

低氧诱导因子调控造血的功能

赵慧娟^{1,2*#} 王文天^{2#} 王荣³ 杨洋² 胡晓^{2*}

(¹河南科技大学基础医学院, 洛阳 471023; ²中国医学科学院血液病医院血液学研究所, 实验血液学国家重点实验室, 天津 300020; ³河南省人民医院检验科, 郑州 450003)

摘要 低氧诱导因子(hypoxia inducible factors, HIFs)是细胞内重要的转录因子, 参与调控诸多生理和病理过程。造血(hematopoiesis)是机体重要的生命活动和生理过程。以往研究表明, HIFs在造血过程中发挥重要调控功能。该文从造血发育角度出发, 系统阐述了胚胎造血期HIFs对各阶段造血干/祖细胞生成及谱系分化的影响, 以及成体造血期HIFs在造血干细胞干性及造血稳态维持中的调控作用, 旨在为HIFs的造血调控网络提供全面解析, 以及为相关血液疾病的发生发展提供理论基础。

关键词 低氧诱导因子; 胚胎期造血; 成体期造血; 造血干细胞

Roles of Hypoxia Inducible Factors in Hematopoietic Regulation

ZHAO Huijuan^{1,2*#}, WANG Wentian^{2#}, WANG Rong³, YANG Yang², HU Xiao^{2*}

(¹Basic Medical College, Henan University of Science and Technology, Luoyang 471023, China; ²State Key Laboratory of Experimental Hematology, Institute of Hematology & Blood Diseases Hospital, Chinese Academy of Medical Sciences & Peking Union Medical College, Tianjin 300020, China; ³Department of Clinical Laboratory, Henan Provincial People's Hospital, Zhengzhou 450003, China)

Abstract HIFs (hypoxia inducible factors) act as vital transcriptional factors mediating various aspects of physiological and pathological processes, among which hematopoiesis constitutes important physiological content. Studies have shown that HIFs perform essential roles in hematopoiesis. From developmental perspective, hematopoiesis can be divided into embryonic and adult hematopoiesis. This paper mainly reviews the current knowledge of HIFs on hematopoietic stem/progenitor cell generation and lineage differentiation at embryonic stage, and on hematopoietic stem cell maintenance and hematopoiesis steady state at adult stage. This review will provide systematic overview of HIFs involved regulatory network and basis for the understanding of pathologic hematopoiesis.

Keywords hypoxia inducible factors; embryonic hematopoiesis; adult hematopoiesis; hematopoietic stem cell

低氧诱导因子(hypoxia inducible factors, HIFs)是生物体缺氧应激的重要转录因子, 因其在调控胚胎发育、维持代谢稳态、监管免疫功能以及参与肿瘤发生发展等诸多生理病理过程中发挥重要功能而备受关注^[1]。2019年诺贝尔生理学或医学奖更是表

彰了发现HIFs这一细胞内氧浓度感受器的三位科学家。造血(hematopoiesis)是机体重要的生命活动和生理过程, 由造血干细胞(hematopoietic stem cell, HSC)经逐级分化产生多种类型的成熟血细胞, 为机体提供关键的体液循环环境。从个体发育角度分析,

收稿日期: 2020-01-03 接受日期: 2020-06-08

国家自然科学基金(批准号: 81500084)和协和医学院协和学者项目资助的课题

*共同第一作者

*通讯作者。Tel: 0379-4830346, E-mail: zhaohj1218@163.com; Tel: 022-23909401, E-mail: xiaohu@ihcams.ac.cn

Received: January 3, 2020 Accepted: June 8, 2020

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (Grant No.81500084) and Scholarship of Peking Union Medical College

#These authors contributed equally to this work

*Corresponding authors. Tel: +86-379-4830346, E-mail: zhaohj1218@163.com; Tel: +86-22-23909401, E-mail: xiaohu@ihcams.ac.cn

URL: <http://www.cjcb.org/arts.asp?id=5374>

造血可分为胚胎期造血(embryonic hematopoiesis)和成体期造血(adult hematopoiesis)。在胚胎期造血阶段,造血发生是一个随着时间和空间不断发展变化的复杂过程,历经多个造血波产生造血干/祖细胞以满足胚胎发育和组织分化需求^[2];而对于成体期造血,几乎所有血细胞均由胚胎发育晚期迁入骨髓的造血干细胞分化而来^[3]。近年来大量研究表明,HIFs在胚胎期造血和成体期造血中均发挥不可或缺的重要调控功能。本文就此内容进行回顾阐述。

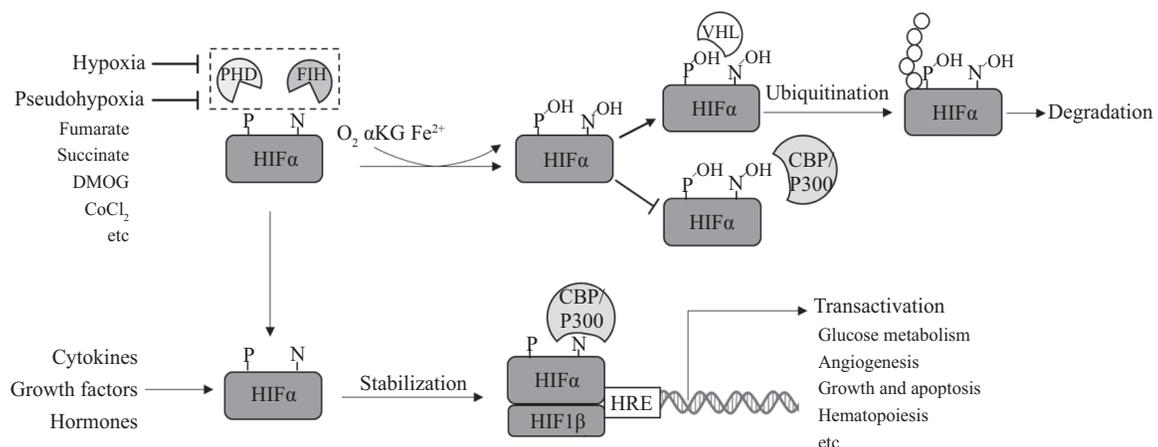
1 HIF的家族成员及转录调控功能

低氧诱导因子HIF属于β碱性螺旋环螺旋(βhelix-loop-helix, βHLH)转录因子超家族,具有PAS(PER-AHR/ARNT-SIM)结构域^[4],由对氧敏感的α亚基和组成型表达的β亚基组成异源二聚体发挥功能。其中,α亚基主要包括HIF1α、HIF2α及HIF3α。蛋白序列比对分析发现,HIF1α和HIF2α蛋白结构域具有很高的同源性^[5],两者均具有氧依赖降解区(oxygen-dependent degradation, ODD),提示其功能相似性。而*Arnt*基因编码的β亚基则缺失ODD区。目前细胞内的低氧应答通路已经得到了比较系统的研究,其主要成员包括含有脯氨酰羟化酶结构域的PHD蛋白(prolyl hydroxylase domain protein)、HIFα及E3泛素连接酶VHL(von Hippel-Lindau tumor suppressor protein)等。PHD-HIFα-VHL轴对氧浓度的应答主要通过调节HIFα亚基的羟基化实现。在常氧条件下,ODD区的脯氨酸残基被PHD识别并羟基化,然后进一步被VHL识别并启动泛素依赖的蛋白质降解过

程。同时,位于转录激活结构域的天冬酰胺被另一种氧合酶即天冬酰胺羟化酶FIH(factor inhibiting HIF)羟基化,导致HIFα与辅转录因子CBP/P300的结合受阻,进而阻滞转录复合物形成^[6]。该反应除需要O₂作为反应底物外,PHD和FIH的催化活性还需要α-酮戊二酸(α-ketoglutarate, α-KG)和Fe²⁺作为辅助因子。在低氧或者特定因素造成的假性低氧条件下,如中间代谢产物琥珀酸盐、延胡索酸或化学分子DMOG、CoCl₂等通过抑制α-KG活性或竞争性结合Fe²⁺导致该酶促反应受到抑制,使得HIFα亚基趋于稳定^[1,7]。除此,多种激素或细胞因子能通过信号通路中的激酶直接或间接地使HIFα磷酸化,进而影响到其蛋白稳定及转录功能的发挥^[8-9]。稳定的HIFα亚基转运进入细胞核后与组成型表达的HIF1β亚基结合形成异二聚体,随后特异性地结合于靶基因的低氧应答元件(hypoxia response element, HRE, 5'-(A/G)CGTG-3'),调控下游靶基因的表达(图1)。

相较于HIF1α和HIF2α,对HIF3α的研究较少。已知HIF3α有六个剪接体,大多缺少C-端的转录激活结构域,目前认为其主要通过调控HIF1α或HIF2α的功能发挥作用^[10-12]。

HIF1α和HIF2α在不同组织中广泛或特异性表达,直接参与下游靶基因的转录调控,如葡萄糖转运蛋白1(glucose transporter protein 1, *GLUT1*)、血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, *VEGF*)及其受体(vascular endothelial growth factor receptor, *VEGFR*)、红细胞生成素(erythropoietin, *EPO*)等。可见,HIFs在机体能量代谢、血管生成、



氧浓度、中间代谢产物、细胞因子及激素等对HIFα蛋白稳定的调节,→促进,←抑制。

The stability of HIFα protein is regulated by oxygen, oncometabolites, cytokines, hormones and so on. →promotion; ←suppression.

图1 HIFα的蛋白稳定性调节

Fig.1 Regulation of the stability of HIFα protein

肿瘤发生以及造血等众多生理病理过程中发挥重要作用^[13-14]。下文针对HIF家族主要成员HIF1 α 、HIF2 α 及HIF1 β 在胚胎期造血及成体期造血中的功能机理研究进行梳理和系统阐述。

2 HIFs在胚胎期造血阶段发挥重要调控作用

胚胎发育发生在氧浓度为1%~5%的子宫内,该物理环境下氧浓度较低,子代通过胎盘屏障获得的氧气较少,子宫中的生理低氧环境对胚胎个体发育起到决定性的环境限定^[15-16]。胚胎期造血对于正常的胚胎发育及产生满足终生造血需求的造血干细胞至关重要。该造血阶段共经历时间交叠的三次造血波,分别为原始卵黄囊造血阶段、红系-髓系祖细胞(erythro-myeloid progenitors, EMP)造血阶段和永久性造血阶段^[17-19]。在此过程中,HIFs为各阶段造血干/祖细胞的生成及谱系分化提供了有力保证。

HIFs在正常胚胎发育中不可或缺。胚胎形成完善心血管循环系统的重要基因如VEGF、FGF2和其他血管生成因子(如TGF- β 、ANGPT1/2)等都是HIFs的直接下游靶基因^[20]。早期研究表明,系统性敲除Hif1 α 或Arnt基因的小鼠,由于心血管、神经管及造血系统发育不全在胚胎发育E9.5~E12.5死亡^[21-23];而Hif2 α 系统性敲除的不同品系小鼠或由于卵黄囊血管发育受损在胚胎发育E9.5~E13.5死亡^[24],或由于心脏跳动过缓在E12.5~E16.5死亡^[25];另有一部分小鼠可在正常出生后因肺部发育不全而死亡^[26]。

血管生成的同时伴随着造血发生^[23],HIFs与早期造血的关系随后逐渐得到深入研究。研究发现,Arnt敲除小鼠卵黄囊造血期的祖细胞向各系发育分化能力严重受损^[27]。诱导胚胎干细胞向造血系统分化能够模拟胚胎期造血阶段,为揭示造血过程的分子机制提供了新的视角。利用Arnt敲除的小鼠胚胎干细胞株体外诱导造血分化,在拟胚体(embryonic body, EB)分化培养基中补加VEGF可以挽救各系集落形成能力降低表型^[27];研究发现,在人和小鼠胚胎干细胞中敲除Arnt后导致EB中胚层分化延迟,血液血管祖细胞(hemangioblast)生成严重受损,进一步导致造血干祖细胞生成减少^[28]。

由于HIFs在多组织发育中发挥重要功能,系统性敲除HIFs基因无法确切解析其在造血发生中的作用。2014年,IMANIRAD等^[29]利用Cre/loxP条件

敲除系统,在小鼠表达血管内皮钙黏蛋白(vascular endothelial-cadherin, VEC)的内皮细胞(即永久性造血干祖细胞的直接前体细胞)中特异性敲除Hif1 α ,体外集落形成实验结果表明,动脉-性腺-中肾区(aortagonad-mesonephro, AGM)及胎盘中造血干祖细胞显著减少,证明Hif1 α 在造血干祖细胞的内皮转化生成和/或细胞扩增中发挥重要作用。近期斑马鱼胚胎发育模型研究表明,用DMOG处理后蛋白水平稳定表达的HIF1 α 可通过调节runx1和myb基因表达调控造血干细胞生成^[30];Hif1 α 或Hif2 α 突变均可导致生血内皮细胞向造血细胞转化(endothelial-to-hematopoietic transition, EHT)过程受阻,并揭示出Hif α 作为Notch信号通路的上游通过Notch1-Gata2-Runx1转录因子级联反应参与调控造血干细胞生成^[31]。我们课题组利用基因编辑技术敲除Hif2 α 在人胚胎干细胞中的表达并诱导造血分化,发现造血分化的表型与斑马鱼相似且Notch信号通路分子也发生相应改变。

另有研究发现,Hif1 α 在调节胚胎期红细胞的铁稳态过程中发挥重要作用。取Hif1 α 敲除小鼠发育至E9.5的胚胎卵黄囊细胞进行集落形成实验,其红系及髓系集落形成能力严重受损,并且红细胞呈现未完全血红蛋白化状态;在外源补加Fe-SIH时血红蛋白合成可以得到缓解,提示Hif1 α 能够促进Fe吸收以用于组装形成成熟的血红蛋白,表明了HIF通路对血红蛋白可能发挥着直接调控作用^[32]。

3 HIFs在成体期造血阶段发挥多层次多水平调控作用

成体造血是指骨髓中的造血干细胞在细胞内外因子的协同调控下,逐级定向生成各系祖细胞并进一步分化为成熟血细胞的过程。在此过程中,HIFs基因发挥多层次、多元化的调控功能。

3.1 HIFs在造血干细胞功能调节中的作用尚不明确

骨髓中的氧分压低于外周血,一般认为造血微环境中的低氧状态有助于维持造血干细胞的干性及静息状态^[15]。近期研究则认为,造血干细胞表现出来的低氧特征是由其自身决定的,而非环境赋予^[33]。HIFs作为与氧浓度密切相关的转录调节因子,自2010年起,在造血干细胞功能调节中的作用及相关分子机理已逐渐成为研究热点,然而由于实验设计及研究模型的差异,针对同一基因的研究往往得到相互矛盾的结果。表1总结了近几年HIFs基因在造

表1 HIFs基因在造血干细胞干性及造血稳态维持中的作用研究

Table 1 Researches about the roles of HIFs on hematopoietic stem cell maintenance and multilineage hematopoiesis

模型 Model	策略 Strategy	方法 Methods	表型 Phenotype		机制及结论 Mechanism and conclusion	发表时间 Publication time
			外周血各系 Peripheral blood	造血重建能力 Regenerative capacity		
Mice	<i>Hif1a</i> ^{KO/KO}	Mx1-Cre	—	↓	<i>Hif1a</i> regulates HSC maintenance in a p16 ^{Ink4a} /p19 ^{Arf} dependent manner	2010 ^[34]
Mice	<i>Hif1a</i> ^{KO/KO}	Mx1-Cre & Vav-iCre	—	—	<i>Hif1a</i> is not essential for HSC maintenance and function	2016 ^[35]
Mice	<i>Hif2a</i> ^{KO/KO}	Vav-iCre	—	—	<i>Hif2a</i> is not essential for HSC maintenance and function	2013 ^[36]
Mice	<i>Arnt</i> ^{KO/KO} & <i>Hif1a:Hif2a</i> ^{DKO/DKO}	Vav-iCre	Myeloid and lymphoid cells ↑	↓	HIF regulates HSC maintenance in a BCL-2 and VEGFA dependent manner	2015 ^[37]
Human CD34 ⁺ umbilical cord blood cells	1 <i>Hif2a</i> ^{KD/KD} 2 <i>Hif1a</i> ^{KD/KD} 3 <i>Arnt</i> ^{KD/KD}	RNAi	1 erythroid cells ↓ 2 erythroid cells — 3 erythroid cells ↓	Group 1, 3 ↓ Group 2 ↘	Knockdown of <i>HIF2a</i> in HSC leads to increased production of ROS (reactive oxygen species), and further triggers cell apoptosis	2013 ^[38]

KO: knock out, DKO: double knock out, KD: knock down; —无影响, ↑升高, ↓降低, ↘降低程度减轻。

KO: knock out, DKO: double knock out, KD: knock down; — no effect, ↑ increase, ↓ decrease, ↘ decrease to a much lesser extent.

血干细胞干性及造血稳态维持中的几项有影响力的研究结果。

从上表可以看出, 对于小鼠模型, 利用Vav-iCre技术在造血系统中分别敲除*Hif1a*、*Hif2a*时, 小鼠外周血各系比例及造血干细胞的造血重建能力均未受到影响; 在同时敲除*Hif1a*、*Hif2a*或敲除 α 亚基的共同配体*Arnt*基因时, 造血干细胞的造血重建能力下降^[35-37]。这提示, *Hif1a*和*Hif2a*在造血干细胞功能调节中可能具有相似的调控功能, 当敲除某一基因时, 另一成员可以实现功能代替; 当利用Mx1-Cre敲除*Hif1a*基因时, 由于Mx1-Cre除了可在造血系统实现基因敲除以外, 在骨髓微环境及髓外组织中也可造成基因敲除, 因此, 无法确定是否由于在其他类型细胞中同时敲除了*Hif1a*导致造血干细胞造血重建能力下降^[34-35]。对于人脐血来源造血干细胞模型, 敲降*HIF2a*组造血干细胞的红系分化和造血重建能力均下降, 该结果与敲降*Arnt*组相似; 而敲降*HIF1a*组造血干细胞的红系形成无明显变化, 造血重建能力虽然降低但是程度较以上两组减轻, 这表明, *HIF2a*对人的造血干细胞的分化功能调控作用可能更加重要, 也提示在造血过程中不同物种的同一基因功能可能存在差异, 因此综合分析多个研究模型的实验结果更有意义。

3.2 造血微环境成员细胞中的HIFs间接调控造血功能

造血微环境是造血发育的关键支撑系统, 其中包含多种基质细胞, 如成骨细胞、间充质干细胞、内皮细胞、脂肪细胞等, 已有大量研究表明, 这些成员细胞参与维持造血干细胞的干性、调控造血谱系定向及终末分化过程^[39]。在此过程HIFs主要通过调控重要细胞因子的表达分泌, 以间接方式调控造血功能。

骨髓内膜表面的基质细胞能够分泌可溶性因子CRIPTO, 该基因的表达受HIF1 α 的调控, 该因子与造血干细胞表面的GPR78分子结合, 使干细胞位于氧浓度更低的区域, 并且降低细胞内线粒体活性并增强糖酵解能力, 以维持造血干细胞的静息和稳态^[40]。

在小鼠成骨细胞中条件性敲除*Hif1a*或*Hif2a*会导致骨容量的减少, 机制研究表明, HIFs的下游靶基因*VEGF*表达受到显著削弱, 造成骨血管形成受阻^[41]。另有研究发现, 条件性敲除*Hif1a*或*Hif2a*的小鼠成骨细胞对红系造血的支持能力明显下降, 进一步研究发现, 成骨细胞中HIFs可通过调控EPO的合成和分泌介导对红系生成的调控^[42]。

微环境中内皮细胞在造血中也不可或缺。研究

发现, *Hif2 α* 敲降小鼠出现贫血症状, 骨髓及脾脏中红系祖细胞比例显著下降, 进一步研究揭示, *Hif2 α* 敲降主要造成微环境的造血支持能力不足, 在内皮细胞中进行*Hif2 α* 的挽救实验可以消除小鼠贫血症状。机制研究发现, 内皮细胞表面蛋白VCAM-1与红系祖细胞表面的VLA-4识别结合对于红系分化成熟至关重要, 而*VCAM-1*是HIF2 α 的直接靶基因^[43]。

此外, 有研究表明, 微环境中内皮间充质祖细胞内HIFs可抑制IFN/STAT1程序激活调控其造血支持能力。间充质祖细胞高表达*HIF1 α* 和*HIF2 α* , 敲降*HIF1 α* 或*HIF2 α* 导致细胞内多个干扰素相关基因被显著激活, 并且以STAT1分子依赖方式促进可溶性因子CXCL10的表达, 从而促进造血祖细胞的扩增和分化。在机体有造血需求时, 间充质祖细胞可通过特异性下调HIFs增强其造血支持功能^[44]。

3.3 HIFs在机体多器官水平调控红系生成

HIFs通过调控EPO的合成和分泌参与红系生成是较早报道的生物学功能之一。当机体组织处于生理或病理性缺氧状态时, 骨髓质纤维母细胞感受到低氧环境, HIF α (主要是HIF2 α)蛋白稳定表达, 与*EPO*基因转录起始位点上游6~14 kb的HRE序列结合, 持续激活EPO的合成和分泌, 以满足机体对红细胞的需求^[45]。除感受氧浓度变化外, HIF2 α 可不依赖PHD氧合酶的作用, 而通过被Sirtuin 1(NAD⁺依赖的蛋白去乙酰化酶)去乙酰化, 激活EPO的分泌, 此作用方式将低氧下的氧化还原状态与红系发生紧密联系起来^[46]。

另外, HIF2 α 可调控参与铁运输及释放等相关的多个基因的表达以保证红细胞成熟的原料供应。机体摄入的Fe³⁺在小肠内通过细胞色素DCYTB被还原成Fe²⁺, 之后被二价金属运输蛋白DMT1运输释放进入血液循环, 通过转铁蛋白受体TfRC吸收被红系细胞利用。此过程中的DCYTB1、DMT1及TfRC的表达均受到HIF2 α 的直接调控^[47-49], 为血红蛋白的合成提供原料供应。

4 结语和展望

总之, HIFs在造血过程中发挥重要调控作用。在胚胎期造血阶段, HIFs对于胚胎发育早期心血管完善不可或缺, 并调控不同造血阶段造血干/祖细胞的生成及谱系分化以满足胚胎发育需求; 在成体期造血阶段, HIFs在造血干细胞干性维持中发挥直接

调控作用, 并可通过造血微环境的细胞外间接作用方式调控造血功能。由于造血过程的复杂性及HIF α 蛋白调控的特殊性, HIFs在生理条件下的造血调控功能及分子机制目前尚未被完全揭示。

另外, 有越来越多的研究表明, HIFs直接参与了包括白血病、淋巴瘤、多发性骨髓瘤在内的多种血液系统疾病的发生发展^[50-52], 如骨髓增生异常综合征(myelodysplastic syndrome, MDS)的发生与*DNMT3A*、*TET2*、*Asx11*等多个基因的突变相关, HIF1 α 作为这些突变体的共同下游作用分子促进了MDS的发生发展, 这为MDS的治疗提供了新的药物靶标^[53]。另外, 在遗传性红细胞增多症(congenital erythrocytosis, CE)患者体内发现HIF2 α 的多个突变位点, 目前认为, 这些突变位点阻滞了ODD区脯氨酸的羟基化作用, 导致HIF2 α 蛋白降解过程受阻, 进而造成EPO的持续合成和分泌^[54]; 现阶段用于治疗肾癌(VHL突变导致HIF2 α 蛋白累积)的HIF2 α 特异性抑制剂已处于临床试验和评估阶段^[55-56], 这也为CE患者提供了新的治疗参考方案。

相信随着研究的不断深入, HIFs作为重要的调控因子在生理及病理造血中的功能机制将逐渐得到揭示, 并为造血发育的分子调控网络提供新的解析。

参考文献 (References)

- [1] HAYASHI Y, YOKOTA A, HARADA H, et al. Hypoxia/pseudo-hypoxia-mediated activation of hypoxia-inducible factor-1 α in cancer [J]. *Cancer Sci*, 2019, 110(5): 1510-7.
- [2] MULLER A M, MEDVINSKY A, STROUBOULIS J, et al. Development of hematopoietic stem cell activity in the mouse embryo [J]. *Immunity*, 1994, 1(4): 291-301.
- [3] WHETTON A D, GRAHAM G J. Homing and mobilization in the stem cell niche [J]. *Trends Cell Biol*, 1999, 9(6): 233-8.
- [4] WANG G, JIANG B, RUE E. Hypoxia-inducible factor 1 is a basic-helix-loop-helix-PAS heterodimer regulated by cellular O2 tension [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1995, 92(12): 5510-4.
- [5] RAMAKRISHNAN S K, SHAH Y M. Role of intestinal HIF-2 α in health and disease [J]. *Annu Rev Physiol*, 2016, 78: 301-25.
- [6] LEE F S, PERCY M J. The HIF pathway and erythrocytosis [J]. *Annu Rev Pathol*, 2011, 6: 165-92.
- [7] FAN L, LI J, YU Z, et al. The hypoxia-inducible factor pathway, prolyl hydroxylase domain protein inhibitors, and their roles in bone repair and regeneration [J]. *Biomed Res Int*, 2014, 2014: 239356.
- [8] KIETZMANN T, MENNERICH D, DIMOVA E Y. Hypoxia-inducible factors (HIFs) and phosphorylation: impact on stability, localization, and transactivity [J]. *Front Cell Dev Biol*, 2016, 4: 11.
- [9] PEDERSEN M, LOFSTEDT T, SUN J, et al. Stem cell factor

- induces HIF-1alpha at normoxia in hematopoietic cells [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2008, 377(1): 98-103.
- [10] MAYNARD M A, EVANS A J, SHI W, et al. Dominant-negative HIF-3 alpha 4 suppresses VHL-null renal cell carcinoma progression [J]. *Cell cycle*, 2007, 6(22): 2810-6.
- [11] PASANEN A, HEIKKILA M, RAUTAVUOMA K, et al. Hypoxia-inducible factor (HIF)-3alpha is subject to extensive alternative splicing in human tissues and cancer cells and is regulated by HIF-1 but not HIF-2 [J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2010, 42(7): 1189-200.
- [12] RAVENNA L, SALVATORI L, RUSSO M A. HIF3alpha: the little we know [J]. *FEBS J*, 2016, 283(6): 993-1003.
- [13] DENGLER V L, GALBRAITH M D, ESPINOSA J M. Transcriptional regulation by hypoxia inducible factors [J]. *Crit Rev Biochem Mol Biol*, 2013, 49(1): 1-15.
- [14] 曾东风, 孔佩艳. 低氧诱导因子-1与造血调控[J]. *国际检验医学杂志*(ZENG D F, KONG P Y. Hypoxia inducible factor-1 and hematopoietic regulation [J]. *Int J Lab Med*), 2011, 32(11): 1168-70.
- [15] NOMBELA-ARRIETA C, SILBERSTEIN L E. The science behind the hypoxic niche of hematopoietic stem and progenitors [J]. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*, 2014, 2014(1): 542-7.
- [16] DUNWOODIE S L. The role of hypoxia in development of the mammalian embryo [J]. *Dev Cell*, 2009, 17(6): 755-73.
- [17] DITADI A, STURGEON C M, KELLER G. A view of human haematopoietic development from the Petri dish [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2017, 18(1): 56-67.
- [18] IVANOV S, RYBTSOV S, NG E S, et al. Human haematopoietic stem cell development: from the embryo to the dish [J]. *Development*, 2017, 144(13): 2323-37.
- [19] JULIEN E, EL OMAR R, TAVIAN M. Origin of the hematopoietic system in the human embryo [J]. *FEBS Lett*, 2016, 590(22): 3987-4001.
- [20] SIMON M C, KEITH B. The role of oxygen availability in embryonic development and stem cell function [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2008, 9(4): 285-96.
- [21] KOZAK KR, ABBOTT B, HANKINSON O. ARNT-deficient mice and placental differentiation [J]. *Dev Biol*, 1997, 191(2): 297-305.
- [22] IYER N V, KOTCH L E, AGANI F, et al. Cellular and developmental control of O₂ homeostasis by hypoxia-inducible factor 1α [J]. *Genes Dev*, 1998, 12(2): 149-62.
- [23] IMANIRAD P, DZIERZAK E. Hypoxia and HIFs in regulating the development of the hematopoietic system [J]. *Blood Cells Mol Dis*, 2013, 51(4): 256-63.
- [24] PENG J, ZHANG L, DRYSDALE L, et al. The transcription factor EPAS-1/hypoxia-inducible factor 2alpha plays an important role in vascular remodeling [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2000, 97(15): 8386-91.
- [25] TIAN H, HAMMER R E, MATSUMOTO A M, et al. The hypoxia-responsive transcription factor EPAS1 is essential for catecholamine homeostasis and protection against heart failure during embryonic development [J]. *Genes Dev*, 1998, 12(21): 3320-4.
- [26] COMPERNOLLE V, BRUSSELMANS K, ACKER T, et al. Loss of HIF-2alpha and inhibition of VEGF impair fetal lung maturation, whereas treatment with VEGF prevents fatal respiratory distress in premature mice [J]. *Nat Med*, 2002, 8(7): 702-10.
- [27] ADELMAN D M, MALTEPE E, SIMON M C. Multilineage embryonic hematopoiesis requires hypoxic ARNT activity [J]. *Genes Dev*, 1999, 13(19): 2478-83.
- [28] RAMÍREZ-BERGERON D L, RUNGE A, DAHL K D, et al. Hypoxia affects mesoderm and enhances hemangioblast specification during early development [J]. *Development*, 2004, 131(18): 4623-34.
- [29] IMANIRAD P, SOLAIMANI KARTALAEI P, CRISAN M, et al. HIF1alpha is a regulator of hematopoietic progenitor and stem cell development in hypoxic sites of the mouse embryo [J]. *Stem Cell Res*, 2014, 12(1): 24-35.
- [30] HARRIS J M, ESAIN V, FRECHETTE G M, et al. Glucose metabolism impacts the spatiotemporal onset and magnitude of HSC induction *in vivo* [J]. *Blood*, 2013, 121(13): 2483-93.
- [31] GERRI C, MARASS M, ROSSI A, et al. Hif-1a and Hif-2a regulate hemogenic endothelium and hematopoietic stem cell formation in zebrafish [J]. *Blood*, 2018, 131(9): 965-73.
- [32] YOON D, PASTORE Y D, DIVOKY V, et al. Hypoxia-inducible factor-1 deficiency results in dysregulated erythropoiesis signaling and iron homeostasis in mouse development [J]. *J Biol Chem*, 2006, 281(35): 25703-11.
- [33] NOMBELA-ARRIETA C, PIVARNIK G, WINKEL B, et al. Quantitative imaging of haematopoietic stem and progenitor cell localization and hypoxic status in the bone marrow microenvironment [J]. *Nat Cell Biol*, 2013, 15(5): 533-43.
- [34] TAKUBO K, GODA N, YAMADA W, et al. Regulation of the HIF-1alpha level is essential for hematopoietic stem cells [J]. *Cell Stem Cell*, 2010, 7(3): 391-402.
- [35] VUKOVIC M, SEPULVEDA C, SUBRAMANI C, et al. Adult hematopoietic stem cells lacking Hif-1a self-renew normally [J]. *Blood*, 2016, 127(23): 2841-6.
- [36] GUITART A V, SUBRAMANI C, ARMESILLA-DIAZ A, et al. Hif-2alpha is not essential for cell-autonomous hematopoietic stem cell maintenance [J]. *Blood*, 2013, 122(10): 1741-5.
- [37] KROCK B L, EISINGER-MATHASON T S, GIANNOUKOS D N, et al. The aryl hydrocarbon receptor nuclear translocator is an essential regulator of murine hematopoietic stem cell viability [J]. *Blood*, 2015, 125(21): 3263-72.
- [38] ROUAULT-PIERRE K, LOPEZ-ONIEVA L, FOSTER K, et al. HIF-2alpha protects human hematopoietic stem/progenitors and acute myeloid leukemic cells from apoptosis induced by endoplasmic reticulum stress [J]. *Cell Stem Cell*, 2013, 13(5): 549-63.
- [39] ANTHONY B A, LINK D C. Regulation of hematopoietic stem cells by bone marrow stromal cells [J]. *Trends Immunol*, 2014, 35(1): 32-7.
- [40] MIHARADA K, KARLSSON G, REHN M, et al. Cripto regulates hematopoietic stem cells as a hypoxic-niche-related factor through cell surface receptor GRP78 [J]. *Cell Stem Cell*, 2011, 9(4): 330-44.
- [41] WANG Y, WAN C, DENG L, et al. The hypoxia-inducible factor alpha pathway couples angiogenesis to osteogenesis during skeletal development [J]. *J Clin Invest*, 2007, 117(6): 1616-26.
- [42] RANKIN E B, 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.

- [43] YAMASHITA T, OHNEDA O, SAKIYAMA A, et al. The microenvironment for erythropoiesis is regulated by HIF-2 α through VCAM-1 in endothelial cells [J]. *Blood*, 2008, 112(4): 1482-92.
- [44] GUARNERIO J, COLTELLA N, ALA U, et al. Bone marrow endosteal mesenchymal progenitors depend on HIF factors for maintenance and regulation of hematopoiesis [J]. *Stem Cell Reports*, 2014, 2(6): 794-809.
- [45] HAASE V H. Regulation of erythropoiesis by hypoxia-inducible factors [J]. *Blood Rev*, 2013, 27(1): 41-53.
- [46] DIOUM E M, CHEN R, ALEXANDER M S, et al. Regulation of hypoxia-inducible factor 2 α signaling by the stress-responsive deacetylase sirtuin 1 [J]. *Science*, 2009, 324(5932): 1289-93.
- [47] SHAH Y M, MATSUBARA T, ITO S, et al. Intestinal hypoxia-inducible transcription factors are essential for iron absorption following iron deficiency [J]. *Cell Metab*, 2009, 9(2): 152-64.
- [48] TACCHINI L, BIANCHI L, BERNELLI-ZAZZERA A, et al. Transferrin receptor induction by hypoxia. HIF-1-mediated transcriptional activation and cell-specific post-transcriptional regulation [J]. *J Biol Chem*, 1999, 274(34): 24142-6.
- [49] LOK C N, PONKA P. Identification of a hypoxia response element in the transferrin receptor gene [J]. *J Biol Chem*, 1999, 274(34): 24147-52.
- [50] TAKUBO K, SUDA T. Roles of the hypoxia response system in hematopoietic and leukemic stem cells [J]. *Int J Hematol*, 2012, 95(5): 478-83.
- [51] ROUAULT-PIERRE K, HAMILTON A, BONNET D. Effect of hypoxia-inducible factors in normal and leukemic stem cell regulation and their potential therapeutic impact [J]. *Expert Opin Biol Ther*, 2016, 16(4): 463-76.
- [52] MAGLIULO D, BERNARDI R. HIF- α factors as potential therapeutic targets in leukemia [J]. *Expert Opin Ther Targets*, 2018, 22(11): 917-28.
- [53] HAYASHI Y, ZHANG Y, YOKOTA A, et al. Pathobiologic pseudohypoxia as a putative mechanism underlying myelodysplastic syndromes [J]. *Cancer Discov*, 2018, 8(11): 1438-57.
- [54] BENTO C. Genetic basis of congenital erythrocytosis [J]. *Int J Lab Hematol*, 2018, doi: 10.1111/ijlh.12828.
- [55] CHEN W, HILL H, CHRISTIE A, et al. Targeting renal cell carcinoma with a HIF-2 antagonist [J]. *Nature*, 2016, 539(7627): 112-7.
- [56] MARTÍNEZ-SÁEZ O, GAJATE BORAU P, ALONSO-GORDOA T, et al. Targeting HIF-2 α in clear cell renal cell carcinoma: a promising therapeutic strategy [J]. *Crit Rev Oncol Hematol*, 2017, 111: 117-23.