

NdrG1'in kanser ve demir şelatörleri ile ilişkisi

Association of NdrG-1 with cancer and iron chelators

Osman Salış, Abdülkerim Bedir, Hasan Alaçam*

Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, Samsun, Türkiye

MAKALE BİLGİLERİ

Makale geçmişi

Geliş tarihi : 15 / 02 / 2012

Kabul tarihi : 31 / 03 / 2012

* Yazışma Adresi:

Hasan Alaçam
Ondokuz Mayıs Üniversitesi,
Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyokimya Anabilim
Dalı, Samsun, Türkiye
e-posta: hasanalacam@hotmail.com

Anahtar Kelimeler:

Demir
Desferoksamin
Diferansiyasyon
HIF-1
Kanser
NdrG-1

Keywords:

Iron
Desferrioxamine
Differentiation
HIF-1
Cancer
NdrG-1

ÖZET

İnsan N-myc downstream-regulated gene1 (NdrG1), ilk olarak Charcot-Marie-Tooth tip 4D (CMT4D) hastalığında tanımlanmıştır. Son zamanlarda ise hücre diferansiyasyonu, proliferasyon ve büyümenin baskılanması, neoplazi, tümör progresyonu ve metastaz ile ilişkisi ortaya konulmuştur. NdrG1 geni, farklı kanser türlerinde farklı şekilde etkilenmektedir. Meme, prostat, kolon kanseri gibi kanserlerde downregüle iken, karaciğer kanserlerinde upregüle'dir. NdrG1 geninin düzenlenmesinde farklı hücre tiplerinde farklı ve kompleks mekanizmalar rol alabilmektedir. Bu kompleks düzenlemeler, transkripsiyonel, posttranskripsiyonel ve translasyonel seviyelerdeki major yolları içerir. Yapılan çalışmalarda desferoksamin (DFO) ve diğer şelatörlerin etkili anti-tümör ajanlar oldukları gösterilmiştir. Şelatörler bu etkilerini muhtemelen NdrG1 mRNA transkripsiyonunu etkileyerek göstermektedir. Ancak bu regülasyonun hangi mekanizma ile oluştuğu net değildir ve demirin gen ekspresyonu ve proliferasyondaki rolünü irdelerken NdrG1'in daha fazla araştırılması gerekmektedir.

J. Exp. Clin. Med., 2013; 30: S33-S37

ABSTRACT

Human N-myc downstream-regulated gene 1 (NdrG-1) has been first identified in Charhot-Marie-Tooth Disease type 4D (CMT4D). Recently, its association with cell differentiation, suppression of growth and proliferation, neoplasia, tumor progression and metastasis has been demonstrated. NdrG-1 gene appears to be regulated in a variety of ways in different types of cancers. It is down-regulated in breast, prostate and colon cancers whereas it is up-regulated in hepatic cancers. Different and complex mechanisms may play a role in different types of cells in regulation of NdrG-1 gene. These complex regulations includes major pathways in transcriptional, post-transcriptional and translational levels. It has been shown that desferrioxamine (DFO) and other chelators are effective anti-tumor agents. It's possible that this effect of chelators is related to NdrG-1 mRNA transcription, but it remains unknown which mechanism mediates this regulation and iron's role in gene expression and proliferation and NdrG-1 need further investigations.

J. Exp. Clin. Med., 2013; 30: S33-S37

© 2013 OMU

N-myc downstream-regulated gene1 (NdrG1)

Metastaz, kanser hücrelerinin primer kanser bölgesinden uzak organlara yayılmasını ifade eder. Metastaz yapan kanserler, tedavilerinin zorluğu nedeniyle, kanser ile ilişkili ölümlerin çoğunu oluştururlar (Welch ve Tomasovic, 1985). Son zamanlarda tümör supresyonu ile ilgili çok sayıda gen ve protein tanımlanmıştır. Bunlardan biri de, insan N-myc downstream-regulated gene1 (NdrG1)'dir (Welch ve Hunter, 2003). İlk başlarda NdrG1 geni, Charcot-Marie-Tooth 4D

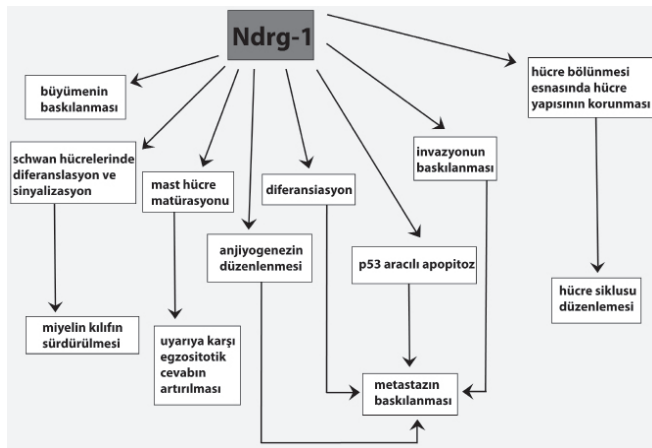
(CMT4D) hastalığı ile ilişkili olarak tanımlanmış ise de, son zamanlarda tümör progresyonunun bir göstergesi ve hücrel diferansiyasyonun tetikleyicisi olarak görülmektedir (Thomas ve ark., 2008). Bu nedenle NdrG1 geni; prostat, kolon ve meme kanserlerinde downregüle olan metastaz süpresör gen olarak bilinmektedir.

İnsan NdrG1 geni, NdrG gen ailesinin bir üyesi olup (Zhou ve ark., 1998; Thomas ve ark., 2008; Kurdistani ve ark., 1998) NdrG1 isimli proteini kodlar (Van Belzen ve ark., 1997).

Ndr1 geni, insanda 8q24 kromozom bölgesinde lokalizedir, 60,085 baz çiftinden oluşur ve 16 ekzon bölgesi içerir (<http://atlasgeneticsoncology.org/Genes/NDRG1ID41512ch8q24.html>). Ndr1, önceleri DRG1 (Van Belzen ve ark., 1997), CAP43 (Zhou ve ark., 1998), CMT4D (Warner ve ark., 1998), HMSNL (Kalaydjieva ve ark., 1996), NDR1 (Shimono ve ark., 1999), RIT42 (Kurdistani ve ark., 1998) ve RTP (Kokame ve ark., 1996) olarak da isimlendirilmiştir. Ndr1 geni hemen hemen tüm hücrelerde bulunmasına karşın, prostat, beyin, böbrek, plasenta, ovaryum, testisler ve intestinal hücrelerde daha yüksek seviyelerde eksprese edilir (Lachat ve ark., 2002).

Ndr1 proteini

394 aminoasitten oluşan Ndr1 proteini, alfa/beta hidrolaz üst ailesi içerisinde yer alan Ndr protein ailesinin 43 kDa ağırlığındaki bir üyesidir (Kokame ve ark., 1996). Ndr1 aminoasit sekansı Ndr2 ile % 53, Ndr3 ile % 62, Ndr4 ile % 62 oranında homoloji göstermektedir (Qu ve ark., 2002). Ndr2 erişkin iskelet kası ve beyinde, Ndr3 beyin ve testiste, Ndr4 kalp ve beyinde eksprese edilirken, Ndr1 hemen hemen tüm hücrelerde bulunur ancak prostat, beyin, böbrek, plasenta, ovaryum, testisler ve intestinal hücrelerde daha yüksek seviyelerde eksprese edilir (Lachat, ve ark., 2002). Hücre içinde ise Ndr1 proteini % 47,8 sitozolde, % 26,1 nükleusta, % 8,7 mitokondride, daha az miktarlarda da vakuollerde, plazma membranında ve peroksisomlarda bulunur (Quandt ve ark., 1995; Zhou ve ark., 2001; Lachat ve ark., 2002;). Ndr1 proteini, çok sayıda fosforilasyon bölgesine sahiptir ve bunların arasında fosfopantetin, protein kinaz C (PKC), kazein kinaz II (KC-II), tirozin kinaz, protein kinaz A (PKA) ve kalmodulin kinaz II (CAMK-II) için bağlanma bölgeleri bulunur (Kokame ve ark., 1996). Bu fosforilasyon bölgelerinin varlığından dolayı, Ndr1'in fonksiyonlarının en azından bir kısmının fosforilasyon ile kontrol edilebileceği düşünülmektedir (Guan ve ark., 2000).



Şek. 1. Ndr1'in biyolojik etkilerinin şematik olarak gösterilmesi (Zaklina Kovacevic ve Des R.Richardson, 2006.)

Ndr1 fonksiyonu ve kanserle ilişkisi

Ndr1 proteini, fonksiyonu tam olarak anlaşılmasına rağmen, hücre diferansiyasyonu (Zhou ve ark., 1998; Guan ve ark., 2000), proliferasyon ve büyümenin baskılanması (Piquemal ve ark., 1999), neoplazi, tümör progresyonu ve metastaz (Van Belzen ve ark., 1997; Piquemal ve ark., 1999), ağır metallere cevap (Zhou ve ark., 1998) hipoksi cevabı

(Salnikow ve ark., 2002) ve DNA hasar cevabı (Kurdistani ve ark., 1998) gibi çeşitli hücre içi olaylarda rol almaktadır. Özellikle prostat, kolon ve meme kanserlerinde metastazın baskılanmasında çok önemli bir role sahiptir (Kurdistani ve ark., 1998; Zhou ve ark., 1998; Guan ve ark., 2000) (Şek. 1). Ndr1'in, kolon epitel hücre diferansiyasyonunda upregüle iken, kolon kanserlerinde downregüle olduğu gözlemlenmiştir (Van Belzen ve ark., 1997). İyi diferansiye kolon kanser hücre serilerinde (HTC-116) Ndr1 protein ekspresyonu yüksek seviyelerde bulunurken, kötü diferansiye kolon kanser hücre serilerinde (Colo-320) Ndr1 ekspresyonu düşük seviyelerde tesbit edilmiştir (Lerner ve ark., 2012). Gastrik kanserlerde (Jiang ve ark., 2010) ve özefagus skuamöz hücre kanserlerinde de (Ando ve ark., 2006) Ndr1 proteini düşük seviyelerde eksprese edilmektedir. Gastrik kanserlerde Ndr1 ekspresyonunun histokimyasal analizinde, hastalar için kötü prognoz ile nükleer lokalizasyonun korele olduğu, nükleer translokasyonun hücre invazyon potansiyelini artırdığı öne sürülmüştür (Inagaki ve ark., 2009).

Ndr1 gen upregülasyonu çoğu tümörlerde büyüme hızını azaltmaktadır. Buna karşılık hepatoselüler karsinomlarda, normal karaciğer dokusu ile karşılaştırıldığında Ndr1 gen ve protein miktarı önemli miktarda artmaktadır (Chua ve ark., 2007; Yan ve ark., 2007). Bu sonuçlar, Ndr1 geninin farklı kanser türlerinde farklı şekilde etkilendiğini göstermektedir.

Ndr1 geni'nin düzenlenmesi ve sinyal yolları

Ndr1 ekspresyonu, normal ve neoplastik hücrelerde farklı sinyal yolları ve farklı ajanlar tarafından düzenlenmektedir. Örneğin, Ndr1 geni normal kolon epitel hücrelerinde upregüle iken, kolon kanserlerinde downregüle'dir (Van Belzen ve ark., 1997). Prostat kanser hücrelerinde ise diğer hücrelerden farklı olarak Ndr1 ekspresyonu androjenler tarafından artırılmaktadır (Ulrix ve ark., 1999). Diğer yandan Ndr1 gen upregülasyonunun tanımlanan tümör baskılayıcı özelliğine karşın, karaciğer kanserlerinde tam tersi bir etki ile Ndr1'in upregüle olduğu gözlemlenmiştir (Chua ve ark., 2007). Bu da Ndr1 geninin farklı kanser türlerinde farklı şekilde etkilendiğini göstermektedir.

Değişik fizyolojik ve patolojik durumlar (hipoksi, hücre diferansiyasyonu, ağır metal, neoplazi gibi) sadece Ndr1 transkripsiyonunu değil aynı zamanda mRNA stabilitesini ve translasyonunu da etkilemektedir (Lachat ve ark., 2002). Bazı dokularda Ndr1 gen transkripsiyonu artarken protein seviyesinin artmadığı dolayısı ile transkripsiyonel ve translasyonel düzenlemelerin kompleks düzenleyici mekanizmalar içerdiği görülmektedir (Lachat ve ark., 2002).

Ndr1 ekspresyonu'nun düzenlenmesinde transkripsiyon aşamasında rolü olan sinyal yollarından birisi PPAR- γ (peroxisome proliferator activated receptor- γ)/RXR (retinoid X receptor) yolağıdır. PPAR- γ /RXR reseptörleri, retinoik asit, vitamin D, tiroit hormonu ve steroid hormon reseptörlerini de içine alan nükleer reseptör üst ailesinin bir üyesidir (Mangelsdorf ve ark., 1995). Adiposit ve kolon epitel hücre diferansiyasyonunda PPAR- γ reseptörlerinin Ndr1 genini upregüle ettiği bilinmektedir (Lovejoy ve Richardson, 2003).

Diğer bir transkripsiyon yolağı ise hipoksi tarafından uyarılan HIF-1 α yolağıdır. HIF-1 α tarafından upregüle edilen Ndr1, stres cevap gen olarak da tanımlanmaktadır. Hipoksik şartlarda Ndr1 upregülasyonunda, HIF-1 α transkripsiyon faktörünün rol aldığı öne sürülmüş ve promoter bölgesinde

HIF-response element (HRE) olduğu gösterilmiştir (Le ve Richardson, 2004). Nikel bileşikleri birçok insan hücre hattında hypoxia inducible factor-1 (HIF-1) aktivitesini etkileyerek NdrG1 transkripsiyonunu arttırmaktadır (Zhou ve ark., 1998). Demir şelatörleri'nin antitümör aktiviteleri ise HIF-1 bağımlı ya da bağımsız mekanizmalarla NdrG1 ekspresyonunun artırılması ile sağlanmaktadır (Le ve Richardson, 2004). İntrasellüler kalsiyum artışında NdrG1 upregülasyonuna neden olmaktadır (Salnikow ve ark., 2002). Bu bulgular bize NdrG1 aktivasyonunda HIF-1α'nın transkripsiyonu uyarıcı rol alabileceğini göstermektedir.

DNA metilasyon inhibisyonu ve histon asetilasyon aktivasyonu NdrG1 gen aktivasyonunu arttırmaktadır. Böylelikle NdrG1 gen düzenlenmesinde epigenetik kontrolün rolü olabileceği düşünülmektedir (Guan ve ark., 2000). NdrG1'in promoter bölgesinde çok sayıda CpG adalarının bulunması nedeniyle NdrG1 gen ekspresyonunun DNA metilasyonu ile baskılanabileceği düşünülmüştür (Guan ve ark., 2000). DNA metilasyonunun 5-Azasitidin ile inhibisyonu, kolon kanserlerini de içine alan birçok hücre tipinde diferansiyasyonu indüklemiştir (Jones ve Taylor, 1980).

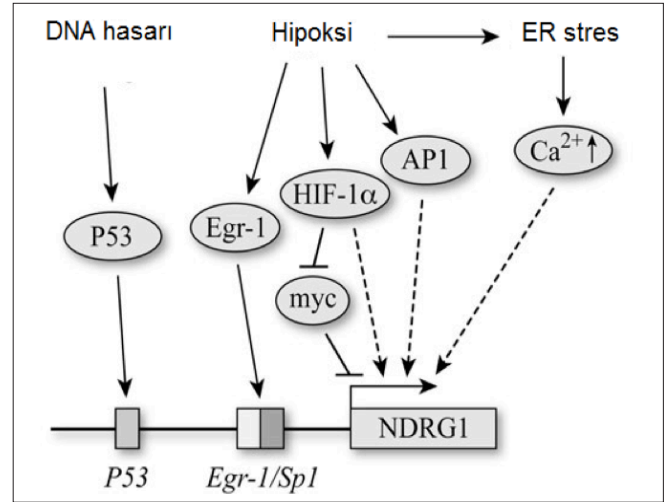
Birçok hücre tipinde bütirat ve trichostatin A (TSA) gibi histon deasetilaz inhibitörleri NdrG1 ekspresyonunu artırarak hücre diferansiyasyonuna neden olmaktadır (Guan ve ark., 2000). TSA ve 5-Azasitidin birlikte kullanıldığında sinerjistik etki göstermektedir (Guan ve ark., 2000). Bu bulgular, gen düzenlenmesinde, hücre büyümesinde ve hücre diferansiyasyonunda DNA metilasyonu ve histon asetilasyonunun birlikte anahtar bir rol oynayabileceğini göstermektedir (Guan ve ark., 2000).

Tümör süpressör gen olan p53'ün de NdrG1 gen ekspresyonunu düzenlediği iddia edilmektedir (Kurdistani ve ark., 1998). Kolon kanser hücre hattı olan DLD-1 hücrelerinde p53 induksiyonunu takiben NdrG1'in upregüle olduğu ve p53 bağımlı apoptosiz için gerekli genlerden birinin NdrG1 olduğu gösterilmiştir (Inagaki ve ark., 2009). Mutant p53 bulunduran SK-N-MC hücrelerinde yapılan bir çalışmada, demir şelatörlerinden desferoksamin (DFO) ve 2-hidroxy-naphthylaldehyde isonicotinoyl hydrazone (311) ile inkübasyon sonrasında NdrG1 mRNA seviyeleri artmıştır (Inagaki ve ark., 2009). Zaklina Kovacevic ve arkadaşlarının yaptıkları bir çalışmada, p53 mutant kanser hücrelerinde NdrG1 mRNA ve protein miktarındaki artışın p21 protein ekspresyonundaki artış ile sağlanabileceği gösterilmiştir (Zaklina ve ark., 2011). Bu sonuç NdrG1 upregülasyonunun p53 bağımsız mekanizma ile de gerçekleşebileceğini göstermektedir.

İnsan lösemi hücre hatlarında (HL-60 ve U937) yapılan bir çalışmada, hem N-myc, hem de c-myc'in doğrudan NdrG1 promoter bölgesine bağlanarak NdrG1 gen ekspresyonunu downregüle etmektedir. Bu baskılanma sürecinde, c-myc ile histon deasetilazların kompleks oluşturup NdrG1 geninin promoter bölgesine bağlanarak gen ekspresyonunu baskıladığı iddia edilmektedir (Zhang ve ark., 2008) (Şek. 2).

Demir ve NdrG1 ilişkisi

Demir, DNA sentezi gibi birçok hücresel olayda önemli role sahiptir (Andrews, 1999; Chaston ve ark., 2003). Desferoksamin (DFO) gibi demir şelatörleri kullanılarak yapılan çalışmalarda demir deprivasyonunun G1/S arresti yaptığı ve apoptozu yol açtığı görülmüştür (Trinder ve ark., 1996; Kurdistani ve ark., 1998).



Şek. 2. NdrG1'in transkripsiyonel düzenlenmesi. HIF-1α, Hypoxia-inducible factor 1 alpha; Myc, Myelocytomatosis; Egr-1, Early growth response protein-1; Sp1, Specificity protein1; P53, Tümör supresör protein 53; API, Activator protein1; ER, Endoplazmik retikulum (Thomas P. ve ark., 2008).

Tümör hücreleri normal hücrelere göre demir depleksiyonuna daha hassastır. Bunun sebebi artmış demir ihtiyacıdır (Larrick ve Cresswell, 1979; Trinder ve ark., 1996). Neoplastik hücrelerde yüksek miktarda demir içeren ribonükleotid redüktaz ekspresye edilmektedir. Bu enzimin rol aldığı reaksiyon DNA sentezi esnasında hız sınırlayıcı basamaktır ve şelatörlerin önemli bir moleküler hedefidir (Trinder ve ark., 1996; Van Belzen ve ark., 1997; Chaston ve ark., 2003).

Demir şelatörleri, hücre içindeki serbest demiri bağlayarak vücuttan atılmasını sağlayan ajanlardır. DFO, Triapine (3-AP), Dp44mT, Tachpyridine ve 311 şelatörlerden bazılarıdır. Klinikte demir fazlalığının tedavisinde DFO yaygın olarak kullanılmaktadır. DFO Actinobacteria sınıfından *Streptomyces pilosus* tarafından üretilen ve serbest demiri (Fe³⁺) güçlü bir şekilde bağlayarak vücuttan idrarla atılmasını sağlayan bir ajandır (Miller, 1989). DFO, hücre proliferasyonu ve apoptoz çalışmalarında sıklıkla kullanılan bir moleküldür. Antiproliferatif etki gösterir ve bu etkisini G1 fazında arrest yaparak gösterir (Porreca ve ark., 1994). Demir şelasyonu sonrası oluşan G1/S arrestinin, ribonükleotid redüktaz enziminin inhibisyonuna bağlı olduğu düşünülmektedir (Hershko, 1994). Birçok çalışma, DFO ve diğer şelatörlerin etkili anti-tümör ajanlar olduğunu göstermiştir (Van Belzen ve ark., 1997; Kurdistani ve ark., 1998; Zhou ve ark., 2001; Chaston ve ark., 2003). Demir şelatörlerinin diğer antitümör aktiviteleri HIF-1 bağımlı veya bağımsız mekanizmalar üzerinden NdrG1 ekspresyonu artırılarak gerçekleşmektedir (Salnikow ve ark., 2002).

Oksijen, hücre fonksiyonu için kritik öneme ve demir metabolizması için kompleks etkilere sahiptir. Örneğin, hipoksi sırasında transferin (Tf) ve transferin reseptör1 (TfR1) mRNA seviyeleri HIF-1α yolu aracılığı ile upregüle olur (Le ve Richardson, 2002). HIF-1α'nın aktivitesi, HIF-1α prolil hidroksilaz olarak bilinen demir bağımlı enzim tarafından kontrol edilir (Ivan ve ark., 2001; Jaakkola ve ark., 2001). Prolil hidroksilaz HIF-1α'nın Von Hippel-Lindau (VHL) proteinine bağlanmasını sağlar. Bu protein ubiquitin E3 ligazı aktive eder ve bu da HIF-1'nin protozomal degradasyonuna yol açar (Ivan ve ark., 2001; Jaakkola ve ark., 2001). Hipoksi veya demir eksikliğinde veya her ikisinin eksikliğinde prolil

hidroksilaz fonksiyonu başarısız olur. HIF-1 α stoplazmada birikir. Stoplazmada biriken HIF-1 α nükleusa geçer ve HIF-1 β ile kompleks oluşur. Bu kompleks promotör bölgede bulunan Hypoxia response element (HREs)'e bağlanarak çok sayıda genin regülasyonunda rol oynar. Bu yüzden demir hem hipoksik cevap (Ivan ve ark., 2001; Jaakkola ve ark., 2001) hemde hücre siklus kontrolü için önemlidir (Le ve Richardson, 2002). Ndrgl1 indüksiyonu hipoksiyle başlatılabilir ve HIF-1 α ile düzenlenebilir fakat Ndrgl1 geni aynı zamanda intraselüler Ca²⁺ artışıyla da HIF-1 α -bağımsız bir sinyal yolağı yardımıyla aktive edilebilir. (Salnikow ve ark., 2002).

Hücrelerin şelatörler ile inkübasyonu Ndrgl1 mRNA ve protein ekspresyonunu ciddi oranda arttırmaktadır (Nghia ve ark., 2004). Des R. Richardson ve arkadaşları demir metabolizması ve proliferasyon kontrolü arasında yeni bağlantının Ndrgl1 olduğunu öne sürmüşlerdir. Ancak bu konu ile ilgili çok daha fazla araştırmaya ihtiyaç vardır.

Tartışma

Doku ve hücre içi kompartmanlardaki dağılım farklılığı, farklı sinyal yolları ile ilişkisi, değişik kanser türlerinde upregülasyonu, tümör supresyonu yapıcı etkisi ve hücre diferansiyasyonundaki rollerinden dolayı Ndrgl1 üzerindeki çalışmalar oldukça ilgi çekmektedir. Ndrgl1 gen ekspresyonu ile metastaz ve tümör büyümesi önemli ölçüde durdurulmakta ancak bunun nasıl gerçekleştiği tam olarak bilinmemektedir. Ndrgl1 mRNA transkripsiyonunda çok sayıda yolak

tanımlanmasının yanında, butirat ve TSA gibi histon deasetilaz inhibitörleri (HDAC), Ndrgl1 gen ekspresyonunu arttırarak hücre diferansiyasyonuna neden olmaktadır. Bu bulgular, gen düzenlenmesinde, hücre büyümesinde ve hücre diferansiyasyonunda DNA metilasyonu ve histon asetilasyonu gibi epigenetik mekanizmaların birlikte anahtar bir rol oynayabileceğini göstermekle birlikte tüm mekanizmayı yeterince izah etmemekte ve gen düzenlenmesinde başka mekanizmaların da olabileceğini düşündürmektedir.

Ndrgl1 gen upregülasyonunun tanımlanan tümör baskılayıcı özelliğine karşın, karaciğer kanserlerinde tam tersi bir etki ile Ndrgl1'in upregüle olduğu gözlenmiştir. Bu da Ndrgl1 geninin farklı kanser türlerinde farklı şekilde etkilendiğini göstermektedir. Bu farklılığın altında Ndrgl1 mRNA varyant farklılığı olabilir. Diğer yandan farklı hücrelerde Ndrgl1 proteininin farklı proteinlerle etkileşimi veya proteinin fosforile/defosforile hallerinin aktivitesinin farklı olması olabilir. Diğer yandan şelatörlerle oluşturulan Ndrgl1 gen upregülasyonunun proteine yansıyıp yansımadığı konusunda da çok daha ayrıntılı çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

Demir şelatörleri demir deplesyonu yaparak Ndrgl1 mRNA ve protein ekspresyonlarında artış yapmaktadır. Şelatörlerin yaptığı Ndrgl1 upregülasyonunda transkripsiyonel mekanizmaların önemli olduğu düşünülmektedir. Ancak demirin kanserdeki yeri, demir şelatörlerinin tedavideki kullanımı ve Ndrgl1 ile ilişkisini gösteren çok daha fazla sayıda çalışmaya ihtiyaç duyulmaktadır.

KAYNAKLAR

- Andrews, N.C., 1999. Disorders of iron metabolism. *New Engl. J. Med.* 341, 1986-1995.
- Ando, T., Ishiguro, H., Kimura, M., Mitsui, A., Kurehara, H., Sugito, N., Tomoda, K., Mori, R., Takashima, N., Ogawa, R., Fujii, Y., Kuwabara, Y., 2006. Decreased expression of NDRG1 is correlated with tumor progression and poor prognosis in patients with esophageal squamous cell carcinoma. *Dis. Esophagus.* 19, 454-458.
- Cangul, H., Salnikow, K., Yee, H., Zagzag, D., Commes, T., Costa, M., 2002. Enhanced expression of a novel protein in human cancer cells: A potential aid to cancer diagnosis. *Cell Biol. Toxicol.* 18, 87-96.
- Chaston, T.B., Lovejoy, D.B., Watts, R.N., Richardson, D.R., 2003. Examination of the anti-proliferative activity of iron chelators: Multiple cellular targets and the different mechanism of action of Triapine compared with desferrioxamine and the potent pyridoxal isonicotinoyl hydrazone analogue 311. *Clin. Cancer Res.* 9, 402-414.
- Chua, M.S., Sun, H., Cheung, S.T., Mason, V., Higgins, J., Ross, D.T., Fan, S.T., So, S., 2007. Overexpression of NDRG1 is an indicator of poor prognosis in hepatocellular carcinoma. *Modern Pathol.* 20, 76-83.
- Guan, R.J., Ford, H.L., Fu, Y., Li, Y., Shaw, L.M., Pardee, A.B., 2000. Drg-1 as a differentiation-related, putative metastatic suppressor gene in human colon cancer. *Cancer Res.* 60, 749-755.
- Hershko, C., 1994. Control of disease by selective iron depletion: A novel therapeutic strategy utilizing iron chelators. *Baillieres Clin. Haematol.* 7, 965-1000.
- <http://atlasgeneticsoncology.org/Genes/NDRG1ID41512ch8q24.html>.
- Inagaki, Y., Tang, W., Xu, H.L., Guo, Q., Mafune, K., Konishi, T., Nakata, M., Sugawara, Y., Kokudo, N., 2009. Localization of N-myc downstream-regulated gene 1 in gastric cancer tissue. *Digest. Liver Dis.* 41, 96-103.
- Ivan, M., Kondo, K., Yang, H., Kim, W., Valiando, J., Ohh, M., Salic, A. J.M., Asara, J.M., Lane, W.S., Kaelin, W.G., Jr., 2001. HIF alpha targeted for VHL-mediated destruction by proline hydroxylation: Implications for O2 sensing. *Science.* 292, 464-468.
- Jaakkola, P., Mole, D.R., Tian, Y.M., Wilson, M.I., Gielbert, J., Gaskell, S.J., Kriegsheim, A., Hebestreit, H.F., Mukherji, M., Schofield, C.J.P.H., Maxwell, P.H., Pugh, C.W., Ratcliffe, P.J., 2001. Targeting of HIF-alpha to the von Hippel-Lindau ubiquitylation complex by O2-regulated prolyl hydroxylation. *Science.* 292, 468-472.
- Jiang, K., Shen, Z., Ye, Y., Yang, X., Wang, S., 2010. A novel molecular marker for early detection and evaluating prognosis of gastric cancer: N-myc downstream regulated gene-1 (NDRG1). *Scand. J. Gastroentero.* 45, 898-908.
- Jones, P.A., Taylor, S.M., 1980. Cellular differentiation, cytidine analogs and DNA methylation. *Cell.* 20, 85-93.
- Kalaydjieva, L., Gresham, D., Gooding, R., Heather, L., Baas, F., de Jonge, R., Blechschmidt, K., Angelicheva, D., Chandler, D., Worsley, P., Rosenthal, A., King, R.H., Thomas, P.K., 2000. N-myc downstream-regulated gene 1 is mutated in hereditary motor and sensory neuropathy-Lom. *Am. J. Hum. Genet.* 67, 47-58.
- Kalaydjieva, L., Hallmayer, J., Chandler, D., Savov, A., Nikolova, A., Angelicheva, D., King, R.H., Ishpekova, B., Honeyman, K., Calafell, F., Shmarov, A., Petrova, J., Turnev, I., Hristova, A., Moskov, M., Stancheva, S., Petkova, I., Bittles, A.H., Georgieva, V., Middleton, L., Thomas, P.K. 1996. Gene mapping in Gypsies identifies a novel demyelinating neuropathy on chromosome 8q24. *Nat. Genet.* 14, 214-217.
- Kokame, K., Kato, H., Miyata, T. 1996. Homocysteine-respondent genes in vascular endothelial cells identified by differential display analysis. *J. Biol. Chem.* 271, 29659-29665.

- Kovacevic, Z., Richardson, D.R., 2006. The metastasis suppressor, NdrG-1: A new ally in the fight against cancer, *Carcinogenesis*. 27, 2355-2366.
- Kovacevic, Z., Sivagurunathan, S., Mangs, H., Chikhani, S., Zhang, D., Richardson, D.R., 2011. The metastasis suppressor, N-myc downstream regulated gene 1 (NDRG1), upregulates p21 via p53-independent mechanisms, *Carcinogenesis*. 32, 732-740.
- Kurdistani, S.K., Arizti, P., Reimer, C.L., Sugrue, M.M., Aaronson, S.A., Lee, S.W., 1998. Inhibition of tumor cell growth by RTP/rit42 and its responsiveness to p53 and DNA damage. *Cancer Res*. 58, 4439-4444.
- Lachat, P., Shaw, P., Gebhard, S., van Belzen, N., Chaubert, P., Bosman, F.T., 2002. Expression of NDRG1, a differentiation-related gene, in human tissues. *Histochem. Cell Biol.* 118, 399-408.
- Larrick, J.W., Cresswell, P., 1979. Modulation of cell surface iron transferrin receptors by cellular density and state of activation, *J. Supramol. Struct.* 11, 579-586.
- Le N.T., Richardson D.R., 2004. Iron chelators with high antiproliferative activity up-regulate the expression of a growth inhibitory and metastasis suppressor gene: A link between iron metabolism and proliferation, *Blood*. 104, 2967-2975.
- Le, N.T., Richardson, D.R., 2002. The role of iron in cell cycle progression and the proliferation of neoplastic cells. *Acta. Biochim. Biophys.* 1603, 31-46.
- Lerner, A., Grafi-Cohen, M., Napso, T., Azzam, N., Fares F., 2012. The Indolic Diet-Derivative, 3,3'-Diindolylmethane, Induced apoptosis in human colon cancer cells through Upregulation of NDRG1 *J. Biomed. Biotechnol.* 2012, 256178.
- Lovejoy, D.B., Richardson, D.R., 2003. Iron chelators as anti-neoplastic agents: current developments and promise of the PIH class of chelators, *Curr. Med. Chem.* 10, 1035-1049.
- Lovejoy, D.B., Richardson, D.R., 2002. Novel "hybrid" iron chelators derived from aroylhydrazones and thiosemicarbazones demonstrate selective antiproliferative activity against tumor cells, *Blood*. 100, 666-676.
- Mangelsdorf, D.J., Thummel, C., Beato, M., Herrlich, P., Schutz, G., 1995. The nuclear receptor superfamily: The second decade, *Cell*, 83, 835-839.
- Miller, M.J., 1989. Syntheses and therapeutic potential of hydroxamic acid based siderophores and analogs. *Chemical Reviews*. 89, 1563-1579.
- Nghia, T.V., Le and Des R., 2004. Richardson Iron chelators with high antiproliferative activity up-regulate the expression of a growth inhibitory and metastasis suppressor gene: a link between iron metabolism and proliferation *The American Society of Hematology*. 104, 2967-2975.
- Piquemal, D., Joulia, D., Balaguer, P., Basset, A., Marti, J., Commes, T., 1999. Differential expression of the RTP/Drg1/Ndr1 gene product in proliferating and growth arrested cells. *Acta. Biochim. Biophys.* 1450, 364-373.
- Ponka, I., 1997. Tissue Specific Regulation of Iron Metabolism and Heme Synthesis: Distinct Control Mechanisms in Erythroid Cells. *Blood*. 89, 1-25.
- Ponka, P., Beaumont, C., Richardson, R., 1988. Function and Regulation of Transferrin and Ferritin. *Seminars in Hematology*. 35, 35-54.
- Porreca, E., Ucchino, S., Di Febbo, C., Di Bartolomeo, N., Angelucci, D., Napolitano, A.M., Mezzetti, A., Cuccurullo, F., 1994. Antiproliferative effect of desferrioxamine on vascular smooth muscle cells in vitro and in vivo. *Arterioscler. Thromb.* 14, 299-304.
- Qu, X., Zhai, Y., Wei, H., Zhang, C., Xing, G., Yu, Y., He, F., 2002. Characterization and expression of three novel differentiation-related genes belong to the human NDRG gene family, *Mol. Cell Biochem.* 229, 35-44.
- Quandt, K., Frech, K., Karas, H., Wingender, E., Werner, T., 1995. MatInd and MatInspector: New fast and versatile tools for detection of consensus matches in nucleotide sequence data. *Nucleic Acids Res.* 23, 4878-4884.
- Salnikow, K., Kluz, T., Costa, M., Piquemal, D., Demidenko, Z.N., Xie, K., Blagosklonny, M.V., 2002. The regulation of hypoxic genes by calcium involves c-Jun/AP-1, which cooperates with hypoxia-inducible factor 1 in response to hypoxia. *Mol. Cell. Biol.* 22, 1734-1741.
- Shimono, A., Okuda, T., Kondoh, H., 1999. N-myc-dependent repression of Ndr1, a gene identified by direct subtraction of whole mouse embryo cDNAs between wild type and N-myc mutant. *Mech. Develop.* 83, 39-52.
- Thomas, P., Ellen, T.P., Ke, Q., Zhang, P., Costa, M., 2008. NDRG1, a growth and cancer related gene: Regulation of gene expression and function in normal and disease states. *Carcinogenesis*. 29, 2-8.
- Trinder, D., Zak, O., Aisen, P., 1996. Transferrin receptor-independent uptake of different transferrin by human hepatoma cells with antisense inhibition of receptor expression. *Hepatology*. 23, 1512-1520.
- Ulrix, W., Swinnen, J.V., Heyns, W., Verhoeven, G., 1999. The differentiation-related gene 1, Drg1, is markedly upregulated by androgens in LNCaP prostatic adenocarcinoma cells. *FEBS Lett.* 455, 23-26.
- Van Belzen, N., Dinjens, W.N., Diesveld, M.P., Groen, N.A., van der Made, A.C., Nozawa, Y., Vlietstra, R., Trapman, J., Bosman, F.T., 1997. A novel gene which is up-regulated during colon epithelial cell differentiation and down-regulated in colorectal neoplasms. *Lab. Invest.* 77, 85-89.
- Warner, L., Mancias, P., Butler, I.J., McDonald, C.M., Keppen, L., Koob, K.G., Lupski, J.R., 1998. Mutations in the early growth response 2 (EGR2) gene are associated with hereditary myelinopathies. *Nat. Genet.* 18, 382-384.
- Welch, D.R., Hunter, K.W., 2003. A new member of the growing family of metastasis suppressors identified in prostate cancer. *J. Natl. Cancer I.* 95, 839-841.
- Welch, D.R., Tomasovic, S.P., 1985. Implications of tumor progression on clinical oncology. *Clin. Exp. Metastas.* 3, 151-188.
- Yan, X., Chua, M.S., Sun, H., So, S., 2007. N-Myc down-regulated gene 1 mediates proliferation, invasion, and apoptosis of hepatocellular carcinoma cells. *Asian Liver Center, Department of Surgery, Stanford University School of Medicine, Stanford, CA.* 12.010; 94305-5655.
- Zaklina, K., Sivagurunathan, S., Mangs, H., Chikhani, S., Zhang, D., Richardson, D.R., 2011. The metastasis suppressor, N-myc downstream regulated gene 1 (NDRG1), upregulates p21 via p53-independent mechanisms, *Carcinogenesis*. 32, 732-740.
- Zhang, J., Chen, S., Zhang, W., Zhang, J., Liu, X., Shi, H., Che, H., Wang, W., Li, F., Yao L., 2008. Human differentiation-related gene NDRG1 is a Myc downstream-regulated gene that is repressed by Myc on the core promoter region. *Gene*. 417, 5-12.
- Zhou, D., Salnikow, K., Costa, M., 1998. Cap43 a novel gene specifically induced by Ni2 compounds, *Cancer Res*. 58, 2182-2189.
- Zhou, R.H., Kokame, K., Tsukamoto, Y., Yutani, C., Kato, H., Miyata, T., 2001. Characterization of the human NDRG gene family: A newly identified member, NDRG4, is specifically expressed in brain and heart. *Genomics*. 73, 86-97.