

缺氧诱导因子-1 α (HIF-1 α)与卵巢癌多药耐药的关系*

张媛媛 张广美 Δ

(哈尔滨医科大学附属第一医院妇产科 黑龙江 哈尔滨 150001)

摘要 :卵巢癌是常见的妇科恶性肿瘤,其死亡率居妇科肿瘤之首。化疗是其重要的治疗手段,而随之产生的肿瘤细胞多药耐药成为治疗失败的主要原因。低氧是所有实体肿瘤的特征,缺氧诱导因子-1 α (HIF-1 α)是介导细胞低氧反应最关键的核转录因子,对卵巢癌多药耐药的形成功起到多方面的作用,本文就近年来以 HIF-1 α 为靶点研究卵巢癌耐药的研究进展作一综述。

关键词 :卵巢癌;多药耐药;缺氧诱导因子-1 α

中图分类号:R737.31 文献标识码:A 文章编号:1673-6273(2012)14-2748-03

The Relationship Between HIF-1 α and Multidrug Resistance*

ZHANG Yuan-yuan, ZHANG Guang-mei Δ

(Department of Gynaecology and Obstetrics the First Clinical College of Harbin Medical University, 150001, Harbin, China)

ABSTRACT: Ovarian cancer, which is a common gynecological cancer, is the leading cause of death among gynecological cancers. Chemotherapy is an important treatment for it, but often generates multidrug resistance (MDR), which become the main reason of chemotherapy failure. Low oxygen is the characteristics of all solid tumors, and the Hypoxia Induced Factor-1 α (HIF-1 α) is most important nuclear transcription factor in low oxygen response of mediating cells. HIF-1 α plays the various roles in the formation of MDR. This paper summarized the relationship between HIF-1 α and multidrug resistance.

Key words: Ovarian cancer; Multidrug resistance; Hypoxia inducible factor-1 α (HIF-1 α)

Chinese Library Classification (CLC): R737.31 **Document code**: A

Article ID: 1673-6273(2012)14-2748-03

卵巢癌是致死率最高的妇科恶性肿瘤,化疗是卵巢癌术后的主要治疗措施之一,但肿瘤细胞多药耐药(MDR)通常导致化疗失败。有研究发现缺氧不仅可以促进肿瘤细胞的生长、浸润和转移,还可以诱导肿瘤细胞对化疗药物产生耐受性,产生MDR。缺氧诱导因子-1 (hypoxia inducible factor-1 α , HIF-1)是在缺氧状态下重要的转录调节因子。研究认为,HIF-1 α 在卵巢癌的MDR中有着多方面的作用,现综述如下。

1 HIF-1

HIF-1是由Semenza等于1992年研究发现的介导哺乳动物和人类细胞低氧反应的核转录因子^[1]。HIF-1以异源二聚体的形式存在,由 α 亚基和 β 亚基组成,二者均属于碱性环-螺旋-环结构家族, α 亚基为氧调节蛋白, β 亚基为基础表达蛋白。常氧状态下HIF-1 α 的脯氨酸残基被羟化并通过E3泛素化-蛋白酶体途径迅速降解。缺氧状态下脯氨酸羟化酶失活,范素-蛋白酶体对HIF-1 α 的降解受阻,HIF-1 α 聚集于细胞核内并与从胞浆转移至细胞核内的HIF-1 β 结合成有活性的HIF-1复合物,与其要调节的下游靶基因的缺氧反应元件(hypoxic responsive element, HRE)结合,形成转录起始复合物启动下游靶基因的转录^[2,3]。目前,已明确的HIF-1的靶基因有150个,其生物学效应包括血管形成、红细胞生成、无氧糖酵解、细胞增殖和发育、能量代谢、调节血管张力、转录调节和药物抵抗等多方面。

在机体的低氧适应生理性和病理性反应(如缺血性保护、肿瘤细胞生存等)中发挥重要作用^[4]。HIF-1表达增高与肿瘤侵袭、转移以及对放化疗耐受相关,其作为肿瘤组织低氧性适应中的关键因子,已经成为恶性肿瘤治疗研究的重要靶点之一。

1.1 HIF-1 α 与卵巢癌

低氧环境所诱导的HIF-1与卵巢癌发生、发展具有密切关系。Imai等通过对卵巢癌细胞株和正常上皮细胞进行免疫组化染色后分析发现,正常卵巢上皮中HIF-1 α 表达阴性,在卵巢癌细胞株中HIF-1 α 阳性率为42%,同时HIF-1 α 的表达水平与钙粘连蛋白呈负相关,认为HIF-1 α 可作为衡量早期卵巢癌侵袭力的生物学标记^[5]。Birner的研究发现68.6%卵巢癌中HIF-1 α 过度表达,且HIF-1 α 的表达水平与肿瘤血管密度(MVD)密切相关^[6]。Horiuchi等研究发现卵巢癌实体瘤中,低氧诱导了HIF-1 α 表达增加,从而促进血管内皮生长因子(VEGF)表达增高,促进了肿瘤血管生成^[7]。HIF-1 α 可能是多种促进卵巢癌演进的信号途径的共同通路,因此基于HIF-1的基因治疗可能是卵巢癌治疗的重要途径之一。

2 多药耐药(MDR)

MDR是指肿瘤对一种抗肿瘤药物出现耐药的同时,对其他结构各异、作用机制不同的抗肿瘤药物也产生交叉耐药的现象,包括原发耐药(或内在耐药)和获得性耐药。肿瘤MDR的

* 基金项目:黑龙江省自然科学基金项目(D200952)

Δ 通讯作者:张广美,主任医师,博士生导师

(收稿日期:2011-11-05 接受日期:2011-11-30)

机制非常复杂,包括①膜蛋白介导的耐药机制。如P-糖蛋白(P-gp)、多药耐药相关蛋白(MRP)、肺耐药蛋白(LRP)、乳腺癌耐药蛋白(BCRP)等介导的药物外排机制;②酶介导的耐药机制。如谷胱甘肽转氨酶(GST)、拓扑异构酶(Topo)、蛋白激酶C(PKC)等酶表达异常而引起耐药;③其他。如凋亡调控基因表达失控、DNA损伤修复能力增强、细胞因子改变等等。

2.1 MDR基因与卵巢癌

MDR是多基因家族,只有MDR1和MDR3两种类型存在于人类,其中MDR1与耐药密切相关。MDR1定位于染色体7q21.1,由28个外显子组成,编码1280个氨基酸残基。P-gp为MDR编码的一种分子量为170KD的跨膜糖蛋白,与多种化疗药物抗药性有关,如阿霉素、紫杉醇等。P-gp为能量依赖性蛋白,通过使药物从细胞内外排降低细胞内的药物浓度而产生耐药。研究表明,P-gp在卵巢癌组织中的阳性表达率为15%-40%,而在接受化疗者或复发者的阳性表达率增加。因此认为,P-gp在介导化疗药物诱导的获得性耐药方面可能起主要作用。在多种对紫杉醇耐药的卵巢癌细胞系中P-gp均呈高表达,且表达强度与紫杉醇的敏感性呈负相关^[8,9]。Cheng^[10]等采用RT-PCR的方法比较正常卵巢组织、良性卵巢肿瘤和卵巢癌组织中的MDR1、LRP、GST- π 表达情况,结果MDR1、LRP、GST- π 在卵巢癌组织中的表达显著高于正常卵巢组织及良性卵巢肿瘤,认为卵巢癌耐药为多基因共同参与的。

3 HIF-1 α 与卵巢癌多药耐药

3.1 HIF-1 α 、MDR1/P-gp与卵巢癌耐药

研究显示^[11,12],低氧情况下不仅上调HIF-1 α 的表达,MDR1与P-gp的表达也上调。MDR1基因启动子区有与HIF-1功能性的低氧反应元(HRE),表明MDR1是受HIF-1调控的靶基因,HIF-1可以诱导MDR1/P-gp的表达增加,增强肿瘤的耐药性。Wang^[13]等用HIF-1 α 反义寡核苷酸封闭人卵巢癌细胞的HIF-1 α 表达后,能抑制多药耐药的人卵巢癌细胞株的多药耐药情况,显著提高低氧和阿霉素诱导的细胞凋亡水平。葛红雨^[14]构建HIF-1 α 短发夹siRNA真核表达载体并转染COC1/DDP细胞,结果在低氧条件下HIF-1 α 蛋白及mRNA表达水平下降,同时MDR1基因的mRNA及其编码的P-gp蛋白水平也明显下降,对顺铂的药物敏感性增加。聂春莲^[15]构建HIF-1 α 短发夹RNA表达质粒并转染卵巢癌SKOV3细胞,使HIF-1 α 基因的表达下调,结果转染后低氧培养的SKOV3细胞P-gp的表达下降,癌细胞对化疗药物紫杉醇、多柔比星敏感性显著增高。体内实验结果HIF-1 α RNAi表达质粒联合DDP对肿瘤的抑制作用强于单用质粒和DDP。上述研究表明,HIF-1 α 上调P-糖蛋白的表达可能是引起肿瘤细胞对某些化疗药物不敏感的原因之一,采用HIF-1 α RNAi表达质粒阻滞HIF-1 α 基因的表达可下调P-gp表达,在一定程度上逆转卵巢癌耐药。

3.2 HIF-1 α 、血管内皮生长因子(VEGF)与卵巢癌耐药

血管内皮生长因子(VEGF)是一种强大的血管基因,是肿瘤血管生成最关键的细胞因子。HIF-1 α 与VEGF基因转录起始点上游约1kb的5'侧翼区域缺氧反应元件结合,上调VEGF mRNA的表达,增加血管生成。另外HIF-1 α 还通过参与胰岛素样生长因子I、II和胰岛素样生长因子受体的自分泌环促进肿瘤

细胞VEGF的表达。VEGF和缺氧可进一步上调其受体的表达,从而通过VEGF-VEGFR信号转导通路诱导血管生成。研究发现,与正常卵巢组织相比,晚期(III、IV期)上皮性卵巢癌组织中HIF-1 α 及VEGF蛋白表达水平均显著升高,且二者具有极强的相关性,提示HIF-1 α 可能是促进VEGF过表达的重要因素之一^[16]。另有研究表明,HIF-1 α 可通过介导内皮素-1上调卵巢癌组织VEGF的表达,并增加VEGF mRNA的稳定性^[17,18]。

MDR产生的一个重要机制是肿瘤新生血管形成。Fantap^[19]等研究报道,MDR表型与血管形成表型密切相关,而HIF-1 α 在肿瘤血管形成中起着至关重要的作用。Klement^[20]等将VEGFR-2抗体与小剂量化疗药物联合应用,逆转了高表达P-gp乳腺癌细胞的MDR,表明VEGF对MDR有重要的作用。Bryant等^[21]研究结果表明,采用HIF-1 α RNAi表达质粒靶向抑制卵巢癌细胞中HIF-1 α 基因的表达显著降低了VEGF的表达。另有研究表明,顺铂和多柔比星能够通过不同机制抑制HIF-1 α 的表达,进而抑制VEGF的表达^[22,23]。上述实验结果表明,抑制HIF-1 α 基因的表达可降低VEGF的表达,抑制肿瘤细胞增殖、降低致瘤性的同时,还提高卵巢癌对部分化疗药的敏感性,进而为逆转卵巢癌耐药提供更多的依据。

3.3 HIF-1 α 、Bcl-2与卵巢癌耐药

随着对细胞凋亡研究的深入,人们发现细胞凋亡与肿瘤细胞的耐药性存在密切关系^[24]。细胞凋亡过程受多基因调控,如Bcl-2、Bcl-xL、Bax、Bak等。促凋亡基因的缺失和抗凋亡基因过度表达可导致肿瘤细胞对化疗药物产生耐药。Bcl-2是抗凋亡基因的一种,位于18号染色体,通过调节线粒体细胞色素C的释放而抑制细胞凋亡,可阻断多种化疗药物及放射线诱导的肿瘤细胞程序性死亡通路而介导肿瘤耐药。下调Bcl-2的表达,可明显增加卵巢癌细胞对多柔比星的敏感性^[25,26]。研究认为,HIF-1 α 可调节多种肿瘤生存相关基因,并通过影响Bcl-2基因等调控细胞的生存和死亡,抑制HIF-1 α 蛋白的表达后,凋亡抑制因子Bcl-2 mRNA下降,肿瘤细胞的凋亡明显增加。卵巢癌中HIF-1 α 基因的高表达促进了Bcl-2基因的表达,使肿瘤细胞的凋亡受到抑制,进而产生耐药,因此,抑制HIF-1 α 基因的表达,在下调Bcl-2基因的表达的同时,亦增加肿瘤细胞对化疗药物的敏感性^[27,28]。

综上所述,HIF-1 α 作为一种核转录因子,在机体低氧生理性和病理性反应(如缺血性保护、肿瘤细胞生存等)中发挥重要作用。HIF-1 α 表达增高与肿瘤侵袭、转移以及对放化疗耐受相关,作为肿瘤组织低氧性适应中的关键因子,已经成为恶性肿瘤治疗研究的重要靶点之一。卵巢癌耐药机制是复杂的,多因素的,随着对HIF-1 α 与卵巢癌MDR研究的逐渐深入,以HIF-1 α 为靶点的肿瘤治疗为逆转卵巢癌耐药及化疗敏感提供了新的思路,另外,通过抑制HIF-1 α 信号转导通路调节其活性的蛋白结合、靶基因及蛋白表达,可成为逆转卵巢癌耐药的治疗新靶点。

参考文献(Reference)

- [1] Semenza GL. A nuclear factor induced by hypoxia via de novo protein synthesis binds to the human gene enhancer at a site required for transcriptional activation[J]. Mol Cell Biol, 2002, 12(9):5447-5554

- [2] Smith TG, Robbins PA, Ratcliffe PJ. The human side of hypoxia-inducible factor[J]. *Br J Haematol*, 2008, 141:325-334
- [3] Semenza GL. HIF-1, O(2), and the 3 PHDs: how animal cells signal hypoxia to the nucleus[J]. *Cell*, 2001, 107:1-3
- [4] Semenza GL. Targeting HIF-1 for cancer therapy [J]. *Nat Rev Cancer*, 2003, 3(10):721-732
- [5] 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
- [6] Birner P, Schindl M, Obermair A, et al. Expression of hypoxia-inducible factor 1alpha in epithelial ovarian tumors: its impact on prognosis and on response to chemotherapy[J]. *Clin Cancer Res*, 2001, 7(6):1661-1668
- [7] Horiuchi A, Imai T, Shimizu M, et al. Hypoxia-induced changes in the expression of VEGF, HIF-1alpha and cell cycle-related molecules in ovarian cancer cells[J]. *Anticancer Res*, 2002, 22 (5):2697-2702
- [8] 朱玲,郎景和,沈铿,等.多药耐药基因表达与卵巢癌耐药关系的研究[J]. *中华妇产科杂志*, 1997, 32(8): 462
Zhu Ling, Lang Jing-he, Shen Jian, et al. Research on the relationship between expression of multidrug-resistant gene and ovarian cancer[J]. *Chinese Journal of Obstetrics and Gynecology*, 1997, 32(8): 462
- [9] Khalifa MA, Abdoh AA, Mannel RS, et al. P-glycoprotein as a prognostic indicator in prechemotherapy and postchemotherapy ovarian adenocarcinoma[J]. *Int J Gynecol Pathol*, 1997, 16(1): 69-75
- [10] Cheng G, Zhu H, Sun L, et al. The expression of multiple drug resistance associated genes in ovarian cancer[J]. *Chin J Obstet Gynecol*, 2000, 35:87-90
- [11] Wartenberg M, Ling FC, Muschen M, et al. Regulation of the multidrug resistance transporter P-glycoprotein in multicellular tumor spheroids by hypoxia-inducible factor (HIF-1) and reactive oxygen species[J]. *FASEB J*, 2003, 17(3): 503-505
- [12] Comerford KM, Cummins EP, Taylor CT. c-Jun NH-2terminal kinase activation contributes to hypoxia-inducible factor 1 alpha-dependent P-glycoprotein expression in hypoxia[J]. *Cancer Res*, 2004, 64(24): 9057-9061
- [13] Wang Y, Minko T. A novel cancer therapy: combined liposomal hypoxia inducible factor 1 alpha antisense oligonucleotides and an anti-cancer drug[J]. *Biochem Pharmacol*, 2004, 68(10):2031-2042
- [14] 葛红雨,吴维光,韩建秋,等. RNAi 抑制 HIF-1 α 基因逆转卵巢癌多药耐药的实验研究[J]. *中国癌症防治杂志*, 2010, 2(1): 8-11
Ge hongyu, Wu weiguang, Han jianqiu, et al. Reversion of multidrug resistance by RNA interference targeting HIF-1 α gene in ovarian cancer cells[J]. *Chin J of Oncol Prev and Treat*, 2010, 2(1):8-11
- [15] 聂春莲,高国兰.低氧诱导因子-1 α RNAi 表达质粒对卵巢癌细胞影响的实验研究[J]. *中国肿瘤临床*, 2011, 28(9):485-487
Niechunlian, Gao guolan. Effect of Hypoxia Inducible Factor-1 α RNAi Expressing Plasmid on Ovarian Cancer SKOV3 Cells [J]. *Chin J of Clin Oncol*, 2011, 38(9):485-487
- [16] Wong C, Wellman TL, Lounsbury KM. VEGF and HIF-1 alpha expression are increased in advanced stages of epithelial ovarian cancer [J]. *Gynecol Oncol*, 2003, 91(3):513-517
- [17] Spinella F, Rosano L, Di Castro V, et al. Endothelin-1 induces vascular endothelial growth factor by increasing hypoxia-inducible factor-1 alpha in ovarian carcinoma cells[J]. *J Biol Chem*, 2002, 277 (31): 27850-27855
- [18] Fang J, Yan L, Shing Y, et al. HIF-1 α 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] Fantappie O, Masini E, Sardi I, et al. The MDR phenotype is associated with the expression of COX-2 and iNOS in a human hepatocellular carcinoma cell line[J]. *Hepatology*, 2002, 35(4):843-852
- [20] Klement G, Huang P, Mayer B, et al. Differences in therapeutic indexes of combination metronomic chemotherapy and an anti VEGFR-2 antibody in multidrug resistant human breast cancer xenografts[J]. *Clin Cancer Res*, 2002, 8(1):221-232
- [21] Bryant CS, Munkarah AR, Kumar S, et al. Reduction of hypoxia-induced angiogenesis in ovarian cancer cells by inhibition of HIF-1 alpha gene expression[J]. *Arch Gynecol Obstet*, 2010, 282(6):677-683
- [22] Zhong XS, Liu LZ, Skinner HD, et al. Mechanism of vascular endothelial growth factor expression mediated by cisplatin in human ovarian cancer cells[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2007, 358(1): 92-98
- [23] Duyndam MC, van Berkel MP, Dorsman JC, et al. Cisplatin and doxorubicin repress Vascular Endothelial Growth Factor expression and differentially down-regulate Hypoxia-inducible Factor 1 activity in human ovarian cancer cells[J]. *Biochem Pharmacol*, 2007, 74 (2): 191-201
- [24] Williams J, Lucas PC, Griffith KA, et al. Expression of Bcl-xL in ovarian carcinoma is associated with chemoresistance and recurrent disease[J]. *Gynecol Oncol*, 2005, 96(2):287-295
- [25] Williams J, Lucas PC, Griffith KA, et al. Expression of Bcl-xL in ovarian carcinoma is associated with chemoresistance and recurrent disease[J]. *Gynecol Oncol*, 2005, 96(2):287-295
- [26] Pakunlu RI, Cook TJ, Minko T, et al. Simultaneous multidrug resistance and antiapoptotic cellular defense by MDR1 and Bcl-2 targeted antisense oligonucleotides enhances the anticancer efficacy of doxorubicin[J]. *Pharm Res*, 2003, 20(3): 351-359
- [27] Carmeliet P, Dor Y, Herbert JM, et al. Role of HIF-1 in hypoxia-mediated apoptosis, cell proliferation and tumour angiogenesis. *Nature*, 1998, 394(6692):485-490
- [28] 蒋红元,丰有吉.西罗莫司抑制缺氧诱导因子 1 α 蛋白表达及其对 SKOV3 裸鼠移植瘤生长的作用. *中华妇产科杂志*, 2004, 39(7): 474-477
Jiang hongyuan, Feng youji. Inhibition of hypoxia-inducible factor 1 α expression and tumor growth in SKOV3 ovarian cancer model by sirolimus[J]. *Chin J Obstet Gynecol*, 2004, 39(7):474-477