

低氧诱导因子-1 α 在视网膜母细胞瘤发生发展中作用的研究进展

胡佳丽, 高 玉

基金项目:上海市卫生和计划生育委员会科研资助课题(No. 201540304)

作者单位:(200081)中国上海市,中国人民解放军第四一医院眼科

作者简介:胡佳丽,毕业于第二军医大学,博士,主治医师,研究方向:白内障、视网膜疾病。

通讯作者:高玉,博士,副主任医师,副主任,研究方向:白内障、玻璃体视网膜疾病的基础与临床. gyhqygy@sina.com

收稿日期:2016-02-27 修回日期:2016-07-04

Role of hypoxia-inducible factor-1 alpha in retinoblastoma development

Jia-Li Hu, Yu Gao

Foundation item: The Research Foundation of Shanghai Municipal Commission of Health and Family Planning (No. 201540304)

Department of Ophthalmology, No. 411 Hospital of PLA, Shanghai 200081, China

Correspondence to: Yu Gao. Department of Ophthalmology, No. 411 Hospital of PLA, Shanghai 200081, China. gyhqygy@sina.com

Received:2016-02-27 Accepted:2017-06-04

Abstract

• Retinoblastoma is a common eye malignant tumor which has high degree of malignancy. The traditional treatment methods are destructive, and the prognosis is poor. Hypoxia-inducible factor-1 α highly express in retinoblastoma and regulate the development and progression of retinoblastoma (by influencing the proliferation and differentiation of tumor cells and involving in the generation of vascular mimicry). This article reviewed the role of hypoxia inducible factor-1 α in the development of retinoblastoma which will initiate a new avenue for the treatment of retinoblastoma.

• **KEYWORDS:** hypoxia-inducible factor-1 alpha; retinoblastoma; vascular mimicry

Citation: Hu JL, Gao Y. Role of hypoxia-inducible factor-1 alpha in retinoblastoma development. *Guoji Yanke Zazhi (Int Eye Sci)* 2016;16(8):1477-1479

摘要

视网膜母细胞瘤(retinoblastoma, Rb)是眼内常见恶性肿瘤之一,恶性程度高,危害大。传统的治疗方法破坏性强,预后不佳。低氧诱导因子-1 α 在Rb中高表达,影响肿瘤细

胞的分化增殖及转移,参与血管生成拟态的生成,进而调控Rb的整个发生发展过程。本文将对低氧诱导因子-1 α 在Rb发生发展中的作用做一综述,以期对Rb的治疗开辟新的途径。

关键词:低氧诱导因子-1 α ;视网膜母细胞瘤;血管生成拟态

DOI:10.3980/j.issn.1672-5123.2016.8.18

引用:胡佳丽,高玉.低氧诱导因子-1 α 在视网膜母细胞瘤发生发展中作用的研究进展.国际眼科杂志2016;16(8):1477-1479

0 引言

低氧是实体肿瘤的常见特征,由于肿瘤细胞快速分裂和血管微环境异常造成血液供应不足而导致缺氧^[1-3]。因此肿瘤的生长和转移取决于肿瘤细胞新生血管的形成和对缺氧环境的适应程度。低氧诱导因子-1(hypoxia-inducible factor-1, HIF-1)是一种调节氧稳态的核转录因子,最早由Semenza等^[4]于1992年发现,是低氧诱导因子家族中最重要的成员之一。HIF-1由HIF-1 α 和HIF-1 β 两个亚基组成,其中HIF-1 α 既是HIF-1的调节亚基又是其活性亚基,也是唯一的氧调节亚单位,决定着HIF-1的活性^[5]。当细胞处于低氧状态时,HIF-1 α 转位进入细胞核与HIF-1 β 二聚化后与相应的下游靶基因结合,从而调控其转录。除此之外,有研究发现,低氧状态下HIF-1 α 羟基化受阻,因而不能与肿瘤抑制蛋白Von Hippel-Lindau(VHL)结合发生降解,导致其表达量在细胞内呈指数式增加^[6]。目前发现HIF-1在肿瘤组织中起调节转录作用,诱导下游100多种靶基因表达。HIF使肿瘤组织适应低氧环境,获得强增殖、侵袭及转移能力,导致肿瘤组织对放、化疗不敏感,影响疾病预后。

视网膜母细胞瘤(retinoblastoma, Rb)是眼内最常见的恶性肿瘤之一,好发于婴幼儿,恶性程度高,严重危害患儿的视力甚至生命。Rb在全世界范围新生儿的发病率为1/15000~1/20000,根据全球新生儿出生率计算,也就是全世界每年约有8000例新发Rb病例^[7-8]。Rb传统的治疗方法包括眼球摘除、局部治疗、外照射放射治疗、化学减容法等;局部治疗主要有激光光凝术、经瞳孔温热疗法、冷冻治疗、表层巩膜敷贴放射治疗、光动力疗法等^[9]。但上述治疗方式属于破坏性损伤,随着肿瘤分子生物学与基因工程技术的进展,基因靶向治疗成为一种新型的治疗手段。近几年来,HIF-1 α 在Rb发生发展中的作用引起了人们的广泛关注。本文拟探讨HIF-1 α 在Rb发生发展过程中的影响,以期对Rb的基因治疗开辟新的方向。

1 HIF-1 α 在视网膜母细胞瘤中的表达

吴继红等^[10]在Rb分离而成的HXO-Rb-GFP细胞株中发现,Rb肿瘤组织中散在单个或多个HIF-1染色阳性

细胞,HIF-1主要分布在细胞核内或细胞质内。阳性细胞数量和染色强度高于其他类型的眼部恶性肿瘤。王志鹏等^[11]的研究同样发现,HIF-1 α 主要表达于细胞核和部分细胞质内,除此之外,他们还发现HIF-1 α 在不同分期的Rb中的表达差异具有统计学意义,Rb级别与HIF-1 α 表达呈正相关。张丽娜等^[12]将人Rb细胞株Y79进行低氧处理,发现正常组和低氧组的HIF-1 α 蛋白表达量的差异具有统计学意义。与正常组比较,低氧组HIF-1 α 蛋白表达水平明显增加,real-time PCR结果也显示低氧组HIF-1 α mRNA的表达明显高于正常组。

2 HIF-1 α 对视网膜母细胞瘤分化增殖及转移的影响

肿瘤细胞快速分裂和血管存在结构和功能的异常,导致瘤体内大部分区域处于低氧状态。而HIF-1在肿瘤低氧状态下发挥着重要的中枢纽带作用。Fernandes等^[13]研究发现,敲除HIF-1 α siRNA后,导致Rb细胞增殖减缓,表明HIF-1 α 参与并促进Rb的存活和增殖。Xia等^[14]研究发现,缺氧显著增加HIF-1 α 蛋白的表达,并且作用于HIF-1 α 靶基因VEGF、GLUT1和Survivin mRNA。在缺氧状态下敲除HIF-1 α 能显著降低VEGF、GLUT1和Survivin mRNA的表达。Sudhaker等研究也发现,在分化和未分化的Rb细胞中,都观察到HIF-1 α 与Survivin基因之间存在强关联。众所周知,Survivin是凋亡抑制蛋白家族一员,具有肿瘤特异性,常能在肿瘤和胚胎组织中检测到,且与肿瘤细胞的分化增殖及浸润转移密切相关。

除此之外,Sudhaker等^[15]在HIF-1 α 高免疫反应性的肿瘤细胞中,同样观察到HIF-1 α 和碳酸酐酶IX(Carbonic anhydrase IX,CAIX)间具有强关联。而CAIX是碳酸酐酶家族(Carbonic anhydrases,CAs)的异构体之一,是一种与肿瘤相关的跨膜糖蛋白,在许多肿瘤中过量表达,它催化CO₂水解为碳酸氢根和氢离子,维持肿瘤细胞内的pH值,酸化细胞外环境,有利于肿瘤的生长和转移。

Gao等^[16]研究发现,无论是在缺氧环境下或者正常环境下,敲除Y-79 Rb细胞株的HIF-1 α 基因,导致细胞增殖缓慢、细胞凋亡。除此之外,敲除HIF-1 α 轻度增加Bax/Bcl-2的比例,并激活caspase-9和caspase-3。

3 HIF-1对视网膜母细胞瘤细胞周期的影响

Park等^[17]研究发现,在缺氧状态下,HIF-1 α 表达增加,从而导致p27的持续表达,而p27抑制Rb磷酸化。缺氧通过依赖HIF-1 α 诱导p27表达,从而阻止GSK3 β 的核转录以及降低C/EBP β 的DNA结合能力。Goda等^[18]研究发现缺氧导致HIF-1 α 表达增加,而HIF-1 α 表达的增加会促使细胞周期依赖性激酶抑制剂p21和p27的表达。除此之外,Rb蛋白的磷酸化是HIF-1 α 依赖的。这些都提示我们,HIF-1在细胞周期起到重要的调节作用。

4 HIF-1与视网膜母细胞瘤血管生成的关系

4.1 HIF-1 α 对视网膜母细胞瘤血管生成的影响 肿瘤干细胞是肿瘤组织中的一小部分具有干细胞性质的细胞群体,具有自我更新及多向分化能力,决定着肿瘤发生发展和侵袭转移的能力。目前已在Rb、脑胶质细胞瘤、前列腺癌等多种恶性肿瘤中得到证实,并被分离培养成功。蔡飒等^[19]发现低氧可以通过对肿瘤细胞的基因型筛选,使细胞去分化、向肿瘤干细胞表型改变。随着对血管生成拟态(vascular mimicry,VM)的深入研究,发现参与VM管壁形成的肿瘤细胞高表达肿瘤干细胞标志物,有较强的可塑

性,并呈现多潜能干细胞的表型。而低氧是促进肿瘤细胞向内皮细胞诱导分化的源泉,提示低氧条件下由肿瘤细胞去分化来源的肿瘤干细胞是构成VM管壁的细胞来源。Zhao等^[20]和Zhu等^[21]发现微环境的改变例如低氧能够诱导肿瘤干细胞向内皮细胞转分化,表达内皮细胞标志物CD31、CD34及vWF,并参与肿瘤血管生成。张丽娜等^[12]研究证明,Rb中也有HIF-1 α 过表达现象,并且其表达与肿瘤的临床病理类型无关,但与组织学分化程度呈负相关,VM的形成同样与病理类型无关,与分化程度呈负相关,提示VM的形成可能与HIF-1 α 过表达现象有关。Niu等^[22]研究证明Rb中存在VM,随着R-E分级的增高,VM阳性表达率明显增加;分化型Rb中VM阳性率明显低于未分化型中VM阳性率;此外,Niu等研究也提示Rb中存在VM,且肿瘤恶性程度越高,形成VM能力越强;而存在VM的Rb组织HIF-1 α 、VEGF高表达,提示HIF-1 α 、VEGF在VM的形成中可能起相互促进作用。Wang等^[23]探讨了Rb中乙酰肝素酶(HPSE)、低氧诱导因子-1 α (HIF-1 α)的表达及其与VEGF的关系。发现在Rb石蜡标本中,HIF-1 α 、VEGF阳性表达率明显高于正常对照组。Rb中HPSE、HIF-1 α 、VEGF mRNA阳性率与正常组比较有统计学意义。Rb中HIF-1 α mRNA、HPSE mRNA表达与VEGF mRNA表达呈相关性,提示HIF-1 α 、HPSE可共同作用于VEGF这种促血管生成重要因子,在肿瘤血管形成中起一定作用。

4.2 HIF-1 α 对视网膜母细胞瘤血管生成影响的可能机制

有研究显示,低氧状态下Rb细胞中高表达HIF-1^[24],进而导致miR-181b的表达增加,而miR-181b作用于靶基因程序性细胞死亡因子10(programmed cell death-10,PDCD10)和GATA结合蛋白6(GATA6),促进视网膜母细胞的血管生成。EphA2是一种受体蛋白酪氨酸激酶,在有VM的肿瘤组织中高表达。Chen等^[25]发现EphA2可以通过激活PI3K信号转导通路上调基质金属蛋白酶的表达,促进肿瘤细胞外基质的重构,从而在VM的形成中发挥重要作用。敲除EphA2基因,可以导致肿瘤细胞不能形成VM结构,而低氧可导致EphA2的高表达。张丽娜等^[12]研究发现,低氧条件下向内皮细胞诱导分化后,EphA2及PI3K的总蛋白及磷酸化蛋白表达均明显增加;雷帕霉素能够通过减少HIF-1 α 蛋白表达,从而抑制低氧导致的EphA2及PI3K的蛋白表达及活化增加。提示HIF-1 α 可能通过调节EphA2/PI3K信号通路在Rb的VM形成中发挥作用。

综上所述,HIF-1 α 与Rb的生物学行为密切相关。HIF-1 α 在Rb中高表达,影响肿瘤细胞的分化增殖及转移,参与VM的生成,调控Rb的整个发生发展过程。因VM的形成有别于肿瘤新生血管,故传统的抗肿瘤血管药物治疗欠佳。明确HIF-1 α 在Rb中的作用,可为我们深入认识Rb的发病机制和判断预后,为治疗Rb开辟新的途径。但值得注意的是,当肿瘤直径小于2mm时,肿瘤细胞的营养获取及废物排出依靠扩散实现,并不需要血管提供营养^[26],因此如何在肿瘤初期就能抑制肿瘤细胞的生长,是后续研究中需要重点关注的方向。

参考文献

- 1 Sakamoto T, Weng JS, Hara T, et al. Hypoxia-inducible factor 1 regulation through cross talk between mTOR and MT1-MMP. *Mol Cell Biol* 2014;34(1):30-42

- 2 Zhou Y, Liu XH, Qu SD, *et al.* Hyperbaric oxygen intervention on expression of hypoxia-inducible factor-1 α and vascular endothelial growth factor in spinal cord injury models in rats. *Chin Med J(Engl)* 2013;126(20):3897-3903
- 3 Iwase T, Fu J, Yoshida T, *et al.* Sustained delivery of a HIF-1 antagonist for ocular neovascularization. *J Control Release* 2013;172(3):625-633
- 4 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
- 5 Pugh CW, O'Rourke JF, Nagao M, *et al.* Activation of hypoxia-inducible factor-1 definition of regulatory domain within the alpha subunit. *J Biol Chem* 1997;272(17):11205-11214
- 6 Fedele AO, Whitelaw ML, Peet DJ. Regulation of gene expression by the hypoxia-inducible factors. *Mol Interv* 2002;2(4):229-243
- 7 Shields CL, Shields JA. Diagnosis and management of retinoblastoma. *Cancer Control* 2004;11(5):317-327
- 8 Kivela T. The epidemiological challenge of the most frequent eye cancer: retinoblastoma, an issue of birth and death. *Br J Ophthalmol* 2009;93(9):1129-1131
- 9 李彬,任若瑾. 视网膜母细胞瘤的综合治疗策略. 中华眼底病杂志 2009;25(2):81-84
- 10 吴继红,徐萍,易苗英,等. 体外培养的人视网膜母细胞瘤细胞株及其肿瘤血管生成相关因子表达的实验研究. 中华眼科杂志 2005;41(5):419-422
- 11 游志鹏,宋华,赵菊莲. HIF-1 α 、VEGF 在视网膜母细胞瘤中的表达及意义. 眼科研究 2009;27(11):992-995
- 12 张丽娜,赵桂秋,王谦,等. 低氧条件下视网膜母细胞瘤表达肿瘤干细胞标志物及向内皮样细胞诱导分化的体外研究. 中华眼科杂志 2013;49(8):736-743
- 13 Fernandes BF, Coates J, Odashiro AN, *et al.* Hypoxia-inducible factor-1 α and its role in the proliferation of retinoblastoma cells. *Pathol Oncol Res* 2014;20(3):557-563
- 14 Xia T, Cheng H, Zhu Y. Knockdown of hypoxia-inducible factor-1 α reduces proliferation, induces apoptosis and attenuates the aggressive phenotype of retinoblastoma WER1-Rb-1 cells under hypoxic conditions. *Ann Clin Lab Sci* 2014;44(2):134-144
- 15 Sudhakar J, Venkatesan N, Lakshmanan S, *et al.* Hypoxic tumor microenvironment in advanced retinoblastoma. *Pediatr Blood Cancer* 2013;60(10):1598-1601
- 16 Gao Y, Jing M, Ge R, *et al.* Inhibition of hypoxia inducible factor 1 α by siRNA-induced apoptosis in human retinoblastoma cells. *J Biochem Mol Toxicol* 2014;28(9):394-399
- 17 Park YK, Park H. Prevention of CCAAT/enhancer-binding protein beta DNA binding by hypoxia during adipogenesis. *J Biol Chem* 2010;285(5):3289-3299
- 18 Goda N, Ryan HE, Khadivi B, *et al.* Hypoxia-inducible factor 1 α is essential for cell cycle arrest during hypoxia. *Mol Cell Biol* 2003;23(1):359-369
- 19 蔡飒,付小兵,盛志勇. 去分化:一种新的干细胞来源. 中华医学杂志 2007;87(8):531-533
- 20 Zhao Y, Dong J, Huang Q, *et al.* Endothelial cell transdifferentiation of human glioma stem progenitor cells *in vitro*. *Brain Res Bull* 2010;82(5-6):308-312
- 21 Zhu P, Ning Y, Yao L, *et al.* The proliferation, apoptosis, invasion of endothelial-like epithelial ovarian cancer cells induced by hypoxia. *J Exp Clin Cancer Res* 2010;29(1):124
- 22 Niu YJ, Liu FL, Yang Y, *et al.* Relationship between vasculogenic mimicry and clinical pathological characters in retinoblastoma. *Zhonghua Yan Ke Za Zhi* 2009;45(4):318-322
- 23 Wang XL, Niu YJ, Ma JM. HIF-1 α , HPSE and VEGF promote malignant progression of retinoblastoma. *Zhonghua Yan Ke Za Zhi* 2010;46(2):140-144
- 24 Xu X, Ge S, Jia R, *et al.* Hypoxia-induced miR-181b enhances angiogenesis of retinoblastoma cells by targeting PDCD10 and GATA6. *Oncol Rep* 2015;33(6):2789-2796
- 25 Chen LX, He YJ, Zhao SZ, *et al.* Inhibition of tumor growth and vasculogenic mimicry by curcumin through down-regulation of the EphA2/PDK/MMP pathway in a murine choroidal melanoma model. *Cancer Biol Ther* 2011;11(2):229-235
- 26 Folkman J. Fighting cancer by attacking its blood supply. *Sci Am* 1996;275(3):150-154