

· 综述 ·

Survivin 与恶性血液病

刘建刚 左宏波 管洪在

凋亡受阻是肿瘤发生的重要机制之一, DNA 受损的细胞凋亡受阻后继续发生突变的积累导致其恶性增殖便成为肿瘤细胞。恶性血液病是严重危害人类健康的常见恶性肿瘤之一, 同其他实体肿瘤一样, 细胞凋亡受阻后发生恶性增殖是其发生的基础, 因此有关凋亡与恶性血液病关系的研究一直是各国研究者关注的焦点。Survivin 是新近发现的 IAPs (inhibitor of apoptosis proteins) 家族的新成员, 广泛表达于人类多种常见肿瘤中, 能抑制 Caspase 活性而发挥抗凋亡作用。有研究表明应用 RNA 干扰或者反义 RNA 等阻断 Survivin 表达可提高肿瘤细胞对化疗药物的敏感性, 诱导凋亡的发生, 而且 Survivin 表达与多种肿瘤的预后及生存时间减少密切相关, 这说明 Survivin 导致的凋亡抑制作用在肿瘤形成和发展中起着重要作用。许多研究证实, Survivin 在恶性血液病的早期诊断、判断恶性血液病的预后、复发、指导临床治疗等方面具有重要意义。现就其发展状况作一综述。

一、Survivin 的抗凋亡机制

根据以往的研究, Survivin 可能主要通过两条途径来抑制细胞凋亡: 一是通过直接抑制凋亡通路下游效应分子 Caspase 3 和 Caspase 7 的活性, 阻断各种刺激诱导的细胞凋亡过程; 二是 Survivin 与细胞周期蛋白激酶 cdk4、p34cdc2 相互作用阻断凋亡信号转导通路。Survivin 依赖细胞增殖信号进入核内与 cdk4 结合, 导致 cdk2/cyclinE 激活和 Rb 磷酸化, 后者启动细胞进入周期, 加快 G1→S 期的转换, 同时使 p21 从 cdk4 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 等凋亡小体的形成从而抑制细胞凋亡^[1]。

但最近的研究表明, Survivin 并非直接抑制 Caspase 3 而抗凋亡, 通过 X 线晶体照相术把 Survivin 与 XIAP (X-linked inhibitor of apoptosis) (BIR-2) 进行结构对比, 发现 Survivin 不太可能与 Caspase 3 结合, 因 Survivin 缺少 XIAP 样直接与 Caspase 3 结合的长 BIR 活性区域, 所以现在认为 Survivin 更可能与 Caspase 9 结合从而抑制其活性。另外, Survivin 与 Caspase 结合需要中间蛋白。Survivin 可与辅助性线粒体源性 Caspase 激活因子 (second mitochondria derived activator of caspase, SMAC) 结合, SMAC 是一种通过结合 IAP 而保护 Caspase 活性的蛋白^[2], Survivin 与 SMAC 结合并对抗之进而抑制 Caspase 活性。通过这种方式, Survivin 还可保护其他 IAP 家族成员如 XIAP 免受 SMAC 抑制而维持它们的功能。因此, Survivin 可能主要通过三种方式直接或间接抑制 Caspase 活性而抗凋亡: (1) Survivin 直接结合 Caspase 9; (2) Survivin 封闭 SMAC 保护 IAP 家族成员免受其抑制; (3) Survivin 增强 IAP 家族成员功能, 对抗 SMAC 作用。Survivin 周期性的表达于细胞周期的 G2/M 期, 在有丝分裂早期, Survivin 与有丝分裂纺锤体的微管有特异性的饱和反应, 并受微管动力的调节。用微管抑制剂干预 Survivin 与微管之间的相互作用, 可以导致 Survivin 抗凋亡活性的丧失以及 Caspase 3 的激活, 从而引起细胞凋亡。这个结果表明, Survivin 部分地通过对纺锤体微管的作用调节细胞有丝分裂过程, 进而发挥其抗凋亡活性^[3-5]。

新近, 也有学者提出了一些新的机制, Suzucki 等^[1]认为, 在 Fas 刺激和细胞增殖时, Survivin 移入细胞核, 与细胞周期调控因子 cdk4 形成 Survivin/cdk4 复合体, 使得 p21 从 cdk4/p21 复合体中释放出来, P21 进而与线粒体 Caspase3 结合, 抑制其活性, 阻止细胞凋亡。三磷酸鸟苷激酶 (GTPase) 的活化蛋白 RasGAP 是 Ras 蛋白的负调控因子和效应分子, 在肿瘤细胞中, RasGAP 失去了灭活肿瘤 Ras 蛋白的功能。Gigoux 等^[6]认为 Survivin 可能是与 RasGAP 及丝氨酸/苏氨酸激酶 HsAIRK2 结合形成一个三重复合体, 从而对细胞的分化和凋亡进行调节。

另外有研究表明, Survivin 基因与野生型 p53 有一定的关系。研究发现 Survivin 基因是一个被野生型 p53 基因抑制的基因, 染色质免疫沉淀研究表明 p53 结合到 Survivin 基因的启动子上, 这个结合位点与 E2F 转录因子的结合位点相重叠, 并且与经典的 p53 反式激活元件稍微不同。研究还发现在 p53 敏感的细胞系中 Survivin 的过度表达可以明显抑制紫外线诱导的凋亡^[7]。肿瘤组织中 Survivin 的表达与 Bcl-2 的表达以及凋亡指数的降低具有明显的相关性, 而且研究发现, 细胞凋亡率降低的肿瘤患者预后不佳, 但是 Survivin 抑制凋亡的途径与 Bcl-2 不同。此外, Survivin 还可能通过抑制细胞色素 C 的释放在线粒体水平发挥抗凋亡作用。

二、Survivin 在恶性血液病中的表达及临床意义

Survivin 在所有常见的肿瘤中均有所表达, 如肺癌、胃癌、黑色素瘤、结肠直肠癌、神经母细胞瘤和卵巢癌等^[8]。白血病为血液系统的一种恶性肿瘤, 和其他肿瘤一样, 它的发生、发展与细胞凋亡紊乱有密切的关系。Carter 等^[9]研究了急性髓系白血病 (AML) 细胞系及 18 例初发 AML 患者中 Survivin 的表达情况, 发现在全部 AML 细胞系及 16 例 AML 患者中有 Survivin 的表

达,而在正常 CD34⁺ 细胞及外周血单核细胞中无表达。Adida 等^[10] 用免疫荧光法检测 125 例初发 AML 患者骨髓及外周血标本发现,75 份标本测到 Survivin 基因的表达(60%),在这些有表达的标本中,50%~90% 的细胞有 Survivin 的反应活性,并且研究发现 Survivin 表达与低白细胞计数、白血病粒细胞成熟度及 favorable/intermediate 染色体核型有关。

在 AML 各型中 Survivin 的表达存在差异,Adida 等^[10] 认为 M2 型的阳性率明显高于 M1 和 M0 型,Lin 等^[11] 的研究中 AML-M3 型中 Survivin 的阳性表达率比 AML 中其他亚型要低,但是国内王晓娟等^[12] 报道 AML-M3 型 Survivin 的阳性表达率明显高于 M1 和 M2 型。也有学者研究了 44 例不同时期 CML 的 Survivin 表达情况,发现 Survivin 在 CML 加速期和急变期的表达显著高于慢性期,而且 Survivin 的表达水平和 PH 染色体阳性细胞数的百分率,Bcr-Abl 蛋白表达水平及白细胞计数有相关性。

在 AML 细胞培养体系中加入细胞因子可明显提高 Survivin 的表达,而应用全反式视黄酸 96 h 后 Survivin 水平明显降低。同时应用选择性药物抑制剂证明 Survivin 表达调节中特异涉及丝裂原激活蛋白激酶(MEK)及磷脂酰肌醇-3 激酶(PI3K)途径。证明在髓系白血病中,Survivin 高表达受细胞因子调节,提示造血细胞因子至少部分地通过提高细胞内 Survivin 水平发挥抗凋亡及促进有丝分裂作用。通过 Northern blot 分析,在急性 T 淋巴细胞白血病(T-ALL)患者白血病细胞中检测到有 Survivin 高表达,而在慢性 T 淋巴细胞白血病(T-CLL)患者白血病细胞及正常人外周血单核细胞中无 Survivin 表达。对 B 细胞慢性淋巴细胞性白血病(B-CLL)单个核细胞的体外研究证明 CD40 配体(CD40L)可促进 Survivin 在 B 细胞中表达,而在 IAP 家族中仅 Survivin 可由 CD40L 诱导表达。在 B-CLL 患者淋巴结中,Survivin 表达在假滤泡中心细胞上,而在反应性淋巴结中,Survivin 则表达在生发中心细胞上。B-CLL 中 Survivin 阳性细胞呈现高增殖并伴有 Bcl-2 表达。Survivin 高表达白血病患者其完全缓解率较 Survivin 阴性患者要低,且预后较差。应用全反式视黄酸与 TNF α 混合处理 HL-60 细胞 5 d 后,Survivin 表达明显下降;在对抗癌剂阿霉素获得性耐药的 K562 细胞中,Survivin mRNA 表达是亲代 K562 细胞的 1.7 倍。因此,Survivin 表达与白血病诊断、治疗、转归及预后判断密切相关^[13-17]。

Survivin 也可能是成人 T 淋巴细胞白血病(ATL)的一项重要的判断预后的指标。Nakayama 等^[18] 用 RT-PCR 的方法研究发现 Survivin mRNA 在正常成人和成人 T 淋巴细胞白血病(ATL)中的表达有显著不同,他同时也用 Real Time PCR 定量方法检测了 Survivin mRNA 的表达,认为其可作为肿瘤临床分期和微小残留病灶的生物学标记。

在对抑制 Fas 介导凋亡的 3 种因子(FAP-1、FLIP、Survivin)的研究中发现,只有 Survivin 基因在所有的 ATL 病例中均有异常高表达,而且 Survivin 的表达水平在每种 ATL 亚型中有其特异性,Caspase-8 在 ATL 细胞中呈缺陷状态,提示 ATL 细胞的凋亡逃逸作用可能与此也有关系。另外,在对 HTLV-1 感染的 T 细胞系及初发的 T 细胞白血病进行研究时发现,在 9 个 HTLV-1 阳性的 T 细胞系中均可检测到 Survivin 转录产物的表达,且初发的 ATL 细胞中 Survivin 表达水平很高,在慢性 ATL 或正常 PBMNC 却检测不到该基因的表达,用 Survivin 特异性反义寡核苷酸序列治疗后可以使细胞的生长能力降低,提示 Survivin 在 ATL 的发生及发展过程中可能发挥着一定作用^[19]。

在 B-CLL 中,凋亡异常可以导致成熟 CD5⁺ B 细胞在淋巴组织、骨髓及外周血的聚集,在 B 细胞的周围微环境中存在 CD40L,该配体可以调节 IAP 的表达。CD40 刺激 B-CLL 细胞可使 Survivin 表达,而且是惟一可被 CD40L 诱导表达的 IAP 成员。在反应性淋巴结中,仅在高度增生的生发中心细胞中检测到 Survivin 的表达,而在 B-CLL 患者的淋巴结中,仅可以在假滤泡中测到。假滤泡 Survivin⁺ 细胞高度增生,Bcl-2 也呈阳性。在 B-CLL 骨髓切片中可见 CD5⁺ 及 Survivin⁺ B 细胞成簇分布,表明 Survivin 调控着 B-CLL 增生池的抗凋亡过程,而它的表达受到周围微环境的调控。

Survivin 在非霍奇金淋巴瘤(NHL)中的表达与其恶性程度有关,在约 50% 高度恶性的 NHL 中有表达,但低度恶性 NHL 不表达。Adida 等^[20] 评价了 222 例弥漫性大 B 细胞淋巴瘤 Survivin 的表达及预后意义,结果 134 例患者(60%)表达 Survivin, Survivin 阳性者 5 年生存率明显低于 Survivin 阴性者,多变量分析提示 Survivin 可作为大 B 细胞淋巴瘤的预后指标。

三、Survivin 在肿瘤治疗中的作用

肿瘤细胞耐药是传统抗肿瘤治疗方法失败的一个主要原因,众多研究表明 Survivin 表达与肿瘤细胞耐药有关,Survivin 高表达将降低肿瘤细胞对放、化疗的敏感性^[21]。Wall 等^[22] 研究了 CLL 患者和 WSC CLL 细胞株耐药机制。结果发现 2cdA 启动凋亡的同时,又以时间依赖方式诱导 Survivin、XIAP 等蛋白的表达进而抑制凋亡使肿瘤细胞耐药。Moriai 等^[13] 用定量 RT-PCR 检测了 Survivin 在人类恶性造血细胞中的表达,结果发现对阿霉素耐药的 K562/ADR 细胞株,Survivin 的表达高于母系 K562 细胞株。HL-60R 是 HL-60 的多药耐药变异细胞株,在 HL-60 和 HL-60R、p53 和 Bcl-2 的表达并无不同,但 Survivin mRNA 在 HL-60R 表达明显增加,顺铂等药物能减少 HL-60 Survivin 的表达,但对 HL-60 Survivin 的表达基本无影响^[23]。这些结果提示 Survivin 异常表达可能也与恶性血液病的耐药有关。不过,也有学者认为 NHL 和 AML 患者无论是否表达 Survivin,对化疗的反应并无不同。

由于 Caspase 与化疗诱导的凋亡密切相关,而 Survivin 对 Caspase 具有直接或间接抑制作用,使人们预见 Caspase 的自然抑制剂 Survivin 是一种能够提高化疗敏感性的潜在途径。Survivin 在人类肿瘤表达的普遍性及其具有自身功能拮抗作用的异构体的存在,也为人们在肿瘤治疗中探索以 Survivin 为靶点进行免疫治疗或基因治疗提供了有利条件。

Survivin 的靶向治疗基于以下两方面考虑:特异性表达于肿瘤细胞,与其生存能力息息相关。通过仔细研究 Survivin 的功能发现,有丝分裂激酶 p34cdc2 cyclinB1 诱导的磷酸化对于其功能是必需的。由此引出通过干预 Thr34 磷酸化而达到治疗目的。有研究应用磷酸化缺陷型 Survivin, Thr34 \rightarrow Ala 突变[Survivin(T34A)],结果导致 Survivin Caspase 9 复合体从有丝分裂装置上分裂和促使 Caspase 9 凋亡通路的形成。Survivin(T34A)的抗癌特性最近已在骨髓瘤异种移植体合并严重免疫缺陷小

鼠的前临床实验中证实, Survivin(T34A)的表达抑制骨髓瘤的形成和抑制已存在肿瘤的生长。目前一种广泛 CDK 抑制剂——flavorpiridol 已用于临床肿瘤治疗,可阻断 cdc2 对 Survivin 34 位的苏氨酸的磷酸化作用,从而诱导细胞凋亡。

Olie 等^[24]设计了针对 Survivin mRNA 的反义寡聚核苷酸,肿瘤细胞经其处理后 Caspase 3 样蛋白激酶活性增强,细胞出现典型的凋亡改变,同时癌细胞对化疗药物敏感性也有提高。体外研究显示, Survivin 反义 RNA 可以下调转化细胞系中内源性 Survivin 的表达,靶向拮抗 Survivin 可以作为一种有效的促凋亡治疗的新方法。

Survivin 之所以能作为一个较好的抗癌靶点还因为其在肿瘤血管生成方面起着重要作用。在静止的内皮细胞中检测不到,但在受血管生成因素刺激的内皮细胞中强烈表达。在血管生成期应用反义 Survivin 技术,结果血管内皮生长因子的细胞保护效应随即消失,内皮细胞凋亡。因为肿瘤血管生成严格依赖内皮细胞生存能力,因此靶向 Survivin 的治疗有利于已形成血管的凋亡退化从而间接抑制肿瘤生长^[25]。

四、问题与展望

Survivin 作为一种新的凋亡抑制蛋白在白血病发病机制中的作用,以及作为白血病诊断的标记物和治疗靶点的应用已初露端倪,引起了国际上的广泛关注。通过对 Survivin 的深入研究,可以进一步阐明白血病发生、发展的机制,了解 Survivin 在白血病中所起的作用。研究成果可以应用于临床,用于白血病的早期诊断、判断白血病的预后、复发,为指导临床治疗提供理论依据。

Survivin 治疗在白血病中的应用尚处于初步的实验研究阶段。Survivin 的反义寡核苷酸及异构体在白血病治疗中的研究尚未见报道,靶向 Survivin 治疗对机体组织修复和正常血细胞生成的影响究竟如何,也有待阐明。不过,随着 Survivin 生物特性和各种治疗策略研究的深入,可以预见,靶向 Survivin 治疗与其他抗肿瘤治疗相结合,将能最大限度地发挥抗肿瘤效应。

参 考 文 献

- [1] Suzuki A, Ito T, Kawano H, et al. Survivin initiates procaspase3/p21 complex formation as a result of interaction with Cdk4 to resist Fas mediated cell death. *Oncogene*, 2000, 19:1346-1353.
- [2] Verhagen AM, Ekort PG, Pakusch M, et al. Identification of DIABLO, a mammalian protein that promotes apoptosis by binding to and antagonizing IAP proteins. *Cell*, 2000, 102:43-53.
- [3] Wen LJ, Gao LF, Ji K, et al. Suppressing the growth of Hep-2 human laryngeal cancer cells by silencing survivin gene in vitro and in vivo. *Zhonghua Er Bi Yan Hou Tou Jing Wai Ke Za Zhi*, 2010, 45:674-679.
- [4] Wang HX, Chen G, Li GL, et al. Expression and significance of Survivin and Smac in ovarian mucinous tumors. *Zhonghua Bing Li Xue Za Zhi*, 2010, 39:387-390.
- [5] Nowak-Markwitz E, Puła B, Szajnisk M, et al. Expression of survivin, SDF-1 and CXCR4 on tumor cells in ovarian cancer. *Ginekol Pol*, 2010, 81:674-677.
- [6] Gigoux V, L'Hoste S, Raynaud F, et al. Identification of Aurora Kinases as Ras GAP Src homology 3 domain binding proteins. *J Biol Chem*, 2002, 277:23742-23746.
- [7] Hoffman WH, Biade S, Zilfou JT, et al. Transcriptional repression of the antiapoptotic survivin gene by wild type p53. *J Biol Chem*, 2002, 277:3247-3257.
- [8] 朱根海, 陈春英, 梁荣. 卵巢上皮癌旁不同距离组织中 survivin 及 MMP-2/TIMP-2 的表达[J/CD]. *中华临床医师杂志:电子版*, 2011, 5:111-114.
- [9] Carter BZ, Milella M, Alteiri DC, et al. Cytokine regulated expression of survivin in myeloid leukemia. *Blood*, 2001, 97:2784-2790.
- [10] Adida C, Recher C, Raffoux E, et al. Expression and prognostic significance of surviving in de novo acute myeloid leukemia. *Br J Haematol*, 2000, 111:196-203.
- [11] Lin M, Meng X, Cai Z, et al. Expression and clinical significance of anti-apoptosis gene, survivin, in acute leukemia. *Zhonghua Xue Ye Xue Za Zhi*, 2002, 23:251-253.
- [12] Xiaojuan Wang, Guoyi Dai, Limin Cao, et al. Prognostic significance of expression of surviving in acute leukemia. *Chinese Journal of Cancer Research*, 2002, 14:265-269.
- [13] Moriai R, Asanuma K, Kobayashi D, et al. Quantitative analysis of the antiapoptotic gene survivin expression in malignant haematopoietic cells. *Anti Cancer Res*, 2001, 21:595-600.
- [14] Liu B, Bai QX, Chen XQ, et al. Effect of curcumin on expression of survivin, Bcl-2 and Bax in human multiple myeloma cell line. *Zhongguo Shi Yan Xue Ye Xue Za Zhi*, 2007, 15:762-766.
- [15] Chen Y, Li D, Liu H, et al. Notch-1 signaling facilitates survivin expression in human non-small cell lung cancer cells. *Cancer Biol Ther*, 2011, 11:14-21.
- [16] Cheung CH, Sun X, Kanwar JR, et al. A cell-permeable dominant-negative survivin protein induces apoptosis and sensitizes prostate cancer cells to TNF- α therapy. *Cancer Cell Int*, 2010, 10:36.
- [17] Dai J, Jin G, Dong J, et al. Prognostic significance of survivin polymorphisms on non-small cell lung cancer survival. *J Thorac Oncol*, 2010, 5:1748-1754.

- [18] Nakayama K, Kamihira S. Survivin an important determinant for prognosis in adult T cell leukemia: A Novel Biomarker in Practical Hematology. *Leukemia and Lymphoma*, 2002, 43:2249-2255.
- [19] Mori N, Yamada Y, Ham T, et al. Expression of survivin in HTLV-I-infected T-cell lines and primary ATL cells. *Biochem Biophys Res Commun*, 2001, 282:1110.
- [20] Adida C, Haioun C, Gaulard P, et al. Prognostic significance of survivin expression in diffuse large B cell lymphomas. *Blood*, 2000, 96:1921-1925.
- [21] 宋暉, 辛晓燕, 赵海波, 等. survivin 基因 RNA 干涉对宫颈癌裸鼠移植瘤生长及凋亡和顺铂化疗敏感性的影响[J/CD]. 中华临床医师杂志:电子版, 2010, 4:1505-1511.
- [22] Wall NR, Beck FW, AIKatib AM, et al. Treatment induced expression of anti apoptotic proteins in WSC CLL, a human chronic lymphocytic leukemia cell line. *Drug Target*, 2001, 9:329-339.
- [23] Notarbartolo M, Cervello M, Dusonchet L, et al. Resistance to diverse apoptotic triggers in multidrug resistant HL-60 cells and its possible relationship to the expression of Pglycoprotein, Fas and of the novel antiapoptosis factors IAP (inhibitory of apoptosis proteins). *Cancer Lett*, 2002, 180:91-101.
- [24] Olie RA, Simoes Wust AP, Baumann B, et al. A novel antisense oligonucleotide targeting surviving expression induces apoptosis and sensitizes lung cancer cells to chemotherapy. *Cancer Res*, 2000, 60:2805-2809.
- [25] Carlsson G, Boxhammer S, Garwicz D, et al. Survivin expression in the bone marrow of patients with severe congenital neutropenia. *Leukemia*, 2009, 23:622-625.

(收稿日期:2011-03-08)

(本文编辑:巨娟梅)

刘建刚, 左宏波, 管洪在. Survivin 与恶性血液病[J/CD]. 中华临床医师杂志:电子版, 2011, 5(9):2659-2662.