

c-FLIP: 外源性细胞凋亡途径的调控器*

马华谋^{1,2)} 谢富华^{1,2)} 周克元^{1)**}

⁽¹⁾广东医学院生物化学与分子生物学研究所, 湛江 524023;

⁽²⁾赣南医学院, 赣州 341000)

摘要 细胞型 Fas 相关死亡区域蛋白样白介素-1 β 转换酶抑制蛋白 (FADD-like interleukin-1- β converting enzyme inhibitory protein, c-FLIP), 是一类含有死亡效应结构域 (the death effector domain, DED) 的天然存在的 caspase 抑制蛋白, 在病毒、真核生物、哺乳动物等物种中广泛存在. 近年发现, c-FLIP 参与了细胞凋亡的调控, 其过量表达能抑制 Fas、TRAIL-R 等死亡受体介导的细胞凋亡. 随着对 c-FLIP 作用机理及其分子调节机制的深入研究, 发现 c-FLIP 具有多种生物学功能, 并与多种疾病的发生、发展相关.

关键词 c-FLIP, 死亡受体, 细胞凋亡, 分子调节, 肿瘤

学科分类号 Q2

细胞凋亡是机体细胞在正常生理或病理状态下发生的一种自发的、程序化的死亡过程, 它的发生受到机体的严密调控, 包括 p53 的调控, Bcl-2 家族蛋白及 IAP 家族蛋白的调控作用, 它们分别作用于不同的环节, 调节细胞凋亡的速度及规模. 细胞型 Fas 相关死亡区域蛋白样白介素-1 β 转换酶抑制蛋白 (FLIP) 是近年来发现的一类含有死亡效应结构域 (DED) 的凋亡抑制蛋白, 在病毒、真核生物、哺乳动物等许多物种中广泛存在. 目前已证实 FLIP 与肿瘤、自身免疫疾病及炎症的发生、发展有关, 因此对 FLIP 的进一步研究将有助于深化对这些疾病的认识, 并为临床治疗这些疾病提供新的方法和思路.

1 c-FLIP 的生物学特性

c-FLIP 是细胞凋亡的抑制蛋白, 最初见于 1997 年 Irmeler 等^[1]报道的一组新的病毒凋亡信号传导抑制蛋白——v-FLIP, 这种蛋白质在结构上与 FLICE (FADD-like-IL-1 β -converting-enzyme/caspase-8) 相似, 并能抑制 FLICE 的作用, 故命名为 FLIP. 同年, 几个研究组都分离得到其细胞类似物, 分别命名为 c-FLIP、CASH、Casper、CLARP、FLAME、I-FLICE、MRIT、uaurpin. 人类 FLIP 基因含 13 个外显子, 与 caspase-8 基因均位

于染色体的 2q33~34. c-FLIP 蛋白在结构和序列上与 caspase-8 有许多相似之处, 其 N 端含有与 caspase-8 相似的 2 个相互串联的 DED, 其后是从 C 端延伸的包含一个 caspase 类似区域, 但由于起催化作用的 2 个氨基酸残基 Cys、His 分别被 Tyr、Arg 所替代, 从而使 c-FLIP 丧失了蛋白水解酶的活性.

目前的研究认为, 尽管在 mRNA 水平 c-FLIP 存在多种结合形式, 但在体内, 主要有 2 种蛋白质表达形式, 即 c-FLIP(L) 和 c-FLIP(S). c-FLIP(S) 只有 2 个 DED, 而 c-FLIP(L) 除了含有 2 个 DED 外还包含一个 C 端的不具酶活性的 caspase 同源结构域, 因此, c-FLIP(L) 还能与激活的 caspase-8 亚基结合而抑制其活性. 最近 Golks 等^[2]发现了第三种内源性表达的 c-FLIP(R), 主要存在于人类的 T 细胞, 以前在 mRNA 水平上被鉴定为死亡效应结构蛋白, 在 CD95 刺激下, c-FLIP(R) 被招募到 CD95 死亡诱导复合体上, 其特性基本与 c-FLIP(S) 相似.

尽管 c-FLIP(S) 与 c-FLIP(L) 都能抑制死亡受体介导的细胞凋亡, 作为细胞凋亡的负调节蛋白, 它们还具有各自的生物学功能. Oehme 等^[3]发现, 转

*广东省重点学科经费资助项目(GX9307).

** 通讯联系人. Tel: 0759-2388301, E-mail: kyzhou@gdmc.edu.cn

收稿日期: 2006-04-07, 接受日期: 2006-05-29

基因过表达 caspase-8 抑制蛋白 FLIP(S)导致 T 细胞增殖受损,并在注射葡萄球菌肠毒素 B 后使记忆 T 细胞数量增加,表明 FLIP(S)在活体内有维持再次刺激 T 细胞的特性.以前被认为是 caspase 活化抑制剂的 FLIP(L),目前的研究则发现在某种特定的环境中具有促进 caspase 活化的功能.有学者认为, caspase-8 和 caspase-10 的活化可不依赖于 caspase 或 FLIP(L)的裂解, FLIP(L)可通过异二聚体酶分子的形成激活 caspase-8,尤为显著的是,异源二聚体的形成障碍低于同源二聚体,这提示相对于 caspase-8 本身, FLIP (L) 是一个更为有效的 caspase-8 激活剂^[4].还有研究证实, caspase 活化不仅可以诱导 T 细胞凋亡,还可以促使 T 细胞活化,但必须处于一个精细的平衡水平才能活化 T 细胞却不导致其死亡^[5].提高 c-FLIP(L)的表达能增强静息 T 细胞和效应 T 细胞内 caspase 的活性,达到一定水平后还能在与 Fas 连接之后阻止 caspase-8 的募集, c-FLIP(L)不仅是 Fas 介导的细胞凋亡抑制剂,还是一个重要的不依赖 Fas 的 caspase 激活剂.

2 c-FLIP 的作用机制

Fas-FasL 途径是目前研究得比较清楚的凋亡途

径,细胞膜上 Fas 受体被 FasL 激活后可发生三聚体化,导致 Fas 的死亡结构域 (death domain, DD) 成簇, Fas 以其 DD 为中介结合 FADD (Fas-associated death domain),形成死亡诱导信号复合体 (death-inducing signal complex, DISC).随后 FADD 通过其 N 端的 DED 和 proCaspase-8 的 DED 区相互作用,导致 caspase-8 形成寡聚体,并驱使其自身降解而活化.活化的 caspase-8 进一步活化效应 caspase,如 caspase-3 等,使细胞发生凋亡. FLIP 的 DED 能与 FADD 和 caspase-8 结合,抑制 caspase-8 结合到 DISC 上,从而阻断了 Fas 介导的凋亡信号的转导.此外, FLIP 还能阻断 TNFR1、TRAIL/DR4 等其他细胞表面死亡受体介导的凋亡信号的转导.

Wang 等^[6]在对抗凋亡基因 Bcl-xL 和 c-FLIP 影响人乳腺癌细胞系 MCF-7 对紫杉醇、多西他赛敏感性差异的研究中证明,抗凋亡基因的过表达,通过内源性和外源性细胞死亡途径,都可以降低肿瘤细胞对化疗药物的敏感性 (图 1).研究结果表明, Bcl-xL 抑制的是内源性途径,缘于 caspase-9 的活化受阻,而 c-FLIP 抑制的是外源性途径,其抑制的是死亡受体介导的凋亡途径,而不是依赖于

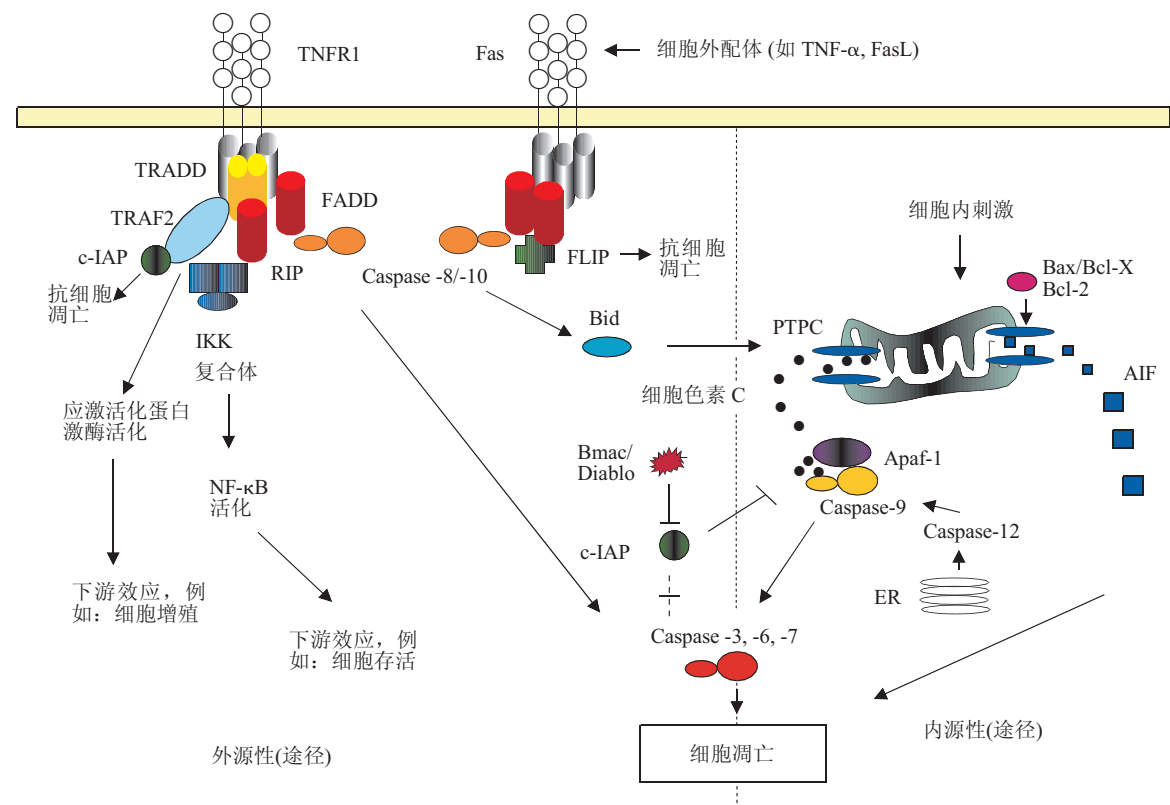


Fig. 1 The intrinsic and extrinsic apoptotic pathways^[7]
图 1 内源性和外源性细胞凋亡途径^[7]

CTL溶裂途径的穿孔素和粒酶 B, FLIP 的存在不影响由粒酶 B 合并腺病毒或穿孔素诱导的细胞凋亡. 由化疗药物 (如: 阿霉素、依托泊苷、长春新碱等) 和 γ 辐射诱导的细胞凋亡不受 FLIP 或 Fas 缺失的影响, 表明这些处理能以一种不依赖于 Fas 和对 FLIP 不敏感的方式诱导细胞死亡. 近期研究还发现, 增强 FLIP(L) 的表达, 可以促进 NF- κ B 信号途径的活化, caspase-8 能特异地把 FLIP(L) 加工成 N 端 FLIP(p43) 及 C 端 FLIP(p12), 但只有 FLIP(p43) 能像 FLIP(L) 一样有效地诱导 NF- κ B 的活化, 而 FLIP(p43)-caspase-8-TRAF2 三聚体的形成是诱导 NF- κ B 活化的先决条件^[8]. 研究结果证明, FLIP (p43) 能特异地与 TRAF2 相互作用, 诱导 NF- κ B 信号途径活化, 参与机体防御反应、组织损伤和应激、细胞分化和凋亡以及肿瘤生长抑制过程的信息传递. c-FLIP 不仅可通过联合 FADD 和 pro-caspase-8 抑制死亡受体介导的细胞凋亡, 还能通

过其 C 端结构域和 Daxx (一个选择性的 Fas 信号结合体) 的 Fas 结合域相互作用, 阻止正常的 Daxx 和 Fas 的相互作用, 从而抑制 JNK 的活化, 阻断 Daxx 与 Fas 相互作用经由 JNK 的活化而诱导的细胞凋亡^[9]. 最近的研究还表明, FLIP 可通过抑制 Bax 的活化保护内皮细胞避免由缺氧再灌注诱导的细胞凋亡 (图 2). 研究证实, 缺氧再灌注可以激活死亡受体和线粒体依赖的细胞凋亡途径, 包括 Bid 和 Bax 的线粒体易位和细胞色素 c 的释放, FLIP 通过阻止 caspase-8/Bid、Bax/ 线粒体凋亡途径抑制了细胞凋亡. 此外, 在缺氧再灌注过程中 FLIP 还能抑制蛋白激酶 C 的表达和活化, 并能加速 DISC 在高尔基体内的积聚, 阻止 DISC 由高尔基体到质膜上的易位, 降低质膜上 DISC 的形成, 并通过一种新型的 PKC 依赖机制抑制了 Bax 的活化, 从而保护内皮细胞避免由缺氧再灌注诱导的凋亡^[10].

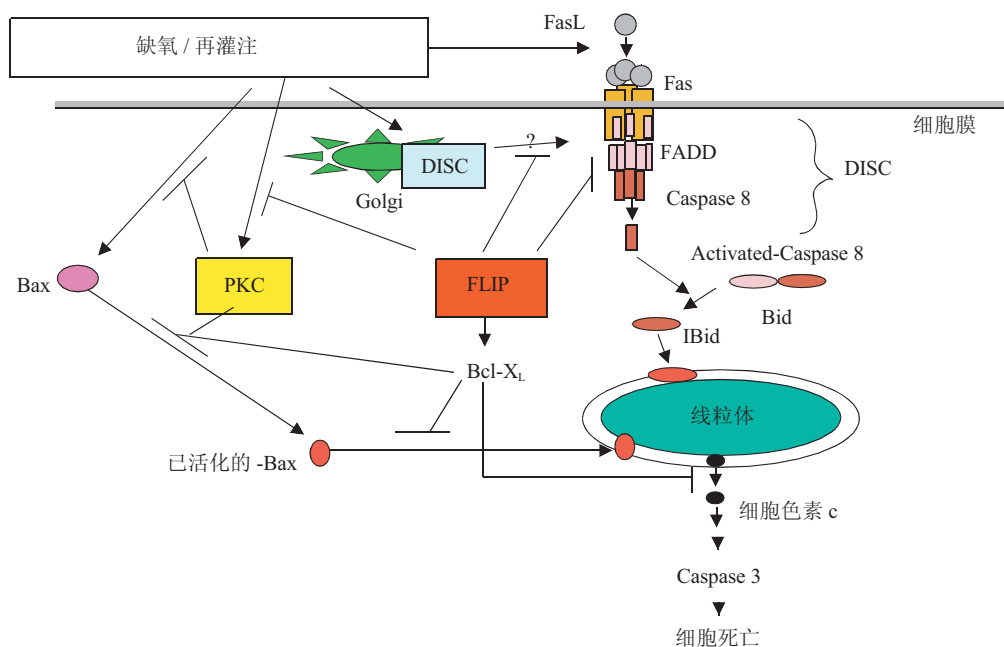


Fig. 2 Pathways of hypoxia/reoxygenation-induced cell death^[10]

图 2 缺氧再灌注诱导的细胞凋亡途径^[10]

很多研究都已证明, 在活体外 caspase-8 的抑制剂 c-FLIP(L) 在由死亡受体转导的死亡和生长信号之间起了一个分子开关的作用, 对于其在活体内的功能, 有研究发现, c-FLIP(L) 还有一个重要的作用, 可以通过降低 T 细胞受体信号的阈值来调节 T 细胞的增殖^[11]. Wu 等^[12] 的研究则发现, c-FLIP(L) 还能影响细胞因子的表达, 促进 Th2 激发的过敏反

应. 另有研究则显示, c-FLIP(L) 还可通过抑制 p38 MAPK 的活化而发挥其抗凋亡作用^[13]. 最近, Nakagiri 等^[14] 发现, 马痘疹病毒-2 编码的病毒 v-FLIP E8 不仅可以抑制死亡受体介导的细胞凋亡, 还能增强许多细胞系的 Wnt/ β -catenin 信号途径, 与个体发育和肿瘤生成密切相关.

3 c-FLIP 的分子调节机制

c-FLIP，是一个天然存在的 caspase-8 抑制蛋白，它缺乏催化活性所必需的关键的半胱氨酸结构，是 Fas 介导的细胞凋亡的负调节蛋白，降低 FLIP 的水平可以致敏肿瘤细胞对 Fas 和 TRAIL 介

导的细胞凋亡. 然而，调节 FLIP 表达的分子机制还未完全明确. 因此对 c-FLIP 分子调节机制的研究将有助于进一步了解与 c-FLIP 相关疾病的发生机制，并对临床治疗这些疾病提供一个新思路. 目前的研究认为有如下分子机制调节 c-FLIP 的表达(图 3).

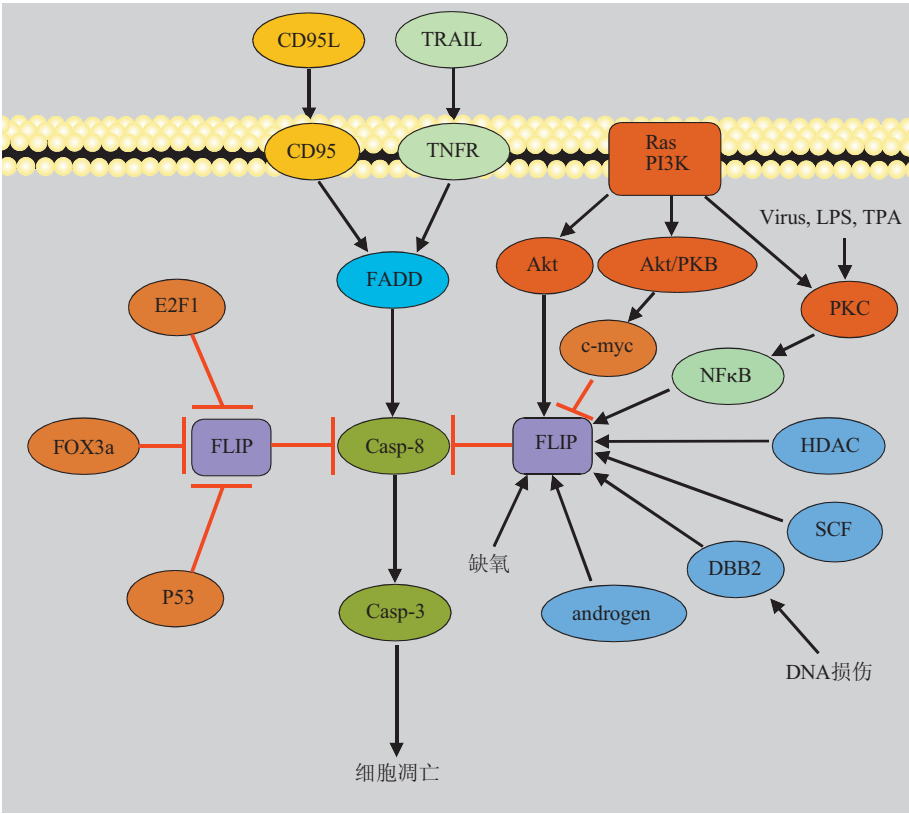


Fig. 3 The schematic diagram of molecular regulation mechanism of c-FLIP

图 3 c-FLIP 分子调节机制示意图

3.1 PI3-K/Akt 信号途径的调节

PI3-K/Akt 信号途径是细胞内一条重要的信号转导途径，PI3-K 催化磷脂酰肌醇(PI)磷酸化生成 PIP3，在 PIP3 存在的情况下，磷脂酰肌醇依赖性激酶-1(phosphoinositide-dependent kinase-1, PDK-1)能磷酸化 Akt/PKB 并使之活化，活化的 Akt/PKB 通过诱导 c-myc 和 bcl-2 调节基因转录，并能抑制细胞凋亡和调节细胞周期，与细胞生长、增殖、癌变密切相关. 在肿瘤细胞内，PI3-K 可以通过 Akt 的磷酸化作用，增强 c-FLIP mRNA 的转录及蛋白质表达. 有研究证实，通过 PI3-K 抑制剂下调 c-FLIP 的表达，可以增强 HL-60 细胞对 Fas 介导细胞凋亡的敏感性^[5]. 最近，Kondo 等在 PI3-K 抑制剂对口腔鳞状上皮细胞癌 (OSCC) 作用的研究中再

次证实，尽管 PI3-K 抑制剂渥曼青霉素和 LY294002 不影响 OSCC 细胞中 Fas 的表达，却能强烈抑制 Akt 的磷酸化，显著降低细胞内 c-FLIP 的水平，促进 Fas 介导的细胞凋亡. 此外，在对补体 C5b-9 复合物抗凋亡作用的研究中，有学者发现，C5b-9 复合物可以抑制 caspase-8 的活化和 Bid 的裂解，显著提高 c-FLIP(L)蛋白的表达. 但是，C5b-9 复合物的效应可以被 PI3-K 抑制剂 LY294002 所逆转^[6]. 以上这些研究均表明，PI3-K/Akt 信号途径在 c-FLIP 的调控上起了很重要的作用.

3.2 PKCdelta/NF-κB 信号途径的调节

NF-κB 是真核细胞的转录因子，几乎存在于所有的细胞. 在病毒感染、脂多糖、佛波酯(TPA)及 dsRNA 等有害刺激的作用下，PKCdelta 活化并激

活 NF- κ B, 活化的 NF- κ B 转位进入细胞核, 与多种细胞因子、急性时相蛋白和应激相关基因的启动子和增强子上的 κ B 序列特异结合, 引起上述因子的过表达, 与细胞的防御机能密切相关. Wang 等^[17]研究发现, PKCdelta 的活化可以增强 c-FLIP mRNA 的转录, 诱导 c-FLIP 表达上调; 而 NF- κ B 活性的抑制则能抑制 PKCdelta 诱导的 c-FLIP 的上调. 近来, 又有学者证实, 人类 T 细胞白血病 I 型病毒癌蛋白 tax 可以通过激活 NF- κ B 诱导 c-FLIP 的表达, 抑制 Fas 介导的细胞凋亡, 在上调 c-FLIP 表达的过程中, NF- κ B 的活性起了重要作用^[18]. 此结果与 Horie 等^[19]在对 NF- κ B 抑制剂 DHMEQ 对慢性淋巴细胞白血病(CLL)细胞效应的研究中所取得的结果一致, DHMEQ 可完全消除 CLL 细胞组成性的 NF- κ B 活性并诱导其凋亡, 并伴随有 NF- κ B 依赖的抗凋亡基因, 如 c-IAP、Bfl-1、Bcl-xL 和 c-FLIP 等基因表达的下调. 可见, PKCdelta/NF- κ B 信号途径在 c-FLIP 的调节中起了至关重要的作用.

3.3 c-myc 的调节

c-myc 可以下调 c-FLIP 的表达, 致敏细胞对 TRAIL 诱导的细胞凋亡. 在 TRAIL 敏感细胞系中, c-myc 的水平和细胞对 TRAIL 的敏感性呈直线相关, 过表达 c-myc 或激活融合的 myc-ER(雌激素受体), 可以使耐 TRAIL 的细胞转为对 TRAIL 敏感, 相反, siRNA 介导 c-myc 的失活, 能显著降低 c-myc 的表达和 TRAIL 诱导的细胞凋亡. c-FLIP 表现为 c-myc 介导转录阻遏的直接靶向作用蛋白, 无论是在细胞培养还是在 c-myc 诱导肿瘤发生的小鼠动物模型中, 过表达 c-myc 或 myc-ER 的活化都能降低 c-FLIP 的水平, 而以 siRNA 抑制 c-myc 的活性则能增强 c-FLIP 的表达. 染色质免疫沉淀及荧光标记分析显示, c-myc 结合并抑制了人类 c-FLIP 的启动子, c-myc 的表达增强了 TRAIL 诱导的在 DISC 上 caspase-8 和 c-FLIP 的裂解^[20].

3.4 p53 的调节

野生型 p53 基因是一个肿瘤抑制基因, 在诱导细胞周期阻滞及细胞凋亡方面起了很重要的作用. 研究表明, p53 基因突变是 50% 以上人类肿瘤逃逸凋亡的重要原因. Zhou 等^[21]在 c-FLIP 的表达及其在结肠癌中与 p53 突变型的相关性研究中发现, c-FLIP 在结肠癌组织被特异地过表达, c-FLIP mRNA 及蛋白质水平均明显高于正常对照组. 在 60% 的结肠癌组织中发现有 p53 基因的突变, 与 p53 未突变组相比, 在 p53 突变组的癌组织中,

c-FLIP mRNA 水平明显降低, 但 c-FLIP 蛋白水平却更为显著地升高. 其原因是, 尽管 p53 可以上调 c-FLIP mRNA 的转录, 但却可以通过泛素-蛋白酶体途径更为有效地促进 c-FLIP 蛋白的降解, 增强肿瘤细胞对死亡受体介导的细胞凋亡敏感性.

3.5 组蛋白脱乙酰基酶的调节

在对骨肉瘤细胞 Fas 介导的细胞凋亡机理研究中, Watanabe 等^[22]发现, 组蛋白脱乙酰基酶(HDAC)抑制剂 FR901228 下调了 c-FLIP 的表达, 致使耐 Fas 的骨肉瘤细胞对 Fas 介导的细胞凋亡变得敏感. HDAC 抑制剂被发现是通过抑制 c-FLIP mRNA 的生成而诱发 c-FLIP 的下调, 而不是在蛋白质或 mRNA 水平通过刺激导致其降解, 并且, 这种抑制作用不受蛋白质重新合成的约束. 研究结果表明, 一些肿瘤细胞通过表达 c-FLIP 展现了一种抗死亡受体介导的细胞凋亡表型, 而 HDAC 抑制剂通过直接下调 c-FLIP mRNA 可以增强这些肿瘤细胞对死亡受体介导的细胞凋亡的敏感性. 最近又有文献报道, 组蛋白脱乙酰基酶的另一抑制剂丙戊酸(VA)可以下调 c-FLIP 的表达, 致敏肝癌细胞对 Fas 及 TRAIL 受体介导的细胞凋亡, 增强化疗药物的敏感性^[23].

3.6 转录因子 E2F1 的调节

E2F1 是一个被证明在 S 期进展及细胞凋亡过程中起作用的转录因子. Salon 等^[24]在最近的研究中发现, 在低水平 E2F1 的人肺腺癌细胞中存在 c-FLIP(S)的特异过表达, 并证明在不同的肺腺癌细胞系中, E2F1 可以通过下调 c-FLIP(S)导致 caspase-8 在死亡诱导信号复合体水平激活, 进而触发细胞凋亡, 据此推测, 在原发性肺腺癌细胞中低水平的 E2F1 可能是促成细胞癌变的一个重要因素. E2F1 不仅可致敏肿瘤细胞对 Fas 和 TRAIL 介导的细胞凋亡, 还可增强 T 淋巴细胞抗肿瘤的细胞毒效应. 可见, E2F1 是一个至关重要的对死亡受体介导细胞凋亡的细胞应答决定因素, 其含量的下调将促成肿瘤细胞的免疫逃逸.

3.7 受损 DNA 结合蛋白 DBB2 的调节

Sun 等^[25]在对顺铂耐受的宫颈癌细胞株 HR3 细胞的研究中报道, 过表达受损 DNA 结合蛋白 DBB2 能够提高内源性和外源性的 c-FLIP mRNA 水平, 诱导 c-FLIP 的表达, 并进一步减弱死亡配体诱导的细胞凋亡. 消除 HR3 细胞中升高的 DBB2 可使细胞对由 Fas 抗体及 TNF- α 诱导的细胞凋亡变得敏感, 而以反义寡核苷酸消除 c-FLIP 表达则

能抑制 DBB2 的保护作用. 这些结果表明, DBB2 可经由 c-FLIP 调节 TNF 信号介导的细胞凋亡.

3.8 其他

已有研究证实, 干细胞因子(SCF)可以阻滞 IFN- γ 诱导的细胞凋亡, SCF 可通过增强 c-FLIP mRNA 的转录及蛋白质表达, 达到减弱 IFN- γ 诱导细胞凋亡的目的. 还有研究发现, 原生动物在细胞内的长期存活, 如克氏锥虫, 是导致南美洲锥虫恶化的原因. Hashimoto 等^[26]证实, 在感染细胞寄生虫可通过一罕见的转录后稳定的短寿命蛋白显著上调 c-FLIP 水平, 阻断死亡受体介导的细胞凋亡, 使寄生虫在宿主细胞持续存在. 而 Gao 等^[27]的研究认为, 雄激素可以提供前列腺上皮细胞生存信号, 在前列腺中雄激素的去除会诱导细胞凋亡. 研究发现, 雄激素可以诱导 c-FLIP 基因的表达, 在雄激素存在的情况下, 雄激素受体被募集到 c-FLIP 基因的启动子上, 显示在雄激素作用下, 雄激素受体可以通过调节 c-FLIP 基因影响前列腺细胞的存活和凋亡. 最近, 又有学者报道, TRAIL 诱导肿瘤细胞凋亡的敏感性, 除了与 c-myc 和 MEK/Erk 诱导的 caspase 活性增强相关之外, 又发现了一种新的控制 TRAIL 敏感性的信号输入途径, 即: Akt-mTOR 途径. 该途径不是增强 TRAIL 的敏感性及 Akt 的表达, 而是通过 mTOR 及其靶蛋白 S6 激酶和 eIF-4E 起作用, 选择性地增强抗凋亡蛋白 c-FLIP(S)的翻译, 导致细胞对 TRAIL 介导细胞凋亡的抵抗^[28].

4 c-FLIP 与疾病的关系

阻滞死亡受体介导的细胞凋亡, 已经被认为是恶性肿瘤发生发展的重要步骤, 不仅可以使肿瘤细胞存活, 逃避免疫反应, 而且可以增强其对化疗和其他肿瘤疗法的抵抗力. c-FLIP 作为一个死亡受体的调节因子, 当其过表达时, 可以抑制肿瘤细胞凋亡. 许多研究都已证实, c-FLIP 与多种肿瘤的发生、发展密切相关, 在黑色素瘤、胆管癌、卵巢癌、乳腺癌、子宫内膜癌、骨肉瘤及大肠癌中均存在 c-FLIP 蛋白表达. Mori 等^[29]在研究胰腺癌细胞对 TRAIL 诱导细胞凋亡抵抗的机制中发现, 胰腺癌细胞通过强表达抗凋亡蛋白 FLIP-S 产生对 TRAIL 诱导凋亡的抵抗, 以放线菌酮抑制蛋白质的合成, 则可以恢复其敏感性, 因此认为在基于 TRAIL 的肿瘤治疗策略的发展中, 可以通过恢复细胞凋亡途径的功能来治疗胰腺癌. 而最近的研究中还发现,

FLIP在结外 NK/T 细胞淋巴瘤(NKTL)^[30]中也存在高表达, 而 Dutton 等^[31]对 c-FLIP 在何杰金氏淋巴瘤发病机理的作用研究中认为, c-FLIP 是一个重要的肿瘤进展因子, 靶向作用 c-FLIP 作为肿瘤尤其是何杰金氏淋巴瘤治疗新途径, 有着广阔的前景.

FLIP 在正常情况下可以阻止不适当的细胞凋亡, 但 FLIP 的异常表达, 却有可能促进除肿瘤以外的其他多种疾病的发生与发展. c-FLIP 的异常表达已见于多发性硬化症(MS)、阿尔茨海默病(AD)、糖尿病、类风湿性关节炎(RA)等多种疾病中^[32], 但 FLIP 在这些疾病的发病机理中是否起作用, 还有待于进一步研究和证实.

5 展 望

对 FLIP 研究的深入已使越来越多的学者认识到 FLIP 水平的变化与许多疾病的发生发展密切相关. FLIP 具有一个不同于其他抗凋亡或死亡受体信号蛋白的特性, 它对由代谢抑制剂引起的翻译受阻具有高度的敏感性. 以 FLIP 特异的代谢抑制剂处理后, 可以减小癌细胞的生存能力, 提高其死亡率, 这使得寻找或合成更为有效的、治疗 c-FLIP 过表达引起的致命疾病的药物变得切实可行^[33]. 而在暴发性乙型肝炎、自身免疫性疾病、缺血再灌注损伤、败血病、同种异体移植物的排斥过程中, 瞬间增强的细胞凋亡被认为是导致器官损伤的重要原因, 死亡受体的活化诱导了 DISC 上 caspase-8 的募集, DISC 通过裂解 caspase-8 及下游底物启动细胞凋亡过程. Krautwald 等^[34]构建的 TAT-FLIP(S)融合蛋白, 降低了 Fas 受体介导的致死性细胞凋亡所引起的多器官衰竭, 开启了一个有前途的容易得到的新工具, 用以保护各种疾病中病理状态瞬间增强的细胞凋亡. 此外, 已经有学者以 FLIP 为靶点, 对肿瘤及自身免疫性疾病进行基因治疗研究, 但基因片段的导入问题依然是此类靶向治疗的难点. 已有学者将导入的目的基因片段应用纳米材料包裹, 既克服了以往导入载体的生物毒性, 又在一定程度上提高了转染效率, 是一个值得探索的新方向.

参 考 文 献

- 1 Irmeler M, Thome M, Hahne M, *et al.* Inhibition of death receptor signals by cellular FLIP. *Nature*, 1997, **388** (6638): 190~195
- 2 Golks A, Brenner D, Fritsch C, *et al.* C-FLIPR, a new regulator of death receptor-induced apoptosis. *J Biol Chem*, 2005, **280** (15): 14507~14513
- 3 Oehme I, Neumann F, Bosser S, *et al.* Transgenic overexpression of

- the Caspase-8 inhibitor FLIP (short) leads to impaired T cell proliferation and an increased memory T cell pool after staphylococcal enterotoxin B injection. *Eur J Immunol*, 2005, **35** (4): 1240~1249
- 4 Boatright K M, Deis C, Denault J B, *et al.* Activation of caspases-8 and -10 by FLIP(L). *Biochem J*, 2004, **382** (Pt 2): 651~657
 - 5 Dohrman A, Russell JQ, Cuenin S, *et al.* Cellular FLIP long form augments caspase activity and death of T cells through heterodimerization with and activation of caspase-8. *J Immunol*, 2005, **175** (1): 311~318
 - 6 Wang Z, Goulet R, Stanton K J, *et al.* Differential effect of anti-apoptotic genes Bcl-xL and c-FLIP on sensitivity of MCF-7 breast cancer cells to paclitaxel and docetaxel. *Anticancer Res*, 2005, **25** (3c): 2367~2379
 - 7 Zeiss C J. The apoptosis-necrosis continuum: insights from genetically altered mice. *Vet Pathol*, 2003, **40** (5): 481~495
 - 8 Kataoka T, Tschopp J. N-terminal fragment of c-FLIP(L) processed by caspase 8 specifically interacts with TRAF2 and induces activation of the NF-kappaB signaling pathway. *Mol Cell Biol*, 2004, **24** (7): 2627~2636
 - 9 Kim Y Y, Park B J, Seo G J, *et al.* Long form of cellular FLICE-inhibitory protein interacts with Daxx and prevents Fas-induced JNK activation. *Biochem Biophys Res Commun*, 2003, **312** (2): 426~433
 - 10 Wang X, Wang Y, Zhang J, *et al.* FLIP protects against hypoxia/reoxygenation-induced endothelial cell apoptosis by inhibiting Bax activation. *Mol Cell Biol*, 2005, **25** (11): 4742~4751
 - 11 Susanne M. A. Lens. The caspase 8 inhibitor c-FLIP_L modulates T-cell receptor-induced proliferation but not activation-induced cell death of lymphocytes. *Mol Cell Biol*, 2002, **22** (15): 5419~5433
 - 12 Wu W, Rinaldi L, Fortner K A, *et al.* Cellular FLIP long form-transgenic mice manifest a Th2 cytokine bias and enhanced allergic airway inflammation. *J Immunol*, 2004, **172** (8): 4724~4732
 - 13 Grambihler A, Higuchi H, Bronk S F, *et al.* cFLIP-L inhibits p38 MAPK activation: an additional anti-apoptotic mechanism in bile acid-mediated apoptosis. *J Biol Chem*, 2003, **278** (29): 26831~26837
 - 14 Nakagiri S, Murakami A, Takada S, *et al.* Viral FLIP enhances Wnt signaling downstream of stabilized beta-catenin, leading to control of cell growth. *Mol Cell Biol*, 2005, **25** (21): 9249~9258
 - 15 Kondo G, Iwase M, Watanabe H, *et al.* Enhancement of susceptibility to Fas-mediated apoptosis in HL-60 cells through down-regulation of cellular FLICE-inhibitory protein by phosphatidylinositol 3-kinase inhibitors. *Oncol Rep*, 2005, **14** (5): 1215~1222
 - 16 Cudrici C, Niculescu F, Jensen T, *et al.* C5b-9 terminal complex protects oligodendrocytes from apoptotic cell death by inhibiting caspase-8 processing and up-regulating FLIP. *J Immunol*, 2006, **176** (5): 3173~3180
 - 17 Wang Q, Wang X, Zhou Y, *et al.* PKCdelta-mediated regulation of FLIP expression in human colon cancer cells. *Int J Cancer*, 2006, **118** (2): 326~334
 - 18 Okamoto K, Fujisawa J, Reth M, *et al.* Human T-cell leukemia virus T type- I oncoprotein tax inhibits Fas-mediated apoptosis by inducing cellular FLIP through activation of NF-kappaB. *Genes Cells*, 2006, **11** (2): 177~191
 - 19 Horie R, Watanabe M, Okamura T, *et al.* DHMEQ, a new NF-kappaB inhibitor, induces apoptosis and enhances fludarabine effects on chronic lymphocytic leukemia cells. *Leukemia*, 2006, **20** (5): 800~806
 - 20 Ricci M S, Jin Z, Dews M, *et al.* Direct repression of FLIP expression by c-myc is a major determinant of TRAIL sensitivity. *Mol Cell Biol*, 2004, **24** (19): 8541~8555
 - 21 Zhou X D, Yu J P, Chen H X, *et al.* Expression of cellular FLICE-inhibitory protein and its association with p53 mutation in colon cancer. *World J Gastroenterol*, 2005, **11** (16): 2482~2485
 - 22 Watanabe K, Okamoto K, Yonehara S. Sensitization of osteosarcoma cells to death receptor-mediated apoptosis by HDAC inhibitors through downregulation of cellular FLIP. *Cell Death Differ*, 2005, **12** (1): 10~18
 - 23 Schuchmann M, Schulze-Bergkamen H, Fleischer B, *et al.* Histone deacetylase inhibition by valproic acid down-regulates c-FLIP/CASH and sensitizes hepatoma cells towards CD95- and TRAIL receptor-mediated apoptosis and chemotherapy. *Oncol Rep*, 2006, **15** (1): 227~230
 - 24 Salon C, Eymin B, Micheau O, *et al.* E2F1 induces apoptosis and sensitizes human lung adenocarcinoma cells to death-receptor-mediated apoptosis through specific downregulation of c-FLIP(short). *Cell Death Differ*, 2006, **13** (2): 260~272
 - 25 Sun C L, Chao C C. Cross-resistance to death ligand-induced apoptosis in cisplatin-selected HeLa cells associated with overexpression of DDB2 and subsequent induction of cFLIP. *Mol Pharmacol*, 2005, **67** (4): 1307~1314
 - 26 Hashimoto M, Nakajima-Shimada J, Aoki T. Trypanosoma cruzi posttranscriptionally up-regulates and exploits cellular FLIP for inhibition of death-inducing signal. *Mol Biol Cell*, 2005, **16** (8): 3521~3528
 - 27 Gao S, Lee P, Wang H, *et al.* The androgen receptor directly targets the cellular Fas/FasL-associated death domain protein-like inhibitory protein gene to promote the androgen-independent growth of prostate cancer cells. *Mol Endocrinol*, 2005, **19** (7): 1792~1802
 - 28 Panner A, Parsa A T, Pieper R O. Translational regulation of TRAIL sensitivity. *Cell Cycle*, 2006, **5** (2): 147~150
 - 29 Mori T, Doi R, Toyoda E, *et al.* Regulation of the resistance to TRAIL-induced apoptosis as a new strategy for pancreatic cancer. *Surgery*, 2005, **138** (1): 71~77
 - 30 Jeon Y K, Kim H, Park S O, *et al.* Resistance to Fas-mediated apoptosis is restored by cycloheximide through the downregulation of cellular FLIPL in NK/T-cell lymphoma. *Lab Invest*, 2005, **85** (7): 874~884
 - 31 Dutton A, O'Neil J D, Milner A E, *et al.* Expression of the cellular FLICE-inhibitory protein (c-FLIP) protects Hodgkin's lymphoma cells from autonomous Fas-mediated death. *Proc Natl Acad Sci*

- USA, 2004, **101** (17): 6611~6616
- 32 Micheau O. Cellular FLICE-inhibitory protein: an attractive therapeutic target?. *Expert Opin Ther Targets*, 2003, **7** (4): 559~573
- 33 Pajak B, Orzechowski A. FLIP-an enemy which might lose the battle against the specific inhibitors of translation. *Postepy Hig Med Dosw* (Online), 2005, **59**: 140~149
- 34 Krautwald S, Ziegler E, Tiede K, *et al.* Transduction of the TAT-FLIP fusion protein results in transient resistance to Fas-induced apoptosis *in vivo*. *Biol Chem*, 2004, **279** (42): 44005~44011

c-FLIP: The Regulator of Extrinsic Apoptotic Pathway*

MA Hua-Mou^{1,2)}, XIE Fu-Hua^{1,2)}, ZHOU Ke-Yuan¹⁾**

⁽¹⁾*Institute of Biochemistry and Molecular Biology, Guangdong Medical College, Zhanjiang 524023, China;*

⁽²⁾*Gannan Medical College, Ganzhou 341000, China)*

Abstract Cellular FADD-like interleukin-1- β converting enzyme inhibitory protein (c-FLIP) is a kind of inhibitory protein of caspase with the death effector domain (DED), naturally existing in many species such as virus, eukaryote and mammal inclusively. Recently, it has been discovered that c-FLIP participates the regulation of apoptosis. Overexpression of c-FLIP may inhibits the apoptosis induced by the death receptor of Fas and TRAIL-R. With the development on the mechanism of action and molecular regulation of c-FLIP, its multi-biology function has been found, and also it is associated with the nosogenesis and progression of many diseases.

Key words c-FLIP, the death acceptor, apoptosis, molecular regulation, tumor

*This work was supported by a grant from The Grant from the Foundation of Key Field of Guangdong Province(GX9307).

**Corresponding author . Tel: 86-759-2388301, E-mail: kyzhou@gdmc.edu.cn

Received: April 7, 2006 Accepted: May 29, 2006