

## . 综 述 .

HIF-1 $\alpha$ 及其下游基因 VEGF-A 和 MMP-9 在血管源性脑水肿中的作用机制

王 超 综述 丰育功 审校

【关键词】血管源性脑水肿;缺氧诱导因子 1- $\alpha$ ;血管内皮生长因子-A;基质金属蛋白酶-9

【文章编号】1009-153X(2021)09-0732-03 【文献标志码】A 【中国图书资料分类号】R 742; Q 786

脑水肿是多种神经病变出现的严重并发症,是导致病人死亡的常见原因<sup>[1]</sup>。传统的脑水肿分类包括血管源性脑水肿、细胞毒性脑水肿、流体静压性脑积水、低渗性脑水肿、间质性脑水肿,其中血管源性脑水肿在多种脑损伤所致的脑水肿中占重要地位。缺氧诱导因子 1- $\alpha$ (hypoxia inducible factor-1 $\alpha$ , HIF-1 $\alpha$ )、血管内皮生长因子-A (vascular endothelial growth factor-A, VEGF-A)、基质金属蛋白酶-9(matrix metalloproteinase-9, MMP-9)在血脑屏障(blood-brain barrier, BBB)的破坏和血管源性脑水肿的形成中起着关键作用。本文就 HIF-1 $\alpha$ 、VEGF-A、MMP-9 在血管源性脑水肿中的作用机制进行综述。

1 HIF-1 $\alpha$ 与血管源性脑水肿的关系

HIF 也被称为芳烃受体核转运蛋白,由两个基本螺旋-环-螺旋家族的蛋白亚基组成:一个是氧调节的 $\alpha$ 亚基,另一个是氧独立的 $\beta$ 亚基<sup>[2]</sup>。HIF 的 $\alpha$ 亚基有三个亚型,在脑缺血缺氧性损伤中表达最广泛并占功能主导地位的是 HIF-1 $\alpha$ 。在常氧状态下, HIF-1 $\alpha$  亚基被脯氨酰 4-羟化酶(prolyl 4-hydroxylase, PHD)和缺氧诱导因子抑制因子(hypoxia inducible factor inhibitor, FIH)羟基化,使其对希佩尔林道肿瘤抑制蛋白的结合敏感,并导致 E3 连接酶的募集,然后使 HIF-1 $\alpha$  亚基被泛素依赖性蛋白酶体降解,失去生理活性。在缺氧状态下,PHD 和 FIH 活性受到抑制,使 HIF-1 $\alpha$  免于被酶解,从而保

持稳定。HIF-1 $\alpha$  数量增加,并进入细胞核与 HIF-1 $\beta$  结合,形成异二聚体。这种异二聚体最终与缺氧反应元件结合形成转录复合物,调控转录多种下游基因<sup>[3]</sup>。Benita 等<sup>[4]</sup>报道 HIF-1 $\alpha$  调节缺氧时 81 种基因表达,其中包括涉及血管生成、血管渗透性、糖酵解、线粒体功能和细胞存活和凋亡的多种基因。

HIF-1 $\alpha$  具有双峰表达模式和功能双向性。在大鼠大脑中动脉闭塞模型中, HIF-1 $\alpha$  的 mRNA 和蛋白质从缺血性卒中发作时开始增加,在大脑中动脉闭塞后 6 h 达到峰值,并逐渐降低直至 24 h,在 72 h 观察到第二个峰值,而后逐渐降低<sup>[5]</sup>。在初始峰值期, HIF-1 $\alpha$  调节一系列下游基因,使疾病恶化。VEGF 和 MMP-9 加重 BBB 破坏,增加血管通透性;纤溶酶原激活物抑制剂通过靶向 t-PA 延迟再灌注,从而恶化脑损伤,并增加脑血管通透性<sup>[5]</sup>。在 HIF-1 $\alpha$  活化的第二阶段,与血管生成有关的基因表达显著增多,促进缺血半暗带的再灌注,减轻脑水肿。Yeh 等<sup>[6]</sup>发现在脑缺血后 0.5 h 应用 HIF-1 $\alpha$  抑制剂可减轻脑损伤,减轻脑水肿和减少凋亡细胞的数量;而在缺血后 12 h 应用,则增加神经元损伤和脑水肿。Vangeison 等<sup>[7]</sup>对其功能双向性解释为细胞特异性双重性质:在星形胶质细胞内 HIF-1 $\alpha$  功能的选择性丧失,可以提供缺氧后神经保护功能;而神经元 HIF-1 $\alpha$  功能的选择性丧失,则导致神经元损伤。HIF-1 $\alpha$  的功能可能取决于特定类型细胞下游基因编码蛋白质功能。此外,还有研究认为 HIF-1 $\alpha$  的双重作用与缺氧程度有关,在轻度缺氧时,产生缺氧耐受性,发挥促进血管生成、抑制神经细胞凋亡、促进红细胞增殖等作用;重度缺氧时,则诱导 BBB 破坏、促进炎症反应、诱导神经细胞凋亡,具有神经毒性作用<sup>[8]</sup>。

## 2 VEGF-A 与血管源性脑水肿的关系

VEGF 参与调节血管生成、神经保护、神经发

doi:10.13798/j.issn.1009-153X.2021.09.028

基金项目:国家自然科学基金(81870914)

作者单位:266000 山东青岛,青岛大学附属医院神经外科(王 超、丰育功)

通讯作者:丰育功, E-mail: fengyugongqdu@163.com

生。研究发现 VEGF-A 在血管内皮的调节中具有双重作用,即功能双向性<sup>[9]</sup>,在脑缺血性损伤早期,VEGF-A 通过破坏 BBB 增加血管通透性,导致血管源性脑水肿,增加颅内压;在脑缺血性损伤后期,VEGF-A 可以刺激内皮细胞的增殖和迁移,促进新血管的形成,从而形成更有效的侧支循环,挽救缺血半暗带组织,发挥具有神经保护和神经发生作用。Zhang 等<sup>[10]</sup>发现,在大鼠局灶性脑栓塞模型中早期缺血后(1 h),静脉内输注 VEGF 显著增加 BBB 的渗漏、出血性转化和脑缺血性病变;而在缺血晚期(48 h) VEGF 可增强缺血半暗带血管生成,显著改善神经功能。

脑缺血性损伤后,VEGF-A 及其主要受体胎肝激酶-1 在缺血核心及半影区域内的星形胶质细胞、神经元和血管内皮细胞表达显著增加。在 VEGF 早期所致的 BBB 破坏中,Src 途径起至关重要的作用。当 VEGF-A 与其受体 VEGFR-2 结合后,Src 激酶活化,使血管内皮细胞间的间隙连接蛋白-43 磷酸化,阻断内皮细胞间的间隙连接通讯;通过 Src 依赖性途径改变紧密连接蛋白-1 和闭合蛋白的磷酸化来破坏内皮细胞间的紧密连接<sup>[11]</sup>。因此,Src 信号传导可以提供新的治疗靶标,用于减轻由 VEGF 导致血管通透性增高造成的脑水肿。在脑缺血后期,VEGF 则可以激活 VEGFR-2/PI3K/Akt 途径促进血管内皮细胞迁移,诱导血管生成<sup>[9]</sup>。

3 MMP-9 与血管源性脑水肿的关系

MMP 是锌和钙依赖性内肽酶家族。在正常生理状态下,MMP 参与各种生理过程中细胞外基质的分解,如血管生成、细胞迁移,并且与神经系统中的学习记忆有关。在病理状态下,MMP-9 表达增强与多种并发症相关,包括 BBB 的破坏、血管源性脑水肿、出血性转化、神经元损伤、神经细胞凋亡等<sup>[12]</sup>。

MMP-9 的细胞来源主要为中性粒细胞、神经胶质细胞、内皮细胞和神经元<sup>[13]</sup>。缺血早期,在缺血核心脑组织,浸润的中性粒细胞和胶质细胞释放 MMP-9,作用于基底膜成分,降解Ⅳ型明胶原、层粘连蛋白和纤粘连蛋白,导致基底膜破坏;还通过降解闭合蛋白、紧密连接蛋白,破坏内皮细胞间紧密连接,使 BBB 破坏,血管内液体渗漏造成血管源性脑水肿,并增加出血性转化的风险。在缺血后期,恢复血流后,缺血半暗带内的胶质细胞、内皮细胞和神经元可以以低水平释放 MMP 和其他蛋白酶,以重塑基底膜并恢复内皮细胞间接触,从而促进血管生成以重

建 BBB。MMP-9 在脑卒中作为治疗靶标时,因其不同时期的双重作用决定了给药时间窗口的不同会导致其预后不同。Gu 等<sup>[14]</sup>在缺血再灌注后 2 h 对小鼠应用 MMP-9 特异性抑制剂发现层粘连蛋白降解减少,BBB 破坏减轻,脑水含量减少。Zhao 等<sup>[15]</sup>在大鼠中风后 7 d 用 MMP 抑制剂可抑制神经血管重塑,增加缺血性脑损伤。

4 HIF-1α 与 VEGF-A 和 MMP-9 的相互作用

在多种病理损伤后,脑组织早期表达增加的 HIF-1α、VEGF-A、MMP-9 共同导致 BBB 的破坏和血管源性脑水肿。最近的研究发现,三者之间存在着一定的转录调控关系。在缺氧条件下,HIF-1α 可以直接调控包括 VEGF-A 和 MMP-9 在内的多种下游基因。Liu 等<sup>[5]</sup>在大鼠大脑中动脉闭塞模型中应用 miR-335 导致 HIF-1α 蛋白水平降低,并发现 VEGF-A、MMP-9、Angpt-2 基因的表达水平降低。由于这些基因没有 miR-335 的结合位点,因此这些基因的表达是通过 miR-335 调节 HIF-1α 引起的间接效应。

在缺氧期,HIF-1α 在 VEGF-A 的表达中具有重要作用。HIF-1 作用于 VEGF-A 转录起始位点的 5' 端第 985~939 碱基对的碱基序列。HIF-1α 具有双峰表达模式和双重作用。Zan 等<sup>[16]</sup>发现 VEGF-A 也具有双峰表达模式:在缺血再灌注后 6 h,VEGF-A 达到第一个峰值,在 12 h 恢复正常,然后在第 7 天达到第二个峰值,并在两周内恢复正常水平;并且 VEGF 的双重作用与 HIF-1α 的细胞特异性双重性质相一致。除了 HIF-1α 对 VEGF-A 的直接调控外,HIF-1α 调控的下游基因对 VEGF-A 也有间接调节作用。促红细胞生成素作为 HIF-1α 的下游基因,其表达上调可以增加脑 VEGF 表达和 VEGFR-2 的磷酸化,不过其作用主要在脑损伤后期,可以诱导与神经保护相关的途径,包括血管生成、细胞增殖和神经发生。

MMP-9 为 HIF-1α 下游基因。在脑缺血缺氧性损伤后,受到 HIF-1α 的调控,并具有双峰表达模式。Higashida 等<sup>[17]</sup>发现,在脑损伤模型中,应用 HIF-1α 抑制剂后,MMP-9 表达显著下降,并且层粘连蛋白、闭合蛋白、紧密连接蛋白-1 水平显著升高。但 HIF-1α 对 MMP-9 的直接调控作用仍需要进一步研究。有研究报道称多种炎性细胞因子如白细胞介素-20、白细胞介素-1β 受 HIF-1 调节,而白细胞介素-1β 和肿瘤坏死因子-α 参与 MMP-9 的调控,因此,HIF-1α 可能通过其介导的炎症反应间接调控 MMP-9 的表达。

此外,有研究发现,缺氧时,Müller细胞分泌的VEGF增加内皮细胞MMP的活性,早期VEGF抑制通过调节MMP的表达减弱缺血性大鼠BBB的破坏<sup>[18]</sup>。VEGF/MMP途径在孕激素对延迟t-PA治疗诱导的出血性转化的保护作用中起重要作用<sup>[19]</sup>。因此,HIF-1 $\alpha$ 与VEGF-A和MMP-9的相互作用在BBB损伤以及血管源性脑水肿的形成中起着重要的作用。

综上所述,HIF-1 $\alpha$ 、VEGF-A、MMP-9在血管源性脑水肿中具有双峰表达模式及功能双向性,在脑损伤早期促进BBB破坏和血管源性脑水肿的形成,在脑损伤后期则有利于血管生成、神经保护。它们在脑损伤后的双重作用导致了不同时间窗给药将导致不同的预后,因此,详细了解其双峰表达模式下的作用机制、相互关系及其细胞特异性,有助于针对其原理开发新的治疗靶标、确定合适的给药时间窗以及给药途径,减轻脑损伤后脑水肿,改善病人预后。

#### 【参考文献】

- [1] Halstead MR, Geocadin RG. The medical management of cerebral edema: past, present, and future therapies [J]. *Neurotherapeutics*, 2019, 16(4): 1133-1148.
- [2] McGettrick AF, O'Neill LAJ. The role of hif in immunity and inflammation [J]. *Cell Metab*, 2020, 32(4): 524-536.
- [3] Singh A, Wilson JW, Schofield CJ, *et al.* Hypoxia-inducible factor (hif) prolyl hydroxylase inhibitors induce autophagy and have a protective effect in an in-vitro ischaemia model [J]. *Sci Rep*, 2020, 10(1): 1597.
- [4] Benita Y, Kikuchi H, Smith AD, *et al.* An integrative genomics approach identifies hypoxia inducible factor-1 (hif-1)-target genes that form the core response to hypoxia [J]. *Nucleic Acids Res*, 2009, 37(14): 4587-4602.
- [5] Liu FJ, Kaur P, Karolina DS, *et al.* Mir-335 regulates hif-1 alpha to reduce cell death in both mouse cell line and rat ischemic models [J]. *PLoS One*, 2015, 10(6): e0128432.
- [6] Yeh SH, Ou LC, Gean PW, *et al.* Selective inhibition of early--but not late--expressed hif-1alpha is neuroprotective in rats after focal ischemic brain damage [J]. *Brain Pathol*, 2011, 21(3): 249-262.
- [7] Vangeison G, Carr D, Federoff HJ, *et al.* The good, the bad, and the cell type-specific roles of hypoxia inducible factor-1 alpha in neurons and astrocytes [J]. *J Neurosci*, 2008, 28(8): 1988-1993.
- [8] Singh N, Sharma G, Mishra V. Hypoxia inducible factor-1: its potential role in cerebral ischemia [J]. *Cell Mol Neurobiol*, 2012, 32(4): 491-507.
- [9] Geiseler SJ, Morland C. The janus face of vegf in stroke [J]. *Int J Mol Sci*, 2018, 19(5): 1362.
- [10] Zhang ZG, Zhang L, Jiang Q, *et al.* Vegf enhances angiogenesis and promotes blood-brain barrier leakage in the ischemic brain [J]. *J Clin Invest*, 2000, 106(7): 829-838.
- [11] Yang GL, Zhao Z, Qin TT, *et al.* Tnfsf15 inhibits vegf-stimulated vascular hyperpermeability by inducing vegfr2 dephosphorylation [J]. *FASEB J*, 2017, 31(5): 2001-2012.
- [12] Misra S, Montaner J, Ramiro L, *et al.* Blood biomarkers for the diagnosis and differentiation of stroke: a systematic review and meta-analysis [J]. *Int J Stroke*, 2020, 15(7): 704-721.
- [13] Turner RJ, Sharp FR. Implications of mmp9 for blood brain barrier disruption and hemorrhagic transformation following ischemic stroke [J]. *Front Cell Neurosci*, 2016, 10(56): 1-13.
- [14] Gu Z, Cui J, Brown S, *et al.* A highly specific inhibitor of matrix metalloproteinase-9 rescues laminin from proteolysis and neurons from apoptosis in transient focal cerebral ischemia [J]. *J Neurosci*, 2005, 25(27): 6401-6408.
- [15] Zhao BQ, Wang S, Kim HY, *et al.* Role of matrix metalloproteinases in delayed cortical responses after stroke [J]. *Nat Med*, 2006, 12(4): 441-445.
- [16] Zan L, Zhang X, Xi Y, *et al.* Src regulates angiogenic factors and vascular permeability after focal cerebral ischemia-reperfusion [J]. *Neuroscience*, 2014, 262: 118-128.
- [17] Higashida T, Kreipke CW, Rafols JA, *et al.* The role of hypoxia-inducible factor-1alpha, aquaporin-4, and matrix metalloproteinase-9 in blood-brain barrier disruption and brain edema after traumatic brain injury [J]. *J Neurosurg*, 2011, 114(1): 92-101.
- [18] Zhang HT, Zhang P, Gao Y, *et al.* Early vegf inhibition attenuates blood-brain barrier disruption in ischemic rat brains by regulating the expression of mmms [J]. *Mol Med Rep*, 2017, 15(1): 57-64.
- [19] Won S, Lee JH, Wali B, *et al.* Progesterone attenuates hemorrhagic transformation after delayed tpa treatment in an experimental model of stroke in rats: involvement of the vegf-mmp pathway [J]. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2014, 34(1): 72-80.

(2019-08-05 收稿, 2021-08-22 修回)