

微型述评

新的凋亡抑制因子 Survivin 的研究进展

闵玲* 周克元

(广东医学院生物化学与分子生物学研究所, 湛江 524023)

摘要 Survivin 是近年来发现的一种凋亡抑制因子, 属于凋亡抑制蛋白 (inhibitor of apoptosis proteins, IAP) 家族的新成员; 主要通过抑制 caspase-3 和 caspase-7 的活性而阻断细胞凋亡过程. Survivin 选择性地表达于胚胎发育组织和大多数肿瘤组织, 而正常成人终末分化组织中不表达. Survivin 参与了细胞周期调控, 与肿瘤的发生、发展和预后密切相关, 可作为肿瘤治疗的新靶点.

关键词 survivin, 细胞凋亡, 肿瘤, 凋亡抑制蛋白

学科分类号 Q28

1 Survivin 的结构

1997 年耶鲁大学的 Altieri 等^[1]用效应细胞蛋白酶受体-1 (effector cell protease receptor-1, EPR-1) cDNA 在人类基因组文库中筛选克隆出 survivin 基因. 人 survivin 基因与 EPR-1 基因的编码区序列高度互补, 位于染色体 (17q25) 的同一基因族. Survivin 基因全长 14.7 kb, 由 4 个外显子和 3 个内含子组成, 外显子 1 上游 2 560~2 920 bp 是 survivin 基因无 TATA 启动子和 GC 富集区. Survivin 基因启动子含有 3 个 CDE 序列 GCGG 和 1 个 CHR 序列 ATTTGAA. Survivin 基因编码产生一个由 142 个氨基酸组成的分子质量为 16.5 ku 的胞浆蛋白, 人鼠 survivin 蛋白同源率为 84.3%. Survivin 蛋白结构在 IAP 家族中是非常独特的, 它是同源二聚体, 每个单体分子 N 端仅含有一个较为保守的富含半胱氨酸/组氨酸的杆状病毒 IAP 重复序列 (baculovirus IAP repeat, BIR), BIR 结构域由 1 个反向平行的 β 片层 (残基 15~89) 和 4 个小 α 螺旋节段构成, 含有对抑制凋亡有重要作用的氨基酸残基 Trp⁶⁷, Pro³³ 和 Cys⁸⁴, C 端含有一个长度为 6.5 nm, 由 40 个氨基酸组成的两性 α 螺旋结构, 主要调节 survivin 的定位分布.

Survivin 前体 mRNA 选择性剪接可产生不同的剪接变体. Mahotka 等在肾癌细胞株鉴定了 2 个 survivin 剪接异构体. 一个是序列中缺少外显子 3 的 survivin Δ EX3, 另一个是把内含子 2 (4 460~4 528 nt) 作为一个隐蔽外显子的 survivin 2B. 两

者序列的改变导致了相应蛋白质具有不同的生物学活性和/或亚细胞定位分布. Conway 等在人和鼠的组织内发现了 3 个 survivin 的异构体 survivin-140、survivin-128 (鼠为 survivin-120) 和 survivin-40. 只有包含 BIR 结构域的 survivin-140、survivin-128 能抑制 caspase-3 的功能. 目前对 survivin RNA 选择性剪接的作用机理仍不清楚.

2 Survivin 与细胞周期

Survivin 在细胞中的表达具有严格的细胞周期依赖性——G2/M 期特异性表达. 在分裂间期, survivin 与中心体共同定位于胞质; 有丝分裂前期和中期, survivin 转移到核内与 CENP-B 共同结合在着丝粒上; 有丝分裂后期, survivin 与赤道板上的纺锤体微管结合; 有丝分裂末期, survivin 与形成中心体的微管束结合, 分布在两个子细胞的中心体内; 末期结束后 survivin 被降解. 进一步的研究发现 survivin 与 INCENP 具有相似地细胞周期分布和基因敲除表型, 并证实了 survivin 在有丝分裂中充当一个动原粒相关蛋白, 与其他染色体信使蛋白 INCENP、Aurora B 激酶等相互作用, 调节微管组织中心和卵裂沟的形成、染色体分离和胞质分裂. 此外, survivin 是 caspase-3 和 caspase-7 的直接抑制因子^[2], 使 caspase-3 不能有效地水解微管结构蛋白, 因而维持了纺锤体的完整性, 确保胚胎细胞有

* 通讯联系人.

Tel: 0759-2388581, E-mail: minlingling@263.net

收稿日期: 2001-12-14, 接受日期: 2002-03-06

丝分裂正常进行, 而肿瘤组织中过度表达的 survivin 却促使肿瘤细胞不断分裂增殖, 加快肿瘤的生长。

3 Survivin 与细胞凋亡

研究认为 survivin 是细胞凋亡与细胞周期检查点之间的界面分子 (interface). survivin 可能主要通过两条途径来抑制细胞凋亡: 其一是通过直接抑制凋亡终末效应器 caspase-3 和 caspase-7 的活性阻断各种刺激诱导的细胞凋亡过程; 其二是 survivin 与周期蛋白激酶 cdk4、p34^{cdc2} 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, Rb 磷酸化后启动细胞进入周期, 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 从而抑制细胞凋亡^[3]. 最近还发现 survivin 是周期蛋白激酶 p34^{cdc}-cyclin B1 的有丝分裂期底物, survivin Thr³⁴ 位点磷酸化后与 caspase-9 结合并抑制其活性, 阻断 caspase-9 依赖性的细胞凋亡信号传导。

4 Survivin 与细胞因子

细胞因子通过细胞内生长信号传导可以调节 Survivin 的表达. 应用白介素-11 (IL-11) 体外刺激去除血清和生长因子的 HUVEC 细胞, 结果 Survivin mRNA 和蛋白质水平呈剂量依赖式上调. 将人的皮肤移植入裸鼠, 然后向皮肤移植体内注射 500 ng IL-11, 结果 survivin 的蛋白质含量明显增加, 并进一步证实了 IL-11 是通过活化 STAT3 信号传导上调 survivin 的表达水平. 细胞因子 G-CSF、GM-CSF 和 SCF 都能诱导急性髓细胞性白血病 (AML) 细胞内源性 survivin mRNA 和蛋白质水平上调, 三者联合刺激后, survivin 的表达水平增加更为明显, 三者也是通过活化 MEK/ERK 和/或 PI3K 信号转导通路上调 survivin 的表达. 因此, 这些细胞因子发挥它们的抗凋亡和促有丝分裂的作用, 至少部分是通过增加 survivin 的表达实现的^[4]. 至于 survivin 与细胞内的这些生长信号传导通路之间的关系仍不太清楚, 可能是这些蛋白激酶的磷酸化底物, 有待实验证实。

已有报道表明 Survivin 参与了血管形成过程. 血管内皮生长因子 (VEGF) 和血管形成素-1

(Ang-1) 都能诱导血管内皮细胞表达 survivin, 而且 Ang-1 的作用依赖于 survivin 的表达上调, 体外实验证实 survivin 参与了三维毛细血管网的形成, 有学者推测它可能是血管生成过程中 VEGF 与血管内皮生长因子受体 (VEGFR) 信号转导通路的下游信号分子 PKC 或 Akt 的作用底物。

5 Survivin 与肿瘤

Survivin 表达于胚胎和发育的胎儿组织, 在终末分化的成人组织中不表达 (胸腺除外), 但在人类大多数的肿瘤组织和转化细胞中大量表达. Survivin 在结肠癌的总表达率为 53.2%, 其表达水平与结肠癌的病理演进有关, survivin 的检测能预测 II 期结肠癌的复发, survivin 表达阳性患者 5 年生存率明显低于 survivin 表达阴性患者分别是 44.8% 和 94.4%, 提示 Survivin 引起的凋亡抑制是结肠癌患者预后的重要参数. Shigeru 等检测了小儿肾肿瘤组织中促凋亡因子 Fas 和抑凋亡因子 survivin 的表达情况, 通过统计学分析得出 survivin: Fas mRNA 的比率是预测该肿瘤复发的一个良好指标, 若其比值大于 1.6, 则预测无论何种临床阶段和病理类型的小儿肾肿瘤都具有较高的复发可能性. 以上结果表明 survivin 参与肿瘤的发生、发展, 与肿瘤的预后不良、复发密切相关, 是一个具有潜在价值的肿瘤标志物。

Survivin 选择性地表达于肿瘤组织及其抗凋亡作用引起人们的研究兴趣, 成为近年来研究热点之一. 目前主要应用人工合成的 survivin 反义寡核苷酸、反义 RNA 以及负显性突变体转入肿瘤细胞内抑制 survivin 表达, 从而抑制肿瘤细胞增殖, 促进其凋亡. 人工合成的反义寡核苷酸 4003 经脂质体转染肺癌 A549 细胞, 4003 以剂量依赖式下调 survivin mRNA, 细胞出现凋亡特征性变化, 细胞增殖同时也受到抑制, 与化疗药物依托泊甙联合用药增加了肿瘤细胞对依托泊甙诱导凋亡的敏感性. Grossman 等分别把 survivin 突变体 (Cys85Ala) 和反向的 survivin cDNA 亚克隆到绿色荧光蛋白标记质粒 pEGFPc1 上, 将其转染皮肤癌角化细胞 HaCat, 两者都诱导 HaCat 自发性凋亡, 与对照组相比, 凋亡指数增加 3 倍. Mesri 等^[5]把含有磷酸化缺失的 Survivin 突变体 (Thr³⁴→Ala) 的腺病毒 pAD-T34A 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自发性地凋亡, 线粒体释放细胞色素 c, caspase-3 的活性增加. 将

PAD-T34A 注射入 3 只移植有乳腺癌细胞的裸鼠体内, 结果 pAD-T34A 抑制了新生肿瘤的形成, 已形成的肿瘤生长抑制了 40%, 而且腹膜内肿瘤的扩散减少. 可见, 以 survivin 为靶向的基因治疗具有潜在的应用价值, 有望成为肿瘤治疗的新靶点.

综上所述, survivin 作为一种新的凋亡抑制蛋白具有多重功能, 不仅能够抑制细胞凋亡而且还能启动细胞增殖, 调节细胞周期. Survivin 在正常成人组织中是一个“关闭”的基因, 在肿瘤组织中被激活而参与肿瘤的发生、发展. 目前对 Survivin 的研究取得了一定的进展, 但仍有许多问题尚未阐明. 比如, Survivin 在有丝分裂中的具体作用, Survivin 抗凋亡的分子机制, Survivin 在肿瘤发生中是如何起作用的等等. 但相信随着研究的深入,

一定会为肿瘤的诊断治疗开辟新的途径.

参 考 文 献

- 1 Ambrosini G, Adida C, Altieri D C. A novel anti-apoptosis gene, survivin, expressed in cancer and lymphoma. *Nat Med*, 1997, **3** (8): 917~ 921
- 2 Shin S, Sung B J, Cho Y S, *et al.* An anti-apoptotic protein human survivin is a direct inhibitor of caspase 3 and 7. *Biochemistry*, 2001, **40** (4): 1117~ 1123
- 3 Suzuki A, Ito T, Kawano H, *et al.* Survivin initiates procaspase 3/p21 complex formation as a result of interaction with Cdk4 to resist Fas-mediated cell death. *Oncogene*, 2000, **19** (10): 1346 ~ 1353
- 4 Carter B Z, Milella M, Altieri D C, *et al.* Cytokine regulates expression of survivin myeloid leukemia. *Blood*, 2001, **97** (9): 2784~ 2790
- 5 Mesri M, Wall N R, Li J, *et al.* Cancer gene therapy using a survivin mutant adenovirus. *J Clin Invest*, 2001, **108** (7): 981~ 990

Recent Advances in a Novel Anti-apoptosis Factor: Survivin

MIN Ling^{*}, ZHOU Ke-Yuan

(*Institute of Biochemistry, Guangdong Medical College, Zhanjiang 524023, China*)

Abstract Survivin is a recently identified member of the inhibitor of apoptosis protein (IAP) family, which inhibits processing of downstream effector caspase 3 and caspase 7 in cell receiving apoptotic stimulus. Unlike other IAP protein, found during embryonic and fetal development, survivin was completely down-regulated and undetectable in normal adult tissues, and became prominently reexpressed in all of the most common cancers. Survivin plays important role in regulation of cell cycle. Its expression in tumors has been associated with increased aggressiveness, recurrence and decreased patient survival. Survivin may be a new target for cancer therapy.

Key words survivin, apoptosis, tumor, inhibitor of apoptosis protein (IAP)

^{*} Corresponding author. Tel: 86-759-2388581, E-mail: minlingling@263.net

Received: December 14, 2001 Accepted: March 6, 2002