的一个靶点。

4 HIF-1 在虹膜病变中的研究进展

眼部多种病变均可导致虹膜产生新生血管。由于虹膜新生血管可以发展成为或者合并有纤维血管的形成, 以致房角关闭而发生严重的新生血管性青光眼, 导致眼压难以控制、患眼失明甚至因眼球剧痛而摘除眼球, 所以, 尽早发现并及时处理便十分重要。虹膜新生血管的产生机制至今未明, 近 50a 来最流行的理论认为缺氧是刺激虹膜新生血管形成的主要因素。目前已有研究表明, VEGF 在糖尿病患者的虹膜新生血管形成过程中发挥着重要的作用, 且房水 VEGF 必须达到一定浓度才能形成虹膜新生血管。VEGF 是 HIF-1 的靶基因之一, 缺氧时 HIF-1 能调节下游的 VEGF 转录, 增加其表达, 促进新生血管的形成。目前已有大量研究表明, HIF-1 在缺氧性疾病的新生血管形成中发挥着重要的作用。那么, HIF-1 是否也在虹膜新生血管的形成中发挥了同样的作用, 目前鲜见报道, 也许可以为我们进一步研究虹膜新生血管的形成机制提供新的研究方向。

5 HIF-1 在脉络膜病变中的研究进展

许多眼底疾病都会影响脉络膜的血供甚至导致脉络膜新生血管 (choroidal neovascularization, CNV) 的形成。CNV 是年龄相关性黄斑变性 (aged-related macular degeneration, AMD) 等多种眼底疾病不可逆性视力丧失的主要原因。研究表明, 黄斑部玻璃膜疣的堆积以及变性的色素上皮改变会导致 AMD 黄斑部有限的血液供给与光感受器细胞高氧需求之间平衡的破坏, 导致视网膜色素上皮 (retinal pigment epithelium, RPE) 层相对的缺氧, 上调表达一些生长因子如 VEGF 等, 从而促进了 CNV 的形成。Feigl^[12]研究发现, 在 CNV 的形成过程中存在着脉络膜血液循环的缺血改变和低氧状态的产生。Yang 等^[13]认为与低氧病理反应密切相关的 HIF-1 α -VEGF 信号通路在 CNV 的形成中起着重要的作用。何花等^[14]进一步证实, HIF-1 α -VEGF 信号通路与重组人蛋白 (Sonic hedgehog, Shh) 信号通路的激活共同参与了实验性 CNV 的形成, 且拮抗内源性 Shh 的环杷明 (cyclopamine) 可明显下调 HIF-1 α 和 VEGF 的表达水平, 从而抑制激光诱导的实验性 CNV 的形成, 考虑环杷明作为 Shh 信号通路的阻断剂能下调 HIF-1 α 和 VEGF 的表达可能是其重要的作用机制之一。种种研究为治疗 CNV 性疾病提供了新的可能的治疗方向。

6 HIF-1 在视网膜病变中的研究进展

视网膜细胞代谢最大的特点是耗氧量, 对缺氧特别

敏感。缺氧可造成多种眼底病变,如糖尿病视网膜病变和视网膜中央动、静脉阻塞等。研究发现,随着 HIF-1 在 RPE 细胞内聚集的增加,VEGFmRNA 的表达也明显增加^[15]。此外,HIF-1 还参与热休克蛋白的表达调节,研究发现 HIF-1 和 P53 在缺氧诱导性的迟发性神经元死亡中起着关键作用,两者共同控制着缺氧诱导性迟发性神经元死亡^[16],HIF-1 在缺血性视网膜病变中对视网膜神经细胞可能起着相似的作用。Treins 等^[17]对增生性糖尿病性视网膜病变的视网膜进行检查发现,RPE 在增加 VEGFmRNA 表达的同时,HIF-1 α 的表达也明显增加,推测 HIF-1 α 的表达是缺氧状态下导致视网膜新生血管形成的关键。又有研究报道,在糖尿病大鼠视网膜内观察到 VEGF 和 HIF-1 高表达,且后者早于前者,提示了在视网膜病变中 HIF-1 表达可能是 VEGF 表达的始动因素^[18]。李才锐等^[19]实验发现在糖尿病视网膜病变的早期阶段,缺氧多发生在视网膜耗氧量最大的内核层细胞以及节细胞,而且还有 HIF-1 α 的表达,说明在临床上发现眼内明显缺血改变前,视网膜神经感觉层上已经有缺血缺氧改变,且与 HIF-1 α 具有相关性。Linsenmeier^[20]通过电生理研究发现光感受器对视网膜缺血特别敏感,视神经纤维在持续的高血糖状态下可发生退行性改变,使髓鞘结构受损,神经胶质细胞纤维增生。还有研究表明 HIF-1 α 和 VEGF 蛋白在视网膜母细胞瘤组织中呈高表达,HIF-1 α 主要表达于肿瘤细胞核中,部分胞浆中亦表达,VEGF 主要表达于肿瘤细胞胞浆中,二者参与视网膜母细胞瘤新生血管生成,可能在肿瘤的浸润转移中起着重要作用。其机制可能为快速生长的瘤体内部因供血不足而处于缺血缺氧状态,导致 HIF-1 表达增加,从而诱导新生血管加速形成。综上所述,可见 HIF-1 α 参与了视网膜血管内皮细胞缺氧过程中的适应性应答,诱导 VEGF 上调,从而促进眼内新生血管的发生和发展,同时也诱导了视网膜神经细胞的抑制和凋亡。

目前对于增殖型糖尿病性视网膜病变所导致的玻璃体体积血等疾病的治疗仍然以手术为主,但人们在玻璃体切割术后的患者中研究 VEGF 时发现,尽管玻璃体已经切除,但仍有高浓度的 VEGF 持续分泌入玻璃体腔,并且在液气交换时及手术后数天仍然有高水平的 VEGF 存在^[21]。这个结果可能反映了仅有玻璃体切割术不能充分减少新生血管的形成。如何抑制视网膜新生血管的产生,成为当前治疗该病的一个难题。付文琴等^[22]研究发现,HIF-1 反义寡核苷酸能有效抑制 HIF-1 的表达,导致 VEGF 的表达明显降低。该研究让以 HIF-1 为靶点的基因治疗有望成为视网膜新生血管性疾病治疗的新方向。Paul 等^[23]发现了一系列的信号抑制剂,如磷脂酰肌醇-3-激酶抑制剂、促分裂原活化蛋白激酶途径抑制剂、环氧化酶 2 抑制剂、热休克蛋白抑制剂等,这些抑制剂都在肿瘤细胞培养和临床实验中研究过。这些信号抑制剂为抑制 HIF-1 α 的表达和预防新生血管的形成提供了一个可能的治疗窗。

7 HIF-1 在青光眼中的研究进展

青光眼的视网膜、视神经损伤是多因素、多基因综合

作用的结果,其机制十分复杂。目前已经提出的各种假说中,更多学者倾向于缺氧学说。Tezel 等^[24]利用免疫组织化学法观察到青光眼患者的视网膜和视神经中 HIF-1 α 的表达明显高于正常人,而且高表达区与视野缺失区一致。HIF-1 作为参与低氧信号转导的起始和主要转录因子,只能被低氧所诱导而激活表达,这就表明如果存在 HIF-1 高表达的区域则意味着该区域的氧输送减少,处于缺氧状态,表明青光眼的视网膜可能存在缺氧。目前还有研究表明,慢性高眼压的视网膜组织中 HIF-1 α 表现为持续的高表达,这就意味着视网膜在高眼压后存在一个持续性的缺氧损害或反复发作性的组织缺氧,这与青光眼的视神经损害是一个长期、慢性而持续的过程相一致。Emandes 等^[25]曾建立大鼠视网膜高眼压模型,发现随着眼压升高、视网膜缺氧的加重和缺氧时间的延长,大鼠视网膜 HIF-1 α 的表达增加,但当眼压极度升高、视网膜缺氧极度严重时,它的表达反而下降,其原因一方面可能与它们对缺氧的敏感性降低和耐受性增强有关,另一方面可能与视网膜损伤后视网膜神经节细胞的数目减少有关。目前,青光眼是导致人类失明的三大致盲眼病之一,至今尚无治愈该病的特殊药物。HIF-1 在青光眼发病机制中的研究,为我们以抑制 HIF-1 表达作为治疗靶点提供了新的思路。

8 展望

眼科多种病变均可导致眼局部缺血缺氧,甚至产生新生血管或导致神经组织的损伤,目前对此尚无特效的治疗方法。在许多导致眼部缺血缺氧、产生新生血管和神经损伤的眼科疾病中,关于 HIF-1 的研究有力地表明了这种转录因子是调节新生血管形成的中心,可通过许多生长因子的激活或抑制来增加或减少下游血管的生成,将 HIF-1 作为眼科血管性疾病和神经损伤性疾病的治疗靶点,无疑可以让我们找到一种新的治疗途径。

参考文献

- 1 Semenza GL, Wang GL. A nuclear factor induced by hypoxia via de novo protein synthesis binds to the human erythropoietin gene enhancer at a site required for transcriptional activation. *Mol Cell Biol* 1992;12(12):5447-5454
- 2 Deng AJ, Jing DY. Sequential changes of HIF-1 α protein and mRNA in hypoxic bovine retinal microvessels endothelial cells. *Int J Ophthalmol* 2005;5(2):225-228
- 3 Stroka DM, Burkhardt T, Desbaillets I, et al. HIF-1 is Expressed in Normoxic Tissue and Displays an Organ-specific Regulation under Systemic Hypoxia. *FASEB J* 2001;15(13):2445
- 4 Semenza GL, Shimoda LA, Prabhakar NR. Regulation of gene expression by HIF-1. *Novartis Found Symp* 2006;272:2-8
- 5 May D, Itin A, Gal O, et al. Erol-1a plays a key role in a HIF-1-mediated pathway to improve disulfide bond formation and VEGF secretion under hypoxia: implication for cancer. *Oncogene* 2005;24(6):1011-1020
- 6 李明渊,唐仁泓. HIF-1 与 VEGF 在翼状胬肉中的表达及意义. *临床研究* 2009;3(29):213-217
- 7 Jones LE, Nagelkerke JF, Ensink NG, et al. Caspase3 activity as a prognostic factor in colorectal carcinoma. *Lab Invest* 2008;81(5):681-688
- 8 Henke RT, Haddad BR, Kim SE, et al. Over-expression of the Nuclear Receptor Coactivator AIB1 (SRC-3) during Progression of

- Pancreatic Adenocarcinoma. *Clin Cancer Res* 2004;10(18):6134-6142
- 9 Sonoda K, Sakamoto T, Yoshikawa H, *et al.* Inhibition of corneal inflammation by the topical use of refractin inhibitors: selective inhibition of macrophage localization. *Invest Ophthalmic* 2008;39(2):245-251
- 10 徐洋涛,胡琪. HIF、INOS 及 VEGF 在兔角膜碱烧伤后 CNV 生成中的作用研究. 齐齐哈尔医学院学报 2011;32(10):1537-1539
- 11 赵君,向东方. 大鼠角膜碱烧伤与微血管生成对预后的影响. 中华眼科杂志 2010;18(7):99-102
- 12 Feigl B. Age-related maculopathy in the light of ischaemia. *Clin Exp Optom* 2007;90(4):263-271
- 13 Yang XM, Wang YS, Zhang J, *et al.* Role of PI3K/Akt and MEK/ERK in mediating hypoxia-induced expression of HIF-1 α and VEGF in laser-induced rat choroidal neovascularization. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2009;50(4):1873-1879
- 14 何花,李贵刚. 环杷明对实验性脉络膜新生血管的抑制及对 Gli1 和 HIF-1 α 及 VEGF 表达的影响. 医药导报 2010;8(29):980-985
- 15 Naskar R, Dreyer EB. New horizons in neuroprotection. *Surv Ophthalmol* 2001;45(Suppl 3):S250-S255
- 16 Halterman MW, Miller CC, Federoff HJ, *et al.* Hypoxia-inducible factor-1 α mediates hypoxia-induced delayed neuronal death that involves p53. *J Neurosci* 1999;19(16):6818-6824
- 17 Treins C, Giorgetti Peraldi S, Murdaca J, *et al.* Regulation of vascular endothelial growth factor expression by advanced glycation end products. *J Biol Chem* 2007;276(47):3836-3841
- 18 Beilmann M, Birk G, Lenter MC. Human primary coculture angiogenesis assay reveals additive stimulation and different angiogenic properties of VEGF and HIF. *Cytokine* 2004;26(4):178-185
- 19 李才锐,胥延,郭小健,等. HIF-1 在早期糖尿病小鼠视网膜上的表达及作用. 实用医学杂志 2010;12(6):117-119
- 20 Linsenmeier RA. Electrophysiological consequences of retinalpoxia. *Graefes Arch Exp Ophthalmol* 1990;228(2):143-150
- 21 Lau KW, Tian YM, Raval RR, *et al.* Target gene selectivity of hypoxia inducible factor-1 α in renal cancer cells is conveyed by post DNA binding mechanisms. *Br J Cancer* 2007;96:1284-1292
- 22 付文琴,邓爱军. HIF-1 反义寡核苷酸体外对缺氧时视网膜血管内皮细胞 HIF-1 和 VEGF 表达的影响. 山东医药 2010;50(31):20-22
- 23 Paul SAM, Simons JW. HIF-1 at the crossroads between ischemia and carcinogenesis. *J Cell Physiol* 2004(200):20-30
- 24 Tezel G, Wax MB. Hypoxia-inducible Factor-1 α in the Glaucomatous Retina and Optic Nerve Head. *Arch Ophthalmol* 2004;122:1348-1356
- 25 Fernandes AF, Guo W, Zhang X, *et al.* Proteasome-dependent regulation of signal transduction in retinal pigment epithelial cells. *Exp Eye Res* 2006;83(6):1472-1481