

文章编号: 1004-0374(2010)06-0556-05

## PUMA 作为细胞保护和肿瘤治疗靶点的研究进展

周长辉<sup>1</sup>, 关方霞<sup>1</sup>, 常建辉<sup>2</sup>, 孟爱民<sup>2\*</sup>

(1 郑州大学生物工程系, 郑州 450052; 2 中国医学科学院放射医学研究所,  
天津市分子核医学重点实验室, 天津 300192)

**摘要:** PUMA (p53 up-regulated modulator of apoptosis) 是 Bcl-2 蛋白家族的促凋亡成员之一, 具有强大的促凋亡作用。研究发现 PUMA 表达水平的降低与肿瘤的发生密切相关, 上调 PUMA 在肿瘤细胞中的表达可以增强肿瘤细胞对放化疗的敏感性。PUMA 的缺失可以有效降低由放、化疗引起的正常组织损伤。该文简要综述了 PUMA 在肿瘤治疗以及在放化疗引起的正常组织损伤中的作用进展。

**关键词:** P U M A ; 肿瘤; 干细胞; 靶点; 细胞保护

**中图分类号:** R730.59 **文献标识码:** A

### PUMA: a new target in cytoprotective and tumor therapy

ZHOU Chang-hui<sup>1</sup>, GUAN Fang-xia<sup>1</sup>, CHANG Jian-hui<sup>2</sup>, MENG Ai-min<sup>2\*</sup>

(1 Department of Bioengineering, Zhengzhou University, Zhengzhou 450051, China; 2 Institute of Radiation Medicine, Chinese Academy of Medical Science and Peking Union Medical College, Tianjin Key Laboratory of Molecular Nuclear Medicine, Tianjin 300192, China)

**Abstract:** PUMA (p53 upregulated modulator of apoptosis) is a member of the Bcl-2 family and plays a powerful pro-apoptotic role. The studies showed that the decrease of PUMA expression was closely related to the occurrence of tumor and upregulation of PUMA expression could enhance tumor sensitivity to radiotherapy and chemotherapy. The deletion of PUMA could effectively reduce the damage of radiotherapy and chemotherapy to normal tissues. Here we review the research progress of PUMA as a therapeutic target in cancer treatment and cytoprotection.

**Key words:** PUMA; tumor; stem cell; therapy target; cytoprotective effect

放疗、化疗现今仍是肿瘤治疗的常规手段。但放、化疗在治疗肿瘤的同时会造成正常组织损伤, 导致肿瘤治疗效果不佳和患者生活质量下降。因此, 寻找靶点提高肿瘤细胞对放、化疗的敏感性, 减少正常细胞的损伤具有重要的意义。p53 正向细胞凋亡调控因子 (p53 up-regulated modulator of apoptosis protein, PUMA) 是由两个独立研究小组在 2001 年同时发现的 p53 诱导凋亡作用的靶蛋白, 在肿瘤组织中弱表达。

#### 1 PUMA 的促凋亡功能

细胞凋亡对维持胚胎正常发育、组织稳定性具有重要作用。哺乳动物细胞发生凋亡主要是通过死亡受体途径(外在)及 Bcl-2 途径(线粒体途径或内在)

介导<sup>[1]</sup>。Bcl-2 家族成员有 17 种以上, 都含有特征性的 Bcl-2 同源域 (Bcl-2 homology region, BH)<sup>[2]</sup>。Bcl-2 蛋白家族根据结构和功能可以分为 3 个亚型: 抗凋亡亚型, 即 Bcl-2 成员, 有 Bcl-2、Bcl-X<sub>L</sub>、Mcl-1、Bcl-w 和 A1 等, 含有 4 个 BH 域, 在各种细胞毒性情况下抑制细胞死亡, 保护细胞<sup>[2]</sup>; 促凋亡

收稿日期: 2009-09-21; 修回日期: 2010-01-21

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (30770645); 天津市自然科学基金 (08JCYBJC07300); 教育部新教师基金课题 (20070023102); 教育部新世纪优秀人才支持项目计划资助 (2006NECT 060610)

\* 通讯作者: E-mail: aiminmeng00@yahoo.com; Tel: 022-85682353

亚型(proapoptotic subfamily)有Bax及Bak,含有多个BH;仅含BH3域蛋白(BH3-only proteins, BOPs)亚型,至少有8个促凋亡蛋白组成,包括Bad、Bid、Bik、Bim、Bmf、Hrk、Noxa及PUMA等。BH3-only蛋白是介导哺乳细胞凋亡反应的基本因子<sup>[2]</sup>。Bcl-2家族抗凋亡和促凋亡蛋白通过蛋白-蛋白作用维持平衡,决定细胞是生存或死亡。结构研究显示抗凋亡蛋白的BH1、BH2和BH3结构折叠成球形,表面形成疏水沟槽,而促凋亡分子BH3域的 $\alpha$ 螺旋与疏水沟槽结合,中和抗凋亡蛋白的作用<sup>[3]</sup>。正常细胞抗凋亡蛋白维持基础水平防止Bax和Bak被激活,受到凋亡刺激之后,BH3-only蛋白激活,其BH3域与疏水性沟槽竞争性结合,Bax和Bak解离从胞浆转位到线粒体,形成多聚体,线粒体外膜通透性增加,完整性受损。大部分凋亡信号通过BH3域蛋白最终汇聚到Bax和Bak。凋亡程序一旦启动,细胞会出现一系列级联反应,线粒体电位变化,线粒体内凋亡蛋白包括细胞色素C、SMAC/Diablo和AIF释放,caspases激活。

蛋白结合特性研究显示,不同的BH3-only蛋白与抗凋亡蛋白的结合能力及抗凋亡作用存在差异。Bim、PUMA及tBid可以与所有的抗凋亡蛋白结合,而其他蛋白,如Bad和Noxa只选择性地结合部分蛋白。成纤维细胞毒性分析显示Bim和PUMA抗凋亡能力很强,而Bad和Noxa单独作用很弱,当Noxa与Bad BH3连接后杀伤能力增强。

PUMA作为一种促凋亡蛋白,其特点是当机体受到内部或者外界刺激后,在细胞凋亡的早期即可出现表达并通过各种途径快速、有效地发生作用,加速细胞凋亡。PUMA可以通过p53依赖途径诱导细胞凋亡,由射线照射、DNA损伤药物、缺氧和NO等引起的细胞凋亡作用都是通过此途径实现的<sup>[4,5]</sup>。DNA损伤时p53通过转录水平调节PUMA的表达<sup>[6]</sup>;另外,PUMA还可以在血清饥饿、撤除生长因子时通过不依赖p53的途径诱导细胞凋亡。细胞因子撤除则通过FOXO3A调节转录<sup>[7]</sup>,MAP4K3可以由UV照射和炎症因子TNF- $\alpha$ 激活。通过RNAi干扰技术扫描发现MAP4K3是新发现的内源性凋亡诱导因子。MAP4K3通过mTOR通路稳定PUMA mRNA增加其活性<sup>[8]</sup>。

不论是通过p53依赖途径还是p53非依赖途径,PUMA引发下游级联反应的通路都相同。在各种因素诱导下,细胞内的PUMA表达增加,PUMA通过其BH3结构域与Bcl-2、Bcl-xL、Bcl-W、Mcl-1等

抑凋亡蛋白结合,并通过以下3种途径诱导细胞凋亡<sup>[9-12]</sup>:(1)与线粒体膜上的Bcl-2/Bcl-xL二聚体结合从而解除抗凋亡蛋白对Bax/Bak的抑制作用;(2)与p53/Bcl-xL二聚体中的Bcl-xL结合,释放p53,进一步活化Bax;(3)直接与线粒体膜上的Bax/Bak二聚体作用,使其构象发生改变,从细胞质转位至线粒体外膜并寡聚化进而形成“通道孔”或改变原有的“膜通道蛋白”。以上3种途径最终均可导致线粒体通透性增加并释放细胞色素C和SMAC/DIABLO<sup>[13]</sup>,启动细胞凋亡(图1)<sup>[14]</sup>。利用无细胞分析系统,Gallenne等<sup>[15]</sup>发现PUMA与BAX第一螺旋中的激活位点直接结合并激活Bax。另外,在人结肠癌细胞内源性PUMA参与Bcl-2/Bcl-xL抑制剂ABT-737诱导的凋亡。最近又有报道提示,PUMA可以通过Bax诱导线粒体发生自噬作用去除线粒体,这个作用与细胞色素C释放一致。抑制PUMA和Bax诱导的自噬作用可以减缓凋亡反应<sup>[16]</sup>。

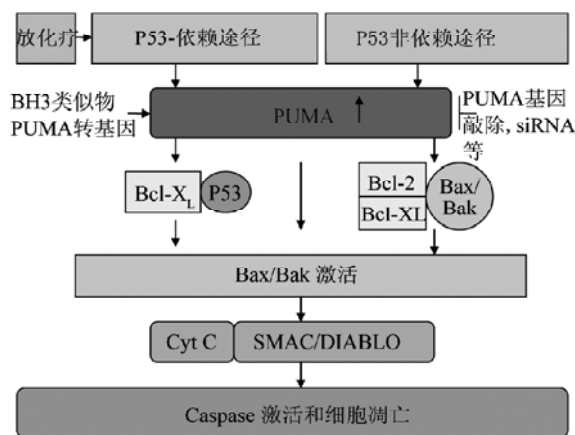


图1 PUMA诱导细胞凋亡通路示意图

在肿瘤细胞凋亡中,最近一些研究结果表明,PUMA与肿瘤的发生存在密切关系。2007年,Ishihara等<sup>[17]</sup>研究发现多种非甾体抗炎药(NSAIDs)可以通过上调PUMA表达从而诱导的胃癌细胞凋亡。同年,Hao等<sup>[18]</sup>相关研究也证明了黑色素瘤细胞凋亡通过上调PUMA表达从而被诱导的。

## 2 PUMA与肿瘤的治疗

细胞凋亡是维持发育及组织稳定性必需的。抵抗细胞凋亡并产生放疗化疗耐受是癌症的基本特征<sup>[19,20]</sup>。癌细胞中多种控制凋亡的关键性通路发生改变<sup>[21]</sup>,如近50%人类肿瘤p53突变,p53诱导的凋亡作用缺失。许多肿瘤多种抗凋亡蛋白过表达,如Bcl-2、Bcl-xL、NF- $\kappa$ B等。肿瘤细胞通过这些遗传及表观

遗传学改变机制保持生存,这也成为肿瘤潜在的理想治疗靶点。如果针对肿瘤生存特异性改变开发出的药物将具有很高的选择性,减少对正常组织细胞的损伤。目前利用PUMA等BH3-only蛋白进行肿瘤靶向治疗及辅助治疗试验研究包括利用化合物刺激、转基因手段提高肿瘤细胞内PUMA活性;开发BH3-only蛋白类似小分子化合物,起到激活促凋亡蛋白作用等。

### 2.1 PUMA与肿瘤基因治疗

多种肿瘤细胞PUMA弱表达,通过载体靶向特异性携带PUMA转染肿瘤细胞,增加肿瘤组织细胞PUMA表达,诱导肿瘤细胞凋亡可能是一种可行的肿瘤治疗方法。张克君等<sup>[22]</sup>利用脂质体转染法将表达PUMA的质粒转染人胰腺癌细胞。裸鼠移植瘤实验观察发现肿瘤成瘤率下降,生长速度明显减慢。Giladi等<sup>[23]</sup>构建PUMA的重组腺病毒载体(Ad-TOP-PUMA),带有 $\beta$ -连环蛋白/T细胞因子( $\beta$ -catenin/Tcf)反应性启动子。转染 $\beta$ -catenin/Tcf通路被激活的人前列腺癌PC-3细胞后,可诱导PC-3细胞死亡,呈剂量和时间依赖性。而在不表达 $\beta$ -catenin/Tcf信号的DU145细胞则无促凋亡作用。

小分子多肽药物是一种新的药物发展领域,与基因治疗肿瘤相比具低相对分子质量、低毒性、高生物利用率等优点,因此利用小分子物质治疗肿瘤拥有广阔的应用前景。研究发现,受体趋化因子CXCR4至少在23种肿瘤中(如乳腺癌,神经胶质瘤等)过量表达,DV3作为CXCR4的配体,具有作为靶向治疗肿瘤的潜力,人类免疫缺陷病毒HIV-1的TAT蛋白可使各种生物分子短时、高效进入细胞。Liu等<sup>[24]</sup>将PUMA的BH3功能域、转录因子的靶向结合域和DV3制备成小分子多肽TAT-DV3-BH3。给HCT116<sup>P53-/-</sup>裸鼠尾静脉注射,3h后,活体成像系统结果显示该多肽可以特异性转移到小鼠肿瘤组织中。体外实验表明:该多肽对体外培养的肺腺癌GLC-82细胞系、乳腺癌MDA-MB-231细胞系、人结肠癌细胞系(HCT116<sup>P53-/-</sup>、HCT116<sup>P53+/+</sup>)等的生长有明显的抑制作用,提示将PUMA的功能域构建小分子物质治疗肿瘤也是一种潜在而有效的方法之一。

### 2.2 PUMA与肿瘤放、化疗

放、化疗是肿瘤治疗的常用手段,目前在肿瘤临床治疗中,癌细胞对放、化疗出现耐受是影响放、化疗效果的最主要因素,因此如何增强肿瘤细胞对放化疗的敏感性具有重要的意义<sup>[25]</sup>。

2006年,Wang等<sup>[26]</sup>将携带PUMA和p53的重组腺病毒载体(Ad-PUMA、Ad-p53)与抗癌药物(顺铂、紫杉醇、5-氟尿嘧啶)联合分别处理人食管癌KYSE-150、KYSE-410、KYSE-510和YES-2细胞后发现,PUMA能通过诱导细胞凋亡显著增强食管癌细胞对化疗药物的敏感性,且此增敏作用与p53状态无关,与Ad-p53相比,Ad-PUMA能更快速、强烈地抑制癌细胞生长,增加癌细胞对化疗药物的敏感性。同年,Yu等<sup>[27]</sup>对携带PUMA的重组腺病毒载体(Ad-PUMA)及分别同时与放疗及常见化疗药物紫杉醇、5-氟尿嘧啶等联合处理人肺腺癌A549细胞的研究中也得到了相似结论。

针对肿瘤分子生物学改变特点进行靶向治疗是近年来肿瘤治疗中的重要进展,如头颈部鳞癌80%以上表达EGFR,预后很差。EGFR选择性激酶抑制剂(tyrosine kinase inhibitors,TKIs)或抗体用于实体瘤的治疗,但治疗反应率很低。体外研究显示EGFR-TKI敏感性是与PUMA诱导活性有关,这一效应通过p73 $\beta$ 介导。PUMA shRNA抑制TKI gefitinib诱导的凋亡。PUMA或BH3类似物增加 gefitinib诱导的凋亡<sup>[28]</sup>,这为肿瘤药物开发提供了新的靶点。

上述结果表明,在基因联合放、化疗治疗肿瘤方面,Ad-PUMA作为一种细胞毒试剂通过增加肿瘤细胞对放、化疗的敏感性治疗肿瘤将成为一种比较有望的肿瘤治疗方法。

### 2.3 PUMA与放、化疗引起的疾病

在正常组织细胞凋亡中,Jeffers等<sup>[29]</sup>研究证明PUMA可以通过依赖p53的途径诱导小鼠胸腺细胞凋亡。 $\gamma$ -射线能诱导PUMA野生型小鼠胸腺细胞的死亡,PUMA<sup>+/-</sup>型小鼠的胸腺细胞凋亡率低于PUMA野生型小鼠,但明显高于PUMA<sup>-/-</sup>型小鼠。其他一些研究表明,PUMA在撤除生长因子、糖皮质激素的情况下也可通过不依赖p53的途径诱导细胞凋亡<sup>[30]</sup>。Niizuma等<sup>[4]</sup>瞬时阻断双侧颈总动脉及低血压造成的脑缺血模型,发现损伤敏感细胞海马CA1神经元PUMA上调。Western及共沉淀分析显示PUMA定位于线粒体,与Bcl-X(L)及Bax结合。P53抑制剂pifithrin- $\alpha$ 可以抑制PUMA的上调,提示PUMA部分由p53转录因子通路调节。过表达对缺血损伤有保护作用的Cu/ZnSOD,可以抑制PUMA的上调及CA1细胞死亡。提示PUMA在迟发型CA1神经元死亡具有重要作用,可能成为细胞保护靶分子。人类

神经元突触形成是在孕期最后3个月及出生后头几年,啮齿类动物则在出生后。新生小鼠乙醇单次暴露就可以引起大量的神经元凋亡。利用基因敲除技术研究发现缺失PUMA对酒精诱导的Caspase3激活凋亡发生具有明显的保护作用,而p53及其他BH3-only蛋白Noxa、Bim、Hrk等缺失则无明显的保护作用,表明PUMA在酒精诱导的急性神经元凋亡中起关键作用<sup>[31]</sup>。

放、化疗在有效治疗肿瘤的同时引起的正常组织细胞损伤,这也是放、化疗临床治疗效果不理想的原因之一。头颈部鳞癌放射治疗引起唾液腺损伤导致患者生活质量下降。动物实验研究发现,头颈部治疗性照射引起的小鼠唾液腺细胞凋亡是由p53介导的PUMA和Bax升高引起的。P53敲除小鼠照射后则不发生唾液腺细胞凋亡及功能损伤<sup>[32]</sup>。

胃肠综合征(GI)是腹部及盆腔放疗产生的毒副作用之一,一些实验研究证实由放疗引起的GI发生的主要原因是由于肠道祖细胞、干细胞受到辐射损伤造成的<sup>[33]</sup>。Qiu等<sup>[34]</sup>在对于GI的相关研究中发现PUMA在GI的发生中起到了关键性的作用。 $\gamma$ -射线照射后,PUMA主要通过P53依赖性途径诱导肠道祖细胞及干细胞凋亡。 $\gamma$ -射线照射后鼠肠黏膜PUMA mRNA表达上调,在PUMA<sup>-/-</sup>的小鼠中由照射引起的肠道干细胞凋亡在4 h、24 h后比PUMA野生鼠分别减少了92%、66%。对于PUMA野生型小鼠、PUMA<sup>-/-</sup>小鼠及P53<sup>-/-</sup>小鼠比较后发现PUMA<sup>-/-</sup>小鼠肠祖细胞的凋亡远低于PUMA野生型小鼠,P53<sup>-/-</sup>小鼠的肠祖细胞凋亡率介于两者之间,说明PUMA对于肠祖、干细胞的凋亡诱导作用优于P53。

另外,PUMA的缺失不仅可以减少肠干细胞的凋亡,还可以促进小肠隐窝的再生,延长全身照射小鼠的存活时间,15 Gy照射后4 d干细胞微集落形成实验的结果显示,相对于PUMA野生型小鼠,PUMA敲除小鼠小肠隐窝增长了一倍,PUMA敲除小鼠经15、18 Gy全身照射后的存活时间比野生小鼠延长了将近50%。因此,利用小分子PUMA抑制剂抑制PUMA在正常组织中的表达对于肿瘤的治疗会有相对的促进作用。

骨髓抑制是放化疗最常见的毒副作用之一。急性骨髓抑制主要是造血祖细胞发生凋亡所致。而在某些化疗药物或放射治疗情况下会引起造血干细胞的损伤,造成持久性骨髓抑制。这些毒副作用直接影响到治疗效果及患者的生存质量,严重时可以导

致个体死亡。Shao等<sup>[35]</sup>研究表明,敲除PUMA可以增加接受致死量照射的小鼠存活率,对造血干细胞和祖细胞有保护作用,而对成熟分化细胞则没有保护作用。PUMA单拷贝缺失或PUMA活性暂时性抑制 $\gamma$ -射线诱导PUMA表达作用,可减少小鼠辐射死亡。提示通过PUMA的活性可能是一种可有效保护放疗患者造血干细胞的新策略。Wu等<sup>[37]</sup>的相关研究也发现PUMA的缺失可以有效地保护造血干细胞免受p53蛋白依赖性辐射诱导的细胞凋亡。

另外,放疗还会引起外周血白细胞的减少及神经细胞的凋亡,一些研究发现,如果PUMA缺失,则不出现白细胞的减少<sup>[36]</sup>,与之相似,在PUMA缺失的小鼠,放疗后也不出现神经细胞的凋亡<sup>[37]</sup>。

综上所述,利用一些小分子物质等抑制PUMA在正常组织的表达,可以有效减少正常细胞的凋亡,减轻由放化疗引起的正常组织损伤,相对促进放化疗对肿瘤的治疗效果。

### 3 问题与展望

作为p53上调细胞凋亡调控因子,PUMA可通过p53依赖及p53非依赖途径诱导细胞凋亡,自2001年PUMA发现以来许多研究都证实了PUMA作为细胞凋亡必需介导者的重要作用,并在一定程度上阐述了其促凋亡机制。

尽管如此,PUMA在细胞凋亡中的具体作用及其在细胞凋亡信号通路中与其他分子间的相互作用还有待阐明。随着对PUMA研究的不断深入,一方面会更加明确PUMA的细胞凋亡信号通路及与其他相关基因的相互作用的机制;另一方面也会发现更多可诱导PUMA活化的DNA元件和转录因子以及其他无毒性的小分子物质,利用这些元件和因子诱导PUMA在肿瘤细胞内的表达,或特异性地阻断PUMA在可能受到放、化疗损伤的正常细胞内的表达,在有效杀灭肿瘤细胞的同时最大限度降低放化疗对正常细胞的杀伤作用。最后,如何增加PUMA在肿瘤治疗中的靶向性是目前遇到的最大困难,也是PUMA由实验室走向临床的最大障碍。如何利用载体的靶向特异性携带PUMA,特异增加PUMA在肿瘤组织中的表达或封闭PUMA在正常组织细胞中的表达,使其免受化疗药物的损伤为改善治疗肿瘤效果创造条件,这将是今后PUMA研究的方向。

当然,要实现上述目标还需进行大量的研究工作,但由于PUMA强大的促凋亡作用及较之p53无

可比拟的优点,它在癌症的基因治疗中将是一个很有希望的作用靶点, PUMA 相关领域研究的日益深入也必将给肿瘤治疗带来更多的希望。

### [参 考 文 献]

- [1] 赵宝锋, 刘建香, 苏旭. 细胞凋亡信号通路调控与肿瘤辐射敏感性. 中华放射医学与防护杂志, 2005, 25(4): 401-4
- [2] Adams JM, Cory S. The Bcl-2 apoptotic switch in cancer development and therapy. *Oncogene*, 2007, 26(9): 1324-37
- [3] Yu J, Wang Z, Kinzler KW, et al. PUMA mediates the apoptotic response to p53 in colorectal cancer cells. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2003, 100(4): 1931
- [4] Niizuma K, Endo H, Nito C, et al. Potential role of PUMA in delayed death of hippocampal CA1 neurons after transient global cerebral ischemia. *Stroke*, 2009, 40(2): 618-25
- [5] Avila JL, Grundmann O, Burd R, et al. Radiation-induced salivary gland dysfunction results from p53-dependent apoptosis. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 2009, 73(2): 523-9
- [6] Nakano K, Vousden KH. PUMA, a novel proapoptotic gene, is induced by p53. *Mol Cell*, 2001, 7(3): 683-94
- [7] You H, et al. FOXO3a-dependent regulation of Puma in response to cytokine/growth factor withdrawal. *J Exp Med*, 2006, 203: 1657-63
- [8] Lam D, Dickens D, Reid EB, et al. MAP4K3 modulates cell death via the post-transcriptional regulation of BH3-only proteins. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2009, 106(29): 11978-83
- [9] Chipuk JE, Bouchier-Hayes L, Kuwana T, et al. PUMA couples the nuclear and cytoplasmic proapoptotic function of p53. *Science*, 2005, 309(5741): 1732-5
- [10] Ming L, Wang P, Bank A, et al. PUMA dissociates Bax and BCL-XL to induce apoptosis in colon cancer cells. *J Biol Chem*, 2006, 281: 16034-42
- [11] Chipuk JE, Green DR. How do BCL-2 proteins induce mitochondrial outer membrane permeabilization? *Trends Cell Biol*, 2008, 18(4): 157-64
- [12] Yee KS, Vousden KH. Contribution of membrane localization to the apoptotic activity of PUMA. *Apoptosis*, 2008, 13(1): 87-95
- [13] Yu J, Wang P, Ming L, et al. SMAC/Diablo mediates the proapoptotic function of PUMA by regulating PUMA-induced mitochondrial events. *Oncogene*, 2007, 26(29): 4189-98
- [14] Yu J, Zhang L. PUMA, a potent killer with or without p53. *Oncogene*, 2009, 27: 71-83
- [15] Gallenne T, Gautier F, Oliver L, et al. Bax activation by the BH3-only protein Puma promotes cell dependence on antiapoptotic Bcl-2 family members. *Cell Biol*, 2009, 185(2): 279-90
- [16] Yee KS, Wilkinson S, James J, et al. PUMA- and Bax-induced autophagy contributes to apoptosis. *Cell Death Differ*, 2009, 16(8): 1135-45
- [17] Ishihara T, Hoshino T, Namba T, et al. Involvement of up-regulation of PUMA in non-steroidal anti-inflammatory drug-induced apoptosis. *Biochem Biophys Res Commun*, 2007, 356(3): 711-7
- [18] Hao H, Dong Y, Bowling MT, et al. E2F-1 induces melanoma cell apoptosis via PUMA upregulation and Bax translocation. *BMC Cancer*, 2007, 7: 24
- [19] Hanahan D, Weinberg RA. The hallmarks of cancer. *Cell*, 2000, 100: 57-70
- [20] Johnstone RW, Ruefli AA, Lowe SW. Apoptosis: a link between cancer genetics and chemotherapy. *Cell*, 2002, 108: 153-64
- [21] Vogelstein B, Kinzler KW. Cancer genes and the pathways they control. *Nat Med*, 2004, 10: 789-99
- [22] 张克君, 李德春, 朱新国, 等. PUMA 基因转染对胰腺细胞生长的影响. *胰腺病学*, 2006, 12(6): 355-7
- [23] Giladi N, Dvory-Sobol H, Sagiv E, et al. Gene therapy approach in prostate cancer cells using an active Wnt signal. *Biomed Pharmacother*, 2007, 61(9): 527-30
- [24] Liu Y, Li Y, Wang H, et al. BH3-based fusion artificial peptide induces apoptosis and targets human colon cancer. *Mol Ther*, 2009, 17(9): 1509-16
- [25] La Porta CA. Drug resistance in melanoma: new perspectives. *Curr Med Chem*, 2007, 14(4): 387-91
- [26] Wang H, Qian H, Yu J, et al. Administration of PUMA adenovirus increases the sensitivity of esophageal cancer cells to anticancer drugs. *Cancer Biol Ther*, 2006, 5(4): 380-5
- [27] Yu J, Yue W, Wu B, et al. PUMA sensitizes lung cancer cells to chemotherapeutic agents and irradiation. *Clin Cancer Res*, 2006, 12(9): 2928-36
- [28] Sun Q, Ming L, Thomas SM, et al. PUMA mediates EGFR tyrosine kinase inhibitor-induced apoptosis in head and neck cancer cells. *Oncogene*, 2009, 28(24): 2348-57
- [29] Jeffers JR, Parganas E, Lee Y, et al. PUMA is an essential mediator of p53-dependent and -independent apoptotic pathways. *Cancer Cell*, 2003, 4(4): 321-28
- [30] Villunger A, Michalak EM, Conlts L, et al. p53- and drug-induced apoptotic responses mediated by bh3-only proteins puma and noxa. *Science*, 2003, 302(5647): 1036-8
- [31] Ghosh AP, Walls KC, Klocke BJ, et al. The proapoptotic BH3-Only, Bcl-2 family member, puma is critical for acute ethanol-induced neuronal apoptosis. *Neuropathol Exp Neurol*, 2009, 68(7): 747-56
- [32] Avila JL, Grundmann O, Burd R, et al. Radiation-induced salivary gland dysfunction results from p53-dependent apoptosis. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 2009, 73(2): 523-9
- [33] Chang HJ, Maj JG, Paris F, Xing HR, et al. ATM regulates target switching to escalating doses of radiation in the intestines. *Nat Med*, 2005, 11(5): 484-90
- [34] Qiu W, Liu H, Epperly ML, et al. PUMA regulates intestinal progenitor cell radiosensitivity and gastrointestinal syndrome. *Cell Stem Cell*, 2008, 2(6): 576-583
- [35] Shao L, Sun Y, Cai Z, et al. Deletion of puma selectively protects hscs from lethal dose-irradiation [C]. *International Forum on Stem Cells*, 2008, Oct 15-18, Tianjin, China
- [36] Wu WS, Heinrichs S, Xu D, et al. Slug antagonizes p53-mediated apoptosis of hematopoietic progenitors by repressing puma. *Cell*, 2005, 123(4): 641-53
- [37] Kim H, Rafiuddin-Shah M, Tu HC, et al. Hierarchical regulation of mitochondrion-dependent apoptosis by BCL-2 subfamilies. *Nat Cell Biol*, 2006, 8(12): 1348-58