

• 肺动脉高压专题研究 •

低氧性肺动脉高压中缺氧诱导因子 1 α 调节机制的研究进展扫描二维码
查看更多

郭畅, 丁超伟, 袁雅冬

【摘要】 低氧性肺动脉高压 (HPH) 常见于多种慢性缺氧性肺疾病, 其确切的发病机制并不清楚, 但缺氧引起的肺血管收缩和慢性血管重塑被认为是HPH的两个重要致病过程。缺氧诱导因子 (HIF) 是机体氧稳态的主要调节因子, 其可参与调节细胞的能量代谢、金属离子转运、细胞增殖及凋亡过程, 进而在HPH的血管重塑过程中发挥重要作用, 但目前HPH中HIF的调节机制尚不清楚。本文主要综述了HPH中HIF-1 α 的调节机制 (HIF-1 α 的翻译后修饰) 及相关调控通路, 以为HPH的治疗提供新的思路。

【关键词】 肺动脉高压; 低氧性肺动脉高压; 低氧诱导因子1 α ; 翻译后修饰; Hippo信号通路

【中图分类号】 R 541.5 **【文献标识码】** A DOI: 10.12114/j.issn.1008-5971.2023.00.125

Research Progress on the Regulatory Mechanism of HIF-1 α in Hypoxic Pulmonary Hypertension GUO Chang, DING Chaowei, YUAN Yadong

Department of Respiratory and Critical Care Medicine, the Second Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang 050000, China

Corresponding author: YUAN Yadong, E-mail: yuanyd1108@163.com

【Abstract】 Hypoxic pulmonary hypertension (HPH) is common in a variety of chronic hypoxic pulmonary diseases. The exact mechanism is not clear, but hypoxic-induced pulmonary vasoconstriction and chronic pulmonary vascular remodeling are considered to be two important pathogenic processes of HPH. Hypoxia inducible factor (HIF) is the main regulator of oxygen homeostasis in the body. It can participate in the regulation of cell energy metabolism, metal ion transport, cell proliferation and apoptosis, and then play an important role in the process of vascular remodeling in HPH. However, the regulatory mechanism of HIF in HPH is still unclear. This article reviews the regulatory mechanism of HIF-1 α in HPH (post-translational modification of HIF-1 α) and its related regulatory pathways, in order to provide new ideas for the treatment of HPH.

【Key words】 Pulmonary hypertension; Hypoxic pulmonary hypertension; Hypoxia-inducible factor-1 α ; Post-translational modifications; Hippo signaling pathway

低氧性肺动脉高压 (hypoxic pulmonary hypertension, HPH) 包括低氧性肺血管收缩 (hypoxic pulmonary vasoconstriction, HPV) 和低氧性肺血管重塑两个阶段^[1], 其中HPV是肺血管系统的稳态调节机制, 肺泡缺氧后, 机体通过收缩肺内动脉而将血液转运至氧合更好的肺段, 从而优化该肺段通气/血流灌注比例, 增加肺的氧合功能^[2]。研究表明, 在缺氧状态下, 激活毛细血管前肺动脉平滑肌细胞 (pulmonary artery smooth muscle cells, PASMCs) 的信号传导机制对HPV至关重要, 而血管细胞主要通过缺氧诱导因子 (hypoxia-inducible factor, HIF) 的氧依赖性转录因子活性而适应慢性缺氧情况^[3]。研究表明, HIF-1 α 的翻译后修饰如泛素化/去泛素化、羟基化、乙酰化、磷酸化、小泛素相关修饰物 (small ubiquitin-related modifier, SUMO) 化可影响其

稳定性及活性, 细胞增殖相关通路如PI3K/AKT/mTOR信号通路和Hippo信号通路具有调控HIF-1 α 的作用^[4]。有证据表明, 干预HIF-1 α 上游调控因子活性或HIF-1 α 特异性抑制剂是一种有吸引力的肿瘤治疗策略^[5]。本文主要综述了HPH中HIF-1 α 的调节机制 (HIF-1 α 的翻译后修饰) 及其相关调控通路, 以为HPH的治疗提供新的思路。

1 HIF简介

研究表明, HIF介导的信号传导可维持氧稳态, 其可在转录水平调控多个缺氧反应基因的表达^[6]。HIF有HIF-1、HIF-2、HIF-3共3个家族成员, 其中HIF-1 β 表达不受缺氧影响, HIF-1 α 主要受氧浓度调控^[7]。在缺氧条件下, HIF-1 α 被转运至细胞核并与HIF-1 β 形成二聚体, 从而激活下游靶基因如内皮素1、葡萄糖转运蛋白1、Bcl-2/腺病毒E1B 19kD相互作用蛋白3、血管内皮生长因子 (vascular endothelial growth factor, VEGF) 等的表达^[3], 而这些下游靶基因蛋白可调控肺血管细胞代谢和增殖、血管张力和血管生成等肺动脉高压 (pulmonary hypertension, PH) 发生的关键过程。

基金项目: 河北省重点研发计划项目 (21377701D)

作者单位: 050000河北省石家庄市, 河北医科大学第二医院呼吸与危重症医学二科

通信作者: 袁雅冬, E-mail: yuanyd1108@163.com

2 HPH中HIF-1 α 的翻译后修饰

2.1 羟基化 脯氨酰羟基化及天冬酰胺残基羟基化是调节细胞内HIF-1 α 稳定性和转录活性的关键步骤。脯氨酰羟基化酶 (prolyl hydroxylase domain-containing enzymes, PHD) 包含PHD1、PHD2、PHD3 3个家族成员, 其中PHD2起主要作用^[8], 其能羟基化HIF-1 α 的氧依赖性降解结构域 (oxygen-dependent degradation domain, ODDD) 中的2个脯氨酸残基 (Pro402和Pro564), 使其更易被泛素化, 这个过程决定了细胞内HIF-1 α 的稳定性^[9]。

缺氧诱导因子抑制因子1 (factor inhibiting HIF-1, FIH-1) 是调控HIF-1 α 转录活性的另一个关键蛋白, 正常氧浓度下, FIH-1可催化HIF-1 α 天冬酰胺残基羟基化, 进而抑制HIF-1 α 的转录活性^[10]。研究表明, 由于FIH-1较PHD对氧气的米氏常数低, 故轻度下调氧气浓度即可使PHD失去活性, 而明显下调氧气浓度后才能降低FIH-1活性, 因此FIH-1较PHD对HIF-1 α 的调控作用更精细^[11]。

HIF-1 α 的翻译羟基化修饰可参与HPH的发生发展过程, 如ELAMAA等^[12]研究发现, PHD/HIF-1 α 途径可参与PH的形成, 人类肺组织内皮细胞和动脉平滑肌细胞中PHD2表达缺失可增加肺动脉收缩压, 进而导致右心室压力升高; 低氧条件下, miRNA-17/miRNA-20a表达上调, 而靶向抑制PHD2可增加HIF-1 α 的稳定性, 从而促进HPH肺血管重构^[13]。此外, PHD2/HIF-1 α 也在内皮细胞中作用于糖酵解酶6-磷酸果糖-2-激酶/果糖-2, 6-双磷酸酶3, 从而增强右心室在缺氧状态下的适应性^[14]。

综上, 激活PHD2并抑制内皮细胞中HIF-1 α 的表达可成为HPH的潜在治疗方法。

2.2 泛素化/去泛素化 泛素-蛋白酶体途径是分解HIF-1 α 最重要的一种手段, 其中泛素存在于大部分真核细胞中, 且以单体或肽链形式附着在目标蛋白上, 进而发挥生物学作用。泛素化过程需要三种酶, 即泛素激活酶 (E1酶)、泛素结合酶 (E2酶)、泛素蛋白连接酶 (E3酶), 其中泛素分子经过E1酶、E2酶的激活和转移后, 被E3酶结合至底物蛋白的赖氨酸残基上, 进而使底物蛋白被26S蛋白酶体识别并降解^[15]。泛素化过程可以被去泛素化酶 (deubiquitinases, DUB) 所逆转, 其机制主要为: DUB主要通过水解泛素羧基末端的酯键、肽键或异肽键而将泛素分子特异性地从底物蛋白上水解下来^[16]。研究表明, 在PH发展过程中, 机体存在多种泛素-蛋白酶体系相关蛋白功能紊乱^[17], 其中包括调控细胞内HIF-1 α 稳态的泛素/去泛素蛋白功能异常, 而靶向HIF-1 α 蛋白代谢是HPH治疗的新方向。

2.2.1 VHL蛋白 VHL蛋白是一种经典的具有抑癌作用的E3酶, 其与elongins B、elongins C、cullin2及Rbx-1构成elongin B/C-cullin2-VHL E3酶复合体, 进而靶向识别、介导底物蛋白降解。VHL蛋白是HIF-1 α 最重要的E3酶, VHL蛋白途径是HIF-1 α 最主要的泛素降解途径。在常氧状态下, VHL蛋白可快速识别并结合被PHD羟基化的HIF-1 α , 进而使HIF-1 α 维持在较低水平^[18]。而在缺氧肺动脉内皮细胞 (pulmonary arterial endothelial cells, PAECs) 和PASCs中, HIF-1 α 的

羟基化和VHL蛋白途径受到抑制, HIF-1 α 的 $t_{1/2}$ 明显延长, 作为核心转录因子, 其可调控下游蛋白表达, 进而使细胞转向增殖表型。目前, 针对VHL综合征的HIF-2 α 抑制剂——Belzutifan已用于肾癌患者的治疗中^[19], 而HIF-1 α 作为VHL明确的下游靶点, 干预VHL/HIF-1 α 途径可促进HIF-1 α 降解, 进而可能成为HPH的治疗靶点。

2.2.2 Siah Siah是一类高度保守的RING家族E3酶, 人类基因组包含Siah1、Siah2、Siah3 3个基因^[20]。研究表明, 细胞中PHD的稳定性和丰度由Siah1/Siah2调节, 缺氧状态下Siah活性增加, 导致PHD的泛素化水平降低和HIF-1 α 羟基化减弱, 使HIF-1 α 逃脱VHL蛋白的识别和降解^[21]。目前研究表明, HPH患者肺小动脉壁中Siah1/Siah2表达增高, PHD水平下降, Siah可能通过降低PHD稳定性而抑制HIF-1 α 的羟基化, 进而参与PH相关HIF通路的调节^[22]。笔者推测, 抑制Siah表达可能间接调控HIF-1 α , 进而逆转HPH中的肺血管重塑。

2.2.3 Hsc70相互作用蛋白 (carboxyl terminus of Hsc70-interacting protein, CHIP) CHIP是一种与分子伴侣蛋白功能密切相关的E3酶, 其主要包含3个功能结构域: 一个TPR结构域位于氨基端, 负责与热休克蛋白Hsp90和热休克结合蛋白Hsc70结合; 一个U-box结构域位于碳末端, 主要负责与降解底物结合, 从而维持E3酶的功能; 中间的二聚体结构域含有入核信号, 可能主要负责CHIP的细胞内定位。研究表明, 在短期极度缺氧条件下, CHIP可以与HIF-1 α 直接结合, 使HIF-1 α 发生泛素化修饰, 从而被蛋白酶体识别并降解^[23]; 而在人脐带血间充质干细胞中过度表达miRNA-21可以通过靶向CHIP、增强HIF-1 α 活性而促进严重缺血肢体的新生血管形成^[24]。有研究者在HPH模型大鼠的PASCs中发现, CHIP表达升高, 而使用小干扰RNA (small interfering RNA, siRNA) 敲低CHIP后, PASCs中的钙离子浓度降低, 缺氧诱导的PASCs过度增殖被逆转^[25]。但CHIP作为E3酶, 维持细胞正常功能时需要依赖热休克蛋白来完成对错误折叠蛋白质的泛素化降解。而CHIP在HPH中能否成为低氧条件下HIF-1 α 新的降解机制值得进一步研究。

2.2.4 USP28 USP28是去泛素化水解酶家族中最新的抗肿瘤分子靶标, 其通过控制细胞内癌蛋白MYC和促癌蛋白LSD1的稳定性而在癌症的发生发展过程中发挥作用^[26]。在恶性肿瘤血管生成过程中, USP28可以拮抗糖原合酶激酶3和肿瘤抑制因子FBW7通过VHL非依赖途径降解HIF-1 α ^[27]。研究发现, USP28在低氧PASCs中呈过表达, miRNA-92b-3p与USP28的3'-UTR结合可减缓低氧诱导的PASCs过度增殖^[28]。此外, USP28过表达还可以升高HIF-1 α 水平及控制HIF-1 α 的转录活性, 而靶向抑制USP28表达可避免干扰HIF-1 α 降解, 对HPH起到治疗作用。

2.2.5 USP7 USP7是去泛素化酶USP家族成员, 其泛素酶活性可调节多种靶蛋白表达, 进而参与细胞有丝分裂、细胞凋亡、细胞周期、DNA复制、神经元发育和表观遗传调控过程^[29]。研究表明, 在多种肿瘤细胞系 (如肺癌H1299、前列腺癌PC3、头颈癌SAS、肾脏肿瘤293T、乳腺癌MDA-MB-231细胞) 中USP7表达上调, 而去泛素化HIF-1 α 可导致HIF-1 α

靶基因启动子上CBP介导的组蛋白3赖氨酸56乙酰化,进而促进癌细胞增殖及转移^[30]。在经血小板源生长因子(platelet-derived growth factor, PDGF)处理的PASCs中,USP7表达上调,其通过去泛素化鼠双微粒体蛋白2、促进叉头框蛋白O4泛素化降解、增加细胞周期蛋白D1的表达而介导PDGF诱导的PASCs增殖,而转染siRNA抑制USP7表达可逆转PASCs的过度增殖^[31],提示USP7可能是参与PASCs异常增殖的潜在因子,或可成为HPH的治疗靶点。

2.3 乙酰化 乙酰化过程主要是赖氨酸乙酰转移酶(lysine acetyl transferase, KATs)将乙酰基从乙酰辅酶A转移到赖氨酸的 ϵ -氨基侧链,该过程是可逆的,而乙酰化动态平衡可参与调控蛋白质-蛋白质或蛋白质/DNA的相互作用。目前,绝大部分KATs归为GCN5、p300和MYST19家族。

研究发现,乙酰化的HIF-1 α 易被VHL蛋白泛素化降解,而乙酰转移酶可对HIF-1 α 的ODDD中的第532位赖氨酸进行乙酰化,与VHL蛋白紧密结合,进而使HIF-1 α 泛素化降解;而当HIF-1 α 的ODDD中的第532位赖氨酸突变为精氨酸时,HIF-1 α 不易经上述途径进行泛素化降解^[32]。在PH中,蛋白乙酰化可参与多种致病基因的转录翻译调节,且与肺血管重构过程中的细胞增殖、炎症密切相关。有PH动物模型和PASCs体外实验证实,在PH中I类和II类Zn²⁺依赖性去乙酰化酶(histone deacetylases, HDACs)表达上调、活性增强,而III类HDACs表达降低、活性减弱^[33]。上述异常表达的去乙酰化酶参与了PH肺血管中PASCs、PAECs、成纤维细胞的异常增殖及细胞基质异常沉积、上皮-间质转化、炎症反应等,进而使肺血管重塑,引发PH。在肿瘤研究领域,去乙酰化酶抑制剂是一种新的化疗药物,其可增加组蛋白乙酰化,保证HIF-1 α 乙酰化后使VHL蛋白对HIF-1 α 具有更好的敏感性,进而加快HIF-1 α 的降解^[34]。

综上,PH与肿瘤的主要病理生理机制相同,故这种调控HIF-1 α 的机制可以成为治疗HPH的新思路。

2.4 磷酸化 磷酸化是一种常见且被充分研究的翻译后修饰途径。蛋白质磷酸化是由蛋白质激酶将三磷酸腺苷(adenosine triphosphate, ATP)的磷酸基转移到底物蛋白质氨基酸残基的过程,或在信号作用下结合三磷酸鸟苷;而去磷酸化过程则与其相反,去除蛋白质相应的磷酸基^[35]。

LEI等^[36]研究发现,PH患者肺组织中ERK1/2水平升高,肺组织中磷酸化HIF-1 α 水平较对照者升高1.46倍,分析原因可能如下:ERK磷酸化HIF-1 α 后,破坏了HIF-1 α 两个具有转录功能的结构域之间的抑制区,使HIF-1 α 具有更强的转录活性,进而加重肺血管重构。此外,M2型丙酮酸激酶、血管紧张素转换酶2磷酸化均与PH的发病机制有关^[37-38]。因此,干预HIF-1 α 磷酸化过程可能作为HPH的治疗方法。

2.5 SUMO化 SUMO化是继泛素-蛋白酶体修饰途径后的又一HIF-1 α 的翻译修饰途径,类似泛素化。SUMO蛋白属于泛素样蛋白,由SUMO1、SUMO2、SUMO3、SUMO4和SUMO5组成,其中SUMO2和SUMO3具有高度同源性(约97%),常被统称为SUMO2/3,二者无法通过特异性抗体进行区分;SUMO1、SUMO2、SUMO3在组织中普遍表达,SUMO4、

SUMO5通常在特异性组织中表达^[39-40]。

SUMO化是SUMO蛋白与靶蛋白赖氨酸残基的共价连接。在高等真核细胞中,至少存在3种SUMO蛋白(SUMO1、SUMO2、SUMO3)和6种SUMO特异性蛋白酶(SUMO-specific proteases, SENP)(SENP1、SENP2、SENP3、SENP5、SENP6、SENP7)。SUMO化修饰需要3步酶联反应:第一步,无活性的SUMO前体经SENP作用后变成成熟,在ATP参与下与E1酶连接;第二步,进行转酯反应并与E2酶(Ubc9)相连,结合至目标蛋白,尽管Ubc9能够识别并与靶蛋白结合,但在某些情况下需要E3酶识别底物;第三步,在E3酶的帮助下,结合到底物。同泛素化类似,SUMO化也是动态可逆的,去SUMO化酶可以使SUMO分子与底物蛋白分离,然后重新进入SUMO化循环。目前,HIF-1 α 亚基被确认是SUMO-1的底物,低氧使SUMO-1的mRNA和蛋白质表达增加,SUMO-1和HIF-1 α 共同定位于细胞核内,SUMO化修饰后的HIF-1 α 的稳定性和转录活性增加,SENP1在缺氧期间可调节HIF-1 α 的稳定性,且不通过脯氨酸羟甲基化促进HIF-1 α 与泛素连接酶VHL蛋白的结合,导致其泛素化和降解;此外,SUMO化也可以作为泛素依赖性降解的直接信号^[41]。ZHOU等^[42]研究发现,SENP-1通过启动HIF-1 α 的去SUMO化并增加其下游VEGF的表达,进而增强PASCs的增殖能力。JIANG等^[43]研究发现,大鼠HPH模型经缺氧刺激后,其SUMO-1 mRNA转录水平和蛋白质表达水平均升高,且该研究通过免疫共沉淀试验证明了SUMO-1和HIF-1 α 之间存在直接和特异性的相互作用,SUMO-1在HPH中可以通过SUMO化而上调HIF-1 α 的表达。

综上,低表达SENP-1或去SUMO化诱导HIF-1 α 降解可能是HPH的治疗方法。

2.6 其他 蛋白激酶C受体1(receptor for activated C kinase 1, RACK1)是WD40重复蛋白家族成员,其与G蛋白的 β 亚基具有高度同源性。RACK1具有7叶螺旋桨结构,可结合来自不同转导通路的信号分子,进而发挥多功能的接头蛋白作用,包括病毒感染、神经系统发育、细胞迁移、血管生成等^[44],是O₂/PHD/VHL非依赖性HIF-1 α 调控机制的重要组成部分。近期研究发现,RACK1过表达可抑制PASCs增殖,而siRNA干扰可促进PASCs明显增殖,RACK1可通过与热休克蛋白HSP90竞争和Elongin-C/B泛素连接酶复合物的募集来调节HIF-1 α 的稳定性^[45]。提示Hsp90可保护HIF-1 α 的稳定性,Hsp70会增强CHIP对HIF-1 α 的修饰作用,加速HIF-1 α 降解。

综上,RACK1可间接导致HIF-1 α 降解增多,其是PASCs增殖的新负调节因子,但其他热休克蛋白(如Hsp70)是否调控HIF-1 α 有待进一步探究。

3 调控HIF-1 α 影响HPH的相关通路

3.1 PI3K/Akt/mTOR信号通路 PI3K/Akt/mTOR是细胞内的重要信号通路,其中PI3K是由调节亚基p85和催化亚基p110构成的二聚体,其在质膜上生成第二信使后可活化丝氨酸/苏氨酸激酶Akt,然后激活其下游的mTOR^[46],进而诱导细胞增殖及内皮细胞分化,抑制细胞凋亡^[47],诱导新生血管形成^[48]。PI3K/AKT/mTOR信号通路通过增加HIF-1 α 蛋白合成或抑制HIF-1 α 降解而促进HIF-1 α 的表达及稳定,而抑制

PI3K/Akt/mTOR信号通路可抑制HIF-1 α 表达和HIF-1 α 靶基因的转录^[49]。

PI3K/Akt/mTOR信号通路可通过多种途径参与HPH的发展,包括肺动脉血管壁内皮细胞、平滑肌细胞、成纤维细胞及各细胞组分间的相互作用^[50-51]。其中PI3K/AKT/mTOR/HIF-1 α 信号通路对PH的影响可通过沃伯格效应促进PASCs增殖^[52],影响PH进展。而PI3K/Akt/mTOR/HIF-1 α 信号通路抑制剂(如PI3K抑制剂Wortmannin和LY294002, mTORC1抑制剂坦西莫斯、依维莫司和雷帕霉素等)可能为HPH提供新的治疗思路。

3.2 Hippo信号通路 Hippo信号通路最先在果蝇体内被发现,其是一条抑制细胞生长的信号通路,在哺乳动物中具有高度保守性^[53]。Hippo信号通路先由哺乳动物STE20样激酶1/2和接头蛋白支架蛋白Salvador同源物1形成一种可磷酸化和激活大型肿瘤抑制因子1/2(large tumor suppressor kinase, LATS1/2)的复合物。研究表明,LATS1/2激酶磷酸化可激活Hippo信号通路的两个主要下游效应分子YAP和TAZ,进而调控细胞生长、增殖、存活、迁移、分化等^[54]。

Hippo信号通路可参与HPH的多个发展环节,如参与调控细胞外基质的硬度变化、维持PAECs和PASCs的增殖和迁移^[55-56];而过表达下游因子YAP或TAZ可有效降低环氧化酶2和前列腺素水平,进而影响肺血管重塑^[57-58];YAP可以通过增强HIF-1 α 的稳定性而维持HIF-1 α 功能,从而触发细胞增殖等活动^[59]。内皮细胞过表达YAP可与HIF-1 α 结合并升高其转录活性,促进小鼠下肢缺血后动脉细胞增殖^[60]。综上所述,Hippo信号通路可作为HPH的治疗靶点。

4 小结与展望

目前,临床尚未发现治疗HPH的有效方法,而通过抑制肺血管增殖和激活抗增殖机制而抑制肺血管重塑可能是HPH的治疗重点。多项研究发现,在HPH动物模型中给予HIF-1 α 多途径抑制剂可逆转HPH^[7],如拓扑替康阻断HIF-1 α 的翻译^[61],而塞拉霉素A、2-甲氧基雌二醇和地高辛减少HIF-1 α 蛋白质合成^[62-65]。此外,茛菪素和抗CD146单克隆抗体AA98改变了HIF-1 α 调节通路中的特定信号分子^[66-67]。HIF-1 α 可通过多种途径参与HPH的调控,故干扰HIF-1 α 表达可成为治疗HPH的新思路。

作者贡献:郭畅、丁超伟、袁雅冬进行文章的构思与设计;郭畅进行文章可行性分析,撰写、修订论文;郭畅、丁超伟进行文献资料收集和整理;袁雅冬负责文章的质量控制及审校,并对文章整体负责、监督管理。

本文无利益冲突。

参考文献

[1] CHAI T C, QIU C, XIAN Z H, et al. A narrative review of research advances in hypoxic pulmonary hypertension [J]. *Ann Transl Med*, 2022, 10 (4): 230. DOI: 10.21037/atm-22-259.

[2] GRIMMER B, KRAUSZMAN A, HU X D, et al. Pannexin 1: a novel regulator of acute hypoxic pulmonary vasoconstriction [J]. *Cardiovasc Res*, 2022, 118 (11): 2535-2547. DOI: 10.1093/cvr/cvab326.

[3] PULLAMSETTI S S, MAMAZHAKYPOV A, WEISSMANN N, et al. Hypoxia-inducible factor signaling in pulmonary hypertension [J]. *J Clin Invest*, 2020, 130 (11): 5638-5651. DOI: 10.1172/JCI137558.

[4] LUO J Y, SUN P B, ZHANG X, et al. Canagliflozin modulates hypoxia-induced metastasis, angiogenesis and glycolysis by decreasing HIF-1 α protein synthesis via AKT/mTOR pathway [J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22 (24): 13336. DOI: 10.3390/ijms222413336.

[5] MASOUD G N, LI W. HIF-1 α pathway: role, regulation and intervention for cancer therapy [J]. *Acta Pharm Sin B*, 2015, 5 (5): 378-389. DOI: 10.1016/j.apsb.2015.05.007.

[6] CHOUDHRY H, HARRIS A L. Advances in hypoxia-inducible factor biology [J]. *Cell Metab*, 2018, 27 (2): 281-298. DOI: 10.1016/j.cmet.2017.10.005.

[7] ZEIDAN E M, HOSSAIN M A, EL-DALY M, et al. Mitochondrial regulation of the hypoxia-inducible factor in the development of pulmonary hypertension [J]. *J Clin Med*, 2022, 11 (17): 5219. DOI: 10.3390/jcm11175219.

[8] GAETE D, RODRIGUEZ D, WATTS D, et al. HIF-prolyl hydroxylase domain proteins (PHDs) in cancer-potential targets for anti-tumor therapy? [J]. *Cancers (Basel)*, 2021, 13 (5): 998. DOI: 10.3390/cancers13050988.

[9] ALBANESE A, DALY L A, MENNERICH D, et al. The role of hypoxia-inducible factor post-translational modifications in regulating its localisation, stability, and activity [J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 22 (1): 268. DOI: 10.3390/ijms22010268.

[10] PUGH C W. Modulation of the hypoxic response [J]. *Adv Exp Med Biol*, 2016, 903: 259-271. DOI: 10.1007/978-1-4899-7678-9_18.

[11] SONG B, MODJEWSKI L D, KAPUST N, et al. The origin and distribution of the main oxygen sensing mechanism across metazoans [J]. *Front Physiol*, 2022, 13: 977391. DOI: 10.3389/fphys.2022.977391.

[12] ELAMAA H, KAAKINEN M, NÄTYNKI M, et al. PHD2 deletion in endothelial or arterial smooth muscle cells reveals vascular cell type-specific responses in pulmonary hypertension and fibrosis [J]. *Angiogenesis*, 2022, 25 (2): 259-274. DOI: 10.1007/s10456-021-09828-z.

[13] ZANG H B, ZHANG Q Y, LI X D. Non-coding rna networks in pulmonary hypertension [J]. *Front Genet*, 2021, 12: 703860. DOI: 10.3389/fgene.2021.703860.

[14] KASSA B, KUMAR R, MICKAEL C, et al. Endothelial cell PHD2-HIF1 α -PFKFB3 contributes to right ventricle vascular adaptation in pulmonary hypertension [J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2021, 321 (4): L675-685. DOI: 10.1152/ajplung.00351.2020.

[15] QIU M, CHEN J M, LI X H, et al. Intersection of the ubiquitin-proteasome system with oxidative stress in cardiovascular disease [J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23 (20): 12197. DOI: 10.3390/ijms232012197.

[16] ZHOU Z, SONG X, KANG R, et al. The emerging role of deubiquitinases in cell death [J]. *Biomolecules*, 2022, 12 (12): 1825. DOI: 10.3390/biom12121825.

- [17] 丁超伟, 郭畅, 袁雅冬. 泛素-蛋白酶体系在肺动脉高压中的研究进展 [J]. 实用心脑血管病杂志, 2022, 30 (11): 18-25. DOI: 10.12114/j.issn.1008-5971.2022.00.247.
- [18] YANG G, SHI R, ZHANG Q. Hypoxia and oxygen-sensing signaling in gene regulation and cancer progression [J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21 (21): 8162. DOI: 10.3390/ijms21218162.
- [19] First HIF-2 antagonist for VHL tumors [J]. *Nat Biotechnol*, 2021, 39 (9): 1032. DOI: 10.1038/s41587-021-01063-7.
- [20] YE P, CHI X X, CHA J H, et al. Potential of E3 ubiquitin ligases in cancer immunity: opportunities and challenges [J]. *Cells*, 2021, 10 (12): 3309. DOI: 10.3390/cells10123309.
- [21] XU D Z, LI C. Regulation of the SIAH2-HIF-1 axis by protein kinases and its implication in cancer therapy [J]. *Front Cell Dev Biol*, 2021, 9: 646687. DOI: 10.3389/fcell.2021.646687.
- [22] 潘坤, 戴爱国, 张泽明, 等. Siah2负调控脯氨酰羟化酶3表达在大鼠低氧性肺动脉高压中的意义 [J]. 中国老年学杂志, 2016, 36 (23): 5805-5807. DOI: 10.3969/j.issn.1005-9202.2016.23.014.
- [23] KUMAR S, BASU M, GHOSH M K. Chaperone-assisted E3 ligase CHIP: a double agent in cancer [J]. *Genes Dis*, 2021, 9 (6): 1521-1555. DOI: 10.1016/j.gendis.2021.08.003.
- [24] ZHOU Y, ZHU Y M, ZHANG L, et al. Human stem cells overexpressing miR-21 promote angiogenesis in critical limb ischemia by targeting CHIP to enhance HIF-1 α activity [J]. *Stem Cells*, 2016, 34 (4): 924-934. DOI: 10.1002/stem.2321.
- [25] DONG F, ZHANG J. Carboxyl terminus of Hsc70-interacting protein (CHIP) promotes pulmonary artery smooth muscle cell (PASMC) proliferation via enhancement of intracellular Ca²⁺ concentration ([Ca²⁺]_i) [J]. *Exp Lung Res*, 2020, 46 (9): 332-340. DOI: 10.1080/01902148.2020.1781296.
- [26] WANG H, MENG Q, DING Y L, et al. USP28 and USP25 are downregulated by Vismodegib in vitro and in colorectal cancer cell lines [J]. *FEBS J*, 2021, 288 (4): 1325-1342. DOI: 10.1111/febs.15461.
- [27] FLÜGEL D, GÖRLACH A, KIETZMANN T. GSK-3 β regulates cell growth, migration, and angiogenesis via Fbw7 and USP28-dependent degradation of HIF-1 α [J]. *Blood*, 2012, 119 (5): 1292-1301. DOI: 10.1182/blood-2011-08-375014.
- [28] HAO X, MA C, CHEN S, et al. Reverse the down regulation of miR-92b-3p by hypoxia can suppress the proliferation of pulmonary artery smooth muscle cells by targeting USP28 [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2018, 503 (4): 3064-3077. DOI: 10.1016/j.bbrc.2018.08.095.
- [29] 薛进华, 叶超, 毛露, 等. 活性氧引起缺氧诱导因子1活化参与肺动脉高压血管重塑的分子机制 [J]. 心血管病学进展, 2020, 41 (8): 844-846. DOI: 10.16806/j.cnki.issn.1004-3934.2020.08.015.
- [30] WU H T, KUO Y C, HUNG J J, et al. K63-polyubiquitinated HAUSP deubiquitinates HIF-1 α and dictates H3K56 acetylation promoting hypoxia-induced tumour progression [J]. *Nat Commun*, 2016, 7: 13644. DOI: 10.1038/ncomms13644.
- [31] ZHU Y T, ZHANG Q Q, YAN X, et al. Ubiquitin-specific protease 7 mediates platelet-derived growth factor-induced pulmonary arterial smooth muscle cells proliferation [J]. *Pulm Circ*, 2021, 11 (4): 20458940211046131. DOI: 10.1177/20458940211046131.
- [32] 王静, 戴爱国. 多种翻译后修饰对低氧诱导因子-1 α 稳定性调控的机制 [J]. 中国生物化学与分子生物学报, 2011, 27 (10): 914-919. DOI: 10.13865/j.cnki.cjmb.2011.10.010.
- [33] CHELLADURAI P, BOUCHERAT O, STENMARK K, et al. Targeting histone acetylation in pulmonary hypertension and right ventricular hypertrophy [J]. *Br J Pharmacol*, 2021, 178 (1): 54-71. DOI: 10.1111/bph.14932.
- [34] BOUCHERAT O, CHABOT S, PAULIN R, et al. HDAC6: a novel histone deacetylase implicated in pulmonary arterial hypertension [J]. *Sci Rep*, 2017, 7 (1): 4546. DOI: 10.1038/s41598-017-04874-4.
- [35] LIU M X, GALLI G, WANG Y L, et al. Novel therapeutic targets for hypoxia-related cardiovascular diseases: the role of HIF-1 [J]. *Front Physiol*, 2020, 11: 774. DOI: 10.3389/fphys.2020.00774.
- [36] LEI W, HE Y, SHUI X R, et al. Expression and analyses of the HIF-1 pathway in the lungs of humans with pulmonary arterial hypertension [J]. *Mol Med Rep*, 2016, 14 (5): 4383-4390. DOI: 10.3892/mmr.2016.5752.
- [37] SHIMAUCHI T, BOUCHERAT O, YOKOKAWA T, et al. PARP1-PKM2 axis mediates right ventricular failure associated with pulmonary arterial hypertension [J]. *JACC Basic Transl Sci*, 2022, 7 (4): 384-403. DOI: 10.1016/j.jacbts.2022.01.005.
- [38] SHENOY V, FERREIRA A J, QI Y, et al. The angiotensin-converting enzyme 2/angiogenesis-(1-7)/Mas axis confers cardiopulmonary protection against lung fibrosis and pulmonary hypertension [J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2010, 182 (8): 1065-1072. DOI: 10.1164/rccm.200912-18400C.
- [39] VERTEGAAL A C O. Signalling mechanisms and cellular functions of SUMO [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2022, 23 (11): 715-731. DOI: 10.1038/s41580-022-00500-y.
- [40] HUA D X, WU X X. Small-molecule inhibitors targeting small ubiquitin-like modifier pathway for the treatment of cancers and other diseases [J]. *Eur J Med Chem*, 2022, 233: 114227. DOI: 10.1016/j.ejmech.2022.114227.
- [41] LIU X, DENG H Y, TANG J, et al. OTUB1 augments hypoxia signaling via its non-canonical ubiquitination inhibition of HIF-1 α during hypoxia adaptation [J]. *Cell Death Dis*, 2022, 13 (6): 560. DOI: 10.1038/s41419-022-05008-z.
- [42] ZHOU F, DAI A, JIANG Y, et al. SENP-1 enhances hypoxia-induced proliferation of rat pulmonary artery smooth muscle cells by regulating hypoxia-inducible factor-1 α [J]. *Mol Med Rep*, 2016, 13 (4): 3482-3490. DOI: 10.3892/mmr.2016.4969.
- [43] JIANG Y L, WANG J, TIAN H, et al. Increased SUMO-1 expression in response to hypoxia: Interaction with HIF-1 α in hypoxic pulmonary hypertension [J]. *Int J Mol Med*, 2015, 36 (1): 271-281. DOI: 10.3892/ijmm.2015.2209.
- [44] YOSHINO Y, CHIBA N. Roles of RACK1 in centrosome regulation and carcinogenesis [J]. *Cell Signal*, 2022, 90: 110207. DOI: 10.1016/j.cellsig.2021.110207.

- [45] ZAKRZEWICZ A, HECKER M, MARSH L M, et al. Receptor for activated C-kinase 1, a novel interaction partner of type II bone morphogenetic protein receptor, regulates smooth muscle cell proliferation in pulmonary arterial hypertension [J]. *Circulation*, 2007, 115 (23): 2957-2968.
- [46] HUANG J D, CHEN L Y, WU J X, et al. Targeting the PI3K/AKT/mTOR signaling pathway in the treatment of human diseases: current status, trends, and solutions [J]. *J Med Chem*, 2022, 65 (24): 16033-16061. DOI: 10.1021/acs.jmedchem.2c0107.
- [47] CHEN S G, FISHER R C, SIGNS S, et al. Inhibition of PI3K/Akt/mTOR signaling in PI3KR2-overexpressing colon cancer stem cells reduces tumor growth due to apoptosis [J]. *Oncotarget*, 2017, 8 (31): 50476-50488. DOI: 10.18632/oncotarget.9919.
- [48] WU Y, XU X, LIU M, et al. DZW-310, a novel phosphoinositide 3-kinase inhibitor, attenuates the angiogenesis and growth of hepatocellular carcinoma cells via PI3K/AKT/mTOR axis [J]. *Biochem Pharmacol*, 2022, 201: 115093. DOI: 10.1016/j.bcp.2022.115093.
- [49] PAGÉ E L, ROBITAILLE G A, POUYSSÉGUR J, et al. Induction of hypoxia-inducible factor-1 α by transcriptional and translational mechanisms [J]. *J Biol Chem*, 2002, 277 (50): 48403-48409. DOI: 10.1074/jbc.M209114200.
- [50] BABICHEVA A, MAKINO A, YUAN J X. mTOR signaling in pulmonary vascular disease: pathogenic role and therapeutic target [J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22 (4): 2144. DOI: 10.3390/ijms22042144.
- [51] HE Y Y, XIE X M, ZHANG H D, et al. Identification of hypoxia induced metabolism associated genes in pulmonary hypertension [J]. *Front Pharmacol*, 2021, 12: 753727. DOI: 10.3389/fphar.2021.753727.
- [52] XIAO Y, PENG H, HONG C, et al. PDGF promotes the Warburg effect in pulmonary arterial smooth muscle cells via activation of the PI3K/AKT/mTOR/HIF-1 α signaling pathway [J]. *Cell Physiol Biochem*, 2017, 42 (4): 1603-1613. DOI: 10.1159/000479401.
- [53] UDAN R S, KANGO-SINGH M, NOLO R, et al. Hippo promotes proliferation arrest and apoptosis in the Salvador/Warts pathway [J]. *Nat Cell Biol*, 2003, 5 (10): 914-920. DOI: 10.1038/ncb1050.
- [54] BADOUEL C, MCNEILL H. SnapShot: the hippo signaling pathway [J]. *Cell*, 2011, 145 (3): 484-484.e1. DOI: 10.1016/j.cell.2011.04.009.
- [55] JANDL K, MARSH L M, HOFFMANN J, et al. Basement membrane remodeling controls endothelial function in idiopathic pulmonary arterial hypertension [J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2020, 63 (1): 104-117. DOI: 10.1165/ajrmb.2019-0303OC.
- [56] KUDRYASHOVA T V, DABRAL S, NAYAKANTI S, et al. Noncanonical HIPPO/MST signaling via BUB3 and FOXO drives pulmonary vascular cell growth and survival [J]. *Circ Res*, 2022, 130 (5): 760-778. DOI: 10.1161/circresaha.121.3191.
- [57] DIEFFENBACH P B, MARACLE M, TSCHUMPERLIN D J, et al. Mechanobiological feedback in pulmonary vascular disease [J]. *Front Physiol*, 2018, 9: 951. DOI: 10.3389/fphys.2018.00951.
- [58] SIKES K J, LI J, GAO S G, et al. TGF- β 1 or hypoxia enhance glucose metabolism and lactate production via HIF1A signaling in tendon cells [J]. *Connect Tissue Res*, 2018, 59 (5): 458-471. DOI: 10.1080/03008207.2018.1439483.
- [59] ZHANG X, LI Y, MA Y, et al. Yes-associated protein (YAP) binds to HIF-1 α and sustains HIF-1 α protein stability to promote hepatocellular carcinoma cell glycolysis under hypoxic stress [J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2018, 37 (1): 216. DOI: 10.1186/s13046-018-0892-2.
- [60] 李智昱, 李梦琦, 张成虎, 等. YAP通过增加HIF-1 α 转录活性进而促进小鼠下肢缺血后动脉生成 [J]. *中国病理生理杂志*, 2020, 36 (9): 1537-1542. DOI: 10.3969/j.issn.1000-4718.2020.09.001.
- [61] JIANG Y L, ZHOU Y M, PENG G Y, et al. Topotecan prevents hypoxia-induced pulmonary arterial hypertension and inhibits hypoxia-inducible factor-1 α and TRPC channels [J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2018, 104: 161-170. DOI: 10.1016/j.biocel.2018.09.010.
- [62] DOCHERTY C K, NILSEN M, MACLEAN M R. Influence of 2-methoxyestradiol and sex on hypoxia-induced pulmonary hypertension and hypoxia-inducible factor-1 α [J]. *J Am Heart Assoc*, 2019, 8 (5): e011628. DOI: 10.1161/jaha.118.011628.
- [63] WANG L, ZHENG Q, YUAN Y D, et al. Effects of 17 β -estradiol and 2-methoxyestradiol on the oxidative stress-hypoxia inducible factor-1 pathway in hypoxic pulmonary hypertensive rats [J]. *Exp Ther Med*, 2017, 13 (5): 2537-2543. DOI: 10.3892/etm.2017.4243.
- [64] ABUD E M, MAYLOR J, UNDEM C, et al. Digoxin inhibits development of hypoxic pulmonary hypertension in mice [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2012, 109 (4): 1239-1244. DOI: 10.1073/pnas.1120385109.
- [65] KUROSAWA R, SATOH K, KIKUCHI N, et al. Identification of celestramycin as a novel therapeutic agent for pulmonary arterial hypertension [J]. *Circ Res*, 2019, 125 (3): 309-327. DOI: 10.1161/CIRCRESAHA.119.315229.
- [66] HE Y Z, FANG X Y, SHI J, et al. Apigenin attenuates pulmonary hypertension by inducing mitochondria-dependent apoptosis of PASMCs via inhibiting the hypoxia inducible factor 1 α -KV1.5 channel pathway [J]. *Chem Biol Interact*, 2020, 317: 108942. DOI: 10.1016/j.cbi.2020.108942.
- [67] LUO Y T, TENG X, ZHANG L L, et al. Publisher correction: CD146-HIF-1 α hypoxic reprogramming drives vascular remodeling and pulmonary arterial hypertension [J]. *Nat Commun*, 2019, 10 (1): 4098. DOI: 10.1038/s41467-019-12107-7.

(收稿日期: 2022-12-09; 修回日期: 2023-04-10)

(本文编辑: 谢武英)