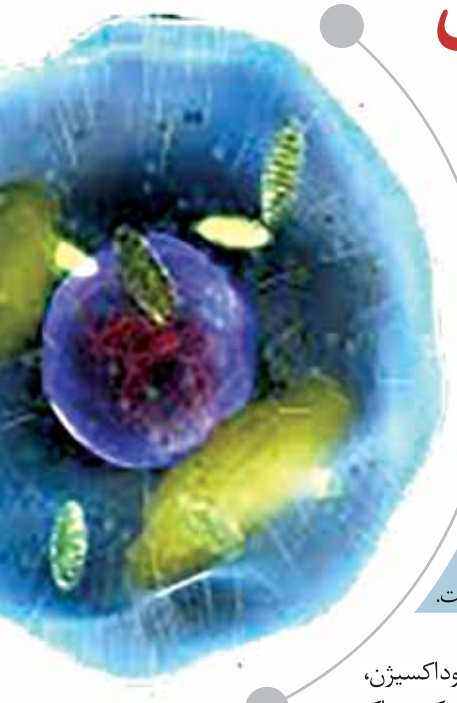
چگونگی سازگاری سلول‌ها با میزان اکسیژن



راندال جانسن[1] | ترجمه: فریده نعمت‌الهی

اشاره

اخیراً، جایزهٔ نوبل فیزیولوژی یا پزشکی سال ۲۰۱۹ برای کشف سازوکارهای پاسخ‌های سلول‌ها به کمبود اکسیژن، به سه پژوهشگران اهدا شد: «ویلیام کالین»[2]، «سر پیتر رتکلیف»[3] و «گرگ سمنزا»[4]. آنچه در پی می‌آید، مروری است بر تاریخچه و آخرین یافته‌های دانشمندان و پژوهشگران دربارهٔ چگونگی استفادهٔ سلول‌ها از اکسیژن و سیر کشف این سازوکار و کاربردهای آن در سلامت که از سوی «راندل جانسن» استاد زیست‌شناسی کمبود اکسیژن در مؤسسهٔ کارولینسکا، استاد فیزیولوژی مولکولی و آسیب‌شناسی دانشگاه کمبریج و عضو مجمع نوبل نوشته شده است.

کلیدواژه‌ها: اریتروپوئیتین، فاکتور القاپذیر کمبود اکسیژن، ژن فون هیپل ـ لیندا‌و، عنصر پاسخ به کمبود اکسیژن، انتقال‌دهندهٔ هسته‌ای گیرندهٔ هیدروکربن آریل

مقدمه

از همان ابتدای زیست‌شناسی مدرن، معلوم شده بود که سلول‌ها برای ادامهٔ زندگی به اکسیژن نیاز دارند؛ اما تاکنون سازوکارهای اساسی مولکولی پاسخ‌های سلول‌ها به تغییرات میزان اکسیژن ناشناخته مانده بودند.

هنگامی که در فشار اکسیژن پیرامونی سلول‌های جانوری تغییر ایجاد می‌شود، بیان ژن‌های سلول‌ها دچار تغییر اساسی می‌شود و سوخت‌وساز سلول‌ها و فعالیت‌های بافت‌ها و برخی اندام‌ها تغییر می‌کنند. مثلاً، هنگام کمبود اکسیژن ضربان قلب و تهویهٔ ششی افزایش می‌یابد.

در اوایل دههٔ ۱۹۹۰ «گرگ سمنزا»، یکی از برندگان جایزهٔ نوبل امسال، یک فاکتور رونویسی برای تنظیم پاسخ‌های سلول به اکسیژن را کشف و در سال ۱۹۹۵ آن را خالص‌سازی و کلون کرد. او این فاکتور را HIF[5] (فاکتور القاپذیر کمبود اکسیژن) نامید و نشان داد که این فاکتور از دو بخش تشکیل شده است: یکی بخش جدید و حساس به اکسیژن به نام HIF-۱α و دیگری پروتئینی غیرحساس به اکسیژن که قبلاً با نام ARNT شناسایی شده بود.

«ویلیام کالین» که در سال ۱۹۹۵ دربارهٔ ژن فون هیپل ـ لیندا‌و[6] (VHL) که سرکوبگر تومور است، تحقیق می‌کرد، پس از جداسازی اولین کلون کامل آن نشان داد که این ژن می‌تواند رشد تومور را در دودمان‌های سلولی توموری جهش‌یافته‌های VHL مهار کند. سپس، در سال ۱۹۹۹ «رتکلیف» نشان داد که بین VHL و HIF-۱α ارتباطی وجود دارد و VHL در واقع، فعالیت HIF-۱α را تنظیم می‌کند. سرانجام، «کالین» و رتکلیف هم‌زمان نشان دادند که VHL تنظیم‌کنندگی HIF-۱α را از طریق هیدروکسیلاسیون آن انجام می‌دهد. ترکیب کارهای پژوهشی این سه نفر نشان داد که پاسخ سلول‌های جانوری به تغییرات فشار اکسیژن محیط، از طریق بیان ژن صورت می‌گیرد و فاکتور رونویسی HIF به تغییرات اکسیژن محیطی پاسخ‌های سلولی فوری می‌دهد.

لویی پاستور اولین کسی بود که در سال ۱۸۵۸ نشان داد تعادل مصرف اکسیژن در سلول‌های جانوران فرایندی پیچیده است و سلول‌ها از چندین مسیر برای تبدیل انرژی استفاده‌می‌کنند

تاریخچه

اوایل دهۀ ۱۷۷۰، «کارل شیله»[۷] دانشمند سوئدی با محاسبات خود تشخیص داد که تقریباً یک‌چهارم از حجم هوا از چیزی که او «هوای آتش» می‌نامید، تشکیل شده است. منظور او از هوای آتش، بخشی از اتمسفر بود که باعث سوختن مواد می‌شود. او سرانجام گزارش کارهای خود را در سال ۱۷۷۷ منتشر کرد (Scheele, ۱۷۷۷)؛ اما درواقع در همان زمان جوزف پریستلی در انگلستان روشی برای خالص‌سازی این گاز که قبلاً ناشناخته بود، پیدا کرد (Priestley, ۱۷۷۵). آنتوان لاوازیه نیز هم‌زمان با شیله و پریستلی آزمایش‌هایی برای جداسازی این ماده در پاریس انجام داد و هم او بود که نام اکسیژن را به این عنصر داد (Lavoisier, ۱۷۷۷).

می‌دانیم که اکسیژن برای حیات سلول‌های جانوری ضروری است و از واکنش‌های اکسیداسیون مواد غذایی ATP تولید می‌کند. درواقع، بیش از یک قرن است که معلوم شده تنظیم موقعیت سلول با میزان اکسیژنی که در دسترس دارد، برای تنظیم سوخت‌وساز سلول ضروری است. لویی پاستور اولین کسی بود که در سال ۱۸۵۸ نشان داد تعادل مصرف اکسیژن در سلول‌های جانوران فرایندی پیچیده است و سلول‌ها از چندین مسیر برای تبدیل انرژی استفاده می‌کنند (Pasteur, ۱۸۵۸). بیش از ۷۵ سال پیش دو برندۀ جایزۀ نوبل سازوکارهای مورد استفاده در سنجش فشار اکسیژن در سلول‌های جانوری را مشخص کردند: «اتو واربورگ»[۸] در سال ۱۹۳۱ برای اکتشافات خود در مورد مبنای آنزیمی تنفس سلولی و «کرنیل هیمانز»[۹] در سال ۱۹۳۸ برای یافته‌های خود دربارۀ نقش دستگاه عصبی در پاسخ تنفسی به اکسیژن. با این حال، در سراسر بخش بیشترِ قرن بیستم مشخص نبود که سازگاری سلول با میزان اکسیژنی که در دسترس دارد، چگونه در تراز بیان ژن تنظیم می‌شود.

سازگاری با تغییرات میزان اکسیژن

تقریباً همۀ سلول‌های جانوری باید بتوانند نسبت به تغییرات میزان اکسیژن محیط واکنش سریع داشته باشند. براساس بررسی‌های تاکسونومی مولکولی مشخص شده است که در گذر زمان، هنگامی که سلول‌های جانوری شروع به ساماندهی خود به‌صورت ساختارهای سه‌بعدی چندسلولی کردند، این نوع پاسخ به میزان اکسیژن محیط از واکنش خودمختار سلولی فراتر رفت و امکان سازگاری متابولیک و ایجاد پاسخ‌های پیچیدۀ فیزیولوژیک را در سلول‌های منفرد فراهم کرد. سلول‌ها باید می‌توانستند از بسیاری جهات میزان سوخت‌وساز خود با تغییرات میزان اکسیژن محیط تنظیم کنند و به‌صورت خودمختار با آن سازگار باشند. وقتی این پاسخ را در تراز بافت‌ها و اندام‌ها بررسی می‌کنیم، متوجه می‌شویم که جانداران پرسلولی به بافت‌های حساس در برابر تغییر میزان اکسیژن (مانند بازسازی عروق پس از آسیب) و در عین حال به سازگاری کل جاندار برای جبران اکسیژن‌رسانی (مانند افزایش تهویۀ ششی هنگام ورزش یا در ارتفاع زیاد) نیاز دارند. برای نمونه: سلول‌های تخصصی واقع در کلیه‌های انسان در ارتفاعات زیاد، هورمون اریتروپویتین[۱۰] را در پاسخ به کمبود اکسیژن محیط می‌سازند و در خون آزاد می‌کنند. این هورمون ساخته‌شدنِ سلول‌های قرمز خون را در مغز استخوان تحریک می‌کند. یکی از راه‌های تحریک این واکنش قرار گرفتن در معرض فشار کم اکسیژن در ارتفاعات بالاست: توقف در ارتفاعات باعث افزایش تولید اریتروپویتین توسط کلیه و منجر به افزایش چگالی سلول‌های قرمز خون می‌شود که به نوبه خود در سازگاری با کاهش فشار جزئی اکسیژن به ما کمک می‌کند.

{O2}

میزان اکسیژن بافت‌های جانوران در مکان‌ها و زمان‌های مختلف، متفاوت است و این تغییر در رویدادهای طبیعی فیزیولوژیک (مانند کاهش اکسیژن موجود در ماهیچه‌های اسکلتی هنگام ورزش) و هم‌چنین در فرایندهای پاتولوژیک مانند سرطان و عفونت‌ها رخ می‌دهد. تحقیقاتی که در دهه‌های ۱۹۷۰ و ۱۹۸۰ انجام شد، مشخص کرد که این تغییرات موضعی و گذرا در فشار جزئی اکسیژن، باعث پاسخ‌های سازشی بحرانی سلولی و بافتی از طریق تغییر در تنظیم رونویسی ژن‌ها می‌شود. این پاسخ‌های تنظیمی ژنی، سوخت‌وساز سلول‌ها را تغییر می‌دهند و فرایندهای اساسی رشد، ترمیم و دفاع از جمله، مواردی مانند رگ‌زایی، التهاب و رشد را کنترل می‌کنند.

حساسیت سلول‌های جانوری به فشار اکسیژن محیط و در نتیجه، توانایی تغییردادن الگوهای بیان ژن‌ها، برای بقای همهٔ جانوران ضروری است. مسیرهای سیگنالینگی که با اکسیژن فعال و کنترل می‌شوند، حداقل ۳۰۰ ژن را که متعلق به طیف گسترده‌ای از شبکه‌های نظارتی هستند، تحت‌تأثیر قرار می‌دهند. این مسیرهای مولکولی در فرایندهای فیزیولوژیک بسیاری، از رشد اندام‌ها و هم‌ایستایی سوخت‌وسازی تا بازسازی بافت‌ها و ایمنی بدن و در بسیاری از بیماری‌ها از جمله سرطان نقش‌های مهم دارند.

اکسیژن و پاسخ اریتروپویتینی

تقریباً هر مسیر سیگنالینگ که برای ادامهٔ حیات جانوران لازم است، شامل چند لایهٔ تنظیمی دقیق و نقاط تقاطع با سایر مسیرهای مولکولی است. مسیر پاسخ اکسیژن نیز از این قاعده مستثنی نیست. بنابراین، همان‌طور که انتظار می‌رفت، کشف جزئیات مولکولی سازوکارهای تنظیم‌کنندگی اکسیژن با اکتشافات دانشمندان برندهٔ جایزهٔ نوبل ۲۰۱۹ متوقف نشد؛ بلکه زمینه را برای کار دربارهٔ پیچیدگی‌های پرشمار مولکولی در مسیر پاسخ به میزان اکسیژن آماده کرد.

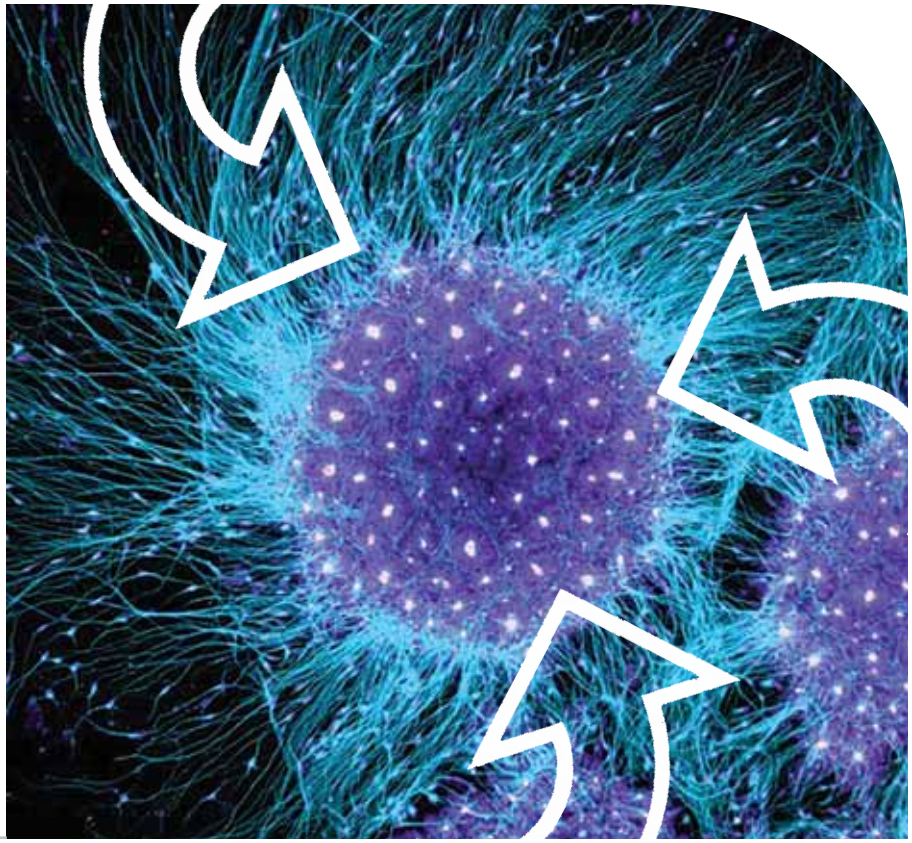
اکتشافات اساسی «سمنزا»، «کالین» و «رتکلیف» همه حول عملکرد فاکتور HIFی‌سیونور (فاکتور القاپذیر کمبود اکسیژن) بوده‌اند. کشف این فاکتور ریشه در کارهایی دارد که در سال‌های ۱۹۸۶ و ۱۹۸۷ از سوی تعدادی از محققان، از جمله «موریس بوندورانت»[11]، «مارک کوری»[12] و «جیمی کارو»[13] انجام شد. کارهای این پژوهشگران نشان داد که کمبود اکسیژن باعث افزایش بیان رونویسی ژن هورمون اریتروپویتین در کلیه‌ها می‌شود (Bondurant and Koury, ۱۹۸۶; Jelkmann and Hellwig-Burgel, ۲۰۰۱; Schuster et al., ۱۹۸۷). این یافته به نوبهٔ خود ریشه در آزمایش‌هایی دارد که در سال ۱۸۸۲ به دست «پل برت»[14] فیزیولوژیست فرانسوی انجام شده بود. او ابتدا اثرهای قلبی و عروقی کمبود اکسیژن را نشان داد (Bert, ۱۸۷۸) و اولین کسی بود که معلوم کرد قرار گرفتن در ارتفاع زیاد باعث افزایش تعداد سلول‌های قرمز خون می‌شود (Bert, ۱۸۸۲).

جداسازی HIF

هنگامی که معلوم شد که ژن اریتروپویتین با رونویسی به کمبود اکسیژن پاسخ می‌دهد، مرحلهٔ بعدی تعیین توالی DNA ناحیهٔ تنظیم کنندهٔ ژن اریتروپویتین بود که مسئول حساسیت به اکسیژن است. «سمنزا» تصمیم گرفت که با استفاده از کلون‌هایی از ژن اریتروپویتین انسانی با قطعات DNA در اندازه‌های مختلف، اجزای تنظیم‌کنندهٔ رونویسی ژن اریتروپویتین را در موش‌های تراریخته ردیابی کند. «سمنزا» و همکاران برای اولین‌بار

شواهد زیادی وجود دارد مبنی بر اینکه برخی از پاسخ‌هایِ کمبود اکسیژن منحصراً توسط یک ایزوفرم HIF حساس به اکسیژن کنترل می‌شوند

تقریباً همهٔ سلول‌های جانوری باید بتوانند نسبت به تغییرات میزان اکسیژن محیط واکنش سریع داشته باشند



نشـــان دادند که یک منطقهٔ ۴ کیلوبازی که حاوی توالی کدکنندهٔ اریتروپویتین است، همراه با برخی توالی‌های کوچک مجاور انتهاهای۵، و ۳، منجر به تولید اریتروپویتین در کلیه‌های بافت‌های تراریخته می‌شود، سطح اریتروپویتین در خون را بالا می‌برد و باعث افزایش تعداد سلول‌های قرمز خون می‌شود (Semenza et al., ۱۹۸۹). او ســپس نشان داد که یــک ژن طویل‌تر اریتروپویتین که حاوی ۶ کیلوباز در مجاورت انتهای DNA ’۵ اســت، می‌تواند بیان اریتروپویتیــن را در کلیه‌ها القا کند (Semenza et al., ۱۹۹۰). این تحقیقات به کشف ساز و کار پیچیدهٔ تنظیم رونویســیِ پاسخ اریتروپویتین به اکسیژن و بخش‌های تنظیمی مثبت و منفی آن انجامید.

یک سال بعد، در سال ۱۹۹۱، «سمنزا» دو مقالهٔ دیگر دربارهٔ تنظیم ژن اریتروپویتین منتشر کرد: یکی از تحقیقات او که دربارهٔ حساسیت شدید به DNA- آز بود، منطقه‌ای کوچک در مجاورت انتهای DNA ’۳ مربوط به اریتروپویتین را نشــان داد که چندین عامل هسته‌ای را محدود می‌کند و حداقل دو مورد از آن‌ها ناشی از القای کم‌خونی در کبد و کلیه‌ها بود. این منطقهٔ کوچک می‌تواند به صورت تقویت‌کنندهٔ ناشی از کمبود اکسیژن در اندازه‌گیری بیان سریع در شرایط آزمایشــگاهی عمل کند (Semenza et al., ۱۹۹۱b). تحقیق دیگر، تنظیمات رونویســی اریتروپویتین را در مدل‌های تراریخته بیشترِ مشخص می‌کند (Semenza et al., ۱۹۹۱a). تقریباً در همین زمان، «رتکلیف» و «کارو» نیز گزارشی دربارهٔ وجود یک عنصر سامان‌دهندهٔ هم‌سوی ’۳ در DNA ژن اریتروپویتین ارائه دادند که در برابر اکسیژن حساس است (Beck et al., ۱۹۹۱; Pugh et al., ۱۹۹۱).

پژوهش فوق‌الذکر باعث شــد که «ســمنزا» در ســال ۱۹۹۲ یک افزایندهٔ حدود ۵۰ کیلوبازی را در انتهای ’۳ ژن اریتروپویتین شناسایی کند. او توانست برای اســتخراج بیان ژن گزارشگر کمبود اکسیژن در سلول‌های کشت‌داده‌شــده از آن استفاده کند. «سمنزا» آن را «عنصر پاسخ به کمبود اکسیژن»[۱۵] (HRE) نامید. این افزاینده چندین عامل هسته‌ای را در سلول‌های ســرطانی کبدی محدود می‌کند: یکی ساختاری و دیگری که هنگام کاهش اکسیژن القا می‌شود که «سمنزا» آن را عامل القاپذیر کمبود اکســیژن (HIF) نامیــد (Semenza and Wang, ۱۹۹۲).

فعالیت HIF یکی نیست، بلکه دو سازوکار مستقل برای مهار وابسته به اکسیژن پس از ترجمه دارد

«سمنزا» و «رتکلیف» نشـان دادند که افزایندهٔ اریتروپویتین ۳' می‌تواند بیان ژن گزارشگر کمبود اکسیژن را در طیف وسیعی از سلول‌های پستانداران انجام دهـد (Maxwell et al., ۱۹۹۳; Wang and Semenza, ۱۹۹۳). این نشـان داد که سـازوکار مولکولی ژن اریتروپویتین که در تنظیم اکسـیژن نقش دارد، در طیف گسترده‌ای از سلول‌های جانوری فعال است. این یافته اشاره دارد که این عامل جدید احتمالاً بخشی از یک ماشین سلولی مشترک برای سنجش اکسیژن است.

القای کمبود اکسیژن از سوی HIF را می‌توان نه‌تنها در سلول‌های تولیدکنندهٔ اریتروپویتین در کلیه‌ها و کبد، بلکه در بسـیاری از سلول‌های پستانداران نیز مشاهده کرد. این کشف باعث جلب توجه دانشمندان جهان شـد. کشف HIF بیانگر وجود احتمالی یک ماشین مولکولی عمومی برای سازگاری متابولیک و پاسخ سلول‌ها به میزان اکسیژن در بافت‌هاست.

«سمنزا» در این مرحله، برای خالص‌سازی پروتئین از مقادیر زیادی عصارهٔ سلولی، از روشی بیوشیمیایی اسـتفاده کرد. او برای ارزیابی عملکـردی HIF در طول خالص‌سـازی و اسـتخراج از روش سنجش تغییر تحرک الکتروفورزی[۱۶] (EMSA) برای عنصر ۳' افزایندهٔ ژن اریتروپویتین استفاده کرد (Wang et al., ۱۹۹۵; Wang and Semenza, ۱۹۹۵). توالی‌یابی آمینواسیدها و سپس کلونینگ cDNA پروتئین‌های خالص نشـان داد که HIF خود یک مولکول دوپاره‌ناجور است که از دو محصول مختلف ژنی تشکیل شده است. اولین بخش آن فاکتور HIF حساس به اکسـیژن بود که «سمنزا» آن را HIF-۱α نامید و بخش دوم یک ژن ساختاری بیان شدنی بود کـه در ابتدا HIF-۱b نامیده می‌شـد؛ اما بعداً مشخص شد که این بخش قبلاً کلون و توصیف شده و انتقال‌دهندهٔ هسته‌ای گیرندهٔ هیدروکربن آریل[۱۷] نام گرفته اسـت (Wang et al., ۱۹۹۵). پروتئین ARNT با تعدادی از فاکتورهای دیگر هترودیمری می‌شـود و از آنجا که بیان آن حساس به اکسیژن نیست، به سرعت مشخص شد که HIF-۱α تنظیم کنندهٔ واکنش با اکسیژن در مجموعه HIF است.

گسترش خانوادهٔ HIF

پروتئینی که به HIF-۱α مرتبط اسـت، در سال ۱۹۹۷ به طور مستقل توسط چهار گروه مختلف[۱۸] کلون شد. در ابتدا چند نام مختلف داشت، از جمله یکـی از آن‌ها که امروزه نیز معمولاً مورد اسـتفاده قـرار می‌گیـرد: (HIF-۲a) ؛ امـا ژن آن EPAS۱ اسـت. ژن EPAS۱ پروتئینی را رمزگذاری می‌کند که هماهنگی بسـیاری با توالی به HIF-۱α دارد و هم‌چنین به‌عنوان یک هترودیمر به ARNT متصل، باعث حساسیت HIF-۱α به کمبود اکسیژن می‌شود و اساساً با مواردی که برای HIF-۱α شرح داده شد، موتیف‌های تنظیمی یکسانی دارد.

بااین حال، تفاوت‌های قابل توجهی بین عملکردهای HIF-۱α و EPAS۱ وجود دارد. حذف ژن HIF-۱α در موش مرگ و میر هنگام حاملگی ایجاد می‌کند (Iyer et al., ۱۹۹۸; Ryan et al., ۱۹۹۸)؛ اما حذف ژن EPAS۱ باعث ایجاد فنوتیپ‌های بسیار متنوعی می‌شـود که احتمالاً به دلیل تغییر زمینهٔ ژنتیکی است (Compernolle et al., ۲۰۰۲; Peng et al., ۲۰۰۰; Tian et al., ۱۹۹۸). علاوه بر این، شـواهد زیادی وجود دارد مبنی بر اینکه برخی از پاسخ‌های کمبود اکسـیژن منحصراً توسط یک ایزوفرم HIF حساس به اکسیژن کنترل می‌شوند. به‌عنوان مثال، اریتروپوئیزیس، در درجهٔ اول توسط EPAS۱ کنترل می‌شود (Fandrey, ۲۰۰۴).

حساسیت سلول‌های جانوری به غلظت‌های مختلف اکسیژن محیط و در نتیجه، تغییر الگوهای بیان ژن‌ها، برای بقای تقریبا همهٔ جانوران ضروری است

تنظیم HIF پس از ترجمه روی می‌دهد و شامل VHL است

داده‌های به دسـت آمده از تحقیقـات، از جمله تحقیقات «رتکلیف» نشان دادند که سطح HIF-۱α با تغییر در ثبات پروتئین تنظیم می‌شود، نه با تغییر در رونویسی ژن یا سنتز پروتئین (Huang et al., ۱۹۹۸a; Kallio et al., ۱۹۹۹; Pugh et al., ۱۹۹۷; Salceda and Caro, ۱۹۹۷; Srinivas et al., ۱۹۹۹). هم‌چنین برخی پژوهشـگران از جمله «کارو» و «فرانک بون»[۱۹] مشخص کردند که HIF-۱α از طریق مسـیر یوبیکویتین-پروتئازوم[۲۰] و به شکلی وابسته به اکسیژن تخریب می‌شود (Huang et al., ۱۹۹۸b; Salceda and Caro, ۱۹۹۷). ایـن تحقیق هم‌چنین دُمین ساختاری خاصی را در HIF-۱α که مسئول تخریب وابسـته به اکسیژن است، مشـخص می‌کند (منطقهٔ ODD پروتئین نامیده می‌شـود و در HIF-۱α و EPAS۱ هـر دو موجود است).

تقریباً در این مرحله، در سال ۱۹۹۵، گروه «کالین» اولین گزارش توالی کامل ژن سرکوبگر تومور VHL را منتشر کرد و نشان داد که به کارگیری نسخهٔ وحشی

VHL در یک دودمان سلولی سرطانی کلیه مانع از ایجاد تومور می‌شـود (Iliopoulos et al., ۱۹۹۵). «کالین» و برخی گروه‌های دیگر در حال بررسی ژن VHL و پیوند آن با تعـدادی از خانواده‌های دارای تمایل ژنتیکی به سـرطان‌های خاص بودند. مقالهٔ «کالین» نشـان داد که VHL ژن سرکوبگر تومور است و فعالیت آن می‌تواند در جلوگیری از رشد تومور سلول‌های بیماران دارای جهش VHL عمل کند. در سال ۱۹۹۶، در طول توصیف ژن VHL، کار مشترک بین گروه «کالین» و گروه «مارک گلدبرگ»[۲۱] نشان داد که تعدادی از ژن‌های هدف HIF در دودمان‌های سلولی جهش‌یافتهٔ VHL بیش از حد بیان شده‌اند (Iliopoulos et al., ۱۹۹۶). این یافته نشان می‌دهد که دو مسیر پاسخ HIF و تومورزایی مرتبط با VHL ممکن است در برخی روش‌ها مرتبط باشند.

بعد از آن، سـرنخ مهمی در بارهٔ عملکرد VHL با شناسایی اتصال‌دهنده‌های دیگر به پروتئین VHL به‌دست آمد. «ریچارد کلوزنر»[۲۲] و «کالین» در سال ۱۹۹۵ دریافته بودند که ارتباط بالقوه‌ای بین VHL و تخریب پروتئین وجود دارد.

HIF هدف یوبیکویتین‌شدن و پروتئولیز توسط VHL است

در بـازهٔ زمانی بیـن سـال‌های ۱۹۹۶ و ۱۹۹۸ مشخص شـد که HIF-۱α و EPAS۱ با سرعت با تخریب پروتئازومی در حضور میزان طبیعی اکسیژن از بین می‌روند. در آن زمان هنوز معلوم نبود که چگونه این فرایند طی کمبود اکسیژن مهار می‌شود. لیگاز یوبیکوئیتین E۳ قطعهٔ گمشدهٔ پازل بود که به نظر می‌رسید هدف‌گیری HIF-۱α را برای تخریب انجام می‌دهد. «رتکلیف» و همکارانش در سال ۱۹۹۹، در یک مقاله اعلام کردند که مجتمع VHL در پروتئولیز HIF-۱α درگیر اسـت (Maxwell et al., ۱۹۹۹). آنان بعداً نشـان دادند کـه VHL به‌صورت یکی از بخش‌های تشخیص‌دهندهٔ مجتمع لیگاز یوبیوکیتین E۳ در این فرایند عمل می‌کند (Cockman et al., ۲۰۰۰; Kamura et al., ۲۰۰۰; Krieg et al., ۲۰۰۰; Ohh et al., ۲۰۰۰; Tanimoto et al., ۲۰۰۰).

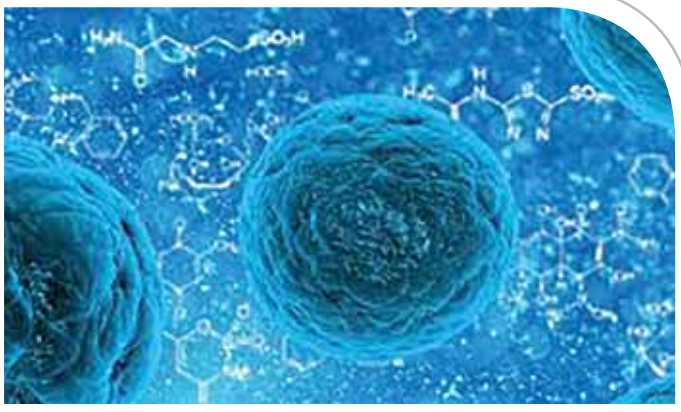
قطعهٔ مهم و باقیمانده از ایـن پازل در آن مرحله نحـوهٔ تعامـل VHL-HIF-۱α و در پی آن تخریب HIF-۱α توسط اکسیژن تنظیم می‌شود. نکتهٔ مهم ، مقالهٔ ماکسول و همکاران او در سال ۱۹۹۹ بود که اشاره می‌کند تعامل VHL-HIF-۱α به فعالیتی نیاز دارد که هم به اکسیژن و هم به آهن وابسته است. این یافته جسـت‌وجوی سازوکار مربوط را آغاز کرد: هم دربارهٔ تغییر شیمیایی وابسته به اکسیژن از HIF-۱α که اتصال VHL را برقرار می‌کند و هم برای آنزیم(ها)یی که آن واکنش را کاتالیز می‌کنند.

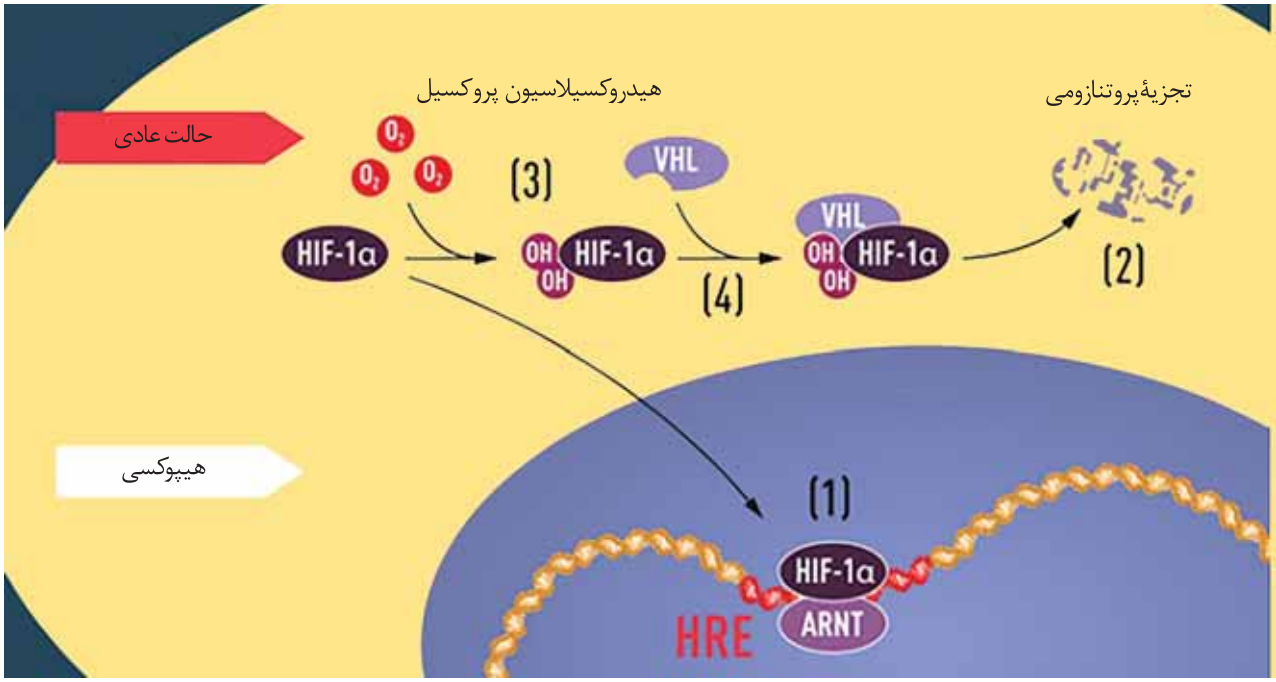
در آن زمان، هیدروکسیلاسیون پروتئین وابسته به اکسیژن در پروتئین‌های کلاژن شناخته شده بود و معلوم شده بود که این عمل از سوی کلاژن پرولیل-۴-هیدروکسـیلاز[۲۳] انجام می‌شود. بنابراین، به نظر می‌رسید که هیدروکسیلاسیون وابسته به اکسیژنِ باقیماندهٔ پرولین در HIF-۱α ممکن است باعث تغییر سـاختاری مورد نیاز برای اتصال به VHL بشود. در سـال ۲۰۰۱ «رتکلیف» و «کالین» به طور هم‌زمان گزارش دادند که ۴-هیدروکسیلاسـیون وابسته به اکسـیژنِ دو باقیماندهٔ پرولیـن در دُمین ODD از HIF-۱α وابستگی برای اتصال به کمپلکس VHL اتصال از فاکتور رونویسـی HIF را افزایش می‌دهد (Ivan et al., ۲۰۰۱; Jaakkola et al., ۲۰۰۱).

سوئیچ‌های وابسته به اکسیژن

هیدروکسیلاسـیون پرولین نیاز به اکسیژن دارد. بنابراین، سازوکار ظریف تنظیم پساترجمه‌ای پروتئین

از نظر فارماکولوژیک، عملکرد HIF ممکن است به درمان طیف وسیعی از بیماری‌ها کمک کند





HIF-۱α و EPAS۱ آشکار شد: در صورت عدم وجود اکسیژن، هیدروکسیلاسیون روی نمی‌دهد و VHL نمی‌تواند HIF-۱α را تشخیص بدهد. به همین علت، HIF-۱α یوبیکوییتینی نمی‌شود و بنابراین، تخریب پروتئازومی آن انجام نمی‌شود و به همین علت دست‌نخورده باقی می‌ماند. سپس، می‌تواند متراکم و رونویسی آن فعال شود و ژن القای کمبود اکسیژن α را فعال کند (شکل ۱).

«رتکلیف» و «مک نایت» به‌طور مستقل ژن‌های پرولیل هیدروکسیلاز (PHD) درگیر در هیدروکسیلاسیون HIF-۱α و EPAS۱ را شناسایی کردند (Bruick and McKnight, ۲۰۰۱; Epstein et al., ۲۰۰۱). «کالین» هم‌چنین با استفاده از روش‌های بیوشیمیایی، ژن‌های PHD را جدا و گزارش خود را در سال ۲۰۰۲ منتشر کرد (Ivan et al., ۲۰۰۲).شناسایی این هیدروکسیلازها امکان ایجاد مهارکننده‌های خاص PHD برای افزایش فعالیت HIF به‌عنوان مثال، افزایش سطح اریتروپویتین در بیماران مبتلا به کم‌خونی را ایجاد کرد.

در سال ۲۰۰۱ دومین سازوکار وابسته به اکسیژن، این‌بار نه برای تخریب HIF-۱α، بلکه برای مهار فعالیت آن به‌عنوان یک فاکتور رونویسی کشف شد. «سمنزا» اولین کسی بود که فاکتور آن را شناسایی کرد و آن را FIH-۱ (برای عامل مهارکنندهٔ HIF) نامید (Mahon et al., ۲۰۰۱). FIH هم‌چنین یک هیدروکسیلاز وابسته به اکسیژن است و در اینجا آنکه باقیماندهٔ آسپاراژین را در دُمین فعال سازی پایانهٔ N مربوط به HIF-۱α (NTAD و EPAS۱) را هیدروکسیله می‌کنند، همین است. این هیدروکسیلاسیون توسط «موری ویتلاو» و «ریچارد برورویک» برای دخالت در درگیری مشترک فعال‌کنندهٔ رونویسی p۳۰۰ پیدا شد (Lando et al., ۲۰۰۲a; Lando et al., ۲۰۰۲b). در این روش، اکسیژن نه‌تنها باعث تخریب HIF-۱α از طریق پرولیل هیدروکسیلاسیون دامنهٔ ODD آن می‌شود، بلکه می‌تواند عملکرد رونویسی هر HIF-۱α یا EPAS۱ را که از تخریب وابسته به VHL در امان مانده است نیز مهار کند. بنابراین ، فعالیت HIF یکی نیست، بلکه دو سازوکار مستقل برای مهار وابسته به اکسیژن پس از ترجمه دارد. این نشان می‌دهد که نگه داشتن سطح HIF به درستی و دقیقاً توسط میزان اکسیژن سلولی تنظیم می‌شود و لزوماً یک فرایند بسیار دقیق است.

اهمیت مسیر کنترل HIF

کارهای بسیاری از گروه‌های پژوهشی از آن زمان اهمیت بسیار مسیر HIF و نقش اصلی آن را در تنظیم بیان ژن تحت تأثیر اکسیژن نشان داده است. «سمنزا»، «رتکلیف» و «کالین» از زمان اکتشافات اصلی در این مسیر باقی‌مانده اند. آنان در توضیح گسترده‌تر مسیر HIF نقش داشته‌اند و هم‌چنین

شکل ۱. هنگامی که سطح اکسیژن کم است (کمبود اکسیژن)، HIF-۱ از تخریب محافظت می‌شود؛ در هسته تجمع می‌یابد و در آنجا با ARNT در ارتباط است و به توالی خاصی از DNA، یعنی HRE در ژن‌های تنظیم‌کنندهٔ کمبود اکسیژن متصل می‌شود (۱). در حالت عادی وقتی که تراز سطح اکسیژن طبیعی است، پروتئازوم با سرعت HIF-۱ را تخریب می‌کند (۲). اکسیژن فرایند تخریب را با افزودن گروه‌های هیدروکسیل (OH) به HIF-۱ تنظیم می‌کند (۳). سپس پروتئین VHL می‌تواند با HIF-۱ متصل و منجر به تخریب آن به روش وابسته به اکسیژن شود (۴).

به‌کارگیری نسخهٔ وحشی VHL در یک دودمان سلولی سرطانی کلیه مانع از ایجاد تومور می‌شود

درک مـــا را در مورد نقش‌های فیزیولوژیک پاســـخ کمبود اکسیژنک در ســـلامت و بیماری‌ها، افزایش داده‌اند.

کشف هیدروکسیلازهای پرولین که تنظیم‌کنندهٔ پایداری HIF-۱α هســـتند، باعث جســـت‌وجوی مهارکننده‌های هیدروکســـیلاز برای افزایش سطح HIF شده و مسیرهای جدیدی برای کشف داروها باز کـــرده اســـت (Giaccia et al., ۲۰۰۳). درواقع، هم‌اکنون کار روی برخی داروها که با مهار آنزیم‌های PHD عملکرد HIF را افزایش می‌دهند ، ادامه دارد و مقالاتی که اخیراً منتشر شده‌اند، اثربخشی بالینی آن‌ها را در درمان کم‌خونی نشان می‌دهند (Chen et al., ۲۰۱۹a; Chen et al., ۲۰۱۹b).

برنامه‌هایـــی برای مهار مســـیر HIF در آینده نیز در پیش رو هســـتند؛ از جمله برای کاهش سرعت پیشرفت برخی سرطان‌ها که بر اثر جهش‌های VHL ایجاد می‌شوند. یکی از این موارد، ایجاد بلوکه‌کنندهٔ خاصی برای عملکرد EPAS۱ است که اخیراً توسط «کالین» و همکاران او به‌عنوان کندکنندهٔ رشد تومور سلول‌های جهش یافتهٔ VHL در مدل‌های جانوران توصیف شده است (Cho et al., ۲۰۱۶).

از نظر فارماکولوژیک، عملکرد HIF ممکن اســـت بـــه درمان طیف وســـیعی از بیماری‌ها کمک کند، زیرا نشان داده شده است که HIF برای پدیده‌هایی متنوع از نظر عملکرد ایمنی، تشکیل غضروف و بهبود زخم‌ها ضروری است. در مقابل، مهار عملکرد HIF می‌تواند کاربردهای زیادی داشته باشد: افزایش سطح HIF در بسیاری از سرطان‌ها و هم‌چنین در برخی از بیماری‌های قلبی عروقی از جمله سکتهٔ مغزی، حملهٔ قلبی و فشار خون ریوی مشاهده می‌شود. از این‌رو، احتمالاً ما هنوز در ابتدای راه کشف کاربردهای این یافته‌های این برنده جایزهٔ نوبل قرار داریم، زیرا مشخص است که پاسخ به اکسیژن موجود در سلول‌ها، بافت‌ها و اندام‌ها یکی از اصلی‌ترین و مهم‌ترین سازگاری‌های فیزیولوژیکی است که جانوران دارند.

پی‌نوشت‌ها

1. Randall S. Johnson, Professor of Hypoxia Biology, Karolinska Institutet, Professor of Molecular Physiology and Pathology, University of Cambridge, Member of the Nobel Assembly, Karolinska Institutet, Stockholm, October 7, 2019, Correspondence: randall.johnson@ki.se
2. William Kaelin
3. Sir Peter Ratcliffe
4. Gregg Semenza
5. Hypoxia Inducible Factor
6. von Hippel-Lindau
7. Carl Scheele
8. Otto Warburg
9. Corneille Heymans
10. erythropoietin
11. Maurice Bondurant
12. Mark Koury
13. Jaime Caro
14. Paul Bert
15. hypoxia response element
16. electrophoretic mobility shift assays
17. Aryl Hydrocarbon Receptor Nuclear Translocator
18. Yoshiaki Fujii-Kuriyama, Werner Risau, Christopher Bradfield, and Steven McKnight
19. Caro and H. Frank Bunn
20. ubiquitin-proteasome pathway
21. Mark Goldberg
22. Richard Klausner
23. collagen prolyl-4-hydroxylase

منبع ترجمه

• Johnson, Randall S.; How cells sense and adapt to oxygen availability, (2019), https://www.nobelprize.org/prizes/medicine/2019/advanced-information/

برای مشاهدهٔ منابع مندرج در مقاله به این صفحه مراجعه کنید:
https://www.nobelprize.org/prizes/medicine/2019/advanced-information/