

CZYNNIK INDUKOWANY PRZEZ HIPOKSJĘ-1 (HIF-1): BUDOWA, REGULACJA EKSPRESJI, FUNKCJA ORAZ ROLA W PROGRESJI NOWOTWORÓW*

HYPOXIA INDUCIBLE FACTOR-1 (HIF-1): STRUCTURE, REGULATION
OF EXPRESSION, FUNCTION AND THE ROLE IN TUMOR PROGRESSION

Konrad KRSZYNA, Tomasz STOKŁOSA

Zakład Immunologii Centrum Biostruktury Akademii Medycznej w Warszawie

Streszczenie: Jednym z głównych komponentów odpowiedzi komórki na brak tlenu jest czynnik transkrypcyjny o charakterze heterodimeru - HIF-1 (z ang. *hypoxia inducible factor-1* = czynnik indukowany przez hipoksję). W normoksji HIF-1 jest konstytutywnie produkowany i degradowany przez układ ubiquityny i proteasomu, natomiast ulega stabilizacji i wykazuje aktywność czynnika transkrypcyjnego w warunkach hipoksji. Hipoksja jest typową cechą rosnącego guza nowotworowego, a zwiększona aktywność HIF-1, obserwowana w wielu nowotworach, uważana jest za jeden najważniejszych czynników odpowiedzialnych za aktywację angiogenezy nowotworowej. Dlatego lepsze zrozumienie funkcji HIF-1 może pomóc w stworzeniu nowych terapii przeciwnowotworowych.

Słowa kluczowe: HIF-1, hipoksja, nowotwór, angiogeneza nowotworowa.

Summary: One of the major components of the cellular response to oxygen deprivation is a heterodimeric transcription factor - hypoxia inducible factor-1 (HIF-1). HIF-1 is constitutively produced and degraded by the ubiquitin-proteasome system under normoxic conditions but becomes stabilized and transcriptionally active under hypoxic conditions. Hypoxia is one of the typical features of growing tumor and enhanced activity of HIF-1 observed in several different malignancies, is one of the most important factors responsible for activating pathways leading to tumor angiogenesis. Therefore better understanding of HIF-1 function may provide new targets for tumor therapy.

Key words: HIF-1, hypoxia, tumor, tumor angiogenesis.

*Praca częściowo finansowana z projektu młodego badacza AM w Warszawie 1M19/WB2/2005 (T.S.)

1. WSTĘP

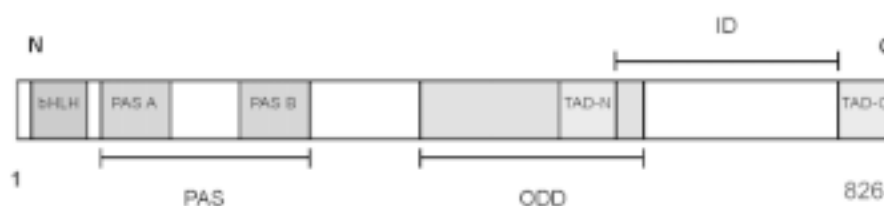
Organizmy wielokomórkowe w toku ewolucji uzależniły się od tlenu. Jako końcowy akceptor elektronów w łańcuchu oddechowym, zapewnia on produkcję odpowiedniej ilości ATP, umożliwiającej organizmowi przeżycie i dalszy rozwój. Stale trwający proces ewolucji doprowadza do selekcji tych osobników, którzy są w stanie najlepiej dostosować się do postępujących zmian w środowisku, w którym przebywają. Aby dana zmiana utrwaliła się na poziomie makroskopowym, musi jednak najpierw dojść do zmian w obrębie komórek tworzących makroorganizm. Zaburzenia homeostazy ustroju wymuszają na komórkach procesy kompensacyjne i adaptacyjne, mogące doprowadzić do jej przywrócenia do wartości początkowych, lub ustabilizowanie na nowym poziomie. Jednym z najgroźniejszych stresów, jakim mogą podlegać komórki, jest zaburzenie dostawy tlenu, powodujące stan hipoksji. Hipoksją dla większości komórek jest spadek stężenia O_2 poniżej 2%, przy czym wartości 1–2% uważa się za stan umiarkowanej hipoksji, przy stężeniu poniżej 0,2% mówimy o głębokiej hipoksji i anoksji. Komórki, aby przetrwać, muszą albo dostosować się do nowych warunków, przestawiając się na metabolizm beztlenowy, albo przywrócić odpowiednie utlenowanie tkanek. Komórki nowotworowe są szczególnie narażone na hipoksję ze względu na ich dużą gęstość i słabe unaczynienie, co pogarsza ich zaopatrzenie w tlen. Z tego powodu hipoksja stała się cechą charakterystyczną dla większości nowotworów. Warunki te doprowadzają do selekcji komórek, które uległy mutacjom, umożliwiającym im przeżycie w tych trudnych warunkach. Głównym czynnikiem transkrypcyjnym, zaangażowanym w adaptację komórek do stanu hipoksji jest HIF-1 (ang. *hypoxia-inducible factor-1*). Jego rola w biologii nowotworów sprawia, że HIF-1 może okazać się dobrym celem dla terapii przeciwnowotworowych.

2. ODKRYCIE HIF-1

HIF-1 został odkryty w 1992 roku przez Semenza i wsp. podczas badań nad wzmacniaczem położonym w kierunku 3' od genu dla erytropoetyny (EPO). W jego obrębie wyizolowana została sekwencja, dzięki której dochodzi do znacznego wzrostu ekspresji genu dla erytropoetyny, w środowisku 1% O_2 . Z sekwencją tą wiązał się nowy czynnik transkrypcyjny, indukowany przez hipoksję (nazwany HIF-1, *hypoxia inducible factor-1*) [77]. Jego ekspresja wykazana została później w wielu różnych liniach komórkowych, co pomogło Semenza i wsp. sformułować pogląd, postulujący istnienie centralnego systemu regulującego odpowiedź komórkową w stanie hipoksji, w którą w dużej mierze zaangażowany jest HIF-1 [90].

3. BUDOWA

Prace nad wyizolowaniem oczyszczonej formy HIF-1 doprowadziły do scharakteryzowania dwóch peptydów wchodzących w jego skład. Okazało się, że składa się



RYCINA 1. Budowa HIF-1 α . HIF-1 α zbudowany jest z 826 aminokwasów. W jego N-końcowej części znajduje się domena bHLH (AA 17-71), oraz domena PAS (AA 85-298), składająca się z domeny PAS-A (AA 85-158) i domeny PAS-B (AA 228-298). W C-końcowej części znajdują się dwie domeny transaktywacyjne: TAD-N (AA 531-576) i TAD-C (AA 786-826), przedzielone domeną ID. W środkowej części położona jest domena ODD (AA 401-603), zawierająca w sobie domenę TAD-N

on z dwóch podjednostek, HIF-1 α (o masie 120 kDa) i HIF-1 β (o masie 91, 93 lub 94 kDa), bezpośrednio wiążących się z DNA (ryc. 1). Analiza sekwencji nukleotydowej cDNA HIF-1 wykazała, że obydwie jego podjednostki należą do rodziny czynników transkrypcyjnych PAS (nazwa od trzech pierwszych członków rodziny – Per, ARNT, Sim), a podjednostka HIF-1 β jest identyczna z białkiem ARNT (ang. *aryl hydrocarbon receptor nuclear translocator*), odkrytym już wcześniej. Mają one domenę b (ang. *basic*) odpowiedzialną za wiązanie z DNA, domenę helisa-pętla-helisa (ang. *helix-loop-helix* – HLH) odpowiedzialną za heterodimeryzację oraz domenę PAS (PAS-A i PAS-B) wspólną dla tej grupy czynników transkrypcyjnych. Domeny bHLH i PAS-A są wystarczające do prawidłowej heterodimeryzacji, natomiast optymalne wiązanie z DNA wymaga domeny PAS-B. Późniejsze badania wykazały obecność dwóch domen transaktywacyjnych, położonych w pobliżu C końca HIF-1 α , TAD-C i TAD-N (ang. *transactivation domain*), przedzielonych domeną inhibitorową (ang. *inhibitory domain* – ID) [3, 4]. Kluczową rolę w regulacji stabilności HIF-1 α okazała się odgrywać domena ODD (ang. *oxygen-dependent degradation domain*), której ubikwitynacja w warunkach tlenowych kieruje HIF-1 α na drogę degradacji w proteasomie [32].

Dotychczas odkryto także inne formy HIF- α : HIF-2 α i HIF-3 α , które podobnie jak HIF-1 α ulegają heterodimeryzacji z HIF-1 β i wydają się pełnić podobną do niego funkcję. Nie ulegają one jednak tak powszechnej ekspresji jak HIF-1 α , a ich obecność wykazuje specyfikę tkankową [93].

4. MECHANIZM DZIAŁANIA I REGULACJA FUNKCJI HIF-1

Wzajemna interakcja HIF-1 α i HIF-1 β jest niezbędna do wiązania się HIF-1 z DNA, a co za tym idzie, do pełnienia przez niego funkcji czynnika transkrypcyjnego. HIF-1 β (ARNT) jest białkiem konstytutywnie zlokalizowanym na terenie jądra komórkowego, natomiast aktywność HIF-1 α podlega skomplikowanej regulacji, co sprawia, że jego aktywacja jest często kojarzona z funkcjonowaniem czynnika transkrypcyjnego HIF-1.

4.1. Etapy aktywacji HIF-1 α

4.1.1. Konstytutywna degradacja

W warunkach tlenowych HIF-1 α nie ulega aktywacji, ponieważ dochodzi do hydroksylacji dwóch kluczowych w jego regulacji aminokwasów (proliny P402 i P564), leżących w obrębie ODD, przez enzymy należące do grupy 4-hydroksylaz prolinowych [36, 55]. Wykryto cztery takie enzymy istniejące w komórkach ludzkich – HPHs (ang. *HIF-1 α prolyl hydroxylases*), zwane także PHDs (ang. *prolyl hydroxylase domain-containing proteins*) [9, 64]. 4-Hydroksylazy modyfikujące HIF-1 α są di-oksygenazami wymagającymi jako substratu tlenu cząsteczkowego, wiązanego przez Fe(II), leżący w ich centrum aktywnym, oraz 2-oksoglutaranu [9]. Zmodyfikowana przez hydroksylację jednostka HIF-1 α jest rozpoznawana przez produkt genu von Hippel-Lindau (pVHL), który jedną ze swoich domen (domeną β) wiąże się z domeną TAD-N w obrębie HIF-1 α , drugą (ang. *elongin C binding domain* – CBD) z kompleksem kuliny Cul-2, elonginy B i C, który katalizuje reakcję ubikwitynacji domeny TAD-N, kierując HIF-1 α na drogę proteolizy w proteasomie [56,59,83].

4.1.2. Aktywacja

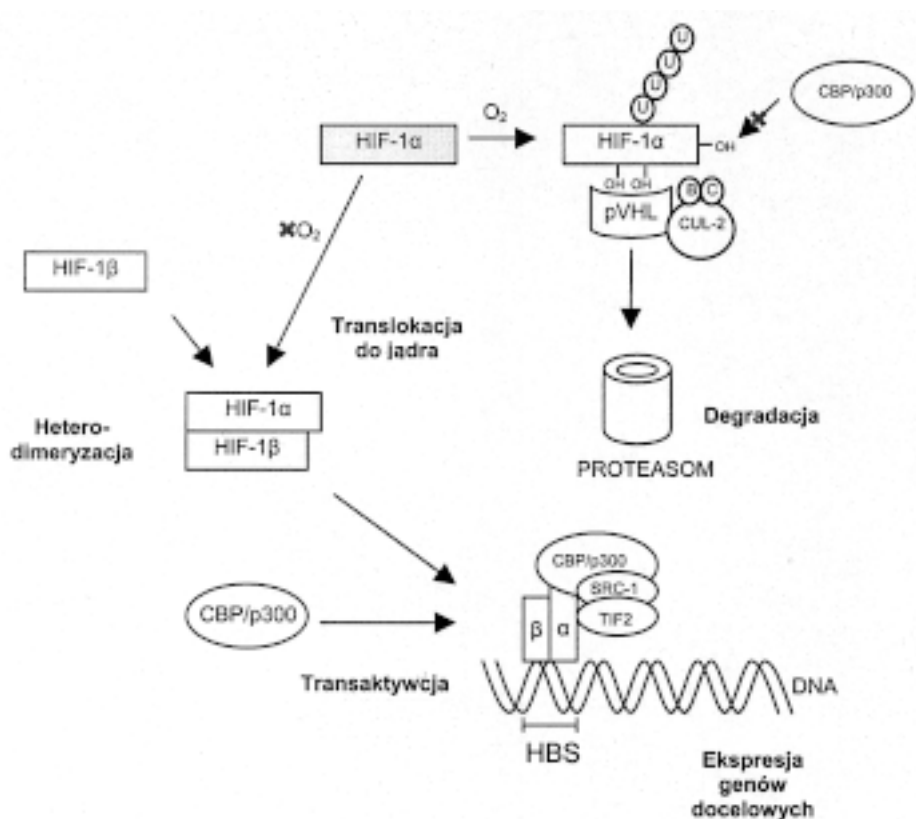
Aktywacja HIF-1 wymaga najpierw stabilizacji HIF-1 α , poprzez zahamowanie jego proteolizy. Poza stanem niedotlenienia do stabilizacji HIF-1 α przyczyniają się także czynniki interferujące z funkcją Fe(II), kluczowego dla prawidłowego funkcjonowania di-oksygenaz. Należy tu wspomnieć o chlorku kobaltu, który konkuruje z Fe(II) o centrum aktywne, oraz chelatorach żelaza, takich jak desferroksamina, obniżających pulę dostępnego Fe(II). Skuteczne zablokowanie 4-hydroksylaz prolinowych umożliwia gromadzenie się HIF-1 α w cytoplazmie i jego dalszą aktywację (ryc. 2) [93].

Mechanizm tlenowy jest głównym sposobem regulacji ilości i aktywności komórkowej puli HIF-1 α , choć wykryto także inne białka mogące się przyczyniać do jego stabilizacji, poprzez hamowanie ujemnych regulatorów HIF-1 α . Ważnym czynnikiem stabilizującym HIF-1 α , zarówno w warunkach normoksji jak i hipoksji, jest białko szoku cieplnego, Hsp90 (ang. *heat shock protein*). Białko to wiąże się z HIF-1 α , a jego inhibitor – geldanamycyna (GA) hamuje stabilizujące działanie Hsp90 i kieruje HIF-1 α na drogę degradacji w proteasomie, niezależnej od pVHL [34]. Również białko Jab1 (ang. *Jun activation domain-binding protein-1*) przyczynia się do stabilizacji HIF-1 α , głównie w stanie hipoksji, poprzez hamowanie jego interakcji z p53 [5].

Pewną rolę w stabilizacji HIF-1 α przypisuje się także jego translokacji do jądra komórkowego. W przypadku jej zahamowania, do degradacji HIF-1 α dochodzi w obecności pVHL nawet w warunkach hipoksji. Z drugiej jednak strony sama translokacja nie chroni HIF-1 α przed degradacją w warunkach tlenowych [83].

4.1.3. Modyfikacje posttranslacyjne

Już początkowe badania nad HIF-1 α wykazały duże znaczenie fosforylacji w aktywacji jego funkcji. Modyfikacja ta jednak nie wpływa na stabilizację HIF-1 α , lecz przyczynia się do zwiększenia aktywności transkrypcyjnej HIF-1. Wykazano, że do fosforylacji HIF-1 α dochodzi poprzez aktywację kinazy p42/p44, co częściowo tłumaczy



RYCINA 2. Mechanizm tlenowy regulacji HIF-1 α . Gen HIF-1 α podlega ciągłej transkrypcji, a następnie translacji, co sprawia, że białko stale pojawia się na terenie cytoplazmy. W warunkach tlenowych jest ono hydroksylowane w obrębie ODD przez 4-hydroksylazy prolinowe, co umożliwia jego wiązanie z pVHL. pVHL umożliwia następnie ubikwitynację HIF-1 α przez kompleks Cul-2 oraz elonginy B i C, co powoduje degradację HIF-1 α w proteasomie. W warunkach beztlenowych hydroksylacja HIF-1 α nie jest możliwa. Ulega on translokacji do jądra komórkowego, gdzie po dimeryzacji z HIF-1 β , połączeniu się z HBS i rekrutacji kofaktorów, takich jak: CBP/p300, SRC-1 czy TIF2, uruchamia transkrypcję genów docelowych

mechanizm stymulującego działania czynników aktywujących kaskadę kinaz aktywowanych mitogenami (ang. *mitogen-activated protein kinases* – MAPK) na szlak HIF-1 [49, 90].

4.1.4. Translokacja do jądra komórkowego

HIF-1 α jest czynnikiem transkrypcyjnym, dlatego do spełnienia swojej funkcji musi przedostać się do jądra komórkowego. Podczas stanu niedotlenienia HIF-1 α ulega translokacji do jądra, gdzie dochodzi do aktywacji TAD-C, umożliwiając jej wiązanie się z CBP/p300 (ang. *CREB binding protein*). Proces ten uwarunkowany jest istnieniem motywu NLS (ang. *nuclear localization signal*) w części C-końcowej HIF-1 α [93]. W przypadku indukowanej nadekspresji HIF-1 α ulega on translokacji do jądra i pobudza ekspresję genów docelowych nawet w normoksji [30].

4.1.5. Heterodimeryzacja

Interakcja HIF-1 α z HIF-1 β na terenie jądra komórkowego, poza utworzeniem HIF-1, dodatkowo stabilizuje HIF-1 α w przypadku braku pVHL lub podczas stanu hipoksji. Kluczowym mechanizmem w tym procesie jest kompetycja między Hsp90 a domeną PAS HIF-1 β o wiązanie z domeną HLH/PAS, wchodzącą w skład HIF-1 α . Aktywowany kompleks HIF-1 α /HIF-1 β jest odporny na degradację stabilizując w ten sposób HIF-1 α [35].

4.1.6. Wiązanie z DNA

HIF-1 rozpoznaje i wiąże się z sekwencją HBS (ang. *HIF-1 binding site*), leżącą w obrębie HRE (ang. *hypoxia response element*). W obrębie HRE wykazano także obecność sekwencji HAS (ang. *HIF-1 ancillary sequence*), oddzielonej od HBS przez 8 par zasad, biorącej udział w zależnej od HIF-1 aktywacji genów [41]. Wiązanie HIF-1 z DNA okazało się być regulowane przez metylację dinukleotydu CpG. W większości komórek HBS nie ulega metylacji, jednak w niektórych liniach metylacja CpG hamuje wiązanie HIF-1 z HBS. Może być to mechanizm warunkujący specyfikę ekspresji genów regulowanych przez HIF-1 w różnych tkankach [90].

4.1.7. Przyłączanie kofaktorów transkrypcyjnych

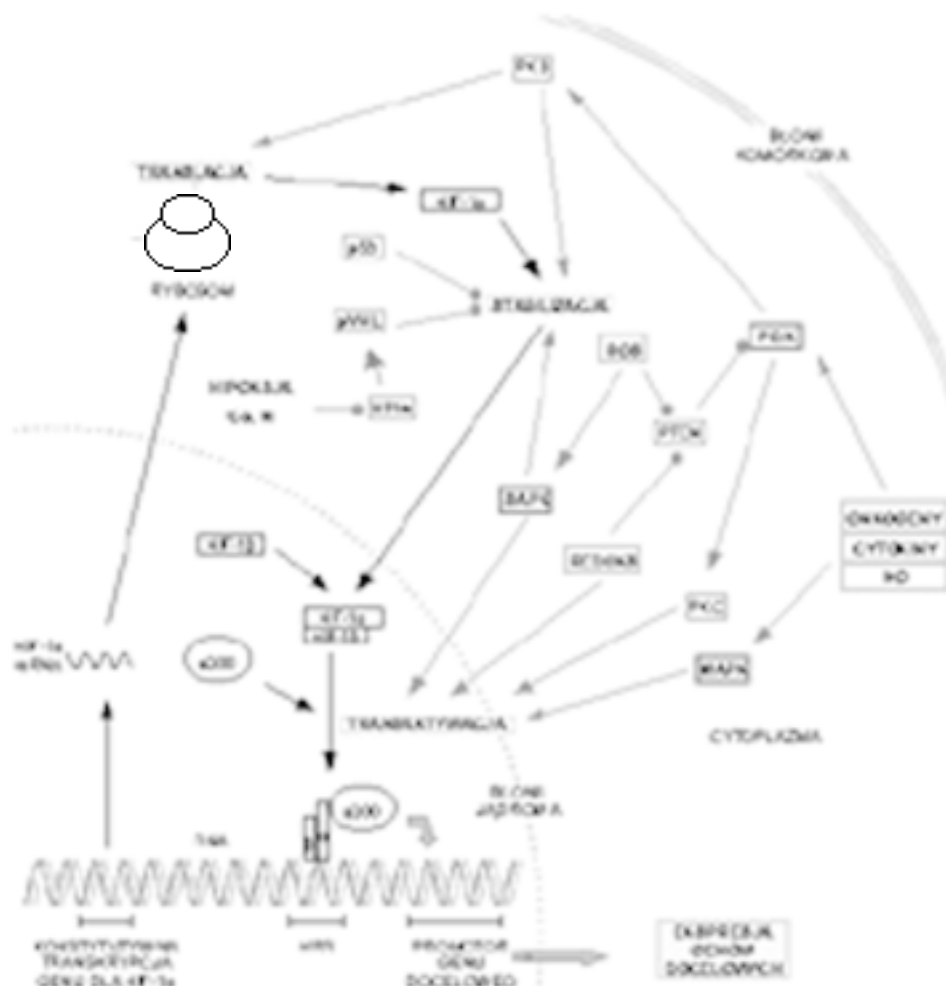
Ważną rolę w aktywacji genów regulowanych przez HIF-1 przypisuje się kofaktorowi transkrypcyjnemu CBP/p300, gdyż zaburzenia jego interakcji z HIF-1 α przyczyniają się do znacznego obniżenia zdolności transaktywacyjnej HIF-1 α . Zależna od HIF-1 ekspresja genów wymaga utworzenia wieloskładnikowego kompleksu pomiędzy nim a innymi czynnikami transkrypcyjnymi oraz kofaktorami. W promotorze genu dla dehydrogenazy mleczanowej-A istnieją dwa miejsca wiążące HIF. Dodatkowo promotor ten ma sekwencję CRE (ang. *cAMP response element*), wiążącą CREB-1/ATF-1 (ang. *cAMP response element binding protein-1/activating transcription factor-1*). CBP/p300 wiąże się zarówno z HIF-1, jak i z CREB-1. Słabe wiązanie może się wytworzyć już pomiędzy CBP/p300 a jednym z tych czynników, lecz wiązanie z wysokim powinowactwem wymaga obecności obydwu z nich [90]. HIF-1 α wiąże się także z innymi kofaktorami, takimi jak: SRC-1 (ang. *steroid receptor coactivator-1*) i TIF2 (ang. *transcription intermediary factor-2*), co zwiększa jego zdolność transaktywacyjną [12].

4.2. Mechanizmy regulujące działanie HIF-1 α

HIF-1 α wymaga wieloetapowej aktywacji w celu osiągnięcia pełnej zdolności transkrypcyjnej. Oprócz głównego mechanizmu tlenowego, regulującego ilość i aktywność komórkowej puli HIF-1 α , wiele innych regulatorów moduluje funkcję HIF-1 na rozmaitych poziomach jego aktywacji (ryc. 3).

4.2.1. Regulacja zależna od tlenu

Poza opisanym wcześniej mechanizmem regulacji stabilności HIF-1 α przez zależne od tlenu hydroksylazy prolinowe, wykryto także inne mechanizmy inaktywujące HIF-1 α w warunkach normoksji.



RYCINA 3. Wieloetapowa regulacja HIF-1 α . Oprócz podstawowego mechanizmu tlenowego, regulującego funkcję HIF-1 α , znane jest wiele innych jego regulatorów. Istotną rolę odgrywają geny supresorowe nowotworów, takie jak: pVHL, p53, PTEN, hamujące nadmierną aktywność HIF-1 α . Wiele substancji (produkty onkogenów, cytokiny, tlenek azotu, wolne rodniki tlenowe) moduluje funkcję HIF-1 α przez szlaki komórkowych kinaz białkowych, takich jak: PI3K czy MAPK. HIF-1 α może także ulegać modyfikacjom redoks, zwiększającym jego zdolność do wiązania koaktywatorów transkrypcyjnych

W warunkach tlenowych dochodzi do acetylacji lizyny 532, leżącej w obrębie domeny ODD. Enzymem katalizującym tę reakcję jest acetylotransferaza ARD1. Reakcja ta umacnia wiązanie HIF-1 α z pVHL, nasilając degradację HIF-1 α w proteasomie. ARD1 acetyluje HIF-1 α w warunkach normoksji, a efekt ten stopniowo ustępuje podczas przejścia do stanu hipoksji, co wskazuje na regulację tego procesu przez mechanizm tlenowy [37].

FIH-1 (ang. *factor inhibiting HIF-1*) został zidentyfikowany jako białko hamujące zdolność transaktywacyjną HIF-1 α . Wiąże się on z domenami TAD-C oraz z fragmentem ID (wchodzącymi w skład HIF-1 α), a także może wchodzić w interakcję z pVHL

tworząc razem z HIF-1 α i pVHL trójbiałkowy kompleks. Jego nadekspresja nawet w warunkach tlenowych hamuje zdolność transaktywacyjną HIF-1 α [54]. Badania nad modyfikacjami kowalencyjnymi, którym podlega domena TAD-C, wykazały, że w stanie normoksji hydroksylowana jest Asn 803, leżąca w jej obrębie. Okazało się, że hydroksylacja Asn 803 hamuje wiązanie p300/CBP z domeną TAD-C, a hipoksja i DMOG (dimetylooksali glicyna), inhibitor kompetycyjny dioksygenaz, znoszą ten efekt [47]. Późniejsze badania wykazały, że to właśnie odkryty wcześniej FIH-1 jest dioksygenazą, katalizującą hydroksylację Asn 803 [46].

4.2.2. Geny supresorowe nowotworów

Jedną z najważniejszych barier chroniących nas przed nowotworami są wewnętrzkomórkowe mechanizmy regulacyjne, w skład których wchodzi białka kodowane przez geny supresorowe nowotworów, zwane potocznie antyonkogenami. Modelowym przykładem jest p53, produkt genu *TP53*, białko będące kluczowym punktem w odpowiedzi komórki na stres, indukowany np. przez uszkodzenia DNA czy hipoksję i determinującym los komórki [82]. Wykazano zależność pomiędzy ekspresją HIF-1 α a p53 związaną zarówno z Mdm2 (ang. *mouse double minute-2*), jak i z p300 [15, 76]. Sanchez-Puig i współpracownicy wykazali niedawno udział domeny ODD HIF-1 α w bezpośrednim wiązaniu p53 [70]. Nie jest w pełni jasne, jakie są skutki biologiczne tej interakcji. Stabilizacja p53 następuje w warunkach głębokiej hipoksji (poniżej 1% O₂) oraz anoksji w odróżnieniu od HIF-1 α , którego ekspresja wzrasta również w warunkach łagodnej hipoksji. Wydaje się, że w stanie przedłużającej się hipoksji dochodzi do konkurencji pomiędzy p53 a HIF-1 α o wiązanie z p300. Wiążąc się z p300 p53 może osłabiać transdukcję sygnału przez HIF-1 α . Dalsze badania nad biologicznym znaczeniem interakcji pomiędzy p53 a HIF-1 α mogą mieć kluczowe znaczenie w terapii nowotworów [21].

Jak wspomniano wcześniej, pVHL reguluje poziom HIF-1 α , kierując go w warunkach normoksji na drogę ubikwityno-zależnej degradacji w proteasomie. Komórki niemające pVHL wykazują konstytutywną ekspresję HIF-1 α , natomiast przywrócenie jego ekspresji hamuje akumulację HIF-1 α w warunkach tlenowych [56,83].

PTEN (ang. *phosphatase and tensin homolog deleted on chromosome ten*) jest ważnym inhibitorem szlaku PI3K (patrz dalej). Badania na linii komórkowej U973 wykazały, że jego utrata wzmacnia ekspresję genów regulowanych przez HIF-1 α , a ekspresja hamuje stabilizujące działanie hipoksji na HIF-1 α w komórkach glejaka [98].

4.2.3. Onkogeny

W wielu komórkach nowotworowych dochodzi do aktywacji onkogenów odpowiedzialnych za ekspresję białek zaburzających fizjologiczną regulację procesów komórkowych. Modelowym przykładem jest aktywacja onkogennej kinazy tyrozynowej BCR/ABL, której konstytutywna aktywność charakterystyczna jest dla większości przypadków przewlekłej białaczki szpikowej. Udowodniono, że BCR/ABL przyczynia się do zwiększonej aktywności HIF-1 poprzez stymulujący wpływ na kaskadę kinazy 3-fosfatydyloinozytolu (ang. *phosphoinositide 3-kinase* – PI3K), która jest dodatkowym regulatorem szlaku HIF-1 [57]. Podobny efekt na PI3K, a tym samym na HIF-1, wywiera

także ulegający nadekspresji w raku sutka onkogen HER2/neu [48]. Inne onkogeny (c-Src, H-Ras) mogą dodatkowo pobudzać szlak kinaz MAPK, kolejnych aktywatorów HIF-1 [14,39]. Poza aktywacją komórkowych szlaków przekazywania sygnałów wykazano także hamujący wpływ niektórych onkogenów na hydroksylację HIF-1 α , co przekłada się na jego stabilizację [13].

4.2.4. Czynniki wzrostu i inne cytokiny

Czynniki wzrostu są odpowiedzialne za parakrynnie i autokrynnie przekazywanie sygnałów między komórkami. Wiążąc się z receptorem powierzchniowym komórki, uruchamiają kaskadę kinaz, modulujących funkcję HIF-1 α . Cytokiny mogą pobudzać szlak PI3K [84, 95, 98] lub szlak kinaz MAPK [79]. Zidentyfikowano wiele czynników wzrostu regulujących HIF-1 α zarówno w czasie normoksji, jak i hipoksji m.in. EGF [95], IGF-1 [98], insulina [84], bFGF [79].

4.2.5. Wolne rodniki tlenowe

Istnieją sprzeczne doniesienia dotyczące produkcji wolnych rodników w komórkach poddanych hipoksji [93]. O ile kwestia produkcji reaktywnych form tlenu (*ang reactive oxygen species* – ROS) w tych warunkach pozostaje niewyjaśniona, wykazano ich rolę w regulacji aktywności szlaków przekazywania sygnałów komórkowych oraz związany z nią mechanizm modulacji funkcji szlaku HIF-1.

Z wolnych rodników aktywujących szlak HIF-1, najważniejszą rolę pełni nadtlenek wodoru. Zwiększona produkcja H₂O₂ w komórce wzmacnia aktywność transkrypcyjną genów regulowanych przez sekwencję HRE [28], poprzez utlenienie cysteiny leżącej w centrum aktywnym PTEN, powodując jego odwracalną inaktywację [50]. Do wytworzenia H₂O₂ dochodzi poprzez aktywację oksydazy NADPH, która utlenia O₂ do anionu ponadtlenkowego O₂⁻, przekształcanego następnie przez dysmutazę ponadtlenkową (*ang. superoxide dismutase* – SOD) do H₂O₂. Badania przeprowadzone na komórkach mięśni gładkich ścian naczyń, stymulowanych przez trombinę i AngII, wykazały znaczącą rolę szlaku PI3K i kinazy p38, w indukowanej przez H₂O₂ ekspresji i stabilizacji HIF-1 α [25,65]. Podobny wpływ wywierają na HIF-1 α także wolne rodniki powstające podczas redukcji wanadu V(V) i chromu Cr(VI) [23, 24]. Również ROS wytwarzane przez bakterie *Helicobacter pylori* przyczyniają się do stabilizacji HIF-1 α , nawet w warunkach normoksji, co może tłumaczyć kancerogeny wpływ tego drobnoustroju na komórki błony śluzowej żołądka [66].

4.2.6. Tlenek azotu

Poziom komórkowy tlenu azotu w złożony sposób wpływa na ekspresję HIF-1 α . Akumulacja HIF-1 α , indukowana przez donory tlenu azotu (NO) lub ekspresję indukowanej syntazy tlenu azotu (*ang. inducible nitric oxide synthase* – iNOS), jest zależna od czasu i stężenia tlenu azotu. Mniejsze stężenia NO (100 μ M) okazują się szybciej indukować ekspresję HIF-1 α [71]. Tlenek azotu może funkcjonować jako przekaźnik sygnałów w cytoplazmie, aktywując szlaki komórkowych kinaz białkowych, które następnie zwiększają aktywność HIF-1 α [40,72]. Wykazano także jego inaktywujący wpływ na HPHs, prawdopodobnie w mechanizmie kompetycji NO o miejsce katalityczne tej grupy enzymów [58].

W stanie hipoksji NO wydaje się pełnić skrajnie odmienną funkcję. Jako inhibitor kompleksu IV łańcucha oddechowego hamuje zużycie tlenu w mitochondrium. Powoduje to udostępnienie tlenu dla innych enzymów, w tym 4-hydroksylaz prolinowych, które „nie zauważają hipoksji”, a tym samym kierują HIF-1 α na drogę degradacji [29].

4.2.7. Jony metali ciężkich

Związek między jonami metali ciężkich a HIF-1 został odkryty już na samym początku badań nad HIF-1, lecz mechanizm, w jakim działają one na ten czynnik transkrypcyjny, długo pozostawał niewyjaśniony. Przełomem było odkrycie 4-hydroksylaz modyfikujących HIF-1 α , będących długo poszukiwanymi detektorami poziomu tlenu w komórce. Przyjęła się wówczas proponowana już wcześniej teoria, zakładająca kompetycję Co(II) z Fe(II) o centrum aktywne 4-hydroksylaz prolinowych [9]. Później wykazano stymulację przez jony Ni(II) szlaku PI3K/Akt w komórkach C141 oraz wynikającą z niej HIF-zależną ekspresję NDRG1 (ang. *N-myc downstream-regulated gene*), co pokazało inne możliwe mechanizmy regulacji funkcji HIF-1 α przez jony metali ciężkich [51]. Ostatnie doniesienia proponują nowy pogląd na rolę Ni(II) i Co(II) w indukcji HIF-1 α . Okazało się, że jony te drastycznie obniżają komórkowy poziom kwasu askorbinowego. Jego funkcją jest redukcjonowanie jonu Fe(III) do jonu Fe(II) i utrzymywanie go w tym stanie, co zapewnia funkcjonowanie dioksygenaz. Degradując kwas askorbinowy, jony Ni(II) i Co(II) hamują funkcję 4-hydroksylaz prolinowych, a tym samym degradację HIF-1 α [69].

4.2.8. Modyfikacje redoks

Środowisko redukcyjne komórki wpływa na stabilizację HIF-1 α , jego zdolności do wiązania się z DNA oraz jego fosforylację. W warunkach tych nasila się także indukujące HIF-1 α działanie kobaltu [63]. Ekspresja białek redukcyjnych, takich jak: tioredoksyna (Trx-1) czy Ref-1 (ang. *redox factor-1*), przyczynia się do redukcji aminokwasów cysteinowych w obrębie domeny TAD-C HIF-1 α , co ułatwia jej wiązanie z CBP i SRC-1, skutkując aktywacją obydwu domen TAD [12,93]. Transfekcja różnych linii komórek nowotworowych (MCF-7, HT-29, WEHI7.2) genem dla Trx-1, spowodowała wzrost ekspresji HIF-1 α oraz jeszcze wyraźniejszy wzrost jego aktywności transkrypcyjnej, co potwierdza zwiększenie jego zdolności transaktywacyjnej [88]. PX-12 i pleurotyna, inhibitory Trx-1, obniżają poziom ekspresji HIF-1 α , jego zdolność transaktywacyjną oraz ekspresję VEGF w komórkach MCF-7 i HT-29, co potwierdza znaczenie modyfikacji redoks w procesie aktywacji HIF-1 α [89].

4.2.9. Inne regulatory

Jony Ca²⁺ także modułują stabilność HIF-1 α . BAPTA – chelator Ca²⁺ zmniejsza jego dostępność w komórce, co w warunkach normoksji stabilizuje HIF-1 α przez hamowanie funkcji PHD2. Efekt ten jest hamowany przez dodanie Ca²⁺, co wskazuje na jego rolę w tym procesie. W przebiegu hipoksji komórkowy Ca²⁺ gromadzi się stopniowo w jądrze, hipotetycznie hamując działanie zależnej od niego, a zlokalizowanej w cytozolu PHD2, czego skutkiem jest stabilizacja HIF-1 α . Ponadto BAPTA zwiększa aktywność transkrypcyjną HIF-1, działając na domenę TAD-C. Prawdopodobnie reguluje on

aktywność FIH-1 w sposób podobny do regulacji PHD2. W ten sposób może być on traktowany jako ekwiwalent stanu hipoksji [6].

Ostatnie doniesienia wskazują na istotną rolę sierociego receptora jądrowego Nur77 (ang. *orphan nuclear receptor-77*) w regulacji funkcji HIF-1 α . Stabilizuje on HIF-1 α poprzez obniżenie ekspresji MDM2 za pomocą swojej N-końcowej domeny transaktywacyjnej. Co ciekawe, proces ten zależy od fosforylacji p42/p44 MAPK przez Nur77, a PD98059 (inhibitor MEK) hamuje fosforylację oraz akumulację HIF-1 α . Nur77 wzmacnia aktywność transkrypcyjną HIF-1 nawet w stanie normoksji [92].

Kinaza białkowa zależna od DNA (DNA-PK), odpowiedzialna za naprawę złamań podwójnej nici DNA także wydaje się wpływać na ekspresję HIF-1 α najprawdopodobniej poprzez fosforylację i wynikającą z niej stabilizację HIF-1 α [85].

5. SZLAKI PRZEKAZYWANIA SYGNAŁÓW REGULUJĄCE HIF-1

Odpowiedź komórkowa na działanie rozmaitych bodźców zarówno zewnątrz-, jak i wewnątrzkomórkowych jest skomplikowanym procesem, na który składa się odbiór bodźca przez odpowiednie receptory, jego przetworzenie oraz przesłanie informacji do jądra komórkowego, w celu wywołania odpowiedniej reakcji na działający bodziec. Sygnały docierające do jądra komórkowego są przewodzone głównie poprzez szlaki kinaz białkowych, aktywujące odpowiednie czynniki transkrypcyjne, inicjujące następnie odpowiedź komórki na działające bodźce. Bardzo istotnym zagadnieniem jest wyjaśnienie roli tych szlaków w regulacji funkcji HIF-1, co umożliwi dalsze zrozumienie wpływu niektórych czynników na aktywność szlaku HIF-1.

5.1. Szlak kinazy 3-fosfatydyloinozytolu (PI3K)

PI3K katalizuje reakcję fosforylacji difosforanu do trifosforanu fosfatydyloinozytolu, który następnie aktywuje kinazy białkowe, katalizujące fosforylację białek odpowiedzialnych za wyzwolenie reakcji komórkowej, odpowiedniej do działającego na komórkę bodźca. Głównymi białkami przewodzącymi sygnały w tym szlaku są dwie kinazy białkowe: PKB i PKC [10].

5.1.1. Kinaza białkowa B (PKB)

PKB, także znana jako Akt, zwiększa ekspresję HIF-1 α , lecz nie w wyniku bezpośredniej fosforylacji [98], ale poprzez zwiększenie ekspresji HIF-1 α na poziomie posttranskrypcyjnym [38], modyfikując funkcje białek bezpośrednio wiążących się z ekspresją HIF-1 α .

Akt może fosforylować białka, takie jak: mTOR (ang. *mammalian target of Rapamycin*) [84,95], p70S6K (ang. *ribosomal protein S6 kinase*) czy HDM2 (ang. *human double minute-2*) [80], zwiększające ekspresję HIF-1 α , poprzez nasilenie jego translacji.

Akt poza zwiększeniem ekspresji HIF-1 α poprzez stymulację translacji jego mRNA może wpływać również na jego stabilizację. Poprzez fosforylację 3-kinazy syntazy glikogenu (ang. *glycogen synthase kinase-3 β -GSK3 β*) hamuje jej destabilizujący wpływ

na HIF-1 α [62]. Akt zwiększa także ekspresję białek szoku cieplnego Hsp70 i Hsp90, chroniących HIF-1 α przed degradacją niezależną od pVHL [97].

5.1.2. Kinaza białkowa C (PKC)

Pojawiają się coraz to nowe dowody przemawiające za istotną rolą PKC w regulacji funkcji HIF-1 α . Wydaje się, że jest ona enzymem pełniącym centralną funkcję w indukcji HIF-1 α , w stymulowanych przez angiotensynę II komórkach mięśni gładkich ścian naczyń – VSMC. Wykazano, że zwiększa ona poziom ekspresji HIF-1 α , najpierw zwiększając ilość jego mRNA, a następnie nasilając jego translację [65].

Dla jednej z form PKC – PKC ζ , udowodniono, że może obniżać poziom HIF-1 mRNA w liniach komórkowych raka jasnokomórkowego nerki (RCC). Mechanizm ten może tłumaczyć zdolność HIF-1 α do wiązania CBP/p300 w warunkach tlenowych [20].

5.2. Szlak kinaz aktywowanych mitogenami (MAPK)

Do tej pory odkryto trzy główne rodziny kinaz aktywowanych mitogenami (MAP): klasyczną MAP (także zwaną ERK – *extracellular signal regulated protein kinase*), oraz dwie rodziny kinaz aktywowanych przez stres (ang. *stress activated protein kinases*): JNK (ang. *c-Jun N-terminal kinase*) i p38 [94]. Również i ten szlak odgrywa istotną rolę w regulacji funkcji HIF-1 α .

5.2.1. Kinaza białkowa aktywowana sygnałami zewnątrzkomórkowymi (ERK)

Istnieją dwie koncepcje dotyczące aktywacji HIF-1 α poprzez p42/44 (Erk). Niezależnie od zaproponowanego mechanizmu, pobudzenie szlaku MEK1/p42/p44 przyczynia się do aktywacji domen TAD w obrębie HIF-1 α i zwiększenia jego aktywności transkrypcyjnej [49]. Pierwsza teoria zakłada, że MAPK przyczynia się do fosforylacji HIF-1 α w warunkach, zarówno normoksji jak i hipoksji, przez co zwiększa jego aktywność transkrypcyjną [67,81]. Badania wykazały, że w komórkach HMEC-1, ERK1 jest potrzebny do aktywacji transkrypcyjnej HIF-1 α przez jego bezpośrednią fosforylację podczas hipoksji [60]. Inna hipoteza mówi, że MAPK nie fosforyluje HIF-1 α , lecz wpływa na zdolność transaktywacyjną CBP/p300 i na jego zdolność wiązania się z HIF-1 α . Według tego modelu eksperymentalnego, MAPK albo bezpośrednio fosforyluje CBP, albo modyfikuje inne białka wchodzące w interakcję z p300 [73].

5.2.2. Kinazy białkowe aktywowane stresem (SAPK)

Szlak kinaz aktywowanych stresem odgrywa ważną rolę w regulacji ekspresji HIF-1 α i VEGF w komórkach raka kolczystokomórkowego (ang. *squamous cell carcinoma* – SCC) głowy i szyi. Hipoksja okazała się aktywować JNK1 i p38, a nadekspresja już jednego z nich jest wystarczająca do indukcji HIF-1 α i VEGF w komórkach SCC [78].

Czynnik transkrypcyjny c-JUN, regulowany przez JNK, wydaje się współpracować z HIF-1 α . Mutacje w obrębie c-JUN, jak i inhibitory JNK, częściowo osłabiały aktywność transkrypcyjną HIF-1 α . Co ciekawe, poziom ekspresji HIF-1 α nie uległ zmianie, a c-JUN nie musi bezpośrednio wiązać się z DNA w celu aktywacji HIF-1 α [3]. Ostatnie badania wskazują także na istotną rolę JNK w indukowanej przez hipoksję, HIF-1-zależnej transkrypcji MDR1 (ang. *multidrug resistance gene*) [18].

p38 może bezpośrednio fosforylować HIF-1 α w obrębie domeny ID i wzmacniać jego aktywność transkrypcyjną [81]. p38 może być aktywowane poprzez powstające w mitochondrium wolne rodniki. Do ich tworzenia dochodzi np. podczas redukcji Cr(VI) do Cr(V). Powstające ROS przyczyniają się do stabilizacji HIF-1 α , aktywując p38 [24].

6. GENY DOCELOWE

Dotychczas zidentyfikowano kilkadziesiąt genów regulowanych przez HIF-1, a ich liczba stale się powiększa. HIF-1 jest odpowiedzialny za adaptację komórek do stanu hipoksji, w związku z czym geny uruchamiane przez HIF-1 odpowiedzialne będą głównie

TABELA 1. Niektóre geny aktywowane przez HIF-1*

Proces adaptacyjny/kompensacyjny		Produkt genu
1. Przywrócenie optymalnej dostawy tlenu	A. Angiogeneza	VEGF VEGFR-1
	B. Napięcie ściany naczyń	iNOS ET-1 Adrenomedullina
	C. Erytropoeza	EPO
	D. Transport żelaza	Transferyna Ceruloplazmina
2. Adaptacja do metabolizmu beztlenowego	A. Enzymy glikolityczne	Wszystkie enzymy cyklu glikolitycznego
	B. Transportery glukozy	GLUT-1 GLUT-3
	C. Regulacja pH	CAIX
3. Przeżycie komórek w stanie hipoksji	A. Czynniki wzrostu	IGF-2 TGF- α
	B. Hamowanie apoptozy	NPM
4. Inne	A. Hamowanie różnicowania	ID2
	B. Odporność na chemioterapeutyki	P-gp
	C. Metabolizm macierzy zewnątrzkomórkowej	MMP2 Katepsyna D

*HIF-1 jest czynnikiem transkrypcyjnym aktywowanym przez hipoksję, umożliwiającym komórkom dostosowanie się do środowiska zmniejszonej dostępności tlenu. Przywraca on optymalną dostawę tlenu, ułatwia komórkom adaptację do stanu hipoksji, chroni je przed apoptozą, a także pełni wiele innych ważnych funkcji

za poprawę dostawy tlenu, przestawienie metabolizmu na proces beztlenowy oraz hamowanie apoptozy komórek (tab. 1).

Do pierwszej grupy należą substancje odpowiedzialne za tworzenie nowych naczyń (VEGF, VEGFR-1), regulację napięcia ściany naczyń (iNOS, endotelina-1, adreno-medullina) oraz za erytropoezę (EPO) i transport żelaza (transferyna, ceruloplazmina).

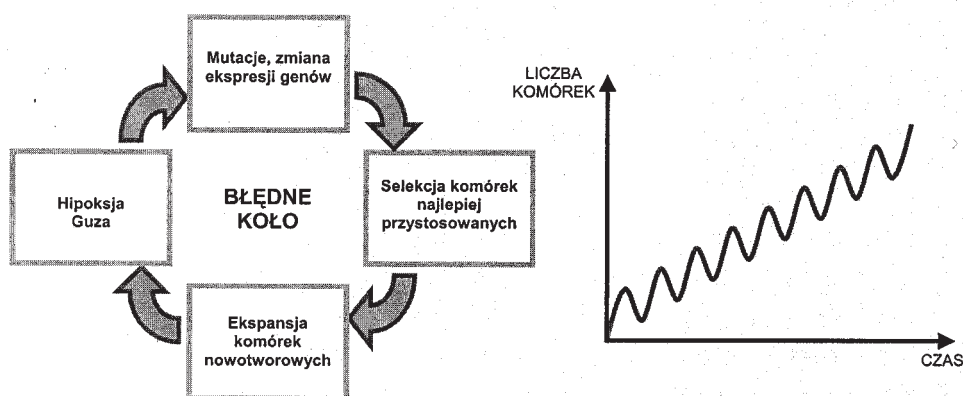
Drugą grupę stanowią enzymy glikolityczne, transportery glukozy (GLUT-1, GLUT-3) oraz regulująca pH komórki anhidraza węglanowa (CAIX).

W trzeciej kategorii można znaleźć czynniki wzrostu (insulino-podobny czynnik wzrostu – IGF-2, transformujący czynnik wzrostu – TGF- α), oraz białka hamujące apoptozę indukowaną przez hipoksję (nukleofosmina – NPM).

Z punktu widzenia komórek nowotworowych ważnymi substancjami indukowanymi przez HIF-1 są także enzymy trawiące macierz zewnątrzkomórkową, białka hamujące różnicowanie (ID2) oraz P-gp, odpowiedzialna za odporność na niektóre chemioterapeutyki.

7. ROLA W PROGRESJI NOWOTWORÓW

Hipoksja charakteryzuje guzy lite. Przyczyniają się do niej, między innymi, zaburzenia w liczbie, budowie i funkcji naczyń guza, duże odległości między komórkami nowotworowymi a światłem naczyń oraz indukowana przez proces nowotworowy lub wdrożoną chemoterapię niedokrwiistość [87]. Te wszystkie czynniki przyczyniają się do pogorszenia dostawy tlenu do komórek nowotworowych, co skutkuje selekcją komórek opornych na apoptozę, zdolnych do podziałów, modyfikujących swój metabolizm oraz stymulujących angiogenezę. Te wyselekcjonowane komórki, mnożąc się, pogłębiają stan hipoksji, co zamyka i nakręca błędne koło chorobowe (ryc. 4) [86]. Mechanizm indukowania



RYCINA 4. Błędne koło chorobowe, napędzane przez hipoksję. Nadmiernie mnożące się komórki nowotworowe znajdują się w stanie hipoksji. Stymuluje ona powstawanie mutacji, które umożliwią lepsze przystosowanie się komórek do trudnych warunków, w których przebywają. W efekcie duża część z nich ulega apoptozie lub nekrozie, a selekcji ulegają tylko te, które uległy mutacjom, umożliwiającym im przeżycie. Rozrost tych komórek pogłębia stan hipoksji i stymuluje dalsze mutacje, zmierzając ku powstaniu klonów doskonale przystosowanych do przetrwania w organizmie w stanie hipoksji. Dynamikę wzrostu guza można przedstawić jako sinusoidę, stopniowo zmierzającą ku górze

wanych przez hipoksję mutacji długo pozostawał niewyjaśniony. Ostatnie doniesienia sugerują, że HIF-1 α może w istotny sposób przyczyniać się do niestabilności genetycznej komórek nowotworowych, poprzez hamowanie ekspresji kompleksu rozpoznającego błędnie sparowane zasady – MutS α (MSH2-MSH6). Co ciekawe obecność p53 wydaje się być konieczna w tym procesie, co pozwala przypuszczać, że HIF-1 α przyczynia się do powstania mutacji genomu we wczesnych etapach rozwoju nowotworu, gdyż większość złośliwych nowotworów traci ekspresję dzikiego p53 [42].

Ekspresja HIF-1 α odzwierciedla stan niedotlenienia komórki, a jego zwiększoną ekspresję wykazano w przypadku większości nowotworów, ich przerzutów oraz niektórych zmianach przednowotworowych [96]. Poza hipoksją, jego nadekspresja związana jest z nagromadzeniem się mutacji genów supresorowych nowotworów, takich jak: PTEN [98], pVHL [91] i p53 [75], oraz aktywacją onkogenów m.in. Ras [14], HER2/neu [48] i Src [39]. Stale aktywny szlak HIF-1 umożliwia komórkom nowotworowym lepszą i szybszą adaptację do ciężkich warunków, w których się znajdują, a już niewielka ilość komórek wykazujących nadekspresję HIF-1 α jest w stanie przyspieszyć wzrost całego guza [31], co sprawia, że jego nadekspresję wiąże się z niekorzystnym rokowaniem terapii przeciwnowotworowych [7,33] (ryc. 5).

HIF-1 α w znacznym stopniu przyczynia się do stymulacji angiogenezy nowotworowej. Indukuje transkrypcję genu dla VEGF, który jest najważniejszym czynnikiem regulującym powstawanie nowych naczyń [22]. Ekspresja VEGF w komórkach nowotworowych pełni kluczową rolę we wzroście guza oraz utrzymaniu prawidłowej funkcji naczyń krwionośnych [27]. Innym czynnikiem angiogennym indukowanym przez HIF-1 α jest Cyr61 (ang. *cysteine rich protein-61*), którego ekspresję zaobserwowano w komórkach czerniaka. Ciekawym spostrzeżeniem jest fakt, że sama obecność, a nie wiązanie HIF-1 z DNA jest wystarczająca do indukcji Cyr61, co wskazuje na to, że HIF-1 pełni istotną funkcję nie tylko na poziomie wiązania z HRE [45]. Stymulacja angiogenezy wiąże się ze zwiększeniem ryzyka powstawania przerzutów, gdyż komórki nowotworowe mają większą szansę na przedostanie się do układu krążenia [11].

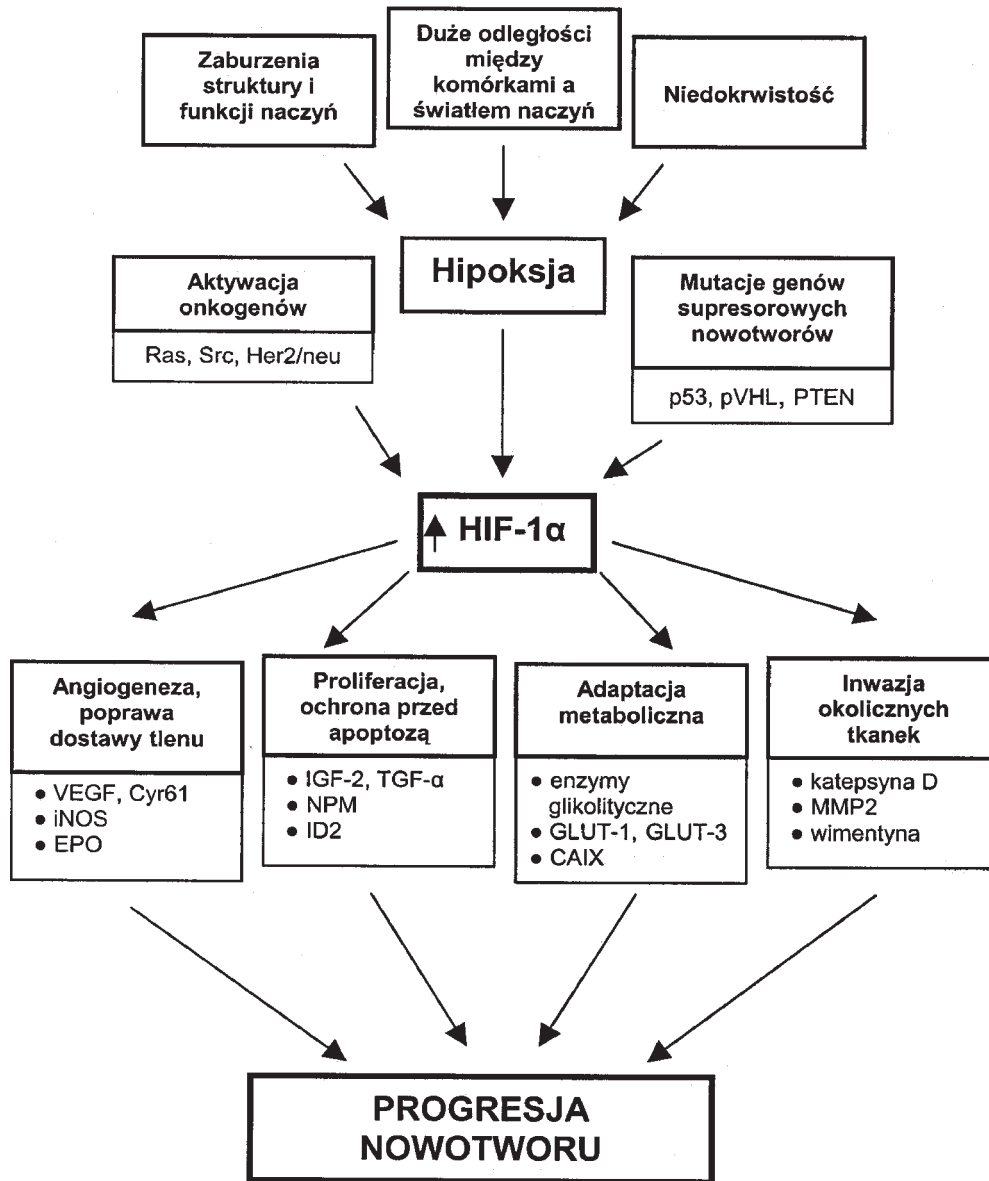
Rola HIF-1 α w progresji nowotworów nie ogranicza się jedynie do stymulacji angiogenezy [68]. Zapewnia on także przystosowanie do funkcjonowania w warunkach zmniejszonej dostępności tlenu oraz ułatwia ich przeżycie i rozprzestrzenianie.

Charakterystyczną cechą nowotworów jest nasilona glikoliza, zjawisko znane jako efekt Warburga. W celu adaptacji do metabolizmu beztlenowego, komórki nowotworowe, dzięki aktywacji HIF-1 α , wykazują zwiększoną ekspresję wszystkich enzymów cyklu glikolitycznego [4]. Dodatkowo HIF-1 α pobudza ekspresję transporterów glukozy oraz CAIX, regulującej poziom pH komórki, zapewniając optymalne dostosowanie do takiej zmiany w metabolizmie.

HIF-1 α jest także w stanie hamować indukowaną przez hipoksję śmierć komórki.

W różnych nowotworach zaobserwowano korelację pomiędzy ekspresją HIF-1 α a spadkiem podatności na apoptozę stymulowaną hipoksją bądź też pozbawieniem substancji odżywczych [2,17]. Okazało się, że HIF-1 α indukuje ekspresję NPM hamującego indukowaną przez hipoksję fosforylację p53 na Ser-15 [52].

Zwiększa on także szybkość proliferacji komórek poprzez indukcję białek ID (ang. *inhibitor of differentiation*) odpowiedzialnych za hamowanie różnicowania komórkowego. Powoduje to ekspansję komórek mniej zróżnicowanych, o wyższym potencjale



RYCINA 5. Rola HIF-1 α w progresji nowotworów. HIF-1 α ulega stałej nadekspresji w komórkach nowotworowych. Przyczynia się do tego stale towarzysząca im hipoksja, a także mutacje genów supresorowych nowotworów oraz aktywacja onkogenów. HIF-1 α odpowiedzialny jest za pobudzenie angiogenezy, adaptację do metabolizmu beztlenowego oraz ochronę komórek przed apoptozą. Dodatkowo ułatwia on naciekanie okolicznych tkanek, poprzez aktywację odpowiednich białek. Te wszystkie czynniki świadczą o tym, jak istotny jest HIF-1 α w progresji nowotworów

mitotycznym [53], których rozprzestrzenianie dodatkowo ułatwione jest przez zwiększenie ekspresji enzymów trawiących macierz zewnątrzkomórkową [44].

Nadekspresja HIF-1 α często wiąże się także z opornością nowotworów na niektóre rutynowo stosowane terapie, takie jak: radioterapia [1], terapia fotodynamiczna [43] czy chemioterapia [19].

Pomimo wielu dowodów przemawiających za istotną funkcją, którą pełni HIF-1 w biologii nowotworów, opublikowano także przypadki paradoksalnie zwolnionego rozwoju nowotworu w warunkach nadekspresji HIF-1 α [74]. Niejasna jest także do końca jego rola w regulacji procesu apoptozy [26]. O ile dobrze poznano mechanizmy regulujące HIF-1 w warunkach fizjologicznych, jego funkcjonowanie w warunkach patologicznych (np. nowotworach) nadal pozostawia wiele niejasności. Niedawno opublikowane badania wskazują istnienie kompensacyjnych szlaków aktywacji angiogenezy, umożliwiające wytworzenie naczyń guza, nawet w przypadku braku ekspresji HIF-1 α w jego komórkach. Istotną rolę w tych procesach przypisuje się interleukinie-8 (IL-8) – jednemu z głównych czynników angiogennych (poza VEGF), wytwarzanych przez niektóre nowotwory [61]. Pomimo pojawiających się kontrowersji i sprzecznych doniesień, dotyczących roli HIF-1 α w biologii nowotworów, jest on bardzo atrakcyjnym celem dla terapii przeciwnowotworowych [8], a lepsze zrozumienie jego funkcji w fizjologii i patologii ma szansę pomóc w walce z nowotworami.

PIŚMIENNICTWO

- [1] AEBERSOLD DM, BURRI P, BEER KT, LAISSUE J, DJONOV V, GREINER RH, SEMENZA GL. Expression of hypoxia-inducible factor-1alpha: a novel predictive and prognostic parameter in the radiotherapy of oropharyngeal cancer. *Cancer Res* 2001; **61**: 2911–2916.
- [2] AKAKURA N, KOBAYASHI M, HORIUCHI I, SUZUKI A, WANG J, CHEN J, NIIZEKI H, KAWAMURA K, HOSOKAWA M, ASAKA M. Constitutive expression of hypoxia-inducible factor-1alpha renders pancreatic cancer cells resistant to apoptosis induced by hypoxia and nutrient deprivation. *Cancer Res* 2001; **61**: 6548–6554.
- [3] ALFRANCA A, GUTIERREZ MD, VARA A, ARAGONES J, VIDAL F, LANDAZURI MO. c-Jun and hypoxia-inducible factor 1 functionally cooperate in hypoxia-induced gene transcription. *Mol Cell Biol* 2002; **22**: 12–22.
- [4] ALTENBERG B, GREULICH KO. Genes of glycolysis are ubiquitously overexpressed in 24 cancer classes. *Genomics* 2004; **84**: 1014–1020.
- [5] BAE MK, AHN MY, JEONG JW, BAE MH, LEE YM, BAE SK, PARK JW, KIM KR, KIM KW. Jab1 interacts directly with HIF-1alpha and regulates its stability. *J Biol Chem* 2002; **277**: 9–12.
- [6] BERCHNER-PFANNSCHMIDT U, PETRAT F, DOEGE K, TRINIDAD B, FREITAG P, METZEN E, DE GROOTH, FANDREY J. Chelation of cellular calcium modulates hypoxia-inducible gene expression through activation of hypoxia-inducible factor-1alpha. *J Biol Chem* 2004; **279**: 44976–44986.
- [7] BIRNER P, SCHINDL M, OBERMAIR A, PLANK C, BREITENECKER G, OBERHUBER G. Overexpression of hypoxia-inducible factor 1alpha is a marker for an unfavorable prognosis in early-stage invasive cervical cancer. *Cancer Res* 2000; **60**: 4693–4696.
- [8] BROWN JM, WILSON WR. Exploiting tumour hypoxia in cancer treatment. *Nat Rev Cancer* 2004; **4**: 437–447.
- [9] BRUICK RK, MCKNIGHT SL. A conserved family of prolyl-4-hydroxylases that modify HIF. *Science* 2001; **294**: 1337–1340.
- [10] CANTRELL DA. Phosphoinositide 3-kinase signalling pathways. *J Cell Sci* 2001; **114**: 1439–1445.
- [11] CARMELIET P, JAIN RK. Angiogenesis in cancer and other diseases. *Nature* 2000; **407**: 249–257.

- [13] CHAN DA, SUTPHIN PD, DENKO NC, GIACCIA AJ. Role of prolyl hydroxylation in oncogenically stabilized hypoxia-inducible factor-1 α . *J Biol Chem* 2002; **277**: 40112–40117.
- [14] CHEN C, PORE N, BEHROOZ A, ISMAIL-BEIGI F, MAITY A. Regulation of glut1 mRNA by hypoxia-inducible factor-1. Interaction between H-ras and hypoxia. *J Biol Chem* 2001; **276**: 9519–9525.
- [15] CHEN D, LI M, LUO J, GU W. Direct interactions between HIF-1 α and Mdm2 modulate p53 function. *J Biol Chem* 2003; **278**: 13595–13598.
- [16] CHUN YS, KIM MS, PARK JW. Oxygen-dependent and -independent regulation of HIF-1 α . *J Korean Med Sci* 2002; **17**: 581–588.
- [17] CHUNG J, YOON S, DATTA K, BACHELDER RE, MERCURIO AM. Hypoxia-induced vascular endothelial growth factor transcription and protection from apoptosis are dependent on α 6 β 1 integrin in breast carcinoma cells. *Cancer Res* 2004; **64**: 4711–4716.
- [18] COMERFORD KM, CUMMINS EP, TAYLOR CT. c-Jun NH2-terminal kinase activation contributes to hypoxia-inducible factor 1 α -dependent P-glycoprotein expression in hypoxia. *Cancer Res* 2004; **64**: 9057–9061.
- [19] COMERFORD KM, WALLACE TJ, KARHAUSEN J, LOUIS NA, MONTALTO MC, COLGAN SP. Hypoxia-inducible factor-1-dependent regulation of the multidrug resistance (MDR1) gene. *Cancer Res* 2002; **62**: 3387–3394.
- [20] DATTA K, LI J, BHATTACHARYA R, GASPARIAN L, WANG E, MUKHOPADHYAY D. Protein kinase C zeta transactivates hypoxia-inducible factor α by promoting its association with p300 in renal cancer. *Cancer Res* 2004; **64**: 456–462.
- [21] FELLS DR, KOUMENIS C. HIF-1 α and p53: the ODD couple? *Trends Biochem Sci* 2005; **30**: 426–429.
- [22] FORSYTHE JA, JIANG BH, IYER NV, AGANI F, LEUNG SW, KOOS RD, SEMENZA GL. Activation of vascular endothelial growth factor gene transcription by hypoxia-inducible factor 1. *Mol Cell Biol* 1996; **16**: 4604–4613.
- [23] GAO N, DING M, ZHENG JZ, ZHANG Z, LEONARD SS, LIU KJ, SHI X, JIANG BH. Vanadate-induced expression of hypoxia-inducible factor 1 α and vascular endothelial growth factor through phosphatidylinositol 3-kinase/Akt pathway and reactive oxygen species. *J Biol Chem* 2002; **277**: 31963–31971.
- [24] GAO N, JIANG BH, LEONARD SS, CORUM L, ZHANG Z, ROBERTS JR, ANTONINI J, ZHENG JZ, FLYNN DC, CASTRANOVA V, SHI X. p38 Signaling-mediated hypoxia-inducible factor 1 α and vascular endothelial growth factor induction by Cr(VI) in DU145 human prostate carcinoma cells. *J Biol Chem* 2002; **277**: 45041–45048.
- [25] GORLACH A, DIEBOLD I, SCHINI-KERTH VB, BERCHNER-PFANNSCHMIDT U, ROTH U, BRANDES RP, KIETZMANN T, BUSSE R. Thrombin activates the hypoxia-inducible factor-1 signaling pathway in vascular smooth muscle cells: Role of the p22(phox)-containing NADPH oxidase. *Circ Res* 2001; **89**: 47–54.
- [26] GREIJER AE, VAN DER WALL E. The role of hypoxia inducible factor 1 (HIF-1) in hypoxia induced apoptosis. *J Clin Pathol* 2004; **57**: 1009–1014.
- [27] GRUNSTEIN J, ROBERTS WG, MATHIEU-COSTELLO O, HANAHAN D, JOHNSON RS. Tumor-derived expression of vascular endothelial growth factor is a critical factor in tumor expansion and vascular function. *Cancer Res* 1999; **59**: 1592–1598.
- [28] GRZENKOWICZ-WYDRA J, CISOWSKI J, NAKONIECZNA J, ZAREBSKI A, UDILOVA N, NOHL H, JOZKOWICZ A, PODHAJSKA A, DULAK J. Gene transfer of CuZn superoxide dismutase enhances the synthesis of vascular endothelial growth factor. *Mol Cell Biochem* 2004; **264**: 169–181.
- [29] HAGEN T, TAYLOR CT, LAM F, MONCADA S. Redistribution of intracellular oxygen in hypoxia by nitric oxide: effect on HIF 1 α . *Science* 2003; **302**: 1975–1978.
- [30] HOFER T, DESBAILLETS I, HOPFL G, GASSMANN M, WENGER RH. Dissecting hypoxia-dependent and hypoxia-independent steps in the HIF-1 α activation cascade: implications for HIF-1 α gene therapy. *Faseb J* 2001; **15**: 2715–2717.
- [31] HOPFL G, WENGER RH, ZIEGLER U, STALLMACH T, GARDELLE O, ACHERMANN R, WERGIN M, KASER-HOTZ B, SAUNDERS HM, WILLIAMS KJ, STRATFORD IJ, GASSMANN M, DESBAILLETS I. Rescue of hypoxia-inducible factor-1 α -deficient tumor growth by wild-type cells is independent of vascular endothelial growth factor. *Cancer Res* 2002; **62**: 2962–2970.
- [32] HUANG LE, GU J, SCHAUM M, BUNN HF. Regulation of hypoxia-inducible factor 1 α is mediated by an O₂-dependent degradation domain via the ubiquitin-proteasome pathway. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998; **95**: 7987–7992.

- [33] HUI EP, CHAN AT, PEZZELLA F, TURLEY H, TO KF, POON TC, ZEE B, MO F, TEO PM, HUANG DP, GATTER KC, JOHNSON PJ, HARRIS AL. Coexpression of hypoxia-inducible factors 1 α and 2 α , carbonic anhydrase IX, and vascular endothelial growth factor in nasopharyngeal carcinoma and relationship to survival. *Clin Cancer Res* 2002; **8**: 2595–2604.
- [34] ISAACS JS, JUNG YJ, MIMNAUGH EG, MARTINEZ A, CUTTITTA F, NECKERS LM. Hsp90 regulates a von Hippel Lindau-independent hypoxia-inducible factor-1 α -degradative pathway. *J Biol Chem* 2002; **277**: 29936–29944.
- [35] ISAACS JS, JUNG YJ, NECKERS L. Aryl hydrocarbon nuclear translocator (ARNT) promotes oxygen-independent stabilization of hypoxia-inducible factor-1 α by modulating an Hsp90-dependent regulatory pathway. *J Biol Chem* 2004; **279**: 16128–16135.
- [36] JAAKKOLA P, MOLE DR, TIAN YM, WILSON MI, GIELBERT J, GASKELL SJ, KRIEGSHEIM A, HEBESTREIT HF, MUKHERJI M, SCHOFIELD CJ, MAXWELL PH, PUGH CW, RATCLIFFE PJ. Targeting of HIF-1 α to the von Hippel-Lindau ubiquitylation complex by O₂-regulated prolyl hydroxylation. *Science* 2001; **292**: 468–472.
- [37] JEONG JW, BAE MK, AHN MY, KIM SH, SOHN TK, BAE MH, YOO MA, SONG EJ, LEE KJ, KIM KW. Regulation and destabilization of HIF-1 α by ARD1-mediated acetylation. *Cell* 2002; **111**: 709–720.
- [38] JIANG BH, JIANG G, ZHENG JZ, LU Z, HUNTER T, VOGT PK. Phosphatidylinositol 3-kinase signaling controls levels of hypoxia-inducible factor 1. *Cell Growth Differ* 2001; **12**: 363–369.
- [39] KARNI R, DOR Y, KESHET E, MEYUHAS O, LEVITZKI A. Activated pp60c-Src leads to elevated hypoxia-inducible factor (HIF)-1 α expression under normoxia. *J Biol Chem* 2002; **277**: 42919–42925.
- [40] KASUNO K, TAKABUCHI S, FUKUDA K, KIZAKA-KONDOH S, YODOI J, ADACHI T, SEMENZA GL, HIROTA K. Nitric oxide induces hypoxia-inducible factor 1 activation that is dependent on MAPK and phosphatidylinositol 3-kinase signaling. *J Biol Chem* 2004; **279**: 2550–2558.
- [41] KIMURA H, WEISZ A, OGURA T, HITOMI Y, KURASHIMA Y, HASHIMOTO K, D'ACQUISTO F, MAKUUCHI M, ESUMI H. Identification of hypoxia-inducible factor 1 ancillary sequence and its function in vascular endothelial growth factor gene induction by hypoxia and nitric oxide. *J Biol Chem* 2001; **276**: 2292–2298.
- [42] KOSHIIJI M, TO KK, 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**: 793–803.
- [43] KOUKOURAKIS M, GIATROMANOLAKI A, SKARLATOS J, CORTI L, BLANDAMURA S, PIAZZA M, GATTER KC, HARRIS AL. Hypoxia inducible factor (HIF-1 α and HIF-2 α) expression in early esophageal cancer and response to photodynamic therapy and radiotherapy. *Cancer Res* 2001; **61**: 1830–1832.
- [44] KRISHNAMACHARY B, BERG-DIXON S, KELLY B, AGANI F, FELDSER D, FERREIRA G, IYER N, LARUSCH J, PAK B, TAGHAVI P, SEMENZA GL. Regulation of colon carcinoma cell invasion by hypoxia-inducible factor 1. *Cancer Res* 2003; **63**: 1138–1143.
- [45] KUNZ M, MOELLER S, KOCZAN D, LORENZ P, WENGER RH, GLOCKER MO, THIESEN HJ, GROSS G, IBRAHIM SM. Mechanisms of hypoxic gene regulation of angiogenesis factor Cyr61 in melanoma cells. *J Biol Chem* 2003; **278**: 45651–45660.
- [46] LANDO D, PEET DJ, GORMAN JJ, WHELAN DA, WHITELAW ML, BRUICK RK. FIH-1 is an asparaginyl hydroxylase enzyme that regulates the transcriptional activity of hypoxia-inducible factor. *Genes Dev* 2002; **16**: 1466–1471.
- [47] LANDO D, PEET DJ, WHELAN DA, GORMAN JJ, WHITELAW ML. Asparagine hydroxylation of the HIF transactivation domain a hypoxic switch. *Science* 2002; **295**: 858–861.
- [48] LAUGHNER E, TAGHAVI P, CHILES K, MAHON PC, SEMENZA GL. HER2 (neu) signaling increases the rate of hypoxia-inducible factor 1 α (HIF-1 α) synthesis: novel mechanism for HIF-1-mediated vascular endothelial growth factor expression. *Mol Cell Biol* 2001; **21**: 3995–4004.
- [49] LEE E, YIM S, LEE SK, PARK H. Two transactivation domains of hypoxia-inducible factor-1 α regulated by the MEK-1/p42/p44 MAPK pathway. *Mol Cells* 2002; **14**: 9–15.
- [50] LEE SR, YANG KS, KWON J, LEE C, JEONG W, RHEE SG. Reversible inactivation of the tumor suppressor PTEN by H₂O₂. *J Biol Chem* 2002; **277**: 20336–20342.
- [51] LI J, DAVIDSON G, HUANG Y, JIANG BH, SHI X, COSTA M, HUANG C. Nickel compounds act through phosphatidylinositol-3-kinase/Akt-dependent, p70(S6k)-independent pathway to induce hypoxia inducible factor transactivation and Cap43 expression in mouse epidermal C141 cells. *Cancer Res* 2004; **64**: 94–101.
- [52] LI J, ZHANG X, SEJAS DP, BAGBY GC, PANG Q. Hypoxia-induced nucleophosmin protects cell death through inhibition of p53. *J Biol Chem* 2004; **279**: 41275–41279.

- [53] LOFSTEDT T, JOGI A, SIGVARDSSON M, GRADIN K, POELLINGER L, PAHLMAN S, AXELSON H. Induction of ID2 expression by hypoxia-inducible factor-1: a role in dedifferentiation of hypoxic neuroblastoma cells. *J Biol Chem* 2004; **279**: 39223–39231.
- [54] MAHON PC, HIROTA K, SEMENZA GL. FIH-1: a novel protein that interacts with HIF-1alpha and VHL to mediate repression of HIF-1 transcriptional activity. *Genes Dev* 2001; **15**: 2675–2686.
- [55] MASSON N, WILLAM C, MAXWELL PH, PUGH CW, RATCLIFFE PJ. Independent function of two destruction domains in hypoxia-inducible factor-alpha chains activated by prolyl hydroxylation. *Embo J* 2001; **20**: 5197–5206.
- [56] MAXWELL PH, WIESENER MS, CHANG GW, CLIFFORD SC, VAUX EC, COCKMAN ME, WYKOFF CC, PUGH CW, MAHER ER, RATCLIFFE PJ. The tumour suppressor protein VHL targets hypoxia-inducible factors for oxygen-dependent proteolysis. *Nature* 1999; **399**: 271–275.
- [57] MAYERHOFER M, VALENT P, SPERR WR, GRIFFIN JD, SILLABER C. BCR/ABL induces expression of vascular endothelial growth factor and its transcriptional activator, hypoxia inducible factor-1alpha, through a pathway involving phosphoinositide 3-kinase and the mammalian target of rapamycin. *Blood* 2002; **100**: 3767–3775.
- [58] METZEN E, ZHOU J, JELKMANN W, FANDREY J, BRUNE B. Nitric oxide impairs normoxic degradation of HIF-1alpha by inhibition of prolyl hydroxylases. *Mol Biol Cell* 2003; **14**: 3470–3481.
- [59] MIN JH, YANG H, IVAN M, GERTLER F, KAELIN WG, JR., PAVLETICH NP. Structure of an HIF-1alpha-pVHL complex: hydroxyproline recognition in signaling. *Science* 2002; **296**: 1886–1889.
- [60] MINET E, ARNOULD T, MICHEL G, ROLAND I, MOTTET D, RAES M, REMACLE J, MICHIELS C. ERK activation upon hypoxia: involvement in HIF-1 activation. *FEBS Lett* 2000; **468**: 53–58.
- [61] MIZUKAMI Y, JO WS, DUERR EM, GALA M, LI J, ZHANG X, ZIMMER MA, ILIOPOULOS O, ZUKERBERG LR, KOHGO Y, LYNCH MP, RUEDA BR, CHUNG DC. Induction of interleukin-8 preserves the angiogenic response in HIF-1alpha-deficient colon cancer cells. *Nat Med* 2005; **11**: 992–997.
- [62] MOTTET D, DUMONT V, DECCACHE Y, DEMAZY C, NINANE N, RAES M, MICHIELS C. Regulation of hypoxia-inducible factor-1alpha protein level during hypoxic conditions by the phosphatidylinositol 3-kinase/Akt/glycogen synthase kinase 3beta pathway in HepG2 cells. *J Biol Chem* 2003; **278**: 31277–31285.
- [63] NIKINMAA M, PURSIHEIMO S, SOITAMO AJ. Redox state regulates HIF-1alpha and its DNA binding and phosphorylation in salmonid cells. *J Cell Sci* 2004; **117**: 3201–3206.
- [64] OEHME F, ELLINGHAUS P, KOLKHOF P, SMITH TJ, RAMAKRISHNAN S, HUTTER J, SCHRAMM M, FLAMME I. Overexpression of PH-4, a novel putative proline 4-hydroxylase, modulates activity of hypoxia-inducible transcription factors. *Biochem Biophys Res Commun* 2002; **296**: 343–349.
- [65] PAGE EL, ROBITAILLE GA, POUYSSEGUR J, RICHARD DE. Induction of hypoxia-inducible factor-1alpha by transcriptional and translational mechanisms. *J Biol Chem* 2002; **277**: 48403–48409.
- [66] PARK JH, KIM TY, JONG HS, CHUN YS, PARK JW, LEE CT, JUNG HC, KIM NK, BANG YJ. Gastric epithelial reactive oxygen species prevent normoxic degradation of hypoxia-inducible factor-1alpha in gastric cancer cells. *Clin Cancer Res* 2003; **9**: 433–440.
- [67] RICHARD DE, BERRA E, GOTHIE E, ROUX D, POUYSSEGUR J. p42/p44 mitogen-activated protein kinases phosphorylate hypoxia-inducible factor 1alpha (HIF-1alpha) and enhance the transcriptional activity of HIF-1. *J Biol Chem* 1999; **274**: 32631–32637.
- [68] RYAN HE, POLONI M, MCNULTY W, ELSON D, GASSMANN M, ARBEIT JM, JOHNSON RS. Hypoxia-inducible factor-1alpha is a positive factor in solid tumor growth. *Cancer Res* 2000; **60**: 4010–4015.
- [69] SALNIKOW K, DONALD SP, BRUICK RK, ZHITKOVICH A, PHANG JM, KASPRZAK KS. Depletion of intracellular ascorbate by the carcinogenic metals nickel and cobalt results in the induction of hypoxic stress. *J Biol Chem* 2004; **279**: 40337–40344.
- [70] SANCHEZ-PUIG N, VEPRINTSEV DB, FERSHT AR. Binding of natively unfolded HIF-1alpha ODD domain to p53. *Mol Cell* 2005; **17**: 11–21.
- [71] SANDAU KB, FANDREY J, BRUNE B. Accumulation of HIF-1alpha under the influence of nitric oxide. *Blood* 2001; **97**: 1009–1015.
- [72] SANDAU KB, ZHOU J, KIETZMANN T, BRUNE B. Regulation of the hypoxia-inducible factor 1alpha by the inflammatory mediators nitric oxide and tumor necrosis factor-alpha in contrast to desferroxamine and phenylarsine oxide. *J Biol Chem* 2001; **276**: 39805–39811.
- [73] SANG N, STIEHL DP, BOHENSKY J, LESHCHINSKY I, SRINIVAS V, CARO J. MAPK signaling up-regulates the activity of hypoxia-inducible factors by its effects on p300. *J Biol Chem* 2003; **278**: 14013–14019.

- [74] SAVAI R, SCHERMULY RT, VOSWINCKEL R, RENIGUNTA A, REICHMANN B, EUL B, GRIMMINGER F, SEEGER W, ROSE F, HANZE J. HIF-1 α attenuates tumor growth in spite of augmented vascularization in an A549 adenocarcinoma mouse model. *Int J Oncol* 2005; **27**: 393–400.
- [75] SCHMID T, ZHOU J, BRUNE B. HIF-1 and p53: communication of transcription factors under hypoxia. *J Cell Mol Med* 2004; **8**: 423–431.
- [76] SCHMID T, ZHOU J, KOHL R, BRUNE B. p300 relieves p53-evoked transcriptional repression of hypoxia-inducible factor-1 (HIF-1). *Biochem J* 2004; **380**: 289–295.
- [77] SEMENZA GL, WANG GL. A nuclear factor induced by hypoxia via *de novo* protein synthesis binds to the human erythropoietin gene enhancer at a site required for transcriptional activation. *Mol Cell Biol* 1992; **12**: 5447–5454.
- [78] SHEMIRANI B, CROWE DL. Hypoxic induction of HIF-1 α and VEGF expression in head and neck squamous cell carcinoma lines is mediated by stress activated protein kinases. *Oral Oncol* 2002; **38**: 251–257.
- [79] SHI YH, WANG YX, BINGLE L, GONG LH, HENG WJ, LI Y, FANG WG. *In vitro* study of HIF-1 activation and VEGF release by bFGF in the T47D breast cancer cell line under normoxic conditions: involvement of PI-3K/Akt and MEK1/ERK pathways. *J Pathol* 2005; **205**: 530–536.
- [80] SKINNER HD, ZHENG JZ, FANG J, AGANI F, JIANG BH. Vascular endothelial growth factor transcriptional activation is mediated by hypoxia-inducible factor 1 α , HDM2, and p70S6K1 in response to phosphatidylinositol 3-kinase/AKT signaling. *J Biol Chem* 2004; **279**: 45643–45651.
- [81] SODHI A, MONTANER S, PATEL V, ZOHAR M, BAIS C, MESRI EA, GUTKIND JS. The Kaposi's sarcoma-associated herpes virus G protein-coupled receptor up-regulates vascular endothelial growth factor expression and secretion through mitogen-activated protein kinase and p38 pathways acting on hypoxia-inducible factor 1 α . *Cancer Res* 2000; **60**: 4873–4880.
- [82] STOKLOSA T, GOLAB J. Prospects for p53-based cancer therapy. *Acta Biochim Pol* 2005; **52**: 321–328.
- [83] TANIMOTO K, MAKINO Y, PEREIRA T, POELLINGER L. Mechanism of regulation of the hypoxia-inducible factor-1 α by the von Hippel-Lindau tumor suppressor protein. *Embo J* 2000; **19**: 4298–4309.
- [84] TREINS C, GIORGETTI-PERALDI S, MURDACA J, SEMENZA GL, VAN OBBERGHEN E. Insulin stimulates hypoxia-inducible factor 1 through a phosphatidylinositol 3-kinase/target of rapamycin-dependent signaling pathway. *J Biol Chem* 2002; **277**: 27975–27981.
- [85] UM JH, KANG CD, BAE JH, SHIN GG, KIM DO W, KIM DW, CHUNG BS, KIM SH. Association of DNA-dependent protein kinase with hypoxia inducible factor-1 and its implication in resistance to anticancer drugs in hypoxic tumor cells. *Exp Mol Med* 2004; **36**: 233–242.
- [86] VAUPEL P. The role of hypoxia-induced factors in tumor progression. *Oncologist* 2004; **9** Suppl 5: 10–17.
- [87] VAUPEL P, HARRISON L. Tumor hypoxia: causative factors, compensatory mechanisms, and cellular response. *Oncologist* 2004; **9** Suppl 5: 4–9.
- [88] WELSH SJ, BELLAMY WT, BRIEHL MM, POWIS G. The redox protein thioredoxin-1 (Trx-1) increases hypoxia-inducible factor 1 α protein expression: Trx-1 overexpression results in increased vascular endothelial growth factor production and enhanced tumor angiogenesis. *Cancer Res* 2002; **62**: 5089–5095.
- [89] WELSH SJ, WILLIAMS RR, BIRMINGHAM A, NEWMAN DJ, KIRKPATRICK DL, POWIS G. The thioredoxin redox inhibitors 1-methylpropyl 2-imidazolyl disulfide and pleurotin inhibit hypoxia-induced factor 1 α and vascular endothelial growth factor formation. *Mol Cancer Ther* 2003; **2**: 235–243.
- [90] WENGER RH. Cellular adaptation to hypoxia: O₂-sensing protein hydroxylases, hypoxia-inducible transcription factors, and O₂-regulated gene expression. *Faseb J* 2002; **16**: 1151–1162.
- [91] WIESENER MS, MUNCHENHAGEN PM, BERGER I, MORGAN NV, ROIGAS J, SCHWIERTZ A, JURGENSEN JS, GRUBER G, MAXWELL PH, LONING SA, FREI U, MAHER ER, GRONE HJ, ECKARDT KU. Constitutive activation of hypoxia-inducible genes related to overexpression of hypoxia-inducible factor-1 α in clear cell renal carcinomas. *Cancer Res* 2001; **61**: 5215–5222.
- [92] YOO YG, YEO MG, KIM DK, PARK H, LEE MO. Novel function of orphan nuclear receptor Nur77 in stabilizing hypoxia-inducible factor-1 α . *J Biol Chem* 2004; **279**: 53365–53373.
- [93] ZAGORSKA A, DULAK J. HIF-1: the knowns and unknowns of hypoxia sensing. *Acta Biochim Pol* 2004; **51**: 563–585.
- [94] ZHANG W, LIU HT. MAPK signal pathways in the regulation of cell proliferation in mammalian cells. *Cell Res* 2002; **12**: 9–18.
- [95] 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**: 1541–1545.

- [96] ZHONG H, DE MARZO AM, LAUGHNER E, LIM M, HILTON DA, ZAGZAG D, BUECHLER P, ISAACS WB, SEMENZA GL, SIMONS JW. Overexpression of hypoxia-inducible factor 1alpha in common human cancers and their metastases. *Cancer Res* 1999; **59**: 5830–5835.
- [97] ZHOU J, SCHMID T, FRANK R, BRUNE B. PI3K/Akt is required for heat shock proteins to protect hypoxia-inducible factor 1alpha from pVHL-independent degradation. *J Biol Chem* 2004; **279**: 13506–13513.
- [98] ZUNDEL W, SCHINDLER C, HAAS-KOGAN D, KOONG A, KAPER F, CHEN E, GOTTSCHALK AR, RYAN HE, JOHNSON RS, JEFFERSON AB, STOKOE D, GIACCIA AJ. Loss of PTEN facilitates HIF-1-mediated gene expression. *Genes Dev* 2000; **14**: 391–396.

Redaktor prowadzący – Jerzy Kawiak

Otrzymano: 05.11.2005 r.

Przyjęto: 15.11.2005 r.

ul. Banacha 1a, Blok F, 02-097 Warszawa

e-mail: kkrzyna@ib.amwaw.edu.pl

e-mail: tstoklosa@ib.amwaw.edu.pl

