[7] 贾敏. 鹿育萨. 正常高值血压患者尿酸与 C-反应蛋白的相关性研究[J]. 临床心血管病杂志, 2010, 26(1): 48-50.
[8] 孟卫东, 陈双峰. 超敏 C-反应蛋白的研究现状[J]. 国际检验医学杂志, 2010, 31(4): 346-348.
[9] 鹿育萨, 王爱文. 正常高值血压与超敏 C-反应蛋白的相关性[J]. 中国心血管病研究, 2008, 6(10): 741-743.
[11] 李涛涛. 急性冠脉综合征患者超敏 C-反应蛋白水平的检测[J]. 临床心脑血管病杂志, 2010, 16(3): 141-142.
[12] 王远红, 郭玉芳, 王丽丽. 超敏 C-反应蛋白与急性冠脉综合征的相关性研究[J]. 医学信息, 2010, 6(1): 128-129.
[13] 吴英, 陈崇基. 超敏 C-反应蛋白与冠心病、心肌梗死的相关性探讨[J]. 国际检验医学杂志, 2009, 30(1): 36-38.
[14] 康金锁, 张春玲, 于金星, 等. 冠心病患者超敏 C-反应蛋白和 NT-proBNP 水平的变化[J]. 中华检验医学杂志, 2009, 32(3): 300-304.
[15] Danesh J, Whincup P, Walker M, et al. Low grade inflanmation and coronary heart disease: prospective study and updated meta-analyses[J]. BMJ, 2007, 321(7255): 199-204.
[16] 孟君, 秦鉴, 马芸, 等. 心脉通胶囊对急性冠脉综合征患者血清 MMP-9 与超敏 CRP 影响的临床观察[J]. 检验医学与临床, 2007, 32(9): 850-852.
[17] 徐国宾, 袁桂消. 肌钙蛋白临床评价专家座谈会纪要[J]. 中华检验医学杂志, 2005, 16(4): 234.
[18] 井娜, 王恺隽, 陈曦. 易损斑块生物标志物的血清学检测[J]. 中华检验医学杂志, 2008, 31(7): 827-830.
[19] 礼征楠, 董敏, 王亚男. 超敏 CRP 检测在急性冠状动脉综合征诊断中的临床意义[J]. 国际检验医学杂志, 2009, 30(4): 360-361.

(收稿日期: 2011-04-19)

· 综　　述 ·

以 survivin 基因为靶点的肿瘤治疗

胡相友 综述, 刘长安, 张　雷 审校
(重庆医科大学附属第二医院肝胆外科　400010)

关键词: 存活蛋白;　靶点;　肿瘤治疗
DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2011.19.030　　**文献标识码**: A　　**文章编号**: 1673-4130(2011)19-2233-03

自从 1997 年美国耶鲁大学 Altieri 等用效应细胞蛋白酶受体-1(effector cell protease receptor-1, EPR-1)cDNA 从人类基因组文库中将 survivin 筛选克隆出来后, 各国学者围绕其分子结构及生物学功能展开了大量的基础和临床研究。survivin 又名存活素, 是凋亡抑制蛋白(inhibitor of apoptosis protein, IAP)家族的新成员。survivin 广泛表达于人的胚胎组织和几乎所有人类常见恶性肿瘤组织, 而在健康成人组织和终末分化的组织内表达水平很低。

1　survivin 基因的分子结构及表达特性

1.1　survivin 基因的分子结构　人类 survivin 基因定位于 17q25, 距端粒 3%的位置, 基因全长 14 700 bp, 由 4 个外显子和 3 个内含子组成。它还有两个剪切体分别是选择性外显子 2 的插入(survivin-2B)和外显子 3 的移出(survivin-Ex-3)。survivin 基因与 EPR-1 基因的编码区序列高度互补, 仅与 EPR-1 不同的是方向相反, 序列上有 5 个核苷酸与 EPR-1 不同, 以及有额外 6 个插入的核苷酸。该基因的编码链包含有与 EPR-1 互补的 426 个核苷酸组成的阅读框架(open reading frams, ORF)。

survivin 基因编码产生的蛋白由 142 个氨基酸组成。相对分子质量为 16×10^3。Survivin 蛋白相对分子质量在 IAP 家族中是最小的, 但它的结构在 IAP 家族中是非常独特的。其结构与其他 IAPs 的区别主要有 3 点: (1)哺乳动物的 IAPs 中往往含有重复 2～3 次的 BIR(baculo-virus iap repeat)单元, 这一序列是其凋亡抑制作用的基本要素, 而 survivin 是至今发现的 IAPs 中惟一的含单个 BIR 单元的成分; (2)survivin 的 BIR 中含有对抑制凋亡有重要作用的氨基酸残基(Pro、Trp 和 Cys), 通过这些残基与 caspase-3 和 caspase-7 结合抑制 caspase 的活性, 阻止多种凋亡信号诱导的细胞凋亡[1-4]; (3)survivin 中含有一个独特的由 42 个氨基酸严格排序形成的双螺旋区域。

1.2　survivin 基因的表达特性　survivin 基因表达具有细胞周期的依赖性, 选择性表达在细胞周期的 G_2/M 期, 在 G_2/M 期表达基因内发现的细胞周期依赖元件(CDE)和细胞周期同源结构域(CUR)存在于 survivin 基因的启动子内, 该基因的 CDE/CHR 盒调节 G_2/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 G_2/M 期的检查点。若 survivin 基因的 CDE 片段丢失, 其 G_2/M 期的依赖表达的特性也随之丢失。

survivin 基因的表达在不同的组织间有所不同。在生长发育中, survivin 在胚胎组织中表达, 而在分化成熟的组织中表达丢失。研究发现, 除睾丸、甲状腺、胎盘外, 存活素还在大肠黏膜、子宫内膜、肾上腺髓质中有少量表达[5]。

survivin 基因广泛表达于人类多种肿瘤组织。研究发现, 在诸多肿瘤中 survivin 均有不同程度的表达, 包括乳腺癌、肺癌、结肠癌、卵巢癌、前列腺癌、肝癌、黑色素瘤、白血病、淋巴瘤等[5]。而在同系肿瘤中, survivin 表达的阳性率不同, 这可能反映了肿瘤基因学的变异性。survivin 在肿瘤组织高表达和在成人终末分化组织低表达或不表达的特性, 有望使之成为肿瘤诊断和治疗的新靶点。

2　survivin 的生物学效应

2.1　survivin 的抗凋亡作用　凋亡是一种生理性的程序化死亡过程, 对多细胞生物的发育、细胞内环境稳定及免疫防御至关重要。细胞凋亡受抑制是恶性肿瘤自主性增殖的主要原因, 其与恶性肿瘤的发生、发展密切相关[6-8]。survivin 是迄今为止发现的作用最强的凋亡抑制因子。研究证明, survivin 高表达可抑制 Fas、Bax、caspases、肿瘤坏因子、抗癌药物等诱导的细胞凋亡。目前认为, survivin 抑制凋亡主要通过与半胱天冬蛋白酶(cysteine aspa rtatespecIfic proteinase, caspases)直接或间接作用的结果。caspases 是凋亡通路上各种凋亡信号的效应器, 是完成凋亡的最终执行者。研究表明, survivin 以二聚体的形式与效应器 caspases-3、caspases-7 形成稳定的结合, 使其

不能有效地水解微管结构蛋白，维持了纺锤体的完整性，从而阻断各种刺激诱导的细胞凋亡过程。另外，survivin 还阻断细胞色素 C 的释放，干扰上游 caspase-9 的活化过程，间接抑制其对下游效应分子 caspase-3 的活化。同时，survivin 还可与细胞周期蛋白激酶 Cdk4、P34 相互作用阻断凋亡信号转导通路。

2.2 survivin 的促细胞增殖作用　survivin 在正常分化组织与在高增殖性发育组织、肿瘤组织中表现出巨大的差异性，提示其可能与细胞的增殖、分化有关。与 IAP 家族其他成员不同。survivin 不仅具有抑制细胞凋亡作用，而且在调节细胞有丝分裂中起重要作用，如微管的聚合、卵裂沟的形成和胞质分裂。

survivin 的另一个特征是它具有选择性的细胞内分布的特点[9]。这与其他已知的凋亡调节物不同，在有丝分裂前期 survivin 与纺锤体微管相结合，在分裂的中后期，与纺锤丝结合，直到分裂末期依附于颗粒体上。有研究发现，在连续的微管的聚合和解聚过程中，重组 survivin 与聚合微管以一种特殊的、浓度依赖的、可饱和的方式相结合，这一反应通过微管力学来调节。在分裂间期细胞、survivin 积聚在中心体上，因此 survivin 可能是微管组织中心的元件。survivin 与微管相结合对于其促细胞增殖功能的实现是必需的。在小鼠的胚胎干细胞中，survivin 基因敲除 4～5 d 后胚胎死亡。抑制细胞 survivin 表达可产生畸形纺锤体、多倍体、多核畸形等异常，细胞不能正常分裂，所以它是正常胚胎细胞有丝分裂和增殖的必要条件。有研究表明，用 survivin 的多克隆抗体通过微细胞注射法注入 Hela 细胞后出现分裂前期和中期延长，有丝分裂纺锤体缩短，微管聚合异常，并有凋亡现象，体内实验显示强制表达 survivin 能稳定微管，避免其解聚，从而诱导有丝分裂[10]。

2.3 survivin 与血管生成　研究发现，survivin 在原始造血功能和肿瘤血管新生中起重要的调节作用。survivin 促进细胞增殖、抑制细胞凋亡、控制 PDGF 表达、调节血管生成因子和静脉壁重构等多种机制可能共同参与了血管新生的过程。新生血管的生成是肿瘤侵袭性生长和转移的形态学基础，血管形成过程的核心是血管内皮细胞的分裂增殖，其取决于血管内皮细胞的生存和凋亡的平衡。

survivin 的高水平表达及其在多种条件下抗凋亡的能力，提示抗凋亡机制在肿瘤血管生成过程中的重要作用。近年来的研究发现，血管内皮生长因子（vascular endothelial growth factor，VEGF）和表皮生长因子受体（EGFR）都可以促进 survivin 表达，并认为其抗凋亡机制以及血管通透性是促进血管生成的最主要途径[11]。有研究显示，肿瘤组织中促血管生成的关键因子——VEGF 刺激静息的内皮细胞，可以浓度依赖的方式显著诱导 survivin 表达上调。另外，survivin 也可能通过上调 VEGF 的表达而促进肿瘤浸润及远处转移。另有研究发现，Ang-1 可以促进内皮细胞中 survivin 表达，通过 Akt 或 Pkb 途径激活 survivin 的抗凋亡活性，从而阻止内皮细胞凋亡，在体内血管形成过程中稳定血管结构 。最近有研究指出，用 Ang-2 刺激血管平滑肌细胞也可导致 survivin 升高，并具有细胞周期依赖性，这与 survivin 的周期性表达是一致的。

有研究表明，联合应用反义寡核苷酸技术和 RNA 干扰技术可降低内皮细胞中 survivin 的表达，可完全消除 VEGF 对肿瘤坏死因子或神经酰胺诱导的细胞凋亡的抵抗作用，引起凋亡增加和干扰血管生成[12]。因此，抑制 survivin 的表达不仅能维持促凋亡机制，而且能通过对 VEGF 通路的阻断而间接促进肿瘤血管的凋亡性退化，从而抑制肿瘤生长。

3　以 survivin 为靶点的治疗方法

肿瘤的形成是由多因素造成的，其中肿瘤细胞中凋亡抑制基因的高表达能明显抑制细胞凋亡，逃避机体免疫系统对肿瘤细胞的识别和清除。另外，凋亡抑制基因还可能在肿瘤细胞产生耐药的过程中发挥重要作用。survivin 无疑是 IAP 家族中最有意义的抗肿瘤候选靶点。survivin 在肿瘤组织中选择性高表达的特点，使得靶向 survivin 基因的治疗能够精确定位于肿瘤组织，通过抑制 survivin 的抗凋亡作用以及抑制其促细胞增殖作用，从而有效破坏肿瘤的生存发展，诱导细胞凋亡，降低其生长潜能。以 survivin 为靶点的基因治疗毒性明显低于放、化疗，同时能增强肿瘤细胞对放化疗的敏感性。放射生物学研究显示，处于不同细胞周期的细胞对放射敏感性不同，其中 M 期最为敏感，S 期敏感性最低。而 survivin 在 G_1/M 期特异性高表达表明，抑制 survivin 的表达也抑制了 survivin 促进 S 期进展，使多数细胞处于 M 期，可以增强肿瘤细胞的放射敏感性。针对 survivin 基因进行分子水平上的治疗能够高效、特异、安全地达到控制肿瘤的发展，促进肿瘤细胞凋亡的效果[13-14]。

3.1 反义寡核苷酸技术　是根据碱基互补原理，设计合成反义于目标 DNA 或 mRNA 的序列片段，从而抑制目标基因表达和功能发挥的基因封闭技术。survivin 的反义药物主要有以下两类：(1) survivin 反义 cDNA 表达载体；(2) 合成的 survivin 反义寡核苷酸。有学者设计出针对肝癌细胞株 SMMC-7721 的反义寡核苷酸并转染细胞，均观察到细胞结构呈典型凋亡改变，细胞内微管形态结构破坏，细胞凋亡概率增加，同时 survivin 蛋白及 mRNA 表达降低[15]。由此可见，反义药物导致 survivin 功能的丧失，可能在细胞周期的进程中激活了细胞周期检测点的凋亡程序，降低了细胞凋亡的阈值；靶向 survivin 的反义寡核苷酸能够有效降低肿瘤细胞内 survivin 的表达，激活 caspase-3，而后者则通过对细胞内微管系统的降解、破坏来诱导细胞凋亡。

有研究表明，survivin 反义寡核苷酸可以增强肿瘤对放、化疗的敏感性。survivin 反义寡核苷酸通过抑制 survivin 表达，抑制了 survivin 促进 S 期进展，使多数细胞处于 M、G_1 期，从而增强了肿瘤细胞的放射敏感性[16]。

3.2 RNA 干扰技术　RNA 干扰是一种在动植物体内广泛存在的序列特异性的转录后基因沉默机制，是指将与靶基因 mRNA 序列同源的双链 DNA（ds-RNA）导入细胞，可导致靶基因 mRNA 降解和基因沉默。Kappler 等应用 siRNA（small interfering RNA，siRNA）降低 5 种分别具有野生型及突变的 p53 基因的肉瘤细胞 survivin 的表达，其结果提示不论肉瘤细胞是否表达野生型 p53 基因，靶向 survivin 的 siRNA 可以将其特异性地杀灭。国内有学者进一步建立了 survivin 基因的腺病毒 siRNA 载体及重组腺病毒，转染 HepG2 肝癌细胞后显著抑制了 survivin mRNA 及蛋白的表达，肝癌细胞凋亡率明显增加[17]。有学者运用腺病毒介导的小干扰 RNA 进行了细胞实验和动物实验，都达到了诱导肿瘤细胞凋亡的目的[18-19]。这些实验都为 RNA 干扰技术应用于肿瘤治疗奠定了实验基础。

3.3 显性失活突变体　survivin 显性失活突变体是肿瘤基因治疗可采用的另一种 survivin 分子拮抗剂。BIR 结构域是 survivin 与其他蛋白相结合并发挥其抗凋亡功能所必须的功能区，该结构域的点突变将引起整个 survivin 突变体分子的功能丧失。survivin 的第 34 位苏氨酸是其磷酸化位点，该位点的

磷酸化是 survivin 在癌细胞中发挥抑制凋亡作用的首要前提。Mesri 等[20]把含有磷酸化缺失的 survivin 突变体(hr34Ala)的腺病毒 PADT34A 体外分别转染乳腺癌、前列腺癌、肺癌、宫颈癌和结肠癌细胞后都发生了自发性凋亡。Tu 等采用腺病毒载体介导的 survivin Cys84Ala 突变体，能够显著地诱导结肠癌细胞凋亡和细胞有丝分裂障碍，并抑制肿瘤的血管生成和肿瘤的生长，表明 survivin 突变体(Cys84Ala)能够有效治疗肿瘤。有学者构建肿瘤动物模型，运用显性失活突变体治疗，取得了较好疗效[21]。可见，显性失活突变体通过干扰内源性 survivin 的磷酸化而使内源性 survivin 处于去磷酸化的失活状态，可以显著地诱导肿瘤细胞凋亡，降低肿瘤生长潜能，恢复肿瘤细胞对放射线和化疗剂的敏感性。

3.4　survivin 核酶　核酶是具有催化功能的小 RNA 分子。大多数核酶通过磷酸二酯键的水解反应参与 RNA 的剪切、加工过程。锤头型核酶大约由 30 个核苷酸组成，是目前发现的天然的、最小的、具有催化功能的顺式作用核酶。锤头型核酶是继发现反式作用核酶后又一潜在治疗手段。相对反义寡核苷酸而言，对核酶的抗 mRNA 作用研究较少。

Pennati 等[22-23]将包含锤头型核酶的质粒转染入黑色素瘤细胞。实验结果显示，Survivin 蛋白的表达明显降低，同时增加了肿瘤细胞对放、化疗的敏感性。但是，核酶运用于临床的一个潜在问题是，核酶有可能在转运过程中降解，从而丧失治疗作用。

4　结语与展望

Survivin 作为一种新型的凋亡抑制蛋白，其特异性的分布、复杂的亚细胞定位，对细胞增殖凋亡的双重调控作用以及在肿瘤的发生、发展中都扮演了重要角色，引导着人们从各个角度进行了大量研究。目前以 survivin 为治疗靶点的实验还处在早期阶段，实验结果也证明了这种治疗方式的有效性。然而如果将抗 survivin 治疗和其他治疗方式相结合，可能会有更好的效果。国内有研究构建的 survivin 启动子介导的 SurMut (Cys84Ala)和 CD 融合基因的表达载体，能够在胃癌细胞中表达 SurMut(Cys84Ala)和 CD 基因的融合蛋白，为进一步研究该重组病毒载体双靶向特异性诱导肿瘤细胞凋亡和抗肿瘤血管生成的基因治疗奠定了实验基础[24]。

参考文献

[1] Ma H, Nguyen C, Lee KS, et al. Diferential roles for the coactivators CBP and p300 on TCF/beta-catenin-med iated survivin gene expression[J]. Oncngene, 2005, 24(8): 3619-3631.

[2] Sun C, Nettesheim D, Liu Z, et al. Solution structure of human survivin and its binding interface with Smac/Diablo[J]. Biochemistry, 2005, 44(17): 11-17.

[3] Li F. Role of survivin and its splice varian ts in tumorigenesis[J]. Br J Cancer, 2005, 92(6): 212-216.

[4] Mcneish IA, Lopes R, Bell SJ, et al. Survivin interacts with Smac/ DIABLO in ovarian carcinoma cells but is redundant in smacmediated apoptosis[J]. Exp Ceu Res, 2008, 302(64): 69-82.

[5] Kim PJ, Plescia J, Clevers H, et al. Survivin and molecular pathogenesis of colorectal cancer[J]. Lancet, 2007, 362(21): 205-209.

[6] Kwon KB, Kim EK, Lim JG, et al. Molecular mechanisms of apoptosis induced by scorpio water extract in human hepatoma HepG2 cells[J]. World J Gastroenterol, 2005, 11(9): 943-947.

[7] Jing Z, Nan KJ, Hu ML. Cell proliferation, apoptosis and the related regulators p27, p53 expression in hepatocellular carcinoma[J]. World J Gastroenterol, 2005, 11(9): 1910-1916.

[8] Muo JD, Wu P, Xia XH. et al. Correlation betwecn expression of gastrin, somatostatin and cell apoptosis regulation gene bcl-2/bax in large intestine carcinoma [J]. World J Gastroentero1, 2006, 11(2): 721-725.

[9] Wo1anin K, Piwocka K. Role of survivin in mitosis[J]. Postepy Biochem, 2007, 53(8): 10-18.

[10] Giodini A, Kallio MJ, Wail NR, et a1. Regulation of microtubule stability and mitotic progression by surviving[J]. Cancer Res, 2007, 62(9): 2462-2467.

[11] 李金贵，胡自立，刘志，等. 存活素基因与肿瘤的现状研究[J]. 国际检验医学杂志，2007，28(5)：462-464.

[12] Coma S, Noe V, Lavarino C, et a1. Use of siRNAs and antisense oligonucleotides against survivin RNA to inhibit steps leading to tumor angiogenesis[J]. Oligonucleotides, 2004, 14(3): 100-113.

[13] Theodoropoulos GE, Michalopoulos NV, Panoussopoulos SG. Effects of caspase-9 and survivin gene polymorphisms in pancreatic cancer risk and tumor characteristics[J]. Pancreas. 2010, 30(11): 178-183.

[14] Mityaev MV, Kopantzev EP, Buzdin AA, et al. Enhancer element potentially involved in human survivin gene promoter regulation in lung cancer cell lines[J]. Biochemistry (Mosc), 2010, 75(2): 182-191.

[15] Pan K, Liu X, Yang C, et al. Antisense oligonucleofjde targeting survivin affects the proliferation and apoptosis of SMMC-7721 cells[J]. Sheng Wu Yi Xue Gong Cheng Xue Za Zhi, 2006, 23(4): 625-629.

[16] Sapra P, Wang M, Bandaru R. Down-modulation of survivin expression and inhibition of tumor growth in vivo by EZN-3042, a locked nucleic acid antisense oligonucleotide[J]. Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids, 2010, 29(2): 97-112.

[17] 段瑞红，闫歌，公茂庆，等. siRNA 腺病毒抑制 survivin 基因表达诱导肝癌细胞凋亡[J]. 中国病原生物学杂志，2007，2(9)：321-324.

[18] Yin K, Liu QQ, Zhu S, et al. Adenovirus-mediated siRNA inhibited survivin gene expression induces tumor cell apoptosis in nude mice[J]. Bio Science Trends, 2008, 2(6): 231-234.

[19] Yan G, Duan RH, Yin K, et al. Inhibition of survivin expression to induce the apoptosis of hepatocarcinoma cells by adenovirus-mediated siRNA[J]. Bio Science Trends, 2008, 2(2): 88-93.

[20] Mesri M, Wall NR, Li J et al. Cancer gene therapy using a survivin mutant adenovirus[J]. J Clin Invest, 2009, 108(7): 981-990.

[21] Pan L, Peng XC, Leng F. Therapeutic effects of survivin dominant negative mutant in a mouse model of prostate cancer[J]. Cancer Res Clin Oncol, 2010, 9(2): 1178-1180.

[22] Pennati M, Binda M, De Cesare M, et al. Ribozyme-mediated down-regulation of survivin expression sensitizes human melanoma cells to topotecan in vitro and in vivo[J]. Carcinogenesis, 2004, 257(92): 1129-1136.

[23] Pennati M, Binda M, Colella G, et al. Ribozyme-mediated inhibition of survivin expression increases spontaneous and drug-induced apoptosis and decreases the tumorigenic potential of human prostate cancer cells[J]. Oncogene, 2008, 232(62): 386-394.

[24] 刘集鸿，李旭艳，王艳，等. 实时荧光定量聚合酶链反应检测大肠癌存活素基因(survivin)[J]. 国际检验医学杂志，2010，7(5)：1673-4130.

(收稿日期：2011-05-19)