

AMCoR

Asahikawa Medical University Repository <http://amcor.asahikawa-med.ac.jp/>

分子消化器病 (2010.06) 7巻2号:174~179.

シグナル伝達を理解するために必要な知識(第26回)(No.52)
低酸素応答シグナル伝達

奥村利勝

低酸素応答シグナル伝達

奥村利勝*

はじめに

生物が低酸素状態に適応するのはよく知られた現象である。空気の薄い高地トレーニングにより、造血因子であるエリスロポエチン (erythropoietin : EPO) の産生を増強して酸素運搬能を亢進させるように、アスリートは自身の体の仕組みをより競技仕様に改善するのは、その代表例である。この低酸素状態に応答して EPO 産生が増強する仕組みに、後述する hypoxia inducible factor (HIF)-1 が関与することが明らかにされて以来^{1)~3)}、この低酸素応答シグナルの研究が大きく推進した。

本稿では、低酸素に対して生体がどのように応答するのかを、その重要な役割をなす HIF-1 を中心に解説する。

低酸素環境とは

前述した高地トレーニングは、高地における物理的低酸素環境といえるが、正常酸素濃度である平地でも、生体(局所の組織や細胞)は低酸素環境に曝される。心筋梗塞や脳梗塞などの虚血性疾患では、局所の低酸素状態は容易に理解できる。さらに癌細胞にも低酸素環境があ

る⁴⁾。癌組織の低酸素は血管と密接な関係がある。癌細胞の増殖は時として増殖にみあった血管新生を伴わない。この場合、血管から離れた癌細胞にとって慢性低酸素状態になる。また、癌組織の血管網は無秩序であり、個々の血管構造も脆弱であるため、その血流は不安定であり時として一時的な血流遮断をくり返す急性低酸素環境がありうる。これらの病態における低酸素応答シグナルのメカニズムを解明することは、その先に、虚血性疾患や癌の新たな治療法開発へ結びつく可能性があり、重要な医学研究課題の1つである。

低酸素による HIF-1 の活性化メカニズム

低酸素シグナルの中心的分子が HIF-1 α および prolyl hydroxylase (PHD) とよばれる分子である。HIF-1 α は低酸素誘導性の転写因子で、HIF-1 α レベルは酸素センサーと考えられる酸素濃度感受性蛋白質 PHD により酸素濃度依存性に調節されている⁵⁾。図①に示すように、酸素が十分にある場合(通常酸素状態)、HIF-1 α は PHD により特定のプロリン残基の水酸化を受けて、癌抑制遺伝子の1種である Von Hippel-Lindau (VHL) 遺伝子の転写産物 (pVHL) がこの分解機構にはたらく E3 ユビキチンリガーゼの基質認識サブユニットとして結合する。ユビキチン化された HIF-1 α は 26S プロテアソームにより分解される。この一連の代謝過程は5分以

KEY WORDS

- ◎ 低酸素
- ◎ hypoxia inducible factor-1 (HIF-1)

*Okumura Toshikatsu/旭川医科大学病院総合診療部

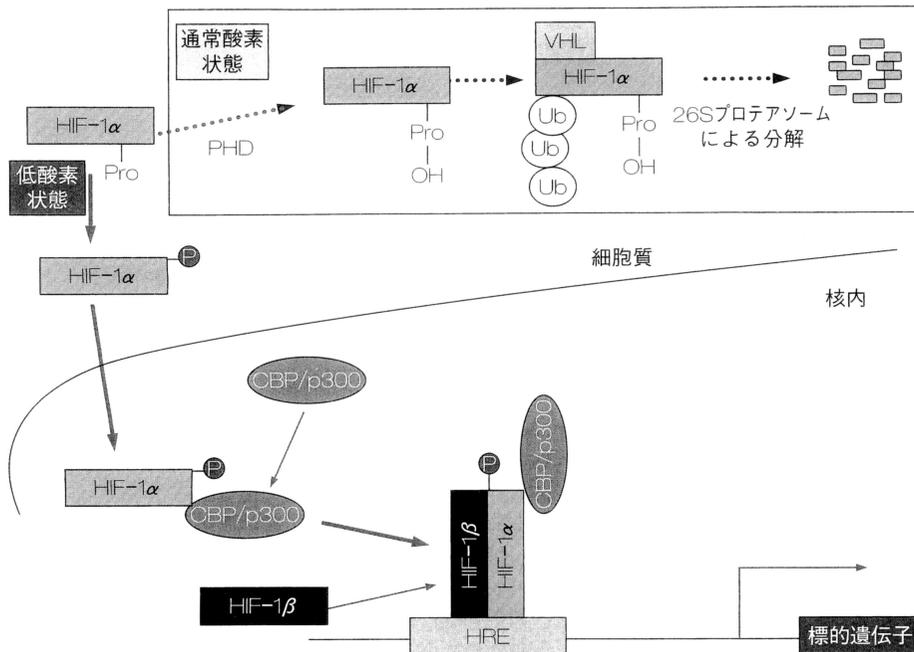


図1 低酸素による HIF-1 の活性化メカニズム

酸素が十分にある場合（通常酸素状態）、HIF-1αはPHDにより特定のプロリン残基の水酸化を受けて、VHL 遺伝子の転写産物 pVHL がこの分解機構にはたらく E3 ユビキチンリガーゼの基質認識サブユニットとして結合する。ユビキチン化された HIF-1α は 26S プロテアソームにより分解される。すなわち、通常酸素状態では HIF-1α は絶えず分解され恒常的に存在しない。一方、低酸素状態では、PHD の酵素活性が著しく低下するため、通常酸素状態と異なり、特定のプロリン残基の水酸化を受けない。したがって通常酸素状態でみられるユビキチン-プロテアソームによる分解過程へ移行せず、リン酸化を受けた HIF-1α は核内に移行し、コアクティベーターである CBP/P300 と直接結合し、さらに HIF-1β とヘテロダイマーを形成して、HRE 依存性に標的遺伝子発現を活性化する。

内と短く、すなわち、通常酸素状態では HIF-1α は絶えず分解され恒常的に存在しない。一方、酸素濃度が低下すると、PHD の酵素活性が著しく低下するため、通常酸素状態と異なり、特定のプロリン残基の水酸化を受けない。したがって、通常酸素状態で見られるユビキチン-プロテアソームによる分解過程へ移行せず、リン酸化を受けた HIF-1α は細胞質内で安定化する。すなわち、この翻訳後修飾が HIF-1α の活性化には重要である。細胞質の HIF-1α は核内に移行し、コアクティベーターである cyclic AMP (cAMP) response element-binding protein (CREB) binding protein (CBP)/P300 と直接結合し、さらに HIF-1β と結合する。HIF-1β は芳香族炭化水素受容体 (aryl hydrocarbon receptor : AhR) と結合して輸送担体としてはたらくことも知られており、AhR 輸送担体 (AhR nuclear translocator : Arnt) ともよばれている。この HIF-1β は HIF-1α と異なり、低酸素でも

影響を受けず、恒常的に発現している。核内で HIF-1α は HIF-1β とヘテロダイマーを形成して、低酸素応答配列 (hypoxia response element : HRE) 依存性に標的遺伝子発現を活性化する。

HIF-1 の標的遺伝子とその低酸素環境下発現調節の意義

低酸素状態で誘導される蛋白質や酵素は多数あるが、これらの蛋白質や酵素をコードする遺伝子の転写調節領域の研究から、低酸素に応答する DNA エlement として、HRE と名づけられた共通の DNA 配列があることが明らかにされている。HIF-1 の標的遺伝子の代表例⁹⁾を表1に示す。赤血球増殖因子である EPO や、鉄代謝に関与するトランスフェリン (Tf) とその受容体 (Tfr)、セルロプラスミンは HIF-1 の標的遺伝子である。これ

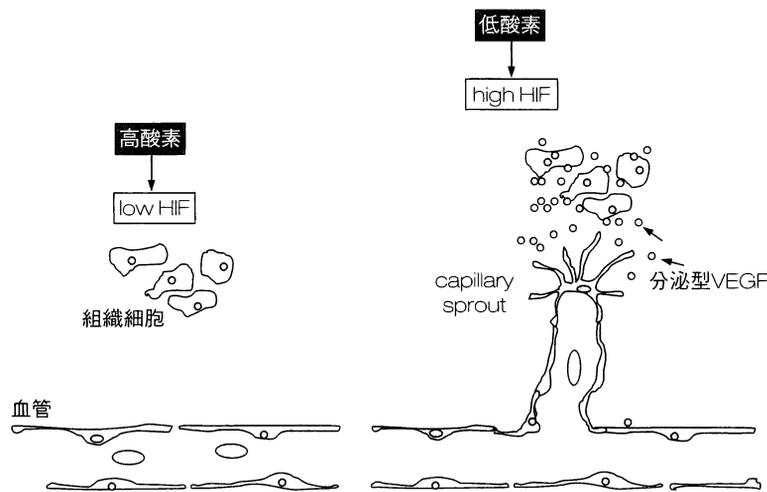
表① HIF-1 標的遺伝子

Function	Gene
Erythropoiesis/Iron metabolism	Erythropoietin (EPO) Transferrin (Tf) Transferrin receptor (Tfr) Ceruloplasmin
Angiogenesis	Vascular endothelial growth factor (VEGF) Endocrine-gland-derived VEGF (EG-VEGF) Leptin (LEP) Transforming growth factor- β 3 (TGF- β 3)
Vascular tone	Nitric oxide synthase (NOS2) Heme oxygenase 1 Endothelin 1 (ET1) Adrenomedullin (ADM) α 1B-Adrenergic receptor
Glucose metabolism	Adenylate kinase-3 Aldolase-A, C (ALDA, C) Carbonic anhydrase-9 Enolase-1 (ENO1) Glucose transporter-1, 3 (GLUT1, 3) Glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase (GAPDH) Hexokinase 1, 2 (HK1, 2) Lactate dehydrogenase-A (LDHA) Pyruvate kinase M (PKM) Phosphofructokinase L (PFKL) Phosphoglycerate kinase 1 (PGK1) 6-phosphofructo-2-kinase
Matrix metabolism	Matrix metalloproteinases (MMPs) Plasminogen activator inhibitors (PAIs)
Cell proliferation/survival	Insulin-like growth factor-2 (IGF2) Transforming growth factor- α (TGF- α) Adrenomedullin (ADM)
Apoptosis	Bcl-2protein 3 (BNip3) Nip3-like protein X (NIX)

(Ke Q *et al*, 2006⁵⁾から改変引用)

らの遺伝子群が低酸素に反応して HIF-1 を介し、その発現を亢進するのは、生体が低酸素に反応して赤血球の酸素運搬能を高めようとする合目的な反応ととらえることができる。また、血管新生に関与する血管内皮細胞増殖因子 (vascular endothelial growth factor : VEGF) や、血管のトーンスを調節するエンドセリン (ET)-1、誘導型一酸化窒素合成酵素、ヘムオキシゲナーゼ-1 など HIF-1 の標的遺伝子である。低酸素下でも血管新生を

促し、血管のトーンスを調整することで、より多くの酸素供給を得ることで、低酸素状態に生体を適応させる合目的な反応であろう。低酸素状態では、図②に示すように、血管新生が促進されるが、これは低酸素に反応して局所の細胞が HIF-1 発現を亢進させ、VEGF の発現を誘導するためと考えられる。分泌型の VEGF は既存の血管内皮細胞に作用して、capillary sprout とよばれる血管内皮細胞の伸張増殖という血管新生の初期過程を形成



図② 低酸素状態での血管新生メカニズム

低酸素に反応して局所の細胞が HIF-1 発現を亢進させ、VEGF の発現を誘導する。分泌型の VEGF は既存の血管内皮細胞に作用して、capillary sprout とよばれる血管内皮細胞の伸張増殖という血管新生の初期過程を形成させる。

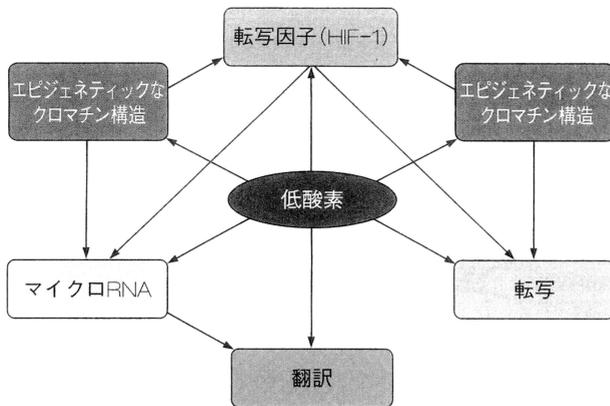
(Alberts B *et al.*, 2008⁶⁾より改変引用)

させる⁶⁾。加えて、糖代謝にかかわる多くの酵素の発現にも HIF-1 は関与する。グルコースの細胞内取り込みに関与するグルコース輸送体 (glucose transporter : GLUT) 1, 解糖の酵素であるホスホフルクトキナーゼ (PFK), アルドラーゼ (ALD)-A, エノラーゼ (ENO) なども HIF-1 の標的遺伝子である。癌細胞は低酸素抵抗性を獲得して生き延びるが、そのメカニズムの1つは、上述した VEGF の発現亢進などを誘導することによって血管を呼び込み、低酸素環境を解消することである。もう1つの方法は、細胞の代謝を変えて低酸素環境に適応することである。癌細胞の糖代謝が嫌氣的解糖に偏倚していることは Warburg 現象⁷⁾として古くから知られてきたが、これは低酸素応答として HIF-1 の作用により、糖代謝のかかわる重要な酵素の発現を変化させ、酸素の消費を抑えて好氣的解糖から嫌氣的解糖へとエネルギー産生をシフトさせていると考える。すなわち、HIF-1 の標的遺伝子として糖代謝における重要な酵素が含まれていることは、低酸素環境でも細胞が生き延びることができるように仕組みを備えていることを考えさせ、改めてホメオスタシスを保つための生体の巧妙な仕組みに感銘を受ける。さらに、細胞外基質の代謝を調節し、癌細胞の浸潤・転移に深くかかわる matrix metallo-

proteinase (MMP) や plasminogen activator inhibitor (PAI) も HIF-1 の標的遺伝子である。細胞増殖やアポトーシスの関連した遺伝子発現にも HIF-1 が転写調節因子として関与しているものがあり、癌細胞の増殖・浸潤・転移に広く HIF-1 が関与することが示唆されている。

低酸素以外の HIF-1 発現調節機構も存在する

低酸素以外にも HIF-1 の発現調節に関与するメカニズムが知られている⁵⁾。鉄代謝にかかわるニッケルやコバルトは HIF-1 α レベルを亢進させる。インスリンやインターロイキン (IL)-1 は phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K) を介して HIF-1 α レベルを亢進させることが報告されている。また、癌では低酸素と無関係に固有の遺伝子変化が HIF-1 α 発現を亢進させる場合がある。癌細胞に HIF-1 α 機能亢進を誘導する癌細胞の遺伝子変化として、VHL, p53, phosphatase and tensin homolog deleted on chromosome 10 (PTEN) などの癌抑制遺伝子のはたらきの欠失, PI3K/AKT/mammalian target of rapamycin (mTOR) シグナル, MEK/extracellular signal-regulated kinase (ERK) シグナル伝達の活性化, erbB-2 機能獲得, epidermal growth factor receptor



図③ 低酸素の細胞機能に及ぼす多彩な影響

低酸素は HIF-1 のような転写因子に加えて、エピジェネティックにクロマチン構造を変化させたり、翻訳抑制を誘導する。さらに転写や、ある種のマイクロ RNA の変化を起こし、これらの変化がお互いに関連しあって細胞の機能に影響を与えることも明らかになりつつある。

(Kenneth NS *et al*, 2008¹⁴⁾から改変引用)

(EGFR) シグナル伝達, insulin-like growth factor-1 receptor (IGF1R) シグナル伝達, プロスタグランジン E2 (PGE2) シグナル伝達, V-SRC の機能獲得などが明らかにされてきた。HIF-1 シグナル亢進が、イコール低酸素下による誘導でないことに注意しなければならない。

おわりに

以上、低酸素応答シグナルについて、HIF-1 を中心に概説した。今後は HIF-1 をターゲットにした治療法の展望として、①HIF-1 の作用を現弱させ、抗腫瘍効果をめざす^{8)~11)}、②HIF-1 の作用を亢進させ、虚血性疾患の治療をめざす方向性が期待されている^{11)~13)}。一方、以上の知見は低酸素に応答する転写因子 HIF-1 を中心に、低酸素シグナルについての限定されたもののみを記載した。しかし、これまでの知見から、低酸素は HIF-1 のような転写因子に加えて、図③に示すように、エピジェネティックにクロマチン構造を変化させたり、小胞体ストレス応答や mTOR 活性の低下による翻訳抑制を誘導する。蛋白質の翻訳は最もエネルギーを消費する細胞活動の1つで、低酸素下で翻訳が抑制されることは、エネルギー消費を節約して細胞が生存しようとする目的反応と理解できる。さらに転写や、ある種のマイクロ RNA

の変化を起こし、これらの変化がお互いに関連しあって細胞の機能に影響を与えることも明らかになりつつある¹⁴⁾。まだまだ全貌が明らかにされたとはいえ、今後さらに詳細な低酸素応答シグナル伝達機構の解明が期待される。



文献

- 1) Goldberg MA, Dunning SP, Bunn HF : Regulation of the erythropoietin gene : evidence that the oxygen sensor is a heme protein. *Science* **242** : 1412-1415, 1988
- 2) Semenza GL, Neifelt MK, Chi SM *et al* : Hypoxia-inducible nuclear factors bind to enhancer element located to 3' to the human erythropoietin gene. *Proc Natl Acad Sci U S A* **88** : 5680-5684, 1991
- 3) Wang GL, Semenza GL : General involvement of hypoxia-inducible factor 1 in transcriptional response to hypoxia. *Proc Natl Acad Sci U S A* **90** : 4304-4308, 1993
- 4) Vaupel P, Kelleher DK, Höckel M : Oxygen status of malignant tumors : pathogenesis of hypoxia and significance for tumor therapy. *Semin Oncol* **28** (2 suppl 8) : 29-35, 2001
- 5) Ke Q, Costa M : Hypoxia-inducible factor-1 (HIF-1). *Mol Pharmacol* **70** : 1469-1480, 2006
- 6) Alberts B, Johnson A, Lewis J *et al* : Specialized Tissues, Stem Cells, and Tissue Renewal (Chapter 23). In : *Molecular Biology of the Cell Fifth Edition*, Garland Science, Taylor & Francis Group LLC, New York, 2008, p. 1449
- 7) Warburg O : On the origin of cancer cells. *Science* **123** : 309-314, 1956
- 8) Semenza GL : Targeting HIF-1 for cancer therapy. *Nat Rev Cancer* **3** : 721-732, 2003
- 9) Melillo G : Inhibiting hypoxia-inducible factor 1 for cancer therapy. *Mol Cancer Res* **4** : 601-605, 2006
- 10) Semenza GL : Defining the role of hypoxia-inducible factor 1 in cancer biology and therapeutics. *Oncogene* **29** : 625-634, 2010
- 11) Ziello JE, Lovin IS, Huang Y : Hypoxia-inducible factor (HIF)-1 regulatory pathway and its potential for therapeutic intervention in malignancy and ischemia. *Yale J Biol Med* **80** : 51-60, 2007
- 12) Elson DA, Thurston G, Huang LE *et al* : Induction of hypervascularity without leakage or inflammation in transgenic mice overexpressing hypoxia-inducible factor-1 α . *Genes Dev* **15** : 2520-2532, 2001
- 13) Vincent KA, Shyu KG, Luo Y *et al* : Angiogenesis is induced

in a rabbit model of hindlimb ischemia by naked DNA encoding an HIF-1 α /VP16 hybrid transcription factor. *Circulation* **102** : 2255-2261, 2000

14) Kenneth NS, Rocha S : Regulation of gene expression by hypoxia. *Biochem J* **414** : 19-29, 2008