



DOI:10.3969/j.issn.1673-2588.2013.02.011

<http://www.gjbl.net/gjblx/fileup/PDF/201302145.pdf>

Daxx 在细胞凋亡中的研究进展

刘锦红¹ 审校 度勤慧^{1,2} 综述

(1. 南华大学药物药理研究所, 湖南 衡阳 421001; 2 湖南中医药大学药学院药理教研室, 长沙 410208)

[摘要] Fas 死亡结构域相关蛋白 (Fas death domain-associated protein, Daxx) 是一种高度保守核蛋白, 能与 Fas 死亡结构域结合, 激活 Jun 氨基端激酶通路促细胞凋亡, 在某些情况下 Daxx 也具有抗凋亡作用。Daxx 在细胞凋亡中起着最重要的作用, 这将为某些疾病的发病机制研究提供一定的理论与实践基础。

[关键词] Fas 死亡结构域相关蛋白; 促凋亡; 抗凋亡

Progress in the cell apoptosis of Daxx

LIU Jinhong¹, TUO Qinhuai^{1,2}

(1. Institute of Pharmacy and Pharmacology, University of South China, Hengyang Hunan 421001; 2. Department of Pharmacology, Pharmacy College, Hunan University of Traditional Chinese Medicine, Changsha 410208, China)

Abstract As a highly conserved nuclear protein, Fas death domain-associated protein (Daxx) can activate the Jun-N-terminal kinase (JNK) pathway by binding to Fas death domain. In some cases, Daxx also has anti-apoptosis capacity. Daxx plays a significant role in apoptosis, which may lay a theoretical base for pathogenesis of some diseases.

Key words Fas death domain-associated protein; pro-apoptosis; anti-apoptosis

Fas 死亡结构域相关蛋白 (Fas death domain-associated protein, Daxx) 是 Yang 等^[1] 在 1997 年发现的一种高度保守核蛋白, 可激活 c-Jun 氨基末端激 (c-Jun-N-terminal kinase, JNK) 通路诱导细胞凋亡。Daxx 不仅有促细胞凋亡的作用, 在某些条件下还有抗细胞凋亡作用。Daxx 与早幼粒白细胞白血病蛋白 (promyleocytic leukaemia protein, PML)

在体内相互作用共定位于 PML 癌基因结构域 (PML oncogenic domains, PODs)。作为一种转录调控蛋白, Daxx 调节多种因子的转录, 影响着细胞凋亡。

近年来, 国内外研究人员对 Daxx 在促细胞凋亡、抗细胞凋亡、转录调控与凋亡等方面做了大量的研究和探索, 本文主要对近年来 Daxx 在生物学的研究情况作一综述。

收稿日期 (Date of reception): 2012-10-22

作者简介 (Biography): 刘锦红, 硕士研究生, 主要从事动脉硬化药物蛋白质组学与新药开发的研究。

通信作者 (Corresponding author): 度勤慧, Email: qhtuo@yahoo.com.cn

基金项目 (Foundation item): 国家自然科学基金 (30971267)。This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (30971267).

1 生物学特性

Daxx 是一种高度保守蛋白。人 Daxx 蛋白 (human Daxx, hDaxx) 由 740 个氨基酸组成, 分子质量为 81.3 kD, 鼠 Daxx 蛋白 (mouse Daxx, mDaxx) 由 739 个氨基酸组成, 分子质量为 81.4 kD。hDaxx 与 mDaxx 氨基酸序列的同源性为 69%。hDaxx 基因全长约 315 kb, 有 7 个外显子和 6 个内含子。由于转录后的不同修饰, hDaxx 分子有 3 种存在形式, 其分子质量分别为 70, 97 和 120 kD。hDaxx 有 4 个结构域, 即两个双螺旋结构域、一个富含酸性氨基酸结构域和一个富含丝氨酸/脯氨酸/苏氨酸 (serine/proline/threonine, SPT) 结构域, 这些结构域与 hDaxx 的调控转录作用密切相关。Daxx 广泛分布于成年人的肝、肾、心、胰腺, 以及胚胎心、肺等组织细胞内。此外, Alkan 等^[2]发现人慢性淋巴细胞白血病 (chronic lymphocytic leukemia, CLL) 细胞内也可见 Daxx 表达。

2 促细胞凋亡

最初 Yang 等^[1]发现 Daxx 是一种 Fas 受体胞浆死亡结构域结合蛋白, 可以介导细胞凋亡。南华大学药物药理研究所^[3]利用氧化型低密度脂蛋白 (oxidized low density lipoprotein, ox-LDL) 处理小鼠源性巨噬细胞 RAW264.7, 发现 ox-LDL 可上调 Daxx mRNA 和小凹蛋白-1 (caveolin-1) 的表达, 从而促使 RAW264.7 细胞凋亡; 而用特异性小干扰 RNA (small interfering RNA, siRNA) 干扰 Daxx 在 RAW264.7 细胞中的表达能降低 caveolin-1 的表达, 可抑制细胞凋亡。有结果表明 Daxx 对 Ox-LDL 诱导 RAW264.7 巨噬细胞凋亡具有介导作用。有研究^[4]同时还发现 Daxx 在人肝癌细胞 HepG₂ 细胞中的过表达对过氧化氢诱导的细胞凋亡有加强作用。Boehere 等^[5]将 Daxx 转染至 Juket T 细胞, Daxx 在 Juket T 细胞中的过表达使细胞对不同的化疗药物诱导的凋亡更加敏感。活化小神经胶质细胞中的 Daxx 又能诱导小神经胶质细胞的凋亡^[6]。Kwon 等^[7]研究发现 1,2,3,4,6-五-O-没食子酸-β-D-葡萄糖 (1,2,3,4,6-penta-O-galloyl-beta-D-glucose, PGG) 能够促进 ROS 的生成并减少 Daxx 的表达, 从而抑制细胞凋亡。灭活的促凋亡基因锌指转录因子 1 (zinc finger transcription factor 1, ZAC1)^[8]与 Daxx 的转录量减少有关, 在缺血再灌注 (ischemia/

reperfusion, I/R) 损伤的情况下能够降低心肌梗死的面积和细胞凋亡。这为心肌调控促凋亡基因包括 ZAC1 和 Daxx 之间的相互作用这一理论提供了支持。而 Daxx-小泛素化修饰相关因子 (SUMO-interacting motif, SIM)^[9]磷酸化可以增强 Daxx 对应激诱导的细胞凋亡的敏感性, 促进细胞凋亡。这些都为 Daxx 这一促细胞凋亡蛋白提供了依据。

由于以往对 Daxx 凋亡作用的研究大多是在肿瘤细胞中进行的, Khelifia 等^[10]对生理条件下即初级成纤维细胞中的 Daxx 进行了相关研究。利用 RNAi 封闭 Daxx 在成纤维细胞中的表达, 可使这种 Daxx 表达缺失的细胞对紫外线和氧化应激诱导的凋亡有耐受作用, 这些为 Daxx 在生理条件下具有促细胞凋亡作用提供了重要证据。

3 抗细胞凋亡

Daxx 不仅有促细胞凋亡作用, 在某些情况下还具有抗凋亡作用。Michaelson 等^[11]研究发现缺失 Daxx 基因的小鼠胚胎发育受损, 并伴随有大量胚胎干细胞凋亡, 这意味着 Daxx 是胚胎发育所必需的, 并直接或间接地起着抗凋亡作用。当用 siRNA 沉默过表达 Daxx 的 HeLa 细胞, Daxx 耗竭的 HeLa 细胞对凋亡的敏感性增强。Chen 等^[12]研究发现: 用 Daxx 特异性 siRNA 封闭转录调控内源性 Daxx, 可使细胞对应激诱导的凋亡更加敏感。Chaudhary 等^[13]用 4-羟基-2-丙烯醛 (4-hydroxy-2-nonenal, 4-HNE) 修饰 Daxx 的 668-671 位, 使经 4-HNE 修饰的 Daxx 从核质向胞浆转位加速, 从而诱导 HepG₂ 细胞凋亡; 而利用 siRNA 技术沉默 Daxx 表达同样引起 HepG₂ 细胞凋亡, 这都说明了 Daxx 具有抗细胞凋亡作用。

Cermák 等^[14]研究发现 Daxx 过表达可抑制 CD43 单抗 MEM59 诱导的人白血病细胞系 TF-1 发生凋亡。Zhang 等^[15]用小檗碱处理七种人急性白血病细胞系的细胞, 发现细胞内 Daxx, 泛素蛋白连接酶 (muricne double minute 2, MDM2), 疱疹病毒属伴随的泛素特异性蛋白酶 (herpesvirus associated ubiquitin specific protease, HAUSP) 等表达降低, 导致细胞凋亡。这些结果都说明 Daxx 具有抗细胞凋亡作用。

Zobalova 等^[16]发现将心肌细胞暴露在氧化应激或模拟缺氧的环境中, 其胞内活性氧 (reactive oxygen species, ROS) 蓄积增多, 细胞发生凋亡, Daxx 蛋白从核内转移定位胞质中但表达水平并无

增多趋势, 当转染 Daxx 后, Daxx 过表达能抑制心肌细胞凋亡, 表明 Daxx 在应激条件下对心肌细胞有抗凋亡作用。对正常心肌细胞的 Daxx 进行 siRNA 沉默, Daxx 低表达能够促进心肌细胞的凋亡, 表明 Daxx 在生理条件下对心肌细胞也有抗凋亡作用, 同时提示至少在实验室模拟条件下 Daxx 对心肌细胞具有保护作用。

4 调控凋亡的分子机制

作为一种重要的信号分子, Daxx 不但可以介导肿瘤坏死因子受体 (tumor necrosis factor receptor, TNFR) 超家族成员促凋亡信号的转导, 而且在细胞核 PODs 作为转录调控子发挥促凋亡作用, 在某些情况下又发挥着抗凋亡的作用。

4.1 Fas-Daxx 凋亡通路

Daxx 在多种应激情况下可以介导 Fas 诱导的细胞凋亡。这种凋亡途径主要是 Daxx 通过 C 端的 112 个氨基酸与 Fas 的死亡结构域 (death domain, DD) 相互作用后激活 JNK 通路或 P38 丝裂原活化蛋白激酶 (P38 mitogen-activated protein kinase, p38) 诱导细胞凋亡。Schepers 等^[17] 研究发现, 热休克蛋白 27 (heat shock protein 27, HSP27) 在与急性髓性白血病 (acute myeloid leukemia, AML) 细胞 Daxx 结合后, 使 P38/JNK 活性降低, 从而抑制了 AML 细胞凋亡。Daxx 缺失突变体 (氨基酸 501~625) 也可介导凋亡, 当 Daxx 501~625 与受体结合后激活凋亡信号调节激酶 1 (Apoptosis signal-regulating kinase 1, ASK1) 通路, JNK/P38 活化后通过 Bax 依赖的线粒体通路激活 caspase 级联反应, 导致凋亡发生^[18]。

Daxx 还可以通过抑制 PML 外的促凋亡基因的表达, 发挥抗 Fas 和应激介导的凋亡作用^[12]。而小泛素相关修饰因子 -1 (small ubiquitin-related modifier-1, SUMO-1) 则可拮抗 Fas 受体诱导的类风湿关节炎滑液成纤维细胞凋亡, 其机制主要是核内泛素化修饰后的 PML 可增加 Daxx 在 PML- 蛋白核小体 (nuclear bodies, NBs) 结构募集, 减少胞浆 Daxx 与 Fas 的死亡结构域结合, 从而抑制凋亡^[19]。

4.2 P53 通路

hDaxx 可加强 P53 介导的凋亡, 一方面 Daxx 抑制 P53 依赖的抗凋亡分子 P21 的活化作用, 另一方面 Daxx 可使靶基因 [如 Bax1, p53 诱导基因

3(p53-inducible gene 3, PIG3), 肌动蛋白相互作用蛋白 1 (actin-interacting protein 1, AIP1) 等] 表达轻微增加, 从而加强 P53 介导的细胞凋亡^[5]。此外, 由于 P53 参与多种凋亡途径如 DNA 损伤、药物及转化生长因子 - β (transforming growth factor β , TGF- β)^[20] 介导的凋亡过程, 故 Daxx 也可增强这些通路中凋亡的敏感性。

4.3 Daxx 与其他信号通路

Jung 等^[21] 研究发现 Daxx 作为钠氢交换体 1 (sodium hydrogen exchanger 1, NHE1) 的上游调节分子在缺血性心肌细胞凋亡中具有新的作用; 缺血性损伤过程中 Daxx 的核质转位能激活 NHE1, 抑制由 NHE1 介导的丝氨酸 / 苏氨酸蛋白激酶 1 (Akt-1) 活性从而加速细胞凋亡。而 NHE1 激活的可能机制是在细胞外调节蛋白 1/2 (extracellular regulated protein kinases 1/2, ERK1/2)、p160 Rho 相关卷曲蛋白激酶 (p160 Rho associated coiledcoil forming protein kinase, p160ROCK)、p90 核糖体 S6 蛋白激酶 (p90 ribosomal S6 kinase, p90^{RSK}) 及 p38 等激酶的作用下与 Daxx 结合易化了 NHE1 的磷酸化过程。因此通过阻断 Daxx 与 NHE1 之间的相互作用有望为缺血的有效治疗提供新的方案。

小泛素修饰蛋白连接酶 Stat 蛋白抑制剂 1^[22] (protein inhibitor of activated Stat-1, PIAS-1) 调节紫外线诱导的凋亡主要是通过使 Daxx 聚集到 SUMO 修饰位点上发挥促凋亡作用。NSP (neuroserpin) 5a3a^[23] 诱导头颈部细胞系 HN30 的凋亡主要是通过 p73-DAXX 途径和肿瘤坏死因子受体相关因子 2 (TRAF2)- 肿瘤坏死因子受体相关死亡结构域蛋白 (TRADD) 途径发挥作用。Chang 等^[24] 也发现 Daxx 与泛素化修饰的 Smad 4 (drosophila mothers against decapentaplegic protein-4) 直接作用, 抑制 Smad 4 的转录活性, 从而影响 TGF- β 的信号通路而介导细胞凋亡。

Muromoto 等^[25] 研究发现 Daxx 能够抑制糖蛋白 130 (glycoprotein 130, gp130) / 信号转导与转录激活因子 3 (signal transducer and activator of transcription, STAT3) 依赖性细胞的生长, 内源性地与 STAT3 相互作用, 抑制 STAT3 的 DNA 结合活性。此外, 该研究还发现敲除 Daxx 后, 用 siRNA 介导能够增强 STAT3 的靶基因的表达, 加速了 STAT3 蛋白介导的细胞周期进程。在敲除 Daxx 后, 乳酸脱氢酶从细胞渗出减弱, 这表明 Daxx 在 gp130/STAT3 介导的细胞增殖期间对细胞

死亡起着正调控的作用。Boellmann 等^[26]研究发现心肌细胞在缺血、炎症、牵张等应激情况下, 分子内 Daxx 主要与热休克因子 1(heat shock factor 1, HSF1) 相互作用, 加强 HSF1 的转录活性, 从而抑制心肌纤维化、抗炎、抗凋亡等发挥心肌保护作用。

5 展望

Daxx 在人组织细胞中分布广泛, 与 PML 相互作用共定位于细胞核的 PODs, 且 Daxx 定位 PODs 依赖于 PML。PML 是 PODs 的结构性蛋白, 通常情况下 Fas 只存在于胞浆, 不定位于细胞核。PML 往返于细胞浆与细胞核之间, 与 Daxx 一起调节胞浆中 Fas 诱导的细胞凋亡, 在缺乏 PML 的细胞中, Daxx 散在分布于致密染色质中, 其促凋亡的能力完全受损。有关 Daxx 在细胞凋亡中 Daxx 究竟是起促凋亡还是抗凋亡作用, 目前还存在一定的争议。但是, 越来越多的研究表明, Daxx 在体内外与多种蛋白相互作用, 在细胞凋亡等方面扮演着重要角色。对 Daxx 生物学功能及其作用机制的深入研究, 将有助于对 Daxx 的了解, 并在白血病、心血管疾病的防治等方面带来一些新的思路。

参考文献

1. Yang X, Khosravi-Far R, Chang HY, et al. Daxx, a novel Fas-binding protein that activates JNK and apoptosis[J]. *Cell*, 1997, 89 (7): 10672-1076.
2. Alkan S, Huang Q, Ergi NM, et al. Survival role of protein kinase C (PKC) in chronic lymphocytic leukemia and determination of isoform expression pattern and genes altered by PKC inhibition[J]. *Am J Hematol*, 2005, 79(2): 972-106.
3. He QZ, Tuo QH, Liao DF, et al. Daxx mediates oxidized low density lipoprotein induced cholesterol accumulation and apoptosis in macrophages by up regulating caveolin-1 expression[J]. *PIBB*, 2010, 37(8): 881-890.
4. Tuo QH, Xiong GZ, Liao DF, et al. The Effect of Over expressed Daxx in Liver Tumor Cells on The Apoptosis Induced by Oxidative Stress[J]. *PIBB*, 2008, 35(11): 1270-1275.
5. Boehere S, Nowak D, Hochmuth S, et al. Daxx over expression in T-lymphoblastic Jurkat cells enhances caspase-dependent death receptor- and drug-induced apoptosis in distinct ways [J]. *Cell Signal*, 2005, 17 (5): 581-595.
6. Yun HJ, Yoon JH, Lee JK, et al. Daxx mediates activation-induced cell death in microglia by triggering MST1 signalling[J]. *EMBO J*, 2011, 30(12): 2465-2476.
7. Kwon TR, Jeong SJ, Lee HJ, et al. Reactive oxygen species-mediated activation of JNK and down-regulation of Daxx are critically involved in penta-O-galloyl-beta-d-glucose-induced apoptosis in chronic myeloid leukemia K562 cells[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2012, 424(3): 530-537
8. Vincent A, Gahide G, Sportouch-Dukhan C, et al. Down-regulation of the transcription factor ZAC1 upon pre- and postconditioning protects against I/R injury in the mouse myocardium[J]. *Cardiovasc Res*, 2012, 94(2): 351-358.
9. Chang CC, Naik MT, Huang YS, et al. Structural and functional roles of Daxx SIM phosphorylation in SUMO paralog-selective binding and apoptosis modulation[J]. *Mol Cell*, 2011, 42(1): 62-74.
10. Khelifia F, D'alcontrasm S, Salomon I P. Daxx is required for stress-induced cell death and JNK activation [J]. *Cell Death Differ*, 2005, 12(7): 724-733.
11. Michaelson JS, Leder P. RNAi reveals anti-apoptotic and transcriptionally repressive activities of DAXX [J]. *J Cell Sci*, 2003, 116(2): 3452-3521.
12. Chen LY, Chen JD. Daxx silencing sensitizes cells to multiple apoptotic pathways[J]. *Mol Cell Biol*, 2003, 23 (20): 7108-7121.
13. Chaudhary P, Sharma R, Awasthi YC, et al. Mechanisms of 4-hydroxy-2-nonenal induced pro- and anti-apoptotic signaling [J]. *Biochemistry*, 2010, 49(29): 6263-6275.
14. Cermák L, Símová S, Andera L, et al. Molecular mechanisms involved in CD43-mediated apoptosis of TF-1 cells[J]. Roles of transcription Daxx expression, and adhesion molecules[J]. *J Biol Chem*, 2002, 277(10): 7955-7961.
15. Zhang X, Gu L, Li J, et al. Degradation of MDM2 by the interaction between berberine and DAXX leads to potent apoptosis in MDM2-overexpressing cancer cells[J]. *Cancer Res*, 2010, 70(23): 9895-9904
16. Zabalova R, Swettenham E, Chladova J, et al. Daxx inhibits stress-induced apoptosis in cardiac myocytes[J]. *Redox Rep*, 2008, 13(6): 263-270.
17. Schepers H, Geugien M, Vander TM, et al. HSP27 protects AML cells against VP-16-induced apoptosis through modulation of p38 and c-Jun. [J]. *Exp Hematol*, 2005, 33(6): 660-670.
18. Song JJ, Lee YJ. Daxx deletion mutant (amino acids 501-625)-induced apoptosis occurs through the JNK/p38-Bax-dependent mitochondrial pathway[J]. *J Cell Biochem*, 2004, 92(6): 1257-1270.
19. Meinecke I, Cinski A, Baier A, et al. Modification of nuclear PML protein by SUMO-1 regulates Fas-induced apoptosis in rheumatoid arthritis synovial fibroblasts[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2007,

- 104(12): 5073-5078.
20. Tetsuya K, Yayoi F, Nobuo H, et al. Mutant p53 disrupts the stress MAP kinase activation circuit induced by ASK1-dependent stabilization of Daxx[J]. *Cancer Res*, 2009, 69(19): 7681-7688.
 21. Jung YS, Kim HY, Kim J, et al. Physical interactions and functional coupling between daxx and sodium hydrogen exchanger 1 in ischemic cell death[J]. *J Biol Chem*, 2008, 283 (2): 1018-1025.
 22. Sudharsan R, Azuma Y. The SUMO ligase PIAS1 regulates UV-induced apoptosis by recruiting Daxx to SUMOylated foci. *cell [J]*. *J Cell Sci*, 2012, 125(23): 5819-5829.
 23. D'Agostino L, Giordano A. A novel dual signaling axis for NSP 5a3a induced apoptosis in head and neck carcinoma[J]. *Oncotarget*, 2011, 2(12): 1055-1074.
 24. Chang C C, Lin D Y, Fang HI, et al. Daxx mediates the small ubiquitin-like modifier-dependent transcriptional repression of Smad4[J]. *J Biol Chem*, 2005, 280(11): 10164-10173.
 25. Muromoto R, Kuroda M, Togi S, et al. Functional involvement of Daxx in gp130-mediated cell growth and survival in BaF3 cells[J]. *Eur J Immunol*, 2010, 40(12): 3570-3580.
 26. Boellmann F, Guettouche T, Guo Y, et al. DAXX interacts with heat shock factor 1 during stress activation and enhances its transcriptional activity[J]. *PNAS*, 2004, 101(12): 4100-4105.

(本文编辑 傅希文)

本文引用: 刘锦红, 虔勤慧. DAXX 在细胞凋亡中的研究进展 [J]. 国际病理科学与临床杂志, 2013, 33(2): 145-149. DOI:10.3969/j.issn.1673-2588.2013.02.011

Cite this article as: LIU Jinhong, TUO Qinhui. Progress in the cell apoptosis of Daxx[J]. *International Journal of Pathology and Clinical Medicine*, 2013, 33(2): 145-149. DOI:10.3969/j.issn.1673-2588.2013.02.011