

肿瘤低氧微环境对免疫应答的调控及其与肿瘤的关系

Hypoxia microenvironment on the regulation of immune response and its function in tumor

宋丽君 综述,刘书逊 审阅(第二军医大学 医学免疫学国家重点实验室,上海 200433)

[摘要] 低氧是造血、炎症、免疫应答耐受、组织损伤和肿瘤等过程中普遍存在的一种生理或病理现象。组织中的低氧微环境一方面能招募免疫细胞迁移到低氧组织,另一方面诱导其代谢方式切换为低氧代谢,同时改变其免疫功能。并且,肿瘤组织的低氧状态对天然免疫和适应性免疫具有不同的调控作用。本文着重对哺乳动物细胞的低氧适应机制、低氧对天然免疫和适应性免疫细胞的分化发育、功能调控及其在肿瘤发生发展过程中的作用进行综述,研究和认识肿瘤组织低氧微环境对免疫系统的功能调控也会为肿瘤治疗提供新的策略。

[关键词] 低氧;天然免疫;适应性免疫;炎症;肿瘤

[中图分类号] R730.2

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-385X(2014)02-0220-07

在人和动物组织中,氧浓度是通过细胞、器官以及全身水平的自我稳态来调节的。绝大多数健康组织内氧浓度在 2.5% ~ 9% 之间^[1]。但在炎症或组织病变时,由于血管损坏、细菌或其他病原体的代谢增强、免疫细胞浸润,组织中的氧被大量消耗导致氧浓度低于 1%,形成低氧状态。在天然免疫中作为机体第一道防线的髓系细胞能够在代谢和功能方面很好地适应低氧状态,从而介导炎症反应,增强适应性免疫,并参与组织修复^[1]。相反,在适应性免疫反应中,低氧对淋巴细胞及其诱导的炎症反应起到负向调控的作用,从而保证炎症反应在适度 and 可控的程度内^[1]。除了炎症反应,低氧在造血、肿瘤、自身免疫疾病等生理病理过程中所发挥的作用也越来越受到广泛关注。

1 低氧适应机制

1.1 低氧诱导因子

低氧诱导因子(hypoxia inducing factor, HIF)是哺乳动物的低氧适应机制中目前发现的细胞应对低氧状态的最主要调控分子^[2]。HIF 是 Wang 等^[2]在低氧细胞的细胞核提取物中首次发现的。随后的研究^[3]证实,HIF 是一类受氧浓度调节的转录因子,包括 3 个成员,HIF-1、HIF-2 和 HIF-3,其中 HIF-1 能够在哺乳动物的所有细胞中表达。HIF-1 是由低氧诱导的 HIF-1 α 亚基和组成性表达的 HIF-1 β 亚基组成的异二聚体,两个亚基都是碱基-螺旋-环-螺旋 PAS(basic-helix-loop-helix-PAS, bHLH-PAS)蛋白家族的成员^[4]。从 N-末端至 C-末端,HIF-1 α 包含二聚化和 DNA 结合所必需的 bHLH 和 PAS 结构域

(PAS-A, 和 PAS-B),以及氧依赖性降解结构域(oxygen-dependent degradation domain, ODD)和两个独立的 N 端和 C 端转录激活结构域(N-TAD, 和 C-TAD),这两个转录激活结构域被抑制性结构域(inhibitor domain, ID)和核定位信号(nuclear localization signal, NLS)分开^[4]。此外,HIF-1 α 还包含两个 NLS:N-NLS 和 C-NLS, C-NLS 在 HIF-1 α 的入核过程中发挥着重要作用^[3]。HIF-1 β 亚基的结构与 HIF-1 α 的类似,对 HIF-1 发挥 DNA 结合和转录功能是必须的^[4]。细胞内对 HIF-1 转录活性的调节主要是通过氧浓度依赖的 VHL 对 HIF-1 α 的羟基化修饰完成的^[5]。此外,丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)和磷脂酰肌醇 3-激酶(phosphatidylinositol 3-kinase, PI3K)信号通路均可以通过活化相应的生长因子促进 HIF-1 α 的翻译,进而影响 HIF-1 α 的蛋白水平^[6-7]。

到目前为止,超过 70 余种受 HIF-1 调控的靶基因在各自的转录调控序列中都发现存在低氧反应元件(hypoxic-response element, HRE)^[8]。这些靶基因主要涉及低氧的两个全身反应,一是血管生成和红细胞生成及细胞反应,二是葡萄糖/能量代谢和生长/凋亡^[8]。大量的研究表明,在炎症情况下 HIF-1

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目(No. 31070791)。Project supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 31070791)

[作者简介] 宋丽君(1989 -),女,宁夏回族自治区固原市人,硕士生,主要从事低氧免疫应答与免疫调控及自身免疫疾病的研究。E-mail: Slijun1127@163.com

[通信作者] 刘书逊(Liu Shuxun, corresponding author),E-mail: liusx@immunol.org

信号途径被激活从而激活经典靶基因的转录,如血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, *VEGF*)、促红细胞生成素(erythropoietin, *EPO*)、腺苷受体和葡萄糖载体蛋白(glucose transporter, *GLUT1*)等,促进血管和红细胞的生成、改变细胞内的糖代谢为糖酵解方式,以适应周围环境中的氧浓度。研究^[9]发现, *HIF-1 α* ^{-/-}小鼠的腹腔巨噬细胞和中性粒细胞中 *GLUT1* 和糖酵解酶的表达减少, ATP 水平降低了约 80%, 这种能量产生的缺陷, 影响了细胞的侵袭和杀菌能力。此外, *HIF-1 α* 还能激活如 $\beta 2$ 整合素、趋化因子(如 *CXCL12*)以及趋化因子受体(如 *CXCR4*)等免疫分子的基因转录, 这表明 *HIF-1* 也具有调控免疫应答的作用^[10]。*HIF-1* 还通过调控金属蛋白酶的生成促进癌症的转移^[11]。因此, *HIF-1* 不仅参与正常的生理过程和细胞的分化发育, 还与一些病理状态密切相关, 包括炎症反应、自身免疫性疾病和肿瘤等^[11]。

1.2 低氧与表观遗传

随着对细胞低氧适应机制的深入研究, 表观遗传学在此过程中所发挥的重要作用也逐渐成为热点。表观遗传调控不但直接影响 *HIF-1* 基因的转录表达, 也通过影响 *HIF-1* 靶基因的表观修饰从而影响 *HIF-1* 介导的转录调控^[12]。目前, 表观遗传调控对低氧适应的影响与机制的研究主要表现在以下几个方面:(1) 组蛋白乙酰转移酶 *CBP/p300* 与 *HIF* 直接结合并参与细胞对低氧的适应反应, 低氧条件下组蛋白去乙酰化酶(histone deacetylase, *HDAC*)抑制剂能够通过作用于 *HIF-1 α /p300* 复合物而抑制 *HIF-1 α* 的转录活性^[13]。(2) 组蛋白去甲基化酶直接作用于低氧诱导基因如 *VEGF*、*EPO*、早期生长反应因子 1(early growth response protein 1, *EGRI*)等, 或低氧抑制基因如表面活性物质相关蛋白-A、*AFP* 等, 从而调控低氧适应过程中的转录调控^[14]。目前对这一通路机制的研究发现, 低氧能够激活组蛋白去甲基化酶 *JMJD1A* 但抑制蛋白去甲基化酶 *JARID1A*, 并分别引起低氧诱导基因启动子的 *H3K9me2* 水平降低和 *H3K4me2* 水平增加, 从而诱导其下游基因表达升高; 低氧条件下, ATP 酶 *Reptin* 和 *HIF-1 α* 之间相互作用增强, 引起 *HDAC1* 招募一些 *HIF* 的靶基因并负向调控其转录活化; 低氧还能引起组蛋白甲基化转移酶 *G9a* 的上调进而引起低氧抑制性基因启动子位点 *H3K9me2* 水平的升高, 从而抑制低氧抑制基因的转录表达。目前, 低氧条件诱导的基因组蛋白修饰主要为低氧诱导/抑制基因启动子位点的甲基化和乙酰化状态改变, 但相关研

究和机制还有待深入^[14]。(3) 近年来, 有研究^[14]发现, 染色质重塑复合体 *SWI/SNF* 也在低氧引起的转录反应中起着重要作用, 如在低氧条件下, *SWI/SNF* 复合体成员被招募到 *EPO* 的增强子上, 而这些成员是诱导 *EPO* 的转录翻译所必需的。(4) 除了启动特定靶基因的表达, 低氧还能改变全基因的整体表观修饰水平, *H3* 和 *H4* 的乙酰化和甲基化或 DNA 甲基化对氧浓度极为敏感, 低氧会导致整体 *H3K9* 甲基化水平升高^[15]。

总体来说, 在表观遗传层面上探讨低氧对靶基因的表达的影响及其机制, 为深入理解低氧相关疾病的发病机制提供了新的思路 and 方向, 从而为治疗这些疾病提供新的策略。

1.3 低氧与 microRNA

低氧环境引起转录因子和信号蛋白的改变使得细胞在代谢、增值、DNA 修复及凋亡方面适应低氧环境, 近年来发现, 短链非编码 RNA(microRNA) 能够通过转录后修饰机制调节基因表达来适应细胞低氧状态。越来越多的证据显示, 低氧参与特定低氧相关 microRNA 的转录、成熟及功能调控, 如 *miR-210*、*-155*、*-372/373* 及 *-10b*; 同样, 低氧也选择性地负向调控一些 microRNA 的表达, 如 *miR-20b* 和 *miR-200b*^[16]。因此, 低氧通过对 microRNA 的表达调控, 参与一些疾病的发生发展, 研究^[17]发现, 低氧通过上调 *miR-206* 并靶向 *HIF-1 α /Fhl-1* 信号通路而促进低氧性肺动脉高压的进展; 而 *miR-328* 通过负向调控 L-钙通道 *a1c* 亚基和胰岛素样生长因子 1 受体(insulin-like growth factor 1 receptor, *IGF-1R*)信号通路对低氧性肺动脉高压的血管收缩和重塑具有重要的保护作用^[18]; 在病变表皮和角膜上皮引起的疾病和肿瘤形成中, 低氧诱导 *miR-31* 上调并负向调控 *HIF-1* 抑制因子(factor inhibiting *HIF-1*, *FIH-1*)的表达从而引起 *Notch* 信号通路介导的角质形成细胞分化异常^[19]。对低氧条件下血管上皮细胞的总 mRNA 测序发现, *miR-210* 等有着明显的上调, *miR-210* 逐渐被发现在低氧适应反应中有着重要作用, 并被认为是一个主要的低氧相关 microRNA, 有研究^[20-21]进一步发现, 低氧引起的 *miR-210* 的上调与 *HIF* 信号通路参与心血管疾病和肿瘤的发生发展密切相关。

总而言之, 低氧通过调控相关 microRNA 的转录、成熟及功能, 在低氧相关生理或者病理过程中发挥作用。但目前相关 microRNA 及其调控机制还存在很多未知的问题, 有待于深入研究, 这对未来通过靶向 microRNA 预防和控制低氧相关疾病有着重要的意义。

2 肿瘤低氧微环境对免疫细胞分化发育与功能的影响

2.1 低氧促进天然免疫

2.1.1 巨噬细胞 巨噬细胞是宿主防御病原微生物入侵的第一道屏障,参与急性和慢性炎症的病理过程。研究^[22]表明,在伤口或感染部位组织氧浓度呈现更低水平($<1\%$ 氧气),组织低氧可促进巨噬细胞的组织修复功能,即随着氧分压逐渐下降,巨噬细胞渗透到受损组织,促进肉芽肿和新生血管形成。

低氧对巨噬细胞分化和分布均有影响。最新研究发现,miR-17 和 miR-20a 介导的低氧信号的激活可能是指导外周血单核细胞分化成组织巨噬细胞的一个重要因素,并与巨噬细胞分化过程中的低氧适应密切相关^[23]。而肿瘤组织的低氧微环境,是肿瘤相关巨噬细胞(tumour-associated macrophages, TAM)分化的一个关键因素,其机制可能是低氧通过 HIF-1 促进了肿瘤来源趋化因子尤其是 CCL2 和 CCL5 的分泌,后者招募外周血单核细胞至肿瘤组织,这是促进其进一步分化成为 TAM 的一个前提;并且肿瘤低氧微环境也能诱导 HIF-1 依赖性分子如 CXCR4 的表达,在这些分子的作用下, TAM 往往多分布于肿瘤组织中缺氧、坏死部位^[10]。目前认为 TAM 呈现出替代性活化的巨噬细胞(alternatively activated macrophages, aaMphi)的表型,与肿瘤血管形成和转移密切相关,这提示,通过阻断 HIF-1/CCL2 或 HIF-1/CXCR4 通路而靶向 TAM 有望成为肿瘤治疗的新策略^[10,24]。

2.1.2 中性粒细胞 中性粒细胞是机体清除入侵病原体和介导急性炎症反应的重要细胞类型。它们非常适合在低氧微环境中自然存在,并在炎性病变部位发挥功能^[25]。Walmsley 等^[26]发现,在低氧条件下 HIF-1 α 缺陷的中性粒细胞的抗凋亡效应缺失,表明 HIF-1 是延长低氧条件下中性粒细胞寿命的关键机制^[9]。此外,这种 HIF-1 介导的生存效应也依赖于 NF- κ B 活化导致的巨噬细胞炎性蛋白-1(macrophage inflammatory protein-1, MIP-1)的表达和释放,而 MIP-1 能够抑制中性粒细胞凋亡^[27],并且 HIF-1 依赖 NF- κ B 的这种效应能被 NF- κ B 的抑制剂所逆转^[27],后者进一步促进了肿瘤的发生发展。此外,处于肿瘤低氧微环境中的中性粒细胞能够提高肿瘤细胞的体外侵袭能力和体内转移潜能^[10]。在低氧肿瘤微环境中,中性粒细胞具有影响 M1 和 M2 型巨噬细胞的极化能力^[28]。

2.1.3 髓样抑制细胞 髓样来源抑制细胞(myeloid-derived suppressor cell, MDSC)是由一群异质性

细胞群组成,包括树突状细胞、粒细胞、未成熟巨噬细胞、髓系前体细胞等^[29]。在肿瘤病理情况下,肿瘤组织的低氧微环境使得这些髓系来源的前体细胞成熟受阻,抗凋亡能力增强,最终使得其在肿瘤低氧部位聚集并进一步极化为具有免疫抑制功能的 MDSC^[30]。低氧是影响肿瘤微环境中 MDSC 分化和功能的最重要因素。研究^[31]发现,多种肿瘤细胞分泌的 IL-6、IL-10 及 VEGF 等能诱导 MDSC 内信号传导与转录激活子 3(signal transducer and activator of transcription 3, STAT3)的活化,活化的 STAT3 能进一步激活其下游 HIF-1 α 和抗肿瘤凋亡因子等信号分子的表达,这些分子共同促进肿瘤新生血管的生成和肿瘤细胞侵袭,从而促进肿瘤生长和肿瘤的远处转移。研究^[31]发现,低氧通过 HIF-1 α 明显上调 MDSC 中精氨酸酶 1(arginase1, Arg1)和诱导型一氧化氮合酶(inducible nitric oxide synthetase, iNOS)的表达,还能够使得 MDSC 具有抑制 T 细胞增殖和产生 IFN 的能力,并将脾脏内 MDSC 的抗原特异性抑制转变为非特异性抑制。此外,低氧还能通过 HIF-1 α 促进 MDSC 分化为具有免疫抑制性的 TAM,从而形成更有效的免疫抑制调控^[10,32]。总体而言,低氧对 MDSC 分化的影响不仅明确了肿瘤相关免疫抑制的生物学意义,同时提示在对肿瘤进行干预治疗时还需考虑如何改善肿瘤低氧微环境。

2.1.4 树突状细胞(dendritic cell, DC) DC 是专职抗原递呈细胞,它可以通过感知危险信号参与炎症反应,激活、增强或者调控适应性免疫反应^[33],低氧能够影响其表面的成熟标志、共刺激分子、趋化因子受体的表达及其活化 T 细胞的能力^[33]。有研究^[33]表明,低氧能够抑制 DC 表面成熟标志分子的表达,抑制其抗原提呈功能和活化 T 细胞的能力从而促进 T 细胞分化为 Th2 细胞。低氧还能通过活化 NF- κ B 上调 TNF- α 和 IL-1 β 以及 CCR5 的表达,从而导致 DC 迁移能力增强^[34]。有报道^[35-36]指出,低氧条件下的未成熟 DC 不能捕获抗原,但能够释放更高水平的 CXCL1、VEGF、CCL20、CXCL8 和 CXCL10,而 CCL2 和 CCL18 的表达水平降低,表明低氧能够增强 DC 的促炎反应和促血管生成能力。

2.1.5 NK 细胞 作为固有免疫系统最重要的肿瘤免疫效应细胞, NK 细胞同样在肿瘤微环境中受到低氧因素的调控。最新研究^[37]发现,缺氧不会改变 NK 细胞表面一些识别受体,如 HLA-ABC/-E、ICA/B 和 ULBP1-2 和受体 KIR、NKG2A/C、DNAM-1、NCR 和 2B4 的表达,但会抑制杀伤细胞活化性受体 NKG2D,以及 NK 细胞内穿孔素和颗粒酶 B 的表

达,这表明低氧能够减弱 NK 细胞的杀伤功能。事实上,较早期的研究^[38]业已发现,肿瘤中的低氧或无氧环境可能通过抑制了 NK 细胞活性及杀伤功能促进了肿瘤的恶性增殖;在多发骨髓瘤中,骨髓的缺氧环境会导致 NK 细胞表达活化性 NKG2D 受体降低,分泌穿孔素和颗粒酶 B 的能力减弱,从而引起其杀伤活性降低,而使用 IL-2 刺激 NK 细胞则能逆转低氧对 NK 的抑制效应,NKG2D 受体表达升高,使其在低氧条件下的杀伤活性增强,这也在一定程度上解释了以细胞因子活化 NK 为基础的肿瘤细胞免疫治疗的机制^[37]。

2.2 低氧负向调控适应性免疫

2.2.1 T 淋巴细胞

总体说来,低氧对 T 淋巴细胞的活化具有负向的调控作用。研究^[39]发现,低氧能够通过抑制 TCR 信号和促进细胞凋亡来影响 T 淋巴细胞的功能。HIF-1 α 的组成性活化会导致 TCR 下游的信号通路中钙离子浓度的降低,这表明生理氧分压对 TCR 信号具有独特的调控机制^[40]。HIF-1 α 缺失的 T 淋巴细胞在 TCR 信号活化后会产生比正常 T 淋巴细胞更多的促炎细胞因子^[40]。对调节性 T 细胞(regulatory T cell, Treg)来说,HIF-1 α 的存在是 Treg 细胞发挥最佳功能所必需的,研究^[42]发现,Treg 细胞中 HIF-1 α 缺失会导致内源性的 Treg 细胞功能缺陷进而无法控制肠道炎症。最新研究^[42]数据表明,FOXP3 的亚效等位基因(由 FOXP3 的-GFP 融合蛋白的编码)会减弱其与 HIF-1 α 的相互作用,而加强其与 IRF4 的相互作用,从而使 Treg 细胞功能选择性的丧失。这也提示,可靶向 Treg 中的 HIF-1 α 来消除 Treg 在机体肿瘤免疫中的抑制作用,这在肿瘤治疗领域有可能具有潜在的应用前景。

除了 HIF-1 α ,低氧还可以通过其他机制影响 T 细胞的功能活化。有研究^[43]证实,局部低氧促进腺苷受体的激活及细胞外腺苷的积累,导致细胞内免疫抑制剂 cAMP 的积累并抑制淋巴细胞的活化。此外,低氧状态下的组织巨噬细胞通过增强 iNOS2 和 ARG1 的表达从而抑制 T 淋巴细胞的效应功能^[43]。

2.2.2 B 淋巴细胞

B 淋巴细胞是机体免疫系统中介导体液免疫的主要细胞,研究^[44]发现,B 淋巴细胞的分化发育以及其发挥体液免疫效应的过程中是处于低氧条件下的。有报道^[45]指出,在生发中心(germ center, GC)和大多数 B 淋巴细胞中存在 HIF-1 α 的表达。HIF-1 α 缺失会引起糖酵解异常而引起 B220⁺ B 淋巴细胞发育异常^[46]。HIF1 α ^{-/-}RAG2^{-/-}嵌合体小鼠中 HIF-1 α 的特异性缺失会导致腹膜 B1 淋巴细胞形态异常,高表达 CD45 受体相关蛋白酪氨酸磷酸酶,

从而参与自身免疫性疾病的发生发展以及 B2 骨髓淋巴细胞的成熟异常^[47]。这些证据表明,低氧参与了 B 淋巴细胞的中枢和外周发育过程。

研究^[10,48]证实,在慢性淋巴细胞白血病(chronic lymphocytic leukemia, CLL)患者骨髓标本的白血病细胞中 HIF-1 α 的表达升高,HIF-1 α 能够显著上调 VEGF 的表达并刺激血管新生。另有研究^[48]表明,低氧介导的 CXCR4 的选择性上调是通过正常 B 细胞和恶性非霍奇金 B 细胞淋巴瘤中的 HIF-1 α 来实现的,在长期慢性低氧的条件下,CXCR4 的上调能促使癌细胞不断扩增和转移。因此,对低氧引起 HIF-1 α 的改变,进而引发 VEGF 和 CXCR4 表达水平改变的深入研究,能为 B 细胞淋巴瘤提供新的视角和治疗方案。

3 低氧和肿瘤

低氧以及肿瘤细胞中的 HIF 信号活化在肿瘤生物学中的许多方面扮演着重要的角色,包括肿瘤组织的血管生成、上皮-间质转化、侵袭、转移、遗传不稳定性、永生化和干细胞维持、免疫逃避、代谢、pH 调节和放射治疗耐受等^[50-53]。

研究^[54]发现,人类的大部分癌症及其转移癌中 HIF-1 α 蛋白水平增加,并且 HIF-1 α 在许多类型的原发肿瘤活检中都呈现较高水平,这与癌症死亡率有着密切的正向关系。在人类癌症中 HIF-1 α 水平的提高一般有三种机制。首先,肿瘤内低氧是常见的并且往往是最严重的,正常乳腺组织的 O₂ 分压是 65 mmHg,而乳腺癌瘤内 10 mmHg 的 O₂ 分压会增加患者死亡风险,这一风险独立于肿瘤大小,分期,组织学分型,等级,或淋巴结状态等因素^[54]。其次,肿瘤组织的炎性微环境(如 NO 或 ROS)也会增加 HIF-1 α 的水平^[55]。第三,癌症的特异性遗传改变会导致不依赖 O₂ 的 HIF-1 α 水平的失调^[55]。有研究^[56]发现,透明细胞肾母细胞瘤和小脑血管母细胞瘤中肿瘤抑制蛋白(von Hippel-Lindau tumour suppressor protein, VHL)的功能丧失,从而使 HIF-1 的翻译后修饰受到阻碍,导致其不受控制的升高。

HIF-1 α 水平的提高会导致一些肿瘤抑制基因,如 p53^[56]和磷酸酯酶与张力蛋白同源物(phosphatase and tensin homolog, PTEN)的失活^[10]。HIF-1 α 活性增加还与肿瘤抑制基因 PI4ARF^[57]、TSC2^[58]、PML^[59]、和 LKB1^[60]等的失活相关,这在一定程度上揭示了低氧/HIF-1 α 促进肿瘤进程的致病机制。在另一方面,一些癌基因的活化,如乳腺癌中的 HER2/neu、前列腺癌和肺癌中的 EGFR、慢性粒细胞性白血

病中的融合蛋白 BCR-ABL 等,通过磷脂酰肌醇-3-激酶/AKT/mTOR 的信号转导通路增加 HIF-1 α 蛋白的水平^[61]。许多致癌病毒的蛋白质的转化也会增加 HIF-1 α 的活性,包括劳氏肉瘤病毒、卡波西肉瘤疱疹病毒、B 型肝炎病毒、EB 病毒、和人类乳头瘤病毒^[62]。

低氧微环境和 HIF-1 α 对肿瘤的侵袭和转移有着明显的促进作用,目前的研究主要集中于乳腺癌中。研究^[63-64]发现,HIF-1 α 通过诱导赖氨酰氧化酶 LOX 家族成员对乳腺癌肺部转移灶及其血管内皮细胞的形成有着不可缺少的作用。还有研究^[65]发现,低氧和 HIF-1 α 基因诱导蛋白碳酸酐酶 IX(Carbonic anhydrase IX, CAIX)能够促进低氧条件下乳腺癌细胞的存活,增强其侵袭能力,并促进其肺转移,是乳腺癌转移的一个特异性标志,因此,干扰 CAIX 蛋白的生成将有可能为乳腺癌及其转移瘤的治疗提供新的方向。还有研究^[66]发现,肿瘤转移抑制基因 *p63* 能够诱导转录调节因子 SHARP1 的表达,而 SHARP1 能够通过抑制 HIF-1 α 和 HIF-2 α 基因及 HIF 靶基因的表达,从而发挥其抑制三阴乳腺癌(雌激素受体、孕激素受体及人表皮生长因子受体 2 均阴性的乳腺癌)侵袭和转移的作用。此外,肿瘤低氧微环境还能通过促进 Treg 细胞生成趋化因子 CCL28 而促进肿瘤的免疫耐受和新生血管的生成,进而促进肿瘤的生长^[67]。

综上,HIF-1 活化是许多人类癌症的共同信号通路。在肿瘤研究中,低氧的病理生理作用已经明确,并已证明^[68]在人类癌症中抑制 HIF-1 的功能可以控制肿瘤的恶化,然而针对肿瘤相关炎症免疫反应的治疗依然具有挑战性。

4 展 望

总体而言,低氧可看作是一个免疫系统的双刃剑,一方面能够促进天然免疫的炎性功能而抑制适应性免疫,这种在“骨髓与淋巴”的选择性不同的调节方式是长期进化过程中抵御感染、防止自身免疫过度、维持内环境稳定的一种适应机制,另一方面却加速了肿瘤的进程。因此,如何消除肿瘤低氧因素,以及通过靶向免疫细胞和肿瘤细胞中的低氧机制正在成为人类癌症治疗的一个新方向。尽管如此,组织微环境中的低氧及 HIF-1 参与调节的炎症和免疫反应是非常错综复杂的,针对这些途径的治疗也会更加具有挑战性。

[参 考 文 献]

[1] Pugh CW, Ratcliffe PJ. Regulation of angiogenesis by hypoxia:

Role of the HIF system [J]. Nat Med, 2003, 9(6): 677-684.

- [2] Wang GL, Semenza GL. Characterization of hypoxia-inducible factor 1 and regulation of DNA binding activity by hypoxia [J]. J Biol Chem, 1993, 268(29): 21513-21518.
- [3] Jiang BH, Rue E, Wang GL, et al. Dimerization, DNA binding, and transactivation properties of hypoxia-inducible factor 1 [J]. J Biol Chem, 1996, 271(30): 17771-17778.
- [4] Verheul HM, Salumbides B, Van Erp K, et al. Combination strategy targeting the hypoxia inducible factor-1 alpha with mammalian target of rapamycin and histone deacetylase inhibitors [J]. Clin Cancer Res, 2008, 14(11):3589-3597.
- [5] Semenza GL, Agani F, Booth G, et al. Structural and functional analysis of hypoxia-inducible factor 1 [J]. Kidney Int, 1997, 51(2): 553-555.
- [6] Sheppard K, Kinross KM, Solomon B, et al. Targeting PI3 kinase/AKT/mTOR signaling in cancer [J]. Crit Rev Oncog, 2012, 17(1):69-95.
- [7] Lim D, Roh J, Eom H, et al. Oxidative stress-related PMK-1 P38 MAPK activation as a mechanism for toxicity of silver nanoparticles to reproduction in the nematode *Caenorhabditis elegans* [J]. Environ Toxicol Chem, 2012, 31(3): 585-592.
- [8] Vengellur A, Woods BG, Ryan HE, et al. Gene expression profiling of the hypoxia signaling pathway in hypoxia-inducible factor 1 alpha null mouse embryonic fibroblasts [J]. Gene Expr, 2003, 11(3/4):181-197.
- [9] Cramer T, Yamanishi Y, Nizet V, et al. HIF-1 alpha is essential for myeloid cell-mediated inflammation [J]. Cell, 2003, 112(5): 645-657.
- [10] Conley-LaComb MK, Chen YQ, Kim HRC, et al. Abstract C48: Regulation of expression of CXCL12 and its receptors CXCR4 and CXCR7 by PTEN in prostate cancer [J]. Cancer Res, 2012, 72(4 Supplement): C48-C48.
- [11] Ahluwalia A, S Tarnawski A. Critical role of hypoxia sensor-HIF-1 α in VEGF gene activation. Implications for angiogenesis and tissue injury healing [J]. Curr Med Chem, 2012, 19(1): 90-97.
- [12] Watson JA, Watson CJ, McCann A, et al. Epigenetics: The epicenter of the hypoxic response [J]. Epigenetics, 2010, 5(4): 293-296.
- [13] Bond J, Gale DP, Connor T, et al. Dysregulation of the HIF pathway due to VHL mutation causing severe erythrocytosis and pulmonary arterial hypertension [J]. Blood, 2011, 117(13): 3699-3701.
- [14] Perez-Perri JI, Acevedo JM, Wappner P. Epigenetics: New questions on the response to hypoxia [J]. Int J Mol Sci, 2011, 12(7): 4705-4721.
- [15] Melvin A, Rocha S. Chromatin as an oxygen sensor and active player in the hypoxia response [J]. Cell Signal, 2012, 24(1): 35-43.
- [16] Nallamshetty S, Chan SY, Loscalzo J. Hypoxia: A master regulator of microRNA biogenesis and activity [J]. Free Radical Bio Med, 2013, 64: 20-30.
- [17] Yue J, Guan J, Wang X, et al. MicroRNA-206 is involved in hypoxia-induced pulmonary hypertension through targeting of the HIF-

- 1 α /Fhl-1 pathway [J]. *Lab Invest*, 2013, 93(7): 748-759.
- [18] Guo L, Qiu Z, Wei L, et al. The microRNA-328 regulates hypoxic pulmonary hypertension by targeting at insulin growth factor 1 receptor and L-type calcium channel- α 1C [J]. *Hypertension*, 2012, 59(5):1006-1013.
- [19] Peng H, Kaplan N, Hamanaka RB, et al. microRNA-31/factor-inhibiting hypoxia-inducible factor 1 nexus regulates keratinocyte differentiation [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2012, 109(35): 14030-14034.
- [20] McCormick RI, Blick C, Ragoussis J, et al. miR-210 is a target of hypoxia-inducible factors 1 and 2 in renal cancer, regulates ISCU and correlates with good prognosis [J]. *Brit J Cancer*, 2013, 108(5):1133-1142.
- [21] Grosso S, Doyen J, Parks S K, et al. MiR-210 promotes a hypoxic phenotype and increases radioresistance in human lung cancer cell lines [J]. *Cell Death Dis*, 2013, 4(3):e544.
- [22] Peyssonnaud C, Datta V, Cramer T, et al. HIF-1 α expression regulates the bactericidal capacity of phagocytes [J]. *J Clin Invest*, 2005, 115(7):1806-1815.
- [23] Poitz DM, Augstein A, Gradehand C, et al. Regulation of the Hif-system by micro-RNA 17 and 20a-Role during monocyte-to-macrophage differentiation [J]. *Mol Immunol*, 2013, 56(4):442-451.
- [24] Schmieder A, Michel J, Schönhaar K, et al. Differentiation and gene expression profile of tumor-associated macrophages [C]. *Semin Cancer Biol*, 2012, 22(4):289-297.
- [25] Eltzschig HK, Carmeliet P. Hypoxia and Inflammation [J]. *N Engl J Med*, 2011, 364(7): 656-665.
- [26] Walmsley SR, Cadwallader KA, Chilvers ER. The role of HIF-1 alpha in myeloid cell inflammation [J]. *Trends Immunol*, 2005, 26(8): 434-439.
- [27] Walmsley SR, Print C, Farahi N, et al. Hypoxia-induced neutrophil survival is mediated by HIF-1 alpha-dependent NF-kappaB activity [J]. *J Exp Med*, 2005, 201(1):105-115.
- [28] Rius J, Guma M, Schachtrup C, et al. NF- κ B links innate immunity to the hypoxic response through transcriptional regulation of HIF-1 α [J]. *Nature*, 2008, 453(7196): 807-811.
- [29] Sceneay J, Parker BS, Smyth MJ, et al. Hypoxia-driven immunosuppression contributes to the pre-metastatic niche [J]. *Onco Immunology*, 2013, 2(1): e22355.
- [30] Shi S, Chen L, Huang G. Antiangiogenic therapy improves the antitumor effect of adoptive cell immunotherapy by normalizing tumor vasculature [J]. *Med Oncol*, 2013, 30(4): 1-7.
- [31] Vasquez-Dunddel D, Pan F, Zeng Q, et al. STAT3 regulates arginase- I in myeloid-derived suppressor cells from cancer patients [J]. *J Clin Invest*, 2013, 123(4): 1580-1589.
- [32] Corzo CA, Condamine T, Lu L, et al. HIF-1 α regulates function and differentiation of myeloid-derived suppressor cells in the tumor microenvironment [J]. *J Exp Med*, 2010, 207(11): 2439-2453.
- [33] Mancino A, Schioppa T, Larghi P, et al. Divergent effects of hypoxia on dendritic cell functions [J]. *Blood*, 2008, 112(9): 3723-3734.
- [34] Muller G, Reiterer P, Hopken UE, et al. Role of homeostatic chemokine and sphingosine-1-phosphate receptors in the organization of lymphoid tissue [J]. *Ann N Y Acad Sci*, 2003, 987: 107-116.
- [35] Elia A R, Cappello P, Puppo M, et al. Human dendritic cells differentiated in hypoxia down-modulate antigen uptake and change their chemokine expression profile [J]. *J Leukoc Biol*, 2008, 84(6):1472-1482.
- [36] Bosco MC, Varesio L. Dendritic cell reprogramming by the hypoxic environment [J]. *Immunobiology*, 2012, 217(12):1241-1249.
- [37] Sarkar S, Germeraad WTV, Rouschop KMA, et al. Hypoxia induced impairment of NK cell cytotoxicity against multiple myeloma can be overcome by IL-2 activation of the NK cells [J]. *PloS One*, 2013, 8(5):e64835.
- [38] Loeffler DA, Heppner GH, Juneau PL. Natural killer-cell activity under conditions reflective of tumor micro-environment [J]. *Int J Cancer*, 1991, 48(6): 895-899.
- [39] Sitkovsky M, Lukashev D. Regulation of immune cells by local-tissue oxygen tension: HIF1 alpha and adenosine receptors [J]. *Nat Rev Immunol*, 2005, 5(9): 712-721.
- [40] Lukashev D, Klebanov B, Kojima H, et al. Cutting edge: Hypoxia-inducible factor 1 alpha and its activation-inducible short isoform I . 1 negatively regulate functions of CD4⁺ and CD8⁺ T lymphocytes [J]. *J Immunol*, 2006, 177(8): 4962-4965.
- [41] Clambey ET, McNamee EN, Westrich JA, et al. Hypoxia-inducible factor-1 alpha-dependent induction of Foxp3 drives regulatory T-cell abundance and function during inflammatory hypoxia of the mucosa [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2012, 109(41):E2784-E2793.
- [42] Darce J, Rudra D, Li L, et al. An N-terminal mutation of the Foxp3 transcription factor alleviates arthritis but exacerbates diabetes [J]. *Immunity*, 2012, 36(5): 731-741.
- [43] Lu T, Gabrilovich DI. Molecular pathways: Tumor-infiltrating myeloid cells and reactive oxygen species in regulation of tumor micro-environment [J]. *Clin Cancer Res*, 2012, 18(18):4877-4882.
- [44] Caldwell CC, Kojima H, Lukashev D, et al. Differential effects of physiologically relevant hypoxic conditions on T lymphocyte development and effector functions [J]. *J Immunol*, 2001, 167(11): 6140-6149.
- [45] Bertolotti M, Sitia R, Rubartelli A. On the redox control of B lymphocyte differentiation and function [J]. *Antioxid Redox Sign*, 2012, 16(10): 1139-1149.
- [46] Rankin EB, Wu C, Khatri R, et al. The HIF signaling pathway in osteoblasts directly modulates erythropoiesis through the production of EPO [J]. *Cell*, 2012, 149(1): 63-74.
- [47] Kojima H, Gu H, Nomura S, et al. Abnormal B lymphocyte development and autoimmunity in hypoxia-inducible factor 1 alpha-deficient chimeric mice [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2002, 99(4):2170-2174.
- [48] Tong H, Hu C, Zhuang Z, et al. Hypoxia-inducible factor-1 α expression indicates poor prognosis in myelodysplastic syndromes [J]. *Leuk Lymphoma*, 2012, 53(12): 2412-2418.
- [49] Piovan E, Tosello V, Indraccolo S, et al. Differential regulation of hypoxia-Induced CXCR4 triggering during B-cell development and lymphoma genesis [J]. *Cancer Res*, 2007, 67(18): 8605-8614.
- [50] Meijer TW, Kaanders JH, Span PN, et al. Targeting hypoxia,

HIF-1, and tumor glucose metabolism to improve radiotherapy efficacy [J]. Clin Cancer Res, 2012, 18(20): 5585-5594.

[51] Feig C, Gopinathan A, Neesse A, et al. The pancreas cancer microenvironment [J]. Clin Cancer Res, 2012, 18(16): 4266-7426.

[52] Bilate AM, Lafaille JJ. Induced CD4⁺ Foxp3⁺ regulatory T cells in immune tolerance [J]. Annu Rev Immunol, 2012, 30: 733-758.

[53] Chiche J, Fur YL, Vilmen C, et al. In vivo pH in metabolic-defective Ras-transformed fibroblast tumors: Key role of the monocarboxylate transporter, MCT4, for inducing an alkaline intracellular pH [J]. Int J Cancer, 2012, 130(7):1511-1520.

[54] Ridnour LA, Cheng RYS, Switzer CH, et al. Molecular Pathways: Toll-like receptors in the tumor microenvironment-poor prognosis or new therapeutic opportunity [J]. Clin Cancer Res, 2013, 19(6): 1340-1346.

[55] Gao P, Zhang H, Dinavahi R, et al. HIF-dependent antitumorigenic effect of antioxidants in vivo [J]. Cancer Cell, 2007, 12(3): 230-238.

[56] Ravi R, Mookerjee B, Bhujwalla ZM, et al. Regulation of tumor angiogenesis by p53-induced degradation of hypoxia-inducible factor 1a [J]. Genes Dev, 2000, 14(1): 34-44.

[57] Yin S, Kaluz S, Devi NS, et al. Arylsulfonamide KCN1 inhibits in vivo glioma growth and interferes with HIF signaling by disrupting HIF-1 α interaction with cofactors p300/CBP [J]. Clin Cancer Res, 2012, 18(24): 6623-6633.

[58] Durán RV, MacKenzie ED, Boulahbel H, et al. HIF-independent role of prolyl hydroxylases in the cellular response to amino acids [J]. Oncogene, 2012, 32(38): 4549-4556.

[59] Chen RH, Lee YR, Yuan WC. The role of PML ubiquitination in human malignancies [J]. J Biomed Sci, 2012, 19(1): 81.

[60] Shackelford DB, Abt E, Gerken L, et al. LKB1 inactivation dictates therapeutic response of non-small cell lung cancer to the metabolism drug phenformin [J]. Cancer cell, 2013, 23(2): 143-158.

[61] Shibata Kobayashi S, Yamashita H, Okuma K, et al. Correlation among 16 biological factors [p53, p21waf1, MIB-1 (Ki-67), p16INK4A, cyclin D1, E cadherin, Bcl-2, TNF- α , NF- κ B, TGF- β , MMP-7, COX-2, EGFR, HER2/neu, ER, and HIF-1 α] and clinical outcomes following curative chemoradiation therapy in 10 patients with esophageal squamous cell carcinoma [J]. Oncology Letters, 2013, 5(3): 903-910.

[62] Noch E, Khalili K. Oncogenic viruses and tumor glucose metabolism: Like kids in a candy store [J]. Mol Cancer Ther, 2012, 11(1): 14-23.

[63] Wong CCL, Gilkes DM, Zhang H, et al. Hypoxia-inducible factor 1 is a master regulator of breast cancer metastatic niche formation [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2011, 108(39): 16369-16374.

[64] Semenza GL. Cancer-stromal cell interactions mediated by hypoxia-inducible factors promote angiogenesis, lymphangiogenesis, and metastasis [J]. Oncogene, 2013, 32(35): 4057-4063.

[65] Lou Y, McDonald PC, Oloumi A, et al. Targeting tumor hypoxia: Suppression of breast tumor growth and metastasis by novel carbonic anhydrase IX inhibitors [J]. Cancer Res, 2011, 71(9): 3364-3376.

[66] Montagner M, Enzo E, Forcato M, et al. SHARP1 suppresses breast cancer metastasis by promoting degradation of hypoxia-inducible factors [J]. Nature, 2012, 487(7407): 380-384.

[67] Facciabene A, Peng X, Hagemann IS, et al. Tumour hypoxia promotes tolerance and angiogenesis via CCL28 and Treg cells [J]. Nature, 2011, 475(7355): 226-230.

[68] Semenza GL. Hypoxia-inducible factors: Mediators of cancer progression and targets for cancer therapy [J]. Trends Pharmacol Sci, 2012, 33(4): 207-214.

[收稿日期] 2014-01-30 [修回日期] 2014-03-30
[本文编辑] 黄静怡

• 读者 • 作者 • 编者 •

参考文献题名后须标注文献类型和文献载体标志代码

本刊参考文献按照国家标准 GB/T 7714-2005《文后参考文献著录规则》的要求进行著录。该国家标准要求,每条文献的题名后都须标上[文献类型标志]或[文献类型标志/文献载体标志]。对纸质文献,如为期刊中析出文献,题名后应标上[J];如为专著中析出文献,题名后应标上[M]。对电子文献,如为网络期刊析出文献,题名后须标上[J/OL];如为网络专著中析出文献,题名后须标上[M/OL]。

现把常用的文献类型标志代码和电子文献载体标志代码介绍如下:

表 1 文献类型和文献载体标志代码

文献类型	标志代码	文献类型	标志代码	载体类型	标志代码
期 刊	J	报 纸	N	磁 带	MT
专 著	M	专 利	P	磁 盘	DK
汇 编	G	标 准	S	光 盘	CD
会 议 录	C	数 据 库	DB	联机网络	OL
学 位 论 文	D	计 算 机 程 序	CP		
报 告	R	电 子 公 告	EB		