

РЕГУЛЯЦИЯ МИКРООКРУЖЕНИЯ ОПУХОЛИ ФАКТОРАМИ ГИПОКСИИ HIF И БЕЛКАМИ СЕМЕЙСТВА p53

© В. С. Петрова,^{1,2} Н. А. Барлев^{1,*}

¹Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург, 194064,

и ²MRC Toxicology Unit, Лестер, Великобритания;

* электронный адрес: nick.a.barlev@gmail.com

Солідные опухоли часто содержат участки, испытывающие постоянный гипоксический стресс и экспрессирующие активные факторы гипоксии HIF. Помимо воздействия на раковые клетки гипоксия и HIF-зависимый сигналинг приводят к изменениям опухолевого микроокружения, что играет важную роль в прогрессии заболевания. Модификация опухолевого микроокружения может влиять на иммунный ответ организма, рост опухоли и метастазирование. С другой стороны, более половины случаев раковых заболеваний характеризуются мутациями в гене, кодирующем онкосупрессорный белок p53. Инактивация p53 является необходимым условием прогрессии опухолей на поздних этапах. Поэтому наличие взаиморегуляции между белками HIF и p53 может являться важным фактором, определяющим течение заболевания. В настоящем обзоре мы попытались составить общую картину изменений, происходящих в различных компонентах опухолевого микроокружения под действием гипоксии и HIF, а также влияния белков семейства p53 на эти процессы.

Ключевые слова: опухоль, HIF, гипоксия, p53, p63, p73.

Принятые сокращения: ВКМ — внеклеточный матрикс, СКМП — супрессорные клетки миелоидного происхождения, HIF — факторы, индуцируемые гипоксией (hypoxia inducible factors), FIH1 — фактор, ингибирующий HIF1 (factor inhibiting HIF1), ПГДП — пролил-гидроксилазный доменсодержащий белок, РМЖ — рак молочной железы.

Клетки прогрессирующей опухоли и окружающей стромы находятся в жестких условиях ограниченного доступа к питательным веществам и кислороду (условия гипоксии). Большинство солидных опухолей содержат в своем составе области, находящиеся в условиях постоянного гипоксического стресса. Этот феномен связан с плохим кровоснабжением из-за недостаточной васкуляризации быстрорастущих клеток опухолей (Pouyssegur et al., 2006). Реакция на гипоксию в первую очередь связана с деятельностью факторов индуцируемых гипоксией (hypoxia inducible factors — HIF). HIF-зависимый сигналинг может способствовать адаптации как раковых, так и стромальных клеток к окружающим условиям, приводя к изменениям, способствующим прогрессированию опухоли. К этим изменениям относятся как селекция раковых клеток, обладающих более агрессивными свойствами, так и модификация опухолевого микроокружения. К микроокружению опухоли относят кровеносные и лимфатические сосуды, фибробласты, внеклеточный матрикс (ВКМ) и иммунные клетки (Balkwill et al., 2012). Известно, что опухолевое микроокружение может играть важную роль в развитии опухоли, поскольку оно определяет поставку питательных веществ раковым клеткам, их миграцию и инвазию, иммунную реакцию организма.

Следует отметить, что помимо канонической кислородзависимой регуляции белки HIF регулируются множеством факторов. К тому времени, как гипоксия разви-

вается в опухоли, раковые клетки претерпевают изменения, способствующие их выживанию и прогрессированию, такие как инактивация онкосупрессора человека, p53. Поэтому одними из важнейших факторов, влияющих на опухолевое микроокружение, являются взаимодействие между p53 и HIF, а также их взаиморегуляция.

В представленном обзоре мы подробно рассматриваем изменения, происходящие под воздействием гипоксии в каждой из составляющих опухолевого микроокружения, а также механизмы их влияния на прогрессию заболевания. Кроме того, мы постарались суммировать имеющиеся знания о влиянии p53 и его гомологов, p63 и p73 (частично дублирующих онкосупрессорные функции p53), на модификацию опухолевого микроокружения под влиянием гипоксии.

Факторы, индуцируемые гипоксией

В состав семейства транскрипционных факторов HIF входят следующие белки: HIF1, HIF2, а также HIF3. При этом чувствительная к кислороду HIF- α -субъединица (HIF1- α , HIF2- α или HIF3- α соответственно) димеризуется с конститутивно-экспрессируемой HIF1- β (Wang et al., 1995). Димеризация двух субъединиц происходит в ядре, что приводит к связыванию HIF с ДНК по консервативным сайтам, обозначаемым HRE (гипоксия-репосив-

ный элемент) (Maxwell et al., 2001). Все HIF- α , а также HIF1- β -субъединицы относятся к bHLH-классу PAS-семейства транскрипционных факторов, которые содержат ДНК-связывающий основной домен типа спираль-петля-спираль (basic helix-loop-helix) и PAS-домен, участвующие в димеризации и связывании с ДНК (Bersten et al., 2013).

Фактор HIF регулирует транскрипцию своих генов-мишеней за счет взаимодействия с коактиваторами транскрипции гистонацетилазами p300/CBP. Наиболее хорошо изучены среди HIF- α -субъединиц белки HIF1- α и HIF2- α , которые определяют стабильность и активность гетеродимерных транскрипционных факторов HIF1 и HIF2. Обе субъединицы, HIF1- α и HIF2- α , содержат по два пролиновых остатка (HIF1- α : P402/P564, HIF2- α : P405/P531), которые гидроксилируются ферментами пролил-гидроксилазами (ПГ) в присутствии кофакторов аскорбиновой кислоты и железа (Fe^{2+}) с использованием кислорода и 2-оксоглутаровой кислоты в качестве субстратов. Эта модификация способствует присоединению к HIF- α -субъединице белка pVHL — компонента E3-убиквитин-лигазного комплекса, что приводит к убиквитинированию и деградации HIF- α (Ohh et al., 2000; Jaakkola et al., 2001). Другим регулятором HIF- α при нормальном уровне кислорода является фактор, ингибирующий HIF1 (factor inhibiting HIF1, FIH1), который гидроксилирует остаток аспарагина у HIF1- α (и в меньшей степени — HIF2- α), что предотвращает его взаимодействие с p300/CBP (Mahon et al., 2001; Koivunen et al., 2004).

Низкое содержание или отсутствие кислорода инактивирует ферментативное действие пролил-гидроксилазы и FIH1, что приводит к стабилизации HIF и тем самым запускает HIF-зависимые сигнальные пути. Прол-гидроксилазы и FIH1 имеют различную субстратную специфичность к белкам HIF1- α и HIF2- α : фермент ПГДП-2 модифицирует в основном HIF1- α , а ПГДП-3, наоборот, воздействует предпочтительнее на HIF2- α (Appelhoff et al., 2004). При этом HIF1- α гидроксилируется всеми тремя ферментами более эффективно по сравнению с HIF2- α (Koivunen et al., 2004). Было показано, что HIF1- α регулируется также антисмысловой асРНК (Uchida et al., 2004). Несмотря на то что белки HIF1- α и HIF2- α имеют схожие аминокислотные последовательности, в клетках они функционируют в разных ситуациях: HIF1- α обеспечивает быстрый, кратковременный ответ на острую гипоксию или анексию, в то время как HIF2- α реагирует на умеренную и физиологическую, но долгосрочную (хроническую) гипоксию (Holmquist-Mengelbier et al., 2006; Koh et al., 2011).

Фибробласты

Известно, что фибробласты, окружающие раковые клетки (опухолеассоциированные фибробласты), претерпевают «перепрограммирование» и отличаются от обычных фибробластов. В отличие от нормальных фибробластов опухолеассоциированные фибробласты способствуют росту, ранней диссеминации и метастазированию опухоли (Olumi et al., 1999; Dumont et al., 2013; Gascard, Tlsty, 2016).

Точного определения опухолеассоциированных фибробластов с молекулярной точки зрения не существует, чаще всего они выявляются в ходе экспериментальной работы. При этом часто они являются основным компо-

нентом стромы опухоли, а также основным источником ВКМ и протеолитических ферментов. Иногда они могут составлять до 80 % от общей массы опухоли (Olive et al., 2009). Стоит отметить, что популяция опухолеассоциированных фибробластов очень гетерогенна, что связано, в частности, с разными источниками их происхождения. Большая часть, как предполагается, происходит от резидентных фибробластов, но также их предшественниками могут быть клетки костного мозга, адипоциты, клетки эндотелия и эпителия (Radisky et al., 2007; Zeisberg et al., 2007; Quante et al., 2011; Lecomte et al., 2012; Bochet et al., 2013; McDonald et al., 2015).

Клетки опухоли при гипоксии могут секретировать паракринные сигнальные молекулы, такие как TGF- β , PDGF, CXCL2 и эндотелин, способствующие трансформации клеток-предшественников в опухолеассоциированные фибробласты (Gilkes et al., 2014). Некоторые из таких молекул, например TGF- β , PDGF-B и bFGF, регулируются факторами HIF (Caniggia et al., 2000; Moeller et al., 2004; Schito et al., 2012). Сами опухолеассоциированные фибробласты также являются источником молекул-факторов паракринного сигналинга. При гипоксии опухолеассоциированные фибробласты секретировать хемокин CXCL12, способствующий росту опухоли (Orimo et al., 2005). При этом экспрессия CXCR4 (рецептора к CXCL12) стимулируется гипоксией в клетках многих типов; таким образом существует механизм паракринного сигналинга между раковыми клетками и опухолеассоциированными фибробластами (Schioppa et al., 2003). Для рака предстательной железы было показано, что усиление гипоксии стимулировало секрецию цитокина CXCL13 опухолеассоциированными миофибробластами и прогрессию заболевания (Ammirante et al., 2014).

Также известно, что опухолеассоциированные фибробласты принимают участие в ремоделировании ВКМ, экспрессируя ферменты — ПГДП, лизилгидроксилазы и лизилоксидазы, которые осуществляют сшивки коллагенов с эластинами и другими компонентами матрикса, повышая его плотность (Cirri et al., 2011). Кроме того, опухолеассоциированные фибробласты могут принимать участие в подавлении иммунного ответа: под воздействием гипоксии они способствуют секреции аргиназы II (ArgII), катализирующей превращение L-аргинина в орнитин, и вызывают анексию T-клеток (Bronte et al., 2005).

Внеклеточный матрикс

ВКМ представляет собой главным образом волокнистые белки (коллагены, эластины, ламинины и фибронектины) и протеогликаны (хондроитинсульфат, гепарансульфат, кератансульфат и гиалуроновая кислота), которые вместе формируют сеть, создающую каркас большинства тканей (Frantz et al., 2010). Коллагены являются главной составляющей матрикса, составляя 90 % его общей белковой массы (Van der Rest, Garrone, 1991). Физические свойства ВКМ опухоли отличаются от нормальной ткани и, кроме того, постоянно меняются (Clarijs et al., 2003; Van Kempen et al., 2003), отражая изменения опухолевого микроокружения в целом и доступности кислорода в частности. Была показана корреляция между экспрессией ферментов, участвующих в ремоделировании ВКМ, и увеличением смертности больных раком легких, груди и желудка (Chang et al., 2004, 2005). Во многих случаях солидные опухоли характеризуются чрезмерным

депонированием белков ВКМ, т. е. фиброзом (Bartow et al., 1990; Boyd et al., 1992, 2000, 2002; Bissel, 2001; Artinian, Kvale, 2004; Bataller, Brenner, 2005), в особенности коллагена (Shapiro, Eyre, 1982; Gould et al., 1990; Zhu et al., 1995; Hasebe et al., 1997; Kaupilla et al., 1998; Cousens et al., 1999; Jussila et al., 2002; Colpaert et al., 2003; Trastour et al., 2007; Huijbers et al., 2010). При раке молочной железы (РМЖ) локализация фиброзных участков часто совпадает с локализацией гипоксийных участков (Colpaert et al., 2003; Trastour et al., 2007).

Также было показано, что HIF1 принимает непосредственное участие в моделировании ВКМ, способствуя образованию фиброза в почках, печени и жировой ткани (Higgins et al., 2007; Halberg et al., 2009; Moon et al., 2009). Количество мРНК генов проколлагена I, II и IV увеличено в легочной артерии и периферийной легочной паренхиме у крыс после гипоксии (Berg et al., 1998). Фибробласты кожи, сердца и почек при культивировании в условиях гипоксии содержат повышенное количество мРНК проколлагена I $\alpha 1$ (Falanga et al., 1993; Tamamori et al., 1997; Norman et al., 2000).

Биогенез коллагенов может регулироваться на нескольких этапах. Для пост-трансляционной модификации проколлагеновых цепочек необходимы ферменты групп *P4HA* (пролил 4-гидроксилазы) и *PLOD* (проколлагеновые лизил-гидроксилазы). Было показано, что HIF1 способен индуцировать экспрессию *P4HA1*, *P4HA2*, *PLOD1* и *PLOD2* (Hofbauer et al., 2003; Elvidge et al., 2006; Aro et al., 2012; Bentovim et al., 2012; Eisinger-Mathason et al., 2013; Gilkes et al., 2013a, 2013b, 2013c). Снижение уровня *P4HA1* и *P4HA2* уменьшает депонирование коллагеновых волокон (Gilkes et al., 2013a, 2013b), фиброз и плотность опухолей, а также метастазирование, так как коллагеновые волокна играют важную роль в адгезии, распространении и инвазии клеток (Gilkes et al., 2013c; Xiong et al., 2014). *PLOD2* также уменьшает плотность опухолей, метастазирование и инвазивность раковых клеток (Eisinger-Mathason et al., 2013; Gilkes et al., 2013b). Другими мишенями HIF, участвующими в формировании коллагеновых волокон, являются лизил-оксидазы LOX, LOXL2 и LOXL4. Ферменты лизил-оксидазы вызывают деаминацию остатков лизина и гидроксизина в белках коллагенов, иницируя сшивку коллагеновых фибрилл и формирование волокон (Gordon, Hahn, 2010). Этот процесс влияет на их индукцию и функционирование при гипоксии, также вызывая фиброз опухолей (Erler et al., 2009; Schietke et al., 2010; Wong et al., 2011, 2012; Barker et al., 2012; Cox et al., 2013). В то же время гипоксия способствует и деградации коллагена посредством регуляции коллаген-специфических металлопротеиназ. Так, например, HIF1 индуцирует экспрессию MMP2 и MMP9, а HIF2 способен повышать уровень MMP14 (Krishnamachary et al., 2003; Petrella et al., 2005; Munoz-Najar et al., 2006; Choi et al., 2011). Одновременное усиление синтеза коллагенов и деградации межклеточного матрикса может представлять собой сопряженный механизм инвазии опухолевых клеток.

Кровеносные и лимфатические сосуды

Сосудообразование — один из главных результатов HIF-сигналинга. Инактивация HIF1- α или HIF2- α приводила к летальному исходу при развитии мышей, что было связано с дефектами сосудообразования (Iyer et al., 1998;

Peng et al., 2000). Связь чрезмерного сосудообразования с раком была неоднократно показана, оно является признаком рака, способствует прогрессии заболевания. Существуют и продолжают разрабатываться терапевтические подходы, направленные на подавление сосудообразования (Bergers et al., 2003; Ferrara, Kerbel, 2005; Carmeliet, Jain, 2011). Было показано, что для перехода от гиперплазии к неоплазии необходима индукция образования новых кровеносных сосудов (Folkman et al., 1989).

Несмотря на то что сосуды переносят кислород, они сами могут подвергаться воздействию гипоксии. Эндотелиальные клетки и перициты — две главные составляющие кровеносных сосудов. Клетки эндотелия, располагающиеся на конце растущих капилляров и задающие направление ветвления, достаточно далеко отстоят от функциональных сосудов и могут подвергаться гипоксии и развивать соответствующую реакцию (Coulon et al., 2010). Наличие факторов HIF1- α и HIF2- α в клетках эндотелия по-разному отражается на сосудообразовании. В то время как делеция HIF1- α приводит к снижению количества сосудов в опухоли и ее роста, делеция HIF2- α , напротив, способна усиливать ангиогенез, с образованием при этом дезорганизованной сосудистой системы и более гипоксических опухолей (Tang et al., 2004; Skuli et al., 2009; Skuli et al., 2012).

Гипоксия в самой опухоли наступает, когда она достигает довольно больших размеров и кровоснабжение оказывается недостаточным. При этом рост опухоли замедляется, а под воздействием HIF1 и HIF2 раковые клетки и клетки стромы выделяют растворимые факторы, способствующие сосудообразованию, как например VEGF, который воздействует на клетки эндотелия (Du et al., 2008).

Следует отметить, что клетки эндотелия также играют важную роль в миграции раковых клеток, так как являются главным структурным компонентом сосудов и служат барьером в процессах экстравазации и интравазации (Franses et al., 2011). Было показано, что делеция HIF1- α в эндотелиальных клетках подавляет миграцию раковых клеток сквозь эндотелиальные, но в то же время делеция HIF2- α стимулирует метастазирование (Brasco-Price et al., 2012).

Кроме клеток эндотелия перициты, тесно связанные с эндотелиоцитами, прилегающие к ним с внешней стороны, также регулируют сосудообразование. На поздних стадиях рака снижение количества перицитов способствует усилению гипоксии опухоли, увеличивает ее агрессивность и метастазирование (Cooke et al., 2012; Keskin et al., 2015).

Кроме как по кровяным сосудам, распространение раковых клеток может проходить по лимфатическим сосудам. Исследования рака груди показывают, что увеличенная плотность лимфатических сосудов внутри и вокруг опухоли коррелирует с метастазами в лимфатические узлы и худшим прогнозом (Mohammed et al., 2009). При этом повышенный уровень HIF1- α в первичных злокачественных образованиях тесно связан с плотностью околоопухолевых лимфатических сосудов и смертностью пациентов при раке груди (Bos et al., 2003; Schoppmann et al., 2006), при раке пищевода уровень HIF1- α коррелировал с метастазированием в лимфатические узлы (Kurokawa et al., 2003). Известно, что VEGF-c и VEGF-d способны стимулировать рост лимфатических сосудов и метастазирование, связываясь с рецептором лимфатических эндотелиальных клеток VEGFR3 (Achen et al., 2005;

Tammela, Alitalo, 2010). Было показано, что HIF1- α индуцирует лимфатическое метастазирование посредством активации ростового фактора PDGF-B (Schito et al., 2012). Другой механизм участия HIF1 в этом процессе может быть опосредован действием VEGF-а, который тоже может способствовать образованию лимфатических сосудов (Hirakawa et al., 2005).

Иммунные клетки

Иммунные клетки, проникающие в опухоль, играют важную роль в прогрессировании рака. Клетки приобретенного иммунитета потенциально могут подавлять развитие опухоли, распознавая опухолеспецифические антигены раковых клеток и избавляясь от них. Клетки врожденной иммунной системы могут способствовать антиопухолевой активности лимфоцитов, проникающих в опухоль, и приводить к заметной регрессии опухоли. Но факторы микроокружения опухоли, в том числе гипоксия, ограничивают функцию клеток врожденного иммунитета и наделяют их способностью содействовать развитию рака, а также подавляют активность клеток приобретенного иммунитета.

Гипоксия может напрямую или косвенно влиять на функцию фактически всех иммунных клеток, ускоряя прогрессирование рака (Sitkovsky et al., 2005). Было показано, что специфическая депривация PHD2 в миелоидных клетках замедляет рост опухоли и метастазирование, что подчеркивает важность восприятия кислорода миелоидными клетками (Mamlouk et al., 2014).

Плотность опухолеассоциированных макрофагов коррелирует с плохим прогнозом для пациентов при разных типах рака (Bingle et al., 2002; Qian, Pollard, 2010). Также известно, что поляризованные макрофаги M1 противодействуют, а M2 — содействуют прогрессии рака и метастазированию (Rolny et al., 2011), а также ангиогенезу (Stockmann et al., 2008). Гипоксия способствует привлечению в опухоль макрофагов из кровотока, индуцируя секрецию клетками опухоли хемоаттрактантов, например Sema3A, EMAPII, ET-1 и ET-2 (Matschurat et al., 2003; Murdoch et al., 2004; Casazza et al., 2013), а также может определять поляризацию макрофагов, индуцируя экспрессию генов, соответствующих типу M2 (Laoui et al., 2014).

In vivo эксперименты показывают, что экспрессия и HIF1- α , и HIF2- α является ключевой для инфильтрации макрофагов и подавления иммунитета внутри опухолей, так как абляция каждого из них по отдельности приводила к снижению роста опухоли (Doedens et al., 2010; Imtiaz et al., 2010). Что касается HIF1- α , было показано, что он необходим для созревания и функционирования макрофагов (Cramer et al., 2003), а кроме того, опосредует поляризацию макрофагов M2, вызванную увеличением количества молочной кислоты (Colegio et al., 2014). Таким образом, гипоксия в опухолевом микроокружении и наличие своеобразного метаболического симбиоза между раковыми клетками и макрофагами влияют на их поляризацию и регулируют противоопухолевый иммунный ответ (Lu et al., 2002; Goodwin et al., 2014).

Известно также, что наличие гипоксии в опухолевом микроокружении способствует привлечению в опухоль нейтрофилов, регулируя адгезию между эпителиальными клетками и нейтрофилами (Yoshida et al., 1992), гипоксия продлевает жизнь нейтрофилов (Cramer et al., 2003;

Walmsley et al., 2005). Однако конечный эффект может быть двойным, так как опухолеассоциированные нейтрофилы могут играть как про- так и антиопухолевую роль (Mantovani et al., 2011).

В отдельную группу выделяют супрессорные клетки миелоидного происхождения (СКМП). Эти клетки происходят из стволовых клеток костного мозга, их количество заметно увеличивается при раковых заболеваниях, и их основной характеристикой является способность подавлять активность других иммунных клеток и как следствие — противоопухолевую иммунную реакцию (Gabrilovich, Nagaraj, 2009). Воздействие гипоксии на СКМП приводит к усилению HIF-сигналинга с активацией мишеней HIF, усиливающих функцию СКМП (Corzo et al., 2010). Также гипоксия усиливает функцию СКМП по механизму, частично зависящему от HIF — через регуляцию микроРНК miR-210 и экспрессию Arg1 (Corzo et al., 2010; Noman et al., 2015). Кроме того, гипоксия, усиливая секрецию лизил-оксидазы, способствует образованию премеатастатических ниш, миграцию в них СКМП и подавление в них противоопухолевого ответа от Т-киллеров (Erler et al., 2006; Sceneau et al., 2012; Cox et al., 2015).

Несмотря на то что Т-клетки могут проникать в область опухоли, противораковый иммунитет зачастую ограничен характеристиками опухолевого микроокружения, в том числе гипоксией (Le et al., 2005). Известно, что под воздействием гипоксии неспециализированные CD4⁺-Т-клетки дифференцируются в регуляторные Т-клетки (T_{per}, CD4⁺CD25^{high}FOXP3⁺) или Т-хелперы (T_h17), в которых экспрессия ключевых транскрипционных факторов FOXP3 и ROR γ t регулируется гипоксией (Ben-Shoshan et al., 2008; Dang et al., 2011; Clambey et al., 2012). И если T_{per} обладают иммуносупрессивными свойствами, то роль T_h17 в противоопухолевом иммунитете неоднозначна (Bailey et al., 2014). Кроме того, раковые клетки и макрофаги при гипоксии синтезируют хемокины и цитокины, которые привлекают регуляторные Т-клетки из кровотока и ослабляют противоопухолевую реакцию Т-клеток (Viguier et al., 2004; Facciabene et al., 2011). Сами регуляторные Т-клетки под воздействием гипоксии продуцируют внеклеточный аденозин, подавляющий функционирование эффекторных Т-клеток (Synnestvedt et al., 2002; Ohta et al., 2006). Недавние исследования показывают, что HIF1- α также непосредственно индуцирует экспрессию компонента одной из иммунных контрольных точек PD-L1 в раковых клетках и клетках СКМП, предотвращая их лизис Т-клетками (Barsoum et al., 2014; Noman et al., 2014).

Влияние семейства p53 на HIF-сигналинг и опухолевое микроокружение

Белок p53 — это главный онкосупрессор в организме человека, он является ведущим регулятором транскрипции и контролирует клеточный цикл (Vousden, Prives, 2009), клеточное старение, апоптоз, аутофагию, репарацию ДНК и метаболизм (Vousden, Prives, 2009). Более половины случаев рака у человека характеризуется мутациями гена, кодирующего p53, либо изменениями путей p53-зависимого сигналинга. Свою онкосупрессорную функцию p53 проявляет через регуляцию как кодирующих, так и некодирующих участков ДНК (Barlev et al., 2010; Beckerman, Prives, 2010; Lezina et al., 2013; Grossi

et al., 2016). В отсутствие стрессовых сигналов p53 инактивируется E3-убиквитин-лигазой Mdm2, которая запускает его убиквитинзависимую протеасомную деградацию (Momand et al., 1992; Oliner et al., 1993; Kubbutat et al., 1997). Между онкогеном Mdm2 и онкосупрессором p53 существует механизм отрицательной обратной связи: p53 усиливает экспрессию Mdm2 (Barak et al., 1993; Wu et al., 1993), а тот способствует деградации p53, снижая его уровень (Haupt et al., 1997). Ранее было показано также, что Mdm2 и p53 взаимодействуют N-концами (Kussie et al., 1996), что приводит к подавлению трансактивационного домена p53 (Chen et al., 1993; Oliner et al., 1993). При генотоксическом стрессе происходит активация p53 посредством его посттрансляционных модификаций, а также ингибирования 26S протеасомы (Fedorova et al., 2011; Moiseeva et al., 2013), что приводит к стабилизации p53 на белковом уровне.

Изначально функции p53 сводили к апоптозу и регуляции клеточного цикла, однако позднее стало известно, что p53 и другие члены его семейства участвуют также в регуляции метаболизма раковых клеток, инвазивности и метастазирования опухолей, стволовости и взаимодействия с микроокружением опухоли (Biegging et al., 2014). Семейство p53 включает в себя также белки p63 и p73. Функции полноразмерных изоформ TAp63 и TAp73 во многом перекрываются с самим p53, в то время как укороченные с N-конца $\Delta Np63$ и $\Delta Np73$ негативно регулируют TAp63 и TAp73. Кроме того, p63 и p73 имеют свои специфические функции и играют важную роль в процессе развития (Yang et al., 1999, 2000).

Считается, что при прогрессии опухоли происходит накопление раковыми клетками мутаций и эпигенетических изменений, позволяющих клеткам выживать и распространяться. Инактивация p53, которая необходима для развития опухоли на поздних этапах, может происходить как за счет мутаций в гене белка TP53, так и за счет сверхэкспрессии Mdm2. Было показано, что клетки опухолевой стромы также подвергаются селекции, направленной на инактивацию p53 (Kurose et al., 2002). В большинстве случаев влияние белков семейства p53 на микроокружение опухоли противоположно влиянию HIF, что может говорить о наличии взаимной отрицательной регуляции между ними. Было показано, что инактивация p53, как и нарушение регуляции остальных членов семейства p53, коррелировала с усилением HIF-зависимого (Ravi et al., 2000; Senoo et al., 2002; Bid et al., 2014; Amelio et al., 2015; Stantic et al., 2015) и HIF-независимого ангиогенеза (Van Meir et al., 1994; Salimath et al., 2000). Отсутствие p53 в звездчатых клетках печени приводит к секреции ими факторов, способствующих поляризации макрофагов по типу M2, а также пролиферации предраковых клеток, приводя к прогрессии рака печени (Lujambio et al., 2013). Кроме того, недостаток p53 приводил к увеличению подвижности и инвазивности первичных культур клеток и раковых клеток (Guo, Zheng, 2004; Gadea et al., 2007). Раковые клетки TAp73^{-/-} могут секретировать хемокины и цитокины, влияющие на микроокружение опухоли, в том числе иммунные клетки: в таких опухолях увеличена инфильтрация опухолеассоциированных макрофагов типа M2 (Stantic et al., 2015).

Гипотеза о взаимной регуляции между факторами HIF и белками семейства p53 появилась 20 лет назад, когда было показано, что гипоксия стабилизирует p53 (Graeber et al., 1994) и HIF1- α способен физически связываться с p53 (An et al., 1998). Дальнейшие исследо-

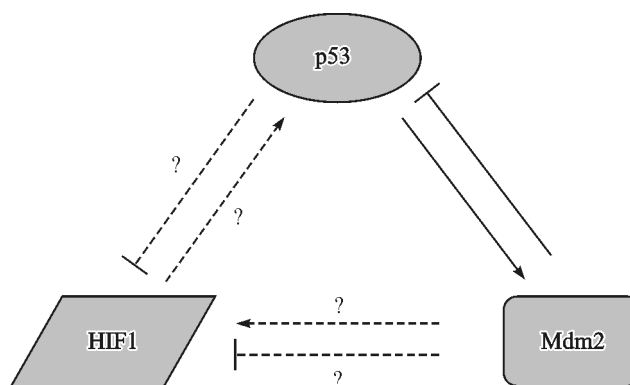


Рис. 1. Взаиморегуляция между p53, HIF1 и Mdm2.

Известно наличие отрицательной обратной связи между p53 и Mdm2: p53 индуцирует экспрессию Mdm2, а тот приводит к убиквитинзависимой деградации p53. Механизмы регуляции между HIF1 и p53, а также между HIF1 и Mdm2 плохо изучены, экспериментальные данные противоречивы. Тем не менее известно, что HIF1 может стабилизировать p53, а тот подавляет действие HIF1; по некоторым данным, механизм может быть связан с Mdm2. Судя по всему, сам по себе Mdm2 может как стабилизировать HIF1, так и запускать его деградацию в зависимости от условий.

вания показали, что p53 подавляет активацию HIF1-зависимого сигналинга (Blagosklonny et al., 1998). Так, деплеция p53 приводит к усилению HIF1-зависимой реакции после гипоксии, способствуя в том числе ангиогенезу и как следствие — прогрессированию рака (Ravi et al., 2000).

Существует мнение о том, что механизм регуляции связан с деятельностью E3-убиквитин-лигазы Mdm2, но экспериментальные данные в этой области противоречивы. В то время как некоторые исследования свидетельствуют о том, что в клетках существует Mdm2-зависимая деградация HIF1- α (Ravi et al., 2000; Yoo et al., 2004; Kamat et al., 2007; Choy et al., 2010; Joshi et al., 2014), другие работы, напротив, говорят о положительной регуляции HIF1- α убиквитин-лигазой Mdm2 (Bardos et al., 2004; Nieminen et al., 2005; Lee et al., 2009). Вопрос об участии p53 в этом процессе также остается не до конца ясным: в одних случаях p53 способствует Mdm2-зависимой деградации HIF1- α , и соответственно тогда нарушение взаимодействия между Mdm2 и p53 стабилизирует HIF1- α (Ravi et al., 2000), в других же случаях гиперэкспрессия p53 приводит к Mdm2-независимому убиквитинированию HIF1- α и его последующей деградации (Choy et al., 2010). Важно отметить, что фармакологическое ингибирование взаимодействия между Mdm2 и p53 приводит к повышению уровня HIF1- α (Lee et al., 2009; Kojima et al., 2011). Общая картина механизмов регуляции между p53, Mdm2 и HIF1 представлена на рис. 1.

Физическое взаимодействие с HIF1- α было также показано и для TAp73 (Amelio et al., 2015), TAp63 и $\Delta Np63$ (Senoo et al., 2002). Известно, что способность TAp63 подавлять метастазирование связана, в частности, с регуляцией HIF1-сигналинга (Montagner et al., 2012). Один из механизмов — активация экспрессии гена *BHLHE41*, продукт которого взаимодействует с белками HIF- α и способствует их 20S-зависимой протеасомной деградации (Montagner et al., 2012). $\Delta Np63$ может приводить к увеличению уровня HIF1- α (Senoo et al., 2002; Bid et al., 2014). Кроме этого, продемонстрирована опосредованная регуляция HIF1- α через сигнальный путь STAT3, и как следствие — снижение ангиогенеза в экспериментах с

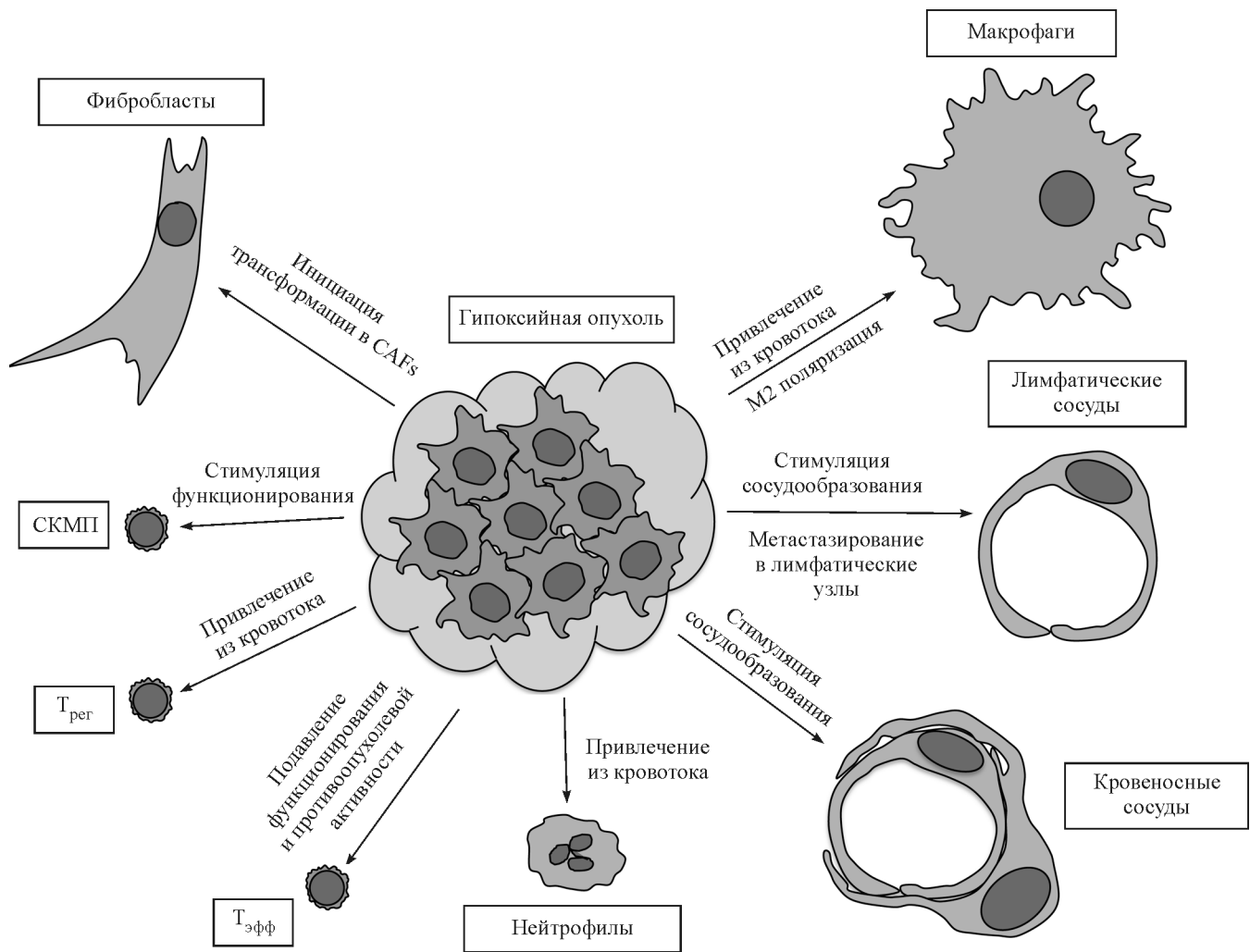


Рис. 2. Влияние гипоксии в опухоли на клетки микроокружения опухоли.

Под влиянием гипоксии происходит модификация иммунного ответа: привлечение в опухоль иммунных клеток из кровотока (макрофагов, нейтрофилов и регуляторных T-клеток), поляризация макрофагов по типу M2, подавление функций и противоопухолевой активности эффекторных T-клеток и стимуляция супрессорных клеток миелоидного происхождения. Гипоксия способствует трансформации клеток-предшественников в опухолеассоциированные фибробласты, привлечению эндотелиоцитов и перicyтов для стимуляции образования кровеносных и лимфатических сосудов. CAFs — опухолеассоциированные фибробласты (cancer-associated fibroblasts), MDSCs — супрессорные клетки миелоидного происхождения (myeloid-derived suppressor cells), T_{reg} — регуляторные T-клетки, T_{эфф} — эффекторные T-клетки.

ксенографтными клетками, лишенными $\Delta Np73$ (Bid et al., 2014). Было показано, что отсутствие TAp73 приводит к стабилизации HIF1- α и соответствующему влиянию на сигналинг HIF1- α , приводя к усилению сосудообразования вследствие регуляции экспрессии HIF1- α -зависимых генов — VEGF-A, VEGF-C и BA11. При этом TAp73 необходим для убиквитинирования HIF1- α и его деградации (Amelio et al., 2015; Stantic et al., 2015). Влияние мутантной формы $\Delta Np73$ на HIF1- α и его мишени детально не изучали. Можно, однако, предположить, что активность мутантного $\Delta Np73$ будет противоположна активности TAp73. Подтверждением этой гипотезы служат эксперименты, в которых введение Ras-трансформированных мышечных эмбриональных фибробластов значительно ослабляло ангиогенез опухолей в случае нокаута $\Delta Np73$ (Stantic et al., 2015), а в эксперименте с аллотрансплантатом клеток с общим нокаутом по p73 сосудообразование было снижено как следствие доминирующей экспрессии $\Delta Np73$ в клетках эндотелия (Fernandez-Alonso et al., 2015).

Заключение

В данном обзоре мы кратко рассмотрели механизмы влияния гипоксии на взаимодействие раковых клеток с компонентами опухолевого микроокружения, к которым относятся окружающие опухоль клетки (рис. 2), а также внеклеточный матрикс. Действие гипоксии может быть связано как с влиянием факторов, индуцируемых гипоксией, на клетки микроокружения, так и с синтезом раковыми клетками сигнальных молекул под ее воздействием. В целом результатом влияния гипоксии является подавление иммунного ответа организма на опухоль, сопровождающееся усилением способности раковых клеток к миграции. Таким образом, гипоксия способствует прогрессии рака, не только непосредственно воздействуя на опухолевые клетки, но и создавая благоприятные условия в их микроокружении. В этой связи одним из перспективных направлений поиска противораковой терапии представляется поиск препаратов, блокирующих один из рассмотренных путей воздействия HIF на опухо-

левое микроокружение. Другая возможная стратегия состоит в подавлении транскрипционной активности HIF, например разработка малых молекул, способных нарушать взаимодействие HIF- α и HIF1- β субъединиц (Wu et al., 2015; Semenza et al., 2003).

Множество факторов регулируют HIF, которые могут служить эффекторами нижестоящих сигнальных путей. Мы рассмотрели влияние транскрипционных факторов семейства p53 на HIF и на микроокружение опухоли, связанное с этой регуляцией. Известно существование комплексов HIF-p53, HIF-TAp63 и HIF-TAp73, однако биологические функции существования этих комплексов еще плохо изучены. Немногочисленные данные из литературы, существующие по этому поводу, свидетельствуют о том, что p53, а также его гомологи TAp63 и TAp73 могут противостоять действию HIF. Поэтому интересным направлением представляется изучение механизмов действия белков семейства p53 на белки HIF, а также причин, из-за которых происходит инактивация этих механизмов в раковых заболеваниях. Следует отметить, что на тех стадиях развития опухоли, когда наступает гипоксия, белок p53 часто уже инактивирован или мутирован. Вопрос о значении мутаций белка p53 в отношении их влияния на активность и стабильность белка HIF до сих пор остается открытым и поэтому представляет особый интерес для дальнейших исследований.

Авторы выражают благодарность Ивано Амелио и Джерри Мелино (MRC Toxicology Unit, Великобритания) за помощь в подготовке материалов по гипоксии.

Работа выполнена при финансовой поддержке программы «Молекулярная и клеточная биология» (Н. А. Барлев) и Российского научного фонда (проект 14-50-00068).

Список литературы

- Achen M. G., McColl B. K., Stacker S. A. 2005. Focus on lymphangiogenesis in tumor metastasis. *Cancer Cell*. 7 : 121—127.
- Amelio I., Inoue S., Markert E. K., Levine A. J., Knight R. A., Mak T. W., Melino G. 2015. TAp73 opposes tumor angiogenesis by promoting hypoxia-inducible factor 1alpha degradation. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*. 112 : 226—231.
- Ammirante M., Shalapour S., Kang Y., Jamieson C. A., Karin M. 2014. Tissue injury and hypoxia promote malignant progression of prostate cancer by inducing CXCL13 expression in tumor myofibroblasts. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*. 111 : 14 776—14 781.
- An W. G., Kanekal M., Simon M. C., Maltepe E., Blagosklonny M. V., Neckers L. M. 1998. Stabilization of wild-type p53 by hypoxia-inducible factor 1alpha. *Nature*. 392 : 405—408.
- Appelhoff R. J., Tian Y. M., Raval R. R., Turley H., Harris A. L., Pugh C. W., Ratcliffe P. J., Gleadow J. M. 2004. Differential function of the prolyl hydroxylases PHD1, PHD2, and PHD3 in the regulation of hypoxia-inducible factor. *J. Biol. Chem*. 279 : 38 458—38 465.
- Aro E., Khatri R., Gerard-O'Riley R., Mangiavini L., Myllyharju J., Schipani E. 2012. Hypoxia-inducible factor-1 (HIF-1) but not HIF-2 is essential for hypoxic induction of collagen prolyl 4-hydroxylases in primary newborn mouse epiphyseal growth plate chondrocytes. *J. Biol. Chem*. 287 : 37 134—37 144.
- Artinian V., Kvale P. A. 2004. Cancer and interstitial lung disease. *Curr. Opin. Pulm. Med*. 10 : 425—434.
- Bailey S. R., Nelson M. H., Himes R. A., Li Z., Mehrotra S., Paulos C. M. 2014. Th17 cells in cancer: the ultimate identity crisis. *Front Immunol*. 5 : 276. Doi: 10.3389/fimmu.2014.00276. eCollection 2014.
- Balkwill F. R., Capasso M., Hagemann T. 2012. The tumor microenvironment at a glance. *J. Cell Sci*. 125 : 5591—5596.
- Barak Y., Juven T., Haffner R., Oren M. 1993. Mdm2 expression is induced by wild type p53 activity. *EMBO J*. 12 : 461—468.
- Bardos J. I., Chau N. M., Ashcroft M. 2004. Growth factor-mediated induction of HDM2 positively regulates hypoxia-inducible factor 1alpha expression. *Mol. Cell. Biol*. 24 : 2905—2914.
- Barker H. E., Cox T. R., Erler J. T. 2012. The rationale for targeting the LOX family in cancer. *Nat. Rev. Cancer*. 12 : 540—552.
- Barlev N. A., Sayan B. S., Candi E., Okorokov A. L. 2010. The microRNA and p53 families join forces against cancer. *Cell Death Differ*. 17 : 373—375.
- Barsoum I. B., Smallwood C. A., Siemens D. R., Graham C. H. 2014. A mechanism of hypoxia-mediated escape from adaptive immunity in cancer cells. *Cancer Res*. 74 : 665—674.
- Bartow S. A., Pathak D. R., Mettler F. A. 1990. Radiographic microcalcification and parenchymal patterns as indicators of histologic «high-risk» benign breast disease. *Cancer*. 66 : 1721—1725.
- Battaller R., Brenner D. A. 2005. Liver fibrosis. *J. Clin. Invest*. 115 : 209—218.
- Beckerman R., Prives C. 2010. Transcriptional regulation by p53. *Cold Spring Harb. Perspect. Biol*. 2 : a000935.
- Ben-Shoshan J., Maysel-Auslender S., Mor A., Keren G., George J. 2008. Hypoxia controls CD4+CD25+ regulatory T-cell homeostasis via hypoxia-inducible factor-1alpha. *Eur. J. Immunol*. 38 : 2412—2418.
- Bentovim L., Amarilio R., Zelzer E. 2012. HIF1alpha is a central regulator of collagen hydroxylation and secretion under hypoxia during bone development. *Development*. 139 : 4473—4483.
- Berg J. T., Breen E. C., Fu Z., Mathieu-Costello O., West J. B. 1998. Alveolar hypoxia increases gene expression of extracellular matrix proteins and platelet-derived growth factor-B in lung parenchyma. *Amer. J. Respir. Crit. Care Med*. 158 : 1920—1928.
- Bergers G., Benjamin L. E. 2003. Tumorigenesis and the angiogenic switch. *Nat. Rev. Cancer*. 3 : 401—410.
- Bersten D. C., Sullivan A. E., Peet D. J., Whitelaw M. L. 2013. bHLH-PAS proteins in cancer. *Nat. Rev. Cancer*. 13 : 827—841.
- Bid H. K., Roberts R. D., Cam M., Audino A., Kurmasheva R. T., Lin J., Houghton P. J., Cam H. 2014. DeltaNp63 promotes pediatric neuroblastoma and osteosarcoma by regulating tumor angiogenesis. *Cancer Res*. 74 : 320—329.
- Biegging K. T., Mello S. S., Attardi L. D. 2014. Unravelling mechanisms of p53-mediated tumour suppression. *Nat. Rev. Cancer*. 14 : 359—370.
- Bingle L., Brown N. J., Lewis C. E. 2002. The role of tumor-associated macrophages in tumour progression: implications for new anticancer therapies. *J. Pathol*. 196 : 254—265.
- Bissell D. M. 2001. Chronic liver injury, TGF-beta, and cancer. *Exp. Mol. Med*. 33 : 179—190.
- Blagosklonny M. V., An W. G., Romanova L. Y., Trepel J., Fojo T., Neckers L. 1998. P53 inhibits hypoxia-inducible factor-stimulated transcription. *J. Biol. Chem*. 273 : 11 995—11 998.
- Bochet L., Lehuède C., Dauvillier S. et al. 2013. Adipocyte-derived fibroblasts promote tumor progression and contribute to the desmoplastic reaction in breast cancer. *Cancer Res*. 73 : 5657—5668.
- Bos R., van der Groep P., Greijer A. E., Shvarts A., Meijer S., Pinedo H. M., Semenza G. L., van Diest P. J., van der Wall E. 2003. Levels of hypoxia-inducible factor-1alpha independently predict prognosis in patients with lymph node negative breast carcinoma. *Cancer*. 97 : 1573—1581.
- Boyd N. F., Dite G. S., Stone J. et al. 2002. Heritability of mammographic density, a risk factor for breast cancer. *N. Engl. J. Med*. 347 : 886—894.
- Boyd N. F., Jensen H. M., Cooke G., Han H. L. 1992. Relationship between mammographic and histological risk factors for breast cancer. *J. Nat. Cancer Inst*. 84 : 1170—1179.
- Boyd N. F., Jensen H. M., Cooke G., Han H. L., Lockwood G. A., Miller A. B. 2000. Mammographic densities and the prevalence and incidence of histological types of benign breast disease. Reference pathologists of the canadian national breast screening study. *Eur. J. Cancer Prev*. 9 : 15—24.

- Branco-Price C., Zhang N., Schnelle M., Evans C., Katschinski D. M., Liao D., Ellies L., Johnson R. S. 2012. Endothelial cell HIF-1alpha and HIF-2alpha differentially regulate metastatic success. *Cancer Cell*. 21 : 52—65.
- Bronie V., Zanovello P. 2005. Regulation of immune responses by L-arginine metabolism. *Nat. Rev. Immunol.* 5 : 641—654.
- Caniggia I., Mostachfi H., Winter J., Gassmann M., Lye S. J., Kuliszewski M., Post M. 2000. Hypoxia-inducible factor-1 mediates the biological effects of oxygen on human trophoblast differentiation through TGFbeta (3). *J. Clin. Invest.* 105 : 577—587.
- Carmeliet P., Jain R. K. 2011. Molecular mechanisms and clinical applications of angiogenesis. *Nature*. 473 : 298—307.
- Casazza A., Laoui D., Wenes M., Rizzolio S., Bassani N., Mambretti M., Deschoemaeker S., Van Ginderachter J. A., Tamagnone L., Mazzone M. 2013. Impeding macrophage entry into hypoxic tumor areas by Sema3A/Nrp1 signaling blockade inhibits angiogenesis and restores antitumor immunity. *Cancer Cell*. 24 : 695—709.
- Chang H. Y., Nuyten D. S., Sneddon J. B. et al. 2005. Robustness, scalability, and integration of a wound-response gene expression signature in predicting breast cancer survival. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*. 102 : 3738—3743.
- Chang H. Y., Sneddon J. B., Alizadeh A. A., Sood R., West R. B., Montgomery K., Chi J. T., van de Rijn M., Botstein D., Brown P. O. 2004. Gene expression signature of fibroblast serum response predicts human cancer progression: similarities between tumors and wounds. *PLoS Biol.* 2 : E7.
- Chen J., Marechal V., Levine A. J. 1993. Mapping of the p53 and mdm-2 interaction domains. *Mol. Cell. Biol.* 13 : 4107—4114.
- Choi J. Y., Jang Y. S., Min S. Y., Song J. Y. 2011. Overexpression of MMP-9 and HIF-1alpha in breast cancer cells under hypoxic conditions. *J. Breast Cancer*. 14 : 88—95.
- Choy M. K., Movassagh M., Bennett M. R., Foo R. S. 2010. PKB/Akt activation inhibits p53-mediated HIF1A degradation that is independent of MDM2. *J. Cell. Physiol.* 222 : 635—639.
- Cirri P., Chiarugi P. 2011. Cancer associated fibroblasts: the dark side of the coin. *Amer. J. Cancer Res.* 1 : 482—497.
- Clambey E. T., McNamee E. N., Westrich J. A. et al. 2012. Hypoxia-inducible factor-1 alpha-dependent induction of FoxP3 drives regulatory T-cell abundance and function during inflammatory hypoxia of the mucosa. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*. 109 : E2784—E2793.
- Clarijs R., Ruiter D. J., De Waal R. M. 2003. Pathophysiological implications of stroma pattern formation in uveal melanoma. *J. Cell. Physiol.* 194 : 267—271.
- Colegio O. R., Chu N. Q., Szabo A. L. et al. 2014. Functional polarization of tumour-associated macrophages by tumour-derived lactic acid. *Nature*. 513 : 559—563.
- Colpaert C. G., Vermeulen P. B., Fox S. B., Harris A. L., Dirix L. Y., Van Marck E. A. 2003. The presence of a fibrotic focus in invasive breast carcinoma correlates with the expression of carbonic anhydrase IX and is a marker of hypoxia and poor prognosis. *Breast Cancer Res. Treat.* 81 : 137—147.
- Cooke V. G., LeBleu V. S., Keskin D. et al. 2012. Pericyte depletion results in hypoxia-associated epithelial-to-mesenchymal transition and metastasis mediated by met signaling pathway. *Cancer Cell*. 21 : 66—81.
- Corzo C. A., Condamine T., Lu L. et al. 2010. HIF-1alpha regulates function and differentiation of myeloid-derived suppressor cells in the tumor microenvironment. *J. Exp. Med.* 207 : 2439—2453.
- Coulon C., Georgiadou M., Roncal C., De Bock K., Langenberg T., Carmeliet P. 2010. From vessel sprouting to normalization: role of the prolyl hydroxylase domain protein/hypoxia-inducible factor oxygen-sensing machinery. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 30 : 2331—2336.
- Coussens L. M., Raymond W. W., Bergers G., Laig-Webster M., Behrendtsen O., Werb Z., Caughey G. H., Hanahan D. 1999. Inflammatory mast cells up-regulate angiogenesis during squamous epithelial carcinogenesis. *Genes Develop.* 13 : 1382—1397.
- Cox T. R., Bird D., Baker A. M., Barker H. E., Ho M. W., Lang G., Erler J. T. 2013. LOX-mediated collagen crosslinking is responsible for fibrosis-enhanced metastasis. *Cancer Res.* 73 : 1721—1732.
- Cox T. R., Rumney R. M., Schoof E. M. et al. 2015. The hypoxic cancer secretome induces pre-metastatic bone lesions through lysyl oxidase. *Nature*. 522 : 106—110.
- Cramer T., Yamanishi Y., Clausen B. et al. 2003. HIF-1alpha is essential for myeloid cell-mediated inflammation. *Cell*. 112 : 645—657.
- Dang E. V., Barbi J., Yang H. Y. et al. 2011. Control of T(H)17/T(reg) balance by hypoxia-inducible factor 1. *Cell*. 146 (5) : 772—784.
- Doedens A. L., Stockmann C., Rubinstein M. P., Liao D., Zhang N., DeNardo D. G., Coussens L. M., Karin M., Goldrath A. W., Johnson R. S. 2010. Macrophage expression of hypoxia-inducible factor-1 alpha suppresses T-cell function and promotes tumor progression. *Cancer Res.* 70 : 7465—7475.
- Du R., Lu K. V., Petritsch C., Liu P., Ganss R., Passegue E., Song H., Vandenberg S., Johnson R. S., Werb Z. et al. 2008. HIF1alpha induces the recruitment of bone marrow-derived vascular modulatory cells to regulate tumor angiogenesis and invasion. *Cancer Cell*. 13 : 206—220.
- Dumont N., Liu B., Deflippis R. A., Chang H., Rabban J. T., Karnezis A. N., Tjoe J. A., Marx J., Parvin B., Tlsty T. D. 2013. Breast fibroblasts modulate early dissemination, tumorigenesis, and metastasis through alteration of extracellular matrix characteristics. *Neoplasia*. 15 : 249—262.
- Eisinger-Mathason T. S., Zhang M., Qiu Q., Skuli N., Nakazawa M. S., Karakasheva T., Mucaj V., Shay J. E., Stangenberg L., Sadri N. 2013. Hypoxia-dependent modification of collagen networks promotes sarcoma metastasis. *Cancer Discov.* 3 : 1190—1205.
- Elvidge G. P., Glenny L., Appelhoff R. J., Ratcliffe P. J., Ragoussis J., Gleadow J. M. 2006. Concordant regulation of gene expression by hypoxia and 2-oxoglutarate-dependent dioxygenase inhibition: the role of HIF-1alpha, HIF-2alpha, and other pathways. *J. Biol. Chem.* 281 : 15 215—15 226.
- Erler J. T., Bennewith K. L., Cox T. R., Lang G., Bird D., Kong A., Le Q. T., Giaccia A. J. 2009. Hypoxia-induced lysyl oxidase is a critical mediator of bone marrow cell recruitment to form the premetastatic niche. *Cancer Cell*. 15 : 35—44.
- Erler J. T., Bennewith K. L., Nicolau M., Dornhofer N., Kong C., Le Q. T., Chi J. T., Jeffrey S. S., Giaccia A. J. 2006. Lysyl oxidase is essential for hypoxia-induced metastasis. *Nature*. 440 : 1222—1226.
- Facciabene A., Peng X., Hagemann I. S., Balint K., Barchetti A., Wang L. P., Gimotty P. A., Gilks C. B., Lal P., Zhang L. et al. 2011. Tumour hypoxia promotes tolerance and angiogenesis via CCL28 and T(reg) cells. *Nature*. 475 : 226—230.
- Falanga V., Martin T. A., Takagi H., Kirsner R. S., Helfman T., Pardes J., Ochoa M. S. 1993. Low oxygen tension increases mRNA levels of alpha 1 (I) procollagen in human dermal fibroblasts. *J. Cell. Physiol.* 157 : 408—412.
- Fedorova O. A., Moiseeva T. N., Nikiforov A. A., Tsimokha A. S., Livinskaya V. A., Hodson M., Bottrill A., Evteeva I. N., Ermolayeva J. B., Kuznetsova I. M. et al. 2011. Proteomic analysis of the 20S proteasome (PSMA3)-interacting proteins reveals a functional link between the proteasome and mRNA metabolism. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 416 : 258—265.
- Fernandez-Alonso R., Martin-Lopez M., Gonzalez-Cano L., Garcia S., Castrillo F., Diez-Prieto I., Fernandez-Corona A., Lorenzo-Marcos M. E., Li X., Claesson-Welsh L. et al. 2015. p73 is required for endothelial cell differentiation, migration and the formation of vascular networks regulating VEGF and TGFbeta signaling. *Cell Death Differ.* 22 : 1287—1299.
- Ferrara N., Kerbel R. S. 2005. Angiogenesis as a therapeutic target. *Nature*. 438 : 967—974.
- Folkman J., Watson K., Ingber D., Hanahan D. 1989. Induction of angiogenesis during the transition from hyperplasia to neoplasia. *Nature*. 339 : 58—61.

- Franses J. W., Baker A. B., Chitalia V. C., Edelman E. R. 2011. Stromal endothelial cells directly influence cancer progression. *Sci. Transl. Med.* 3 : 66ra65.
- Frantz C., Stewart K. M., Weaver V. M. 2010. The extracellular matrix at a glance. *J. Cell Sci.* 123 : 4195—4200.
- Gabrilovich D. I., Nagaraj S. 2009. Myeloid-derived suppressor cells as regulators of the immune system. *Nat. Rev. Immunol.* 9 : 162—174.
- Gadea G., de Toledo M., Anguille C., Roux P. 2007. Loss of p53 promotes RhoA-ROCK-dependent cell migration and invasion in 3D matrices. *J. Cell Biol.* 178 : 23—30.
- Gascard P., Tlsty T. D. 2016. Carcinoma-associated fibroblasts: orchestrating the composition of malignancy. *Genes Develop.* 30 : 1002—1019.
- Gilkes D. M., Bajpai S., Chaturvedi P., Wirtz D., Semenza G. L. 2013a. Hypoxia-inducible factor 1 (HIF-1) promotes extracellular matrix remodeling under hypoxic conditions by inducing P4HA1, P4HA2, and PLOD2 expression in fibroblasts. *J. Biol. Chem.* 288 : 10 819—10 829.
- Gilkes D. M., Bajpai S., Wong C. C., Chaturvedi P., Hubbi M. E., Wirtz D., Semenza G. L. 2013b. Procollagen lysyl hydroxylase 2 is essential for hypoxia-induced breast cancer metastasis. *Mol. Cancer Res.* 11 : 456—466.
- Gilkes D. M., Chaturvedi P., Bajpai S., Wong C. C., Wei H., Pitcairn S., Hubbi M. E., Wirtz D., Semenza G. L. 2013c. Collagen prolyl hydroxylases are essential for breast cancer metastasis. *Cancer Res.* 73 : 3285—3296.
- Gilkes D. M., Semenza G. L., Wirtz D. 2014. Hypoxia and the extracellular matrix: drivers of tumour metastasis. *Nat. Rev. Cancer.* 14 : 430—439.
- Goodwin M. L., Jin H., Straessler K., Smith-Fry K., Zhu J. F., Monument M. J., Grossmann A., Randall R. L., Capecchi M. R., Jones K. B. 2014. Modeling alveolar soft part sarcomagenesis in the mouse: a role for lactate in the tumor microenvironment. *Cancer Cell.* 26 : 851—862.
- Gordon M. K., Hahn R. A. 2010. Collagens. *Cell Tissue Res.* 339 : 247—257.
- Gould V. E., Koukoulis G. K., Virtanen I. 1990. Extracellular matrix proteins and their receptors in the normal, hyperplastic and neoplastic breast. *Cell Differ. Develop.* 32 : 409—416.
- Graeber T. G., Peterson J. F., Tsai M., Monica K., Fornace A. J., Jr., Giaccia A. J. 1994. Hypoxia induces accumulation of p53 protein, but activation of a G₁-phase checkpoint by low-oxygen conditions is independent of p53 status. *Mol. Cell. Biol.* 14 : 6264—6277.
- Grossi E., Sanchez Y., Huarte M. 2016. Expanding the p53 regulatory network: LncRNAs take up the challenge. *Biochim. biophys. acta.* 1859 : 200—208.
- Guo F., Zheng Y. 2004. Rho family GTPases cooperate with p53 deletion to promote primary mouse embryonic fibroblast cell invasion. *Oncogene.* 23 : 5577—5585.
- Halberg N., Khan T., Trujillo M. E., Wernstedt-Asterholm I., Attie A. D., Sherwani S., Wang Z. V., Landskroner-Eiger S., Dinen S., Magalang U. J. et al. 2009. Hypoxia-inducible factor 1alpha induces fibrosis and insulin resistance in white adipose tissue. *Mol. Cell. Biol.* 29 : 4467—4483.
- Hasebe T., Tsuda H., Tsubono Y., Imoto S., Mukai K. 1997. Fibrotic focus in invasive ductal carcinoma of the breast: a histopathological prognostic parameter for tumor recurrence and tumor death within three years after the initial operation. *Jpn. J. Cancer Res.* 88 : 590—599.
- Haupt Y., Maya R., Kazaz A., Oren M. 1997. Mdm2 promotes the rapid degradation of p53. *Nature.* 387 : 296—299.
- Higgins D. F., Kimura K., Bernhardt W. M., Shrimanker N., Akai Y., Hohenstein B., Saito Y., Johnson R. S., Kretzler M., Cohen C. D. et al. 2007. Hypoxia promotes fibrogenesis *in vivo* via HIF-1 stimulation of epithelial-to-mesenchymal transition. *J. Clin. Invest.* 117 : 3810—3820.
- Hirakawa S., Kodama S., Kunstfeld R., Kajiya K., Brown L. F., Detmar M. 2005. VEGF-A induces tumor and sentinel lymph node lymphangiogenesis and promotes lymphatic metastasis. *J. Exp. Med.* 201 : 1089—1099.
- Hofbauer K. H., Gess B., Lohaus C., Meyer H. E., Katschinski D., Kurtz A. 2003. Oxygen tension regulates the expression of a group of procollagen hydroxylases. *Eur. J. Biochem.* 270 : 4515—4522.
- Holmquist-Mengelbier L., Fredlund E., Lofstedt T., Nogueira R., Navarro S., Nilsson H., Pietras A., Vallon-Christersson J., Borg A., Gradin K. et al. 2006. Recruitment of HIF-1alpha and HIF-2alpha to common target genes is differentially regulated in neuroblastoma: HIF-2alpha promotes an aggressive phenotype. *Cancer Cell.* 10 : 413—423.
- Huijbers I. J., Irvani M., Popov S., Robertson D., Al-Sarraj S., Jones C., Isacke C. M. 2010. A role for fibrillar collagen deposition and the collagen internalization receptor endo180 in glioma invasion. *PLoS ONE.* 5 (3) : e9808.
- Imtiyaz H. Z., Williams E. P., Hickey M. M., Patel S. A., Durham A. C., Yuan L. J., Hammond R., Gimotty P. A., Keith B., Simon M. C. 2010. Hypoxia-inducible factor 2alpha regulates macrophage function in mouse models of acute and tumor inflammation. *J. Clin. Invest.* 120 : 2699—2714.
- Iyer N. V., Kotch L. E., Agani F. et al. 1998. Cellular and developmental control of O₂ homeostasis by hypoxia-inducible factor 1 alpha. *Genes Develop.* 12 : 149—162.
- Jaakkola P., Mole D. R., Tian Y. M. et al. 2001. Targeting of HIF-1alpha to the von Hippel-Lindau ubiquitylation complex by O₂-regulated prolyl hydroxylation. *Science.* 292 : 468—472.
- Joshi S., Singh A. R., Durden D. L. 2014. MDM2 regulates hypoxic hypoxia-inducible factor 1alpha stability in an E3 ligase, proteasome, and PTEN-phosphatidylinositol 3-kinase-AKT-dependent manner. *J. Biol. Chem.* 289 : 22 785—22 797.
- Jussila T., Kauppila S., Risteli L., Risteli J., Stenback F. 2002. Collagen formation in extracellular matrix of transplants of human transformed keratinocyte cell lines. *Anticancer Res.* 22 : 1705—1711.
- Kamat C. D., Green D. E., Warnke L., Thorpe J. E., Ceriello A., Ihnat M. A. 2007. Mutant p53 facilitates pro-angiogenic, hyperproliferative phenotype in response to chronic relative hypoxia. *Cancer Lett.* 249 : 209—219.
- Kauppila S., Stenback F., Risteli J., Jukkola A., Risteli L. 1998. Aberrant type I and type III collagen gene expression in human breast cancer *in vivo*. *J. Pathol.* 186 : 262—268.
- Keskin D., Kim J., Cooke V. G., Wu C. C., Sugimoto H., Gu C., De Palma M., Kalluri R., LeBleu V. S. 2015. Targeting vascular pericytes in hypoxic tumors increases lung metastasis via angiopoietin-2. *Cell Rep.* 10 : 1066—1081.
- Koh M. Y., Lemos R., Jr., Liu X., Powis G. 2011. The hypoxia-associated factor switches cells from HIF-1alpha- to HIF-2alpha-dependent signaling promoting stem cell characteristics, aggressive tumor growth and invasion. *Cancer Res.* 71 : 4015—4027.
- Koivunen P., Hirsila M., Gunzler V., Kivirikko K. I., Myllyharju J. 2004. Catalytic properties of the asparaginyl hydroxylase (FIH) in the oxygen sensing pathway are distinct from those of its prolyl 4-hydroxylases. *J. Biol. Chem.* 279 : 9899—9904.
- Kojima K., McQueen T., Chen Y., Jacamo R., Konopleva M., Shinojima N., Shpall E., Huang X., Andreeff M. 2011. P53 activation of mesenchymal stromal cells partially abrogates microenvironment-mediated resistance to FLT3 inhibition in AML through HIF-1alpha-mediated down-regulation of CXCL12. *Blood.* 118 : 4431—4439.
- Krishnamachary B., Berg-Dixon S., Kelly B., Agani F., Feldser D., Ferreira G., Iyer N., LaRusch J., Pak B., Taghavi P., Semenza G. L. 2003. Regulation of colon carcinoma cell invasion by hypoxia-inducible factor 1. *Cancer Res.* 63 : 1138—1143.
- Kubbutat M. H., Jones S. N., Vousden K. H. 1997. Regulation of p53 stability by Mdm2. *Nature.* 387 : 299—303.
- Kurokawa T., Miyamoto M., Kato K., Cho Y., Kawarada Y., Hida Y., Shinohara T., Itoh T., Okushiba S., Kondo S., Katoh H. 2003. Overexpression of hypoxia-inducible-factor 1alpha (HIF-1alpha) in oesophageal squamous cell carcinoma correlates with lymph node metastasis and pathologic stage. *Br. J. Cancer.* 89 : 1042—1047.
- Kurose K., Gilley K., Matsumoto S., Watson P. H., Zhou X. P., Eng C. 2002. Frequent somatic mutations in PTEN and TP53 are

- mutually exclusive in the stroma of breast carcinomas. *Nat. Genet.* 32 : 355—357.
- Kussie P. H., Gorina S., Marechal V., Elenbaas B., Moreau J., Levine A. J., Pavletich N. P. 1996. Structure of the MDM2 oncoprotein bound to the p53 tumor suppressor transactivation domain. *Science.* 274 : 948—953.
- Laoui D., Van Overmeire E., Di Conza G. et al. 2014. Tumor hypoxia does not drive differentiation of tumor-associated macrophages but rather fine-tunes the M2-like macrophage population. *Cancer Res.* 74 : 24—30.
- Le Q. T., Shi G., Cao H. et al. 2005. Galectin-1: a link between tumor hypoxia and tumor immune privilege. *J. Clin. Oncol.* 23 : 8932—8941.
- Lecomte J., Masset A., Blacher S., Maertens L., Gothot A., Delgaudine M., Bruyere F., Carnet O., Paupert J., Illemann M., Foidart J. M., Lund I. K., Hoyer-Hansen G., Noel A. 2012. Bone marrow-derived myofibroblasts are the providers of pro-invasive matrix metalloproteinase 13 in primary tumor. *Neoplasia.* 14 : 943—951.
- Lee Y. M., Lim J. H., Chun Y. S., Moon H. E., Lee M. K., Huang L. E., Park J. W. 2009. Nutlin-3, an Hdm2 antagonist, inhibits tumor adaptation to hypoxia by stimulating the FIH-mediated inactivation of HIF-1alpha. *Carcinogenesis.* 30 : 1768—1775.
- Lezina L., Purmessur N., Antonov A. V., Ivanova T., Karpova E., Krishan K., Ivan M., Aksenova V., Tentler D., Garabadiu A. V., Melino G., Barlev N. A. 2013. miR-16 and miR-26a target checkpoint kinases Wee1 and Chk1 in response to p53 activation by genotoxic stress. *Cell Death Dis.* 4 : e953.
- Lu H., Forbes R. A., Verma A. 2002. Hypoxia-inducible factor 1 activation by aerobic glycolysis implicates the Warburg effect in carcinogenesis. *J. Biol. Chem.* 277 : 23 111—23 115.
- Lujambio A., Akkari L., Simon J., Grace D., Tschaharganeh D. F., Bolden J. E., Zhao Z., Thapar V., Joyce J. A., Krizhanovskiy V., Lowe S.W. 2013. Non-cell-autonomous tumor suppression by p53. *Cell.* 153 : 449—460.
- Mahon P. C., Hirota K., Semenza G. L. 2001. FIH-1: a novel protein that interacts with HIF-1alpha and VHL to mediate repression of HIF-1 transcriptional activity. *Genes Develop.* 15 : 2675—2686.
- Mamlouk S., Kalucka J., Singh R. P., Franke K., Muschter A., Langer A., Jakob C., Gassmann M., Baretton G. B., Wielockx B. 2014. Loss of prolyl hydroxylase-2 in myeloid cells and T-lymphocytes impairs tumor development. *Int. J. Cancer.* 134 : 849—858.
- Mantovani A., Cassatella M. A., Costantini C., Jaillon S. 2011. Neutrophils in the activation and regulation of innate and adaptive immunity. *Nat. Rev. Immunol.* 11 : 519—531.
- Matschurat S., Knies U. E., Person V., Fink L., Stoelcker B., Ebenebe C., Behrendorf H. A., Schaper J., Clauss M. 2003. Regulation of EMAP II by hypoxia. *Amer. J. Pathol.* 162 : 93—103.
- Maxwell P. H., Pugh C. W., Ratcliffe P. J. 2001. Activation of the HIF pathway in cancer. *Curr. Opin. Genet. Develop.* 11 : 293—299.
- McDonald L. T., Russell D. L., Kelly R. R., Xiong Y., Motamary A., Patel R. K., Jones J. A., Watson P. M., Turner D. P., Watson D. K., Soloff A. C., Findlay V. J., LaRue A. C. 2015. Hematopoietic stem cell-derived cancer-associated fibroblasts are novel contributors to the pro-tumorigenic microenvironment. *Neoplasia.* 17 : 434—448.
- Moeller B. J., Cao Y., Li C. Y., Dewhirst M. W. 2004. Radiation activates HIF-1 to regulate vascular radiosensitivity in tumors: role of reoxygenation, free radicals, and stress granules. *Cancer Cell.* 5 : 429—441.
- Mohammed R. A., Ellis I. O., Elsheikh S., Paish E. C., Martin S. G. 2009. Lymphatic and angiogenic characteristics in breast cancer: morphometric analysis and prognostic implications. *Breast Cancer Res. Treat.* 113 : 261—273.
- Moiseeva T. N., Bottrill A., Melino G., Barlev N. A. 2013. DNA damage-induced ubiquitylation of proteasome controls its proteolytic activity. *Oncotarget.* 4 : 1338—1348.
- Momand J., Zambetti G. P., Olson D. C., George D., Levine A. J. 1992. The mdm-2 oncogene product forms a complex with the p53 protein and inhibits p53-mediated transactivation. *Cell.* 69 : 1237—1245.
- Montagner M., Enzo E., Forcato M., Zanconato F., Parenti A., Rampazzo E., Basso G., Leo G., Rosato A., Biccato S., Cordenon-si M., Piccolo S. 2012. SHARP1 suppresses breast cancer metastasis by promoting degradation of hypoxia-inducible factors. *Nature.* 487 : 380—384.
- Moon J. O., Welch T. P., Gonzalez F. J., Copple B. L. 2009. Reduced liver fibrosis in hypoxia-inducible factor-1alpha-deficient mice. *Amer. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* 296 : G582—G592.
- Munoz-Najar U. M., Neurath K. M., Vumbaca F., Claffey K. P. 2006. Hypoxia stimulates breast carcinoma cell invasion through MT1-MMP and MMP-2 activation. *Oncogene.* 25 : 2379—2392.
- Murdoch C., Giannoudis A., Lewis C. E. 2004. Mechanisms regulating the recruitment of macrophages into hypoxic areas of tumors and other ischemic tissues. *Blood.* 104 : 2224—2234.
- Nieminen A. L., Qanungo S., Schneider E. A., Jiang B. H., Agani F. H. 2005. Mdm2 and HIF-1alpha interaction in tumor cells during hypoxia. *J. Cell. Physiol.* 204 : 364—369.
- Noman M. Z., Desantis G., Janji B., Hasmim M., Karray S., Dessen P., Bronte V., Chouaib S. 2014. PD-L1 is a novel direct target of HIF-1alpha, and its blockade under hypoxia enhanced MDSC-mediated T cell activation. *J. Exp. Med.* 211 : 781—790.
- Noman M. Z., Janji B., Hu S., Wu J. C., Martelli F., Bronte V., Chouaib S. 2015. Tumor-promoting effects of myeloid-derived suppressor cells are potentiated by hypoxia-induced expression of miR-210. *Cancer Res.* 75 : 3771—3787.
- Norman J. T., Clark I. M., Garcia P. L. 2000. Hypoxia promotes fibrogenesis in human renal fibroblasts. *Kidney Int.* 58 : 2351—2366.
- Ohh M., Park C. W., Ivan M., Hoffman M. A., Kim T. Y., Huang L. E., Pavletich N., Chau V., Kaelin W. G. 2000. Ubiquitination of hypoxia-inducible factor requires direct binding to the beta-domain of the von Hippel-Lindau protein. *Nat. Cell Biol.* 2 : 423—427.
- Ohta A., Gorelik E., Prasad S. J., Ronchese F., Lukashev D., Wong M. K., Huang X., Caldwell S., Liu K., Smith P., Chen J.F., Jackson E. K., Apasov S., Abrams S., Sitkovsky M. 2006. A2A adenosine receptor protects tumors from antitumor T cells. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 103 : 13 132—13 137.
- Oliner J. D., Pietenpol J. A., Thiagalingam S., Gyuris J., Kinzler K. W., Vogelstein B. 1993. Oncoprotein MDM2 conceals the activation domain of tumour suppressor p53. *Nature.* 362 : 857—860.
- Olive K. P., Jacobetz M. A., Davidson C. J. et al. 2009. Inhibition of Hedgehog signaling enhances delivery of chemotherapy in a mouse model of pancreatic cancer. *Science.* 324 : 1457—1461.
- Olumi A. F., Grossfeld G. D., Hayward S. W., Carroll P. R., Tlsty T. D., Cunha G. R. 1999. Carcinoma-associated fibroblasts direct tumor progression of initiated human prostatic epithelium. *Cancer Res.* 59 : 5002—5011.
- Orimo A., Gupta P. B., Sgroi D. C., Arenzana-Seisdedos F., Delaunay T., Naeem R., Carey V. J., Richardson A. L., Weinberg R. A. 2005. Stromal fibroblasts present in invasive human breast carcinomas promote tumor growth and angiogenesis through elevated SDF-1/CXCL12 secretion. *Cell.* 121 : 335—348.
- Peng J., Zhang L., Drysdale L., Fong G. H. 2000. The transcription factor EPAS-1/hypoxia-inducible factor 2alpha plays an important role in vascular remodeling. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 97 : 8386—8391.
- Petrella B. L., Lohi J., Brinckerhoff C. E. 2005. Identification of membrane type-1 matrix metalloproteinase as a target of hypoxia-inducible factor-2 alpha in von Hippel-Lindau renal cell carcinoma. *Oncogene.* 24 : 1043—1052.
- Pouyssegur J., Dayan F., Mazure N. M. 2006. Hypoxia signaling in cancer and approaches to enforce tumour regression. *Nature.* 441 : 437—443.
- Qian B. Z., Pollard J. W. 2010. Macrophage diversity enhances tumor progression and metastasis. *Cell.* 141 : 39—51.
- Quante M., Tu S. P., Tomita H., Gonda T., Wang S. S., Takashi S., Baik G. H., Shibata W., Diprete B., Betz K. S., Friedman R., Varro A., Tycko B., Wang T. C. 2011. Bone marrow-derived myo-

fibroblasts contribute to the mesenchymal stem cell niche and promote tumor growth. *Cancer Cell*. 19 : 257—272.

Radisky D. C., Kenny P. A., Bissell M. J. 2007. Fibrosis and cancer: do myofibroblasts come also from epithelial cells via EMT? *J. Cell. Biochem*. 101 : 830—839.

Ravi R., Mookerjee B., Bhujwala Z. M., Sutter C. H., Artemov D., Zeng Q., Dillehay L. E., Madan A., Semenza G. L., Bedi A. 2000. Regulation of tumor angiogenesis by p53-induced degradation of hypoxia-inducible factor 1alpha. *Genes Develop*. 14 : 34—44.

Rolny C., Mazzone M., Tugues S. et al. 2011. HRG inhibits tumor growth and metastasis by inducing macrophage polarization and vessel normalization through downregulation of PlGF. *Cancer Cell*. 19 : 31—44.

Salimath B., Marme D., Finkenzeller G. 2000. Expression of the vascular endothelial growth factor gene is inhibited by p73. *Oncogene*. 19 : 3470—3476.

Sceney J., Chow M. T., Chen A., Halse H. M., Wong C. S., Andrews D. M., Sloan E. K., Parker B. S., Bowtell D. D., Smyth M. J., Möller A. 2012. Primary tumor hypoxia recruits CD11b+Ly6Cmed/Ly6G+ immune suppressor cells and compromises NK cell cytotoxicity in the premetastatic niche. *Cancer Res*. 72 : 3906—3911.

Schietke R., Warnecke C., Wacker I., Schodel J., Mole D. R., Campean V., Amann K., Goppelt-Strube M., Behrens J., Eckardt K. U., Wiesener M. S. 2010. The lysyl oxidases LOX and LOXL2 are necessary and sufficient to repress E-cadherin in hypoxia: insights into cellular transformation processes mediated by HIF-1. *J. Biol. Chem*. 285 : 6658—6669.

Schioppa T., Uranchimeg B., Saccani A., Biswas S. K., Doni A., Rapisarda A., Bernasconi S., Saccani S., Nebuloni M., Vago L., Mantovani A., Melillo G., Sica A. 2003. Regulation of the chemokine receptor CXCR4 by hypoxia. *J. Exp. Med*. 198 : 1391—1402.

Schito L., Rey S., Tafani M., Zhang H., Wong C. C., Russo A., Russo M. A., Semenza G. L. 2012. Hypoxia-inducible factor 1-dependent expression of platelet-derived growth factor B promotes lymphatic metastasis of hypoxic breast cancer cells. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*. 109 : E2707—E2716.

Schoppmann S. F., Fenzl A., Schindl M., Bachleitner-Hofmann T., Nagy K., Gnant M., Horvat R., Jakesz R., Birner P. 2006. Hypoxia inducible factor-1alpha correlates with VEGF-C expression and lymphangiogenesis in breast cancer. *Breast Cancer Res. Treat.* 99 : 135—141.

Semenza G. L. 2003. Targeting HIF-1 for cancer therapy. *Nat. Rev. Cancer*. 3 : 721—732.

Senoo M., Matsumura Y., Habu S. 2002. TAp63gamma (p51A) and dNp63alpha (p73L), two major isoforms of the p63 gene, exert opposite effects on the vascular endothelial growth factor (VEGF) gene expression. *Oncogene*. 21 : 2455—2465.

Shapiro F. D., Eyre D. R. 1982. Collagen polymorphism in extracellular matrix of human osteosarcoma. *J. Nat. Cancer Inst.* 69 : 1009—1016.

Sitkovsky M., Lukashev D. 2005. Regulation of immune cells by local-tissue oxygen tension: HIF1 alpha and adenosine receptors. *Nat. Rev. Immunol.* 5 : 712—721.

Skuli N., Liu L., Runge A., Wang T., Yuan L., Patel S., Iruela-Arispe L., Simon M. C., Keith B. 2009. Endothelial deletion of hypoxia-inducible factor-2alpha (HIF-2alpha) alters vascular function and tumor angiogenesis. *Blood*. 114 : 469—477.

Skuli N., Majmundar A. J., Krock B. L., Mesquita R. C., Mathew L. K., Quinn Z. L., Runge A., Liu L., Kim M. N., Liang J., Schenkel S., Yodh A. G., Keith B., Simon M. C. 2012. Endothelial HIF-2alpha regulates murine pathological angiogenesis and revascularization processes. *J. Clin. Invest.* 122 : 1427—1443.

Stantic M., Sakil H. A., Zirath H., Fang T., Sanz G., Fernandez-Woodbridge A., Marin A., Susanto E., Mak T. W., Arsenian-Henriksson M., Wilhelm M. T. 2015. TAp73 suppresses tumor angiogenesis through repression of proangiogenic cytokines and HIF-1alpha activity. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*. 112 : 220—225.

Stockmann C., Doedens A., Weidemann A., Zhang N., Takeda N., Greenberg J. I., Cheresch D. A., Johnson R. S. 2008. Deletion

of vascular endothelial growth factor in myeloid cells accelerates tumorigenesis. *Nature*. 456 : 814—818.

Synnestvedt K., Furuta G. T., Comerford K. M., Louis N., Karhausen J., Eltzschig H. K., Hansen K. R., Thompson L. F., Colgan S. P. 2002. Ecto-5'-nucleotidase (CD73) regulation by hypoxia-inducible factor-1 mediates permeability changes in intestinal epithelia. *J. Clin. Invest.* 110 : 993—1002.

Tamamori M., Ito H., Hiroe M., Marumo F., Hata R. I. 1997. Stimulation of collagen synthesis in rat cardiac fibroblasts by exposure to hypoxic culture conditions and suppression of the effect by natriuretic peptides. *Cell Biol. Int.* 21 : 175—180.

Tammela T., Alitalo K. 2010. Lymphangiogenesis: molecular mechanisms and future promise. *Cell*. 140 : 460—476.

Tang N., Wang L., Esko J., Giordano F. J., Huang Y., Gerber H. P., Ferrara N., Johnson R. S. 2004. Loss of HIF-1alpha in endothelial cells disrupts a hypoxia-driven VEGF autocrine loop necessary for tumorigenesis. *Cancer Cell*. 6 : 485—495.

Trastour C., Benizri E., Ettore F., Ramaioli A., Chamorey E., Pouyssegur J., Berra E. 2007. HIF-1alpha and CA IX staining in invasive breast carcinomas: prognosis and treatment outcome. *Int. J. Cancer*. 120 : 1451—1458.

Uchida T., Rossignol F., Matthay M. A., Mounier R., Couette S., Clottes E., Clerici C. 2004. Prolonged hypoxia differentially regulates hypoxia-inducible factor (HIF)-1alpha and HIF-2alpha expression in lung epithelial cells: implication of natural antisense HIF-1alpha. *J. Biol. Chem*. 279 : 14 871—14 878.

Van der Rest M., Garrone R. 1991. Collagen family of proteins. *FASEB J*. 5 : 2814—2823.

Van Kempen L. C., Ruiter D. J., van Muijen G. N., Cousens L. M. 2003. The tumor microenvironment: a critical determinant of neoplastic evolution. *Eur. J. Cell Biol.* 82 : 539—548.

Van Meir E. G., Polverini P. J., Chazin V. R., Su Huang H. J., de Tribolet N., Cavenee W. K. 1994. Release of an inhibitor of angiogenesis upon induction of wild type p53 expression in glioblastoma cells. *Nat. Genet.* 8 : 171—176.

Viguier M., Lemaitre F., Verola O., Cho M. S., Gorochov G., Dubertret L., Bachelez H., Kourilsky P., Ferradini L. 2004. Foxp3 expressing CD4+CD25(high) regulatory T cells are overrepresented in human metastatic melanoma lymph nodes and inhibit the function of infiltrating T cells. *J. Immunol.* 173 : 1444—1453.

Vousden K. H., Prives C. 2009. Blinded by the light: the growing complexity of p53. *Cell*. 137 : 413—431.

Walmsley S. R., Print C., Farahi N., Peyssonnaud C., Johnson R. S., Cramer T., Sobolewski A., Condliffe A. M., Cowburn A. S., Johnson N., Chilvers E. R. 2005. Hypoxia-induced neutrophil survival is mediated by HIF-1alpha-dependent NF-kappaB activity. *J. Exp. Med.* 201 : 105—115.

Wang G. L., Jiang B. H., Rue E. A., Semenza G. L. 1995. Hypoxia-inducible factor 1 is a basic-helix-loop-helix-PAS heterodimer regulated by cellular O₂ tension. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*. 92 : 5510—5514.

Wong C. C., Gilkes D. M., Zhang H., Chen J., Wei H., Chaturvedi P., Fraley S. I., Wong C. M., Khoo U. S., Ng I. O., Wirtz D., Semenza G. L. 2011. Hypoxia-inducible factor 1 is a master regulator of breast cancer metastatic niche formation. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*. 108 : 16 369—16 374.

Wong C. C., Zhang H., Gilkes D. M., Chen J., Wei H., Chaturvedi P., Hubbi M. E., Semenza G. L. 2012. Inhibitors of hypoxia-inducible factor 1 block breast cancer metastatic niche formation and lung metastasis. *J. Mol. Med. (Berlin)*. 90 : 803—815.

Wu D., Potluri N., Lu J., Kim Y., Rastinejad F. 2015. Structural integration in hypoxia-inducible factors. *Nature*. 524 : 303—308.

Wu X., Bayle J. H., Olson D., Levine A. J. 1993. The p53-mdm-2 autoregulatory feedback loop. *Genes Develop*. 7 : 1126—1132.

Xiong G., Deng L., Zhu J., Rychahou P. G., Xu R. 2014. Prolyl-4-hydroxylase alpha subunit 2 promotes breast cancer progression and metastasis by regulating collagen deposition. *BMC Cancer*. 14 : 1. Doi: 10.1186/1471-2407-14-1.

Yang A., Schweitzer R., Sun D., Kaghad M., Walker N., Bronson R. T., Tabin C., Sharpe A., Caput D., Crum C., McKeon F.

1999. p63 is essential for regenerative proliferation in limb, craniofacial and epithelial development. *Nature*. 398 : 714—718.

Yang A., Walker N., Bronson R., Kaghad M., Oosterwegel M., Bonnin J., Vagner C., Bonnet H., Dikkes P., Sharpe A., McKeon F., Caput D. 2000. p73-deficient mice have neurological, pheromonal and inflammatory defects but lack spontaneous tumours. *Nature*. 404 : 99—103.

Yoo Y. G., Yeo M. G., Kim D. K., Park H., Lee M. O. 2004. Novel function of orphan nuclear receptor Nur77 in stabilizing hypoxia-inducible factor-1alpha. *J. Biol. Chem.* 279 : 53 365—53 373.

Yoshida N., Granger D. N., Anderson D. C., Rothlein R., Lane C., Kvietys P. R. 1992. Anoxia/reoxygenation-induced neutrophil adherence to cultured endothelial cells. *Amer. J. Physiol.* 262 : H1891—H1898.

2007. Discovery of endothelial to mesenchymal transition as a source for carcinoma-associated fibroblasts. *Cancer Res.* 67 : 10 123—10 128.

Zeisberg E. M., Potenta S., Xie L., Zeisberg M., Kalluri R. 2007. Discovery of endothelial to mesenchymal transition as a source for carcinoma-associated fibroblasts. *Cancer Res.* 67 : 10 123—10 128.

Zhu G. G., Risteli L., Makinen M., Risteli J., Kauppila A., Stenback F. 1995. Immunohistochemical study of type I collagen and type I pN-collagen in benign and malignant ovarian neoplasms. *Cancer.* 75 : 1010—1017.

Поступила 16 I 2017

TUMOR MICROENVIRONMENT REGULATION BY HYPOXIA-INDUCIBLE FACTORS (HIFs), AND p53 FAMILY PROTEINS

V. S. Petrova,^{1,2} N. A. Barlev¹, *

¹ Institute of Cytology RAS, St. Petersburg, 194064,
and ² MRC Toxicology Unit, Leicester, The United Kingdom of Great Britain and Northern Ireland, LE1 7HB;
* e-mail: nick.a.barlev@gmail.com

Except affecting cancer cells, hypoxia and HIF-dependant signaling lead to changes in tumor microenvironment, which plays an important role in cancer progression. Tumor microenvironment modification can influence the immune response, tumor growth and metastases. On the other hand it is well known that more than half cases of all cancers are characterized by mutation in the gene encoding tumor suppressor p53. Inactivation of p53 is necessary for cancer progression on the late stages. Therefore an existence of reciprocal regulation between HIF proteins family and p53 proteins family may be an important factor determining course of disease. In this review we attempt to make a general picture of changes that take place in different components of tumor microenvironment in response to hypoxia and HIFs and impact of the p53 family genes on these processes.

Key words: cancer, HIF, hypoxia, p53, p63, p73, TME.