

凋亡抑制蛋白 c-IAP1 和 Caspase-3 在喉癌中表达的研究

陈娟, 李兵

(重庆医科大学附属第一医院耳鼻咽喉科, 重庆 400016)

摘要: 喉癌是耳鼻咽喉外科常见的肿瘤之一, 其逐年增加的发病率和死亡率严重威胁着患者的健康, 其中以鳞状细胞癌(约 90%)为主, 其次是腺癌。凋亡抑制蛋白 c-IAP1 和天冬氨酸特异性半胱氨酸蛋白酶 3 的表达与喉癌的发展变化关系密切。本文将凋亡抑制蛋白 c-IAP1 和 Caspase-3 在喉癌中的表达作用进行了系统综述。

关键词: 喉癌; c-IAP1; Caspase-3; 表达作用

中图分类号: R739.65

文献标识码: A

DOI: 10.3969/j.issn.1006-1959.2018.02.13

文章编号: 1006-1959(2018)02-0037-03

Expression of Apoptosis Inhibitory Protein c-IAP1 and Caspase-3 in Laryngeal Carcinoma

CHEN Juan, LI Bing

(Department of Otolaryngology, First Affiliated Hospital of Chongqing Medical University, Chongqing 400016, China)

Abstract: Laryngeal cancer is one of the common tumors of otolaryngology. Its increasing incidence and mortality threaten the health of patients. Squamous cell carcinoma (about 90%), followed by adenocarcinoma. The expression of c-IAP1 and caspase-3 are closely related to the development of laryngeal carcinoma. In this paper, the expression of apoptosis-inhibiting protein c-IAP1 and Caspase-3 in laryngeal carcinoma were systematically reviewed.

Key words: Laryngeal carcinoma; c-IAP1; Caspase-3; Role of expression

喉癌(laryngeal carcinoma)是耳鼻咽喉外科常见的恶性肿瘤, 正常上皮由增生开始发展为恶性肿瘤, 一般要经过一个量变到质变的过程, 即由正常上皮→不典型增生→原位癌, 其中包括一个癌前病变阶段。其患病率占全身恶性肿瘤的 6%~8%, 约占耳鼻咽喉恶性肿瘤的 8.0%~35.0%, 其中最常见的是鳞状细胞癌, 其发生发展受多种因素的影响, 目前主要发现与生活方式、工作环境、电离辐射等有关, 这些因素均会导致喉癌的发病率增高。喉癌的发生除了受多种外界因素的影响, 其本质是细胞增殖和凋亡之间的平衡被打破, 引起了细胞凋亡发生紊乱。在这过程中 c-IAP1(inhibitor of apoptosis proteins-1, c-IAP1)和 Caspase-3(cysteine-specific proteinase 3, Caspase-3)发挥着重要的作用。c-IAP1 是近年来新发现的哺乳动物凋亡蛋白抑制因子, 为凋亡抑制蛋白家族(inhibitor of apoptosis proteins, IAPs)中的一个重要成员, 含有 3 个杆状病毒 IAP 重复子(BIR)结构域, 一个环指结构域和半胱天冬酶募集域凋亡抑制蛋白家族 IPAs(inhibitor of apoptosis proteins)是一类抑制细胞增殖相关因子, 主要通过信号传导通路、细胞周期和细胞凋亡等方面来调控细胞的凋亡^[1], 与肿瘤发生密切相关的共八种: c-IAP1、c-IAP2、NAIP、X-IAP、Survivin、Livin、ILP-1、

BRUCE^[2], c-IAP1 就是其中重要的一个, 同时, c-IAP1 通过半胱天冬酶募集域结构域与肿瘤坏死因子受体相关因子相互作用, 抑制凋亡的发生^[3]。Caspase 家族同样是导致细胞凋亡的一类蛋白水解酶, 可作用于天冬氨酸残基而被激活, 从而引起水解反应, 降解细胞的蛋白, 最终导致细胞凋亡^[4]。目前部分学者认为半胱氨酸蛋白酶是引起细胞解体的蛋白酶之一, 处于调节细胞凋亡的核心地位^[5]; 其中 Caspase-3 是被认为是调控凋亡最关键蛋白酶之一, 故 Caspase-3 的表达过低或无表达均可能是引起肿瘤发生^[6-7]。c-IAP1 蛋白和 Caspase-3 同时参与喉癌的发生和发展, c-IAP1 阻断细胞凋亡的机制是作用于细胞凋亡过程中的终末效应酶 Caspase-3^[8]。

1 c-IAP1 的化学结构、作用机制及与喉癌的关系

凋亡抑制蛋白(c-IAP1)在多种肿瘤中发现均有明显的高表达, 特别是喉癌、膀胱癌等。细胞核中的凋亡抑制蛋白的过表达与肿瘤的分期分级及其复发均有很大的关系, 是评估肿瘤患者预后的一个重要因素。c-IAP 的化学结构是 N 端拥有 3 个杆状病毒 IAP 重复序列, C 端包含或不包含一个指环结构, c-IAP1 通过 CARD 结构域与相应蛋白形成寡聚体, 抑制 caspase 酶的活性, 从而调节细胞凋亡, 借助指环结构发挥泛素连接酶的功能, 调节转录因子蛋白的作用, 调节细胞活性^[9-10]。还有学者研究表明 c-IAP-1 通过 BIR 与 procaspase-9 结合且抑制激活, 导致在 caspase 级联反应的开始就阻断凋亡^[11]。c-IAP1 还可以通过半胱天冬酶募集域结构域和肿瘤

作者简介: 陈娟 (1991.12-), 女, 重庆人, 硕士在读, 住院医师, 研究方向: 耳鼻咽喉头颈外科学

通讯作者: 李兵 (1968.4-), 男, 四川犍为人, 博士, 主任医师, 研究方向: 头颈肿瘤与核医学的基础研究与临床工作

坏死因子受体作用,实现抑制凋亡的发生^[12]。c-IAP1 在细胞周期的S期可以观察到对DNA 损伤,IAP 靶向分子在肿瘤细胞中克服转录因子活性的能力。c-IAP1 是一种人体大量存在的胞质蛋白,目前的研究表明与肿瘤的发生发展有关,主要包括白血病、淋巴瘤、肺癌、卵巢癌、肾细胞癌、黏膜和色素瘤、腺样囊性癌等肿瘤^[13],凋亡抑制蛋白的过度表达可以防止促凋亡的刺激。IAPs (c-IAP1,c-IAP2,XIAP 和 Survivin)在卵巢子宫内膜瘤的人中异位子宫内膜基质细胞(ESC)中均有表达。同时人体异位子宫内膜组织中的 c-IAP1 和蛋白表达水平高于非特异性子宫内膜组织,且在小鼠模型的子宫内膜实验中得到验证。既往有学者发现 c-IAP1 蛋白在食管癌组织细胞质中表达率明显增高,经药物处理后,Smac 介导了 c-IAP1 的降解,导致了食管癌细胞对化疗药物的敏感性大大增加^[14]。同时,c-IAP1 蛋白表达与甲状腺腺瘤的发生发展有明显的关系,低分化甲状腺癌中的阳性表达强度明显强于高分化癌,c-IAP1 在肿瘤的发生发展中有重要推动作用,减弱肿瘤细胞的增殖,在将来有可能成为治疗恶性肿瘤的一种新的思路^[15]。在喉癌组织中,c-IAP1 蛋白表达明显低于癌旁正常喉黏膜组织,表明 c-IAP1 在喉癌的发展过程中起抑制作用^[16]。同时对于临床未发现转移的喉癌患者如果出现大量 c-IAP1 的表达,则需要考虑颈部淋巴结转移可能,手术是需要对颈部淋巴结进行清扫^[17]。

2 Caspase-3 的化学结构、作用机制及与喉癌的关系

Caspase 是具有特异天冬氨酸的半胱氨酸蛋白酶,在细胞凋亡过程中处于核心地位,与氨基酸序列、结构均相似,以无活性的酶原存在于细胞中,由3 部分组成,分别是一个N 端前域和一大一小两个亚基,当酶原被激活后,大小亚基解离重新组装成四聚体的活性酶,Caspase 在这过程中如果被激活,将会表现出级联放大,主要原因是Caspase 具有自我活化和激活的功能^[18]。在Caspase 家族中,Caspase 3 是调控细胞凋亡的关键蛋白酶之一,被认为是Caspase 9 的效应器^[19],处于凋亡有序级联反应的终端,即最终的效应型家族成员,因其具有Caspase 蛋白共性,如果被激活,细胞凋亡将不可避免,故有学者将Caspase-3 称为“死蛋白酶”,Caspase-3 是细胞凋亡蛋白酶级联反应的关键步骤。正常情况下,Caspase-3 以无活性的酶原存在于细胞液中,如果一

旦有细胞凋亡信号的出现将导致Caspase-3 发生裂解而被活化。Caspase-3 位于caspase 级联反应的下游,正常情况下参与细胞分化、趋化因子的产生、组织再生与重建等、神经功能的调节、神经元的再生和肿瘤放疗后的再增殖等过程。Caspase-3 对细胞凋亡所起的调控主要表现在一下几个方面:①打破细胞内环境平衡及细胞自身修复功能;②细胞周期停止;③细胞自身的瓦解;④使细胞脱离生存所需要的环境。Caspase-3 蛋白是细胞凋亡有序级联反应过程中关键的终末途径,故将称其为细胞凋亡过程中最终执行官^[20]。吴运生^[20]等研究发现在腺瘤和腺癌肿瘤细胞中Caspase-3 的表达明显低于正常细胞中的表达,且表现出Caspase-3 的表达程度与恶性肿瘤的恶性程度呈负相关,表明Caspase-3 在细胞凋亡过程中的关键作用。目前的研究表明Caspase-3 表达水平与多种疾病发生相关,不仅仅是肿瘤,如短暂性脑缺血后。在化疗药物作用下,上调caspase-3 可增强药物对肿瘤细胞的敏感性。Caspase-3 对抗细胞凋亡起负向调节作用,在喉癌、癌旁组织中表达强度均呈上升趋势,Caspase-3 的表达强度还与临床分期、淋巴结转移及病理分级有关;而与临床分型、肿瘤大小、吸烟量、年龄和性别无关。

在肿瘤细胞中,细胞色素C等多种因素的缺失,导致Caspase-3 无法被活化,抑制了细胞的凋亡,肿瘤细胞的凋亡减少,无限制的增殖增加,引起了肿瘤的发生。孟凡生^[21]发现,喉癌的发生可能与在喉癌组织中Caspase-3 蛋白的低表达和声带息肉组织中Caspase-3 蛋白的高表达可能有关,表明Caspase-3 低表达或者不表达可能导致细胞正常凋亡减少,从而促使肿瘤发生发展。在对乳腺癌、肝癌、胃癌等多种恶性肿瘤的研究发现,Caspase-3 蛋白表达下降可能与肿瘤组织的出现高转移潜力,甚至出现远处转移、复发及预后不良等有关。杜锦朵等^[22]在喉癌患者术后切缘组织中发现Caspase-3 的表达率随肿瘤复发增快而依次降低,提示喉癌组织Caspase-3 的表达高的患者可能该喉癌组织分化程度更高、恶性程度低、肿瘤细胞增殖弱,结果是这类喉癌患者预后相比Caspase-3 低表达更好。还有其他因素导致Caspase-3 的活性降低,例如喉癌组织在生长过程中随着肿瘤侵袭的范围的不断的扩大,会造成周围组织缺血缺氧坏死,从而产生肿瘤炎症改变,产生大量自由基,引起细胞内炎症因子明显增加,引起血管内皮细胞的破坏及痉挛,进而出现低灌

注,从而诱导 bFGF 表达增高,促进内皮细胞分裂增殖,即可促进组织内毛细血管快速增生,又可抑制 Caspase-3 的表达,抑制肿瘤细胞凋亡作用,导致细胞快速增殖。

3 结论

目前我国喉癌的治疗包括手术、放疗、化疗、免疫治疗等,在选择治疗方案时需从多方面综合考虑,如患者的年龄,身体状况,肿瘤分型、侵袭范围等。主要以手术治疗为主,全喉切除术与选择性部分喉切除术具有相同的临床预后和转归,在尽可能切除肿瘤和保留部分喉功能的基础上,重建喉功能和减少复发是治疗的目标之一。

c-IAP1 蛋白对喉癌细胞凋亡有抑制作用,从而促使肿瘤细胞异常增殖,加速疾病的发展,有效的抑制 c-IAP1 蛋白的活性,未来可能成为喉癌治疗的新方法。Caspase-3 的表达减少或者不表达将会引起喉癌肿瘤细胞的凋亡减少,导致肿瘤细胞增殖,加速了喉癌的浸润和转移。通过增强 Caspase-3 在细胞凋亡中的调控作用,有助于为喉癌患者的预防复发、合理有效的治疗提供可借鉴的治疗新方法,同时增加 Caspase-3 活性是肿瘤细胞凋亡加速的作用,将会有利于喉癌患者的治疗,Caspase-3 可能成为喉癌病情进展、转移及预后评估的一个重要参考指标,成为新的喉癌治疗新靶点。

参考文献:

- [1]Ekedahl J,Joseph B,Grigoriev MY,et al.Expression of inhibitor of apoptosis proteins in small-and non-small-cell lung carcinoma cells[J].Exp Cell Res,2002,279(2):277-290.
- [2]Weidner N.Current pathologic methods for measuring intratumoral microvessel density within breast carcinoma and other solid tumors[J].Breast Cancer Res Treat,1995,36(2):169-180.
- [3]Samuel T,Okada K,Hyer M,et al.cIAP1 Localizes to the nuclear compartment and modulates the cell cycle [J].Cancer Res,2005,65(1):210-218.
- [4]赵瑞杰,李引乾,王会,等.Caspase 家族与细胞凋亡的关系[J].中国畜牧杂志,2010,46(17):80-85.
- [5]弓娟琴.Fas 介导的凋亡与 caspase 家族[J].国际皮肤性病杂志,2001,27(5):279-281.
- [6]郭真理,陈柯,王晓秋,等.子宫内膜样腺癌中 MDM2、Livin 和 Caspase-3 蛋白及 mRNA 的表达 [J].安徽医科大学学报,2011,46(3):223-227.
- [7]陈力,李凡,任国胜.靶向 Livin 的 RNA 干扰对食管癌 Eca-109 细胞凋亡相关蛋白 Caspase-3 和 Caspase-9 表达的影响[J].重庆医科大学学报,2011,36(3):298-302.
- [8]周兰柱,王文忠,孙哲,等.喉癌前病变及喉癌中 Livin 表达的

意义及其与 Caspase-3 表达的关系 [J].中国耳鼻咽喉头颈外科,2016,23(3):173-174.

- [9]Dai Z,Zhu WG,Morrison CD,et al.A comprehensive search for DNA amplification in lung cancer identifies inhibitors of apoptosis cIAP1 and cIAP2 as candidate oncogenes[J].Hum Mol Genet,2003,12(7):791-801.
- [10]Burke SP,Smith L,Smith JB.cIAP1 cooperatively inhibits procaspase-3 activation by the caspase-9 apoptosome [J].J Biol Chem,2010,285(39):30061-30068.
- [11]Deveraux QL,Roy N,Stennicke HR,et al.IAPs block apoptotic events induced by caspase-8 and cytochrome c by direct inhibition of distinct caspases[J].EMBO J,1998,17(8):2215-2223.
- [12]Samuel T,Welsh K,Lober T,et al.Distinct BIR domains of cIAP1 mediate binding to and ubiquitination of tumor necrosis factor receptor-associated factor 2 and second mitochondrial activator of caspases[J].J Biol Chem,2006,281(2):1080-1090.
- [13]Liao Y,Zeng H,Wang X,et al.Expression patterns and prognostic significance of inhibitor of apoptosis proteins in adenoid cystic carcinoma and pleomorphic adenoma of lachrymal gland [J].Exp Eye Res,2009,88(1):4-11.
- [14]许杨,刘芳,周兰萍,等.c-IAP1 在食管鳞癌中的表达及其对化疗敏感性的影响[J].世界华人消化杂志,2011(11):1138-1144.
- [15]成克伦.c-IAP1 和 bax 蛋白在甲状腺癌中的表达与细胞凋亡[J].肿瘤防治研究,2009,36(10):855-857.
- [16]路秀英,李晓明.凋亡抑制蛋白 c-IAP1 在喉癌中的表达及其与细胞凋亡的关系[J].实用肿瘤学杂志,2007,21(5):401-402.
- [17]Marioni G,Bertolin A,Giacomelli L,et al.Expression of the apoptosis inhibitor protein Survivin in primary laryngeal carcinoma and cervical lymph node metastasis [J].Anticancer Res,2006,26(5B):3813-3817.
- [18]Kang N,Cao SJ,Zhou Y,et al.Inhibition of caspase-9 by oridonin,a diterpenoid isolated from *Rabdosia rubescens*,augments apoptosis in human laryngeal cancer cells[J].International Journal of Oncology,2015,47(6):2045-2056.
- [19]Danial NN,Korsmeyer SJ.Cell death:critical control points[J].Cell,2004,116(2):205-219.
- [20]吴运生,程清洲.大肠癌及腺瘤中 caspase-3 和 bcl-2 的表达及临床意义[J].数理医药学杂志,2003,16(4):300-302.
- [21]孟凡生,高珊,徐勤,等.Caspase-3 蛋白在喉鳞癌组织中表达及与喉癌细胞凋亡的对比研究 [J].临床和实验医学杂志,2013,2(4):258-260.
- [22]杜锦朵,孙晓芳,田从哲,等.喉癌手术切缘中 Survivin 和 Caspase-3 及 p53 的表达意义及相关性研究[J].临床耳鼻咽喉头颈外科杂志,2008,22(3):117-118.

收稿日期:2017-8-14;修回日期:2017-9-13

编辑/成森