PIBB 生物化学与生物物理进展
Progress in Biochemistry and Biophysics
2010, 37(10): 1067~1073
www.pibb.ac.cn

受体相互作用蛋白 3*
——细胞凋亡与坏死的调节阀

许 杨 赵晓航**
(中国医学科学院 / 北京协和医学院 肿瘤研究所，分子肿瘤学国家重点实验室，北京 100021)

摘要 综述了受体相互作用蛋白(RIPs)蛋白结构和 RIP3 调控细胞凋亡与坏死机制的研究进展．受体相互作用蛋白 3 (receptor-interacting protein 3, RIP3)是丝 / 苏氨酸蛋白激酶家族成员之一，该蛋白质家族包含一类高度保守的丝 / 苏氨酸激酶结构域．RIP 家族激酶作为细胞应激传感分子，在调控细胞凋亡、细胞坏死和存活通路中发挥重要作用．近年发现，RIP3 参与肿瘤坏死因子 TNFα 诱导的细胞程序化坏死的生物学过程．认识 RIP3 调控 TNFα 诱导的细胞凋亡与坏死不同死亡途径转换的分子机制，有助于发现肿瘤治疗的新策略．

关键词 受体相互作用蛋白 3(RIP3)，凋亡，坏死
学科分类号 Q255，R73-3
DOI: 10.3724/SP.J.1206.2010.00177

受体相互作用蛋白(receptor-interacting proteins, RIPs)是一类丝 / 苏氨酸蛋白激酶家族成员，该蛋白质家族含有一类高度保守的丝 / 苏氨酸激酶结构域．RIP 家族蛋白质作为重要的信号分子参与细胞应激反应，针对病原感染、炎症、细胞分化和 DNA 损伤等不同应激信号，RIP 蛋白启动和调控细胞应激反应，参与决定细胞走向凋亡、坏死或存活等不同生存发展方向．近年研究发现，在肿瘤坏死因子 α(TNFα)诱导细胞凋亡的信号通路中，RIP3 蛋白在阻断细胞凋亡的特定条件下，参与决定细胞程序化坏死(necroptosis)的命运转换．本文综述了 RIP 家族成员的结构与定位特征，以及 RIP3 蛋白对细胞凋亡和坏死调控作用的研究进展．

1 RIP 家族成员的结构与定位特征

RIPs 是一类丝 / 苏氨酸蛋白激酶，该蛋白激酶家族的结构特点是具有一段高度保守的丝氨酸(serine)和苏氨酸(threonine)激酶的结构域．RIPs 家族由 7 个成员组成，包括 RIP(RIP1)、RIP2(RICK/CARDIAK)、RIP3(RIPK3)、RIP4(DIK/PKK)、RIP5(SgK288)、RIP6 (LRRK1) 及 RIP7 (LRRK2)．RIP1 的 N 端包含一个丝 / 苏氨酸激酶结构域(kinase domain，KD)，C 端包含一个死亡结构域(death domain，DD)和一个称为 RIP 同源结合基序(RIP homotypic interaction motif, RHIM)的结构域，RIP2 的 C 端包含一个 Caspase 活化募集结构域(Caspase recruitment domain, CARD)，RIP3 除 N 端包含一个 KD 结构域，其 C 端也包含一个 RHIM 结构域，在 RIPs 家族中只有 RIP1 和 RIP3 蛋白包含 RHIM 结构，RIP4 和 RIP5 蛋白的 C 端均匀分布着 11 个锚蛋白的重复序列(ankyrin repeats, ANK)，RIP6 蛋白的 N 端包含 3 个重复的 ANK 结构域，8 个亮氨酸富集区(leucine-rich repeats, LRR)和 1 个 Roc/COR 结构域(ras complex protein/C-terminal of Roc), RIP7 的 N 端包含 9 个 LRR 和 1 个 Roc/COR 结构域，在其 C 端有 1 个 WD 40 结构域(图 1)．RIP 家族蛋白的上述结构特点使其具有某些相似的生物功能，在应激刺激下，细胞外信号经细胞表面受体转导，引发细胞内环境和信号改变，RIPs 在引发细胞的一系列下游级联反应中发挥着重要调控作用[1].

* 国家自然科学基金(30721001, 30973373, 30772507, 81071811), 国家高技术发展计划(863)(2006AA02A403, 2006AA02A308)和国际科技合作与交流专项(2008DFA31130)资助项目.
** 通讯联系人.
Tel: 010-67709015, E-mail: zhaoxh@cicams.ac.cn
收稿日期：2010-04-06，接受日期：2010-06-14

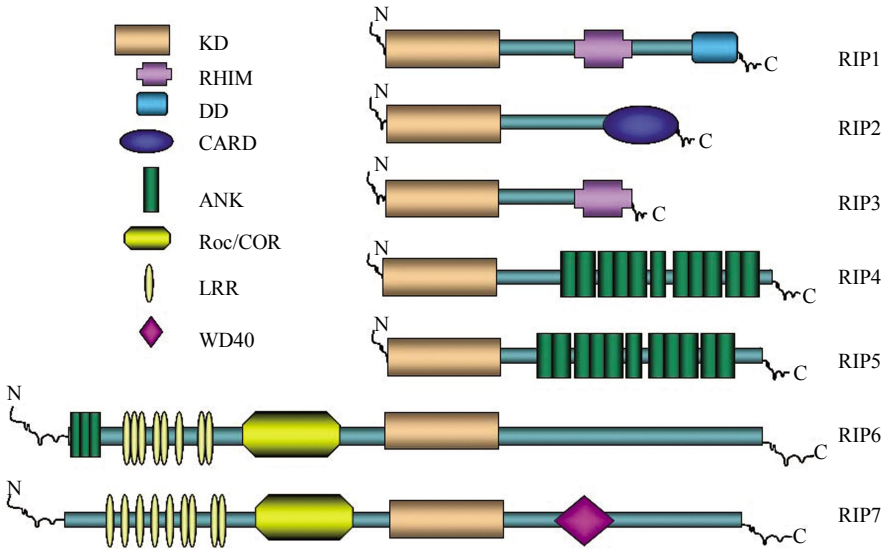

Fig. 1 Structure domain of RIP family protein[1]

图 1 RIP 家族蛋白的结构简图[1]

RIPs 家族由 7 个成员组成，包括 RIP1、RIP2、RIP3、RIP4、RIP5、RIP6 及 RIP7. 其中，含有丝 / 苏氨酸激酶结构域(KD 蛋白激酶)、RIP 同源结合基序(RHIM)、死亡结构域(DD)、Caspase 活化募集结构域(CARD)、锚蛋白重复序列(ANK)、Ras 复合蛋白(Roc/COR)、亮氨酸富集区(LRR)和 WD40 等结构域.

Yu 等[2]1999 年首次克隆了 *rip3* 基因，含有 518 个氨基酸的 RIP3 蛋白是 RIPs 激酶家族分子质量最小的蛋白质，其 N 端为 Ser/Thr 激酶结构域，C 端包含一个 RHIM 结构. 通过突变分析, Yang 等[3]鉴定了 RIP3 蛋白序列中含 31 个氨基酸(442～472 位)的非典型细胞核定位信号(nuclear localization signal，NLS)和 3 个富含亮氨酸的核输出信号(nuclear export signal，NES)，分别为 NES1(224～287 位)、NES2(333～358 位)和 NES3(1～223 位).

3 种 NES 介导 RIP3 的不同出核方式，其中 NES1 和 NES2 依赖染色体区域稳定蛋白(chromosome region maintenance1，CRM1)介导 RIP3 出核. CRM1 是一个细胞周期调节蛋白，是细胞增生和维持染色体区域稳定所必需的核蛋白，通过与包含 NES 序列的蛋白质结合 CRM1 介导转运细胞核内蛋白质至核孔出核. 而 RIP3 的 NES3 则通过一种 CMR1 非依赖性方式介导 RIP3 蛋白出核(图 2)[4-6].

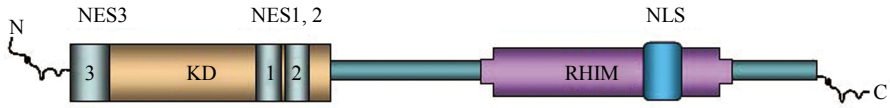

Fig. 2 Structure domain of RIP3 protein[4-6]

图 2 RIP3 蛋白的结构简图[4-6]

RIP3 蛋白序列中包含 31 个氨基酸(442～472 位)的细胞核定位信号(NLS)，及 3 个富含亮氨酸的核输出信号(NES)，分别为 NES1(224～287 位)、NES2(333～358 位)和 NES3(1～223 位).

人的 *rip3* 基因定位于染色体 14q11.2，该区域在多种肿瘤中发生改变. RNA 印迹分析显示，RIP3 在心脏、脑、胎盘、骨骼肌、肾、胰腺、脾、外周血淋巴细胞表达；在前列腺、睾丸和结肠中低表达；在肺、肝、胸腺、卵巢、小肠及肿瘤细胞系中未见表达. RIP3 蛋白在多种组织中表达，在胰

腺组织中显著高表达[7-8]. 免疫荧光分析显示，外源转染表达的 RIP3 蛋白以点状形态定位于线粒体. Yang 等[3]发现，在 HeLa 细胞中外源表达的 RIP3 定位于细胞质，突变分析显示 RIP3 蛋白可在细胞质和细胞核中穿梭，表明 RIP3 是一种细胞核质穿梭蛋白. RIP3 蛋白的细胞核质穿梭功能依赖于其结构中的 NES 和 NLS 信号序列. Xie 等[9]检测了 RIP3 蛋白在 NIH3T3 细胞中的定位，发现在正常情况下 RIP3 定位于细胞浆，当细胞经 TNFα和广谱 Caspase 抑制剂 z-VAD 处理后，RIP3 则定位于细胞浆和细胞核等不同部位. 细胞经 TNFα 单独处理，RIP3 蛋白在细胞质中呈弥散状分布，与未经处理的对照细胞相同；当细胞经过 TNFα、凋亡调控蛋白 Smac 小分子模拟物(Smac mimetic)和 z-VAD 共同处理，RIP3 呈点状分布，且其免疫荧光强度显著增强. 定位分析提示，RIP3 蛋白的点状分布并未与线粒体、内质网、高尔基体、过氧化物酶体、内涵体及溶酶体等细胞器间存在共定位关系[10].

Yang 等[11]发现细胞内存在两种 RIP3 剪切异构体，分别为 N 端截断 RIP3β 和 RIP3γ. 截断的 RIP3 异构体缺乏 N 端激酶结构域，因而没有丝/苏氨酸激酶活性. 体外瞬时共转染 RIP3β 和 RIP3γ，不仅不能诱导细胞凋亡，还下调内源 RIP3 诱导的细胞凋亡；异构体 RIP3β 和 RIP3γ 缺少 NES 信号，丧失了核质穿梭能力，主要定位于细胞质，异构体 RIP3γ 的转录水平显著高于全长 RIP3，可能与肿瘤的发生发展相关. 用核转运抑制剂(leptomycin B, LMB)处理未能促进细胞核定位. 同时，结肠癌和肺癌组织中 RT-PCR 分析显示，异构体 RIP3γ 的转录水平显著高于全长 RIP3，可能与肿瘤发生相关. Yang 等[9]发现 N 端截断的 tRIP3 (224～518 个氨基酸)能显著诱导肝癌细胞凋亡. 突变分析显示，Fas 相关死亡结构域(Fas-associated death domain，FADD)的负性突变可以抑制 tRIP3 诱导的凋亡，而 tRIP3 的突变不能抑制 FADD 诱导的凋亡，提示 tRIP3 可能在 FADD的上游，参与调控细胞凋亡. 总之，RIP3 在细胞内的确切定位机制尚不十分明确，RIP3 的亚细胞定位与其生物学功能密切相关.

2 RIP3 的生物学功能

2.1 RIP3 与细胞凋亡

早期的研究显示 RIP3 具有促进细胞凋亡的功能. 在多种体外培养的肿瘤细胞中外源过表达 RIP3 蛋白，能显著地诱导细胞凋亡. RIP3 介导的细胞凋亡依赖 Caspase 和 RIP3 蛋白 C 端的 RHIM 结构域，Bcl2 和 Bcl-xL 及 FADD 的负性突变可抑制 RIP3 介导的细胞凋亡，提示 RIP3 可能通过与含死亡结构域的 CED 同源蛋白(RIP associated Ich-1/CED homologous protein with death domain, RAIDD)的相互作用，破坏线粒体功能，激活 Caspase2，促进细胞凋亡[2, 7-8]. 进一步，Yu 等[2]发现，N 端缺失激酶结构域 KD 的 RIP3 突变体可诱导细胞凋亡，而 C 端突变则不能诱导细胞凋亡，提示 RIP3 的 C 端包含 RIP3 诱导细胞凋亡所必需的结构域. Yang 等[3]报道诱导细胞凋亡的最小 RIP3 的片段位于氨基酸 442～472 位点，推测该氨基酸序列包含一个非典型的 NLS 信号和一个 RHIM 结构域，表明 RIP3 的 C端在介导细胞凋亡中具有重要的作用.

在肿瘤坏死因子 α(tumor necrosis factor α，TNFα)诱导的细胞凋亡中，TNF 受体 1(TNF receptor 1，TNFR1)可募集一个接头蛋白，即 TNF 受体相关死亡结构域(TNFR1-associated death domain protein，TRADD)，RIP1 通过 C 端的 DD 结构域募集 FADD、TRADD 活化 Caspase 形成死亡信号复合体(death-inducing signaling complex，DISC)促进细胞凋亡. TRADD 可通过募集肿瘤坏死因子受体相关因子 2(TNF-receptor-associated factor 2，TRAF2)、细胞凋亡抑制蛋白(cellular inhibitor of apoptosis protein，cIAP)1 和 2，在胞浆膜受体上形成 TNFR1/TRADD 复合体Ⅰ. 在复合体Ⅰ中，TNFR1 上的 c-IAP1/2 和 RIP1 复合物，通过 c-IAP1/2 蛋白 E3 泛素连接酶，靶向 RIP 蛋白的赖氨酸 K63 进行多聚泛素化，进一步募集转化生长因子活化激酶(transforming growth factor-beta-actived kinase1，TAK1)和 TAK1 结合蛋白(TAK1 binding protein，TAB)结合，在细胞膜上形成一个大的蛋白激酶复合体Ⅰ磷酸化 IκB 激酶(Ⅰ-kappa-B kinase, IKK)，IKK 催化 NF-κB 抑制因子(nuclear factor of kappa light polypeptide gene enhancer in B-cells inhibitor, IκB)的磷酸化与降解，释放并活化 NF-κB，促进细胞存活[12]. 而 RIP3 通过其 C 端的 RHIM 与 RIP1 结合，抑制 RIP1 介导的 NF-κB 活化，促进细胞凋亡[7-8]. 在强的凋亡信号 TNFα 刺激下，TRADD 和 RIP1 离开 TNFR 的复合物，在胞浆中与 FADD 和 Caspase8 形成胞浆复合物Ⅱ，DISC 复合体活化 Caspase8，活化的

Caspase8 裂解 BH3 结构域凋亡诱导蛋白(BH3-interacting domain death agonist，Bid)，从而导致线粒体膜透性增加，启动线粒体介导的内源凋亡通路，形成凋亡复合体扩大了凋亡信号，促进细胞凋亡[13]. 同时，活化的 Caspase8 通过识别 RIP1 的 Asp324 位点，将 RIP1 剪切形成 C 端产物，丧失了激活 NF-κB 的功能，可能进一步促进细胞凋亡[14]. Sun 等[15]发现 RIP3 通过其 C 端的 RHIM 结构域与 RIP1 相互作用，RIP3 被募集到 TNFR1 复合物Ⅰ，通过抑制 RIP1 介导的 NF-κB 的活化，抑制细胞存活途径，发挥 RIP3 促进细胞凋亡的功能. Li 等[16]发现 RIP3 的 NLS 足以触发细胞凋亡和 RIP3 介导的 NF-κB 活化. 外源表达 RIP3、RIP-NLS 和截断 NLS 信号序列的 RIP3(RIP3-ΔNLS)可诱导细胞产生不同的凋亡比率，提示过表达 RIP3 诱导细胞凋亡. 研究发现在 NLS 中包含在 RHIM 基序内，可介导 RIP3 形成同源二聚体而与 RIP 相互作用. NLS 的完整性决定了 RIP3 诱导的细胞凋亡. Feng 等[17]发现在 TNFα 诱导的细胞凋亡途径中，RIP3 与 RIP1 相似，在凋亡信号刺激下，RIP3 可被活化的 Caspase8 于 Asp328 位点识别和剪切. 包含 C 端片段的 RIP3 丧失了激酶活性，但仍保持诱导 Caspase 依赖的细胞凋亡，并具有更强的激活 NF-κB 的功能. 总之，过表达 RIP3 导致细胞依赖 Caspase 介导的细胞凋亡，RIP3 可能参与 TNFα 诱导的细胞凋亡通路，但对于 RIP3 调控细胞凋亡的分子机制还不十分清楚.

对于 RIP3 调控 NF-κB 信号通路的机理存在许多争议. 在 RIP1 介导的 NF-κB 活化的通路中，RIP1 依赖 cIAP1 泛素连接酶活性，形成 RIP1 的多聚泛素化，同时募集 TAK1 和 TAB，磷酸化 IKK，从而磷酸化 IKB，至其降解，释放 NF-κB 分子进入细胞核，促进细胞存活. Meylan 等[18]的研究证明，RIP1 介导了 Toll 样受体相互作用因子(Toll like receptor interact factor, Trif)诱导的 NF-κB 活化，而 RIP3 通过 RIMH 竞争与 RIP1 的结合，负调控 Trif-RIP1 诱导的 NF-κB 活化. Sun 等[15]通过缺失突变和免疫共沉淀分析，揭示 RIP1 蛋白含有一个 RHIM，并确定了 RIP3 蛋白与 RIP 相互作用的最小结合位点(411～474 位)，此段氨基酸序列包含一个非典型的 NLS. 体外激酶活性实验显示，RIP3 具有自我磷酸化和磷酸化 RIP 的功能，提示 RIP3 的激酶结构域对调控 NF-κB 的活性具有重要作用. Rebsamen 等[19]的研究发现，依赖 DNA 的干扰素调控因子的活化子 DAI/ZBP1 (DNA-dependent activator of IRFs/Z-DNA binding protein 1, DAI/ZBP1)是一种与病毒 z-DNA 结合的敏感蛋白，DAI 蛋白通过 RHIMs 与细胞内的 RIP1 和 RIP3 蛋白相互作用，诱导并活化 NF-κB 信号. RIP1 和 RIP3 基因干扰显著抑制了 DAI 诱导的 NF-κB 的活化，说明 RIP1 和 RIP3 蛋白协同促进了 DAI 诱导 NF-κB 的活化，RIP1 和 RIP3 是 DAI 信号通路的关键调控蛋白. Li 等[20] 的研究揭示，RIP3 还可通过抑制 PI3K-AKT 通路抑制血管平滑肌细胞生长，是 PI3K-AKT 通路的负调控子. 过表达 RIP3 触发了血管平滑肌细胞凋亡并导致细胞周期停滞. 敲降 RIP3 增强了血清和血小板源生长因子(platelet-derived growth factor, PDGF)诱导的细胞增殖和丝/苏氨酸蛋白激酶 B(RAC-α serine/threonine-protein kinase, AKT)的活化. 进一步激酶功能结构域的突变研究显示，RIP3 促细胞凋亡和促细胞周期阻滞功能不依赖 RIP3 的激酶活性. 提示 RIP3 具有抑制细胞增殖的新功能，是有效防止有丝分裂源和损伤诱导血管平滑肌细胞(vascular smooth muscle cells，VSMC)过渡增殖的关键因子. 然而，另一些研究显示 RIP3 与 NF-κB 信号调控无关，Newton 等[21]发现敲除 RIP3 不影响小鼠淋巴细胞对多种凋亡刺激的敏感性和 NF-κB 信号的活化. RIP3 敲除小鼠经抗原免疫后可产生抗体，研究结果不支持 RIP3 与 NF-κB 信号通路间的相关性.

2.2 RIP3 与细胞程序化坏死

目前认为，在发育过程中有机体存在三种死亡方式，即细胞凋亡(apoptosis)、细胞自嗜(autophagy)和细胞坏死(necrosis)等Ⅰ型、Ⅱ型和Ⅲ型细胞死亡形式[22]. 人们曾经认为细胞坏死是一种与细胞凋亡截然不同的、被动的不受调控的细胞死亡方式. 近年越来越多的研究证据表明，在一定条件下细胞坏死也可以被调控. TNFα 是个多功能的细胞因子，传统认为 TNFR 接受刺激后可导致细胞出现两种命运，即活化 NF-κB 促进细胞存活和诱导细胞凋亡促进细胞死亡. 新近研究发现，TNFα 还可以诱导细胞的第三种命运——程序化坏死(necroptosis)，而 RIP3 蛋白是细胞的这种程序化死亡通路的驱动阀(trigger)，RIP 通过与 RIP3 相互作用调控细胞坏死[23]. 研究显示，体外培养细胞经 z-VAD 处理后，可有效地阻断 TNFα 诱导的细胞凋亡. 而另一些研究也发现，在阻断 TNFα 诱导的细胞凋亡后，同时触发了细胞坏死[24]. 近期，He、

Cho 和 Zhang 等三个研究小组分别在《细胞》(Cell)和《科学》(Science)杂志先后发表了 3 篇关于 RIP3 蛋白功能的研究工作，揭示了 RIP 激酶调控细胞凋亡与坏死的分子机制．RIP3 是诱导细胞凋亡与坏死相互转换的关键分子，人们发现了其调控细胞坏死的新的生物学功能．He 等[10]用 Smac mimetic 和 z-VAD 阻止细胞凋亡，细胞经 TNFα 处理后产生依赖 RIP1 的细胞坏死．利用高通量 RNAi 筛选技术鉴定了 RIP3 是调控 TNFα 诱导细胞坏死的关键蛋白，RIP3 的激酶活性和 RIP1 同源相互作用结构域 RHIM 是介导细胞坏死所必需的结构域．敲降 RIP3 的小鼠胚胎成纤维细胞(mouse embryonic fibroblast，MEF)，显著降低了经 TNFα 诱导的细胞坏死；而 RIP3 敲除的小鼠，显著降低了雨蛙素(caerulein)诱导的胰腺细胞坏死，有效地降低了胰腺组织的损伤．同时，Zhang 等[25]分别以 TNFα 诱导细胞坏死和细胞凋亡的两株 NIH3T3 细胞为背景，经 cDNA 芯片和蛋白质组学分析，鉴定了 RIP3 是 TNFα 诱导下 NIH3T3 细胞选择不同死亡方式的关键调控开关，是 TNFα 诱导细胞凋亡与细胞坏死相互转换的调节阀．RIP3 不影响 RIP1 介导的细胞凋亡，但它是 RIP1 介导细胞坏死的必要条件．

He 和 Cho 等[10, 26]研究结果提示，细胞在应激因子刺激后，RIP3 并不与 TNFR1 诱导的复合物Ⅰ相互作用，RIP3 可与 TRADD 依赖的复合物ⅡA 及 FADD 依赖的复合物ⅡB 相互作用．同时，RIP1 和 RIP3 蛋白被磷酸化，RIP3 的 Ser199 发生自身磷酸化．细胞在应激因子刺激下，首先启动活化凋亡通路，细胞浆中形成的复合物Ⅱ中，激活的 Caspase8 通过裂解 RIP1 和 RIP3，有效地阻断细胞进入细胞坏死通路，促进细胞凋亡．当细胞的凋亡通路被阻断，用 z-VAD 抑制 Caspase8 酶活性后，RIP1 和 RIP3 形成的蛋白质复合体Ⅱ瞬时启动细胞的坏死途径，介导了细胞的坏死通路(图 3)[27]．He 等分析了小鼠和人的 14 株细胞系中 RIP3 的表达水平和对 TNFα 诱导细胞坏死的敏感性，结果显示细胞中 RIP3 的表达水平与 TNFα 诱导细胞坏死功能密切相关．其中，8 株不表达 RIP3 的细胞，当阻断凋亡通路后，TNFα 不能诱导细胞坏死，抑制 Caspase 促进细胞存活，而另外 6 株高表达 RIP3 蛋白的细胞，诱发了 TNFα 介导的细胞坏死．但目前仍不清楚 RIP1 和 RIP3 蛋白是通过同源二聚体还是异源二聚体形式与复合物Ⅱ结合的，RIP1 和 RIP3 是否相互磷酸化及 RIP3 磷酸化修饰后发挥何种生物学效应．Zhang 等[25]用蛋白质组学技术鉴定了 RIP3 激酶调控代谢途径中重要酶的活化情况，包括糖原磷酸化酶(PYGL)、谷氨酰胺连接酶(GLUL)、谷氨酰胺脱氢酶(GLUD)等．增强了细胞的能量代谢，产生过量的过氧化物(reactive oxygen species, ROS)，促进了细胞程序化坏死．我们的初步研究显示，化疗药物可以诱导肿瘤细胞坏死，RIP3 在其中发挥着重要的调控作用，提示 RIP3 介导能量代谢调节在细胞凋亡与坏死的选择中具有重要功能．

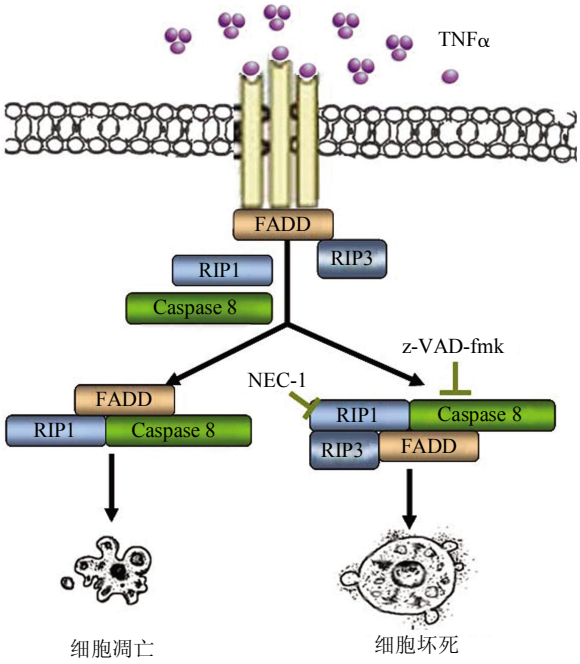

Fig. 3　Cell death mediated by RIP1 and RIP3[27]

图 3　RIP1 和 RIP3 介导细胞死亡[27]

死亡受体(TNFR)与配体结合后，募集接头蛋白 FADD，RIP1 和 Caspase8 形成复合物Ⅰ，活化的 Caspase8 可裂解 RIP1 蛋白，促进细胞凋亡．当阻断细胞 Caspase 活性，RIP1 与 RIP3 结合并募集 FADD 和 Caspase8 形成复合体Ⅱ，活化的 RIP3 可促进代谢相关酶的活性，促进细胞程序化坏死．

3　小结与展望

综上所述，RIP3 是一个调控细胞坏死的关键因子，在诱导细胞凋亡和 NF-κB 的活化方面也具有重要作用．关于 RIP3 具有参与细胞坏死调控作用的新发现尚属初步研究，其确切分子机制还不十分清楚．关于 RIP3 的亚细胞定位，RIP1 蛋白的活

化与调控机制，RIP3 下游靶分子及其相互作用，不同的坏死刺激是否涉及 RIP1 激酶的活化，RIP3 如何调控实现细胞凋亡与坏死转换等问题都有待进一步的探索. 认识细胞凋亡、坏死，以及存活命运选择的分子调控机制，将有助于发现肿瘤治疗的新策略.

参 考 文 献

[1] Meylan E, Tschopp J. The RIP kinases: crucial integrators of cellular stress. Trends Biochem Sci, 2005, **30**(3): 151-159

[2] Yu P W, Huang B C, Shen M, *et al*. Identification of RIP3, a RIP-like kinase that activates apoptosis and NFkappaB. Curr Biol, 1999, **9**(10): 539-542

[3] Yang Y, Ma J, Chen Y, *et al*. Nucleocytoplasmic shuttling of receptor-interacting protein 3 (RIP3): identification of novel nuclear export and import signals in RIP3. J Biol Chem, 2004, **279**(37): 38820-38829

[4] Ossareh-Nazari B, Bachelerie F, Dargemont C. Evidence for a role of CRM1 in signal-mediated nuclear protein export. Science, 1997, **278**(5335): 141-144

[5] Fukuda M, Asano S, Nakamura T, *et al*. CRM1 is responsible for intracellular transport mediated by the nuclear export signal. Nature, 1997, **390**(6657): 308-311

[6] Fornerod M, Ohno M, Yoshida M, *et al*. CRM1 is an export receptor for leucine-rich nuclear export signals. Cell, 1997, **90**(6): 1051-1060

[7] Sun X, Lee J, Navas T, *et al*. RIP3, a novel apoptosis-inducing kinase. J Biol Chem, 1999, **274**(24): 16871-16875

[8] Kasof G M, Prosser J C, Liu D, *et al*. The RIP-like kinase, RIP3, induces apoptosis and NF-kappaB nuclear translocation and localizes to mitochondria. FEBS Lett, 2000, **473**(3): 285-291

[9] 谢琳娜, 张 娜, 陈明谅, 等. 抗 RIP3 抗体的制备及其亚细胞定位. 细胞与分子免疫学杂志, 2006, **22**(5): 660-663
Xie L N, Zhang N, Chen M L, *et al*. Chin J Cell Mol Immunol, 2006, **22**(5): 660-663

[10] He S, Wang L, Miao L, *et al*. Receptor interacting protein kinase-3 determines cellular necrotic response to TNF-alpha. Cell, 2009, **137**(6): 1100-1111

[11] Yang Y, Hu W, Feng S, *et al*. RIP3 beta and RIP3 gamma, two novel splice variants of receptor-interacting protein 3 (RIP3), downregulate RIP3-induced apoptosis. Biochem Biophys Res Commun, 2005, **332**(1): 181-187

[12] Mahoney D J, Cheung H H, Mrad R L, *et al*. Both cIAP1 and cIAP2 regulate TNFαlpha-mediated NF-kappaB activation. Proc Natl Acad Sci USA, 2008, **105**(33): 11778-11783

[13] Wang L, Du F, Wang X. TNF-alpha induces two distinct caspase-8 activation pathways. Cell, 2008, **133**(4): 693-703

[14] Martinon F, Holler N, Richard C, *et al*. Activation of a pro-apoptotic amplification loop through inhibition of NF-kappaB-dependent survival signals by caspase-mediated inactivation of RIP. FEBS Lett, 2000, **468**(2-3): 134-136

[15] Sun X, Yin J, Starovasnik M A, *et al*. Identification of a novel homotypic interaction motif required for the phosphorylation of receptor-interacting protein (RIP) by RIP3. J Biol Chem, 2002, **277**(11): 9505-9511

[16] Li M, Feng S, Wu M. Multiple roles for nuclear localization signal (NLS, aa 442 ~ 472) of receptor interacting protein 3 (RIP3). Biochem Biophys Res Commun, 2008, **372**(4): 850-855

[17] Feng S, Yang Y, Mei Y, *et al*. Cleavage of RIP3 inactivates its caspase-independent apoptosis pathway by removal of kinase domain. Cell Signal, 2007, **19**(10): 2056-2067

[18] Meylan E, Burns K, Hofmann K, *et al*. RIP1 is an essential mediator of Toll-like receptor 3-induced NF-kappa B activation. Nat Immunol, 2004, **5**(5): 503-507

[19] Rebsamen M, Heinz L X, Meylan E, *et al*. DAI/ZBP1 recruits RIP1 and RIP3 through RIP homotypic interaction motifs to activate NF-kappaB. EMBO Rep, 2009, **10**(8): 916-922

[20] Li Q, Li G, Lan X, *et al*. Receptor interacting protein 3 suppresses vascular smooth muscle cell growth by inhibition of phosphoinositide-3-kinase-Akt axis. J Biol Chem, 2010, **285**(13): 9535-9544

[21] Newton K, Sun X, Dixit V M. Kinase RIP3 is dispensable for normal NF-kappa Bs, signaling by the B-cell and T-cell receptors, tumor necrosis factor receptor 1, and Toll-like receptors 2 and 4. Mol Cell Biol, 2004, **24**(4): 1464-1469

[22] Kumar A, Rothman J H. Cell death: hook, line and linker. Curr Biol, 2007, **17**(8): R286-289

[23] Van Herreweghe F, Festjens N, Declercq W, *et al*. Tumor necrosis factor-mediated cell death: to break or to burst, that's the question. Cell Mol Life Sci, 2010, **67**(10): 1567-1579

[24] Festjens N, Vanden Berghe T, Cornelis S, *et al*. RIP1, a kinase on the crossroads of a cell's decision to live or die. Cell Death Differ, 2007, **14**(3): 400-410

[25] Zhang D W, Shao J, Lin J, *et al*. RIP3, an energy metabolism regulator that switches TNF-induced cell death from apoptosis to necrosis. Science, 2009, **325**(5938): 332-336

[26] Cho Y S, Challa S, Moquin D, *et al*. Phosphorylation-driven assembly of the RIP1-RIP3 complex regulates programmed necrosis and virus-induced inflammation. Cell, 2009, **137**(6): 1112-1123

[27] Galluzzi L, Kepp O, Kroemer G. RIP kinases initiate programmed necrosis. J Mol Cell Biol, 2009, **1**(1): 8-10

RIP3: a Possible Trigger of Apoptosis or Necrosis*

XU Yang, ZHAO Xiao-Hang**

(*State Key Laboratory of Molecular Oncology, Cancer Institute & Hospital, Chinese Academy of Medical Sciences & Peking Union Medical College, Beijing* 100021, China)

Abstract The receptor-interacting protein 3 (RIP3) is a member of RIP kinase family, which has highly conserved serine/threonine kinase activity. Increasing number of evidences has revealed RIPs to be essential sensors of cellular stress and a key regulator of cell apoptosis, necrosis and survival. Recent studies demonstrating RIP3 as a possible trigger for cellular necrosis in response to TNF-α family of death inducing cytokines may lead to new strategies for developing cancer therapy. This review focuses on the biological characteristics and structure of RIP3 protein, and its cell death control function between apoptotic and necrotic.

Key words RIP3, apoptosis, necrotosis

DOI: 10.3724/SP.J.1206.2010.00177

*This work was supported by grants from The National Natural Science Foundation of China (30721001, 30973373, 30772507, 81071811), Hi-Tech Research and Development Program of China(2006AA02A403, 2006AA02A308) and International Science & Technology Cooperation and Exchanges Program of China(2008DFA31130).

**Corresponding author.

Tel: 86-10-67709015, E-mail: zhaoxh@cicams.ac.cn

Received: April 6, 2010 Accepted: June 14, 2010