

HIF-1在卵巢黄体发育过程中对血管新生的调控作用

吴艳青¹ 张正红^{1,2} 罗倩萍¹ 陈丽云¹ 王正朝^{1*}

(¹福建师范大学生命科学学院, 福建省发育与神经生物学重点实验室, 福州 350007; ²扬州大学兽医学院, 江苏省转基因制药工程研究中心, 扬州 225009)

摘要 在哺乳动物中, 卵巢黄体(corpus luteum, CL)是由破裂排卵后的卵泡所形成的, 也是血管增生比较激烈的地方。尤其是在卵巢黄体早期发育阶段, 这种快速形成的致密毛细血管网可以确保产生激素的细胞获得氧气、营养和合成激素等所必要的前体, 同时释放大量的激素用于早期妊娠的建立和维持。目前的研究已经表明, 血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)作为重要的促血管生成因子, 在卵巢黄体发育过程中对血管增生具有至关重要的调节作用, 而VEGF作为转录因子HIF-1的下游靶基因, 受缺氧诱导因子HIF-1信号通路的调控。该文一方面对卵巢黄体发育过程中VEGF依赖性血管增生的调控机制进行概述, 另一方面就转录因子HIF-1对VEGF的转录激活调控机制进行系统阐述, 从而揭示HIF-1对卵巢黄体发育过程中VEGF依赖性血管新生的调控作用, 为进一步研究哺乳动物卵巢黄体发育过程中血管增生的分子调控机制提供坚实的理论基础。

关键词 缺氧诱导因子; 血管内皮生长因子; 血管增生; 黄体

在哺乳动物卵巢中, 黄体(corpus luteum, CL)是一种暂时性的分泌器官, 在雌性生殖周期调控过程中起着重要的作用, 是由破裂排卵后的卵泡所形成^[1-3]; 同时也是血管增生比较激烈的地方^[1-2]。早期黄体快速形成致密的毛细血管网可以确保产生激素的细胞获得氧气、营养和合成激素所必要的前体, 同时释放大量的激素用于早期妊娠的建立和维持^[1]。由此可见, 早期黄体的血管增生在黄体形成和发育中具有非常重要的作用^[1-3]。目前, 大量的研究已经表明血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)在CL形成与发育中起主要作用, 如在体内特异性黄体阶段利用VEGF拮抗剂阻断其作用, 结果发现黄体血管形成及黄体的功能均被显著抑制^[2,4]。虽然有关CL血管增生的分子与细胞方面的研究已经取得了相当大的进展, 但其调控机制目前仍然还不清楚。因此, 有关调控卵巢黄体发育过程中VEGF依赖性血管增生的机制研究将有助于我们进一步理解黄体功能不全的现象, 揭示操纵黄体功能的临床意义。

最近的研究发现, 缺氧诱导因子-1(hypoxia inducible factor, HIF-1)作为转录因子在卵巢细胞中特异性表达, 表明其可能直接参与哺乳动物卵巢生理功能的调节^[5-7]; 我们的研究也发现转录因子HIF-1参

与哺乳动物卵巢黄体细胞中VEGF的转录激活及其表达调控^[2-3,8-9]。因此, 本文是在我们前期研究的基础上, 系统阐述了HIF-1-VEGF信号通路在卵巢黄体发育过程中对血管增生的可能作用, 旨在进一步揭示早期黄体VEGF依赖性血管增生的分子调控机制, 为进一步研究哺乳动物卵巢黄体发育过程中血管增生的分子调控机制提供坚实的理论基础。

1 卵巢黄体发育过程中的血管新生

血管新生(angiogenesis)是指在机体生长发育过程中或创伤修复、缺血、缺氧和炎症等情况下, 原有微血管内皮细胞(endothelial cell, EC)经过出芽、迁移、增殖与基质重塑等最终形成新毛细血管的过程^[1-2,10]。在正常生理条件下, 血管增生主要是出现于卵巢、子宫、胎盘等处, 且呈周期性变化, 这与生殖功能的调节密切相关^[1-2]。在排卵前, 始基卵泡及原始卵泡主要依靠间质血管供血, 并没有血管网存在。原始卵

收稿日期: 2012-06-16 接受日期: 2012-07-16

国家自然科学基金(No.31101032)、教育部博士点基金(No.20113503120002)、福建省自然科学基金(No.2011J01144)、福建省高层次人才引进项目(No.2010MIN114)、国家级生物学实验教学示范中心创新项目(No.2011LS017)和福建省教育厅杰出青年基金(No.AJ11041)资助项目

*通讯作者。Tel/Fax: 0591-22868203, E-mail: zcwang@fjnu.edu.cn

泡开始发育后,微血管出现在卵泡膜层,而且随着卵泡由原始卵泡发育为窦前卵泡及由窦前卵泡进一步发育为窦状卵泡的过程,微血管的密度也同步增加,对于卵泡发育具有重要作用^[1,5]。在卵泡发育过程中,血管生成持续进行,最终形成巨大的微血管网,但是都仅限于分布在卵泡膜层,并未突破基膜进入颗粒细胞层^[1-3]。排卵后,即黄体发育早期,血管增生最为明显^[1]。随着卵泡液的流出,卵泡壁塌陷,由于颗粒细胞层和卵泡内膜细胞之间的去聚合作用,内皮细胞合成分泌的蛋白酶降解基膜,基膜消失,血液流入卵泡腔中,形成早期黄体,随后原卵泡膜中的血管内皮细胞开始以出芽的形式迁移进黄体化的颗粒细胞区域,紧接着就进行剧烈的血管生成,即内皮细胞增殖、相互黏附并连接,而后形成管腔样结构,随着基质重塑和平滑肌细胞的包绕及血管的相互吻合形成血管网,最终扩散到整个黄体组织,为黄体的发育提供必需的营养物质及激素^[1-3,5]。由此可见,血管增生可以为组织提供营养物质和运输代谢产物,同时也可以将内分泌系统分泌的激素及调节因子等物质运输到靶器官,从而调节靶器官的生理活性,如雌激素和促卵泡激素等激素、营养物质都是卵巢发育所必需的,对维持卵巢生殖功能具有非常重要的生理调节作用^[1]。成熟黄体的血供占卵巢血流供应的绝大部分,若黄体血管化不足可导致黄体功能不足,而黄体退化时卵巢供血明显减少^[1,4]。目前的研究已经表明,黄体血管增生受到多种促血管生成因子的调控,其中VEGF是一种主要的调控因子,对黄体血管增生具有重要的调控作用^[3,11]。

2 VEGF在黄体血管增生中的作用

VEGF是由Ferrara^[11]和Rankin等^[12]在牛脑垂体滤泡星状细胞体外培养液中首先纯化出来的一种高效多功能肽。VEGF作为血管内皮细胞特异性有丝分裂原,以旁分泌、自分泌和胞内分泌等形式特异性地作用于血管内皮细胞,使之增殖、迁移、形成管腔,从而促进血管生成,也可增强毛细血管的通透性,因此,VEGF是一种极强的血管增生促进剂^[10-11,13]。最早发现的VEGF是VEGF-A,是CL中最重要的,这个家族的其他成员也具有某些特异性作用^[1]。在绝大多数动物(如小鼠和人类)的黄体化颗粒细胞中都可以检测到VEGF mRNA,而且在颗粒细胞黄体化过程中,VEGF的表达量显著增加^[14-15]。在研究黄体功

能抑制过程中发现VEGF mRNA水平下降,如利用Northern blot分析发现,人CL从中期到后期黄体阶段VEGF表达量下降^[14];猕猴CL的RT-PCR分析也发现,在早期到中期黄体阶段VEGF表达量增加两倍,紧接着从中期到晚期其表达量则显著下降^[16]。这些结果进一步表明VEGF在黄体发育及其形成过程中黄体化颗粒细胞层的生理性血管生成中起重要作用^[1-3]。在黄体期抑制VEGF将阻止黄体血管生成及随后的孕酮分泌^[4,17],而在多卵泡血管化过程中过度表达的VEGF被认为可以引起卵巢过刺激综合征(ovarian hyperstimulation syndrome, OHSS)^[8-9,13,18]。因此,卵巢黄体发育过程中VEGF表达的分子调控机制显得越来越重要。

3 HIF-1对黄体中VEGF依赖性血管新生的调控

在哺乳动物中,卵巢黄体血管增生受到多种因子的调控,其中VEGF是最主要的一种功能调控因子。但其具体的分子调控机制尚不是很清楚,直到最近有关卵巢中HIF-1及其生理功能的研究^[5-9,19-25],为进一步研究黄体早期发育及其功能维持过程中有关血管新生的调控机制提供了重要的研究方向。

3.1 缺氧对黄体中HIF-1和VEGF表达的影响

最近Nishimura等^[5]的研究表明,在黄体发育中缺氧对建立血管系统是非常重要的;而VEGF也是成熟黄体血管维持与功能发挥所必需的^[1-3,17]。事实上,已经有报道指出,在黄体细胞原代培养中除了促性腺激素外,缺氧也是VEGF分泌的主要调控因子^[8-9]。在缺氧调控VEGF的地方,特异性的转录因子,尤其是HIF-1 α 就会上调^[1,5]。尽管在这些卵巢细胞中VEGF表达升高的分子机制还不清楚,但在卵巢黄体形成和发育过程中转录因子HIF-1 α 与VEGF的转录调控有关,从而参与VEGF依赖性血管增生的调节,这一点已经通过体外细胞培养实验已经得到了初步的证实^[8-9]。

3.2 HIF-1对黄体细胞VEGF表达的调控

HIF是螺旋-环-螺旋转录因子,由HIF-1 α 和HIF-1 β 组成,其特征是许多氧敏感性基因,如促红细胞生成素、血红素加氧酶、转铁蛋白和一些糖分解酶的转录激活因子^[20,25-28]。HIF-1 α 是一种诱导蛋白,可以通过组织或细胞中氧含量的降低诱导其表达量的增加;而HIF-1 β 则不被诱导,但其能与HIF-1 α 结合形成

二聚体以激活许多启动子或增强子区域含有缺氧反应元件(hypoxia-response element, HRE)基因的转录^[20]。HIF-1 α 可以激活与无氧酵解和血管生成相关的多种基因表达,如p53、VEGF、COX-2、NOS、烯醇酶和葡萄糖转运体GLUT-3等^[1,17,20]。研究发现,胰岛素、胰岛素样生长因子(insulin-like growth factors, IGF)、转化生长因子- β (transforming growth factor- β , TGF- β)、血小板衍生因子(platelet derived growth factor, PDGF)等生长因子和白介素-1 α (interleukin-1 α , IL-1 α)、肿瘤坏死因子-1 α (TNF-1 α)等细胞因子也能通过不同的信号通路刺激HIF-1 α 的合成,甚至细菌内毒素脂多糖(LPS)和信使分子一氧化氮(NO)等^[4,15,20]。另外,环境刺激也可以激活磷脂酰肌醇-3激酶(phosphatidylinositol 3-kinases, PI3K)来增加HIF-1 α 的表达(图1)^[14,20]。由此可见,HIF-1 α 是一个重要的转录因子,位于许多信号转导途径的交叉点^[9,17,19-23,25]。

先前的染色质免疫沉淀反应(chromatin immunoprecipitation, ChIP)结果已经表明,雌激素(estrogen, E₂)能够诱导HIF-1(α 和 β)募集到VEGF基因上游的HRE区域,刺激雌激素受体(estrogen receptor, ER)募集到VEGF启动子最近端的GC富含区域,从而调控小鼠VEGF基因的转录活化^[6-7,29]。在绝大多数组织中,缺氧可以刺激VEGF的合成。由于排卵后的出血和不成熟的血管网,破裂后的卵泡被认为处于缺氧的条件下^[1-3,17]。而VEGF又被认为在卵巢正常和不正常的血管增生调节中具有非常重要的作用^[1-3],尤其是新形成的黄体^[3]。考虑到基因表达中缺氧诱导适应性的重要性,卵巢中低氧可能在哺乳动物黄体形成过程中对激活VEGF表达非常重要。Zhang等^[8]利用分离的黄体细胞通过药理学和分子生物学的干扰方法改变HIF-1 α 的表达水平/活性,从而研究其对VEGF mRNA表达的影响,第一次提供了直接的证据表明黄体细胞中VEGF表达是通过HIF-1 α 信号通路进行转录激活的。在哺乳动物卵巢黄体形成过程中,这种缺氧诱导的转录活化可能是调节VEGF表达增加的一个重要机制。

尽管缺氧是VEGF表达的一种有效刺激,但促性腺激素在卵泡生长和血管增生调节中同样具有非常重要的作用,因为在绒猴黄体阶段应用促性腺激素释放素类似物(gonadotropin-releasing hormone analogues, GnRH-a)拮抗剂处理将导致黄体功能退化及相关的血管退化^[30]。因此,在绒猴卵巢中VEGF

表达很可能也受促性腺激素的调控。事实上,在人类黄体化颗粒细胞中人绒毛膜促性腺激素(human chorionic gonadotrophin, hCG)也刺激VEGF合成^[1,17];另外,黄体OHSS的发生绝对取决于黄体生成素(luteinizing hormone, LH)/hCG刺激^[18];在完全形成的高度血管化黄体中,外源性hCG也上调VEGF的表达^[17]。由于HIF-1 α 在正常氧条件下能够调控VEGF mRNA表达,表明VEGF在缺氧和促性腺激素刺激条件下都受HIF-1 α 的调节。通过体外细胞培养也已经初步表明缺氧和促性腺激素hCG是通过不同的方式调控黄体细胞中HIF-1 α 的蛋白水平^[8-9]。这两种刺激因子在动物体内可能发生对话(crosstalk),共同调节HIF-1 α 及VEGF的表达,从而调控哺乳动物黄体中VEGF依赖性的血管新生。

3.3 黄体细胞HIF-1的表达调控

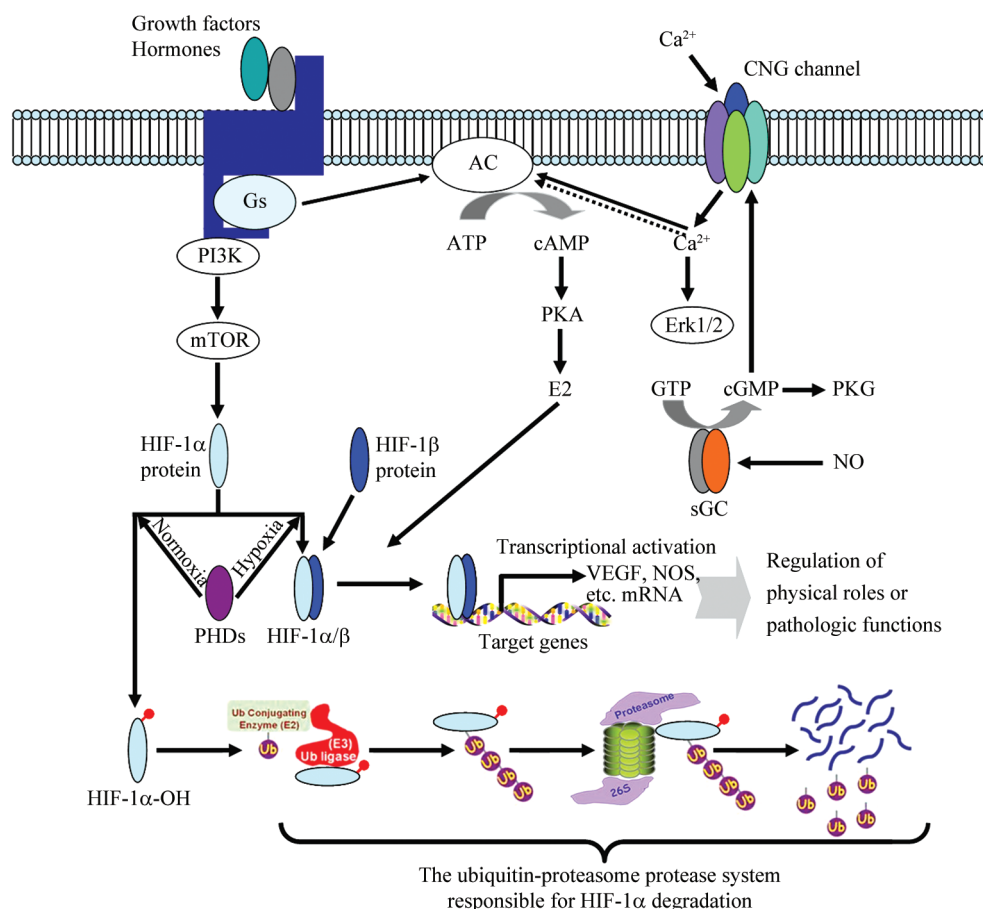
最近,一些研究已经表明HIF-1 α 表达/活化是通过主要的信号转导通路进行调节的,包括PI3K/mTOR(mammalian target of rapamycin, 哺乳动物雷帕霉素靶蛋白)和有丝分裂原激活蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)信号通路^[9,31-35]。Zhang等^[9]通过黄体细胞体外培养证明了hCG在正常氧和缺氧条件下对VEGF mRNA、HIF-1 α mRNA和蛋白表达作用,也应用了特异性抑制剂检验了黄体细胞中PI3K/mTOR及MAPK信号通路是否与hCG诱导的HIF-1 α 和VEGF表达有关。结果发现,hCG处理CL即使在正常氧条件下也可以显著增加VEGF mRNA的表达,表明hCG/LH可能参与黄体发育中VEGF依赖性血管生成的调节^[9,17],同时发现黄体细胞中PI3K/mTOR信号通路的活化对hCG诱导VEGF的表达起重要的调节作用^[9]。这种hCG诱导VEGF mRNA的增加可能在卵巢黄体形成过程中是调节VEGF的表达、参与VEGF依赖性血管新生的一个重要机制,这将有助于进一步理解hCG/LH如何上调转录因子HIF-1 α ,以及其靶基因如VEGF等在黄体发育过程中对血管新生所起的重要调控作用。

4 黄体细胞中HIF-1的动态平衡

近年来,对HIF-1的氧感受性和信号转导机制的研究取得了很大的发展,其中最为重要的就是发现了细胞内低氧感受器——缺氧诱导因子脯氨酰羟化酶(hypoxia-inducible factor prolyl-hydroxylases, PHDs)。我们先前的实验已经发现PHDs在卵巢黄

体中表达, 并且过表达PHDs蛋白可以抑制hCG诱导VEGF的表达^[36]。PHDs是脯氨酰羟化酶家族中的一个新成员, 也是第一个通过羟基化修饰转录因子, 调节其转录活性的羟化酶^[22-23,36-37]。在正常氧条件下, PHDs使HIF-1 α 中Pro402和/或P564羟基化, 使其可与肿瘤抑制基因蛋白(von Hippel Lindau, pVHL)结合, 并通过泛素-溶蛋白酶体途径迅速降解^[22-23], 具体过

程如图1所示。但在缺氧条件下, PHDs羟基化作用被抑制, 细胞内HIF-1 α 水平升高, 并进入细胞核内与HIF-1 β 结合, 形成具有活性的HIF-1异二聚体, 从而调节启动子/增强子部位含有HRE的靶基因转录^[22-23]。由此可见, PHDs作为调节HIF-1 α 平衡和活性的重要分子, 在HIF-1 α 信号通路中具有非常重要的作用, 在许多生理和病理过程中都具有重要的地位。



HIF-1 α 位于整个信号通路中非常重要的地位, 直接调节许多基因的表达, 进而调控许多生理和病理过程。Gs: 刺激腺苷酸环化酶的G蛋白; AC: 腺苷酸环化酶; PI3K: 磷酸肌醇3激酶; PKB: 蛋白激酶B(C-Akt); HIF-1: 缺氧诱导因子-1; PKA: 蛋白激酶A; E2: 雌激素; sGC: 可溶性鸟苷酸环化酶; cGMP: 环鸟嘌呤磷酸; PKG: 蛋白激酶G; CNG通道: 环核苷酸门控离子通道; PHDs: 缺氧诱导因子脯氨酰羟化酶。

HIF-1 α sits at a very important location in the whole signaling network, and directly regulates many target genes expression, which will control the physical and pathological functions. Gs: stimulating adenylate cyclase G protein; AC: adenylate cyclase; PI3K: phosphatidylinositol 3-kinase; PKB: protein kinase B(c-Akt); HIF-1: hypoxia-inducible factor-1; PKA: protein kinase A; E2: estrogen; sGC: soluble guanylyl cyclase; cGMP: cyclic guanine monophosphate; PKG: protein kinase G; CNG channel: cyclic nucleotide-gated ion channel; PHDs: HIF prolyl-hydroxylases.

图1 卵巢黄体发育过程中调控VEGF依赖性血管增生的主要HIF-1信号通路(根据参考文献[2-3,6-9,19-24]改编)

Fig.1 Main putative HIF-1 signaling pathway in VEGF-dependent angiogenesis during ovarian luteal development(modified from references [2-3,6-9,19-24])

5 总结与展望

黄体血管起源于卵泡的血管, 由于基膜的存在, 鞘膜层的血管不能进入颗粒细胞层。当成熟卵泡

破裂、排卵后, 卵泡液排出、卵泡壁塌陷皱缩、基膜缺失, 并伴随着广泛的组织重建。随着分化的颗粒细胞入侵, 随之而来的血管进入了颗粒细胞区域,

紧接着开始激烈的血管增生,最后新形成的微血管扩展到整个黄体组织中。因此,黄体是一个可用来研究血管增生的细胞和分子调控机制的理想模式系统^[1-3,17]。卵巢黄体发育早期,在缺氧和促性腺激素LH/hCG的共同作用下,HIF-1 α 作为上游的信号中心,通过下游VEGF信号通路调控黄体血管增生,从而促进卵巢黄体的形成与发育,并分泌大量的孕酮。因此,HIF-1 α 拮抗剂为开发新型的避孕措施与治疗一些卵巢功能障碍提供了新的机遇^[4,8],特别是在病理性血管增生与过度的血管渗透性为特征的卵巢疾病^[18,20],如多囊卵巢综合征(polycystic ovarian syndrome, PCOS)、OHSS和卵巢瘤等。考虑到黄体发育与形成过程中血管新生受到多种信号通路的调控,目前仍有许多问题亟待解决,如HIF-1信号通路在VEGF依赖性血管新生过程中与其他各种生长因子和激素所介导信号通路之间的复杂对话,以及其在黄体不同发育阶段的特异性生理功能的调节机制等。

参考文献 (References)

- Fraser HM, Wulff C. Angiogenesis in the corpus luteum. *Reprod Biol Endocrinol* 2003; 1: 88.
- 罗倩萍, 张正红, 黄晓红, 邱黎清, 张美娜, 成勇, 等. 影响家畜黄体早期发育过程中血管新生的因素分析. *畜牧与兽医* (Luo Qianping, Zhang Zhenghong, Huang Xiaohong, Qiu Liqing, Zhang Meina, Cheng Yong, *et al.* Analysis of regulatory factors for angiogenesis during early luteal development in live stocks. *Animal Husbandry and Veterinary Medicine*) 2011; 43(12): 97-9.
- 罗倩萍, 张正红, 陈佳洁, 黄晓红, 成勇, 王正朝. VEGF在家畜黄体早期发育过程中对血管生成的调控作用. *家畜生态学报* (Luo Qianping, Zhang Zhenghong, Chen Jiajie, Huang Xiaohong, Cheng Yong, Wang Zhengchao. Effect of vascular endothelial growth factor on regulation of angiogenesis during early luteal development in live stocks. *Acta Ecologiae Animalis Domastici*) 2011; 32(6): 21-5.
- Duncan WC, van den Driesche S, Fraser HM. Inhibition of vascular endothelial growth factor in the primate ovary up-regulates hypoxia-inducible factor-1 α in the follicle and corpus luteum. *Endocrinology* 2008; 149(7): 3313-20.
- Nishimura R, Okuda K. Hypoxia is important for establishing vascularization during corpus luteum formation in cattle. *J Reprod Dev* 2010; 56(1): 110-6.
- Kazi AA, Koos RD. Estrogen-induced activation of hypoxia-inducible factor-1 α , vascular endothelial growth factor expression, and edema in the uterus are mediated by the phosphatidylinositol 3-kinase/Akt pathway. *Endocrinology* 2007; 148(5): 2363-74.
- Kazi AA, Jones JM, Koos RD. Chromatin immunoprecipitation analysis of gene expression in the rat uterus *in vivo*: Estrogen-induced recruitment of both estrogen receptor α and hypoxia-inducible factor 1 to the vascular endothelial growth factor promoter. *Mol Endocrinol* 2005; 19(8): 2006-19.
- Zhang Z, Yin D, Wang Z. Contribution of hypoxia-inducible factor-1 α to transcriptional regulation of vascular endothelial growth factor in bovine developing luteal cells. *Anim Sci J* 2011; 82(2): 244-50.
- Zhang Z, Yu D, Yin D, Wang Z. Activation of PI3K/mTOR signaling pathway contributes to induction of vascular endothelial growth factor by hCG in bovine developing luteal cells. *Anim Reprod Sci* 2011; 125(1/2/3/4): 42-8.
- Li JY, Chen YC. Influence of PDGF-BB and PKG1 α on morphology and cytoskeleton of vascular smooth muscle cell. *Chinese J Cell Bio* 2010; 32(1): 97-102.
- Ferrara N. Vascular endothelial growth factor and the regulation of angiogenesis. *Recent Prog Horm Res* 2000; 55: 15-35.
- Rankin EB, Wu C, Khatri R, Wilson T, Andersen R, Araldi E, *et al.* The HIF signaling pathway in osteoblasts directly modulates erythropoiesis through the production of EPO. *Cell* 2012; 149(1): 63-74.
- Zhang Z, Neiva KG, Lingen MW, Ellis LM, Nor JE. VEGF-dependent tumor angiogenesis requires inverse and reciprocal regulation of VEGFR1 and VEGFR2. *Cell Death Differ* 2010; 17(3): 499-512.
- Endo T, Kitajima Y, Nishikawa A, Manase K, Shibuya M, Kudo R. Cyclic changes in expression of mRNA of vascular endothelial growth factor, its receptors Flt-1 and KDR/Flk-1, and Ets-1 in human corpora lutea. *Fertil Steril* 2001; 76(4): 762-8.
- Pauli S A, Tang H, Wang J, Bohlen P, Posser R, Hartman T, *et al.* The vascular endothelial growth factor (VEGF)/VEGF receptor 2 pathway is critical for blood vessel survival in corpora lutea of pregnancy in the rodent. *Endocrinology* 2005; 146(3): 1301-11.
- Hazzard TM, Christenson LK, Stouffer RL. Changes in expression of vascular endothelial growth factor and angiopoietin-1 and -2 in the macaque corpus luteum during the menstrual cycle. *Mol Hum Reprod* 2000; 6(11): 993-8.
- Wulff C, Dickson SE, Duncan WC, Fraser HM. Angiogenesis in the human corpus luteum: Simulated early pregnancy by HCG treatment is associated with both angiogenesis and vessel stabilization. *Hum Reprod* 2001; 16(12): 2515-24.
- Alper MM, Smith LP, Sills ES. Ovarian hyperstimulation syndrome: Current views on pathophysiology, risk factors, prevention, and management. *J Exp Clin Assist Reprod* 2009; 6: 3.
- Zhu Q, Wang Z, Xia M, Li P, Zhang F, Li N. Overexpression of HIF-1 α transgene in the renal medulla attenuated salt sensitive hypertension in Dahl S rats. *Biochim Biophys Acta* 2012; 1822(6): 936-41.
- 吴艳青, 陈丽云, 黄晓红, 王正朝. HIF-NOS信号通路对哺乳动物卵巢NO依赖性功能的调控作用. *中国生物化学与分子生物学报* (Wu Yanqing, Chen Liyun, Huang Xiaohong, Wang Zhengchao. Regulatory effects of HIF-NOS signaling pathway on NO-dependent functions in mammalian ovary, *Chinese Journal of Biochemistry and Molecular Biology*) 2012; 28(4): 297-303.
- Zhu Q, Wang Z, Xia M, Li PL, van Tassell BW, Abbate A, *et al.* Silencing of hypoxia-inducible factor-1 α gene attenuated angiotensin II-induced renal injury in Sprague-Dawley rats. *Hypertension* 2011; 58(4): 657-64.
- Wang Z, Zhu Q, Xia M, Li P, Hinton SJ, Li N. Hypoxia-inducible

- factor prolyl-hydroxylase 2 senses high-salt intake to increase hypoxia inducible factor 1 α levels in the renal medulla. *Hypertension* 2010; 55(5): 1129-36.
- 23 Wang Z, Tang L, Zhu Q, Yi F, Zhang F, Li P, *et al.* Hypoxia-inducible factor-1 α contributes to the profibrotic action of angiotensin II in renal medullary interstitial cells. *Kidney Int* 2011; 79(3): 300-10.
- 24 Wang Z, Chen Y, Li X, Xu L, Ma W, Chang L, *et al.* Expression of VEGF-C/VEGFR-3 in human laryngeal squamous cell carcinomas and its significance for lymphatic metastasis. *Asian Pac J Cancer Prev* 2012; 13(1): 27-31.
- 25 Semenza GL. Hypoxia-Inducible factors in physiology and medicine. *Cell* 2012; 148(3): 399-408.
- 26 Wang GL, Jiang BH, Rue EA, Semenza GL. Hypoxia-inducible factor 1 is a basic-helix-loop-helix-PAS heterodimer regulated by cellular O₂ tension. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995; 92(12): 5510-4.
- 27 Wang GL, Semenza GL. Desferrioxamine induces erythropoietin gene expression and hypoxia-inducible factor 1 DNA-binding activity: Implications for models of hypoxia signal transduction. *Blood* 1993; 82(12): 3610-5.
- 28 Wang GL, Semenza GL. General involvement of hypoxia-inducible factor 1 in transcriptional response to hypoxia. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993; 90(9): 4304-8.
- 29 Molitoris KH, Kazi AA, Koos RD. Inhibition of oxygen-induced hypoxia-inducible factor-1 α degradation unmasks estradiol induction of vascular endothelial growth factor expression in ECC-1 cancer cells *in vitro*. *Endocrinology* 2009; 150(12): 5405-14.
- 30 Young FM, Rodger FE, Illingworth PJ, Fraser HM. Cell proliferation and vascular morphology in the marmoset corpus luteum. *Hum Reprod* 2000; 15(3): 557-66.
- 31 Alam H, Weck J, Maizels E, Park Y, Lee EJ, Ashcroft M, *et al.* Role of the phosphatidylinositol-3-kinase and extracellular regulated kinase pathways in the induction of hypoxia-inducible factor (HIF)-1 activity and the HIF-1 target vascular endothelial growth factor in ovarian granulosa cells in response to follicle-stimulating hormone. *Endocrinology* 2009; 150(2): 915-28.
- 32 Khandrika L, Lieberman R, Koul S, Kumar B, Maroni P, Chandhoke R, *et al.* Hypoxia-associated p38 mitogen-activated protein kinase-mediated androgen receptor activation and increased HIF-1 α levels contribute to emergence of an aggressive phenotype in prostate cancer. *Oncogene* 2009; 28(9): 1248-60.
- 33 Miyazawa M, Yasuda M, Fujita M, Hirabayashi K, Hirasawa T, Kajiura H, *et al.* Granulosa cell tumor with activated mTOR-HIF-1 α -VEGF pathway. *J Obstet Gynaecol Res* 2010; 36(2): 448-53.
- 34 Wang Z, Castresana MR, Newman WH. Reactive oxygen species-sensitive p38 MAPK controls thrombin-induced migration of vascular smooth muscle cells. *J Mol Cell Cardiol* 2004; 36(1): 49-56.
- 35 Yaba A, Bianchi V, Borini A, Johnson J. A putative mitotic checkpoint dependent on mTOR function controls cell proliferation and survival in ovarian granulosa cells. *Reprod Sci* 2008; 15(2): 128-38.
- 36 Pang X, Wang Z, Yin D, Zhang Z. Overexpression of hypoxia-inducible factor prolyl-hydroxylase attenuated hCG-induced vascular endothelial growth factor expression in luteal cells. *Afri J Biotech* 2011; 10(42): 8227-35.
- 37 Wang Z, Schley G, Turkoglu G, Burzlaff N, Amann KU, Willam C, *et al.* The protective effect of prolyl-hydroxylase inhibition against renal ischaemia requires application prior to ischaemia but is superior to EPO treatment. *Nephrol Dial Transplant* 2012; 27(3): 929-36.
- 38 Fraser HM, Wilson H, Wulff C, Rudge JS, Wiegand SJ. Administration of vascular endothelial growth factor Trap during the 'post-angiogenic' period of the luteal phase causes rapid functional luteolysis and selective endothelial cell death in the marmoset. *Reproduction* 2006; 132(4): 589-600.

Regulatory Effects of HIF-1 on the Angiogenesis during Ovarian Luteal Development

Wu Yanqing¹, Zhang Zhenghong^{1,2}, Luo Qianping¹, Chen Liyun¹, Wang Zhengchao^{1*}

(¹Provincial Key Laboratory for Developmental Biology and Neurosciences, College of Life Sciences, Fujian Normal University, Fuzhou 350007, China; ²Provincial Research Center for Animal Transgenesis and Biopharming, College of Veterinary Medicine, Yangzhou University, Yangzhou 225009, China)

Abstract In mammals, ovarian corpus luteum is formed from the ruptured follicle after ovulation, where the angiogenesis is much more intense. Especially in the early developmental stage of the corpus luteum, this rapid formation of a dense capillary network can ensure the cells, which produce hormones, to obtain oxygen, nutrients and the necessary precursors of synthetic hormones. At the same time, it can release a large number of hormones for establishing and maintaining early pregnancy. The current investigations have shown that vascular endothelial growth factor (VEGF), as an important angiogenic factor, plays a crucial regulatory role in angiogenesis during the development of corpus luteum, while as a downstream target gene of the transcription factor HIF-1 (hypoxia-inducible factor-1), VEGF is regulated by HIF-1 signaling pathway. In the present paper, we firstly overviewed the regulatory mechanism of VEGF-dependent angiogenesis during the development of corpus luteum, and then described the regulation mechanism of transcription factor HIF-1 on the transcriptional activation of VEGF. All of these will reveal the regulatory role of HIF-1 in VEGF-dependent angiogenesis during the development of corpus luteum, which can provide a solid theoretical foundation for further studying the molecular mechanism of the angiogenic regulation during the development of corpus luteum in mammalian ovary.

Key words hypoxia-inducible factor; vascular endothelial growth factor; angiogenesis; corpus luteum

Received: June 16, 2012 Accepted: July 16, 2012

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (No.31101032), Doctoral Foundation of Ministry of Education (No.20113503120002), Fujian Provincial Natural Science Foundation (No.2011J01144), Fujian Provincial High-level Talents Project (No.2010MIN114), Innovative Research Project of National Biology Experiment Teaching Demonstration Center (No.2011LS017) and Outstanding Youth Foundation of Fujian Provincial Education Department (No.AJ11041)

*Corresponding author. Tel/Fax: 86-591-22868203, E-mail: zcwang@fjnu.edu.cn