

doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2020.07.048

View this article at: <http://dx.doi.org/10.3978/j.issn.2095-6959.2020.07.048>

· 医学人文 ·

革命性的发现：氧气感知——2019年诺贝尔生理学或医学奖简介

谢文清, 何苗, 李宇晟

(中南大学湘雅医院骨科, 长沙 410011)

[摘要] 2019年诺贝尔生理学或医学奖揭晓, 威廉·凯林(William G. Kaelin Jr)、彼得·拉特克利夫(Sir Peter J. Ratcliffe)和格雷格·塞门扎(Gregg L. Semenza)获得这一奖项, 以表彰他们在理解人体和大多数动物细胞感知和适应氧气变化机制中的贡献。

[关键词] 诺贝尔生理学或医学奖; 缺氧诱导因子; VHL基因

Revolutionary discovery: oxygen sensing—introduction of Nobel Prize in Physiology or Medicine 2019

XIE Wenqing, HE Miao, LI Yusheng

(Department of Orthopaedics, Xiangya Hospital, Central South University, Changsha 410011, China)

Abstract The 2019 Nobel Prize in Physiology or Medicine was awarded to William G. Kaelin Jr, Sir Peter J. Ratcliffe and Gregg L. Semenza for their contributions to understand the mechanisms of human and most animal cells' perception and adaptation to oxygen changes.

Keywords Nobel Prize in Physiology or Medicine; hypoxia-inducible factors; Von Hippel-Lindau gene

2019年10月7日, 瑞典卡罗林斯卡医学院(Karolinska Institute)公布了2019年诺贝尔生理学或医学奖获奖者名单: 哈佛医学院达纳-法伯癌症研究所的威廉·凯林(William G. Kaelin Jr), 牛津大学和弗朗西斯·克里克研究所的彼得·拉特克利夫(Sir Peter J. Ratcliffe)和美国约翰·霍普金斯大学医学院的格雷格·塞门扎(Gregg L. Semenza)3人获奖, 获奖理由“for their discoveries of how cells sense and adapt to oxygen availability(发现细胞如何感知和适应氧气的供应)”。这一开创性的发现揭示了一项生

命中最重要的适应性机制, 为理解氧水平如何影响细胞代谢和生理功能奠定了基础, 也有望为对抗贫血、癌症和许多其他疾病的新策略铺平道路。

氧气是生命活动的第一需要。包括人类在内, 绝大多数动物的生命活动都离不开氧气。在漫长进化过程中, 人类和其他动物进化出一套确保向组织和细胞充足供氧的机制, 如颈动脉体与颈部两侧的大血管相邻, 包含专门感应血液中氧气水平的细胞; 缺氧的主要生理反应是促红细胞生成素(erythropoietin, EPO)水平升高, 以此来

收稿日期 (Date of reception): 2019-10-11

通信作者 (Corresponding author): 李宇晟, Email: liyusheng@csu.edu.cn

基金项目 (Foundation item): 国家自然科学基金 (81874030)。This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (81874030).

刺激红细胞生成等。但是细胞如何适应变化的氧气水平长久以来仍是“未知数”。来自美国和英国的3名科学揭开了细胞如何与氧气“互动”的神秘面纱，并因此获得2019年诺贝尔生理学或医学奖。评奖委员会说，动物需要氧气才能将食物转化成有用的能量，人们了解氧气的基础性重要作用已有数个世纪，但细胞如何适应氧气水平变化一直不为人知；挪威诺贝尔奖委员会成员兰达尔·约翰逊评价说，这真正是一个“教科书级别的发现”。今年的3名获奖科学家发现“细胞如何感知和适应不断变化的氧气供应”，并确认了“能够调节基因活性以适应不同氧气水平的分子机制”。他们开创性的研究成果“揭示了生命中一个最基本的适应性过程的机制”。本文简单介绍这最基本的适应过程机制，希望对氧气感知通路的后续研究提供帮助。

1 获奖者简介

2016年，威廉·凯林、彼得·拉特克利夫和格雷格·塞门扎共同获得了美国阿尔伯特·拉斯克基础医学研究奖(Albert Lasker)^[1]。由于这3位科学家独立开展系列工作，同年*Cell*邀请了肿瘤代谢的知名专家Craig B. Thompson教授^[2]撰写文章介绍他们的重要发现。时隔3年，威廉·凯林、彼得·拉特克利夫和格雷格·塞门扎又共同荣获2019年诺贝尔生理学或医学奖，以表彰他们在理解人体和大多数动物细胞感知和适应氧气变化机制中所做出的贡献。

1.1 格雷格·塞门扎

格雷格·塞门扎1956年生于纽约市，现为美国约翰霍普金斯大学医学院教授，是现代低氧研究的奠基人，多年来致力于研究低氧诱导因子(hypoxia-inducible factor, HIF)领域。塞门扎1974年从斯里皮高中毕业后，进入哈佛大学学习遗传学；之后到宾夕法尼亚大学进行研究生学习，在宾夕法尼亚儿童医院做了博士研究；1986年赴约翰·霍普金斯大学做博士后研究，之后成为该校教授。塞门扎1992年因发现HIF1而成为现代低氧研究的奠基人，他的团队发现HIF-1所调控的基因能够作用于线粒体呼吸，能指导细胞对缺氧状况的特殊反应和心血管系统的变化，塞门扎的工作对肿瘤学及心血管疾病等的研究产生了重要的影响。在与彼得·拉特克利夫、威廉·凯林共同获得2019年诺贝尔生理学或医学奖之前，这3位科学家还曾共同获得2010年盖尔德纳国际奖、2016年美

国阿尔伯特·拉斯克基础医学研究奖。同时他还是儿科研究协会、美国临床调查协会、美国医师协会会员，美国国家科学院院士，并担任多个国际知名学术期刊的编委。

1.2 彼得·拉特克利夫

彼得·拉特克利夫1954年生于英国兰开夏，英国细胞和分子生物学家，临床医生，牛津大学临床医学系主任，主要研究低氧状态下细胞的反应。拉特克利夫1972年赴剑桥大学和圣巴多罗买医院学习医学，1978年毕业后转赴牛津大学接受肾病学专业培训。他在牛津大学拥有自己的独立研究团队，并在1996年成为全职教授，2004至2016年曾担任牛津大学纳菲尔德临床医学系主任。1989年建立新实验室后，拉特克利夫小组研究了红血球生成素的控制过程，发现这种物质在细胞缺氧后便会释放。他们继而研究了一系列细胞用于感知氧气的分子事件。拉特克利夫自2016年5月在伦敦担任弗朗西斯·克里克研究所临床研究主任，同时也是牛津大学路德维希癌症研究院成员和靶标研发院主任。他于2002年入选英国皇家学会和英国医学科学院，也是欧洲分子生物学组织(European Molecular Biology Organization, EMBO)成员和美国艺术与科学学院(American Academy of Arts and Sciences, AAAS)外籍荣誉成员。至今，拉特克利夫先后累计获18个重要国际和行业奖项，并在2014年因临床医学服务而被封为爵士。

1.3 威廉·凯林

威廉·凯林1957年生于纽约，美国癌症学家，哈佛医学院丹娜·法伯癌症研究所教授，布莱根妇女医院高级医生，他长期致力于肿瘤抑制蛋白质相关的抗肿瘤新疗法研究，其在VHL蛋白(Von Hippel-Lindau protein, pVHL)方面的研究成果为开发治疗肾癌的血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)抑制剂奠定基础。凯林1979年获杜克大学化学学士学位，1982获得同一大学医学博士学位，毕业后赴约翰霍普金斯医院实习，后转至丹纳·法伯癌症研究所；1992年开设了属于自己的实验室，并在寻找潜在的科研项目中，开始了解名为希佩尔-林道综合征(Von Hippel-Lindau Disease)的遗传疾病；1998年成为霍华德·休斯医学研究所研究员，2010年当选美国国家科学院院士。基于凯林在pVHL方面的研究成果，新药研发人员针对VEGF这一靶点开始研

发新药, 目前美国食品药品监督管理局(Food and Drug Administration, FDA)已经批准了多种用于治疗肾癌的VEGF抑制剂。

2 主要科学贡献

2.1 HIF的发现与研究——格雷格·塞门扎

1991年, 塞门扎及其团队^[3]通过DNase I超敏感位点保护和电泳迁移率变动分析发现贫血或缺氧可诱导人EPO基因在肝和肾中的表达。DNase I的超敏感位点在肝细胞核中人类EPO基因的3'端处被识别, 3'端的256个碱基对区域结合了 ≥ 4 个不同的核因子, 且至少有2个是在肝和肾贫血或缺氧条件下诱导的。该区域在瞬时表达测定中起缺氧诱导的增强子的作用, 这种因子当时就被命名为“缺氧诱导因子(HIF)”, 这些结果揭示了通过基本生理刺激低氧调节基因表达的分子基础。随后, 塞门扎及其团队对HIF进行了进一步研究, 其中包括HIF的表征和缺氧对DNA结合活性的调节^[4]、HIF-1及其识别序列是一般哺乳动物细胞对缺氧反应的共同组成部分^[5]、HIF-1的纯化和鉴定^[6]。在这些研究的基础上, 1995年塞门扎及其团队取得了突破性的进展^[7], 发现HIF由两种不同的DNA结合蛋白质组成, 即转录因子: HIF-1 α 和芳香烃受体核转运体(arylhydrocarbon receptor nuclear translocator, ARNT), 并分析了蛋白质的结构域。随后的研究^[8]表明: 与ARNT相比, 对氧气敏感的HIF-1 α 是细胞响应低氧条件的关键。

2.2 低氧状态下细胞的反应——彼得·拉特克利夫

1993年拉特克利夫研究组^[9]使用瞬时基因转染的报告基因与EPO基因位于3'的转录增强子偶联, 显示与控制EPO表达相似或相同的氧气感应系统在哺乳动物细胞中广泛存在, 而限于肾和肝细胞亚群, 这种感觉机制的广泛分布与EPO的表达受限形成对照, 表明它介导了对缺氧的其他适应性反应。随后, 1994年拉特克利夫研究组^[10]找到了氧气感应和HIF之间的联络, 发现在低氧诱导情况下, 糖酵解过程中的重要基因磷酸甘油酸激酶1(phosphoglycerate kinase 1, PGK)和乳酸脱氢酶A基因(lactate dehydrogenase A, LDHA)也出现了类似EPO基因被诱导表达的情况, 表明HIF-1不仅在机体水平上负责调控适应缺氧的环境, 而且在细胞水平上参与调节糖酵解的速率。拉特克利夫的研究为整个氧感应机制研讨范畴奠定了基础, 此

外, 还为后期研究VHL如何降解HIF-1做出了巨大贡献。

2.3 VHL对肿瘤的影响——威廉·凯林

在塞门扎和拉特克利夫探索HIF以及EPO基因调控的同时, 癌症研究者凯林正在研究一种遗传综合征, 即希佩尔-林道综合征, 其为一种罕见的常染色体显性遗传性疾病, 这种遗传疾病会导致遗传性VHL突变的家庭罹患某些癌症的风险急剧增加, 涉及脑、骨髓、视网膜、肾、肾上腺等多个重要器官^[11]。1996年凯林等^[12]发现pVHL的失活与肾脏癌和中枢神经系统血管母细胞瘤的发病有关, 发现在正常氧含量和缺氧条件下, 缺乏野生型pVHL的肾癌细胞均能产生编码血管内皮生长因子/血管通透性因子、葡萄糖转运蛋白1(glucose transporter type 1, GLUT1)和血小板衍生的生长因子B链的mRNA, 在常氧条件下将野生型而非突变pVHL重新引入这些细胞中可特异性抑制这些mRNA的产生, 从而发现VHL的突变会导致HIF调节基因的表达增加。在此基础上, 1999年拉特克利夫等^[13]进一步确定了HIF-1和pVHL之间的相互作用是依赖性的, 并且是HIF-1 α 亚基的氧依赖性降解所必需的, 组成性HIF-1激活可能是与VHL相关的肿瘤的血管生成表型的基础。

2.4 VHL如何降解HIF-1

在证实了VHL降解HIF-1蛋白之后, 凯林和拉特克利夫又将研究的重点转向VHL如何降解HIF-1。巧合的是, 2001年凯林^[14]和拉特克利夫^[15]在Science同一期发表论文, 发现HIF-1 α 在氧气存在的情况下多肽上的脯氨酸残基的羟基化作用, 使得VHL能识别HIF-1 α 并与之结合, 该过程解释了当氧气浓度正常时, HIF-1 α 是如何在脯氨酸羟化酶的帮助下快速降解的。随后, 拉特克利夫研究组、Steve McKnight组、凯林及其合作者先后报道了催化HIF-1 α 发生羟化反应的酶-脯氨酰羟化酶^[16-18]。当氧水平低(低氧)时, HIF-1 α 被保护免于降解并积聚在细胞核中, 并与ARNT结合并结合低氧调节基因中的特定DNA序列(hypoxia-responsive element, HRE)。在正常的氧气水平下, 氧气通过向HIF-1 α 中添加羟基(OH), pVHL可以识别并与HIF-1 α 形成复合物, 从而导致其以氧依赖性方式被蛋白质酶体迅速降解, 具体HIF-1的氧依赖性蛋白质水解见图1^[19]。这样就很容易理解, 为何HIF-1 α 不会在缺氧环境下被降解。至此, VHL如何降解HIF-1这一难题得以攻克。

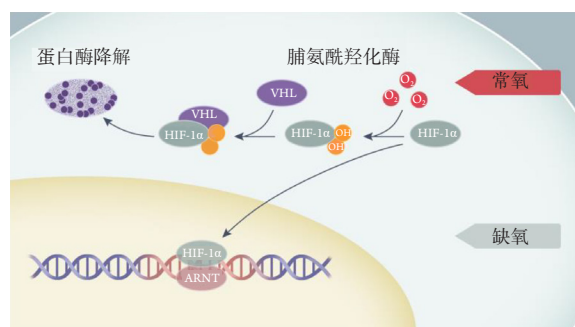


图1 HIF-1的氧依赖性蛋白质水解

Figure 1 Oxygen-dependent proteolysis of HIF-1

2.5 科学意义

调节HIF-1 α 稳定性的脯氨酸羟化酶的发现使人们能够寻找抑制剂，这为药理学研究开辟了新的途径。事实上，多个影响HIF功能的潜在药物已经在临床试验中取得了很大进展。目前的临床研究主要集中在对于贫血的治疗上，即通过抑制脯氨酸羟化酶的作用提高HIF-1蛋白水平，进而调控EPO的水平促进红细胞生成，缓解贫血的症状。全球首个小分子低氧诱导因子脯氨酸羟化酶抑制剂罗沙司他已在中国和日本上市，用于治疗透析患者因慢性肾脏病引起的贫血，并取得了良好的临床效果^[20-21]。北京大学基础医学院王月丹教授和首都医科大学基础医学院曲爱娟教授都表示细胞的氧气感知通路对治疗心肌梗死、脑梗死这类缺氧缺血性疾病具有非常重要的价值，也有助于开发新型的抗肿瘤药物^[22]。多年来，科学界都希望能够调控低氧诱导因子的表达为肿瘤治疗提供潜在药物靶点，但目前除VEGF抑制剂外，其他研究并未取得理想成果。但总体来说氧感通路的发现为人类疾病，包括癌症、贫血、炎症、组织损伤和愈合等带来了新疗法，但也存在着相应的难题，仍需要进一步研究。

3 结语

在氧感通路的发现、研究过程中，这3位科学家凭其做出的贡献都是当之无愧的核心人物，引领这项工作的进展。不仅让我们逐步了解HIF调节的分子生物学过程，而且帮助我们更加深刻地理解了低氧反应在健康和疾病中所起的生理作用。

参考文献

1. Li Z, Zhang W. The 2016 Albert Lasker Basic Medical Research Award:

- Oxygen sensing—a mysterious process essential for survival[J]. *Sci China Life Sci*, 2016, 59(11): 1195-1197.
2. Thompson CB. Into thin air: how we sense and respond to hypoxia[J]. *Cell*, 2016, 167(1): 9-11.
3. Semenza GL, Neefelt MK, Chi SM, et al. Hypoxia-inducible nuclear factors bind to an enhancer element located 3' to the human erythropoietin gene[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1991, 88(13): 5680-5684.
4. Wang GL, Semenza GL. Characterization of hypoxia-inducible factor 1 and regulation of DNA binding activity by hypoxia[J]. *J Biol Chem*, 1993, 268(29): 21513-21518.
5. Wang GL, Semenza GL. General involvement of hypoxia-inducible factor 1 in transcriptional response to hypoxia[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1993, 90(9): 4304-4308.
6. Wang GL, Semenza GL. Purification and characterization of hypoxia-inducible factor 1[J]. *J Biol Chem*, 1995, 270(3): 1230-1237.
7. Wang GL, Jiang BH, Rue EA, et al. 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): 5510-5514.
8. Forsythe JA, Jiang BH, Iyer NV, et al. Activation of vascular endothelial growth factor gene transcription by hypoxia-inducible factor 1[J]. *Mol Cell Biol*, 1996, 16(9): 4604-4613.
9. Maxwell PH, Pugh CW, Ratcliffe PJ. Inducible operation of the erythropoietin 3' enhancer in multiple cell lines: evidence for a widespread oxygen-sensing mechanism[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1993, 90(6): 2423-2427.
10. Firth JD, Ebert BL, Pugh CW, et al. Oxygen-regulated control elements in the phosphoglycerate kinase 1 and lactate dehydrogenase A genes: similarities with the erythropoietin 3' enhancer[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1994, 91(14): 6496-6500.
11. Chittiboia P, Lonser RR. Von Hippel-Lindau disease[J]. *Handb Clin Neur*, 2015, 132: 139-156.
12. Iliopoulos O, Levy AP, Jiang C, et al. Negative regulation of hypoxia-inducible genes by the von Hippel-Lindau protein[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1996, 93(20): 10595-10599.
13. Maxwell PH, Wiesener MS, Chang GW, et al. The tumour suppressor protein VHL targets hypoxia-inducible factors for oxygen-dependent proteolysis[J]. *Nature*, 1999, 399(6733): 271-275.
14. Ivan M, Kondo K, Yang H, et al. HIF alpha targeted for VHL-mediated destruction by proline hydroxylation: implications for O₂ sensing[J]. *Science*, 2001, 292(5516): 464-468.
15. Jaakkola P, Mole DR, Tian YM, et al. Targeting of HIF-alpha to the von Hippel-Lindau ubiquitylation complex by O₂-regulated prolyl hydroxylation[J]. *Science*, 2001, 292(5516): 468-472.
16. Epstein AC, Gleadow JM, McNeill LA, et al. C. elegans EGL-9 and mammalian homologs define a family of dioxygenases that regulate HIF by prolyl hydroxylation[J]. *Cell*, 2001, 107(1): 43-54.

17. Ivan M, Haberberger T, Gervasi DC, et al. Biochemical purification and pharmacological inhibition of a mammalian prolyl hydroxylase acting on hypoxia-inducible factor[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2002, 99(21): 13459-13464.
18. Bruick RK, McKnight SL. A conserved family of prolyl-4-hydroxylases that modify HIF[J]. Science, 2001, 294(5545): 1337-1340.
19. The Nobel Assembly at Karolinska Institutet. The Nobel Assembly at Karolinska Institutet has today decided to award the 2019 Nobel Prize in Physiology or Medicine jointly to William G. Kaelin Jr, Sir Peter J Ratcliffe and Gregg L. Semenza[EB/OL]. <https://www.nobelprize.org/prizes/medicine/2019/press-release>. [2019-10-07], [2019-10-11].
20. Chen N, Hao C, Peng X, et al. Roxadustat for anemia in patients with kidney disease not receiving dialysis[J]. N Engl J Med, 2019, 381(11): 1001-1010.
21. Chen N, Hao C, Liu BC, et al. Roxadustat Treatment for Anemia in Patients Undergoing Long-Term Dialysis[J]. N Engl J Med, 2019, 381(11): 1011-1022.
22. 焦时宇, 于宝琪, 曲爱娟. 低氧诱导因子: 氧稳态的砝码——2019年诺贝尔生理学或医学奖简介[J]. 首都医科大学学报, 2019, 40(5): 805-809.
JIAO Shiyu, YU Baoqi, QU Aijuan. Hypoxia inducible factor: a weight to balance the oxygen homeostasis—introduction of Nobel Prize in Physiology or Medicine 2019[J]. Journal of Capital Medical University, 2019, 40(5): 805-809.

本文引用: 谢文清, 何苗, 李宇晟. 革命性的发现: 氧气感知——2019年诺贝尔生理学或医学奖简介[J]. 临床与病理杂志, 2020, 40(7): 1922-1926. doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2020.07.048

Cite this article as: XIE Wenqing, HE Miao, LI Yusheng. Revolutionary discovery: oxygen sensing—introduction of Nobel Prize in Physiology or Medicine 2019[J]. Journal of Clinical and Pathological Research, 2020, 40(7): 1922-1926. doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2020.07.048