

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2010.02.015

## iASPP 和 ASPP2 在非小细胞肺癌组织中的表达及其与临床特征的关系

苏胜发<sup>1,2</sup>, 卢冰<sup>1,2</sup>, 何常<sup>3</sup>, 李青松<sup>1,2</sup> (1. 贵州省肿瘤医院 胸部肿瘤科, 贵州 贵阳 550003; 2. 贵阳医学院 第一附属医院 肿瘤科, 贵州 贵阳 550004; 3. 贵阳医学院 第一附属医院 病理科, 贵州 贵阳 550004)

[摘要] 目的: 检测人非小细胞肺癌( non-small cell lung cancer, NSCLC ) 组织中 P53 凋亡刺激蛋白( apoptosis stimulating protein of P53, ASPP ) 家族的 iASPP、ASPP2 以及 P53 蛋白的表达, 并探讨 iASPP、ASPP2 表达与 P53 蛋白表达及 NSCLC 临床病理特征的关系。方法: 收集 2005 年 1 月至 2005 年 12 月贵阳医学院附属医院 NSCLC 术后的新鲜肺癌组织 54 例、癌组织边缘 2 cm 以外的癌旁组织 44 例用于研究。采用免疫组织化学与 Western blotting 方法检测肺癌组织、癌旁组织中 iASPP、ASPP2 和 P53 的表达情况; 比较 iASPP、ASPP2 在肺癌组织与癌旁组织中表达的差异, 并分析其与 P53 表达及临床病理特征的相关性。结果: P53 阴性时, NSCLC 组织中 iASPP 蛋白表达阳性率为 71.4%, 显著高于癌旁组织的 21.7% ( $P=0.001$ ), NSCLC 组织与癌旁组织中 ASPP2 蛋白表达率的差异无统计学意义; NSCLC 组织 iASPP 表达水平显著高于癌旁组织 [ $(0.57 \pm 0.36)$  vs  $(0.28 \pm 0.24)$ ],  $P=0.001$ , ASPP2 表达水平在癌组织与癌旁组织中差异无统计学意义。P53 阳性时, 癌组织、癌旁组织中的 iASPP、ASPP2 蛋白表达差异均无统计学意义 ( $P>0.05$ )。P53 阴性时癌组织中 iASPP 蛋白的表达显著高于 P53 阳性组织中的表达 ( $P<0.05$ ), P53 阴性时癌组织中 ASPP2 蛋白表达与 P53 阳性组织中表达的差异无统计学意义。不同性别、年龄、病理类型、病理分级、临床分期的 iASPP、ASPP2 蛋白表达差异无统计学意义。结论: 人 NSCLC 组织中 iASPP 表达与 P53 表达状态有关, P53 阴性时 iASPP 高表达。iASPP、ASPP2 蛋白表达与 NSCLC 临床病理特征无明显相关性。

[关键词] 癌, 非小细胞肺; iASPP; ASPP2; P53

[文献标志码] A [文章编号] 1007-385X(2010)02-0194-06

## iASPP and ASPP2 expressions in non-small cell lung cancer tissues and their relationship with clinical characteristics

SU Sheng-fa<sup>1,2</sup>, LU Bing<sup>1,2</sup>, HE Chang<sup>3</sup>, LI Qing-song<sup>1,2</sup> (1. Department of Thoracic Oncology, Guizhou Tumor Hospital, Guiyang 550003, Guizhou, China; 2. Department of Oncology, First Affiliated Hospital of Guiyang Medical College, Guiyang 550004, Guizhou, China; 3. Department of Pathology, First Affiliated Hospital of Guiyang Medical College, Guiyang 550004, Guizhou, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate expressions of iASPP and ASPP2 proteins in primary non-small cell lung cancer ( NSCLC ), and their relationship with P53 expression and the clinical characteristics of NSCLC. **Methods:** Specimens of 54 non-small cell lung cancer ( NSCLC ) patients, who were treated by surgery from Jan. to Dec. 2005 in Hospital of Guiyang Medical College, were included in this study. The expressions of iASPP, ASPP2 and P53 proteins were detected by immunohistochemistry staining and Western blotting analysis. iASPP and ASPP2 differential expressions in NSCLC tissues and adjacent cancer tissues and their relationship with P53 expression and clinical characteristics of NSCLC were analyzed. **Results:** The positive expression rate of iASPP in P53-negative NSCLC tissues was 71%, which was significantly higher than that in the 4 adjacent cancer tissues ( 21%,  $P=0.001$  ). ASPP2 protein expression in NSCLC tissues was not significantly different from that in the adjacent lung tissues. iASPP expression in NSCLC tissues was significantly higher than that in the adjacent cancer tissues ( [ $0.57 \pm 0.36$ ] vs [ $0.28 \pm 0.24$ ],  $P=0.001$  ). ASPP2 expression in NSCLC tissues was not significantly different from that in the adjacent lung tissues. iASPP and ASPP2 protein expressions in P53

[基金项目] 贵州省国际合作重点项目( No. 200411011 ); 贵州省优秀科技教育人才省长专项基金( No. 200579 )。Project supported by the Key International Cooperative Foundation of Guizhou Province ( No. 200411011 ), and the Special Foundation for Outstanding Specialist of Science and Technology and Education of Guizhou Province ( No. 200579 )

[作者简介] 苏胜发( 1979 - ), 男, 贵州省安顺市人, 主治医师, 主要从事肺癌与鼻咽癌的临床与基础研究。E-mail: sushengfa2005@sina.com

[通信作者] 卢冰( LU Bing, corresponding author ), E-mail: lbgymaaa@sohu.com

positive NSCLC tissues were similar to those in the adjacent cancer tissues ( $P > 0.05$ ). iASPP protein expression in P53-negative NSCLC tissues was significantly higher than that in P53-positive NSCLC tissues ( $P < 0.05$ ). ASPP2 protein expression in P53-negative NSCLC tissues had no significant difference with that in P53-positive NSCLC tissues ( $P < 0.05$ ). iASPP and ASPP2 protein expressions in NSCLC patients were similar in patients of different genders, ages, pathology types, pathology grades, and clinical stages. **Conclusion:** iASPP expression is correlated with P53 expression in NSCLC tissues, with iASPP highly expressed in P53-negative NSCLC tissues. Expressions of iASPP and ASPP2 proteins have no correlation with the clinical characteristics of NSCLC.

[ **Key words** ] carcinoma, non-small cell lung; iASPP; ASPP2; P53

[ Chin J Cancer Biother, 2010, 17(2): 194-199 ]

非小细胞肺癌(non-small cell lung cancer, NSCLC)在肺癌中占70%~75%,近几十年来其疗效提高缓慢。流行病学家预测,NSCLC将成为21世纪最常见的疾病之一<sup>[1]</sup>,将成为我国居民的主要死因<sup>[2]</sup>。以往研究已经证实,NSCLC的发生、发展、预后与众多基因相关的分子事件密切相关,其中P53基因是一种重要的抑癌基因<sup>[3-5]</sup>,但在野生型P53状态下仍可能发生肿瘤。P53凋亡刺激蛋白(apoptosis stimulating protein of P53, ASPP)家族的iASPP、ASPP2对P53诱导细胞凋亡功能有调控作用,这可在一定程度上解释该问题<sup>[6-8]</sup>。P53阴性时,NSCLC的发生是否与iASPP、ASPP2蛋白表达异常有关呢?NSCLC中iASPP、ASPP2表达的相关研究目前鲜见报道。本研究通过检测iASPP、ASPP2及P53蛋白在NSCLC中的表达,探讨iASPP、ASPP2与P53蛋白表达及NSCLC临床病理特征的相关性。

## 1 材料与方法

### 1.1 研究对象

收集2005年1月至2005年12月在贵州省肿瘤医院胸外科接受NSCLC根治术的54例新鲜组织标本,保存于 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ ,用于Western blotting检测;同时,术后立即取部分组织固定制成蜡块,用于免疫组织化学检测。其中44例收集了同一病例的肺癌旁组织(定义为癌组织边缘外2 cm以外的组织),10例只收集到癌组织。患者男性45例、女性9例;年龄35~75岁,中位年龄63岁;术后常规病理诊断为鳞癌27例,腺癌17例,其他病理类型10例。

### 1.2 主要试剂

一抗小鼠抗人P53抗体购于Dako公司,一抗小鼠抗人iASPP及ASPP2抗体及二抗羊抗小鼠抗体为英国Ludwig癌症研究所卢欣教授惠赠。ECL化学发光试剂盒购于美国Amersham公司。

### 1.3 免疫组织化学法检测肺癌组织中iASPP、ASPP2、P53的表达

将54例NSCLC癌组织、44例癌旁组织的蜡块按4  $\mu\text{m}$ 厚度切片,常规脱蜡水化。在pH 6.0的0.01 mmol/L枸橼酸盐缓冲液中高压抗原修复,加一抗稀释液(P53抗体稀释度为1:300;iASPP抗体稀释度为1:200),4  $^{\circ}\text{C}$ 湿盒孵育过夜,加辣根过氧化酶标记的二抗50  $\mu\text{l}$ (1:300),37  $^{\circ}\text{C}$ 孵育30 min,DAB室温下显色5~10 min,镜下观察显色过程,适时终止反应。已知有P53表达的乳腺癌标本作为阳性对照,iASPP及ASPP2蛋白的阳性对照用经过3次重复检测为阳性的病例标本。用PBS替代一抗作为阴性对照。

### 1.4 Western blotting检测P53不同表达状态癌组织、癌旁组织中iASPP、ASPP2的表达

分别将保存于 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 的54例NSCLC的癌组织、44例癌旁组织标本取出,常温下解冻后称取150 mg组织,生理盐水洗涤2次,置于玻璃匀浆器中加入冰预冷的1 ml裂解液{8 mol/L尿素,1 mol/L硫脲,0.5%3-[3-(胆酰胺丙基)二甲氨基]丙磺酸盐,50 mmol/L二硫苏糖醇,24 mmol/L精胺}冰上制成组织匀浆,4  $^{\circ}\text{C}$ 裂解30 min,用考马斯亮蓝法测定蛋白浓度。取60  $\mu\text{g}$ 蛋白样品进行SDS-PAGE,电转至硝酸纤维素膜上。5%脱脂奶室温封闭1 h,加入一抗小鼠抗人iASPP抗体(1:500),4  $^{\circ}\text{C}$ 孵育过夜。TBS洗3次,每次10 min,羊抗鼠HRP标记二抗(1:2500),37  $^{\circ}\text{C}$ 孵育1 h。TBS洗3次,每次10 min。ECL化学发光试剂均匀滴在NC膜上,反应5 min后去掉化学发光试剂,用保鲜膜将NC膜包好,在暗室中剪好胶片,将其置于保鲜膜上曝光适当时间,显影、定影。 $\beta$ -actin作为内参照,图像结果用quantity 4.4软件分析。以光密度/面积进行蛋白定量,以iASPP及ASPP2蛋白与 $\beta$ -actin的比值作为蛋白相对表达量。

### 1.5 统计学处理

计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用 $t$ 检验;计数资料间比较采用卡方检验和确切概率法进行分

析。使用 SPSS16.0 软件进行统计学处理,以  $P < 0.05$  判定为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 NSCLC 组织中 iASPP、ASPP2 及 P53 蛋白的表达

免疫组织化学染色结果显示,P53 阳性定位于细胞核,以细胞核内出现棕褐色显色为 P53 阳性细胞;iASPP、ASPP2 蛋白阳性定位于细胞质和细胞核,以细胞质和(或)细胞核出现棕黄色显色为 iASPP、ASPP2 表达阳性细胞(图 1)。每个视野计数 200 个细胞,共计 5 个高倍视野的阳性细胞数,阳性细胞数  $< 25\%$  为(-), $25\% \sim 50\%$  为(+), $51\% \sim 75\%$  为(++) ,  $> 75\%$  为(+++)。( - )定义为阴性,( + ) ~ ( +++ )定义为阳性。54 例肺癌病例中,28 例 P53 阴性,26 例 P53 阳性表达,阳性表达率为 44.8%。P53 阴性时,癌组织、癌旁组织 iASPP 阳性率分别是 71.4%、21.7% ( $\chi^2 = 10.567, P = 0.001$ ),癌组织、癌旁组织 ASPP2 阳性率分别是 7.1%、8.7% ( $\chi^2 = 0.000, P > 0.05$ )。P53 阳性时,癌组织、癌旁组织的 iASPP 表达阳性率分别是 42.3%、23.8% ( $\chi^2 = 1.042, P > 0.05$ ),癌组织、癌旁组织的 ASPP2 表达阳性率分别是 15.4%、19.0% ( $P > 0.05$ )。如表 1

所示, P53 阴性时 NSCLC 癌组织中 iASPP 蛋白的阳性率显著高于 P53 阳性 iASPP 蛋白表达的阳性率; P53 阴性与 P53 阳性时 ASPP2 蛋白阳性率的差异无统计学意义。不同性别、年龄、病理类型、病理分级、临床分期的 iASPP、ASPP2 蛋白表达差异无统计学意义(表 2)。

### 2.2 P53 不同表达状态下 NSCLC 组织、癌旁组织中 iASPP、ASPP 蛋白的表达

Western blotting 检测结果显示,P53 阴性时,癌组织 iASPP 表达量显著高于癌旁组织中 iASPP 表达量;P53 阳性时,癌组织、癌旁组织的 iASPP 表达量差异无统计学意义;无论 P53 阳性或 P53 阴性,癌旁组织与癌组织 ASPP2 表达量的差异无统计学意义(表 3、图 2)。在 P53 阴性的癌组织中 iASPP 表达量显著高于 P53 阳性的癌组织中 iASPP 表达量 [ $(0.57 \pm 0.36)$  vs  $(0.28 \pm 0.24)$ ],  $t = 2.050, P = 0.001$  ]。P53 阴性时与 P53 阳性时比较,癌组织中 ASPP2 表达量的差异无统计学意义 [ $(0.35 \pm 0.18)$  vs  $(0.37 \pm 0.15)$ ],  $t = 0.464, P = 0.645$  ]。不同性别、年龄、病理类型、病理分级、临床分期的 iASPP、ASPP2 表达差异无统计学意义,与免疫组化检测结果相同。

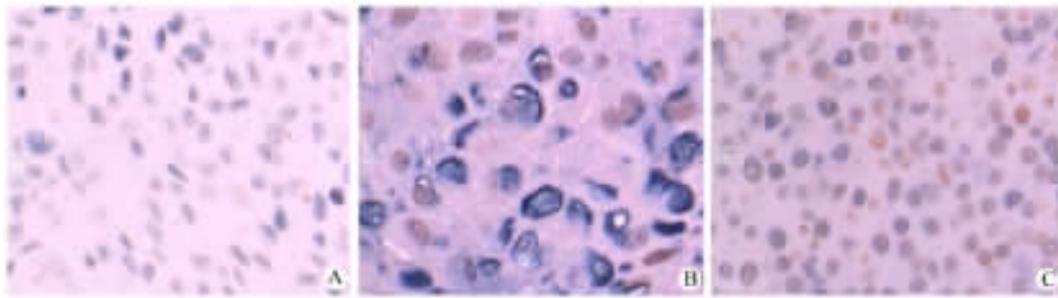


图 1 NSCLC 组织中 P53、iASPP 和 ASPP2 蛋白的表达

Fig. 1 P53, iASPP and ASPP2 protein expressions in NSCLC tissues

A: P53(  $\times 200$  ); B: iASPP(  $\times 400$  ); C: ASPP2(  $\times 200$  )

表 1 NSCLC 组织中 iASPP 和 ASPP2 表达与 P53 表达的相关性[  $n( \%)$  ]

Tab. 1 Correlation of iASPP and ASPP2 protein expressions with P53 expression in NSCLC tissues[  $n( \%)$  ]

P53	iASPP				ASPP2			
	( - )	( + )	$\chi^2$	$P$	( - )	( + )	$\chi^2$	$P$
Negative	8 ( 28.6 )	20 ( 71.4 )	4.741	0.029	26 ( 92.9 )	2 ( 7.1 )	0.939	0.332
Positive	15 ( 57.7 )	11 ( 42.3 )			22 ( 84.6 )	4 ( 15.4 )		

表 2 NSCLC 组织中 iASPP、ASPP2 蛋白表达与临床病理特征的关系[ n( % ) ]

Tab. 2 iASPP and ASPP2 expressions in NSCLC tissues and their relationship with clinical characteristics [ n( % ) ]

Item	P53( - )		P53( + )	
	iASPP ( + )	ASPP2 ( - )	iASPP ( + )	ASPP2 ( - )
Gender				
Male	16( 60 )	2( 9 )	8( 36 )	3( 14 )
Female	4( 80 )	0( 0 )	3( 75 )	1( 25 )
Age				
≤60	4( 50 )	2( 25 )	6( 46 )	3( 23 )
>60	16( 80 )	4( 20 )	5( 39 )	1( 8 )
Type				
Squamous	8( 67 )	1( 9 )	5( 33 )	1( 7 )
Adenocarcinoma	7( 87 )	1( 89 )	4( 44 )	2( 22 )
Others	4( 50 )	1( 88 )	1( 50 )	1( 50 )
Grade				
I	4( 67 )	1( 17 )	3( 50 )	0( 0 )
II - III	12( 86 )	1( 7 )	6( 33 )	3( 17 )
Clinical stage				
I - II	9( 56 )	1( 6 )	2( 25 )	1( 12 )
III - IV	11( 92 )	1( 8 )	9( 50 )	3( 17 )

表 3 P53 不同状态下 NSCLC 和癌旁组织中 iASPP、ASPP2 表达的比较(  $\bar{x} \pm s$  )

Tab. 3 iASPP and ASPP2 expressions in NSCLC and adjacent cancer tissues with different P53 expression statuses (  $\bar{x} \pm s$  )

Group	P53 ( - )		P53 ( + )	
	iASPP	ASPP2	iASPP	ASPP2
NSCLC tissue	0.57 ± 0.36	0.35 ± 0.18	0.40 ± 0.21	0.37 ± 0.15
Adjacent cancer tissue	0.28 ± 0.24	0.29 ± 0.21	0.30 ± 0.24	0.38 ± 0.37
t	3.578	1.209	1.607	0.044
P	0.001	0.065	0.114	0.965

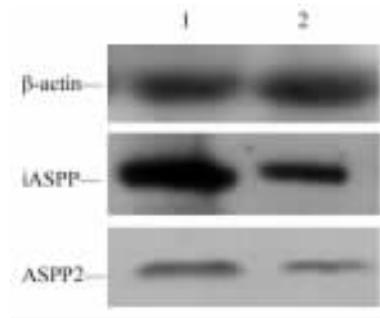


图 2 Western blotting 检测 NSCLC 和癌旁组织中 iASPP 和 ASPP2 蛋白的表达

Fig. 2 iASPP and ASPP2 protein expressions in NSCLC and adjacent cancer tissues detected by Western blotting  
A: NSCLC tissue; B: Adjacent cancer tissue

### 3 讨论

凋亡功能异常导致细胞过度增生是肿瘤形成和发展的主要原因之一。肿瘤抑制因子 P53 是人体内一个关键的细胞凋亡调节因子,在机体组织细胞的生长、发育、分化等过程中发挥重要作用<sup>[3]</sup>。人类的 P53 基因突变率相当高,人类的恶性肿瘤中大约有 50% 发生了 P53 的变异,肺癌中 P53 基因突变率约为 50% ~ 70%<sup>[4-5]</sup>。突变型 P53 可以用基因变异导致 P53 蛋白抗凋亡功能失活来解释恶性肿瘤发生的原因,但是对于表达野生型 P53 的恶性肿瘤就不能用同样的原因来解释:为什么这些野生型 P53 不能起到抑癌基因的作用而放任恶性肿瘤的发生? ASPP 蛋白家族的发现在一定程度上解释了上述问题。ASPP 蛋白家族是在 2001 - 2003 年相继发现的,包括 3 个家族成员: ASPP1、ASPP2 及 iASPP。ASPP1 和 ASPP2 能够与 P53 蛋白相互作用,从而特异性地增强 P53 促细胞凋亡的作用,而 iASPP 则能够抑制 P53 介导的细胞凋亡<sup>[6-8]</sup>。ASPP1、ASPP2 是 P53 蛋白刺激因子,因而属于抑癌基因家族的范畴<sup>[9]</sup>。相反地, iASPP 蛋白是 P53 的抑制因子,它可以特异性地抑制野生型 P53 介导的细胞凋亡过程,导致肿瘤的发生,因此被认为是一种新的癌蛋白<sup>[10]</sup>。目前关于 ASPP 蛋白家族在肺癌中的研究少见报道,本实验是对人 NSCLC 术后标本展开研究,也许对临床工作有一定的参考意义。

研究显示, P53 阴性状态下, NSCLC 癌组织 iASPP 蛋白表达水平显著高于癌旁组织、ASPP2 无明显变化,说明 iASPP 在肿瘤细胞中的表达比正常细胞高, ASPP2 在肿瘤细胞中的表达与正常细胞的

表达量在总体上无差异,提示 NSCLC 的发生可能与 iASPP 蛋白高表达有关。然而, P53 阳性时 NSCLC 癌组织、癌旁组织中 iASPP 与 ASPP2 表达的差异均无统计学意义。实验还发现, iASPP 蛋白在 P53 阴性状态和 P53 阳性状态的 NSCLC 细胞中的表达也存在差异, P53 阴性状态的 NSCLC 中 iASPP 蛋白的表达明显高于 P53 阳性状态; 该结果充分说明, iASPP 蛋白表达与 P53 是否发生突变有关, P53 野生型肿瘤细胞中 iASPP 的表达量明显高于 P53 突变型肿瘤细胞。结果提示, 在 P53 阴性的 NSCLC 中, iASPP 蛋白高表达, ASPP2 表达无明显变化, iASPP 蛋白表达与 P53 是否发生突变有关。根据既往研究<sup>[6, 10-11]</sup>及本实验结果可以推测: 在 P53 未突变的 NSCLC 中, 肿瘤的发生与发展可能与 iASPP 的表达量升高有关, iASPP 表达过度升高可抑制 P53 介导的细胞凋亡, 导致了 NSCLC 的发生; 而在 P53 突变的 NSCLC 中, 肿瘤的发生、发展与 iASPP、ASPP2 的表达改变无关, 可能与 P53 自身发生突变导致其促细胞凋亡功能的丧失有关。结果表明, iASPP 在正常细胞转变为 NSCLC 恶性细胞的过程中有重要的作用; 也可一定程度上解释在 P53 未发生突变的 NSCLC 患者, 其肿瘤的发生可能是因为 iASPP 表达的改变而导致。

国内刘泽军等<sup>[12]</sup>研究肿瘤细胞株 ASPP 家族的表达, 发现了肿瘤细胞中 ASPP1 和 ASPP2 的低表达与 iASPP 的高表达共存的现象; 同时发现通过干扰 iASPP 表达能使细胞凋亡增加<sup>[13]</sup>。Zhang 等<sup>[14]</sup>对急性白血病的结果显示, iASPP 的表达在急性白血病患者细胞中比正常者和急性白血病完全缓解者高。Daniele 等<sup>[10]</sup>检测了 8 例野生型 P53 和 ASPP 水平正常的乳腺癌患者的 iASPP 含量, 结果 7 例患者的 iASPP 含量都比较高。本研究也提示, 在 P53 阴性时, NSCLC 癌组织中 iASPP 出现了高表达, 与上述研究结果一致。其他研究<sup>[6, 15]</sup>发现, 肿瘤细胞的 ASPP2 表达下降, 而本研究未发现 NSCLC 癌组织的 ASPP2 表达发生改变, 分析原因 ASPP2 表达可能与肿瘤细胞类型有关。本研究未发现不同的性别、年龄、病理类型、病理分级、临床分期与 iASPP、ASPP2 蛋白表达有差异。

Lossos 等<sup>[16]</sup>对弥漫性大 B 淋巴细胞瘤 (DLBCL) 和滤泡性淋巴瘤 (FCL) 的研究中发现, ASPP2 表达高的患者存活时间长, 而 ASPP2 表达低的患者存活时间短。有研究<sup>[10, 17]</sup>表明, 增加 iASPP 的表达引起细胞抵抗紫外照射及顺铂诱发的凋亡。这些结果提示, 若能调节 ASPP 蛋白家族在肿瘤组

织中的表达, 将对肿瘤的治疗提供新的治疗途径。近年来, 靶向治疗的应用使 NSCLC 的疗效得到进一步提高, 不同的靶点药物有相应的适应证<sup>[18-20]</sup>, 开发更多的靶点药物将使更多的 NSCLC 患者受益。随着进一步研究的开展, iASPP 也许可以作为 NSCLC 诊断和评价预后的指标; 同时, 寻找一种能调节 iASPP 表达水平的方法, 也许将为表达野生型 P53 基因的 NSCLC 治疗带来新的希望, 可能成为又一个肿瘤治疗的新靶点<sup>[21]</sup>。

## [参考文献]

- [1] Jemal A, Siegel R, Ward E, Hao Y, Xu J, Thun MJ. Cancer statistics [J]. *CA Cancer J Clin*, 2009, 59(4): 225-249.
- [2] 胡成平. 肺癌流行病学与烟草控制的研究进展 [J]. *中国肺癌杂志*, 2008, 11(1): 25-28.
- [3] Zilfou JT, Lowe SW. Tumor suppressive functions of P53 [J]. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 2009, 1(5): 1-12.
- [4] Breen L, Heenan M, Amberger-Murphy V, Clynes M. Investigation of the role of P53 in chemotherapy resistance of lung cancer cell lines [J]. *Anticancer Res*, 2007, 27(3A): 1361-1364.
- [5] Yu J, Baron V, Mercola D, Mustelin T, Adamson ED. A network of p73, P53 and Egr1 is required for efficient apoptosis in tumor cells [J]. *Cell Death Differ*, 2007, 14(3): 436-446.
- [6] Samuels-Lev Y, O'Connor DJ, Bergamaschi D, Trigiani G, Hsieh JK, Zhong S, et al. ASPP proteins specifically stimulate the apoptotic function of P53 [J]. *Mol Cell*, 2001, 8(4): 781-794.
- [7] Sullivan A, Lu X. ASPP: a new family of oncogenes and tumour suppressor genes [J]. *Br J Cancer*, 2007, 96(2): 196-200.
- [8] LANE D. How cells choose to die [J]. *Nature*, 2001, 414(6859): 25-27.
- [9] Patel S, George R, Autore F, Fraternali F, Ladbury JE, Nikolova PV. Molecular interactions of ASPP1 and ASPP2 with the P53 protein family and the apoptotic promoters PUMA and Bax [J]. *Nucleic Acids Res*, 2008, 36(16): 5139-5151.
- [10] Bergamaschi D, Samuels Y, O'Neil N, Trigiani G, Crook T, Hsieh J, et al. iASPP oncoprotein is a key inhibitor of P53 conserved from worm to human [J]. *Nature Genetics*, 2003, 33(2): 162-167.
- [11] 张云, 刘泽军, 李维, 杨丽华, 顾寿智, 卢欣. 肿瘤细胞中 ASPP2 mRNA 的表达及意义 [J]. *第三军医大学学报*, 2003, 25(23): 2103-2105.
- [12] 张云, 刘泽军, 刘彬, 张小兵. 抑癌基因 ASPP 家族在肿瘤细胞株中的表达研究 [J]. *临床血液学杂志: 输血与检验版*, 2009, 22(1): 78-81.
- [13] Liu ZJ, Xin HM, Chen J, Lu X, Zhong S, Gu SZ, et al. A new strategy to resume the apoptosis activity of P53 in leukemia cell lines retaining wild-type P53 [J]. *Leuk Res*, 2007, 31(8): 1156-1158.

- [ 14 ] Zhang X, Wang M, Zhou C, Chen S, Wang J. The expression of iASPP in acute leukemias [ J ]. *Leuk Res*, 2005, 29( 2 ): 179-183.
- [ 15 ] 陈燕平, 刘泽军, 辛海明, 王长松, 卢欣. ASPP 家族成员 mRNA 在乳腺癌细胞株中的表达及意义 [ J ]. *解放军医学杂志*, 2008, 33( 11 ): 1393-1394.
- [ 16 ] Lossos IS, Natkunam Y, Levy R, Lopez CD. Apoptosis stimulating protein of P53 ( ASPP2 ) expression differs in diffuse large B-cell and follicular center lymphoma: correlation with clinical outcome [ J ]. *Leuk Lymphoma*, 2002, 43( 12 ): 2309-2317.
- [ 17 ] 李强, 程湘, 孙守勋, 刘莹. 乳腺癌细胞过表达 iASPP 对顺铂作用的影响 [ J ]. *第三军医大学学报*, 2008, 30( 15 ): 1438-1440.
- [ 18 ] Kim ES, Hirsh V, Mok T, Socinski MA, Gervais R, Wu YL, *et al.* Gefitinib versus docetaxel in previously treated non-small cell lung cancer ( INTEREST ): a randomised phase III trial [ J ]. *Lancet*, 2008, 372( 9652 ): 1809-1818.
- [ 19 ] Pirker R, Pereira JR, Szczesna A, Von Pawel J, Krzakowski M, Ramlau R, *et al.* Cetuximab plus chemotherapy in patients with advanced non-small cell lung cancer ( FLEX ): an open-label randomised phase III trial [ J ]. *Lancet*, 2009, 373( 9674 ): 1525-1531.
- [ 20 ] Reck M, von Pawel J, Zatloukal P, Ramlau R, Gorbounova V, Hirsh V, *et al.* Phase III trial of cisplatin plus gemcitabine with either placebo or bevacizumab as first-line therapy for nonsquamous non-small cell lung cancer: AVAi1 [ J ]. *J Clin Oncol*, 2009, 27( 8 ): 1227-1234.
- [ 21 ] Gillotin S. iASPP, a potential drug target in cancer therapy [ J ]. *Leuk Res*, 2009, 33( 9 ): 1175-1177.
- [ 收稿日期 ] 2009 - 12 - 10 [ 修回日期 ] 2010 - 02 - 28  
[ 本文编辑 ] 王莹

## · 科技动态 ·

### AKT: 一把双刃剑

AKT 是一种丝/苏氨酸激酶,在人类多种肿瘤中常被过度活化。最近一项受人关注的研究发现,肿瘤细胞中 AKT 的活化与肿瘤细胞增殖、凋亡密切相关,同时肿瘤细胞对氧化性应激诱导的衰老和凋亡更敏感。

Nogueira 小组发现 *AKT1* 和 *AKT2* 双敲除的小鼠成纤维细胞比野生型细胞更晚开始衰老,提示 AKT 调节细胞的寿命和衰老。由于活性氧(ROS)参与细胞的衰老过程,作者又测定了这种双敲除细胞中的 ROS 水平,并发现双基因敲除细胞内 ROS 表达水平显著低于野生型。AKT 促进 ROS 含量增高,从而使得表达 AKT 的细胞更易于衰老。作者进一步的研究结果显示,AKT 诱导 ROS 的累积与细胞的衰老由 Foxo 家族转录因子所介导。AKT 能抑制 Foxo 介导的抗氧化因子(如 *sestrin 3*)基因转录,从而抑制抗氧化因子对 ROS 的清除。虽然过度活化的 AKT 能抑制多种凋亡信号所诱导的细胞凋亡,但不能抑制由 ROS 诱导剂所致的细胞凋亡。而且,由于 AKT 上调细胞内 ROS 水平并抑制其清除过程,对 ROS 所诱导的凋亡更加敏感。

ROS 诱导剂(苯乙基异硫氰酸盐,PEITC)能选择性杀伤 AKT 过度活化的细胞。mTOR 抑制剂——雷帕霉素(rapamycin)可抑制细胞生长,在一定条件下能够激活 AKT。单独应用雷帕霉素并不能导致细胞死亡,但与 PEITC 联合应用即可诱导 AKT 过度活化的小鼠成纤维细胞、人胶质母细胞瘤和卵巢癌细胞的凋亡。小鼠卵巢癌移植模型中发现,单一服用 PEITC 或雷帕霉素只能轻微抑制肿瘤生长,而两种药物联用却显示出协同作用,可有效清除肿瘤。这一发现与其他研究结果形成对比,一般认为 AKT 过度活化可降低细胞凋亡疗法(如拓扑异构酶抑制剂依托泊甙)对肿瘤的疗效。

雷帕霉素诱导的 AKT 过度活化可能会使肿瘤产生抗性,本文发现联合细胞氧化性应激和雷帕霉素可诱导 AKT 过度活化的肿瘤细胞凋亡,对应用雷帕霉素类似物治疗肿瘤的具有重要的参考价值,此方案也适用于那些非 AKT 活化型肿瘤的治疗。

[ 向俊宇 摘译,李楠 审阅. Nogueira V, Park Y, Chen CC, Xu PZ, Chen ML, Tonic I, *et al.* *Cancer Cell*, 2008, 14( 6 ): 458-470 ]