维普资讯 http://www.cqvip.com

综 述 文章编号:0253-3626(2007)10-1118-03

Survivin 多肽疫苗治疗血液系统恶性肿瘤的研究进展

罗 颖 综 述, 徐酉华 审 校

(重庆医科大学附属儿童医院血液科,重庆 400014)

【中国图书分类法分类号】R733 【文献标识码】A 【收稿日期】2007-03-22

Survivin 基因是近年来发现的凋亡抑制基因, 它是凋亡抑制蛋白因子(Inhibitors of apoptosis proteins,IAPs)家族的成员之一。人类基因转录的全球性研究揭示: 在肿瘤细胞高度转录的基因中,Survivin 位居第 4。且因为其表达具有高度的肿瘤特异性, 被认为是 IAPs 成员中在肿瘤领域最为瞩目的一个研究热点。

1 Survivin 基因的分子结构和功能

Survivin 基因于 1997 年由耶鲁大学 AL-tieri 等用效应细胞蛋白酶受体 1 (Effector Cell Protease Receptor-1, EPR-1)cDNA 在人类基因组库的杂交筛选中首先分离出来, 是 IAP 家族中结构最简单的胞浆蛋白分子, 基因全长 14.7kb,其分子量为 16.5ku,基因定位于 17q25,由 3 个内含子和 4 个外显子组成,编码 142 个氨基酸。与其它 IAP 相比, Survivin 只在胚胎和肿瘤组织中有表达, 在正常成人分化组织中(胸腺、生殖器等除外)基本检测不到。并且在正常细胞中,survivin 的表达具有严格的细胞周期依耐性,只短暂的在细胞有丝分裂期低表达。但在肿瘤细胞中,survivin 在细胞分裂的各个阶段都有过度的表达。因此,Survivin 可能具有更高的致免潜力。

大量研究已表明,Survivin 基因具有抗凋亡,促进细胞增殖,影响细胞分化,引起肿瘤多药耐药,参与血管形成的功能,并可作为判断肿瘤恶性程度和预后的指标。由于 Survivin 基因与肿瘤的关系密切,且其表达具有特异性,而被作为肿瘤免疫治疗的靶点。

2 Survivin 基因在正常组织和血液系统恶性肿瘤中的表达

2.1 正常组织

Survivin 在正常组织的低表达已经在胸腺, 结肠上皮细胞和激活的内皮细胞中发现。在 Fukada 等人的研究中,他们描述 Survivin 在正常造血细胞中(包括 $CD34^+$ 的干细胞)、脐血细胞及正常外周血单个核细胞都是呈低水平表达。同时他们还发现造血生长因子能够引起 Survivin 基因表达的上调, 所以 Survivin 表达的增加并不仅仅代表细胞周期的进展和细胞分裂[1]。正常 $CD3^+$ 的 T 淋巴细胞是不表达 Survivin 的,但是若被白细胞介素 2 或者鼠抗人 T 细胞 CD3 抗原单克隆抗体(OKT-3)激活,则 Survivin 表达为阳性。试验研究还表明 B 和 T 淋巴细胞以及树突状细胞 (DC) 在 TNF-α 的刺激下, Survivin 的表达会上调[2]。

2.2 血液系统恶性肿瘤

2.2.1 白血病 在 Zhu FB 等人的研究中,指出在 48 例急性髓细胞白血病(AML)患者中有 32 例 Survivin mRNA 表达阳性(72.9%),同时表达 survivin 的 AML 患者的 CR 率明显低于不表达者,但它的表达与 CD40 抗原的表达没有明显的联系[3]。还有报道指出在 AML 患者中,小儿和成人的 Survivin 表达无明显区别[4]。Survivin 的表达已被证实对于 AML 的预后是一个独立的,并且不利的因素。

对于慢性髓细胞白血病 (CML),Survivin 的表达已被证实会根据疾病的不同阶段而发生变化。在 Badran 等人的研究中表明,在 CML 的慢性期,白血病细胞中的 Survivin 表达为阴性,而在疾病进展,白血病急性发作的时候,Survivin 的转录发生极显著的上调[5]。Hernandez-Boluda 等人使用 RT-PCR 检测发现,Survivin 在 CML 的慢性期同样会表达, 但是在白血病急性发作期,他的表达会升高 7 倍[6]。综上所述,在 CML 中, 当疾病由慢性期进展到急性期会伴随 Survivin 表达的上调。

Nakayama 等人指出在成人急性 T 淋巴细胞白血病(ATL)是一贯高表达 Survivin,并且 Survivin 的 mRNA 表达越高,则总的存活数越低。这组研究表明在 ATL 中,Survivin 的 mRNA 表达可以作为肿瘤负荷的生物标志[7]。

慢性 B 淋巴细胞性白血病(B-CLL)的发病机制包括由于凋亡缺陷和生存延长引起的 CD5+ 的 B淋巴细胞蓄积,而观察发现这些 CLL 细胞增殖池中的细胞是高表达 Survivin 的,这说明 Survivin 在疾病的发展中是起关键作用的[8]。

2.2.2 淋巴瘤

在各种类型的淋巴瘤中均观察到 Survivin 表达的上调。在大约 60% 的弥漫型大细胞淋巴瘤,B 细胞性中要表达

作者介绍: 罗 颖(1983-),女,硕士生,
主要研究方向:血液肿瘤基础和临床研究。

维普资讯 http://www.cqvip.com

Survivin，并且 survivin 阳性者 5 年生存率明显低于 survivin 阴性者，survivin 的高表达与低的总存活率有显著相关性[9]。在 T 细胞非霍奇金淋巴瘤中，也得到相同的结论[10]。

2.2.3 骨髓增生异常综合征

在 MDS 中，顽固贫血(RA)、难治性贫血伴原始细胞增多(RAEB)和环形铁粒幼细胞性难治性贫血(RAS)都存在 Survivin 的高表达[11]。

研究发现大多血液恶性肿瘤中，Survivin 都是呈高度表达。很多的血液恶性肿瘤在高度增殖的阶段，Survivin 的表达水平也显著上调。这提示以 Survivin 为基础治疗血液恶性肿瘤的免疫疗法具有很大的潜力。

3 Survivin 基因与免疫治疗

大量研究显示肿瘤免疫主要集中在以特异性 T 细胞为主的细胞免疫。异基因造血干细胞移植后，移植物抗白血病(GVL)效应也被证实主要是受供体衍生的 T 淋巴细胞的影响。但目前诱导抗肿瘤特异性细胞免疫仍然是一个研究的难点，其中一个关键因素是鉴定适合的肿瘤相关抗原(Tumor-associated antigens，TAA)。这种抗原必需能够表达人白细胞Ⅰ类或Ⅱ类分子(HLA-Ⅰor-Ⅱ)，并且它的产物只在肿瘤细胞中表达，或仅还在非必需的组织中表达。另外，尽管已有大量的 TAA 在恶性细胞中高度表达被证实，但只有很少数是易受 T 细胞影响的靶点。因此，在恶性血液系统疾病中，基于肿瘤特异性 T 细胞的免疫治疗迫切需要合适的肿瘤抗原。

鉴于 Survivin 基因表达的高度肿瘤特异性，及其在肿瘤的发生、发展中起关键作用，使 Survivin 免疫治疗备受关注。

3.1 Survivin 能够激活免疫反应

3.1.1 T 细胞的反应 Survivin 能够引起特异的细胞毒性 T 细胞(CTL)应答的第一个证据是在体外通过可溶性 Survivin 重组蛋白冲击致敏自体的 DC 细胞，经由 DC 细胞的交叉抗原提呈，刺激正常供体的 T 细胞活化增殖，引起转染 Survivin 的 B 淋巴细胞发生溶解[12]。Andersen 等人也证实在乳腺癌、慢性淋巴细胞白血病和黑色素瘤的病人中，不论是体内(原位)或体外(离体)，其 Survivin 衍生肽中被 T 细胞识别的抗原表位，能够在由 HLA-A2 限制性的方式下引起自发的 CTL 反应。而在正常的供体中则没有检测到这种反应。作者还证实在 HLA-A2 阳性的黑色素瘤患者中，其 Survivin 衍生肽所激发产生的 $CD8^+$T 细胞，同样也能够对 HLA-A2 匹配且表达 Survivin，但来自不同组织的几种肿瘤细胞株产生细胞毒性 T 细胞反应[13]。在一种以 RNA 为基础的鼠疫苗试验中还发现，用转染 Survivin-RNA 的自体 DC 细胞去刺激人外周血单个核细胞，产生抗 Survivin 的特异性细胞毒性 T 细胞。这些 T 细胞能够对几种血液系统恶性肿瘤细胞株产生由 MHC-Ⅰ类分子限制的细胞毒性反应[14]。另外，Casati 等人还认为 Survivin衍生肽除了可诱发 $CD8^+$T 细胞介导的细胞毒性反应，也可引起 $CD4^+$ 的 T 细胞反应[15]。这表明 Survivin 衍生肽能够完全激活 T 细胞。

3.1.2 体液反应

Survivin 除能引起 T 细胞反应之外，在肺癌和胃肠癌的患者中，已发现循环的 Survivin 特异性抗体，而在正常人中没有发现。但同时 Megliorino 也指出单一的 Survivin 抗体还不能达到常规检查的灵敏程度，使用重组联合抗体能够获得更高的灵敏度[16]。

3.2 Survivin 多肽疫苗的治疗策略

目前已知的血液系统恶性肿瘤的相关抗原较少。研究较多的是白血病特异性的 CTL 独特型包括 CML 的 BCR-ABL、前 B-ALL 中的 ETV6-AML、AML 中的 DER-CAN 等，但这些都是特异性的，不能广泛应用于血液系统恶性肿瘤的临床治疗。而 Survivin 广泛表达于血液系统恶性肿瘤，同时由 Survivin 衍生肽所刺激产生的 CTL，能够对不同的肿瘤细胞株产生细胞毒性 T 细胞反应。因此，以 Survivin 为基础的肿瘤疫苗可用于多种血液系统恶性肿瘤的免疫治疗。

另外，由于免疫选择所导致的抗原变异缺失是另一个使大多已知的肿瘤抗原难以广泛应用于临床的原因。因为 HLA-A2 在高加索人种中是最常见的 HLA-A 等位基因，故最初对 Survivin 衍生肽的鉴定是集中在 HLA-A2 结合序列上。Schmitz 等人最早鉴定了两个 HLA-A2 结合肽，包括 sur 5-14 和 sur 95-104，它们能够经由 DC 细胞提呈诱导 $CD8^+$ 的效应细胞产生细胞毒性 T 细胞反应。Andersen 等人通过 ELISPOT 测定法，检测到 sur 95-104 能够刺激白血病和黑色素瘤患者产生自发 T 细胞反应。对于 sur 95-104，已证实它不仅会引起 $CD8^+$T 细胞的应答，还会刺激 $CD4^+$T 细胞反应。目前 sur 95-104 是惟一对其 MHC Ⅰ和Ⅱ类应答都描述得很清楚的抗原表位[15]。另外，Reker 等人采用反向免疫法(Reverse immunology)鉴定了两个新的 HLA-A2 限制位点，Survivin 衍生的 CTL 表位(sur 18-28，sur 53-62)，它们在 CLL 患者中是自发 CTL 应答的靶点[17]。同时还有报道指出存在另外一些由 HLA 限制的不同抗原表位，包括 HLA-A1，-A3，-A11，-B35，-A24。并且已证实一个折叠九聚物的程序库跨越了整个 Survivin 蛋白，它能够结合 8 种 HLA Ⅰ型等位基因。其中，19 HLA-A*0201 和 24 HLA-A*2401 结合抗原表位是先前没有鉴定的。因为刺激 $CD4^+$T 细胞应答现在被认为是有效控制肿瘤另一个重要的步骤，所以证实由 Survivin 衍生的 HLA-DR 特异性抗原表位能够诱导 II 型应答是当前流行的研究课题。

同时有报道称即使病人表达相同的等位基因，在它们抗 Survivin 免疫应答中显性限制因素仍可能不同。一些已鉴定的 Survivin 衍生肽抗原表位具有高的亲和力，但它们并不会都引起显著的细胞毒性反应。而改良低亲和力的抗原表位可能引起强烈的免疫应答。

在使用免疫方法，包括疫苗时，一定要注意任何潜在的副反应。对于 Survivin，这种风险被认为相对较低。因为它的过度表达主要限制在恶性细胞。在研究中显示，Survivin 衍生肽刺激 CTL 产生细胞毒性反应能够溶解 Survivin 阳性的肿

维普资讯 http://www.cqvip.com

瘤细胞株,但不会对正常的血液细胞起作用[14]。尽管活化的 T 淋巴细胞和 DC 细胞在细胞因子刺激后会表达 Survivin,但是他们并不容易被抗 Survivin 特异性 CTL 溶解[2]。$CD34^+$的骨髓干细胞也能表达 Survivin,但与抗 Survivin 特异性 CTL 细胞一起孵育时没发现他们集落形成能力显著减少[18]。迄今,尽管临床上使用 Survivin 为基础的疫苗策略一直在扩大,但还没有发现与 Survivin 相关的自身免疫性疾病发生的迹象。

我们知道免疫系统能够识别和杀灭肿瘤细胞,也鉴定了治疗的靶点,这些都需要应用于临床。目前着眼 Survivin 衍生肽抗原表位的几个临床试验都主要集中在实体肿瘤。Otto K 等人报道,使用经由自体 DC 细胞提呈的 HLA-A2 限制 Sur 96-104 抗原表位,4/5 的黑色素瘤患者通过 ELISPOT 测定法发现对这个表位有强的 T 细胞应答,并证实这些对 Survivin 反应的 T 细胞能够浸润内脏和软组织转移灶[19]。还有报道指出在临床上使用以 Survivin 为基础的疫苗治疗已有肝转移的胰腺癌患者,病人达到完全缓解[20]。

在实体瘤肿瘤疫苗研究的基础上,人类血液恶性肿瘤治疗的疫苗策略中,覆盖几种最常见 HLA 等位基因的 Survivin 衍生肽多抗原表位的疫苗看来是最有希望的治疗方法。它不仅能够增加可以使用这种疫苗病人的数量,也能将肿瘤变异逃脱的风险降到最低。

所以,鉴于 Survivin 在血液系统恶性肿瘤中的表达方式和它的生物学特性,以及由不同 HLA 限制的具有高亲和力的 Survivin 衍生肽抗原表位的鉴定,Survivin 多肽疫苗被认为是当前进入临床使用疫苗治疗恶性血液系统疾病最有希望的手段之一。

(通讯作者:徐酉华,博士研究生导师,重庆医科大学附属儿童医院血液科,邮编 400014)

参 考 文 献

[1] Fukuda S,Pelus LM. Elevation of Survivin levels by hematopoietic growth factors occurs in quiescent $CD34^+$ hematopoietic stem and progenitor cells before cell cycle entry[J]. Cell Cycle,2002;1(5):322-326.

[2] Schmidt SM,Schag K,Muller MR,et al. Survivin is a shared tumor-associated antigen expressed in a broad variety of malignancies and recognized by specific cytotoxic T cells[J]. Blood,2003;102:571-576.

[3] Zhu FB,Wang SY,Zhang YW. Expression of antigen CD40 and survivin gene and their clinical implications in acute myeloid leukemia[J]. Zhonghua Nei Ke Za Zhi,2004;43(10):769-772.

[4] Wuchter C,Richter S,Oltersdorf D,et al. Differences in the expression pattern of apoptosis-related molecules between childhood and adult de novo acute myeloid leukemia[J]. Haematologica,2004;89(3):363-364.

[5] Badran A,Yoshida A,Yujiwano,et al. Expression of the anti-apoptotic gene survivin in chronic myeloid leukemia[J]. Anticancer Res,2003;23:589-592.

[6] Hernandez-Boluda JC,Bellosillo B,Vela MC,et al. Survivin expression in the progression of chronic myeloid leukemia:a sequential study in 16 patients[J]. Leuk Lymphoma,2005;46:717-722.

[7] Nakayama K,Kamihira S. Survivin an important determinant for prognosis in adult T-cell leukemia:a novel biomarker in practical hemato-oncology[J]. Leuk Lymphoma,2002;43:2249-2255.

[8] Granziero L,Ghia P,Circosta P,et al. Survivin is expressed on CD40 stimulation and interfaces proliferation and apoptosis in B-cell chronic lymphocytic leukemia[J]. Blood,2001;97:2777-2783.

[9] Adida C,Haioun C,Gaulard P,et al. Prognostic significance of survivin expression in diffuse large B-cell lymphomas[J]. Blood,2000;96:1921-1925.

[10] Xiang XJ,He YJ,Li YH,et al. Clinical significance of survivin expression in peripheral T-cell lymphoma[J]. Ai Zheng,2006;25(6):758-761.

[11] Badran A,Yoshida A,Wano Y,et al. Expression of the anti-apoptotic gene survivin in myelodysplastic syndrome[J]. Int J Oncol,2003;22(1):59-64.

[12] Schmitz M,Diestelkoetter P,Weigle B, et al. Generation of survivin-specific $CD8^+$T effector cells by dendritic cells pulsed with protein or selected peptides[J]. Cancer Res,2000;60:4845-4849.

[13] Andersen MH,Pedersen LO,Capeller B,et al. Spontaneous cytotoxic T-cell responses against survivin-derived MHC class I-restricted T-cell epitopes in situ as well as ex vivo in cancer patients [J]. Cancer Res,2001;61:5964-5968.

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

[15] Casati C,Dalerba P,Rivoltini L,et al. The apoptosis inhibitor protein survivin induces tumorspecific $CD8^+$and $CD4^+$T cells in colorectal cancer patients[J]. Cancer Res,2003;63:4507-4515.

[16] Megliorino R,Shi FD,Peng XX,et al. Autoimmune response to anti-apoptotic protein survivin and its association with antibodies to p53 and c-myc in cancer detection[J]. Cancer Detect Prev,2005;29(3):241-248.

[17] Reker S,Meier A,Holten-Andersen L,et al. Identification of novel survivin-derived CTL epitopes[J]. Cancer Biol Ther,2004;3:173-179.

[18] Pisarev V,Yu B,Salup R,et al.Full-length dominant-negative survivin for cancer immunotherapy[J]. Clin Cancer Res,2003;9:6523-6533.

[19] Otto K,Andersen MH,Eggert A,et al. Lack of toxicity of therapy-induced T cell responses against the universal tumour antigen survivin[J]. Vaccine,2005;23:884-889.

[20] Wobser M,Keikavoussi P,Kunzmann V,et al. Complete remission of liver metastasis of pancreatic cancer under vaccination with a HLA-A2 restricted peptide derived from the universal tumor *antigen* survivin[J]. Cancer Immunol Immunother,2006;55(10):1294-1298.