

ANDRZEJ GRUZA, KATARZYNA WINIARSKA

*Zakład Regulacji Metabolizmu  
Instytut Biochemii  
Wydział Biologii  
Uniwersytet Warszawski  
Miecznikowa 1, 02-096 Warszawa  
E-mail: a.gruza@student.uw.edu.pl  
k.winiarska@biol.uw.edu.pl*

## HIF – CZYNNIK TRANSKRYPCYJNY NA MIARĘ NAGRODY NOBLA 2019\*

### WSTĘP, CZYLI WSZYSTKO ZACZEŁO SIĘ OD EPO

W 2019 r. Nagroda Nobla w dziedzinie fizjologii lub medycyny została przyznana Greggowi L. Semenzie (Johns Hopkins University, USA), Peterowi J. Ratcliffowi (University of Oxford, Francis Crick Institute, UK) oraz Williamowi G. Kaelinowi (Howard Hughes Medical Institute, Dana-Farber Cancer Institute, USA) za „odkrycie, w jaki sposób komórki wykrywają i dostosowują się do dostępności tlenu”. Było to następstwem niemal 30 lat badań dotyczących czynnika transkrypcyjnego aktywowanego przez hipoksję (ang. hypoxia inducible factor, HIF). Badania te rozpoczęły się od prac nad erytropoetyną (EPO), hormonem, o którym już wcześniej wiedziano, że odpowiada za wzrost liczby czerwonych krwinek i adaptację organizmu do niedoboru tlenu, i doprowadziły do wskazania w promotorze genu kodującego EPO sekwencji odpowiedzi na hipoksję (ang. hypoxia response element, HRE), a następnie do wyodrębnienia czynnika transkrypcyjnego wiążącego się do tej sekwencji – HIF (SEMENZA i współaut. 1991, SONI i PADWAD 2017). Tak doszło do odkrycia zupełnie nowego mechanizmu regulacji ekspresji genów, których produkty mają krytyczne znaczenie nie tylko dla samej fizjologicznej adaptacji komórek do zmieniających się warunków tlenowych, ale także m.in. w procesach nowotworzenia (HELLWIG-BÜRGEŁ i współaut. 2005).

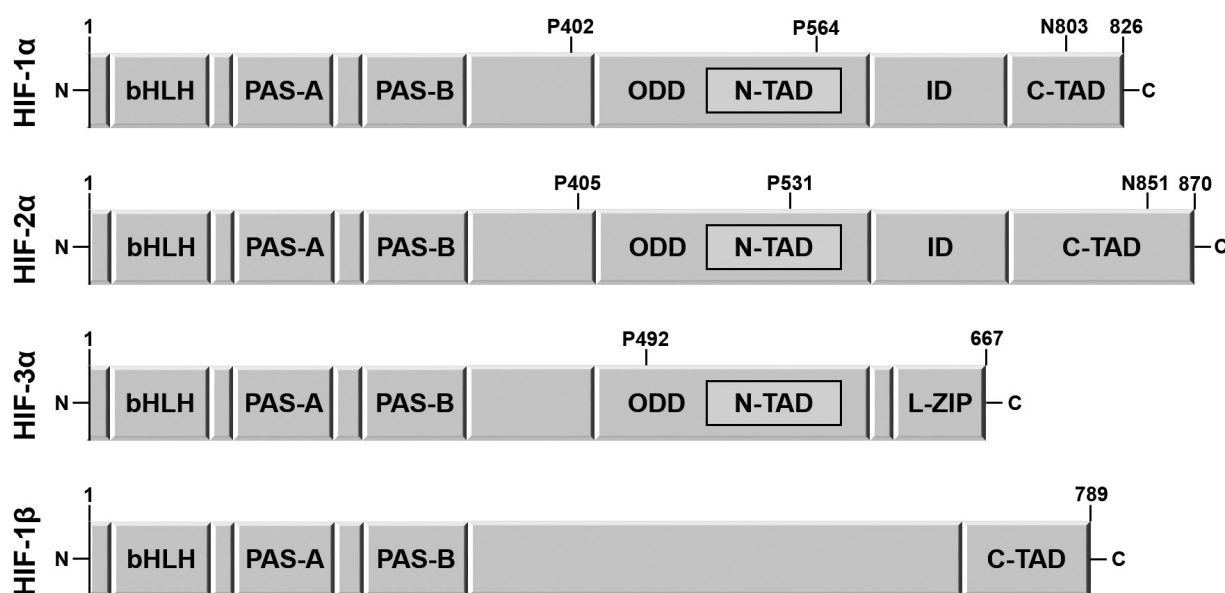
### GLÓWNY BOHATER – A NAWET TRZEJ

Czynnik indukowany hipoksją jest heterodimerem składającym się z dwóch podjednostek:  $\alpha$  i  $\beta$  (znanej też jako ARNT, ang. aryl hydrocarbon receptor nuclear translocator). Podjednostka HIF-1 $\beta$  ulega ekspresji konstytutywnie, niezależnie od warunków tlenowych, zaś ekspresja podjednostki HIF- $\alpha$  jest precyzyjnie regulowana przez stężenie tlenu w komórce (WANG i SEMENZA 1993). U ssaków występują trzy izoformy podjednostki  $\alpha$ : HIF-1 $\alpha$  i HIF-2 $\alpha$  (inaczej nazywana EPAS1, ang. endothelial PAS domain-containing protein 1), które są do siebie najbardziej podobne strukturalnie, oraz HIF-3 $\alpha$  (znana także jako IPAS, ang. inhibitory PAS domain protein). W konsekwencji, rodzina czynników transkrypcyjnych aktywowanych hipoksją obejmuje trzech przedstawicieli: HIF-1, HIF-2 i HIF-3 (Ryc. 1).

Zarówno wszystkie podjednostki HIF- $\alpha$ , jaki i podjednostka HIF-1 $\beta$  zawierają w swej strukturze domeny basic helix-loop-helix (bHLH), pozwalające na łączenie się z DNA, oraz domeny PER-ARNT-SIM (PAS), umożliwiające heterodimeryzację (wyróżnia się PAS-A, znajdującą się bliżej N-końca, oraz PAS-B, zlokalizowaną bliżej C-końca). HIF-1 $\alpha$  i HIF-2 $\alpha$  zawierają również domenę sekwencji lokalizacji jądrowej (ang. nuclear location sequence/nuclear location signal, NLS), kierującą białko do jądra komórkowego, a także domenę transaktywującą (ang. transactivation domain, TAD), w skład któ-

**Słowa kluczowe:** czynnik transkrypcyjny indukowany hipoksją (HIF), metabolizm, Nagroda Nobla 2019, nowotwór

\*Pracę sfinansowano ze środków pochodzących z grantu Narodowego Centrum Nauki nr 2016/21/B/NZ3/00365.



Ryc. 1. Struktura podjednostek wchodzących w skład HIF-1, HIF-2 i HIF-3 (najdłuższy wariant splicingowy).

bHLH – domena basic helix-loop-helix; PAS – domena PER-ARNT-SIM odpowiedzialna za heterodimeryzację; ODD – domena degradacji zależnej od stężenia tlenu; TAD – domena transaktywująca; ID – domena hamująca; L-ZIP – domena suwaka leucynowego. Liczbami oznaczono lokalizację aminokwasów (P – prolina; N – asparagina).

rej wchodzi sekwencja C-końcowa TAD (C-TAD) oraz N-końcowa (N-TAD), rozdzielone domeną hamującą (ang. inhibitory domain, ID). W skład HIF-1 $\alpha$  i HIF-2 $\alpha$  wchodzi również domena degradacji zależnej od stężenia tlenu (ang. oxygen-dependent degradation domain, ODD), w obrębie której znajdują się ulegające hydroksylacji reszty proliny. HIF-3 $\alpha$ , poza sekwencją ODD, zawiera tylko sekwencję N-TAD (nie zawiera sekwencji C-TAD, tak samo jak HIF-1 $\beta$ ), ale jako jedyny, w niektórych wariantach splicingowych, charakteryzuje się obecnością suwaka leucynowego (SEMENZA 2001, CHOWDHURY i współaut. 2016, LUO i WANG 2018).

HIF-1 ulega ekspresji we wszystkich tkankach, a jego poziom zależy od dostępności tlenu (maksymalny zaobserwowano przy 0,5% O<sub>2</sub>, a 50% wartości maksymalnej przy 1,5-2,0% O<sub>2</sub>) (JIANG i współaut. 1996). HIF-2 i HIF-3 są natomiast tkankowo specyficzne. Obecność HIF-2 została stwierdzona w komórkach śródbłonna naczyń, wątroby, nerek, płuc i serca, a HIF-3 w komórkach grasicy, płuc, serca, nabłonka rogowki i komórkach Purkiniego (BERTOUT i współaut. 2008, YANG i współaut. 2015).

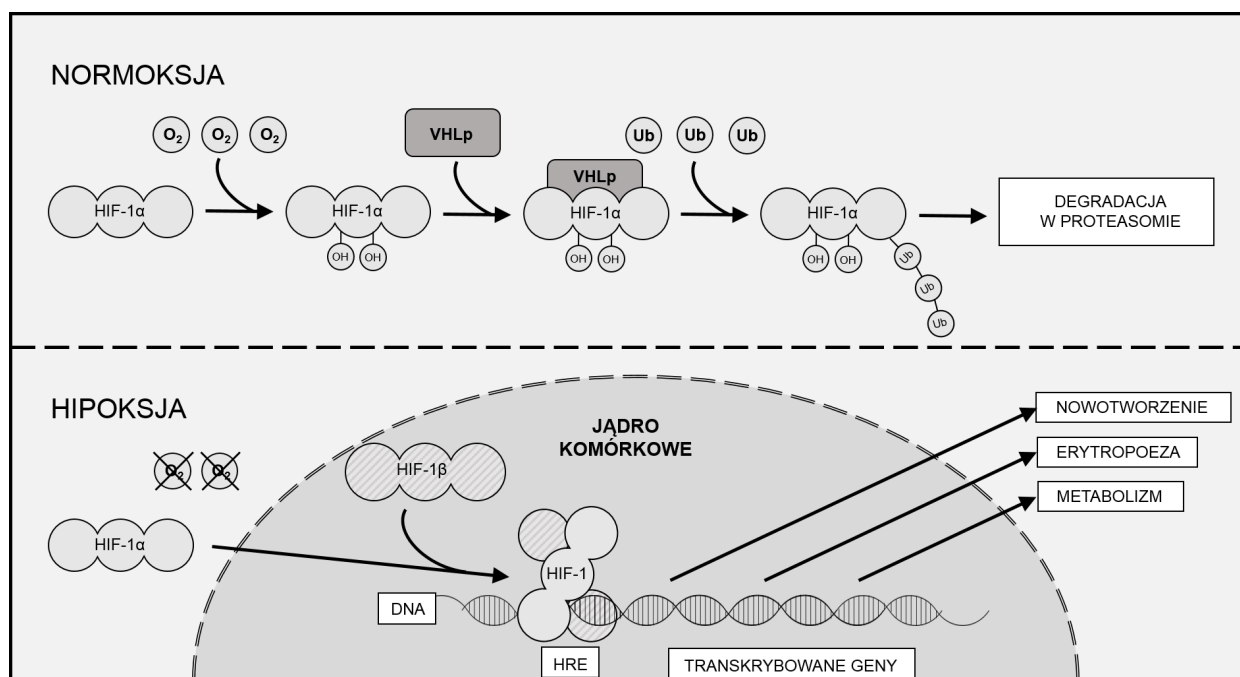
Czynniki transkrypcyjne HIF różnią się także aktywnością w warunkach nagłej i przedłużającej się hipoksji. Przykładowo, w tkankach nowotworowych, w których rozwój guza powoduje ograniczenie dostępności

tlenu, jako pierwszy ekspresji ulega HIF-1, ale później, w warunkach chronicznej hipoksji, główną rolę zaczyna odgrywać HIF-2. To swoiste przełączenie regulacji ekspresji genów, następujące w obydwu kierunkach, pozwala komórkom precyzyjnie dostosować się do zmieniających się warunków (KOH i POWIS 2012).

Mimo iż wiadomo, że HIF-3 również aktywowany jest przez hipoksję, to jego funkcja jest o wiele mniej jasna. Obecnie znanych jest 10 wariantów splicingowych HIF-3 $\alpha$  (HIF-3 $\alpha$ 1-10), różniących się w sposób znaczny pod względem budowy, specyficzności tkankowej i – prawdopodobnie – także pełnionej funkcji. Postuluje się, że niektóre warianty HIF-3 $\alpha$  mogą hamować aktywność HIF-1 i HIF-2 na drodze współzawodnictwa o wiązanie z HIF-1 $\beta$ . Natomiast HIF-3 $\alpha$ 1, czyli pełnej długości wariant HIF-3 $\alpha$ , może przyłączać się do HRE i bezpośrednio aktywować transkrypcję genów (DUAN 2016).

## POD KONTROLĄ TLENU

W powietrzu atmosferycznym stężenie tlenu wynosi 21%, jednak w tkankach zwierzęcych waha się ono zazwyczaj między 2 a 9%. Stężenie tlenu fizjologiczne dla danej tkanki określa się mianem normoksji, a niedobór tlenu – hipoksji. W warunkach labo-



Ryc. 2. Regulacja aktywności HIF-1 w warunkach normoksji i hipoksji.

VHLp – białko von Hippel-Lindau; Ub – ubikwityna; HRE – sekwencja odpowiedzi na hipoksję. Szczegółowy opis w tekście.

ratoryjnych za hipoksję uznaje się stężenie tlenu w tkance poniżej 2% (według innych źródeł – poniżej 1%), natomiast za anoksję, czyli skrajnie niskie stężenie tlenu, stężenie poniżej 0,02% (poniżej 0,1%) (BERTOUT i współaut. 2008, KOH i POWIS 2012). Na Ryc. 2 przedstawiono podstawowy mechanizm regulacji aktywności HIF w warunkach normoksji i hipoksji.

Podczas normoksji podjednostka HIF- $\alpha$  ulega hydroksylacji (na resztach proliny w pozycji 402 i 564, 405 i 531 oraz 492, odpowiednio, w przypadku HIF-1 $\alpha$ , HIF-2 $\alpha$  oraz HIF-3 $\alpha$ ) przy udziale hydroksylaz prolinowych 1-3 (ang. prolyl hydroxylases 1-3, PHDs 1-3). Do przekształcenia proliny w hydroksyprolinę PHDs wykorzystują tlen i 2-oksoglutaran, a produktami reakcji są dwutlenek węgla oraz bursztynian. Do hydroksylowanej podjednostki  $\alpha$  przyłącza się białko von Hippel-Lindau (VHLp, ang. *von Hippel-Lindau protein*), a następnie rekrutowane są pozostałe białka kompleksu ligazy ubikwityny E3, co powoduje ubikwitinację podjednostki  $\alpha$  oraz skierowanie jej do degradacji w proteasomie.

W warunkach hipoksji hydroksylazy prolinowe są nieaktywne (wskutek niedoboru jednego z substratów katalizowanej reakcji – tlenu), podjednostka HIF- $\alpha$  nie ulega degradacji i możliwa jest heterodimeryzacja z podjednostką  $\beta$ , a następnie przyłączenie koaktywatora p300/CBP. Taki kompleks wiąże

się następnie do specyficznej sekwencji DNA – HRE (5'-RCGTG-3', gdzie R oznacza adeninę bądź guaninę), powodując aktywację transkrypcji genu leżącego powyżej (SEMENZA 2004, DENGLER i współaut. 2014).

Dodatkowo, w warunkach normoksji ulega ekspresji inhibitor czynnika indukowanego hipoksją 1 (ang. factor inhibiting hypoxia inducible factor 1, FIH-1), który hydroksyluje podjednostkę  $\alpha$  na asparaginie (Asp w pozycji 803 w przypadku HIF-1 $\alpha$  oraz Asp w pozycji 847 w przypadku HIF-2 $\alpha$ ), uniemożliwiając tym samym związanie HIF z kompleksem aktywacyjnym p300/CBP, co przekłada się na obniżenie transkrypcji genów zawierających sekwencję HRE (WATSON i współaut. 2010).

## NIE TYLKO TLEN

Podstawowym mechanizmem regulacji aktywności czynnika HIF jest oczywiście degradacja podjednostki  $\alpha$  w warunkach normoksji, jednak istnieją również inne mechanizmy modulowania jego aktywności. Szczególnie interesujące wydają się te, które są odpowiedzialne za przełączanie aktywności HIF-1 i HIF-2. Przykładowo, czynnik powiązany z hipoksją (ang. hypoxia associated factor, HAF) powoduje niezależną od VHLp degradację HIF-1 $\alpha$ , ale zwiększa stabilność HIF-2 $\alpha$  (KOH i współaut. 2011, JOCHMANOVA i współaut. 2013). Podobną rozbieżność w

promowaniu degradacji HIF-1 $\alpha$  i HIF-2 $\alpha$  wykazuje białko szoku cieplnego HSP70 (ang. heat shock protein 70), rekrutujące białko CHIP (ang. carboxyl-terminus of Hsp70 interacting protein), wykazujące aktywność liganzy ubikwityny E3; w tym przypadku również jest wybiórczo degradowana podjednostka HIF-1 $\alpha$  (LUO i współaut. 2009).

Mimo wielu badań, zależność między HIF a wykazującym właściwości supresora nowotworowego białkiem p53 wciąż pozostaje dyskusyjna. Najbardziej prawdopodobny model regulacji aktywności HIF przez p53 zakłada ich wzajemne współzawodniczenie o wiązanie z białkiem p300. Inna hipoteza sugeruje istnienie bezpośredniego oddziaływania p53 z podjednostką HIF-1 $\alpha$ , skutkującego jej ubikwitynacją i degradacją w proteasomie (SCHMID i współaut. 2004, SERMEUS i MICHELS 2011, ZHOU i współaut. 2015).

Innym ważnym sposobem regulacji aktywności transkrypcyjnej HIF jest modyfikacja potranslacyjna polegająca na przyłączeniu/odłączeniu reszt acetylowych (acetylacja/deacetylacja). I w tym przypadku mechanizmy regulacyjne wydają się dość skomplikowane. Składnik kompleksu aktywacji ekspresji, białko p300, acetyluje podjednostkę HIF-1 $\alpha$  na lizynie w pozycji 709, zwiększając jej stabilność oraz ograniczając poliubikwitynację, zarówno w warunkach normoksji, jak i hipoksji (ELLIS i współaut. 2009, GENG i współaut. 2012). Natomiast acetylacja podjednostki HIF-1 $\alpha$  na lizynie w pozycji 532 przez białko ARD1 (ang. N-terminal acetyltransferase A complex catalytic subunit) skutkuje skierowaniem jej do ubikwitynacji i degradacji w proteasomie (JEONG i współaut. 2002). Istotne znaczenie w regulacji aktywności HIF na drodze acetylacji/deacetylacji wydają się mieć także sirtuiny (SIRT1-7), rodzina siedmiu deacetylaz, których aktywność jest zależna od dostępności NAD<sup>+</sup> (CHALKIADAKI i GUARENTE 2015, FRYDZINSKA i współaut. 2019). I tu jednak pojawia się wiele wątpliwości. Istnieją badania wskazujące, że sirtuina 1, na drodze deacetylacji, prowadzi do stabilizacji HIF-1 $\alpha$  oraz zwiększonej ekspresji genów kontrolowanych przez HIF (JOO i współaut. 2015). Z drugiej strony, stwierdzono, że SIRT1, poprzez deacetylację HIF-1 $\alpha$  na lizynie w pozycji 674, powoduje inaktywację czynnika przez utrudnienie rekrutacji p300 do HIF-1 (LIM i współaut. 2010). SIRT2 z kolei deacetyluje HIF-1 $\alpha$  na lizynie w pozycji 709, umożliwiając hydroksylację przez hydroksylazę proliową 2 i skazując podjednostkę na degradację w proteasomie (SEO i współaut. 2015). SIRT3 deacetyluje i przez to aktywuje dysmutazę ponadtlenkową oraz moduluje aktywność niektórych białek mitochondrial-

nego łańcucha transportu elektronów, co prowadzi do obniżenia poziomu reaktywnych form tlenu w komórce i aktywacji hydroksylaz proliowych, tym samym, do inaktywacji HIF (FINLEY i współaut. 2011, GREER i współaut. 2012).

## HIF I NIEKODUJĄCE RNA

Wielkoskalowe projekty sekencjonowania wykazały, że tylko około 2% całego ludzkiego genomu to geny, z których powstają następnie funkcjonalne peptydy. Reszta w dużej mierze koduje niekodujące RNA (ang. non-coding RNA, ncRNA). Ważną klasą ncRNA są microRNA o długości około 22 nukleotydów, odpowiedzialne za stabilizację lub translację mRNA. W rozległych badaniach dotyczących wpływu hipoksji na transkrypcję microRNA stwierdzono, że jest przez nią regulowanych kilkadziesiąt różnych microRNA. Wykazano również obecność HRE w promotorowych sekwencjach wielu microRNA. Na drodze zależnej od HIF-1/HIF-2 jest indukowany m.in. miR-21, wpływający na rozwój nowotworów (CAMPS i współaut. 2014, CHOUDHRY i współaut. 2016).

Co ciekawe, niektóre microRNA aktywowane przez hipoksję regulują następnie poziom samego HIF, np. miR-107 obniża ekspresję HIF-1 $\beta$ , a miR-429, przez destabilizację mRNA HIF-1 $\alpha$ , obniża aktywność HIF-1 w początkowym okresie hipoksji. Ciekawym przykładem jest także działanie miR-31-5p, którego nadekspresja powoduje obniżenie aktywności FIH, tym samym zwiększając aktywność HIF-1. Natomiast miR-150, poprzez supresję VHLp, przyczynia się do wzrostu aktywności HIF. Hamujące działanie na aktywność VHLp wykazuje również miR-101.

Na koniec warto jeszcze dodać, że wewnątrzkomórkowy poziom HIF-1 i HIF-2 może być także regulowany przez niektóre długie niekodujące RNA (ang. long non-coding RNA, lncRNA), w tym UCA1 i lncRNA-SARCC (CROSBY i współaut. 2009, BARTOSZEWSKA i współaut. 2014, LIU i współaut. 2016, CHOUDHRY i HARRIS 2018, ZHU i współaut. 2018).

## „HIFOWA” REWOLUCJA METABOLICZNA

Dla większości komórek ssaka podstawowym sposobem uzyskiwania energii jest fosforylacja oksydacyjna, wymagająca tlenu jako końcowego akceptora elektronów w łańcuchu mitochondrialnym. Spadek dostępności tlenu wymusza na komórkach przełączenie sposobu pozyskiwania energii na beztlenową – i dużo mniej wydajną – glikolizę. Podobnie sytuacja przedstawia się w komór-

kach nowotworowych, nawet w warunkach normoksji (tzw. efekt Warburga) (WARBURG i współaut. 1926). Przełączenie metabolizmu z tlenowego na beztlenowy angażuje HIF na wielu płaszczyznach, począwszy już od samej regulacji pobierania substratu energetycznego do wnętrza komórek. HIF-1 aktywuje transkrypcję genów kodujących transportery glukozy występujące w większości tkanek ludzkich, GLUT-1 i GLUT-3, zwiększając tym samym wydajność transportu, a w konsekwencji – wewnątrzkomórkową zawartość glukozy, czyli jedynego substratu, z jakiego energia może być pozyskiwana beztlenowo (ZELZER i współaut. 1998, NAGAO i współaut. 2019).

Zależna od HIF-1 lub/i HIF-2 aktywacja transkrypcji dotyczy także szeregu enzymów – dehydrogenazy mleczanowej (czego efektem jest zwiększone wykorzystanie pirogronianu w fermentacji mleczanowej) oraz enzymów glikolitycznych takich jak: aldolaza, kinaza fosfoglicerynianowa, kinaza pirogronianowa, heksokinaza czy fosfofruktokinaza wątrobowa. Dodatkowo, HIF-1 pośrednio prowadzi do obniżenia poziomu acetylokoenzymu A, przez zwiększenie ekspresji kinazy dehydrogenazy pirogronianowej 1 (ang. pyruvate dehydrogenase kinase 1, PDK1), która na drodze fosforylacji hamuje aktywność kompleksu dehydrogenazy pirogronianowej (przekształcającej pirogronian w acetylokoenzym A) (SEMENZA i współaut. 1994, KIM i współaut. 2006).

Ważnym źródłem glukozy podczas przedłużających się niedoborów węglowodanowych jest glukoneogeneza. Proces ten zachodzi głównie w wątrobie oraz w korze nerek i pozwala na wykorzystanie niecukrowych prekursorów w celu wytworzenia glukozy dostępnej dla całego organizmu. Dość dobrze poznana jest rola HIF-1 w regulacji glukoneogenezy w wątrobie; wiadomo, że czynnik ten aktywuje transkrypcję genów kodujących kluczowe enzymy procesu: karboksykinazę fosfoenolopirogronianową (ang. phosphoenolopyruvate carboxykinase, PEPCK) i translokazę glukozy-6-fosforanu (ang. glucose-6-phosphate translocase, G6PT), wchodzącą w skład kompleksu glukozy-6-fosfatazy (ang. glucose-6-phosphatase, G6Pase) (WANG i DONG 2018). Natomiast autorzy tego artykułu stwierdzili ostatnio (OWCZAREK i współaut. 2020), że HIF-1 zwiększa także ekspresję PEPCK w kanalikach proksymalnych nerek, prowadząc do aktywacji nerkowej glukoneogenezy w warunkach hipoksji.

## HIF W NOWOTWORZENIU

Ze względu na swój udział w regulacji wielu ścieżek prowadzących do rozwo-

ju nowotworu i wzmożoną aktywność w warunkach nowotworowej pseudohipoksji, HIF uważany jest za klucz do tumorigenezy, definiowanej jako zbiór wszystkich bądź kilku zaburzeń, do których należą: samowystarczalność w zakresie sygnałów wzrostu z jednoczesnym ograniczeniem wpływu przekazników hamujących wzrost, zdolność do unikania apoptozy, angiogeneza, nielimitowana replikacja oraz zdolność do przerzutowania (HANAHAHAN i WEINBERG 2000, MAJUMDAR i współaut. 2010). Rozwój tkanki nowotworu powoduje wytworzenie guza, co wiąże się z niewystarczającym zaopatrzeniem w tlen. HIF-1 jest odpowiedzialny za okolonowotworową angiogenezę, wskutek aktywacji ekspresji śródbłonkowego czynnika wzrostu (ang. vascular endothelial growth factor, VEGF), SDF1 (ang. stromal cell-derived factor 1), angiopoetyny 2, czynnika wzrostu łożyska PGF (ang. placental growth factor) oraz czynnika komórek macierzystych SCF (ang. stem cell factor, wykazującego także właściwości hemopoetyczne) (REY i SEMENZA 2010, MASOUD i LI 2015). HIF-2, indukowany chroniczną hipoksją, przyczynia się także do dalszego pobudzenia wzrostu tkanki nowotworowej, zwiększając ekspresję receptora nabłonkowego czynnika wzrostu (ang. endothelial growth factor receptor, EGFR) i płytkopochodnego czynnika wzrostu (ang. platelet-derived growth factor, PDGF), które zaangażowane są w procesy angiogenezy, mitozy oraz różnicowania komórek (ALIQUÉ i współaut. 2020). Także HIF-2, ale nie HIF-1, odpowiedzialny jest za zwiększoną ekspresję jednego z głównych czynników regulujących pluripotentny charakter oraz różnicowanie komórek macierzystych – Oct-4 (ang. octamer-binding transcription factor 4) (KELLY i współaut. 2006, KEITH i SIMON 2007).

HIF-1, przez aktywację genów represyjnych kadheryny E, na drodze przejścia epithelialno-mezenchymalnego (ang. epithelial-mesenchymal transition, EMT) przyczynia się do tworzenia przerzutów (KRISHNAMACHARY i współaut. 2006; SEMENZA 2012). Co więcej, HIF-1 powoduje indukcję ekspresji metaloproteinaz macierzy zewnątrzkomórkowej, ułatwiając migrację komórek (LIU i współaut. 2015). HIF-1 jest także odpowiedzialny za zwiększoną ekspresję hydroksylaz prolinowych (m.in. P4HA1 i P4HA2), a więc pośrednio za stabilizację kolagenu, co przekłada się na większą zdolność do przerzutowania (GILKES i współaut. 2013).

Na koniec warto jeszcze wspomnieć, że HIF-2 odgrywa też ważną rolę w ochronie przed reaktywnymi formami tlenu (ang. reactive oxygen species, ROS), m.in. przez aktywację ekspresji genów kodujących enzymy antyoksydacyjne, takie jak dysmutaza

ponadtlenkowa 2 czy oksydaza hemowa 1 (MAJMANDAR i współaut. 2010, KUMAR i CHOI 2015). Jest to o tyle istotne, że sprawnie funkcjonujące mechanizmy antyoksydacyjne mogą okazać się dodatkowym czynnikiem nadającym nowotworowi oporność na stosowane terapie.

## PERSPEKTYWY

Mimo iż wiele procesów indukowanych hipoksją oraz bezpośrednio lub pośrednio regulowanych przez HIF jest już doskonale poznanych, wciąż istnieje potrzeba dalszych badań w tej dziedzinie. Jest ona tym bardziej zasadna, że HIF wydaje się być szczególnie obiecującym celem w terapii wielu chorób. W niektórych przypadkach, jak w chorobach nowotworowych, będą to strategie nakierowane na obniżenie aktywności HIF, w innych – wręcz przeciwnie – na jego aktywację. Przykładem tej ostatniej mogą być próby zastosowania inhibitorów hydroksylaz proliłowych u pacjentów cierpiących na anemię. Paradoksalnie, opowieść o HIF kończy się więc, jak zaczęła – erytropoetyną.

### Streszczenie

W 2019 roku Nagroda Nobla w dziedzinie fizjologii lub medycyny została przyznana za „odkrycie, w jaki sposób komórki wykrywają i dostosowują się do dostępności tlenu”. W pracy wyjaśniono, co tak naprawdę kryje się pod tym sformulowaniem i jakie praktyczne znaczenie ma odkrycie dokonane przez G.L. Semenzę, P.J. Ratcliffa i W.G. Kaelina. Scharakteryzowano budowę i mechanizmy regulacji czynnika transkrypcyjnego indukowanego hipoksją (HIF). Omówiono jego decydującą rolę jako przełącznika metabolizmu – z tlenowego pozyskiwania energii na beztlenową glikolizę. Szczególne miejsce poświęcono także znaczeniu HIF w procesach nowotworzenia. Na koniec podkreślono najważniejsze – perspektywy wykorzystania nagrodzonego Nagrodą Nobla 2019 odkrycia w terapii chorób, w tym chorób nowotworowych i anemii.

## LITERATURA

- ALIQUE M., SÁNCHEZ-LÓPEZ E., BODEGA G., GIANNARELLI C., CARRACEDO J., RAMÍREZ R., 2020. *Hypoxia-inducible factor-1a: The master regulator of endothelial cell senescence in vascular aging*. *Cells* 9, 195.
- BARTOSZEWSKA S., KOCHAN K., PIOTROWSKI A., KAMYSZ W., OCHOCKA R., COLLAWN J., BARTOSZEWSKI R., 2014. *The hypoxia-inducible miR-429 regulates hypoxia-inducible factor-1 expression in human endothelial cells through a negative feedback loop*. *FASEB J.* 29, 1-13.
- BERTOOUT J. A., PATEL S. A., SIMON M. C., 2008. *The impact of O<sub>2</sub> availability on human cancer*. *Nat. Rev. Cancer* 8, 967-975.
- CAMPS C., SAINI H., MOLE D., CHOUDHRY H., RECZKO M., GUERRA-ASSUNÇÃO J. A., RAGOISSIS J., 2014. *Integrated analysis of microRNA and mRNA expression and association with HIF binding reveals the complexity of microRNA expression regulation under hypoxia*. *Mol. Cancer* 13, 28.
- CHALKIADAKI A., GUARENTE L., 2015. *The multifaceted functions of sirtuins in cancer*. *Nat. Rev. Cancer* 15, 608-624.
- CHOUDHRY H., HARRIS A. L., 2018. *Advances in hypoxia-inducible factor biology*. *Cell. Metab.* 27, 281-298.
- CHOUDHRY H., HARRIS A. L., MCINTYRE A., 2016. *The tumour hypoxia induced non-coding transcriptome*. *Mol. Aspects Med.* 47-48, 35-53.
- CHOWDHURY R., LEUNG I. K. H., TIAN Y.-M., ABOUD M. I., GE W., DOMENE C., SCHOFIELD C. J., 2016. *Structural basis for oxygen degradation domain selectivity of the HIF prolyl hydroxylases*. *Nat. Commun.* 7, 1-10.
- CROSBY M., DEVLIN C., GLAZER P., CALIN G., IVAN M., 2009. *Emerging roles of microRNAs in the molecular responses to hypoxia*. *Curr. Pharm. Des.* 15, 3861-3866.
- DENGLER V. L., GALBRAITH M. D., ESPINOSA J. M., 2014. *Transcriptional regulation by hypoxia inducible factors*. *Crit. Rev. Biochem. Mol. Biol.* 49, 1-15.
- DUAN C., 2016. *Hypoxia-inducible factor 3 biology: complexities and emerging themes*. *Am. J. Physiol. Physiol.* 310, 260-269.
- ELLIS L., HAMMERS H., PILI R., 2009. *Targeting tumor angiogenesis with histone deacetylase inhibitors*. *Cancer Lett.* 280, 145-153.
- FINLEY L., CARRACEDO A., JAEWON L., SOUZA A., EGIA A., ZHANG J., HAIGIS M., 2011. *SIRT3 opposes reprogramming of cancer Cell Metab through HIF1a destabilization*. *Cancer Cell* 19, 416-428.
- FRYDZIŃSKA Z., OWCZAREK A., WINIARSKA K., 2019. *Sirtuiny i ich rola w regulacji metabolizmu*. *Postepy Biochem.* 65, 31-40.
- GENG H., LIU Q., XUE C., DAVID L., BEER T., THOMAS G., QIAN D., 2012. *HIF1 protein stability is increased by acetylation at Lysine 709*. *J. Biol. Chem.* 287, 35496-35505.
- GILKES D., BAJPAI S., CHATURVEDI P., WIRTZ D., SEMENZA G., 2013. *Hypoxia-inducible factor 1 (HIF-1) promotes extracellular matrix remodeling under hypoxic conditions by inducing P4HA1, P4HA2, and PLOD2 expression in fibroblasts*. *J. Biol. Chem.* 288, 10819-10829.
- GREER S., METCALF J., YI W., OHH M., 2012. *The updated biology of hypoxia-inducible factor*. *EMBO J.* 31, 2448-2460.
- HANAHAN D., WEINBERG R. A., 2000. *The hallmarks of cancer*. *Cell* 100, 57-70.
- HELLWIG-BÜRCEL T., STIEHL D., WAGNER A., METZEN E., JELKMANN W., 2005. *Review: Hypoxia-inducible factor-1 (HIF-1): A novel transcription factor in immune reactions*. *J. Interferon Cytokine Res.* 25, 297-310.
- JEONG J.-W., BAE M.-K., AHN M.-Y., KIM S.-H., SOHN T.-K., BAE M.-H., KIM K.-W., 2002. *Regulation and destabilization of HIF-1a by ARD1-mediated acetylation*. *Cell* 111, 709-720.
- JIANG B.-H., SEMENZA G., BAUER C., MARTI H., 1996. *Hypoxia-inducible factor 1 levels vary exponentially over a physiologically relevant range of O<sub>2</sub> tension*. *Am. J. Physiol.* 271, 1172-1180.
- JOCHMANOVA I., YANG C., ZHUANG Z., PACAK K., 2013. *Hypoxia-inducible factor signaling in pheochromocytoma: turning the rudder in the right direction*. *J. Natl. Cancer. Inst.* 105, 1270-1283.
- JOO H.-Y., JEONG J., PARK E.-R., SHIN H.-J., WOO S., JUNG J., LEE K.-H., 2015. *SIRT1 deacetylates and stabilizes hypoxia-inducible factor-1a*

- (HIF-1 $\alpha$ ) via direct interactions during hypoxia. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 462, 294-300.
- KEITH B., SIMON C. M., 2007. *Hypoxia inducible factors, stem cells and cancer.* *Cell* 129, 465-472.
- KELLY L. C., JAMES K., HONGWEI Y., JOHN D. G., ANDREW M. A., HU C., BRIAN K., 2006. *HIF $\alpha$  regulates oct4 effects of hypoxia on stem cell function, development, and tumor growth.* *Genes Dev.* 20, 537-570.
- KIM J., TCHERNYSHYOV I., SEMENZA G. L., DANG C. V., 2006. *HIF-1-mediated expression of pyruvate dehydrogenase kinase: A metabolic switch required for cellular adaptation to hypoxia.* *Cell Metab.* 3, 177-185.
- KOH M. Y., POWIS G., 2012. *Passing the baton: the HIF switch.* *Trends Biochem. Sci.* 37, 364-372.
- KOH M., LEMOS JR R., LIU X., POWIS G., 2011. *The Hypoxia-associated factor switches cells from HIF-1 - to HIF-2 -dependent signaling promoting stem cell characteristics, aggressive tumor growth and invasion.* *Cancer Res.* 71, 4015-4027.
- KRISHNAMACHARY B., ZAGZAG D., NAGASAWA H., RAINEY K., OKUYAMA H., BAEK J. H., SEMENZA G. L., 2006. *Hypoxia-inducible factor-1-dependent repression of E-cadherin in von Hippel-Lindau tumor suppressor-null renal cell carcinoma mediated by TCF3, ZFH1A, and ZFH1B.* *Cancer Res.* 66, 2725-2731.
- KUMAR H., CHOI D.-K., 2015. *Hypoxia inducible factor pathway and physiological adaptation: A cell survival pathway? Mediators Inflamm.* 2015, 584758.
- LIM J.-H., LEE Y.-M., CHUN Y.-S., CHEN J., KIM J.-E., PARK J.-W., 2010. *Sirtuin 1 modulates cellular responses to hypoxia by deacetylating Hypoxia-inducible factor 1 $\alpha$ .* *Mol. Cell* 38, 864-878.
- LIU N., XIA W.-Y., LIU S.-S., CHEN H.-Y., SUN L., LIU M.-Y., GAO J.-X., 2016. *MicroRNA-101 targets von Hippel-Lindau tumor suppressor (VHL) to induce HIF1 $\alpha$  mediated apoptosis and cell cycle arrest in normoxia condition.* *Sci. Rep.* 6, 20489.
- LIU Z., SEMENZA G. L., ZHANG H., 2015. *Hypoxia-inducible factor 1 and breast cancer metastasis.* *J. Zhejiang Univ. B* 16, 32-43.
- LUO W., WANG Y., 2018. *Epigenetic regulators: multifunctional proteins modulating hypoxia-inducible factor- $\alpha$  protein stability and activity.* *Cell Mol. Life Sci.* 75, 1043-1056.
- LUO W., ZHONG J., CHANG R., HU H., PANDEY A., SEMENZA G., 2009. *Hsp70 and CHIP selectively mediate ubiquitination and degradation of Hypoxia-inducible factor (HIF)-1 $\alpha$  but not HIF-2 $\alpha$ .* *J. Biol. Chem.* 285, 3651-3663.
- MAJUMDAR A., WONG W., SIMON M., 2010. *Hypoxia-inducible factors and the response to hypoxic stress.* *Mol. Cell.* 40, 294-309.
- MASOUD G., LI W., 2015. *HIF-1 $\alpha$  pathway: Role, regulation and intervention for cancer therapy.* *Acta Pharm. Sin.* B 5, 378-389.
- NAGAO A., KOBAYASHI M., KOYASU S., CHOW C., HARADA H., 2019. *HIF-1-dependent reprogramming of glucose metabolic pathway of cancer cells and its therapeutic significance.* *Int. J. Mol. Sci.* 20, 238.
- OWCZAREK A., GIECZEWSKA K., JARZYNA R., JAGIELSKI A., KIERSZTA A., GRUZA A., WINIARSKA K., 2020. *Hypoxia increases the rate of renal gluconeogenesis via hypoxia-inducible factor-1-dependent activation of phosphoenolpyruvate carboxykinase expression.* *Biochimie* 171-172, 31-37.
- REY S., SEMENZA G. L., 2010. *Hypoxia-inducible factor-1-dependent mechanisms of vascularization and vascular remodeling.* *Cardiovasc. Res.* 86, 236-242.
- SCHMID T., ZHOU J., BRÜNE B., 2004. *HIF-1 and p53: Communication of transcription factors under hypoxia.* *J. Cell. Mol. Med.* 8, 423-431.
- SEМЕНZA G. L., 2001. *HIF-1 and mechanism of hypoxia sensing.* *Curr. Opin. Cell Biol.* 13, 167-171.
- SEМЕНZA G. L., 2004. *Hydroxylation of HIF-1: Oxygen sensing at the molecular level.* *Physiology* 19, 176-182.
- SEМЕНZA G. L., 2012. *Hypoxia-inducible factors: mediators of cancer progression and targets for cancer therapy.* *Trends Pharmacol. Sci.* 33, 207-214.
- SEМЕНZA G. L., NEJFELT M. K., CHI S. M., ANTONARAKIS S. E., 1991. *Hypoxia-inducible nuclear factors bind to an enhancer element located 3' to the human erythropoietin gene.* *Proc. Natl. Acad. Sci.* 88, 5680-5684.
- SEМЕНZA G. L., ROTH P. H., FANG H. M., WANG G. L., 1994. *Transcriptional regulation of genes encoding glycolytic enzymes by hypoxia-inducible factor 1.* *J. Biol. Chem.* 269, 23757-23763.
- SEO K.-S., PARK J.-H., HEO J.-Y., JING K., HAN J., MIN K.-N., KWEON G. R., 2015. *SIRT2 regulates tumour hypoxia response by promoting HIF-1 $\alpha$  hydroxylation.* *Oncogene* 34, 1354-1362.
- SERMEUS A., MICHIELS C., 2011. *Reciprocal influence of the p53 and the hypoxic pathways.* *Cell Death Dis.* 2, 1-11.
- SONI S., PADWAD Y., 2017. *HIF-1 in cancer therapy: two decade long story of a transcription factor.* *Acta Oncol.* 56, 503-515.
- WANG G. L., SEMENZA G. L., 1993. *General involvement of hypoxia-inducible factor 1 in transcriptional response to hypoxia.* *Proc. Natl. Acad. Sci.* 90, 4304-4308.
- WANG Z., DONG C., 2018. *Gluconeogenesis in cancer: function and regulation of PEPCK, FBPase, and G6Pase.* *Trends Cancer* 5, 30-45.
- WARBURG O., WIND F., NEGELEIN E., 1926. *The metabolism of tumors in the body.* *J. Gen. Physiol.* 8, 519-530.
- WATSON J., WATSON C., MCCANN A., BAUGH J., 2010. *Epigenetics: The epicenter of the hypoxic response.* *Epigenetics* 5, 293-296.
- YANG S., WU C., XIONG Z.-F., FANG X., 2015. *Progress on hypoxia-inducible factor-3: Its structure, gene regulation and biological function (Review).* *Mol. Med. Rep.* 12, 2411-2416.
- ZELZER E., LEVY Y., KAHANA C., SHILO B. Z., RUBINSTEIN M., COHEN B., 1998. *Insulin induces transcription of target genes through the hypoxia-inducible factor HIF-1 $\alpha$ /ARNT.* *EMBO J.* 17, 5085-5094.
- ZHOU C.-H., ZHANG X.-P., LIU F., WANG Y., 2015. *Modeling the interplay between the HIF-1 and p53 pathways in hypoxia.* *Sci. Rep.* 5, 1-10.
- ZHU B., CAO X., ZHANG W., PAN G., YI Q., ZHONG W., YAN D., 2018. *MicroRNA-31-5p enhances the Warburg effect via targeting FIH.* *FASEB J.* 33, 545-556.

**KOSMOS Vol. 69, 2, 269–276, 2020**

ANDRZEJ GRUZA, KATARZYNA WINIARSKA

*Department of Metabolic Regulation, Institute of Biochemistry, Faculty of Biology, University of Warsaw, Miecznikowa 1, 02-096  
Warszawa, E-mail: a.gruza@student.uw.edu.pl, k.winiarska@biol.uw.edu.pl*

HIF – TRANSCRIPTION FACTOR AWARDED WITH NOBEL PRIZE 2019

Summary

The Nobel Prize in Physiology or Medicine 2019 was awarded for “the discoveries of how cells sense and adapt to oxygen availability.” In this paper it is explained what exactly William G. Kaelin Jr., Sir Peter J. Ratcliffe and Gregg L. Semenza discovered and what is the practical importance of their discovery. The structure and regulation of hypoxia inducible factor (HIF) is characterized. The function of HIF as a metabolic switch – from aerobic energy production to anaerobic glycolysis – is described. Special attention is paid to the role of HIF in tumor progression. Finally, the most important issue is emphasized – perspectives of the use of the Nobel Prize 2019 awarded discovery in therapy, including cancer and anemia therapy.

Key words: cancer, hypoxia inducible factor (HIF), metabolism, Nobel Prize 2019