

· 综 述 ·

细胞凋亡通路中的 survivin 分子在肿瘤中的研究进展*

谭寒星, 黄利鸣 综述, 王艳林 审校

(三峡大学医学院分子生物研究所, 湖北宜昌 443002)

关键词: 细胞凋亡; 肿瘤; survivin

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2011.14.042

文献标识码: A

文章编号: 1671-8348(2011)14-1444-03

细胞程序性凋亡(apoptosis)是一种细胞生理性、程序性死亡的过程,在胚胎发育、组织器官塑型以及衰老和病态细胞清除中起重要作用。各种环境因素和遗传因素导致细胞失去发生凋亡的能力,是肿瘤发生与发展的关键因素之一,因而激发和恢复肿瘤细胞发生凋亡的能力,是肿瘤防治的有效途径^[1-2]。survivin 是肿瘤凋亡抑制蛋白(inhibitors of apoptosis protein, IAPs)家族的重要成员,其活性与肿瘤的关系近来受到广泛关注。本文综述了 survivin 与肿瘤关系的研究进展。

1 survivin 基因的结构及其功能

Crook^[3]等于 1993 年在苹果蠹蛾颗粒体病毒(Cydia pomonella granulovirus, CpGV)中首先发现 IAP 基因,它能抑制缺失 p35 基因的苜蓿银纹夜蛾核型多角体病毒(autographa californica multicapsid nucleopolyhedrovirus, AcMNPV)突变株诱导的 Sf221 细胞凋亡,以后在 AcMNPV、OpMNPV 等其他杆状病毒中也发现存在 IAP 基因^[3-4],在人类组织细胞中,至少发现了 8 个 IAP 蛋白家族成员。IAP 蛋白家族结构的共同特点是在 N 端含有 1~3 个由约 80 个氨基酸构成的重复序列,称之为杆状病毒 IAP 重复序列(baculoviral IAP repeat, BIR)。BIR 是 IAP 的特征性结构,为一种锌指折叠结构,包含 4 或 5 个 α 螺旋和 3 个 β 折叠结构。IAP 蛋白的 C 端包含或不包含 1 个指环(ring finger)结构,指环含 40 个氨基酸(包括 8 个半胱氨酸残基和组氨酸残基)。毗邻指环结构的泛素结合区域(ubiquitin-associated, UBA)具有 E3 泛素连接酶活性,经泛素-蛋白酶体介导蛋白降解。

胱天蛋白酶(Caspase)家族成员在细胞凋亡的信号调制和启动死亡的过程中发挥关键作用。在 Caspase 蛋白的 N 末端含有 IAP 结合基序(IAP binding motif, IBM),IAP 蛋白中 BIR 结构域能与活化的 Caspase 蛋白中 IBM 结合,并由此抑制 Caspase 活性,进而抑制细胞凋亡发生。IAP 蛋白家族中的部分成员含有 Caspase 募集结构域(caspase recruitment domain, CARD),由 6 个 α 螺旋构成,位于 BIR 与指环结构之间,具有介导蛋白和蛋白相互作用的功能,通过与其他包含此结构域的蛋白形成寡聚体,调节细胞死亡^[5-6]。

已发现人类 IAP 蛋白家族的 8 个成员为 NAIP, c-IAP1, c-IAP2, XIAP, ILP2, Livin, BRUCE 及 survivin, 其中 survivin 在家族成员中相对分子质量最小。survivin 基因克隆于 1997 年,全长 14.5 kb,位于染色体 17q25 上,由 4 个外显子和 3 个内含子组成。外显子和内含子不同组合形成 survivin mRNA 多种剪切异构体。其结构有别于 IAP 蛋白家族其他的成员的是, N 端只有一个 BIR 结构域, C 端缺乏 ring finger 结构,而由一个含 40 个氨基酸组成的 α 螺旋形成的卷曲结构代替。survivin

蛋白含 142 个氨基酸,相对分子质量为 16.5×10^3 ^[5-10]。X 射线衍射晶体分析法显示, survivin 蛋白在溶液中以独特的二聚体存在。

survivin 除具有 IAP 家族成员共有的抑制细胞凋亡的作用外,还参与细胞有丝分裂的调节和胞质分裂,其表达有严格的细胞周期依赖性,于 G₂/M 期的表达量达到最大, G₁/S 期表达量最小。survivin 过度表达会促使异常转化的细胞越过凋亡检测点,并顺利通过有丝分裂,从而促进细胞增殖,增强对治疗药物的耐受性。survivin 在细胞核和细胞质中均有分布,在分裂间期, survivin 与中心体共同定位于细胞质;在有丝分裂前期和中期, survivin 转移到细胞核内与着丝粒蛋白-B(CENP-B)共同结合在着丝粒上;在有丝分裂后期, survivin 与赤道板上的纺锤体微管结合;在末期,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;在细胞质分裂中,它则通过肌球蛋白-肌球蛋白收缩环浓缩在中间体上^[10-13]。另外, survivin 还与血管形成有关,在血管发生和形成中扮演重要角色。血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)能够上调血管内皮细胞中 survivin 的表达,后者则通过促进血管内皮细胞增殖而有利于新生血管的形成。研究发现,能将细胞周期抑制于 G₁ 期和 S 期的因素,也能抑制 VEGF 介导的 survivin 表达上调,由此可将 survivin 作为抗血管形成的靶点而用于肿瘤防治^[14-16]。

2 survivin 在肿瘤组织中的表达及其治疗

survivin 是 IAP 蛋白家族中惟一于生长发育过程中普遍表达于胎肺及其他胎体器官的成员。在正常成年人组织仅见于胸腺、睾丸、分泌期子宫、基部的结肠上皮细胞及有再生功能的造血干细胞,但在变异细胞和几乎所有的恶性肿瘤,如肺癌、乳腺癌、胰腺癌、结肠癌、软组织肉瘤、脑肿瘤、黑色素瘤、神经母细胞瘤、白血病、食管癌、胃癌、肝癌、膀胱癌、子宫癌及卵巢癌等均有不同程度的表达,且其表达与肿瘤恶性程度、侵袭性及临床预后相关^[9-10, 17]。

有研究显示, survivin 蛋白和 survivin mRNA 在宫颈炎组织中仅微量表达,在宫颈炎前病变和宫颈癌组织的表达依次显著增强,在宫颈炎前病变、宫颈浸润癌组织中 survivin mRNA 和蛋白两者的表达量均呈正相关,而在宫颈炎组织中两者无明显相关性^[18]。survivin mRNA 在恶性肿瘤中的表达具有高度的选择性,在癌组织中的表达随着病理分期的进展而不断提高。另有研究发现,食管鳞状细胞癌(esophageal squamous cell carcinoma, ESCC)肿瘤组织 survivin 表达阳性,而远癌组织 survivin 表达阴性,且 survivin 的表达与否与其启动子 CpG 岛的甲基化状态无关,提示该区域的甲基化修饰未参与调控 sur-

* 基金项目:国家自然科学基金资助项目(30873282);湖北省自然科学基金计划项目(2009CDA060)。

vivin 基因的转录^[19]。有资料显示, survivin 在肿瘤细胞耐药方面扮演重要角色, 紫杉醇诱导的微管稳定及有丝分裂阻滞能增加 survivin 表达最终使凋亡通路被阻断^[20]。survivin 不同程度地表达于几乎所有的恶性肿瘤, 这是多种机制导致 survivin 基因表达调节失控的结果, 如染色体 17q25 上 survivin 基因扩增、survivin 基因低甲基化、基因启动子活化、p53 功能缺失、增强的磷脂酰肌醇(-3)激酶上游信号和促细胞分裂的蛋白激酶通路^[10]。

鉴于 survivin 高表达与肿瘤发生的密切相关性, 针对 survivin 表达的反义 RNA^[21]、显性失活突变体^[22]、survivin 核酶, survivin-siRNA^[23-24] 及 siRNA 联合化疗等开始被用于肿瘤的基础与临床研究。Wu 等^[21]的研究结果表明, 反义核苷酸能激活 Fas 介导的凋亡途径并抑制骨肉瘤细胞 MG-63 的增殖, 且生长抑制率与凋亡率有剂量依赖性, 当反义核苷酸剂量达到 600 nM 时, 其作用达峰值。Cheung 等^[22]将突变(C84A)失活的 survivin 与多聚精氨酸穿膜肽(R9)进行基因重组, 并在大肠杆菌中获得重组蛋白 dNSurR9-C84A, 当将这种重组蛋白转入三维培养的 HeLa 和 DU145 细胞中后, 它能够通过激活 Caspase-9 和 Caspases-3 活性以及增强细胞对 TNF- α 的敏感性来诱导细胞凋亡^[23]。Shen 等^[24]通过设计 3 种 shRNA, 成功沉默了人胰腺癌 Patu8988 细胞中 survivin 基因的表达, 然而较之设计一个 shRNA 位点的方法而言, 两个 shRNA 位点并没有明显提高干扰的能力。Li 等^[25]设计的 siRNA 也成功沉默了子宫颈癌 HeLa 和乳腺癌 SKBr-3 细胞中的 survivin。

3 结 语

survivin 作为一种重要的抑制凋亡因子, 在肿瘤和癌前病变的早期诊断及判断预后中将发挥重要作用。随着 survivin 对凋亡和细胞周期调控确切作用机制的逐步阐明, 以 survivin 作为靶点开发新的抗肿瘤药物和设计新的治疗手段, 对恶性肿瘤的临床治疗将具有潜在的重大价值。

参考文献:

- Ghavam S, Hashemi M, Ande SR, et al. Apoptosis and cancer: mutations within caspase genes[J]. *J Med Genet*, 2009, 46(8): 497-510.
- 孙玉宁, 王升启. 以细胞凋亡通路为靶点的抗肿瘤分子治疗研究进展[J]. *国外医学药学分册*, 2006, 33(5): 321-324.
- Crook NE, Clem RJ, Miller LK. An apoptosis-inhibiting baculovirus gene with a zinc finger-like motif[J]. *J Virol*, 1993, 67(4): 2168-2174.
- 张瑞, 姚青, 彭建新, 等. 杆状病毒 IAP 基因的结构、功能及其进化[J]. *微生物学通报*, 2006, 33(1): 128-132.
- Mace PD, Shirley S, Day CL. Assembling the building blocks: structure and function of inhibitor of apoptosis proteins[J]. *Cell Death Differ*, 2010, 17(1): 46-53.
- 许杨, 赵晓航. IAP 家族分子与肿瘤靶向治疗[J]. *生命科学*, 2010, 22(2): 161-168.
- Li F, Ambrosini G, Chu EY, et al. Control of apoptosis and mitotic spindle checkpoint by survivin[J]. *Nature*, 1998, 391(6711): 580-584.
- Altieri DC. New wirings in the survivin networks[J]. *Oncogene*, 2008, 27(48): 6276-6284.
- Fangusaro JR, Caldas H, Jiang Y, et al. survivin: An Inhibitor of Apoptosis in Pediatric Cancer[J]. *Pediatr Blood Cancer*, 2006, 47(1): 4-13.
- Mita AC, Mita MM, Nawrocki ST, et al. Survivin: key regulator of mitosis and apoptosis and novel target for cancer therapeutics[J]. *Clin Cancer Res*, 2008, 14(16): 5000-5005.
- 王建英, 兰邹然, 于兴华. survivin 在细胞分裂中的作用[J]. *细胞生物学杂志*, 2006, 4(28): 566-570.
- Wang K, Jiang GJ, Wei L, et al. Survivin is a critical regulator of spindle organization and chromosome segregation during rat oocyte meiotic maturation[J]. *Zygote*, 2010, 4(1): 1-7.
- Borbely AA, Murvai M, Szarka K, et al. Survivin promoter polymorphism and cervical carcinogenesis[J]. *J Clin Pathol*, 2007, 60(3): 303-306.
- Tran J, Rak J, Sheehan C, et al. Marked Induction of the IAP Family Antiapoptotic Proteins Survivin and XIAP by VEGF in Vascular Endothelial Cells[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 1999, 264(3): 3781-3788.
- 张煜, 周逸鸣, 崔尧元. survivin 在星形细胞瘤中的表达及与血管内皮生长因子和微血管密度的关系[J]. *复旦学报: 医学版*, 2004, 31(4): 375-377.
- Blanc-Brude OP, Mesri M, Wall NR, et al. Therapeutic targeting of the survivin pathway in cancer: initiation of mitochondrial apoptosis and suppression of tumor-associated angiogenesis[J]. *Clin Cancer Res*, 2003, 9(7): 2683-2692.
- Liang Q, Wang B, Li G, et al. DeR3 and survivin are highly expressed in colorectal carcinoma and closely correlated to its clinicopathologic parameters[J]. *J Zhejiang Univ Sci B*, 2009, 10(9): 675-682.
- 惠燕, 黄利鸣, 叶红. survivin 在人宫颈癌前病变和宫颈浸润癌组织中的定量分析及其临床价值的评估[J]. *肿瘤防治研究*, 2008, 35(1): 39-42.
- 胡华梅, 杨晓亚, 熊刚. 食管鳞状细胞癌 survivin 表达与其 CpG 岛甲基化的研究[J]. *第三军医大学学报*, 2010, 32(1): 13-15.
- Pennati M, Folini M, Zaffaroni N, et al. Targeting survivin in cancer therapy: fulfilled promises and open questions[J]. *Carcinogenesis*, 2007, 28(6): 1133-1139.
- Wu YF, Liang XJ, Liu YY, et al. Antisense oligonucleotide targeting survivin inhibits growth by inducing apoptosis in human osteosarcoma cells MG-63[J]. *Neoplasma*, 2010, 57(6): 501-506.
- 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[J]. *Cancer Cell Int*, 2010, 10(1): 43.
- Wang J, Liu Y, Tian H, et al. Effect of survivin-siRNA on drug sensitivity of osteosarcoma cell line MG-63[J]. *Chin J Cancer Res*, 2009, 21(3): 68-72.
- Shen Y, Yang X, Song M, et al. Growth inhibition induced by short hairpin RNA to silence survivin gene in human pancreatic cancer cells[J]. *Hepatobiliary Pancreat Dis*

Int, 2010, 9(1): 69-77.

(7): 860-866.

[25] Li Q, Zhao J, Liu J, et al. Survivin stable knockdown by siRNA inhibits tumor cell growth and angiogenesis in breast and cervical cancers[J]. Cancer Biol Ther, 2006, 5

(收稿日期: 2010-05-10 修回日期: 2010-10-10)

· 综 述 ·

头颈部肿瘤放射治疗致唾液腺损伤的研究进展*

彭 哲 综述, 徐志文 审校

(广西医科大学附属第一医院耳鼻喉头颈外科, 南宁 530021)

关键词: 放射性口干; 唾液腺功能; 形态学

doi: 10.3969/j.issn.1671-8348.2011.14.043

文献标识码: A

文章编号: 1671-8348(2011)14-1446-03

放射治疗(放疗)是鼻咽癌等头颈部肿瘤的主要治疗方式。由于整个或部分唾液腺组织经常被包括在放疗野内, 从而导致唾液腺组织不同程度的损伤, 使大多数患者出现放射性口干^[1-2]。放射性口干是头颈部肿瘤患者接受放疗后常见的并发症, 从而导致患者生存质量降低^[3-5]。但其发生机制至今尚未完全明确, 本文主要综述放疗导致的唾液腺损伤在其功能、形态学及细胞水平等方面的变化。

1 唾液腺的组成及其生理功能

人类的唾液腺由腮腺、颌下腺和舌下腺三大唾液腺以及分布于黏膜的小唾液腺组成。90%的混合性唾液由三大唾液腺分泌, 在未受刺激的状态下, 2/3的唾液分泌来源于颌下腺; 在刺激状态下, 1/2的唾液分泌来源于腮腺; 其他微小腺体分泌的唾液量约占总唾液量的10%, 但由于其富含黏液, 因此对口腔黏膜起持续性润滑作用。正常生理状态下, 人体每天的唾液分泌量为0.5~1.0 L, pH值为6.5~7.4。唾液的分泌分为两个阶段: 第一阶段是神经递质刺激水分、蛋白质和电解质进入腺泡细胞腔内形成原唾液; 第二阶段是原唾液在导管内的修饰, NaCl的重吸收, K⁺和HCO₃⁻的排出和一些蛋白质分泌, 随后进入口腔^[6]。

2 放疗后唾液腺功能的改变

唾液腺细胞分裂缓慢, 更新周期长, 理论上应该对电离辐射不敏感, 而临床上通常在放疗后早期患者即发生口干症状^[3]。因此, 可认为唾液腺是放射敏感组织, 许多学者对此现象进行了广泛的研究和探讨, 但至今放射性唾液腺损伤机制尚未完全阐明。

2.1 放疗后唾液量的改变 有相关文献报道放疗后唾液流量的降低是导致口干的重要因素之一, 同时也是检测放疗后唾液腺功能受损最直接的方法。唾液流量减低或被抑制取决于: (1)唾液腺组织的放射敏感性。Jentzen等^[7]对50位鼻咽癌接受放疗患者进行放疗前、放疗中、放疗后1、3、6个月及1、2年的刺激性和非刺激性的唾液分泌测量, 结果发现, 在8周的放疗过程中, 患者于放疗第4天, 即接受放疗剂量为720 CGy时, 刺激性和非刺激性唾液分泌量下降40%~50%, 且放疗后唾液分泌量随着时间的推移不能恢复。(2)唾液腺组织受照射的范围。Baharudin等^[8]检测了30例头颈部肿瘤患者已接受放疗的唾液分泌量, 发现在放疗过程中, 全部唾液腺被包括在放疗野内的患者唾液分泌量比只有部分唾液腺被包括在放疗野

的患者下降明显。(3)照射剂量(单次照射量及累积量)。有学者认为当接受头颈部肿瘤放疗的总剂量小于25~30 Gy时, 2年后唾液腺功能可以恢复到放疗前水平^[9]。正因为剂量相关学说得到了多数学者的认可, 因此近年新发展起来的同步加速调强放疗在提高靶目标吸收剂量的同时, 更好地控制了周围正常组织的剂量吸收率, 特别是使放射敏感的唾液腺组织在一定程度上受到了保护, 从而减轻放疗后口干^[10-12]。

2.2 放疗后唾液的电解质及生化改变 放疗后唾液的电解质和生化的改变使唾液的正常功能受到不同程度的影响, 由此引发的一系列并发症, 包括咀嚼、吞咽、味觉、讲话、睡眠障碍, 甚至免疫功能下降、口腔菌丛失调、口腔和口咽黏膜炎等^[13], 严重影响了患者的生活质量, 造成其日后严重的经济和精神负担。Li等^[14]采用14只小型猪进行单侧腮腺15、20 Gy的一次性照射, 于放疗前和放疗后4、16周进行唾液流量及唾液生化的测定。结果提示, 在两个放射剂量组中, 唾液中的Ca²⁺、淀粉酶均显著降低, 唾液中的K⁺显著升高。Lee等^[15]认为受照射后40、90 d这两个时间段内唾液的总蛋白、Na⁺、Cl⁻、Ca²⁺的含量均是降低的, 而K⁺含量是升高的。

3 放疗后唾液腺的形态学改变

3.1 早期形态学改变 由于临床上较难获取患者的唾液腺组织标本, 因此目前放疗后唾液腺形态学改变的标本及文献资料基本来源于动物。因各种动物唾液腺的组织构成与人唾液腺组成是有差别的, 并且不同种属动物之间其唾液腺的构成亦不甚相同, 正由于尚无既定的动物模型, 也无既定的研究放射性唾液腺损伤的放射方式与剂量, 所以其照射后形态学改变尚未得出一致的定论。目前采纳较多的研究动物是鼠类。其优点有: (1)鼠类放射性唾液腺损伤模型的应用方便、可行性强、成本较低; (2)其唾液中的水分及蛋白分泌与人相类似; (3)受照射后快速的唾液分泌下降。

在Boraks等^[16]的研究中, 给予Wistar大鼠头颈部15 Gy(每次7.5 Gy, 分两周进行)照射后立即将其腮腺行透射电镜观察, 可见照射后的腮腺腺泡出现空泡化、粗面内质网扩张、线粒体结构紊乱以及细胞膜破坏等改变。有文献报道, 家兔头颈部接受一次性15 Gy照射后3 d, 可以观察到由于腮腺细胞膜破裂导致的细胞内水肿, 细胞边界模糊, 散在空泡化及细胞核坏死, 随着放疗后时间的推移, 可以观察到腺泡分泌功能和形态的轻微修复^[17]。Urek等^[18]对小鼠头颈部一次性15 Gy大

* 基金项目: 广西壮族自治区卫生厅重点课题基金资助项目(桂卫重 200634)。