



Hamartin 在低氧/缺血耐受中的作用

侯林^{1,3,4}, 许晟迪^{1,4}, 张柱霞^{1,4}, 邵国^{1,3,4*}, 黄丽华^{2*}

(1. 包头医学院生物医学研究中心基础医学部, 包头医学院神经科学研究所, 内蒙古自治区 包头 014010;
2. 包头医学院公共卫生学院, 内蒙古自治区 包头 014010; 3. 首都医科大学, 宣武医院, 低氧适应转化医学北京市重点实验室, 北京 100053; 4. 内蒙古自治区低氧转化医学重点实验室, 内蒙古自治区 包头 014010)

【摘要】 低氧/缺血是临床上常见的基本病理过程和基本死因, 同时也是高原、航天、潜水等极端环境所面临的基本问题。作为细胞内源性保护分子, hamartin 能够提高细胞在急性低氧/缺血时的耐受性, 具有重要的研究意义。Hamartin 在低氧/缺血中的作用已成为研究热点, 阐明其在低氧/缺血中的保护作用及其 DNA 甲基化对低氧/缺血的影响, 不仅有利于减轻低氧/缺血的损伤, 还可以进一步探讨 hamartin 及其 DNA 甲基化在其他病理生理中的作用, 为后续的临床研究提供理论指导。本文对 hamartin 的结构、信号传导机制以及在低氧/缺血中的研究进行综述。

【关键词】 Hamartin; 低氧/缺血; 甲基化

【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856(2017) 08-0085-04

doi: 10.3969/j.issn.1671-7856.2017.08.017

The role of hamartin in ischemia/hypoxia tolerance

HOU Lin^{1,3,4}, XU Sheng-di^{1,4}, ZHANG Zhu-xia^{1,4}, SHAO Guo^{1,3,4*}, HUANG Li-hua^{2*}

(1. Biomedicine Research Center and Basic Medical Department, Neuroscience Institute, Baotou Medical College, Baotou 014010, China; 2. Public Health Department, Baotou Medical College, Baotou 014010; 3. The Key Laboratory of Beijing, Hypoxic Preconditioning Translational Medicine, Xuanwu Hospital, Capital Medical University, Beijing 100053; 4. Inner Mongolia Key Laboratory of Hypoxia Translational Medicine, Baotou Medical College, Baotou, Inner Mongolia 014010)

【Abstract】 Hypoxia/ischemia is a common clinical pathophysiological process and cause of death, and it is a common problem in extreme conditions such as high altitude, astronautics and diving. Hamartin is a kind of effective endogenous neuroprotectant and could increase cell tolerance to acute hypoxia or ischemia, thus, is of significance to research. The role of hamartin in hypoxia/ischemia has been a research focus of many scientists. Elucidating the related protective effect and its DNA methylation on hypoxia/ischemia can not only reduce injury, but also lay a basic for further studying the role of hamartin and its DNA methylation in other pathophysiological processes and provide theoretical guidance for the following clinical study. In this paper, we review the structure, mechanism and role of hamartin and the effect of its DNA methylation on hypoxia/ischemia.

【Key words】 Hamartin; Hypoxia/Ischemia; Methylation

【基金项目】 国家自然科学基金(81460283, 81660307); 内蒙古自然科学基金(2016MS(LH)0307, 2014MS0810); 包头医学院博士基金(BSJJ201621, BSJJ201617)。

【作者简介】 侯林(1992-), 男, 硕士研究生, 专业: 公共卫生与预防医学。E-mail: holy.lin@foxmail.com

【通讯作者】 邵国, 男, 教授, 研究方向: 神经生物学。E-mail: shao_guo_china@163.com; 黄丽华, 女, 副教授, 研究方向: 神经毒理学。E-mail: huanglihua858@163.com

低氧/缺血是临床上各系统均广泛涉及的病理生理过程,同时也是一些极端环境下人们所无法回避的难题。通常细胞、组织由于氧气、能量供给不足会出现一系列的损伤,严重时甚至死亡。但是细胞、组织在面对这种损伤时并非束手无策,内源性防护机制可以提高细胞、组织对低氧/缺血的耐受性。低氧预适应就是调动细胞、组织对低氧/缺血的耐受的一种有效现象。低氧预适应是指:预先给细胞、组织一个非致死性的低氧/缺血刺激,细胞、组织对随后致死性低氧/缺血刺激的耐受性增强^[1]。低氧预适应可以通过上调多种抗氧化酶的表达来减弱由低氧/复氧诱导的氧化应激反应和心脏延迟保护^[2]。早在 1986 年 Murry 在研究犬的心脏时根据对心脏重复缺血后心脏对缺血损伤的耐受现象的观察发现经过低氧/缺血预处理后阻断犬冠状动脉 40 min 所致的心肌梗死范围与对照组相比减少了 75%。之后 Agematsu K 等人通过实验研究发现低氧/缺血对大脑的保护作用^[3]。有研究报道,在缺血/低氧条件下,hamartin 对细胞/组织起到保护作用^[4],这也为临床上预防或治疗一些低氧/缺血性疾病提供了新的思路。

1 Hamartin 的结构及表达

遗传疾病结节硬化复合症(tuberous sclerosis complex, TSC)的发病是由于肿瘤抑制基因 *TSC1* 或 *TSC2* 基因突变引起,*TSC1* 基因正常的表达产物为 Hamartin,*TSC2* 基因的表达产物为 Tuberin,通常情况下这两种产物结合形成 *TSC1/TSC2* 复合物参与信号通路的调节^[5]。*TSC1* 基因位于人染色体 9q34,转录产物为 8.6 kb 的 mRNA,其编码的蛋白质 hamartin 大约为 130 kD。研究发现:hamartin 蛋白质分化程度比较高,人源的与其它哺乳动物基本没有同源性。它包含一个卷曲螺旋区域和 1 164 个氨基酸,没有明显的催化区域;分为 C 端和 N 端两部分,N 端为跨膜结构域和 tuberin 结合结构域,C 端为卷曲螺旋(coiled-coil)结构域、Rho 激活结构域和埃兹蛋白/根蛋白/膜突蛋白(ezrin-radixin-moesin, ERM)相互作用结构域^[6,7]。*TSC1* 基因在人体大部分组织中均有表达,但是表达程度不尽相同,其中在大脑海马区中表达较强^[8]。

2 Hamartin 参与的信号转导通路及与低氧/缺血的关系

研究发现 *TSC* 基因可影响细胞周期的进程,是

细胞生长和增殖的重要调节因子^[9,10]。*TSC* 基因是 PI3K/Akt/mTOR/S6K 信号传导通路的关键环节,在许多恶性肿瘤中均可见 PI3K/Akt/mTOR/S6K 信号转导通路的过度活化,PI3K-Akt-mTOR 通路作为细胞内非常重要的信号转导途径,在细胞的生长、存活、增殖、凋亡、血管生成、自噬等过程中发挥着极其重要的生物学功能,该通路的紊乱会引起一系列的疾病,包括癌症、神经病变、自身免疫性疾病和造血型疾病,mTOR 是该通路的中央调节者,具有多种调节功能,能对肿瘤坏死因子、含氧量、生长因子等多种信号分子产生应答^[11,12]。而 *TSC1/TSC2* 复合物的作用之一就是参与 mTOR 途径,抑制 mTOR 激活酶,使该信号通路的传导中断。当某些原因使得 hamartin 或者 tuberin 表达缺失时,*TSC1/TSC2* 复合物抑制 mTOR 激酶的作用丧失,从而使该信号传导通路过度激活,导致肿瘤的发生。有研究发现 hamartin 作为靶蛋白可以被上游调控因子作用改变其结构和功能。例如 IKK β 、FIP200 可磷酸化或直接结合于 hamartin 上以使 *TSC1/TSC2* 复合体解聚,过度激活 mTOR 通路,导致疾病的发生^[13,14]。此外,*TSC* 复合物直接作用的下游因子 Rheb 是一个具有小 GTPase 活性的蛋白,为细胞周期进程和细胞生长所必需。Rheb 作为 *TSC* 复合物的下游对 mTOR 正向调节,与 *TSC1/TSC2* 复合物共同维持 mTOR 通路的稳定^[15]。此外,有研究表明 *TSC* 复合物缺失导致的 mTORC1 过表达可被神经保护因子谷氨酰胺抑制,从而延长被敲除 *TSC* 基因小鼠的寿命,因此推测 *TSC1/TSC2* 复合物在神经系统疾病中发挥重要作用^[16]。在低氧状态下,mTOR 通路可受到两种机制的抑制,而这两种机制都与 *TSC* 复合物的参与有关。HIF-、mTOR-及 UPR-依赖的信号通路能够以集成的方式对低氧/缺血形成应答,相互影响、共同调节下游基因的表达,控制细胞生存甚至肿瘤发生和生长^[17]。由于低氧导致能量代谢的紊乱,能量代谢调节的关键分子腺苷酸活化蛋白激酶(AMPK)的活性发生改变,磷酸化 mTORC1,激活 *TSC1/TSC2* 复合物抑制 mTOR 通路,减少蛋白翻译合成、抑制细胞生长^[9,18]。有些研究者认为 hamartin 缺失导致的血管内皮生长因子(VEGF)表达量的变化可能与 mTOR 通路的调节无关,直接导致肺部淋巴管肌瘤,这可能为低氧/缺血造成的毛细血管增生提供治疗思路,同时说明 hamartin 可能参与了缺血/缺氧保护^[19]。

3 Hamartin 启动子区 DNA 甲基化在低氧/缺血中的研究

DNA 甲基化修饰是指在 DNA 甲基转移酶 (DNA methyltransferase, DNMTs) 作用下,以 S-腺苷甲硫氨酸 (S-adenosyl methionine, SAM) 为甲基供体,将甲基基团转移到胞嘧啶和鸟嘌呤 (CpG) 二核苷酸的胞嘧啶中 5 位碳原子上。CpG 多集中在基因的启动子区和转录起始区,这些区域的 DNA 甲基化能引起染色质重构并阻碍转录因子与核酸序列的结合而抑制基因表达^[20]。正常的 DNA 甲基化在维持细胞及机体的正常功能中发挥重要作用,而异常的 DNA 甲基化可能与多种疾病的发生有关,尤其是与低氧/缺血导致的年龄性相关慢性疾病。低氧可以诱导去甲基化促进多潜能神经前体细胞 (mgNPCs) 向星形胶质细胞的分化,因此大脑、胚胎等处于高分化条件下的组织处于低氧和高氧环境分别促进和阻碍大脑星形胶质细胞分化发展^[21],据此可以推断在低氧条件下 DNA 甲基化对细胞的调节起到重要的作用,研究表明,低氧/缺血可造成基因启动子区 DNA 甲基化的变化,这种变化导致组织易受损伤,已经证明 DNA 甲基化的抑制可以赋予组织抗缺血的特性,这可能是保护/抗凋亡基因的表达相关机制^[22,23]。研究发现,复发性乳腺癌死亡的病例中,肿瘤组织中 hamartin 表达量低于正常组织,而肿瘤组织中 TSC1 启动子区却是高甲基化的,这说明启动子区甲基化能够影响 hamartin 表达量^[24]。通过对编码 hamartin 蛋白的 TSC1 基因启动子区进行测序发现其中的 CG 含量大约 60%,其中 CpG 约占到 7% 左右,符合 CPG 岛特征,该启动子区域的甲基化变化会影响 hamartin 基因的表达^[25]。DNA 甲基化对 hamartin 在低氧/缺血时的表达可能会产生一定的影响,因此 DNA 甲基化变化对于低氧/缺血下 hamartin 的表达以及对细胞的保护机制有重要的研究意义。

研究发现心脏手术会引起短暂性脑缺血,导致海马 CA1 区神经细胞死亡^[26],可见海马 CA1 区对低氧/缺血比较敏感。蛋白质组学分析显示小鼠海马 CA3 区抵抗缺血损伤与 hamartin 的表达有关。Papadakis 等^[4]利用大鼠缺血模型研究发现海马的 CA1 区的神经细胞对低氧/缺血极为敏感,而海马 CA3 区的神经细胞对低氧/缺血较为耐受。但是 CA1 和 CA3 区的神经细胞面对缺血损伤表现出的不同反应机制尚未清楚^[27]。进一步探究其机制将

对全面了解低氧/缺血条件下细胞内源性保护机制地启动有重要意义。研究发现:TSC1 编码的 hamartin 蛋白在低氧/缺血条件下可以选择性诱导海马区 CA3 神经源细胞的发生,提高神经细胞对低氧/缺血的耐受性。小鼠低/过表达 hamartin 模型中发现:抑制 hamartin 的表达会增加受损细胞的死亡,而过表达 hamartin 神经细胞通过诱导自噬来抵抗低氧/缺血、低氧/缺血处理时海马 CA3 区 hamartin 的表达具有选择诱导性,通过抑制 mTORC1 和诱导产生自噬,hamartin 促进神经细胞的存活。低氧/缺血不影响 CA1 区神经细胞 hamartin 表达,缺血预适应 (IPC) 处理可以诱导 CA1 区神经细胞 hamartin 表达上调并产生神经保护,主要是通过诱导自噬作用来产生的。但是低氧下神经细胞内源性神经保护机制还有待于进一步深入探索^[28]。

4 结语

近年来对于 hamartin 的研究已成为热点,逐渐被人们所关注。随着研究的不断深入,hamartin 的许多功能也逐渐被发现,一些已经在动物实验中得到了证实,甚至一些已经应用到临床治疗方面并取得了显著的效果。通过对 hamartin 的研究,临床上人们研究了许多新的疗法来代替传统疗法,并取得了显著的疗效,在应对一些顽固的疾病和恶性肿瘤方面,应用 hamartin 也取得了一些突破性的进展,这大大提高了人们对疾病的抵抗,提高了人们的生活水平。面对一些极端条件如缺血/低氧等条件下,hamartin 对细胞的保护作用也将不断的深入研究,在未来的航天工程,深水作业等极端环境下,应用 hamartin 对细胞的保护机制,将解决一个又一个的难题。这将对未来的临床应用和缺血/低氧等极端条件下,细胞的保护机制提供了新的思路。

参考文献:

- [1] Bergeron M, Gidday JM, Yu AY, et al. Role of hypoxia-inducible factor-1 in hypoxia-induced ischemic tolerance in neonatal rat brain [J]. *Ann Neurol*, 2000, 48(3):285-96.
- [2] Huang XS, Chen HP, Yu HH, et al. Nrf2-dependent upregulation of antioxidative enzymes: a novel pathway for hypoxic preconditioning-mediated delayed cardioprotection [J]. *Mol Cell Biochem*, 2014, 385(1):33-41.
- [3] Agematsu K, Korotcova L, Morton PD, et al. Hypoxia diminishes the protective function of white-matter astrocytes in the developing brain [J]. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 2016, 151(1):265-72.
- [4] Papadakis M, Hadley G, Xilouri M, et al. Tsc1 (hamartin)

- confers neuroprotection against ischemia by inducing autophagy [J]. *Nat Med*, 2013, 19(3):351–357.
- [5] Prabowo A, Anink J, Lammens M, et al. Fetal brain lesions in tuberous sclerosis complex: TORC1 activation and inflammation [J]. *Brain Pathol*, 2013, 23(1):45–59,15.
- [6] de Vries PJ. Targeted treatments for cognitive and neurodevelopmental disorders in tuberous sclerosis complex [J]. *Neurotherapeutics*, 2010, 7(3):275–282.
- [7] Santiago Lima AJ, Hoogveen-Westerveld M, Nakashima A, et al. Identification of regions critical for the integrity of the TSC1-TSC2-TBC1D7 complex [J]. *PLoS One*, 2014, 9(4):e93940.
- [8] Way SW, Rozas NS, Wu HC, et al. The differential effects of prenatal and/or postnatal rapamycin on neurodevelopmental defects and cognition in a neuroglial mouse model of tuberous sclerosis complex [J]. *Hum Mol Genet*, 2012, 21(14):3226–3236.
- [9] Huang J, Manning BD. The TSC1-TSC2 complex: a molecular switchboard controlling cell growth [J]. *Biochem J*, 2008, 412(2):179–90.
- [10] Amcheslavsky A, Ito N, Jiang J, et al. Tuberous sclerosis complex and Myc coordinate the growth and division of *Drosophila* intestinal stem cells [J]. *J Cell Biol*, 2011, 193(4):695–710.
- [11] Zhang L, Xing D, Gao X, et al. Low-power laser irradiation promotes cell proliferation by activating PI3K/Akt pathway [J]. *J Cell Physiol*, 2009, 219(3):553–562.
- [12] Jiang J, Zhang Y, Guo Y, et al. MicroRNA-3127 promotes cell proliferation and tumorigenicity in hepatocellular carcinoma by disrupting of PI3K/AKT negative regulation [J]. *Oncotarget*, 2015, 6(8):6359–6372.
- [13] Lee DF, Kuo HP, Chen CT, et al. IKK beta suppression of TSC1 links inflammation and tumor angiogenesis via the mTOR pathway [J]. *Cell*, 2007, 130(3):440–455.
- [14] Magri L, Galli R. mTOR signaling in neural stem cells: from basic biology to disease [J]. *Cell Mol Life Sci*, 2012, 70(16):2887–2898.
- [15] Mazhab-Jafari MT, Marshall CB, Ho J, et al. Structure-guided mutation of the conserved G3-box glycine in Rheb generates a constitutively activated regulator of mammalian target of rapamycin (mTOR) [J]. *J Biol Chem*, 2014, 289(18):12195–12201.
- [16] Feliciano DM, Su T, Lopez J, et al. Single-cell Tsc1 knockout during corticogenesis generates tuber-like lesions and reduces seizure threshold in mice [J]. *J Clin Invest*, 2011, 121(4):1596–1607.
- [17] Wouters BG, Koritzinsky M. Hypoxia signalling through mTOR and the unfolded protein response in cancer [J]. *Nat Rev Cancer*, 2008, 8(11):851–864.
- [18] Laplante M, Sabatini DM. mTOR signaling in growth control and disease [J]. *Cell*, 2012, 149(2):274–293.
- [19] Neuman NA, Henske EP. Non-canonical functions of the tuberous sclerosis complex-Rheb signalling axis [J]. *EMBO Mol Med*, 2011, 3(4):189–200.
- [20] 姚志刚, 秦川. 表观遗传修饰在学习和记忆中的调节作用 [J]. *中国实验动物学报*, 2011, 19(5):441–445.
- [21] 李林, 李珂, 何虹, 等. 食源性肥胖大鼠下丘脑 Tsc1 启动子区甲基化率、mTOR 表达变化 [J]. *四川大学学报医学版*, 2015, 46(1):47–50.
- [22] Xiong F, Lin T, Song M, et al. Antenatal hypoxia induces epigenetic repression of glucocorticoid receptor and promotes ischemic-sensitive phenotype in the developing heart [J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2016, 91:160–171.
- [23] Kumral A, Tuzun F, Yesilirmak D, et al. Role of epigenetic regulatory mechanisms in neonatal hypoxic-ischemic brain injury [J]. *Early Hum Dev*, 2009, 72(6):692–693.
- [24] Jiang WG, Sampson J, Martin TA, et al. Tuberlin and hamartin are aberrantly expressed and linked to clinical outcome in human breast cancer: the role of promoter methylation of TSC genes [J]. *Eur J Cancer*, 2005, 41(11):1628–1636.
- [25] Takamochi K, Ogura T, Yokose T, et al. Molecular analysis of the TSC1, gene in adenocarcinoma of the lung [J]. *Lung Cancer*, 2004, 46(3):271–281.
- [26] Deng G, Yonchek JC, Quillinan N, et al. A novel mouse model of pediatric cardiac arrest and cardiopulmonary resuscitation reveals age-dependent neuronal sensitivities to ischemic injury [J]. *J Neurosci Methods*, 2013, 222(1):34–41.
- [27] Patrylo PR, Williamson A. The effects of aging on dentate circuitry and function [J]. *Prog Brain Res*, 2007, 163(163):679–696.
- [28] Hadley G, De Luca GC, Papadakis M, et al. Endogenous neuroprotection: hamartin modulates an austere approach to staying alive in a recession [J]. *Int J Stroke*, 2013, 8(6):449–450.

[收稿日期]2016–12–13