

综述与编译

缺氧诱导因子-1 调控转录及相关转录抑制剂的研究进展

严虹综述 王斌,肖继皋审校

(南京医科大学药理学与神经生物学系,江苏南京 210029)

摘要:细胞低氧适应性反应可通过转录调节蛋白——缺氧诱导因子-1(HIF-1)和 p300/CBP 辅激动因子对低氧应答基因的转录激活介导。HIF-1 是药理学上重要的靶点,设计以 HIF-1 α /p300 复合物为靶点的小分子转录抑制剂,可用于心脑血管疾病或肿瘤的治疗。本文就 HIF-1 α 与 p300 的相互作用,以及氧依赖的特殊氨基酸羟化对 HIF-1 α 蛋白稳定性和转录激活调控的研究进展作一综述。

关键词:缺氧诱导因子-1 α ; p300/CBP; 转录调控; 羟化作用; 转录抑制剂

中图分类号: R972; R979.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-0971(2004)04-0193-05

低氧是许多疾病状态如脑卒中、心肌梗死和肿瘤等病理生理学改变的主要原因。缺氧引发一系列信号传递过程,包括 cAMP, cGMP, Ca²⁺, NO 和 CO 等信使分子的参与,以及缺氧诱导因子-1(hypoxia inducible factor 1, HIF-1)的激活,使机体产生缺氧适应性反应。HIF-1 α 蛋白是直接感受缺氧的感受器。低氧、二价钴离子和铁螯合剂都可以诱导 HIF-1 的活性。HIF-1 通过调控促红细胞生成素(EPO)、血管内皮生长因子(VEGF)、诱生型一氧化氮合酶(inducible nitric oxide synthase, iNOS)及血红素加氧酶(heme oxygenase, HO)等下游基因转录而发挥重要作用。HIF-1 稳定性与希-林病(von Hippel-Lindau's disease, VHL)基因产物蛋白(pVHL)有关,而其转录调控活性是通过与 p300/CBP 的相互作用介导的,此过程都受到氧依赖的特殊氨基酸的羟化调节。HIF-1 是药理学上重要的靶点,设计 HIF-1 α /p300 复合物为靶点的小分子转录抑制剂,可用于心脑血管疾病或肿瘤的治疗。

1 HIF-1 α 和 p300 的分子生物学特性

1.1 HIF-1 α

HIF-1 是由 HIF-1 α 和 HIF-1 β 两个亚基组成的异二聚体转录因子,两者都属于碱性螺旋-环-螺旋(basic helix-loop-helix, bHLH)/Per-芳烃受体核转运蛋白(aryl hydrocarbon receptor nuclear translocator, ARNT)-Sim(PAS)转录因子家族成员。HIF-1 α 是 HIF-1 所特

有的,HIF-1 β 与 ARNT 同源^[1]。HIF-1 是氧感受和缺氧信号转导通路中的一个关键成分,在缺氧适应性应答中,HIF-1 发挥了重要的转录调节功能。

HIF-1 α 氨基末端有 bHLH 和 PAS 同源区,是 HIF-1 α 与其靶基因上特异 DNA 的结合区,HIF-1 α 中部是氧依赖降解区(oxygen-dependent degradation domain, ODD)。ODD 有 3 个独立的调控元件,分别是氨基酸残基 401~496,497~529 和 531~601。ODD 羧基端有两个 PEST 样序列,富含 Pro, Glu, Ser 和 Thr 残基,分别位于氨基酸残基 499~518 和 531~601,与胞内 HIF-1 快速降解密切相关。HIF-1 α 羧基端有两个相对独立的反式激活域(transactivation domain, TAD)分别称为位于氨基酸残基 537~575 N 端反式激活域(N-terminal transactivation domain, NTAD)及位于氨基酸残基 786~826 的 C 端反式激活域(C-terminal transactivation domain, CTAD)。CTAD 和 NTAD 之间(氨基酸残基 576~785)有一个抑制结构域(inhibitory domain, ID),抑制常氧下 HIF-1 α 的转录激活(图 1)^[2]。功能分析显示,经缺氧处理后,NTAD 和 CTAD 的活性均可以增强,但由于 NTAD 和 ODD 有重叠,其转录活性的增强很大程度上归因于 HIF-1 α 蛋白的稳定性增加。CTAD 转录活性的增加不会改变 HIF-1 α 的蛋白水平,但低氧可以使 ID 的抑制作用减弱,促使转录辅激动因子 p300 聚集到 CTAD,从而激活靶基因的转录^[3]。CTAD 包括 4 部分结构:1 个 N 端扩展区、2 个螺旋和 1 个螺旋中间环^[4]。Freedman 等^[4,5]通过哺乳动物双杂交转录实验和多维核磁共振等方法,最终确定 HIF-1 α CTAD 上的氨

收稿日期:2003-12-01

基金项目:国家自然科学基金青年基金项目(30000207)、江苏省教育厅重点项目(KJB310001)和江苏省高校高新技术产业化项目(JH01-050)

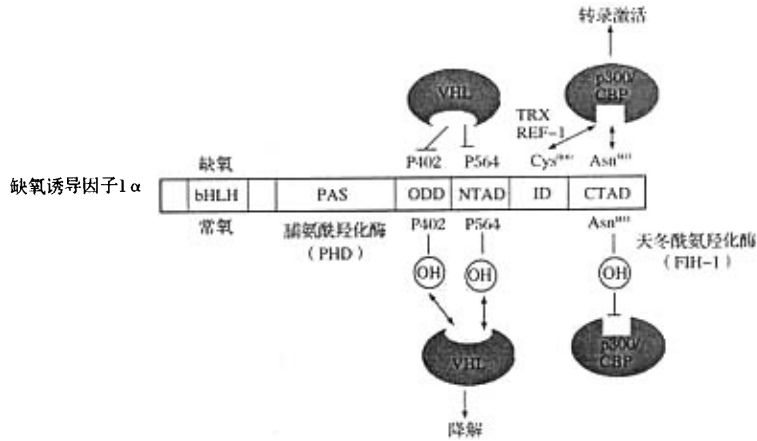


图1 特殊氨基酸羟化对 HIF-1α 蛋白稳定性及转录激活的调控

bHLH:碱性螺旋-环-螺旋;PAS:Per-芳烃受体核转运蛋白(ARNT)-Sim;ODD:氧依赖降解区;NTAD:N 端反式激活域;ID:抑制结构域;CTAD:C 端反式激活域;VHL:希-林病肿瘤抑制基因;TRX:硫氧还蛋白;REF-1:氧化还原因子1;CBP:cAMP 反应元件结合蛋白的结合蛋白

氨基酸残基 792 ~ 824 与 p300 上的氨基酸残基 321 ~ 418 形成了 HIF-1α/p300 低氧诱导复合物。

1.2 p300

p300 是一个含有多蛋白结合域的大分子。CBP 是 cAMP 反应元件结合蛋白(cAMP-responsive element-binding protein, CREB)的结合蛋白,是与 p300 高度同源的转录辅助因子。p300 包括核激素受体结合域(Nu)、三个半胱氨酸/组氨酸富集区(cysteine/histidine-rich, CH1, CH2 和 CH3)、CREB 结合域(KIX)、溴结构域(bromodomain, Br)、组蛋白乙酰转移酶结构域(histone acetyltransferase domain, HAT)、谷氨酰胺富集区(glutamine-rich domain, Q)及 IRF-3 结合

域(图 2)。位于氨基酸残基 346 ~ 410 处的 CH1 与 HIF-1α 结合,而 p300 的其他结构域与 TATA 结合蛋白(TBP)及转录因子(TF) II B 相互作用。CH1 和 CH3 是 p300/CBP 同源 Zn²⁺-结合域,CH2 也结合 Zn²⁺,但在结构上与 CH1 和 CH3 不同。CH1 由四个 α 螺旋折叠形成一个三角形结构、三个 Zn²⁺ 和由四个螺旋形成的单个疏水核,稳定了该三角形结构。CH1 作为 HIF-1α CTAD 折叠的支架,通过疏水极性相互作用使 HIF-1α/p300 复合物稳定^[4]。HIF-1α 的活化可诱导 p300 入核,并与 HIF-1β 结合。Zhu 等^[6]用酵母双杂交系统证明 HIF-1β 和 p300 也有特异性结合。



图2 p300/CBP 的结构示意图

Nu:核激素受体结合域;CH1,CH2 和 CH3:半胱氨酸/组氨酸富集区;KIX:cAMP 反应元件结合蛋白结合域;Br:溴结构域;HAT:组蛋白乙酰转移酶结构域;Q:谷氨酰胺富集区;IRF:IRF-3-结合域

1.3 HIF-1α/p300 复合物

仅有 HIF-1 结合位点的报道基因不能进行缺氧诱导,在靶基因上必须有一系列相互作用的转录因子的组合。Huang 等^[7]证实了 Hep3B 细胞的 HIF-1α 的 C 端与 p300 特异性结合。p300/CBP 起转录衔接

子作用,将信号传递给启动子,保证高水平转录。

p300/CBP 的转录调节有多种机制:(1)作为蛋白桥可以把不同的特异序列转录因子连接到转录元件上;(2)提供构建一个多组分转录调节复合物的蛋白支架。p300/CBP 另一个重要特性是有乙酰转移

酶(HAT)活性,通过调节核小体组蛋白而影响染色质活性。因此,HIF-1 α /p300复合物的形成也可能进一步通过影响染色质结构而调节基因表达。

2 HIF-1 α 和 p300相互作用的分子机制

HIF-1 α 和 p300之间的相互作用是通过 HIF-1 α CTAD 结合到 p300 的 CH1 上,即通过 CTAD 上 Cys⁸⁰⁰ 与 p300 CH1 形成二硫键以转录激活 HIF-1 α CTAD。这种相互作用是基于 Cys⁸⁰⁰ 的还原型(疏水性)巯基(-SH)和氧化型(亲水性)-SH 调节的 Leu 富集界面^[5]。随机诱变筛选鉴定 CTAD 中 4 个残基(Leu⁷⁹⁵, Cys⁸⁰⁰, Leu⁸¹⁸, Leu⁸²²)和 p300 中 4 个残基(Leu³⁴⁴, Leu³⁴⁵, Cys³⁸⁸, Cys³⁹³),发现它们对于相互作用很关键。CTAD 必须有疏水 Leu 才能与 CH1 结合,用亲水残基或其他疏水残基替代则使 CTAD 转录活性消失或削弱。如用 Val 和 Ala 替换 Leu⁷⁹⁵ 和 Leu⁸²²,Val 的替代终止了 CTAD 的转录激活作用,而 Ala 的替代也使 CTAD 功能丧失。Val 替代 Leu⁸¹⁸ 则中等抑制 CTAD 转录活性^[5]。

缺氧导致的细胞氧化还原电位改变是调节 HIF-1 α 活性的一个重要因素。HIF-1 α 是氧化还原调节的直接靶蛋白,调节靶点是 Cys⁸⁰⁰。Cys⁸⁰⁰ 通过 -SH (疏水性)和 -SH (亲水性)基团的可逆转换来调节 HIF-1 α 结合 CH1。Cys⁸⁰⁰ 的氧化还原状态影响 HIF-1 α 与 p300/CBP 的相互作用,该作用由氧化还原因子 1 (redox factor 1, REF-1) 和硫氧还蛋白(thioredoxin, TRX) 正调节^[8]。Semenza^[9] 发现,REF-1 与 TRX 可调控 CTAD 的 Cys⁸⁰⁰ 的 -SH 保持还原态。减少 REF-1 可增强 HIF-1 上 CTAD 的转录活性。用亲水性氨基酸如 Ser, Thr, Asp 和 Asn 替代 Cys⁸⁰⁰, 则不能结合 CH1, 且 CTAD 转录活性消失。而用疏水性氨基酸如 Ala 和 Val 替代, 不仅保留了 CTAD 的功能, 而且 Val 的替代还可明显增加常氧下 CTAD 的转录活性。

HIF-1 α CTAD 和 p300 CH1 复合物有三个特性^[4,9]:(1)CTAD 和 CH1 结构域之间的相互作用很广泛。整个 CTAD 包埋在 CH1 中,其广泛的相互作用界面面积是一般蛋白-蛋白识别位点平均值的 2 倍多。HIF-1 α CTAD 4 个结构域都分别与 CH1 结构域之间通过特异性识别产生疏水性和(或)极性相互作用。(2)复合物中 CTAD 三级结构是通过特异性与 CH1 相互作用确定的。用 EDTA 预处理复合物后的多维核磁共振(HSQC)光谱记录显示,如果没有折叠好的 CH1 存在,CTAD 则不能形成有序的空间结

构。因此,p300 CH1 提供了诱导 HIF-1 α CTAD 正确折叠的支架,两个蛋白互相缠结形成了一个有共同疏水核的单个结构域,即单个半胱氨酸(Cys⁸⁰⁰)调节的富亮氨酸界面。(3)HIF-1 α 的 Asn⁸⁰³ 是 HIF-1/p300 复合物中心,对于 CTAD 结合 CH1 很重要。Asn⁸⁰³ 通过氧依赖的一种缺氧诱导因子天冬酰胺羟化酶抑制因子(asparaginyl hydroxylase factor-inhibiting hypoxia-inducibile factor, FIH-1)失活可致去羟化,该去羟化是 HIF-1 α 与 p300/CBP 结合的另一个重要条件。

3 转录激活调控

O₂ 作为羟化作用的限速步骤直接调控 HIF-1 α 的稳定性和转录激活活性。HIF-1 α 的稳定性和转录活性受脯氨酰和天冬氨酰羟化酶调节。HIF-1 α 表达严格受细胞氧浓度控制。一方面,细胞处于一定氧浓度时,减少羟化意味着细胞 HIF-1 α 水平增加^[2];另一方面,在蛋白-蛋白相互作用的调节中,羟化作用类似于其他翻译后修饰(如磷酸化)。CTAD 上残基的羟化可以调节 HIF-1 α 与 p300/CBP 的结合。

3.1 HIF-1 蛋白的稳定性

常氧下 HIF-1 α 通过泛素蛋白酶体(ubiquitin-proteasome)途径降解。pVHL 是一个多蛋白 E3 泛素连接酶复合物 VHL 的识别成分。HIF-1 α 的 ODD 是不稳定区,其降解是由 pVHL 结合 HIF-1 α 介导的。若去除全部 ODD,则 HIF-1 α 在常氧下稳定,并可自发地异二聚化、DNA 结合和转录激活^[10]。Bruick 等^[11] 证实只有 ODD 上 Pro⁴⁰² 和 NTAD 上 Pro⁵⁶⁴ 都发生羟化时,pVHL 才与 HIF-1 α 相结合。Pro⁴⁰² 和 Pro⁵⁶⁴ 被脯氨酰羟化酶(prolyl hydroxylase, PHD)羟化是结合 pVHL 所必需的。低氧环境下,PHD 不能羟化 HIF-1 α ,使 HIF-1 α 不能通过 pVHL 识别降解,从而在胞内聚集,发挥转录活性^[12]。因此,PHD 的羟化对 HIF-1 α 是负调节。

3.2 转录激活

蛋白稳定性调节只是低氧诱导 HIF-1 活性的一种方式,低氧信号的调控作用还表现为转录活性的增强。转录活性在常氧下的抑制是以 CTAD 区为靶点,低氧羟化 CTAD 上的 Asn⁸⁰³, 阻断这种转录活性,从而促进了 p300/CBP 聚集,CTAD 通过聚集转录联合激动复合物到靶基因发挥功能。

Lando 等^[13] 证实 HIF-1 α CTAD 上 Asn⁸⁰³ 仅在常氧下被一种氧依赖的 FIH-1 (又称缺氧诱导因子-1 抑制因子)羟化,该羟化阻断了 HIF-1 α 对 p300/CBP

的聚集。这种翻译后修饰提供了一种后备机制,使常氧下未被降解的 HIF-1 α 蛋白都被灭活,从而不能结合 CH1 发挥 CTAD 活性。低氧状态下,FIH-1 活性受到抑制,羟化被终止,FIH-1 脱离 HIF-1 α ,使 CTAD 可以聚集 p300/CBP,从而增强 CTAD 转录活性。

FIH-1 除了通过常氧下降低 p300 的聚集而降低 CTAD 转录活性之外,还可以与 pVHL 和 CTAD 相互作用,通过组蛋白脱乙酰酶 (histone deacetylase, HDAC) 的聚集在低氧下发挥转录抑制作用。FIH-1 与 pVHL 都可以和染色质修饰的 HDAC 相互作用,HDAC 在基因表达中起重要作用^[14]。低氧状态下,由于一些因子如 HDAC 或 VHL 的募集,与 p300 直接竞争性地结合 CTAD,CTAD 不能羟化,也就不能通过羟化调节 FIH-1 的抑制作用,因此,FIH-1 仍可抑制 CTAD 活性。

p300 CH1 和 NTAD 的相互作用对于 HIF-1 靶基因的转录激活也很重要,FIH-1 羟化 Asn⁸⁰³ 可以阻断这种相互作用^[12,15]。pVHL 对抑制转录激活的 HAT 也有聚集作用。NTAD 可通过 FIH-1 结合到 pVHL 和 HIF-1 α 上,抑制 HAT 的聚集。

与 PHD 总体调节相比,FIH-1 是更精细的调节。HIF-1 α 羟化后可以结合 pVHL,通过蛋白酶体降解。FIH-1 可羟化 Asn 侧链酰胺氮以形成羟氨酸。与其他天冬酰羟化酶 (asparaginyl hydroxylase) 对 Asn 和 Asp 残基的羟化均不同,FIH-1 更倾向于羟化 CTAD 的 Asn^[14]。若 CTAD 区的 Asn 被 Asp 替代时,FIH-1 对 Asp 残基的羟化活性仅为它对 Asn 的 7%^[15]。

羟化 Pro 和羟化 Asn 都是通过调节蛋白-蛋白相互作用来调控 HIF-1 α 活性的,羟化 Pro 提供 pVHL 结合位点,而羟化 Asn 则阻止 p300/CBP 的聚集^[8]。ODD 和 CTAD 的调节都是氧和铁依赖性的。常氧下 HIF-1 α 降解还必须必须有 Fe²⁺/Fe³⁺ 的存在,在 HIF-1 α 蛋白稳定性和转录激活能力调节中,低氧和铁螯合剂可阻断 Pro 和 Asn 残基的羟化,在 p300 和 CTAD 结合的调节中起作用。FIH-1 必须结合 HIF-1 α 上一个远离关键 Asn 残基的区 (FIH-1 结合区) 才能有效羟化。当 FIH-1 结合区被移去时,羟化酶抑制剂或铁拮抗剂不能增强 HIF-1 α 与 p300 结合。

4 转录抑制剂

氧内环境稳定在局部缺血和肿瘤的病理生理中起重要作用。研究 HIF-1 的稳定性和转录活性,对增强氧输送和抑制肿瘤进程很有意义。病理状态

下,HIF-1 活化有正性或负性作用。一方面,HIF-1 可促使心脑血管缺血后血管重建,诱导 HIF 活性可预防高度动脉粥样硬化病人的缺血或梗死形成^[4]。NO 结合到 PHD 和 FIH-1 的催化核心可能会阻断酶活性,因此,NO 对 HIF-1 活性的正性调节可用于设计选择性作用于 PHD 和 FIH-1 的药理学抑制剂^[15]。另一方面,在癌症的低氧环境中,HIF-1 促进血管生成和新陈代谢,有利于肿瘤生存、增殖、侵入和转移,因此,阻断 HIF-1 α 或 HIF-1 α 相关蛋白的活性可以抑制肿瘤发展^[16]。针对肿瘤细胞在低氧状态下激活,可采用选择性破坏对低氧的正常转录应答的特异性药物而达到目的。Halterman 等^[17]认为,持续缺氧时,稳定的 HIF-1 α 复合物使细胞内 p53 水平增加,促进相关病理基因表达,从而导致神经毒性。Carmeliet 等^[18]证明,细胞缺氧时 HIF-1 α 对 p53 的调节是通过抑制蛋白的降解,提高 p53 蛋白的稳定性而达到的。在许多癌组织的病变早期就发现 HIF-1 α 表达的增加,如在乳腺癌的浸润前,早期原位导管癌组织中检测到 HIF-1 α 的过表达。在大多数实体瘤的癌组织中检测到 HIF-1 的表达,如脑、膀胱、乳腺、结肠、卵巢、胰腺、肾脏、前列腺等,而这些癌组织的周边正常组织中则没有发现 HIF-1 的表达。同样,在良性肿瘤如乳腺纤维性瘤及子宫平滑肌瘤中也未见 HIF-1 的表达^[19]。提示 HIF-1 在临床可以用于指导判断肿瘤的良好恶性程度、分级、术后预后和生存率。而 HIF-1 活性的天然拮抗剂如 p53srj,可以通过拮抗 HIF-1 α 的活性而抑制肿瘤的生长^[20]。

p300 具有 HAT 活性,HAT 对于基因转录的染色质重构是必需的,胞核过乙酰化与基因表达活化相关。因此,HIF-1/p300 复合物的形成可能进一步通过影响染色质结构而调节基因表达。p300 可以乙酰化 p53,通过改变其抑制调节结构域的构象,从而提高 p53 的 DNA 结合力。人类疾病特别是肿瘤中 p300/CBP 活性不受控制,肿瘤可以灭活 p300/CBP 的肿瘤抑制因子活性^[21]。

HIF-1 是药理学上重要的靶点,特异性阻断 HIF-1 α 和 p300 的相互作用,从而阻断或终止 HIF-1 α 转录激活,可降低氧诱导基因表达从而干扰肿瘤生长^[9,21]。CTAD 肽的表达可阻断 HIF-1 α 和 p300 之间的相互作用,抑制裸鼠中肿瘤异种移植植物生长^[9]。Asn⁸⁰³羟化能够破坏 p300/CBP 和 HIF-1 α CTAD 之间的相互作用,Asn⁸⁰³羟化可以看作 CTAD 功能的一个开关,如 Asn⁸⁰³突变成 Ala,完全终止了氧依赖对

CTAD 功能和与 p300 相互作用的负调节^[22]。这种重要的功能性分子开关可作为靶点。以 CTAD 上 Asn⁸⁰³ 的 α -螺旋为靶基因的小分子抑制剂可特异抑制 p300/CBP 和 HIF-1 α CTAD 的相互作用^[9]。癌症病人的 HIF-1 α 过表达与死亡率相关,该抑制性小分子可能对癌症病人有疗效。研究证实,HIF-1 α /p300 复合物的肽抑制剂可抑制体内肿瘤生长,以该复合物为靶点的小分子转录调节剂将很有前景^[9]。

HIF-1 稳定性和转录调控活性都受到氧依赖的特殊氨基酸的羟化调节,以 HIF-1 α 上 Pro、Asn⁸⁰³ 羟化、HIF-1 α /p300 复合物、pVHL 或以 PHD 和 FIH-1 作为靶点,设计选择性基因转录抑制剂或促进剂,用于心脑血管疾病或肿瘤的治疗将是可行的方法之一。

参考文献

- [1] Welsh SJ, Powis G. Hypoxia inducible factor as a cancer drug target[J]. *Curr Cancer Drug Targets*, 2003, 3(6): 391 - 405.
- [2] Ruas JL, Poellinger L, Pereira T. Functional analysis of hypoxia-inducible factor-1 α -mediated transactivation. Identification of amino acid residues critical for transcriptional activation and/or interaction with CREB-binding protein[J]. *J Biol Chem*, 2002, 277(41):38723 - 38730.
- [3] Kallio PJ, Okamoto K, O'Brien S. Signal transduction in hypoxic cells: inducible nuclear translocation and recruitment of the CBP/p300 coactivator by the hypoxia-inducible factor-1 α [J]. *EMBO J*, 1998, 17(22):6573 - 6586.
- [4] Freedman SJ, Sun ZY, Poy F, et al. Structural basis for recruitment of CBP/p300 by hypoxia-inducible factor-1 α [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2002, 99(8):5367 - 5372.
- [5] Gu J, Milligan J, Huang LE. Molecular mechanism of hypoxia-inducible factor 1 α -p300 interaction. A leucine-rich interface regulated by a single cysteine[J]. *J Biol Chem*, 2001, 276(5):3550 - 3554.
- [6] Zhu H, Jackson T, Bunn HF. Detecting and responding to hypoxia[J]. *Nephrol Dial Transplant*, 2002, 17(Suppl 1): 3 - 7.
- [7] Huang LE, Ho V, Arany Z, et al. Erythropoietin gene regulation depends on heme-dependent oxygen sensing and assembly of interacting transcription factors[J]. *Kidney Int*, 1997, 51(2):548 - 552.
- [8] Semenza GL. HIF-1 and mechanisms of hypoxia sensing [J]. *Curr Opin Cell Biol*, 2001, 13(2):167 - 171.
- [9] Semenza GL. Physiology meets biophysics: visualizing the interaction of hypoxia-inducible factor 1 α with p300 and CBP [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2002, 99(18):11570 - 11572.
- [10] Huang LE, Pete EA, Schau M, et al. Leu-574 of HIF-1 α is essential for the von Hippel-Lindau (VHL)-mediated degradation pathway[J]. *J Biol Chem*, 2002, 277(44): 41750 - 41755.
- [11] Bruick RK, McKnight SL. A conserved family of prolyl-4-hydroxylases that modify HIF [J]. *Science*, 2001, 294(5545):1337 - 1340.
- [12] Safran M, Kaelin WG Jr. HIF hydroxylation and the mammalian oxygen-sensing pathway[J]. *J Clin Invest*, 2003, 111(6):779 - 783.
- [13] Lando D, Peet DJ, Whelan DA, et al. Asparagine hydroxylation of the HIF transactivation domain a hypoxic switch [J]. *Science*, 2002, 295(5556):858 - 861.
- [14] Hewitson KS, McNeill LA, Riordan MV, et al. Hypoxia-inducible factor (HIF) asparagine hydroxylase is identical to factor inhibiting HIF (FIH) and is related to the cupin structural family [J]. *J Biol Chem*, 2002, 277(29): 26351 - 26355.
- [15] Lando D, Gorman JJ, Whitelaw ML, et al. Oxygen-dependent regulation of hypoxia-inducible factors by prolyl and asparaginyl hydroxylation [J]. *Eur J Biochem*, 2003, 270(5):781 - 790.
- [16] Semenza GL. Targeting HIF-1 for cancer therapy[J]. *Nat Rev Cancer*, 2003, 3(10):721 - 732.
- [17] Halterman MW, Miller CC. Hypoxia-inducible factor-1 α mediates hypoxia-induced delayed neuronal death that involves p53[J]. *J Neurosci*, 1999, 19(16):6818 - 6824.
- [18] Carmeliet P, Dor Y, Herbert JM, et al. Role of HIF-1 α in hypoxia-mediated apoptosis, cell proliferation and tumour angiogenesis[J]. *Nature*, 1998, 394(6692):485 - 490.
- [19] Talks KL, Turley H, Gatter KC, et al. The expression and distribution of the hypoxia-inducible factors HIF-1 α and HIF-2 α in normal human tissues, cancers, and tumor-associated macrophages [J]. *Am J Pathol*, 2000, 157(2): 411 - 421.
- [20] Sun X, Kanwar JR, Leung E, et al. Gene transfer of anti-sense hypoxia inducible factor-1 α enhances the therapeutic efficacy of cancer immunotherapy[J]. *Gene Ther*, 2001, 8(8):638 - 645.
- [21] Goodman RH, Smolik S. CBP/p300 in cell growth, transformation, and development [J]. *Genes Dev*, 2000, 14(13):1553 - 1577.
- [22] Dames SA, Martinez-Yamout M, De Guzman RN, et al. Structural basis for Hif-1 α /CBP recognition in the cellular hypoxic response[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2002, 99(8):5271 - 5276.