维普资讯 http://www.cqvip.com

能重建部分环路和功能，并可以作为基因载体，用于颅内肿瘤和其它神经疾病的基因治疗。

5.1 细胞移植治疗

细胞移植治疗就是在体外培养和扩增NSCs或诱导其分化为定向祖细胞，再移植到脑内以替代因疾病而缺失的神经细胞，这种治疗方法目前已在临床应用治疗帕金森氏病、亨廷顿氏病、脱髓鞘疾病和脑卒中等神经系统疾病。以帕金森氏病为例，研究者将NSCs移植到帕金森氏病患者脑中[16]，通过其在脑组织中迁移并修复损伤的脑组织，可能是NSCs分化为了多巴胺能细胞使运动症状明显改善。NSCs还可以移植于侧脑室蛛网膜下腔及神经元缺损处，替代衰老死亡的神经细胞重建脑功能，达到修复作用[7]。

5.2 基因或药物治疗载体

NSCs作为基因或药物治疗载体具有其它载体所没有的优点：①有迁移能力，能远距离迁移到病变部位；②能整合于宿主组织，外源基因表达稳定，维持时间长；③有修复功能，能分化成为成熟细胞修复病损组织；④自身干细胞移植，避免产生排斥反应，但由于经"永生化"的处理，其携带的不利基因有可能引发其它疾病，故在临床上的应用受到限制。

5.3 组织培养

在适当的条件下，NSCs有可能在体外培养体系中形成神经组织。如这一目标得以实现，开拓了NSCs的应用领域，同时也为其发展提出了更高的要求。

[参考文献]

[1] Reynolds BA, Weiss S. Generation of neurons and astrocytes from isolated cells of the adult mammalian central nervous system [J]. Science, 1992, 255(5052): 1707 - 1710.

[2] Davis AA, Temple S. A self-renewing multipotential stem cell in embryonic rat cerebral cortex [J]. Nature, 1994, 372(6503): 263 - 266.

[3] Alvarez-Buylla A, Garcia-Verdugo JM. Neurogenesis in adult subventricular zone [J]. J Neurosci, 2002, 22(3): 629 - 634.

[4] Gritti A, Parati EA, Cova L, et al. Multipotential stem cells from the adult mouse brain proliferate and self-renew in response to basic fibroblast growth factor [J]. J Neurosci, 1996, 16(3): 1091 - 1100.

[5] Reynolds BA, Weiss S. Clonal and population analyses demonstrate that an EGF-responsive mammalian embryonic CNS precursor is a stem cell[J]. Dev Biol, 1996, 175(1): 1 - 13.

[6] Bjornson CR, Rietze RL, Reynolds BA, et al. Turning brain into blood: a hematopoietic fate adopted by adult neural stem cells in vivo [J]. Science, 1999, 283(5401): 534 - 537.

[7] Gage FH. Mammalian neural stem cells[J]. Science, 2000, 287 (5457): 1433 - 1438.

[8] Iwai M, Sato K, Omori N, et al. Three steps of neural stem cells development in gerbil dentate gyrus after transient ischemia [J]. J Cereb Blood Flow Metab, 2002, 22(4): 411 - 419.

[9] Carpenter MK, Cui X, Hu ZY, et al. In vitro expansion of a multipotent population of human neural progenitor cells[J]. Exp Neurol, 1999, 158(2): 265 - 278.

[10] Giebel B. The notch signaling pathway is required to specify muscle progenitor cells in Drosophila[J]. Mech Dev, 1999, 86 (1-2): 137 - 145.

[11] Wagner J, Akerud P, Castro DS, et al. Induction of a midbrain dopaminergic phenotype in Nurr1-overexpressing neural stem cells by type 1 astrocytes [J]. Nat Biotechnol, 1999, 17(7): 653 - 659.

[12] Morrison SJ, Shah NM, Anderson DJ. Regulatory mechanisms in stem cell biology[J]. Cell, 1997, 88(3): 287 - 298.

[13] 汪德清，沈文梅，田亚平，等. 黄芪的三种提取成分对氧自由基作用的影响[J]. 中国药理学通报, 1994, 10(2): 129 - 132.

[14] 何小华，李承晏，余绍祖. 黄芪的抗神经细胞缺氧损伤作用[J]. 中华神经科杂志, 1998, 31(4): 204 - 206.

[15] 李 平，张 梅. 黄芪对脑缺血后细胞凋亡相关基因表达的影响[J]. 安徽中医学院学报, 2001, 20(4): 48 - 49.

[16] Kordower JH, Rosenstein JM, Collier TJ, et al. Functional fetal nigral grafts in a patient with Parkinson's disease: chemoanatomic, ultrastructural, and metabolic studies[J]. J Comp Neurol, 1996, 370(2): 203 - 230.

(编辑：张集建)

Survivin-肿瘤基因治疗的新靶点

Survivin-the new target of gene therapy for tumor

温贤浩，徐酉华

(重庆医科大学儿童医院血液肿瘤科，重庆 400014)

[关键词] 肿瘤；Survivin基因；基因治疗

[中图分类号] R730.5 [文献标识码] B [文章编号] 1672 - 5042(2004)04 - 0277 - 03

[收稿日期] 2003 - 03 - 10 [修回日期] 2004 - 04 - 04

基因治疗的本质就是目的基因、载体与转染的问题，基因治疗的关键就是目的基因的选择。随着人类基因组计划的完

维普资讯 http://www.cqvip.com

成,已有不少的基因被发现及克隆,为肿瘤的基因治疗开拓了广阔的运用前景。但基因治疗仍存在许多有待解决的问题,如目的基因的选择、目的基因的组织及细胞特异性、高效率载体的选择等。本文所涉及的 survivin 是肿瘤基因治疗的新靶点,现就 survivin 的功能及与肿瘤的关系及其在肿瘤基因治疗中的作用作一综述。

1 survivin 的分子结构及表达特性

suvivin 基因是新近克隆的 IAP(inhibitor of apoptosis protein)家族的成员,定位于 17q25,全长 15kb,含 4 个外显子和 3 个内含子。编码的蛋白质由 124 个氨基酸组成,分子量为 16.5KD。survivin 与 IAP 家族的其他成员一样,也有杆状病毒重复结构(baculovirus IAP Repeat, BIR),BIR 是 survivin 发挥抗凋亡作用必需的结构。但不同的是 survivin 只含有一个 BIR 结构和一个羧基末端 α 螺旋结构,且羧基末端没有锌指结构[1]。survivin 的表达具有细胞周期的特异性,选择性表达在细胞周期的 G2/M 期,在 G2/M 期表达基因内发现细胞周期依赖元件(CDE)和细胞周期同源结构域(CHR)存在于 survivin 基因的启动子内,该基因的 CDE/CHR 盒调节 G2/M 期的细胞周期依赖基因表达,survivin 的抗凋亡作用依赖于细胞周期的 G2/M 期的校正点。survivin 可与有丝分裂仿锤轴的微管结合,并被微管的运动所调节。survivin 过度表达时,不能与微管分离,survivin 则表现出持续抗凋亡的作用[2]。survivin 在组织中的表达也具有它的独特之处。在胚胎组织及恶性肿瘤中普遍表达,如胃癌、结直肠癌、乳腺癌、肺癌等;但在分化成熟的组织(除胎盘、增殖期子宫内膜、分泌期子宫内膜有微量表达外)及癌旁正常组织中无表达[3]。

2 survivin 的功能

2.1 抗细胞凋亡的作用

细胞凋亡与增殖之间的动态平衡,对维持多细胞生物体的发育和稳态是至关重要的。细胞的凋亡主要有两个途径:线粒体途径及死亡受体途径。Bcl-2 就是通过阻止线粒体细胞色素 C 释放入胞浆而发挥抗凋亡的作用,其抗凋亡作用是出现在凋亡途径的上游。而 survivin 抗凋亡的作用是通过抑制凋亡途径的下游部分发挥作用,即直接或间接抑制凋亡终末效应器 caspase-3 和 caspase-7 的活性;还可以通过诱导肿瘤坏死因子受体介导的 NF-κB 的活化发挥抗凋亡的作用[4]。研究表明 survivin 可抑制白细胞介素-3(IL-3)、Fas、Bax、肿瘤坏死因子 α(TNF-α)、caspase、抗肿瘤药物诱导的凋亡。在对胃癌、非小细胞肺癌、食道癌、结直肠癌、乳腺癌等的研究中发现,suvivin 高表达的肿瘤细胞凋亡受阻,survivin 阳性组的凋亡指数明显高于阴性组,且预后较差,复发率高。在直肠癌中,survivn 高表达组的 bcl-2 阳性率明显高于 survivin 低表达组[5]。与凋亡有关的基因较多,有促进凋亡的也有抑制凋亡的,肿瘤的发生往往和这两者的比例失调有关。Takamizawa 等在对儿童肾脏肿瘤的研究中发现,survivin 与 fas 的 mRNA 比率越高肿瘤的复发率越高,且认为比率大于 1.6 者容易复发。通过基因转染的研究,发现 survivin 的抗凋亡作用还与 p53 有关。野生型 p53 可明显抑制 survivin 在多种细胞中的表达。survivin 的过度表达可以使细胞逃脱 p53 依赖的凋亡,而敲除 survivin 基因则可诱导,至少部分诱导 p53 依赖的凋亡[6]。

2.2 促进细胞增殖的作用

细胞的增殖异常同凋亡异常一样在肿瘤的发生学上占有重要的地位,恶性肿瘤细胞和胚胎组织一样呈现旺盛的增殖能力。survivin 有促进细胞增殖的作用。Sui 等[7]为了解 survivin 的表达对肿瘤细胞增殖及临床疗效的影响,对 103 例卵巢肿瘤进行了分析。发现在恶性及交界性肿瘤中 survivin 的阳性率明显高于良性肿瘤(三者检出率分别为 21.2%、47.8%、51.1%);survivin 的表达与肿瘤细胞的增殖活性呈正相关;在卵巢肿瘤的发展过程及预后的判断中,survivin 的过度表达起到了关键的作用。Sarela 等在对胰腺癌的研究发现,88%(46/52)的病例 survivin 阳性,survivin 与细胞的增殖和凋亡密切相关,在 survivin 阳性的病例,细胞的增殖指数明显高于阴性组。

2.3 对细胞分化的作用

细胞分化贯穿于高等生物个体的整个发育过程之中,肿瘤细胞往往存在分化过程的异常。细胞分化受多因素多水平的调节,但主要发生在转录水平的调控,与许多转录因子有关。survivin 是否对细胞的分化有作用,各学者的观点有所不同。Mori 等在对 survivin 在白血病中表达的研究中发现,在 31 例急性髓系白血病及 16 例急性淋巴细胞白血病中,分别有 17 例及 11 例阳性表达 survivin,其中 M3 型急性髓系白血病 survivin 表达水平最低;在慢性髓系白血病的慢性期没有检测到 survivin 的表达,而在 7 例急变期的病例中检测到 survivin 的表达;二甲亚砜、全反式维甲酸、肿瘤坏死因子可下调 HL-60 细胞的 survivin 表达水平。故认为 survivin 与造血细胞的分化及白血病的发生有关[8]。研究表明,成神经细胞瘤 survivin 的表达与组织学分类有关,组织学形态较差组的 survivin 阳性表达率较高,而组织学形态较佳组 survivin 阴性率较高。但在结直肠癌、乳腺癌、非小细胞肺癌中,survivn 的表达与肿瘤的组织学类型、肿瘤大小、淋巴结转移无关[9]。

2.4 与多药耐药的关系

多药耐药是肿瘤化疗失败的重要原因之一,机制复杂,与多种基因及蛋白有关。研究发现,survivin 也与肿瘤的多药耐药有关,survivin 高表达与肿瘤的多药耐药呈正相关。对阿霉素耐药的 k562 细胞 survivin 的 mRNA 水平是亲代 k562 细胞的 1.7 倍[10]。Notarbartolo 等对 HL-60 细胞耐药机制的研究中发现,HL-60/R(耐阿霉素细胞株)中 survivin 的 mRNA 水平明显增高,柔红霉素可以下调 HL-60 细胞的 survivin 水平,但对 HL-60R 的 survivin 的表达无影响;而在 HL-60 及 HL-60R 中,p53 和 bcl-2 的表达水平无显著性差异,p-糖蛋白的逆转剂维拉帕米也只能部分逆转多药耐药细胞对柔红霉素诱导的凋亡的耐受性。故认为 survivin 高表达也是引起肿瘤多药耐药的原因之一。

3 survivin 在肿瘤基因治疗中的应用

survivin 因其选择性表达于肿瘤组织,而在正常分化成熟的

维普资讯 http://www.cqvip.com

组织中无表达，被认为是肿瘤治疗的理想靶点，已有不少学者致力于研究针对 survivin 的反义 cDNA、寡核苷酸及 survivin 基因突变的潜在作用。反义技术是运用碱基互补配对的原则，设计出能与靶基因特定区域结合的 RNA 或 DNA，以影响靶基因的表达，抑制其功能。Shen 等研究发现，转染 survivin 的天然反义链：效应细胞蛋白酶受体（EPR-1），能使结肠癌细胞中 survivin 的表达降低，从而抑制细胞增殖、促进细胞凋亡、提高细胞对化疗药物的敏感性；还发现皮下肿瘤在转染 EPR－1 后体积明显缩小，如果与抗肿瘤药物联用更能增加其效果。反义 survivin 转染 HeLa 细胞可降低细胞 survivin 的表达水平，同时可诱导 Hela 细胞的凋亡、抑制其增殖[11]。Olie 等针对 survivin 的 mRNA 设计了六条反义寡核苷酸，转染肺癌细胞 A549，发现针对 mRNA 第 232－251 位核苷酸的反义寡核苷酸下调 A549 细胞 survivin 表达水平的效果最好。用 MTT 法检测证实转染后 A549 细胞的增殖活性降低；反义 survivin 同时促进 A549 细胞的凋亡，转染了反义 survivin 的 A549 细胞对依托泊甙的敏感性提高。Choi 等针对 survivin 的 mRNA 设计了两种锤头型核酶（RZ-1，RZ-2），将核酶基序克隆到无复制能力的腺病毒载体内并转染乳腺癌细胞 MCF-7。转染腺病毒编码的核酶后 survivin 的 mRNA 及蛋白表达水平均显著降低，同时核酶对 survivin 基因的抑制能促进细胞的凋亡及增强细胞对依托泊甙的敏感性。survivin 突变序列转染 Hela 细胞后能逆转 Hela 细胞的恶性程度，促进 Hela 细胞的凋亡；转染后 cyclinD1 表达降低可能是此逆转作用中的关键所在[12]。

现在新的基因治疗技术 RNA 干扰（RNA interference，RNAi）技术已不断运用于肿瘤的研究。RNAi 是一种双链 RNA 分子在 mRNA 水平关闭相应序列基因的表达或使其沉默的过程。Fire 等[13]发现双链 RNA 在封闭基因的作用上要比单一的反义 RNA 有效得多。Williams 等为了证实结直肠癌生长过程中基因调节的重要性，用 RNA 干扰技术阻断几种在结肠癌细胞株 HCT116 中高表达的基因。结果发现，运用 RNA 干扰可抑制 survivin 基因的表达，进而能抑制细胞株及体内肿瘤移植物的增殖。

在很多肿瘤中 survivin 高表达，这一特征使它成为 T 细胞免疫的靶点。现已经证实，从 survivin 蛋白中分离出的 HLA-A2 结合肽具有诱导肿瘤病人特异性 T 细胞免疫的功能。Zeis 等[14]用转染了 survivin mRNA 的自体树突状细胞刺激外周血单个核细胞产生了 survivin 特异性细胞毒性 T 细胞（CTLs），这些 CTLs 对血液系统肿瘤细胞株及从急性髓细胞白血病病人分离的原代肿瘤细胞都具有细胞毒性；同时发现，给 survivin 阳性淋巴瘤的荷瘤小鼠接种转染了 survivin mRNA 的树突状细胞后，小鼠生存时间明显延长。可见，survivin 可作为抗肿瘤抗原，为肿瘤的免疫基因治疗提供了新的策略。

survivin 作为新的抗凋亡基因，同时具有促进增殖的作用，在肿瘤的发生、发展中起重要作用。因其选择性表达于肿瘤组织，可作为肿瘤基因治疗的特异性靶点，为肿瘤的基因治疗开辟了新的途径。

[参考文献]

[1] Ambrosini G, Adida C, Altieri DC. A novel anti－apoptosis gene, survivin, expressed in cancer and lymphoma[J]. Nat Med, 1997, 3(8): 917－921.

[2] Li F, Ambrosini G, Chu EY, et al. Control of apoptosis and mitotic spindle checkpoint by survivin [J]. Nature, 1998, 396(6771): 580－584.

[3] Kim PJ, Plescia J, Clevers H, et al. Survivin and molecular pathogenesis of colorectal cancer[J]. Lancet, 2003, 362(9379): 205－209.

[4] Deveraux QL, Reed JC. IAP family proteins－suppressors of apoptosis[J]. Genes, 1999, 13(3): 239－252.

[5] Hofmann HS, Simm A, Hammer A, et al. Expression of inhibitors of apoptosis (IAP) protein in non-small cell human lung cancer [J]. J Cancer Res Clin Oncol, 2002, 128(10): 554－560.

[6] Mirza A, McGuirk M, Hockenberry TN, et al. Human survivin is negatively regulated by wide-type p53 and participates p53－dependent apoptotic pathway[J]. Oncogene, 2002, 21(17): 2613－2622.

[7] Sui L, Dong Y, Ohno M, et al. Survivin expression and its correlation with cell proliferation and prognosis in epithelial ovarian tumors[J]. Int J Oncol, 2002, 21(2): 315－320.

[8] Mori A, Wada H, Nishimura Y, et al. Expression of the apoptosis gene survivin in human leukemia[J]. Int J Hematol, 2002, 75(2): 161－165.

[9] Tanaka K, Iwamoto S, Gon G, et al. Expression of survivin and its relationship to loss of apoptosis in breast carcinomas[J]. Clin Cancer Res, 2000, 6(1): 127－134.

[10] Moriai R, Asanuma K, Kobayashi D, et al. Quantitative analysis of the anti-apoptotic gene survivin expression in malignant haematopoietic cells[J]. Anticancer Res, 2001, 21(1B): 595－600.

[11] Shen C, Buck A, Polat B, et al. Downregulation of survivin expression by induction of the effector cell protease receptor-1 reduces tumor growth potential and results in an increased sensitivity to anticancer agents in human colon cancer[J]. Cancer Gene Ther, 2003, 10(5): 403－410.

[12] Zhu HX, Zhou CQ, Zhang G, et al. Survivin mutants reverse the malignancy of Hela cells[J]. Ai Zheng, 2003, 22(5): 467－470.

[13] Fire A, Xu S, Montgomery MK, et al. Potent and specific genetic interference by double-stranded RNA in Caenorhabditis elegans [J]. Nature, 1998, 391(6669): 806－811.

[14] Zeis M, Siegel S, Wagner A, et al. Generation of cytotoxic resposes in mice and human individuals against hematological malignancies using survivin-RNA-transfected dendritic cells[J]. J Immunol, 2003, 170(11): 5391－5397.

（编辑：邱全光）