

## فاکتور القا شونده به‌وسیله هیپوکسی: نقش آن در آنژیوژنز و سرطان

### چکیده

دریافت: ۱۳۹۴/۰۶/۱۴ پذیرش: ۱۳۹۴/۰۸/۰۴ آنلاین: ۱۳۹۴/۱۱/۲۸

مژگان جهانی<sup>۱</sup>

محمد حسین مدرسی<sup>۳</sup>

کامران منصوری<sup>۱،۳\*</sup>

۱- مرکز تحقیقات بیولوژی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، کرمانشاه، ایران.

۲- گروه بیولوژی، دانشکده علوم، دانشگاه رازی کرمانشاه، کرمانشاه، ایران.

۳- گروه پزشکی مولکولی، دانشکده فناوری‌های نوین، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران.

\* نویسنده مسئول: کرمانشاه، سرخه لیزه، بلوار پرستار، مرکز تحقیقات بیولوژی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، کدپستی ۶۷۱۵۵-۱۶۱۶

تلفن: ۰۸۳-۳۴۲۷۶۴۷۳

E-mail: kmansouri@kums.ac.ir

فرایند هیپوکسی یا عدم تعادل بین میزان اکسیژن در دسترس با اکسیژن مصرفی، به‌طور معمول در سرطان و بیماری‌های ایسکمی قلبی-عروقی رخ می‌دهد. در سلول‌های توموری به‌منظور سازگاری با این شرایط بیان ژن‌هایی که بیشتر در آنژیوژنز، چرخه‌ی سلول و متابولیسم آن نقش دارند توسط فاکتور القا شونده با هیپوکسی-۱ (HIF-1) تنظیم و کنترل می‌شود. به‌تازگی توصیف ویژگی‌های مولکولی مسیرهای آنژیوژنیکی، این فاکتور را به‌عنوان یک فاکتور کلیدی تنظیم‌کننده رونویسی از این مولکول‌ها معرفی می‌کند. در این پژوهش مروری در ابتدا ساختار و ویژگی‌های HIF-1 بررسی و سپس به نقش آن در آنژیوژنز و سرطان به‌عنوان یکی از موارد پاتولوژیک مرتبط با آنژیوژنز و در نهایت کاربردهای درمانی آن پرداخته شده است. در این پژوهش، مقالات مرتبط با نقش هیپوکسی و HIF-1 در آنژیوژنز و سرطان به‌واسطه فعال‌سازی ژن‌های درگیر در این فرایندها جستجو و در این پژوهش استفاده شدند. پژوهش‌ها نشان می‌دهد که HIF-1 با فعال‌سازی و تنظیم بیان ژن‌هایی مانند فاکتور رشد اندوتلیال عروق (VEGF)، آنژیوپوئین ۱ (Ang-1)، آنژیوپوئین ۲ (Ang-2) و غیره سبب القای فرایند رگ‌زایی در سلول‌های توموری می‌شود. همچنین با فعال‌سازی و تنظیم بیان ژن‌های فاکتور رشد شبه‌انسولینی ۲ (IGF2) و فاکتور تغییرشکل دهنده (TGF- $\alpha$ ) و نیز فعال کردن مسیر پیام‌رسانی MAPK و PI3K افزایش بقا و تکثیر سلول‌های توموری را پیش می‌برد. HIF-1 با فعال‌سازی ژن‌های مهم دخیل در رگ‌زایی و همچنین فعال کردن مسیرهای پیام‌رسانی مرتبط با بقا و تکثیر سلول در پایداری و رشد تومور نقش مهمی را ایفا می‌کند. بنابراین شناخت بیشتر مکانیسم‌های مولکولی مرتبط با این فاکتور می‌تواند در درمان سرطان موثر باشد.

**کلمات کلیدی:** هیپوکسی، سرطان، آنژیوژنز، متاستاز.

### مقدمه

می‌شوند.<sup>۱-۳</sup> آنژیوژنز فرایند تشکیل عروق جدید از عروق از پیش تشکیل‌شده و مهم‌ترین مکانیسم برای تامین احتیاجات سلول‌هایی است که در فاصله دورتری از عروق خونی موجود قرار دارند.<sup>۴</sup> اگرچه آنژیوژنز برای بسیاری از فرایندهای فیزیولوژیکی مثل رشد و تکوین، ترمیم زخم و تولیدمثل ضروری می‌باشد، اما در شرایط پاتولوژیک مانند رشد تومور، متاستاز و خیلی از بیماری‌های مزمن نیز نقش مهمی ایفا می‌کند.<sup>۵</sup> فاکتورهای مختلفی در تنظیم این فرایند در شرایط پاتولوژیک مانند سرطان نقش دارند که می‌توان به HIF-1

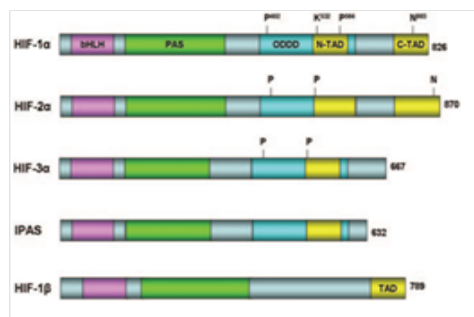
سرطان به‌عنوان رشد کنترل‌نشده سلول‌های غیرنرمال تعریف می‌شود. براساس پژوهش‌های انجام‌شده زمانی که اندازه تومور به حد مشخصی به‌طور مثال حدود  $1 \text{ mm}^3$  می‌رسد با کمبود مواد غذایی و اکسیژن (هیپوکسی) مواجه می‌گردد. تحت این شرایط سلول‌های توموری با به‌کارگیری سلول‌های اندوتلیال اطراف و فرایند آنژیوژنز قادر به تامین احتیاجات متابولیکی و دفع مواد سمی از محیط خود

هورمون محرک تکثیر اریتروسیت در شرایط هیپوکسی است، شناسایی گردید و مشخص شد که رونویسی از آن تحت شرایط هیپوکسی حدود صد برابر افزایش می‌یابد.<sup>۱۶-۱۴</sup> Semenza و همکاران جایگاه اتصال اختصاصی برای فعالیت القایی به‌وسیله هیپوکسی را شناسایی نموده و وجود یک فاکتور القاونده توسط هیپوکسی در این جایگاه را نشان دادند.<sup>۱۷</sup> و سرانجام در سال ۱۹۹۵ این فاکتور توسط این افراد شناسایی شده، تخلیص گردید و HIF-1 نامیده شد.<sup>۱۸</sup>

HIF-1 یک پروتئین هتروداپمر متشکل از یک زیرواحد القاونده به‌وسیله هیپوکسی به نام HIF-1 $\alpha$  و زیرواحد دیگری به نام HIF-1 $\beta$  است که به‌صورت دایم در سلول بیان می‌شود.<sup>۱۸</sup>

در ابتدا HIF-1 $\beta$  به‌عنوان یک انتقال‌دهنده آریل هیدروکربن هسته‌ای شناسایی شد و مشخص گردید که این زیر واحد یک جزء اتصال‌یافته به گیرنده آریل هیدروکربن است، در حالی که HIF-1 $\alpha$  یک پروتئین تازه شناخته‌شده می‌باشد و به‌شکل منحصر به فردی در بیان ژن‌های مربوط به سازش به شرایط هیپوکسی نقش دارد.<sup>۱۹</sup>

زیرواحدهای پروتئین HIF-1 متعلق به خانواده پروتئینی هلیکس-لپ-هلیکس جابه‌جا‌کننده هسته‌ای (bHLH-PAS) می‌باشند که موتیف‌های bHLH و PAS در ساختار آن‌ها برای تشکیل هتروداپمر در بین این زیرواحدها<sup>۲۰</sup> و ایجاد یک ناحیه اصلی در پایین دست برای



شکل ۱: ساختار دومینی HIF-1 $\alpha$  و HIF-1 $\beta$  در انسان

HIF-1 $\alpha$ , HIF-2 $\alpha$ , HIF-3 $\alpha$ , IPAS) دارای دومین ODDD بوده که در تنظیم وابسته به اکسیژن آن از طریق هیدروکسیلاسیون دو باقیمانده پرولین (P) و استیلاسیون یک باقیمانده لیزین (K) نقش دارد. باقیمانده پرولین در HIF-2 $\alpha$ , HIF-3 $\alpha$  نیز حفظ شده است. HIF-1 $\alpha$  و HIF-2 $\alpha$  دارای دو دومین ترانس اکتیواسیون (N-TAD و C-TAD) در انتهای کربوکسیلی خود می‌باشند در حالی که در HIF-1 $\beta$  فقط یک TAD وجود دارد. تعداد کلی آمینوسیدهای هر زیرواحد در مقابل آن آورده شده است.

اشاره کرد. این فاکتور که در شرایط هیپوکسی فعال می‌شود، پروتئین هتروداپمر است و در بیان خیلی از ژن‌هایی که باعث سازش سلول به شرایط هیپوکسی می‌گردند نقش دارد. توانایی حفظ هموستازی اکسیژن برای بقای تمام گونه‌های مهره‌دار و بی‌مهره ضروری است. سیستم‌های فیزیولوژیکی به‌منظور اطمینان از اکسیژن‌رسانی بهینه به تمام سلول‌ها در تمام گونه‌های چند سلولی تکامل یافته‌اند. در مقایسه با بی‌مهرگان افزایش قابل توجه اندازه‌ی بدن در انسان و دیگر مهره‌داران با توسعه یک زیرساخت فیزیولوژیکی پیچیده برای تحویل اکسیژن مرتبط است که شامل ریه‌ها، قلب، عروق خونی و گلوبول‌های قرمز می‌باشد.<sup>۷،۶</sup>

تنظیم آنژیوژنز به‌وسیله هیپوکسی جز مهمی از مکانیسم‌های هموستاتیک است که تامین اکسیژن به‌وسیله عروق را به نیازهای متابولیکی مرتبط می‌نماید.<sup>۹،۸</sup> در تومورها دسترسی به اکسیژن و مواد غذایی توسط رقابت بین سلول‌هایی که به‌سرعت در حال تکثیر هستند محدود شده و انتشار متابولیت‌ها نیز به‌علت فشار بین بافتی بالا مهار می‌گردد.<sup>۱۰</sup> در پاسخ به هیپوکسی درون توموری، فاکتورهای تحریک‌کننده آنژیوژنز تولیدشده توسط سلول‌های توموری، شکل‌گیری یک منبع خونی جدید را از عروق خونی موجود القا می‌کنند که برای زنده ماندن و تکثیر سلول‌های توموری در یک محیط با شرایط نامناسب برای رشد و تکثیر، ضروری می‌باشد.<sup>۱۱-۱۳</sup>

در زخم‌ها آسیب مویرگی ایجاد شده باعث ایجاد یک محیط هیپوکسیک می‌شود و تغییر در میزان اکسیژن‌رسانی در محل زخم سبب تغییر در پاسخ‌های آنژیوژنیک ترمیمی می‌گردد.<sup>۱۳</sup> بنابراین هیپوکسی به‌عنوان یک فاکتور مهم در آنژیوژنز در شرایط فیزیولوژیکی و پاتولوژیک عمل می‌کند.

نتایج به‌دست‌آمده از پژوهش‌های انجام‌شده گویای نقش HIF-1 در تنظیم پاسخ سلول‌های توموری به شرایط هیپوکسی از طریق تنظیم بیان ژن‌های درگیر در آنژیوژنز و در نتیجه کمک به رشد و متاستاز آن‌ها به بافت‌های اطراف می‌باشد. بنابراین پیش از بیان مطالعات صورت گرفته در این موارد بایستی به بررسی ساختار و ویژگی‌های HIF-1 جهت فهم بهتر نقش آن در سرطان پردازیم.

پیش از کشف HIF-1 به‌عنوان یک فاکتور القاونده به‌وسیله هیپوکسی، یک عامل پاسخ به هیپوکسی (HRE; 5, -RCGTG-3') در ناحیه ۳' مربوط به ژن اریتروپوئین (EPO)، که محصول آن یک

برهمکنش داشته و با ممانعت از اتصال آن به DNA به عنوان یک تنظیم‌کننده منفی غالب HIF-1 $\alpha$  عمل می‌کند.<sup>۳۰</sup> مطالعات و تحقیقات فراوانی بر روی HIF-1 $\alpha$  و HIF-2 $\alpha$  انجام شده است در حالی‌که در مورد HIF-3 $\alpha$  و دیگر ایزوفرم‌های HIF مطالعه‌های کمی وجود دارند.

اگرچه HIF-1 $\beta$  به‌طور دایم در سلول بیان می‌شود و سطح mRNA و پروتیین آن صرف‌نظر از میزان اکسیژن در دسترس ثابت باقی می‌ماند،<sup>۳۱</sup> اما پروتیین HIF-1 $\alpha$  نیمه عمر کوتاهی داشته (t<sub>1/2</sub>~5min) و مقدار آن به شدت به وسیله اکسیژن تنظیم می‌گردد.<sup>۳۲</sup> سنتز و رونویسی HIF-1 $\alpha$  در سلول به‌صورت طبیعی انجام می‌شود و در ظاهر تحت تاثیر اکسیژن قرار نمی‌گیرد.<sup>۳۳،۳۴</sup> از مسیرهایی که سبب تولید سطوح فعال از HIF در سلول می‌گردند می‌توان به مسیر فسفاتیدیل اینوزیتید-3-کیناز/AKT/PI3K / فاکتور هدف راپامایسین در پستانداران (mTOR) و مسیر پروتیین کیناز فعال‌شده‌ی میتوزن اشاره کرد که بر روی پروتیین‌های متصل به کیناز p70S6 و eIF-4E با هم همگرا شده و باعث افزایش ترجمه از mRNAهای HIF- $\alpha$  می‌گردند.<sup>۳۵-۳۶</sup>

با این وجود در حالت نرموکسی تجزیه پروتیین‌های HIF-1 $\alpha$  منجر به ایجاد یک سطح غیر قابل تشخیص از این فاکتور می‌شوند،<sup>۳۰</sup> در حالی‌که در شرایط هیپوکسی HIF-1 $\alpha$  پایدار شده و پس از انتقال آن از سیتوپلاسم به هسته و ایجاد دایمر با HIF-1 $\beta$  کمپلکس فعال رونویسی HIF-1 تشکیل می‌گردد. در مرحله بعد این کمپلکس فعال‌شده در نواحی تنظیمی ژن‌های هدف به HREها متصل و با اتصالش به کوآکتیواتورهای رونویسی باعث القای بیان ژن‌های هدف می‌گردد.<sup>۳۷</sup> تنظیم دقیق و شدید پایداری و عملکرد ترانس اکتیواسیون HIF-1 $\alpha$  به‌طور عمده توسط تغییرات ایجاد شده در آن پس از رونویسی، مانند هیدروکسیلاسیون، یوبی‌کویتیناسیون، استیلاسیون و فسفریلاسیون کنترل می‌شود که این تغییرات ایجاد شده به‌طور معمول در چندین دومین مختلف مربوط به آن صورت می‌گیرد.<sup>۳۸</sup>

در شرایط نرموکسی هیدروکسیلاسیون ۲ باقی مانده پرولین و استیلاسیون یک باقی مانده لیزین درون دومین تجزیه‌کننده وابسته به اکسیژن (ODDD) سبب پیشبرد و افزایش میانکنش بین HIF-1 $\alpha$  با کمپلکس وان هیپیل-لیندو (pVHL) یوبی کویتین لیگاز E3 می‌گردد. کمپلکس pVHL، HIF-1 $\alpha$  را به یوبی کویتین متصل نموده و از این

اتصال ویژه به توالی HRE در DNA نیاز هستند.<sup>۳۱</sup>

در انسان سه ایزومر مختلف از HIF $\alpha$  به نام‌های HIF-1 $\alpha$ ، HIF-2 $\alpha$  و HIF-3 $\alpha$  وجود دارد (شکل ۱). HIF-1 $\alpha$  و HIF-2 $\alpha$  به ترتیب توسط ژن‌های HIF1A، EPAS1 و HIF3A به صورت واریانت‌های مختلف حاصل از اسپلایسینگ HIF1 $\alpha$  کد می‌شوند.<sup>۳۳،۳۴</sup> ژن مربوط به HIF-1 $\alpha$  متشکل از ۱۵ اگزون و ۱۴ اینترون است.<sup>۳۳</sup> پروتیین کد شده به وسیله این ژن دارای دومین‌های bHLH و PAS بوده که در دایمر شدن آن با HIF-1 $\beta$  و اتصال آن به DNA نقش دارند. در C-ترمینال این پروتیین دو دومین ترانس اکتیواسیون (محرک رونویسی)، به نام‌های N-TAD در سمت N-ترمینال و C-TAD در سمت C-ترمینال، یک دومین مهارتی (ID) و یک سیگنال مربوط به قرارگیری در هسته وجود دارد.

دومین C-TAD با کوآکتیواتورهایی مانند p300/CBP برای فعال کردن رونویسی از ژن‌های هدف میانکنش دارد. افزون بر این HIF-1 $\alpha$  شامل یک دومین تجزیه‌کننده وابسته به اکسیژن (ODDD) است که در تنظیم پایداری وابسته به اکسیژن این فاکتور نقش دارد.<sup>۳۰</sup> براساس مطالعات دیگر، مشخص شد که HIF-1 $\alpha$  در بافت‌های انسانی و موشی بیان شده و نقش مهمی را در پاسخ‌های فیزیولوژیکی مختلف به هیپوکسی مانند خون‌سازی و گلیکولیز که به سرعت با کمبود اکسیژن و آنژیوژنز مقابله می‌کنند، ایفا می‌کند.<sup>۳۹</sup>

HIF-2 $\alpha$  مدت زمان کوتاهی پس از کلونینگ HIF-1 $\alpha$  یک پروتیین دیگر با شباهت فراوان به آن به نام HIF-2 $\alpha$  شناسایی و کلون گردید.<sup>۲۷-۲۸</sup> این پروتیین دارای حدود ۴۸٪ تشابه توالی آمینواسیدی و در نتیجه تشابهات ساختاری و بیوشیمیایی با HIF-1 $\alpha$  می‌باشد (به‌عنوان نمونه قادر به ایجاد دایمر با HIF-1 $\beta$  و اتصال به HRE است). بیان HIF-2 $\alpha$  برخلاف بیان و حضور HIF-1 $\alpha$  در اکثر بافت‌ها، بیشتر در ریه، اندوتلیوم و تنه‌ی کاروتید دیده می‌شود.<sup>۲۸،۲۹</sup>

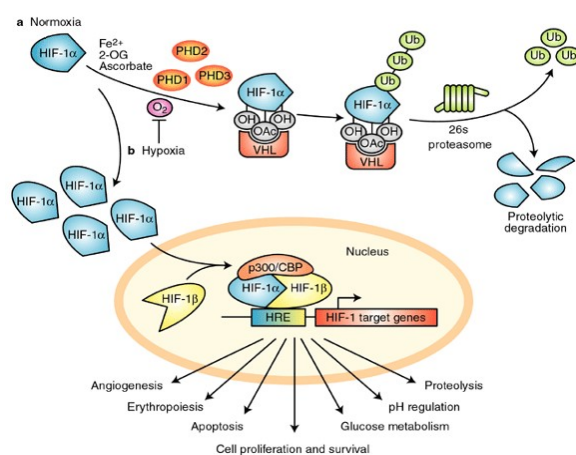
HIF-3 $\alpha$  این پروتیین که بعدها کشف شد در انواع مختلفی از بافت‌ها بیان می‌گردد و قادر به ایجاد دایمر با HIF-1 $\beta$  و اتصال به HREها می‌باشد.<sup>۲۹</sup> علاوه بر HIF-3 $\alpha$ ، یک واریانت دیگر حاصل از اسپلایسینگ مختلف ژن مربوط به آن بعدها شناسایی شد که نوعی از Pas با خاصیت مهارکنندگی (IPAS) بوده و بیشتر در سلول‌های پورکنژ مخچه و اپتیلوم قرنیه بیان می‌شود. IPAS فاقد فعالیت ترانس اکتیواسیون داخلی بوده اما با انتهای آمینی (N-ترمینال) HIF-1 $\alpha$

سرتوین داستیلاز ۳ میتوکندریایی (SIRT3) به‌عنوان یک فاکتور مهارکننده‌ی تومور، با مهار کردن تولید گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) که خود با اکسید کردن  $Fe^{2+}$  سبب مهار PHD می‌گردند، می‌تواند باعث افزایش فعالیت پرولیل هیدروکسیلازی این آنزیم و ناپایداری HIF-1 $\alpha$  گردد.<sup>۴۳،۴۴</sup>

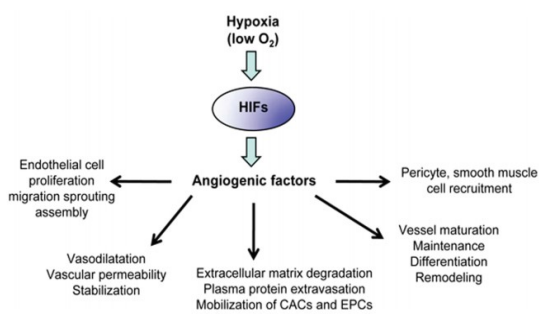
در مقابل عواملی مثل نیتریک اکسید (NO)، سوکسینات و فومارات به‌عنوان دو حد واسط از سیکل کربس می‌توانند عملکرد آنزیمی PHD را مهار کنند.<sup>۴۵</sup> زمانی که سطح اکسیژن در دسترس پایین باشد هیدروکسیلاسیون HIF-1 $\alpha$  به‌وسیله PHDها انجام نمی‌گیرد، بنابراین این فاکتور با ورود به هسته می‌تواند سبب فعال شدن صدها ژن درگیر در خون‌سازی، آنژیوژنز، اتوفاژی، متابولیسم انرژی و غیره گردد.<sup>۴۵</sup> یکی دیگر از دی‌اکسیژنازهایی که می‌تواند بر فعالیت HIF تاثیر بگذارد پروتئینی به‌نام فاکتور مهارکننده‌ی فاکتور القا شونده توسط هیپوکسی (FIH) می‌باشد. زمانی که اکسیژن به اندازه کافی در دسترس باشد، FIH با هیدروکسیلاسیون یک باقیمانده‌ی آسپارژینی در دومین ترانس اکتیواسیون HIF-1 $\alpha$  در ناحیه C- تریمینال از اتصال آن به کوآکتیواتورهایی مثل P300/CBP جلوگیری نموده و فعالیت رونویسی HIF را محدود و مهار می‌کند.<sup>۴۶</sup> برخلاف PHD، FIH در غلظت‌های پایین اکسیژن نیز فعال است و از این طریق قادر به مهار فعالیت زیرواحدهایی از HIF-1 $\alpha$  می‌شوند که تحت شرایط هیپوکسی تجزیه نشده‌اند (شکل ۲).<sup>۴۷</sup>

طریق آن‌را برای تجزیه به‌وسیله پروتئوزوم 26S نشان‌دار می‌کند.<sup>۳۹</sup> علاوه بر این هیدروکسیلاسیون باقیمانده‌ی آسپارژین در دومین C- TAD از اتصال HIF-1 $\alpha$  با p300/CBP جلوگیری نموده و در نتیجه فعالیت رونویسی آن را مهار می‌کند.<sup>۳۷</sup>

دی‌اکسیژنازهای وابسته به ۲-اکسوگلوکوتارات: در فشار نرمال اکسیژن (شرایط نرموکسی)، HIF-1 $\alpha$  توسط آنزیم‌های دارای دومین پرولیل هیدروکسیلاز در یک یا هر دو باقیمانده‌ی پرولین موجود در دومین ODDD هیدروکسیله می‌گردد. HIF-1 $\alpha$  هیدروکسیله شده، توسط دومین بتای پروتئین سرکوب‌کننده‌ی تومور به‌نام وان هیپیل لیندو شناسایی شده و سرانجام به‌وسیله کمپلکس Elongin BC/Cul2/pVHL (E3) یوبی کویتنه می‌گردد. یوبی کویتنه شدن HIF-1 $\alpha$  سبب نشان‌دار شدن آن جهت تجزیه پروتئوزومی در شرایط نرموکسی می‌گردد.<sup>۴۱،۴۲</sup> در پستانداران سه نوع آنزیم پرولیل هیدروکسیلاز مرتبط با HIF به نام‌های PHD1، PHD2، و PHD3 شناسایی شده است که هر کدام به‌وسیله ژن‌های مجزایی کد می‌شوند.<sup>۴۱</sup> PHDها مانند همه‌ی دی‌اکسیژنازهای وابسته به ۲-اکسوگلوکوتارات برای انجام عمل هیدروکسیلاسیون نیازمند اکسیژن بوده و همچنین همانند ۲-اکسوگلوکوتارات که یکی از حدواسط‌های سیکل کربس می‌باشد باید آهن و آسکوربات در اختیار داشته باشند.<sup>۴۲</sup> علاوه بر این فاکتورهای متعدد زیادی در سلول می‌توانند بر عملکرد PHDها و در نتیجه پایداری HIF-1 $\alpha$  تاثیرگذار باشند، به‌عنوان نمونه



شکل ۲: تنظیم HIF-1 $\alpha$  به‌وسیله PHD



شکل ۳: نقش هیپوکسی و HIF در آنژیوژنز

می‌کند. سپس سلول‌های اندوتلیال تکثیر شده و از طریق ماتریکس تغییر شکل یافته مهاجرت می‌کنند و در نهایت لوله‌هایی را تشکیل می‌دهند که خون از طریق آن‌ها می‌تواند جریان یابد. سلول‌های مزانشیمی تکثیر شده در طول این رگ‌های جدید مهاجرت نموده و به پری‌سیت‌های بالغ تمایز می‌یابند. پایدار شدن حالت غیرفعال و سکون سلول‌های اندوتلیالی از نظر تکثیر و تحرک، محکم‌تر شدن تماس‌ها و ارتباطات سلولی و در نهایت ساخت ماتریکس جدید به همراه اجزای آن، رگ تازه تشکیل شده را پایدار می‌کند (شکل ۳).

هر کدام از مراحل بیان‌شده، تحت تأثیر بیان ژن‌های خاصی انجام می‌شوند که بیان خود آن‌ها تحت کنترل HIF-1 صورت می‌گیرد (جدول ۱). انتشار موضعی مواد غذایی (گلوکز و اکسیژن) زمانی که تکثیر سلولی به حدی نیست که سلول‌ها با کمبود مواد غذایی در محیط مواجه شوند، برای تامین نیازهای متابولیکی در سلول‌های سالم و توموری کافی می‌باشد. با این وجود سرعت بالای تکثیر سلولی در سلول‌های توموری باعث ایجاد محیطی با شرایط هیپوکسیک، به علت عدم تعادل بین میزان اکسیژن در دسترس با اکسیژن مصرفی شده و نتیجه آن متابولیسم ناکافی گلیکولیتیکی در تومور می‌باشد.<sup>۵۳</sup> همان‌طور که گفته شد در این شرایط تولید لاکتات و مصرف اکسیژن در سلول افزایش می‌یابد، به عبارت دیگر سلول‌های توموری مسیر متابولیکی خود را از چرخه‌ی کربس به مسیر گلیکولیز هوازی که اثر واربرگ خوانده می‌شود تغییر می‌دهند.<sup>۵۴</sup> تولید دو عدد ATP در این شرایط نسبت به ۳۸ عدد از آن در شرایط نرمال در سلول سالم، ضرورت وجود فعالیت گلیکولیتیکی و یا آنژیوژنز را در سلول‌های

ایزوآنزیم گلیکولیتیک پیرووات کیناز M2: یکی دیگر از آنزیم‌هایی که در تنظیم HIF-1 $\alpha$  نقش دارد آنزیم پیرووات کیناز است. این آنزیم که آخرین آنزیم در فرایند گلیکولیز می‌باشد با انتقال یک گروه فسفات از فسفوانول پیرووات به ADP باعث ایجاد پیرووات و ATP می‌گردد. ایزوآنزیم‌های مختلفی از پیرووات کیناز وجود دارند که می‌توان به ایزوآنزیم پیرووات کیناز نوع L و یا نوع M1 و M2 اشاره کرد. پیرووات کیناز نوع L بیشتر در بافت‌هایی مانند کبد، کلیه و روده که دارای فعالیت گلوکونئوژنز هستند یافت می‌شود.<sup>۵۸</sup> در حالی که نوع M2 آن فرم غالب پیرووات کیناز در تومور است و رونویسی از آن به وسیله HIF-1 $\alpha$  فعال می‌شود.<sup>۵۹</sup> به طور ویژه هیدروکسیلاسیون پیرووات کیناز نوع M2 به وسیله PHD3، افزایش اتصال HIF-1 $\alpha$  به HRE ژن‌های هدف، به کارگیری کوکتیواتور P300، استیلاسیون هیستون و سرانجام فعال شدن ژن‌های هدف HIF-1 را در پی دارد.<sup>۶۰</sup> غیر فعال کردن یا سرکوب PHD3 عملکرد کوکتیواتور پروتیین کیناز M2 را مهار و سبب کاهش جذب گلوکز و تولید لاکتات و در نتیجه باعث افزایش مصرف اکسیژن توسط سلول‌های سرطانی می‌شود. با این وجود هیدروکسیلاسیون پروتیین کیناز M2 به ظاهر در غلظت ۱٪ از اکسیژن به شکل معناداری تحت تأثیر قرار نمی‌گیرد که این نشان‌دهنده پایداری PHD3 تحت شرایط هیپوکسی می‌باشد. پروتیین کیناز M2 با تحریک بیان ژن‌های هدف HIF-1 $\alpha$  باعث تغییر متابولیکی از حالت فسفریلاسیون اکسیداتیو به متابولیسم گلیکولیتیکی شده و در نهایت بیان ژن مربوط به فاکتور رشد اندوتلیال عروق (VEGF) را افزایش می‌دهد.<sup>۶۰</sup> بنابراین این ایزوفرم از پروتیین کیناز ممکن است که نقش مهم‌تری را نسبت به آنچه پیشتر تصور می‌شد در گسترش سرطان به واسطه HIF بازی کند.

آنژیوژنز فرایند پیچیده‌ای است که محصولات ژن‌های گوناگونی را که توسط سلول‌های مختلف تولید می‌شوند، در بر می‌گیرد. انجام آنژیوژنز به‌طور کلی وابسته به هماهنگی چندین فرایند است که به صورت مستقل از هم انجام می‌شوند، می‌باشد.<sup>۶۱،۶۲</sup> جدا شدن پری‌سیت از اندوتلیوم و ناپایدار شدن رگ، فنوتیپ سلول‌های اندوتلیال را از یک حالت پایدار و متوقف در رشد به یک فنوتیپ تغییرپذیر و تکثیرشونده، تغییر می‌دهد.

نفوذپذیری بالای عروقی القا شده به وسیله VEGF به نشت موضعی، خروج پروتئین‌ها و اجزای ماتریکس از جریان خون کمک

جدول ۱: فاکتورهای القا شده به وسیله HIF-1 در مراحل مختلف آنژیوژنز

فاکتور	نام کامل	مراحل آنژیوژنز
ناپایداری شریانی	فاکتور رشد مشتق از اندوتلیوم، فاکتور رشد جفتی، گیرنده تیروزین کیناز وابسته به fms - ۱	VEGF, PLGF, Flt-1
افزایش نفوذپذیری عروقی	فاکتور رشد مشتق از اندوتلیوم، گیرنده تیروزین کیناز وابسته به fms - ۱، آنژیوپوتین-۲، گیرنده تیروزین کینازی TEK اندوتلیالی - ۲	VEGF, Flt-1, angiotensin-2, Tie-2
ترمیم ماتریکس خارج سلولی	ماتریکس متالوپروتینازها، کلاژن پرولیل ۴-هیدروکسیلاز	MMPs, collagen prolyl-4-hydroxylase
مهاجرت و تکثیر سلول‌های اندوتلیال	فاکتور رشد مشتق از اندوتلیوم، فاکتور رشد جفتی، آنژیوپوتین-۱، پروتیین جاذب شیمیایی مونوسیتی-۱، فاکتور رشد مشتق از پلاکت، فاکتور مشتق از استروما ۱، گیرنده کموکین ۴ دارای موتیف C-X-C	VEGF, PLGF, angiotensin-1, MCP-1, PDGF, SDF-1, CXCR4
انشعاب سلول‌های اندوتلیال	آنژیوپوتین-۲، گیرنده تیروزین کینازی TEK اندوتلیالی - ۲	Angiotensin-2, Tie-2
تشکیل ساختار لوله مانند و اتصال سلول به سلول	فاکتور رشد مشتق از اندوتلیوم، فاکتور رشد جفتی، آنژیوپوتین-۱، اینتگرین‌ها	VEGF, PLGF, angiotensin-1, integrins
به کارگیری و میانکنش با پری‌سیت‌ها حفظ بقا و یکپارچگی عروق	فاکتور رشد مشتق از پلاکت، آنژیوپوتین-۱، گیرنده تیروزین کینازی TEK اندوتلیالی - ۲	PDGF, angiotensin-1, Tie-2

فعال شدن و تکثیر سلول‌های اندوتلیال از طریق سیگنالینگ وابسته به گیرنده‌ی R2 مربوط به خود (VEGFR2+) لازم بوده و از این طریق با تنظیم و افزایش بیان پروتیین‌های آنتی‌آپوپتوتیک B-cell لنگوما ۲ (bcl-2) و پروتیین A1 مرتبط با آن باعث کاهش آپوپتوز در VEC می‌شود.<sup>۶۴</sup> این فاکتور نه تنها به وسیله سلول‌های توموری و در پاسخ به هیپوکسی ترشح می‌شود بلکه به روش پاراکراین، در پری‌سیت‌ها و در پاسخ به PDGF تولید شده از سلول‌های توموری نیز تولید می‌گردد. علاوه بر این پژوهش‌های انجام شده نشان داده‌اند که ANGPT2 نیز در ناپایداری کردن میانکنش بین سلول‌های اندوتلیالی و سلول‌های ماهیچه‌ی صاف<sup>۶۵</sup> که برای تحرک سلول‌های اندوتلیالی ضروری می‌باشد نقش دارد. VEGF و ANGPT2 باعث افزایش نفوذپذیری عروقی که خروج پروتیین‌های پلاسما و سلول‌های آنژیوژنیک در حال گردش در خون (CACs)<sup>۶۶</sup> را از عروق تسهیل می‌کند می‌گردند، در حالی‌که VEGF، SDF1 و SCF کموتاکسی CACها از مغز استخوان را به وسیله عمل بر روی رسپتورهای مربوطه که به ترتیب شامل VEGFR2، گیرنده‌ی کموکین ۴ دارای موتیف C-X-C

توموری نشان می‌دهد که هر دوی این فرایندها به وسیله HIF تنظیم و ساطت می‌گردند.<sup>۶۷</sup> با این وجود تشکیل عروق جدید در تومور به صورت کامل صورت نمی‌گیرد و عروق تازه تشکیل شده ناپایدار بوده و دارای نشت هستند<sup>۶۸</sup> که این امر خود سبب بقای حالت هیپوکسی در محیط توموری و ایجاد یک فنوتیپ تهاجمی در تومور شده و به سلول‌های توموری اجازه ورود به جریان خون و قرارگیری در بافت‌های دیگر که متاستاز نامیده می‌شود را می‌دهد.<sup>۶۹</sup> HIF-1 $\alpha$  در تنظیم تعداد زیادی از فاکتورهای پروآنژیوژنیک القا شونده به وسیله هیپوکسی در استرومای تومور و سلول‌های اندوتلیال عروق (VECs) مانند VEGF<sup>۷۰</sup>، فاکتور رشد مشتق از پلاکت  $\beta$  (PDGF- $\beta$ )<sup>۷۱</sup>، آنژیوپوتین-۲ (ANGPT2)<sup>۷۲</sup>، فاکتور مشتق از استروما SDF-1 $\alpha$  (SDF-1 $\alpha$ )<sup>۷۳</sup> و فاکتور سلول بنیادی (SCF)<sup>۷۴</sup> نقش دارد که هر کدام نقش مهمی را در شروع آبشاری از وقایع آنژیوژنیک در تومور ایفا می‌کنند. علاوه بر این HIF-1 $\alpha$  سبب فعال شدن TGF- $\alpha$  که خود در رشد اتوکراینی سلول‌های سرطانی نقش دارد می‌گردد.<sup>۷۵</sup> VEGF یکی از مهم‌ترین فاکتورهای پروآنژیوژنیک است که برای

طریق آنژیوژنز و فعال کردن گلیکولیز اثبات شده است. بنابراین با توجه به اهمیت HIF-1 در فعال کردن ژن‌های لازم و ضروری برای پیشبرد این فرایندها، ضروری بودن وجود HIF-1 $\alpha$  و HIF-2 $\alpha$  برای پیشرفت سرطان دور از انتظار نیست.

در زمینه اتصال و مهاجرت سلول اندوتلیال پژوهش‌های فراوانی در کشورمان انجام شده که می‌توان به شناسایی و مطالعه انواعی از ترکیبات مهارکننده آنژیوژنز همچون شناسایی پپتید ضد آنژیوژنزی از غضروف کوسه‌ماهی،<sup>۷۱</sup> آنتی‌بادی مونوکلونال ضد پلاسمینوژن،<sup>۷۲</sup> مهارکننده تریپسین کونیتز (Kunitz trypsin inhibitor) از دانه سویا،<sup>۷۳</sup> مطالعه خواص و مکانیسم‌های ضد آنژیوژنزی گیاه موسیر<sup>۷۴</sup> و گیاه مریم گلی،<sup>۷۵</sup> همچنین مطالعه اثر ضد آنژیوژنزی چای سبز<sup>۷۶</sup> و عصاره موم عسل<sup>۷۷</sup> اشاره کرد.

با توجه به آنچه بیان شد، HIF-1 نقش مهمی را در تنظیم آنژیوژنز در شرایط فیزیولوژیک و پاتولوژیک بازی می‌کند. اگرچه وجود آنژیوژنز و بیان بالای HIF-1 در شرایط فیزیولوژیک مانند تکوین جنین و یا شرایط پاتولوژیک مانند بیماری‌های ایسکمیک لازم است اما با توجه به نقش HIF-1 در آنژیوژنز، سازگاری متابولیکی و متاستاز سلول سرطانی، این فاکتور به‌عنوان یکی از فاکتورهای مورد توجه و مهم برای هدف قرار دادن، به‌منظور کاهش بیان و یا توقف بیان آن در درمان سرطان تبدیل شده است. با این وجود دستیابی به این هدف نیازمند پژوهش‌ها و بررسی‌های بیشتر برای فهم کامل‌تر و دقیق‌تر مکانیسم‌های مولکولی درگیر در مسیر HIF-1 در پاسخ به هیپوکسی می‌باشد.

CXCR4) و C-KIT می‌باشند، ممکن می‌سازند.<sup>۶۶</sup> این فرایند به CACها اجازه ورود به محیط توموری جهت ایجاد شرایط مناسب برای تکثیر سلول‌ها را می‌دهد.

عمده‌ترین CACها از مغز استخوان مشتق می‌شوند (BMDCs) و شامل سلول‌های پیش‌ساز اندوتلیال (EPCs) لازم برای تشکیل عروق، سلول‌های میلوپیدی که بعدها به ماکروفاژهای مرتبط با تومور (TAMs) و نوتروفیل‌ها تمایز می‌یابند و در نهایت سلول‌های بنیادی مزانشیمی که فیبروبلاست‌های مرتبط با تومور (CAFs) از آن‌ها مشتق می‌شوند، می‌گردند.<sup>۶۷</sup>

با این وجود به‌کارگیری این سلول‌ها در محیط تومور به‌وسیله فیبرین نیز تسهیل می‌شود. فیبروبلاست‌ها، سلول‌های التهابی و سلول‌های اندوتلیالی می‌توانند غشای پایه و استرومای اطراف سلول‌های اندوتلیال را به‌واسطه متالوپروتینازهای ماتریکس که خود به‌وسیله HIF تنظیم شده و شامل MMP2،<sup>۶۸</sup> MMP9<sup>۶۹</sup> و MMP14<sup>۷۰</sup> می‌باشند، تغییر داده و از این طریق سبب رشد عروق خونی شوند. بنابراین HIF در تنظیم تمام مراحل آنژیوژنز از طریق تنظیم بیان ژن‌های دخیل در آن نقش دارد. به‌علت وابسته بودن آنژیوژنز به فعال شدن تکثیر، اتصال، مهاجرت و بلوغ سلول اندوتلیال اکثر رویکردها برای تعدیل آنژیوژنز به اعمال سلول‌های اندوتلیال در طی تشکیل رگ خونی توجه دارد.

هیپوکسی و مسیر سیگنالینگ HIF با تکوین جنینی و پاتولوژی خیلی از بیماری‌های انسانی مرتبط هستند. در رابطه با رشد تومورها، نقش این دو عامل در افزایش میزان اکسیژن تحویلی به سلول از

## References

1. Ausprunk DH, Folkman J. Migration and proliferation of endothelial cells in preformed and newly formed blood vessels during tumor angiogenesis. *Microvasc Res* 1977;14(1):53-65.
2. Folkman J. Tumor angiogenesis. *Adv Cancer Res* 1985;43(1):175-203.
3. Folkman J. Tumor angiogenesis: therapeutic implications. *N Engl J Med* 1971;285(21):1182-6.
4. Folkman J. Angiogenesis. *Annu Rev Med* 2006;57:1-18.
5. Ruhrberg C. Endogenous inhibitors of angiogenesis. *J Cell Sci* 2001;114(Pt 18):3215-6.
6. Hochachka PW, Buck LT, Doll CJ, Land SC. Unifying theory of hypoxia tolerance: molecular/metabolic defense and rescue mechanisms for surviving oxygen lack. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1996;93(18):9493-8.
7. Hochachka PW, Gunga HC, Kirsch K. Our ancestral physiological phenotype: An adaptation for hypoxia tolerance and for endurance performance? *Proc Natl Acad Sci U S A* 1998;95(4):1915-20.
8. Carmeliet P. Angiogenesis in health and disease. *Nat Med* 2003;9(6):653-60.
9. Giaccia AJ, Simon MC, Johnson R. The biology of hypoxia: the role of oxygen sensing in development, normal function, and disease. *Genes Dev* 2004;18(18):2183-94.
10. Stohrer M, Boucher Y, Stangassinger M, Jain RK. Oncotic pressure in solid tumors is elevated. *Cancer Res* 2000;60(15):4251-5.
11. Folkman J. The role of angiogenesis in tumor growth. *Semin Cancer Biol* 1992;3(2):65-71.
12. Semenza GL. HIF-1: using two hands to flip the angiogenic switch. *Cancer Metastasis Rev* 2000;19(1-2):59-65.

13. Richard DE, Berra E, Pouyssegur J. Angiogenesis: how a tumor adapts to hypoxia. *Biochem Biophys Res Commun* 1999;266(3):718-22.
14. Beck I, Ramirez S, Weinmann R, Caro J. Enhancer element at the 3'-flanking region controls transcriptional response to hypoxia in the human erythropoietin gene. *J Biol Chem* 1991;266(24):15563-6.
15. Pugh CW, Tan CC, Jones RW, Ratcliffe PJ. Functional analysis of an oxygen-regulated transcriptional enhancer lying 3' to the mouse erythropoietin gene. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1991;88(23):10553-7.
16. Semenza GL, Nejfelt MK, Chi SM, Antonarakis SE. Hypoxia-inducible nuclear factors bind to an enhancer element located 3' to the human erythropoietin gene. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1991;88(13):5680-4.
17. 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(12):5447-54.
18. Wang GL, Semenza GL. Purification and characterization of hypoxia-inducible factor 1. *J Biol Chem* 1995;270(3):1230-7.
19. Reyes H, Reisz-Porszasz S, Hankinson O. Identification of the Ah receptor nuclear translocator protein (Arnt) as a component of the DNA binding form of the Ah receptor. *Science* 1992;256(5060):1193-5.
20. Wang GL, Jiang BH, Rue EA, Semenza GL. Hypoxia-inducible factor 1 is a basic-helix-loop-helix-PAS heterodimer regulated by cellular O<sub>2</sub> tension. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1995;92(12):5510-4.
21. Crews ST. Control of cell lineage-specific development and transcription by bHLH-PAS proteins. *Genes Dev* 1998;12(5):607-20.
22. Ke Q, Costa M. Hypoxia-inducible factor-1 (HIF-1). *Mol Pharmacol* 2006;70(5):1469-80.
23. Chun Y-S, M-SK, Park J-W. Oxygen-Dependent and -Independent Regulation of HIF-1alpha. The Korean Academy of Medical Sciences, 2002.
24. Semenza GL. Hypoxia-inducible factor 1: master regulator of O<sub>2</sub> homeostasis. *Curr Opin Genet Dev* 1998;8(5):588-94.
25. Ema M, Hirota K, Mimura J, et al. Molecular mechanisms of transcription activation by HLF and HIF1alpha in response to hypoxia: their stabilization and redox signal-induced interaction with CBP/p300. *EMBO J* 1999;18(7):1905-14.
26. Flamme I, Fröhlich T, von Reutem M, Kappel A, Damert A, Risau W. 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.
27. Hogenesch JB, Chan WK, Jackiw VH, Brown RC, Gu YZ, Pray-Grant M, 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):8581-93.
28. Tian H, Hammer RE, Matsumoto AM, Russell DW, McKnight SL. The hypoxia-responsive transcription factor EPAS1 is essential for catecholamine homeostasis and protection against heart failure during embryonic development. *Genes Dev* 1998;12(21):3320-4.
29. Gu YZ, Moran SM, Hogenesch JB, Wartman L, Bradfield CA. Molecular characterization and chromosomal localization of a third alpha-class hypoxia inducible factor subunit, HIF3alpha. *Gene Expr* 1998;7(3):205-13.
30. Makino Y, Cao R, Svensson K, Bertilsson G, Asman M, Tanaka H, et al. Inhibitory PAS domain protein is a negative regulator of hypoxia-inducible gene expression. *Nature* 2001;414(6863):550-4.
31. Kallio PJ, Pongratz I, Gradin K, McGuire J, Poellinger L. Activation of hypoxia-inducible factor 1alpha: posttranscriptional regulation and conformational change by recruitment of the Arnt transcription factor. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1997;94(11):5667-72.
32. Salceda S, Caro J. Hypoxia-inducible factor 1alpha (HIF-1alpha) protein is rapidly degraded by the ubiquitin-proteasome system under normoxic conditions. Its stabilization by hypoxia depends on redox-induced changes. *J Biol Chem* 1997;272(36):22642-7.
33. Wiesener MS, Turley H, Allen WE, Willam C, Eckardt KU, Talks KL, et al. Induction of endothelial PAS domain protein-1 by hypoxia: characterization and comparison with hypoxia-inducible factor-1alpha. *Blood* 1998;92(7):2260-8.
34. Hay N, Sonenberg N. Upstream and downstream of mTOR. *Genes Dev* 2004;18(16):1926-45.
35. Bernardi R, Guenah I, Jin D, Grisendi S, Alimonti A, Teruya-Feldstein J, et al. PML inhibits HIF-1alpha translation and neoangiogenesis through repression of mTOR. *Nature* 2006;442(7104):779-85.
36. Semenza GL. Regulation of oxygen homeostasis by hypoxia-inducible factor 1. *Physiology (Bethesda)* 2009;24:97-106.
37. Lando D, Peet DJ, Whelan DA, Gorman JJ, Whitelaw ML. Asparagine hydroxylation of the HIF transactivation domain a hypoxic switch. *Science* 2002;295(5556):858-61.
38. Brahimi-Horn C, Mazure N, Pouyssegur J. Signalling via the hypoxia-inducible factor-1alpha requires multiple posttranslational modifications. *Cell Signal* 2005;17(1):1-9.
39. 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(18):5197-206.
40. Greer SN, Metcalf JL, Wang Y, Ohh M. The updated biology of hypoxia-inducible factor. *EMBO J* 2012;31(11):2448-60.
41. Myllyharju J, Koivunen P. Hypoxia-inducible factor prolyl 4-hydroxylases: common and specific roles. *Biol Chem* 2013;394(4):435-48.
42. Schofield CJ, Zhang Z. Structural and mechanistic studies on 2-oxoglutarate-dependent oxygenases and related enzymes. *Curr Opin Struct Biol* 1999;9(6):722-31.
43. Brunelle JK, Bell EL, Quesada NM, Vercauteren K, Tiranti V, Zeviani M, et al. Oxygen sensing requires mitochondrial ROS but not oxidative phosphorylation. *Cell Metab* 2005;1(6):409-14.
44. Kim HS, Patel K, Muldoon-Jacobs K, Bisht KS, Aykin-Burns N, Pennington JD, et al. SIRT3 is a mitochondria-localized tumor suppressor required for maintenance of mitochondrial integrity and metabolism during stress. *Cancer Cell* 2010;17(1):41-52.
45. Kaelin WG Jr, Ratcliffe PJ. Oxygen sensing by metazoans: the central role of the HIF hydroxylase pathway. *Mol Cell* 2008;30(4):393-402.
46. Ruas JL, Poellinger L, Pereira T. Role of CBP in regulating HIF-1-mediated activation of transcription. *J Cell Sci* 2005;118(Pt 2):301-11.
47. Dayan F, Roux D, Brahimi-Horn MC, Pouyssegur J, Mazure NM. The oxygen sensor factor-inhibiting hypoxia-inducible factor-1 controls expression of distinct genes through the bifunctional transcriptional character of hypoxia-inducible factor-1a. *Cancer Res* 2006;66(7):3688-98.
48. Mazurek S. Pyruvate kinase type M2: a key regulator of the metabolic budget system in tumor cells. *Int J Biochem Cell Biol* 2011;43(7):969-80.
49. Christofk HR, Vander Heiden MG, Harris MH, Ramanathan A, Gerszten RE, Wei R, et al. The M2 splice isoform of pyruvate kinase is important for cancer metabolism and tumour growth. *Nature* 2008;452(7184):230-3.
50. Luo W, Semenza GL. Pyruvate kinase M2 regulates glucose metabolism by functioning as a coactivator for hypoxia-inducible factor 1 in cancer cells. *Oncotarget* 2011;2(7):551-6.
51. Conway EM, Collen D, Carmeliet P. Molecular mechanisms of blood vessel growth. *Cardiovasc Res* 2001;49(3):507-21.
52. Papetti M, Herman IM. Mechanisms of normal and tumor-derived angiogenesis. *Am J Physiol Cell Physiol* 2002;282(5):C947-70.
53. Zetter P, Bruce R. Angiogenesis and tumor metastasis. *Ann Rev Med* 1998;49(1):407-24.
54. Kim JW, Dang CV. Cancer's molecular sweet tooth and the Warburg effect. *Cancer Res* 2006;66(18):8927-30.
55. Yuneva M. Finding an "Achilles' heel" of cancer: the role of glucose and glutamine metabolism in the survival of transformed cells. *Cell Cycle* 2008;7(14):2083-9.
56. Carmeliet P, Jain RK. Principles and mechanisms of vessel normalization for cancer and other angiogenic diseases. *Nat Rev Drug Discov* 2011;10(6):417-27.



57. Kurokawa T, Miyamoto M, Kato K, Cho Y, Kawarada Y, Hida Y, et al. Overexpression of hypoxia-inducible-factor 1alpha(HIF-1alpha) in oesophageal squamous cell carcinoma correlates with lymph node metastasis and pathologic stage. *Br J Cancer* 2003;89(6):1042-7.
58. Forsythe JA, Jiang BH, Iyer NV, Agani F, Leung SW, Koos RD, et al. Activation of vascular endothelial growth factor gene transcription by hypoxia-inducible factor 1. *Mol Cell Biol* 1996;16(9):4604-13.
59. Kelly BD, Hackett SF, Hirota K, Oshima Y, Cai Z, Berg-Dixon S, et al. Cell type-specific regulation of angiogenic growth factor gene expression and induction of angiogenesis in nonischemic tissue by a constitutively active form of hypoxia-inducible factor 1. *Circ Res* 2003;93(11):1074-81.
60. Simon MP, Tournaire R, Pouyssegur J. The angiopoietin-2 gene of endothelial cells is up-regulated in hypoxia by a HIF binding site located in its first intron and by the central factors GATA-2 and Ets-1. *J Cell Physiol* 2008;217(3):809-18.
61. Ceradini DJ, Kulkarni AR, Callaghan MJ, Tepper OM, Bastidas N, Kleinman ME, et al. Progenitor cell trafficking is regulated by hypoxic gradients through HIF-1 induction of SDF-1. *Nat Med* 2004;10(8):858-64.
62. Bosch-Marce M, Okuyama H, Wesley JB, Sarkar K, Kimura H, Liu YV, et al. Effects of aging and hypoxia-inducible factor-1 activity on angiogenic cell mobilization and recovery of perfusion after limb ischemia. *Circ Res* 2007;101(12):1310-8.
63. Gunaratnam L, Morley M, Franovic A, de Paulsen N, Mekhail K, Parolin DA, et al. Hypoxia inducible factor activates the transforming growth factor-alpha/epidermal growth factor receptor growth stimulatory pathway in VHL(-/-) renal cell carcinoma cells. *J Biol Chem* 2003;278(45):44966-74.
64. Gerber HP, Dixit V, Ferrara N. Vascular endothelial growth factor induces expression of the antiapoptotic proteins Bcl-2 and A1 in vascular endothelial cells. *J Biol Chem* 1998;273(21):13313-6.
65. Reinmuth N, Liu W, Jung YD, Ahmad SA, Shaheen RM, Fan F, et al. Induction of VEGF in perivascular cells defines a potential paracrine mechanism for endothelial cell survival. *FASEB J* 2001;15(7):1239-41.
66. Dolgachev VA, Ullenbruch MR, Lukacs NW, Phan SH. Role of stem cell factor and bone marrow-derived fibroblasts in airway remodeling. *Am J Pathol* 2009;174(2):390-400.
67. Franco OE, Shaw AK, Strand DW, Hayward SW. Cancer associated fibroblasts in cancer pathogenesis. *Semin Cell Dev Biol* 2010;21(1):33-9.
68. Jing SW, Wang YD, Kuroda M, Su JW, Sun GG, Liu Q, et al. HIF-1 $\alpha$  contributes to hypoxia-induced invasion and metastasis of esophageal carcinoma via inhibiting E-cadherin and promoting MMP-2 expression. *Acta Med Okayama* 2012;66(5):399-407.
69. Choi JY, Jang YS, Min SY, Song JY. Overexpression of MMP-9 and HIF-1 $\alpha$  in breast cancer cells under hypoxic conditions. *J Breast Cancer* 2011;14(2):88-95.
70. Petrella BL, Lohi J, Brinckerhoff CE. Identification of membrane type-1 matrix metalloproteinase as a target of hypoxia-inducible factor-2 alpha in von Hippel-Lindau renal cell carcinoma. *Oncogene* 2005;24(6):1043-52.
71. Hassan ZM, Feyzi R, Sheikhan A, Bargahi A, Mostafaie A, Mansouri K, et al. Low molecular weight fraction of shark cartilage can modulate immune responses and abolish angiogenesis. *Int Immunopharmacol* 2005;5(6):961-70.
72. Mansouri K, Mirshahi M, Pourfathollah A, Hassan ZM, Taheripak G. Anti-plasminogen monoclonal antibody (MC2B8) inhibits angiogenesis. *Pak J Biol Sci* 2007;10(19):3450-3.
73. Shakiba Y, Mansouri K, Mostafaie A. Anti-angiogenic effect of soybean kunitz trypsin inhibitor on human umbilical vein endothelial cells. *Fitoterapia* 2007;78(7-8):587-9.
74. Motlagh HRM, Mansouri K, Shakiba Y, Keshavarz M, Khodarahmi R, Siami A, et al. Anti-angiogenic effect of aqueous extract of shallot (*Allium ascalonicum*) bulbs in rat aorta ring model. *Cell J (Yakhteh)* 2009;11(2):190-5.
75. Keshevarz M. The study of anti-angiogenic effect of *Salvia officinalis* on human umbilical vein endothelial cells. MS Thesis Kermanshah, Iran: Razi University, 2009. [Persian]
76. Shakiba Y, Mostafaie A. Inhibition of corneal neovascularization with a nutrient mixture containing lysine, proline, ascorbic acid, and green tea extract. *Arch Med Res* 2007;38(7):789-91.
77. Keshavarz M, Mostafaie A, Mansouri K, Shakiba Y, Motlagh HRM. Inhibition of corneal neovascularization with propolis extract. *Arch Med Res* 2009;40(1):59-61.

## Hypoxia inducible factor: It's role in angiogenesis and tumor

Mozhgan Jahani M.Sc.<sup>1,2</sup>  
Mohammad Hosein Modaressi  
Ph.D.<sup>3</sup>  
Kamran Mansouri Ph.D.<sup>1,3\*</sup>

1- Medical Biology Research Center, Kermanshah University of Medical Sciences, Kermanshah, Iran.

2- Department of Biology, Basic Sciences Faculty, Razi University of Kermanshah, Kermanshah, Iran.

3. Department of Molecular Medicine, School of Advanced Medical Technologies, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

\* Corresponding author: Medical Biology Research Center, Sorkheh Lyzheh, P.O. Box: 67155-1616, Kermanshah University of Medical Sciences, Kermanshah, Iran.  
Tel: +98 83 34276473  
E-mail: kmansouri@kums.ac.ir

### Abstract

Received: 05 Sep. 2015 Accepted: 26 Oct. 2015 Available online: 17 Feb. 2016

Angiogenesis, as the process of new vessel formation from pre-existing vessels is dependent on a delicate equilibrium between endogenous angiogenic and antiangiogenic factors. However, under pathological conditions, this tight regulation becomes lost which can result in the formation of the different diseases such as cancer. Angiogenesis is a complex process that includes many gene products that are produced by different cells. Each of the processes influenced by specific genes that their expression can be regulated by hypoxia inducible factor-1 (HIF-1). Hypoxia, the imbalance between the oxygen in need and the oxygen available, usually occurs in tumors and ischemic cardiovascular diseases. In order to overcome this challenge, tumors regulate and control the expression of genes related to angiogenesis, cell cycle and metabolism using hypoxia-inducible factor 1 (HIF-1). HIF-1 was first recognized as a transcription factor involved in hypoxia-induced erythropoietin expression. As angiogenesis pathway molecules are being described, this factor has been characterized as a key transcription regulator for these molecules. In this review article, after discussing HIF-1 structure and characterization, the role of this important factor in angiogenesis and cancer as a pathological case and finally, the clinical applications has been evaluated. Articles related to the key words of hypoxia, HIF-1 and angiogenesis were searched from valid databases such as Springer Link, google scholar, Pubmed and Scencedirect. Then, the articles related to the role of hypoxia and HIF-1 in activation of genes that are involved in angiogenesis and cancer were searched and selected for this study. Studies show that, HIF-1 activation of genes including vascular endothelial growth factor (VEGF), angiopoietin-1 (Ang-1) and angiopoietin-2 (Ang-2), etc., induced angiogenesis in the tumor cells. Furthermore, the activation of genes such as insulin-like growth factor 2 (IGF2), transforming growth factor  $\alpha$  (TGF- $\alpha$ ) and MAPK and PI3K signaling pathway will also enable the survival and proliferation of tumor cells. HIF-1 by activating genes involved in angiogenesis and also activates signaling pathways associated with cell survival and proliferation plays an important role in the stability and growth of tumors. Therefore, better understanding of molecular mechanisms associated with this factor can be effective in the treatment of cancer.

**Keywords:** angiogenesis, hypoxia, metastasis, tumor.