

THÔNG TIN Y DƯỢC

The Nobel Prize in Physiology or Medicine 2019

Tổng hợp và lược dịch: Trần Thị Minh Diễm
Trường Đại học Y Dược, Đại học Huế

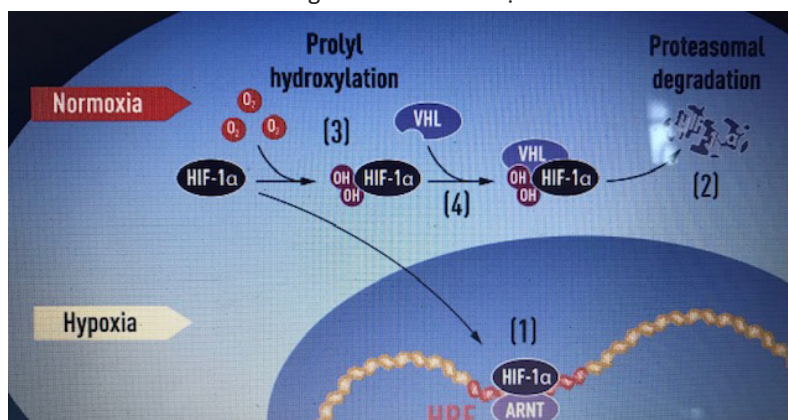
The Nobel Assembly at Karolinska Institutet has today decided to award the 2019 Nobel Prize in Physiology or Medicine jointly to William G. Kaelin, Jr., Sir Peter J. Ratcliffe and Gregg L. Semenza. for their discoveries of how cells sense and adapt to oxygen availability

Hội Đồng Nobel tại Viện Karolinska

Hôm nay đã quyết định trao giải thưởng Nobel về sinh lý học hoặc y học năm 2019 cho William G. Kaelin, Jr., Ngài Peter J. Ratcliffe và Gregg L. Semenza. “Về những khám phá phương thức các tế bào cảm ứng và thích nghi với lượng oxy có sẵn»



Ủy ban trao giải Nobel Y học khẳng định mặc dù oxy từ lâu được biết là có vai trò thiết yếu đối với sự sống; tuy nhiên các cơ chế phân tử làm nền tảng cho sự cảm ứng và thích nghi của tế bào khi hàm lượng oxy tăng hoặc giảm vẫn là điều bí ẩn cho đến khi các nghiên cứu trên được tiến hành.



Hình 1. Khi nồng độ oxy thấp (thiếu oxy), HIF-1 α được bảo vệ khỏi sự thoái hóa và tích lũy trong nhân tế bào, nơi nó liên kết với ARNT và liên kết với các chuỗi DNA đặc hiệu (HRE) trong các gen cảm ứng do thiếu oxy (1). Ở mức oxy bình thường, HIF-1 α bị thoái hóa nhanh chóng tại proteasome (2). Oxy điều chỉnh quá trình thoái hóa bằng cách gắn các nhóm hydroxyl (OH) vào HIF-1 α (3). Protein VHL sau đó có thể nhận biết và tạo thành một phức hợp với HIF-1 α dẫn đến sự thoái hóa của nó theo cách phụ thuộc oxy (4).

Địa chỉ liên hệ: Trần Thị Minh Diễm, email: minhdiem136@gmail.com

Ngày nhận bài: 30/7/2019, Ngày đồng ý đăng: 17/8/2019; Ngày xuất bản: 26/8/2019

DOI: 10.34071/jmp.2019.5.14

Oxy, với công thức O_2 , chiếm khoảng 1/5 bầu khí quyển của Trái đất. Oxy cần thiết cho hầu như tất cả các loài động vật trên trái đất. Nhu cầu lấy oxy để tồn tại là lãnh vực được nghiên cứu sớm nhất, tuy nhiên các cơ chế phân tử đưa oxy vào tế bào hầu như chưa được biết đến....cho đến nay. Oxy được sử dụng bởi các ty thể (Mitochondrion) có mặt trong hầu như tất cả các tế bào động vật để chuyển hóa thức ăn thành năng lượng hữu ích. Otto Warburg, người nhận giải thưởng Nobel về sinh lý học hoặc y học năm 1931, đã phát hiện rằng sự chuyển hóa này là một quá trình thực hiện bởi enzyme. Các tế bào của cơ thể chúng ta cảm nhận và thay đổi theo với sự biến động của nồng độ oxy có sẵn trong máu chuyển hóa; đặc biệt là sự điều chỉnh tốc độ điều này giúp giải thích sự tăng hô hấp sau khi tập thể dục vất vả hoặc sống ở nơi độ cao thì số lượng hồng cầu tăng. Nói cách khác, khi nồng độ oxy giảm, các tế bào cần điều chỉnh tốc độ trao đổi chất dựa trên lượng oxy có sẵn cho chúng.

HIF (Hypoxia inducible factor: yếu tố cảm ứng thiếu oxy) tại mô

Cơ thể ngoài việc thích ứng nhanh khi nồng độ oxy thấp (hypoxia: thiếu oxy mô) nhờ các thụ thể ở xoang động mạch cảnh, ngoài ra còn có những thích nghi sinh lý cơ bản khác. Một phản ứng sinh lý kinh điển đối với tình trạng thiếu oxy là sự gia tăng nồng độ nội tiết tố erythropoietin (EPO), dẫn đến tăng sản xuất tế bào máu (hồng cầu). Việc kiểm soát nội tiết tố có vai trò quan trọng đối với sự tăng sinh hồng cầu đã được biết đến vào đầu thế kỷ 20, nhưng quá trình này được kiểm soát bởi chính O_2 vẫn còn là một bí ẩn.

Gregg Semenza đã nghiên cứu gene EPO và cách thức nó được điều chỉnh bởi sự thay đổi nồng độ oxy. Bằng cách sử dụng chuột biến đổi gen, các đoạn DNA đặc hiệu nằm cạnh gene EPO đã được biểu lộ để làm trung gian cho phản ứng với thiếu oxy. Peter Ratcliffe cũng nghiên cứu sự điều chỉnh của gene EPO phụ thuộc vào O_2 ; và cả hai nhóm nghiên cứu đều phát hiện rằng cơ chế cảm nhận oxy đã có mặt trong hầu hết tất cả các loại mô, không chỉ trong các tế bào của gan và thận. Đây là những phát hiện quan trọng cho thấy cơ chế này nói chung và hoạt động ở nhiều loại tế bào khác nhau.

Semenza muốn xác định các thành phần tế bào làm trung gian cho phản ứng này. Trong các nghiên cứu từ những năm 1990 ông đã sử dụng các tế bào gan để nuôi cấy, và phát hiện ra một yếu tố phiên mã (Transcription factor) điều chỉnh phản ứng phụ thuộc oxy, và đặt tên là HIF (hypoxia inducible factor: yếu tố cảm ứng thiếu oxy). Năm 1995, ông đã phiên bản và tinh khiết được HIF và nhận thấy nó gồm 2 thành phần, được đặt tên là HIF-1 α (nhạy cảm oxy) và ARNT (Aryl Hydrocarbon Receptor Nuclear Translocator), không nhạy cảm với oxy. Cũng vào năm 1995, Semenza đã

có thể công bố một số phát hiện quan trọng của mình, bao gồm cả việc xác định gen mã hóa HIF. Hiện nay các nhà nghiên cứu có thể hiểu những thành phần bổ sung nào có liên quan và cách thức hoạt động của bộ máy điều chỉnh thiếu oxy này.

VHL: một đối tác bất ngờ

Khi nồng độ oxy cao, các tế bào chứa rất ít HIF-1 α . Tuy nhiên, khi nồng độ oxy thấp, lượng HIF-1 α tăng lên để nó có thể liên kết DNA và do đó điều chỉnh gene EPO cũng như các gene khác có các đoạn DNA liên kết HIF (Hình 1). Nhiều nhóm nghiên cứu cho thấy HIF-1 α , thường bị giáng hóa nhanh chóng, sự giáng hóa này được bảo vệ khi có tình trạng thiếu oxy. Một số nhóm, có Caro và H. Frank Bunn đã chứng minh thêm rằng HIF-1 α đã bị giáng hóa thông qua con đường ubiquitin-proteasome, và điều này xảy ra theo cách phụ thuộc oxy (Huang và cộng sự, 1998b; Salceda và Caro, 1997). Ở mức oxy bình thường, một tiểu thể bào tương được gọi là proteasome (giải thưởng Nobel về hóa học năm 2004 của Aaron Ciechanover, Avram Herskko, và Irwin Rose), là nơi giáng hóa HIF-1 α ; Trong điều kiện như vậy, ubiquitin là một peptide đánh dấu được gắn vào các protein có sẵn giúp cho sự giáng hóa tại proteasome. Làm thế nào ubiquitin liên kết với HIF-1 α theo cách phụ thuộc oxy vẫn là một câu hỏi trọng tâm?

Khi thiếu oxy, enzyme ubiquitin E3 ligase có liên quan đến quá trình giáng hóa của HIF-1 α . Năm 1999, Ratcliffe và cộng sự đã công bố bài báo chứng minh phức hợp VHL (von Hippel-Lindau's Disease) liên quan đến giáng hóa HIF-1 α . VHL hoạt động như một cấu trúc nhận diện ubiquitin E3 ligase trong quá trình này (Cockman et al., 2000; Kamura et al., 2000; Kneig et al., 2000; Ohh et al., 2000; Tanimoto, 2000).

Cùng thời gian với Semenza và Ratcliffe nghiên cứu sự điều chỉnh của gene EPO, thì nhà nghiên cứu ung thư William Kaelin, nghiên cứu gene ức chế khối u von Hippel-Lindau di truyền. Bệnh di truyền này dẫn đến nguy cơ tăng một số ung thư trong gia đình với sự đột biến của gene VHL di truyền. Kaelin cũng chứng minh rằng tế bào ung thư thiếu sự biểu lộ gene VHL chức năng, trong khi tăng cao bất thường những gene điều chỉnh thiếu oxy tế bào; và khi gene VHL được gắn trở lại tế bào ung thư, nồng độ protein được phục hồi. Ratcliffe chứng minh có sự kết hợp giữa VHL và HIF1 α ; và VHL điều chỉnh sự giáng hóa của HIF1 α sau phiên mã. Đây là chìa khóa quan trọng cho thấy cách thức gene VHL phản ứng kiểm soát đối với thiếu oxy mô. Các nghiên cứu bổ sung đến từ một số nhóm nghiên cứu cho thấy VHL là một phần của phức hợp đánh dấu protein với ubiquitin, đánh dấu chúng cho sự giáng hóa các protein không cần thiết hoặc hư hại trong proteasome. Bằng cách sử dụng

chuột biến đổi gene, đoạn DNA đặc hiệu nằm bên cạnh gene EPO đã được biểu lộ để làm trung gian cho phản ứng với tình trạng thiếu oxy. Ratcliffe và nhóm nghiên cứu của ông sau đó đã thực hiện một phát hiện quan trọng: chứng minh rằng VHL có thể tương tác vật lý với HIF-1 α và cần thiết cho sự thoái hóa của nó ở mức oxy bình thường. Điều này chứng tỏ sự kết hợp VHL với HIF-1 α (Ratcliffe, năm 1999).

Họ HIF mở rộng

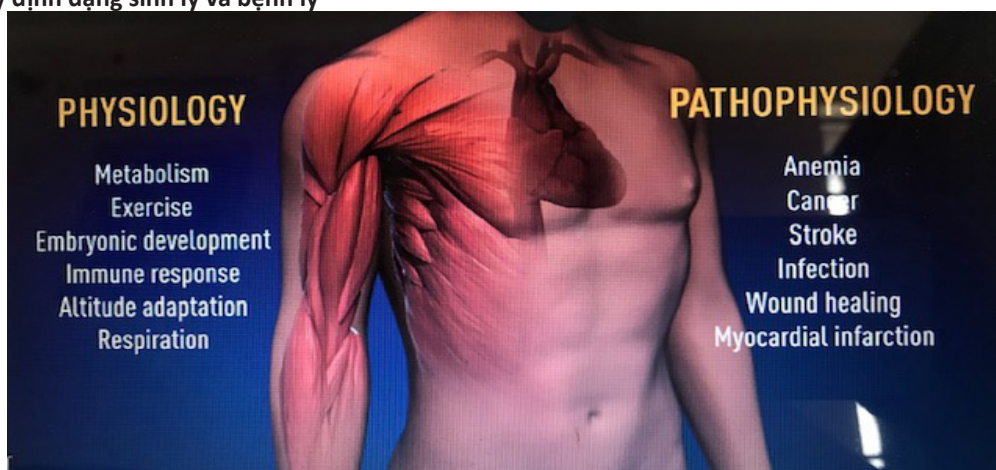
Một protein có liên quan nhiều đến HIF-1 α đã được nhân bản độc lập bởi bốn nhóm nghiên cứu khác nhau (Yoshiaki Fujii Kuriyama, Werner Risau, Christopher Bradfield và Steven McKnight, 1997; Ema et al., 1997; Flamme et al., 1997; Hogenesch và cộng sự, 1997; Tian và cộng sự, 1997); tên vẫn được sử dụng phổ biến (HIF-2 α), nhưng gene được mô tả là EPAS1 (Endothelial PAS domain containing protein 1) (PAS domain: molecular sensor, vùng cảm biến phân tử). Gene EPAS1 mã hóa một protein tương đồng cao với HIF-1 α và cũng liên kết với ARNT, nó chia sẻ độ nhạy của HIF-1 α đối với tình trạng thiếu oxy. Tuy nhiên, có sự khác biệt đáng kể về chức năng giữa HIF-1 α và EPAS1. Việc phá hủy gene HIF-1 α ở chuột sẽ biểu lộ một kiểu hình là làm gián đoạn giữa thai kỳ (Iyer et al., 1998; Ryan et al., 1998); nhưng việc xóa gene EPAS1 thì có nhiều kiểu hình rất khác nhau, có thể là do sự thay đổi cơ bản di truyền (Compernelle et al., 2002; Peng et al., 2000; Tian et al., 1998). Ngoài ra, có rất nhiều bằng chứng cho thấy một số phản ứng thiếu oxy được kiểm soát độc quyền bởi một hoặc một dạng đồng phân của HIF nhạy cảm với oxy khác; Các nghiên cứu này cũng xác định miền cấu trúc cụ thể trong HIF-1 α chịu

trách nhiệm cho sự giáng hóa phụ thuộc oxy, được gọi là vùng ODD của protein (oxygen-dependent degradation) hiện diện ở cả HIF-1 α và EPAS1. Năm 2001, phòng thí nghiệm của Ratcliffe và Kaelin đồng công bố quá trình hydroxyl hóa (gắn -OH) ở hai cận proline trong vùng ODD làm tăng ái tính sự liên kết phức hợp VHL của yếu tố phiên mã HIF. Sự hydroxyl hóa đòi hỏi oxy và trong trường hợp không có đủ oxy, hiện tượng này không xảy ra; VHL không nhận diện HIF-1 α do HIF-1 α không được gắn ubiquitin và sẽ không bị giáng hóa tại proteasome. HIF-1 α tích lũy và hoạt hóa phiên mã chương trình biểu lộ gene khởi phát do thiếu oxy (hình 1), ví dụ sản xuất EPO.

Oxy dịch chuyển sự cân bằng

Nhóm Kaelin và Ratcliffe đồng thời cũng chứng minh rằng sự điều chỉnh của HIF1 α bởi VHL phụ thuộc với sự hydroxyl hóa của HIF1 α . Năm 2001, trong hai bài báo được xuất bản đồng thời, họ đã chỉ ra rằng dưới mức oxy bình thường, các nhóm hydroxyl được thêm vào ở hai vị trí cụ thể trong HIF-1 α (Hình 1). Sự điều chỉnh protein này, được gọi là prolyl hydroxylation, cho phép VHL nhận biết và liên kết với HIF-1 α và do đó giải thích mức độ oxy bình thường kiểm soát sự giáng hóa nhanh HIF-1 α với sự trợ giúp của các enzyme nhạy cảm với oxy (còn gọi là prolyl hydroxylase). Nghiên cứu sâu hơn của Ratcliffe và những người khác đã xác định được các prolyl hydroxylase chịu trách nhiệm. Nó cũng cho thấy chức năng kích hoạt gene HIF-1 α được điều hòa bởi quá trình hydroxyl hóa phụ thuộc oxy. Hiện nay Những người đoạt giải Nobel hiện nay đã làm sáng tỏ cơ chế cảm nhận oxy và đã chỉ ra cách thức hoạt động của nó.

Oxy định dạng sinh lý và bệnh lý



Hình 2. Cơ chế được trao cho sự cảm nhận oxy có tầm quan trọng cơ bản trong sinh lý học, ví dụ sự chuyển hóa các chất, đáp ứng miễn dịch, và khả năng thích ứng với tập thể dục. Nhiều quá trình bệnh lý cũng có ảnh hưởng. Những nỗ lực nghiên cứu chuyên sâu đang tiếp tục phát triển các loại thuốc mới, có thể ức chế hoặc kích hoạt bộ máy điều chỉnh oxy để điều trị thiếu máu, ung thư và các bệnh khác.

Nhờ công trình đột phá của những người đoạt giải Nobel này, chúng ta hiểu biết nhiều hơn về mức độ oxy khác nhau điều hòa các quá trình sinh lý cơ bản. Cảm nhận oxy cho phép các tế bào thích ứng sự chuyển hóa của chúng với mức oxy thấp: ví dụ, tại cơ bắp của chúng ta trong quá trình tập luyện cường độ cao. Quá trình thích nghi được điều chỉnh bằng cảm nhận oxy bao gồm việc tạo ra các mạch máu mới và sản xuất các hồng cầu. Hệ thống miễn dịch và nhiều chức năng sinh lý khác cũng được điều hòa tinh tế bởi bộ máy cảm nhận oxy. Cảm nhận oxy cũng đã được chứng minh là rất cần thiết trong quá trình phát triển của thai nhi, để kiểm soát sự hình

thành mạch máu bình thường và sự phát triển của nhau thai. Cảm nhận oxy là mấu chốt của một số các bệnh lý (Hình 2). Ví dụ, bệnh nhân suy thận mạn thường bị thiếu máu nặng do giảm sản xuất EPO; cơ chế bệnh sinh trong ung thư. Bộ máy cảm nhận oxy được sử dụng để kích thích sự hình thành mạch máu và định hình lại quá trình trao đổi chất để tăng sinh hiệu quả các tế bào ung thư. Những nỗ lực không ngừng trong các phòng thí nghiệm hàn lâm và các công ty dược phẩm hiện đang tập trung vào phát triển các loại thuốc có thể can thiệp vào các tình trạng bệnh khác nhau bằng cách kích hoạt hoặc ngăn chặn bộ máy cảm nhận oxy đã trình bày ở trên.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Semenza, G.L., Neifelt, 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 USA*, 88, 5680-5684
2. Wang, G.L., Jiang, B.-H., Rue, E.A. & Semenza, G.L. (1995). Hypoxia-inducible factor 1 is a basic-helix-loop-helix-PAS heterodimer regulated by cellular O₂ tension. *Proc Natl Acad Sci USA*, 92, 5510-5514
3. Maxwell, P.H., Wiesener, M.S., Chang, G.-W., Clifford, S.C., Vaux, E.C., Cockman, M.E., Wykoff, C.C., Pugh, C.W., Maher, E.R. & Ratcliffe, P.J. (1999). The tumour suppressor protein VHL targets hypoxia-inducible factors for oxygen-dependent proteolysis. *Nature*, 399, 271-275
4. Mircea, I., Kondo, K., Yang, H., Kim, W., Valiando, J., Ohh, M., Salic, A., Asara, J.M., Lane, W.S. & Kaelin Jr., W.G. (2001) HIF α targeted for VHL-mediated destruction by proline hydroxylation: Implications for O₂ sensing. *Science*, 292, 464-468
5. Jakkola, P., Mole, D.R., Tian, Y.-M., Wilson, M.I., Gielbert, J., Gaskell, S.J., von Kriegsheim, A., Heberstreit, H.F., Mukherji, M., Schofield, C.J., Maxwell, P.H., Pugh, C.W. & Ratcliffe, P.J. (2001). Targeting of HIF- α to the von Hippel-Lindau ubiquitylation complex by O₂- regulated prolyl hydroxylation. *Science*, 292, 468-472
6. EPAS1: Endothelial PAS Domain protein 1, Gene ID 2034, update on 10-Oct-2019
7. On this year's Nobel Prize: www.nobelprize.org
Trần Thị Minh Diễm (tổng hợp)