

特约专稿

编者按: 近日, 瑞典卡罗琳医学院将2019年诺贝尔生理学或医学奖授予了美国癌症学家William G. Kaelin Jr.、英国医学家Sir Peter J. Ratcliffe和美国医学家Gregg L. Semenza, 以表彰他们在发现细胞如何感知和适应氧浓度变化研究中所做出的杰出贡献。本刊特邀请我国低氧研究领域的专家撰写此文, 简述这三位科学家的卓越工作, 回顾中国低氧生理学研究的发展历程, 并特别介绍国内学者近年来在这一领域的重要突破。

低氧研究受到关注

范明*, 朱玲玲

军事科学院军事医学研究院, 北京 100850

氧气是地球上绝大多数生物生存所必需的基本物质, 氧浓度的变化在生物进化中扮演了重要的角色。1858年, Louis Pasteur 提出动物细胞通过多种途径利用氧气实现能量转换; 1931年诺贝尔生理学或医学奖获得者 Otto Warburg 认为这种能量转换是酶促过程; 1938年诺贝尔生理学或医学奖获得者 Corneille Heymans 发现颈动脉窦外周化学感受器可感知动脉血氧分压变化, 参与调节呼吸频率。但细胞水平如何感受和适应氧气的变化一直是个谜。Semenza 等发现低氧诱导因子-1 (hypoxia-inducible factor-1, HIF-1) 是细胞感知低氧的关键因子, 可启动一系列下游基因的表达以适应氧浓度的变化^[1, 2]。Ratcliffe 等发现 VHL (von Hippel-Lindau) 蛋白可通过氧依赖性的蛋白水解作用负调控 HIF-1^[3]。另外, Kaelin 等^[4]和 Ratcliffe 等^[5]同时发现常氧环境使 HIF-1 α 亚基上的脯氨酸发生羟基化作用, 从而被 VHL 蛋白识别, 经蛋白酶体通路降解。

以上三位科学家的工作开创性地在分子水平上阐明了细胞感知和适应氧气变化的机理, 使人类对于氧浓度如何调节一些基础性生理机制有了更加深刻的认识, 也为应对高原低氧损害、贫血、心脑血管缺血、癌症等疾病奠定了基础。

1 HIF-1信号通路与HIFs

转录因子 HIF-1 是由 HIF-1 α 和 HIF-1 β 组成的异二聚体结构。HIF-1 β 在细胞内稳定表达, 而 HIF-1 α 的含量则依赖于细胞内的氧水平。常氧下

HIF-1 α 的表达与降解处于动态平衡。HIF-1 α 的表达调控涉及翻译后修饰。HIF-1 α 蛋白的氧依赖降解结构域 (oxygen dependent degradation domain, ODD) 可以调节 HIF-1 α 的降解, 它通过第 402 位和第 564 位脯氨酸残基的羟基化调节 HIF-1 α 与 VHL 蛋白的相互作用, 而 VHL 蛋白能够识别 E3 泛素化连接酶, 导致 HIF-1 α 在 26s 蛋白酶的作用下发生泛素化降解。低氧条件可抑制 ODD 脯氨酸的羟基化, 阻止 HIF-1 α 的泛素化降解, 从而提高 HIF-1 α 蛋白水平。胞浆内积聚的 HIF-1 α 移位入核与 HIF-1 β 形成完整的 HIF-1 转录因子复合物, 并结合到靶基因启动子区的低氧反应元件 (hypoxic response element, HRE) 上, 从而调控相关基因的转录表达。

目前已经证实的 HIF-1 靶基因超过 100 个, 这些靶基因参与细胞代谢、生存与增殖、细胞凋亡、血管发育、离子代谢和神经发育等生物学过程。

HIF 家族中还包括 HIF2 和 HIF3。HIF-2 是 1997 年由 Tian 等^[6]克隆和鉴定的, 也是 α 亚基和 β 亚基组成的异二聚体转录因子。人 HIF-2 α 基因定位于 2p16-21, 含有 15 个外显子和 14 个内含子, 编码 869 个氨基酸残基。氧浓度同样可以影响 HIF-2 α 的稳定性、亚细胞定位和转录效能。HIF-2 α 和 HIF-1 α 共同调节的基因有血管内皮生长因子和肾上腺髓质素等基因。HIF-1 α 侧重调节糖酵解相关酶类和凋亡相关基因如 *BNIP-3* 等, 而 HIF-2 α 侧重调节转化生长因子 α 和促红细胞生成素等。这些差异可能与两者羧基端的不同有关^[6, 7]。有关 HIF3 的研究很少,

*Corresponding author. E-mail: fanmingchina@126.com

Tanaka 等^[8]的研究显示, HIF3 是 HIF-1 α 的靶基因, 可能在低氧相关基因的表达中起负反馈作用。

HIFs 信号通路在肿瘤、贫血、炎症反应、心脑血管缺血、胚胎发育、高原病和肺动脉高压等多个生理和病理生理过程中具有重要生物学意义^[9, 10]。

2 中国低氧生理学与相关领域的发展

青藏高原大约占我国 1/4 国土面积, 不仅是国家军事、政治和经济战略要地, 也拥有高原世居人群和高原特有动、植物资源。由于青藏、川藏公路建设需求, 我国从上世纪 50 年代就开始了低氧生理学的研究。中国科学院上海生理研究所、军事医学科学院和空军医学研究所等都建立了低压低氧舱, 获得了人体对低氧反应的大量生理生化数据, 发表了一系列高水平的论文。在 1975 年中国登山队登顶珠峰时, 中国科学院上海生理研究所在世界上首次实现了珠峰峰顶的心电图测绘。不过, 由于种种原因, 在上个世纪末, 我国的低氧生理学研究陷入低谷, 处于“hypo-attention”的境地。

本世纪初, 为了应对青藏铁路建设等国家重大需求, 国家自然科学基金委员会和国家科技部先后给予低氧生理学研究重点项目、重大项目和两个“973”项目的支持。我国低氧生理学工作者不辱使命, 在各个项目上均以优秀的业绩结题。经过近 20 年的努力, 我国在高原低氧领域的研究已经位于国际前列, 特别是在藏族低氧适应能力与 HIFs 关系方面有重大突破。2010 年, 我国学者在美国《科学》杂志同一期上发表了两篇论文, 指出藏族在高原环境下较少罹患慢性高原红细胞增多症的遗传学基础与 HIFs 调控网络的关键分子 EPAS1 和 EGLN1 的基因突变有关^[11, 12]。

不仅如此, 我国学者在通过增强 HIFs 效应治疗贫血的临床应用方面也取得了可喜的进展, 主要用于治疗慢性肾脏病患者贫血的脯氨酸羟甲基化抑制剂罗沙司他在上海瑞金医院的两项 3 期临床试验均取得了成功。这两项研究成果均以特邀论文的形式在《新英格兰医学杂志》上发表^[13, 14]。此外, 我国学者在肿瘤、肺动脉高压、心脑血管病、胚胎发育和干细胞等方面对 HIFs 的研究也取得了大量优秀的工作成果。

综上所述, 低氧生理学在我国有坚实的研究基础, 有国家层面的重大需求, 有良好的发展前景。今年诺贝尔生理学或医学奖的授予无疑会对该领域

的研究起进一步的推动作用。

参考文献

- 1 Semenza GL, Neufeldt MK, Chi SM, Antonarakis SE. Hypoxia-inducible nuclear factors bind to an enhancer element located 3' to the human erythropoietin gene. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1991; 88: 5680–5684.
- 2 Wang GL, Jiang BH, Rue EA, Semenza GL. Hypoxia-inducible factor 1 is a basic-helix-loop-helix-PAS heterodimer regulated by cellular O₂ tension. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1995; 92: 5510–5514.
- 3 Maxwell PH, Wiesener MS, Chang GW, Clifford SC, Vaux EC, Cockman ME, Wykoff CC, Pugh CW, Maher ER, Ratcliffe PJ. The tumour suppressor protein VHL targets hypoxia-inducible factors for oxygen-dependent proteolysis. *Nature* 1999; 399: 271–275.
- 4 Ivan M, Kondo K, Yang H, Kim W, Valiano J, Ohh M, Salic A, Asara JM, Lane WS, Kaelin WG Jr. HIF α targeted for VHL-mediated destruction by proline hydroxylation: implications for O₂ sensing. *Science* 2001; 292: 464–468.
- 5 Jaakkola P, Mole DR, Tian YM, Wilson MI, Gielbert J, Gaskell SJ, von Kriegsheim A, Hebestreit HF, Mukherji M, Schofield CJ, Maxwell PH, Pugh CW, Ratcliffe PJ. Targeting of HIF- α to the von Hippel-Lindau ubiquitylation complex by O₂-regulated prolyl hydroxylation. *Science* 2001; 292: 468–472.
- 6 Tian H, Mcknight SL, Russell DW. Endothelial PAS domain protein (EPAS1), a transcription factor selectively expressed in endothelial cell. *Genes Dev* 1997; 11(3): 72–82.
- 7 Hockel M. Association between tumor hypoxia and malignant progression in advanced cancer of the uterine cervix. *Cancer Res* 1996; 56(2): 4509–4515.
- 8 Tanaka T, Wiesener M, Bernhardt W, Eckardt KU, Warnecke C. The human HIF (hypoxia-inducible factor)-3 α gene is a HIF-1 target gene and may modulate hypoxic gene induction. *Biochem J* 2009; 424(1): 143–151.
- 9 Semenza GL. Oxygen sensing, homeostasis, and disease. *N Engl J Med* 2011; 365: 537–547.
- 10 Semenza GL. Oxygen sensing, hypoxia-inducible factors, and disease pathophysiology. *Annu Rev Pathol* 2014; 9: 47–71.
- 11 Simonson TS, Yang Y, Huff CD, Yun H, Qin G, Witherspoon DJ, Bai Z, Lorenzo FR, Xing J, Jorde LB, Prchal JT, Ge R. Genetic evidence for high-altitude adaptation in Tibet. *Science* 2010; 329(5987): 72–75.
- 12 Yi X, Liang Y, Huerta-Sanchez E, Jin X, Cuo ZX, Pool JE, Xu X, Jiang H, Vinckenbosch N, Korneliusson TS, Zheng H, Liu T, He W, Li K, Luo R, Nie X, Wu H, Zhao M, Cao H,

- Zou J, Shan Y, Li S, Yang Q, Asan, Ni P, Tian G, Xu J, Liu X, Jiang T, Wu R, Zhou G, Tang M, Qin J, Wang T, Feng S, Li G, Huasang, Luosang J, Wang W, Chen F, Wang Y, Zheng X, Li Z, Bianba Z, Yang G, Wang X, Tang S, Gao G, Chen Y, Luo Z, Gusang L, Cao Z, Zhang Q, Ouyang W, Ren X, Liang H, Zheng H, Huang Y, Li J, Bolund L, Kristiansen K, Li Y, Zhang Y, Zhang X, Li R, Li S, Yang H, Nielsen R, Wang J, Wang J. Sequencing of 50 human exomes reveals adaptation to high altitude. *Science* 2010; 329(5987): 75–78.
- 13 Chen N, Hao C, Peng X, Lin H, Yin A, Hao L, Tao Y, Liang X, Liu Z, Xing C, Chen J, Luo L, Zuo L, Liao Y, Liu BC, Leong R, Wang C, Liu C, Neff T, Szczech L, Yu KP. Roxadustat for anemia in patients with kidney disease not receiving dialysis. *N Engl J Med* 2019; 381(11): 1001–1010.
- 14 Chen N, Hao C, Liu BC, Lin H, Wang C, Xing C, Liang X, Jiang G, Liu Z, Li X, Zuo L, Luo L, Wang J, Zhao MH, Liu Z, Cai GY, Hao L, Leong R, Wang C, Liu C, Neff T, Szczech L, Yu KP. Roxadustat treatment for anemia in patients undergoing long-term dialysis. *N Engl J Med* 2019; 381(11): 1011–1022.