

# Q Papel de la apoptosis en la respuesta inmune antitumoral

García-Castro Beatriz<sup>1,2</sup>, Olimón- Andalón Vicente<sup>3</sup>, Aguilar-Lemarroy Adriana<sup>2</sup>

## Resumen

La apoptosis es un programa de muerte celular finamente regulado, esencial en el mantenimiento de la homeostasis de los tejidos ya que se encarga de eliminar aquellas células que no son necesarias o que son dañinas para el organismo. Los defectos en las vías de señalización apoptóticas promueven una proliferación celular aberrante y una acumulación de defectos genéticos, lo que conlleva a la tumorigénesis y frecuentemente confiere a las células cancerosas resistencia a las drogas quimioterapéuticas. Por tales motivos, la regulación de la apoptosis es esencial para mantener el balance entre las señales de supervivencia y muerte celular requeridas para prevenir una enfermedad. Son varias las vías de señalización que regulan la inducción o inhibición de la apoptosis, dentro de las principales proteínas reguladoras se encuentran miembros de la familia BCL-2, proteínas inhibidoras de la apoptosis (IAP) y la proteína c-FLIP. En esta revisión se señalan los mecanismos por los cuales estas proteínas regulan la apoptosis, además de profundizar en las alteraciones que más frecuentemente se han observado en la inhibición de las señales apoptóticas.

**Palabras clave:** *apoptosis, CD95, escape inmunológico, FAS, TNF, TRAIL.*

## Role of apoptosis in the antitumor immune response

### Abstract

Apoptosis is a programmed cell death finely regulated, essential in the tissue homeostasis maintenance since it is in charge of eliminating those unnecessary or harmful organism cells. The defects in the apoptotic signaling pathway promote the abnormal cell proliferation and genetic defects accumulation, leading to tumorigenesis and frequently bestows resistance to the chemotherapeutic drugs upon the cancerous cells. Due to these reasons, the apoptosis regulation is fundamental to maintain the balance between survival signaling and cell death required for the prevention of diseases. Many signaling pathways regulate the induction or inhibition of apoptosis, the main regulator proteins are the BCL-2, inhibitors of apoptosis (IAP) and the c-FLIP protein. This review will point out the mechanisms by which these proteins regulate the apoptosis; moreover, provide further explanations to the most frequently observed alterations in the inhibition of apoptotic signaling.

**Key words:** *apoptosis, CD95, FAS, immune escape, TNF, TRAIL.*

1. M. en C. Alumna del programa de Doctorado en Ciencias Biomédicas del Centro Universitario de Ciencias de la Salud, Universidad de Guadalajara. Maestría en la Especialidad de Inmunología.

2. Profesor Investigador de Tiempo Completo Titular B de la Universidad Autónoma de Sinaloa. Maestría y Doctorado en la Especialidad de Inmunología.

3. Investigador Asociado de la División de Inmunología del Centro de Investigación Biomédica de Occidente del Instituto Mexicano del Seguro Social.

Contacto: Adriana Aguilar Lemarroy. Centro de Investigación Biomédica de Occidente-IMSS. Correo electrónico: adry.aguilar.lemarroy@gmail.com

García-Castro B; Olimón- Andalón V; Aguilar-Lemarroy A. Papel de la apoptosis en la respuesta inmune antitumoral. *Rev Med MD* 2011; 2(4) : 206 - 210

## Introducción

Los principales mediadores de la respuesta inmune encargados de la vigilancia antitumoral son los linfocitos T CD8<sup>+</sup> y las células NK. Estas células citotóxicas presentan ligandos en su superficie que se unen con receptores de muerte anclados en las células alteradas, dañadas o no necesarias para el organismo, induciéndolas a un proceso de muerte celular conocido como apoptosis. Las células cancerígenas utilizan la inhibición de las vías apoptóticas como un mecanismo para evadir al sistema inmunológico y proliferar.<sup>1,2,3</sup>

La apoptosis es un proceso finamente regulado que juega un papel crucial en el desarrollo y homeostasis de los tejidos. El funcionamiento adecuado de las señales apoptóticas es fundamental en el mantenimiento del equilibrio entre la supervivencia y la muerte celular.<sup>1</sup>

En respuesta a un daño severo del ADN, como el que se encuentra en lesiones precancerosas, la inducción de la apoptosis puede servir para remover aquellas células potencialmente peligrosas para el organismo, bloqueando el desarrollo del cáncer. Sin embargo, ya que la apoptosis actúa como una barrera a la tumorigénesis, las células tumorales comúnmente desarrollan alteraciones que resultan en señales apoptóticas dañadas, lo cual facilita el desarrollo tumoral y la metástasis.<sup>4,5</sup>

La apoptosis se divide en tres etapas. La primera fase es la iniciación, en la que la célula recibe el estímulo que la conduce a la muerte. La segunda fase es la de ejecución, donde ocurre la mayor parte de los cambios morfológicos y bioquímicos característicos de este tipo de muerte celular. La tercera fase es la de eliminación, donde los restos celulares son degradados por macrófagos y células adyacentes. Durante la apoptosis la célula experimenta una secuencia de cambios morfológicos como son: condensación nuclear y citoplasmática, encogimiento de la membrana plasmática y formación de partículas cubiertas por membrana, llamados cuerpos apoptóticos que contienen organelos intactos y porciones del núcleo. En términos bioquímicos y fisiológicos, las características de una célula en apoptosis son generadas por proteasas de cisteína, llamadas caspasas. Dentro de esta familia de proteasas se encuentran las caspasas activadoras (8, 10, 9 y 2) y ejecutoras (3, 6, y 7).<sup>6,7</sup> Una vez activadas, las caspasas actúan sobre elementos del núcleo y citoesqueleto como laminina A y fodrina, respectivamente, llevando a cabo la activación de enzimas que degradan el ADN y la inactivación de proteínas encargadas de reparar al mismo (**Figura 1**).<sup>6,8</sup> Debido a que durante la apoptosis no se rompe la membrana celular y no hay liberación de sustancias al citoplasma, no se induce un proceso inflamatorio.

Existen dos vías de activación de las caspasas: la primera es la vía intrínseca o mediada por la mitocondria, se activa mediante proteínas intracelulares en respuesta a diferentes estímulos perjudiciales (daño al ADN, radiación UV y flujo alterado de calcio). Posterior al estímulo de muerte, la proteína Bid es activada por caspasa-8, resultando en una forma truncada (tBid). Esta proteína se une a la mitocondria, activando Bax y Bak, que desestabilizan la integridad de la membrana externa mitocondrial, liberando factores

apoptogénicos del espacio interior de la membrana al citosol (citocromo C, factor inductor de apoptosis [AIF] y caspasa-9) para formar el apoptosoma (citocromo C/Apaf-1/caspase-9), que activa la caspasa-3. Finalmente, la activación de las caspasas ejecutoras provoca la destrucción celular mediante enzimas que degradan el ADN y proteasas, destruyen proteínas del citoesqueleto y de reparación celular.

La segunda es la vía extrínseca, inducida por receptores de muerte celular. Los receptores de muerte incluyen un grupo de proteínas de superficie celular que pertenecen a la super familia de receptores del factor de necrosis tumoral (TNF), que se expresan en las células diana. Son conocidos como TNFR1, CD95 (Fas, Apo-1), TRAIL-R1/DR4 y TRAIL-R2/DR5, que al ser activados por sus respectivos ligandos (TNF-α, CD95L(FasL,Apo1L) y TRAIL(Apo2L) se oligomerizan dando lugar al reclutamiento de proteínas adaptadoras, mayoritariamente a FADD, las cuales se encargan de secuestrar a las formas inactivas de caspasa-8 y/o caspasa-10, formando el llamado DISC (*Death Inducing Signaling Complex*). El DISC facilita que estas pro-caspasas se concentren y se activen junto a las caspasas ejecutoras (caspasa-3, -6 y -7) (**Figura 1**).<sup>8-11</sup>

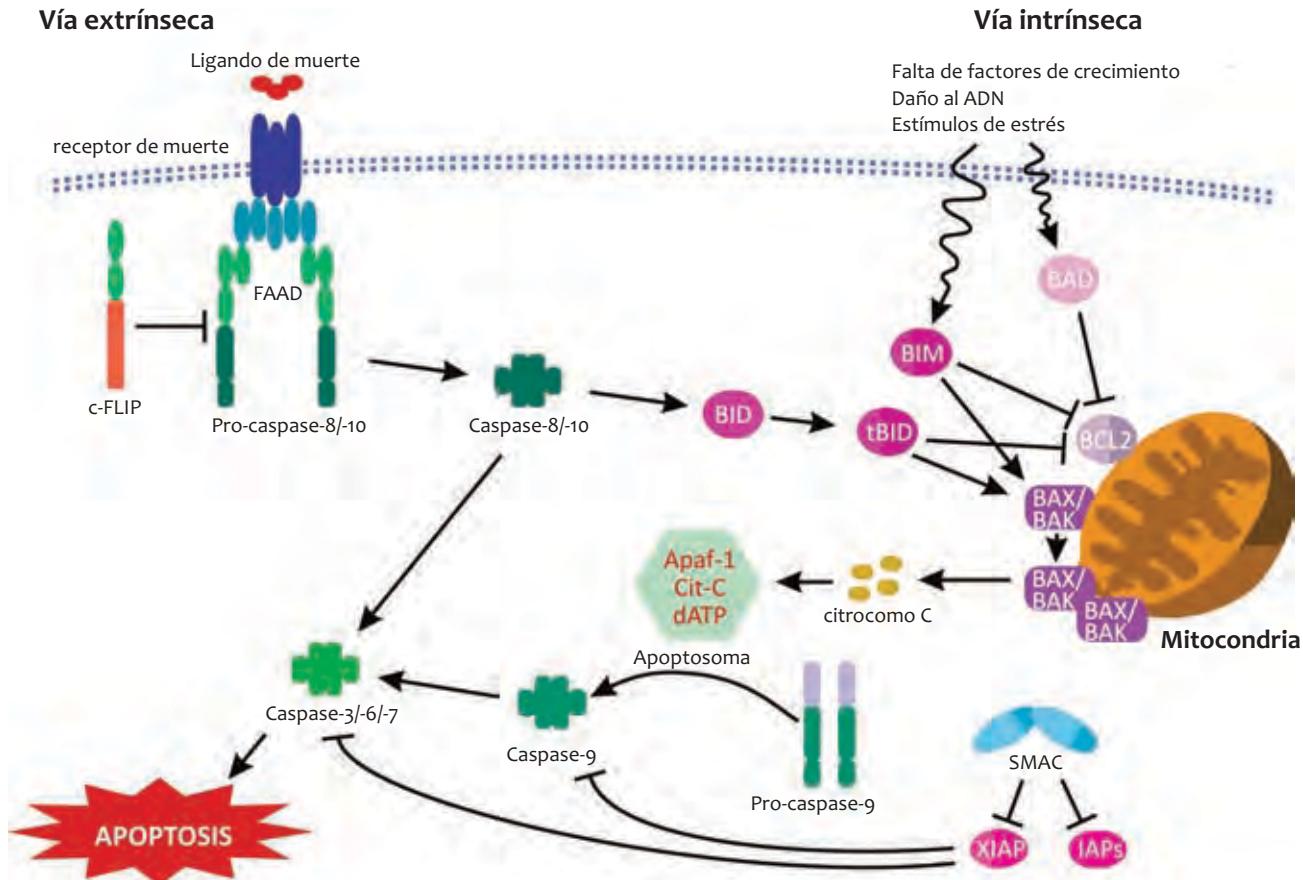
Cabe destacar que la desregulación de las vías apoptóticas no solamente favorece la formación de tumores, sino también provoca que las células cancerosas sean resistentes a los agentes convencionales contra el cáncer, ya que la quimioterapia y la radioterapia activan la apoptosis de estas células.<sup>12,13</sup>

La célula cancerosa es capaz de inhibir su destrucción a través de varios mecanismos, como la pérdida de receptores de muerte en su membrana y la disminución o incremento de componentes de las vías apoptóticas. En particular, dentro de los reguladores de la apoptosis más críticos se encuentran proteínas de la familia BCL-2, IAP y la proteína c-FLIP.<sup>3</sup>

## Mecanismos de resistencia a la apoptosis mediada por receptores de muerte

El receptor CD95 se ha encontrado anclado a la membrana celular y en forma soluble (sCD95), la cual es una variante del ARN mensajero generado por un empalme alternativo en la que se pierde la región que codifica para el dominio transmembranal. Los niveles de sCD95 juegan un papel muy importante en la regulación de la apoptosis, ya que sus niveles elevados se han asociado a un efecto inhibidor de la apoptosis, lo cual se explica por la competencia entre la forma soluble y la transmembranal por la unión con su ligando.<sup>14</sup> Se han determinado altos niveles de sCD95 en suero de pacientes con cáncer de hígado, mama, vejiga, riñón y melanoma.<sup>15</sup> En cáncer cérvico-uterino, sCD95 ha sido objeto de estudio, ya que se ha encontrado elevado en suero de pacientes con este tipo de padecimiento.<sup>16</sup> Adicionalmente, se han descrito mutaciones de CD95 en diversos tumores, lo cual impide la activación de esta vía en células tumorales.<sup>17-19</sup> Estos antecedentes sugieren que la resistencia a la apoptosis mediada por CD95 contribuye a su escape inmunológico.<sup>20-22</sup>

TRAIL, otro de los miembros que activa la apoptosis mediada por receptores de muerte, fue identificado a través de su secuencia homóloga con CD95L y TNF-α.<sup>23,24</sup> La vía de



**Figura 1.** Esquematización de las vías apoptóticas intrínseca y extrínseca. La activación de la vía intrínseca da como resultado la permeabilización de la membrana mitocondrial, lo cual permite la liberación de citocromo C y otros factores apoptogénicos de la mitocondria al citosol, dando lugar a la formación del apoptosoma, el cuál desencadena la activación de la cascada apoptótica vía caspasa-9. Las interacciones entre proteínas de la familia BCL-2 juegan un papel crítico en mediar la permeabilización de la membrana mitocondrial y consecuentemente la apoptosis. Las proteínas BH3 (BIM, tBID y BAD) transmiten señales pro-apoptóticas a través de la activación de BAX o BAK; principales efectores de la vía intrínseca. En contraste, las proteínas anti-apoptóticas como BCL-2 inhiben la apoptosis al bloquear la activación de BAX/BAK. En la vía extrínseca, la unión de los receptores de muerte con sus respectivos ligandos induce el reclutamiento de FADD y pro-caspasas, específicamente pro-caspasa-8 y -10, resultando en la formación del DISC. Los niveles elevados de la caspasa-8 en el DISC inducen su auto-activación, dando lugar así a la activación de las caspasas efectoras, incluyendo caspase-3 y la subsecuentemente muerte celular. La activación de la caspasa-8 puede también resultar en la activación proteolítica de BID en tBID, lo cual sirve para transmitir señales de muerte de la vía extrínseca a la vía intrínseca. Modificado de Plati et al. *Integr Biol* 2011;3:279-296

TRAIL se puede unir a 5 diferentes receptores. Sin embargo, solo dos de ellos TRAIL-R1 (DR4) y TRAIL-R2 (DR5) son capaces de transmitir una señal apoptótica. TRAIL-R3 (LIT, DcR1), TRAIL-R4 (TRUNDD, DcR2) y el receptor soluble osteoprotegerina (OPG), son incapaces de inducir muerte y son conocidos como “decoy receptors”.<sup>25,26</sup> La apoptosis mediada por TRAIL también se ha observado alterada en células cancerosas. La resistencia a TRAIL se lleva a cabo a diferentes niveles de la vía de señalización, una de las principales es la pérdida de función de los receptores de muerte DR4 y DR5, ya sea por mutaciones o por su ausencia en la superficie membranal.<sup>27</sup>

Las vías mediadas por CD95L y por TRAIL se han visto afectadas por la sobreexpresión de la proteína c-FLIP, así como de proteínas anti-apoptóticas de la familia de BCL-2 y de las proteínas de la familia IAP.<sup>3,4,28-30</sup>

### Regulación de la apoptosis a través de la familia de proteínas BCL-2

La familia de proteínas BCL-2 regula la permeabilización de la membrana mitocondrial. Incluye reguladores pro y anti apoptóticos de la vía intrínseca. Cada miembro de la familia BCL-2 contiene al menos uno de los cuatro dominios conservados conocidos como BH (BCL-2 homology) (BH1-4). Los miembros de esta familia están clasificados en tres subgrupos basados en su función y en la composición del dominio BH, uno anti-apoptótico y dos pro-apoptóticos. Los miembros anti-apoptóticos incluyen BCL-2, BCL-XL, MCL1, BCL-W, A1 y BCL-B, la mayoría de ellos posee los cuatro dominios BH. Los miembros pro-apoptóticos están representados por BAX, BAK y BOK, los cuales comparten secuencias similares a las proteínas anti-apoptóticas, a excepción de que carecen del dominio BH-4.

Adicionalmente, existen miembros pro-apoptóticos que contienen exclusivamente el dominio BH-3, los cuales incluyen BID, BIM, BAD, BMF, HRK, PUMA, NOXA y BIK.<sup>31,32</sup>

La función pro o anti apoptótica depende de las interacciones proteína-proteína entre los miembros de la familia BCL-2. Las proteínas anti-apoptóticas inhiben la apoptosis al secuestrar a los miembros pro-apoptóticos. Recientemente se ha demostrado que BID, BIM y PUMA son activadores directos de BAX y BAK.<sup>33</sup> Alteraciones en el balance entre las proteínas pro y anti apoptóticas de la familia de BCL-2 pueden hacer que la célula sea resistente a estímulos apoptóticos y así promover la supervivencia de células cancerígenas. El incremento de la actividad funcional de las proteínas anti-apoptóticas sobre las pro-apoptóticas puede contribuir significativamente al desarrollo del cáncer y su progresión, permitiendo que las células escapen de la apoptosis. En varios tipos de cáncer ya se han observado tanto una actividad suprimida de miembros apoptóticos, como una sobreexpresión de miembros anti-apoptóticos.<sup>5</sup>

Se ha reportado que la sobreexpresión de BCL-2 inhibe la apoptosis de células SHEP de neuroblastoma, LN-229 de glioblastoma y MCF-7 de cáncer de mama, además de inducir un efecto protector en la supervivencia de estas células tumorales en respuesta a un tratamiento con TRAIL. La sobreexpresión de BCL-2 reduce el corte proteolítico de la caspasa-8 y BID, además de bloquear el corte proteolítico en sus subunidades activas de las caspasas-9, -7 y -3. Adicionalmente, se ha observado que BCL-2 confiere protección contra la apoptosis inducida por TRAIL en una manera específica del tipo celular.<sup>29</sup>

## Regulación de la apoptosis mediada por la familia de proteínas IAP

La proteólisis inducida por la apoptosis es un proceso irreversible, por lo que existe un control estricto de la degradación proteolítica mediada por las caspasas para prevenir la destrucción inapropiada de la célula.<sup>34</sup> Este proceso es controlado en gran parte por las proteínas "Inhibidoras de Apoptosis", que regulan negativamente la apoptosis ya sea inhibiendo la actividad de las caspasas ejecutoras o bloqueando las vías que activan a éstas. Los miembros de la familia de proteínas IAP incluyen NAIP, XIAP, cIAP1, cIAP2, ILP2, livin, survivin y BRUCE, las cuales contienen al menos un dominio BIR.<sup>35</sup>

Se ha demostrado que a través de éste dominio las proteínas IAP se unen directamente a las caspasas y las inhiben. Adicionalmente, las proteínas IAP poseen la función de ubiquitina E3 ligasa, con lo cual pueden promover su autoubiquitinización, así como la de proteínas con las cuales interactúa directa o indirectamente a través de proteínas adaptadoras. El miembro de ésta familia reconocido como el que posee la actividad anti-apoptótica más potente es XIAP, el cual inhibe a las caspasas ejecutoras, además de prevenir la activación de la caspasa-9.<sup>36</sup> Dentro de las alteraciones observadas frecuentemente en numerosos tipos de cáncer. Se ha reportado una expresión elevada de las proteínas IAP, lo

cual ha sido asociado a enfermedades avanzadas o a un pronóstico pobre.<sup>37</sup> De manera interesante, también se ha reportado que algunas proteínas IAP modulan vías de señalización que activan a NF-κB, por lo que miembros de la familia IAP han demostrado ser reguladores "clave" de vías de señalización importantes para determinar si una célula vive o muere.<sup>38</sup>

## Regulación de la apoptosis mediada por c-FLIP

c-FLIP es una proteína que también puede ser reclutada en el DISC y regula la activación de la caspasa-8 en las vías apoptóticas mediadas por receptores de muerte.<sup>38</sup> c-FLIP fue caracterizada por inhibir potentemente la apoptosis mediada por receptores de muerte.<sup>39</sup> A la fecha, tres isoformas de c-FLIP han sido descritas: c-FLIPs, c-FLIPL y c-FLIPR. Las tres isoformas mencionadas son reclutadas en el DISC por las proteínas adaptadoras, lo cual conlleva mayoritariamente a una disminución en la apoptosis inducida por receptores de muerte al bloquear la activación de la caspasa-8. Existen reportes donde se ha revelado que c-FLIPL posee una funcionalidad dual, ya sea inhibiendo o activando a la caspasa-8, lo cual se ha visto que es dependiente de varios factores, entre ellos su nivel de expresión comparado con la caspasa-8.<sup>40</sup>

En células tumorales, c-FLIPL se ha reportado como un regulador negativo de apoptosis, ya que se han encontrado niveles elevados de esta proteína en melanoma, carcinoma hepatocelular, pulmonar, endometrial, de colon, próstata y ovario. Así mismo, una sobreexpresión de c-FLIP ha sido asociada con progresión de la enfermedad y un pronóstico pobre.<sup>41,42</sup>

## Conclusiones

Las alteraciones en las señales apoptóticas son características de las células cancerosas que frecuentemente están ligadas al desarrollo y progresión del tumor, así como a la resistencia a diferentes tipos de tratamientos.

A la fecha ya se han elucidado algunos mecanismos por los cuales una célula cancerosa se protege de la apoptosis, también se han identificado diversas alteraciones que resultan en una actividad aberrante de los reguladores clave de las vías apoptóticas. Dentro de ellos se incluyen las proteínas de la familia BCL-2, las IAP y c-FLIP. Estos conocimientos están permitiendo idear estrategias terapéuticas para reactivar la apoptosis en las células cancerosas y convertirlas en terapias anti-cáncer que podrán beneficiar significativamente al paciente.

La gran diversidad de mecanismos involucrados en la génesis de los tumores, necesita de más esfuerzos en la investigación para identificar las alteraciones en las vías apoptóticas de los diferentes tipos de cáncer.

## Referencias bibliográficas

- 1.Hanahan D, Weinberg RA. The hallmarks of cancer. *Cell* 2000;100(1):57-70.
- 2.Krammer PH, Arnold R, Lavrik IN. Life and death in peripheral T cells. *Nat Rev Immunol* 2007 Jul;7(7):532-42.
- 3.Plati J, Bucur O, Khosravi-Far R. Apoptotic cell signaling in cancer progression and therapy. *Integ Biol (Camb)* 2011 Apr;3(4):279-96.
- 4.Fulda S. Evasion of apoptosis as a cellular stress response in cancer. *Int J Cell*

- Biol* 2010;2010:370835.
5. Plati J, Bucur O, Khosravi-Far R. Dysregulation of apoptotic signaling in cancer: molecular mechanisms and therapeutic opportunities. *J Cell Biochem* 2008 Jul 1;104(4):1124-49.
  6. Fan TJ, Han LH, Cong RS, Liang J. Caspase family proteases and apoptosis. *Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai)* 2005 Nov;37(11):719-27.
  7. Moffitt KL, Martin SL, Walker B. From sentencing to execution—the processes of apoptosis. *J Pharm Pharmacol* 2010 May;62(5):547-62.
  8. Alenzi FQ, Lotfy M, Wyse R. Swords of cell death: caspase activation and regulation. *Asian Pac J Cancer Prev* 2010;11(2):271-80.
  9. Fulda S, Debatin KM. Extrinsic versus intrinsic apoptosis pathways in anticancer chemotherapy. *Oncogene* 2006 Aug 7;25(34):4798-811.
  10. Krammer PH, Kaminski M, Kiesling M, Gulow K. No life without death. *Adv Cancer Res* 2007;97:111-38.
  11. Vaux DL. Apoptogenic factors released from mitochondria. *Biochim Biophys Acta* 2011;1813(4):546-50.
  12. Gimenez-Bonafe P, Tortosa A, Perez-Tomas R. Overcoming drug resistance by enhancing apoptosis of tumor cells. *Curr Cancer Drug Targets* 2009 May;9(3):320-40.
  13. Wilson TR, Johnston PG, Longley DB. Anti-apoptotic mechanisms of drug resistance in cancer. *Curr Cancer Drug Targets* 2009 May;9(3):307-19.
  14. Cascino I, Papoff G, Eramo A, Ruberti G. Soluble Fas/Apo-1 splicing variants and apoptosis. *Front Biosci* 1996 Jan 1;1:d12-d18.
  15. Abbasova SG, Vysotskii MM, Ovchinnikova LK, Obusheva MN, Digaeva MA, Britvin TA, et al. Cancer and soluble FAS. *Bull Exp Biol Med* 2009 Oct;148(4):638-42.
  16. Aguilar-Lemarroy A, Romero-Ramos JE, Olimon-Andalón V, Hernandez-Flores G, Lerma-Díaz JM, Ortiz-Lazareno PC, et al. Apoptosis induction in Jurkat cells and sCD95 levels in women's sera are related with the risk of developing cervical cancer. *BMC Cancer* 2008;8:99.
  17. Bertoni F, Conconi A, Carobbio S, Realini C, Codegoni AM, Zucca E, et al. Analysis of Fas/CD95 gene somatic mutations in ovarian cancer cell lines. *Int J Cancer* 2000 May 1;86(3):450.
  18. Boldrini L, Loggini B, Gisfredi S, Zucconi Y, Baldinotti F, Fogli A, et al. Mutations of Fas (APO-1/CD95) and p53 genes in nonmelanoma skin cancer. *J Cutan Med Surg* 2003 Mar;7(2):112-8.
  19. Park WS, Oh RR, Kim YS, Park JY, Lee SH, Shin MS, et al. Somatic mutations in the death domain of the Fas (Apo-1/CD95) gene in gastric cancer. *J Pathol* 2001 Feb;193(2):162-8.
  20. Gutierrez LS, Eliza M, Niven-Fairchild T, Naftolin F, Mor G. The Fas/Fas-ligand system: a mechanism for immune evasion in human breast carcinomas. *Breast Cancer Res Treat* 1999 Apr;54(3):245-53.
  21. Ryan AE, Shanahan F, O'Connell J, Houston AM. Fas ligand promotes tumor immune evasion of colon cancer in vivo. *Cell Cycle* 2006 Feb;5(3):246-9.
  22. Strand S, Galle PR. Immune evasion by tumors: involvement of the CD95 (APO-1/Fas) system and its clinical implications. *Mol Med Today* 1998 Feb;4(2):63-8.
  23. Wiley SR, Schooley K, Smolak PJ, Din WS, Huang CP, Nicholl JK, et al. Identification and characterization of a new member of the TNF family that induces apoptosis. *Immunity* 1995 Dec;3(6):673-82.
  24. Pitti RM, Marsters SA, Ruppert S, Donahue CJ, Moore A, Ashkenazi A. Induction of apoptosis by Apo-2 ligand, a new member of the tumor necrosis factor cytokine family. *J Biol Chem* 1996 May 31;271(22):12687-90.
  25. Newsom-Davis T, Prieske S, Walczak H. Is TRAIL the holy grail of cancer therapy? *Apoptosis* 2009 Apr;14(4):607-23.
  26. Falschlehner C, Emmerich CH, Gerlach B, Walczak H. TRAIL signalling: decisions between life and death. *Int J Biochem Cell Biol* 2007;39(7-8):1462-75.
  27. Zhang Y, Zhang B. TRAIL resistance of breast cancer cells is associated with constitutive endocytosis of death receptors 4 and 5. *Mol Cancer Res* 2008 Dec;6(12):1861-71.
  28. Zhang L, Fang B. Mechanisms of resistance to TRAIL-induced apoptosis in cancer. *Cancer Gene Ther* 2005 Mar;12(3):228-37.
  29. Fulda S, Meyer E, Debatin KM. Inhibition of TRAIL-induced apoptosis by Bcl-2 overexpression. *Oncogene* 2002 Apr 4;21(15):2283-94.
  30. Ndozangue-Touriguine O, Sebbagh M, Merino D, Micheau O, Bertoglio J, Beard J. A mitochondrial block and expression of XIAP lead to resistance to TRAIL-induced apoptosis during progression to metastasis of a colon carcinoma. *Oncogene* 2008 Oct 9;27(46):6012-22.
  31. Danial NN. BCL-2 family proteins: critical checkpoints of apoptotic cell death. *Clin Cancer Res* 2007 Dec 15;13(24):7254-63.
  32. Giam M, Huang DC, Bouillet P. BH3-only proteins and their roles in programmed cell death. *Oncogene* 2008 Dec;27 Suppl 1:S128-S136.
  33. Ren D, Tu HC, Kim H, Wang GX, Bean GR, Takeuchi O, et al. BID, BIM, and PUMA are essential for activation of the BAX- and BAK-dependent cell death program. *Science* 2010 Dec 3;330(6009):1390-3.
  34. Pop C, Salvesen GS. Human caspases: activation, specificity, and regulation. *J Biol Chem* 2009 Aug 14;284(33):21777-81.
  35. Mace PD, Shirley S, Day CL. Assembling the building blocks: structure and function of inhibitor of apoptosis proteins. *Cell Death Differ* 2010 Jan;17(1):46-53.
  36. Eckelman BP, Salvesen GS, Scott FL. Human inhibitor of apoptosis proteins: why XIAP is the black sheep of the family. *EMBO Rep* 2006 Oct;7(10):988-94.
  37. Fulda S. Inhibitor of apoptosis proteins in hematological malignancies. *Leukemia* 2009 Mar;23(3):467-76.
  38. Scaffidi C, Schmitz I, Krammer PH, Peter ME. The role of c-FLIP in modulation of CD95-induced apoptosis. *J Biol Chem* 1999 Jan 15;274(3):1541-8.
  39. Irmller M, Thome M, Hahne M, Schneider P, Hofmann K, Steiner V, et al. Inhibition of death receptor signals by cellular FLIP. *Nature* 1997 Jul 10;388(6638):190-5.
  40. Chang DW, Xing Z, Pan Y, Algeciras-Schimmler A, Barnhart BC, Yaish-Ohad S, et al. c-FLIP(L) is a dual function regulator for caspase-8 activation and CD95-mediated apoptosis. *EMBO J* 2002 Jul 15;21(14):3704-14.
  41. Bagnoli M, Caneveri S, Mezzanzanica D. Cellular FLICE-inhibitory protein (c-FLIP) signalling: a key regulator of receptor-mediated apoptosis in physiologic context and in cancer. *Int J Biochem Cell Biol* 2010 Feb;42(2):210-3.
  42. Horak P, Pils D, Kaider A, Pinter A, Elandt K, Sax C, et al. Perturbation of the tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand cascade in ovarian cancer: overexpression of FLIPL and deregulation of the functional receptors DR4 and DR5. *Clin Cancer Res* 2005 Dec 15;11(24 Pt 1):8585-91.