

缺氧诱导因子(HIFs)在肾癌发生中的作用及其分子机制

邹俊遐¹, 陈科²

1. 华中科技大学同济医学院附属同济医院儿科, 武汉 430030
2. 华中科技大学同济医学院附属同济医院泌尿外科, 武汉 430030

摘要: 肾癌是一种常见的泌尿系统肿瘤,但在临床上对转移性肾癌的治疗手段还非常有限。缺氧是实体肿瘤微环境的一个重要的基本特征。近年来基于分子机制和临床研究的数据表明,低氧诱导因子(hypoxia-inducible factors, HIFs)在肾细胞癌(renal cell carcinoma, RCC)的发生发展中发挥着至关重要的作用。HIF 是一类介导细胞适应低氧状况必需的转录激活因子,由 α 亚基和 β 亚基组成。研究已经证实,在 RCC 中 HIF-1 α 和 HIF-2 α 具有相反的作用,前者作为肿瘤抑制因子,而后者作为癌基因发挥功能。本文综述了 HIF 信号通路在 RCC 发生发展中的作用及其分子机制,并对靶向 HIF 信号通路治疗 RCC 的进行了探讨,以期指导临床肾细胞癌的精准化治疗和进一步的研究。

关键词: 缺氧; 低氧诱导因子(HIFs); 肾细胞癌; VHL

Roles and molecular mechanisms of hypoxia-inducible factors in renal cell carcinoma

Junxia Zou¹, Ke Chen²

1. Department of Pediatrics, Tongji Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430030, China
2. Department of Urology, Tongji Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430030, China

Abstract: Renal cancer is a common urologic malignancy. However, the therapeutic options for metastatic renal cancer patients are limited. Hypoxia (low oxygen) is a fundamental microenvironmental determinant of solid tumor pathophysiology. Recent data from molecular and clinical studies indicate that hypoxia-inducible factors (HIFs) play critical roles in the development and progress of renal cell carcinoma (RCC). The HIF transcription factor family is a type of heterodimeric transcription factor consisting of HIF- α and HIF- β subunits and can transcriptionally activate genes that mediate the hypoxic response. In RCC, HIF-1 α and HIF-2 α have opposing effects: HIF-1 α is a tumor suppressor while HIF-2 α acts as an oncogene. In this review, we summarize the current advances in understanding the roles and molecular mechanisms of HIF

收稿日期: 2017-12-11; 修回日期: 2018-01-13

基金项目: 国家自然科学基金(编号: 81402105, 81772721) [Supported by National Natural Science Foundation of China (Nos. 81402105, 81772721)]

作者简介: 邹俊遐, 本科, 护士, 研究方向: 儿童护理和肿瘤疾病专科护理。E-mail: 459382103@qq.com

通讯作者: 陈科, 博士, 助理研究员, 研究方向: 泌尿系统肿瘤。E-mail: kechen@hust.edu.cn

DOI: 10.16288/j.ycz.17-406

网络出版时间: 2018/3/30 14:31:27

URI: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.1913.R.20180330.1431.003.html>

signaling in RCC. We also discuss recent HIF-targeted strategies proposed to improve RCC treatment, which may provide a foundation for further research, including the development of precision medicine for the treatment of RCC.

Keywords: hypoxia; hypoxia-inducible transcription factors (HIFs); renal cell carcinoma; von Hippel-Lindau (VHL)

肾癌是由多种不同类型肾脏肿瘤组成的复杂性疾病。每一种类型的肾脏肿瘤都具有不同的组织学特点和临床预后表现,这主要是由不同的基因突变和治疗手段决定的^[1]。在临床上根据肾癌的组织病理学区别,可以将其分为以下3种主要类型:(1)透明细胞癌(clear cell RCC, ccRCC),约占肾癌的70%~75%;(2)乳头状肾细胞癌(papillary RCC, pRCC),约占肾癌的10%~16%;(3)嫌色细胞癌(chromophobe RCC, chRCC),约占肾癌的5%^[2]。肾细胞癌的发病主要有两种模式,即散发性和遗传性。遗传性肾细胞癌约占全部肾癌的2%~3%,主要包括 von Hippel-Lindau(VHL)综合征(由位于3p25-26的VHL基因突变导致)、遗传性乳头状肾细胞癌(由位于7q31-34的c-MET基因突变导致)、Birt-Hogg-Dube(BHD)综合征(由位于17p11的FLCN基因突变导致)、遗传性平滑肌瘤病肾癌(由位于1q42-43的FH基因突变导致)和结节性硬化症相关肾癌(由位于9q34的TSC1基因或位于16p13的TSC2基因突变导致)^[3,4]。ccRCC和chRCC分别与VHL综合征和BHD综合征相关联。VHL综合征是一种家族性多发肿瘤综合征,受累的个体由于VHL基因的突变或缺失导致多器官发生肿瘤,包括血管母细胞瘤、肾透明细胞癌、嗜铬细胞瘤等。BHD综合征是一种罕见的常染色体显性遗传病,主要由抑癌基因FLCN突变导致,且BHD患者中大约有25%~35%会发生肾癌^[5]。BHD综合征相关肾癌具有多种不同的组织学表现,其中约90%的表现为chRCC和混合嫌色嗜酸性细胞瘤^[5]。遗传性乳头状肾细胞癌也是一种罕见的常染色体显性遗传病,并具有很高的外显率,主要由原癌基因c-MET的突变导致c-MET蛋白持续激活,进而促进细胞增殖和存活以及增加细胞的迁移和侵袭能力等,最终导致肾癌的发生^[3,6,7]。

在哺乳动物正常的新陈代谢和生理功能中,氧

气是必不可少的。缺氧诱导因子(hypoxia inducible factor, HIF)是细胞感知和适应氧气水平变化的中枢调控因子^[8]。目前已发现的HIF家族包括有3个成员:HIF-1、HIF-2和HIF-3,均由对氧敏感的 α 亚基HIF- α (它们有3个成员:HIF-1 α 、HIF-2 α 和HIF-3 α)和对氧不敏感的 β 亚基HIF-1 β 构成^[9]。在富氧条件下,HIF- α 与pVHL结合后被降解。在脯氨酰羟化酶(prolyl hydroxylases, PHD)的作用下HIF- α 的保守脯氨酸位点会被羟基化修饰,这是其被pVHL识别的前提条件。在缺氧条件下,PHD失活,HIF- α 的羟基化受到抑制,使其不能被pVHL识别和降解,进而与HIF-1 β 形成异源二聚体,它们能结合DNA序列上的缺氧反应元件而激活一系列下游基因的表达,进而引发组织细胞的耐氧适应性反应^[3]。

缺氧是实体肿瘤微环境的一个重要的基本特征,因此在许多实体肿瘤中HIF活性增加能激活许多靶基因的转录,从而引起细胞代谢重编程、细胞增殖、侵袭和转移、细胞凋亡以及耐药性等改变,进而发挥其生理调节功能及恶性转化作用。大量研究表明,大多数ccRCC存在VHL基因的失活。与缺氧相似,pVHL的失活也会导致HIF- α 的稳定性增加和激活而引起“假缺氧”转录激活应答反应。因此,肾癌中pVHL的失活与HIF的激活密切相关。此外,其他几种主要的肾细胞癌亚型也伴随着HIF的激活^[3]。例如,在FH基因突变的肾癌中,由于FH蛋白的失活导致细胞内富马酸盐浓度的上升,从而抑制HIF- α 的羟基化而使其避免被VHL识别和降解^[3]。因此,HIF- α 在肾细胞癌(RCC)的发生发展中发挥着至关重要的作用。

本文主要综述了目前关于缺氧诱导因子的相关研究,特别是HIF-1 α 和HIF-2 α 在ccRCC中的作用,并探讨了HIF相关的靶向通路并提高肾癌的疗效的可能性。

1 VHL 和 HIF-α

1.1 VHL 基因失活与肾癌

VHL 基因由于可变剪接可以编码两种蛋白 pVHL30 和 pVHL19。目前的研究发现这两种异构体在肾癌中具有相似的功能, 基于此, 这两种蛋白被统称为 pVHL^[10]。pVHL 具有许多功能, 其最经典的功能是作为一个 E3 泛素连接酶复合物的底物识别亚基识别 HIF-α 并使其发生泛素化降解^[11]。

如前所述, 大部分肾细胞癌的病理类型是 ccRCC, 且其中约 97% 为散发性。通常, 大多数 ccRCC 与 3 号染色体短臂(3p)的改变有关, 其中定位于 3p25-26 染色体区域的 VHL 基因的突变或缺失在 ccRCC 的发生发展中发挥着关键的作用^[4]。大量的研究表明, VHL 基因在 ccRCC 中的失活机制主要包括等位基因缺失、杂合性缺失、基因突变和启动子甲基化^[12]。癌症基因组图谱(The Cancer Genome Atlas, TCGA)的研究人员分析了 417 例 ccRCC 患者的肾癌组织。结果发现, 大部分(92%)的 ccRCC 伴随着染色体 3p(包含 VHL、PBRM1、BAP1 和 SETD2 基因)的丢失, 以及 218 例(52.28%)ccRCC 出现了 VHL 基因的突变位点^[13]。此外, TCGA 研究人员还发现大约 7% 的 ccRCC 肿瘤中具有 VHL 基因的启动子区甲基化, 值得注意的是, 在 ccRCC 中 VHL 基因启动子的异常甲基化与其基因突变是相互排斥, 不共存的, 这进一步说明 VHL 基因的失活在 ccRCC 发生发展中起着关键作用^[13]。

1.2 VHL 基因型与表型的相关性

VHL 基因的失活通常可导致内脏囊肿以及一系

列的肿瘤, 包括神经系统和视网膜的血管母细胞瘤、肾透明细胞癌、嗜铬细胞瘤、胰岛细胞瘤、内淋巴囊肿瘤和附睾囊肿腺瘤等。在绝大部分遗传性和散发性肾透明细胞癌中可见由基因缺失、突变和甲基化等机制导致的 VHL 基因失活。根据相对风险的不同, 可以将 VHL 综合征分为两种类型: 1 型 VHL 综合征表现为肾癌和血管母细胞瘤, 2 型 VHL 综合征则表现有嗜铬细胞瘤^[14]。2 型 VHL 综合征可进一步分为 2A 型(嗜铬细胞瘤和血管母细胞瘤, 而 ccRCC 发生率低), 2B 型(嗜铬细胞瘤和血管母细胞瘤, 且 ccRCC 发生率高), 2C 型(仅表现为嗜铬细胞瘤)^[3]。这些亚型具有明显不同的 VHL 基因突变类型(表 1)。具体而言, 1 型 VHL 综合征(ccRCC 高风险)与 VHL 基因等位基因的缺失或失活突变(基因组大片段的缺失、移码突变或无义突变导致的 pVHL 的完全缺失)有关, 而大多数 2 型 VHL 综合征与 VHL 基因错义突变有关^[10]。此外, 影响 elongin C 相互作用的 VHL 基因错义突变明显增加嗜铬细胞瘤的发展风险, 而影响与 elongin B 和 HIF-α 相互作用的 VHL 基因错义突变明显增加 ccRCC 的发展风险^[10, 15]。在体外模拟 pVHL 突变与 VHL 综合征亚型之间相关性的研究中发现: HIF 通路异常激活程度与 ccRCC 的发展风险升高似乎密切相关, 而那些仅与嗜铬细胞瘤相关的 pVHL 突变则具有正常调节 HIF 通路的功能^[16]。因此, 在 1 型和 2B 型 VHL 疾病中 pVHL 突变在 HIF-α 的调节方面是严重缺陷的, 这类肾癌中具有高水平的 HIF 活性; 而 2A 型相关 pVHL 突变则具有正常的 HIF-α 调节功能。尽管这种相关性并不是绝对的, 但是这说明了 VHL-HIF 通路在 ccRCC 发生发展中起着关键作用。

表 1 VHL 综合征中 VHL 基因型与表型的相关性
Table 1 Genotype-phenotype correlations in VHL disease

VHL 综合征亚型	临床表型	VHL 基因突变类型	HIF 异常程度	参考文献
1	ccRCC; 血管母细胞瘤	基因组大片段的缺失、移码突变或无义突变	+++	[3, 10, 16]
2A	血管母细胞瘤; 嗜铬细胞瘤	错义突变	+	[17, 18]
2B	ccRCC; 血管母细胞瘤; 嗜铬细胞瘤	错义突变	++	[17, 18]
2C	嗜铬细胞瘤	错义突变	正常	[16, 19]

“+”: 指与正常比较, HIF 活性增加的程度。

1.3 HIF-1 α 与 HIF-2 α

HIF- α 蛋白家族有 3 个成员: HIF-1 α 、HIF-2 α 和 HIF-3 α , 其中研究比较深入的是 HIF-1 α 与 HIF-2 α ^[20]。HIF-1 α 和 HIF-2 α 蛋白具有蛋白质序列和结构的保守性, 有 48% 的蛋白序列相似, 具有相同的结构域, 包括氨基端的碱性螺旋-环-螺旋(basic-helix-loop-helix, bHLH) 结构域、两个 Per/Amt/Sim(PAS) 结构域、一个氧依赖降解结构域(oxygen-dependent degradation domain, ODDD)、以及位于 N 末端 C 末端的反式激活结构域(transactivation domain, TAD), 即 TAD-N 和 TAD-C。HIF-3 α 由于可变剪接可以产生很多不同的蛋白异构体, 它缺少氧依赖降解结构域以及 CTAD, 尽管它含有 NTAD 的同源结构域, 然而 HIF-3 α 的转录激活活性还没有被证实^[3]。由于 HIF-3 α 缺失 ODDD, 因此, HIF-3 α 可能并不直接受到 pVHL 的调节。但是, HIF-3 α 是 HIF-1 α 的一个靶基因, 因此, HIF-3 α 也间接受到 pVHL 的调节。此外, HIF-3 α 与 HIF-1 α 和 HIF-2 α 一样都与 HIF-1 β 相互作用, 因此, HIF-3 α 通过竞争结合 HIF-1 β 可作为 HIF-1 α 和 HIF-2 α 的显性负效应因子对 HIF-1 α 和 HIF-2 α 起负调控作用^[3]。

HIF-1 α 在人体组织中广泛表达, 而 HIF-2 α 的表达则主要局限于某些特定组织中^[21]。许多 HIF 的靶基因被认为在肿瘤发生过程中起着重要的作用, 这些基因主要涉及血管生成(*VEGF*、*PDGF* 和 *CTCF* 等)、糖酵解(*GLUT1*、*PGK1* 和 *PDK* 等)、染色质重塑(*JMJD1A* 和 *JMJD1C* 等)、细胞周期(*CCND* 等)、细胞外基质的形成和更替(*MMP1* 和 *LOX* 等)。大规模的染色质免疫共沉淀-测序(ChIP-Seq)和转录组测序显示细胞内有大约 500~1000 个 HIF 靶基因^[22, 23]。HIF 靶基因表现出高度细胞特异性, 其中只有一小部分靶基因在所有细胞中是保守的^[22]。此外, HIF-1 α 和 HIF-2 α 既有相同的靶基因(如 *VEGF* 和 *GLUT1*), 也有各自特异的下游基因^[24]。HIF-1 α 被证实倾向于诱导糖酵解相关酶基因的表达; 而 HIF-2 α 可激活细胞转移相关基因的表达, 例如 *OCT-3/4* 和 *MMP* 等^[25~27]。最初, 研究人员认为可能是 HIF-1 α 和 HIF-2 α 具有不同的 DNA 结合位点。然而实际上, HIF-1 α 和 HIF-2 α 具有相同的结合基序。研究证实有许多基因

位点能被 HIF-1 α 和 HIF-2 α 结合, 但是并不是这两个转录因子都能引起转录激活效应, 例如 HIF-1 α 能激活 *PGK1* 的表达而 HIF-2 α 则无法激活, HIF-2 α 能激活 *CCND1* 的表达而 HIF-1 α 则不能^[3]。此外, 最近有研究表明, 在 *VHL* 缺陷的 ccRCC 细胞中, HIF-1 α 倾向结合到靶基因近端启动子区域的缺氧反应元件, 而 HIF-2 α 通常结合到位于增强子区(内含子和基因间区域)的缺氧反应元件, 随后招募组蛋白乙酰转移酶 p300, 进而激活下游靶基因的表达^[28]。

许多研究表明在 ccRCC 细胞系中, pVHL 调节的基因与缺氧调节基因之间存在明显的重叠^[29~31]。此外, 通过分析 HIF 的 DNA 结合位点以及 *VHL* 缺陷的 ccRCC 细胞系的表达谱揭示了许多 HIF 的靶基因在许多 ccRCC 细胞系和肿瘤组织中组成型的高表达, 进一步说明了 *VHL*-HIF 通路的异常在 ccRCC 中发挥着关键的作用^[32]。

2 HIF-1 α 和 HIF-2 α 与 ccRCC 的关系

2.1 HIF-1 α 和 HIF-2 α 在 ccRCC 中具有相反功能的表型证据

在 *VHL* 基因相关肾癌中, HIF- α 的激活是正常肾小管上皮细胞中的早期事件, 并且伴随着 HIF 下游基因(如 *GLUT1* 和 *CA9* 基因)的诱导表达^[33]。值得注意的是, 在早期癌前病变位点可检测到 HIF-1 α 和 HIF-2 α 的表达, 而在正常的肾小管细胞内仅能检测到 HIF-1 α 的表达, 这说明 HIF-2 α 的表达才是 *VHL* 基因缺陷相关肾癌真正的早期癌前病变事件^[33, 34]。

在小鼠胚胎成纤维细胞或正常肾小管上皮细胞中 *VHL* 的缺失将导致细胞衰老, 这表明在 *VHL* 基因缺陷的肾小管上皮细胞的恶性转化过程中需要一些额外的基因突变或生物学事件来协同作用, 最后产生恶性肿瘤^[35]。此外, 在 *VHL* 综合征肾癌患者中可检测到数百个 *VHL* 基因缺陷位点, 但是仅有一小部分缺陷位点导致发展为肿瘤^[3]。总的来说, 这些研究表明在肾小管上皮细胞中 pVHL 的失活主要导致 HIF-1 α 的稳定性增加和 HIF-2 α 的从头表达, 以及 HIF 靶基因的表达上调, 此外, 还需要一些协同突变或生物学事件来克服细胞衰老最终促进肿瘤的

发生发展。

在肾癌的发生发展中, HIF-1 α 和 HIF-2 α 的功能得到了很好的研究。在人肾癌小鼠异种移植模型中, 过表达 HIF-2 α 可增加肿瘤的大小。而过表达 DNA 结合结构域缺陷的 HIF-2 α 则没有这个表型, 这说明 HIF-2 α 的转录激活活性对其促 ccRCC 发生发展是必不可少的。与此一致, 下调 HIF-2 α 的表达可明显降低肿瘤的大小^[36]。与 HIF-2 α 的作用相反, HIF-1 α 的过表达可降低人肾癌移植瘤的大小, 而下调 HIF-1 α 的水平可增加肾癌细胞系的增殖^[3]。因此, 从中可以得出以下结论: 在肾癌发生发展中, HIF-2 α 是一个促进因子, 而 HIF-1 α 是一个抑制因子。但让人意外的是, HIF-1 α 和 HIF-2 α 在许多其他肿瘤(包括乳腺癌、结直肠癌和前列腺癌等)中却都发挥着相同的促进肿瘤发生发展的作用, 并且它们的高表达都与这些肿瘤的不良预后密切相关^[37]。

2.2 HIF-1 α 和 HIF-2 α 在 ccRCC 中具有相反功能的遗传证据

越来越多的研究表明, HIF-1 α 和 HIF-2 α 在 ccRCC 中具有不同的功能。免疫组化分析 *VHL* 基因缺陷的肿瘤发现: 尽管所有的肿瘤中都高表达 HIF-2 α , 但是很多肿瘤却没有 HIF-1 α 的表达。根据 *VHL* 基因突变和 HIF-1 α 与 HIF-2 α 的表达情况可以将 ccRCC 分为以下 3 类: (1) pVHL 功能正常的肿瘤; (2) pVHL 失活且同时表达 HIF-1 α 和 HIF-2 α 的肿瘤; (3) pVHL 失活但是仅表达 HIF-2 α 的肿瘤。人肾癌小鼠异种移植瘤实验显示, 第三类肿瘤细胞肿瘤生长速度最快^[38]。

除了染色体 3p(包含 *VHL* 基因)的缺失, 还有许多染色体异常事件与肾癌发生发展密切相关, 包括染色体 5q 的扩增和染色体 14q 的缺失^[39, 40]。许多研究表明染色体 14q 的缺失是肾癌预后不良的一个重要指标^[40~43]。HIF-1 α 定位于染色体 14q23, 且大多数 14q 染色体的缺失片段中包含 HIF-1 α 基因座^[44]。Shen 等^[40]通过遗传学和功能学研究证实 HIF-1 α 的部分缺失在 14q 染色体缺失的肾癌中扮演了十分重要的角色。他们通过一系列的体内体外实验证实 HIF-1 α 可抑制肾癌细胞的增殖。然而, HIF-1 α 的部分缺失异构体(HIF-1 α Δ 3-4, HIF-1 α Δ 2-6, HIF-1 α Δ 5-

10)以及少量存在于肾癌中的突变体(c.2120delA、c.2180C \rightarrow A 和 V116E)抑制肾癌细胞增殖的能力明显减弱。目前的研究数据表明, *VHL* 的缺失或突变最初导致 HIF-1 α 和 HIF-2 α 都被激活, 随后由于 14q 染色体或 HIF-1 α 的部分缺失将会导致更具侵袭性的 *VHL* 基因缺陷型肿瘤^[40]。

随着基因组学研究的深入发展, 进一步证实了 HIF-2 α 在肾癌的发生中发挥着关键作用。全基因组关联研究(genome-wide association study, GWAS)发现定位于 HIF-2 α 基因第 1 内含子中的 SNP(rs118-94252 和 rs7579899)与肾癌发生发展密切相关^[45, 46]。此外, GWAS 分析也发现了一些其他的基因座位与肾癌的发生发展相关联。其中有一个 SNP(rs7105934)定位于 11 号染色体(11q13.3)的非基因编码区, 且其对 RCC 的发生发展具有保护作用^[45]。通过对 HIF 调节基因的转录组以及大规模的 ChIP-Seq 数据分析发现 rs7105934 基因座位正好对应于 HIF 的结合位点, 这一位点作为 cyclin D1 的增强子序列, 在 HIF-2 α 结合后招募 p300 等转录辅激活因子激活 cyclin D1 的表达^[28, 47]。Cyclin D1 是一个功能非常明确的癌基因, 它仅在 *VHL* 基因缺陷肾癌中作为 HIF 的一个靶基因^[47]。有趣的是, 尽管 HIF-1 α 和 HIF-2 α 结合相同的 DNA 序列且都能与这一增强子序列结合, 但是只有 HIF-2 α 的结合能激活 cyclin D1 的表达。在肾脏中, Cyclin D1 在 *VHL* 基因缺陷位点也被诱导表达, 这暗示 *VHL*-HIF-2 α -cyclin D1 这一信号通路在肾癌的发生发展中发挥重要作用^[34]。

2.3 HIF 信号通路与其他突变基因的关系

大规模基因组测序结果显示除 *VHL* 基因突变外, ccRCC 中还含有其他一些突变频率较高的基因, 这些基因主要包括染色质修饰酶类基因(*UTX*、*JARID1C*、*SETD2* 和 *PBRM1* 等)和去泛素化酶 *BAP1* 等。其中, *PBRM1* 的突变频率约为 40%, *BAP1* 的突变率大约为 14%^[48~51]。此外, ccRCC 中存在很大程度的肿瘤内异质性, 即同一患者来源肿瘤不同部位肿瘤细胞间从基因型到表型上存在着明显的差异^[52, 53]。目前主流的观点认为, 在 ccRCC 的发生中 *VHL* 基因的失活作为肿瘤起始发生的关键步骤, 随后, 其他基因包括前面提到的一些基因突变将进一

步促进肿瘤的发生发展^[3]。

到目前为止, 染色质修饰酶类基因突变是如何与 pVHL 失活产生联系的还不是很清楚。DNA 和组蛋白的修饰是通过表观遗传调节基因转录的重要机制。研究表明许多组蛋白赖氨酸甲基转移酶(histone lysine demethylases, KDM)是 HIF 的靶基因, 缺氧可诱导它们的表达, 例如, *KDM5C* (*JARID1C*)、*KDM3A*、*KDM2B*、*KDM4B*、*KDM5B*、*KDM6B* 和 *KDM4C* 等^[8]。KDMs 在功能上既可以促进也可以抑制基因的表达。例如, KDMs 可以介导组蛋白 H3K27 和 H3K9 的去甲基化从而促进其下游基因的表达, 以及介导组蛋白 H3K4 和 H3K36 的去甲基化从而抑制基因的表达^[3]。*JARID1C* 基因编码一个 H3K4me3 去甲基化酶。Niu 等^[54]证实在 *VHL* 基因缺陷的 ccRCC 细胞中 H3K4me3 的整体水平要低于 *VHL* 正常的对应细胞系, 且 HIF-2 α 可激活 *JARID1C* 基因的表达。虽然 HIF-2 α 在肾癌中作为一个癌基因发挥功能, 但是其激活的下游基因也有一些起抑制肿瘤发生的功能。例如, 在 *VHL* 基因缺陷的 786-O 细胞中下调 *JARID1C* 的表达明显增加肿瘤细胞的生长, 说明 *JARID1C* 在肾癌中是一个抑癌基因。在 786-O 细胞中抑制 *JARID1C* 的活性可上调 HIF 靶基因启动子区的 H3K4me3 水平, 同时上调这些 HIF 靶基因的表达, 这说明了 HIF 活性和染色质构象之间存在着密切联系^[54]。*SETD2* 基因编码一个甲基转移酶蛋白, 负责 H3K36 三甲基化(H3K36me3)修饰。近几年的研究表明, *SETD2* 是一个关键的抑癌基因, 其突变与肾癌、白血病和胶质瘤等多种癌症相关^[55]。研究发现 *SETD2* 基因突变将导致组蛋白缺失 H3K36 三甲基化修饰, 从而增加了开放的染色质结构, 因此, *SETD2* 功能的缺失进一步放大了缺氧/HIF 信号通路, 进一步促进肿瘤的生长^[8]。HIF 反应依赖于开放的染色质构象, 且 HIF 结合于染色质对胞嘧啶甲基化敏感。因此, 我们可以推测在 pVHL 失活的细胞内, 染色质修饰酶类基因突变可导致染色质构象异常进而影响 HIF 调节下游基因表达。与此推测一致, 目前的研究表明 *JARID1C* 和 *SETD2* 基因对许多 HIF 靶基因具有明显的调节作用, 且染色质构象是影响 ccRCC 发生发展的一个重要因素^[54, 56]。此外, 大规模的 Chip-Seq 研究揭示出肿瘤细胞特异的开放染色质构象是 HIF 结合的前提条件。*PBRM1* 基因编码的

蛋白是 SWI/SNF 复合物中的一个亚基, SWI/SNF 复合物是一种染色质重塑复合物, 在肿瘤中起抑癌基因作用, 其多个亚基失活与肾癌的发生、发展关系密切, 且常常提示肿瘤预后不良。在 786-O 细胞系(*VHL* 基因缺失但含有功能正常的 *PBRM1* 基因)中敲除 *PBRM1* 基因将促进细胞的增殖^[48]。此外, 在 *VHL* 基因缺陷的 ccRCC 细胞中, *PBRM1* 基因的缺失能够放大 HIF 信号通路^[57]。最近, Espana-Agusti 等^[58]证实在小鼠肾脏中同时缺失 *VHL* 和 *PBRM1* 基因可导致全浸润、多病灶肿瘤的发展, 与人类 ccRCC 非常相似。其机制可能是 *PBRM1* 功能的缺失可以抵消由 pVHL 失活诱导的复制胁迫, 从而促进肾癌发展。由于缺氧也可以诱导 DNA 复制胁迫, 因此 pVHL 失活导致 DNA 复制胁迫和 DNA 损伤积累很可能依赖于 HIF 的活性^[59, 60]。*BAP1* 基因编码一个去泛素化酶, 定位于细胞核, 该蛋白羧基末端含有泛素水解酶(UCH)结构域。Wang 等^[61]证实在小鼠中同时缺失 *VHL* 和 *BAP* 基因将促进肾癌的发展。然而, 在肾小管内单独的 *VHL* 或 *BAP* 基因敲除仅仅会导致肾囊肿和肾功能衰竭。在 *BAP* 和 *VHL* 基因缺失的小鼠模型中, HIF 的下游基因被明显激活, 然而, 在这个模型中 HIF 是否发挥重要功能, 以及 *BAP* 和 *VHL* 基因的缺失是否与 HIF 通路一起协同作用促进肿瘤发生, 以及它们之间的联系还不是很清楚, 还需要进一步深入研究。

总的来说, 这些研究证实了表观遗传修饰与缺氧/HIF 信号通路之间具有很大的关联, 既这些表观遗传因子能够调节 HIF 的转录激活活性, HIF 反过来也可以调节部分表观遗传因子的表达。但是, 它们之间的具体关系和这些基因突变的联合效应还不是很清楚。HIF 与表观遗传、以及肾癌中关键基因之间的关系将会是肾癌研究中的一个热点。此外, 这些泛基因组的研究结果进一步说明了 HIF- α 在 ccRCC 发展中具有关键的作用。

3 HIF-1 α 和 HIF-2 α 在 ccRCC 中具有相反功能的分子作用机制

大多数实体肿瘤都显示一定程度的缺氧, 且缺氧程度与肿瘤患者的不良预后明显相关^[8]。在常氧

下, HIF- α 可与 pVHL 蛋白复合物相互作用, 最终通过泛素蛋白酶体酶降解 HIF- α 。HIF- α 的脯氨酸残基被脯氨酰羟化酶羟基化是其与 VHL 相互作用所必须的。在缺氧时, 脯氨酰羟化酶失活, HIF- α 的羟基化被抑制而使其稳定性增加, 进而与 HIF-1 β 形成异源二聚体激活一系列下游基因的表达^[3]。HIF- α 除了受到氧气依赖的 PHD/VHL 通路的调节外, 它们还受到许多其他信号通路的调控^[62]。此外, HSP90 以及钙信号通路可以增加 HIF-1 α 的蛋白稳定性, 从而能够在常氧下激活 HIF 信号通路^[63]。HIF-1 α 和 HIF-2 α 亚基虽然结构相似, 但在 ccRCC 中二者的功能相反, 以下主要探讨在 ccRCC 中二者发挥相反功能的分子作用机制(图 1)。

3.1 HIF-1 α 和 HIF-2 α 对靶基因表达调控的差异

如前所述, 尽管 HIF-1 α 和 HIF-2 α 具有相同的

结合基序, 但是它们具有各自特异的靶基因。这些差异的下游基因很可能是 HIF-1 α 和 HIF-2 α 具有相反功能的重要分子机制(图 1A)。此外, HIF-1 α 和 HIF-2 α 具有不同的转录激活能力, 其部分归因于它们的 C 端转录激活结构域具有对 FIH1 的不同敏感性。HIF-1 α 和 HIF-2 α 转录激活结构域内保守的天冬氨酰残基(Asn)被 FIH1 羟基化, 形成空间位阻, 抑制辅助激活因子 p300 和 CBP 的募集, 从而抑制 HIF 的转录活性。研究证实 HIF-1 α 较 HIF-2 α 对 FIH1 更加敏感^[3]。此外, 在 RCC 细胞系中下调 FIH1 的表达可增加 HIF-1 α 的转录激活活性并促进细胞凋亡。这说明在肾癌发生发展中, FIH1 具有降低 HIF-1 α 的活性和促进细胞成活的作用, 是一个促癌基因。然而, FIH1 在细胞核中的低表达与 ccRCC 患者的不良预后相关^[64]。这与在 RCC 中 FIH1 起促癌基因的

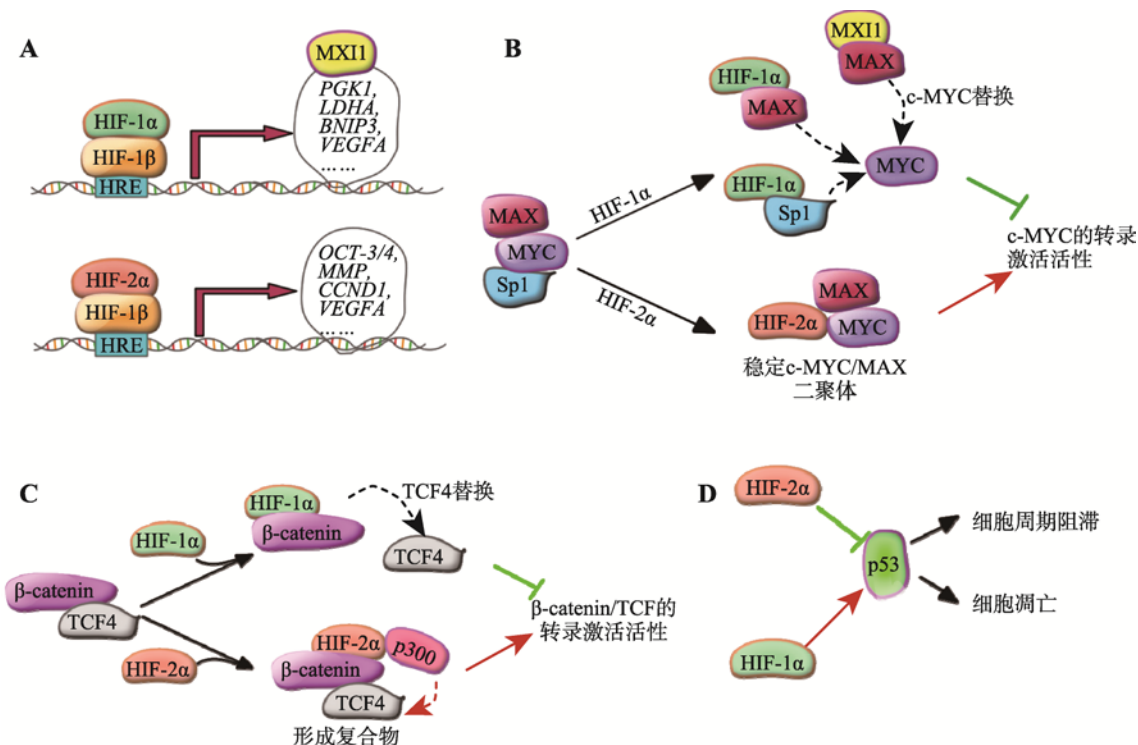


图 1 HIF-1 α 和 HIF-2 α 在 ccRCC 中具有相反功能的分子作用机制

Fig. 1 Molecular mechanisms that HIF-1 α and HIF-2 α have opposing effects in ccRCC biology

A: HIF-1 α 和 HIF-2 α 具有各自特异的靶基因; B: HIF-1 α 与 MYC 竞争结合 Sp1 和 MAX, 以及 HIF-1 α 的下游基因 MXI1 与 MYC 竞争结合 MAX, 从而抑制 MYC/MAX 二聚体作用于目的基因启动子。而 HIF-2 α 与 MAX 和 MYC 相互作用后可促进 MAX/MYC 二聚体的形成, 从而促进 MYC 的转录激活活性; C: HIF-1 α 与 TCF-4 竞争结合 β -catenin, 抑制 β -catenin/TCF-4 复合物的形成, 从而抑制 β -catenin/TCF-4 的功能。HIF-2 α 与 β -catenin/TCF-4 复合物相互作用后, 招募辅助激活因子 p300 进而促进 β -catenin 的转录激活活性; D: HIF-1 α 激活而 HIF-2 α 抑制 p53 的活性, 进而调节细胞周期的阻滞和细胞凋亡。

功能是矛盾的,因此,FIH1 很可能还具有其他的重要功能。

3.2 HIF-1 α 和 HIF-2 α 在信号通路中的不同作用

除了通过转录激活来直接控制肿瘤代谢和细胞存活等相关通路的基因表达外,HIF-1 α 和 HIF-2 α 也可以直接与一些重要癌基因相互作用并可调节这些癌基因的活性,例如 MYC 和 β -catenin。MYC 基因定位于染色体 8q24,与多种肿瘤发生发展密切相关,它可通过调节许多细胞周期和细胞代谢相关基因的表达,从而促进细胞的增殖和生长。ccRCC 通常伴有 MYC 基因的异常扩增^[13, 65]。虽然 HIF-1 α 和 HIF-2 α 是非常相似,但是现在有证据表明它们在一些情况下是互相拮抗的。例如,HIF-1 α 抑制而 HIF-2 α 激活 MYC 的活性^[38, 66, 67](图 1B)。目前的研究证实 HIF-1 α 可在许多不同的层次上抑制 MYC 的功能。首先,HIF-1 α 与 MYC 竞争结合 Sp1,从而抑制 MYC 作用于目的基因启动子^[68]。其次,HIF-1 α 可与 MAX 相互作用而阻止 MAX-MYC 复合物的形成,MAX/MYC 的二聚化是转录因子 Myc 的活性所必须的。再者,HIF-1 α 可促进 MYC 蛋白的蛋白酶体降解,但确切机制远未阐明^[67]。最后,HIF-1 α 可直接结合 MXI1 基因的启动子从而激活其表达,MXI1 与 MYC 竞争结合 MAX,从而破坏 MAX/MYC 的二聚化而抑制 MYC 的活性^[67]。此外,MXI1/MYC 二聚体可结合一些 MYC 的靶基因的启动子从而抑制这些基因的表达^[69]。因此,HIF-1 α 可拮抗 MYC 介导的生物学过程。与 HIF-1 α 相反,HIF-2 α 与 MAX 和 MYC 相互作用后可促进 MAX/MYC 二聚体的形成,从而促进 MYC 的转录激活活性^[66]。鉴于 HIF-1 α 和 HIF-2 α 对 MYC 活性明显相反的影响,在同时表达 HIF-1 α 和 HIF-2 α 的细胞中,MYC 活性是如何被调节的仍然有待进一步的研究。

越来越多的研究表明 β -catenin 信号通路的异常与人类肿瘤密切相关。目前的研究证实 HIF-1 α 抑制 β -catenin 信号通路,而 HIF-2 α 激活 β -catenin 的活性(图 1C)。HIF-1 α 与 TCF-4 竞争结合 β -catenin,抑制 β -catenin/TCF-4 复合物的形成,从而抑制 β -catenin/TCF-4 的功能。有趣的是 β -catenin/HIF-1 α 复合物可结合到 HIF-1 α 靶基因启动子处,促进 HIF-1 α 的转

录激活活性^[70]。HIF-2 α 也可与 β -catenin/TCF-4 复合物相互作用,并招募辅助激活因子 p300 进而促进 β -catenin 的转录激活活性^[71]。此外,在肾癌细胞系中, β -catenin 的蛋白水平与 VHL 负相关,其机制可能是 pVHL 通过与 Jade-1 相互作用后增加了 Jade-1 的蛋白稳定性,而 Jade-1 可促进 β -catenin 的降解^[72]。因此,在 ccRCC 中,pVHL 的失活可在不同层次上增加 β -catenin 的功能。

p53 是一个抑癌基因,它在许多人类肿瘤中突变或失活。在 ccRCC 患者中也发现了 p53 基因的突变,然而,与其他的大多数肿瘤类型相比,在肾癌中,p53 基因的突变频率较低^[13]。这说明在 ccRCC 中很可能存在其他的基因突变或机制抑制 p53 信号通路。HIF-1 α 能够增强辐射诱导的 p53 活化,导致增强 p53 的磷酸化和 p53 介导的细胞凋亡^[73]。此外,HIF-1 α 可与 p53 相互作用,并增强 p53 的蛋白稳定性^[74, 75]。相反,HIF-2 α 可抑制 p53 的磷酸化,从而抑制其活性。在 ccRCC 细胞系中下调 HIF-2 α 的表达可促进 p53 蛋白水平和活性,从而促进细胞周期的阻滞和增加细胞凋亡^[76]。因此,HIF- α 通过调节 p53 信号通路很可能在肾癌发生发展中发挥着重要作用(图 1D)。

缺氧相关因子(hypoxia-associated factor, HAF)在许多肿瘤组织中高表达,它可以与 HIF-1 α 相互作用并促进 HIF-1 α 的泛素化降解。HAF 介导的 HIF-1 α 降解不依赖于细胞内 O₂/PHD/VHL 途径。此外,在 RCC4 和 RCC10 细胞系中由于 VHL 基因突变,pVHL 的 E3 连接酶活性缺失,pVHL 突变体可以与 HAF 竞争结合 HIF-1 α 。因此,在常氧下,pVHL 突变体可以抑制 HAF 促进的 HIF-1 α 降解,而在缺氧条件下,pVHL 突变体不能和 HIF-1 α 相互作用,从而不能保护 HIF-1 α 免于被 HAF 的泛素化降解^[77]。HAF 也可以与 HIF-2 α 相互作用,但是 HAF 并不导致 HIF-2 α 的泛素化降解,相反的,而是促进 HIF-2 α 的转录激活活性^[78]。

此外,在 VHL 基因失活的 RCC 细胞系中,HIF-1 α 和 HIF-2 α 可相互调节彼此的蛋白质水平,例如,HIF-1 α 的缺失会上调 HIF-2 α 的蛋白水平,反之亦然^[34]。因此,遗传学和功能上的数据表明在 ccRCC 的发生发展中 HIF-1 α 和 HIF-2 α 具有相反的作用。

4 HIF 在肾癌临床疗效和靶向治疗上的作用

虽然目前的实验指出 HIF-1 α 和 HIF-2 α 是 ccRCC 发生发展的重要预后因子,但是仍缺乏在大型病例队列中研究关于 HIF-1 α 和 HIF-2 α 的表达与临床预后之间的关系。Biswas 等^[79]发现仅有 HIF-1 α 或 HIF-2 α 高表达与患者预后不良相关。然而,当 HIF-1 α 和 HIF-2 α 同时高表达却并没有提示患者预后不良。与以前的研究结果一致,HIF-2 α 的表达水平与肿瘤大小正相关^[38,79]。有趣的是,HIF-2 α 的下游基因 *CCND1* 和 *GLUT1* 的表达水平却与患者预后没有关联。同样的,在一个大型研究队列中,Klatte 等^[80]对 357 名患者进行分析显示 HIF-1 α 的高表达提示着转移性肾癌患者的不良预后。与这些研究结论相反,在一个含有 92 名肾癌患者的队列研究中,研究者通过 Western blotting 手段确定蛋白表达显示 HIF-1 α 的高表达提示预后良好^[81]。然而,这两项研究中都没有对 HIF-2 α 的表达水平进行分析。因此,关于 HIF-1 α 和 HIF-2 α 在肾癌中的研究还远远没有结束。

自 2005 年以来,肾癌的靶向治疗药物主要有针对 VEGF 途径起作用的 TKI 药物,以及 mTOR 通路抑制剂类药物。目前有 9 种靶向 VHL-HIF 通路的药物被美国食品药品监督管理局(Food and Drug Administration, FDA)批准用于高级别肾癌患者的治疗,其中 7 种(sorafenib、sunitinib、bevacizumab、pazopanib、axitinib、levatinib 和 cabozantinib)是靶向 VEGF 和 PDGFR 等 HIF 下游基因的药物。剩下的 2 种,即 temsirolimus 和 everolimus 是靶向 mTOR 通路的药物。由于 *VEGFA* 是 HIF 的靶基因,以及 mTOR 具有调节 HIF 翻译的功能,因此,这 2 类药物都可以干扰 HIF 信号通路^[3]。虽然这些药物的使用取得了良好的疗效,例如它延长了患者的无疾病进展生存期(progression free survival, PFS)和生存时间,但是最终患者都会对这些药物产生耐药性从而复发。由于 HIF 在 ccRCC 中的重要地位,因此提出这样一个问题,肿瘤组织中 HIF 的水平是否可以预测肿瘤细胞对靶向药物的反应?帕唑帕尼(pazopanib)是一个多靶点的 VEGF、PDGFR、FGFR 和 c-Kit 抑制剂,

它可明显延长晚期转移性肾癌患者的无疾病进展生存期^[82]。然而,Choueiri 等^[83]的研究结果显示 VHL/HIF-1 α /HIF-2 α 信号通路与晚期转移性肾癌患者对 pazopanib 的药物敏感性没有关联。此外,另外一项通过对 123 例转移性肾癌患者的研究显示患者对 VEGF 靶向药物的敏感性与 VHL 和 HIF 的表达都没有直接关联^[84]。与以前的研究结果不一致的是,最近的基于 1538 例肾癌患者的研究结果显示 pazopanib 并没有明显改善患者的无疾病进展生存期^[85]。因此,仍需研发更有效的新药和更准确的药效评估标志物以提高疗效。

目前,尽管缺乏 VHL/HIF 信号通路的异常与临床预后之间的确切关联,但是实验数据明确显示 HIF 通路在 ccRCC 的发生发展和转移上发挥着关键作用^[3]。Vanharanta 等^[86]发现在 ccRCC 的发生发展过程中,肿瘤细胞会利用多种表观遗传机制放大和增强 VHL-HIF 通路的功能。例如 PRC2 介导的组蛋白 H3 第 27 位赖氨酸上三甲基化(H3K27me3)的缺失将进一步促进 HIF 激活 *CXCR4* 的表达,以及 DNA 甲基化的缺失有助于 HIF 激活 *CYTIP* 的表达,这些下游基因的表达使得肿瘤细胞具有更强的侵袭和转移能力。这些研究与遗传学研究结论一致,即表观遗传的改变在肿瘤发生发展过程中发挥着至关重要的作用,并且许多负责表观遗传修饰的酶是 HIF 信号通路的下游基因。这些信号通路是否可以被用来设计新型靶向药物用于治疗 ccRCC 还需要更加进一步的研究。Chen 等^[87]通过系统筛选 *VHL* 基因缺陷的协同致死基因,发现 *GLUT1* 基因是 *VHL* 缺陷的 ccRCC 细胞生存的必需组分。在小鼠异种移植模型中用药物抑制 *GLUT1* 的活性能够降低 ccRCC 细胞的生长速度。此外,有研究证实 HIF 通路还可以通过 AXL-MET 信号通路来促进 ccRCC 的转移^[88]。这些研究进一步的说明 HIF 信号通路在肾癌发生发展中具有至关重要的作用,它能够做为靶点用于开发更有效的新型靶向治疗药物。

最近有研究表明 HIF-2 α 的拮抗剂 PT2399 可以下调 HIF-2 下游基因的转录表达以及抑制 *VHL* 基因缺陷的 ccRCC 细胞的生长^[89]。其作用机制是:小分子抑制剂 PT2399 能直接结合到 HIF-2 α 的 PAS B 结构域上,从而抑制 HIF-2 α /HIF-1 β 二聚体的形成。

Chen 等^[89]证实 PT2399 能抑制 56%(10/18)的肿瘤患者来源的移植瘤(patient-derived xenografts, PDXs)的生长, 且其抑制效果比当前的一线药物 sunitinib 更好。他们发现有 44%(8/18)的移植瘤对 PT2399 具有耐药性, 尽管在这些细胞中 PT2399 仍然具有解离 HIF-2 α /HIF-1 β 二聚体的作用。大多数对 PT2399 敏感的移植瘤表达高水平的 HIF-2 α 蛋白。然而, 这些耐药的 ccRCC 移植瘤具有较低表达水平的 HIF-2 α 以及较高表达水平的 HIF-1 α 。其可能的原因是, HIF-1 α 在不同的 pVHL 失活的 ccRCC 中具有不同的作用, 它很可能在这些 PT2399 耐药的 ccRCC 移植瘤中作为一个促癌基因发挥功能。同样的, Cho 等^[90]通过一系列体内和体外实验证实 PT2399 具有抑制大多数 VHL 缺陷的 ccRCC 细胞系的生长的作用。与 Chen 等^[89]结果不一样, 他们发现 ccRCC 细胞对 PT2399 的敏感性与 HIF-1 α 和 HIF-2 α 表达没有相关性, 即对 PT2399 具有耐药性的细胞也表达高水平的 HIF-2 α 。有趣的是, 有一个细胞系对 HIF-2 α 的敲除敏感却对 PT2399 具有耐药性, 这说明细胞具有其他的内在耐药机制以及 HIF-2 α 具有不依赖于 HIF-2 α /HIF-1 β 二聚体的功能。此外, Chen 等^[90]还报道了利用 PT2385(HIF-2 α 的拮抗剂, 与 PT2399 机制一样)治疗一个高级别肾癌患者的一期临床试验结果。尽管这名患者在接受 PT2385 治疗之前, 已经受到了高剂量的 IL12、bevacizumab、sorafenib、everolimus、sunitinib、pazopanib 和 axitinib 的治疗, 但是这名患者在长达近一年内没有复发。最近, 关于新药 PT2385 的一期临床试验已经结束, 证实了它具有良好的安全性, 以及对已经接受过治疗的 ccRCC 具有良好的抗肿瘤活性, 这为其进一步临床应用提供了坚实基础^[91]。总的来说, 这些研究进一步说明 VHL/HIF 通路在 ccRCC 发生发展中发挥着关键作用, 并且 HIF-2 α 的抑制剂很可能作为 ccRCC 治疗的高效靶向药物。

5 结语与展望

在过去的数十年里, 遗传学上和功能基因组学上的研究证据都显示缺氧信号通路与 ccRCC 的发生发展紧密相关。在功能上, HIF-1 α 和 HIF-2 α 这两个

调节氧稳态的核心转录因子在 ccRCC 的发生发展中具有不同的功能, 即 HIF-1 α 作为一个抑癌基因, 而 HIF-2 α 作为一个促癌基因发挥作用。目前普遍认为肿瘤的发生发展是多个遗传学改变积累的结果, 即肿瘤发生是一个多基因、多因素的过程, 涉及不同通路上不同分子事件的相互作用。随着测序技术和分析工具日新月异的发展, 产生了一些类型肿瘤变化的综合全景图, 使人们对不同肿瘤阶段的基因型和表型有了一个更完整的描述, 同时也开辟了一个全新的研究领域。目前, 泛基因组学分析显示与 ccRCC 风险相关的 SNP 位点与 HIF 结合位点重叠, 因此, 这些位点可能通过影响 HIF 信号通路而调节 ccRCC 的发生发展。HIF-2 α 的聚集是肾癌的早期癌前病变事件之一, 基因组层面的研究发现在肾癌细胞的不断进化过程中伴随着许多次级遗传事件, 这些事件包括 HIF-1 α 的丢失、其他抑癌基因或促癌基因的突变等。此外, 这些事件的发生能够进一步影响 HIF-2 α 的活性。这些突变基因中有很大部分具有染色质修饰的功能, 这说明表观遗传学的改变在肾癌发生发展中发挥着至关重要的作用。由于 HIF 主要作为转录因子发挥作用, 需要结合到开放的活性染色质区域, 因此染色质的结构改变很可能影响 HIF 信号通路的活性。但是, 到目前为止, 具体有哪些遗传事件以及这些事件在癌前病变灶发展为肿瘤过程中的贡献程度大小还不是很清楚, 这些事件的具体作用仍需进一步探索。因此, 更进一步阐明表观遗传学在 HIF 通路中的作用机制, 将促进人们对低氧胁迫下细胞调控以及 VHL-HIF 通路在肾癌的发生发展中作用机制的理解, 这对将来新药物的开发具有重要的指导意义。

目前, 对高级别 ccRCC 的治疗药物主要是靶向 HIF 信号通路的药物, 包括抑制 HIF 翻译的药物(mTOR 抑制剂)和抑制 HIF 下游基因功能的药物(VEGF 抑制剂)。由于这些药物并不是靶向某一个特定的 HIF- α 异构体, 因此 HIF- α 异构体在这些药物治疗过程中的贡献程度大小还不清楚。此外, 这些药物的使用仅仅是延长部分 RCC 患者无进展生存期, 几乎所有的患者都会出现获得性耐药, 以及这些药物具有明显的细胞毒性。因此, 有必要研发更安全有效的药物用于 ccRCC 的治疗。最近, 有研究

表明 HIF-2 α 的拮抗剂 PT2399 和 PT2385 可能是用于治疗肾癌很有希望的靶向药物, 并且临床 1 期试验结果显示 PT2385 安全性良好且在接受过治疗的 ccRCC 患者中具有抗肿瘤活性, 表明 HIF-2 α 拮抗剂在 ccRCC 患者中具有直接的治疗作用^[91]。与 TKI 药物一样, PT2385 和 PT2399 的耐药问题仍然存在^[89, 90]。大量的研究表明, 肿瘤异质性是产生耐药性的主要原因。高级别的 ccRCC 中确实存在高度异质性, 包括在单个肿瘤中染色质重塑相关基因突变的不一致, 这说明肿瘤内不同细胞间的表观遗传状态可能存在极大的差异。因此, 将 HIF-2 α 的拮抗剂结合靶向表观遗传改变的药物可能会显著提高 ccRCC 的总体治疗效率。因此, 寻找有效的能预测靶向治疗疗效及不良反应的生物标志物、阐明肿瘤的耐药性机制以及寻找克服耐药性的方法, 已经成为了当前分子靶向药物研究的热点。可以预测在将来, 随着肿瘤生物学及相关学科的飞速发展, 将鉴定出更多的药物新靶点, 并且会有更多、更有效的药物用于肾癌的治疗。

参考文献(References):

- [1] Linehan WM, Srinivasan R, Schmidt LS. The genetic basis of kidney cancer: A metabolic disease. *Nat Rev Urol*, 2010, 7(5): 277–285. [DOI]
- [2] Shuch B, Amin A, Armstrong AJ, Eble JN, Ficarra V, Lopez-Beltran A, Martignoni G, Rini BI, Kutikov A. Understanding pathologic variants of renal cell carcinoma: Distilling therapeutic opportunities from biologic complexity. *Eur Urol*, 2015, 67(1): 85–97. [DOI]
- [3] Schödel J, Gramp S, Maher ER, Moch H, Ratcliffe PJ, Russo P, Mole DR. Hypoxia, hypoxia-inducible transcription factors, and renal cancer. *Eur Urol*, 2016, 69(4): 646–657. [DOI]
- [4] Capitanio U, Montorsi F. Renal cancer. *Lancet*, 2016, 387(10021): 894–906. [DOI]
- [5] Verine J, Pluvinage A, Bousquet G, Lehmann-Che J, De Bazelaire C, Soufir N, Mongiat-Artus P. Hereditary renal cancer syndromes: An update of a systematic review. *Eur Urol*, 2010, 58(5): 701–710. [DOI]
- [6] Gaur S, Turkbey B, Choyke P. Hereditary renal tumor syndromes: Update on diagnosis and management. *Semin Ultras CT MR*, 2017, 38(1): 59–71. [DOI]
- [7] Linehan WM, Spellman PT, Ricketts CJ, Creighton CJ, Fei SS, Davis C, Wheeler DA, Murray BA, Schmidt L, Vocke CD, Peto M, Al Mamun AA, Shinbrot E, Sethi A, Brooks S, Rathmell WK, Brooks AN, Hoadley KA, Robertson AG, Brooks D, Bowlby R, Sadeghi S, Shen H, Weisenberger DJ, Bootwalla M, Baylin SB, Laird PW, Cherniack AD, Saksena G, Haake S, Li J, Liang H, Lu YL, Mills GB, Akbani R, Leiserson MD, Raphael BJ, Anur P, Bottaro D, Albiges L, Barnabas N, Choueiri TK, Czerniak B, Godwin AK, Hakimi AA, Ho TH, Hsieh J, Ittmann M, Kim WY, Krishnan B, Merino MJ, Mills Shaw KR, Reuter VE, Reznik E, Shelley CS, Shuch B, Signoretti S, Srinivasan R, Tamboli P, Thomas G, Tickoo S, Burnett K, Crain D, Gardner J, Lau K, Mallery D, Morris S, Paulauskis JD, Penny RJ, Shelton C, Shelton WT, Sherman M, Thompson E, Yena P, Avedon MT, Bowen J, Gastier-Foster JM, Gerken M, Leraas KM, Lichtenberg TM, Ramirez NC, Santos T, Wise L, Zmuda E, Demchok JA, Felau I, Hutter CM, Sheth M, Sofia HJ, Tarnuzzer R, Wang Z, Yang L, Zenklusen JC, Zhang J, Ayala B, Baboud J, Chudamani S, Liu J, Lolla L, Naresh R, Pihl T, Sun Q, Wan Y, Wu Y, Ally A, Balasundaram M, Balu S, Beroukhir R, Bodenheimer T, Buhay C, Butterfield YS, Carlsen R, Carter SL, Chao H, Chuah E, Clarke A, Covington KR, Dahdouli M, Dewal N, Dhallia N, Doddapaneni HV, Drummond JA, Gabriel SB, Gibbs RA, Guin R, Hale W, Hawes A, Hayes DN, Holt RA, Hoyle AP, Jefferys SR, Jones SJ, Jones CD, Kalra D, Kovar C, Lewis L, Li J, Ma Y, Marra MA, Mayo M, Meng S, Meyerson M, Mieczkowski PA, Moore RA, Morton D, Mose LE, Mungall AJ, Muzny D, Parker JS, Perou CM, Roach J, Schein JE, Schumacher SE, Shi Y, Simons JV, Sipahimalani P, Skelly T, Soloway MG, Sougnez C, Tam A, Tan D, Thiessen N, Veluvolu U, Wang M, Wilkerson MD, Wong T, Wu J, Xi L, Zhou J, Bedford J, Chen F, Fu Y, Gerstein M, Haussler D, Kasaian K, Lai P, Ling S, Radenbaugh A, Van Den Berg D, Weinstein JN, Zhu J, Albert M, Alexopoulou I, Andersen JJ, Auman JT, Bartlett J, Bastack S, Bergsten J, Blute ML, Boice L, Bollag RJ, Boyd J, Castle E, Chen YB, Cheville JC, Curley E, Davies B, DeVolk A, Dhir R, Dike L, Eckman J, Engel J, Harr J, Hrebinko R, Huang M, Huelsenbeck-Dill L, Iacocca M, Jacobs B, Lobis M, Maranchie JK, McMeekin S, Myers J, Nelson J, Parfitt J, Parwani A, Petrelli N, Rabeno B, Roy S, Salner AL, Slaton J, Stanton M, Thompson RH, Thorne L, Tucker K, Weinberger PM, Winemiller C, Zach LA, Zuna R. Comprehensive molecular characterization of papillary renal-cell carcinoma. *N Engl J Med*, 2016, 374(2): 135–145. [DOI]
- [8] Choudhry H, Harris AL. Advances in hypoxia-inducible

- factor biology. *Cell Metab*, 2018, 27(2): 281–298. [DOI]
- [9] Xiang PC, Sun PC, Liu YW, Lu YH, Xia WH. Research progress of the role of hypoxia-inducible factor in renal cell carcinoma. *Progr Mod Biomed*, 2017, 17(10): 1975–1980.
项鹏程, 孙鹏程, 刘玉伟, 卢云汉, 徐万海. 低氧诱导因子在肾透明细胞癌中作用的研究进展. 现代生物医学进展, 2017, 17(10): 1975–1980. [DOI]
- [10] Gossage L, Eisen T, Maher ER. VHL, the story of a tumour suppressor gene. *Nat Rev Cancer*, 2015, 15(1): 55–64. [DOI]
- [11] Cheng XY, Wu XR, Liu DM. The research perspective of VHL gene in renal cell carcinoma. *Chem Life*, 2015, 35(2): 176–182.
程鑫宇, 吴小荣, 刘东明. 肾癌中 VHL 基因的研究进展. 生命的化学, 2015, 35(2): 176–182. [DOI]
- [12] Sato Y, Yoshizato T, Shiraishi Y, Maekawa S, Okuno Y, Kamura T, Shimamura T, Sato-Otsubo A, Nagae G, Suzuki H, Nagata Y, Yoshida K, Kon A, Suzuki Y, Chiba K, Tanaka H, Niida A, Fujimoto A, Tsunoda T, Morikawa T, Maeda D, Kume H, Sugano S, Fukayama M, Aburatani H, Sanada M, Miyano S, Homma Y, Ogawa S. Integrated molecular analysis of clear-cell renal cell carcinoma. *Nat Genet*, 2013, 45(8): 860–867. [DOI]
- [13] Cancer Genome Atlas Research Network. *Nature*, 2013, 499(7456): 43–49. [DOI]
- [14] Zhou YH, Chu LZ. Research advances in pathogenic genes of the Von Hippel-Lindau Syndrome. *Med Recap*, 2017, 23(8): 1505–1509, 1514–1515.
周宇浩, 出良钊. Von Hippel-Lindau 综合征致病基因的研究进展. 医学综述, 2017, 23(8): 1505–1509, 1514–1515. [DOI]
- [15] Rechsteiner MP, Von Teichman A, Nowicka A, Sulser T, Schraml P, Moch H. VHL gene mutations and their effects on hypoxia inducible factor HIF α : Identification of potential driver and passenger mutations. *Cancer Res*, 2011, 71(16): 5500–5511. [DOI]
- [16] Gossage L, Eisen T. Alterations in VHL as potential biomarkers in renal-cell carcinoma. *Nat Rev Clin Oncol*, 2010, 7(5): 277–288. [DOI]
- [17] Li LJ, Zhang L, Zhang XP, Yan Q, Minamishima YA, Olumi AF, Mao M, Bartz S, Kaelin WG, Jr. Hypoxia-inducible factor linked to differential kidney cancer risk seen with type 2A and type 2B VHL mutations. *Mol Cell Biol*, 2007, 27(15): 5381–5392. [DOI]
- [18] Knauth K, Bex C, Jemth P, Buchberger A. Renal cell carcinoma risk in type 2 Von Hippel-Lindau disease correlates with defects in pVHL stability and hif-1 α interactions. *Oncogene*, 2006, 25(3): 370–377. [DOI]
- [19] Hoffman MA, Ohh M, Yang HF, Klcio JM, Ivan M, Kaelin WG Jr. Von Hippel-Lindau protein mutants linked to type 2C VHL disease preserve the ability to downregulate HIF. *Hum Mol Genet*, 2001, 10(10): 1019–1027. [DOI]
- [20] Chen K, Cheng HH, Zhou RJ. Molecular mechanisms and functions of autophagy and the ubiquitin-proteasome pathway. *Hereditas (Beijing)*, 2012, 34(1): 5–18.
陈科, 程汉华, 周荣家. 自噬与泛素化蛋白降解途径的分子机制及其功能. 遗传, 2012, 34(1): 5–18. [DOI]
- [21] Wiesener MS, Jürgensen JS, Rosenberger C, Scholze CK, Hörstrup JH, Warnecke C, Mandriota S, Bechmann I, Frei UA, Pugh CW, Ratcliffe PJ, Bachmann S, Maxwell PH, Eckardt KU. Widespread hypoxia-inducible expression of HIF-2 α in distinct cell populations of different organs. *FASEB J*, 2003, 17(2): 271–273. [DOI]
- [22] Ortiz-Barahona A, Villar D, Pescador N, Amigo J, Del Peso L. Genome-wide identification of hypoxia-inducible factor binding sites and target genes by a probabilistic model integrating transcription-profiling data and *in silico* binding site prediction. *Nucleic Acids Res*, 2010, 38(7): 2332–2345. [DOI]
- [23] Roche O, Deguiz ML, Tiana M, Galiana-Ribote C, Martinez-Alcazar D, Rey-Serra C, Ranz-Ribeiro B, Casitas R, Galera R, Fernández-Navarro I, Sanchez-Cuellar S, Bernard V, Ancochea J, Wasserman WW, García-Río F, Jimenez B, Del Peso L. Identification of non-coding genetic variants in samples from hypoxemic respiratory disease patients that affect the transcriptional response to hypoxia. *Nucleic Acids Res*, 2016, 44(19): 9315–9330. [DOI]
- [24] Nanus DM, Gudas LJ. The tale of two hypoxia-inducible factors in renal cell carcinoma. *Eur Urol*, 2016, 69(4): 658–659. [DOI]
- [25] Petrella BL, Lohi J, Brinckerhoff CE. Identification of membrane type-1 matrix metalloproteinase as a target of hypoxia-inducible factor-2 α in von Hippel-Lindau renal cell carcinoma. *Oncogene*, 2005, 24(6): 1043–1052. [DOI]
- [26] Covello KL, Kehler J, Yu HW, Gordan JD, Arsham AM, Hu CJ, Labosky PA, Simon MC, Keith B. HIF-2 α regulates Oct-4: Effects of hypoxia on stem cell function, embryonic development, and tumor growth. *Genes Dev*, 2006, 20(5): 557–570. [DOI]
- [27] Wang V, Davis DA, Haque M, Huang LE, Yarchoan R. Differential gene up-regulation by hypoxia-inducible factor-1 α and hypoxia-inducible factor-2 α in HEK293T cells. *Cancer Res*, 2005, 65(8): 3299–3306. [DOI]
- [28] Yao XS, Tan J, Lim KJ, Koh J, Ooi WF, Li ZM, Huang DC, Xing MJ, Chan YS, Qu JZ, Tay ST, Wijaya G, Lam YN, Hong JH, Lee-Lim AP, Guan PY, Ng MSW, He CZ, Lin JS, Nandi T, Qamra A, Xu C, Myint SS, Davies JOJ, Goh JY, Loh G, Tan BC, Rozen SG, Yu Q, Tan IBH, Cheng CWS,

- Li S, Chang KTE, Tan PH, Silver DL, Lezhava A, Steger G, Hughes JR, Teh BT, Tan P. *VHL* deficiency drives enhancer activation of oncogenes in clear cell renal cell carcinoma. *Cancer Discov*, 2017, 7(11): 1284–1305. [DOI]
- [29] Wykoff CC, Pugh CW, Maxwell PH, Harris AL, Ratcliffe PJ. Identification of novel hypoxia dependent and independent target genes of the von Hippel-Lindau (VHL) tumour suppressor by mRNA differential expression profiling. *Oncogene*, 2000, 19(54): 6297–6305. [DOI]
- [30] Wykoff CC, Sotiropoulos C, Cockman ME, Ratcliffe PJ, Maxwell P, Liu E, Harris AL. Gene array of VHL mutation and hypoxia shows novel hypoxia-induced genes and that cyclin D1 is a VHL target gene. *Br J Cancer*, 2004, 90(6): 1235–1243. [DOI]
- [31] Jiang YD, Zhang W, Kondo K, Klco JM, St Martin TB, Dufault MR, Madden SL, Kaelin WG Jr, Nacht M. Gene expression profiling in a renal cell carcinoma cell line: Dissecting VHL and hypoxia-dependent pathways. *Mol Cancer Res*, 2003, 1(6): 453–462. [DOI]
- [32] Schödel J, Mole DR, Ratcliffe PJ. Pan-genomic binding of hypoxia-inducible transcription factors. *Biol Chem*, 2013, 394(4): 507–517. [DOI]
- [33] Mandriota SJ, Turner KJ, Davies DR, Murray PG, Morgan NV, Sowter HM, Wykoff CC, Maher ER, Harris AL, Ratcliffe PJ, Maxwell PH. HIF activation identifies early lesions in VHL kidneys: Evidence for site-specific tumor suppressor function in the nephron. *Cancer Cell*, 2002, 1(5): 459–468. [DOI]
- [34] Raval RR, Lau KW, Tran MGB, Sowter HM, Mandriota SJ, Li JL, Pugh CW, Maxwell PH, Harris AL, Ratcliffe PJ. Contrasting properties of hypoxia-inducible factor 1 (HIF-1) and HIF-2 in von Hippel-Lindau-associated renal cell carcinoma. *Mol Cell Biol*, 2005, 25(13): 5675–5686. [DOI]
- [35] Young AP, Kaelin WG Jr. Senescence triggered by the loss of the VHL tumor suppressor. *Cell Cycle*, 2008, 7(12): 1709–1712. [DOI]
- [36] Kondo K, Kim WY, Lechpammer M, Kaelin WG Jr. Inhibition of HIF2 α is sufficient to suppress pVHL-defective tumor growth. *PLoS Biol*, 2003, 1(3): e83. [DOI]
- [37] Keith B, Johnson RS, Simon MC. HIF1 α and HIF2 α : Sibling rivalry in hypoxic tumour growth and progression. *Nat Rev Cancer*, 2011, 12(1): 9–22. [DOI]
- [38] Gordan JD, Lal P, Dondeti VR, Letrero R, Parekh KN, Oquendo CE, Greenberg RA, Flaherty KT, Rathmell WK, Keith B, Simon MC, Nathanson KL. HIF- α effects on c-Myc distinguish two subtypes of sporadic *VHL*-deficient clear cell renal carcinoma. *Cancer Cell*, 2008, 14(6): 435–446. [DOI]
- [39] Chen K, Zeng J, Xiao HB, Huang CH, Hu JH, Yao WM, Yu G, Xiao W, Xu H, Ye ZQ. Regulation of glucose metabolism by p62/SQSTM1 through HIF1 α . *J Cell Sci*, 2016, 129(4): 817–830. [DOI]
- [40] Shen C, Beroukhi R, Schumacher SE, Zhou J, Chang M, Signoretti S, Kaelin WG Jr. Genetic and functional studies implicate *HIF1 α* as a 14q kidney cancer suppressor gene. *Cancer Discov*, 2011, 1(3): 222–235. [DOI]
- [41] Mitsumori K, Kittleson JM, Itoh N, Delahunt B, Heathcott RW, Stewart JH, McCredie MRE, Reeve AE. Chromosome 14q LOH in localized clear cell renal cell carcinoma. *J Pathol*, 2002, 198(1): 110–114. [DOI]
- [42] Kaku H, Ito S, Ebara S, Ouchida M, Nasu Y, Tsushima T, Kumon H, Shimizu K. Positive correlation between allelic loss at chromosome 14q24–31 and poor prognosis of patients with renal cell carcinoma. *Urology*, 2004, 64(1): 176–181. [DOI]
- [43] Alimov A, Sundelin B, Wang NN, Larsson C, Bergerheim U. Loss of 14q31-q32.2 in renal cell carcinoma is associated with high malignancy grade and poor survival. *Int J Oncol*, 2004, 25(1): 179–185. [DOI]
- [44] Beroukhi R, Brunet JP, Di Napoli A, Mertz KD, Seeley A, Pires MM, Linhart D, Worrell RA, Moch H, Rubin MA, Sellers WR, Meyerson M, Linehan WM, Kaelin WG, Jr, Signoretti S. Patterns of gene expression and copy-number alterations in von-Hippel Lindau disease-associated and sporadic clear cell carcinoma of the kidney. *Cancer Res*, 2009, 69(11): 4674–4681. [DOI]
- [45] Purdue MP, Johansson M, Zelenika D, Toro JR, Scelo G, Moore LE, Prokhorchouk E, Wu XF, Kiemeny LA, Gaborieau V, Jacobs KB, Chow WH, Zaridze D, Matveev V, Lubinski J, Trubicka J, Szeszenia-Dabrowska N, Lissowska J, Rudnai P, Fabianova E, Bucur A, Bencko V, Foretova L, Janout V, Boffetta P, Colt JS, Davis FG, Schwartz KL, Banks RE, Selby PJ, Harnden P, Berg CD, Hsing AW, Grubb III RL, Boeing H, Vineis P, Clavel-Chapelon F, Palli D, Tumino R, Krogh V, Panico S, Duell EJ, Quiros JR, Sanchez MJ, Navarro C, Ardanaz E, Dorronsoro M, Khaw KT, Allen NE, Bueno-de-Mesquita HB, Peeters PH, Trichopoulos D, Linseisen J, Ljungberg B, Overvad K, Tjønneland A, Romieu I, Riboli E, Mukeria A, Shangina O, Stevens VL, Thun MJ, Diver WR, Gapstur SM, Pharoah PD, Easton DF, Albanes D, Weinstein SJ, Virtamo J, Vatten L, Hveem K, Njølstad I, Tell GS, Stoltenberg C, Kumar R, Koppova K, Cussenot O, Benhamou S, Oosterwijk E, Vermeulen SH, Aben KK, van der Marel SL, Ye YQ, Wood CG, Pu X, Mazur AM, Boulygina ES, Chekanov NN, Foglio M, Lechner D, Gut I, Heath S, Blanche H, Hutchinson A, Thomas G, Wang Z, Yeager M, Fraumeni JF Jr, Skryabin KG, McKay JD, Rothman N, Chanock SJ, Lathrop M, Brennan P. Genome-wide associ-

- ation study of renal cell carcinoma identifies two susceptibility loci on 2p21 and 11q13.3. *Nat Genet*, 2011, 43(1): 60–65. [DOI]
- [46] Han SS, Yeager M, Moore LE, Wei MH, Pfeiffer R, Toure O, Purdue MP, Johansson M, Scelo G, Chung CC, Gaborieau V, Zaridze D, Schwartz K, Szeszenia-Dabrowska N, Davis F, Bencko V, Colt JS, Janout V, Matveev V, Foretova L, Mates D, Navratilova M, Boffetta P, Berg CD, Grubb III RL, Stevens VL, Thun MJ, Diver WR, Gapstur SM, Albanes D, Weinstein SJ, Virtamo J, Burdett L, Brisuda A, McKay JD, Fraumeni JF Jr, Chatterjee N, Rosenberg PS, Rothman N, Brennan P, Chow WH, Tucker MA, Chanock SJ, Toro JR. The chromosome 2p21 region harbors a complex genetic architecture for association with risk for renal cell carcinoma. *Hum Mol Genet*, 2012, 21(5): 1190–1200. [DOI]
- [47] Schödel J, Bardella C, Sciesielski LK, Brown JM, Pugh CW, Buckle V, Tomlinson IP, Ratcliffe PJ, Mole DR. Common genetic variants at the 11q13.3 renal cancer susceptibility locus influence binding of HIF to an enhancer of cyclin D1 expression. *Nat Genet*, 2012, 44(4): 420–425. [DOI]
- [48] Varela I, Tarpey P, Raine K, Huang DC, Ong CK, Stephens P, Davies H, Jones D, Lin ML, Teague J, Bignell G, Butler A, Cho J, Dalglish GL, Galappaththige D, Greenman C, Hardy C, Jia MM, Latimer C, Lau KW, Marshall J, McLaren S, Menzies A, Mudie L, Stebbings L, Largaespada DA, Wessels LFA, Richard S, Kahnoski RJ, Anema J, A. Tuveson D, Perez-Mancera PA, Mustonen V, Fischer A, Adams DJ, Rust A, Chan-on W, Subimerb C, Dykema K, Furge K, Campbell PJ, Teh BT, Stratton MR, Futreal PA. Exome sequencing identifies frequent mutation of the SWI/SNF complex gene pbrml in renal carcinoma. *Nature*, 2011, 469(7331): 539–542. [DOI]
- [49] Dalglish GL, Furge K, Greenman C, Chen LN, Bignell G, Butler A, Davies H, Edkins S, Hardy C, Latimer C, Teague J, Andrews J, Barthorpe S, Beare D, Buck G, Campbell PJ, Forbes S, Jia MM, Jones D, Knott H, Kok CY, Lau KW, Leroy C, Lin ML, McBride DJ, Maddison M, Maguire S, McLay K, Menzies A, Mironenko T, Mulderrig L, Mudie L, O'Meara S, Pleasance E, Rajasingham A, Shepherd R, Smith R, Stebbings L, Stephens P, Tang G, Tarpey PS, Turrell K, Dykema KJ, Khoo SK, Petillo D, Wondergem B, Anema J, Kahnoski RJ, Teh BT, Stratton MR, Futreal PA. Systematic sequencing of renal carcinoma reveals inactivation of histone modifying genes. *Nature*, 2010, 463(7279): 360–363. [DOI]
- [50] Peña-Llopis S, Vega-Rubín-de-Celis S, Liao A, Leng N, Pavía-Jiménez A, Wang SS, Yamasaki T, Zhrebker L, Sivanand S, Spence P, Kinch L, Hambuch T, Jain S, Lotan Y, Margulis V, Sagalowsky AI, Summerour PB, Kabbani W, Wong SW, Grishin N, Laurent M, Xie XJ, Haudenschild CD, Ross MT, Bentley DR, Kapur P, Brugarolas J. Bap1 loss defines a new class of renal cell carcinoma. *Nat Genet*, 2012, 44(7): 751–759. [DOI]
- [51] Van Haaften G, Dalglish GL, Davies H, Chen LN, Bignell G, Greenman C, Edkins S, Hardy C, O'Meara S, Teague J, Butler A, Hinton J, Latimer C, Andrews J, Barthorpe S, Beare D, Buck G, Campbell PJ, Cole J, Forbes S, Jia MM, Jones D, Kok CY, Leroy C, Lin ML, McBride DJ, Maddison M, Maquire S, McLay K, Menzies A, Mironenko T, Mulderrig L, Mudie L, Pleasance E, Shepherd R, Smith R, Stebbings L, Stephens P, Tang G, Tarpey PS, Turner R, Turrell K, Varian J, West S, Widaa S, Wray P, Collins VP, Ichimura K, Law S, Wong J, Yuen ST, Leung SY, Tonon G, DePinho RA, Tai YT, Anderson KC, Kahnoski RJ, Massie A, Khoo SK, Teh BT, Stratton MR, Futreal PA. Somatic mutations of the histone H3K27 demethylase gene UTX in human cancer. *Nat Genet*, 2009, 41(5): 521–523. [DOI]
- [52] Gerlinger M, Rowan AJ, Horswell S, Larkin J, Endesfelder D, Gronroos E, Martinez P, Matthews N, Stewart A, Tarpey P, Varela I, Phillimore B, Begum S, McDonald NQ, Butler A, Jones D, Raine K, Latimer C, Santos CR, Nohadani M, Eklund AC, Spencer-Dene B, Clark G, Pickering L, Stamp G, Gore M, Szallasi Z, Downward J, Futreal PA, Swanton C. Intratumor heterogeneity and branched evolution revealed by multiregion sequencing. *N Engl J Med*, 2012, 366(10): 883–892. [DOI]
- [53] Gerlinger M, Horswell S, Larkin J, Rowan AJ, Salm MP, Varela I, Fisher R, McGranahan N, Matthews N, Santos CR, Martinez P, Phillimore B, Begum S, Rabinowitz A, Spencer-Dene B, Gulati S, Bates PA, Stamp G, Pickering L, Gore M, Nicol DL, Hazell S, Futreal PA, Stewart A, Swanton C. Genomic architecture and evolution of clear cell renal cell carcinomas defined by multiregion sequencing. *Nat Genet*, 2014, 46(3): 225–233. [DOI]
- [54] Niu X, Zhang T, Liao L, Zhou L, Lindner DJ, Zhou M, Rini B, Yan Q, Yang H. The von Hippel-Lindau tumor suppressor protein regulates gene expression and tumor growth through histone demethylase JARID1C. *Oncogene*, 2012, 31(6): 776–786. [DOI]
- [55] Duns G, Van Den Berg E, Van Duivenbode I, Osinga J, Hollema H, Hofstra RMW, Kok K. Histone methyltransferase gene *SETD2* is a novel tumor suppressor gene in clear cell renal cell carcinoma. *Cancer Res*, 2010, 70(11): 4287–4291. [DOI]
- [56] Simon JM, Hacker KE, Singh D, Brannon AR, Parker JS,

- Weiser M, Ho TH, Kuan PF, Jonasch E, Furey TS, Prins JF, Lieb JD, Rathmell WK, Davis IJ. Variation in chromatin accessibility in human kidney cancer links H3K36 methyltransferase loss with widespread RNA processing defects. *Genome Res*, 2014, 24(2): 241–250. [DOI]
- [57] Gao WH, Li W, Xiao TF, Liu XS, Kaelin WG. Inactivation of the PBRM1 tumor suppressor gene amplifies the hif-response in VHL^{-/-} clear cell renal carcinoma. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2017, 114(5): 1027–1032. [DOI]
- [58] Espana-Agusti J, Warren A, Chew SK, Adams DJ, Matakidou A. Loss of PBRM1 rescues VHL dependent replication stress to promote renal carcinogenesis. *Nat Commun*, 2017, 8(1): 2026. [DOI]
- [59] Scanlon SE, Glazer PM. Multifaceted control of DNA repair pathways by the hypoxic tumor microenvironment. *DNA Repair*, 2015, 32: 180–189. [DOI]
- [60] Olcina MM, Foskolou IP, Anbalagan S, Senra JM, Pires IM, Jiang YY, Ryan AJ, Hammond EM. Replication stress and chromatin context link ATM activation to a role in DNA replication. *Mol Cell*, 2013, 52(5): 758–766. [DOI]
- [61] Wang SS, Gu YF, Wolff N, Stefanus K, Christie A, Dey A, Hammer RE, Xie XJ, Rakheja D, Pedrosa I, Carroll T, McKay RM, Kapur P, Brugarolas J. Bap1 is essential for kidney function and cooperates with Vhl in renal tumorigenesis. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2014, 111(46): 16538–16543. [DOI]
- [62] Zhong H, Chiles K, Feldser D, Laughner E, Hanrahan C, Georgescu MM, Simons JW, Semenza GL. Modulation of hypoxia-inducible factor 1 α expression by the epidermal growth factor/phosphatidylinositol 3-Kinase/PTEN/AKT/FRAP pathway in human prostate cancer cells: Implications for tumor angiogenesis and therapeutics. *Cancer Res*, 2000, 60(6): 1541–1545. [DOI]
- [63] Liu YV, Baek JH, Zhang HF, Diez R, Cole RN, Semenza GL. RACK1 competes with HSP90 for binding to HIF-1 α and is required for O₂-independent and HSP90 inhibitor-induced degradation of HIF-1 α . *Mol Cell*, 2007, 25(2): 207–217. [DOI]
- [64] Kroeze SGC, Vermaat JS, Van Brussel A, Van Melick HHE, Voest EE, Jonges TGN, Van Diest PJ, Hinrichs J, Bosch JLH, Jans JJM. Expression of nuclear FIH independently predicts overall survival of clear cell renal cell carcinoma patients. *Eur J Cancer*, 2010, 46(18): 3375–3382. [DOI]
- [65] Klatte T, Kroeger N, Rampersaud EN, Birkhäuser FD, Logan JE, Sonn G, Riss J, Rao PN, Kabbavar FF, Beldegrun AS, Pantuck AJ. Gain of chromosome 8Q is associated with metastases and poor survival of patients with clear cell renal cell carcinoma. *Cancer*, 2012, 118(23): 5777–5782. [DOI]
- [66] Gordan JD, Bertout JA, Hu CJ, Diehl JA, Simon MC. HIF-2 α promotes hypoxic cell proliferation by enhancing c-Myc transcriptional activity. *Cancer Cell*, 2007, 11(4): 335–347. [DOI]
- [67] Zhang HF, Gao P, Fukuda R, Kumar G, Krishnamachary B, Zeller KI, Dang CV, Semenza GL. HIF-1 inhibits mitochondrial biogenesis and cellular respiration in vhl-deficient renal cell carcinoma by repression of c-Myc activity. *Cancer Cell*, 2007, 11(5): 407–420. [DOI]
- [68] Koshiji M, To KKW, Hammer S, Kumamoto K, Harris AL, Modrich P, Huang LE. HIF-1 α induces genetic instability by transcriptionally downregulating MutS α expression. *Mol Cell*, 2005, 17(6): 793–803. [DOI]
- [69] O'Hagan RC, Schreiber-Agus N, Chen K, David G, Engelman JA, Schwab R, Alland L, Thomson C, Ronning DR, Sacchettini JC, Meltzer P, DePinho RA. Gene-target recognition among members of the Myc superfamily and implications for oncogenesis. *Nat Genet*, 2000, 24(2): 113–119. [DOI]
- [70] Kaidi A, Williams AC, Paraskeva C. Interaction between β -catenin and HIF-1 promotes cellular adaptation to hypoxia. *Nat Cell Biol*, 2007, 9(2): 210–217. [DOI]
- [71] Choi H, Chun YS, Kim TY, Park JW. HIF-2 α enhances β -catenin/TCF-driven transcription by interacting with β -catenin. *Cancer Res*, 2010, 70(24): 10101–10111. [DOI]
- [72] Chitalia VC, Foy RL, Bachschmid MM, Zeng LL, Panchenko MV, Zhou MI, Bharti A, Seldin DC, Lecker SH, Dominguez I, Cohen HT. Jade-1 inhibits Wnt signalling by ubiquitylating β -catenin and mediates Wnt pathway inhibition by pVHL. *Nat Cell Biol*, 2008, 10(10): 1208–1216. [DOI]
- [73] Moeller BJ, Dreher MR, Rabbani ZN, Schroeder T, Cao Y, Li CY, Dewhirst MW. Pleiotropic effects of HIF-1 blockade on tumor radiosensitivity. *Cancer Cell*, 2005, 8(2): 99–110. [DOI]
- [74] An WG, Kanekal M, Simon MC, Maltepe E, Blagosklonny MV, Neckers LM. Stabilization of wild-type p53 by hypoxia-inducible factor 1 α . *Nature*, 1998, 392(6674): 405–408. [DOI]
- [75] Sánchez-Puig N, Veprintsev DB, Fersht AR. Binding of natively unfolded HIF-1 α odd domain to p53. *Mol Cell*, 2005, 17(1): 11–21. [DOI]
- [76] Bertout JA, Majmundar AJ, Gordan JD, Lam JC, Ditsworth D, Keith B, Brown EJ, Nathanson KL, Simon MC. HIF2 α inhibition promotes p53 pathway activity, tumor cell death, and radiation responses. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2009, 106(34): 14391–14396. [DOI]
- [77] Ordóñez-Navadijo Á, Fuertes-Yebra E, Acosta-Iborra B,

- Balsa E, Elorza A, Aragonés J, Landazuri MO. Mutant versions of von Hippel-Lindau (VHL) can protect HIF1 α from SART1-mediated degradation in clear-cell renal cell carcinoma. *Oncogene*, 2016, 35(5): 587–594. [DOI]
- [78] Koh MY, Lemos R Jr, Liu XP, Powis G. The hypoxia-associated factor switches cells from HIF-1 α -to HIF-2 α -dependent signaling promoting stem cell characteristics, aggressive tumor growth and invasion. *Cancer Res*, 2011, 71(11): 4015–4027. [DOI]
- [79] Biswas S, Charlesworth PJS, Turner GDH, Leek R, Thamboo PT, Campo L, Turley H, Dildley P, Protheroe A, Cranston D, Gatter KC, Pezzella F, Harris AL. CD31 angiogenesis and combined expression of HIF-1 α and HIF-2 α are prognostic in primary clear-cell renal cell carcinoma (CC-RCC), but HIF α transcriptional products are not: Implications for antiangiogenic trials and HIF α biomarker studies in primary CC-RCC. *Carcinogenesis*, 2012, 33(9): 1717–1725. [DOI]
- [80] Klatte T, Seligson DB, Riggs SB, Leppert JT, Berkman MK, Kleid MD, Yu H, Kabbinavar FF, Pantuck AJ, Belldegrun AS. Hypoxia-inducible factor 1 α in clear cell renal cell carcinoma. *Clin Cancer Res*, 2007, 13(24): 7388–7393. [DOI]
- [81] Lidgren A, Hedberg Y, Grankvist K, Rasmuson T, Vasko J, Ljungberg B. The expression of hypoxia-inducible factor 1 α is a favorable independent prognostic factor in renal cell carcinoma. *Clin Cancer Res*, 2005, 11(3): 1129–1135. [DOI]
- [82] Sternberg CN, Davis ID, Mardiak J, Szczylik C, Lee E, Wagstaff J, Barrios CH, Salman P, Gladkov OA, Kavina A, Zarbá JJ, Chen M, McCann L, Pandite L, Roychowdhury DF, Hawkins RE. Pazopanib in locally advanced or metastatic renal cell carcinoma: Results of a randomized phase III trial. *J Clin Oncol*, 2010, 28(6): 1061–1068. [DOI]
- [83] Choueiri TK, Fay AP, Gagnon R, Lin Y, Bahamon B, Brown V, Rosenberg JE, Hutson TE, Baker-Neblett KL, Carpenter C, Liu Y, Pandite L, Signoretti S. The role of aberrant VHL/HIF pathway elements in predicting clinical outcome to pazopanib therapy in patients with metastatic clear-cell renal cell carcinoma. *Clin Cancer Res*, 2013, 19(18): 5218–5226. [DOI]
- [84] Choueiri TK, Vaziri SA, Jaeger E, Elson P, Wood L, Bhalla IP, Small EJ, Weinberg V, Sein N, Simko J, Golshayan AR, Sercia L, Zhou M, Waldman FM, Rini BI, Bukowski RM, Ganapathi R. Von Hippel-Lindau gene status and response to vascular endothelial growth factor targeted therapy for metastatic clear cell renal cell carcinoma. *J Urol*, 2008, 180(3): 865–866. [DOI]
- [85] Motzer RJ, Haas NB, Donskov F, Gross-Goupil M, Varlamov S, Kopyltsov E, Lee JL, Melichar B, Rini BI, Choueiri TK, Zemanova M, Wood LA, Reaume MN, Stenzl A, Chowdhury S, Lim HY, McDermott R, Michael A, Bao W, Carrasco-Alfonso MJ, Aimone P, Voi M, Doehn C, Russo P, Sternberg CN, PROTECT Investigators. Randomized phase III trial of adjuvant pazopanib versus placebo after nephrectomy in patients with localized or locally advanced renal cell carcinoma. *J Clin Oncol*, 2017, 35(35): 3916–3923. [DOI]
- [86] Vanharanta S, Shu WP, Brenet F, Hakimi AA, Heguy A, Viale A, Reuter VE, Hsieh JJD, Scandura JM, Massagué J. Epigenetic expansion of VHL-HIF signal output drives multiorgan metastasis in renal cancer. *Nat Med*, 2013, 19(1): 50–56. [DOI]
- [87] Chan DA, Sutphin PD, Nguyen P, Turcotte S, Lai EW, Banh A, Reynolds GE, Chi JT, Wu J, Solow-Cordero DE, Bonnet M, Flanagan JU, Bouley DM, Graves EE, Denny WA, Hay MP, Giaccia AJ. Targeting GLUT1 and the warburg effect in renal cell carcinoma by chemical synthetic lethality. *Sci Transl Med*, 2011, 3(94): 94ra70. [DOI]
- [88] Rankin EB, Fuh KC, Castellini L, Viswanathan K, Finger EC, Diep AN, LaGory EL, Kariolis MS, Chan A, Lindgren D, Axelson H, Miao YR, Krieg AJ, Giaccia AJ. Direct regulation of GAS6/AXL signaling by HIF promotes renal metastasis through SRC and MET. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2014, 111(37): 13373–13378. [DOI]
- [89] Chen WF, Hill H, Christie A, Kim MS, Holloman E, Pavia-Jimenez A, Homayoun F, Ma YQ, Patel N, Yell P, Hao GY, Yousuf Q, Joyce A, Pedrosa I, Geiger H, Zhang H, Chang J, Gardner KH, Bruick RK, Reeves C, Hwang TH, Courtney K, Frenkel E, Sun XK, Zojwalla N, Wong T, Rizzi JP, Wallace EM, Josey JA, Xie Y, Xie XJ, Kapur P, McKay RM, Brugarolas J. Targeting renal cell carcinoma with a HIF-2 antagonist. *Nature*, 2016, 539(7627): 112–117. [DOI]
- [90] Cho H, Du XL, Rizzi JP, Liberzon E, Chakraborty AA, Gao WH, Carvo I, Signoretti S, Bruick RK, Josey JA, Wallace EM, Kaelin WG. On-target efficacy of a HIF-2 α antagonist in preclinical kidney cancer models. *Nature*, 2016, 539(7627): 107–111. [DOI]
- [91] Courtney KD, Infante JR, Lam ET, Figlin RA, Rini BI, Brugarolas J, Zojwalla NJ, Lowe AM, Wang KS, Wallace EM, Josey JA, Choueiri TK. Phase I dose-escalation trial of PT2385, a first-in-class hypoxia-inducible factor-2 α antagonist in patients with previously treated advanced clear cell renal cell carcinoma. *J Clin Oncol*, 2018, 36(9): 867–874. [DOI]