

低氧诱导因子在慢性肾脏病中的作用研究进展

刘怡然, 刘丹丹(综述), 张洪旭(审校)

作者单位: 230000 合肥,安徽省第二人民医院肾脏内科(刘怡然,张洪旭),呼吸内科(刘丹丹)
作者简介: 刘怡然(1991-),女,医学硕士,住院医师,研究方向:肾脏纤维化的机制研究。E-mail:lyr2880@126.com

[摘要] 慢性肾脏病(chronic kidney diseases,CKD)是严重危害人类健康甚至致命的常见病。加强对CKD的防治,已成为不可忽视的公共卫生问题。CKD发病机制复杂多样,其中低氧诱导因子(hypoxia inducible factor,HIF)在CKD及其相关并发症的发生发展中起重要作用。HIF是机体内调节氧稳态的关键核转录因子,其通过调控下游靶基因的转录及与多种信号通路交互作用等方式,在肾脏纤维化病理进程中起关键作用。此外,HIF在急性肾损伤(acute kidney injury,AKI)转变为CKD的过程中亦起重要作用。因此,靶向研究HIF及其相关信号通路具有重要的临床意义。该文就HIF的病理生理特点及其在CKD发生发展中的调节作用进行综述。

[关键词] 低氧诱导因子; 慢性肾脏病; 急性肾损伤

[中图分类号] R 692 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1674-3806(2020)02-0203-04
doi:10.3969/j.issn.1674-3806.2020.02.26

Research progress in the role of hypoxia inducible factor in chronic kidney diseases LIU Yi-ran, LIU Dan-dan, ZHANG Hong-xu. Department of Nephrology, Anhui No. 2 Provincial People's Hospital, Hefei 230000, China

[Abstract] Chronic kidney diseases(CKD) are common diseases that seriously endanger human health lead to death. Strengthening the prevention and treatment of CKD has become a public health problem that can not be ignored. The pathogenesis of CKD is complex and diverse. Hypoxia inducible factor(HIF) plays an important role in the occurrence and development of CKD and CKD-related complications. HIF is a key nuclear transcription factor that regulates oxygen homeostasis in the body. It participates in the pathological process of renal fibrosis by regulating the transcription of downstream target genes and interacting with multiple signaling pathways. In addition, HIF also plays an important role in the transformation of acute kidney injury(AKI) into CKD. Therefore, targeted studies on HIF and its related signaling pathways have important clinical significance. This paper reviews the pathophysiological characteristics of HIF and its regulatory role in the development of CKD.

[Key words] Hypoxia inducible factor(HIF); Chronic kidney diseases(CKD); Acute kidney injury(AKI)

慢性肾脏病(chronic kidney diseases,CKD)呈持续性进展,肾功能随时间逐渐下降。我国CKD的成人发病率约为10.8%,其所带来的家庭及社会负担难以估量。随着对CKD发病机制的深入研究,已证实直接或间接引起的缺氧是导致CKD的重要原因。多种因素可诱导肾脏缺氧的发生,如肾小球毛细血管网功能障碍、贫血相关的氧运减少、细胞外基质(extracellular matrix,ECM)堆积所致氧弥散障碍及线粒体形态功能异常等。在这些病理情况下,肾脏通过低氧应答使细胞适应低氧环境,以维持内环境稳定,具体涉及调节血管再生、能量代谢及红细胞生成等方面的一系列基因的转录激活。调节这些基因转录的

关键因子是低氧诱导因子(hypoxia inducible factor,HIF)^[1~3]。HIF广泛参与CKD的发生发展及转归。本文对HIF的结构功能及其在CKD中的调节作用进行综述。

1 HIF概述

1.1 HIF家族

HIF属于碱性螺旋-环-螺旋(basic-helix-loop-helix,bHLH)结构,由不稳定的 α 亚基(HIF-1 α ,HIF-2 α ,或HIF-3 α)和仅构成性表达的 β 亚基组成的异源二聚体蛋白构成。HIF-1 α 和HIF-2 α 有48%的基因序列相同,结构亦有相似性,是调控低氧基因转录的主要亚型。但二者的表达部位不同,所调控的下游靶基因功能也不相同。在肾脏内,HIF-1 α

广泛表达于多种类型细胞中,尤其是肾小管上皮细胞中,其调控范围广泛,包括调节炎症、纤维化和细胞凋亡等。HIF-2 α 则主要表达于肾脏间质成纤维细胞和管周内皮细胞,在调控红细胞生成素(erythropoietin, EPO)生成过程中起主导作用。关于 HIF-3 α 的研究相对较少,有研究^[1,3]表明其可能对 HIF-1 α 和 HIF-2 α 有负性调节作用。

1.2 HIF 的调节 参与 HIF 调节的主要机制是针对 HIF- α 的氧依赖性蛋白酶体系。在正常氧浓度状态下,数种脯氨酰羟化酶(prolyl hydroxylase domains, PHDs)可羟化 HIF- α 。所有的 PHDs (PHD1、PHD2 和 PHD3)活化均需氧气、Fe²⁺ 和 2-氧化戊二酸的参与^[4]。羟化的 HIF- α 与由希佩尔-林道蛋白等组成的泛素连接酶复合体结合,进一步多聚泛素化,随后迅速被 26S 蛋白酶体降解。此外,天冬酰胺羟化酶,即 HIF 抑制因子(factor inhibiting HIF, FIH)亦可通过羟化天冬酰胺酸而抑制 HIF 的转录活性。在低氧状态下,PHDs 等活性受抑,HIF- α 因未被羟化而稳定表达,并与 HIF- β 组成二聚体。二聚体转移至细胞核内,进一步激活下游靶基因转录,继而广泛参与多种病理生理过程中,影响着 CKD 的发生发展及转归^[4,5]。

2 HIF 在 CKD 中的作用机制

2.1 HIF 在肾脏纤维化中的作用 肾脏纤维化是 CKD 的标志性病理变化。慢性缺氧已被证实可通过多种信号通路导致肾脏纤维化的发生。HIF 在肾脏纤维化过程中起重要作用^[3,6]。值得注意的是,不同种类肾脏细胞内表达的 HIF 在肾脏纤维化中的调节作用可能各不相同。2008 年 Kimura 等^[7]通过基因敲除技术,敲除肾脏上皮细胞内 VHL 基因,使上皮细胞内 HIF-1 α 稳定表达,结果造成肾脏间质纤维化明显加重。另有体外研究^[8]发现,肾小管上皮细胞在白蛋白负荷刺激下,产生氧化应激,继而抑制 PHDs 活性,HIF-1 α 得以稳定表达,产生促纤维化效应。以上研究提示,肾脏上皮细胞内的 HIF-1 α 活化有加剧肾脏纤维化的作用。此外,Baumann 等^[9]发现敲除足细胞内 HIF-1 α 有减轻肾脏纤维化的作用,而敲除肾脏内皮细胞内 HIF-1 α 基因,则未观察到对单侧输尿管梗阻(unilateral ureteral occlusion, UUO)大鼠模型肾脏纤维化过程中肾功能及各种黏附因子的表达有明显影响^[10]。Kapitsinou 等^[11]发现,抑制整个肾脏内皮细胞体系 HIF(尤其是 HIF-2 α)的表达可使 UUO 模型中肾脏损伤标记物及细胞纤维化标记转化生长因子- β 1(transforming growth factor beta 1, TGF- β 1)的表达显著升高,提示内皮细胞 HIF-2 α 活

化存在肾脏保护效应。关于不同细胞内不同 HIF 亚型对 CKD 的精细调节作用仍需更多的研究来阐明。综合目前的研究^[3,4,6,12]结果,HIF 致肾脏纤维化的机制主要包括以下方面:(1)HIF 活化刺激炎症细胞增殖浸润,促使肾脏纤维化瘢痕形成。(2)与促纤维化相关下游靶基因的低氧反应元件(hypoxia response element, HRE)结合,直接激活靶基因转录,从而使肾脏间质胶原产生增多,ECM 降解减少,ECM 成分逐渐取代正常肾单元结构,导致肾脏纤维化。(3)通过调控上皮-间充质细胞转分化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)调节因子的表达,促使肾小管 EMT 发生。(4)与其他促纤维化信号通路交互作用,进一步调控肾脏纤维化。此外,HIF 在肾脏表观遗传学中的作用及其在肾脏组织浸润细胞中的表达对肾脏纤维化作用仍需进一步研究。

2.2 HIF 在急性肾损伤(acute kidney injury, AKI)转变为 CKD 中的作用 AKI 是一种常见的临床急重症。流行病学研究^[13]发现,有 AKI 病史的患者罹患 CKD 的风险是正常人的 8.8 倍,进展为终末期肾脏病(end-stage renal disease, ESRD)的风险则是正常人的 3.3 倍。AKI 是发生 CKD 的独立危险因素,且 AKI 的严重程度及发生频次与 CKD 发生、发展及预后密切相关^[2,14]。AKI-CKD 转变机制复杂多样,缺氧及 HIF 在其中发挥重要作用。Papazova 等^[15]研究发现大鼠肾脏缺血再灌注(ischemia reperfusion, IR)不久后即发生线粒体呼吸链解偶联及肾脏氧耗增加,导致在出现明显肾脏损伤前就已处于低氧状态。亦有 IR 模型研究^[16]发现,在 AKI 发生 24 h 后 HIF 表达明显下降,但在 AKI 后第 3 天至第 7 天,HIF 表达再次升高,提示在细胞修复及再生过程中,缺氧再次加重。因此,肾脏缺氧不仅发生在 AKI 的急性损伤期,在其恢复期亦持续存在。慢性缺氧持续损伤肾小管上皮细胞,激活成纤维细胞,诱导炎症反应发生,进而导致肾小管间质纤维化。间质纤维化反过来进一步加重缺氧,形成恶性循环,使 AKI 转变为 CKD,且不断推进病情进展^[2]。HIF 可有效减轻 AKI 损伤。其中 PHD/HIF 通路是目前临床研究的热点。Kapitsinou 等^[17]发现,在 AKI 造模前使用 PHD 抑制剂(PHI)使 HIF 稳定表达,可抑制细胞凋亡和炎症反应,显著减轻 AKI 相关肾脏纤维化及贫血,减少其向 CKD 转变的几率。HIF-1 还可通过激活糖酵解酶等基因的转录,促进无氧糖酵解,减少线粒体源性活性氧(reactive oxygen species, ROS)生成,减轻 AKI 相关损伤^[18]。Conde 等^[19]亦利用 IR

动物模型及相关体外实验研究发现,抑制 HIF-1 α 表达会引起以下变化:(1)促进 EMT 发生发展,相关促纤维化因子表达上调,从而使肾脏损伤慢性化。(2)激活核因子- κ B(nuclear factor kappa-B,NF- κ B)通路及诱导炎症因子活化,加剧肾脏炎症反应。(3)使肾小管上皮细胞增生(对 AKI 后小管再生及功能恢复极其重要)及凋亡失衡。同时该作者还发现 HIF-1 α 可靶向下调微小 RNA-127-3p(microRNA-127-3p,miR-127-3p)的表达,从而使后者调控的凋亡相关靶基因 Bcl6 表达上升,参与肾脏损伤。以上变化导致 AKI 后的修复不良,从而导致肾脏长期损害的发生。除 miR-127-3p 外,HIF-1 α 还与多种 miRNAs 存在相互调控关系^[20],如 miR-210、miR-199a 及 miR-20b 等。HIF-1 α 同时亦受到其他蛋白分子调控,有研究^[21]发现,鼠黏蛋白 1(mucin 1,Muc1)可正向调控 IR 损伤时 HIF-1 α 的表达,增加其肾脏保护作用。关于 HIF 在 AKI-CKD 转变过程中的作用机制仍需进一步探讨,尤其是针对人类 AKI-CKD 中不同 HIF 亚型的表达情况及具体调控机制的研究仍不充分。

2.3 HIF 在肾性贫血中的作用 肾性贫血是 CKD 的常见并发症之一。EPO 相对生成不足、铁相对或绝对缺乏、炎症及尿毒症相关毒素是肾性贫血的主要原因。目前临床上其主要的治疗方案是促红细胞生成刺激物(erythropoiesis stimulators,ESAs)联合铁剂(口服或静脉使用),但部分患者对 ESAs 反应欠佳或需要高剂量维持治疗,且患者心血管危险事件的发生率亦与 ESAs 使用剂量相关^[22]。因此,探索肾性贫血新的治疗靶点是亟待解决的问题。已有研究^[23]证明 HIF-2 α 是调节缺氧时 EPO 生成的关键调控因子,其主要通过以下几方面调节 EPO 的生成^[23~28]:(1)与 EPO 基因内特异性调节元件结合,启动肾脏及肝脏内 EPO 基因转录。(2)HIF-2 α 在铁代谢中起关键作用,其可激活编码十二指肠细胞色素 b 还原酶(duodenal cytochrome b reductase,DCYTB)和二价金属转运体(divalent metal transport-1,DMT1)的基因转录,二者在铁摄取转运中起重要作用。HIF-2 α 优化了铁摄取及利用效率,以满足造血的铁需求。(3)缺氧和 HIF-PHD 通路还可直接改变骨髓造血微环境,促使红系祖细胞分化成熟及增生。关于 HIF-1 α 在 EPO 生成中的作用尚无定论。近年来,关于靶向 HIF 治疗肾性贫血的临床研究已有重大突破。由 FibroGen 公司研发的 PHI 罗沙司他(Roxadustat,FG-4592)于 2009 年启动全球多中心临床研究,最终于 2018-12-18 通过国家药品监督管理局审批,在我国

首发上市。一系列临床试验^[22,29,30]均证实,FG-4592 能明显改善肾性贫血,降低血清总胆固醇和铁调素水平,有较高的临床应用价值。但如前所述,HIF 调控的靶基因众多,广泛参与多种生物过程,HIF-PHI 对患者血糖血脂代谢、心血管系统以及对癌症患者癌细胞的影响都需要进一步的临床研究。

3 展望

综上所述,HIF 在 CKD 的发生发展及 CKD 相关并发症中均起重要作用。HIF 作为调节机体氧稳态的关键核转录因子,不仅直接调控靶基因的转录,还与多种信号通路相互作用,共同参与 CKD 的发生发展。PHI 在中国的成功上市,充分证明了研究 HIF 及其相关通路是探索诊疗 CKD 的有效靶点。值得注意的是,已有多项研究证实不同种类肾脏细胞内表达的 HIF 发挥着不同的病理作用,全小球性 HIF 的激活在肾脏纤维化及血管异常形成等过程中的恶化作用亦需引起高度重视。未来的研究应更加细化,重视组织细胞的特异性,尽可能地减少其临床应用时带来的副作用。

参考文献

- 1 李作林.低氧诱导因子在肾脏疾病中的作用研究进展[J].国际泌尿系统杂志,2018,38(3):517-520.
- 2 Tanaka S, Tanaka T, Nangaku M. Hypoxia as a key player in the AKI-to-CKD transition[J]. Am J Physiol Renal Physiol, 2014, 307(11): F1187-F1195.
- 3 Liu J, Wei Q, Guo C, et al. Hypoxia, HIF, and Associated Signaling Networks in Chronic Kidney Disease[J]. Int J Mol Sci, 2017, 18(5):950-967.
- 4 Gunaratnam L, Bonventre JV. HIF in kidney disease and development[J]. J Am Soc Nephrol, 2009, 20(9): 1877-1887.
- 5 Cavadas MA, Nguyen LK, Cheong A. Hypoxia-inducible factor(HIF) network: insights from mathematical models[J]. Cell Commun Signal, 2013, 11(1): 42.
- 6 Liu M, Ning X, Li R, et al. Signalling pathways involved in hypoxia-induced renal fibrosis[J]. J Cell Mol Med, 2017, 21(7): 1248-1259.
- 7 Kimura K, Iwano M, Higgins DF, et al. Stable expression of HIF-1 α in tubular epithelial cells promotes interstitial fibrosis[J]. Am J Physiol Renal Physiol, 2008, 295(4): F1023-F1029.
- 8 Hu J, Wang W, Zhang F, et al. Hypoxia inducible factor-1 α mediates the profibrotic effect of albumin in renal tubular cells[J]. Sci Rep, 2017, 7(1): 15878.
- 9 Baumann B, Hayashida T, Liang X, et al. Hypoxia-inducible factor-1 α promotes glomerulosclerosis and regulates COL1A2 expression through interactions with Smad3[J]. Kidney Int, 2016, 90(4): 797-808.
- 10 Kalucka J, Schley G, Georgescu A, et al. Kidney injury is inde-

- pendent of endothelial HIF-1 α [J]. *J Mol Med (Berl)*, 2015, 93(8): 891–904.
- 11 Kapitsinou PP, Sano H, Michael M, et al. Endothelial HIF-2 mediates protection and recovery from ischemic kidney injury[J]. *J Clin Invest*, 2014, 124(6): 2396–2409.
 - 12 Persson P, Palm F. Hypoxia-inducible factor activation in diabetic kidney disease[J]. *Curr Opin Nephrol Hypertens*, 2017, 26(5): 345–350.
 - 13 Coca SG, Singanamala S, Parikh CR. Chronic kidney disease after acute kidney injury: a systematic review and meta-analysis[J]. *Kidney Int*, 2012, 81(5): 442–448.
 - 14 Thakar CV, Christianson A, Himmelfarb J, et al. Acute kidney injury episodes and chronic kidney disease risk in diabetes mellitus[J]. *Clin J Am Soc Nephrol*, 2011, 6(11): 2567–2572.
 - 15 Papazova DA, Friederich-Persson M, Joles JA, et al. Renal transplantation induces mitochondrial uncoupling, increased kidney oxygen consumption, and decreased kidney oxygen tension[J]. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2015, 308(1): F22–F28.
 - 16 Zhang W, Zhao J, Cao F, et al. Regulatory effect of immunosuppressive agents in mice with renal ischemia reperfusion injury[J]. *Exp Ther Med*, 2018, 16(4): 3584–3588.
 - 17 Kapitsinou PP, Jaffe J, Michael M, et al. Preischemic targeting of HIF prolyl hydroxylation inhibits fibrosis associated with acute kidney injury[J]. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2012, 302(9): F1172–F1179.
 - 18 Layton AT. Recent advances in renal hypoxia: insights from bench experiments and computer simulations[J]. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2016, 311(1): F162–F165.
 - 19 Conde E, Giménez-Moyano S, Martín-Gómez L, et al. HIF-1 α induction during reperfusion avoids maladaptive repair after renal ischemia/reperfusion involving miR127-3p[J]. *Sci Rep*, 2017, 7: 41099.
 - 20 Liu Z, Wang S, Mi QS, et al. MicroRNAs in Pathogenesis of Acute Kidney Injury[J]. *Nephron*, 2016, 134(3): 149–153.
 - 21 Pastor-Soler NM, Sutton TA, Mang HE, et al. Mucl is protective during kidney ischemia-reperfusion injury[J]. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2015, 308(12): F1452–F1462.
 - 22 李作林, 刘必成. 口服 HIF 稳定剂在肾性贫血治疗中的作用[J]. *中华医学杂志*, 2017, 97(34): 2706–2709.
 - 23 Haase VH. Hypoxic regulation of erythropoiesis and iron metabolism[J]. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2010, 299(1): F1–F13.
 - 24 Haase VH. HIF-prolyl hydroxylases as therapeutic targets in erythropoiesis and iron metabolism[J]. *Hemodial Int*, 2017, 21(Suppl 1): S110–S124.
 - 25 Tanaka T, Eckardt KU. HIF Activation Against CVD in CKD: Novel Treatment Opportunities[J]. *Semin Nephrol*, 2018, 38(3): 267–276.
 - 26 Shah YM, Xie L. Hypoxia-inducible factors link iron homeostasis and erythropoiesis[J]. *Gastroenterology*, 2014, 146(3): 630–642.
 - 27 Peet DJ, Kittipassorn T, Wood JP, et al. HIF signalling: The eyes have it[J]. *Exp Cell Res*, 2017, 356(2): 136–140.
 - 28 Chen YJ, Huang BY, Yang CN. Molecular modeling on HIF-2 α -ARNT dimer destabilization caused by R171A and/or V192D mutations in HIF-2 α [J]. *J Mol Graph Model*, 2018, 79: 35–45.
 - 29 Chen N, Qian J, Chen J, et al. Phase 2 studies of oral hypoxia-inducible factor prolyl hydroxylase inhibitor FG-4592 for treatment of anemia in China[J]. *Nephrol Dial Transplant*, 2017, 32(8): 1373–1386.
 - 30 Sanghani NS, Haase VH. Hypoxia-Inducible Factor Activators in Renal Anemia: Current Clinical Experience[J]. *Adv Chronic Kidney Dis*, 2019, 26(4): 253–266.

[收稿日期 2019-01-30][本文编辑 韦颖 潘洪平]