



低氧诱导因子2 α 抑制剂的发现及其在肾癌治疗中的应用潜力*

郭振清¹⁾ 李红强¹⁾ 隋爱霞²⁾ 郭晓强^{3)**}

(¹⁾ 河北科技师范学院农学与生物科技学院, 秦皇岛 066004; (²⁾ 河北省人民医院肿瘤科, 石家庄 050051;

(³⁾ 河北体育学院运动人体科学系, 石家庄 050041)

摘要 氧对生物成长和发育至关重要, 但低氧适应在许多生理和病理过程也发挥关键作用。常氧时, 低氧诱导因子2 α (HIF-2 α) 可被肿瘤抑制蛋白VHL泛素化修饰, 进一步被蛋白酶体迅速降解; 低氧时, HIF-2 α 不再降解, 从而进入细胞核与HIF- β 亚基形成异二聚体并激活靶基因表达。肾癌通常存在高频VHL基因失活而导致HIF-2 α 积累, 最终促使肾癌发生发展。因此, HIF-2 α 被看作肾癌治疗的新靶点。尽管HIF-2 α 被视为“不可成药”分子, 但仍成功开发变构抑制剂PT2385和PT2977, 它们通过特异性拮抗HIF-2 α /HIF-1 β 异二聚体形成发挥药理作用。临床前和临床试验表明, 与标准药物相比, HIF-2 α 抑制剂在肾癌治疗方面效果更理想、耐受性更强。这些进展意味着HIF-2 α 抑制剂有望在肾癌临床治疗方面发挥重要作用。

关键词 低氧诱导因子2 α , 抑制剂, 变构调节, 肾癌

中图分类号 Q71, Q279

DOI: 10.16476/j.pibb.2021.0095

氧是地球上最重要的元素之一, 在地壳含量最高(48.6%); 氧对生命而言更是至关重要, 人体元素组成中65%为氧, 高等生物主要依赖营养物质的氧化供能。生命在演变过程中形成一个完善的氧感知和低氧适应系统, 以适应不同环境下氧含量变化^[1]。由于在阐明这个系统过程中的奠基性贡献, 三位科学家分享了2019年诺贝尔生理学或医学奖^[2-3]。

1 低氧信号通路

低氧信号通路核心分子为低氧诱导因子(hypoxia-inducible factor, HIF), 它由两种亚基组成, 分别为HIF- α 亚基和HIF- β 亚基, 其中HIF- α 亚基蛋白稳定性受氧浓度的严格调控, 而HIF- β 亚基则与氧含量无关。氧含量正常时, HIF- α 亚基被脯氨酰羟化酶(prolyl hydroxylase domain, PHD)催化发生羟基化, 进而被包含VHL(von Hippel-Lindau)因子在内的泛素连接酶E3实现泛素化修饰, 最终被蛋白酶体降解; 低氧状况下, PHD酶活性降低, HIF- α 无法被羟基化和泛素化修饰, 从

而在细胞内聚集, 随后进入细胞核与HIF- β 形成异二聚体, 通过与低氧应答元件(hypoxia-responsive element, HRE)结合而激活靶基因表达^[4-5], 以增加低氧胁迫下细胞适应性(图1)。

低氧信号通路的阐明拓展和深化了对许多生理和病理过程的理解和认识。适当低氧适应对氧化损伤和炎症侵害如冠状动脉疾病、外周动脉疾病、伤口愈合、器官移植排斥以及结肠炎等均具有保护作用; 低氧信号异常则往往造成疾病发生, 如过弱可造成贫血等疾病, 而过强则是癌细胞典型特征之一, 有利于癌组织血管生成和营养物质摄取等。

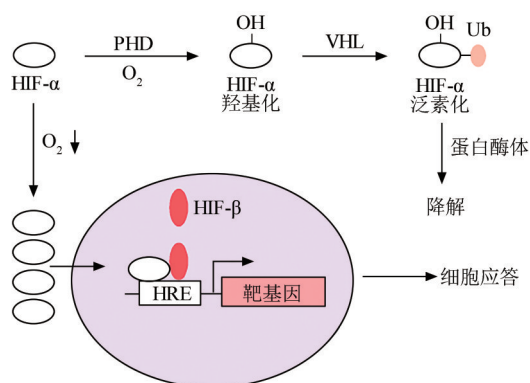
低氧信号通路关键分子还成为疾病治疗重要靶点, 如PHD抑制剂罗沙司他(Roxadustat)已被批准应用于肾性贫血临床治疗。然而, 靶向HIF激活途径的药物却尚未投入使用。

* 河北省高等学校科学研究青年基金(QN2016136)和河北省人才培养工程项目基金(A201901055)资助。

** 通讯联系人。

Tel: 15820419467, E-mail: xiaoqiangguo123@163.com

收稿日期: 2021-04-15, 接受日期: 2021-08-09

Fig. 1 Oxygen sensing pathway^[1]图1 氧感知通路^[1]

2 HIF-2 α 与肾癌发生

人类共存在3种HIF- α 亚基,分别为HIF-1 α 、HIF-2 α 和HIF-3 α 。HIF-1 α 最早于1995年由诺贝尔奖获得者西门扎(Gregg Semenza)首先发现^[1]; HIF-2 α 于1997年由4个研究小组藤井佳昭(Yoshiaki Fujii-Kuriyama)、里绍(Werner Risau)、布拉德菲尔德(Christopher Bradfield)和麦克奈特(Steven McKnight)几乎同时独立鉴定^[6-9];而HIF-3 α 则于1998年由布拉德菲尔德小组完成克隆^[10]。相对于研究较少的HIF-3 α ,HIF-1 α 和HIF-2 α 的生物学作用得到较全面阐述。HIF-1 α 全身所有细胞均可表达,而HIF-2 α 只在特定细胞表达;二者调节的靶基因具有一定重叠性,但并不完全相同,尤其在肾癌发生过程中发挥截然相反的作用。

肾癌,又名肾细胞癌(renal cell carcinoma, RCC)是一种常见泌尿系统肿瘤,约占成人恶性肿瘤的2%~3%,全球每年约30万新增病例和10万死亡病例^[11]。肾癌典型特征之一是存在高频VHL失活性突变,尤其是亚型肾透明细胞癌(clear cell RCC, ccRCC)有高达90%以上为此类型,VHL蛋白失活破坏HIF- α 正常降解途径,造成常氧状态下HIF- α 出现大量聚集^[12],被认为是肾癌发生主要原因。最初认为HIF-1 α 和HIF-2 α 均促进了肾癌发生,然而后续研究发现并非如此。HIF-2 α 更多发挥致癌作用,本课题组研究也表明HIF-2 α 可通过影响组蛋白修饰而参与肾癌发生^[13];相反HIF-1 α 一定程度上还具有抑癌活性^[14-15]。已有研究表明,降低HIF-2 α 含量可明显抑制肾癌发展,因此靶向HIF-2 α 被看作肾癌治疗的重要策略^[16]。

3 HIF-2 α 抑制剂研发

按照传统抑制剂开发观点,作为转录因子一类

的HIF-2 α 属于“不可成药(undruggable)”分子。一方面转录因子单独存在缺乏典型的活性位点,不适宜小分子化合物结合,另一方面它们定位于细胞内,大分子单克隆抗体进入细胞发挥活性也存在巨大障碍^[17],这意味着HIF-2 α 抑制剂开发需另辟蹊径,研究人员从HIF-2 α 与HIF-1 β 形成复合物发挥活性这一特性入手。

HIF-2 α 结构可分4部分:N端为碱性螺旋-环-螺旋(basic helix-loop-helix, bHLH)结构,主要参与和DNA上靶序列HRE结合;中间为两个串联的PAS(PER-ARNT-SIM)结构域(PAS-A和PAS-B)^[18],主要参与异二聚体(HIF-2 α 与HIF-1 β 复合物)形成;随后为氧依赖降解结构域(oxygen-dependent degradation domain, ODD),主要为PHD识别和修饰位点;C端为反式激活结构域(transactivation domain, TAD),主要作用为招募转录共调节蛋白。HIF-1 β 结构与HIF-2 α 类似,但只有3部分,缺少ODD,因此蛋白质稳定性不依赖氧含量(图2a)。

2009年,美国德克萨斯大学西南医学中心布鲁克(Richard Bruick)小组发现HIF-2 α 与HIF-1 β 形成复合物时PAS-B结构域形成一个较大的疏水性袋状结构,该结构可被小分子化合物占据而发挥变构调节作用,通过改变异二聚体空间结构而影响靶基因表达^[19]。HIF-2 α 这一结构特征为研发人员带来巨大灵感,PAS-B袋状结构可看作HIF-2 α 特异性抑制剂发挥活性的最佳结合位点。2010年,佩洛顿治疗公司(Peloton Therapeutics Inc.)在德克萨斯大学生物中心校园成立,开启HIF-2 α 抑制剂研发历程。

基于HIF-2 α /HIF-1 β 异二聚体形成过程中PAS-B结构域特征,研究人员采用高通量筛选技术(high-throughput screening, HTS)对涵盖20多万种化合物的小分子文库进行全面初筛,获得上百种潜在抑制剂;进一步根据HIF-2 α 的PAS-B与这些抑制剂结合的晶体结构而缩小候选对象范围;最后考虑这些抑制剂的结合能力、选择特异性以及口服吸收效果等因素而锁定两种化合物PT2385和PT2977作为抑制剂(图2b),有时亦称拮抗剂(antagonist)。PT2385作为体外实验用抑制剂,而PT2977作为临床药物使用,因为相较于前者,后者药代动力学和体内生物利用率更为理想^[20-22]。

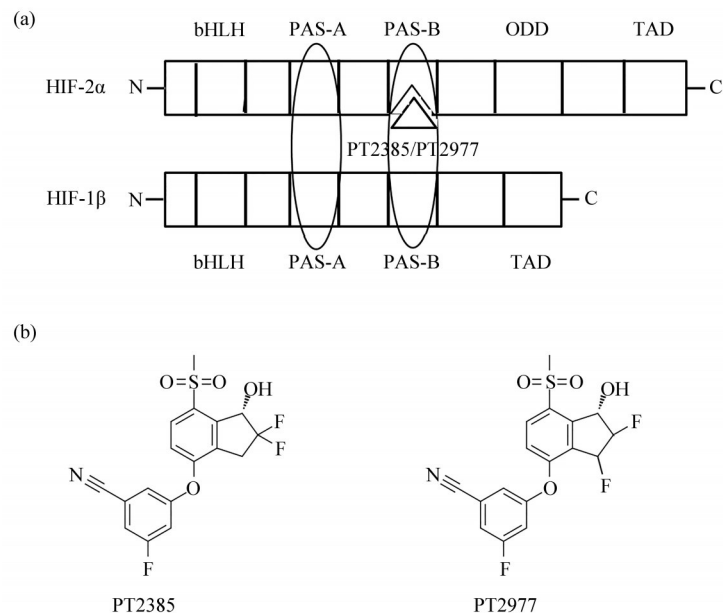


Fig. 2 The structure and inhibitors of HIF-2 α /HIF-1 β ^[22]

图2 HIF-2 α /HIF-1 β 复合物及其抑制剂结构 ^[22]

(a) HIF-2 α /HIF-1 β 复合物结构; (b) HIF-2 α 抑制剂结构。

体外实验表明, PT2385和PT2977可高效(K_D 在纳摩尔级)抑制HIF-2 α /HIF- β 异二聚体形成及与DNA结合活性, 最终实现抑制HIF-2 α 靶基因表达的目的(图3)。两种抑制剂的作用效果还具有较强选择性, 尽管HIF-1 α 和HIF-2 α 蛋白序列具有高

度同源性, 但二者在PAS-B结构方面存在一定差别, 因此PT2385/PT2977只抑制HIF-2 α 与HIF-1 β 结合并降低HIF-2 α 靶基因表达, 而不影响HIF-1 α 生理功能^[20, 22]。

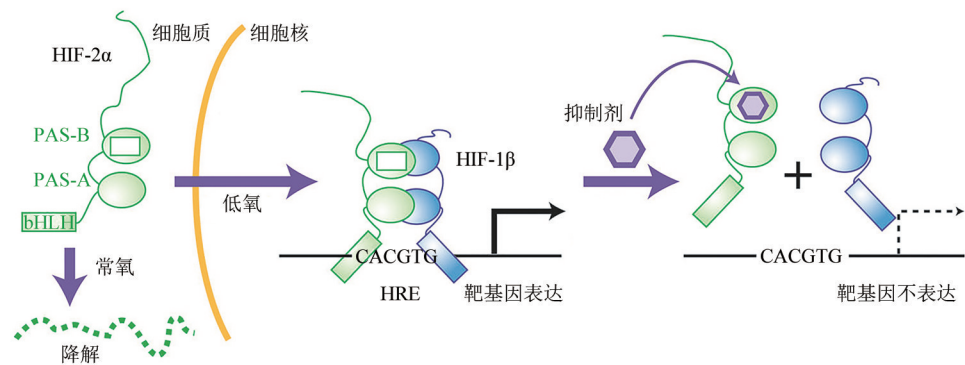


Fig. 3 Mechanism of HIF-2 α inhibitor

图3 HIF-2 α 抑制剂作用机制

(<https://www.cancer.gov/news-events/cancer-currents-blog/2016/hif2-kidney-cancer>)

4 PT2385或PT2977治疗肾癌的临床前研究

在两种 *VHL* 突变的肾癌细胞 786-O 和 A498 来源的异种移植小鼠肿瘤模型中, PT2385 可明显抑制 HIF-2 α 靶基因如 *CCND1*、*VEGFA* 和 *GLUT1* 等

表达, 但不影响 HIF-1 α 靶基因表达, 说明 PT2385 体内作用的特异性; 进一步通过口服给药方式观察到, PT2385 可剂量依赖性引起异种移植小鼠的肿瘤快速消退(相比而言, 786-O 比 A498 更敏感), 其效果达到甚至超过经典的酪氨酸激酶抑制剂

(tyrosine kinase inhibitor, TKI) 舒尼替尼 (Sunitinib); 随后采用一位 *VHL* 突变且经舒尼替尼等治疗后出现进展的肾癌患者来源异种移植 (patient-derived xenograft, PDX) 小鼠模型进行测试, 经过4周 PT2385 治疗可完全抑制肿瘤生长; 在副作用方面, PT2385 没有引起可检测到的血液动力学或心电图异常, 明显优于舒尼替尼^[23]。

对 PT2977 的作用研究发现, 其与 PT2385 类似, 在体内特异性抑制 HIF-2 α 靶基因表达, 但对 HIF-1 α 靶基因没有作用; 采用 786-O 和 A498 来源的异种移植小鼠肿瘤模型也证实 PT2977 的体内肿瘤抑制活性^[24]。另一项研究对来自 22 位 *VHL* 突变的肾癌患者建立的小鼠体外移植模型进行 PT2977 活性测试, 规定肿瘤抑制 80% 以上为敏感, 40%~80% 之间为中度敏感, 而低于 40% 为抵抗。结果表明, 45% 肿瘤患者 (10/22) 对 PT2977 敏感, 23% 患者 (5/22) 对 PT2977 中度敏感, 敏感和中度敏感率之和达到 68%; 疗效比较试验表明, PT2977 抑制效果较舒尼替尼更为显著; 在药物耐受性方面, PT2977 也更为理想, 使用 PT2977 治疗的小鼠体重出现增加, 而使用舒尼替尼的小鼠体重明显减轻^[25]。这些喜人结果说明 HIF-2 α 是肾癌治疗的理想靶点之一^[26], 从而为进一步开展临床实验奠定基础^[27]。

5 HIF-2 α 抑制剂治疗肾癌的临床实验

2014 年, 佩洛顿治疗公司启动 HIF-2 α 抑制剂针对晚期或转移性肾癌患者的临床试验。I 期临床实验对已接受至少一种靶向治疗的晚期肾透明细胞癌患者进行 PT2385 剂量递增测试^[28], 以从中鉴定出药物利用度和安全性最适浓度, 为进一步开展临床实验提供推荐剂量。疗效方面, 经过 PT2385 治疗, 完全缓解为 2%, 部分缓解为 12%, 疾病稳定为 52%, 因此疾病控制率达到 66%。临床药物不良事件 (adverse event, AE) 较为轻微, 大部分为 1 级或 2 级。最常见不良反应为贫血, 占比 45%, 这种不良反应被称为靶向毒性, 主要源于 HIF-2 α 靶基因之一为促红细胞生成素 (erythropoietin, EPO)^[29], 因此抑制 HIF-2 α 不可避免造成红细胞生成受阻和贫血发生。其他常见不良反应为外周水肿 (39%) 和疲劳 (37%)。另一项使用 PT2977 进行的 I 期临床实验也获得类似结论, 55 例晚期肾癌经 PT2977 治疗后, 部分缓解 24%, 疾病稳定 54%, 疾病控制率达到 78%^[30], 不良反应均为轻度, 最

常见也是贫血 (35%)。

2019 年 5 月, 佩洛顿治疗公司被默克公司收购, PT2977 更名为 MK6482, 商品名 Belzutifan。针对 MK6482 已完成 II 期临床, 对 55 例晚期肾癌患者进行的一项研究表明, 客观缓解率 (包括完全缓解率和部分缓解率) 为 24%, 疾病控制率达到 80%, 而中位无进展生存期 (progress free survival, PFS) 为 11 个月^[31]; 另一项针对 61 例 *VHL* 突变肾癌患者的临床实验发现, 27.9% 的客观缓解率, 86.9% 出现病灶缩小, 中位无进展生存期尚未达到, 而 12 个月的无进展生存期比例高达 98.3%^[32]。两项实验观察到不良反应均较为轻微, 主要为 1 级或 2 级, 最常见不良反应依次为贫血、疲劳和头晕。基于这些结果, MK6482 在 2020 年 6 月被看作 *VHL* 突变肾癌治疗的突破性药物, 2021 年 3 月被美国 FDA 受理新药申请并授予优先审查, 有望在下半年获批应用于 *VHL* 突变晚期肾癌的治疗。

6 HIF-2 α 抑制剂耐药

临床前和临床实验过程中, 除观察到 HIF-2 α 抑制剂理想的治疗效果外, 还观察到耐药性问题。耐药性既包括原发性耐药 (起始治疗不敏感) 和继发性耐药 (应用一段时间后耐药), 因此针对耐药性问题的研究一方面有益于临床指导用药, 另一方面也对开发新型 HIF-2 α 抑制剂或联合用药具有重要裨益。

体外软琼脂生长实验和异种移植小鼠肿瘤模型测试发现, PT2977 对一些 *VHL* 突变肾癌细胞系 (如 786-O 和 A498) 敏感, 但对另一些 *VHL* 突变肾癌细胞系 (如 769-P 和 UMRC-2 等) 则缺乏作用, 进一步分析发现部分原发性耐药肾癌细胞存在 p53 基因突变, 而获得性耐药的 786-O 也出现 p53 突变^[24], 提示 p53 信号通路异常可能是 HIF-2 α 抑制剂耐药原因之一。

判定 HIF-2 α 抑制剂敏感性另一策略是生物标志物^[25]。首当其冲标志物是 HIF-2 α 蛋白含量, 检测发现 PT2977 敏感性肾癌 83% 表达 HIF-2 α , 而耐药性肿瘤只有 23%; 其次是基因表达模式差异, 如敏感性肾癌通常高表达转录因子 GLI1; 第三是影像学证据, 敏感性肾癌通常血管更为丰富。另一项研究发现, 丝氨酸生物合成途径关键调节因子磷酸甘油酸脱氢酶 (phosphoglycerate dehydrogenase, PHGDH) 上调可能也是 HIF-2 α 抑制剂抗性产生原因^[33]。

耐药性最根本和常见原因是 HIF-2α 的关键氨基酸突变。应用 HIF-2α 抑制剂治疗一段时间后出现耐药性的肾癌肿瘤组织发现一个保守型突变 (G323E) ^[25, 34], 突变氨基酸恰好位于 PAS-B 形成口袋结构的关键位置, 因此突变后可破坏 HIF-2α 抑制剂结合, 从而无法发挥药物活性; 另一项研究从耐药性肾癌组织鉴定出 HIF-2α 的 PAS-B 结构域另一关键位置点突变 (S305M) ^[35], 而人为制造 HIF-2α 的点突变 (S304M) 也损伤 PT2977 的抑制作用 ^[24]。

鉴于 HIF-2α 抑制剂耐药性的产生是一个复杂过程, 因此尚需进一步研究。

7 意义和展望

肾癌作为一种放化疗不敏感的恶性肿瘤, 靶向治疗和免疫治疗成为手术后辅助治疗或无法手术的首选治疗策略 ^[36-37]。目前肾癌临床治疗常用药物有以下几类: 贝伐单抗、酪氨酸激酶抑制剂、哺乳动物雷帕霉素靶蛋白 (mammalian targets of rapamycin, mTOR) 抑制剂和 PD-1/PD-L1 抑制剂等 (表 1) ^[38-39]。尽管已有多种药物, 但实际应用仍面临诸多挑战, 一方面很少患者能对这些药物完全反应, 另一方面治疗一段时间后都会出现耐药性而使肿瘤出现进展, 而对于晚期或转移性肾癌患者, 5 年生存率仅为 8%。显而易见, 需要研发更多、更好的肾癌治疗药物 ^[40]。

Table 1 Commonly used clinical drugs for RCC treatment
表1 肾癌临床治疗常用药物

类别	药物	靶点	种类
贝伐单抗 TKI	阿瓦斯汀 (Avastin)	VEGF	单克隆抗体
	舒尼替尼 (Sunitinib)	VEGFR、PDGFR、Raf 等	小分子抑制剂
	索拉菲尼 (sorafenib)		
	帕唑帕尼 (Pazopanib)		
	卡波替尼 (Cabozantinib)		
	伦伐替尼 (Lenvatinib)		
mTOR抑制剂	替沃扎尼 (Tivozanib)		
	艾瑞塞尔 (Torisel)	mTOR	小分子抑制剂
	阿飞尼妥 (Afinitor)		
PD-1/PD-L1抑制剂	派姆单抗 (Pembrolizumab)	PD-1	单克隆抗体
	尼武单抗 (Nivolumab)		
	奥维单抗 (Avelumab)	PD-L1	
HIF-2α抑制剂	PT2977/ MK6482	HIF-2α	小分子抑制剂 (临床阶段)

HIF-2α 抑制剂研发成功无疑既具有重要理论意义, 又具有实际应用价值 ^[41-42]。理论上这一进展极大改观传统观念转录因子不可作为药物研发靶点的现实, 为其他类似蛋白药物设计提供重要思路; 应用方面, HIF-2α 抑制剂有望为肾癌治疗提供全新选择, 提升肾癌患者生存时间和生存质量。目前, 一方面需要积极开展 HIF-2α 抑制剂临床实验, 以期获得最佳治疗方案, 另一方面需要探索 HIF-2α 抑制剂耐药机制, 为提升临床治疗效果提供重要支持。

参 考 文 献

[1] 郭晓强. 氧感知和低氧信号:跨越半个世纪的发现历程. 科学, 2018, 70(4):52-55

Guo X. Science (Shanghai), 2018, 70(4):52-55

[2] Moslehi J, Rathmell W K. The 2019 Nobel prize honors fundamental discoveries in hypoxia response. J Clin Invest, 2020, 130(1):4-6

[3] 邹欣凯,张惠媛,胡洪波. 感知氧气,感知生命——评 2019 年诺贝尔医学或生理学奖. 中国生物化学与分子生物学报, 2020, 36(3): 241-243

Zou X K, Zhang H Y, Hu H B. Chin J Biochem Mol Biol, 2020, 36(3): 241-243

[4] Lee P, Chandel N S, Simon M C. Cellular adaptation to hypoxia through hypoxia inducible factors and beyond. Nat Rev Mol Cell Biol, 2020, 21(5):268-283

[5] Semenza G L. Hypoxia-inducible factors in physiology and medicine. Cell, 2012, 148(3):399-408

[6] Ema M, Taya S, Yokotani N, et al. A novel bHLH-PAS factor with close sequence similarity to hypoxia-inducible factor 1α regulates the VEGF expression and is potentially involved in lung and vascular development. Proc Natl Acad Sci USA, 1997, 94(9):

- 4273-4278
- [7] Flamme I, Fröhlich T, von Reutern M, *et al.* HRF, a putative basic helix-loop-helix-PAS-domain transcription factor is closely related to hypoxia-inducible factor-1 alpha and developmentally expressed in blood vessels. *Mech Dev*, 1997, **63**(1):51-60
 - [8] Hogenesch J B, Chan W K, Jackiw V H, *et al.* Characterization of a subset of the basic-helix-loop-helix-PAS superfamily that interacts with components of the dioxin signaling pathway. *J Biol Chem*, 1997, **272**(13):8581-8593
 - [9] Tian H, McKnight S L, Russell D W. Endothelial PAS domain protein 1 (EPAS1), a transcription factor selectively expressed in endothelial cells. *Genes Dev*, 1997, **11**(1):72-82
 - [10] Gu Y Z, Moran S M, Hogenesch J B, *et al.* Molecular characterization and chromosomal localization of a third alpha-class hypoxia inducible factor subunit, HIF3alpha. *Gene Expr*, 1998, **7**(3):205-213
 - [11] Ricketts C J, Crooks D R, Linehan W M. Targeting HIF2alpha in clear-cell renal cell carcinoma. *Cancer Cell*, 2016, **30**(4): 515-517
 - [12] Hoefflin R, Harlander S, Schäfer S, *et al.* HIF-1alpha and HIF-2alpha differently regulate tumour development and inflammation of clear cell renal cell carcinoma in mice. *Nat Commun*, 2020, **11**(1):4111
 - [13] Guo X, Tian Z, Wang X, *et al.* Regulation of histone demethylase KDM6B by hypoxia-inducible factor-2alpha. *Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai)*, 2015, **47**(2):106-113
 - [14] Keith B, Johnson RS, Simon MC. HIF1alpha and HIF2alpha: sibling rivalry in hypoxic tumour growth and progression. *Nat Rev Cancer*, 2011, **12**(1):9-22
 - [15] Schödel J, Grampp S, Maher E R, *et al.* Hypoxia, hypoxia-inducible transcription factors, and renal cancer. *Eur Urol*, 2016, **69**(4):646-657
 - [16] Murugesan T, Rajajeyabalachandran G, Kumar S, *et al.* Targeting HIF-2alpha as therapy for advanced cancers. *Drug Discov Today*, 2018, **23**(7):1444-1451
 - [17] Koehler A N. A complex task? Direct modulation of transcription factors with small molecules. *Curr Opin Chem Biol*, 2010, **14**(3): 331 - 340
 - [18] Erbel P J, Card P B, Karakuzu O, *et al.* Structural basis for PAS domain heterodimerization in the basic helix-loop-helix-PAS transcription factor hypoxia-inducible factor. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2003, **100**(26):15504-15509
 - [19] Scheuermann T H, Tomchick D R, Machius M, *et al.* Artificial ligand binding within the HIF2alpha PAS-B domain of the HIF2 transcription factor. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2009, **106**(2): 450-455
 - [20] Scheuermann T H, Li Q, Ma H W, *et al.* Allosteric inhibition of hypoxia inducible factor-2 with small molecules. *Nat Chem Biol*, 2013, **9**(4):271-276
 - [21] Rogers J L, Bayeh L, Scheuermann T H, *et al.* Development of inhibitors of the PAS-B domain of the HIF-2alpha transcription factor. *J Med Chem*, 2013, **56**(4):1739-1747
 - [22] Scheuermann T H, Stroud D, Sleet C E, *et al.* Isoform-selective and stereoselective inhibition of hypoxia inducible factor-2. *J Med Chem*, 2015, **58**(15):5930-5941
 - [23] Wallace E M, Rizzi J P, Han G, *et al.* A small-molecule antagonist of HIF2alpha is efficacious in preclinical models of renal cell carcinoma. *Cancer Res*, 2016, **76**(18):5491-5500
 - [24] Cho H, Du X, Rizzi J P, *et al.* On-target efficacy of a HIF-2alpha antagonist in preclinical kidney cancer models. *Nature*, 2016, **539**(7627):107-111
 - [25] Chen W, Hill H, Christie A, *et al.* Targeting renal cell carcinoma with a HIF-2 antagonist. *Nature*, 2016, **539**(7627):112-117
 - [26] Thoma C. Kidney cancer: HIF-2alpha - a new target in RCC. *Nat Rev Urol*, 2016, **13**(11):627
 - [27] Martínez-Sáez O, Gajate Borau P, Alonso-Gordoa T, *et al.* Targeting HIF-2 alpha in clear cell renal cell carcinoma: a promising therapeutic strategy. *Crit Rev Oncol Hematol*, 2017, **111**:117-123
 - [28] Courtney K D, Infante J R, Lam ET, *et al.* Phase I dose-escalation trial of PT2385, a first-in-class hypoxia-inducible factor-2alpha antagonist in patients with previously treated advanced clear cell renal cell carcinoma. *J Clin Oncol*, 2018, **36**(9):867-874
 - [29] Tian Z, Yao L, Shen Y, *et al.* Histone H3K9 demethylase JMJD1A is a co-activator of erythropoietin expression under hypoxia. *Int J Biochem Cell Biol*, 2019, **109**:33-39
 - [30] Papadopoulos K P, Jonasch E, Zojwalla N J, *et al.* A first-in-human phase I dose-escalation trial of the oral HIF-2a inhibitor PT2977 in patients with advanced solid tumors. *J Clin Oncol*, 2018, **36**(Suppl 15):2508
 - [31] Choueiri T K, Plimack E R, Bauer T M, *et al.* Phase I/II study of the oral HIF-2alpha inhibitor MK-6482 in patients with advanced clear cell renal cell carcinoma (RCC). *J Clin Oncol*, 2020, **38**(Suppl 6):611
 - [32] Jonasch E, Donskov F, Iliopoulos O, *et al.* Phase II study of the oral HIF-2alpha inhibitor MK-6482 for von Hippel-Lindau disease-associated renal cell carcinoma. *J Clin Oncol*, 2020, **38**(Suppl 15): 5003
 - [33] Yoshino H, Nohata N, Miyamoto K, *et al.* PHGDH as a key enzyme for serine biosynthesis in HIF2alpha -targeting therapy for renal cell carcinoma. *Cancer Res*, 2017, **77**(22): 6321-6329
 - [34] Courtney K D, Ma Y, Diaz de Leon A, *et al.* HIF-2 complex dissociation, target inhibition, and acquired resistance with PT2385, a first-in-class HIF-2 inhibitor, in patients with clear cell renal cell carcinoma. *Clin Cancer Res*, 2020, **26**(4):793-803
 - [35] Feng Z, Zou X, Chen Y, *et al.* Modulation of HIF-2alpha PAS-B domain contributes to physiological responses. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2018, **115**(52):13240-13245
 - [36] Sánchez-Gastaldo A, Kempf E, González Del Alba A, *et al.* Systemic treatment of renal cell cancer: a comprehensive review. *Cancer Treat Rev*, 2017, **60**:77-89
 - [37] Porta C, Cosmai L, Leibovich B C, *et al.* The adjuvant treatment of kidney cancer: a multidisciplinary outlook. *Nat Rev Nephrol*, 2019, **15**(7):423-433
 - [38] Chowdhury N, Drake C G. Kidney cancer: an overview of current therapeutic approaches. *Urol Clin North Am*, 2020, **47**(4):419-431
 - [39] Atkins M B, Tannir N M. Current and emerging therapies for first-line treatment of metastatic clear cell renal cell carcinoma. *Cancer Treat Rev*, 2018, **70**:127-137
 - [40] Toth A T, Cho D C. Emerging therapies for advanced clear cell renal cell carcinoma. *J Kidney Cancer VHL*, 2020, **7**(4):17-26
 - [41] Choueiri T K, Kaelin W G, Jr. Targeting the HIF2-VEGF axis in renal cell carcinoma. *Nat Med*, 2020, **26**(10):1519-1530
 - [42] Yu Y, Yu Q, Zhang X. Allosteric inhibition of HIF-2alpha as a novel therapy for clear cell renal cell carcinoma. *Drug Discov Today*, 2019, **24**(12):2332-2340

Discovery of Hypoxia-inducible Factor 2 α Inhibitors and Their Potential in The Treatment of Renal Cell Carcinoma*

GUO Zhen-Qing¹⁾, LI Hong-Qiang¹⁾, SUI Ai-Xia²⁾, GUO Xiao-Qiang^{3)**}

¹⁾College of Agronomy and Biotechnology, Hebei Normal University of Science & Technology, Qinhuangdao 066004, China;

²⁾Department of Oncology, Hebei General Hospital, Shijiazhuang 050051, China;

³⁾Department of Sports Human Sciences, Hebei Sport University, Shijiazhuang 050041, China)

Abstract Oxygen is essential for life growth and development, but hypoxia adaptation is also important in many physiological and pathological processes. At normal oxygen levels, hypoxia-inducible factor 2 α (HIF-2 α) is ubiquitinated by von Hippel-Lindau (VHL) and then rapidly degraded by the proteasome. Under hypoxia, HIF-2 α is not degraded and enters the nucleus to form heterodimers with HIF- β subunit, and then activate target genes' expression. Renal cell carcinoma (RCC) usually has high-frequency *VHL* gene inactivation, which leads to the accumulation of HIF-2 α and ultimately promotes the initiation and progression of RCC. So, HIF-2 α can act as a new therapeutic target in RCC. Although HIF-2 α is generally regarded as “undruggable”, the allosteric inhibitors PT2385/PT2977 have been successfully developed, which perform pharmacological effects by specifically antagonizing the formation of HIF-2 α /HIF-1 β heterodimers. Based on the structure of HIF-2 α /HIF-1 β heterodimers, an extensive screening of small-molecule libraries was performed and 130 potential HIF-2 α inhibitors were generated. After further considering the potency, selectivity and oral viability, PT2385 and PT2977 were chosen, in which PT2385 for *in vitro* studies and PT2977 for clinical development. PT2977 can selectively inhibit the expression of HIF-2 α targeted genes in cultured RCC cells, but do not affect HIF-1 α targeted genes. Preclinical and clinical trials have demonstrated that HIF-2 α inhibitors are effective in blocking cancer cell growth, proliferation, and tumor regression in RCC. These data also indicated that these inhibitors are more effective and better tolerated and have few side effects than standard drugs in treating RCC. Prolonged HIF-2 α inhibitors treatment can also produce drug resistance, which can be partly attributed to key amino acid mutations in binding domain of HIF-2 α to inhibitors. These advances mean that HIF-2 α allosteric inhibitors are expected to play an important role in the clinical treatment of RCC.

Key words hypoxia-inducible factor 2 α , inhibitor, allosteric regulation, renal cell carcinoma

DOI: 10.16476/j.pibb.2021.0095

* This work was supported by grants from Hebei Province Higher Education Scientific Research Youth Fund (QN2016136) and Hebei Province Talent Training Project Fund (A201901055).

** Corresponding author.

Tel: 86-15820419467, E-mail: xiaoqiangguo123@163.com

Received: April 15, 2021 Accepted: August 9, 2021