

Regulacja ekspresji białka HIF 1 jako nowa strategia celowanej terapii nowotworów złośliwych

Beata Biesaga

Wysoki poziom hipoksji w tkance nowotworowej jest niekorzystnym czynnikiem prognostycznym w leczeniu promieniowaniem jonizującym wielu typów nowotworów złośliwych. Jednym z najważniejszych białek, pozwalającym komórkom na adaptację do niskiego stężenia tlenu w środowisku, jest białko HIF 1. Białko to pełni rolę czynnika transkrypcyjnego. W stanie hipoksji w komórkach dochodzi do nagromadzenia HIF 1, co stymuluje ekspresję wielu genów, kodujących białka zaangażowane między innymi w procesy glikolizy i angiogenezy. Nadekspresję białka HIF 1, czy też podjednostki alfa tego białka (HIF 1 alfa), wykryto w wielu typach nowotworów, niezależnie od stanu ich utlenowania. Wykazano, że akumulacja HIF 1 alfa jest związana ze wzrostem promieniooporności guzów poprzez zahamowanie procesu apoptozy w komórkach śródbłonna naczyń krwionośnych przez cytokiny VEGF i bFGF, wytwarzane pod wpływem białka HIF 1. Zahamowanie ekspresji białka HIF 1, czy też jego podjednostki alfa, pozwoliłoby więc na zwiększenie promieniowrażliwości guzów i tym samym poprawienie wyników radioterapii. W badaniach przedklinicznych testuje się obecnie wiele drobnocząsteczkowych inhibitorów, hamujących obecność HIF 1 alfa w komórkach nowotworowych, jednak większość z nich wywołuje poważne skutki uboczne, co najprawdopodobniej dyskwalifikuje te związki od zastosowania w praktyce klinicznej. Duże nadzieje budzi ostatnio jednoczesne leczenie promieniowaniem jonizującym i związkami hamującymi proces angiogenezy, np. kanstatyną. W guzach mysich zaobserwowano wyższy poziom apoptozy w komórkach śródbłonna naczyń krwionośnych i komórkach nowotworowych po zadziałaniu obu czynników, w porównaniu do poziomu apoptozy przed napromienianiem.

Regulation of HIF 1 protein expression as a new strategy of cancer target therapy

The high level of hypoxia in a solid tumour is a negative prognostic factor for response to treatment and survival of cancer patients. The most important mediator of cell response to reduced oxygen availability is the hypoxia induced factor HIF 1. This protein is a transcription factor which, during hypoxia, induced expression of many genes, among them also those encoding angiogenic growth factors: VEGF and bFGF. HIF 1 protein overexpression or overexpression of its subunit HIF 1 alfa have been detected in majority of solid tumours, independently of their oxygenation status. Accumulation of HIF 1 alfa correlates with tumour radioresistance because VEGF and bFGF cytokines counteract the radiation induced apoptosis in endothelial and tumour cells. Therefore the inhibition of HIF 1 expression in cancer cells could allow to increase the radiosensitivity of the tumour. A number of anticancer agents have been reported to decrease HIF 1 alfa activity in vitro. However, the concentration of these agents required to inhibit HIF 1 alfa is too high to be used in clinical practise due to the possibility of severe side effects. Recently, the study performed on mice tumours has shown a higher level of endothelial cell apoptosis after concomitant application of ionizing radiation and angiogenesis inhibitor – canstatin than before radiotherapy.

Słowa kluczowe: białko HIF 1, angiogeneza, kanstatyna, terapia nowotworów złośliwych

Keywords: HIF 1 protein, angiogenesis, canstatin, anticancer therapy

Wprowadzenie

Jedną z najważniejszych cech biologicznych nowotworów, determinujących odpowiedź na promieniowanie, jest poziom ich utlenowania. W nowotworach narządów głowy i szyi, raku szyjki macicy i nowotworach tkanek miękkich wykazano, że hipoksja jest niekorzystnym czynnikiem

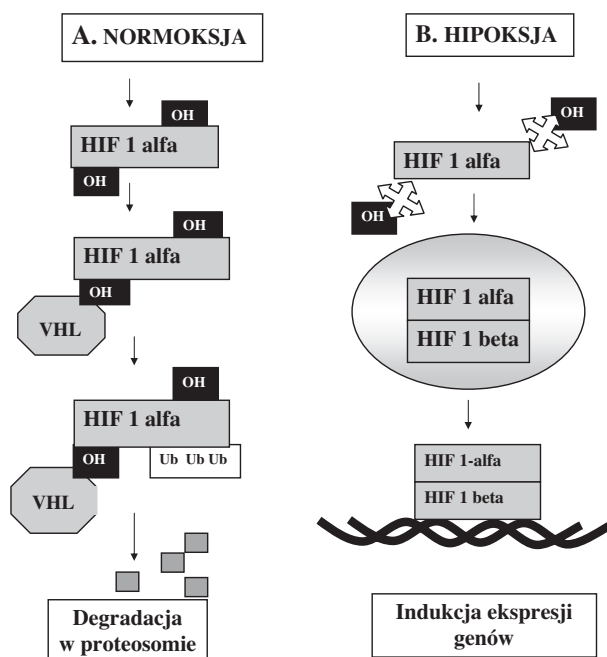
prognostycznym, związanym z niższym prawdopodobieństwem miejscowej wyleczalności nowotworu i przeżyciem bezobjawowym po leczeniu promieniowaniem jonizującym [1-4]. Dotychczas negatywny wpływ niskiego stężenia tlenu w tkance nowotworowej na wyniki radioterapii wyjaśniano przez tzw. „klasyczny efekt tlenowy”, polegający na reakcji tlenu z powstałymi w wyniku radiolizy wody niestabilnymi rodnikami wodoru [5]. W reakcji tej dochodzi do powstania długo żyjących rodników ponadtlenkowych, które powodują liczne uszkodzenia DNA. Jednak hipoksja jest także negatywnym czynnikiem progno-

stycznym w przypadku innych sposobów leczenia guzów złośliwych, takich jak chirurgia i chemioterapia [6-9]. Nie jest możliwe wytłumaczenie niekorzystnego wpływu poziomu utleniania nowotworu na wyniki leczenia chirurgicznego i chemioterapii tylko „efektem tlenowym”, występującym w związku z działaniem promieniowania jonizującego. W ostatnich latach wykazano, że hipoksja jest czynnikiem indukującym w komórkach nadekspresję genów i białek stresowych, które mogą przyczyniać się do powstawania bardziej złośliwego fenotypu i zwiększania zdolności do przerzutowania komórek nowotworowych [4, 10]. Indukcja ta polega na aktywacji w stanie hipoksji odpowiednich czynników transkrypcyjnych, stymulujących ekspresję tych genów.

Budowa i działanie białka HIF 1

Jednym z najważniejszych czynników transkrypcyjnych, którego nadekspresję wykazano w stanie hipoksji, jest białko HIF 1 (*hypoxia induced factor*) [11]. Białko to w warunkach niedoboru tlenu indukuje ekspresję około kilkudziesięciu genów kodujących białka, odpowiedzialne za przystosowanie komórek do hipoksji [12]. Są to między innymi białka zaangażowane w procesy metabolizmu bez-tlenowego (np. enzymy glikolityczne), transport glukozy (np. białko GLUT 1), hematopoezy (np. erytropoetyna), transportu żelaza (np. transferyna), a także angiogenezy (np. naczyniowo-śródbłonkowy czynnik wzrostu, VEGF, *vascular-endothelial growth factor*) [13, 14]. Białko HIF 1 jest heterodimerem, zbudowanym z dwóch podjednostek alfa i beta [15]. W warunkach aerobowych podjednostka alfa jest degradowana w komórce na drodze ubiquitylizacji (Ryc. 1a), natomiast podjednostka beta jest białkiem konstytutywnym, występującym na terenie jądra komórkowego [15]. Proces degradacji podjednostki alfa jest zapoczątkowany przez hydroksylację aminokwasów proliny 402 i proliny 564, wchodzących w skład białka. Do tak zmodyfikowanej podjednostki alfa przyłącza się białko von Hippel-Lindau (VHL) – produkt genu supresorowego VHL, a następnie cząsteczki ubiquityny. Wyznakowana ubiquityną podjednostka alfa jest rozkładana w proteosomie. Nowotwory, w których stwierdzono mutację genu VHL, charakteryzują się wysokim poziomem białka HIF 1, nawet w warunkach dobrego utleniania, a tym samym wysoką ekspresją genów indukowaną przez HIF 1 i bardziej złośliwym fenotypem [16]. Natomiast w warunkach niedoboru tlenu do podjednostki alfa nie są przyłączane grupy hydroksylowe, przez co zahamowany zostaje rozkład białka na drodze ubiquitylizacji (Ryc. 1b). Wówczas podjednostka alfa przedostaje się do jądra komórkowego i łączy się z podjednostką beta, co prowadzi do pobudzenia ekspresji genów w odpowiedzi na stan hipoksji.

W wielu guzach ludzkich wykazano nadekspresję podjednostki alfa białka HIF 1 w tkance nowotworowej, niezależnie od stanu jej utleniania. Akumulację HIF 1 alfa wykryto w raku piersi (56-76%) [16-19], stercza (82%) [17], odbytnicy (70-100%) [20, 21], nowotworach jajnika (69%) [20], a także w raku szyjki macicy (72-81%)



Ryc. 1. Mechanizmy regulacji ekspresji białka HIF 1 w komórkach w stanie normoksji (a) i hipoksji (b).

W normoksji (a) podjednostka alfa jest degradowana w komórce na drodze ubiquitylizacji, zapoczątkowanej przez hydroksylację aminokwasów proliny 402 i proliny 564, wchodzących w skład białka. Do tak zmodyfikowanej podjednostki alfa przyłącza się białko von Hippel-Lindau (VHL), a następnie cząsteczki ubiquityny. Wyznakowana ubiquityną podjednostka alfa jest rozkładana w proteosomie. W stanie hipoksji (b) nie dochodzi do hydroksylacji prolin podjednostki alfa. Podjednostka alfa przedostaje się wówczas do jądra komórkowego, tam dochodzi do jej połączenia z podjednostką beta i pobudzenia ekspresji odpowiednich genów w odpowiedzi na stan hipoksji.

[22] i w nowotworach narządów głowy i szyi (58-94%) [23-25].

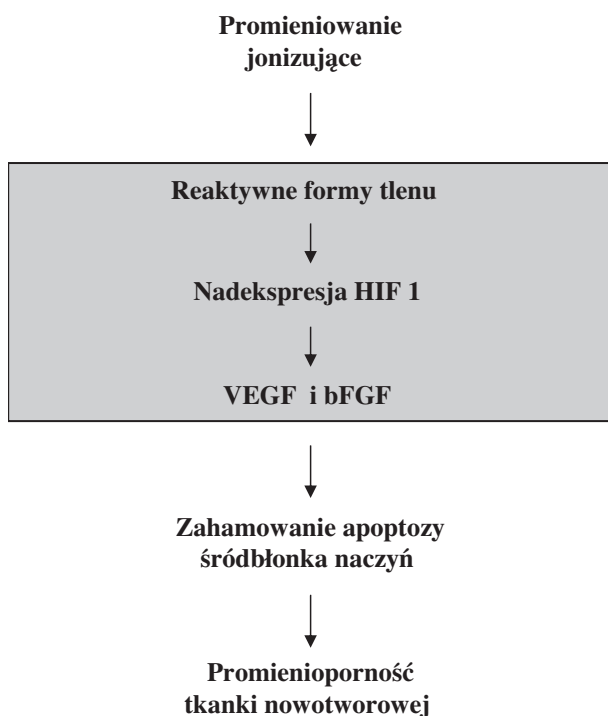
Ekspresja białka HIF 1 i promieniowrażliwość tkanek nowotworowych

Przeważająca większość badań dotyczących wpływu białka HIF 1, czy też podjednostki alfa tego białka na promieniowrażliwość guzów wskazuje, że tkanki nowotworowe z nadekspresją HIF 1 alfa są bardziej promieniooporne [18, 19, 22-28]. W badaniach eksperymentalnych, przeprowadzonych na guzach mysich, wykazano, że zablokowanie ekspresji HIF 1 alfa w komórkach jest związane z zahamowaniem procesu angiogenezy i wzrostem promieniowrażliwości nowotworów [29, 30]. Z kolei, Unruh i in. [31] stwierdzili, że fibroblasty mysie, w których nie występowała podjednostka alfa, są bardziej wrażliwe na działanie karboplatyny i etopozydu.

W szeregu prac dotyczących chorych na raka piersi [18, 19], nowotwory mózgu [26], raka szyjki macicy [22, 27, 28] i nowotwory narządów głowy i szyi [23-25] wykazano, że nadekspresja białka HIF 1 lub podjednostki alfa jest niekorzystnym czynnikiem prognostycznym w leczeniu napromienianiem. Jednak w badaniach Fillesa i in. [32] oraz Volma i in. [33], dotyczących płaskonabłonkowego raka jamy ustnej i niedrobnokomórkowego raka płuca, autorzy wykazali, że akumulacja HIF 1 alfa jest

związana z wyższym prawdopodobieństwem przeżyć chorych po radioterapii. Wydaje się, że te sprzeczności są spowodowane niewielką liczbą chorych w obu badaniach oraz brakiem jednorodności grup w zaawansowaniu guzów i sposobie ich leczenia.

Zwiększoną promieniooporność tkanki nowotworowej, spowodowaną nadekspresją białka HIF 1, można wytłumaczyć przez stymulowanie przez białko HIF 1 procesu angiogenezy. Pierwsze przesłanki potwierdzające tę hipotezę pochodzą z pracy Gorskiego i in. [34], w której autorzy wykazali korelację między zwiększonym poziomem cytokiny VEGF po napromienianiu, a wyższą przeżywalnością komórek śródbłonna naczyń i szybszym wzrostem nowotworów mysich. Badacze ci stwierdzili także hamujący wpływ przeciwciał monoklonalnych, skierowanych przeciwko VEGF, na rozwój guzów. Natomiast Garcia-Barros i in. [35] w badaniach przeprowadzonych także na guzach mysich dowiedli, że odpowiedź nowotworu na napromienianie zależy nie tylko od reakcji komórek nowotworowych, ale także od wrażliwości komórek śródbłonna naczyń na popromienną apoptozę. Z kolei, Moeller i in. [36] wykazali, że wytwarzane po napromienianiu reaktywne formy tlenu hamują proces przyłączania się grup hydroksylowych do podjednostki alfa, co pociąga za sobą nadekspresję białka HIF 1 oraz stymulację komórki nowotworowej do wydzielania cytokiny VEGF i bFGF (czynnik wzrostu fibroblastów, *fibroblast growth factor*).



Ryc. 2. Mechanizm indukowanej nadekspresją białka HIF 1 podwyższonej promieniooporności tkanki nowotworowej, modyfikacja własna wg Semenza [37].

Pod wpływem promieniowania dochodzi w komórce do powstania reaktywnych form tlenu, co prowadzi do akumulacji białka HIF 1. Białko HIF 1 stymuluje ekspresję szeregu genów, między innymi genu kodującego cytokiny VEGF i bFGF. Cytokiny te powodują obniżenie poziomu popromiennej apoptozy komórek śródbłonna naczyń krwionośnych, co sprzyja lepszemu ukrwieniu tkanki nowotworowej, indukującemu wyższą promieniooporność guza.

Cytokiny te powodują zahamowanie procesu apoptozy w komórkach śródbłonna naczyń krwionośnych. Wyniki przytoczonych prac dały podstawę do prezentacji sekwencji zdarzeń prowadzących do popromiennej oporności tkanki nowotworowej z udziałem białka HIF 1, przedstawionej na Rycinie 2 [37].

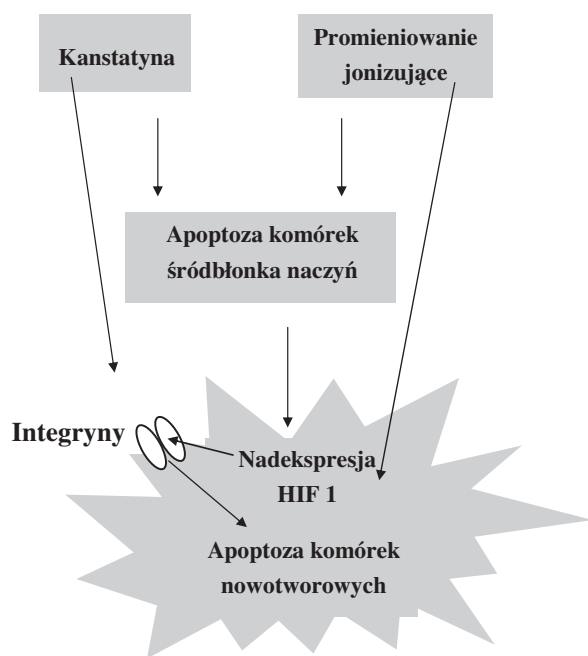
Wydaje się więc, że hamując ekspresję białka HIF 1, czy też ekspresję jego podjednostki alfa w komórkach nowotworowych, można zwiększyć promieniowrażliwość komórek hipoksycznych, co mogłoby poprawić wyniki leczenia napromienianiem.

Zmiany ekspresji białka HIF 1 w komórkach nowotworowych jako nowa strategia w leczeniu nowotworów złośliwych

Obecnie stosuje się kilka sposobów zahamowania ekspresji białka HIF 1 w komórkach nowotworowych [38]. Jednym z nich jest zastosowanie drobnocząsteczkowych inhibitorów, hamujących obecność HIF 1 alfa w komórkach nowotworowych [39, 40]. Obecnie w fazie badań przedklinicznych stosuje się szereg takich związków. Pierwszą grupę stanowią inhibitory białka szoku termicznego – 90, np. antybiotyk geldanamycyna [41]. W badaniach *in vitro* wykazano, że związek ten zmniejsza stężenie białka HIF 1 w komórkach w stanie normoksji, przez kierowanie podjednostki alfa na drogę degradacji w proteosomie, niezależnie od białka VHL [42]. Następną grupę inhibitorów białka HIF 1 stanowią leki powodujące uszkodzenie mikrotubul cytoszkieletu, takie jak winkrystyna, 2-metoksyestradiol i taksol. Mabweesh i in. [43] wykazali, że leki te hamują wzrost nowotworu poprzez zahamowanie procesu angiogenezy i zahamowanie syntezy podjednostki alfa białka HIF 1 na poziomie potranskrypcyjnym. Inną testowaną obecnie grupą substancji obniżających poziom HIF 1 w badanych komórkach są inhibitory topoizomerazy I i II, takie jak topotekan – analog kamptotecyny (topoizomeraza I) i GL331 – toksyna izolowana z biedrzygi tarczowatej (*Podophyllum peltatum*) (topoizomeraza II). W badaniach *in vitro* stwierdzono, że topotekan hamuje syntezę HIF 1 alfa na etapie procesu translacji, natomiast GL331 obniża poziom mRNA dla tej podjednostki alfa [44, 45]. Do kolejnej grupy inhibitorów hamujących aktywność HIF 1 zalicza się wortmanninę (inhibitor kinazy 3-fosfatydyloinozytolu), związek PD098059 (inhibitor kinazy MEK 1 – aktywowanej mitogenami) oraz rapamycynę. Wykazano, że substancje te hamują ekspresję HIF 1 alfa, obniżają ekspresję VEGF i przeciwdziałają procesowi angiogenezy [46]. Jednak, aby obniżyć ekspresję białka HIF 1, czy też jego podjednostki, w badanych komórkach należałoby zastosować bardzo wysokie stężenia omówionych inhibitorów, co stawia pod znakiem zapytania ich przydatność kliniczną, ze względu na możliwe poważne efekty uboczne takiego leczenia. Ostatnio testowaną grupą związków hamujących aktywność HIF 1 w komórkach nowotworowych są leki stosowane do tej pory w chorobach krążenia, działające hamująco na proces agregacji płytek i aktywujące cyklazę guanylową. W badaniach *in vitro* wykazano, że związki te (np. YP1

– benzyl indazolu) w warunkach hipoksji obniżają poziom i aktywność podjednostki alfa białka HIF 1 oraz zmniejszają ekspresję genów kodujących VEGF i erytropoetynę [47].

W tym roku ukazała się publikacja grupy francuskich badaczy – Magnon i in. [48], wskazująca na nowy sposób hamowania angiogenezy, indukowanej w warunkach hipoksji w tkance nowotworowej przez białko HIF 1. We wcześniej publikowanej pracy [49] ci sami autorzy wykazali, że kanstatyna – białko hamujące proces angiogenezy, indukuje apoptozę w komórkach nowotworowych i komórkach śródbłonna naczyń. Indukcja ta odbywa się dwoma niezależnymi szlakami. W pierwszym z nich istotną rolę odgrywają integryny – białka transbłonowe, stymulujące w warunkach fizjologicznych proliferację komórek śródbłonna, a także działające hamująco na proces ich apoptozy. Połączenie kanstatyny z odpowiednimi integrynami powoduje zahamowanie fosforylacji kinazy 3-fosfatydyloinozytolowej, skutkując uruchomieniem przez cytochrom c uwolniony z mitochondriów, kaskady kaspaz, oraz śmiercią komórki. Kanstatyna zwiększa także ekspresję ligandów FAS i FASL, co prowadzi do amplifikacji sygnałów apoptozy. Obecnie, Magnon i in. [48] ocenili, w doświadczeniach przeprowadzonych na mysich guzach tarczycy, działanie połączonej terapii, polegającej na jednoczesnym podaniu myszom promieniotwórczego jodu 131 i kanstatyny. Autorzy ci wykazali, że taka jednoczesna terapia powoduje zahamowanie



Ryc. 3. Mechanizm indukcji promieniowrażliwości guzów mysich po jednoczesnym działaniu promieniowania jonizującego i kanstatyny, modyfikacja własna wg Magnon i in. [48].

Zarówno kanstatyna, jak i promieniowanie jonizujące, wywołuje bezpośrednio apoptozę komórek śródbłonna naczyń i komórek nowotworowych. Uszkodzenie naczyń krwionośnych, po działaniu kanstatyny i promieniowania jonizującego, powoduje w tkance nowotworowej stan chronicznej hipoksji, co prowadzi do nadekspresji białka HIF 1. Pod wpływem białka HIF 1 następuje wzrost ekspresji integryn na powierzchni komórek nowotworowych, przez co komórki te są dodatkowo pobudzone do procesu apoptozy, a tym samym bardziej promieniowrażliwe.

wzrostu nowotworów przez indukcję stanu chronicznej hipoksji w tkance nowotworowej, spowodowanej zahamowaniem angiogenezy w guzie i wzrostem poziomu apoptozy w komórkach śródbłonna naczyń krwionośnych. W oparciu o uzyskane wyniki, Magnon i in. [48] przedstawili model (Ryc. 3) wyjaśniający mechanizm jednoczesnego działania dwóch wymienionych czynników na komórki nowotworowe i komórki śródbłonna. Według tego modelu, zarówno kanstatyna, jak i promieniowanie jonizujące wywołują bezpośrednio apoptozę komórek śródbłonna naczyń i komórek nowotworowych. Dysfunkcja naczyń krwionośnych po działaniu tych dwóch czynników wywołuje w tkance nowotworowej stan chronicznej hipoksji, co prowadzi do nadekspresji białka HIF 1. W wyniku działania białka HIF 1 następuje wzrost ekspresji integryn na powierzchni komórek nowotworowych, co powoduje dodatkowe pobudzenie procesu apoptozy i tym samym większą promieniowrażliwość komórek guza. Tak więc po jednoczesnym zadziałaniu kanstatyny i promieniowania jonizującego następuje zmiana roli białka HIF 1 z czynnika, którego nadekspresja w stanie hipoksji powoduje wzrost promieniooporności tkanki nowotworowej, w czynnik, którego nadekspresja prowadzi do wzrostu promieniowrażliwości guza.

Podsumowanie

W świetle przeprowadzonych ostatnio badań eksperymentalnych wydaje się, że terapia celowana z zastosowaniem leków obniżających ekspresję białka HIF 1 w komórkach, stwarza możliwość zwiększenia promieniowrażliwości guzów nowotworowych. Zastosowanie tej metody leczenia z jednoczesnym napromienianiem może przynieść poprawę wyników terapii przeciwnowotworowej.

Dr Beata Biesaga

Zakład Radiobiologii Klinicznej

Centrum Onkologii – Instytut im. Marii Skłodowskiej-Curie

Oddział w Krakowie

ul. Garncarska 11, 31 – 115 Kraków

Piśmiennictwo

1. Nordmark M, Bentzen SM, Rudat V i wsp. Prognostic value of tumor oxygenation in 397 head and neck tumors after primary radiation therapy. An international multi-center study. *Radiother Oncol* 2005; 77: 18-24.
2. Nordmark M, Hoyer M, Keller J i wsp. The relationship between tumor oxygenation and cell proliferation in human soft tissue sarcomas. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1996; 35: 701-8.
3. Gasinska A, Urbanski K, Adamczyk A i wsp. Prognostic significance of intratumour microvessel density and haemoglobin level in carcinoma of the uterine cervix. *Acta Oncol* 2002; 41: 437-43.
4. Hockel M, Vaupel P. Tumor hypoxia: definitions and current clinical, biologic, and molecular aspects. *J Natl Cancer Inst* 2001; 93: 266-76.
5. Greco O, Patterson AV, Dachs GU. Can gene therapy overcome the problem of hypoxia in radiotherapy? *J Radiat Res* 2000; 41: 201-12.
6. Song X, Liu X, Chi W i wsp. Hypoxia-induced resistance to cisplatin and doxorubicin in non-small cell lung cancer is inhibited by silencing of HIF-1 α gene. *Cancer Chemother Pharmacol* 2006; 58: 776-84.

7. Lara PN, Frankel P, Mack PC i wsp. Tirapazamine Plus Carboplatin and Paclitaxel in Advanced Malignant Solid Tumors. *Clin Cancer Res* 2003; 9: 4356-62.
8. Harrison L, Blackwell K. Hypoxia and anemia: factors in decreased sensitivity to radiation therapy and chemotherapy? *Oncologist* 2004; 9 Suppl 5: 31-40.
9. Beasley NJ, Leek R, Alam M i wsp. Hypoxia-inducible factors HIF-1alpha and HIF-2alpha in head and neck cancer: relationship to tumor biology and treatment outcome in surgically resected patients. *Cancer Res* 2002; 62: 2493-7.
10. Semenza GL, Neufeldt MK, Chi SM i wsp. Hypoxia-inducible nuclear factors bind to an enhancer element located 3' to the human erythropoietin gene. *Proc Natl Acad Sci USA* 1991; 88: 5680-4.
11. Wang GL, Semenza GL. Characterization of hypoxia-inducible factor 1 and regulation of DNA binding activity by hypoxia. *J Biol Chem* 1993; 268: 21513-8.
12. Semenza GL. HIF-1: mediator of physiological and pathophysiological responses to hypoxia. *J Appl Physiol* 2000; 88: 1474-80.
13. Kunz M, Ibrahim SM. Molecular responses to hypoxia in tumor cells. *Mol Cancer* 2003; 2: 23.
14. Lee JW, Bae SH, Jeong JW i wsp. Hypoxia-inducible factor (HIF-1) alpha: its protein stability and biological functions. *Exp Mol Med* 2004; 36: 1-12.
15. Maxwell PH. Hypoxia-inducible factor as a physiological regulator. *Exp Physiol* 2005; 90: 791-7.
16. Vaupel P. The role of hypoxia-induced factors in tumor progression. *Oncologist* 2004; 9 Suppl 5: 10-7.
17. Kimbro KS, Simons JW. Hypoxia-inducible factor-1 in human breast and prostate cancer. *Endocrine-Related Cancer* 2006; 13: 739-749.
18. Gruber G, Greiner RH, Hlushchuk R i wsp. Hypoxia-inducible factor 1 alpha in high-risk breast cancer: an independent prognostic parameter? *Breast Cancer Res* 2004; 6: R191-8.
19. Schindl M, Schoppmann SF, Samonigg H i wsp. Austrian Breast and Colorectal Cancer Study Group. Overexpression of hypoxia-inducible factor 1alpha is associated with an unfavorable prognosis in lymph node-positive breast cancer. *Clin Cancer Res* 2002; 8: 1831-7.
20. Zhong H, De Marzo AM, Laughner E i wsp. Overexpression of hypoxia-inducible factor 1alpha in common human cancers and their metastases. *Cancer Res* 1999; 59: 5830-5.
21. Yu JX, Cui L, Zhang QY i wsp. Expression of NOS and HIF-1alpha in human colorectal carcinoma and implication in tumor angiogenesis. *World J Gastroenterol* 2006; 12: 4660-4.
22. Bachtary B, Schindl M, Pötter R i wsp. Overexpression of hypoxia-inducible factor 1alpha indicates diminished response to radiotherapy and unfavorable prognosis in patients receiving radical radiotherapy for cervical cancer. *Clin Cancer Res* 2003; 9: 2234-40.
23. Aebersold DM, Burri P, Beer KT i wsp. Expression of hypoxia-inducible factor-1alpha: a novel predictive and prognostic parameter in the radiotherapy of oropharyngeal cancer. *Cancer Res* 2001; 61: 2911-6.
24. Hui EP, Chan AT, Pezzella F i wsp. Coexpression of hypoxia-inducible factors 1alpha and 2alpha, carbonic anhydrase IX, and vascular endothelial growth factor in nasopharyngeal carcinoma and relationship to survival. *Clin Cancer Res* 2002; 8: 2595-604.
25. Koukourakis MI, Giatromanolaki A, Sivridis E i wsp. Hypoxia-inducible factor (HIF1A and HIF2A), angiogenesis, and chemoradiotherapy outcome of squamous cell head-and-neck cancer. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2002; 53: 1192-202.
26. Birner P, Preusser M, Gelpi E i wsp. Expression of hypoxia-related tissue factors correlates with diminished survival of adjuvantly treated patients with chromosome 1p aberrant oligodendroglial neoplasms and therapeutic implications. *Clin Cancer Res* 2004; 10: 6567-71.
27. Ishikawa H, Sakurai H, Hasegawa M i wsp. Expression of hypoxia-inducible factor 1alpha predicts metastasis-free survival after radiation therapy alone in stage IIIB cervical squamous cell carcinoma. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2004; 60: 513-21.
28. Burri P, Djonov V, Aebersold DM i wsp. Significant correlation of hypoxia-inducible factor-1alpha with treatment outcome in cervical cancer treated with radical radiotherapy. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2003; 56: 494-501.
29. Ryan HE, Poloni M, McNulty W i wsp. Hypoxia-inducible factor-1alpha is a positive factor in solid tumor growth. *Cancer Res* 2000; 60: 4010-5.
30. Williams KJ, Telfer BA, Xenaki D i wsp. Enhanced response to radiotherapy in tumours deficient in the function of hypoxia-inducible factor-1. *Radiother Oncol* 2005; 75: 89-98.
31. Unruh A, Ressel A, Mohamed HG i wsp. The hypoxia-inducible factor-1 alpha is a negative factor for tumor therapy. *Oncogene* 2003; 22: 3213-20.
32. Fillies T, Werkmeister R, van Diest PJ i wsp. HIF1-alpha overexpression indicates a good prognosis in early stage squamous cell carcinomas of the oral floor. *BMC Cancer* 2005; 5: 84.
33. Volm M, Koomagi R. Hypoxia-inducible factor (HIF-1) and its relationship to apoptosis and proliferation in lung cancer. *Anticancer Res* 2000; 20: 1527-33.
34. Gorski DH, Beckett MA, Jaskowiak NT i wsp. Blockage of the vascular endothelial growth factor stress response increases the antitumor effects of ionizing radiation. *Cancer Res* 1999; 59: 3374-8.
35. Garcia-Barros M, Paris F, Cordon-Cardo C i wsp. Tumor response to radiotherapy regulated by endothelial cell apoptosis. *Science* 2003; 300: 1155-9.
36. Moeller BJ, Cao Y, Li CY i wsp. Radiation activates HIF-1 to regulate vascular radiosensitivity in tumors: role of reoxygenation, free radicals, and stress granules. *Cancer Cell* 2004; 5: 429-41.
37. Semenza GL. Intratumoral hypoxia, radiation resistance, and HIF-1. *Cancer Cell* 2004; 5: 405-6.
38. Giaccia A, Siim BG, Johnson RS. HIF-1 as a target for drug development. *Nat Rev Drug Discov* 2003; 2: 803-11.
39. Powis G, Kirkpatrick L. Hypoxia inducible factor-1alpha as a cancer drug target. *Mol Cancer Ther* 2004; 3: 647-54.
40. Melillo G. Inhibiting hypoxia-inducible factor 1 for cancer therapy. *Mol Cancer Res* 2006; 4: 601-5.
41. Isaacs JS, Jung YJ, Mimnaugh EG i wsp. Hsp90 regulates a von Hippel Lindau-independent hypoxia-inducible factor-1 alpha-degradative pathway. *Biol Chem* 2002; 277: 29936-44.
42. Mabjeesh NJ, Post DE, Willard MT i wsp. Geldanamycin induces degradation of hypoxia-inducible factor 1alpha protein via the proteasome pathway in prostate cancer cells. *Cancer Res* 2002; 62: 2478-82.
43. Mabjeesh NJ, Escuin D, LaVallee TM i wsp. 2 ME2 inhibits tumor growth and angiogenesis by disrupting microtubules and dysregulating HIF. *Cancer Cell* 2003; 3: 363-75.
44. Rapisarda A, Uranchimeg B, Sordet O i wsp. Topoisomerase I-mediated inhibition of hypoxia-inducible factor 1: mechanism and therapeutic implications. *Cancer Res* 2004; 64: 1475-82.
45. Chang H, Shyu KG, Lee CC i wsp. GL331 inhibits HIF-1alpha expression in a lung cancer model. *Biochem Biophys Res Commun* 2003; 302: 95-100.
46. Zhong H, Chiles K, Feldser D i wsp. Modulation of hypoxia-inducible factor 1alpha 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: 1541-5.
47. Yeo EJ, Chun YS, Cho YS i wsp. YC-1: a potential anticancer drug targeting hypoxia-inducible factor 1. *J Natl Cancer Inst* 2003; 95: 516-25.
48. Magnon C, Opolon P, Ricard M i wsp. Radiation and inhibition of angiogenesis by canstatin synergize to induce HIF-1alpha-mediated tumor apoptotic switch. *J Clin Invest* 2007; praca opublikowana online.
49. Magnon C, Galaup A, Mullan B i wsp. Canstatin acts on endothelial and tumor cells via mitochondrial damage initiated through interaction with alphavbeta3 and alphavbeta5 integrins. *Cancer Res* 2005; 65: 4353-61.

Otrzymano: 18 lipca 2007 r.

Przyjęto do druku: 17 grudnia 2007 r.