

## 氧气对基因组的结构与化学影响

侯春英, 卢 多\*

(中国医学科学院、北京协和医学院药物研究所, 天然药物活性物质与功能国家重点实验室, 北京 100050)

**摘要:** 氧气是生命活动的必要元素, 主要在线粒体参与能量代谢过程。对于包裹在细胞核里的基因组, 氧气可以通过许多渠道对其结构和化学性质进行调控, 其中活性氧是一类重要的信使分子, 对基因组进行种类繁多的修饰, 而铁离子提供了多方面的辅助作用。它们的共同作用影响到基因组复制、转录和损伤修复等几乎所有的生化功能。在此基础上, 环境氧浓度的变化, 特别是多种主要疾病和重要生理过程相关的低氧环境, 可以引起基因组层面的响应。鉴于引起这一系列基因组上变化的因子有可能成为药物靶标, 值得系统深入地研究。在此, 作者汇总了活性氧、铁离子和细胞低氧对基因组的影响, 并简单讨论相关的药物分子。

**关键词:** 基因组结构; 氧; 活性氧; 铁; 细胞低氧

中图分类号: R965 文献标识码: A 文章编号: 0513-4870(2020)08-1744-10

## Oxygen impact on genome structure and chemistry

HOU Chun-ying, LU Duo\*

(The State Key Laboratory of Bioactive Substance and Function of Natural Medicines, Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Beijing 100050, China)

**Abstract:** Oxygen is an essential element for life, which is mostly consumed at mitochondria for energy metabolism. For the genome inside nucleus, oxygen conducts structural regulations and chemical modifications through multiple pathways, where reactive oxygen species (ROS) serve as important messenger molecules. The highly activated ROS have the ability to produce different kinds of DNA lesions, while ferrous ions provide supports in many forms. Under the combinatorial action of oxygen and iron, almost all the genomic biochemical processes, such as replication, transcription and DNA damage repair are affected. Moreover, the variation of environmental oxygen concentration, particularly hypoxia that presents in many major diseases and critical physiological stages, provokes the responds at the genomic level. While the factors that lead to these genomic alterations are potential drug targets and deserve systematic investigations, herein, we collect the existing knowledge in the effects of ROS, ferrous ion and cell hypoxia on genome, along with brief discussions of the related drug molecules.

**Key words:** genomic structure; oxygen; reactive oxygen species; iron; cell hypoxia

氧气是众所周知的生命活动必需元素, 在细胞里主要参与能量代谢过程。氧气通过肺进入人体, 在环境浓度高的情况下结合血红蛋白, 通过血液循环系统被携带到各个组织器官; 在环境浓度低的情况下, 氧气与血红蛋白解离而得到释放。氧气通过渗透作用进入

细胞, 大部分在线粒体得到利用, 参加呼吸链反应, 分解能量物质产生三磷酸腺苷 (adenosine triphosphate, ATP), 最终与氢结合生成水。

氧气可以通过酶的作用形成活性氧 (reactive oxygen species, ROS)。分布在细胞各个区域的多种酶具备该催化功能, 包括: 线粒体上呼吸链相关酶、胞膜上的烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸氧化酶 [nicotinamide adenine dinucleotide phosphate (NADPH) oxidase, NOX]、过氧化物酶体、内质网上帮助蛋白折叠形成二硫键的

收稿日期: 2020-05-25; 修回日期: 2020-05-27.

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (31770804).

\*通讯作者 Tel: 86-10-63039979, E-mail: luduo@imm.ac.cn

DOI: 10.16438/j.0513-4870.2020-0815

相关酶及NADPH细胞色素P450还原酶等<sup>[1,2]</sup>。其中,呼吸链是活性氧产生的主要场所,生成的ROS主要包括超氧阴离子、过氧化氢(H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)和羟基自由基等。超氧阴离子可以在超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)的作用下快速转化为H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>;而在二价铁或一价铜离子的作用下,H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>可通过Fenton或者Haber Weiss反应生成高度活化的羟基自由基。反应的另一个产物三价铁或二价铜离子又会被超氧阴离子还原到低价态,从而得到循环利用。由此可见,在氧通过ROS的形式起作用的过程中,金属离子起到重要作用,特别是人体内含量很高的过渡金属铁离子。

在细胞中,低浓度ROS对细胞功能有调节作用,但高浓度时会产生破坏作用,导致细胞死亡。过量ROS产生可以导致细胞氧化应激,进而可能引起心血管疾病、神经退行性疾病和癌症。因此,ROS浓度需要受到严格控制,细胞中各种还原酶(SOD和硫氧还蛋白还原酶等)和还原性物质(谷胱甘肽和维生素C等)将对其进行中和反应<sup>[3]</sup>。

人体内多数细胞含有3%~5%氧气,但是某些组织可以处于缺氧的环境里(低于2%),如实体肿瘤细胞、间充质干细胞、胚胎发育特殊阶段及某些疾病状态下的肺内皮细胞等。细胞可以检测到缺氧环境的出现,通过多个信号通路进行相应的调节,其中当前研究相对清晰的是缺氧诱导因子(hypoxia inducible factor, HIF)信号通路。在缺氧的环境中,细胞表现出一些特殊的氧利用模式,包括ROS浓度的变化。有研究显示在缺氧的环境下,ROS在细胞中浓度变化是不均一的,呈现一定的区域分布特点,其中细胞质和线粒体膜间隙中ROS浓度呈现上升趋势,而在线粒体基质表现为降低的现象<sup>[4]</sup>。

对于氧气这样一个生命活动所必需的基本物质,细胞进化出了复杂的调控机制,包括在基因组层面的调控,同时氧也通过各种渠道影响基因。在此,作者讨论了氧气通过ROS、与ROS高度相关的铁离子及缺氧相关的信号通路3个方面对基因组的影响,着重分析它们对基因立体结构及化学性质的影响。

## 1 ROS对基因组结构的影响

**1.1 细胞核内ROS** 现有研究显示ROS在细胞中可能存在区域性分布的特征,其中线粒体和细胞核的氧化水平相对偏低,尽管线粒体是利用氧并产生ROS的主要场所。在线粒体和细胞核里,谷胱甘肽和硫氧还蛋白还原酶对维持其环境的还原状态非常重要<sup>[5,6]</sup>。

细胞核内ROS有几种可能的产生方式。首先,ROS可以通过渗透作用或特定的水通道转运,穿越细胞的膜结构,在细胞中移动最终达到细胞核<sup>[7]</sup>。有研

究显示ROS可以作为线粒体与细胞核之间逆行信号的一部分,进入细胞核。当线粒体持续大量产生超氧阴离子时,由SOD转化生成的H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>被释放,通过渗透进入细胞核,导致其在细胞核里的浓度升高。现有的观察发现,这部分自由基主要作用在染色体端粒上,并造成DNA骨架双链断裂,而对染色体其他部分没有损害<sup>[8]</sup>。染色体端粒的损伤可以导致其长度的缩短,这是细胞老化或癌变的一个特征<sup>[9]</sup>。其次,ROS可以在紫外线和自然界背景电离辐射等外界作用下,分别通过敏感物质传递能量给氧分子<sup>[10]</sup>、或直接活化水分子而产生<sup>[2]</sup>。另外,有研究报道在植物的细胞核里,可能通过酶催化反应直接产生H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>,该反应受钙离子浓度的影响,但具体是哪种酶尚不清楚<sup>[11]</sup>。

**1.2 ROS作用于基因组** 活性氧可以影响细胞核的大小与形态,部分源于对核膜上核纤层(lamin)的破坏<sup>[12,13]</sup>。ROS可以对核纤层组成蛋白lamin A的羧基端半胱氨酸的巯基基团进行氧化修饰,形成磺酸基或者亚硫酸基,进而破坏由其介导的蛋白分子间相互作用。常态细胞中有许多异染色质附着在核纤层上,形成所谓的核纤层结合域(lamin associated domain, LAD),属于一种基因抑制区域。当核纤层受到破坏,这些染色质将被释放,由此引起细胞核中异染色质总量的减少。

尽管细胞核内环境处于相对还原状态,过量ROS可以引起脱氧核糖核酸(deoxyribonucleic acid, DNA)碱基损伤和骨架断裂。在各种ROS中,超氧阴离子在水环境里对DNA的损伤作用并不强,而通过Fenton反应产生的羟基自由基可以对DNA造成很大破坏。基因紧密缠绕的核小体结构可以帮助DNA避免ROS造成的损伤<sup>[14]</sup>。

ROS对DNA的损伤普遍出现在碱基上。一般认为每个细胞里都有上万个损伤碱基<sup>[15]</sup>,包括8-氧-7-氢鸟嘌呤(8-oxoG)等近百种形式<sup>[16]</sup>。8-oxoG在各种损伤中最常见(每个细胞里有几千个)<sup>[15]</sup>,并且该损伤碱基能够与腺嘌呤(A)形成碱基对,而不是正常的鸟嘌呤/胞嘧啶(G/C)碱基对,因此可以引发进一步的基因突变<sup>[14]</sup>。尽管一般认为损伤的碱基需要修复来维持细胞的正常功能,也有观点认为当不能及时修复时,这些特殊的损伤碱基有可能作为一种表观遗传标记为基因调控所用<sup>[15]</sup>。

对8-oxoG在细胞核中进行空间定位发现,其主要分布在编码基因缺乏的位置,且在空间上与LAD区域可较好重叠<sup>[17]</sup>。考虑到活性被抑制的LAD处于核膜附近,这个结果从某种意义上似乎提示,ROS通过扩散进入细胞核后,首先遇到在核膜附近的DNA,从而

引起比其他部位更严重的破坏。另有研究发现,当负责碱基修复的酶被破坏后,损伤碱基的分布不再与基因活性呈相关性。这说明活性编码基因在损伤后更容易得到修复,观测到碱基损伤与其修复效率高度相关<sup>[18]</sup>。对损伤碱基的修复一般是通过去碱基修复(base excision repair, BER)机制,其中去嘌呤去嘧啶(apurine/apyrimidine, AP)内切酶会引起DNA弯曲并且在磷酸二酯键部位切开核酸骨架,形成暂时的单链DNA断裂<sup>[19]</sup>。

有研究认为由ROS引起的DNA单链断裂在哺乳动物细胞中频繁发生,每个细胞每小时会发生约2 300次<sup>[20]</sup>。导致骨架断裂有两种方式:水解磷酸二酯键和通过去碱基步骤在核糖上形成断裂<sup>[21]</sup>。DNA双链断裂的后果更为严重,而ROS浓度的提升会引起DNA双链断裂的增加。一方面是因为ROS直接作用在DNA骨架上的几率上升;另一方面是由于碱基损伤的增加而引起的BER反应增加。当两个BER反应在相近的位点时,AP内切酶同时切割两条链就会产生双链断裂。

短期ROS升高可以引起组蛋白H2AX磷酸化水平的升高。139位丝氨酸(Ser139)位点磷酸化的H2AX被称为 $\gamma$ H2AX,会快速出现在双链DNA断裂位置,招募一系列蛋白因子进而启动修复。PI3K家族蛋白激酶ATM、ATR、DNA-PK负责磷酸化H2AX,相关的激酶抑制剂渥曼青霉素(wortmannin)可以阻止该磷酸化<sup>[22]</sup>。长期高水平ROS存在的情况下,细胞可以通过E3连接酶RNF168,对H2AX的119位赖氨酸进行长链泛素化修饰,引起该蛋白大量降解。其结果导致DNA损伤修复遭到破坏,引起基因组稳定性的降低<sup>[23]</sup>。需要说明的是,作为双链DNA断裂的响应机制的一部分,在H2AX磷酸化后,RNF168会对H2AX的15位赖氨酸进行单泛素化修饰。这是同源重组修复或非同源末端连接修复的中间步骤<sup>[24]</sup>。至于ROS通过什么途径影响RNF168介导的H2AX泛素化程度,尚未见到报道。

激活ROS的产生可能导致细胞死亡,或有利于清除肿瘤细胞;而对其进行中和可能避免炎症的过度产生或细胞的癌变,因此两种策略都有临床价值。常见的一些营养剂具备调节ROS的功能,如叶酸是合成甲基转移酶催化反应配体S-腺苷甲硫氨酸(S-adenosylmethionine, SAM)所需的前体化合物,在协助DNA和染色质组蛋白甲基化水平提升的同时,会导致氧化应激水平的升高;维生素C和E都可以起到中和ROS的作用,而药用植物提取物普天登(protandim)被认为可以提升SOD和过氧化氢酶(catalase)的表达,由此降

低ROS浓度<sup>[25]</sup>。除直接针对ROS之外,许多靶向DNA修复相关蛋白的药物已经在治疗癌症的研究中得到广泛关注,如:针对去核苷修复的靶向ERCC1-XPF蛋白间相互作用界面的儿茶酚类化合物、针对去碱基修复的AP内切酶抑制剂、针对同源重组的Rad51抑制剂,以及前面提到的针对双链断裂的PI3K抑制剂等。对此Gavande等<sup>[26]</sup>进行了更详细的介绍。

## 2 铁对基因组结构的影响

### 2.1 铁硫簇作用于基因组

氧对基因组的作用大量依靠铁离子的辅助。铁在细胞中主要以铁硫簇、血红素及游离铁的形式存在,其中铁硫簇对氧非常敏感,可能直接影响作用在DNA上相关蛋白的活性,如参与基因复制的起始酶(primase)和来自细菌的转录因子FNR。起始酶由两个亚基组成(大亚基和小亚基),其大亚基PRIM2的C端有一个结合4Fe-4S铁硫簇位点。当细胞中SOD受损时,PRIM2结合铁硫簇受限,而没有铁硫簇的起始酶无法启动合成RNA引物的功能<sup>[27]</sup>。FNR同样结合1个4Fe-4S铁硫簇,通过响应氧浓度的变化来调节细菌在有氧与无氧代谢之间的转换。在大肠杆菌中,氧气可以导致4Fe-4S铁硫簇转化为2Fe-2S形式,从而引起FNR二聚体的解离,导致蛋白结合DNA能力的丧失<sup>[28]</sup>。有意思的是,在真核细胞中大量参与基因复制和修复的酶含有铁硫簇(表1),包括:DNA复制机器DNA聚合酶 $\alpha$ (DNA polymerase  $\alpha$ , Pol $\alpha$ )、DNA聚合酶 $\epsilon$ (DNA polymerase  $\epsilon$ , Pol $\epsilon$ )、DNA聚合酶 $\delta$ (DNA polymerase  $\delta$ , Pol $\delta$ )的催化单元POLA、POLE1和POLD1、跨损伤DNA合成酶 $\zeta$ (DNA polymerase  $\zeta$ , Pol $\zeta$ )的催化单元无倒退3类似蛋白(reversionless 3-like, REV3L)、DNA起始酶的PRIM2亚基、解旋酶DNA复制解旋酶/核酸酶2(DNA replication helicase/nuclease 2, Dna2)、D组着色性干皮病(xerodermapigmentosum complementation group D, XPD)、DEAD/H-box解旋酶11(DEAD/H-box helicase 11, DDX11)、端粒延伸解旋酶1调节因子(Regulator of telomere elongation helicase 1, RTEL1)和补体J组范可尼贫血(fanconi anemia of complementation group J, FANCI)、DNA损伤修复的外切酶5(exonuclease 5, EXO5),以及去碱基修复的糖苷酶内切酶III类似蛋白1(endonuclease III-like protein 1, NTHL1)和MutY。由此不难理解在缺铁情况下,基因组会变得不稳定<sup>[27]</sup>。

在负责DNA合成的4个B族DNA聚合酶Pol $\alpha$ 、Pol $\epsilon$ 、Pol $\delta$ 和Pol $\zeta$ 催化单元中,都有1个序列比较保守的羧基端,含有2个金属离子结合域CysA和CysB。其中,CysA结合锌离子,而CysB一般认为会结合铁硫簇。突变失去铁硫簇结合能力的聚合酶尽管还保留一

**Table 1** Iron-containing proteins involved in gene operations inside nucleus. REV3L: Reversionless 3-like; Dna2: DNA replication helicase/nuclease 2; XPD: Xeroderma pigmentosum complementation group D; DDX11: DEAD/H-box helicase 11; RTEL1: Regulator of telomere elongation helicase 1; FANCF: Fanconi anemia of complementation group F; EXO5: Exonuclease 5; NTHL1: Endonuclease III-like protein 1; Hap1/2/3/4/5: Heme activator protein 1/2/3/4/5; Bach1: BTB and CNC homology 1; HO-1: Heme oxygenase 1; NPAS2: Neuronal PAS domain protein 2; NFκB: Nuclear factor κB; p53R2: p53-inducible ribonucleotide reductase small subunit 2-like protein; TETs: Ten-eleven translocation proteins; KDMs: Lysine demethylases; 4Fe-4S: Iron-sulfur cluster; 2-OG: 2-Oxoglutaric acid

Protein	Iron form	Function
POLA	4Fe-4S	Catalytic subunit of Polα in DNA synthesis
POLE1	4Fe-4S	Catalytic subunit of Polε in DNA synthesis
POLD1	4Fe-4S	Catalytic subunit of Polδ in DNA synthesis
REV3L	4Fe-4S	Catalytic subunit of Polζ in DNA synthesis
Dna2	4Fe-4S	Gene replication and homologous recombination repair
XPD	4Fe-4S	Transcription and nucleotide excision repair
DDX11	4Fe-4S	Sister chromosome cohesion and DNA repair
RTEL1	4Fe-4S	Maintenance of telomere-length
FANCF	4Fe-4S	DNA crosslink repair and double-strand break repair
EXO5	4Fe-4S	DNA repair
NTHL1	4Fe-4S	Base excision repair
MutY	4Fe-4S	Base excision repair
ELP3	4Fe-4S	PolII transcription
Hap1	Heme	Transcription regulation of genes related to respiratory and oxidative damage
Hap2/3/4/5	Heme	Transcription regulation of respiratory genes
Bach1	Heme	Transcription regulation of hememetabolism
HO-1	Heme	Transcription regulation in response of oxidative stress
Rev-erb-α/β	Heme	Transcription regulation of circadian rhythm
NPAS2	Heme	Transcription regulation of circadian rhythm
p53	Heme	DNA repair
H-Ferritin	Fe <sup>3+</sup>	Storage of ferric ions
Pirin	Fe <sup>3+</sup> /Fe <sup>2+</sup>	Transcription regulation through NFκB binding
p53R2	Fe <sup>2+</sup>	Ribonucleotide reductase in response of DNA damage
TETs	Fe <sup>2+</sup> /2-OG	DNA dioxygenases
KDMs	Fe <sup>2+</sup> /2-OG	Histone demethylases

定的基础活性,但其催化能力明显下降<sup>[29]</sup>。

Dna2是一个多功能蛋白,含有1个核酸酶域和1个解旋酶域,在基因复制、端粒维护和同源重组修复等方面起作用。其核酸酶域含有1个铁硫簇结合位点。突变铁硫簇结合氨基酸可以导致其内切酶功能的丧失,同时也会破坏其解旋酶的活性。这是因为其两个功能域存在相互关联<sup>[30]</sup>。XPD也是1个解旋酶,与DDX11、RTEL1和FANCF蛋白组成一个解旋酶亚家族。该家族都含有2个解旋酶域、1个Arch域和1个铁硫簇结合域。作为转录因子IIH (transcription factor IIH, TFIIH)的一个组成部分,XPD参加转录和去核苷修复。该酶需要结合铁硫簇后才能组装到TFIIH上。缺失铁硫簇不会完全影响转录,但是对去核苷修复影响非常严重。DDX11解旋酶在序列上与XPD有一定的相似性。有研究显示DDX11在保持姊妹染色体粘连、DNA复制叉稳定、异染色质空间组织及DNA修复方面都有一定的作用<sup>[31]</sup>。铁硫簇在DDX11中的作用尚不清楚,但是因为序列的相似性,怀疑与在XPD的模式相近。RTEL1主要在保持端粒长度、阻止同源重

组、辅助DNA双链断裂修复方面起作用。有研究显示其氮端铁硫簇结合区对ROS敏感<sup>[32]</sup>。该亚家族的第4个蛋白FANCF除了4个类似的结构域外,在羧基端还有1个结合BRAC1的结构域。该蛋白在双链间偶联修复和双链断裂修复中起作用<sup>[33]</sup>。

在含铁硫簇的水解酶中,EXO5是一个在DNA修复中起作用的单链DNA双向切酶。铁硫簇链接了其两端序列。尽管催化位点由中间序列构成,失去铁硫簇将影响其DNA结合能力及活性<sup>[34]</sup>。NTHL1和MutY是去碱基修复(BER)中的糖苷水解酶,负责从脱氧核糖上水解受损伤或错配的碱基。当前对催化机制的认识主要是参考它们在细菌中的同源蛋白。铁硫簇在这些蛋白中同样没有直接参与催化,而是协助蛋白对DNA的结合<sup>[35-37]</sup>。

此外,伸展子(elongator)复合物的组成蛋白ELP3在氮端也结合铁硫簇。该复合物具备多种生物功能,包括与RNA聚合酶PolII结合参与转录。失去铁硫簇会破坏伸展子的完整性及其与辅因子的结合<sup>[38]</sup>,但是对转录活性的影响当前还不清楚。

通过以上描述可以看到,在这些蛋白中铁硫簇更多的是在扮演对其催化功能进行调节的角色,而没有直接参与到催化中心。这个现象可能显示了铁硫簇通过感受氧的变化对酶活性进行调节的作用。

**2.2 血红素作用于基因组** 血红素可以与 $\text{H}_2\text{O}_2$ 反应,在维生素C等还原因子的辅助下作为清除ROS的一部分,但是在还原因子缺乏的情况下,该反应可以引起对含血红素蛋白的破坏<sup>[39]</sup>。在细胞核中血红素结合蛋白主要以转录因子的形式存在[如BTB和CNC同源蛋白1(BTB and CNC homolog 1, Bach1)],调控下游血红蛋白等呼吸及炎症相关蛋白的表达(表1)<sup>[40-42]</sup>。一个比较特殊的调控蛋白是血红素氧化酶1(heme oxygenase 1, HO-1)。这个蛋白一般在内质网中对血红素进行氧化分解,产生一氧化碳。然而有研究发现该蛋白也出现在细胞核中,不再行使其催化作用,而是作为转录因子调控下游基因表达,对抗氧化应激<sup>[43]</sup>。使用氯化血红素处理细胞,可以提升细胞核中血红素氧化酶的水平。另外,一个有意思的发现是癌症相关的关键蛋白p53含有1个血红素结合位点。结合血红素会使p53与DNA解离,蛋白转移出细胞核,进入细胞质并降解<sup>[44]</sup>。由于p53大量介入各种DNA修复机制中,失去p53保护的基因组会出现DNA损伤增多的现象<sup>[45,46]</sup>。

**2.3 铁离子作用于基因组** 使用大鼠肝细胞的研究发现,可被螯合的铁离子在细胞核中的含量高于细胞质和线粒体<sup>[47]</sup>。游离的铁离子可以直接结合DNA上G(鸟嘌呤)碱基的7位氮上,协助 $\text{H}_2\text{O}_2$ 在一些特定序列上(如RTGR, R代表嘌呤)对临近脱氧核糖的剪切,导致DNA链断裂<sup>[48]</sup>。这也可以部分解释前面所提到的,由线粒体传递到细胞核的逆行信号中 $\text{H}_2\text{O}_2$ 在染色体端粒位置进行DNA剪切的现像,原因之一或许是因为端粒序列富含鸟嘌呤。

对铁在细胞核中分布的研究发现,尽管在各个细胞中铁含量与分布存在很大差异,在核膜附近经常可以观测到铁离子浓度相对比较高<sup>[49]</sup>。这个发现与碱基损伤出现在靠近核膜的LAD联系在一起,似乎指向一个比较有意思的推论,即: $\text{H}_2\text{O}_2$ 通过渗透进入细胞核,被核膜附近的铁离子经过Fenton反应转化为高活性的羟基自由基,进而产生对DNA的损伤。如果这个推论成立,那么铁离子在细胞核中分布的机制需要得到进一步的研究。有研究显示铁离子存储蛋白--铁蛋白的H亚基(H-ferritin)能够进入细胞核,且可以与DNA结合<sup>[50]</sup>。与游离铁离子作用相似,该结合能够引发DNA链上断裂缺口的产生,但在动力学上有明显的滞后,由此怀疑H亚基进入细胞核是为了延缓游离铁离子对基因组的破坏。

除铁蛋白之外,细胞核中不通过铁硫簇或血红素而直接结合铁离子的蛋白还有Pirin、p53R2和一大类含铁氧化酶(表1)。Pirin是一个NF $\kappa$ B结合蛋白,含有1个铁离子。当三价铁离子被还原到二价时引起构象变化,导致复合物解离,由此影响NF $\kappa$ B与一些特定DNA位点的结合<sup>[51]</sup>。p53R2是一个响应DNA损伤的核苷还原酶,为DNA修复提供三磷酸脱氧核糖。该蛋白活性中心结合两个铁离子,与氧分子一起参与活化配体分子<sup>[52]</sup>。

细胞中有一类含铁氧化酶,使用氧分子和 $\alpha$ -酮戊二酸(2-oxoglutaric acid, 2-OG),在铁离子的催化下对底物蛋白或核酸进行修饰。这包括细胞核中负责表观遗传修饰的十一转座(ten-eleven translocation, TET)蛋白和Jumonji类赖氨酸去甲基化酶(lysine demethylase, KDM)等<sup>[53]</sup>。TET蛋白会对甲基化碱基进一步地氧化形成羟甲基。这被认为是DNA碱基去甲基化过程中的一步,因为该碱基最终可能被DNA损伤修复系统识别而以一个没有任何修饰的碱基替代。Jumonji类KDM负责对组蛋白上甲基化修饰的赖氨酸进行去甲基化反应。这样的修饰可以引起核小体结构状态的变化,从而影响缠绕在上面的基因打开或关闭。

此外,细胞质中的脯氨酸羟化酶(prolyl hydroxylase, PHD)蛋白同样属于该类含铁氧化酶,可以对HIF1 $\alpha$ 上特定的脯氨酸进行氧化而形成翻译后修饰,进而通过泛素化进入蛋白酶体降解通道。在氧浓度或铁离子浓度降低的情况下,PHD作用降低,HIF1 $\alpha$ 稳定性提升,有机会与HIF1 $\beta$ 结合,进入细胞核,通过转录调控下游基因表达,引起缺氧应激反应。另一个可以对HIF1 $\alpha$ 进行2-OG依赖性修饰的是HIF抑制因子(factor inhibiting HIF, FIH)。这个蛋白对HIF1 $\alpha$ 和HIF2 $\alpha$ 蛋白C端的一个天冬酰胺进行羟基化修饰,从而阻碍它们结合组蛋白乙酰转移酶p300,导致许多氧诱导基因的表达受阻<sup>[54]</sup>。需要说明的是,PHD和FIH虽然主要在细胞质中起作用,但在细胞核中也有少量分布,行使一些其他的功能<sup>[55,56]</sup>。

有研究显示缺铁在健康的人群中比较普遍,而且中长期缺铁与全因素导致的死亡率相关<sup>[57]</sup>。铁补充剂是临床针对缺铁性贫血的治疗药物,常见的有硫酸亚铁和富马酸亚铁。过量的铁也会引起细胞的损伤,这种情况出现在铁过载类疾病中,如长期输血的患者和中间型 $\beta$ 地中海贫血患者。相对应的很多铁螯合剂可以用于治疗该类疾病,如去铁胺(deferoxamine, DFO)。作为研究工具,使用DFO可以有效地抑制Jumonji类去甲基酶的功能,另外DFO处理的细胞会表现出细胞核内DNA单链断裂减少的现象<sup>[39]</sup>。此外,靶向铁死亡

机制的药物研究近些年受到较多关注<sup>[58]</sup>。由于铁死亡直接与基因组之间作用的报道当前比较匮乏, 作者不再讨论相关药物研发的工作。

### 3 缺氧对基因组结构的影响

氧在各个组织中不是均一分布的。即使在一个组织中, 在不同的生理状态下氧的浓度还会有所波动。一个常见的生理状态是缺氧, 如当肺功能受损或生活在高海拔地区。在缺氧的情况下, 基因组的结构也会相应地发生变化(图1)。

缺氧可以使细胞在全基因组水平上产生结构变化, 如在缺血状态下(同时缺少氧和养分), 有报道显示染色体整体结构会产生变化, 染色质会发生聚集现象<sup>[59]</sup>。CTCF(CCCTC binding factor)和cohesin是构建基因组立体结构单元染色质环的两个主要成分, 而有研究显示在缺氧的情况下, CTCF可以发生去类泛素蛋白(small ubiquitin-related modifier, SUMO)化修饰<sup>[60]</sup>。当CTCF失去SUMO修饰后, 有可能影响其与cohesin的组成亚基Rad21相互作用, 由此暗示缺氧可能对染色质环结构乃至基因组空间结构产生影响。尽管如此, 针对响应缺氧的一类关键转录因子HIF的研究显示, 其DNA上的作用位点处于在正常状态下就已经展开的染色体区域上<sup>[61]</sup>, 且与其相应的染色质环也是在正常状态下就已经形成<sup>[62]</sup>, 而不是由于缺氧诱导产生的。

许多关于缺氧的研究围绕着HIF展开, 因为它接受感应氧水平变化蛋白PHD和FIH的修饰, 进而通过转录, 调控下游一系列缺氧相关基因的表达。尽管HIF作用位点不需要基因组改变其染色质环的结构, 已有研究发现HIF与多个染色质重塑复合物成分相互作用, 提示HIF可能通过改变局部核小体的排布行使其生物学功能。当前已知的ATP依赖型染色质重塑复合物有4类: 切换/蔗糖不发酵复合物(switch/sucrose non-fermentable complex, SWI/SNF)、色结构域解旋酶DNA结合蛋白复合物(chromodomain helicase DNA binding protein complex, CHD)[包括核小体重塑及去乙酰酶复合物(nucleosome remodeling and deacetylase complex, NuRD)]、模仿切换复合物(imitation switch complex, ISWI)和肌醇需求蛋白80复合物(inositol-requiring protein 80 complex, INO80), 而HIF至少与其中的3个相关。

有研究显示, HIF1 $\alpha$ 对一些下游基因的作用, 需要SWI/SNF复合物组成成分Brahma同源蛋白1/Brahma同源蛋白(Brahma homolog 1/Brahma homolog, BRG1/BRM)和BRG1结合因子57(BRG1-associated factor 57, BAF57)的参与, 甚至HIF1 $\alpha$ 基因本身的表达也受BRG1的影响<sup>[63-65]</sup>。相类似的, NuRD复合物成分瘤转

移相关蛋白1(metastasis-associated protein 1, MTA1)也可以结合HIF1 $\alpha$ 。当MTA1高表达时, 可以提升HIF1 $\alpha$ 的调控功能。此外, MTA1可以通过提升HDAC1的表达, 对HIF1 $\alpha$ 进行去乙酰基化修饰, 从而提高其稳定性<sup>[66]</sup>。另有研究显示, 在缺氧状态下HIF1 $\alpha$ 与NuRD复合物组分CHD4同时出现在*Ripk3*启动子区域, 通过对*Ripk3*启动子区域进行去乙酰基化修饰而抑制受体作用丝/苏氨酸蛋白激酶3(receptor-interacting serine/threonine-protein kinase 3, RIPK3)的表达, 从而避免上皮细胞程序性坏死, 以及因此在小鼠胚胎发育中引起的由于血管破裂而导致的死亡<sup>[67]</sup>。重塑复合物INO80的AAA+ATP酶组分Reptin和Pontin缺氧情况下可以被组蛋白甲基转移酶G9a修饰, 且甲基化的Reptin可以直接与HIF1 $\alpha$ 形成相互作用调控下游基因表达<sup>[68,69]</sup>。

除重塑复合物以外, HIF与一些表观遗传修饰蛋白存在相互作用, 包括前面提到的直接利用氧分子进行催化的TET蛋白和Jumonji类去甲基化酶。有报道<sup>[70]</sup>显示TET1可以结合HIF1 $\alpha$ 和HIF2 $\alpha$ , 协助这些HIF蛋白调控下游基因, 诱导上皮间质转化。有意思的是, 该协同作用不需要TET1的DNA羟甲基化功能。进一步的研究还明确了TET1用于蛋白间相互作用的氨基酸区域, 其中包括含CXXC序列的DNA结合域<sup>[70]</sup>。

Jumonji类赖氨酸去甲基化酶KDM4C(亦称为JMJD2C)在乳腺癌肿瘤细胞里可以结合HIF1 $\alpha$ , 提高HIF1 $\alpha$ 结合其靶点DNA序列(称为缺氧调控元件HRE)的能力, 进而激活下游基因转录<sup>[71]</sup>。在缺氧状态下, KDM3A(亦称为JMJD1A)同样可以结合HIF1 $\alpha$ , 对处于HRE位点的H3K9me2进行修饰, 调控下游糖酵解相关基因的表达<sup>[72]</sup>, 且该相互作用没有细胞特异性。进一步的研究结果认为JMJD1A通过其锌指结构域与HIF1 $\alpha$ 结合<sup>[73]</sup>。作为氧敏感蛋白, 虽然Jumonji类酶的活性会因为缺氧而下降, 进而影响与HIF的协同作用, 但是有研究发现细胞核中各种赖氨酸去甲基化酶, 在缺氧状态下表现出来的活性损失程度不同。另外, 一些蛋白(如KDM3A)的表达水平在HIF的作用下得到上调, 因此可以对单个蛋白分子催化能力的降低有一定的补偿作用<sup>[74]</sup>。

缺氧对DNA的甲基化会产生影响, 然而当前的研究结果不是非常一致。有研究认为缺氧状态下基因组总体表现为甲基化水平增高, 而另一些研究显示总体甲基化水平降低。当前有一种观点认为: 短期缺氧会导致整体DNA甲基化修饰水平的降低, 而长期缺氧会导致特定位置的DNA过甲基化修饰。对肝癌细胞的研究显示, 甲基化DNA所需的酶供体分子SAM水平

在缺氧状态下会降低,由此认为导致甲基化水平下降<sup>[75]</sup>;同样在肝癌细胞中,TET1和TET3在HIF1 $\alpha$ 的作用下提高表达水平,进而引起胞嘧啶羟甲基化水平升高<sup>[76]</sup>;而在硬皮症成纤维细胞中,TET1的表达可以在没有HIF1 $\alpha$ 的影响下升高,进而引起基因组整体甲基化水平的下降<sup>[77]</sup>。相反的,在—项使用多种肿瘤细胞的研究中发现,作为2-OG依赖型氧化酶,TET因为氧分子水平的不足发生活性下降,从而导致细胞整体甲基化水平增高<sup>[78]</sup>;在前列腺表皮细胞中发现DNA甲基转移酶DNMT3B表达上升<sup>[79]</sup>,长期缺氧的心脏成纤维细胞中DNA甲基转移酶1(DNA methyltransferase 1, DNMT1)和DNA甲基转移酶3B(DNA methyltransferase 3B, DNMT3B)表达也有上升,由此引起两类细胞中甲基化水平增高<sup>[80]</sup>。与肝癌中引起甲基化下降的研究相似,在前列腺表皮细胞中也观察到SAM水平的降低,但作者认为是由于DNMT过量消耗SAM所导致的。

需要说明的是,虽然HIF调控许多氧代谢相关基因,缺氧状态下尚有许多基因上的变化不一定需要HIF的作用。HIF需要通过PHD和FIH才能间接受氧浓度的变化,也就是说2-OG依赖的氧化酶是缺氧调控更直接的响应蛋白,所以上面提到的TET蛋白和Jumonji类KDM蛋白可以相对独立地起作用;当然,HIF在某些情况下也可以影响它们的功能。此外,有研究显示FIH可以修饰组蛋白甲基转移酶G9a和GLP,抑制它们的催化活性<sup>[81]</sup>,而这两个蛋白对HIF1 $\alpha$ 的修饰可以抑制其转录活性<sup>[82]</sup>。由此可以看到感受氧浓度变

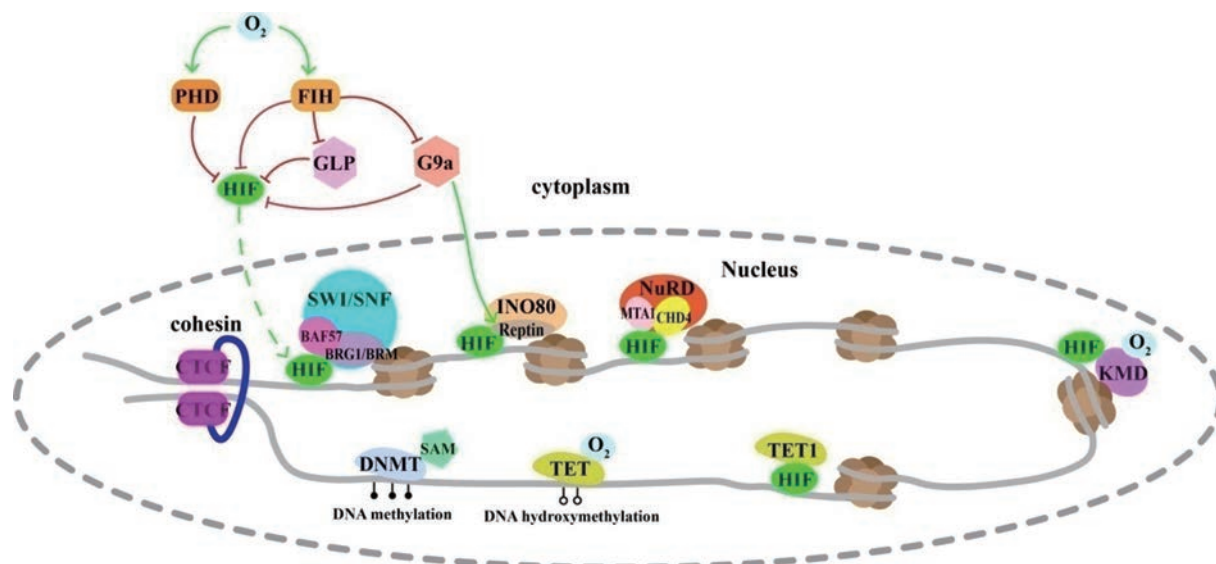
化的信号应该是受到后续一个相互交叉的调控网络控制。

作为—类重要的氧感受蛋白,2-OG依赖型氧化酶完成催化反应需要3个主要元素:氧分子、铁离子和2-OG。前文已经提到缺氧和铁离子螯合剂可以抑制它们的活性。同样,2-OG类似物对它们也有抑制作用,如2-OG的反应产物琥珀酸及其相关的延胡索酸,这些都是三羧酸循环的中间成分,从一个侧面显示了氧与能量代谢的密切联系。此外,尽管早期认为HIF无法成为药物靶点,经过不断的努力,近些年直接针对HIF异二聚体界面的抑制剂也已经出现<sup>[83]</sup>。

#### 4 结语与展望

总体来说,氧对基因组的作用大部分源于ROS,铁离子在氧对基因的影响上起到至关重要的辅助作用。氧在细胞内浓度的波动会引起基因组结构的相应变化,由此影响大量基因的表达水平,—方面调整抗氧化因子的水平来平衡ROS的变化;另—方面决定其能量代谢水平以及是否进入某种死亡状态。对基因组结构的影响包括全局和局部两个方面:在全局上,通过影响核纤层和CTCF,改变染色体在细胞核中的位置与远程相互作用;在局部上,通过染色质重塑、核小体结构的改变及DNA甲基化水平的变化,影响基因的表达。通过铁离子的作用,ROS可以影响基因的复制与修复。由此可以看到,氧几乎影响了基因组从结构到功能的所有方面,需要得到系统完整的研究。

尽管当前已积累了许多氧对基因组影响的研究成



**Figure 1** The effects of hypoxia on genome structure. PHD: Prolyl hydroxylase; HIF: Hypoxia inducible factor; FIH: Factor-inhibiting HIF; CTCF: CCCTC binding factor; SWI/SNF: SWItch/sucrose non-fermentable; BAF57: Brg/Brahma-associated factors 57; BRG1: Brahma-related gene 1; BRM: Brahma; NuRD: Nucleosome remodeling and deacetylase; MTA1: Metastasis associated 1; CHD4: Chromodomain helicase DNA binding protein 4; KDM: Lysine demethylase; DNMT: DNA methyl-transferase; SAM: *S*-Adenosylmethionine; TET: Ten-eleven translocation

果,一些重要的问题依然尚待解决。首先,ROS在细胞核中是否存在特异性分布?如果存在,其形成机制是什么?其次,鉴于细胞核中可以被螯合铁的含量较高,细胞核中是否还有其他含铁蛋白?或者是否还有其他细胞质中的铁结合蛋白可以进入细胞核?第三,在HIF信号通路外,其他感受氧的信号通路在多大程度上引起基因组变化?这些通路与HIF通路之间是如何交叉调控的?这些问题的解答将有助于更好地了解氧气这样一个生命活动的必要成分,对生命密码物质基因的作用方式,并在此基础上探索进行干预调控的手段。

**作者贡献:** 侯春英、卢多共同收集材料并撰写。

**利益冲突:** 本文无利益冲突。

## References

- [1] Srinivas US, Tan BWQ, Vellayappan BA, et al. ROS and the DNA damage response in cancer [J]. *Redox Biol*, 2019, 25: 101084.
- [2] Kamata H, Hirata H. Redox regulation of cellular signalling [J]. *Cell Signal*, 1999, 11: 1-14.
- [3] Klaunig JE, Kamendulis LM. The role of oxidative stress in carcinogenesis [J]. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, 2004, 44: 239-267.
- [4] Waypa GB, Marks JD, Guzy R, et al. Hypoxia triggers subcellular compartmental redox signaling in vascular smooth muscle cells [J]. *Circ Res*, 2010, 106: 526-535.
- [5] Kaludercic N, Deshwal S, Di Lisa F. Reactive oxygen species and redox compartmentalization [J]. *Front Physiol*, 2014, 5: 285.
- [6] Farias JG, Herrera EA, Carrasco-Pozo C, et al. Pharmacological models and approaches for pathophysiological conditions associated with hypoxia and oxidative stress [J]. *Pharmacol Ther*, 2016, 158: 1-23.
- [7] Winterbourn CC. Biological production, detection, and fate of hydrogen peroxide [J]. *Antioxid Redox Signal*, 2018, 29: 541-551.
- [8] Qian W, Kumar N, Roginskaya V, et al. Chemoprogenetic damage to mitochondria causes rapid telomere dysfunction [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2019, 116: 18435-18444.
- [9] Moro L. Mitochondrial dysfunction in aging and cancer [J]. *J Clin Med*, 2019, 8: 1983.
- [10] Kammeyer A, Luiten RM. Oxidation events and skin aging [J]. *Ageing Res Rev*, 2015, 21: 16-29.
- [11] Ashtamker C, Kiss V, Sagi M, et al. Diverse subcellular locations of cryptogein-induced reactive oxygen species production in tobacco bright yellow-2 cells [J]. *Plant Physiol*, 2007, 143: 1817-1826.
- [12] Pekovic V, Gibbs-Seymour I, Markiewicz E, et al. Conserved cysteine residues in the mammalian lamin A tail are essential for cellular responses to ROS generation [J]. *Aging Cell*, 2011, 10: 1067-1079.
- [13] Chittiboyina S, Bai Y, Lelievre SA. Microenvironment-cell nucleus relationship in the context of oxidative stress [J]. *Front Cell Dev Biol*, 2018, 6: 23.
- [14] Henle ES, Linn S. Formation, prevention, and repair of DNA damage by iron/hydrogen peroxide [J]. *J Biol Chem*, 1997, 272: 19095-19098.
- [15] Poetsch AR. The genomics of oxidative DNA damage, repair, and resulting mutagenesis [J]. *Comput Struct Biotechnol J*, 2020, 18: 207-219.
- [16] Bjelland S, Seeberg E. Mutagenicity, toxicity and repair of DNA base damage induced by oxidation [J]. *Mutat Res*, 2003, 531: 37-80.
- [17] Yoshihara M, Jiang L, Akatsuka S, et al. Genome-wide profiling of 8-oxoguanine reveals its association with spatial positioning in nucleus [J]. *DNA Res*, 2014, 21: 603-612.
- [18] Akatsuka S, Aung TT, Dutta KK, et al. Contrasting genome-wide distribution of 8-hydroxyguanine and acrolein-modified adenine during oxidative stress-induced renal carcinogenesis [J]. *Am J Pathol*, 2006, 169: 1328-1342.
- [19] Lu D, Silhan J, MacDonald JT, et al. Structural basis for the recognition and cleavage of abasic DNA in *Neisseria meningitidis* [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2012, 109: 16852-16857.
- [20] Chatterjee N, Walker GC. Mechanisms of DNA damage, repair, and mutagenesis [J]. *Environ Mol Mutagen*, 2017, 58: 235-263.
- [21] Gates KS. An overview of chemical processes that damage cellular DNA: spontaneous hydrolysis, alkylation, and reactions with radicals [J]. *Chem Res Toxicol*, 2009, 22: 1747-1760.
- [22] Li Z, Yang J, Huang H. Oxidative stress induces H2AX phosphorylation in human spermatozoa [J]. *FEBS Lett*, 2006, 580: 6161-6168.
- [23] Gruosso T, Mieulet V, Cardon M, et al. Chronic oxidative stress promotes H2AX protein degradation and enhances chemosensitivity in breast cancer patients [J]. *EMBO Mol Med*, 2016, 8: 527-549.
- [24] Mattioli F, Vissers JH, van Dijk WJ, et al. RNF168 ubiquitinates K13-15 on H2A/H2AX to drive DNA damage signaling [J]. *Cell*, 2012, 150: 1182-1195.
- [25] Bhat AV, Hora S, Pal A, et al. Stressing the (Epi) genome: dealing with reactive oxygen species in cancer [J]. *Antioxid Redox Signal*, 2018, 29: 1273-1292.
- [26] Gavande NS, VanderVere-Carozza PS, Hinshaw HD, et al. DNA repair targeted therapy: the past or future of cancer treatment? [J]. *Pharmacol Ther*, 2016, 160: 65-83.
- [27] Puig S, Ramos-Alonso L, Romero AM, et al. The elemental role of iron in DNA synthesis and repair [J]. *Metallomics*, 2017, 9: 1483-1500.
- [28] Crack JC, Le Brun NE. Redox-sensing iron-sulfur cluster regula-

- tors [J]. *Antioxid Redox Signal*, 2018, 29: 1809-1829.
- [29] Netz DJ, Stith CM, Stumpfig M, et al. Eukaryotic DNA polymerases require an iron-sulfur cluster for the formation of active complexes [J]. *Nat Chem Biol*, 2011, 8: 125-132.
- [30] Pokharel S, Campbell JL. Cross talk between the nuclease and helicase activities of Dna2: role of an essential iron-sulfur cluster domain [J]. *Nucleic Acids Res*, 2012, 40: 7821-7830.
- [31] Pisani FM, Napolitano E, Napolitano LMR, et al. Molecular and cellular functions of the warsaw breakage syndrome DNA helicase DDX11 [J]. *Genes (Basel)*, 2018, 9: 564.
- [32] Landry AP, Ding H. The N-terminal domain of human DNA helicase Rtel1 contains a redox active iron-sulfur cluster [J]. *Biomed Res Int*, 2014, 2014: 285791.
- [33] Wu Y, Brosh RM Jr. DNA helicase and helicase-nuclease enzymes with a conserved iron-sulfur cluster [J]. *Nucleic Acids Res*, 2012, 40: 4247-4260.
- [34] Sparks JL, Kumar R, Singh M, et al. Human exonuclease 5 is a novel sliding exonuclease required for genome stability [J]. *J Biol Chem*, 2012, 287: 42773-42783.
- [35] Ahn WC, Aroli S, Kim JH, et al. Covalent binding of uracil DNA glycosylase UdgX to abasic DNA upon uracil excision [J]. *Nat Chem Biol*, 2019, 15: 607-614.
- [36] Melo RG, Leitao AC, Padula M. Role of OGG1 and NTG2 in the repair of oxidative DNA damage and mutagenesis induced by hydrogen peroxide in *Saccharomyces cerevisiae*: relationships with transition metals iron and copper [J]. *Yeast*, 2004, 21: 991-1003.
- [37] Nunez NN, Majumdar C, Lay KT, et al. Fe-S clusters and MutY base excision repair glycosylases: purification, kinetics, and DNA affinity measurements [J]. *Methods Enzymol*, 2018, 599: 21-68.
- [38] Greenwood C, Selth LA, Dirac-Svejstrup AB, et al. An iron-sulfur cluster domain in Elp3 important for the structural integrity of elongator [J]. *J Biol Chem*, 2009, 284: 141-149.
- [39] Galaris D, Pantopoulos K. Oxidative stress and iron homeostasis: mechanistic and health aspects [J]. *Crit Rev Clin Lab Sci*, 2008, 45: 1-23.
- [40] Kaniak-Golik A, Skoneczna A. Mitochondria-nucleus network for genome stability [J]. *Free Radic Biol Med*, 2015, 82: 73-104.
- [41] Tsiftoglou AS, Tsamadou AI, Papadopoulou LC. Heme as key regulator of major mammalian cellular functions: molecular, cellular, and pharmacological aspects [J]. *Pharmacol Ther*, 2006, 111: 327-345.
- [42] Pradhan P, Vijayan V, Gueler F, et al. Interplay of heme with macrophages in homeostasis and inflammation [J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21: 740.
- [43] Was H, Dulak J, Jozkowicz A. Heme oxygenase-1 in tumor biology and therapy [J]. *Curr Drug Targets*, 2010, 11: 1551-1570.
- [44] Shen J, Sheng X, Chang Z, et al. Iron metabolism regulates p53 signaling through direct heme-p53 interaction and modulation of p53 localization, stability, and function [J]. *Cell Rep*, 2014, 7: 180-193.
- [45] Sfera A, Bullock K, Price A, et al. Ferrosenescence: the iron age of neurodegeneration? [J]. *Mech Ageing Dev*, 2018, 174: 63-75.
- [46] Ho T, Tan BX, Lane D. How the other half lives: what p53 does when it is not being a transcription factor [J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 21: 13.
- [47] Petrat F, de Groot H, Rauen U. Subcellular distribution of chelatable iron: a laser scanning microscopic study in isolated hepatocytes and liver endothelial cells [J]. *Biochem J*, 2001, 356: 61-69.
- [48] Rai P, Cole TD, Wemmer DE, et al. Localization of Fe(2+) at an RTGR sequence within a DNA duplex explains preferential cleavage by Fe(2+) and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> [J]. *J Mol Biol*, 2001, 312: 1089-1101.
- [49] Robinson I, Yang Y, Zhang F, et al. Nuclear incorporation of iron during the eukaryotic cell cycle [J]. *J Synchrotron Radiat*, 2016, 23: 1490-1497.
- [50] Surguladze N, Thompson KM, Beard JL, et al. Interactions and reactions of ferritin with DNA [J]. *J Biol Chem*, 2004, 279: 14694-14702.
- [51] Liu F, Rehmani I, Esaki S, et al. Pirin is an iron-dependent redox regulator of NF-kappaB [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2013, 110: 9722-9727.
- [52] Smith P, Zhou B, Ho N, et al. 2.6 Å X-ray crystal structure of human p53R2, a p53-inducible ribonucleotide reductase [J]. *Biochemistry*, 2009, 48: 11134-11141.
- [53] Lu D. Eipgenetic modification enzymes: catalytic mechanisms and inhibitors [J]. *Acta Pharm Sin (药 学 学 报)*, 2013, 48: 141-149.
- [54] Bailey PSJ, Nathan JA. Metabolic regulation of hypoxia-inducible transcription factors: the role of small molecule metabolites and iron [J]. *Biomedicines*, 2018, 6: 60.
- [55] Zheng X, Linke S, Dias JM, et al. Interaction with factor inhibiting HIF-1 defines an additional mode of cross-coupling between the Notch and hypoxia signaling pathways [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2008, 105: 3368-3373.
- [56] Steinhoff A, Pientka FK, Mockel S, et al. Cellular oxygen sensing: importins and exportins are mediators of intracellular localisation of prolyl-4-hydroxylases PHD1 and PHD2 [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2009, 387: 705-711.
- [57] Schrage B, Rubsamen N, Schulz A, et al. Iron deficiency is a common disorder in general population and independently predicts all-cause mortality: results from the Gutenberg Health Study [J]. *Clin Res Cardiol*, 2020. DOI: 10.1007/s00392-020-01631-y.
- [58] Zhao Z, Bao X, Zhang D. Mechanisms of ferroptosis and its involvement in Parkinson's disease [J]. *Acta Pharm Sin (药 学 学 报)*, 2019, 54: 399-406.
- [59] Kirmes I, Szczurek A, Prakash K, et al. A transient ischemic environment induces reversible compaction of chromatin [J].

- Genome Biol, 2015, 16: 246.
- [60] Wang J, Wang Y, Lu L. De-SUMOylation of CCCTC binding factor (CTCF) in hypoxic stress-induced human corneal epithelial cells [J]. J Biol Chem, 2012, 287: 12469-12479.
- [61] Schodel J, Oikonomopoulos S, Ragoussis J, et al. High-resolution genome-wide mapping of HIF-binding sites by ChIP-seq [J]. Blood, 2011, 117: e207-217.
- [62] Platt JL, Salama R, Smythies J, et al. Capture-C reveals preformed chromatin interactions between HIF-binding sites and distant promoters [J]. EMBO Rep, 2016, 17: 1410-1421.
- [63] Kenneth NS, Mudie S, van Uden P, et al. SWI/SNF regulates the cellular response to hypoxia [J]. J Biol Chem, 2009, 284: 4123-4131.
- [64] Melvin A, Rocha S. Chromatin as an oxygen sensor and active player in the hypoxia response [J]. Cell Signal, 2012, 24: 35-43.
- [65] Gao W, Li W, Xiao T, et al. Inactivation of the PBRM1 tumor suppressor gene amplifies the HIF-response in *VHL*<sup>-/-</sup> clear cell renal carcinoma [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2017, 114: 1027-1032.
- [66] Yoo YG, Kong G, Lee MO. Metastasis-associated protein 1 enhances stability of hypoxia-inducible factor-1 $\alpha$  protein by recruiting histone deacetylase 1 [J]. EMBO J, 2006, 25: 1231-1241.
- [67] Colijn S, Gao S, Ingram KG, et al. The NuRD chromatin-remodeling complex enzyme CHD4 prevents hypoxia-induced endothelial Ripk3 transcription and murine embryonic vascular rupture [J]. Cell Death Differ, 2020, 27: 618-631.
- [68] Lee JS, Kim Y, Kim IS, et al. Negative regulation of hypoxic responses *via* induced Reptin methylation [J]. Mol Cell, 2010, 39: 71-85.
- [69] Lee JS, Kim Y, Bhin J, et al. Hypoxia-induced methylation of a pontin chromatin remodeling factor [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2011, 108: 13510-13515.
- [70] Tsai YP, Chen HF, Chen SY, et al. TET1 regulates hypoxia-induced epithelial-mesenchymal transition by acting as a co-activator [J]. Genome Biol, 2014, 15: 513.
- [71] Luo W, Chang R, Zhong J, et al. Histone demethylase JMJD2C is a coactivator for hypoxia-inducible factor 1 that is required for breast cancer progression [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2012, 109: E3367-E3376.
- [72] Mimura I, Nangaku M, Kanki Y, et al. Dynamic change of chromatin conformation in response to hypoxia enhances the expression of GLUT3 (SLC2A3) by cooperative interaction of hypoxia-inducible factor 1 and KDM3A [J]. Mol Cell Biol, 2012, 32: 3018-3032.
- [73] Wan W, Peng K, Li M, et al. Histone demethylase JMJD1A promotes urinary bladder cancer progression by enhancing glycolysis through coactivation of hypoxia inducible factor 1 $\alpha$  [J]. Oncogene, 2017, 36: 3868-3877.
- [74] Beyer S, Kristensen MM, Jensen KS, et al. The histone demethylases JMJD1A and JMJD2B are transcriptional targets of hypoxia-inducible factor HIF [J]. J Biol Chem, 2008, 283: 36542-36552.
- [75] Liu Q, Liu L, Zhao Y, et al. Hypoxia induces genomic DNA demethylation through the activation of HIF-1 $\alpha$  and transcriptional upregulation of MAT2A in hepatoma cells [J]. Mol Cancer Ther, 2011, 10: 1113-1123.
- [76] Wu MZ, Chen SF, Nieh S, et al. Hypoxia drives breast tumor malignancy through a TET-TNF $\alpha$ -p38-MAPK signaling axis [J]. Cancer Res, 2015, 75: 3912-3924.
- [77] Hattori M, Yokoyama Y, Hattori T, et al. Global DNA hypomethylation and hypoxia-induced expression of the ten eleven translocation (TET) family, TET1, in scleroderma fibroblasts [J]. Exp Dermatol, 2015, 24: 841-846.
- [78] Thienpont B, Steinbacher J, Zhao H, et al. Tumour hypoxia causes DNA hypermethylation by reducing TET activity [J]. Nature, 2016, 537: 63-68.
- [79] Watson JA, Watson CJ, McCrohan AM, et al. Generation of an epigenetic signature by chronic hypoxia in prostate cells [J]. Hum Mol Genet, 2009, 18: 3594-3604.
- [80] Watson CJ, Collier P, Tea I, et al. Hypoxia-induced epigenetic modifications are associated with cardiac tissue fibrosis and the development of a myofibroblast-like phenotype [J]. Hum Mol Genet, 2014, 23: 2176-2188.
- [81] Kang J, Shin SH, Yoon H, et al. FIH Is an oxygen sensor in ovarian cancer for G9a/GLP-driven epigenetic regulation of metastasis-related genes [J]. Cancer Res, 2018, 78: 1184-1199.
- [82] Bao L, Chen Y, Lai HT, et al. Methylation of hypoxia-inducible factor (HIF)-1 $\alpha$  by G9a/GLP inhibits HIF-1 transcriptional activity and cell migration [J]. Nucleic Acids Res, 2018, 46: 6576-6591.
- [83] Chen W, Hill H, Christie A, et al. Targeting renal cell carcinoma with a HIF-2 antagonist [J]. Nature, 2016, 539: 112-117.