



Csont Tamás

■ SZTE ÁOK Biokémiai Intézet, SZTE Interdiszciplináris Kiválósági Központ | csont.tamas@med.u-szeged.hu

Az oxigénérzékelés molekuláris mechanizmusa



A három orvosi Nobel-díjas (balról): William G. Kaelin Jr., Sir Peter J. Ratcliffe és Gregg L. Semenza

A 2019. évi élettani vagy orvosi Nobel-díjat a sejt kutatás területén elért eredményeikért az amerikai William G. Kaelin Jr., a brit Sir Peter J. Ratcliffe és a szintén amerikai Gregg L. Semenza részére ítelték oda egyenlő arányban megosztva. A hivatalos indoklás szerint a három tudós azért részesült a legrangosabb tudományos elismerésben, mert megfejtették, hogy a sejtek miként érzékelik az oxigénszint változását és hogyan alkalmazkodnak ezekhez a változásokhoz.

A Föld légkörének mintegy 21%-át molekuláris oxigén (O_2) alkotja. Jól ismert, hogy az oxigén nélkülözhetetlen az állati élet fenntartásában. A sejtek működéséhez szükséges hasznosítható energia túlnyomó része a mitokondriumokban lejátszódó biokémiai folyamatok révén termelődik, melyek során a táplálékból származó tápanyagokat oxigén felhasználásával oxidáljuk, enzimek által katalizált reakciók segítségével. Ezt a többlépéses komplex folyamatot nevezzük összefoglalóan biológiai oxidációnak vagy sejtlégzésnek. Ahhoz, hogy ez a folyamat egy sok sejtből álló állati szervezet legtöbb sejtjében végbemehessen, az evolúció során az oxigén sejtekhez történő szállítását szolgáló mechanizmusok fejlődtek ki. Emberben ezt a feladatot a vérben keringő vörösvértestek látják el a bennük található hemoglobin fehérje segítségével, miután a tüdőben a hemoglobin megkötö az oxigént, amit aztán a szövetekben lead. Azt már korábban megfigyelték, hogy a magaslaton élők vérében nagyobb a vörösvértestek száma, és így a hemoglobin koncentrációja is. Sőt a múlt század elejére valószínűsítették, hogy a vörösvértestek képződése hormonális szabályozás alatt áll. Később megállapították, hogy a vörösvértestek keletkezését a vese-eredetű eritropoetin nevű hormon segíti elő, melynek termelődését a hipoxia, vagyis alacsony oxigéntenzio serkenti (ilyen állapot alakul ki pl. magaslati légkörön). Azonban az sokáig rejtély maradt, hogy a sejtek hogyan érzékelik az oxigénszintet és milyen molekuláris mechanizmussal válaszolnak annak változásaira. Ezen a területen elért felfedezéseikért javasolták a három tudóst az ideai Nobel-díj elnyerésére.

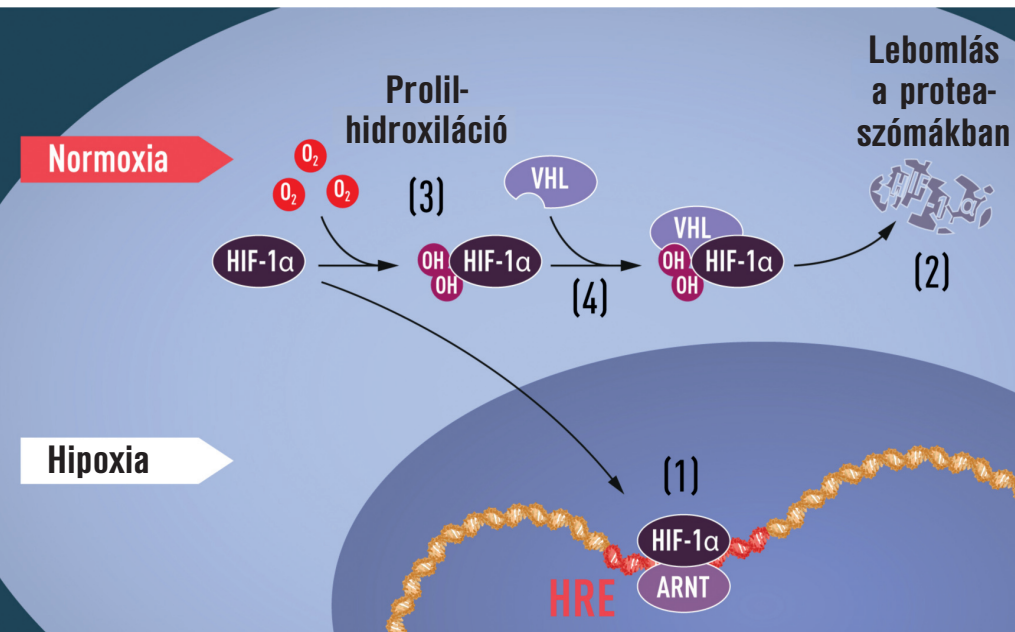
Gregg Semenza génmódosított egereket használva az eritropoetin gén működését tanulmányozta, illetve azt, hogy különböző

oxigénszintek hogyan szabályozzák a gén kifejeződését, azaz az eritropoetin termelődését. Azonosítottak egy olyan DNS-szakaszt, amely az eritropoetin gén közelében helyezkedik el, és meghatározó szerepet játszik a hipoxiára adott válaszban. A szabályozó DNS-szakasz, melyet „hypoxia-response element” (HRE) névre kereszteltek, egy fehérje természetű komplexet képes megkötni alacsony oxigénszint esetén; a kötődés hatására az eritropoetin gén aktiválódik, és következésképpen eritropoetin keletkezik.

Sir Peter Ratcliffe, hasonlóan Semenzához, ugyancsak az eritropoetin gén oxigénfüggő szabályozását vizsgálta, s a két kutatócsoport arra a következtetésre jutott, hogy az oxigénérzékelő mechanizmus szinte minden szövetben jelen van, nem csak a vese-sejtekben, ahol az eritropoetin jellemzően termelődik. Ez a fontos felismerés azt bizonyította, hogy a mechanizmus általános és a legkülönbözőbb sejt típusokban is működik. Az is ismertté vált, hogy a HRE nem csak az eritropoetin gén, hanem számos más gén kifejeződését is szabályozza, ezzel segítve elő a sejtek hipoxiás állapothoz történő alkalmazkodását.

Semenza később azonosította és izolálta a HRE DNS-szakaszhoz oxigénfüggő módon kötődő fehérjekomplexet, melyet hipoxia-indukálta faktor (HIF: „hypoxia-inducible factor”) névvel illetett. Megállapította továbbá, hogy a komplex két különböző transzkripció faktoroként működő DNS-kötő fehérjéből, a HIF-1 α -ból és HIF-1 β -ből (ARNT néven is ismert) áll, és azonosította a fehérjéket kódoló géneket is.

Ezt követően számos kutató kapcsolódott be a mechanizmus további részleteinek megfejtésébe. Ismertté vált, hogy amikor az oxigénszint magas (vagy normális), a sejtekben alig található HIF-1 α . Ha azonban az oxigénszint alacsony, akkor a HIF-1 α mennyisége megnő, és így kötődni tud a DNS HRE-szakaszaihoz, ezáltal szabályozva az eritropoetin és sok más gén kifejeződését. Több kutatócsoport is kimutatta, hogy a HIF-1 α normális oxigénszint mellett igen gyorsan lebomlik. Ez a folyamat a sejtek számára feleslegessé vált és ezért eltávolításra jelölt fehérjék lebontását végző proteaszóma komplex segítségével megy végbe.



1. ábra. Az oxigénérzékelés molekuláris mechanizmusa. Amikor alacsony az oxigén szintje (hipoxia) a HIF-1 α a sejtmagban halmozódik fel, és kialakítja a HIF komplexet, ami kötődni képes a hipoxia által szabályozott gének specifikus DNS-szakaszaihoz (1). Amennyiben az oxigén elérhetősége normális (normoxia), a HIF-1 α gyorsan lebomlik a proteaszómákban (2). A molekuláris oxigén a prolin-hidroxiláz aktivitásán keresztül szabályozza a HIF-1 α hidroxilálását (3). A VHL fehérje felismeri a hidroxilált HIF-1 α -t, és komplexet képez vele, így módon elősegítve a szabályozófaktor oxigénfüggő lebontását (4) (©The Nobel Committee for Physiology or Medicine. Grafika: Mattias Karlén)

A proteaszóma azokat a fehérjéket hidrolizálja, amelyekhez az ubikvitin nevű peptid kapcsolódik, ezért aztán az ubikvitint a „halál csókjának” is szokás titulálni. Normális oxigénszint esetén a HIF-1 α -hoz is ubikvitin kötődik, s ez eredményezi a fehérje gyors lebontását.

Ekkor váltak fontossá *William Kaelin* felismerései, amelyeket a von Hippel–Lindau- (VHL) szindróma vizsgálata során tett. Ez olyan genetikai megbetegedés, amelyben az úgynevezett VHL gén öröklődő mutációja figyelhető meg, s ez az érintettekben lényegesen növeli különféle daganatok kialakulásának az esélyét. Kaelin kimutatta, hogy a VHL gén által kódolt fehérje megelőzi a daganat kialakulását. Ugyancsak kimutatta, hogy azokban a rákos sejtekben, amelyek mutáns VHL gént tartalmaznak, egyúttal igen magas a hipoxia által szabályozott gének expressziója. Ugyanakkor, ha egy jól működő VHL gént juttattak ezekbe a rákos sejtekbe, akkor a hipoxia által szabályozott gének expressziója normalizálódott. Ez a megfigyelés arra utalt, hogy a VHL szerepet játszik a hipoxiára adott válasz szabályozásában. Más kutatócsoportok pedig azt mutatták ki, hogy a VHL fehérje egy olyan komplexnek a részét képezi, amely úgy irányít egyes fehérjéket a proteaszómákhoz lebontásra, hogy ubikvitint kapcsol hozzájuk. Ratcliffe csoportja pedig bizonyította, hogy a VHL fehérje közvetlenül kötődik a HIF-1 α -hoz, valamint a VHL szükségeltetik a HIF-1 α lebontásához normális oxigénszint esetén.

A fő kérdés a továbbiakban az volt, hogy az oxigén szintje milyen molekuláris mechanizmus révén szabályozza a VHL és a HIF-1 α komplexének kialakulását. Kaelin és Ratcliffe egyaránt dolgozott a probléma megoldásán, s 2001-ben eredményeiket egy időben publikálták az egyik legnevesebb tudományos folyóirat, a *Science* hasábjain. Kimutatták, hogy normális oxigénszint mellett a HIF-1 α egy specifikus szakaszán található prolin-oldallancokon hidroxilcsoportok jelennek meg, és ezeknek a hidroxilált prolin-oldallancoknak a jelenléte szükséges ahhoz, hogy a VHL felismerje és kötődjön a HIF-1 α ezen specifikus szakaszához. A hidroxilálási reakciót katalizáló enzimnek a HIF-1 α prolin-hidroxiláz nevet adták. Ez az enzim a dioxigenázok csoportjába tartozik, és molekuláris oxigén felhasználásával alakít ki hidroxilcsoportot a szubsztrátján. Ez az a molekuláris szintű mechanizmus, amely érzékeli az aktuális oxigénszintet, s oxigén jelenlétében módosítja a HIF-1 α szerkezetét, ezáltal lehetővé téve a VHL-lel történő kapcsolódást és következményes lebontást a proteaszómákban.

Oxigén hiányában azonban a prolin-hidroxiláz nem képes hidroxilálni a HIF-1 α -t, így az nem kapcsolódik a VHL-hez, és nem bomlik le, hanem a sejtmagba jutva kötődik a DNS HRE-régióihoz és számos gén aktivációját eredményezve hozza létre a hipoxiára adott választ (1. ábra).

Ezek a felfedezések alapvető ismeretekkel gazdagították tudásunkat arról, hogy miként történik a sejtekben az oxigénszint érzékelése, illetve hogyan tudnak a sejtek alkalmazkodni az oxigénhiányos állapothoz. A felismerések alapkutatási jelentőségükön túl számos gyakorlati vonatkozással is bírnak. Az oxigénérzékelés teszi lehetővé, hogy a sejtek az anyagcseréjüket a csökkent oxigénelérhetőséghez igazítsák, például intenzív izommunka során is ez történik. Az oxigénérzékelés fontos szerepet játszik számos egyéb olyan élettani folyamatban is, mint a magzati fejlődés, új erek képződése, vérképzés, alkalmazkodás magaslati légkörhöz vagy az immunrendszer működése. Alacsony szöveti oxigénszint számos kórállapotban is előfordul, elsősorban egyes szerveket ellátó erek szűkülete vagy elzáródása miatt, s így olyan gyakori és súlyos betegségek alakulnak ki, mint a szívinfarktus, a stroke vagy a perifériás artériás betegség. Az érelzáródás következtében egyes sejtek oxigénhiányos állapotba kerülnek, és a fenti oxigénérzékelésre épülő folyamatok aktiválódásával próbálnak a sejtek túlélni a hipoxiához történő alkalmazkodás révén. Egy másik érintett terület a krónikus veseelégtelenségben szenvedő betegekben gyakran kialakuló anémia (csökkent vörösvértest-szám a vérben) esete. Ilyenkor a vesében károsodik a vörösvértestek képzéséért felelős eritropoetin termelődése. Megemlítendő továbbá, hogy az oxigénérzékelő mechanizmus szerepet játszik a daganatok növekedésében és terjedésében is.

Kaelin, Ratcliffe és Semenza felfedezései megteremtették annak a lehetőségét, hogy új támadáspontú gyógyszerek fejlesztése kezdődhessen meg, melyek a sejtek oxigénérzékelő mechanizmusainak befolyásolása révén fejthetnek ki kedvező hatásokat számos fentebb vázolt kórállapotban. Az oxigénérzékelő és hipoxiás alkalmazkodási reakciók serkentése (pl. érelzáródáshoz társuló betegségek esetében), illetve gátlása (pl. tumorok esetében) egyaránt célpontja lehet új terápiás megközelítéseknek.