

XIAP 与肿瘤化疗耐药关系的研究进展

李佩玲 杨帆 于海微

【摘要】 细胞凋亡程度的降低是肿瘤发生的主要机制,造成肿瘤对化疗药物耐药的主要原因是化疗药物介导的细胞凋亡指数的下降。凋亡抑制蛋白在抑制细胞凋亡中起非常重要的作用,XIAP 是 IAP 家族中抑制细胞凋亡的最主要成员。现总结了近年来对 XIAP 抗凋亡机制的研究及其在肿瘤化疗耐药方面的作用。

【关键词】 细胞凋亡; XIAP; 化疗耐药

Advances in the Research of Inhibitor-of-Apoptosis Protein XIAP in Chemoresistance LI Pei-ling, YANG Fan, YU Hai-wei. (The Second Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Harbin 150086, China)

Corresponding author: YANG Fan. E-mail: 109yangfan6@163.com

【Abstract】 The decrease of apoptosis rate of cells is the main mechanism of cancer and the decline of apoptotic index by drug is an important reason in chemoresistance. The inhibitor of apoptosis protein plays important role in suppressing apoptosis of cells. XIAP is the most important member of IAP family. This article reviews the recent advances in the research of its mechanism and chemoresistance.

【Key words】 Apoptosis; XIAP; Chemoresistance

细胞凋亡程度的降低是肿瘤发生的主要机制,目前肿瘤治疗失败的主要原因是其对化疗药物产生耐药性,已发现有很多机制参与肿瘤耐药性的产生。凋亡抑制蛋白(inhibitors of apoptosis IAPs)是细胞内一类独特的抗凋亡蛋白家族,能够钝化宿主对感染的自杀反应,包括 XIAP、c-IAP1、c-IAP2,神经元凋亡抑制蛋白(NIAP),livin 和 survivin 等。近来有研究显示, X 染色体连锁的凋亡抑制蛋白(X-linked inhibitor of apoptosis XIAP)对 Fas 和 caspase 诱发的内源、外源细胞凋亡过程有明显的抑制效应,在肿瘤化疗耐药中起非常重要的作用。

1 XIAP 的分子结构

XIAP 基因定位于 Xq25,相对分子质量约 57kU, cDNA 全长 2 540 bp。有两个特征性的结构域:① BIR 结构域,即杆状病毒 IAP 重复序列区(bauloviral inhibitor of apoptosis repeat, BIR)它是 IAP 家族蛋白的特征性结构,位于 N 端,是抑制 caspase 活性必不可少的;② RING 锌指结构域(RING Zn Finger)也是 IAP 家族抗凋亡重要的结构,位于 C 端,有 E3 泛素

连接酶活性,能催化自身及靶蛋白通过泛素化而降解^[1]。

2 XIAP 的表达和调节

Liston 于 1996 年运用 Southern 杂交和 PCR 技术在人胚胎脑组织中克隆出哺乳动物的 XIAP。研究表明,XIAP 几乎在所有的成年和胚胎组织中都有表达。XIAP mRNA 全长约 9 kb,其长 5'非翻译区 UTR(untranslated regions)上的内部核糖体进入位点(internal ribosome entry sequence, IRES),存在于某些原癌基因(c-myc、c-jun)和一些调节蛋白(Apaf-1)上,促使基因在不利的条件下(病毒感染、 γ 射线照射等)翻译表达,XIAP 表达增多^[2],参与恶性肿瘤的发生和发展过程,此时细胞内大多数的蛋白合成被抑制。Ramp 等^[3]认为 XIAP 的高表达是肿瘤恶性程度高的一个独立指标。对 XIAP 负性调节的蛋白有 XAF1(XIAP Associated Factor1)和 Smac/DIABLO(direct IAP protein with low pi)等线粒体结合蛋白^[4]。XAF1 定位于胞核,是一种肿瘤抑制基因,过度表达引发 XIAP 从胞质到胞核的重新分布,并削弱 XIAP 抑制凋亡的能力,拮抗 XIAP 抑制 caspase 的活性,在癌细胞中水平很低,在大多数细胞系里为高水平,说明 XAF1 失去对 XIAP 抗凋亡活性的抑制可能是肿瘤发生的重要机制之一。Smac 前体存在于正

常细胞线粒体,它在凋亡信号刺激下,释放到细胞质,经修饰形成成熟的 Smac,能够与 caspase 竞争结合 BIR 结构,解除 IAPs 的抑制作用,释放活化的 caspase。Smac/DIABLO 通过 N 端 4 个残基(AVPI)和 XIAP 的 BIR3 结合,并拮抗 XIAP 对 caspase 的抑制活性。

3 XIAP 抵抗化疗药物诱导细胞凋亡的机制

肿瘤对化疗药物耐药的产生主要是导致凋亡的效应分子活化的抑制,不能切割 DNA,结果使肿瘤细胞的死亡下降,耐药性的产生。

3.1 抑制 caspase 活性: XIAP 可直接结合并抑制 caspase-3、caspase-7 和 caspase-9,这种 caspase 选择性是由 BIR 结构域上保守氨基酸残基和 BIR 区间连接区 linker 的特点决定的^[5]。Suzuki 等^[6]发现 BIR1 和 BIR2 的连接区能与 caspase-3 及 caspase-7 的活性中心结合,竞争性抑制二者的活性,XIAP 的 BIR2 区能够结合 caspase-7 并有效抑制其活性。有研究显示,将 N 端 BIR2 及 BIR3 之间的连接区切断后,另一端的 BIR3 和环状锌指结构保持对 caspase-9 的抑制作用。N 端的 BIR1 和 BIR2 结构域仍然具有对 caspase-3 和 caspase-7 的抑制作用^[5]。单独的 BIR3 结构域能够抑制 caspase-9,单独的 linker 区不足以抑制 caspase-3 活性,单独的 BIR1 或 BIR2 也不能抑制 caspase-3^[7],说明 XIAP 被切割后的独立片段的功能不如完整的蛋白质充分。Shiozaki 的研究显示 XIAP 的不同 BIR 是以不同的方式抑制 caspase-3 和 caspase-9 的^[8]。XIAP 的 163~240 位氨基酸在蛋白质三级结构中形成螺旋环状结构,与 caspase-3 或 caspase-7 的活性部位非共价结合,抑制其活性。BIR3 与 caspase-9 的单体形成异源二聚体,使 caspase-9 保持单体结构丧失催化活性。

3.2 E3 泛素连结酶作用:细胞正常功能的发挥需要转录因子的激活,去除损伤和错误折叠的蛋白质,被去除的蛋白要与泛素分子结合,有 3 种酶参与这一过程:泛素激活酶 E1 (ubiquitin-activating enzyme)、偶联酶 E2 (ubiquitin-conjugating enzyme) 和泛素连结酶 E3 (ubiquitin protein ligase)。RING 环状锌指结构可以介导具有 E3 活性的 XIAP 催化自身和其靶分子的泛素化降解过程^[9],环状结构域的缺失或突变使 XIAP 不能被有效降解,导致细胞凋亡受到抑制。

3.3 通过其他分子参与的信号途径抑制细胞凋亡: Lewis 等^[10]应用基因突变的方法使 XIAP 基因点突变,使它失去对 caspase 的直接抑制作用,发现 XIAP 仍保留对 Smad、NF-KB 和 JNK 信号的激活活性,抑制细胞的凋亡。Stehlik 对猪血管细胞炎症反应的研究

发现,核因子 NF-KB 刺激内皮细胞明显上调 XIAP 的水平,过表达的 XIAP 可完全抵消 I-Kb 的作用,I-Kb 提高细胞在应激状态下的抗凋亡能力,保护细胞免受肿瘤坏死因子 TNF- α 介导的细胞凋亡,表明 XIAP 在炎症反映中能抑制血管内皮细胞的凋亡。国内有学者认为: XIAP 可以和 TGF- β 家族成员的骨形态蛋白 I 型受体及下游信号分子 TAB1 相互作用,作为接头蛋白抑制 caspase-1 诱导的凋亡。XIAP 通过与细胞存活激酶途径 PI3K/Akt 作用也是促使卵巢癌细胞对于化疗药物耐药和杂交瘤细胞存活的机制之一^[11,12]。有研究表明, Akt2 是 XIAP 发挥作用所必需的,是否其参与 XIAP 介导的泛素化还不清楚。Akt2 阻抑凋亡蛋白例如 Bad、P53 的表达和功能,保护凋亡抑制蛋白例如 XIAP 免受卡铂诱导的下调。

3.4 XIAP 与肿瘤:国内汪良等^[13]研究发现,通过转染 XIAP 基因,癌细胞对于化疗药物诱导的凋亡敏感性下降。转染了 XIAP 的膀胱癌 T24 细胞在相同浓度的丝裂霉素 C 的诱导下,凋亡率均有一定程度的下降,XIAP 阻滞了化疗药物诱导的膀胱癌细胞凋亡的发生,对膀胱癌的多药耐药性的发生有意义。有研究证明,从卵巢癌患者腹水中分离的 T 淋巴细胞表达 XIAP 的剪切片段,而正常人的 T 淋巴细胞中则没有^[14],表明 XIAP 较强的抗凋亡活性。Sasaki 在研究卵巢癌患者耐药机制的实验中转导反义 XIAP 不仅使卵巢癌细胞对顺铂诱导凋亡的敏感性增加,而且激活了 caspase 介导的 P53 积聚^[15]。Li 等^[16]检测了卵巢癌细胞中 XIAP 的表达情况,发现对化疗耐药细胞系 XIAP 的表达水平明显强于对化疗药物敏感的细胞系,并且后一类细胞系经顺铂处理后,XIAP 的表达进一步下降,凋亡指数上升,而对化疗药物耐药细胞系,顺铂对 XIAP 的水平及细胞凋亡的影响均不敏感。

4 XIAP 的基因治疗

采用将 XIAP 和目标基因共导入的方法可显著增强抗原特异性 T 细胞的免疫反应和抗肿瘤效应^[17]。Holcik 等^[18]在实验中将携带有反义 XIAP 的腺病毒导入非小细胞肺癌细胞系 H661 后,降低了 XIAP 蛋白水平,使癌细胞对低剂量 γ 照射敏感。Sasaki 在 4 个化疗药物耐药的卵巢癌细胞中转染 XIAP 的反义核苷酸的腺病毒载体,发现 XIAP 表达下降的同时,野生性 P53 的功能增强,并使细胞对化疗的敏感性增加。最近, Nomura 等^[19]用表达 XIAP 基因的重组质粒转染 LNCap 细胞的实验中,发现过表达 XIAP 的 LNCap 细胞可明显抑制紫杉醇诱导的细胞凋亡作用。因此,通过反义核酸技术或 RNA 干

扰对凋亡抑制基因进行阻抑诱导肿瘤细胞凋亡,有可能成为恶性肿瘤基因治疗新的靶标。相信随着研究的深入,XIAP 在肿瘤组织的表达和其抗凋亡机制都将被进一步阐明,必将为肿瘤的治疗开辟更宽阔的道路。

参 考 文 献

- Joazeiro CA, Weissan AM. RING finger proteins: mediators of ubiquitin ligase activity. *Cell*, 2000, 102: 549-552.
- Holcik M, Gibson H, Korneluk RG. *et al.* XIAP: Apoptotic brake and promising therapeutic target. *Apoptosis*, 2001, 6: 253-261.
- Ramp U, Krieg T, Caliskan E, *et al.* XIAP expression is an independent prognostic marker in clear-cell renal carcinomas. *Hum Pathol*, 2004, 35: 1022-1028.
- Vaux DL, Silke J. Mammalian mitochondrial IAP binding proteins. *Biochem Biophys Res Commun*, 2003, 304: 499-504.
- Sun C, Cai M, Meadows RP, *et al.* NMR Structure and mutagenesis of the third bir domain of the inhibitor of apoptosis protein XIAP. *J Biol Chem*, 2000, 275: 33777-33781
- Suzuki Y, Nakabayashi Y, Nakatak H, *et al.* X-linked inhibitors of apoptosis protein (XIAP) inhibits caspase-3 and -7 in distinct modes. *J Biol Chem*, 2001, 276: 27058-27063
- Sun C, Cai M, Gunasekera AH, *et al.* NMR structure and mutagenesis of the inhibitor of apoptosis protein XIAP. *Nature*, 1999, 401: 818-822
- Shiozaki EN, Chia J, Rigotti DJ, *et al.* Mechanism of XIAP-mediated inhibition of caspase-9. *Mol Cell*, 2003, 11: 519-527.
- Shin H, Okada K, Wilkinson JC, *et al.* Identification of ubiquitination sites on the X-linked inhibitor of apoptosis protein. *J Bio Chem*, 2003, 373: 965-971.
- Lewis J, Burstein E, Refeffy SB, *et al.* Uncoupling of the signaling and caspase-inhibitory properties of X-linked inhibitor of apoptosis. *J Biol Chem*, 2004, 279: 9023-9029.
- Cheng JQ, Jing X, Fraser M, *et al.* Role of X-linked inhibitor of apoptosis protein in chemoresistance in ovarian cancer; possible involvement of the phosphoinositide-3 kinase/Akt pathway. *Drug Resist Updat*, 2002, 5: 131-146.
- Zhang J, Li Y, Shen B. PI3-K/Akt pathway contributes to IL-6 dependent growth of 7TD1 cell. *Cancer Cell Int*, 2003, 3: 1-8
- Wang L, Zeng FQ, Chen FM, *et al.* Experimental study on XIAP blocking the induction of mitomycin C on bladder cancer apoptosis. *J Clin Urol*, 2002, 19: 226-228
[汪良, 曾甫清, 陈方敏, 等. 转然 XIAP 基因对丝裂霉素诱导膀胱癌细胞凋亡的影响. 临床泌尿外科杂志. 2004, 19: 226-228.]
- Johnson DE, Gastman BR, Wiecekowski E, *et al.* Inhibitor of apoptosis protein hILP undergoes caspase-mediated cleavage during lymphocyte apoptosis. *Cancer Res*, 2000, 60: 1818-1823.
- Sasaki H, Sheng Y, Kotsuji F, *et al.* Down-regulation of X-linked inhibitor of apoptosis protein induces apoptosis in chemoresistant human ovarian cancer cells. *Cancer Res*, 2000, 60: 5659-5666.
- Li J, Feng Q, Kim JM, *et al.* Human ovarian cancer and cisplatin resistance: possible role of inhibitor of apoptosis proteins. *Endocrinology*, 2001, 142: 370-380.
- Kim TW, Hung CF, Ling M, *et al.* Enhancing DNA vaccine potency by coadministration of DNA encoding antiapoptotic proteins. *J Clin Invest*, 2003, 112: 109-117.
- Holcik M, Yeh C, Korneluk RG, *et al.* Translational upregulation of X-linked inhibitor of apoptosis (XIAP) increases resistance to radiation induced cell death. *Oncogene*, 2000, 19: 4174-4177.
- Nomura T, Mimata H, Takeuchi Y, *et al.* The X-linked inhibitor of apoptosis protein inhibits taxol induced apoptosis in LNcap cells. *J Urol Res*, 2003, 31: 37-44.

(收稿日期: 2005-12-16)

(本文编辑: 孙岩伟)