

· 综述 ·

缺氧诱导因子 1 α 介导椎间盘退变的研究进展[△]

杜立龙^{1,2}, 李浩^{1,2}, 李勇进^{1,2}, 徐宝山^{1,2*}

(1. 天津市天津医院微创脊柱外科, 天津 300211; 2. 天津医科大学研究生院, 天津 300070)

摘要: 腰背痛 (low back pain, LBP) 是骨科最常见的病症, 造成了巨大的社会经济压力。腰椎间盘退变 (intervertebral disc degeneration, IDD) 是导致腰背痛的重要因素, 但其具体机制仍需深入研究。研究认为缺氧诱导因子 1 α (hypoxia inducible factor 1 α , HIF1 α) 广泛参与调控 IDD 的病理过程, 是导致 IDD 发生与发展的重要基因之一。本文对既往文献报道中关于 HIF1 α 在 IDD 中的研究进行归纳分析, 总结 HIF1 α 介导椎间盘退变的研究进展, 重点探讨 HIF1 α 在 IDD 中的潜在作用及机制, 并预测发展趋势。

关键词: 椎间盘退变, 缺氧诱导因子 1 α , 微环境, 发病机制

中图分类号: R318 **文献标志码:** A **文章编号:** 1005-8478 (2022) 12-1097-04

Research progress in hypoxia-inducible factor 1 α mediated intervertebral disc degeneration // DU Li-long^{1,2}, LI Hao^{1,2}, LI Yong-jin^{1,2}, XU Bao-shan^{1,2}. 1. Department of Minimally Invasive Spine Surgery, Tianjin Hospital, Tianjin 300211, China; 2. Postgraduate School, Tianjin Medical University, Tianjin 300070, China

Abstract: Low back pain (LBP) is one of the most common disorders met in orthopaedic practice worldwide, resulting in severe societal burden. It is believed highly associated with progression of intervertebral disc degeneration (IDD), whereas its mechanism still needs to be further studied. In recent years, it has been shown that hypoxia inducible factor 1 α (HIF1 α), one of the important genes leading to the occurrence and development of IDD, is widely involved in regulating the pathological process. In this paper, we review the progress of HIF1 α role in IDD in previous studies, and summarize the potential mechanisms and research trends in focus.

Key words: intervertebral disc degeneration, hypoxia inducible factor 1 α , microenvironment, pathogenesis

腰背痛 (low back pain, LBP) 在 2020 年报道的全球疾病负担、伤害及风险因素研究中被认为是世界范围内导致患者运动功能障碍的主要因素之一, 造成了严重的社会经济负担^[1]。目前研究认为, 腰椎间盘退变 (intervertebral disc degeneration, IDD) 是导致 LBP 重要原因^[2]。椎间盘 (intervertebral disc, IVD) 是无血管的特殊结构, 正常生理状态下处于缺血缺氧的微环境中, 椎间盘微环境稳态平衡是维持椎间盘正常功能的基础。缺氧诱导因子 (hypoxia inducible factor, HIF) 家族成员在维持椎间盘微环境稳态平衡中发挥重要的作用。HIF 家族包括多个成员, 其中 HIF1 α 在各种细胞中广泛表达, 被认为是代谢调控、细胞周期调控、血管生成和肿瘤发生的主要调控因子^[3]。当前 HIF1 α 介导 IDD 已有诸多研究, 但仍需进一步探讨其介导 IDD 的机制。本文对既往文献报

道中关于 HIF1 α 在 IDD 中的研究进行归纳分析, 总结 HIF1 α 介导椎间盘退变的研究进展, 重点探讨 HIF1 α 在 IDD 中的潜在作用及机制, 并预测发展趋势。

1 HIF1 α 在 IDD 中的作用

1.1 HIF1 α 参与细胞外基质 (extracellular matrix, ECM) 代谢

各种原因导致氧气、营养物质以及代谢废物等在椎间隙的交换受阻是 IDD 的重要发病机制。随着 IDD 的进展, 进一步导致氧气、营养物质扩散障碍和代谢产物排出受阻, 加剧 IVD 微环境缺氧。髓核细胞位于无血管缺氧椎间盘的中心, 可能存在适应缺氧环境的复杂机制^[4]。近年来, 诸多研究表明在多种类

DOI:10.3977/j.issn.1005-8478.2022.12.08

[△]基金项目: 国家自然科学基金项目 (编号: 31900967, 82072491)

作者简介: 杜立龙, 主治医师, 研究方向: 椎间盘退变机制及再生修复, (电话) 18722636377, (电子信箱) du3018@163.com

* 通信作者: 徐宝山, (电子信箱) baoshanxu99@tmu.edu.cn

型细胞中缺氧可诱导 HIF1 α 上调, 进而促进 ECM 合成。Yang 等^[5] 将取出的新鲜髓核组织分别在常氧 (21% O₂) 或低氧 (3.5% O₂) 条件下进行体外培养, 结果表明缺氧条件下上调了 HIF1 α 的 mRNA 水平, 促进蛋白聚糖和 II 型胶原的合成, 而常氧条件下对 ECM 的成分产生负面影响。Liu 等^[6] 研究表明, HIF1 α 的过表达导致 NOTCH1、NOTCH1 配体 JAGGED1 及其靶基因 HES1 的表达增加, 同时也上调了人髓核细胞中胶原蛋白和蛋白聚糖的表达, 进而促进 ECM 的合成。Meng 等^[7] 报道称对于 HIF1 α 缺乏的小鼠, 影像学研究显示 IVD 高度降低, MR T2 加权像髓核区域信号强度降低, 并且其髓核细胞大小、细胞数量和蛋白多糖含量均降低。这些研究表明 HIF1 α 可以通过促进 ECM 合成来延缓 IDD。另外, HIF1 α 除了直接调控 ECM 合成外, 在调节基质金属蛋白酶 (matrix metalloproteinases, MMPs) 方面也有重要作用。但既往多项研究表明 HIF1 α 在包括椎间盘退变在内的多种疾病中可正向调控 MMPs 表达, 即当 IDD 发生导致椎间盘微环境缺氧加剧, HIF1 α 高表达, MMPs 表达也上升, 并且高表达的 MMPs 进一步促进 IDD 进展^[8]。综合分析以上两种不同结果, 一方面, 可能是因为不同的物种、组织来源细胞以及细胞培养条件是缺氧影响 ECM 代谢的重要调节因素, 从而使进一步研究 HIF1 α 对 ECM 代谢的机制更加困难。另一方面, 可能是 HIF1 α 调控 ECM 代谢本身就具有两面性, 在疾病不同发展阶段、不同缺氧程度以及不同组织细胞条件下具有不同的主导作用, 进一步明确这些作用机制或许是未来对 HIF1 α 深入了解的重要方向。

1.2 HIF1 α 参与炎症反应

炎症因子水平增加是 IDD 的病理特征^[9], 其促进 ECM 降解和趋化因子的产生, 引起细胞表型改变, 进而导致 IDD 加剧、椎间盘突出和神经根性疼痛^[10]。HIF 可通过调控炎症因子参与炎症反应^[11]。Knight 等^[12] 表明 HIF1 α 调控炎症因子及趋化因子的表达, 并诱导产生诱导型一氧化氮合酶 (inducible nitric oxide synthase, iNOS) 和各种抗菌肽, 从而有助于在体内和体外杀灭微生物。急性和慢性炎症的体内试验表明, 粒细胞和巨噬细胞引起的浸润、水肿和组织破坏依赖于 HIF1 α ^[15]。Walmsley 等^[13] 表明 NF- κ B 信号通路和 HIF 相关通路之间存在复杂的相互作用, 协同诱导并扩大炎症反应, 最终形成炎症级联反应。然而, Li 等^[14] 在脊髓损伤模型中发现 HIF1 α 下调, 且研究表明 HIF1 α 可以减少 TNF- α 、IL-1 β 、

IL-6 和 IL-18 的表达水平, 起到抗炎作用。对于 HIF1 α 在调控炎症反应中的两面性可能与不同的实验条件有关。

1.3 HIF1 α 介导细胞凋亡

细胞凋亡和衰老是 IDD 的基本病理表现, 具有良好活性的髓核细胞是维持椎间盘生理和功能稳定的前提。而目前有大量研究表明 HIF1 α 广泛参与调控髓核细胞生物活性^[15]。Ha 等^[16] 研究发现, 在所有椎间盘退变组中均检测到 HIF1 α 的表达和细胞凋亡, 通过分析发现 HIF1 α 的表达与细胞凋亡之间呈显著正相关。磷酸酶和张力蛋白同源物 (phosphatase and tensin homolog, PTEN) 已被证实参与调控细胞活性^[17]。Zhan 等^[18] 通过体外实验证明, HIF1 α 通过调控髓核细胞中的 miR-325p/PTEN/PI3K/AKT/mTOR 轴抑制细胞增殖, 进而促进凋亡。此外, 由于髓核组织内缺氧, 糖酵解是其主要的供能方式。糖酵解消耗葡萄糖产生乳酸, 从而在髓核内形成酸性高渗环境, 而酸性环境下细胞活性及生理功能的改变可能与酸敏感通道 3 (acid-sensing ion channel 3, ASIC3) 相关^[19]。Wang 等^[20] 通过沉默 HIF1 α 表明, 可显著降低缺氧诱导的 ASIC3 高表达, 而 ASIC3 高表达可抑制细胞增殖, 阻滞细胞周期于 G1 期, 促进细胞凋亡。然而, 也有研究表明 HIF1 α 可发挥抗凋亡作用^[21, 22], 增强细胞适应缺氧环境的能力, 维持髓核细胞在缺氧环境中的活性。BNIP3 作为 HIF1 α 下游的一种靶基因, 它既可以通过线粒体途径诱导髓核细胞凋亡^[23], 也参与诱导线粒体自噬, 增强细胞在不同环境中的适应能力, 起到抗凋亡的作用^[24]。He 等^[25] 也通过体内体外实验验证在缺氧条件下, HIF1 α 可以通过 HIF1 α /BNIP3/ATG7 轴提高细胞自噬水平, 起到抗凋亡的作用。Wu 等^[21] 发现, 敲除小鼠 HIF1 α 后 IVD 中 ECM 成分表达下降, 同时检测出髓核细胞凋亡增多, 推测 HIF1 α 可能对维持髓核组织中 ECM 代谢稳定和细胞活性有重要作用。值得注意的是, 在 HIF1 α 调控细胞凋亡、炎症的过程中都可通过影响细胞的生物活性, 导致髓核细胞数量减少以及 ECM 代谢紊乱, 最终导致 IDD 的发展。因此, 作者猜测 ECM 代谢紊乱是 IDD 的关键机制, 也是 HIF1 α 作用通路中的重要环节, 是 IDD 诊断、治疗的关键靶点。

1.4 HIF1 α 参与非编码 RNA (non-coding RNA, ncRNA) 对 IDD 的调控

越来越多的证据表明 ncRNA, 包括微小 RNA (microRNA, miRNA)、长非编码 RNA (longnon-cod-

ingRNA, lncRNA) 以及环状 RNA (circular RNA, circRNA) 广泛参与疾病的发生与发展^[26]。研究表明多种 ncRNA 与 HIF1 α 之间存在密切关系^[27]。Wang 等^[28] 研究表明 lncRNA-RP11-296A18.3 通过竞争性结合 miR-138 促进 HIF1 α 表达, 进而促进人类髓核细胞的增殖和 ECM 合成。在脊髓损伤的大鼠模型中, Li 等^[14] 发现在加入重组 HIF 蛋白后, 脊髓坏死及水肿明显减轻, 起到明显抗炎作用, 而这一作用被证明受 circRNA0001723/miR-380-3P/NLRP3 调控。Chen 等^[29] 研究表明, 在退变性骨关节炎组织中 circRNA-UBE2G1 和 HIF1 α 的表达水平显著升高, 而 miR-373 的表达下调, 并进一步通过功能检测推测 circRNA-UBE2G1 通过调节 miR-373/HIF1 α 轴促进退变性骨关节炎的进展。此外, circVEGFC、circSLC25A16、circMAT2B、circRNF20 和 circPIP5K1A 等也被证明可以通过 ceRNA 机制调控 HIF1 α 的表达水平^[30-34], 进而参与不同疾病的病理过程。尽管目前 HIF1 α 参与 ncRNA 对 IDD 的调控机制仍不明确, 但通过回顾其在不同疾病中的作用机制, 可以看出 ncRNA 在疾病发生过程中起到重要作用, 且 HIF1 α 可作为其中的关键调控分子。

1.5 HIF1 α 与 IVD 再生修复

细胞移植 (干细胞或分化的细胞) 或生物活性因子移植为治疗 IDD 提供了组织再生修复策略^[35]。然而, 由于退变的椎间盘内缺氧、酸性、营养匮乏的恶劣微环境限制了植入细胞或活性因子的作用发挥^[6]。椎间盘内源性祖细胞能够更好地适应椎间盘恶劣的微环境, 发挥再生修复作用。缺氧诱导因子可通过激活葡萄糖转运蛋白 1 (glucose transporter 1, GLUT-1) 途径调节 IVD 内源性祖细胞的能量代谢, 增加干细胞的数量和分化功能来增强治疗效果^[36]。缺氧状态下, HIF1 α 通过 GLUT 1 通路表达增强, 可促进细胞增殖, 维持髓核细胞的功能表型, 因此, 在缺氧条件下分离和扩增髓核细胞进行细胞移植来修复和重建退变的椎间盘更具有潜力。另外, 由于植入的促增殖生物活性因子可能增加营养消耗进而导致已退变 IVD 微环境的进一步破坏, 因此植入细胞因子抑制剂可能更有效^[6]。脯氨酰羟化酶抑制剂 (prolylhydroxylase inhibitors, PHIs) 药物, 也称为 HIF 激活剂, 可抑制 HIF 因子的降解, 已被证实在肾性贫血和癌症临床治疗中有效^[37, 38]。抑制脯氨酰羟化酶可能提高或稳定髓核细胞中 HIF1 α 的表达, 从而上调退变椎间盘中 HIF 靶基因 (包括 Vegfa、Car12 和 Slc16a3) 的表达, 有望延缓 IDD^[39, 40]。

2 未来与展望

目前临床诊治椎间盘疾病的过程中主要采取影像学检查辅助评估椎间盘、椎体及神经的大体形态, 以判断椎间盘退行性疾病的发生。事实上, 当 IDD 患者有影像学上的阳性表现时, IVD 已经发生了不可逆的病理改变。早期诊断 IDD 并进行干预对椎间盘退变性疾病的治疗至关重要。除影像学检查外, 针对椎间盘内微环境紊乱的检测值得被关注。鉴于本文对 HIF1 α 参与 IDD 的总结分析, 其可参与调控炎症反应、ECM 代谢、细胞凋亡以及组织再生修复等过程, 是调控 IDD 的重要分子, 可能会成为未来 IDD 早期筛查、诊断和治疗重要的指标。

参考文献

- [1] Theo V, Stephen SL, Cristiana A, et al. Global burden of 369 diseases and injuries in 204 countries and territories, 1990–2019: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2019 [J]. *Lancet*, 2020, 396 (10258): 1204–1222.
- [2] Knezevic NN, Candido KD, Vlaeyen JWS, et al. Low back pain [J]. *Lancet*, 2021, 398 (10294): 78–92.
- [3] Silagi ES, Schipani E, Shapiro IM, et al. The role of HIF proteins in maintaining the metabolic health of the intervertebral disc [J]. *Nat Rev Rheumatol*, 2021, 17 (7): 426–439.
- [4] Kim JW, Jeon N, Shin DE, et al. Regeneration in spinal disease: therapeutic role of hypoxia-inducible factor-1 alpha in regeneration of degenerative intervertebral disc [J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22 (10): 5281.
- [5] Yang SH, Hu MH, Lo WY, et al. The influence of oxygen concentration on the extracellular matrix production of human nucleus pulposus cells during isolation–expansion process [J]. *J Biomed Mater Res A*, 2017, 105 (6): 1575–1582.
- [6] Liu Z, Li C, Meng X, et al. Hypoxia-inducible factor-1 α mediates aggrecan and collagen II expression via NOTCH1 signaling in nucleus pulposus cells during intervertebral disc degeneration [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2017, 488 (3): 554–561.
- [7] Meng X, Zhuang L, Wang J, et al. Hypoxia-inducible factor (HIF)-1 α knockout accelerates intervertebral disc degeneration in mice [J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2018, 11 (2): 548–557.
- [8] Wu WP, Jiang JM, Qu DB, et al. Expression of hypoxia-inducible factor-1 α and matrix metalloproteinase-2 in degenerative lumbar intervertebral disc [J]. *Nan Fang Yi Ke Da Xue Xue Bao*, 2010, 30 (5): 1152–1155.
- [9] 杨召, 苑珍珠. 炎性因子在中医药治疗椎间盘退变中的机制研究 [J]. *中国矫形外科杂志*, 2021, 29 (24): 2209–2211.
- [10] Risbud MV, Shapiro IM. Role of cytokines in intervertebral disc degeneration: pain and disc content [J]. *Nat Rev Rheumatol*, 2014,

- 10 (1) : 44–56.
- [11] Balamurugan K. HIF-1 at the crossroads of hypoxia, inflammation, and cancer [J]. *Int J Cancer*, 2016, 138 (5) : 1058–1066.
- [12] Knight M, Stanley S. HIF-1 α as a central mediator of cellular resistance to intracellular pathogens [J]. *Curr Opin Immunol*, 2019, 60 (1) : 111–116.
- [13] Walmsley SR, Print C, Farahi N, et al. Hypoxia-induced neutrophil survival is mediated by HIF-1 α -dependent NF- κ B activity [J]. *J Exp Med*, 2005, 201 (1) : 105–115.
- [14] Li X, Lou X, Xu S, et al. Hypoxia inducible factor-1 (HIF-1 α) reduced inflammation in spinal cord injury via miR-380-3p/ NL-RP3 by Circ 0001723 [J]. *Biol Res*, 2020, 53 (1) : 35.
- [15] Li H, Liang CZ, Chen QX. Regulatory role of hypoxia inducible factor in the biological behavior of nucleus pulposus cells [J]. *Yonsei Med J*, 2013, 54 (4) : 807–812.
- [16] Ha KY, Koh IJ, Kirpalani PA, et al. The expression of hypoxia inducible factor-1 α and apoptosis in herniated discs [J]. *Spine (Phila Pa 1976)*, 2006, 31 (12) : 1309–1313.
- [17] Meng J, Zhang W, Wang C, et al. Catalpol suppresses osteoclastogenesis and attenuates osteoclast-derived bone resorption by modulating PTEN activity [J]. *Biochem Pharmacol*, 2020, 171 : 113715.
- [18] Zhan D, Lin M, Chen J, et al. Hypoxia-inducible factor-1 α regulates PI3K/AKT signaling through microRNA-32-5p/PTEN and affects nucleus pulposus cell proliferation and apoptosis [J]. *Exp Ther Med*, 2021, 21 (6) : 646.
- [19] Schuhmacher LN, Smith ES. Expression of acid-sensing ion channels and selection of reference genes in mouse and naked mole rat [J]. *Mol Brain*, 2016, 9 (1) : 97.
- [20] Wang D, Zhu H, Cheng W, et al. Effects of hypoxia and ASIC3 on nucleus pulposus cells: from cell behavior to molecular mechanism [J]. *Biomed Pharmacother*, 2019, 117 : 109061.
- [21] Wu WJ, Zhang XK, Zheng XF, et al. SHH-dependent knockout of HIF-1 α accelerates the degenerative process in mouse intervertebral disc [J]. *Int J Immunopathol Pharmacol*, 2013, 26 (3) : 601–609.
- [22] Huang S, Leung VY, Long D, et al. Coupling of small leucine-rich proteoglycans to hypoxic survival of a progenitor cell-like subpopulation in Rhesus Macaque intervertebral disc [J]. *Biomaterials*, 2013, 34 (28) : 6548–6558.
- [23] Liu J, Wang J, Zhou Y. Upregulation of BNIP3 and translocation to mitochondria in nutrition deprivation induced apoptosis in nucleus pulposus cells [J]. *Joint Bone Spine*, 2012, 79 (2) : 186–191.
- [24] Zhang H, Bosch-marce M, Shimoda LA, et al. Mitochondrial autophagy is an HIF-1-dependent adaptive metabolic response to hypoxia [J]. *J Biol Chem*, 2008, 283 (16) : 10892–10903.
- [25] He R, Wang Z, Cui M, et al. HIF1A Alleviates compression-induced apoptosis of nucleus pulposus derived stem cells via upregulating autophagy [J]. *Autophagy*, 2021, 17 (11) : 3338–3360.
- [26] He R, Wang Z, Cui M, et al. HIF1A alleviates compression-induced apoptosis of nucleus pulposus derived stem cells via upregulating autophagy [J]. *Autophagy*, 2021, 17 (11) : 3338–3360.
- [27] Serocki M, Bartoszewska S, Janaszak-jasiecka A, et al. miRNAs regulate the HIF switch during hypoxia: a novel therapeutic target [J]. *Angiogenesis*, 2018, 21 (2) : 183–202.
- [28] Wang X, Lu G, Li J, et al. LncRNA-RP11-296A18.3/miR-138/HIF1A pathway regulates the proliferation ECM synthesis of human nucleus pulposus cells (HNPCs) [J]. *J Cell Biochem*, 2017, 118 (12) : 4862–4871.
- [29] Chen G, Liu T, Yu B, et al. CircRNA-UBE2G1 regulates LPS-induced osteoarthritis through miR-373/HIF-1 α axis [J]. *Cell Cycle*, 2020, 19 (13) : 1696–1705.
- [30] Wei H, Cao C, Wei X, et al. Circular RNA circVEGFC accelerates high glucose-induced vascular endothelial cells apoptosis through miR-338-3p/HIF-1 α /VEGFA axis [J]. *Aging*, 2020, 12 (14) : 14365–14375.
- [31] Shang GH, Feng H, Lu D, et al. Circular RNA circSLC25A16 contributes to the glycolysis of non-small-cell lung cancer through epigenetic modification [J]. *Cell Death Dis*, 2020, 11 (6) : 437.
- [32] Liu J, Liu H, Zeng Q, et al. Circular RNA circ-MAT2B facilitates glycolysis and growth of gastric cancer through regulating the miR-515-5p/HIF-1 α axis [J]. *Cancer Cell Int*, 2020, 20 (1) : 171.
- [33] Cao L, Wang M, Dong Y, et al. Circular RNA circRNF20 promotes breast cancer tumorigenesis and Warburg effect through miR-487a/HIF-1 α /HK2 [J]. *Cell Death Dis*, 2020, 11 (2) : 145.
- [34] Chi Y, Luo Q, Song Y, et al. Circular RNA circPIP5K1A promotes non-small cell lung cancer proliferation and metastasis through miR-600/HIF-1 α regulation [J]. *J Cell Biochem*, 2019, 120 (11) : 19019–19030.
- [35] 王宇翔, 徐海栋, 赵建宁. 细胞移植治疗椎间盘退变的研究进展 [J]. *中国矫形外科杂志*, 2021, 29 (11) : 1009–1012.
- [36] Huang Z, Zhang L, Feng X, et al. A new in vivo method to retard progression of intervertebral disc degeneration through stimulation of endogenous stem cells with simvastatin [J]. *Med Hypotheses*, 2017, 101 (1) : 65–66.
- [37] Koury MJ, Haase VH. Anaemia in kidney disease: harnessing hypoxia responses for therapy [J]. *Nat Rev Nephrol*, 2015, 11 (7) : 394–410.
- [38] Haase VH. Therapeutic targeting of the HIF oxygen-sensing pathway: lessons learned from clinical studies [J]. *Exp Cell Res*, 2017, 356 (2) : 160–165.
- [39] Fujita N, Chiba K, Shapiro IM, et al. HIF-1 α and HIF-2 α degradation is differentially regulated in nucleus pulposus cells of the intervertebral disc [J]. *J Bone Miner Res*, 2012, 27 (2) : 401–412.
- [40] Schoepflin ZR, Shapiro IM, Risbud MV. Class I and IIa HDACs mediate HIF-1 α stability through PHD2-dependent mechanism, while HDAC6, a Class IIb member, promotes HIF-1 α transcriptional activity in nucleus pulposus cells of the intervertebral disc [J]. *J Bone Miner Res*, 2016, 31 (6) : 1287–1299.

(收稿:2021-09-01 修回:2021-12-20)

(同行评议专家: 刘少喻)

(本文编辑: 宁桦)