

· 综 述 ·

热耐受与缺氧诱导因子-1 α 的研究进展*黄碧君¹综述,程晓曙² Δ 审校

(南昌大学第二附属医院:1. 心血管内科;2. 江西省分子医学重点实验室,南昌 330006)

关键词:缺氧诱导因子-1 α ;热休克蛋白类;热耐受;交叉耐受

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2013.19.041

文献标识码:A

文章编号:1671-8348(2013)19-2283-02

在全球持续变暖这个气候大背景的作用下,极端的高温事件频发,对全球的生态系统产生负面影响。生物多样性降低的趋势就是其中的一个突出的例子。对人类而言,温度的骤然升高直接影响日常的活动,加重心血管病等患者的病情并增加病死率。近年来的研究显示,缺氧诱导因子-1 α (hypoxia inducible factor-1, HIF-1 α)不仅作为缺氧相关基因表达的调控因子,维持机体的氧自稳平衡,而且在感受高温、传递热应激信号的过程中也发挥着重要作用^[1]。本文将对 HIF-1 α 在热耐受过程中的调控及生物学功能进行归纳阐述。

1 热耐受

细胞或组织预先经过亚致死温度处理后对致死性高温产生耐受性的现象叫做热耐受。短时间(10 min)暴露于 45℃或长时间(8 h)暴露 39~42℃均能诱导细胞产生热耐受。经高温预处理数小时后即可观察到热耐受现象,热耐受力在 6~8 h 达到最高水平,持续 3~5 d。热耐受的作用较为短暂并且持续时间由高温预处理的程度所决定。一般而言,预处理的温度越高,产生的热耐受效应越明显且持续时间越长。

获得热耐受的细胞通过保护性蛋白的储备,损伤后分子的动态反应及转录后修饰对抗各种应激源产生的损伤。除了已广泛深入研究的热休克蛋白(heat shock proteins, HSPs)之外, HIF-1 α 及其调控的靶向基因的表达在热耐受过程中也发挥着重要的作用。

2 热耐受时 HIF-1 α 的变化及意义

HIF-1 是被 Semenza 等^[2]作为低氧诱导的、连接在促红细胞生成素(EPO)基因低氧反应元件(hypoxia response element, HRE)上的一个核因子发现的。HIF-1 是细胞在低氧条件下产生的蛋白性调节因子,它与靶基因结合,促进其转录,使机体产生一系列低氧适应反应,在低氧信号转导中起重要的调节作用。HIF-1 α 作为 HIF-1 所特有的蛋白组成,既是 HIF-1 的调节亚基又是活性亚基,其表达水平受氧分压的严格调控。

HIF-1 α 在缺氧信号转导中的作用已被充分探究。在后续的研究中发现热应激也能够增加 HIF-1 α 的表达。在常氧(20% O₂)或低氧(3% O₂)条件下,细胞经不同温度(34~42℃)处理 4 h 后,用 Western blotting 法检测 HIF-1 α ,结果显示,常氧和低氧条件下, HIF-1 α 的表达量均随温度的升高而增加; Petriperm 弹力膜培养皿中的细胞经高温处理后 HIF-1 α 的表达量亦显著增加,氧气能很好地透过 Petriperm 弹力膜,可避免细胞在热应激状态下因耗氧量增加而存在潜在缺氧的情况,此结果提示,常氧条件下的热应激能够诱导 HIF-1 α 的表达,且表达量具有温度依赖性^[3]。随后,以色列希伯来大学的研究

人员利用线虫基因模型证明了 HIF-1 α 在热耐受中的重要性,敲除 HIF-1 α 的突变体不能产生热耐受,过表达 HIF-1 α 的突变体能够产生比野生型更为有效的热耐受力^[4]。随着研究的深入, HIF-1 α 在热耐受中的表达、调控及生物学意义得到越来越充分的阐述。Alina 等^[5]的研究表明:(1) 在长时间的热适应后, HIF-1 α 的表达量增加;(2) 急性热休克后, HIF-1 α 水平短暂升高;(3) 热耐受后的热应激反应中, HIF-1 α 靶基因 VEGF、EPO 和 HO1 的转录活性较对照组有显著提高。这些证据提示,缺氧反应通路是热耐受效应系统中固有的一部分, HIF-1 α 作为这一通路中重要的调控因子在热耐受效应中发挥重要的调控作用。

3 热耐受中 HIF-1 α 与 HSPs 的表达调控

热应激通过激活活性氧自由基(ROS)、死亡受体及线粒体信号通路诱导细胞凋亡。而热耐受能够抑制热应激诱导的 ROS 的生成,降低死亡受体及线粒体级联信号的上、下游的表达水平,从而降低致死性高温诱导的细胞凋亡率^[6-7]。目前,关于 HIF-1 α 及 HSPs 通过调节热耐受及热应激信号通路各环节发挥抗凋亡作用的研究有很多。然而,热耐受过程中 HIF-1 α 与 HSPs 之间的相互关系、表达调控的分子机制及其在热应激中发挥的作用有待于进一步的阐明。

3.1 HIF-1 α 与 HSP90 高温条件下,使用 HSP90 抑制剂进行干预的细胞其热应激诱导的 HIF-1 α 表达量显著低于未使用药物干预的对照组;作者利用免疫共沉淀实验对 HSP90 和 HIF-1 α 之间关系进行印证,结果显示高温组形成的 HSP90-HIF-1 α 复合物比常温对照组要多,说明 HSP90 调节高温诱导的 HIF-1 α 的生成^[2]。

3.2 HIF-1 α 与 HSP70 HSP70 作为热休克蛋白家族中最保守和最重要的一族,在细胞应激保护中起到重要的作用。不同类型的细胞和物种经热应激诱导合成 HSP70 后能提高在致死性高温应激下的生存率^[8]。实验表明, HSP70 的表达具有 HIF-1 α 依赖性^[9-10],并且 PI3K/Akt 参与了 HIF-1 α 对 HSP70 表达的调控^[11]。在低氧条件下, HIF-1 α 通过调节热休克因子 1(heat shock factor-1, HSF-1)的转录进而提高 HSP70 的表达水平^[12]。另一项研究显示,亚硝酸盐通过 p85 α 来稳定 HIF-1 α 的表达,进而促进 HSP70 表达^[13]。尽管具体机制未完全阐明,但这些实验在不同条件下均显示出 HIF-1 α 对 HSP70 表达的起着调控作用。值得注意的是,在高温预处理产生的热耐受力对抗缺血缺氧的交叉耐受过程中, HIF-1 α 调控 HSP70 表达的这一结果为应激反应信号通路间的交叉调控提供了明确的佐证^[14]。

* 基金项目:“十一五”国家科技支撑计划资助项目(2008BA168B00)。 作者简介:黄碧君(1988~),医师,硕士,主要从事心血管疾病的临床与基础研究工作。 Δ 通讯作者, Tel:079186268844; E-mail: xiaoshumenfan@126.com。

现有的研究表明,在非致死性高温诱导的热耐受过程中 HIF-1 α 与 HSPs 之间存在着相互作用关系,并且二者之间的调控机制将影响其在热耐受中的作用。如果能协调二者将提供强大的热耐受保护作用。

4 HIF-1 α 在交叉耐受中的作用

高温预处理产生的热耐力对其他刺激源如缺血缺氧、酸中毒和紫外线等引起的应激反应也能产生耐受性,即所谓交叉耐受。热耐受维持机体氧自稳平衡,抑制缺氧诱导的细胞凋亡就是交叉耐受中的一个典型的代表。高温预处理能够产生显著的缺血损伤后的保护作用,在大鼠心脏的缺血再灌注损伤实验中,热适应后大鼠的心梗面积明显小于对照组^[5]。经不同高温(38℃和40℃)诱导产生热耐受力的细胞,其在后续的缺氧复氧中的细胞凋亡率均小于单纯缺氧复氧组;高温预处理后 HIF-1 α 及其靶基因 EPO 的表达显著增加,其表达水平的高低决定了对缺氧交叉耐受作用的强弱^[15-16]。

热耐受拥有双重防御策略,在初期为快速短暂的适应以维持细胞和 DNA 的完整性,随后是缓慢长时的信号通路介导的细胞保护作用,通过基因编码蛋白来参与热应激反应、抗凋亡和抗氧化作用^[17]。基因的活化具有应激源特异性,但不同的应激源诱导的基因活化也有相互重叠的部分。热耐受正是通过诱导热应激和缺氧应激的共同信号通路参与对缺血缺氧交叉耐受的形成,而 HIF-1 α 便作为热应激和缺氧应激反应共有的信号调控因子,调节二者之间的交叉耐受。

5 结语与展望

HIF-1 α 作为热应激信号中重要的调控因子,通过促进相关靶基因的转录参与机体和细胞耐热力的形成,并且在热耐受对抗缺血性损伤的交叉耐受过程中起重要的调节作用。因而,对 HIF-1 α 调控及其靶基因的深入研究,将为进一步拓展热适应理论奠定良好的理论基础,也为热休克及缺血性损伤的防治提供新思路 and 新的干预环节。

参考文献:

- [1] Semenza GL. Regulation of oxygen homeostasis by hypoxia-inducible factor 1[J]. *Physiology*(Bethesda), 2009, 24: 97-106.
- [2] 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[J]. *Mol Cell Biol*, 1992, 12(12): 5447-5454.
- [3] Katschinski DM, Le L, Heinrich D, et al. Heat induction of the unphosphorylated form of hypoxia-inducible factor-1 is dependent on heat shock protein-90 activity[J]. *J Biol Chem*, 2002, 277(11): 9262-9267.
- [4] Treinin M, Shliar J, Jiang H, et al. HIF-1 is required for heat acclimation in the nematode *Caenorhabditis elegans* [J]. *Physiol Genomics*, 2003, 14(1): 17-24
- [5] Alina M, Luba EB, Gregg L, et al. HIF-1 α -targeted pathways are activated by heat acclimation and contribute to acclimation-ischemic cross-tolerance in the heart [J]. *Physiol Genomics*, 2005, 23(1): 79-88.
- [6] Ahmed B, Diana A, Averill-Bates. Thermotolerance induced at a fever temperature of 40 °C protects cells against hyperthermia-induced apoptosis mediated by death receptor signaling[J]. *Biochem Cell Biol*, 2008, 86(6): 521-538.
- [7] Palapati P, Averill-Bates DA. Mild thermotolerance induced at 40 °C protects HeLa cells against activation of death receptor-mediated apoptosis by hydrogen peroxide [J]. *Free Radic Biol Med*, 2011, 50(6): 667-679.
- [8] Beckham JT, Wilmink GJ, Mackanos MA, et al. Role of HSP70 in cellular thermotolerance[J]. *Lasers Surg Med*, 2008, 40(10): 704-715.
- [9] Yeh CH, Hsu SP, Yang CC, et al. Hypoxic preconditioning reinforces HIF-alpha-dependent HSP70 signaling to reduce ischemic renal failure-induced renal tubular apoptosis and autophagy[J]. *Life Sci*, 2010, 86(3/4): 115-123.
- [10] Huang WJ, Xia LM, Zhu F, et al. Transcriptional upregulation of HSP70-2 by HIF-1 in cancer cells in response to hypoxia[J]. *Int J Cancer*, 2009, 124(2): 298-305.
- [11] Zhou J, Schmid T, Frank R, et al. PI3K/Akt is required for heat shock proteins to protect hypoxia-inducible factor 1alpha from pVHL-independent degradation [J]. 2004, 279(14): 13506-13513.
- [12] Nathan A, Baird, Douglas W, et al. Induction of the Heat Shock Pathway during Hypoxia Requires Regulation of Heat Shock Factor Hypoxia-inducible Factor-1[J]. *J Biol Chemistry*, 2006, 281(50): 38675-38681.
- [13] Guo W, Yang Z, Xia Q, et al. Arsenite stabilizes HIF-1 α protein through p85 α -mediated up-regulation of inducible Hsp70 protein expression[J]. *Cell Mol Life Sci*, 2011, 68(3): 475-488.
- [14] Horowitz M, Assadi H. Heat acclimation-mediated cross-tolerance in cardioprotection Do HSP70 and HIF-1 α play a role? [J]. *Ann N Y Acad Sci*, 2010, 1188: 199-206.
- [15] Du F, Zhu L, Qian ZM, et al. Hyperthermic preconditioning protects astrocytes from ischemia/reperfusion injury by up-regulation of HIF-1 alpha expression and binding activity[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2010, 1802(11): 1048-1053.
- [16] Du F, Wu XM, Gong Q, et al. Hyperthermia conditioned astrocyte-cultured medium protects neurons from ischemic injury by the up-regulation of HIF-1 alpha and the increased anti-apoptotic ability[J]. *Eur J Pharmacol*, 2011, 666(1/3): 19-25.
- [17] Michal H, Luba EB, Ilan W, et al. Stress-related genomic responses during the course of heat acclimation and its association with ischemic-reperfusion cross-tolerance[J]. *J Appl Physiol*, 2004, 97(4): 1496-1507.