

УДК 577.2

КАСПАЗА-2 – ОНКОСУПРЕССОР И РЕГУЛЯТОР МЕТАБОЛИЗМА: ЧТО ДЕНЬ ГРЯДУЩИЙ НАМ ГОТОВИТ?

© 2018 г. А. Ю. Егоршина^{а, 1}, А. В. Замаев^{а, 1}, И. Н. Лаврик^{а, b},
Б. Д. Животовский^{а, c, *}, Г. С. Копейна^{а, **}

^аФакультет фундаментальной медицины Московского государственного
университета им. М.В. Ломоносова, Москва, 119192 Россия

^bOtto von Guericke University, Magdeburg, 39120 Germany

^cKarolinska Institutet, Stockholm, 17177 Sweden

*e-mail: Boris.Zhivotovsky@ki.se

**e-mail: lirroster@gmail.com

Поступила в редакцию 20.02.2018 г.

Принята к печати 29.03.2018 г.

Программируемая гибель клеток – совокупность генетически регулируемых процессов, существенно отличающихся на молекулярном уровне и необходимых на всех этапах жизни многоклеточного организма. Апоптоз – один из наиболее изученных типов программируемой гибели. Каспаза-2 как член семейства главных ферментов апоптоза – цистеиновых протеаз – обладает как проапоптотическими, так и онкосупрессорными функциями, а также функциями поддержания генетической стабильности и играет одну из ключевых ролей в запуске апоптотической гибели клеток в ответ на генотоксический стресс. В обзоре рассмотрены молекулярные механизмы регулирования работы этого фермента и его физиологическое значение в качестве онкосупрессора и регулятора метаболизма.

Ключевые слова: апоптоз, каспаза-2, онкосупрессор, метаболизм

DOI: 10.1134/S0026898418050063

ВВЕДЕНИЕ

Каспазы, члены семейства цистеиновых протеаз (от англ. caspase – cysteine-dependent aspartate specific protease), играют важную роль как в инициации, так и в развитии апоптотической гибели клеток. Апоптоз – генетически регулируемый тип гибели клеток эукариот [1], который необходим для правильной дифференциации, морфогенеза и удаления клеток, подвергшихся химическому или радиационному воздействию, вирусной ин-

фекции или опухолевой трансформации [2, 3]. Именно поэтому одна из основных причин развития опухолей – нарушение процесса удаления поврежденных клеток, их неконтролируемое деление, а также приобретенное свойство устойчивости к химиотерапевтическому воздействию. В клетке каспазы существуют в виде проформы, для активации которой необходимо поступление сигнала запуска апоптоза [3]. Наиболее эволюционно консервативный представитель этого семей-

¹ Данные авторы принимали равное участие в выполнении исследования.

Сокращения: АМПК (AMP activated protein kinase) – АМФ-активируемая протеинкиназа; АТМ (ataxia telangiectasia mutated) – атаксия-телеангиэктазия мутированный белок; ВСL9L (B-cell CLL/lymphoma 9 protein) – белок 9 В-клеточной хронической лимфоцитарной лимфомы; СаМКII (Ca²⁺/calmodulin-dependent protein kinase II) – кальций/кальмодулинзависимая киназа II; CARD (caspase-recruitment domain) – домен, обеспечивающий гомотипическое связывание каспаз между собой и с другими белками; CDK1 (cyclin-dependent kinase 1) – циклинзависимая киназа I; Chk1 (Checkpoint kinase 1) – киназа контрольной точки клеточного цикла I; DD (death domain) – домен смерти; MAPK (mitogen-activated protein kinase) – митоген-активируемая протеинкиназа; ММТV (mouse mammary tumor virus) – вирус рака молочной железы мыши; NADPH – никотинамидадениндинуклеотидфосфат, восстановленная форма; NLRP3 (nucleotide-binding domain and leucine-rich repeat containing protein 3) – белок, содержащий нуклеотидсвязывающий домен и богатые лейцином повторы; NPM1 (nucleolar phosphoprotein nucleophosmin 1) – нуклеолярный фосфорилированный нуклеофосмин I; p-АТМ (phosphorylated form of АТМ) – фосфорилированная форма атаксия-телеангиэктазия мутированного белка; PАРP [Poly(ADP-ribose) polymerase I] – поли(АДР-рибоза)полимераза I; PIDD (p53-inducible death domain-containing protein) – р53-активируемый белок, содержащий домен смерти; PIDD-CC – С-концевой фрагмент белка PIDD; Plk1 (polo-like kinase 1) – полоподобная киназа I; PP-1 – фосфатаза-1; RAIDD (RIP-associated ICH-1 homologous protein with a death domain) – RIP-ассоциированный гомолог ICH-1, содержащий домен смерти; TIEG (transforming growth factor-beta inducible early gene) – индуцируемый ранними генами трансформирующий ростовой фактор бета; TNFR1 (tumor necrosis factor receptor 1) – рецептор фактора некроза опухоли; АФК – активные формы кислорода.

ства – инициаторная каспаза-2 – участвует как в запуске, так и в усилении процесса апоптоза в ответ на повреждения ДНК, активацию рецепторов смерти, стресс эндоплазматического ретикула, недостаток питательных веществ и ростовых факторов, тепловой шок, а также заражение клеток определенными патогенами [4–7]. Фермент состоит из трех участков: продомена, содержащего CARD (caspase-recruitment domain), каталитических доменов p19 и p12 [7]. Домен CARD необходим для формирования гомотипических взаимодействий, играющих важную роль в активации каспазы-2. Кроме того, последовательность каспазы-2 включает сигнал ядерной локализации, расположенный между продоменом и p19, что отличает ее от других представителей семейства [8]. В результате альтернативного сплайсинга образуются две изоформы каспазы-2: каспаза-2S и каспаза-2L, которые антагонистичны по своим апоптотическим функциям и представлены в тканях взрослого организма с разной степенью экспрессии [9, 10].

Семейство каспаз можно подразделить на 3 основные группы: инициаторные (каспазы-8, -9, -10), отвечающие за запуск каспазного каскада; эффекторные (каспазы-3, -6, -7), активирующие инициаторными каспазами и обеспечивающие деградацию структур клетки; неапоптотические каспазы (каспазы-1, -4, -5, -11), участвующие в воспалительном ответе. Однако каспазу-2 сложно отнести к какой-то определенной группе, так как она обладает свойствами как инициаторных, так и эффекторных каспаз. По первичной структуре каспаза-2 имеет большую степень гомологии с провоспалительной каспазой-1 и инициаторной каспазой-9 и способна запускать каспазный каскад посредством расщепления белка Bid с последующей пермеабиллизацией внешней мембраны митохондрий и сборки апоптосомы [11, 12]. Однако по субстратной специфичности каспаза-2 сходна с эффекторными каспазами-3 и -7 [13–15]. Современные данные по апоптотическим функциям каспазы-2 достаточно подробно описаны в нескольких работах [5, 16, 17].

В последнее время появляется все больше данных по неапоптотическим функциям каспазы-2, включая ее участие в супрессии развития или прогрессирования опухолевых заболеваний. Так, в одной из первых работ по изучению онкосупрессорной функции этого белка на клинических образцах рака молочной железы выявлено статистически значимое увеличение уровня мРНК каспазы-2L у пациентов до и после химиотерапии. Повышенный уровень мРНК этого белка коррелировал с меньшей степенью метастазирования в лимфатические узлы, сниженным содержанием эстрогенных рецепторов и замедлением развития опухоли, что говорит о потенциальной значимости каспазы-2 в качестве терапевтической мишени [18]. Также поступает все больше

информации о роли этого фермента в регуляции целого ряда важнейших процессов жизнедеятельности организма – таких как метаболизм и старение. В обзоре рассмотрены механизмы активации каспазы-2, новейшая информация по ее участию в различных клеточных процессах, а также роль этого фермента в онкогенезе.

АКТИВАЦИЯ КАСПАЗЫ-2: НОВЫЕ МЕХАНИЗМЫ И ИХ РОЛЬ В ФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ ПРОЦЕССАХ

В клетке каспаза-2 локализуется в цитозоле, в ядре и аппарате Гольджи [19, 20]. Как отмечалось выше, каспаза-2 обладает свойствами эффекторных каспаз, хотя активируется в составе высокомолекулярных комплексов, как и другие инициаторные каспазы. Установлено, что каспаза-2 активируется в составе комплекса PIDDosome, состоящего из белков PIDD (p53-inducible death domain-containing protein), RAIDD (RIP-associated ICH-1 homologous protein with a death domain) и каспазы-2 [21]. Кроме того, каспаза-2 может быть активирована в составе комплексов, ассоциированных с рецепторами смерти: CD95/Fas/APO1 и TNFR1 (tumor necrosis factor receptor 1) [22, 23]. Комплекс PIDDosome считался основной сигнальной платформой для активации каспазы-2 в ответ на генотоксический стресс; хотя в исследованиях с использованием дефицитных по белку PIDD клеток, а также мышей выявлено, что активация каспазы-2 может протекать и в отсутствие PIDD [24]. Недавно показано, что, действительно, каспаза-2 может активироваться в независимых от PIDDosome комплексах в ответ на генотоксический стресс и обработку бактериальными токсинами [4, 25]. По-видимому, ответ на вопрос, в каких случаях и при каких воздействиях происходит образование того или иного активирующего комплекса, еще не найден. Тем не менее, за последние несколько лет опубликован ряд работ, в которых предложены новые механизмы активации каспазы-2. Так, в 2012 г. показано, что серинтреониновая киназа ATM (ataxia telangiectasia mutated) в ответ на повреждение ДНК может напрямую стимулировать образование PIDDosome. Эта киназа фосфорилирует белок PIDD по остатку Thr788, который располагается в N-концевой части структурного домена смерти (DD – death domain) [26] и состоит из нескольких остатков, участвующих в гомотипических взаимодействиях – ключевых для образования комплекса PIDDosome [27]. Таким образом, фосфорилирование по остатку Thr788 индуцирует конформационные изменения непосредственно в участке DD и тем самым создает условия для связывания соответствующего партнера – белка RAIDD. Позднее обнаружили, что повреждение ДНК индуцирует сборку, по меньшей мере, двух различных платформ актива-

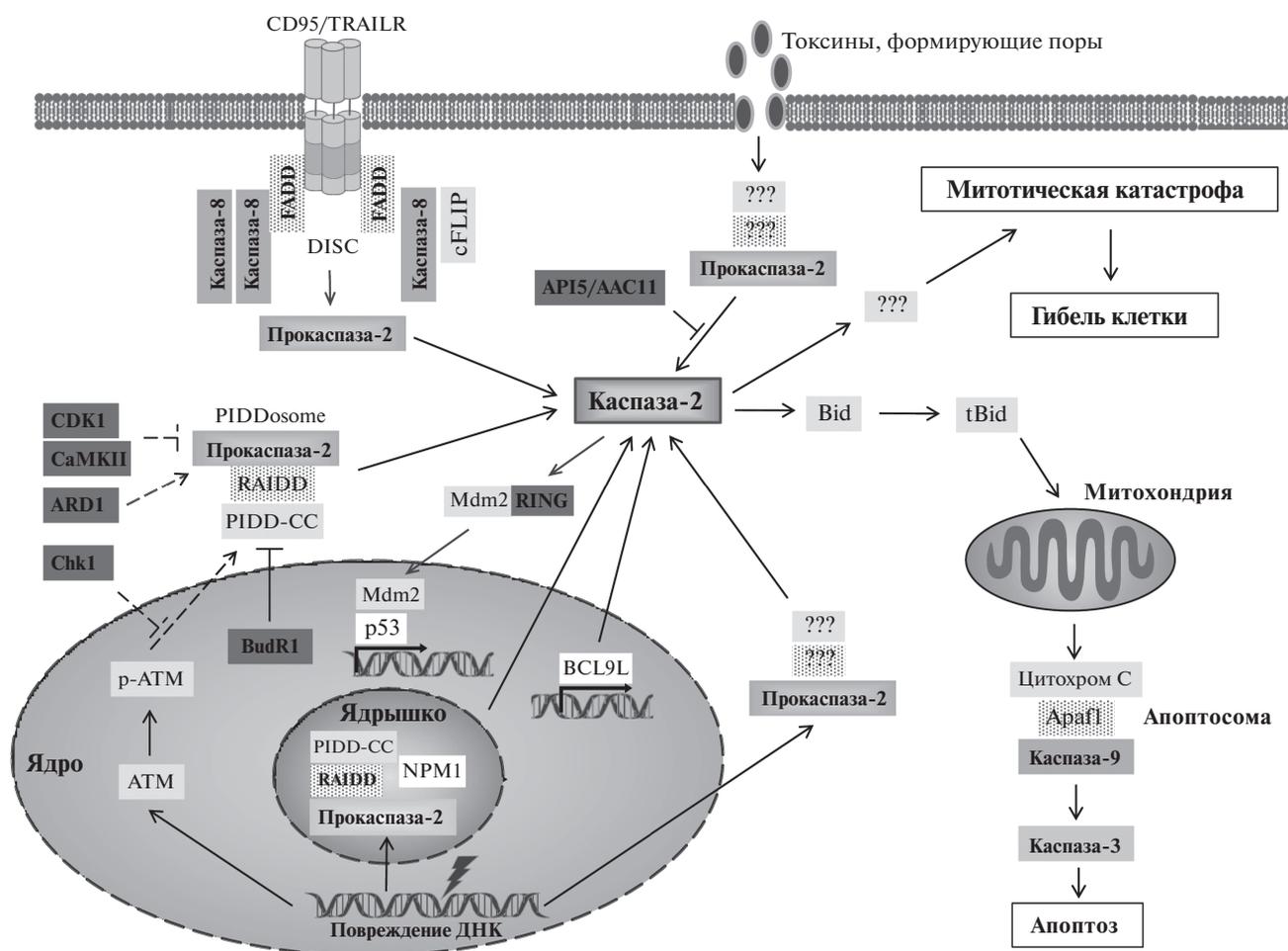


Рис. 1. Пути регуляции активности каспазы-2 в клетке. Темным фоном выделены названия белков, отрицательно регулирующих активность каспазы-2. Стрелки указывают на положительную регуляцию активности белков, знак блока — на ингибирование. Пунктирные стрелки обозначают посттрансляционные модификации. Знаки вопроса указывают на наличие неидентифицированных молекулярных партнеров. Расшифровка аббревиатур приведена в списке принятых сокращений в начале статьи.

ции каспазы-2: цитоплазматическую платформу, зависимую от RAIDD, но независимую от PIDD, и ядрышковую платформу, для сборки которой необходим как PIDD, так и RAIDD [28]. Во втором случае белок NPM1 (nucleolar phosphoprotein nucleophosmin) необходим для сборки PIDDosome в ядрышке и связывания белка PIDD с этим комплексом. Не так давно выяснена роль каспазы-2 и PIDD в поддержании генетической стабильности и удалении анеуплоидных клеток [29]. PIDDosome-зависимая активация каспазы-2 приводила к стабилизации p53 и p21-опосредованному аресту клеточного цикла в ответ на образование дополнительных centrosom и нарушение расхождения хромосом [30]. Fava и соавт. [30] показали, что PIDD может непосредственно локализоваться на centrosome и участвовать в узнавании ошибочно сформированных дополнительных centrosom, запуская апоптоз в неправильно делящихся клетках. Такой механизм направлен

на защиту ткани от формирования клеток с ошибочным набором хромосом и их злокачественного перерождения.

По последним данным, каспаза-2 и комплекс PIDDosome участвуют в регуляции контрольных точек клеточного цикла и могут запустить гибель клетки в процессе митоза, из чего логично предположить действие в клетке механизмов, отрицательно регулирующих сборку этого комплекса. Действительно, существует как минимум два уровня ингибирования формирования PIDDosome: посредством киназы Chk1 (Checkpoint kinase 1) и белка BubR1 — ключевого компонента комплекса Mad2-BubR1-Bub3-Cdc20, контролирующего митоз (рис. 1) [31, 32]. В первом случае киназа Chk1 может непосредственно фосфорилировать PIDD, вызывая его конформационные изменения, которые предотвращают АТМ-зависимое фосфорилирование остатка Thr788 и препят-



Рис. 2. Роль каспазы-2 как регулятора физиологических процессов.

ствуют формированию PIDDosome [31]. Вторым тип подавления сборки PIDDosome включает прямое взаимодействие фосфорилированной формы PIDD и белка BubR1 на кинетохоре хромосомы, что приводит к ингибированию связывания белка RAIDD и подавлению апоптоза [32]. Этот механизм необходим клетке для предотвращения избыточной или случайной гибели при делении и тонкой регуляции ее запуска в случае серьезных нарушений митоза. Таким образом, с одной стороны, PIDDosome и каспаза-2 играют важную роль в предотвращении опухолевой трансформации клетки, контролируя ошибочность митотического процесса; с другой стороны, активация каспазы-2 в комплексе PIDDosome может действовать как “пусковой крючок” апоптоза при существенном уровне повреждений ДНК, не позволяя выживать клеткам с мутациями.

Еще одна важная и несколько неожиданная роль PIDDosome и каспазы-2 состоит в формировании головного мозга. Показано, что мутантные варианты белка RAIDD (также известного как CRADD), ассоциированные с развитием лиссэнцефалии у детей, взаимодействуют с PIDD и каспазой-2, но при этом не способны активировать последнюю [33]. Эти данные позднее получили подтверждение на модели *in vivo* – у мышей с нокаутом по белку RAIDD развивалась мегалэнцефалия [33]. Необходимо отметить, что роль каспазы-2 в нейрональных клетках неоднозначна: в пере- и/или неонатальном периоде ее активация, по-видимому, необходима для нормального развития кортекса, но в более позднем возрасте гиперактивация этой протеазы может приводить к

мозговым дисфункциям. Так, при моделировании болезни Альцгеймера на мышах выявлен новый патологический процесс, в котором каспаза-2 расщепляет белок tau в положении Asp314 с образованием усеченного фрагмента Δtau314. Этот фрагмент накапливался в тканях головного мозга, что приводило к нарушению когнитивных и синаптических функций у экспериментальных животных. Экспрессия мутантов tau, устойчивых к расщеплению каспазой-2, в культивируемых нейронах подавляла передислокацию глутаматных рецепторов, инфильтрацию дендритных отростков и снижение синаптической функции, а уменьшение экспрессии каспазы-2 приводило к восстановлению памяти и предотвращению процесса нейродегенерации у мышей [34]. Таким образом, комплекс PIDDosome как платформа активации каспазы-2 играет важную роль в правильном формировании и функционировании нервной системы (рис. 2). Следовательно, выявление белков-партнеров этой каспазы приблизит нас к пониманию молекулярных механизмов нейропатогенеза.

Несмотря на множество данных относительно физиологической значимости комплекса PIDDosome, до сих пор остается открытым вопрос о других платформах активации каспазы-2. Так, за последние пять лет две независимые группы исследователей обнаружили высокомолекулярные комплексы активации каспазы-2, которые не зависят от белков PIDD и RAIDD (рис. 1) [4, 25]. Копейна и др. [25] идентифицировали RAIDD-независимый комплекс, формирующийся в ответ на повреждения ДНК, что свидетельствует о том, что при генотоксическом стрессе активация кас-

пазы-2 может происходить в отсутствие PIDosome. Imre и др. [4] описали формирование еще одного альтернативного комплекса активации каспазы-2 в ответ на обработку клеток бактериальными токсинами, формирующими поры. При дальнейшем исследовании этого комплекса идентифицировали белок-ингибитор апоптоза API5/AAC11, который блокирует димеризацию каспазы-2 и, следовательно, ее активацию [35]. Необходимо отметить, что белок API5/AAC11 не подавляет апоптоз, индуцированный ДНК-повреждающими агентами или стрессом эндоплазматического ретикулума, из чего можно предположить формирование уникальной платформы активации каспазы-2, сборка которой происходит только при бактериальном заражении. Кроме того, известно, что каспаза-2 участвует в формировании инфламмосомы NLRP3 (nucleotide-binding domain and leucine-rich repeat containing) – комплекса, вовлеченного в активацию врожденного иммунитета [36], а также в созревании дендритных клеток, продукции интерлейкинов, прайминге Т-клеток и регуляции уровня экспрессии генов главного комплекса гистосовместимости II [37–39], из чего можно сделать вывод о ее важной физиологической роли в работе иммунной системы. Таким образом, новая платформа активации каспазы-2, формирующаяся под воздействием бактериальных токсинов, по-видимому, связана с вовлечением этого фермента в механизмы иммунного ответа (рис. 2).

Суммируя имеющиеся на сегодня данные о механизмах активации каспазы-2, можно заключить, что этот белок играет важную роль в поддержании генетической стабильности клеток; причем его функции не ограничиваются только запуском клеточной гибели при повреждении ДНК или возникновении митотических aberrаций, но, по-видимому, затрагивают работу нервной и иммунной систем.

РЕГУЛЯЦИЯ АКТИВНОСТИ КАСПАЗЫ-2 ЗА СЧЕТ ПОСТТРАНСЛЯЦИОННЫХ МОДИФИКАЦИЙ, ВЛИЯЮЩИХ НА ОБРАЗОВАНИЕ ЕЕ КОМПЛЕКСА(ОВ)

Процесс активации и ферментативная активность каспаз могут регулироваться на уровне посттрансляционных модификаций, которые влияют на их способность взаимодействовать с молекулярными партнерами. К наиболее изученным типам модификаций относится фосфорилирование, осуществляемое протеинкиназами. На текущий момент для инициаторных каспаз-8 и -9 известно порядка 10 киназ, регулирующих активацию этих белков [40]. В составе молекулы каспазы-2 идентифицировано 3 сайта фосфорилирования, два из которых играют роль в регуляции активности комплекса PIDosome (рис. 1).

Так, показано, что запуск пентозофосфатного пути в ооцитах *Xenopus laevis* активирует кальций/кальмодулинзависимую киназу II (CaMKII), которая фосфорилирует каспазу-2 по остатку Ser135 (соответствует Ser164 у *Homo sapiens*). Эта модификация предотвращает связывание каспазы-2 с белком-адаптером RAIDD, что ингибирует формирование PIDosome и последующую активацию протеазы [41]. Позже показано, что дефосфорилирование каспазы-2 по Ser135 происходит с участием фосфатазы-1 (PP-1), что позволяет держать активацию каспазы-2 под метаболическим контролем [42]. Активация пентозофосфатного пути приводит к связыванию белка 14-3-3 ζ с фосфорилированным остатком каспазы-2, который защищает каспазу-2 от PP-1-опосредованного дефосфорилирования. Но если уровень питательных веществ, необходимых для поддержания пентозофосфатного пути, падает ниже критического, происходит диссоциация 14-3-3 ζ , дефосфорилирование и активация каспазы-2 и, как следствие, запуск процесса апоптоза [42].

Другой путь регуляции работы PIDosome включает фосфорилирование каспазы-2 киназой CDK1–циклин B1 (cyclin-dependent kinase 1) по остатку Ser340 [43]. Аналогично каспазам-8 и -9 CDK1 фосфорилирует каспазу-2 для предотвращения случайной гибели в клетках во время митоза [44, 45]. Показано, что фосфорилирование по Ser340 не ослабляет связывания каспазы-2 с белком RAIDD [43], и, следовательно, эта фосфорилированная форма может включаться в состав комплекса PIDosome. Авторы предполагают, что ингибирование активности каспазы-2 происходит на стадии автокаталитического расщепления. Таким образом, негативная регуляция проапоптотических функций каспазы-2 может быть опосредована молекулярными механизмами, обеспечивающими деление клеток.

PIDosome-зависимый путь активации каспазы-2 может регулироваться за счет другого типа посттрансляционных модификаций – N-ацетилирования. Показано, что ацетилирование каспазы-2 N-ацетилтрансферазой ARD1 по остатку Ala3 способствует активации фермента и запуску апоптотического пути. Если произвести точечную замену остатка Lys60 или нокдаун N-ацетилтрансферазы ARD1, то каспаза-2 теряет способность связываться с белком-адаптером RAIDD и активироваться в составе комплекса PIDosome [46].

Что касается других нижеописанных посттрансляционных модификаций, их роль в регуляции активности каспазы-2 не вызывает сомнений, однако их влияние, скорее всего, не связано напрямую с комплексом PIDosome. В частности, показано, что при индукции внешнего пути апоптоза прокаспазы-2 фосфорилируется по остатку Ser157 киназой CK2. Ингибирование ки-

назы СК2 и дефосфорилирование каспазы-2 ведут к ее димеризации и активации по PIDDosome-независимому пути [47]. Таким образом, киназа СК2 контролирует чувствительность клеток к проапоптотическим индукторам с помощью ингибирования каспазы-2, которая активируется в данном случае вне комплекса PIDDosome.

Следует отметить, что активация каспаз и их локализация могут регулироваться за счет убиквитинирования и SUMOилирования. В случае убиквитинирования это может приводить как к ингибированию активации каспаз или их протеасомной деградации, так и к их протеолизу и запуску программируемой гибели клеток. До настоящего времени нет данных по убиквитинированию каспазы-2, но показано ее SUMOилирование [48]. Данная модификация отвечает за локализацию белка в клетке, его стабильность и/или каталитическую активность [48]. Известно, что SUMO-1 в основном локализуется в ядре в промиелолейкозных тельцах [48]. Таким образом, связывание с SUMO-1, по-видимому, способствует перемещению каспазы-2 в ядро, где она может быть активирована в описанном выше комплексе PIDD-RAIDD-NPM1 (рис. 1).

Подводя итог, можно сказать, что посттрансляционные модификации каспазы-2, как и других каспаз, играют важную роль в регуляции ее активности, меняя конформацию молекулы белка и доступность активного центра. Более того, посттрансляционные модификации могут приводить к изменению локализации каспаз, что может играть существенную роль в их активации.

РОЛЬ КАСПАЗЫ-2 В РЕГУЛЯЦИИ КЛЕТОЧНОГО ЦИКЛА И АНЕУПЛОДИИ

Первые данные о возможном участии каспазы-2 в регуляции клеточного цикла появились более 15 лет назад – при выявлении ее взаимодействия с циклином D3 [49]. Затем появились данные о регулировании активности каспазы-2 фосфорилированием протеинкиназой Cdk1, что, по-видимому, необходимо для успешного прохождения клеточного цикла и подавления случайной гибели клеток во время митоза [43].

Впервые прямую связь между каспазой-2, нарушением деления и накоплением анеуплоидных клеток показали на примере индукции митотической катастрофы при ингибировании регуляторной киназы клеточного цикла Chk2 [50]. Подавление каспазы-2 в этих условиях позволяло клеткам избегать гибели при неправильном клеточном делении. Позже показали, что ингибирование активности еще одного регулятора клеточного цикла Chk1, даже в p53-дефицитных клетках, приводит к АТМ/ATR-опосредованной активации каспазы-2 и запуску альтернативной апоптозу программы клеточной гибели [31]. Таким образом,

выключение той или другой киназы, контролирующей судьбу клетки после появления поврежденного ДНК, приводит не к классическому апоптозу, а к каспаза-2-зависимой форме гибели, которая характеризуется стадией митотической катастрофы. Под митотической катастрофой принято понимать гибель клетки в результате нарушений митоза, таких как отставание хромосом в мета- и анафазе, К-митозы, мультиполюсные и мультигрупповые мета- и анафазы. Ведущим морфологическим признаком этой формы гибели клетки считается наличие одного или нескольких микроядер, что отличает ее от апоптотической.

Данные, полученные на каспаза-2-дефицитных мышах, подтвердили роль этого белка в регуляции клеточного цикла и поддержании генетической стабильности на организменном уровне. Несмотря на то, что животные с нокаутом по гену каспазы-2 на ранних этапах развивались нормально, у них появлялись признаки преждевременного старения и при воздействии онкогенных факторов относительно быстро развивались опухоли, клетки которых характеризовались анеуплоидией [51]. Анеуплоидия развивается как следствие действия нескольких факторов при дерегулировании контрольных точек клеточного цикла и ошибок в митотическом делении. На модели первичных спленоцитов мышей, нокаутированных по гену каспазы-2, показано, что каспаза-2 защищает клетки от хромосомной нестабильности [51]. Отсутствие каспазы-2 заметно снижало гибель анеуплоидных и многоядерных клеток. На мышах с мутацией каспазы-2 по каталитическому остатку Cys320 показано, что протеолитическая активность каспазы-2 необходима для удаления клеток с митотическими aberrациями посредством инициации апоптоза в ответ на репликативный стресс и, соответственно, для предотвращения анеуплоидии [29].

В настоящий момент механизмы, лежащие в основе каспаза-2-зависимого контроля анеуплоидизации клеток, изучены мало. Известно, что ингибирование киназы Plk1 (polo-like kinase 1), регулирующей деление клетки и участвующей в созревании центросомы, в отсутствие каспазы-2 приводит к более выраженному накоплению анеуплоидных спленоцитов по сравнению с клетками дикого типа [29]. Однако остается открытым вопрос, существует ли на молекулярном уровне прямое взаимодействие между Plk1 и каспазой-2, которое регулирует работу последней? Или же ингибирование Plk1 приводит к каскаду реакций, который в конечном счете активирует каспазу-2 для запуска гибели клеток с недиплоидным набором хромосом. Этот вопрос, несомненно, требует дальнейшего изучения.

Одним из факторов, объясняющих ускоренное накопление повреждений ДНК и возникновение

анеуплоидии, может быть повышенный уровень окислительного стресса в клетках с дефицитом каспазы-2. Например, показано, что у мышей с нокаутом по каспазе-2 уровень окисления белков существенно выше, чем у животных дикого типа, а также заметно снижена экспрессия генов транскрипционных факторов FoxO1 и Nrf2, участвующих в защите клетки от окислительного стресса. В каспаза-2-дефицитных клетках, в отличие от дикого типа, не детектировали усиления активности глутатионпероксидазы и супероксиддисмутазы — ферментов, защищающих клетки от окислительного повреждения после обработки паракватом [52].

Обнаружено, что регулируемая белком BCL9L (B-cell CLL/lymphoma 9 protein) экспрессия гена каспазы-2 на транскрипционном уровне влияет на хромосомную стабильность генома (рис. 1). Отсутствие BCL9L в клетках приводит к снижению базального уровня каспазы-2 и накоплению клеток с недиплоидным набором хромосом [53]. Ошибки при сегрегации хромосом в норме ведут к активации каспазы-2 и элиминации клеток после ошибочного митоза. Механизм гибели запускается двумя способами. Во-первых, будучи активированной, каспаза-2 расщепляет Mdm2 с образованием фрагмента p60, что стабилизирует p53 и запускает транскрипцию генов проапоптотических белков (Puma, Noxa). В норме Mdm2 связывается с N-концевым доменом p53 и подавляет транскрипционную активность этого онкосупрессорного белка. Помимо этого, Mdm2 обладает убиквитинлигазной активностью, которая усиливает протеасомную деградацию p53 и снижает уровень этого белка в клетке [54, 55]. Во-вторых, каспаза-2 расщепляет проапоптотический белок BID, вызывая пермеабиллизацию внешней мембраны митохондрий и запуск внутреннего пути апоптоза [53]. На модели рака толстой кишки авторы обнаружили, что дисфункция или потеря гена *BCL9L* коррелирует с накоплением анеуплоидных клеток в опухолевой ткани и способствует генетической неоднородности и лекарственной устойчивости этого вида злокачественных опухолей. Важно отметить, что BCL9L положительно регулирует апоптоз через активацию каспазы-2 и расщепление BID даже в p53-дефицитных клетках. Таким образом, активация каспазы-2 при подавлении анеуплоидии может работать как безотказный механизм ограничения хромосомной нестабильности в опухолях, мутантных по p53, тем самым репрессируя деление гетерогенных раковых клеток [56].

Также роль каспазы-2 как регулятора анеуплоидии и полиплоидизации клеток выявлена при органогенезе [30]. Увеличение числа зрелых центросом, вызванное нарушением цитокинеза, запускает активацию комплекса PIDosome, что приводит к опосредованной каспазой-2 стабилизации p53 и

p21-зависимой остановке клеточного цикла. Этот путь также сдерживает степень планируемой полиплоидизации, регулируя уровни p53 в гепатоцитах во время органогенеза печени. Таким образом, PIDosome действует как первый барьер, вовлекая p53 в остановку пролиферации клеток, несущих более одной зрелой центросомы, для поддержания целостности генома [30]. Необходимо отметить, что роль RAIDD как белка-адаптера в комплексе PIDosome в процессе удаления анеуплоидных клеток неоднозначна. Так, отсутствие RAIDD не влияло на развитие Eμ-Мусиндуцированной лимфомы у мышей и не приводило к микронуклеации и накоплению анеуплоидных клеток у RAIDD-дефицитных животных [57]. При этом отсутствие каспазы-2 существенно ускоряло процесс онкогенеза, что свидетельствовало о PIDosome-независимой онкосупрессорной функции каспазы-2. Таким образом, остается открытым вопрос универсальности комплекса PIDosome как платформы активации каспазы-2 не только при повреждениях ДНК, но и при ошибках в митозе и неправильном расхождении хромосом.

Подводя итог, можно сделать вывод, что каспаза-2 в регуляции клеточного цикла играет роль “пускового механизма” гибели при обнаружении ошибок в митозе и неправильном расхождении хромосом. Белки, детектирующие такие ошибки, передают сигнал для сборки комплекса активации каспазы-2 (возможно, не только PIDosome). Сам же фермент уже запускает фазу амплификации сигнала гибели и активирует каспазный каскад. Однако остается неизвестным, как регулируется активация каспазы-2 после распознавания ошибок в митозе.

ОНКОСУПРЕССОРНАЯ ФУНКЦИЯ КАСПАЗЫ-2

Более 20 лет назад появились первые работы, свидетельствующие о возможной онкосупрессорной роли каспазы-2. Так, пациенты с гематологическими опухолями часто несут дефекты в гене этого белка, а снижение уровня экспрессии гена коррелирует с плохим прогнозом у пациентов с лимфобластным острым миелоидным лейкозом [58]. Позднее появились данные о том, что экспрессия генов каспаз-2, -6 и -7 в клетках рака желудка снижена по сравнению с нормальными клетками слизистой оболочки желудка, что может быть связано с механизмами канцерогенеза [59]. Низкий уровень экспрессии генов прокаспазы-2 и белка PARP-1 [Poly(ADP-ribose) polymerase 1], который по некоторым данным может быть субстратом каспазы-2, связан с лекарственной устойчивостью клеток при детском остром лимфобластном лейкозе, хотя связи между лекарственной резистентностью и другими апоптоти-

ческими белками: прокаспазы-3, -6, -7, -8, -10 и Араф-1 – не выявлено [50]. В метастатических опухолях головного мозга экспрессия генов каспазы-2, а также бекка TIEG (transforming growth factor-beta inducible early gene) и белка теплового шока Hsp70, участвующих в апоптозе, нейропротекции и подавлении ангиогенеза, заметно снижена [60]. Пониженная экспрессия каспазы-2 обнаружена в клетках гепатоцеллюлярных злокачественных опухолей и инвазивной карциномы молочной железы, аденокарциномы яичников и глиобластомы [16]. Таким образом, накоплено много данных, свидетельствующих о вовлечении этого белка в супрессию злокачественных образований у человека.

Однако в одной из работ показано, что при формировании нейробластомы, характеризующейся амплификацией *MYCN*, экспрессия гена каспазы-2 коррелирует с плохим прогнозом [61]. Около половины пациентов с опухолями, в которых уровень каспазы-2 был высоким, скончались в течение двух лет после подтверждения диагноза, тогда как выживаемость подавляющего большинства пациентов с низкой экспрессией каспазы-2 в опухолях была высокой. В экспериментах по моделированию этого вида опухоли на мышах нокаут по гену каспазы-2 приводил, с одной стороны, к задержке развития нейробластомы; с другой, не влиял на пролиферацию и апоптоз раковых клеток и повышал их выживаемость [61].

О неоднозначности онкосупрессорной функции каспазы-2 свидетельствуют также данные генетического анализа. Лocus каспазы-2 идентифицирован на большом плече хромосомы 7 человека [62]. Этот регион относительно часто имеет дефекты у пациентов с миелоидными опухолями и, вероятно, содержит один или несколько генов-супрессоров опухолей [63]. Однако анализ однонуклеотидных полиморфизмов с высоким разрешением показал, что сайт гена каспазы-2 находится вне региона, который часто теряется при развитии опухоли [64]. Кроме того, хотя соматические мутации каспазы-2 могут влиять на патогенез желудочных и колоректальных карцином, лейкоза, рака молочной железы, печени и легкого, их детектируют очень редко [65]. По-видимому, онкосупрессорная роль каспазы-2 тканеспецифична, а для понимания механизмов действия этого фермента в клетках злокачественных опухолей необходимы дальнейшие исследования с идентификацией его молекулярных партнеров.

Множество данных по функциям каспазы-2, в том числе онкосупрессорных, получены при использовании линий мышей с нокаутом по каспазе-2. Делеция гена каспазы-2 приводит к развитию опухолей, усиливая влияние других онкогенных факторов. Опухоли, возникающие у животных с нокаутом по каспазе-2, как правило, характери-

зуются более высокой скоростью роста и содержат больше клеток, проявляющих кариотипические и морфологические особенности в соответствии с абберантным контролем клеточного цикла. Более того, на клетках таких модельных животных показана значимость двух каталитических сайтов каспазы-2, Cys320 и Ser139, для подавления клеточной трансформации и канцерогенеза [66].

На модели индуцированного канцерогенеза молочной железы мышей MMTV (mouse mammary tumor virus)/с-neu выявлена онкосупрессорная роль каспазы-2 [67]. Скорость роста опухолей молочной железы у мышей MMTV/с-neu, нокаутных по каспазе-2, была выше, чем у мышей MMTV/с-neu дикого типа. Отсутствие каспазы-2 не оказывало существенного влияния на формирование опухоли у мышей без потомства; однако, ощутимая разница наблюдалась между самками с двумя и более пометами, что свидетельствовало о потенциальной важности гормонального контекста онкосупрессорной функции каспазы-2. Важно отметить, что у приблизительно четверти мышей MMTV/с-neu с нормальным уровнем каспазы-2 опухоли не развивались в течение года и более, тогда как все гетерозиготные или нокаутные мыши умерли в возрасте около 9 месяцев. Таким образом, каспаза-2 замедляет с-neu-опосредованное образование опухолей у большинства мышей или даже предотвращает развитие рака у мышей MMTV/с-neu в течение первого года жизни [67]. Необходимо отметить, что опухоли, которые возникали у нокаутных по каспазе-2 мышей, имели более высокую долю митотических и многоядерных клеток, клеток с аномально большими ядрами или абберантными митотическими веретенами, чем те, которые развивались у животных MMTV/с-neu с каспазой-2. Эти наблюдения еще раз подтверждают роль каспазы-2 в элиминации анеуплоидных клеток после нарушения митоза и в супрессии развития опухоли (рис. 2).

Не исключено, что онкосупрессорная роль каспазы-2 связана с ее способностью регулировать уровень белков, отвечающих за защиту от окислительного стресса. Так, показано, что наличие этого белка подавляет образование гепатоцеллюлярной карциномы, индуцированное диэтилнитрозамином – агентом, продуцирующим активные формы кислорода и разрушающим ДНК. Нокаутные по каспазе-2 мыши, которые получали инъекции диэтилнитрозамина, были склонны к ускоренному канцерогенезу, который сопровождался более высоким уровнем окислительного повреждения и воспаления путем высвобождения цитокинов, а также мышечной слабостью, повреждением печени и усиленной пролиферацией гепатоцитов в сравнении с животными дикого типа [68].

Показано, что у каспазы-2-дефицитных животных при дефиците киназы АТМ, которая связывается с двунитевыми разрывами ДНК, усилен лимфомагенез [69]. Мыши, у которых отсутствовали как каспазы-2, так и АТМ, отличались высокой послеродовой летальностью и замедленными темпами роста, а у выживших мышей в возрасте до года в два раза чаще развивались лимфомы, чем у мышей, у которых отсутствовали только АТМ или только каспазы-2 [69]. В опухолевых клетках лимфомы с двойным нокаутом, по АТМ и каспазы-2, как скорость деления, так и уровень анеуплоидии были повышены по сравнению с клетками, полученными от мышей, дефицитных только по АТМ [69]. Таким образом, каспазы-2 регулирует митотические контрольные точки после повреждения ДНК и уменьшает лимфомагенез. Следует заметить, что проапоптотическая функция каспазы-2 также важна для реализации онкосупрессорных свойств. Так, как сказано выше, активированная каспазы-2 расщепляет белок Mdm2 по сайту DVPD с образованием Mdm2-p53-связывающего домена и RING-подобного домена. Последний отвечает за убиквитинирование p53, а N-концевой домен Mdm2 связывается с онкосупрессорным белком p53 и стабилизирует его по принципу положительной обратной связи [70]. Таким образом, каспазы-2 может подавлять развитие опухоли, влияя как на клеточный цикл, так и на p53-зависимый путь, что было также подтверждено на модели Kras-ассоциированного рака легкого [71]. Потеря каспазы-2 приводила к ускорению роста и прогрессии опухоли; при этом дефицитные по каспазы-2 опухоли были более чувствительны к химиотерапии, их размер сильно уменьшался после лечения, но они быстро рецидивировали вследствие ускоренного деления раковых клеток, что в конечном итоге снижало долгосрочный терапевтический эффект [71]. Вероятно, онкосупрессорная функция каспазы-2 в этом случае заключается не в индукции апоптотической гибели раковых клеток при химиотерапии, а в удалении потенциально онкогенных клеток с недиплоидным набором хромосом.

Таким образом, с физиологической точки зрения функция каспазы-2 как онкосупрессора заключается, в первую очередь, в поддержании генетического гомеостаза тканей путем элиминации анеуплоидных клеток, которые могут претерпеть злокачественное перерождение.

РОЛЬ КАСПАЗЫ-2 В МЕТАБОЛИЗМЕ

Как упомянуто выше, активация каспазы-2 находится под метаболическим контролем клетки. Нарушение баланса главных компонентов метаболической системы может запустить клеточную гибель. Показано, что накопление длинноцепочечных жирных кислот вне жировой ткани

вызывает цитотоксичность и, так называемый, липоапоптоз, который считается причиной многих заболеваний, таких как неалкогольная жировая болезнь печени, диабет и сердечно-сосудистые патологии [72]. Оказалось, что каспазы-2 выполняет в липоапоптотической гибели клеток инициаторную функцию. Снижение экспрессии каспазы-2 приводило к значительному уменьшению клеточной гибели, вызванной длинноцепочечными жирными кислотами. Следует сказать, что наблюдалась и обратная ситуация, когда ингибиторы накопления жирных кислот предотвращали активацию каспазы-2 [72].

При дальнейшем изучении неалкогольной жировой болезни печени у пациентов и на модельных животных обнаружена повышенная экспрессия каспазы-2 в поврежденных гепатоцитах [73]. Выключение гена каспазы-2 приводило к снижению апоптоза в этих тканях и высвобождению факторов фиброгенеза, что защищало клетки печени от неалкогольной жировой болезни. Более того, нокаут по каспазы-2 у мышей, получавших питание с повышенным содержанием насыщенных жирных кислот, холестерина и сахаров, предотвращал развитие ожирения, поддерживал чувствительность к инсулину, снижая гиперплазию островков Лангерганса, защищал от дислипидемии. В клетках жировой ткани не происходило нарушения регуляции адипокинов, а также не увеличивалось количество и размер адипоцитов, как это наблюдалось у мышей дикого типа [73]. Недавно Wilson с соавт. [74] подтвердили роль каспазы-2 в развитии ожирения. По сравнению с 17-недельными мышами дикого типа у нокаутных по каспазы-2 животных в этом же возрасте снижена масса белой жировой ткани, а также содержание глюкозы и триглицеридов в крови натощак. При содержании мышей на высококалорийной диете выявлено, что нокаутные по каспазы-2 животные не подвержены развитию ожирения, накоплению жиров в печени, гиперинсулинемии и отличаются повышенной инсулинрезистентностью по сравнению с мышами дикого типа [74].

Помимо жирового обмена каспазы-2, по-видимому, участвует в регуляции метаболизма углеводов (рис. 2). Так, по сравнению с животными дикого типа в тканях печени молодых мышей, дефицитных по каспазы-2, снижено содержание NADPH и глицерин-3-фосфата, а в митохондриях – окислительного фосфорилирующего комплекса III, наряду с повышенным уровнем цитратсинтазы [75]. Кроме того, у молодых мышей без каспазы-2 отмечали снижение содержания рибосомных белков и белков дыхательной цепи, изменения митохондриальной функции, что свидетельствовало о преждевременном старении этих животных. Тем не менее, в возрасте 1.5–2.0 лет у мышей с дефицитом каспазы-2 уровень глюкозы в крови был ниже, а толерантность к глюкозе вы-

ше, чем у животных дикого типа, что положительно отражалось на здоровье мутантных животных [75]. При содержании мышей на высококалорийной диете выявлены и другие метаболические преимущества потери каспазы-2. Так, мышцы с дефицитом каспазы-2 оказались менее подвержены развитию заболеваний, ассоциированных с высоким потреблением жиров и углеводов, включая сахарный диабет, дислипидемию и печеночный стеатоз [74]. У нормальных мышей, находившихся на высококалорийной диете, жира в организме было в 2 раза больше, чем у мышей дикого типа на нормальном питании; в то время как у каспаза-2-дефицитных мышей, получавших высококалорийную пищу, содержание жира было незначительно больше, чем у нокаутных мышей с нормальным рационом [74]. Этот эффект был особенно выражен при измерении массы эпидидимального жира. Размер адипоцитов заметно повышался у нормальных мышей, которых кормили едой с высоким содержанием жиров и углеводов, но размер адипоцитов каспаза-2-дефицитных мышей не изменялся [75]. Этой же группой исследователей изучено влияние дефицита каспазы-2 на метаболизм у самцов и самок при нормальном питании и голодании [76, 77]. Как правило, наличие или отсутствие каспазы-2 сильнее воздействовало на метаболизм печени у самцов, чем у самок [77]. Каспаза-2 не оказывала влияния на толерантность к глюкозе у самок мышей после голодания, но у самцов мышей, лишенных каспазы-2, улучшилась толерантность к глюкозе по сравнению с самцами дикого типа [77]. Обычно при голодании организм, в первую очередь, получает энергию из гликогена, хранящегося в печени, затем из липидов белой жировой ткани и, наконец, из мышечных белков. И в этих экспериментах дефицит каспазы-2 усиливал распад липидов у самцов (натощак), но различия не наблюдались между самками двух генотипов [77]. Таким образом, усиленный липолиз и сохранение толерантности к глюкозе можно рассматривать как следствие дефицита или инактивации каспазы-2, что подчеркивает важность правильной регуляции ее активности в организме.

Недавно выявлена роль каспазы-2 в процессе аутофагии [78] (рис. 2). Этот процесс необходим клетке для адаптации в условиях голодания или недостатка энергии, а также для удаления поврежденных компонентов; при этом в аутофаголизосомах происходит расщепление органелл и макромолекул до мономеров, которые используются клеткой в синтезе новых биополимеров и органелл. Показано, что снижение или полное подавление экспрессии гена каспазы-2 приводит к увеличению содержания аутофаголизосом и усилению аутофагии в различных клеточных линиях [79]. Восстановление экспрессии гена каспазы-2 в нокаутных по этому ферменту мышинных эм-

бриональных фибробластах, наоборот, подавляет процесс аутофагии. Следует добавить, что сам процесс аутофагии не оказывал влияния на экспрессию каспазы-2 в отсутствие внешних стимулов. При изучении сигнальных путей, вовлеченных в процесс аутофагии, обнаружено, что при нокауте каспазы-2 происходит активация АМРК (AMP-activated protein kinase) и инактивация сигналинга mTOR. Кроме этого, происходили изменения и в сигнальном пути MAPK (mitogen-activated protein kinase): активность MAPK1/3 усиливалась, а MAPK14 снижалась, что необходимо для созревания аутофагосом [79]. Таким образом, выявлена новая роль каспазы-2 – как негативного регулятора в процессе аутофагии, хотя точный механизм действия каспазы-2 и ее место в сигнальных каскадах пока неизвестно.

Суммируя полученные данные, можно полагать, что каспаза-2 вовлечена в регуляцию метаболического стресса либо за счет ее каталитической активности, либо влияя на экспрессию определенных генов. Кроме того, каспаза-2-зависимая негативная регуляция аутофагии может отражаться на доступе питательных веществ, получаемых за счет переработки внутриклеточных ресурсов, и, как следствие, на метаболизме клеток (рис. 2).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Каспаза-2 выполняет множество функций в клетке. Прежде всего, это участие в процессе апоптоза. Известны и другие функции: запуск гибели клетки вследствие неправильного деления, предотвращение появления анеуплоидных клеток, а также противодействие злокачественному перерождению. Кроме того, каспаза-2 участвует в работе иммунной и нервной систем, а также регуляции метаболических процессов. Понятно, что при таком мультифункциональном паттерне активность каспазы-2 должна быть строго регулируема, – это необходимо для правильного функционирования организма. Несмотря на то, что в последние годы накоплено много новых данных по каспазе-2, молекулярные механизмы ее действия не совсем ясны. Необходимо дальнейшее исследование этого фермента, который может стать мишенью для препаратов, предназначенных для лечения ряда болезней человека, таких как диабет, ожирение, метаболический синдром, нейродегенеративные и онкологические заболевания.

Дальнейшие исследования физиологических функций каспазы-2, прежде всего, будут нацелены на выяснение молекулярных механизмов ее активации и идентификацию ее партнеров. Это даст ключ к пониманию процессов контроля за делением клеток и удаления анеу- и полиплоидных клеток. В ходе этих исследований предстоит

разработать новые подходы и найти или сконструировать новые агенты-регуляторы вышеуказанных процессов. Все это позволит поднять стратегию противораковой терапии на новый уровень. Так, с одной стороны, наличие прямой связи между каспазой-2 и одним из главных онко-супрессорных белков — p53 — дает потенциал для модулирования активности p53 через каспазу-2 в раковых клетках. С другой стороны, изучение белок-белковых взаимодействий может привести к открытию новых функций каспазы-2, что важно не только с точки зрения фундаментальной науки, но и биомедицины для выявления новых терапевтических мишеней. Еще одно перспективное направление исследований каспазы-2 — оценка корреляции между течением того или иного онкологического заболевания и экспрессией гена каспазы-2 и его мутаций в опухолевых тканях, что позволит определить значимость каспазы-2 как прогностического фактора в онкологии.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда, проект № 17-75-20102. Работа в лабораториях авторов также поддерживается Российским фондом фундаментальных исследований (18-015-00211, 18-04-00207), Шведским (160733) и Стокгольмским раковыми фондами (161292; The Stockholm and Swedish Cancer Societies), Шведским фондом детского рака (PR2016-0090; The Swedish Childhood Cancer Foundation) и Шведским научным фондом (521-2014-2258; The Swedish Research Council).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Kerr J.F., Wyllie A.H., Currie A.R. (1972) Apoptosis: a basic biological phenomenon with wide-ranging implications in tissue kinetics. *Br. J. Cancer*. **26**, 239–257.
- Olsson M., Zhivotovsky B. (2011) Caspases and cancer. *Cell Death Differ.* **18**, 1441–1449.
- Zamaraev A.V., Kopeina G.S., Zhivotovsky B., Lavrik I.N. (2015) Cell death controlling complexes and their potential therapeutic role. *Cell Mol. Life Sci.* **72**, 505–517.
- Imre G., Heering J., Takeda A.N., Husmann M., Thiede B., zu Heringdorf D.M., Green D.R., van der Goot F.G., Sinha B., Dötsch V., Rajalingam K. (2012) Caspase-2 is an initiator caspase responsible for pore-forming toxin-mediated apoptosis. *EMBO J.* **31**, 2615–2628.
- Аксенова В.И., Былино О.В., Животовский Б.Д., Лаврик И.Н. (2013) Каспаза-2: что мы о ней знаем сегодня? *Молекуляр. биология*. **47**, 187–204.
- Yuan J., Shaham S., Ledoux S., Ellis H.M., Horvitz H.R. (1993) The *C. elegans* cell death gene *ced-3* encodes a protein similar to mammalian interleukin-1 β -converting enzyme. *Cell*. **75**, 641–652.
- Baliga B.C., Read S.H., Kumar S. (2004) The biochemical mechanism of caspase-2 activation. *Cell Death Differ.* **11**, 1234–1241.
- Baliga B.C., Colussi P.A., Read S.H., Dias M.M., Jans D.A., Kumar S. (2003) Role of prodomain in importin-mediated nuclear localization and activation of caspase-2. *J. Biol. Chem.* **278**, 4899–4905.
- Wang L., Miura M., Bergeron L., Zhu H., Yuan J. (1994) *Ich-1*, an *Ice/ced-3*-related gene, encodes both positive and negative regulators of programmed cell death. *Cell*. **78**, 739–750.
- Schwerk C., Schulze-Osthoff K. (2005) Regulation of apoptosis by alternative pre-mRNA splicing. *Mol. Cell*. **19**, 1–13.
- Upton J.P., Austgen K., Nishino M., Coakley K.M., Hagen A., Han D., Papa F.R., Oakes S.A. (2008) Caspase-2 cleavage of BID is a critical apoptotic signal downstream of endoplasmic reticulum stress. *Mol. Cell Biol.* **28**, 3943–3951.
- Wagner K.W., Engels I.H., Deveraux Q.L. (2004) Caspase-2 can function upstream of Bid cleavage in the TRAIL apoptosis pathway. *J. Biol. Chem.* **279**, 35047–35052.
- Krumschnabel G., Sohm B., Bock F., Manzl C., Villunger A. (2009) The enigma of caspase-2: the laymen's view. *Cell Death Differ.* **16**, 195–207.
- Zhivotovsky B., Orrenius S. (2005) Caspase-2 function in response to DNA damage. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **331**, 859–867.
- Talanian R.V., Quinlan C., Trautz S., Hackett M.C., Mankovich J.A., Banach D., Ghayur T., Brady K.D., Wong W.W. (1997) Substrate specificities of caspase family proteases. *J. Biol. Chem.* **272**, 9677–9682.
- Miles M.A., Kitevska-Ilioski T., Hawkins C.J. (2017) Old and novel functions of caspase-2. *Int. Rev. Cell Mol. Biol.* **332**, 155–212.
- Fava L.L., Bock F.J., Geley S., Villunger A. (2012) Caspase-2 at a glance. *J. Cell Sci.* **125**, 5911–5915.
- Brynychová V., Hlaváč V., Ehrlichová M., Václavíková R., Pecha V., Trnková M., Wald M., Mrhalová M., Kubáčková K., Pikus T., Kodet R., Kovář J., Souček P. (2013) Importance of transcript levels of caspase-2 isoforms S and L for breast carcinoma progression. *Future Oncol.* **9**, 427–438.
- Mancini M., Machamer C.E., Roy S., Nicholson D.W., Thornberry N.A., Casciola-Rosen L.A., Rosen A. (2000) Caspase-2 is localized at the Golgi complex and cleaves golgin-160 during apoptosis. *J. Cell Biol.* **149**, 603–612.
- Zhivotovsky B., Samali A., Gahm A., Orrenius S. (1999) Caspases: their intracellular localization and translocation during apoptosis. *Cell Death Differ.* **6**, 644–651.
- Tinel A., Tschopp J. (2004) The PIDDosome, a protein complex implicated in activation of caspase-2 in response to genotoxic stress. *Science*. **304**, 843–846.
- Lavrik I.N., Golks A., Baumann S., Krammer P.H. (2006) Caspase-2 is activated at the CD95 death-inducing signaling complex in the course of CD95-induced apoptosis. *Blood*. **108**, 559–565.
- Thome M., Hofmann K., Burns K., Martinon F., Bodmer J.L., Mattmann C., Tschopp J. (1998) Identification of CARDIAK, a RIP-like kinase that associates with caspase-1. *Curr. Biol.* **8**, 885–888.

24. Manzi C., Krumschnabel G., Bock F., Sohm B., Labi V., Baumgartner F., Logette E., Tschopp J., Villunger A. (2009) Caspase-2 activation in the absence of PIDDosome formation. *J. Cell Biol.* **185**, 291–303.
25. Копейна Г. С., Аксенова В.И., Замараев А.В., Животовский Б.Д., Лаврик И.Н. (2016) Механизм активации каспазы-2 в процессе повреждений ДНК. *Доклады Академии Наук.* **467**(5), 1–4.
26. Ando K., Kernan J.L., Liu P.H., Sanda T., Logette E., Tschopp J., Look A.T., Wang J., Bouchier-Hayes L., Sidi S. (2012) PIDD death-domain phosphorylation by ATM controls prodeath versus prosurvival PIDDosome signaling. *Mol. Cell.* **47**, 681–693.
27. Park H.H., Logette E., Raunser S., Cuenin S., Walz T., Tschopp J., Wu H. (2007) Death domain assembly mechanism revealed by crystal structure of the oligomeric PIDDosome core complex. *Cell.* **128**, 533–546.
28. Ando K., Parsons M.J., Shah R.B., Charendoff C.I., Paris S.L., Liu P.H., Fassio S.R., Rohman B.A., Thompson R., Oberst A., Sidi S., Bouchier-Hayes L. (2017) NPM1 directs PIDDosome-dependent caspase-2 activation in the nucleolus. *J. Cell Biol.* **216**, 1795–1810.
29. Dawar S., Lim Y., Puccini J., White M., Thomas P., Bouchier-Hayes L., Green D.R., Dorstyn L., Kumar S. (2017) Caspase-2-mediated cell death is required for deleting aneuploid cells. *Oncogene.* **36**, 2704–2714.
30. Fava L.L., Schuler F., Sladky V., Haschka M.D., Soratroi C., Eiterer L., Demetz E., Weiss G., Geley S., Nigg E.A., Villunger A. (2017) The PIDDosome activates p53 in response to supernumerary centrosomes. *Genes. Dev.* **31**, 34–45.
31. Sidi S., Sanda T., Kennedy R.D., Hagen A.T., Jette C.A., Hoffmans R., Pascual J., Imamura S., Kishi S., Amatruda J.F., Kanki J.P., Green D.R., D'Andrea A.A., Look A.T. (2008) Chk1 suppresses a caspase-2 apoptotic response to DNA damage that bypasses p53, Bcl-2, and caspase-3. *Cell.* **133**, 864–877.
32. Thompson R., Shah R.B., Liu P.H., Gupta Y.K., Ando K., Aggarwal A.K., Sidi S. (2014) An inhibitor of PIDDosome formation. *Mol. Cell.* **58**, 767–779.
33. Di Donato N., Jean Y.Y., Maga A.M., Krewson B.D., Shupp A.B., Avrutsky M.I., Roy A., Collins S., Olds C., Willert R.A., Czaja A.M., Johnson R., Stover J.A., Gottlieb S., Bartholdi D., Rauch A., Goldstein A., Boyd-Kyle V., Aldinger K.A., Mirzaa G.M., Nissen A., Brigatti K.W., Puffenberger E.G., Millen K.J., Strauss K.A., Dobyns W.B., Troy C.M., Jinks R.N. (2016) Mutations in CRADD result in reduced caspase-2-mediated neuronal apoptosis and cause megalencephaly with a rare lissencephaly variant. *Am. J. Hum. Genet.* **99**, 1117–1129.
34. Zhao X., Kotilinek L.A., Smith B., Hlynialuk C., Zahs K., Ramsden M., Cleary J., Ashe K.H. (2016) Caspase-2 cleavage of tau reversibly impairs memory. *Nat. Med.* **22**, 1268–1276.
35. Imre G., Berthelet J., Heering J., Kehrloesser S., Melzer I.M., Lee B.I., Thiede B., Dötsch V., Rajalingam K. (2017) Apoptosis inhibitor 5 is an endogenous inhibitor of caspase-2. *EMBO Rep.* **18**, 733–744.
36. Bronner D.N., Abuaita B.H., Chen X., Fitzgerald K.A., Nuñez G., He Y., Yin X.M., O'Riordan M.X. (2015) Endoplasmic reticulum stress activates the inflammatory via NLRP3- and caspase-2-driven mitochondrial damage. *Immunity.* **43**, 451–462.
37. Forsberg J., Li X., Akpınar B., Salvatori R., Ott M., Zhivotovsky B., Olsson M. (2018) A caspase-2-RFXANK interaction and its implication for MHC class II expression. *Cell Death Dis.* **9**, 80. doi 10.1038/s41419-017-0144-y
38. Chen F., Ding X., Ding Y., Xiang Z., Li X., Ghosh D., Schurig G.G., Sriranganathan N., Boyle S.M., He Y. (2011) Proinflammatory caspase-2-mediated macrophage cell death induced by a rough attenuated brucella suis strain. *Infect. Immun.* **79**, 2460–2469.
39. Li X., He Y. (2012) Caspase-2-dependent dendritic cell death, maturation, and priming of T cells in response to *Brucella abortus* infection. *PLoS One.* **7**, e43512.
40. Zamaraev A.V., Kopeina G.S., Prokhorova E.A., Zhivotovsky B., Lavrik I.N. (2017) Post-translational modification of caspases: The other side of apoptosis regulation. *Trends Cell Biol.* **27**, 322–339.
41. Nutt L.K., Margolis S.S., Jensen M., Herman C.E., Dunphy W.G., Rathmell J.C., Kornbluth S. (2005) Metabolic regulation of oocyte cell death through the CaMKII-mediated phosphorylation of caspase-2. *Cell.* **123**, 89–103.
42. Nutt L.K., Buchakjian M.R., Gan E., Darbandi R., Yoon S.Y., Wu J.Q., Miyamoto Y.J., Gibbons J.A., Andersen J.L., Freel C.D., Tang W., He C., Kurokawa M., Wang Y., Margolis S.S., Fissore R.A., Kornbluth S. (2009) Metabolic control of oocyte apoptosis mediated by 14-3-3zeta-regulated dephosphorylation of caspase-2. *Dev. Cell.* **16**, 856–866.
43. Andersen J.L., Johnson C.E., Freel C.D., Parrish A.B., Day J.L., Buchakjian M.R., Nutt L.K., Thompson J.W., Moseley M.A., Kornbluth S. (2009) Restraint of apoptosis during mitosis through interdomain phosphorylation of caspase-2. *EMBO J.* **28**, 3216–3227.
44. Matthess Y., Raab M., Sanhaji M., Lavrik I.N., Strebhardt K. (2010) Cdk1/cyclin B1 controls Fas-mediated apoptosis by regulating caspase-8 activity. *Mol. Cell Biol.* **30**, 5726–5740.
45. Allan L.A., Clarke P.R. (2007) Phosphorylation of caspase-9 by CDK1/cyclin B1 protects mitotic cells against apoptosis. *Mol. Cell.* **26**, 301–310.
46. Yi C.H., Sogah D.K., Boyce M., Degterev A., Christofferson D.E., Yuan J. (2007) A genome-wide RNAi screen reveals multiple regulators of caspase activation. *J. Cell Biol.* **179**, 619–626.
47. Shin S., Lee Y., Kim W., Ko H., Choi H., Kim K. (2005) Caspase-2 primes cancer cells for TRAIL-mediated apoptosis by processing procaspase-8. *EMBO J.* **24**, 3532–3542.
48. Shirakura H., Hayashi N., Ogino S., Tsuruma K., Uehara T., Nomura Y. (2005) Caspase recruitment domain of procaspase-2 could be a target for SUMO-1 modification through Ubc9. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **331**, 1007–1015.
49. Mendelsohn A.R., Hamer J.D., Wang Z.B., Brent R. (2002) Cyclin D3 activates caspase 2, connecting cell proliferation with cell death. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **99**, 6871–6876.
50. Castedo M., Perfettini J.-L., Roumier T., Valent A., Raslova H., Yakushijin K., Horne D., Feunteun J., Le-

- noir G., Medema R., Vainchenker W., Kroemer G. (2004) Mitotic catastrophe constitutes a special case of apoptosis whose suppression entails aneuploidy. *Oncogene*. **23**, 4362–4370.
51. Dorstyn L., Puccini J., Wilson C.H., Shalini S., Nicola M., Moore S., Kumar S. (2012) Caspase-2 deficiency promotes aberrant DNA-damage response and genetic instability. *Cell Death Differ.* **19**, 1288–1298.
 52. Shalini S., Puccini J., Wilson C.H., Finnie J., Dorstyn L., Kumar S. (2014) Caspase-2 protects against oxidative stress *in vivo*. *Oncogene*. **34**, 4995–5002.
 53. López-García C., Sansregret L., Domingo E., McGranahan N., Hobor S., Birkbak N.J., Horswell S., Grönroos E., Favero F., Rowan A.J., Matthews N., Begum S., Phillimore B., Burrell R., Oukrif D., Spencer-Dene B., Kovac M., Stamp G., Stewart A., Danielsen H., Novelli M., Tomlinson I., Swanton C. (2017) BCL9L dysfunction impairs caspase-2 expression permitting aneuploidy tolerance in colorectal cancer. *Cancer Cell*. **31**, 79–93.
 54. Vassilev L.T., Vu B.T., Graves B., Carvajal D., Podlaski F., Filipovic Z., Kong N., Kammlott U., Lukacs C., Klein C., Fotouhi N., Liu E.A. (2004) *In vivo* activation of the p53 pathway by small-molecule antagonists of MDM2. *Science*. **303**, 844–848.
 55. Prives C. (1998) Signaling to p53: breaking the MDM2-p53 circuit. *Cell*. **95**, 5–8.
 56. Lopez-Cruzan M., Sharma R., Tiwari M., Karbach S., Holstein D., Martin C.R., Lechleiter J.D., Herman B. (2016) Caspase-2 resides in the mitochondria and mediates apoptosis directly from the mitochondrial compartment. *Cell Death Discov.* **2**, 16005. doi 10.1038/cd-disccovery.2016.5
 57. Peintner L., Dorstyn L., Kumar S., Aneichyk T., Vिलунгер A., Manzl C (2015) The tumor-modulatory effects of caspase-2 and Pidd1 do not require the scaffold protein Raidd. *Cell Death Differ.* **22**, 1803–1811.
 58. Holleman A., den Boer M.L., Kazemier K.M., Beverloo H.B., von Bergh A.R., Janka-Schaub G.E., Pieters R. (2005) Decreased PARP and procaspase-2 protein levels are associated with cellular drug resistance in childhood acute lymphoblastic leukemia. *Blood*. **106**, 1817–1823.
 59. Yoo N.J., Lee J.W., Kim Y.J., Soung Y.H., Kim S.Y., Nam S.W., Park W.S., Lee J.Y., Lee S.H. (2004) Loss of caspase-2, -6 and -7 expression in gastric cancers. *APMIS*. **112**, 330–335.
 60. Zohrabian V.M., Nandu H., Gulati N., Khitrov G., Zhao C., Mohan A., Demattia J., Braun A., Das K., Murali R., Jhanwar-Uniyal M. (2007) Gene expression profiling of metastatic brain cancer. *Oncol. Rep.* **18**, 321–328.
 61. Dorstyn L., Puccini J., Nikolic A., Shalini S., Wilson C.H., Norris M.D., Haber M., Kumar S. (2014) An unexpected role for caspase-2 in neuroblastoma. *Cell Death Dis.* **5**, e1383.
 62. Kumar S., White D.L., Takai S., Turczynowicz S., Jutner C.A., Hughes T.P. (1995) Apoptosis regulatory gene NEDD2 maps to human chromosome segment 7q34-35, a region frequently affected in haematological neoplasms. *Hum. Genet.* **95**, 641–644.
 63. Honda H., Nagamachi A., Inaba T. (2015) -7/7q- syndrome in myeloid-lineage hematopoietic malignancies: attempts to understand this complex disease entity. *Oncogene*. **34**, 2413–2425.
 64. da Silva F.B., Machado-Neto J.A., Bertini V.H.L.L., Velloso E.D.R.P., Ratis C.A., Calado R.T., Simões B.P., Rego E.M., Traina F. (2017) Single-nucleotide polymorphism array (SNP-A) improves the identification of chromosomal abnormalities by metaphase cytogenetics in myelodysplastic syndrome. *J. Clin. Pathol.* **70**, 435–442.
 65. Kim M.S., Kim H.S., Jeong E.G., Soung Y.H., Yoo N.J., Lee S.H. (2011) Somatic mutations of caspase-2 gene in gastric and colorectal cancers. *Pathol. Res. Pract.* **207**, 640–644.
 66. Ren K., Lu J., Porollo A., Du C. (2012) Tumor-suppressing function of caspase-2 requires catalytic site Cys-320 and site Ser-139 in mice. *J. Biol. Chem.* **287**, 14792–14802.
 67. Parsons M.J., McCormick L., Janke L., Howard A., Bouchier-Hayes L., Green D.R. (2013) Genetic deletion of caspase-2 accelerates MMTV/c-neu-driven mammary carcinogenesis in mice. *Cell Death Differ.* **20**, 1174–1182.
 68. Shalini S., Nikolic A., Wilson C.H., Puccini J., Sladojevic N., Finnie J., Dorstyn L., Kumar S. (2016) Caspase-2 deficiency accelerates chemically induced liver cancer in mice. *Cell Death Differ.* **23**, 1727–1736.
 69. Puccini J., Dorstyn L., Kumar S. (2013) Caspase-2 as a tumour suppressor. *Cell Death Differ.* **20**, 1133–1139.
 70. Oliver T.G., Meylan E., Chang G.P., Xue W., Burke J.R., Humpton T.J., Hubbard D., Bhutkar A., Jacks T. (2011) Caspase-2-mediated cleavage of Mdm2 creates a p53-induced positive feedback loop. *Mol. Cell*. **43**, 57–71.
 71. Terry M.R., Arya R., Mukhopadhyay A., Berrett K.C., Clair P.M., Witt B., Salama M.E., Bhutkar A., Oliver T.G. (2015) Caspase-2 impacts lung tumorigenesis and chemotherapy response *in vivo*. *Cell Death Differ.* **22**, 719–730.
 72. Johnson E.S., Lindblom K.R., Robeson A., Stevens R.D., Ilkayeva O.R., Newgard C.B., Kornbluth S., Andersen J.L. (2013) Metabolomic profiling reveals a role for caspase-2 in lipoapoptosis. *J. Biol. Chem.* **288**, 14463–14475.
 73. Machado M.V., Michelotti G.A., Jewell M.L., Pereira T.A., Xie G., Premont R.T., Diehl A.M. (2016) Caspase-2 promotes obesity, the metabolic syndrome and nonalcoholic fatty liver disease. *Cell Death Dis.* **7**, e2096.
 74. Wilson C.H., Nikolic A., Kentish S.J., Keller M., Hatzinikolas G., Dorstyn L., Page A.J., Kumar S. (2017) Caspase-2 deficiency enhances whole-body carbohydrate utilisation and prevents high-fat diet-induced obesity. *Cell Death Dis.* **8**, e3136.
 75. Wilson C.H., Shalini S., Filipovska A., Richman T.R., Davies S., Martin S.D., McGee S.L., Puccini J., Nikolic A., Dorstyn L., Kumar S. (2015) Age-related proteostasis and metabolic alterations in caspase-2-deficient mice. *Cell Death Dis.* **6**, e1615.
 76. Wilson C.H., Dorstyn L., Kumar S. (2016) Fat, sex and caspase-2. *Cell Death Dis.* **7**, e2125.
 77. Wilson C., Nikolic A., Kentish S., Shalini S., Hatzinikolas G., Page A.J., Dorstyn L., Kumar S. (2016) Sex-specific alterations in glucose homeostasis and meta-

- bolic parameters during ageing of caspase-2-deficient mice. *Cell Death Discov.* **2**, 16009.
78. Tiwari M., Lopez-Cruzan M., Morgan W.W., Herman B. (2011) Loss of caspase-2-dependent apoptosis induces autophagy after mitochondrial oxidative stress in primary cultures of young adult cortical neurons. *J. Biol. Chem.* **286**, 8493–8506.
79. Tiwari M., Sharma L.K., Vanegas D, Callaway D.A., Bai Y., Lechleiter J.D., Herman B. (2014) A nonapoptotic role for CASP2/caspase 2: modulation of autophagy. *Autophagy.* **10**, 1054–1070.

CASPASE-2 AS AN ONCOSUPPRESSOR AND METABOLISM REGULATOR: WHAT LIFE WILL BRING OVER THE LONG RUN?

A. Yu. Egorshina¹, A. V. Zamaraev¹, I. N. Lavrik^{1,2}, B. D. Zhivotovsky^{1,3,*}, G. S. Kopeina^{1,**}

¹Faculty of Basic Medicine, Moscow State University, Moscow, 119192 Russia

²Department of Translational Inflammation Research, Institute of Experimental Internal Medicine, Otto von Guericke University, Magdeburg, 39120 Germany

³Institute of Environmental Medicine, Karolinska Institutet, Stockholm, 17177 Sweden

*e-mail: Boris.Zhivotovsky@ki.se

**e-mail: lirroster@gmail.com

Programmed cell death is governed by a set of gene networks, which define a variety of distinct molecular mechanisms essential for the maintenance of multicellular organisms. The best studied modality of programmed cell death is known as apoptosis. Caspase-2, a member of the cysteine-dependent protease family, possesses both proapoptotic and tumor suppressive functions. This protease plays an essential role in the maintenance of genomic stability and in the induction and propagation of apoptosis in response to genotoxic stress. Here we describe molecular mechanisms of caspase-2 regulation and its physiological role as a tumor suppressor and metabolic regulator.

Keywords: apoptosis, caspase-2, tumor suppressor, metabolism