维普资讯 http://www.cqvip.com

综述 文章编号:0253-3626(2007)06-0670-03

细胞凋亡抑制蛋白 IAP 家族与卵巢癌关系研究进展

黄谟婉 综述,马 英 审校

(重庆医科大学附属第二医院病理科,重庆 400010)

【中国图书分类法分类号】R730;R711.75 【文献标识码】A 【收稿日期】2006-12-15

抗凋亡作用在肿瘤发生、发展和耐药方面起重要作用,细胞凋亡调节的改变可能是肿瘤化疗耐药发生的原因之一,而诱导肿瘤细胞凋亡和增强化疗药物的敏感性成为近年来肿瘤治疗的重要策略。卵巢癌在妇科恶性肿瘤的死亡率中高居首位,5 年生存率仅为 20%~30%,肿瘤化疗耐药是其主要原因之一。因此,克服肿瘤化疗耐药成为卵巢癌治疗的关键。新发现的一类细胞凋亡抑制蛋白家族 (Inhibitor of apoptosis proteins,IAPs),其功能包括调节凋亡、细胞周期、细胞内信号转导。因其抗凋亡功能远强于 Bc1-2 家族[1]而成为近年来研究的热点。现就 IAPs 与卵巢癌的关系综述如下。

1 人类 IAPs 简介

1.1 人类 IAPs 成员结构及在人体组织中的表达

IAPs 是 1993 年 Crook 等[2]首先发现并从杆状病毒中分离出,此后在酵母、昆虫、人和其它哺乳动物组织中都有发现。至今已发现 8 个人类 IAPs 家族成员:X-linked IAP(XIAP/hILP/MIHA/BIRC4),hILP-2 (TS-IAP),cellular IAP1(c-IAP1/HIAP2/MIHB/BIRC2),cellular IAP2 (c-IAP2/HIAP1/MIHC/BIRC3),melanoma-associated IAP (ML-IAP/Livin/KIAP1/BIRC7),neuronal apoptosis inhibitor protein (NAIP/BIRC1),Survivin(TIAP1/BIRC5),和 BRUCE(BIR repeat containing ubiquitin -conjugating enzyme)(Apollon/BIRC6)。IAP 主要有 3 个结构域,即 BIR、RING、CARD 结构域。其中,BIR 结构域全称为杆状病毒 IAP 重复序列(Baculovirus IAP repeat),为 IAP 抑制细胞凋亡所必需, 所有 IAP 家族成员至少含有一个 BIR,大多数含有 3 个 BIR。RING 结构是一个位于 IAPs C-末端的锌指样结构单元, 一般认为其缺失与否对 IAPs 的凋亡抑制作用并无影响,但对于果蝇体内 IAPs(DIAP)该结构域缺失却会显著影响对凋亡的抑制功能。CARD 结构域则是位于 IAP 分子 BIR 与 RING 结构间的一段序列, 仅有人类 c-IAP1、c-IAP2 包括此结构,该结构与抑制凋亡是否相关目前尚未确定。

XIAP 基因定位于染色体 Xq25,N 末端有 3 个 BIR,C 末端有 1 个 RING 指结构域。hILP-2 基因定位于 19q13.3~13.4,包含 1 个 BIR 结构域和 1 个 C-末端 RING 结构域。c-IAP1 和 c-IAP2 基因定位于染色体 11q22~23 位点,N 末端有 3 个 BIR,C 末端有 1 个 RING 指结构域。ML-IAP 基因定位于染色体 20q13.3,包含 1 个 BIR 结构域和 1 个 C-末端 RING 结构域。NAIP 基因定位于染色体 5q13.1,含有 3 个 BIR 结构域,没有 RING 结构域。Survivin 基因位于染色体 17q25。BRUCE 除了含有 BIR 结构域外,还有 UBC 结构(Ubiquitin-conjugating)。

XIAP 为普遍表达蛋白, 在除外周血淋巴细胞外的所有成年人、婴儿组织均有表达。hILP-2 目前只发现在睾丸组织中表达。c-IAP1,c-IAP2 在肾、小肠、肝、肺高表达,而在中枢神经系统低表达。ML-IAP 在大多数正常成人组织中(除胎盘)都不表达, 但在发育的胎儿组织和一些癌细胞系中表达,其中黑色素瘤细胞株中表达水平最高。NIAP 在成人肝及胎盘中的表达较成人脑组织的高。Survivin 在胚胎和发育的胎儿组织中广泛表达,在终末分化的成人组织中不表达,而在人类各种肿瘤组织中广泛表达。BRUCE 在哺乳动物的各种组织中广泛表达。

1.2 IAPs 抑制细胞凋亡的主要机制

1.2.1 直接抑制半胱氨酸蛋白酶(Caspase)或 procaspase

多数 IAPs 成员能够直接抑制 caspase 家族成员介导的蛋白酶级联反应过程中位于下游的效应 caspase-3,caspase-7,caspase-9 活性。①在 Fas/caspase-8 诱导的死亡受体途径中,IAPs 能通过其 BIR 区阻断由 caspase-8 激活的下游效应 caspase-3、7 的活化。②在线粒体途径中,细胞色素 C 从线粒体膜间隙释放到胞浆后,与胞浆中的凋亡蛋白激活因子 1(Apoptotic protease activating factor,Apaf-1)结合,形成多聚复合体, 这种多聚复合物充分聚集胞质中的 procaspase9,并导致其自动活化成 caspase-9,然后启动级联反应,继续活化下游的 caspase-3 和 caspase-7。IAPs 直接结合 procaspase-9,从而阻断 caspase-9 活化;结合并抑制 caspase-3 活性,同时也阻止 caspase-3 激活 procaspase-9[3]。

1.2.2 作用于肿瘤坏死因子(Tumor necrosis factor,TNF)受体介导的信号转导途径

TNFR 超家族成员之一——肿瘤坏死因子受体 1(Tumor necrosis factor receptor 1,TNFR1) 与死亡相关蛋白 TRADD

作者介绍: 黄谟婉(1979-),女,硕士,
主要研究方向:宫颈癌细胞学。

维普资讯 http://www.cqvip.com

结合后，可介导两种信号：①与 Fas 死亡相关域(Fas- associated death domain，FADD)结合，将信号转至 caspase-8，再激活 caspase-3，最后酶切死亡底物，使细胞死亡。②与 TNF 受体相关因子（TNFR-associated factors，TRAF）结合，激活 NF-κB。而 XIAP、c-IAP2 抑制细胞凋亡功能可能与 NF-κB 诱导活化有关[4]。

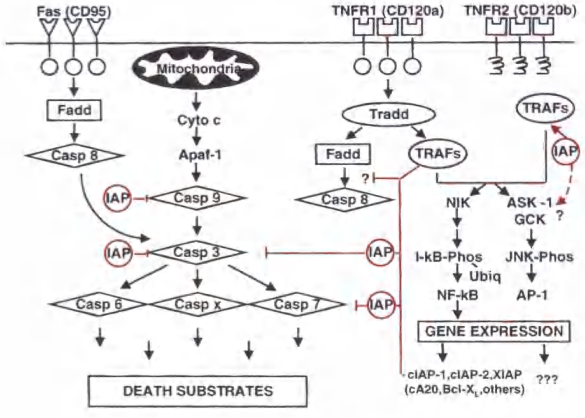


图 1 IAPs 在细胞死亡途径中的可能作用点[3]

2 IAPs 与卵巢癌

2.1 IAPs 在卵巢肿瘤组织中的表达

Sui 等[5]采用 Western blotting 和免疫组织化学法检测了 Survivin 在 103 例上皮性卵巢肿瘤中的表达情况，结果发现其在良性卵巢肿瘤组织中的阳性表达率为 21.2%，在交界性肿瘤组织中为 47.8%，卵巢癌组织中为 51.1%；Survivin 过表达与残余瘤大小有关，且与 PCNA 呈正相关。Kaplan-Meier 分析显示 Survivin 过度表达的患者生存率低。表明 Survivin 在卵巢肿瘤发生发展过程中起着重要作用，同时也为上皮性卵巢癌提供了一个重要的预后指标。张淑兰等[6]应用逆转录聚合酶链反应(RT-PCR)技术，检测类似病例组织中 Survivin 基因的表达，免疫组织化学 SABC 方法检测 Bcl-2 及 Bax 蛋白的表达，发现卵巢上皮性癌、交界性肿瘤组织中，Survivin 基因的表达率分别为 83%及 80%，显著高于良性卵巢肿瘤及正常卵巢组织的表达率 20%及 0%(P 均 <0.05)。且 Survivin 基因表达与 Bc1-2 蛋白表达呈正相关，而与 Bax 蛋白表达呈负相关。同样表明 Survivin 基因在卵巢上皮性癌发生、发展中的重要作用；而且 Survivin 基因还可能与凋亡相关基因 Bcl-2、Bax 在卵巢上皮性癌的发展中分别起协同和拮抗作用。潘晓玉等[7]采用 RT-PCR 法测定 50 例卵巢癌患者的腹水或腹腔冲洗液中 Survivin mRNA 的表达并追踪随访，发现 Survivin mRNA 的阳性表达与卵巢癌手术病理分期相关，认为 RT-PCR 法检测卵巢癌腹水或腹腔冲洗液中 Survivin mRNA 能显著提高游离癌细胞的检出率，其与传统细胞学检查相结合对卵巢癌临床分期和判断预后有重要意义。这一结果也表明 Survivin 有可能成为检测卵巢癌腹腔微转移的新的标志物。Psyrri 等[8]用免疫荧光原位定量测量法研究 150 例晚期卵巢癌发现，高表达 c-IAP 蛋白的患者 3 年生存率只有 31%，而低表达 c-IAP 蛋白的患者 3 年生存率为 73%。说明 c-IAP 蛋白水平的检测对卵巢癌患者可以提供预后信息，也提示调节 c-IAP 的水平有可能改善卵巢癌患者的临床预后。

2.2 IAPs 与卵巢癌对化疗耐药的关系

卵巢癌的化疗耐药性是多基因参与的复杂过程，近来不断有研究提示 IAPs 与卵巢癌细胞的耐药关系密切。Asselin 等[9]将正义 XIAP cDNA 转染对顺铂敏感的卵巢癌细胞株 A2780-s 后，发现 XIAP 的过表达可诱导存活因子 Akt(蛋白激酶 B)的磷酸化使其失活，并阻断顺铂诱导的 A2780-s 细胞凋亡。Yang 等[10]的研究认为卵巢癌细胞对顺铂产生耐药的一个重要机制可能是由于 XIAP 抑制 caspase-3 的激活和下调 high temperature required protein A2(HtrA2)/Omi(一种天然存在的 XIAP 负调节因子)水平。表明 XIAP 在卵巢癌化疗耐药中是一个重要决定因素。Zaffaroni 等[11]将 Survivin cDNA 稳定转染入 Survivin 基因不表达的人卵巢癌细胞株 IGROV-1 和 OAW42 后，结果癌细胞对紫杉醇的耐药性(以 IC_{50} 为判断指标)较空载体转染的癌细胞增加了四至六倍，同时紫杉醇诱导细胞发生凋亡的数量明显减少。并用免疫组织化学法检测 124 例卵巢癌组织中 Survivin 的表达及结合临床资料分析，认为 Survivin 的表达与紫杉醇为基础的临床治疗耐药显著相关。张淑兰等[12]用低浓度的紫杉醇或卡铂处理人卵巢癌细胞系 CAOV3，发现随着化疗药物作用时间的延长，存活的卵巢癌细胞中 Survivin mRNA 的表达量增加，而凋亡率的增加幅度减少。提示在紫杉醇或铂类诱导的卵巢癌细胞化疗中，卵巢癌细胞可能通过增加 Survivin 基因表达，进而增加肿瘤细胞抗凋亡能力，从而诱导肿瘤细胞对化疗药物产生耐药。董卫红等[13]对卵巢癌细胞株耐药性的研究证实 Survivin 的表达与卵巢癌细胞的凋亡率呈负相关，提示 Survivin 可作为肿瘤细胞耐药检测指标之一。以上发现说明 XIAP 及 Survivin 在调节卵巢癌细胞凋亡过程中，发挥了重要的作用，在卵巢癌细胞对化疗耐药的机制中是重要的决定因素。也提示以 XIAP 或 Survivin 为细胞靶可以调节卵巢癌细胞对化疗的敏感性。

2.3 IAPs 在卵巢癌治疗中的应用

目前国内外一些实验室利用反义技术、RNA 干扰等不同的阻断方法通过减少 IAPs 的表达而诱发凋亡，以提高卵巢癌细胞化疗的敏感性而诱导凋亡或者使肿瘤的增殖减慢。Sasaki 等[14]的研究发现，在耐顺铂卵巢癌细胞株 C13*(具有野生型 P53 基因)中，腺病毒介导转染反义 XIAP 除了能降低细胞的内源性 XIAP 蛋白表达，诱导凋亡发生，还能导致 caspase-3 活化，MDM2 裂解和 P53 聚集，并使 C13* 细胞对顺铂的细胞毒作用敏感。而在耐顺铂卵巢癌细胞株 A2780-cp(具有突变型 P53 基因)中，同时转染反义 XIAP 和正义野生型 P53 后，XIAP 蛋白表达降低，野生型 P53 恢复量增加，发生凋亡的细胞数量增加。还有研究发现人卵巢癌细

维普资讯 http://www.cqvip.com

胞株 A2780-s 及其耐药株 A2780-cp 中瞬时转染 Nodal (TGF-β 超家族成员) 及其受体 ALK7cDNA 后,Nodal 和 ALK7 通过下调 XIAP 蛋白表达水平,激活 caspase-3 和 caspase-9 使癌细胞生长受到抑制,细胞发生凋亡的数量明显增加[15]。Runnebaum 等[16]应用小干扰 RNA(Small interfering RNA, siRNA)下调 cIAP2 在人卵巢癌细胞株 SKOV-3 中的表达后,癌细胞对十字孢碱介导的凋亡作用敏感性增强。Griffin 等[17]用 epothilone B (一种大环内酯类抗肿瘤药) 的衍生物 BMS 247550(Epo B)处理人卵巢癌细胞株 2780-1A9,可使癌细胞的 XIAP、cIAP1 和 Survivin 蛋白表达水平均显著下降,还促使细胞色素 C、Smac 从线粒体释放到胞浆进而触发 caspase-3 的激活和凋亡的发生,并增加了癌细胞对 Apo-2L/TRAIL 细胞毒作用的敏感性。史惠蓉等[18]将构建的能在真核细胞中稳定表达 Survivin 反义 RNA 的载体 pcDNA3-SVVas,经脂质体介导转染人卵巢癌细胞株 SKOV3 (SKOV3/SVVas),同时以空载体 pcDNA3 转染 SKOV3 细胞 (SKOV3/neo) 作为对照,并分别将 SKOV3/SVVas、SKOV3/neo、SKOV3 细胞接种于裸鼠皮下。结果发现,稳定表达的 Survivin 反义 RNA 能够有效抑制卵巢癌细胞 SKOV3 中 Survivin mRNA 和蛋白的表达,降低 Survivin 的抗凋亡作用,抑制肿瘤细胞的生长;与 SKOV3/neo、SKOV3 组相比,SKOV3/SVVas 组裸鼠皮下的成瘤能力降低,肿瘤生长速度减慢。

3 结 语

综上所述,IAPs 与卵巢癌的发生、发展和预后及对化疗耐药密切相关,以其为靶点的抗肿瘤策略的研究已取得了初步的进展,但是还需要进行深入的药物实验及体内动物实验来确证以 IAPs 为靶治疗卵巢癌、逆转卵巢癌化疗耐药的有效性,从而为肿瘤的临床治疗提供新的思路和方案。

参 考 文 献

[1] LaCasse EC, Baird S, Korneluk RG, et al. The inhibitors of apoptosis (IAPs) and their emerging role in cancer[J]. Oncogene, 1998; 17(25): 3247-3259.

[2] Crook NE, Clem RJ, Miller LK, et al. An apoptosis inhibiting baculovirus gene with a zinc finger-like motif[J]. J Virol, 1993; 67(4): 2168-2174.

[3] Deveraux QL, Reed JC. IAP family proteins-suppressors of apoptosis[J]. Genes Dev, 1999; 13(3): 239-252.

[4] Hofer-Warbinek R, Schmid JA, Stehlik C, et al. Activation of NF-κB by XIAP, the X chromosome-linked inhibitor of apoptosis, in endothelial cells involves TAK1[J]. J Biol Chem, 2000; 275(29): 22064-22068.

[5] Sui L, Dong LL, Ohno M, et al. Survivin expression and its correlation with cell proliferationand prognosis in epithelial ovarian tumors[J]. In J Oncol, 2002; 21(2): 315-320.

[6] 张淑兰,赵长清,林 蓓,等.凋亡抑制基因 survivin 在卵巢上皮性癌组织中的表达及其与 bcl-2、bax 蛋白表达的关系[J].中华妇产科杂志,2003;38(4):203-206.

[7] 潘晓玉,王言奎,车艳辞,等.检测腹水或腹腔冲洗液中 Survivin mRNA 预测卵巢癌微转移[J].实用妇产科杂志,2006;22(5):284-286.

[8] Psyrri A, Yu Z, Bamias A, et al. Evaluation of the prognostic value of cellular inhibitor of apoptosis protein in epithelial ovarian cancer using automated quantitative protein analysis [J]. Caner Epidemiol Biomarkers Prev, 2006; 15(6): 1179-1183.

[9] Asselin E, Mills GB, Tsang BK. XIAP Regulates Akt Activity and Caspase-3-dependent Cleavage during Cisplatin-induced Apoptosis in Human Ovarian Epithelial Cancer Cells[J]. Cancer Res, 2001; 61: 1862-1868.

[10] Yang Xk, Xing H, Gao Ql, et al. Regulation of HtrA2/Omi by X-linked inhibitor of apoptosis protein in chemoresistance in human ovarian cancer cells[J]. Gynecol Oncol, 2005; 97: 413-421.

[11] Zaffaroni N, pennati M, Colella G, et al. Expression of the anti-apoptotic gene survivin correlates with taxol resistance in human ovarian cancer[J]. Cell Mol Life Sci, 2002; 59: 1406-1412.

[12] 张淑兰,姜 涛,林 蓓,等.卵巢癌细胞系 CAOV3 体外化疗后 survivin mRNA 表达的变化[J].中华妇产科杂志,2004;39(7):482-485.

[13] 董卫红,颉彦华,汪洪波,等.抗凋亡基因 NF-κB 和 Survivin 对卵巢癌细胞株耐药性的诊断价值[J].实用妇产科杂志,2005;21(12):728-731.

[14] Sasaki H, Sheng YL, Kotsuji F, et al. Down-Regulation of X-linked Inhibitor of Apoptosis Protein Induces Apoptosis in Chemoresistant Human Ovarian Cancer Cells[J]. Cancer Res, 2000; 60: 5659-5666.

[15] XU GX, ZHONG Y, MUNIR S, et al. Nodal Induces Apoptosis and Inhibits Proliferation inHuman Epithelial Ovarian Cancer Cells via Activin Receptor-Like Kinase 7[J]. J Clin Endocrinol Metab, 2004; 89(11): 5523-5534.

[16] Runnebaum IB, Brü ning A. Glucocorticoids Inhibit Cell Death in Ovarian Cancer and Up-regulate Caspase Inhibitor cIAP2[J]. Clin Cancer Res, 2005; 11(17): 6325-6332.

[17] Griffin D, Wittmann S, Guo F, et al. Molecular determinants of epothilone B derivative (BMS 247550) and Apo-2L/TRAIL-induced apoptosis of human ovarian cancer cells[J]. Gynecol Oncol, 2003; 89: 37-47.

[18] 史惠蓉,兰 莉,乔玉环,等. survivin 反义 RNA 对卵巢癌细胞株 SKOV3 生长的抑制作用[J].中华妇产科杂志,2005;40(12):831-835.