

Received: 2007.07.20  
Accepted: 2008.01.21  
Published: 2008.02.14

## Rola białek z rodziny inhibitora apoptozy (IAP) w chorobach rozrostowych układu krwiotwórczego\*

### The role of the inhibitor of apoptosis protein (IAP) family in hematological malignancies

**Olga Grzybowska-Izydorczyk, Piotr Smolewski**

Katedra i Klinika Hematologii Uniwersytetu Medycznego w Łodzi

#### Streszczenie

Zaburzenie równowagi pomiędzy proliferacją komórek a ich podatnością na apoptozę, czyli programowaną śmierć, odgrywa prawdopodobnie główną rolę w rozwoju wielu nowotworów krwi. Przykładem takiej choroby może być przewlekła białaczka limfocytowa (chronic lymphocytic leukemia – CLL), najczęstszy w Europie i Ameryce Północnej typ białaczki. W chorobie tej zmienne nowotworowo limfocyty charakteryzuje niski indeks proliferacji, czego następstwem jest ich stopniowa kumulacja w szpiku oraz w obwodowym układzie chłonnym. Wydaje się jednak, że głównym defektem leżącym u podstaw patogenetycznych CLL są zaburzenia mechanizmów regulacyjnych apoptozy, wiodące do jej zahamowania i powstania klonu białaczkowego.

Głównym etapem apoptozy jest aktywacja kaspaz, enzymów z grupy proteaz serynowych. Jednym z ważnych ogniw regulacji tego zjawiska jest rodzina białek inhibitorowych apoptozy, IAP (inhibitor of apoptosis protein). Wykazano, że białka te mają zdolność hamowania apoptozy, zarówno na drodze receptorowej jak i mitochondrialnej. Do rodziny IAP należą białka: XIAP, cIAP1, cIAP2, NAIP, liwina i surwiwina.

Ze względu na ważną rolę w mechanizmach regulujących proces apoptozy rodzina białek IAP stanowi atrakcyjny cel badań nad ich potencjalnym znaczeniem prognostycznym oraz rozwojem nowych strategii terapeutycznych w chorobach nowotworowych krwi. Nadekspresję białek z rodziny IAP wykazano w wielu chorobach nowotworowych układu krwiotwórczego, w tym ostrych białaczkach, zespołach mielodysplastycznych, przewlekłej białaczce szpikowej oraz chorobach rozrostowych układu chłonnego, tj. przewlekłej białaczce limfocytowej czy chłoniaku o wysokim stopniu złośliwości. Wielu autorów wykazało znamiennej korelację pomiędzy wysokim poziomem IAP, a zwłaszcza XIAP i surwiwiny, a progresją nowotworu. Wydaje się także prawdopodobne, że nadekspresja XIAP w ostrej białaczce szpikowej czy surwiwiny w ostrej białaczce limfoblastycznej i chłoniaku rozlanym z dużych komórek B okaże się nowym, niekorzystnym czynnikiem prognostycznym. Ekspresja i znaczenie innych białek z rodziny IAP jest obecnie przedmiotem intensywnych badań. W pracy dokonano przeglądu aktualnego stanu wiedzy na temat białek IAP w chorobach nowotworowych układu krwiotwórczego.

#### Słowa kluczowe:

choroby rozrostowe układu krwiotwórczego • apoptoza • inhibitory apoptozy • cIAP1 • cIAP2 • XIAP • surwiwina • Smac/DIABLO • Htra2/Omi • regulacja apoptozy

#### Summary

The apoptotic mode of cell death is a major regulatory process in all complex organisms. The low proliferative index and slow accumulation of malignant cells in chronic lymphocytic leukemia

\* Praca powstała dzięki wsparciu konta działalności statutowej Uniwersytetu Medycznego w Łodzi nr 503-1093-1.

(CLL), the most frequent type of leukemia in Europe and North America, suggests that the disease is caused by a defect in apoptosis regulation. Classical apoptosis is executed through the activation of caspases, cysteine proteases which are regulated by a number of pro- and anti-apoptotic proteins. One such checkpoint is the control of caspase activation by a relatively new family of inhibitor of apoptosis proteins (IAPs). They block both the mitochondrial-dependent and -independent apoptotic pathways. The IAP family inhibits apoptosis by binding to specific caspases and possibly by other mechanisms. They also participate in the regulation of cellular and intracellular signal transduction. Six human IAPs have been identified: XIAP, cIAP1, cIAP2, NAIP, livin, and survivin. Because of their important role in regulating apoptosis, IAPs are being investigated as a potential prognostic factor as well as a treatment target in cancer patients. Overexpression of several IAPs has been detected in various hematological malignancies, including acute leukemias, myelodysplastic syndrome (MDS), chronic myeloid leukemia (CML), and many types of lymphoid malignancies, such as chronic lymphocytic leukemia (CLL) and diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL). Many publications revealed significant correlation between a high level of IAPs, especially of XIAP and survivin, and tumor progression. It seems that overexpression of XIAP in acute myeloid leukemia (AML) and survivin in acute lymphoblastic leukemia (ALL) and DLBCL could become a new unfavorable prognostic factor. Many studies are now concentrating on evaluating the expression and significance of the other proteins of the IAP family. In this paper the current knowledge of the importance of IAPs in hematological malignancies is presented.

**Key words:** hematological malignancies • apoptosis • inhibitors of apoptosis • cIAP1 • cIAP2 • XIAP • survivin • Smac/DIABLO • HtrA2/Omi • regulation of apoptosis

**Full-text PDF:** [http://www.phmd.pl/pub/phmd/vol\\_62/11540.pdf](http://www.phmd.pl/pub/phmd/vol_62/11540.pdf)

**Word count:** 3152

**Tables:** –

**Figures:** 2

**References:** 37

**Adres autora:** prof. dr hab. n. med. Piotr Smolewski, Katedra i Klinika Hematologii UM w Łodzi, Wojewódzki Szpital Specjalistyczny im. M. Kopernika, ul. Ciołkowskiego 2, 93-510 Łódź; e-mail: piotr\_smolewski@wp.pl

**Wykaz skrótów:** **AIF** – czynnik aktywujący apoptozę (apoptosis inducing factor); **ALCL** – anaplastyczny chłoniak wielkokomórkowy (anaplastic large cell lymphoma); **ALL** – ostra białaczka limfoblastyczna (acute lymphoblastic leukemia); **AML** – ostra białaczka szpikowa (acute myeloid leukemia); **Bak** – zabójca/antagonista Bcl-2 (Bcl-2 homologous antagonist/killer); **Bax** – białko X związane z Bcl-2 (Bcl-2 associated X protein); **Bcl-2** – chłoniak/białaczka B-komórkowa-2 – białko antyapoptotyczne (B-cell lymphoma/leukemia-2); **BIR** – domena białek IAP (baculoviral IAP – like repeats); **cIAP-1** – pierwszy komórkowy inhibitor apoptozy (cellular inhibitor of apoptosis 1); **cIAP-2** – drugi komórkowy inhibitor apoptozy (cellular inhibitor of apoptosis 2); **CLL** – przewlekła białaczka limfocytowa (chronic lymphocytic leukemia); **CML** – przewlekła białaczka szpikowa (chronic myeloid leukemia); **HtrA2/Omi** – proteaza serynowa, antagonist IAPs (high temperature requirement A2); **HL** – chłoniak Hodgkina (Hodgkin's lymphoma); **IAP** – białko inhibitorowe apoptozy (inhibitor of apoptosis proteins); **IPI** – międzynarodowy indeks prognostyczny (international prognostic index); **kaspazy** – enzymy wykonawcze apoptozy (caspase – cysteine-dependent aspartate specific proteases); **LDH** – dehydrogenaza mleczanowa (lactate dehydrogenase); **MALT** – chłoniak rozwijający się w obrębie tkanki limfatycznej błony śluzowej żołądka (mucosa-associated lymphoid tissue); **MCL** – chłoniak z komórek płaszczka (mantle cell lymphoma); **MDS** – zespół mielodysplastyczny (myelodysplastic syndrome); **MDS-RA** – niedokrwistość oporna na leczenie (refractory anaemia); **MDS-RAEB-t** – niedokrwistość oporna na leczenie z nadmiarem blastów (refractory anaemia with excess of blasts in transformation); **MM** – szpiczak mnogi (multiple myeloma); **MW** – makroglobulinemia Waldenströma; **MZL** – chłoniak strefy brzeżnej (marginal zone lymphoma); **NFκB** – czynnik transkrypcyjny NFκB (NFκB inducing kinase); **NHL** – chłoniaki nieziarnicze (non-Hodgkin's lymphoma); **OS** – przeżycie całkowite (overall survival); **Smac/DIABLO** – mitochondrialny czynnik 2. aktywujący kaspazy (second mitochondrial-derived activator of caspase/direct IAP – binding protein with low pl); **TNF** – czynnik martwicy



nowotworów (tumor necrosis factor); **TRAF** – białko adaptorowe wiążące się do receptora TNF (TNF-R associated factor); **XAF1** – czynnik 1. związany z XIAP; **antagonista IAP (XIAP-associated factor 1)**; **XIAP** – inhibitor apoptozy sprzężony z chromosomem X (X chromosome-linked inhibitor of apoptosis).

## WSTĘP

Apoptoza, czyli programowana śmierć komórki, jest aktywnym procesem metabolicznym, umożliwiającym usunięcie z organizmu komórek szkodliwych (np. zmutowanych), zbytecznych lub uszkodzonych. Równowaga pomiędzy procesem proliferacji komórkowej i apoptozą zapewnia utrzymanie właściwej liczby i odpowiedniego typu komórek w okresie rozwoju organizmu oraz zachowanie prawidłowych ich proporcji w dojrzałych już tkankach [5,39,65]. Podczas apoptozy zachodzi wiele zmian morfologicznych, biochemicznych i molekularnych, prowadzących w końcowej fazie do całkowitej dezintegracji komórki z powstaniem tzw. ciała apoptotycznych, które zostają następnie sfagocytowane przez makrofagi bez indukowania odczynu zapalnego ze strony otaczających tkanek [29]. Podstawowym elementem rozpoczynającym nieodwracalny etap programowanej śmierci komórki jest aktywacja kaspaz, do której może dochodzić na drodze zewnętrznej (receptorowej, zależnej od tzw. receptorów śmierci z nadrodziny czynnika martwicy guza - TNF) lub wewnętrznej (mitochondrialnej) [30]. Opisano również mechanizmy indukcji apoptozy drogą niezależną od kaspaz, z udziałem mitochondrialnego czynnika AIF (apoptosis inducing factor) czy będącej wynikiem działania stresu oksydacyjnego w komórce [31].

Apoptoza jest procesem ściśle i wielopoziomowo regulowanym poprzez wiele białek pro- i antyapoptotycznych, spośród których zasadniczą rolę odgrywają rodziny białek Bcl-2 (m.in. białka Bcl-2, Bcl-xl, Bak, Bax) i p53 oraz białka z rodziny inhibitorów apoptozy – IAP (inhibitor of apoptosis protein family) [17].

## BUDOWA I FUNKCJA BIAŁEK IAP W KOMÓRCE

Białka z rodziny IAP zakłócają przekazywanie sygnału apoptotycznego przez tworzenie kompleksów z innymi białkami uczestniczącymi w realizacji procesu programowanej śmierci komórki. Są to przede wszystkim enzymy proteolityczne - kaspazy, ale także białka adaptorowe, czynniki transkrypcyjne (tj. NFκB) czy wreszcie białka będące blokerami ich aktywności [24,41,64]. Białka IAP mają więc zdolność hamowania apoptozy zarówno receptorowo, jak i mitochondrialnie [64] uczestnicząc w regulacji cyklu komórkowego i wewnątrzkomórkowym przekazie sygnału. U ssaków zidentyfikowano dotychczas wiele białek z rodziny IAP, takich jak XIAP, cIAP1, cIAP2, NAIP, liwina czy surwiwina [24,45,64] (ryc. 1).

Białka IAP są zbudowane z łańcuchów o długości około 150–1500 aminokwasów, których charakterystyczną cechą jest obecność dwóch motywów sekwencyjnych – domeny BIR (baculoviral IAP-like repeats) w N-końcu cząsteczki oraz domeny RING (really interesting new gene) (ryc.1). Ta ostatnia ma strukturę palca cynkowego i jest umiejscowiona w C-końcu polipeptydu, wykazując aktywność ligazy E3 ubikwityna-białko [55,67]. Najlepiej poznany

polipeptyd XIAP zawiera trzy domeny BIR, wśród których domena BIR-2 hamuje aktywność kaspaz 3 i 7 oraz pośredniczy w oddziaływaniu z innymi białkami, m.in. ze Smac/Diablo [18,56,57,64]. BIR3 wiąże się natomiast z inicjującą kaspazą 9 hamując jej aktywność [48,64]. Rola domeny BIR1 nie została jeszcze dokładnie poznana, ale prawdopodobnie nie wykazuje ona zdolności hamowania aktywności kaspaz.

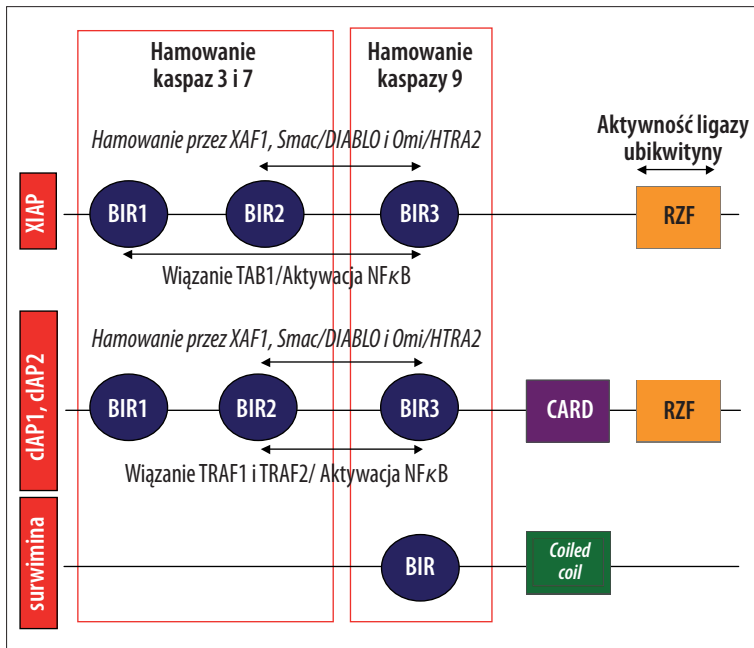
Okazuje się, że większość białek IAP ma zdolność bezpośredniego wiązania i hamowania aktywności wykonawczych kaspaz 3 i 7 oraz zapobiega aktywacji inicjatorowej kaspazy 9 [6] (ryc. 2). Mogą one również działać jako ligazy ubikwitynowe przyczyniając się w ten sposób do degradacji kaspaz [49]. Sugerowany jest również mechanizm hamowania apoptozy poprzez inne białka komórkowe. Wykazano bowiem, że białka cIAP1 i cIAP2 mogą się wiązać z TRAF1 i TRAF2, hamując w ten sposób apoptozę na poziomie receptorów błonowych. Wynikiem tego jest brak proteolizy prokaspazy 8 [62]. Ponadto w regulacji ekspresji białek cIAP2 i XIAP odgrywa rolę transkrypcyjny czynnik NFκB, który w odpowiedzi na stres komórkowy indukuje ekspresję licznych genów antyapoptotycznych [13].

Ważnym krokiem w zrozumieniu mechanizmu kontroli aktywności kaspaz okazało się zidentyfikowanie grupy białek wykazujących antagonistyczne działanie w stosunku do rodziny IAP. Dotychczas poznano trzy proteiny, które podczas apoptozy, po uwolnieniu z mitochondriów, mogą bezpośrednio oddziaływać z IAP. Należą do nich Smac/Diablo, oddziałujący z XIAP, cIAP1, cIAP2 i surwiwiną [24] oraz HtrA2/Omi i XAF1, mające zdolność oddziaływania również z białkiem XIAP (ryc. 2). Szczegóły struktury i funkcji tych białek pozostają nadal przedmiotem badań [54,58].

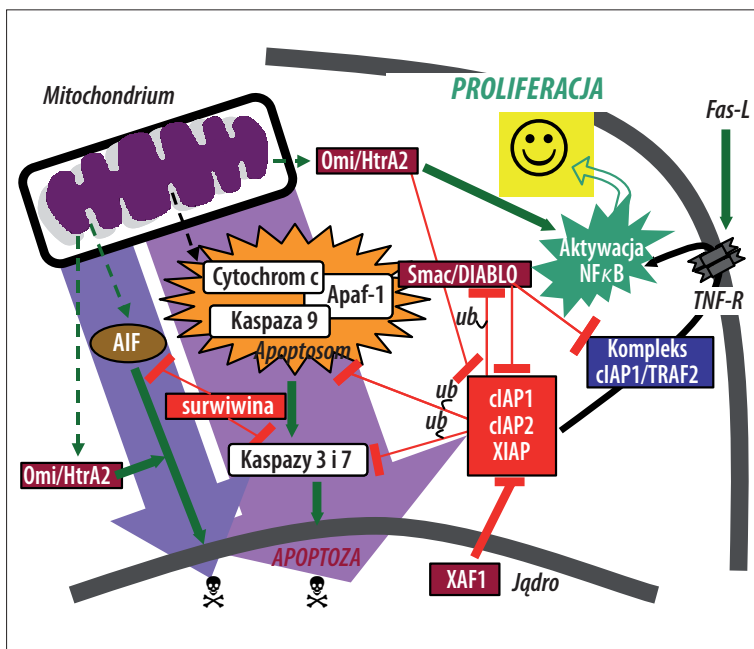
## MECHANIZMY REGULACJI APOPTOZY W CHOROBYCH NOWOTWOROWYCH KRWI

Zachwianie równowagi pomiędzy proliferacją komórek a ich podatnością na apoptozę wydaje się niezwykle istotne dla rozwoju wielu chorób nowotworowych krwi. Przykładem takiej choroby jest przewlekła białaczka limfocytowa (chronic lymphocytic leukemia – CLL), typ białaczki najczęściej rozpoznawany w Europie i Ameryce Północnej.

Nowotworowe limfocyty w CLL cechuje niski indeks proliferacji. Większość z nich znajduje się w fazie G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub> cyklu komórkowego, czego następstwem jest charakterystyczna kumulacja komórek nowotworowych, której przyczyną upatruje się w zaburzeniach regulacji procesu apoptozy [63]. Powszechnie akceptowany jest pogląd, że powodem kumulacji komórek nowotworowych jest właśnie wydłużony czas ich przeżycia a nie wzmożona proliferacja [9,40]. Ponieważ jednak limfocyty CLL wykazując oporność na proces programowanej śmierci w warunkach *in vivo*, ulegają intensywnej, spontanicznej apoptozie *in vitro*, sugerowa-



Ryc. 1. Schemat struktury najważniejszych białek z grupy IAP. Podstawową jednostką strukturalną białek IAP są domeny BIR (baculovirus IAP domain), BIR2 i BIR3, odpowiedzialne za hamowanie aktywności kaspaz 3, 7 i 9, stanowiące cel działania antagonistycznych białek Smac/DIABLO, XAF1 i HtrA2/Omi, a także uczestniczące w regulacji aktywności czynnika transkrypcyjnego NFκB. Domena RZF (ring zing finger) ma aktywność ligazy ubikwityny. Niepewna jest dotychczas funkcja domeny BIR1, CARD (caspase recruitment domain) oraz C-końcowy długi motyw alfa-helikalny (alfa-helical coiled-coil)



Ryc. 2. Mechanizmy działania białek z grupy IAP oraz ich antagonistów; cIAP1, cIAP2 i XIAP bezpośrednio hamują aktywność kaspaz 3, 7 i 9 oraz pośrednio NFκB. Surwiwina hamuje kaspazę 3 i 9. Dodatkowo działa także w mechanizmie niezależnym od kaspaz, hamując apoptozę przez zahamowanie uwalniania czynnika AIF (apoptosis inducing factor) z mitochondrium. Smac/DIABLO and HtrA2/Omi hamują ekspresję wszystkich białek IAP. Ponadto, Smac/DIABLO powoduje dysocjację kompleksu cIAP1/TRAF2 (TNF receptor associated factor 1), hamując w ten sposób aktywację NFκB. Hamowanie surwiwiny przez antagonistów IAP powoduje jednocześnie indukcję apoptozy kaspazoniezależnej przez ułatwienie uwalniania AIF z mitochondrium; XAF1 jest swoistym inhibitorem białka XIAP

na jest rola różnych mechanizmów, zarówno wewnątrz- jak i zewnątrzkomórkowych, które mogą wpływać na przeżycie białaczkowych limfocytów B [14].

Zaburzenia regulacji programowanej śmierci nowotworowych limfocytów B w CLL pozostają od lat przedmiotem badań. Bez wątpienia jest to złożony mechanizm angażujący zarówno wiele czynników wewnętrznych, związanych bezpośrednio z nieprawidłowościami w samym mechanizmie apoptozy komórek B, a także sygnały przekazywane ze środowiska zewnętrznego. Powszechnie znana jest nadekspresja antyapoptotycznych białek Bcl-2 i Bcl-X<sub>L</sub> w komórkach nowotworowych CLL [6], choć mechanizm tego zjawiska nadal pozostaje niepewny [8,21]. Wydaje się, iż większe

znaczenie w regulacji procesu apoptozy może natomiast odgrywać wzajemny stosunek białek o działaniu antyapoptotycznym – Bcl-2 i proapoptotycznym – Bax (Bcl-2/Bax), któremu przypisuje się również pewne znaczenie prognostyczne [26]. Niski wskaźnik Bcl-2/Bax korelował z łagodnym przebiegiem choroby i lepszą odpowiedzią na leczenie w grupie chorych z CLL, podczas gdy u pacjentów z wysokim wskaźnikiem Bcl-2/Bax obserwowano zwiększoną oporność komórek białaczkowych na apoptozę *in vitro* [34]. Zaobserwowano także, że u chorych z CLL opornych na leczenie chorambucilem wskaźnik ten pozostawał wysoki.

Niezwykle ważnym regulatorem procesu apoptozy jest białko p53, odpowiadające m.in. za blokowanie cyklu ko-





mórkowego w przypadku uszkodzeń DNA. Przy braku możliwości naprawy uszkodzonego fragmentu genetycznego białko to bezpośrednio lub z udziałem białka Bax aktywuje mitochondrialną apoptozę [59,60,61]. Mutacje w genie p53 są często spotykane w różnych typach komórek nowotworowych, w tym również CLL. Powodują one brak ekspresji białka p53 lub blokadę jego funkcji transkrypcyjnych, co z kolei koreluje z progresją nowotworu czy opornością na leczenie. Ekspresję zmutowanego białka p53 prowadzącą do zahamowania apoptozy stwierdzono w 10–15% przypadków CLL. Korelowało to z gorszą odpowiedzią na leczenie oraz krótszym czasem przeżycia [15]. Obecność mutacji p53 uznaje się obecnie za jeden z ważniejszych, niekorzystnych rokowniczo czynników u chorych na CLL.

### **EKSPRESJA BIAŁEK IAP W CHOROBAH NOWOTWOROWYCH KRWI**

Ważną rolę w procesie regulacji programowanej śmierci komórki odgrywają bez wątpienia białka należące do rodziny inhibitorów apoptozy – IAP. Poznanie mechanizmów działania tych białek oraz ich wpływu na proces programowanej śmierci komórki stało się w ostatnich latach przedmiotem zainteresowania wielu naukowców. Obecnie prowadzone są badania nad potencjalną rolą IAP w regulacji apoptozy, ich związku z progresją klonu białaczkowego czy wreszcie rozwojem chemooporności.

Niewiele wiadomo na temat ekspresji IAP w prawidłowych komórkach hematopoetycznych. Jest kilka dowodów na to, że może być ona swoista dla określonego typu komórek. Hasegawa i wsp. wykazali ekspresję mRNA i białek XIAP, cIAP1 i cIAP2 w ludzkich neutrofilach, podczas gdy na monocytach i limfocytach obserwowali tylko ekspresję cIAP1 i cIAP2 [23]. Fukada i wsp. oraz Li i wsp. wykazali natomiast odwrotną korelację pomiędzy ekspresją surwiwiny a stopniem zróżnicowania prawidłowych komórek hematopoetycznych [19,27]. Obserwacje te mogą sugerować zależność ekspresji białek IAP od typu komórki i stopnia jej zróżnicowania.

### **EKSPRESJA BIAŁEK IAP W OSTRYCH BIAŁACZKACH I ZESPOŁACH MIELODYSPLASTYCZNYCH**

Na podstawie przeprowadzonych dotychczas badań zaobserwowano zwiększoną ekspresję białek IAP w komórkach nowotworowych różnych typów białaczek. Prawdopodobnie wydają się implikacje kliniczne tej obserwacji w odniesieniu do odpowiedzi na leczenie, przebiegu choroby czy czasu przeżycia chorych, jakkolwiek nadal pozostaje to przedmiotem zainteresowania wielu badaczy.

Nadekspresję XIAP potwierdzono w badaniach na wielu liniach białaczkowych oraz w komórkach blastycznych pacjentów z ostrą białaczką szpikową (acute myeloid leukemiam – AML) [50]. Tamm i wsp. wykazali znaczącą korelację między wysokim poziomem ekspresji XIAP i surwiwiny ( $p < 0,05$ ), a krótszym czasem przeżycia (OS) dzieci z nowo rozpoznaną AML ( $p < 0,01$ ) [51]. Okazało się również, iż ekspresja antyapoptotycznego białka XIAP była niższa u chorych z korzystnymi cytogenetycznymi czynnikami ryzyka (w porównaniu z grupą o umiarkowanym i niekorzystnym ryzyku cytogenetycznym). Kolejną ważną obserwacją było wykazanie znaczących różnic w eks-

presji m.in. XIAP w zależności od stopnia dojrzałości komórek białaczkowych ( $p < 0,002$ ). W przypadku dzieci z AML *de novo* najwyższy poziom tego białka wykrywano w podtypach M0/M1 wg klasyfikacji FAB. Zupełnie inaczej kształtowała się sytuacja w grupie chorych dorosłych z nowo rozpoznaną AML, gdzie z kolei wysoka ekspresja XIAP korelowała z podtypem M4/M5 wg FAB [52]. Również Tamm i wsp. prowadząc badania na grupie 92 dorosłych z *de novo* AML zaobserwowali korelację między niskim poziomem XIAP a dłuższym czasem przeżycia chorych ( $p < 0,05$ ), podkreślając tym samym potencjalne znaczenie prognostyczne badanego białka w odniesieniu do OS [52]. Opublikowano jednak również prace, które nie potwierdzają prognostycznego znaczenia XIAP w ostrych białaczkach [10].

Kolejne białko z rodziny IAP, surwiwina – stała się przedmiotem badań Cartera i wsp., którzy wykazali jej podwyższony poziom u chorych na AML w porównaniu z grupą kontrolną, złożoną ze zdrowych ochotników [11]. Okazało się również, że badane białko charakteryzuje się dużą podatnością na działanie cytokin hematopoetycznych, co może sugerować, że związki te działają antyapoptotycznie i mitogenicznie przynajmniej częściowo przez zwiększenie poziomu surwiwiny [11]. W innym badaniu Troeger i wsp. oceniali ekspresję surwiwiny u 66 chorych na ostrą białaczkę limfoblastyczną B-komórkową (B-cell acute lymphoblastic leukemia – ALL) [53]. Wykazano znacząco podwyższony poziom tego białka w większości analizowanych próbek. Nie obserwowano natomiast związku pomiędzy poziomem surwiwiny a standardowymi czynnikami ryzyka choroby. Zaobserwowano jednak, że pacjenci z nawrotem ALL wykazywali znacząco wyższy poziom białka w porównaniu z chorymi, którzy osiągnęli zadowalające wyniki leczenia. Na podstawie tych obserwacji autorzy sugerują, że wykazanie nadekspresji surwiwiny w ALL może być pomocne w zidentyfikowaniu pacjentów wysokiego ryzyka wczesnego nawrotu choroby, co z kolei może mieć wpływ na zintensyfikowanie sposobu leczenia w tej grupie. Wysoka ekspresja surwiwiny była obserwowana także w grupie chorych ze źle rokującą ostrą białaczką limfoblastyczną T-komórkową [12].

Ekspresję wielu białek z rodziny IAP badano także u chorych na zespoły mielodysplastyczne (myelodysplastic syndrome – MDS). Yamamoto i wsp. porównywali ekspresję IAP u chorych z MDS, AML rozwijającej się na podłożu MDS, AML *de novo* oraz w grupie kontrolnej [66]. Zaobserwowali oni znacznie podwyższoną ekspresję mRNA surwiwiny, cIAP1, NAIP oraz XIAP w komórkach szpiku kostnego u chorych na MDS w porównaniu z grupą kontrolną. Zaobserwowano również spadek ekspresji mRNA dla surwiwiny, cIAP1 i cIAP2 w przypadku rozwoju ostrej białaczki na podłożu MDS. Co więcej, w większości przypadków wykazano pik ekspresji surwiwiny i XIAP z następowym obniżeniem ich poziomu, co mogłoby wskazywać na wczesne stadium rozwoju białaczki. Również Badran i wsp. wykazali wysoki poziom ekspresji mRNA surwiwiny w grupie chorych z MDS, w tym u zdecydowanej większości (92%) chorych z anemią oporną na leczenie (refractory anemia – MDS-RA) oraz u 100% chorych na MDS transformujący w ostrą białaczkę (refractory anemia with excess of blasts in transformation – MDS-RAEB-t) [4].

## BIĄŁKA IAP W CHŁONIAKACH ZŁOŚLIWYCH NIEZIARNICZYCH ORAZ W CHŁONIAKU HODGKINA

Grupa chłoniaków nieziarniczych (non-Hodgkin's lymphoma – NHL) oraz chłoniak Hodgkina (Hodgkin's lymphoma – HL) pozostają także przedmiotem wielu badań skupionych na ocenie ekspresji poszczególnych białek IAP.

Obserwacje na licznej (N=222) grupie chorych z chłoniakiem rozlanym z dużych komórek B (diffuse large B-cell lymphoma – DLBCL) przeprowadzili Adida i wsp. [1]. Badając ekspresję surwiwiny wykazali oni pozytywny wynik analizy u 60% pacjentów (134/222). Ponadto okazało się, że 5-letnie przeżycie w tej grupie było znacząco niższe w porównaniu z chorymi niewykazującymi ekspresji tego białka (40 vs 54%,  $p=0.02$ ). Na podstawie tej obserwacji zasugerowano, że surwiwina mogłaby być brana pod uwagę jako nowy, niekorzystny czynnik prognostyczny w chłoniaku typu DLBCL, niezależnie od innych czynników międzynarodowego indeksu prognostycznego (international prognostic index – IPI). Podobne wyniki dotyczyły ekspresji surwiwiny badanej u chorych z anaplastycznym chłoniakiem wielkokomórkowym (anaplastic large cell lymphoma – ALCL). Schlette i wsp. wykazali ekspresję tego białka u 34 z 62 badanych chorych (55%) [44]. Podobnie do poprzedniej analizy i tu zaobserwowano znacznie gorsze wyniki w odniesieniu do OS u chorych z wykrywalną ekspresją surwiwiny. Również i w tym przypadku gorsze rokowania mieli chorzy z ekspresją surwiwiny w porównaniu z grupą bez wykrywalnej ekspresji tego białka. Także analiza statystyczna potwierdziła niezależność prognostycznej wartości ekspresji surwiwiny u chorych z chłoniakiem typu ALCL (oprócz takich czynników jak wiek >60 r.ż. i III i IV stopień zaawansowania choroby wg klasyfikacji z AnArbor). Również Lin i wsp. potwierdzili ekspresję surwiwiny u 82% badanych chorych na chłoniaka DLBCL (32 na 39 próbek), jednakże ekspresja tego białka nie korelowała w tym badaniu z innymi ustalonymi czynnikami prognostycznymi (tj. obecność objawów ogólnych, aktywność dehydrogenazy mleczanowej, czy inne czynniki ryzyka wg IPI) [28].

Martinez i wsp. badali ekspresję surwiwiny w grupie 80 chorych na chłoniaka strefy płaszcz (mantle cell lymphoma – MCL) [32]. Oceniając ekspresję zarówno mRNA surwiwiny (metodą real time polymerase chain reaction – RT-PCR) jak i samego białka (western blotting, immunohistochemia) zaobserwowali oni znacznie krótszy czas przeżycia chorych z wysoką ekspresją surwiwiny. Ponadto autorzy wykazali, że poziom ekspresji białka jest ściśle związany z aktywnością proliferacyjną guza (ekspresja surwiwiny w fazie G2/M cyklu komórkowego) [32]. Obserwacje te potwierdzają potencjalną rolę surwiwiny w regulacji cyklu komórkowego oraz progresji samego guza.

Innym członkiem rodziny IAP badanym w NHL było białko cIAP2, którego nadekspresję potwierdzili Verhagen i wsp. [56] w chłoniaku strefy brzożnej typu MALT (mucose-associated lymphoid tissue).

Prowadzono również badania oceniające ekspresję białek IAP w komórkach nowotworowych u chorych na chłoniaka Hodgkina. Garcia i wsp. potwierdzili w tym typie chłoniaka nadekspresję surwiwiny [20]. Ponadto, Messineo i wsp.

oraz Salvesen i wsp. wykazali zwiększoną ekspresję zarówno cIAP2 jak i surwiwiny w HL [33,42]. Wyniki te potwierdzają również analizy przeprowadzone przez Akyurek i wsp [2], którzy zaobserwowali ponadto, że wysoka ekspresja cIAP1, cIAP2 i XIAP nie korelowała z typem histopatologicznym chłoniaka.

## BIĄŁKA IAP A PRZEWLEKŁA BIAŁACZKA LIMFOCYTOWA

Liczba doniesień na temat ekspresji białek IAP w CLL jest jak dotąd niewielka, mimo że biologia choroby sugeruje ich potencjalne znaczenie patogenetyczne. Dostępne prace dotyczą głównie analizy porównawczej ekspresji IAP w komórkach CLL oraz innych nowotworów krwi.

Wysoki poziom białek IAP wykazali Akyurek i wsp. [2] badając grupę 240 chorych z NHL (w tym PBL, MM, DLBCL, MCL, FL, MALT, MZL, MW). Spośród wszystkich analizowanych próbek ekspresję cIAP1 wykazano w 73%, cIAP2 w 48%, a XIAP w 15%. Natomiast grupa 9 chorych z przewlekłą białaczką limfocytową wykazywała przede wszystkim wysoką ekspresję cIAP1 i cIAP2, którą obserwowano odpowiednio w 60 i 67% badanych próbek CLL. Różnorodność ekspresji IAP w nowotworach B-komórkowych sugeruje różną ich rolę w patogenezie procesu nowotworowego, co może mieć istotne znaczenie w rozwoju nowych strategii leczenia. Częstsza ekspresja cIAP1 i cIAP2 w porównaniu z XIAP w NHL z komórek B (zwłaszcza w ich postaciach indolentnych) wskazuje, że mogą być one bardziej niż XIAP zaangażowane w patogenezę nowotworu lub też w powstawanie oporności na leczenie. Odwrotną sytuację obserwuje się w guzach litych, gdzie nadekspresja XIAP jest wykrywana w większości badanych przypadków [7,25,36].

Interesujące obserwacje poczynili Nakagawa i wsp. porównując ekspresję białek IAP w komórkach krwi obwodowej i szpiku pacjentów z CLL i ALL [38]. Spośród 13 chorych na OBL podwyższoną ekspresję surwiwiny wykazali prawie u połowy badanych, podczas gdy większość chorych na CLL charakteryzowała się nadekspresją tego białka. Dostrzeżono również różnice w lokalizacji komórkowej surwiwiny. Białko to w komórkach CLL wykazywało ekspresję głównie cytoplazmatyczną, zaś w ALL zarówno jądrową jak i cytoplazmatyczną. W części badanych próbek ALL obserwowano niezwykle silną ekspresję XIAP, cIAP1 i NAIP, jakkolwiek średni poziom ekspresji badanych białek w całej grupie pacjentów nie był znacząco różny w porównaniu z grupą kontrolną [38]. Obserwacje te mogą wskazywać, że niski status proliferacyjny komórek CLL oraz wysoki poziom aktywności proliferacyjnej w ALL mogą mieć związek z różnym umiejscowieniem białek IAP w komórce. Z kolei zdolność oddziaływania IAP na przebieg apoptozy może być modulowana przez ich komórkową lokalizację.

Na uwagę zasługuje również praca Silva i wsp. [47], którzy badając ekspresję białek cIAP1, cIAP2 i XIAP w komórkach pochodzących od 30 chorych na CLL wykazali brak korelacji między poziomem ekspresji IAP a czynnikami prognostycznymi, takimi jak wiek, płeć, zdwojenie limfocytozy, całkowita leukocytoza czy wcześniejsze leczenie. W badanej grupie ekspresja IAP nie pozwoliła przewidzieć wrażliwości komórek na apoptozę indukowaną przez włączone leczenie (fludarabina). Także sama fludarabina nie zmieniała znacząco ekspresji IAP w komórkach CLL *in vivo*.



Próbowano również ustalić swoisty dla CLL układ ekspresji genów białek IAP. De Graff i wsp. [16] badając ekspresję genów poszczególnych białek antyapoptotycznych w grupie pacjentów z różnymi typami nowotworów limfoidalnych, wykazali w CLL znacząco podwyższony poziom ekspresji cIAP2 ( $p < 0,001$ ) oraz bardzo niski poziom surwiwiny ( $p < 0,001$ ) z relatywnie wysoką ekspresją XIAP ( $p < 0,01$ ) w porównaniu z badaną ostrą białaczką limfoblastyczną czy chłoniakami grudkowymi. Podkreślili oni również – na podstawie swojej obserwacji – znaczenie wzajemnego stosunku cIAP2 i surwiwiny (cIAP2/surwiwina), który był znacznie wyższy w grupie chorych z CLL w porównaniu z próbkami innych analizowanych chorób i grupą kontrolną, co pozwalało na wyróżnienie CLL spośród innych typów nowotworów.

Interesujących wyników dostarczyły także badania Schliep i wsp. nad ekspresją białka XIAP w komórkach CLL [45]. Wykazano, że chociaż w warunkach hamowania apoptozy dochodzi do nadekspresji tego białka to jednak zjawisku temu nie towarzyszy wyraźne hamowanie aktywności kaspaz. Może być to spowodowane wysoką ekspresją proapoptotycznego białka Smac/DIABLO w komórkach białaczkowych, która okazuje się wystarczająca do zniesienia hamującego efektu działania XIAP.

Inne badania wykazały, że ekspresja genów kodujących białka IAP, podobnie jak rodziny genów *TRAF* kodujących białko adaptorowe wiążące się do receptora TNF (tumor necrosis factor receptor-associated factor), jest regulowana przez jądrowy czynnik transkrypcyjny kappa B (nuclear factor kappa B – NFκB) [35]. Nadekspresja TRAF1, korelująca z konstytutywną ekspresją genów cIAP1, cIAP2 i XIAP, została potwierdzona w komórkach CLL, mimo że mechanizmy regulacji ekspresji TRAF i IAP wydają się różne.

Granziero i wsp. stwierdzili ponadto, że surwiwina kontroluje proliferację komórek CLL poprzez wpływ na mechanizmy apoptozy [22]. Jej ekspresja może być modulowana przez sygnały pochodzące z mikrośrodowiska szpiku, włączając stymulację poprzez ligand CD40.

#### **BIĄŁKA IAP I INNE CHOROBY ROZROSTOWE UKŁADU KRWIOTWÓRCZEGO**

Badanie ekspresji białek z rodziny IAP stało się przedmiotem zainteresowania także w szpiczaku mnogim (mul-

tiplie myeloma – MM). Nakagawa i wsp. wykazali znaczący wzrost ekspresji surwiwiny, cIAP1, cIAP2 i XIAP w grupie chorych, którzy osiągnęli gorsze wyniki leczenia w porównaniu z pacjentami dobrze reagującymi na chemioterapię [37].

Podjęmowano również próby analizy profilu ekspresji białek IAP w przewlekłej białaczce szpikowej (chronic myeloid leukemia – CML). Badran i wsp. w grupie 12 chorych na CML wykazali wyraźny poziom ekspresji mRNA surwiwiny u wszystkich pacjentów w okresie kryzy blastycznej [3]. Natomiast chorych z fazą przewlekłą CML charakteryzował brak ekspresji mRNA tego białka. Te wstępne dane wskazują, że podwyższenie poziomu surwiwiny może być markerem ewolucji fazy przewlekłej CML do bardziej zaawansowanej postaci choroby (kryza blastyczna) [3].

#### **PODSUMOWANIE I DALSZE PERSPEKTYWY BADAŃ BIAŁEK Z RODZINY IAP**

Mimo szybkiego rozwoju nowoczesnych strategii leczniczych CLL pozostaje wciąż chorobą nieuleczalną. Dokładna analiza mechanizmów regulujących apoptozę mogłaby się przyczynić nie tylko do lepszego poznania biologii tej, jakże częstej postaci białaczki, ale również do skuteczniejszego doboru sposobu leczenia. Nie bez znaczenia pozostaje również prawdopodobne znaczenie prognostyczne białek IAP w odniesieniu do przebiegu choroby, czasu przeżycia chorych oraz odpowiedzi na zastosowane leczenie.

Niezwykle ważnym aspektem dotychczasowych i dalszych badań nad białkami z rodziny IAP jest ich potencjalne wykorzystanie jako celu nowych strategii celowanej terapii przeciwnowotworowej w chorobach rozrostowych krwi. Coraz częściej podejmuje się próby indukowania apoptozy z jednoczesnym uwrażliwianiem komórek na chemio- i radioterapię z wykorzystaniem antysensowych oligonukleotydów oraz niskocząsteczkowych inhibitorów skierowanych bezpośrednio przeciwko poszczególnym IAP (tj. XIAP, surwiwina). Część z tych związków weszła obecnie w I fazę badań klinicznych [7,25,43]. Nie bez znaczenia wydaje się również możliwość wykorzystania w tym celu białek wykazujących antagonistyczne działanie w stosunku do IAP (Smac/Diablo, HtrA2/Omi i XAF1). Pozostaje to jednak wciąż w sferze badań doświadczalnych.

#### **PIŚMIENNICTWO**

- [1] Adida C., Haioun C., Gaulard P., Lepage E., Morel P., Briere J., Dombret H., Reyes F., Diebold J., Gisselbrecht C., Salles G., Altieri D.C., Molina T.J.: Prognostic significance of survivin expression in diffuse large B-cell lymphomas. *Blood*, 2000; 96: 1921–1925
- [2] Akyurek N., Ren Y., Rassidakis G.Z., Schlette E.J., Medeiros L.J.: Expression of inhibitor of apoptosis proteins in B-cell non-Hodgkin and Hodgkin lymphomas. *Cancer*, 2006; 107: 1844–1851
- [3] Badran A., Yoshida A., Wano Y., Imamura S., Kawai Y., Tsutani H., Inuzuka M., Ueda T.: Expression of the antiapoptotic gene survivin in chronic myeloid leukemia. *Anticancer Res.*, 2003; 23: 589–592
- [4] Badran A., Yoshida A., Wano Y., Mutoh M., Imamura S., Yamashita T., Tsutani H., Inuzuka M., Ueda T.: Expression of the anti-apoptotic gene survivin in myelodysplastic syndrome. *Int. J. Oncol.*, 2003; 22: 59–64
- [5] Bellamy C.O., Malcomson R.D., Harrison D.J., Wyllie A.H.: Cell death in health and disease: the biology and regulation of apoptosis. *Semin. Cancer Biol.*, 1995; 6: 3–16
- [6] Bielak-Zmijewska A.: Mechanizmy oporności komórek nowotworowych na apoptozę. *Kosmos. Problemy Nauk Biologicznych*, 2003; 52: 157–171
- [7] Bilim V., Kasahara T., Hara N., Takahashi K., Tomita Y.: Role of XIAP in the malignant phenotype of transitional cell cancer (TCC) and therapeutic activity of XIAP antisense oligonucleotides against multidrug-resistant TCC *in vitro*. *Int. J. Cancer*, 2003; 103: 29–37
- [8] Caligaris-Cappio F.: New insight into the biology of B-chronic lymphocytic leukemia. 41<sup>st</sup> ASH Annual Meeting. New Orleans, 4–7. Dec. 1999
- [9] Caligaris-Cappio F.: B-CLL: At the crossroad between proliferation and apoptosis. *B Cell lymphoproliferative disorders II meeting*, 2–5.06.2001, Amsterdam, Abstract Book, 29



- [10] Carter B.Z., Kornblau S.M., Tsao T., Wang R.Y., Schober W.D., Milella M., Sung H.G., Reed J.C., Andreeff M.: Caspase-independent cell death in AML: caspase inhibition *in vitro* with pan-caspase inhibitors or *in vivo* by XIAP or Survivin does not affect cell survival or prognosis. *Blood*, 2003; 102: 4179–4186
- [11] Carter B.Z., Milella M., Altieri D.C., Andreeff M.: Cytokine-regulated expression of survivin in myeloid leukemia. *Blood*, 2001; 97: 2784–2790
- [12] Che X.F., Zheng C.L., Owatari S., Mutoh M., Gotanda T., Jeung H.C., Furukawa T., Ikeda R., Yamamoto M., Haraguchi M., Arima N., Akiyama S.: Overexpression of survivin in primary ATL cells and sodium arsenite induces apoptosis by down-regulating survivin expression in ATL cell lines. *Blood*, 2006; 107: 4880–4887
- [13] Chu Z.L., McKinsey T.A., Liu L., Gentry J.J., Malim M.H., Ballard D.W.: Suppression of tumor necrosis factor-induced cell death by inhibitor of apoptosis c-IAP2 is under NF-kappaB control. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1997; 94: 10057–10062
- [14] Collins R.J., Verschuier L.A., Harmon B.V., Prentice R.L., Pope J.H., Kerr J.F.: Spontaneous programmed death (apoptosis) of B-chronic lymphocytic leukaemia cells following their culture *in vitro*. *Br. J. Haematol.*, 1989; 71: 343–350
- [15] Cordone I., Masi S., Mauro F.R., Soddu S., Morsilli O., Valentini T., Vegna M.L., Guglielmi C., Mancini F., Giuliacci S., Sacchi A., Mandelli F., Foa R.: p53 expression in B-cell chronic lymphocytic leukemia: a marker of disease progression and poor prognosis. *Blood*, 1998; 91: 4342–4349
- [16] de Graaf A.O., van Krieken J.H., Tonnissen E., Wissink W., van de Locht L., Overes I., Dolstra H., de Witte T., van der Reijden B.A., Jansen J.H.: Expression of C-IAP1, C-IAP2 and SURVIVIN discriminates different types of lymphoid malignancies. *Br. J. Haematol.*, 2005; 130: 852–859
- [17] Dighiero G., Maloum K., Desablens B., Cazin B., Navarro M., Leblay R., Leporrier M., Jaubert J., Lepeu G., Dreyfus B., Binet J.L., Travade P.: Chlorambucil in indolent chronic lymphocytic leukemia. French Cooperative Group on Chronic Lymphocytic Leukemia. *N. Engl. J. Med.*, 1998; 338: 1506–1514
- [18] Du C., Fang M., Li Y., Li L., Wang X.: Smac, a mitochondrial protein that promotes cytochrome c-dependent caspase activation by eliminating IAP inhibition. *Cell*, 2000; 102: 33–42
- [19] Fukuda S., Pelus L.M.: Regulation of the inhibitor-of-apoptosis family member survivin in normal cord blood and bone marrow CD34+ cells by hematopoietic growth factors: implication of survivin expression in normal hematopoiesis. *Blood*, 2001; 98: 2091–2100
- [20] Garcia J.F., Camacho F.I., Morente M., Fraga M., Montalbán C., Alvaro T., Bellas C., Castano A., Diez A., Flores T., Martin C., Martinez M.A., Mazorra F., Menárguez J., Mestre M.J., Mollejo M., Sáez A.I., Sánchez L., Piris M.A.: Hodgkin and Reed-Sternberg cells harbor alterations in the major tumor suppressor pathways and cell-cycle checkpoints: analyses using tissue microarrays. *Blood*, 2003; 101: 681–689
- [21] Gottardi D., Alfarano A., De Leo A.M., Stacchini A., Aragno M., Rigo A., Veneri D., Zanotti R., Pizzolo G., Caligaris-Cappio F.: In leukemic CD5+ B cells the expression of BCL-2 gene family is shifted toward protection from apoptosis. *Br. J. Haematol.*, 1996; 94: 612–618
- [22] Granziero L., Ghia P., Circosta P., Gottardi D., Strola G., Geuna M., Montagna L., Piccoli P., Chilosi M., Caligaris-Cappio F.: Survivin is expressed on CD40 stimulation and interfaces proliferation and apoptosis in B-cell chronic lymphocytic leukemia. *Blood*, 2001; 97: 2777–2783
- [23] Hasegawa T., Suzuki K., Sakamoto C., Ohta K., Nishiki S., Hino M., Tatsumi N., Kitagawa S.: Expression of the inhibitor of apoptosis (IAP) family members in human neutrophils: up-regulation of cIAP2 by granulocyte colony-stimulating factor and overexpression of cIAP2 in chronic neutrophilic leukemia. *Blood*, 2003; 101: 1164–1171
- [24] Holcik M., Korneluk R.G.: XIAP, the guardian angel. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, 2001; 2: 550–556
- [25] Hu Y., Cherton-Horvat G., Dragowska V.: Antisense oligonucleotides targeting XIAP induce apoptosis and enhance chemotherapeutic activity against human lung cancer cells *in vitro* and *in vivo*. *Clin. Cancer Res.*, 2003; 9: 2826–2836
- [26] Jamrozia K., Robak T.: Cytogenetyka i biologia molekularna przewlekłej białaczki limfatycznej B-komórkowej. *Acta Haematol. Pol.*, 2000; 31: 103–112
- [27] Li F., Ambrosini G., Chu E.Y., Plescia J., Tognin S., Marchisio P.C., Altieri D.C.: Control of apoptosis and mitotic spindle checkpoint by survivin. *Nature*, 1998; 396: 580–584
- [28] Liu L., Zhang M., Zou P.: Expression of PLK1 and survivin in diffuse large B-cell lymphoma. *Leuk. Lymphoma*, 2007; 48: 2179–2183
- [29] List A.F., Spier C.M., Cline A., Doll D.C., Garewal H., Morgan R., Sandberg A.A.: Expression of the multidrug resistance gene product (P-glycoprotein) in myelodysplasia is associated with a stem cell phenotype. *Br. J. Haematol.*, 1991; 78: 28–34
- [30] Lockshin R.A., Zakeri Z.: Programmed cell death and apoptosis: origins of the theory. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, 2001; 2: 545–550
- [31] Maiese K., Morhan S.D., Chong Z.Z.: Oxidative stress biology and cell injury during type 1 and type 2 diabetes mellitus. *Curr. Neurovasc. Res.*, 2007; 4: 63–71
- [32] Martínez A., Bellosillo B., Bosch F., Ferrer A., Marce S., Villamor N., Ott G., Montserrat E., Campo E., Colomer D.: Nuclear survivin expression in mantle cell lymphoma is associated with cell proliferation and survival. *Am. J. Pathol.* 2004; 164: 501–510
- [33] Messineo C., Jamerson M.H., Hunter E., Brazier R., Bagg A., Irving S.G., Cossman J.: Gene expression by single Reed-Sternberg cells: pathways of apoptosis and activation. *Blood*, 1998; 91: 2443–2451
- [34] Mollica S.: Prognostic factors in chronic lymphocytic leukemia. W: *Chronic lymphoid leukemias*. Redl.: Cheson B.D., Marcel Dekker, Inc. New York 2001; 231–260
- [35] Munzert G., Kirchner D., Stobbe H., Bergmann L., Schmid R.M., Döhner H., Heimpel H.: Tumor necrosis factor receptor-associated factor 1 gene overexpression in B-cell chronic lymphocytic leukemia: analysis of NF-kappa B/Rel-regulated inhibitors of apoptosis. *Blood*, 2002; 100: 3749–3756
- [36] Nachmias B., Ashhab Y., Ben-Yehuda D.: The inhibitor of apoptosis protein family (IAPs): an emerging therapeutic target in cancer. *Semin. Cancer Biol.*, 2004; 14: 231–243
- [37] Nakagawa Y., Abe S., Kurata M., Hasegawa M., Yamamoto K., Inoue M., Takemura T., Suzuki K., Kitagawa M.: IAP family protein expression correlates with poor outcome of multiple myeloma patients in association with chemotherapy-induced overexpression of multidrug resistance genes. *Am. J. Hematol.* 2006; 81: 824–831
- [38] Nakagawa Y., Yamaguchi S., Hasegawa M., Nemoto T., Inoue M., Suzuki K., Hirokawa K., Kitagawa M.: Differential expression of survivin in bone marrow cells from patients with acute lymphocytic leukemia and chronic lymphocytic leukemia. *Leuk. Res.*, 2004; 28: 487–494
- [39] Reed J.C.: Mechanisms of apoptosis. *Am. J. Pathol.*, 2000; 157: 1415–1430
- [40] Roliński J.: Przewlekła białaczka limfocytowa B-komórkowa – zaburzenia proliferacji czy apoptozy. *Acta Haematol. Pol.*, 1998; 29 (Supl.1): 19–24
- [41] Roy N., Deveraux Q.L., Takahashi R., Salvesen G.S., Reed J.C.: The c-IAP-1 and c-IAP-2 proteins are direct inhibitors of specific caspases. *EMBO J.*, 1997; 16: 6914–6925
- [42] Salvesen G.S., Duckett C.S.: IAP proteins: blocking the road to death's door. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, 2002; 3: 401–410
- [43] Schimmer A.D., Dalili S.: Targeting the IAP family of caspase inhibitors as an emerging therapeutic strategy. *Hematology Am. Soc. Hematol. Educ. Program*, 2005; 215–219
- [44] Schlette E.J., Medeiros L.J., Goy A., Lai R., Rassidakis G.Z.: Survivin expression predicts poorer prognosis in anaplastic large-cell lymphoma. *J. Clin. Oncol.*, 2004; 22: 1682–1688
- [45] Schliep S., Decker T., Schneller F., Wagner H., Häcker G.: Functional evaluation of the role of inhibitor of apoptosis proteins in chronic lymphocytic leukemia. *Exp. Hematol.*, 2004; 32: 556–562
- [46] Shi Y.: A structural view of mitochondria-mediated apoptosis. *Nat. Struct. Biol.*, 2001; 8: 394–401
- [47] Silva K.L., Vasconcellos D.V., Castro E.D., Coelho A.M., Linden R., Maia R.C.: Apoptotic effect of fludarabine is independent of expression of IAPs in B-cell chronic lymphocytic leukemia. *Apoptosis*, 2006; 11: 277–285
- [48] Sun C., Cai M., Meadows R.P., Xu N., Gunasekera A.H., Herrmann J., Wu J.C., Fesik S.W.: NMR structure and mutagenesis of the third BIR domain of the inhibitor of apoptosis protein XIAP. *J. Biol. Chem.* 2000; 275: 33777–33781
- [49] Suzuki Y., Nakabayashi Y., Takahashi R.: Ubiquitin-protein ligase activity of X-linked inhibitor of apoptosis protein promotes proteasomal degradation of caspase-3 and enhances its anti-apoptotic effect in Fas-induced cell death. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2001; 98: 8662–8667
- [50] Tamm L., Kornblau S.M., Segall H., Krajewski S., Welsh K., Kitada S., Scudiero D.A., Tudor G., Qui Y.H., Monks A., Andreeff M., Reed J.C.: Expression and prognostic significance of IAP-family genes in human cancers and myeloid leukemias. *Clin. Cancer Res.*, 2000; 6: 1796–1803





- [51] Tamm I., Richter S., Oltersdorf D., Creutzig U., Harbott J., Scholz F., Karawajew L., Ludwig W.D., Wuchter C.: High expression levels of x-linked inhibitor of apoptosis protein and survivin correlate with poor overall survival in childhood *de novo* acute myeloid leukemia. *Clin. Cancer Res.*, 2004; 10: 3737–3744
- [52] Tamm I., Richter S., Scholz F., Schmelz K., Oltersdorf D., Karawajew L., Schoch C., Haferlach T., Ludwig W.D., Wuchter C.: XIAP expression correlates with monocytic differentiation in adult *de novo* AML: impact on prognosis. *Hematol. J.*, 2004; 5: 489–495
- [53] Troeger A., Siepermann M., Escherich G., Meisel R., Willers R., Gudowius S., Moritz T., Laws H.J., Hanenberg H., Goebel U., Janka-Schaub G.E., Mahotka C., Dilloo D.: Survivin and its prognostic significance in pediatric acute B-cell precursor lymphoblastic leukemia. *Haematologica*, 2007; 92: 1043–1050
- [54] van Loo G., van Gorp M., Depuydt B., Srinivasula S.M., Rodriguez I., Alnemri E.S., Gevaert K., Vandekerckhove J., Declercq W., Vandenabeele P.: The serine protease Omi/HtrA2 is released from mitochondria during apoptosis. Omi interacts with caspase-inhibitor XIAP and induces enhanced caspase activity. *Cell Death Differ.*, 2002; 9: 20–26
- [55] Vaux D.L., Silke J.: Mammalian mitochondrial IAP binding proteins. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 2003; 304: 499–504
- [56] Verhagen A.M., Coulson E.J., Vaux D.L.: Inhibitor of apoptosis proteins and their relatives: IAPs and other BIRPs. *Genome Biol.*, 2001; 2: reviews 3009.1–3009.10
- [57] Verhagen A.M., Ekert P.G., Pakusch M., Silke J., Connolly L.M., Reid G.E., Moritz R.L., Simpson R.J., Vaux D.L.: Identification of DIABLO, a mammalian protein that promotes apoptosis by binding to and antagonizing IAP proteins. *Cell*, 2000; 102: 43–53
- [58] Verhagen A.M., Silke J., Ekert P.G., Pakusch M., Kaufmann H., Connolly L.M., Day C.L., Tikoo A., Burke R., Wrobel C., Moritz R.L., Simpson R.J., Vaux D.L.: HtrA2 promotes cell death through its serine protease activity and its ability to antagonize inhibitor of apoptosis proteins. *J. Biol. Chem.*, 2002; 277: 445–454
- [59] Vousden K.H.: Activation of the p53 tumor suppressor protein. *Biochim. Biophys. Acta*, 2002; 1602: 47–59
- [60] Vousden K.H., Lu X.: Live or let die: the cell's response to p53. *Nat. Rev. Cancer*, 2002; 2: 594–604
- [61] Vousden K.H., Prives C.: P53 and prognosis: new insights and further complexity. *Cell*, 2005; 120: 7–10
- [62] Wang C.Y., Mayo M.W., Korneluk R.G., Goeddel D.V., Baldwin A.S. Jr.: NF- $\kappa$ B antiapoptosis: induction of TRAF1 and TRAF2 and c-IAP1 and c-IAP2 to suppress caspase-8 activation. *Science*, 1998; 281: 1680–1683
- [63] Wołowicz D.: Regulacja aktywności podziałowej komórek przewlekłej białaczki limfatycznej. *Acta Haematol. Pol.*, 2001, 32 (Supl.1): 46–50
- [64] Wrześni-Kuś A., Smolewski P., Sobczak-Pluta A., Wierzbowska A., Robak T.: The inhibitor of apoptosis protein family and its antagonists in acute leukemias. *Apoptosis*, 2004; 9: 705–715
- [65] Wyllie A.H.: Apoptosis and the regulation of cell numbers in normal and neoplastic tissues: an overview. *Cancer Metastasis Rev.*, 1992; 11: 95–103
- [66] Yamamoto K., Abe S., Nakagawa Y., Suzuki K., Hasegawa M., Inoue M., Kurata M., Hirokawa K., Kitagawa M.: Expression of IAP family proteins in myelodysplastic syndromes transforming to overt leukemia. *Leuk. Res.*, 2004; 28: 1203–1211
- [67] Yang Y., Fang S., Jensen J.P., Weissman A.M., Ashwell J.D.: Ubiquitin protein ligase activity of IAPs and their degradation in proteasomes in response to apoptotic stimuli. *Science*, 2000; 288: 874–877