维普资讯 http://www.cqvip.com



综 述 文章编号:0253-3626(2007)02-0331-03

# Survivin 与基因治疗

曾 柯 综述,杜 虎,吴小候 审校

(重庆医科大学附属第一医院泌尿外科,重庆 400016)

【中国图书分类法分类号】Q753 【文献标识码】A 【收稿日期】2006-06-29

Survivin 是 1997 年发现的凋亡抑制蛋白 (Inhibitor of apoptosis proteins,IAPs)家族的一个新成员,由于其独特的生物学结构,特殊的组织分布及明显的抗凋亡作用,目前越来越受到重视。基因治疗是指以 DNA 重组,基因转移,基因克隆和表达等技术,将遗传物质转入机体细胞,以达到治疗的目的,其关键是目的基因(靶基因)的选择。本文所涉及的 survivin 是肿瘤基因治疗的新靶点,现将 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 的结构与功能

### 1.1 基本结构

Survivin 基因是 1997 年由 Ambrosini 等利用效应细胞蛋白酶受体 -1(effector cell proteasereceptor-1,epr-1)的 cDNA 在人类基因库中筛选克隆的一种凋亡抑制基因[1]。人类 survivin 基因位于染色体 17q25,长度范围在 75~130kb,由 1.9kb 的 mRNA 转录和编码,含 3 个内显子和 4 个外显子,外显子 1 上游 2560~2920 区域为一无 TATA 的启动子和 GC 富集区。Survivin 蛋白包含 142 个氨基酸, 分子量为 16.5KU。survivin 与 IAP 家族的其他成员一样, 也有杆状病毒重复结构(baculovirus IAP Repat,BIR),BIR 是 survivin 发挥抗凋亡作用必需的结构。但不同的是 survivin 只含一个 BIR 结构和一个羧基末端 α 螺旋结构,且羧基末端没有环指结构,其晶体结构呈广泛二聚体化排列。

### 1.2 Survivin 的变构体

最近研究发现在人类有 3 种不同抗凋亡特性的新的 survivin 的剪接变构体,即 survivin-deltaEx3(缺乏外显子 3), survivin-2B(保留了部分内含子 2 作为隐性外显子)和 survivin-3B (包含外显子 3B 在内的 5 个外显子)。研究显示, survivin-deltaEx3,survivin-3B 保留了抗凋亡特性,survivin-2B 的抗凋亡能力有明显降低[2]。

## 2 Survivin 的功能

作者介绍: 曾 柯(1981- ),男,硕士生,
主要研究方向:泌尿系统肿瘤。

### 2.1 Survivin 抑制细胞凋亡的作用

细胞凋亡与增殖之间的动态平衡,对维持真核细胞生物的发育和稳态是至关重要的。细胞凋亡主要有死亡受体途径和线粒体途径。这两条途径的最终终末效应器都为 caspase-3 和 caspase-7 体外实验表明,survivin 通过其直接或间接干涉 caspase 的功能而抑制细胞凋亡。Survivin 直接作用于 caspase,主要抑制 caspase-3 和 caspase-7 的活性,阻断细胞的凋亡过程。Survivin 也可以通过 P21 间接抑制 caspase,其机制是 survivin 与细胞周期调空因子 CDK4 形成 survivin-CDK4 复合体,使得 P21 从 CDK 的复合体中释放出来,释放的 p21 易位到线粒体与 procaspase-3 形成复合物,抑制 caspase-3 的活性, 阻断线粒体释放细胞色素 c 从而抑制细胞凋亡[3]。Survivin 还可以通过诱导肿瘤坏死因子受体介导的 NF-κB 的活化发挥抗凋亡作用[4]。研究还表明 survivin 可抑制 IL-3、fas、bax、TNF-α 诱发的凋亡。

### 2.2 Survivin 参与细胞分裂的调控

Survivin 主要以周期调节的方式表达于 G2/M 期,有丝分裂开始时 Survivin 与有丝分裂期纺锤体的微管蛋白共同维持有丝分裂的进行,并受微管动力的调节[5]。在肿瘤的发生发展中 Survivin 过表达, 使 S 期核转运加速, 激活 CDK4/cyclinE 复合体, 导致 Rb 基因磷酸化; 当 Survivin 发生核移位时与 CDK4 型成复合物释放出 P21, 从而抵抗 FAS 介导的细胞凋亡[6]。此外,Survivin 已经被分类为一种染色体的信使蛋白,其与 Aurora-B 和 INCENP 相互作用形成的染色体的信使复合体在细胞分化周期中扮演着重要的角色[7]。

### 2.3 Survivin 与肿瘤血管形成

血管内皮细胞的分裂增殖是血管形成过程的核心。应用血管内皮生长因子 (VEGF) 和碱性成纤维细胞生长因子 (BFGF)诱导静止期的血管内皮细胞分裂,检测 survivin 表达水平, 结果提示血管内皮细胞内 survivin 含量升高 16 倍,提示 survivin 可能是血管形成中生长因子诱导的保护性基因[8]。Oconnor 等人应用 VEGF、bFGF 以及血管生成素 -1(angiopoietin-1,Ang-1) 等有丝分裂原刺激培养的内皮细胞,发现 Survivin 表达迅速增加, 且 Ang-1 的作用也依赖 Survivin 的表达上调[9]。因而推测 Survivin 可以维持血管内皮细胞的正常增殖,对血管生成的中间环节具有重要意义,同时也提示

维普资讯 http://www.cqvip.com



Survivin 对内皮细胞凋亡的抑制在肿瘤血管生成过程中也可能发挥了重要作用[10,11]。

## 3 Survivin 在肿瘤组织中的表达

Survivin 表达在人和鼠的胚胎组织，而在正常成年人组织仅见于胸腺\睾丸和分泌期子宫以及有再生功能的造血干细胞有表达[12]，最近有报道在正常结肠黏膜隐窝的基底部有 Survivin 表达。然而几乎所有的恶性肿瘤组织细胞中都有表达，如 Survivin 在胃癌中表达阳性率为 34.5%[13]；在结肠、直肠癌中表达率高达 53.2%[14]；在膀胱癌中表达率为 77.8%[15] 在前列腺癌中表达为 68.3%[16]；小细胞肺癌中表达率为 85.5%[17]；在儿童急性白血病骨髓细胞中表达率为 41.94%[18]。此外 Survivin 在妇科肿瘤中高表达也有报道。

由于 survivin 特异性表达于肿瘤细胞中，可使其作为肿瘤早期诊断的标志物，因此，检测尿液中 survivin 可作为一种早期，非侵入性的膀胱癌的方法。Smith 等[19]研究结果表明，在新发和复发的膀胱癌患者尿液中可检测到 survivin 的表达，敏感性为 100%，特异性为 95%，呈阳性表达的患者复发率高。

## 4 Survivin 与基因治疗

基因治疗作为治疗肿瘤的一种新兴方法，正越来越受到人们的重视。Survivn 能作为肿瘤基因治疗主要理论依据有两点：1.Survivin 在肿瘤组织中具有高表达性和表达特异性。它仅在大多数肿瘤组织表达在正常组织不表达或低表达，因此其具有高度靶向特异性。2.Survivn 和 EPR-1 位于染色体(17q25)的同一基因族，而且 2 个基因的编码序列广泛互补，故可通过两个天然反义转录物的相互作用可以调节细胞凋亡。目前 Survivin 用于基因治疗主要有 4 个方面：1.反义治疗 2.显形失活突变体 3.Survivin 核酶 4.Survivin 的干扰，其基本原理都是利用基因方法降低 Survivin 的表达以达到治疗肿瘤的目的。

### 4.1 Survivin 与反义技术

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，以抑制其功能。Survivin 的反义治疗主要有两类：(1)survivin 反义 cDNA 表达载体(2)合成 survivin 反义寡核苷酸。Ansell 等发现应用反义寡核苷酸可以显著抑制淋巴瘤细胞 DoHH2、RL 和 HT 的生长，并在淋巴瘤异种移植模型中也观察到 Survivin 的反义核酸对肿瘤生长的抑制作用[20]。

### 4.2 Survivin 显性失活突变体

Fomaro 等在前列腺癌的研究中发现，使用 survivin 显性失活突变体 Cys84AIa 可导致核破裂，以及半胱天冬酶(caspase-3)的激活和多聚 ADP- 核糖体聚合酶，组织标本实验显示，使用 CYs84AIa 可诱发肿瘤细胞调亡。[poly(ADP-ribose) polymerase，PARP]的形成[21]。

### 4.3 Survivin 与 RNA 干扰

新的基因治疗技术 RNA 干扰（RNA interference，RNAi）技术已不断运用与肿瘤的研究中。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。于 1998 年 Fire 等发现双链 RNA 在封闭基因的作用上要比单一的反义 RNA 有效性明显提高[22]。于 2004 年 Kappler 等报告了应用小分子干扰 RNA（small interfering RNA，siRNA）在五种分别具有野生型及突变的 p53 基因的肉瘤细胞中来下调 survivin 的表达，结果显示不论肉瘤细胞是否表达野生 P53 基因，通过靶向 survivin 的 siRNA 可以特异性地导致肿瘤细胞的凋亡，动物异种移植模型中也观察到瘤体减小[23]。

### 4.4 Survivin 与核酶

此方法主要是利用靶向性核酶特异性的切割 Survivin mRNA，使 Survivin 的表达降低。Marziad 等人发现，设计成锤头型的核酶能有效降低 JR8 黑色素细胞系中 Survivin 的表达，而且稳定转染细胞对拓扑替康的敏感性显著提高[24]。Choi 等也设计了 2 种针对 Survivin mRNA 的锤头型核酶并将其核酶序列克隆到无复制能力的腺病毒载体内，然后转染到乳腺癌细胞株 MCF-7 中，结果显示 survivin mRNA 及蛋白表达水平明显降低，肿瘤细胞调亡率明显上升。

## 6 展 望

Survivin 基因高表达于人类大多数恶性肿瘤、而在正常成人终末分化的组织中不表达或低表达，参与了肿瘤的发生、发展，与预后和肿瘤的耐药性也存在关联。一种可以和 GC 富集区 DNA(21bp)结合的药物 Hedamycin 已经证实可以下调 Survivin 的表达[25]。Survivin 作为一个新的抗凋亡基因，因其选择性表达于肿瘤组织，可以作为肿瘤基因治疗的新的特异性靶点，为肿瘤的基因治疗开辟了新途径，是一个极具潜在价值的癌基因。

## 参 考 文 献

[1] Ambrosini G，Altieri DC，et al.A nevel anti-apoptosisgene，Survivn，expressed in cancer and lymphoma[J]. Nature MED，1997；3：917-921.

[2] Badran A，yoshida A，Ishikawa K，et al，Identification of anovel splice variant of the human anti-apoptopsis gene surviving[J]. Biochem Biophys Res Commum，2004；314(3)：902.

[3]Uren A G，Wang l.Pakusch M，et al.Survivin and the inner centromere protein INCENP show similar cell-cycle localization and gene knockout phenotype[J].Curr Biol，2002；10(21)：1319.

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

[5] Suzuki A，Hayashida M，Ito T，et al，Survivin initiates cell cycle entry by the complex activation with CDK4/p16 (INK4a)and CDK2，

维普资讯 http://www.cqvip.com



cyclinE complex activation[J].Oncogene,2000;19(29):3225-3234.

[6] Suzuki A,Ito T,Kawano H,et al,Survivin initiates procaspase/P21 complex formation as a result of interaction with CDK4 to resist FAS-mediated cell death[J].Oncogene,2000;19(10):1346-1353.

[7] Wheatley SP,Kandels L,Adams RR,et al.INCENP binds directly to tubulin,and requires dynamic microtubules to target to the cleavage furrow[J].Exp,Cell Res,2001b.262.122-127.

[8] Oconnor DS,Schechner JS,Adida C,et al.Angioptosis during angiogenesis by surviving express in endothelial cell[J].Am J Pathol,2000;156(6):393.

[9] Papapetropoulos A,Fulton D,Mubboubi K,et al.Angiopioetin-1 inhibits endothelial cell[J].J Biol Chem,2000;275(13):9102.

[10] Alticri DC.Validating surviving as a cancer therapeutic target [J].Nat.Rev.Cancer,2003;3:46-54.

[11] O'Connor D S,Schechner J S,Adida C.Control of apoptosis during angiogenesis by Survivin expression in endothelial cells[J].Am J Pathol,2000;156(2):393-398.

[12] Lu CD,Altieri DC.Tanigawa N.Expression of a novel anti-apoptosis gene,Survivin,correlated with tumor cell apoptosis and P53 accumulation in gastric carcinomas [J].Cancer Res,1998;58(9):1808.

[13] Endoh A,Asanuma K,Moriai R,et al.Expression of surviving mRNA in CD34-positive cells[J].Clin Chim AcTa,2001;306:149-151.

[14] Kawasaki H,Altieri DC,LuCD,et al.Unhibition of apoptosis by Survivin predicts Shorter Survivin rates in colorectal cancer[J].Cancer Res,1998;56(22):5071.

[15] Swana HS,Grossman D,Anthony JN,et al.Tumor content of the anti-apoptosis molecule Survivin and recurrence of bladder cancer[J].N Engl J MED,1999;341:452-453.

[16] ZHANG Xiang-yang,ZENG Qiang,QI Fan,et al.Expression of Survivin protein in prostate cancer and its clinical sign ificance[J].China Journl Of Modern Medicine,2006;16:1060-1062.

[17] Mono M,Rosell R,Felip E,et al.A novel anti-apoptosis gene Rexpression of Survivin messenger RNA as a prognosis marker in nonsmall-cell lung cancers[J].J Clin Oncol,1999;17:2100-2104.

[18] Hou Yan,Hu Qun,Liu Aiguo,Zhang Liuqing,et al.Expression of survivin and its location in cell and clinical significance in pediatric acute leukemia[J].Journal Of China PediaTric Blood And Cancer,2006;1:6-8.

[19] Smith SD,Wheeler MA,Plescia J,et al.Urine detection of Survivin and diagnosis of bladder cancer[J].JAMA,2001;17;285(3):324-328.

[20] Ansell SM,Arendt BK,Grote DM.Inhibition of surviving expression suppresses the growth of aggressive non-hodgkin's lymphoma[J].Leukemia,2004;18(3):616-623.

[21] Fonaro M,Plescia J,Chheng S,et al.Fibronectin protects prostate cancer cells from tumor mecrosisi factor-alpha induced apoptosisi via the AKT/surviving pathw28ay[J].J boil chem,2003;278(50):50402-50411.

[22] 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.

[23] Kappler M,Bache M,Bartel F,et al.Knockdown of survivin expression by small interfering RNA reduces the clonogenic surviving of human sarcoma cell lines independently of p53 [J].Cancer Gene Ther,2004;11(3):186-193.

[24] Marzia P,Mara B,Micheiandrea DC.Ribozyme-mediated down-regulation of surviving expression sensitizes human melanoma cells to potecan in vitro and in[J].Carcinogenesis,2004;10(5):1093.

[25] Jiangguo W,Xiang L,Dalin P,et al.Molecular Mechanism of inhibition of surviving transcription by the GC-rich sequence-selective DNA binding anti-tumor agent,Hedamycin[J].J Boil Chem,2005;280(10):9745-9751.

(上接第 330 页)

[14] 鄢 阳,黄国华,巢月根,等.金属蛋白酶抑制基因 RECK 和基质金属蛋白酶 2、9 在膀胱癌组织中的表达及意义[J].中华泌尿外科杂志,2006;27(2):140.

[15] Takenaka K,Ishikawa S,Kawano Y,et al.Expression of a novel matrix metalloproteinase regulator,RECK,and its clinical significance in resected non-small cell lung cancer[J].Eur J Cancer,2004;40(10):1617-1623.

[16] Takenaka K,Ishikawa S,Yanagihara K,et al.Prognostic significance of reversion-inducing cysteine-rich protein with Kazal motifs expression in resected pathologic stage IIIA N2 non-small-cell lung cancer[J].Ann Surg Oncol,2005;12(10):817-924.

[17] Kumamoto H,Ooya K.Immunohistochemical detection of MT1-MMP,RECK,and EMMPRIN in ameloblastic tumors[J].J Oral Pathol Med,2006;35(6):345-351.

[18] 张 壮,李宁毅,球万涛,等.口腔鳞癌中血管生成及基质金属蛋白酶 -2 和尿激酶型纤溶酶原激活物的表达[J]. 华西口腔医学杂志,2006;24(3):285-287.

[19] Liu L-T,Chang H-C,Chiang L-C,et al.Histone deacetylase inhibitor up-regulates RECK to inhibit MMP-2 activation and cancer cell invasion[J].Cancer Res,2003;63(12):3069-3072.

[20] Siro Simizu Satoshi Takagi,Yuki Tamura,et al.RECK-Mediated Suppression of Tumor Cell Invasion Is Regulated by Glycosylation in Human Tumor Cell Lines [J].Cancer Res,2005;65 (16):7455-7412.