

[文章编号] 1007-385X(2006)05-0390-03

## 乏氧诱导因子促进肿瘤侵袭转移的研究进展

### Hypoxia inducible factor promotes tumor invasion and metastasis: An update

董兰兰 综述,袁响林 审阅(华中科技大学 同济医学院 附属同济医院 肿瘤科,武汉市 430030)

**[摘要]** 肿瘤细胞在乏氧环境中会发生一系列生物学行为的改变,包括肿瘤侵袭性和转移能力的增加,其中乏氧诱导因子-1 $\alpha$ (hypoxia induciactor 1 $\alpha$ , HIF-1 $\alpha$ )起关键作用。HIF-1 $\alpha$ 可作用于多个环节促进肿瘤转移。在细胞运动方面:肝细胞生长因子(HGF)的受体c-Met在乏氧时增加,能促进细胞活性并可通过与肝细胞生长因子结合而增加细胞的侵袭性;基质降解方面:肿瘤细胞侵袭转移能力与其产生或诱导MMPs的能力密切相关,HIF-1可引起MMPs的表达增加,进而促进恶性肿瘤的转移;细胞黏附方面:HIF-1 $\alpha$ 可通过对肿瘤细胞黏附分子表达的影响而促进肿瘤转移;血管生成方面:乏氧能引起VEGF表达的上调,在肿瘤发生早期向血管生成型转变过程中,HIF-1 $\alpha$ 介导了VEGF的上调;细胞凋亡方面:HIF-1上调凋亡抑制因子Bcl-2,抑制凋亡,从而增强肿瘤转移力。HIF-1 $\alpha$ 亦可上调凋亡抑制因子p21,从而抑制凋亡使肿瘤恶性程度增加易于转移。对HIF-1 $\alpha$ 的研究可能是治疗肿瘤、减少恶性肿瘤转移的一种新途径。

**[关键词]** 乏氧诱导因子;转移;黏附分子

**[中图分类号]** R730 **[文献标识码]** A

肿瘤的侵袭与转移是受多因素调控的复杂过程,涉及肿瘤细胞增殖、肿瘤新生血管形成、肿瘤细胞黏附、分泌蛋白酶降解基质及肿瘤细胞迁移运动等一系列过程。肿瘤细胞恶性增殖与血液供应的失衡导致实体瘤乏氧,肿瘤细胞在乏氧环境中会产生一系列生理、生化改变,其中乏氧诱导因子-1(hypoxia inducible factor 1, HIF-1)起重要作用<sup>[1]</sup>。研究表明,乏氧导致肿瘤细胞的侵袭转移性增加。现就HIF-1促进肿瘤转移机制的研究进展作一综述。

#### 1 HIF-1的生物学特性

HIF-1是由HIF-1 $\alpha$ 亚基和HIF-1 $\beta$ 亚基构成的异二聚体,HIF-1 $\alpha$ 亚基和HIF-1 $\beta$ 亚基均属于转录因子碱性螺旋环螺旋(basic helix-loop-helix, bHLH)/PAS(PER-APNT-SIM)(bHLH/PAS)家族成员。HIF-1发挥作用主要是由HIF-1 $\alpha$ 亚基的表达和活性决定的。HIF-1 $\alpha$ 蛋白表达和转录活性在mRNA、蛋白、核定位及转录激活等不同层次受细胞内氧浓度的精确调控<sup>[1]</sup>。研究表明HIF-1 $\alpha$ 亚基对氧的依赖性较强,周围环境的氧浓度对其表达的调控表现在多个水平上,包括转录和蛋白等水平,但主要是蛋白质水平的表达改变<sup>[2]</sup>。乏氧时HIF-1 $\alpha$  mRNA的表达较富氧时并不增加,但蛋白表达明显增多,乏氧引起HIF-1 $\alpha$ 蛋白表达增加主要是该蛋白稳定性增加的结果,因常氧环境下HIF-1 $\alpha$ 蛋白容易降解,其半衰期小于5 min,而乏氧则阻止降解。HIF-1 $\beta$ 亚基对氧的依赖性较弱,HIF-1 $\beta$ 蛋白在正常与乏氧条件下均持续表达,但在HIF-1的结构中也必不可少,因为只有两个亚单位聚合,并且发生构形变化,并与乏氧反应基因(hypoxia response gene, HRG)的缺氧反应元件(hypoxia response element, HRE)结合,才能发挥调节作用<sup>[3]</sup>。

目前已发现转录因子HIF-1的目的基因近70多种,HIF-

1通过与靶基因上的HRE结合,诱导下游靶基因的转录而产生一系列生物学效应,如作用于促红细胞生成素(erythropoietin, EPO)使血红蛋白合成增加,增强在低氧环境下的携氧能力;增加与无氧代谢有关的基因转录(包括糖酵解酶、葡萄糖转运子等)而使ATP生成增加;上调血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)的表达而促进肿瘤新生血管形成;此外还可调节多种基因的表达,如胰岛素样生长因子-2、内皮素-1、转铁蛋白、葡萄糖载体蛋白-1及细胞周期调节因子等,这些产物参与肿瘤细胞的代谢、生长、凋亡及浸润转移等。

#### 2 HIF-1与肿瘤转移

临床上已经有许多证据表明,缺氧的肿瘤细胞更具有侵袭性,容易发生远处转移。Zhong等<sup>[4]</sup>在小鼠PCA细胞研究中发现高转移潜能细胞的HIF-1mRNA表达比低转移潜能者高。Chang等<sup>[5]</sup>利用反义RNA技术抑制胰腺癌BxPc-3细胞中HIF-1 $\alpha$ 的表达,从而下调survivin及 $\beta$ 1整合素的表达,进而增强胰腺癌细胞的凋亡,抑制其侵袭与转移性。关于HIF-1 $\alpha$ 对肿瘤转移影响的作用机制目前尚未完全清楚,将分别从以下几个方面进行阐述。

##### 2.1 对肿瘤细胞运动性的影响

肿瘤细胞转移的起始步骤是癌细胞发生迁移,迁移由运动因子启动,运动因子与受体结合后通过信息传导而引发癌细胞运动。影响细胞生长及运动的因子有:肝细胞生长因子

**[基金项目]** 湖北省卫生厅重点资助项目(JX1A06)

**[作者简介]** 董兰兰(1981-),女,湖北广水人,在读硕士研究生,主要从事肿瘤治疗学方面的研究

**[通讯作者]** 袁响林, E-mail: yxl@medmail.com.cn

(HGF)及其受体 c-Met、自分泌运动因子( autocrine motility factor ,AMF)。最近发现,乏氧时 c-Met 增加,从而能增加细胞活动性,并通过与肝细胞生长因子结合而增加细胞的侵袭性<sup>[6]</sup>。Mikami 等<sup>[7]</sup>利用 Transwell 小室侵袭试验、Western blotting 及免疫细胞化学技术研究不同氧浓度下培养的 UT-7/Epo细胞,结果显示 1% O<sub>2</sub> 下培养的细胞伪足伸展更活跃,且低氧时 AMF 在 mRNA 及蛋白水平均表达均增加,细胞运动性亦增强。

## 2.2 对肿瘤基底膜与细胞外基质的影响

肿瘤细胞外基质( extracellular matrix, EMC)的降解是肿瘤侵袭转移的关键步骤之一。基质的降解主要依靠蛋白水解酶的作用。目前研究最多的是基质金属蛋白酶( matrix metalloproteinases, MMPs)。越来越多的证据表明,肿瘤细胞侵袭转移能力与其产生或诱导 MMPs 的能力密切相关,而有很多研究表明 HIF-1 可引起 MMPs 的表达增加进而促进恶性肿瘤的转移。Osinsky 等<sup>[8]</sup>研究了 Lewis 肺癌中肿瘤组织的缺氧水平与 MMP-2 和 MMP-9 在原发肿瘤中的活性和迁移效率有确切的关系。Ryu 等<sup>[9]</sup>采用 RT-PCR、Western blotting 方法研究小白鼠在慢性缺氧状态下( 10% O<sub>2</sub> )导致肺发育过程中 MMP-2 的升高和 TIMP-2 的下调。Munoz-Najar 等<sup>[10]</sup>也发现乏氧可上调乳腺癌细胞 MT1-MMP 和 MMP-2 的表达而促进肿瘤转移,采用 MT1-MMP 为靶点的 siRNA 可降低肿瘤转移性。

## 2.3 对细胞间黏附的影响

肿瘤细胞侵袭转移相关的步骤都与细胞黏附及去黏附有关,并涉及到多种细胞黏附分子及其所介导的信号传导过程。研究表明,在诸多与肿瘤细胞浸润转移相关的黏附分子中,上皮型钙粘素( E-cadherin, E-cad)与  $\beta$  链接素(  $\beta$ -catenin,  $\beta$ -cat)起重要作用, E-cad/ $\beta$ -cat 复合体的破坏可使细胞-细胞、细胞-基质间的黏附性降低,最终导致细胞的分离和移动;同时两者亦是上皮细胞-间质细胞转化( epithelial-mesenchymal transition ,EMT)中的关键蛋白,而 EMT 是肿瘤发生转移过程中的重要现象。HIF-1 $\alpha$  可通过对肿瘤细胞黏附分子表达的影响而促进肿瘤转移,目前国内外已有此方面的诸多研究。在已有淋巴结、血、骨转移的恶性卵巢肿瘤患者或晚期患者的切除肿瘤组织块中能检测到在 HIF-1 高度表达的同时, E-cad 和  $\beta$ -cat 在转录水平和蛋白水平表达降低。Howard 等<sup>[11]</sup>研究发现乳腺癌中 E-cad 的表达与 HIF-1 $\alpha$ 、Her-2 的表达明显相关,有望作为预后的评价指标之一。Calvisi 等<sup>[12]</sup>研究发现,肝癌中 HIF-1 $\alpha$  可上调  $\beta$ -cat, 而降低 E-cad 的表达。Krishnamachary 等<sup>[13]</sup>研究发现 E-cad 表达缺失在肿瘤的侵袭和转移的发病机制中起重要作用,另外还发现在 VHL 基因( 肿瘤抑制基因,可下调 HIF-1 的表达)缺失的肾细胞癌中 E-cad 表达缺失和细胞间黏附下降可通过增强 VHL 的表达或 shRNA 靶向干扰 HIF-1 $\alpha$  的表达而得到纠正。Tutomu Imai 等<sup>[14]</sup>应用 Northern blotting、RT-PCR 和 Western blotting 实验方法发现低氧环境下卵巢癌细胞系中 E-cad 的表达明显减少,导致细胞间黏附作用减小,促进肿瘤侵袭,可

能是导致卵巢癌细胞浸润转移的始动因素,同时发现其机制可能是低氧上调 Snail( E-cad 转录抑制因子)表达。Kurrey 等<sup>[15]</sup>进一步通过对上皮性卵巢癌 SKOV3 细胞株的研究,发现在缺氧环境中 Slug( E-cad 转录抑制因子)表达增强能特定抑制黏合连接分子( E-cad 和  $\beta$ -cat)、紧密连接分子( Occludin 和 ZO-1)以及桥粒连接分子( Dsg2)的表达,而 Snail 能抑制黏合连接分子、紧密连接分子的表达,为肿瘤生长和转移起到一定作用。Ohga 等<sup>[16]</sup>研究发现低氧本身可直接激活 NF- $\kappa$ B,而 ICAM-1( 细胞间黏附分子-1)基因的启动子含有 NF- $\kappa$ B 作用位点,因此可认为低氧通过激活 NF- $\kappa$ B 进而促进 ICAM-1 的表达,促进肿瘤侵袭的发生。Luo 等<sup>[17]</sup>研究认为高表达的 HIF-1 $\alpha$  可调节 EMT 相关蛋白 E-cad 和波形蛋白( vimentin)的表达,进而通过 EMT 这一途径增强前列腺癌细胞的侵袭转移能力。

## 2.4 对肿瘤血管生成的影响

在众多调节中肿瘤血管形成的因子如血管内皮生长因子( vascular endothelial growth factor, VEGF)、表皮生长因子( epidermal growth factor, EGF)和成纤维细胞生长因子( fibroblast growth factor, FGF)中,乏氧能引起 VEGF 的表达上调已得到公认,上调的 VEGF 可协助肿瘤细胞进入脉管系统,从而增加肿瘤转移率。VEGF 基因的 HIF-1 结合点序列为 5'-CACAG-3'和 5'-TACGTGGG-3', HIF-1 的结合点和上游的激活蛋白-1( Ap-1)结合点共同构成 HRE,诱导 VEGF 对缺氧的反应,增加血管生成,使血液到达缺氧部位。Fang 等<sup>[18]</sup>证实,在肿瘤发生早期向血管生成型转变过程中, HIF-1 $\alpha$  介导了 VEGF 的上调。Schoppmann 等<sup>[19]</sup>对 119 例淋巴结阳性的浸润性乳腺癌做免疫组化分析发现, HIF-1 $\alpha$  与 VEGF-C 有显著的相关性,且与淋巴微血管密度有明显的联系。Skinner 等<sup>[20]</sup>亦研究发现 VEGF 的转录活性是由 HIF-1 $\alpha$ 、HDM2 和 p70S6K1 在 PI3K/AKT 信号中调节的, HIF-1 $\alpha$  的表达通过活化 PI3K/AKT 信号通路在转录水平介导 VEGF 蛋白的表达,而 HDM2 和 p70S6K1 是 AKT 下游的两个生长因子,能增强 VEGF 的转录活性和 HIF-1 $\alpha$  的表达。

## 2.5 对肿瘤细胞凋亡的影响

细胞凋亡作为一种重要的位点控制机制参与肿瘤转移过程中的癌细胞脱离原发瘤,逃逸免疫细胞杀伤及其远隔脏器的细胞积累等步骤,且与转移抑制有关。Bcl-2 为凋亡抑制因子, Bcl-2 可通过抑制肿瘤细胞凋亡而增强膀胱癌的转移能力<sup>[21]</sup>。Acs 等<sup>[22]</sup>发现 HIF-1 $\alpha$  上调 Bcl-2, 抑制凋亡,从而增强肿瘤转移力。HIF-1 $\alpha$  亦可上调凋亡抑制因子 p21, 从而抑制凋亡使肿瘤恶性程度增加易于转移<sup>[23]</sup>。HIF-1 $\alpha$  可以通过增加野生型 p53 的稳定性诱导细胞的凋亡,而选择性地使 p53 突变或 p53 缺失的瘤细胞凋亡受阻,使肿瘤恶性程度更高。

## 3 结语

乏氧是实体瘤发展过程中的普遍现象,肿瘤为适应乏氧而发生一系列生物学改变,包括肿瘤的侵袭性及远处转移能

力的增加, HIF-1 $\alpha$  是这一系列改变的关键调控因子。肿瘤转移本身存在多方面的因素, 包括涉及肿瘤细胞增殖和转化、肿瘤新生血管的形成、MMPs 降解基质、肿瘤细胞黏附及迁移等, 而 HIF-1 $\alpha$  可作用于这些环节促进肿瘤转移, 但其深入机制尚待进一步研究。目前, 与 HIF-1 $\alpha$  相关的肿瘤治疗方法多处于基础研究阶段, 仅部分进入临床试验。相信随着这一领域的深入研究, 有可能将 HIF-1 $\alpha$  与肿瘤转移相关蛋白如黏附分子共同作为一种可靠的肿瘤转移的诊断标记物和癌症治疗的靶向蛋白之一; 另外, 通过药物或基因治疗的方式抑制 HIF-1 $\alpha$  的活性, 将可能是治疗肿瘤、减少恶性肿瘤转移的一种新途径。

#### [ 参考文献 ]

- [ 1 ] Semenza GL. HIF-1 and tumor progression: Pathophysiology and therapeutics[ J ]. Trends Mol Med, 2002, 8( 4 suppl ): S65-67.
- [ 2 ] Semenza GL. HIF-1: Mediator of physiological and pathophysiological responses to hypoxia[ J ]. J Appl Physiol, 2000, 88( 4 ): 1474-1480.
- [ 3 ] Semenza GL. Hypoxia-inducible factor 1: Oxygen homeostasis and disease pathophysiology[ J ]. Trends Mol Med, 2001, 7( 8 ): 345-350.
- [ 4 ] Zhong H, Agani F, Baccala AA, *et al.* Increased expression of hypoxia inducible factor-1 $\alpha$  in rat and human prostate cancer[ J ]. Cancer Res, 1998, 58( 23 ): 5280-5284.
- [ 5 ] Chang Q, Qin R, Huang T, *et al.* Effect of antisense hypoxia inducible factor 1 $\alpha$  on progression, metastasis, and chemosensitivity of pancreatic cancer[ J ]. Pancreas, 2006, 32( 3 ): 297-305.
- [ 6 ] Bernards R. Cancer: Cues for migration[ J ]. Nature, 2003, 425( 6955 ): 247-248.
- [ 7 ] Mikami M, Sadahira Y, Haga A, *et al.* Hypoxia-inducible factor-1 drives the motility of the erythroid progenitor cell line, UT-7/Epo, via autocrine motility factor[ J ]. Exp Hematol, 2005, 33( 5 ): 531-541.
- [ 8 ] Osinsky SP, Ganusevich II, Bubnovskaya LN, *et al.* Hypoxia level and matrix metalloproteinases-2 and -9 activity in Lewis lung carcinoma: Correlation with metastasis[ J ]. Exp Oncol, 2005, 27( 3 ): 202-205.
- [ 9 ] Ryu J, Vicencio AG, Yeager ME, *et al.* Differential expression of matrix metalloproteinases and their inhibitors in human and mouse lung development[ J ]. Thromb Haemost, 2005, 94( 1 ): 175-183.
- [ 10 ] Munoz-Najar UM, Neurath KM, Vumbaca F, *et al.* Hypoxia stimulates breast carcinoma cell invasion through MT1-MMP and MMP-2 activation[ J ]. Oncogene, 2006, 25( 16 ): 2379-2392.
- [ 11 ] Howard EM, Lau SK, Lyles RH, *et al.* Expression of e-cadherin in high-risk breast cancer[ J ]. J Cancer Res Clin Oncol, 2005, 131( 1 ): 14-18.
- [ 12 ] Calvisi DF, Ladu S, Conner EA, *et al.* Disregulation of E-cadherin in transgenic mouse models of liver cancer[ J ]. Lab Invest, 2004, 84( 9 ): 1137-1147.
- [ 13 ] Krishnamachary B, Zagzag D, Nagasawa H, *et al.* Hypoxia-inducible factor-1-dependent repression of E-cadherin in von Hippel-Lindau tumor suppressor-null renal cell carcinoma mediated by TCF3, ZFH1A, and ZFH1B[ J ]. Cancer Res, 2006, 66( 5 ): 2725-2731.
- [ 14 ] Imai T, Horiuchi A, Wang C, *et al.* Hypoxia attenuates the expression of E-cadherin via up-regulation of SNAIL in ovarian carcinoma cells[ J ]. Am J Pathol, 2003, 163( 4 ): 1437-1447.
- [ 15 ] Kurrey NK, KA, Bapat SA. Snail and Slug are major determinants of ovarian cancer invasiveness at the transcription level[ J ]. Gynecol Oncol, 2005, 97( 10 ): 155-165.
- [ 16 ] Ohga E, Matsuse T. The relationship between adhesion molecules and hypoxia[ J ]. Nippon Rinsho, 2000, 58( 8 ): 1587-1591.
- [ 17 ] Luo Y, He DL, Ning L, *et al.* Hypoxia-inducible factor-1 $\alpha$  induces the epithelial mesenchymal transition of human prostate cancer cells[ J ]. Chin Med J( Engl ), 2006, 119( 9 ): 713-718.
- [ 18 ] Fang J, Yan L, Shing Y, *et al.* HIF-1 $\alpha$ -mediated up-regulation of vascular endothelial growth factor, independent of basic fibroblast growth factor, is important in the switch to the angiogenic phenotype during early tumorigenesis[ J ]. Cancer Res, 2001, 61( 15 ): 5731-5735.
- [ 19 ] Schoppmann SF, Fenzl A, Schindl M, *et al.* Hypoxia inducible factor-1 $\alpha$  correlates with VEGF-C expression and lymphangiogenesis in breast cancer[ J ]. Breast Cancer Res Treat, 2006, 99( 2 ): 135-141.
- [ 20 ] Skinner HD, Zheng JZ, Fang J, *et al.* Vascular endothelial growth factor transcriptional activation is mediated by hypoxia inducible factor 1 $\alpha$ , HDM2, and p70S6K1 in response to phosphatidylinositol 3-kinase/AKT signaling[ J ]. J Biol Chem, 2004, 279( 44 ): 45643-45651.
- [ 21 ] Miyake H, Hara I, Yamanaka K, *et al.* Overexpression of Bcl-2 enhances metastatic potential of human bladder cancer cells[ J ]. Br J Cancer, 1999, 79( 11 ): 1651-1656.
- [ 22 ] Acs G, Zhang PJ, McGrath CM, *et al.* Hypoxia-inducible erythropoietin signaling in squamous dysplasia and squamous cell carcinoma of the uterine cervix and its proteinal role in cervical carcinogenesis and tumor progression[ J ]. Am J Pathol, 2003, 162( 6 ): 1789-1806.
- [ 23 ] Birner P, Schindl M, Obermair A, *et al.* Expression of hypoxia-inducible factor 1 $\alpha$  in epithelial ovarian tumors: Its impact on prognosis and on response to chemotherapy[ J ]. Clin Cancer Res, 2001, 7( 6 ): 1661-1668.

[ 收稿日期 ] 2006-07-11

[ 修回日期 ] 2006-09-26

[ 本文编辑 ] 韩丹