

# 凋亡蛋白抑制剂家族研究进展

都昌胡, 徐 军

都昌胡, 徐军, 广州医学院第一附属医院广州呼吸疾病研究所  
广东省广州市 510120

通讯作者: 徐军, 510120, 广东省广州市, 广州医学院第一附属医院广州呼吸疾病研究所.

电话: 020-33836480 传真: 020-87331451

收稿日期: 2005-04-26 接受日期: 2005-05-15

## 摘要

凋亡蛋白抑制剂(inhibitor of apoptosis proteins, IAPs)编码一组结构相关的蛋白, 该家族成员不仅可以抑制细胞凋亡, 而且参与多种似无关联的生物学功能, 如调节细胞周期和细胞分裂等. 迄今为止, 在人体新发现的 IAPs 家族有 8 个成员, 分别是 HIAP-1、HIAP-2、XIAP、ML-IAP、Survivin 和 ILP-2/Ts-IAP、NAIP、BRUCE/apollon 等. 本文对现有的 IAPs 家族成员的结构特征和功能作一总结, 尤其对 Survivin 的分子构成、功能、作用机制、组织分布、表达特点、生物学特性以及与肿瘤治疗相关的研究进展方面进行重点综述.

都昌胡, 徐军. 凋亡蛋白抑制剂家族研究进展. 世界华人消化杂志 2005;13(13):1581-1589

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/13/1581.asp>

## 0 引言

在肿瘤的分子生物学研究中, 细胞凋亡始终是学术界的研究热点. 细胞凋亡, 又称程序性细胞死亡, 是细胞自杀的遗传主动过程, 具有特定的形态学特征和生化标记. 在生理状态下, 机体通过凋亡途径清除体内衰老和异常细胞, 维持机体组织的动态平衡. 而对于肿瘤, 如凋亡过程受抑制, 将促使细胞恶性增生, 导致肿瘤的发生, 而且造成肿瘤细胞对放化疗不敏感. 其中的机制除了经典的 Bcl-2 蛋白过表达直接或间接抑制了凋亡以外<sup>[1]</sup>, 另外一组调节凋亡分子在 1993 年 Crook *et al*<sup>[2]</sup>为了鉴定病毒感染的调节子过程中被从杆状病毒中发现, 即凋亡蛋白抑制剂(inhibitor of apoptosis proteins, IAPs)家族.

## 1 IAP 家族的概述

IAPs 是一组高度保守的含有 2-3 个长约 70 个氨基酸串联的半胱氨酸/组氨酸的杆状病毒 IAP 重复序列(baculoviral IAP repeats, BIRs)的家族, IAPs 在许多物种中广泛表达, 结构上具有同源性, 如哺乳动物、昆虫、细菌、酵母中均发现有 IAP, 充分证明 IAP 在生物体内普遍存在且高度保守, BIR 结构是 IAP 能够发挥拮抗细胞凋亡作用的必要元件. 许多 IAP 除了 BIR 结构外, 还有与此重复序

列相邻的羧基末端: 含有一个环指结构和 Caspase 募集结构域(caspase recruitment domain, CARD)以及泛素结合位点. 随着研究的深入, 凋亡蛋白抑制剂的种类和数量逐渐增多. 较目前已知 bcl-2 家族的所有凋亡抑制基因成员可能更多. 迄今为止, 在人体新发现的 IAPs 有 8 个成员, 分别是 HIAP-1、HIAP-2、XIAP(X chromosome-associated IAP)、ML-IAP(melanocytes IAP)、Survivin 和 NAIP、BRUCE (Apollon)、ILP-2/Ts-IAP 等<sup>[3]</sup>(图 1).

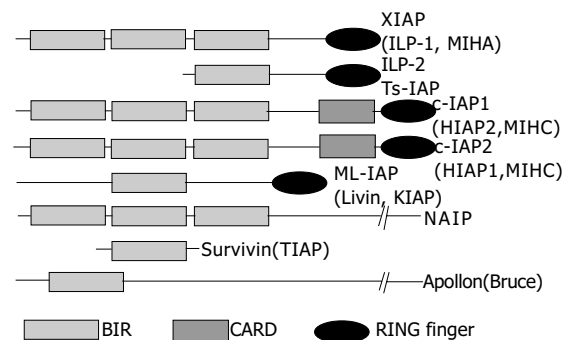


图 1 哺乳动物 IAPs 家族成员. BIR: baculovirus IAP repeat; CARD: caspase-recruitment domain; ILP: IAP-like protein; MIHA: mammalian IAP homologue A; NAIP: neuronal apoptosis inhibitory protein.

## 2 HIAP<sup>[4]</sup>

HIAP 位于染色体 11q22-23. HIAP-1 和 HIAP-2 的结构和功能相似, 二者都是肿瘤坏死因子受体 2 (TNFR2) 复合体的成员. 干扰肿瘤坏死因子 (TNF) 激活的死亡信号, 从而抑制凋亡. 在脾和胸腺中有大量 HIAP-2 的表达, 可见 HIAP-2 在调节人体免疫方面有一定意义.

## 3 XIAP<sup>[5]</sup>

XIAP 基因位于 X 染色体 q24-25, 含 497 个氨基酸的蛋白. 结构生物学分析表明 XIAP 的 BIR2 区有 3 个反平行  $\beta$  片层、4 条  $\alpha$  螺旋、3 个高度保守的半胱氨酸和 1 个组氨酸, 并螯合 1 个锌原子, 能直接抑制编码 Caspase-3, 7, 但是不能直接抑制 Caspase-1, 6, 8 10, 同时 BIR3 区还可直接抑制 Caspase-9 前体 -C- 末端的亚单位, XIAP-Caspase-9 的结合区域是一个潜在的药物设计靶点. Smac(second mitochondria-derived activation of caspase)也称为 DIABLO(direct IAP-binding protein with low PI)全长 cDNA 编码一段 239 个氨基酸读码框, 与 IAP 结合加速凋亡. 在细胞凋亡过程中, 线粒体释放

Smac/DIABLO 中和 IAPs, 提高依赖细胞色素 c/Apaf-1/Caspase-9 的凋亡途径. Smac 与 XIAP 结合可能是 SMAC 的 N 末端取代了 Caspase-9 小亚基的 N 端, 而使活性酶释放. 激活的 Caspase-9 裂解 Caspase-3 前体, 使其成为有活性的 Caspase-3, Caspase-3 又正反馈于 Caspase-9. SMAC 末端残基 Ala-Val-Pro-Ile (AVPI) 与 XIAP BIR3 结合, 抑制其与 Caspase-9 的作用. 如果在体外含 AVPI 的小分子多肽能与 XIAP 结合, 可用来合成一种选择性抑制肿瘤细胞上调的 XIAP 药物, 选择性激活 Caspase, 从而达到治疗肿瘤的目的.

受体介导的外源性细胞凋亡途径是在 Caspase-8 的激活下启动的, 进而再激活 Caspase-3. 内源性细胞凋亡途径首先由 Bcl-2 家族致凋亡成员 (像 Bax 基因) 提高线粒体膜的通透性, 使之释放出细胞色素 C 进入胞质, 后者与前体 Caspase-9、Apaf-1 (apoptosis protease activating factors) 组成凋亡体, 结果激活前体 Caspase-9, 进而激活 Caspase-3. 分解死亡底物, 完成细胞凋亡过程. 有些情况下, 受体介导的信号也可以通过线粒体通路传递, 如 Bid, FADD 的激活 (图 2).

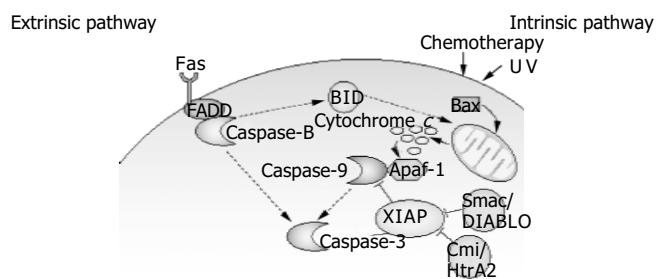


图 2 细胞凋亡的外源性途径和内源性途径. FADD: Fas-associated death domain protein; UV: ultraviolet light; XIAP: X-linked IAP.

#### 4 ML-IAP<sup>[7]</sup>

ML-IAP 的基因定位于染色体 20q13, 编码约 280 个氨基酸残基的蛋白. ML-IAP 含有 1 个 BIR 和 1 个 RING 结构, 分析发现 124 位半胱氨酸, 120 和 138 位天冬氨酸的突变会使 ML-IAP 丧失抑制凋亡的功能; 120 和 138 位天冬氨酸也能使其失去抑制死亡受体诱导的凋亡; ML-IAP 可以和 Smac 结合, 较弱的抑制 caspase-3 和 caspase-9 的活性. 其不参与 TNF- $\alpha$  通路. ML-IAP 在胚胎组织和肿瘤细胞中大量表达, 尤其在黑色素瘤细胞中高表达. 故 ML-IAP 可能在黑色素细胞瘤病理过程中起重要作用.

#### 5 NAIP<sup>[8]</sup> (neuronal apoptosis inhibitory protein)

NAIP 可能与神经退行性疾病-脊髓肌肉萎缩症有关, 该疾病是由于 SMN 基因突变引起的, 而 NAIP 可能是此基因的调节者.

#### 6 Survivin

Survivin 是一种新近发现的结构独特的 IAPs 成员. 具有

抑制细胞凋亡和调节细胞周期和细胞分裂的双重功能. 主要功能是通过抑制 Caspase-3, Caspase-7 而阻断细胞凋亡; 还与微管蛋白相互作用调控细胞有丝分裂以及参与血管形成. 主要表达于胚胎和发育的胎儿组织, 同时高表达于绝大多数肿瘤组织和转化细胞, 而在终末分化成熟的正常成人组织中无表达. Survivin 可能是一种癌基因, 参与肿瘤的发生发展过程. 提示他是一个有潜在价值的肿瘤标志物, 与肿瘤诊断、预后均密切相关<sup>[9-10]</sup>. 针对 Survivin 设计了一系列的拮抗剂, 抑制肿瘤生长, 增强肿瘤细胞对化疗药物的敏感性, 因此该基因有可能成为肿瘤治疗的新靶点. 下文着重讨论 survivin 的分子结构、生物学功能及与其他 IAPs 的不同之处和在肿瘤治疗中的可能地位<sup>[9]</sup>.

6.1 Survivin 的发现与蛋白结构及表达 Survivin 基因早在 1997 年由耶鲁大学的 Altieri 研究组发现<sup>[11]</sup>, 他们用效应细胞蛋白酶受体-1 (effector cell protease receptor-1, EPR-1) cDNA 作探针从人类基因组 P1 文库中通过杂交筛选获得, Survivin 与 EPR-1 位于同一染色体, 二者转录方向相反, 互为天然反义核酸. 但由于表达时间上的差异, 导致他们在自然状态下相互作用的可能性非常有限. Survivin 是迄今发现的最强的凋亡抑制因子, 其抑制细胞凋亡的作用远大于 Bcl-2 家族成员.

鼠 Survivin 基因定位于染色体 11E2 的端粒区. 鼠 Survivin 基因与人类 Survivin 基因均含有 4 个外显子, 但其 cDNA 可编码在距 ATG 起始区 -32、-36 及 -40 位分别有 3 个转录起始位点, 编码 3 种不同的 Survivin 蛋白. 最长的开放阅读框来自于全部 4 个外显子, 第二个 cDNA 含有内含子 2, 编码 121 个氨基酸的蛋白, 缺乏羧基端螺旋功能区. 以前体 mRNA 剪接去除外显子 2, 可获得第 3 个含有 40 个氨基酸的蛋白, 缺乏 BIR 功能区 and 羧基端螺旋功能区, 因此也缺乏对 Caspase-3 的抑制作用. 人类 Survivin 研究也发现了 2 种具有不同抗凋亡特性的新的 Survivin 的剪接变构体, 一种是缺乏外显子 3 (Survivin- $\Delta$ Ex3), 另一种保留了部分内含子 2 作为隐性外显子 (Survivin-2B) (图 3). 2 种序列的变化使其编码蛋白的结构也有显著差异, 包括对 BIR 区的结构修饰. 通过转染实验研究 2 种剪接变构体对凋亡的调控, 显示 Survivin- $\Delta$ Ex3 保留了抗凋亡特性, 而 Survivin-2B 的抗凋亡能力明显降低, 其原因可能是 Survivin-2B 获得的外显子改变了 BIR 功能域. 人类 Survivin 基因定位于染色体 17q25, 靠近端粒, 包含 4 个外显子和 3 个内含子, 全长 14.7 kb, 转录产物为 1.9 kb. Survivin 蛋白是 IAP 家族中最小的成员, 仅由 142 个氨基酸残基构成, 分子量只有 16.5 ku. 结构上与其他 IAP 蛋白略有不同, Survivin 蛋白只包含 2 个特定的结构: N-端含有一个单拷贝的 BIR 结构域, 并且存在一个由 Cys-Pro-Thr 三氨基酸组成的插入片段, 将 BIR 结构域分成 2 个二等分的模块, 这一插入片段是 Survivin 所特有的, 其他潜在重要

性目前尚不清楚, 具体功能还有待进一步研究. 该BIR区域可以通过抑制 Caspase-3 和 Caspase-7 的前体或直接抑制 Caspase-3 和 Caspase-7 本身的活性来发挥抗凋亡作用. BIR 结构中心是一个由 3 条反平行的肽链组成的  $\beta$  片层(与 XIAP 的 BIR2 相似, 中心都是大  $\beta$  片层), 周围是 4 个短  $\alpha$  螺旋. BIR 结构中心的  $\beta$  片层面积大, 富含酸性氨基酸, 是 Survivin 蛋白配体结合区域, 当该区域被磷酸化后, 表面电荷更多, 与配体结合能力更强. 在  $\beta$  片层中残基 Thr34-Pro-Glu-Arg 被认为是 CDK 结合位点. 突变体 T34A 失去抗凋亡功能. BIR 另一个特点是  $Zn^{2+}$  处于 Survivin 蛋白 BIR 单拷贝上的 Cys57、Cys60、His77 和 Cys84 构成的四面体内, 以配位键将此 4 个氨基酸残基连结. 这个结构对 Survivin 蛋白抗凋亡功能很重要, 因为研究发现, Survivin 蛋白突变体 C84A (Cys84 突变为 Ala84) 不具备抗凋亡功能, 而 Pro26 突变为 Ala 或 Leu64 突变为 Ala 则功能正常. Survivin 蛋白另一个显著特点是 C-端是由 42 个氨基酸的高电荷区所形成的疏水  $\alpha$ -螺旋卷曲结构(coiled coil)- $\alpha 6$ .  $\alpha 6$  长约 65 Å (1 Å =  $10^{-10}$  m), 由 C 端 40 个残基组成, 有 11 圈螺旋, 靠近 BIR 的 4 圈螺旋与 BIR 通过氢键和疏水键连结, 形成空间相对固定的稳定结构, 剩下的 7 圈螺旋远离 BIR. C 端  $\alpha$  螺旋上的残基 126-142 构成 C 端疏水域, 调节 Survivin 与纺锤体上的  $\gamma$  微管蛋白结合. C 端不包含 IAP 家族其他成员所具有的环指结构, 该结构具有蛋白泛肽化降解信号的作用. 研究发现 Survivin 蛋白单体结合成蝴蝶结样的对称二聚体, 这种二聚体化是 Survivin 抗凋亡功能所必需的. 两个 Survivin 蛋白通过 BIR 相互聚集, 两边的  $\alpha 6$  形成  $110^\circ$  夹角, 这就使二聚体有一个弧形的、广阔的结合空间. 二聚体内部单体之间的结合也很有趣, 在结合部位两侧残基 94-99 形成分子间  $\beta$  片层结构. 由于 Survivin 蛋白单体和二聚体的稳定性以及抗凋亡功能的不同, 二聚体连结处也是干扰 Survivin 蛋白功能的靶点之一. Survivin 蛋白与中心粒微管蛋白的结合对于 Survivin 蛋白发挥抗凋亡促增殖作用也是必须的, 切断 C 端  $\alpha$  螺旋上的残基 126-142, 虽然二聚体仍然可以形成, BIR 也正常折叠, 但是 Survivin 蛋白无法定位于中心粒, 无法使 CDK4(周期蛋白依赖性蛋白激酶)、P21 和 Caspase-3 在微管组装中心聚集, 从而失去调控凋亡和细胞周期的功能. 在 Survivin 的启动子区 5' 端缺少典型的 TATA 序列, 而是含有一个典型的 CpG 岛结构. 在外显子 1 的上游大约 200 nt 处有 GC 富集区. 启动子区含有 2 个 AP2 位点、3 个 NF- $\kappa$ B 位点和 1 个 Sp1 位点, 大约 60-80% 人和鼠 Survivin 基因的转录依赖于 Sp1 位点的完整性. 该区还有 3 个细胞周期依赖元件(cell cycle-dependent elements, CDEs) 和一个细胞周期基因同源区(cell cycle gene homology region, CHR). 其中 -51 区的 CHR 和 -57 区的 CDE 对 Survivin 调控细胞周期很重

要. CDE 盒的缺失使 Survivin 基因的细胞周期依赖性表达消失, 影响细胞的生存和导致肿瘤的发生. 另外, 经序列分析发现, Survivin 在 Thr21, Ser88 和 Thr127 含有 3 个蛋白激酶 C(PKC) 磷酸化作用点, 在 Thr48 和 Thr97 有两个酪氨酸蛋白酶作用点, 在 Ser81 有一个蛋白激酶 A(PKA) 作用点, 这些特殊位点在调节细胞凋亡中的作用还有待进一步研究. 与其他 IAPs 不同, Survivin 基因表达不受 TNF $\alpha$ /NF- $\kappa$ B 信号转导系统的影响<sup>[12-14]</sup>.

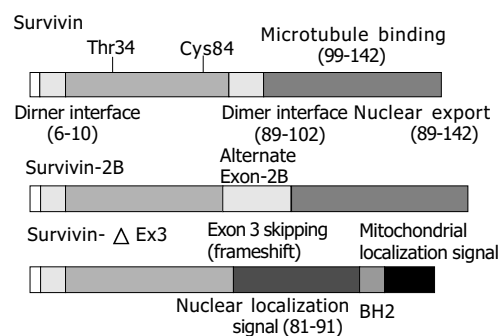


图3 Survivin 的 3 种选择性剪接方式.

Survivin 严格以细胞周期 (G2/M 期) 依赖性方式高表达, 并通过与有丝分裂纺锤体结合而发挥抗凋亡作用. 进一步研究发现这种表达调控主要发生在转录水平, 由位于 Survivin 基因 -6, -12, -171 的序列 GGCGG 以及 -42 的 ATTTGAA 进行调控. 这些区域是调节 G2/M 期细胞周期依赖性基因表达的媒介. 在 HeLa 细胞的实验研究发现 Survivin 在 G1 期的表达基本检测不到, 在 S 期细胞的表达增加 6 倍, 而在 G2/M 期的表达则超过了 40 倍. 一旦失去以上顺式作用元件的 Survivin 基因在 G2/M 期的表达同 G1 期无显著差异. 随着细胞周期的运动, Survivin 蛋白的表达调控与亚细胞定位也发生相应改变. 在分裂间期, Survivin 蛋白定位于中心粒, 分裂前期、中期定位于着丝粒; 后期定位于赤道板 (midbodies), 末期又定位于中心粒. 进一步研究发现: 在分裂间期, Survivin 蛋白主要与中心粒表面的  $\gamma$  微管蛋白结合,  $\gamma$  微管蛋白的主要功能是与  $\alpha$ 、 $\beta$ -微管蛋白异二聚体中的  $\beta$  亚单位结合, 使微管在临近细胞核的特定区域即微管组装中心 (MTOC) 形成. 以上 Survivin 蛋白的表达调控与亚细胞定位研究提示 Survivin 蛋白的功能可能是使细胞周期能够顺利得以进行的必要条件, 而且他在细胞内可能参与中心体的装配, 在细胞周期纺锤体组装检查点 (spindle assembly checkpoint) 机制中发挥重要功能. 与其他的 IAPs 在各种正常成人组织中的广泛表达不同, 不同组织仅仅表现为表达水平的差别, 生理状态下, 在成人除子宫内膜组织、胎盘和胸腺组织中发现存在不同程度的 Survivin 基因表达外, 大多数组织, 如正常分化成熟组织具有高增殖指数的细胞区域, 如皮肤基底层角质形成细胞、肠腺窝上皮细胞和正常骨髓细胞, 均检测不到 Survivin

基因表达,相反通过原位杂交和蛋白印迹实验提示,14-21 wk的胎儿中Survivin在不同部位(肾小管、肺腺泡、胰腺、子宫内膜腺、表皮、胸腺髓质、脊索神经元)的组织中均可以明显检测到,这表明Survivin基因在人类发育过程中起着某些重要作用.研究显示绝大多数人类恶性肿瘤细胞和组织中均存在Survivin表达,这一普遍分布现象表明Survivin在癌症中可能处于失控的表达状态<sup>[15-18]</sup>.

**6.1.1 Survivin蛋白在神经胶质瘤的表达** Adida *et al*<sup>[19]</sup>用免疫组化分析了成神经细胞瘤survivin的表达情况以及阳性表达与临床预后、临床分级、组织学分类的关系.选取了72例成神经细胞瘤病例,Survivin阳性表达率为47%(34/72).组织学形态较差组的Survivin阳性表达率较高,为73.9%(17/23),而组织学形态较佳组Survivin阴性率较高,为60%(15/25).2例自发消退的成神经纤维瘤Survivin表达均为阴性.认为survivin的表达和成神经细胞瘤的恶性程度正相关,也和肿瘤的组织形态有关.

**6.1.2 Survivin蛋白在非小细胞性肺癌(NSCLC)的表达** Monzo *et al*<sup>[20]</sup>用RT-PCR方法分析83个NSCLC标本,发现71例(85.5%)肿瘤标本阳性.12例表达阴性的病例比71例表达阳性的病例在生存时间上有明显差异,即Survivin表达阴性患者预后明显好于表达阳性者.但Survivin表达和年龄、性别、吸烟、肿瘤大小、淋巴转移和病理组织学之间无明显关系.

**6.1.3 Survivin蛋白在乳腺癌的表达** Tanaka *et al*<sup>[21]</sup>用免疫组化法显示,167例III期乳腺癌中Survivin阳性表达118例(70.7%),而癌旁组织表达均为阴性.Survivin表达阳性的乳腺癌与Survivin表达阴性的乳腺癌相比,前者凋亡率是 $0.62 \pm 0.52\%$ ,显著低于后者 $1.27 \pm 1.37\%$  ( $P < 0.0001$ ),提示survivin的表达可以作为预后较差的标志.在乳腺癌组织中,Survivin基因的表达与Bcl-2基因的表达及凋亡指数的下降具有高度相关性,由于Survivin与Bcl-2分别作用于凋亡通路的不同点,对凋亡抑制可以产生协同作用,因此二者的同时表达提示肿瘤预后不良.而Survivin表达与年龄、绝经状况、肿瘤大小、临床分期、淋巴结转移、ER状况、静脉侵犯、肿瘤组织学类型和复发均无显著关系.

**6.1.4 Survivin蛋白在消化系统肿瘤的表达** Lu *et al*<sup>[22]</sup>用免疫组化分析了174例I-III期胃癌,其中60例(34.5%)阳性,癌旁正常组织均无表达.Survivin表达阳性的胃癌与Survivin表达阴性的胃癌相比,凋亡率明显降低.在胃癌中,癌细胞胞核Survivin阳性与良好预后、发病年龄小、血管侵犯发生率低有关,但胞质阳性与肿瘤进展或预后无相关性,提示Survivin在胃癌细胞核中的表达在阻止肿瘤进展上可能有一定的作用,但Survivin表达阳性与肿瘤大小、浸润深度、淋巴结转移均无显著关系.Kawasaki *et al*<sup>[23]</sup>报道了Survivin在结直肠癌的表

达情况,其中91例(53.2%)阳性,癌旁正常组织均无表达.Survivin表达阳性与肿瘤大小、深度、淋巴管或静脉侵犯、淋巴结转移、组织学分级、Duke's分期、癌肿复发均无显著关系,Survivin的表达上调与直肠癌凋亡指数下降、总体存活率缩短、预后不良和复发率增加有关,在II期结、直肠癌患者中,Survivin表达阳性患者根治术后5 a生存率明显低于表达阴性者,可以作为预后不良的重要指标,Kawasakiza *et al*<sup>[24]</sup>在另一项研究中指出结直肠癌中Survivin表达与P53无明显相关性.并且在大肠腺瘤轻度不典型增生至高度不典型增生直至癌的演变过程中,Survivin表达逐渐增加,其中高度增生不良腺瘤Survivin的阳性率与腺癌无明显差异.其表达不仅与凋亡指数负相关,而且与增殖指数和微血管密度成正相关.Ikeguchi *et al*<sup>[25]</sup>研究指出Survivin阳性的肝癌患者5 a无病生存率(19%)明显低于其阴性患者(39%),而且57%的肝癌复发患者有Survivin表达,提示Survivin的表达可作为肝细胞癌患者独立的预后因子.

**6.1.5 Survivin蛋白在泌尿系统肿瘤中的表达** 我们知道目前临床用于检查膀胱癌的方法是膀胱镜检和尿细胞学检测.前者具有侵入性、不适感,且价格贵的缺点,而后者检测特异性虽高,但敏感性却只有40-60%、尤其在低分化病变中更低.Smith *et al*<sup>[26]</sup>对158例尿液研究发现仅在膀胱癌患者尿液中可检测出Survivin.膀胱癌患者尿中检测出Survivin,可能与膀胱移行细胞癌细胞易脱落至尿中有关.在大规模病例中检测尿液Survivin蛋白的表达证实该方法诊断膀胱癌的敏感性为100%,特异性为95%,为膀胱癌诊断提供了一个简单、非侵入性的检测手段.Swana *et al*<sup>[27]</sup>利用免疫组化法研究36例膀胱癌Survivin表达,Survivin总阳性表达率为78%(28/36),其中I级膀胱癌阳性表达率65%(13/20),II级90%(9/10),III级100%(6/6),而正常膀胱黏膜无表达.同时膀胱癌由于其80%的复发率而很难治愈,一项相关研究发现膀胱癌Survivin表达与肿瘤复发有关.在I级膀胱癌患者中,不表达Survivin的患者复发间隔为 $35.5 \pm 16.2$  mo,而表达Survivin的患者复发间隔为 $10.5 \pm 6.2$  mo,二者有显著性差异( $P < 0.001$ ),说明Survivin的表达与膀胱癌的复发密切相关,而在该实验中,包括Bcl-2及p53的表达在内,没有任何其他的分子指标能表现出类似的预后作用.Takamizawa *et al*<sup>[28]</sup>在对小儿肾癌的研究中发现Survivin表达均较正常肾组织高,其中初发性肾癌Survivin阳性表达率为18%,复发性肾癌为50%.

**6.1.6 Survivin蛋白在生殖系统肿瘤的表达** Hattori *et al*<sup>[29]</sup>检测Survivin在卵巢癌表达,其阳性率约为86%,研究发现Survivin在卵巢透明细胞腺癌的表达水平比卵巢浆液性腺癌高,并且前者原发灶的Survivin水平高于转移灶,但后者无此现象,提示Survivin的表达影响卵巢

透明细胞腺癌和浆液性腺癌的进展. 此外Saitoh *et al*<sup>[30]</sup>检测了34株宫颈癌细胞株和25例宫颈癌标本以及2株子宫内膜癌细胞株和17例子宫内膜癌标本, 结果发现, 所有细胞株和标本均有survivin表达, 并与凋亡指数的下降密切相关, 表明Survivin的抗凋亡作用参与了宫颈癌的发生及发展过程.

**6.1.7 Survivin在淋巴造血组织系统肿瘤的表达** 在100%的急性骨髓白血病(AML)的细胞株可检测到Survivin表达, 相反经过全反视维甲酸处理明显降低HL-60, OCI-AML3, MB-4 细胞的Survivin水平, 表明Survivin在骨髓白血病高表达并受全反视维甲酸的抑制. Survivin在50-60%高度恶性非霍奇金淋巴瘤有表达, 而在低度恶性非霍奇金淋巴瘤无表达. Adida *et al*<sup>[31-32]</sup>用免疫组织化学方法研究弥散性大细胞淋巴瘤, 发现60%的患者有survivin蛋白表达, 在阳性组, 5 a生存率低于阴性组, Survivin可作为弥漫性大细胞性B细胞淋巴瘤(DLBCL)预后的参考指标.

**6.1.8 Survivin在其他系统与组织肿瘤及癌前病变的表达** Grossman *et al*<sup>[33]</sup>研究指出在皮肤肿瘤中有81%基底细胞癌、92%鳞状细胞癌、所有鲍温氏病和HAK(hypertrophic actinic keratosis)有Survivin表达, 提示Survivin可能参与了基底细胞癌和鳞状细胞癌的发病和进展. 该作者用免疫组化检测30例恶性黑色素瘤时发现, 转移者的15例均为阳性, 浸润者的15例中有13例阳性. 癌灶附近的正常黑色素细胞或其他正常细胞均为阴性. Koch *et al*<sup>[34]</sup>发现所有嗜铬细胞瘤和副神经节瘤均有Survivin的表达, 但尚不足以作为鉴别良性和恶性嗜铬细胞瘤和副神经节瘤的可靠指标. 此外Survivin蛋白还被发现存在于结肠息肉、乳腺炎、角化皮炎等一些癌前损伤组织中, 这提示Survivin的表达出现在恶性转化前期, 可能具有促进这些损伤恶性转化的作用. 以上研究均表明Survivin高表达于恶性肿瘤, 可作为肿瘤诊断和预后的一个有价值的指标. 肿瘤细胞表达Survivin除了可以使肿瘤血管内皮细胞对化疗药物产生抵抗不至于受化疗药物诱导的凋亡的影响, 同时研究发现Survivin的表达可被血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)上调, 有研究<sup>[35]</sup>用血管内皮细胞生长因子、碱性成纤维细胞生长因子(basic fibroblast growth factor, bFGF)以及血管形成素1(angiotensin-1)等有丝分裂原刺激静息的内皮细胞, 可以诱导Survivin的表达上调10-19倍之多. 有丝分裂原还可刺激培养的内皮细胞Survivin表达快速增加, 在6-10 h即达高峰. 提示Survivin蛋白在肿瘤血管形成过程中的表达可能对肿瘤细胞的浸润、迁移起重要作用. 因此, 可以认为Survivin是一种癌基因在肿瘤组织中高表达而参与肿瘤的发生和发展.

**6.2 Survivin的生物学功能及其在肿瘤细胞中的作用机制**

Survivin蛋白同时具有共同调控细胞周期和细胞凋亡的双重功能<sup>[36-43]</sup>. 首先Survivin对于细胞周期的调控方面: 细胞周期的运动受细胞周期调节因子的控制, 在肿瘤细胞中一方面是由于细胞周期正调控因子过表达, 如周期蛋白(Cyclin, 主要是Cyclin D1, Cyclin E1)和周期蛋白依赖性蛋白激酶(cyclin dependent kinases, 主要是CDK4, CDK6). CyclinD的主要功能是激活CDK4、CDK6, 使细胞渡过G1期进入S期. 另一方面是细胞周期负调控因子低表达, 如细胞周期蛋白依赖性激酶抑制蛋白(cyclin-dependent kinase inhibitor, CKI, 主要INK4, KIP1). CKI通过与CDK结合, 抑制CDK的活性, 阻止细胞增殖分化. 如P21蛋白可以抑制增殖细胞核抗原(proliferating-cell nuclear antigen, PCNA)而抑制CDK的促进作用. 细胞周期运动的过程实际上是细胞增殖的过程. 在这一过程中, 细胞核型和体积也随之发生变化. 对于那些具有快速增殖特点的细胞, 对细胞周期负调控因子(P21蛋白)进行抑制是必须的. 有丝分裂开始时, Survivin与有丝分裂纺锤体的微管蛋白特异性结合, 维持有丝分裂的进行, 此反应过程受微管动力学的调节. 研究表明, 无Survivin表达的细胞可形成卵裂沟和收缩环, 但不能完成正常的细胞质流动过程, 因此导致多核细胞的形成. Survivin和INCEN(inner centromere protein)在微管组装、卵裂沟形成、细胞质流动等协同事件中发挥重要作用. Survivin并可通过与CDK4/p16(INK4a)和CDK2/cyclinE复合体活化的竞争性作用来启动细胞周期. 我们知道所有生物的生长和发育都离不开细胞忠实地繁殖, 要实现这一点要求细胞基因组必须能够精确地复制, 并且在两个子代细胞中均匀分配. Survivin主要在G2/M期表达, 具有严格的细胞周期依赖性. G2/M期控制点负责保持遗传的准确性, 如果增殖细胞的DNA复制不能与中心体的加倍相一致就会不可避免地出现细胞倍型的改变, 产生多核现象, 从而造成染色体核型的改变, 而后者在癌细胞中是很常见的. 这种染色体的改变导致其不稳定, 使已经突变的肿瘤抑制基因的表型表达或使癌基因过表达, 即Survivin有助于肿瘤细胞逃离G2-M期检控点而达到无限增生, 从而促使肿瘤的发生.

Survivin可能除了参与细胞有丝分裂在微管系统中起重要作用, 而且他还参与胞质分裂. 近年来Survivin与细胞分裂的关系以及Survivin亚细胞定位问题日益受到人们重视. 我们知道Aurora B是最先被发现的参与调节纺锤体微管两极与着丝粒的连接蛋白, 功能是调节染色体的分离和胞质分裂. Wheatley *et al*<sup>[39, 43]</sup>人采用酵母双杂交实验检测获得了Survivin与Aurora B和内部着丝粒蛋白INCENP直接结合的证据, 并且发现这种结合异常稳定, 同时发现Aurora B的激酶活性受Survivin的结合和细胞周期依赖的磷酸化调节. 又有研究

提示Survivin在细胞周期中能刺激Aurora B的激酶活性,帮助Aurora B正确的与其底物结合,这可能是Survivin发挥其功能的机制.Survivin基因缺失小鼠的表型:在胚胎开始发育的前3.5 d可造成微管集群的严重缺损、有丝分裂纺锤体的缺陷、多核细胞的大量产生及在4.5 d发生胚胎致死性变化.Terada *et al*<sup>[38]</sup>认为Survivin可能是染色体过客蛋白(passenger protein),染色体过客蛋白是指那些在细胞分裂过程中从着丝粒转移到纺锤体赤道面的蛋白,他们在细胞分裂中参与染色体的浓缩和分离,在有丝分裂结束时,参与胞质分裂的完成.认为Survivin在分裂中期定位于染色体的着丝粒,而后期处于中心纺锤体的中间带上,在细胞分裂时又在中间体上,即是一种过客蛋白.近来研究对于有丝分裂点处抗凋亡路径的潜在进化来源提出了一些令人感兴趣的线索.在线虫封闭与Survivin同源的IAP分子BIR-1导致了胚胎致死性表型.这可能并不是由于凋亡调节的紊乱,而是由于胞质分裂缺陷所致,胚胎不能完成细胞分化造成了多核细胞的堆积.上述表型通过人Survivin过表达部分得到逆转,提示了这个机制具有很强的进化保守性.占优势的Survivin在细胞内与中心体结合,提示Survivin可能参与胞质分裂.近来几个实验室正在做一系列实验,若封闭了其他IAPs包括Survivin,除了引起自发凋亡外是否也可见到胞质分裂缺陷<sup>[41]</sup>.

Survivin蛋白对于细胞凋亡的调节,大致来说有两种途径—外源性途径和内源性途径.外源性凋亡途径又称死亡受体途径,是通过细胞膜上的死亡受体(如TNF受体、Fas)激活,使细胞发生凋亡,该途径的启动酶是Caspase-8;内源性凋亡途径又称线粒体途径,该途径的启动酶是Caspase-9,执行酶是Caspase-3.具体是DNA损伤信号通过Bcl-2家族提高线粒体膜的通透性,使线粒体释放出促凋亡的细胞色素C,后者与前体Caspase-9、Apaf-1组成凋亡体,导致前体Caspase-9激活,分解死亡底物,完成细胞凋亡过程.处于凋亡途径的下游阶段.Survivin蛋白主要通过抑制前面提到的Caspases-3, 7. Survivin还作用于细胞周期调节因子CDK4,使CDK2/cyclin E活化并使Rb磷酸化.Survivin/CDK4复合物的形成,使p21从p21/CDK4复合物中释放出来,一方面使细胞周期免受P21蛋白的抑制.另一方面作用于procaspase-3,形成procaspase-3/p21复合物,抑制procaspase-3激活,我们知道caspase-3是死亡受体途径及线粒体途径介导的凋亡过程中必需的死亡因子,处于凋亡途径的下游阶段,因此Survivin得以发挥其抗凋亡作用,同时Survivin过度表达使得P21解离而使活化Cdk4,细胞进入增殖周期.细胞失去了正常增殖周期中凋亡“开关”(checkpoint)的限制,大量细胞无限增殖,增殖与凋亡平衡打破,造成凋亡减少,最后导致肿瘤的发生.就Survivin蛋白是否与Caspase-3直接发生相互作用

用仍还存在着争议.反对者认为,与XIAP的BIR2相比,Survivin蛋白没有N端环状结构,而此结构正是XIAP抑制Caspase-3的关键部位,且实验中发现Survivin蛋白与Caspase-3无直接关系.另有实验表明Survivin抗凋亡作用也可抑制Caspase-9而实现的.在果蝇的研究中证实Survivin可以通过与SMAC相结合,抑制SMAC拮抗IAP而发挥抗凋亡的作用.

Survivin在有丝分裂中的作用:有丝分裂前期Survivin与纺锤体微管相结合,在分裂的中后期,与纺锤丝全长捆绑,直到分裂末期依附于中心体上.通过体外共沉淀试验,这一独特的现象被定量观察.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抗凋亡功能的实现是必需的.在诱变实验中,缺少C末端带电荷的卷曲螺旋状结构和截短的Survivin在体外均不能与泰素和聚合微管竞争性结合,在体内亦不能与转染细胞的有丝分裂纺锤体结合.上述Survivin突变体的过表达不能保护泰素介导的NIH3T3成纤维细胞的凋亡,这些研究提示Survivin装配在有丝分裂装置上,Survivin末端带电荷的螺旋区是其抗凋亡功能所必需的.可见Survivin不仅通过与下游凋亡效应因子Caspase-3和Caspase-7结合对其活性产生直接抑制效应,还通过与纺锤体纤维的结合,间接抑制Caspase对纺锤体的水解作用,有利于保护有丝分裂细胞器的完整性,抑制细胞凋亡.

总之, Survivin具有控制纺锤体检查点和凋亡检查点双重作用.肿瘤组织过表达Survivin可以避开凋亡检查点,使细胞进行异常的有丝分裂.同时Survivin的过表达对抗多种广泛的凋亡诱导因素,如化疗药物足叶已甙和泰素和放疗所引起的凋亡.由此可以理解Survivin高表达的肿瘤对于临床放化疗均不敏感分子机制.

6.3 Survivin是肿瘤治疗的新靶点<sup>[44]</sup> 细胞凋亡是化疗和放疗介导杀伤肿瘤细胞的主要机制,抑制细胞凋亡从而促使肿瘤细胞的存活力增强是肿瘤细胞的共同特征.肿瘤细胞对凋亡的抑制有利于逃避机体的免疫监视及细胞毒性药物治疗进而产生对化疗药物耐药,是肿瘤形成、发展和对化疗药物耐药的重要机制.其耐药机制除了肿瘤细胞能过度表达mdr1编码的P糖蛋白增加化疗药物排除,还在于能抵抗药物诱导的凋亡,即哺乳动物细胞内存在IAPs,在肿瘤细胞中这些凋亡抑制蛋白水平升高显然是肿瘤形成、发展和对化疗药物耐药的重要机制之一.由于Survivin在肿瘤组织中选择性高表达,抑制Survivin足以诱导肿瘤细胞自发性凋亡,这是其他抑制凋亡的基因所不具备的特点,我们知道Bcl-2基因是通过阻止细胞色素c从线粒体向胞质释放而抑制凋亡作用,这一环节处在Caspase级

联反应上游. 而Survivin基因是通过直接作用于细胞凋亡途径中的终末效应酶-Caspase-3, 7来发挥作用的. 而且抑制bcl-2只能提高细胞对凋亡的敏感性, 但不足以诱导凋亡, 因此Survivin已经成为倍受关注的抗肿瘤治疗的新靶点. 以Survivin蛋白为靶点的拮抗分子纷纷研究出来, 如应用反义Survivin降低细胞凋亡的阈值, 促使肿瘤细胞凋亡增加、RNA干涉Survivin基因的表达、设计Survivin突变体以及特异性抗体免疫治疗, 这些策略具有良好的靶向性、特异性及安全性.

6.3.1 反义Survivin的寡核苷酸 Ambrosini *et al*<sup>[45]</sup>首先将具有反义Survivin功能的EPR-1 cDNA置于金属硫因(metallthionein)诱导的启动子下游, 转染Hela细胞, 结果与对照载体相比, 在稳定的转化细胞中, Survivin反义核酸的表达能够快速诱导细胞凋亡, 同时伴有靶细胞增殖的下降. Olie *et al*<sup>[46]</sup>设计反义Survivin寡核苷酸对肺腺癌细胞株的作用, 发现Caspase-3活性提高, 凋亡细胞增加以及腺癌细胞对化疗药物敏感性增加. Mesri *et al*<sup>[47]</sup>利用Survivin反义寡核苷酸作用于人脐静脉内皮细胞, 发现Survivin反义寡核苷酸能诱导毛细血管网迅速退化. VEGF在肿瘤血管中的抗EC凋亡作用主要是通过诱导EC的Survivin表达来完成的. 反义Survivin治疗可特异性抑制VEGF抗EC的凋亡作用, 而EC移行作用不受影响, 从而促进肿瘤EC凋亡和肿瘤血管退化.

6.3.2 Survivin显性负突变(dominant-negative mutant)体诱导细胞凋亡 Survivin的多肽序列中, 34位氨基酸为苏氨酸, 是细胞周期素依赖蛋白激酶P34-cdc2的磷酸化位点, 该位点的磷酸化对维持Survivin的凋亡抑制功能非常重要, 以丙氨酸取代后的人工突变体(T34A)可以使凋亡抑制功能丧失, Mesri *et al*<sup>[48]</sup>发现, PAd-T34A(复制缺陷的腺病毒携带编码Survivin突变体)感染乳腺癌、宫颈癌、前列腺癌、肺癌、大肠癌等细胞株, 导致细胞色素C从线粒体释放, 促进caspase-3活化引起肿瘤细胞凋亡, 而PAd-T34A不影响纤维母细胞、内皮细胞、平滑肌细胞等处于增殖状态的正常人类细胞的生存能力; PAd2T34A诱导肿瘤细胞的凋亡与紫杉酚一样有效, 而比阿霉素引起的肿瘤细胞凋亡的效能更强, 而且可以促进紫杉酚诱导的细胞凋亡作用, 裸鼠动物实验也进一步证实PAd-T34A可导致肿瘤体积的缩小. 该研究同时显示PAd-T34A可以促进肿瘤血管内皮细胞的凋亡. Grossman *et al*<sup>[49]</sup>应用Survivin突变(T34A)的腺病毒转染多种黑色素瘤细胞株, 引起细胞自发性凋亡, 促进化疗药物顺铂诱导的细胞凋亡, 并且裸鼠动物实验也表明该突变体可以抑制接种黑色素瘤细胞株的免疫缺陷鼠肿瘤体积的增大. 除了T34A Survivin突变体可以诱导细胞凋亡外, 另外还有C84A(Cys84/Ala)突变体, 他与野生型Survivin蛋白竞争中心粒, 抑制野生型Survivin蛋白与中心粒的结合, 从而剥夺野生型Survivin蛋白的

抗凋亡促增殖的双重功能. 最终导致细胞凋亡和细胞分裂缺陷, 出现多核细胞和多极点细胞. 除了对Survivin-34位苏氨酸进行干预外, Li *et al*<sup>[50-51]</sup>将鼠的Survivin基因62位点的SP1结合区破坏后, G2/M期50%的转录活性被特异性抑制. 而破坏169位点的SP1结合区, G2/M期转录活性几乎全被抑制. 研究表明Survivin及bcl-2在肿瘤细胞内的大量表达都与SP1依赖转录调控有关. 如能通过反义核酸手段来破坏肿瘤细胞内的SP1结合区, 可引起肿瘤细胞内包括Survivin和Bcl-2在内多种基因的表达异常, 必将导致肿瘤细胞走向凋亡.

6.3.3 免疫治疗 Survivin被认为是肿瘤相关抗原, 广泛存在于肿瘤中. 当Survivin可溶性重组蛋白被树突状细胞(DC)呈递时, Survivin多肽和主要组织相容性复合体I(major histocompatibility complex I, MHC I)形成的复合物能在体外诱导特异性CD8<sup>+</sup>细胞毒性T细胞, 从而杀伤肿瘤细胞, Pisarev *et al*<sup>[52-53]</sup>报道了相关的研究, 但临床价值还有待进一步证实.

6.3.4 RNA干扰Survivin的表达技术<sup>[54-56]</sup> RNA干扰(RNA interference, RNAi)是指在生物体细胞内, 外源性或内源性的双链RNA(double-stranded RNA, dsRNA)引起与其同源的mRNA特异性的降解, 因而抑制Survivin基因的转录和表达, 具有高度特异性、高效性的特点. Li *et al*<sup>[54-56]</sup>利用RNA干扰技术设计针对Survivin的dsRNA来抑制Survivin基因的转录和表达, 实验取得一定的成功. 总之, 以Survivin为靶点很可能是一种理想的肿瘤治疗策略. 不但可以提高抗肿瘤疗效, 而且能弥补其他治疗措施的不足, 在临床肿瘤治疗中可能有广阔的应用前景.

总之, IAPs作为一种重要的细胞凋亡调节因子, 一方面发挥抑制细胞凋亡的功能, 另一方面该家族部分成员发挥其他与细胞凋亡不太直接相关的多种生物学功能, 如调节细胞周期和有丝分裂等. Survivin基因自从被发现后, 作为一种新的凋亡抑制因子引起国内外学者的广泛关注, 围绕Survivin的分子生物学特点、生物学功能, 特别是在细胞凋亡和细胞周期中的作用进行了一系列研究, 根据现有的资料, 其抗凋亡的作用及在肿瘤发生、发展中的作用已经逐步得到肯定. 对于肿瘤的诊断、治疗、预后方面都有重要意义, 尤其在肿瘤基因治疗中可能有广泛的应用价值和前景. 然而仍有许多关于Survivin的细节问题不清楚, Survivin如何实现对细胞凋亡和细胞周期的双重检测点的调控, Survivin细胞内定位的复杂性的具体环节, Survivin的选择剪接和剪接异构体又是如何调节细胞凋亡的? 这些问题均需要进一步研究和探讨, 为肿瘤的诊断和治疗奠定坚实的理论基础.

## 7 参考文献

- 1 Debatin KM. Apoptosis pathways in cancer and cancer therapy. *Cancer Immunol Immunother* 2004;53:153-159
- 2 Crook NE, Clem RJ, Miller LK. An apoptosis-inhibiting baculovirus gene with a zinc finger-like motif. *J Virol* 1993;67:



- 2168-2174
- 3 Nachmias B, Ashhab Y, Ben-Yehuda D. The inhibitor of apoptosis protein family (IAPs): an emerging therapeutic target in cancer. *Semin Cancer Biol* 2004;14:231-243
- 4 Liston P, Young SS, Mackenzie AE, Korneluk RG. Life and death decisions: the role of the IAPs in modulating programmed cell death. *Apoptosis* 1997;2:423-441
- 5 Holcik M, Gibson H, Korneluk RG. XIAP: apoptotic brake and promising therapeutic target. *Apoptosis* 2001;6:253-261
- 6 Yamaguchi K, Nagai S, Ninomiya-Tsuji J, Nishita M, Tamai K, Irie K, Ueno N, Nishida E, Shibuya H, Matsumoto K. XIAP, a cellular member of the inhibitor of apoptosis protein family, links the receptors to TAB1-TAK1 in the BMP signaling pathway. *EMBO J* 1999;18:179-187
- 7 Andersen MH, Reker S, Becker JC, Thor Straten P. The melanoma inhibitor of apoptosis protein: a target for spontaneous cytotoxic T cell responses. *J Invest Dermatol* 2004;122:392-399
- 8 Yamashita M, Nishio H, Harada Y, Matsuo M, Yamamoto T. Significant increase in the number of the SMN2 gene copies in an adult-onset Type III spinal muscular atrophy patient with homozygous deletion of the NAIP gene. *Eur Neurol* 2004;52:101-106
- 9 Escuin D, Rosell R. The anti-apoptosis survivin gene and its role in human cancer: an overview. *Clin Lung Cancer* 1999;1:138-143
- 10 Altieri DC. Survivin, versatile modulation of cell division and apoptosis in cancer. *Oncogene* 2003;22:8581-8589
- 11 Ambrosini G, Adida C, Altieri DC. A novel anti-apoptosis gene, survivin, expressed in cancer and lymphoma. *Nat Med* 1997;3:917-921
- 12 Li F. Survivin study: what is the next wave? *J Cell Physiol* 2003;197:8-29
- 13 Kiechle FL, Zhang X. Apoptosis: biochemical aspects and clinical implications. *Clin Chim Acta* 2002;326:27-45
- 14 Chiou SK, Jones MK, Tarnawski AS. Survivin - an anti-apoptosis protein: its biological roles and implications for cancer and beyond. *Med Sci Monit* 2003;9:PI25-PI29
- 15 Mollinedo F, Gajate C. Microtubules, microtubule-interfering agents and apoptosis. *Apoptosis* 2003;8:413-450
- 16 Altieri DC. Validating survivin as a cancer therapeutic target. *Nat Rev Cancer* 2003;3:46-54
- 17 Reed JC. The Survivin saga goes in vivo. *J Clin Invest* 2001;108:965-969
- 18 Li F, Altieri DC. The cancer antiapoptosis mouse survivin gene: characterization of locus and transcriptional requirements of basal and cell cycle-dependent expression. *Cancer Res* 1999;59:3143-3151
- 19 Adida C, Berrebi D, Peuchmaur M, Reyes-Mugica M, Altieri DC. Anti-apoptosis gene, survivin, and prognosis of neuroblastoma. *Lancet* 1998;351:882-883
- 20 Monzo M, Rosell R, Felip E, Astudillo J, Sanchez JJ, Maestre J, Martin C, Font A, Barnadas A, Abad A. A novel anti-apoptosis gene: Re-expression of survivin messenger RNA as a prognosis marker in non-small-cell lung cancers. *J Clin Oncol* 1999;17:2100-2104
- 21 Tanaka K, Iwamoto S, Gon G, Nohara T, Iwamoto M, Tanigawa N. Expression of survivin and its relationship to loss of apoptosis in breast carcinomas. *Clin Cancer Res* 2000;6:127-134
- 22 Lu CD, Altieri DC, Tanigawa N. Expression of a novel antiapoptosis gene, survivin, correlated with tumor cell apoptosis and p53 accumulation in gastric carcinomas. *Cancer Res* 1998;58:1808-1812
- 23 Kawasaki H, Altieri DC, Lu CD, Toyoda M, Tenjo T, Tanigawa N. Inhibition of apoptosis by survivin predicts shorter survival rates in colorectal cancer. *Cancer Res* 1998;58:5071-5074
- 24 Kawasaki H, Toyoda M, Shinohara H, Okuda J, Watanabe I, Yamamoto T, Tanaka K, Tenjo T, Tanigawa N. Expression of survivin correlates with apoptosis, proliferation, and angiogenesis during human colorectal tumorigenesis. *Cancer* 2001;91:2026-2032
- 25 Ikeguchi M, Ueda T, Sakatani T, Hirooka Y, Kaibara N. Expression of survivin messenger RNA correlates with poor prognosis in patients with hepatocellular carcinoma. *Diagn Mol Pathol* 2002;11:33-40
- 26 Smith SD, Wheeler MA, Plescia J, Colberg JW, Weiss RM, Altieri DC. Urine detection of survivin and diagnosis of bladder cancer. *JAMA* 2001;285:324-328
- 27 Swana HS, Grossman D, Anthony JN, Weiss RM, Altieri DC. Tumor content of the antiapoptosis molecule survivin and recurrence of bladder cancer. *N Engl J Med* 1999;341:452-453
- 28 Takamizawa S, Scott D, Wen J, Grundy P, Bishop W, Kimura K, Sandler A. The survivin:fas ratio in pediatric renal tumors. *J Pediatr Surg* 2001;36:37-42
- 29 Hattori M, Sakamoto H, Satoh K, Yamamoto T. DNA demethylase is expressed in ovarian cancers and the expression correlates with demethylation of CpG sites in the promoter region of c-erbB-2 and survivin genes. *Cancer Lett* 2001;169:155-164
- 30 Saitoh Y, Yaginuma Y, Ishikawa M. Analysis of Bcl-2, Bax and Survivin genes in uterine cancer. *Int J Oncol* 1999;15:137-141
- 31 Adida C, Recher C, Raffoux E, Daniel MT, Taksin AL, Rousselot P, Sigaux F, Degos L, Altieri DC, Dombret H. Expression and prognostic significance of survivin in de novo acute myeloid leukaemia. *Br J Haematol* 2000;111:196-203
- 32 Adida C, Haioun C, Gaulard P, Lepage E, Morel P, Briere J, Dombret H, Reyes F, Diebold J, Gisselbrecht C, Salles G, Altieri DC, Molina TJ. Prognostic significance of survivin expression in diffuse large B-cell lymphomas. *Blood* 2000;96:1921-1925
- 33 Grossman D, McNiff JM, Li F, Altieri DC. Expression of the apoptosis inhibitor, survivin, in nonmelanoma skin cancer and gene targeting in a keratinocyte cell line. *Lab Invest* 1999;79:1121-1126
- 34 Koch CA, Vortmeyer AO, Diallo R, Poremba C, Giordano TJ, Sanders D, Bornstein SR, Chrousos GP, Pacak K. Survivin: a novel neuroendocrine marker for pheochromocytoma. *Eur J Endocrinol* 2002;146:381-388
- 35 Tran J, Rak J, Sheehan C, Saibil SD, LaCasse E, Korneluk RG, Kerbel RS. Marked induction of the IAP family antiapoptotic proteins survivin and XIAP by VEGF in vascular endothelial cells. *Biochem Biophys Res Commun* 1999;264:781-788
- 36 Altieri DC. Survivin and apoptosis control. *Adv Cancer Res* 2003;88:31-52
- 37 Li F, Ambrosini G, Chu EY, Plescia J, Tognin S, Marchisio PC, Altieri DC. Control of apoptosis and mitotic spindle checkpoint by survivin. *Nature* 1998;396:580-584
- 38 Terada Y. Role of chromosomal passenger complex in chromosome segregation and cytokinesis. *Cell Struct Funct* 2001;26:653-657
- 39 Wheatley SP, Carvalho A, Vagnarelli P, Earnshaw WC. INCENP is required for proper targeting of Survivin to the centromeres and the anaphase spindle during mitosis. *Curr Biol* 2001;11:886-890
- 40 Suzuki A, Shiraki K. Tumor cell "dead or alive": caspase and survivin regulate cell death, cell cycle and cell survival. *Histol Histopathol* 2001;16:583-593
- 41 Adams RR, Carmena M, Earnshaw WC. Chromosomal passengers and the (aurora) ABCs of mitosis. *Trends Cell Biol* 2001;11:49-54
- 42 Castedo M, Perfettini JL, Roumier T, Andreau K, Medema R, Kroemer G. Cell death by mitotic catastrophe: a molecular definition. *Oncogene* 2004;23:2825-2837
- 43 Wheatley SP, Henzing AJ, Dodson H, Khaled W, Earnshaw WC. Aurora-B phosphorylation in vitro identifies a residue of survivin that is essential for its localization and binding to inner centromere protein (INCENP) in vivo. *J Biol Chem* 2004;279:5655-5660
- 44 Nam NH, Parang K. Current targets for anticancer drug discovery. *Curr Drug Targets* 2003;4:159-179
- 45 Ambrosini G, Adida C, Sirugo G, Altieri DC. Induction of



- apoptosis and inhibition of cell proliferation by survivin gene targeting. *J Biol Chem* 1998;273:11177-11182
- 46 Olie RA, Simoes-Wust AP, Baumann B, Leech SH, Fabbro D, Stahel RA, Zangemeister-Wittke U. A novel antisense oligonucleotide targeting survivin expression induces apoptosis and sensitizes lung cancer cells to chemotherapy. *Cancer Res* 2000;60:2805-2809
- 47 Mesri M, Morales-Ruiz M, Ackermann EJ, Bennett CF, Pober JS, Sessa WC, Altieri DC. Suppression of vascular endothelial growth factor-mediated endothelial cell protection by survivin targeting. *Am J Pathol* 2001;158:1757-1765
- 48 Mesri M, Wall NR, Li J, Kim RW, Altieri DC. Cancer gene therapy using a survivin mutant adenovirus. *J Clin Invest* 2001;108:981-990
- 49 Grossman D, Kim PJ, Schechner JS, Altieri DC. Inhibition of melanoma tumor growth in vivo by survivin targeting. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001;98:635-640
- 50 Li F, Ackermann EJ, Bennett CF, Rothermel AL, Plescia J, Tognin S, Villa A, Marchisio PC, Altieri DC. Pleiotropic cell-division defects and apoptosis induced by interference with survivin function. *Nat Cell Biol* 1999;1:461-466
- 51 Fornaro M, Plescia J, Chheang S, Tallini G, Zhu YM, King M, Altieri DC, Languino LR. Fibronectin protects prostate cancer cells from tumor necrosis factor- $\alpha$ -induced apoptosis via the AKT/survivin pathway. *J Biol Chem* 2003;278:50402-50411
- 52 Pisarev V, Yu B, Salup R, Sherman S, Altieri DC, Gabrilovich DI. Full-length dominant-negative survivin for cancer immunotherapy. *Clin Cancer Res* 2003;9:6523-6533
- 53 Andersen MH, Thor SP. Survivin—a universal tumor antigen. *Histol Histopathol* 2002;17:669-675
- 54 Li LP, Liang NC, Luo CQ. Construction of survivin siRNA expression vector and its regulation on cell cycle and proliferation in MCF-7 cells. *Ai Zheng* 2004;23:742-748
- 55 Ling X, Li F. Silencing of antiapoptotic survivin gene by multiple approaches of RNA interference technology. *Biotechniques* 2004;36:450-454
- 56 Coumoul X, Li W, Wang RH, Deng C. Inducible suppression of Fgfr2 and Survivin in ES cells using a combination of the RNA interference (RNAi) and the Cre-LoxP system. *Nucleic Acids Res* 2004;32:e85

编辑 王谨晖 审读 张海宁

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2005 年版权归世界胃肠病学杂志社

• 消息 •

## 2005年第四次全国幽门螺杆菌学术会议征文通知

**本刊讯** 由中华医学会消化病学分会主办, 湖南省医学会、湖南省医学会消化病学专业委员会承办的第四次全国幽门螺杆菌学术会议定于2005-10月中旬在湖南省长沙市召开, 现将征文通知公布如下:

### 1 内容

文章内容包括: 幽门螺杆菌流行病学及其他传播途径、幽门螺杆菌的致病机理及其分子机制、幽门螺杆菌相关性疾病的研究、幽门螺杆菌与胃肠道外疾病、幽门螺杆菌与胃癌的研究进展、幽门螺杆菌诊治进展、幽门螺杆菌耐药研究进展。

### 2 论文寄送地址

湖南省长沙市湘雅路87号, 中南大学湘雅医院消化科 袁伟健教授 收; 邮编: 410008. 电话: 0731-4327106, 4327282. 请在信封上注明“全国幽门螺杆菌会议征文”。