

HAX1的生物学特性及其与临床疾病关系

刘洋¹ 张新宇^{1,2} 荣琼^{1,3} 齐明月¹ 郭慧^{1,3*}

(¹昆明理工大学医学院, 昆明 650032; ²云南省第一人民医院再生医学研究中心, 昆明 650032;

³云南省第一人民医院口腔医学中心, 昆明 650032)

摘要 人类造血细胞特异性蛋白1相关蛋白X-1(human HCLS1-associated protein X-1, HAX1)是一种在机体内广泛存在、可与多种蛋白质相互作用并发挥生物学功能的蛋白质。*HAX1*基因在转录过程中经过选择性剪切形成多种剪接变体,其剪接变体001翻译产生的HAX1蛋白质亚型目前研究较多,它在抗细胞凋亡、调节细胞迁移、维持细胞内Ca²⁺稳态、调节氧化应激与细胞自噬、维持线粒体蛋白稳态、参与血管生成以及调节信号转导等方面具有关键作用。HAX1在机体内参与多种生物学功能的调节,其异常表达或突变可导致多种疾病。该文旨在系统阐述HAX1的生物学特性及其与临床疾病发生发展的关系,以期为深入研究其功能机制提供参考,且对于与HAX1相关疾病的治疗会提供帮助。

关键词 人类造血细胞特异性蛋白1相关蛋白X-1; 细胞凋亡; Ca²⁺稳态; 细胞迁移; 信号转导通路

Biological Function of HAX1 and Its Relationship with Clinical Diseases

LIU Yang¹, ZHANG Xinyu^{1,2}, RONG Qiong^{1,3}, QI Mingyue¹, GUO Hui^{1,3*}

(¹School of Medicine, Kunming University of Science and Technology, Kunming 650032, China;

²Regenerative Medicine Research Center, the First People's Hospital of Yunnan Province, Kunming 650032, China;

³Center of Stomatology, the First People's Hospital of Yunnan Province, Kunming 650032, China)

Abstract HAX1 (human HCLS1-associated protein X-1) is a protein existing widely in the body that can interact with various proteins and perform many biological functions. The *HAX1* gene undergoes selective splicing during the transcription process, leading to the formation of multiple splicing variants. The HAX1 protein subtype produced by the translation of its splicing variant 001 has been extensively studied, and plays a key role in anti-apoptosis, cell migration promotion, regulation of intracellular Ca²⁺ homeostasis, regulation of oxidative stress, autophagy, maintenance of mitochondrial protein homeostasis, participating in angiogenesis and regulation of signal transduction. Abnormal expression or mutation of HAX1 can lead to the occurrence and development of various diseases. This article aims to systematically elucidate the biological function, and the relationship of HAX1 with clinical diseases, desiring to provide the basis for in-depth research on its functional mechanism and to assist in the

收稿日期: 2023-11-14

接受日期: 2024-03-04

国家自然科学基金(批准号: 81860481、82103049)、云南省高层次人才青年拔尖人才项目(批准号: KH-SWR-QNBJ-2020-002)、云南省科学技术厅基础研究专项青年项目(批准号: 202201AU070015)、云南省科学技术厅昆明医科大学联合专项面上项目(批准号: 202201AY070001-233、202201AY070001-231)和中华口腔医学会青年临床科研基金中西部口腔正畸研究项目(批准号: CSA-MWO2021-15)资助的课题

*通信作者。Tel: 0871-63648772, E-mail: guohuigxx@163.com

Received: November 14, 2023

Accepted: March 4, 2024

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (Grant No.81860481, 82103049), the High-Level Talent Young Talent Project in Yunnan Province (Grant No.KH-SWR-QNBJ-2020-002), the Basic Research Special Youth Project of Yunnan Province Science and Technology Department (Grant No.202201AU070015), the Yunnan Province Science and Technology Department Kunming Medical University Applied Basic Research Joint Projects (Grant No.202201AY070001-233, 202201AY070001-231), and the Chinese Stomatological Association Youth Clinical Scientific Research Fund Orthodontics Research Projects in the Midwest (Grant No.CSA-MWO2021-15)

*Corresponding author. Tel: +86-871-63648772, E-mail: guohuigxx@163.com

treatment of diseases related with HAX1.

Keywords HAX1; cell apoptosis; Ca^{2+} homeostasis; cell migration; signal transduction pathway

人类造血细胞特异性蛋白1相关蛋白X-1(human HCLS1-associated protein X-1, HAX1)由SUZUKI等^[1]于1997年通过酵母双杂交实验筛选与造血细胞特异性蛋白1(hematopoietic lineage cell-specific protein 1, HCLS1)相互作用的蛋白质时首次被发现。由于HAX1与抗凋亡蛋白Bcl-2结构上的同源性^[1],早期HAX1被报道为一种凋亡调节蛋白。近些年研究发现,HAX1不仅参与抗细胞凋亡,而且在细胞迁移、细胞内 Ca^{2+} 稳态、细胞氧化应激与自噬、线粒体蛋白稳态、血管生成及调节信号转导等过程中也发挥着关键作用。HAX1作为一种固有无序蛋白质(intrinsically disordered proteins, IDPs),在天然条件下缺乏稳定的三维结构,可动态与多种蛋白质或配体相互作用,参与调控机体的多种生物学功能。HAX1异常表达或突变与一些遗传疾病或系统性疾病的发生发展密切相关。因此,HAX1蛋白可能是相关疾病的潜在治疗靶点。本文就目前HAX1的生物学特性及其与临床疾病关系进行综述。

1 HAX1的剪接变体与分子结构

人HAX1基因位于1号染色体(1q21.3, 基因ID 10456)^[2]。在转录过程中,HAX1基因经过复杂的选择性剪切形成不同的剪接变体,经翻译形成多种HAX1蛋白质亚型,共同组成HAX1蛋白质家族,分子量介于26~35 kDa^[3-4]。选择性剪切过程受到多种调节机制包括转录因子及转录相关酶等因素的影响。通过Ensembl基因数据库(<https://www.ensembl.org>),可查询到HAX1共有24种剪接变体,但绝大多数剪接变体的翻译产物无法被检测到。目前研究主要集中在剪接变体001的翻译产物,因此本文也主要针对剪接变体001的翻译产物,即HAX1蛋白质,进行阐述。

剪接变体001翻译的HAX1蛋白质由279个氨基酸残基组成,其分子量为35 kDa,主要在人及啮齿类动物中表达。SUZUKI等^[1]研究发现HAX1具有与Bcl-2蛋白质家族相似的BH(BH1和BH2)结构域,然而JEYARAJU等^[5]对此提出了质疑,并反驳了SUZUKI等^[1]关于HAX1在COOH-末端具有跨膜结构域的观点。事实上,HAX1作为一种固有无序蛋白质,与

目前已知蛋白质结构均不相同。目前明确的HAX1结构主要包括两部分,即酸性盒(acid box)结构域和PEST基序。酸性盒结构域位于HAX1蛋白的NH₂-端,由天冬氨酸和谷氨酸残基组成,其序列高度保守,作用目前尚不清楚;PEST基序由脯氨酸、谷氨酸、丝氨酸、苏氨酸组成,与蛋白质快速降解有关。此外,RAMSAY等^[6]研究发现,在HAX1蛋白COOH-末端含有一个可与整合素 $\beta 6$ 亚基结合的部位,与细胞迁移及侵袭有关。

2 HAX1的生物学功能

2.1 HAX1参与抗细胞凋亡

细胞凋亡是由基因调控的细胞自主有序死亡,它在生物进化、内环境稳定和个体发生发育等过程中发挥着重要作用。大量研究表明HAX1可以通过多种途径参与抗细胞凋亡。

2.1.1 HAX1通过调节caspase家族发挥抗凋亡作用 Caspase家族蛋白在细胞凋亡的启动和执行中发挥着关键作用,HAX1可以通过与caspase-9及caspase-3相互作用参与细胞凋亡。SANCHIS等^[7]研究发现,在心肌细胞中过表达的HAX1会抑制caspase-9激活,从而防止caspase信号级联的启动。此外,LEE等^[8]也发现,HAX1作为caspase-3的一种底物,可以抑制caspase-3的催化活性,抑制细胞凋亡。

2.1.2 HAX1通过减少凋亡调节因子(apoptosis regulator BAX, BAX)的蓄积量抑制细胞凋亡 BAX是一种促凋亡蛋白,在细胞受到应激刺激时,聚集在线粒体外膜上,导致线粒体膜通透性增加,并促使线粒体释放细胞死亡信号分子,从而引起细胞凋亡。研究表明,HAX1可以直接与丝氨酸蛋白酶(serine protease Omi/HtrA2, Omi/HtrA2)和早老素相关的菱形样蛋白(presenilin-associated rhomboid-like protein, PARL)结合,参与PARL对Omi/HtrA2的加工和激活,被激活的Omi/HtrA2能防止BAX在线粒体外膜中的积累,进而抑制线粒体孔洞的开放、膜电位的损失和细胞色素c的释放,从而保持线粒体膜的通透性,抑制线粒体凋亡^[9-10]。

2.1.3 HAX1通过参与内质网/肌质网 Ca^{2+} 调节影响细胞凋亡 HAX1可以与内质网/肌质网上

SERCA(Ca^{2+} -ATP酶)结合,使SERCA与 Ca^{2+} 的亲合力增加,加速 Ca^{2+} 回收及存储,维持细胞内 Ca^{2+} 平衡^[11-12]。相反,内质网/肌质网 Ca^{2+} 摄取失衡,可能引起线粒体 Ca^{2+} 过载,导致caspase活化、凋亡信号的级联启动和细胞死亡。因此,HAX1通过调节 Ca^{2+} 稳态,影响细胞凋亡^[13]。此外,HAX1还通过其他方式参与细胞凋亡。HAX1可以与一些病毒产物结合产生抗凋亡作用,也可以与多种信号分子(如AKT、PI3K等)相互作用发挥抗凋亡作用^[1415]。

2.2 HAX1参与调节细胞迁移

细胞迁移是正常细胞的基本功能之一,在哺乳动物细胞中,细胞前端伸出片状伪足,并在细胞外基质中形成新的黏着斑,再通过细胞体的收缩以及尾部的退缩和周围基质黏着解离,实现细胞定向运动。关于HAX1调节细胞迁移,目前主要有三种观点。

2.2.1 通过Rho家族蛋白调节细胞迁移 Rho家族蛋白是一类相对分子量为20~25 kDa的三磷酸鸟苷结合蛋白,具有GTP酶活性,又被称为Rho GTP酶^[16]。RhoA和Rac1属于Rho家族蛋白,是细胞迁移关键调控因子。CAVNAR等^[17]研究发现,HAX1通过对RhoA活性的调节影响细胞的黏附和趋化。GOMATHINAYAGAM等^[18]研究也证实,HAX1可以作为支架蛋白促进Rac1与皮质黏附素相互作用,进而促进细胞迁移。

2.2.2 通过整合素内吞作用调节细胞迁移 整合素是由 α 和 β 两个亚单位形成的异二聚体,迄今已发现18种 α 亚单位和9种 β 亚单位,它们按不同的组合构成20余种整合素^[19]。在细胞迁移过程中,整合素通过与细胞外基质配体不断的连接和解离实现对细胞的定向迁移调节。 $\alpha\text{v}\beta6$ 是一种只表达于恶性上皮肿瘤组织的特殊整合素亚型。RAMSAY等^[6]研究发现, $\alpha\text{v}\beta6$ 依赖的细胞迁移和侵袭都需要HAX1与 $\beta6$ ($\alpha\text{v}\beta6$ 的亚基)直接结合,从而调节网格蛋白介导的内吞作用。在HAX1低表达的 $\alpha\text{v}\beta6$ 依赖型癌细胞中,他们发现细胞迁移及侵袭能力均下降,进一步通过膜渗透性肽阻断HAX1与 $\beta6$ 亚基的结合,癌细胞的迁移及侵袭能力完全丧失。

2.2.3 通过调节细胞间通信影响细胞迁移 陆正等^[20]研究发现,上调HAX1表达可以显著促进胶质瘤细胞的增殖、侵袭和迁移,I κ B α 蛋白磷酸化水平以及该通路的相关蛋白表达水平也显著提高。反之,通过RNA干扰等技术敲低HAX1表达后,肿瘤细

胞的增殖、侵袭和迁移能力降低,I κ B α 蛋白磷酸化水平以及该通路的相关蛋白质表达水平也降低,因此HAX1可能通过调节核因子 κ B(nuclear factor kappa-B, NF- κ B)信号通路影响细胞迁移。此外,也有研究认为HAX1可以与微管末端结合蛋白2(end-binding protein 2, EB2)相互作用,促进黏着斑的更新,调节细胞迁移^[21]。

2.3 HAX1参与调节 Ca^{2+} 稳态

HAX1参与调节 Ca^{2+} 稳态主要通过与其内质网膜上的SERCA相互作用来实现。生理状态下,内质网通过RyR通道释放 Ca^{2+} ,一部分会被摄取到线粒体中,另一部分则会通过内质网膜上SERCA重新被吸收进入内质网,从而维持细胞内 Ca^{2+} 的稳定。SERCA作为一种跨膜蛋白,可以快速高效地实现对 Ca^{2+} 的转运,因此在快速肌肉收缩和钙稳态调节等过程中发挥着重要作用。研究表明,HAX1的COOH-末端可与SERCA结合,使SERCA结构域发生改变,通过水解ATP从而将 Ca^{2+} 逆向输送到内质网,加速细胞内 Ca^{2+} 的回收和储存,降低细胞质中的 Ca^{2+} 浓度,维持细胞内 Ca^{2+} 稳态和 Ca^{2+} 信号传递的正常功能^[11-12]。HAX1与SERCA的相互作用在心肌组织中尤为特别(图1)。心肌组织中存在的受磷蛋白(cardiac phospholamban, PLN)也可以与HAX1及SERCA结合。PLN与HAX1的结合受细胞内 Ca^{2+} 浓度和PLN磷酸化水平的影响,PLN磷酸化或 Ca^{2+} 水平增加导致HAX1与PLN分离。当HAX1与PLN结合后,PLN对SERCA2的抑制作用增强,使SERCA与 Ca^{2+} 的亲合力降低,肌细胞收缩力减弱^[12]。HAX1参与调节 Ca^{2+} 稳态对于维持心肌组织正常功能尤为重要,该过程发生异常会导致心脏疾病的发生。

2.4 HAX1参与调节氧化应激与细胞自噬

氧化应激是由多种因素引起的氧化系统与抗氧化系统之间的失衡,导致自由基(含氧分子)过度生成,引起脂质过氧化、蛋白质变性和DNA突变等的氧化损伤。DONG等^[22]研究发现,HAX1通过激活非受体酪氨酸激酶c-Abl,调节细胞氧化应激反应。c-Abl可以激活过氧化氢酶和谷胱甘肽过氧化物酶,促进活性氧(reactive oxygen species, ROS)的清除,减少ROS对细胞的氧化损伤。HAX1可与c-Abl相互作用,过表达的HAX1可促进c-Abl的激活,使ROS清除速度加快。下调HAX1的表达可使细胞内ROS水平增加。此外,PISANI等^[23]研究发现,HAX1可与拮抗

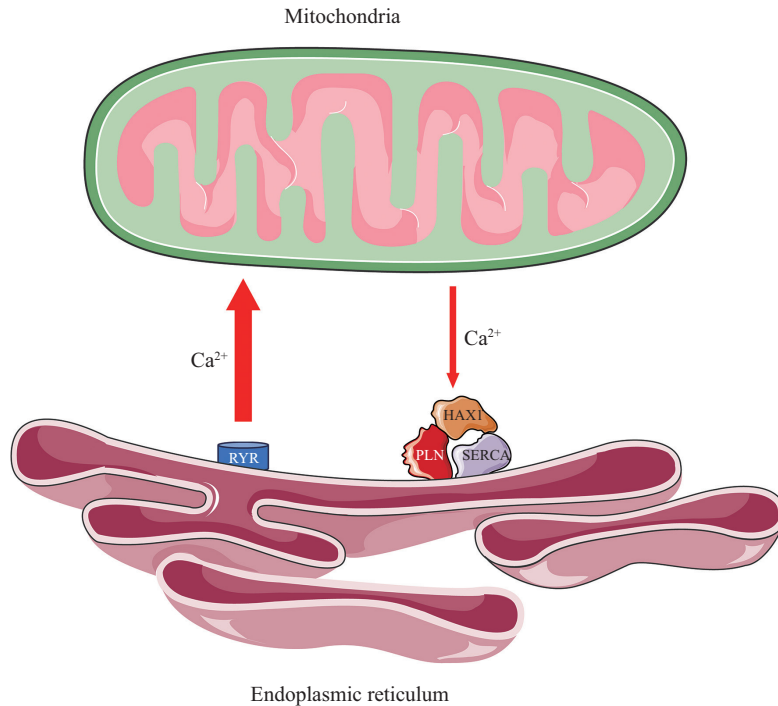


图1 HAX1调节Ca²⁺稳态(根据文献[11-12]修改)

Fig.1 HAX1 regulates Ca²⁺ homeostasis (modified from references [11-12])

凋亡转录因子Che-1相互作用,二者在氧化应激反应中可以发挥协同作用。

细胞可通过自噬,清除因氧化应激反应导致受损的细胞器及蛋白质,减少氧化应激对细胞的损伤。HAX1在调控细胞自噬反应中发挥重要作用。LI等^[24]研究发现,Omi/HtrA2通过HAX1激活细胞自噬。过表达HAX1会抑制Omi/HtrA2诱导的自噬,增加Beclin-1的表达量可部分恢复细胞自噬反应。也有研究证明HAX1氨基酸序列127—180是负责HAX1诱导细胞自噬的关键功能域,氧化应激时该序列过表达可以促进细胞自噬^[25]。同时该序列还调控细胞周期和线粒体凋亡,破坏该结构域可以抑制HAX1相应的生物学功能^[25]。

2.5 HAX1参与维持线粒体蛋白稳态

线粒体作为细胞内的能量工厂,是真核细胞中最重要的细胞器之一,线粒体蛋白质稳态是维持线粒体功能的基础。FAN等^[26]研究发现,HAX1通过CLPB/HAX1/PRKD2/HSP27参与调控线粒体蛋白质稳态。解聚酶CLPB是一种可以与HAX1相互作用的蛋白质,二者在线粒体蛋白质稳态调节中发挥关键作用。通过对PLB-985细胞进行定量蛋白质组学分析发现,敲除HAX1或CLPB后线粒体蛋白质合成、三羧酸循环、线粒体翻译等过程均显著改变。这与

丝氨酸-苏氨酸激酶PRKD2和HSP27磷酸化有关。敲除HAX1可使CLPB表达水平下降,并降低HSP27溶解度及磷酸化水平。HSP27磷酸化水平降低会导致线粒体新生肽合成障碍,从而破坏线粒体蛋白稳态。上述发现在诱导多能干细胞(induced pluripotent stem cell, iPSC)向中性粒细胞分化过程中也得到证实^[26]。敲除HAX1导致iPSC分化为中性粒细胞的能力明显减弱,同时线粒体合成ATP及氧化呼吸能力减弱,增加HAX1或HSP27表达水平,可恢复iPSC分化能力,ATP合成和氧化呼吸能力也得到增强。WAKULA等^[27]研究也有类似的发现,并且进一步证实了HAX1的81—139 aa区域是与CLPB结合的特定位点。

2.6 HAX1参与血管生成

肿瘤血管生成与肿瘤的迁移和转移密切相关。YOU等^[28]研究发现,HAX1参与调控血管生成。人脐静脉内皮细胞(human umbilical vein endothelial cell, HUVEC)是一种人类脐带静脉内皮细胞,被用来研究血管内皮细胞的生物学特性和功能。在HUVEC细胞中敲低HAX1的表达后,细胞的管腔形成能力减弱。对斑马鱼胚胎注射HAX1 ATG靶向突变体或使用CRISPR/Cas9敲除斑马鱼HAX1基因,发现斑马鱼胚胎肠下血管发育延迟,节间血管直径明

显缩小。敲低ITGB6或使用FAK激酶抑制剂可导致HAX1过表达诱导的细胞迁移和血管生成受到抑制。因此, HAX1可能通过ITGB6参与调节血管生成。也有研究发现, 过表达HAX1促进血管生成, 使用FAK抑制剂可以逆转HAX1对血管的影响^[29]。反之, 降低HAX1的表达水平, 血管生成受到抑制, 使用FAK抑制剂则加剧这种抑制效果。综上表明, HAX1对血管生成具有重要的调控作用。

2.7 HAX1与多条信号转导通路的密切关系

2.7.1 HAX1参与NF- κ B通路的调节 NF- κ B信号通路是参与炎症和细胞存活/凋亡的主要信号级联, 也是癌症发生和发展的关键参与者。HU等^[30]研究发现, HAX1可促进IKK和I κ B的磷酸化, 促进NF- κ B核转位, 使得NF- κ B通路被激活。在HAX1低表达肝癌细胞中, NF- κ B通路会被抑制, 上皮-间充质转化作用减弱, 肝癌细胞转移受到抑制, 该过程可以被NF- κ B通路激活剂部分逆转; 反之, NF- κ B通路会被激活, 加速上皮-间充质转化, 促进肝癌细胞转移。综上可见, HAX1对NF- κ B通路具有重要的调控作用。

2.7.2 HAX1参与PI3K/AKT/mTOR通路的调节 PI3K/AKT/mTOR通路在细胞的生长、存活、凋亡、血管生成等过程中发挥着极其重要的生物学功能。WANG等^[31]和LIANG等^[32]研究表明, HAX1参与PI3K/AKT/mTOR通路的调节。WANG等^[31]研究发现, 在葡萄膜黑素瘤细胞中敲低HAX1后, PI3K、AKT及eNOS(由mTOR调控的蛋白质)磷酸化水平降低, 细胞的活力和转移能力降低; 通过使用PI3K激动剂进行挽救实验可以恢复PI3K、AKT及eNOS磷酸化水平, 且其细胞的活力和转移能力增强。此外, LIANG等^[32]研究发现, 在敲低HAX1的非小细胞肺癌中, AKT、mTOR的磷酸化水平受到抑制, 细胞凋亡增加; 而加入AKT激动剂后, HAX1表达水平未改变, 但AKT、mTOR的磷酸化水平显著升高, 细胞凋亡减少。由此可见, HAX1可能通过促进AKT、mTOR的磷酸化参与PI3K/AKT/mTOR通路的调节。

2.7.3 HAX1参与其他通路的调节 HAX1也可以通过结合热休克蛋白90参与IRE-1通路调节, 从而影响内质网应激反应^[33]。此外, 本团队也发现HAX1与MAPK信号通路关系密切(尚未发表), 但调控机制需进一步探索。综上所述, HAX1可能通过多条信号通路调控生物学功能, 但是具体作用机制有待深入研究。

2.8 HAX1参与的其他生物学功能

HAX1除上述功能外, 还参与许多其他生命活动, 包括细胞骨架形成^[34]、mRNA生成^[34-35]、核糖体组装^[36]、细胞内吞^[6]等的调节。此外, HAX1可能参与蛋白质翻译调控过程^[37], 这与HAX1调节mRNA生成及核糖体组装等过程有关, 但需要进一步研究。由于HAX1参与调节诸多生物学功能, 在生命活动中扮演着不可缺少的角色, 因此HAX1表达异常或结构改变与疾病的发生发展密切相关。

3 HAX1与临床疾病

3.1 HAX1与肿瘤

通过对TCGA数据库分析发现, HAX1在25种实体肿瘤中均呈现高表达状态, 虽然在不同肿瘤中的表达存在差异, 但高表达的HAX1往往提示肿瘤转移及预后不良, 且与患者死亡率息息相关^[28]。HAX1可以使肿瘤细胞发生异常增殖并且抑制肿瘤细胞的凋亡。一方面, HAX1参与多条细胞增殖相关信号通路的调节, 促进细胞增殖。陆正等^[20]研究证实了HAX1通过激活NF- κ B信号通路促进胶质瘤细胞增殖; LIANG等^[32]研究发现HAX1可以通过PI3K/AKT/mTOR信号通路提高非小细胞肺癌细胞的存活率。另一方面, HAX1可以减少肿瘤细胞的凋亡, 前文已详细阐述了HAX1抗细胞凋亡的多种途径。当HAX1表达水平升高时, 肿瘤细胞的凋亡会受到抑制; 而HAX1基因被敲除后, 肿瘤细胞的凋亡水平会增加^[38]。

HAX1与肿瘤的转移也密切相关。HAX1的COOH-末端的整合素 β 6结合结构域可以与整合素 α v β 6的 β 6亚基结合, 通过内吞作用调节肿瘤细胞的侵袭和迁移。RAMSAY等^[6]研究发现, HAX1高表达的 α v β 6依赖型癌细胞的侵袭和迁移能力明显增强, 而HAX1低表达的 α v β 6依赖型癌细胞的侵袭和迁移能力显著降低。此外, 在肿瘤的转移过程中, 肿瘤细胞通过新生的血管进入血液循环系统, 从而转移至身体的其他部位。YOU等^[28]研究发现, HAX1可促进血管生成, 进而促进肿瘤转移。HAX1在肿瘤的发生与发展过程中发挥重要作用, 但是具体调控机制尚未被完全阐明。对HAX1生物学功能和机制的深入研究, 有望为肿瘤的治疗提供新的靶点。

3.2 HAX1与Kostmann综合征

重症先天性粒细胞缺乏症(severe congenital

neutropenia, SCN)由瑞典儿科医师KOSTMANN于1956年首次报道,又名Kostmann综合征^[39]。患该病的婴儿出生后很快就出现严重的中性粒细胞缺乏症状,极易感染多种细菌和真菌,如不进行及时干预,可能导致患者严重的感染和死亡^[26]。*HAX1*基因突变是Kostman综合征的主要原因之一,患者常见于近亲结婚家庭,以常染色体隐性遗传为主要表现。

*HAX1*基因突变是导致Kostmann综合征发病的重要机制,主要通过以下两方面发挥作用。一是HAX1可以促进干细胞向粒系分化^[40]。在生理情况下,粒细胞集落刺激因子(granulocyte colony-stimulating factor, G-CSF)使粒细胞合成的HCLS1磷酸化,同时刺激淋巴细胞增强因子1(lymphoid enhancer-binding factor 1, LEF-1)活化表达生成大量LEF-1, LEF-1与磷酸化的HCLS1结合再通过特定途径转运至细胞核,促进干细胞向粒系分化、增殖、发育成熟。而*HAX1*基因突变抑制了粒细胞生成的HCLS1的磷酸化,并抑制了LEF-1的表达,使干细胞向粒系分化障碍。二是HAX1可以减少粒细胞线粒体凋亡,维持粒细胞的正常功能^[41-42]。HAX1主要分布于线粒体,参与多种线粒体凋亡调节,*HAX1*基因突变可能导致HAX1结构发生改变,使线粒体凋亡水平增加,粒细胞数量减少。此外,FAN等^[26]研究发现,HAX1通过影响HSP27磷酸化参与线粒体蛋白质稳态调节,从而调控粒细胞的分化。Kostmann综合征的治疗方法一般采用G-CSF等药物促进中性粒细胞生成,但对于某些基因突变导致的Kostmann综合征患者无效^[43-44]。因此,深入研究HAX1在Kostmann综合征中的作用对制定个体化治疗方案具有重要意义。

3.3 HAX1与神经系统疾病

HAX1与神经系统疾病的发生发展具有重要关系。HAX1可以参与神经元的分化、成熟以及轴突引导和突触形成等重要生理过程^[45]。维持神经元的发育和正常生理功能等都需要线粒体提供能量,线粒体功能障碍或供能不足,将导致细胞凋亡并对神经元造成严重影响。HAX1可以通过多种途径减少线粒体凋亡,维持神经元的发育和正常生理功能。特别是*HAX1*基因突变的Kostmann综合征患者,往往伴随着神经发育障碍^[46]。在神经损伤性疾病中,HAX1具有保护神经元的作用。脊髓损伤导致自主神经系统、运动和感觉功能障碍,其病理机制主要

包括炎症、氧化应激、缺血性功能障碍、坏死、神经元凋亡等。研究发现,HAX1在脊髓损伤后3天表达水平达到高峰,过表达HAX1可以减少神经元凋亡^[47]。此外,内质网应激在阿尔茨海默病、帕金森病等神经退行性疾病早期发展过程中扮演重要角色^[48],而HAX1可以通过调节Ca²⁺水平及IRE-1活性减少内质网应激反应^[49]。因此,HAX1有望成为神经系统疾病的早期诊断及治疗靶点。

3.4 HAX1与心血管疾病

HAX1参与调节Ca²⁺稳态及抗细胞凋亡,在心血管系统疾病中具有重要作用。心肌缺血后再灌注损伤是心肌梗死、心肌炎等心血管系统疾病的主要病理生理特征之一^[50]。研究表明,心肌梗死后可能造成大量心肌细胞死亡以及出现缺血性再灌注损伤,而HAX1可以减少梗死面积、促进缺血再灌注损伤后的心肌收缩力的恢复。HAX1具有维持Ca²⁺稳态及调控IRE-1活性的功能。上文中已阐明HAX1对Ca²⁺稳定调节的机制,HAX1过表达可以增强SERCA对Ca²⁺亲和力,降低细胞内Ca²⁺浓度,抑制心肌细胞收缩,促使心肌收缩力的恢复;HAX1还可以通过调节IRE-1活性,减弱内质网应激反应,下调caspase-12和转录因子C/EBP同源蛋白表达,减弱Ca²⁺泵活性,从而使细胞内Ca²⁺浓度降低,最后达到减弱心肌收缩力及抑制钙超载的作用,减轻心肌缺血/再灌注损伤的程度,保护心肌细胞不受损伤。此外,HAX1还可以改善线粒体功能障碍,从而调节线粒体膜电位、ROS的产生以及钙超载等,减少心肌细胞凋亡,保护缺血再灌注损伤的心肌细胞^[12,51]。

3.5 HAX1与其他疾病

HAX1与银屑病及系统性红斑狼疮等疾病的发生有密切相关。银屑病是一种因免疫系统失衡导致皮肤细胞生长速度快于正常速度的疾病。银屑病患者的HAX1往往呈现高表达状态,*CCHCR1*作为一种的银屑病候选基因,可与HAX1共同存在于囊泡中并直接发生相互作用,与特定mRNA结合后,促进血管的运输、细胞骨架合成、RNA代谢和局部翻译相关蛋白等,增加银屑病发病率^[52]。系统性红斑狼疮是一种多系统受累的自身免疫性疾病,主要通过先天免疫和获得性免疫的激活,使T细胞及B细胞激活,并导致免疫复合物在组织中沉积,进而引发自身免疫级联反应。研究发现,在活动期系统性红斑狼疮患者的外周血单一核细胞中的HAX1呈现高表达状

态^[53]。HAX1参与抗淋巴细胞凋亡,导致包括 γ 干扰素在内的部分细胞因子或炎症因子表达异常,促使系统性红斑狼疮的发生。

4 小结与展望

HAX1作为一种固有无序蛋白质,可动态与多种蛋白质或配体相互作用,从而参与调控机体的多种生物学功能,在抗细胞凋亡、调节细胞迁移、维持细胞内 Ca^{2+} 的稳态、调节氧化应激与细胞自噬、维持线粒体蛋白稳态及促进血管生成等过程中发挥重要作用,并且参与多条信号通路调节。HAX1的异常表达或突变与多种疾病的发生发展密切相关,它与肿瘤、Kostmann病、神经系统疾病、心血管疾病等具有重要关系。因此,HAX1有望成为相关疾病的潜在诊断及治疗靶点。虽然目前对HAX1已有多方面研究,但仍然存在很多问题需要进一步探索。比如,HAX1拥有超过24种不同的剪接变体,但绝大多数剪接变体的翻译产物无法被检测到,造成该现象的机制尚不明确;HAX1的 NH_2 -端酸性盒结构域功能尚不清楚,COOH-末端的跨膜结构域也存在争议;HAX1介导的信号转导通路仍然存在一些不确定性;HAX1参与蛋白质翻译调控机制尚未明确;HAX1在疾病中的具体作用和机制尚未完全清楚。以上问题仍然需要深入研究,进一步探索HAX1生物学特性及其与临床疾病关系具有重要意义。

参考文献 (References)

- [1] SUZUKI Y, DEMOLIERE C, KITAMURA D, et al. HAX-1, a novel intracellular protein, localized on mitochondria, directly associates with HS1, a substrate of src family tyrosine kinases [J]. *J Immunol*, 1997, 158(6): 2736-44.
- [2] FADEEL B, GRZYBOWSKA E. HAX1: a multifunctional protein with emerging roles in human disease [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2009, 1790(10): 1139-48.
- [3] LEES D M, HART I R, MARSHALL J F. Existence of multiple isoforms of HS1-associated protein x-1 in murine and human tissues [J]. *J Mol Biol*, 2008, 379(4): 645-55.
- [4] KOONTZ J, KONTOGIANNI-KONSTANTOPOULOS A. Competition through dimerization between antiapoptotic and proapoptotic HS-1-associated protein x-1 (hax-1) [J]. *J Biol Chem*, 2014, 289(6): 3468-77.
- [5] JEYARAJU D V, CISBANI G, DE BRITO O M, et al. HAX1 lacks BH modules and is peripherally associated to heavy membranes: implications for Omi/HtrA2 and PARL activity in the regulation of mitochondrial stress and apoptosis [J]. *Cell Death Differ* 2009, 16(12): 1622-9.
- [6] RAMSAY A G, KEPPLER M D, JAZAYERI M, et al. HS1-associated protein x-1 regulates carcinoma cell migration and invasion via clathrin-mediated endocytosis of integrin $\alpha\text{v}\beta 6$ [J]. *Cancer Res*, 2007, 67(11): 5275-84.
- [7] SANCHIS D, MAYORGA M, BALLESTER M, et al. Lack of Apaf-1 expression confers resistance to cytochrome c-driven apoptosis in cardiomyocytes [J]. *Cell Death Differ*, 2003, 10(9): 977-86.
- [8] LEE A Y, LEE Y, PARK Y K, et al. HS 1-associated protein x-1 is cleaved by caspase-3 during apoptosis [J]. *Mol Cells*, 2008, 25(1): 86-90.
- [9] CHAO J, PARGANAS E, BOYD K, et al. HAX1-mediated processing of HtrA2 by Parl allows survival of lymphocytes and neurons [J]. *Nature*, 2008, 452(7183): 98-102.
- [10] WEISS J, HEIB M, KORN T, et al. Protease-independent control of parthanatos by HtrA2/Omi [J]. *Cell Mol Life Sci*, 2023, 80(9): 258.
- [11] BIDWELL P A, LIU G S, NAGARAJAN N, et al. HAX-1 regulates SERCA2a oxidation and degradation [J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2018, 114: 220-33.
- [12] VAFIADAKI E, HAGHIGHI K, ARVANITIS D A, et al. Aberrant PLN-R14del protein interactions intensify SERCA2a inhibition, driving impaired Ca^{2+} handling and arrhythmogenesis [J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(13): 6947.
- [13] TANAKA Y, MUKAI R, OHSIMA T. HTLV-1 viral oncoprotein HBZ contributes to the enhancement of HAX-1 stability by impairing the ubiquitination pathway [J]. *J. Cell Physiol*, 2021, 236(4): 2756-66.
- [14] LIN J, WANG Y, LIN Z. HAX1 maintains the glioma progression in hypoxia through promoting mitochondrial fission [J]. *J Cell Mol Med*, 2021, 25(24): 11170-84.
- [15] GUO X, DENG X, WEI Y. Hematopoietic substrate-1-associated protein x-1 regulates the proliferation and apoptosis of endothelial progenitor cells through AKT pathway modulation [J]. *Stem Cells*, 2018, 36(3): 406-19.
- [16] MOSADDEGHZADEH N, AHMADIAN M R. The RHO family GTPases: mechanisms of regulation and signaling [J]. *Cells*, 2021, 10(7): 1831.
- [17] CAVNAR P J, BERTHIER E, BEEBE D J, et al. HAX1 regulates neutrophil adhesion and motility through RhoA [J]. *J Cell Biol*, 2011, 193(3): 465-73.
- [18] GOMATHINAYAGAM R, JAYARAMAN M, HA J H, et al. HAX-1 is required for rac1-cortactin interaction and ovarian carcinoma cell migration [J]. *Genes Cancer*, 2014, 5(3/4): 84-99.
- [19] AMAN J, MARGADANT C. Integrin-dependent cell-matrix adhesion in endothelial health and disease [J]. *Circ Res*, 2023, 132(3): 355-78.
- [20] 陆正, 刘小江, 管诚, 等. Hax-1对胶质瘤细胞增殖、迁移和侵袭的作用[J]. *中国临床神经外科杂志*(LU Z, LIU X J, GUAN C, et al. Effect of HAX-1 on proliferation, migration and invasion of glioma cells [J]. *Chin J Clin Neurosurg*), 2021, 26(2): 101-5.
- [21] LIU H, YUE J, HUANG H, et al. Regulation of focal adhesion dynamics and cell motility by the EB2 and HAX1 protein complex* [J]. *J Biol Chem*, 2015, 290(52): 30771-82.
- [22] DONG Q, LI D, ZHAO H, et al. Anti-apoptotic HAX-1 suppresses cell apoptosis by promoting c-Abl kinase-involved ROS clearance [J]. *Cell Death Dis*, 2022, 13(4): 298.
- [23] PISANI C, ONORI A, GABANELLA F, et al. HAX1 is a novel

- binding partner of Che-1/AATF. Implications in oxidative stress cell response [J]. *Biochim Biophys Acta Mol Cell Res*, 2023, 1871(1): 119587.
- [24] LI B, HU Q, WANG H, et al. Omi/HtrA2 is a positive regulator of autophagy that facilitates the degradation of mutant proteins involved in neurodegenerative diseases [J]. *Cell Death Differ*, 2010, 17(11): 1773-84.
- [25] LI Y L, CAI W F, WANG L, et al. Identification of the functional autophagy-regulatory domain in HCLS1-associated protein x-1 that resists against oxidative stress [J]. *DNA Cell Biol*, 2018, 37(5): 432-41.
- [26] FAN Y, MURGIA M, LINDER M I, et al. HAX1-dependent control of mitochondrial proteostasis governs neutrophil granulocyte differentiation [J]. *J Clin Invest*, 2022, 132(9): e153153.
- [27] WAKULA M, BALCERAK A, RUBEL T, et al. The interactome of multifunctional HAX1 protein suggests its role in the regulation of energy metabolism, de-aggregation, cytoskeleton organization and RNA-processing [J]. *Biosci Rep*, 2020, 40(11): BSR20203094.
- [28] YOU B, PAN S, GU M, et al. Extracellular vesicles rich in HAX1 promote angiogenesis by modulating ITGB6 translation [J]. *J Extracell Vesicles*, 2022, 11(5): e12221.
- [29] WU Z, AI X, HU H, et al. Hematopoietic-substrate-1 associated protein x-1 (HAX-1) regulates liver cancer cells growth, metastasis, and angiogenesis through AKT [J]. *Cancer Biol Ther*, 2019, 20(9): 1223-33.
- [30] HU Y, FENG Y, MA P, et al. HAX-1 promotes the migration and invasion of hepatocellular carcinoma cells through the induction of epithelial-mesenchymal transition via the NF- κ B pathway [J]. *Exp Cell Res*, 2019, 381(1): 66-76.
- [31] WANG S, TAN J, CHEN L, et al. HAX-1 regulates radiation-induced mitochondrial-dependent apoptosis of uveal melanoma cells through PI3K/AKT/eNOS pathway [J]. *J Oncol*, 2022, 2022: 2956888.
- [32] LIANG Z, ZHONG Y, MENG L, et al. HAX1 enhances the survival and metastasis of non-small cell lung cancer through the AKT/mTOR and MDM2/p53 signaling pathway [J]. *Thorac Cancer*, 2020, 11(11): 3155-67.
- [33] LAM C K, ZHAO W, CAI W, et al. Novel role of HAX-1 in ischemic injury protection involvement of heat shock protein 90 [J]. *Circ Res*, 2013, 112(1): 79-89.
- [34] WAKULA M, BALCERAK A, RUBEL T, et al. The interactome of multifunctional HAX1 protein suggests its role in the regulation of energy metabolism, de-aggregation, cytoskeleton organization and RNA-processing [J]. *Bioscience Rep*, 2020, 40(11): BSR20203094.
- [35] AL-MAGHREBI M, BRULÉ H, PADKINA M, et al. The 3' untranslated region of human vimentin mRNA interacts with protein complexes containing eEF-1 γ and HAX-1 [J]. *Nucleic Acids Res*, 2002, 30(23): 5017-28.
- [36] BALCERAK A, MACECH-KLICKA E, WAKULA M, et al. The RNA-binding landscape of HAX1 protein indicates its involvement in translation and ribosome assembly [J]. *Cells*, 2022, 11(19): 2943.
- [37] TRĘBIŃSKA-STRYJEWSKA A, WAKULA M, CHMIELARCZYK M, et al. HAX1: a versatile, intrinsically disordered regulatory protein [J]. *Biochim Biophys Acta Mol Cell Res*, 2023, 1870(7): 119538.
- [38] LI R, ZHENG J Z, HUANG X. Suppression of HAX-1 induced by mir-325 resensitizes bladder cancer cells to cisplatin-induced apoptosis [J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2020, 24(18): 9303-14.
- [39] KLEIN C. Kostmann's disease and HCLS1-associated protein x-1 (HAX1) [J]. *J Clin Immunol*, 2017, 37(2): 117-22.
- [40] SKOKOWA J, KLIMIANKOU M, KLIMENKOVA O, et al. Interactions among HCLS1, HAX1 and LEF-1 proteins are essential for G-CSF-triggered granulopoiesis [J]. *Nat Med*, 2012, 18(10): 1550-9.
- [41] KLEIN C, GRUDZIEN M, APPASWAMY G, et al. HAX1 deficiency causes autosomal recessive severe congenital neutropenia (Kostmann disease) [J]. *Nat Genet*, 2007, 39(1): 86-92.
- [42] PITTERMANN E, LACHMANN N, MACLEAN G, et al. Gene correction of HAX1 reversed kostmann disease phenotype in patient-specific induced pluripotent stem cells [J]. *Blood Adv*, 2017, 1(14): 903-14.
- [43] LINDER M I, MIZOGUCHI Y, HESSE S, et al. Human genetic defects in SRP19 and SRPRA cause severe congenital neutropenia with distinctive proteome changes [J]. *Blood*, 2023, 141(6): 645-58.
- [44] YILMAZ K D, PATIROGLU T, METIN A, et al. Homozygous c.130-131 ins a (pW44X) mutation in the HAX1 gene as the most common cause of congenital neutropenia in turkey: report from the turkish severe congenital neutropenia registry [J]. *Pediatr Blood Cancer*, 2019, 66(10): e27923.
- [45] CHEN S, LU C, TSAI M. TCTP is essential for cell proliferation and survival during CNS development [J]. *Cells*, 2020, 9(1): 133.
- [46] WORTMANN S B, ZIĘTKIEWICZ S, KOUSI M, et al. CLPB mutations cause 3-methylglutaconic aciduria, progressive brain atrophy, intellectual disability, congenital neutropenia, cataracts, movement disorder [J]. *Am J Hum Genet*, 2015, 96(2): 245-57.
- [47] LU X, XUE P, FU L, et al. HAX1 is associated with neuronal apoptosis and astrocyte proliferation after spinal cord injury [J]. *Tissue Cell*, 2018, 54: 1-9.
- [48] THANGWONG P, JEARJAROEN P, GOVITRAPONG P, et al. Melatonin improves cognitive function by suppressing endoplasmic reticulum stress and promoting synaptic plasticity during chronic cerebral hypoperfusion in rats [J]. *Biochem Pharmacol*, 2022, 198: 114980.
- [49] YUE P, LÜ X, YOU J, et al. Hypothermic oxygenated perfusion attenuates DCD liver ischemia-reperfusion injury by activating the JAK2/STAT3/HAX1 pathway to regulate endoplasmic reticulum stress [J]. *Cell Mol Biol Lett*, 2023, 28(1): 55.
- [50] FRANGOGIANNIS N G. Pathophysiology of myocardial infarction [J]. *Compr Physiol*, 2015, 5(4): 1841-75.
- [51] YANG Y, TANG Q, LI Y, et al. Long chain noncoding RNA-ROR promotes hypoxic injury of cardiomyocytes by targeting the mir-145/HAX-1 axis [J]. *J Thorac Dis*, 2022, 14(5): 1504-14.
- [52] PISANI C, ONORI A, GABANELLA F, et al. Identification of protein/mRNA network involving the psors1 locus gene CCHCR1 and the PSORS4 locus gene HAX1 [J]. *Exp Cell Res*, 2021, 399(2): 112471.
- [53] AMEER M A, CHAUDHRY H, MUSHTAQ J, et al. An overview of systemic lupus erythematosus (SLE) pathogenesis, classification, and management [J]. *Cureus*, 2022, 14(10): e30330.