

doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2019.03.005

View this article at: http://dx.doi.org/10.3978/j.issn.2095-6959.2019.03.005

## Survivin 基因在胚胎性横纹肌肉瘤 RD 细胞中的作用

曹娟<sup>1</sup>, 杨国城<sup>1</sup>, 张欢<sup>1</sup>, 何潇潇<sup>1</sup>, 缪秋玲<sup>1</sup>, 陈永先<sup>1</sup>, 何鹏<sup>1</sup>, 文飞球<sup>2</sup>

(深圳市儿童医院 1. 病理科; 2. 血液肿瘤科, 广东 深圳 518038)

**[摘要]** 目的: 探讨survivin基因在儿童胚胎性横纹肌肉瘤(embryonal rhabdomyosarcoma, ERMS)中的生物学作用。方法: 采用survivin免疫组织化学检测ERMS肿瘤组织和正常骨骼肌组织的表达情况, 小干扰RNA(siRNA)介导的survivin抑制对ERMS RD细胞凋亡的影响, 原位末端标记法(TUNEL)检测RD细胞凋亡率, Western印迹法检测RD细胞caspase-3和caspase-9蛋白表达水平。结果: Survivin在ERMS中高表达而在正常骨骼肌组织中不表达, 特异性siRNA干扰survivin表达导致RD细胞凋亡显著增加, survivin表达的下调导致更高的凋亡率, survivin表达的下调增加了caspase-3的活性, 对caspase-9的活性无影响。结论: Survivin过表达可能通过抑制细胞凋亡而与ERMS发病机制有关。

**[关键词]** survivin; 胚胎横纹肌肉瘤; 凋亡; caspase

## Role of survivin gene in RD cells of embryonic rhabdomyosarcoma

CAO Juan<sup>1</sup>, YANG Guocheng<sup>1</sup>, ZHANG Huan<sup>1</sup>, HE Xiaoxiao<sup>1</sup>, MIAO Qiuling<sup>1</sup>, CHEN Yongxian<sup>1</sup>,  
HE Peng<sup>1</sup>, WEN Feiqiu<sup>2</sup>

(1. Department of Pathology; 2. Department of Hematology-Oncology, Shenzhen Children's Hospital, Shenzhen Guangdong 518038, China)

**Abstract** **Objective:** To investigate the biological roles of survivin in pediatric embryonal rhabdomyosarcoma (ERMS). **Methods:** Immunohistochemical stain with survivin-specific antibody were performed on primary ERMS tumor tissue and on normal skeletal muscle tissue. Subsequently, we explored the effect of small interfering RNA (siRNA)-mediated inhibition of survivin on the apoptosis potential in representative RD cell line. TUNEL method was used to detect the apoptosis of RD cell. The expression levels of caspase-3 and caspase-9 protein were measured by Western blot. **Results:** Survivin was highly expressed in ERMS primary tumor but not in normal skeletal muscle tissue. Disruption of survivin expression by survivin-specific siRNA resulted in a significant increase of apoptosis in human RD cell. Higher apoptotic rate was caused by the down-regulation of survivin expression. In addition, knockdown of survivin expression promoted the activation of caspase-3 but not caspase-9.

收稿日期 (Date of reception): 2018-11-24

通信作者 (Corresponding author): 文飞球, Email: fwen62@126.com

基金项目 (Foundation item): 深圳市科技创新委员会基础研究项目 (JCYJ20160429175432818)。This work was supported by the Basic Research Project of Shenzhen Municipal Science and Technology Innovation Committee, China (JCYJ20160429175432818).

**Conclusion:** Over-expression of survivin might be relevant to ERMS pathogenesis through inhibiting cell apoptosis in a caspase-dependent manner.

**Keywords** survivin; embryonal rhabdomyosarcoma; apoptosis; caspase

横纹肌肉瘤(rhabdomyosarcoma, RMS)是儿童最常见的软组织肉瘤, 占所有儿童恶性肿瘤的4%~8%, 约占所有软组织肉瘤的一半<sup>[1]</sup>。形态学上儿童RMS发生主要为胚胎性横纹肌肉瘤(embryonal rhabdomyosarcoma, ERMS)和腺泡状横纹肌肉瘤(alveolar rhabdomyosarcoma, ARMS)两种组织学类型<sup>[2]</sup>。ERMS是RMS最常见的亚型, 主要累及儿童的头颈部和泌尿生殖系统区域, 通常预后较好; ARMS最常见于青少年和年轻人的四肢和躯干, 通常预后更差, 这些独特的病理形态和临床特征被认为是不同的遗传学改变所致。

约70%的ARMS肿瘤具有t(2;13)(q35;q14)或t(1;13)(p36;q14)的相互易位, 导致由PAX3或PAX7的DNA结合域与FOXO1转录域融合的嵌合转录因子表达<sup>[3-4]</sup>, 产生的融合蛋白将激活PAX3/PAX7靶基因的转录, 从而导致癌症发展<sup>[5-7]</sup>。不同的是ERMS11p15位点常表现出杂合性缺失(LOH)<sup>[8]</sup>, 其他如DICER1突变<sup>[9]</sup>、miR-1和miR-133a水平的降低<sup>[10]</sup>和N-ras和K-ras癌基因的点突变也被发现与ERMS肿瘤发生有关<sup>[11-12]</sup>。尽管大量的遗传学改变已经被研究证实, 但ERMS与其他重要细胞事件例如程序性细胞死亡的关系仍不明确, 需要进一步研究。

## 1 对象与方法

### 1.1 对象

收集2010年1月至2018年6月深圳市儿童医院13例ERMS患儿肿瘤组织, 手术治疗前未进行放疗或者化疗, 采集前均通过深圳市儿童医院医学伦理委员会批准及患儿家长知情同意, 标本均经过2名病理副主任医师确诊为ERMS, 正常骨骼肌标本来源于儿童先天性肌性斜颈的瘤旁骨骼肌。其中男7例, 女6例, 年龄3个月~5岁(2岁±4个月), 均定期随访。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 细胞培养

用含10%胎牛血清(美国Invitrogen公司)和100 U/mL青霉素+100 µg/mL链霉素的McCoy5A培养基(美国Sigma公司)在37 °C, 5%CO<sub>2</sub>条件下培养

人ERMS RD细胞(美国ATCC细胞库)。

#### 1.2.2 Survivin 干扰序列的设计

Survivin基因ID和mRNA全长序列号从NCBI获取(NM\_001168.1), 利用Whitehouse软件进行预测分析由21个核苷酸组成的干扰序列, 并利用Sidirect在线设计软件, 将mRNA序列全长输入待预测序列框, 选择设计方针为雷诺方程, GC含量控制在30%~50%, 获得预测结果, 最后利用Rational SiRNA Design软件验证设计的序列。Blast对各个预测的核苷酸序列进行比对, 设计得到3条21个核苷酸的survivin的干扰序列。同时合成一条与人类基因无同源性的阴性对照序列(neg)。3条干扰survivin的siRNA序列分别是siRNA1(1 281~1 301): 5'-AAAGCCATTCTAAGTCATTGG-3'; siRNA2(164~184): 5'-AAGGACCACCGCATCTCTACA-3'; siRNA3(305~325): 5'-AAGCATTCGTCCGGTTGCGCT-3'。

#### 1.2.3 RD 细胞瞬时转染

采用Lipofectamine™ 2000脂质体法将siRNA转染到RD细胞中, 转染前将RD细胞接种于24孔板中, 生长至40%~50%的密度, 用无血清的opti-MEM(美国Invitrogen公司)替换培养基。在室温下将200 µL opti-MEM稀释的siRNA与200 µL opti-MEM稀释的1 µL 2000™脂质体混合20 min, 然后将合成的混合物加入到24孔板中, 在37 °C培养4 h后加入FBS培养基, 将细胞培养24~48 h以作进一步的分析。阴性对照组转染无关序列neg, 实验组分别转染设计的siRNA1, siRNA2, siRNA3, 每组设3个复孔。

#### 1.2.4 Western 印迹法

总蛋白含量用BCA蛋白测定试剂盒定量, 提取siRNA转染的RD细胞蛋白, 用含有SDS的1×样品缓冲液变性, 在15% SDS聚丙烯酰胺凝胶上分离总细胞裂解物并转移至硝酸纤维膜上。在室温下用5%脱脂牛奶封闭1 h后, 加入survivin, α-tubublin, caspase-3和caspase-9一抗(美国Cell Signaling Technology公司), 4 °C膜上孵育过夜, 用TBST充分洗涤后, 在室温下用辣根过氧化物酶连接的二抗在膜上孵育45 min。采用增强化学发光Western印迹检测试剂盒(瑞典Amersham生物科技公司)检测化学发光, 使用Image Quant TL软件通过灰度分析法对结果进行定量。

### 1.2.5 TUNEL 试验

在24孔板中将两份RD细胞接种在无菌、酸处理的12 mm盖玻片上, RD细胞用survivin特异性siRNA转染, 转染36 h后用PBS冲洗RD细胞, 然后室温下用新制备的4%多聚甲醛在PBS中固定30 min。洗涤后用0.3% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>在甲醇中处理盖玻片上的细胞30 min, 用0.1% Triton X-100在0.1% 柠檬酸钠溶液中渗透2 min, 然后将这些细胞与含末端脱氧核苷酸转移酶(TdT)和荧光素偶联dUTP的50 μL TUNEL反应混合物在37 °C下孵育60 min。用Axiovision 3.0软件在Axiovert 200倒置显微镜(德国卡尔蔡司公司)观察荧光。

### 1.2.6 免疫组织化学方法

脱蜡样品用3% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>在甲醇中处理10 min以阻断内源过氧化氢酶活性, 然后用兔抗人survivin多克隆抗体(福州迈新生物科技公司)在4 °C孵育过夜。用PBS漂洗3次后, 在室温下按MaxVision™ 2/HRP检测试剂盒(福州迈新生物科技公司)二抗孵育15 min, 孵育后用新鲜制备的DAB溶液处理样品, 最后用苏木精染色、透明、密封, 对标本进行光学显微镜观察。

### 1.3 统计学处理

利用SPSS 20.0软件进行数据分析, 以均数±标准差( $\bar{x}\pm s$ )表示实验数据, 用 $t$ 检验比较survivin在肿

瘤组和对照组织中的表达水平,  $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 HE 形态观察及 FISH 检测

ERMS主要由原始小圆形细胞和不同分化的横纹肌母细胞以不同比例组成, 瘤细胞分布疏密不均, 富于细胞密集区与瘤细胞稀少疏松的黏液样区相交替存在。依不同分化的横纹肌母细胞的比例及成熟程度分为3个级别(图1): 低分化(III级)瘤细胞圆形、卵圆形及短梭形, 胞质少, 缺乏肌源性特征; 中分化(II级)瘤细胞大圆形及梭形, 胞质嗜酸, 少见带状细胞和球拍细胞, 偶见横纹和瘤巨细胞; 高分化(I级)瘤细胞分化较成熟, 瘤细胞长梭形及带状, 胞质丰富嗜酸, 可显横纹。

### 2.2 Survivin 蛋白在 ERMS 肿瘤中的表达

Survivin在组织胚胎发育过程中表达, 但在大多数终末分化的成熟组织中缺乏表达。用兔抗人survivin多克隆抗体对ERMS组织进行了免疫组织化学染色, 结果显示: survivin蛋白在ERMS肿瘤组织细胞核和细胞质显著染色(图2A, 2B), 在正常骨骼肌细胞未见survivin染色(图2C, 2D)。

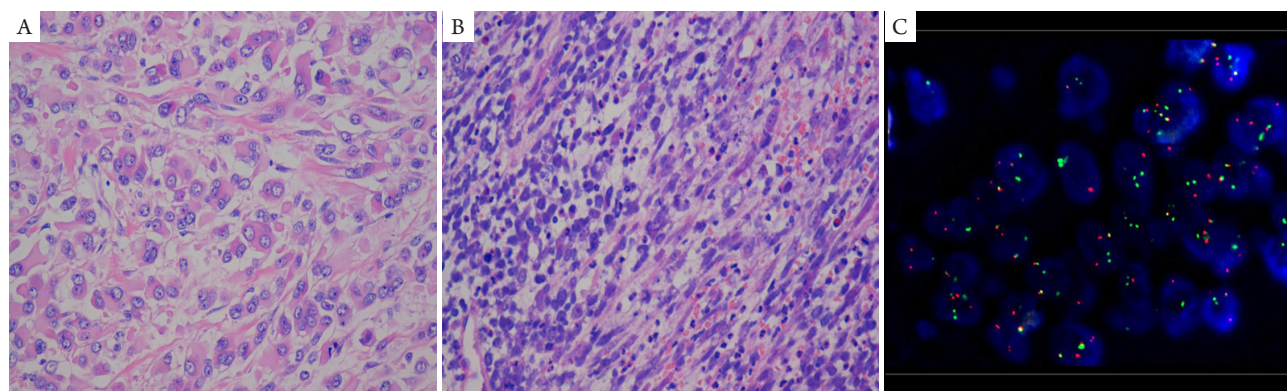


图1 ERMS HE染色及ARMS FISH检测

Figure 1 HE staining of embryonal rhabdomyosarcoma and FISH detection of alveolar rhabdomyosarcoma

(A) 高分化胚胎性横纹肌肉瘤(×200); (B) 低分化胚胎性横纹肌肉瘤(×200); (C) ARMS FKHR基因FISH检测存在异常扩增及分离。

(A) High differentiation of embryonal rhabdomyosarcoma (×200); (B) Poor differentiation of embryonal rhabdomyosarcoma (×200); (C) Abnormal amplification and isolation of FKHR gene in alveolar rhabdomyosarcoma detected by FISH.

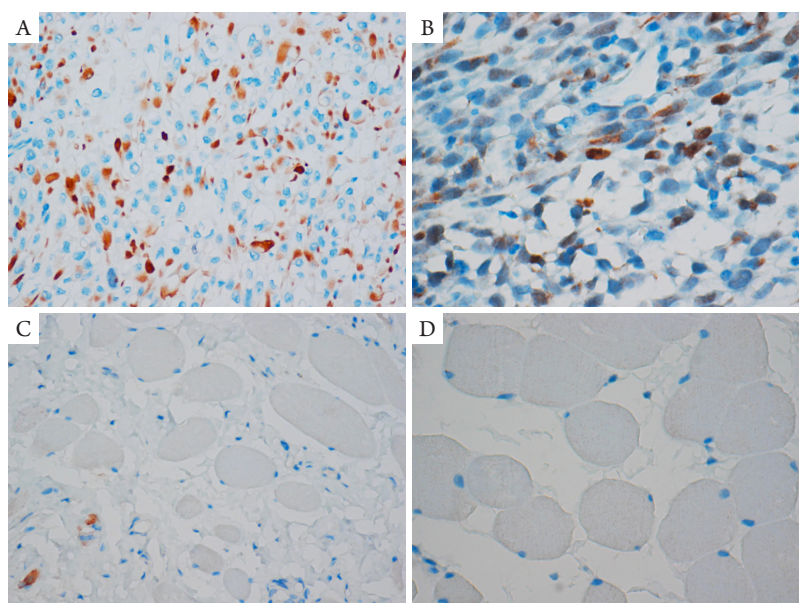


图2 Survivin在ERMS肿瘤和非癌性骨骼肌组织中的免疫组织化学染色

**Figure 2 Immunohistochemical staining of survivin in ERMS tumor and non-cancerous skeletal muscle tissue**

Survivin在ERMS组织中高表达, 在正常骨骼肌组织中缺乏表达。(A, B)ERMS肿瘤IHC染色(A:  $\times 200$ , B:  $\times 400$ ); (C, D)正常骨骼肌组织IHC染色(C:  $\times 200$ , D:  $\times 400$ )。

Survivin was expressed at high levels in ERMS tissue but lacks expression in normal skeletal muscle tissue. (A, B) IHC of ERMS tumor (A:  $\times 200$ , B:  $\times 400$ ); (C, D) IHC of normal skeletal muscle (A:  $\times 200$ , B:  $\times 400$ ).

**2.3 Survivin 特异性 siRNA 对 RD 细胞 survivin 蛋白表达的影响**

为抑制survivin蛋白的表达, 本研究合成了靶向人survivin mRNA外显子1区的21聚体siRNA, 并转染到ERMS细胞系RD细胞中。同时用人mRNA无明显同源性的干扰siRNA控制RNA干扰反应的特异性。试验结果表明: 用100 nm siRNA处理RD细胞产生了survivin蛋白的最佳抑制效果。Survivin siRNA的处理呈survivin积累的时间依赖性抑制(图3A)。24 h后超过一半的survivin蛋白被抑制, 给药48 h后只有(22 $\pm$ 4)%被保留(图3B); 值得注意的是这种抑制是特异性的, 因为RNA干扰(RNAi)寡核苷酸不改变其他蛋白如微管蛋白的表达水平, 因此本研究选择48 h作为siRNA给药时间。

**2.4 TUNEL 试验检测 RD 细胞凋亡率**

采用TUNEL试验分析surviving-siRNA转染细胞和阴性对照组细胞中的凋亡指数, 结果显示: 与阴性对照组相比, survivin表达的下调导致更高的凋亡率(图4A)。转染survivin siRNA的细胞组凋亡率为(48 $\pm$ 8)%, 转染阴性序列siRNA的细胞组凋亡率为(1.6 $\pm$ 0.2)%( $P < 0.01$ , 图3B), 观察结果与survivin作为抗凋亡蛋白相一致。

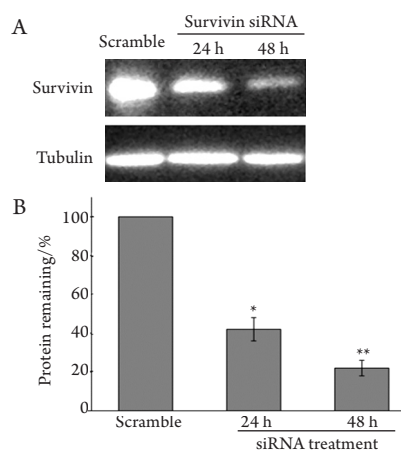


图3 siRNA抑制survivin蛋白的表达

**Figure 3 Survivin siRNA suppressed survivin protein accumulation**

(A)用survivin特异性siRNA及阴性对照序列分别转染RD细胞。蛋白质印迹分析验证survivin蛋白的抑制作用, 微管蛋白作为内对照; (B)siRNA处理后survivin蛋白水平的定量, 数据代表三个独立的试验。\* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$ 。

(A) Aliquots of RD cells were transfected with survivin-specific siRNA and scramble control. The suppression of survivin protein was analysed by Western blotting, and tubulin was used as loading controls. (B) Quantitation of the survivin protein level after siRNA treatment. Data were representative of three independent experiments. \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$ .

## 2.5 Western 印迹法检测 RD 细胞 caspase-3 和 caspase-9 蛋白的表达

Western印迹结果显示：抑制survivin表达减少了非活性caspase-3前体的数量，相应地增加活

性caspase-3的p17片段的数量，表明天然酶原转化为活性状态(图5A)；相反，survivin的断裂对全长pro-caspase-9和caspase-9裂解片段的蛋白水平没有影响(图5B)。

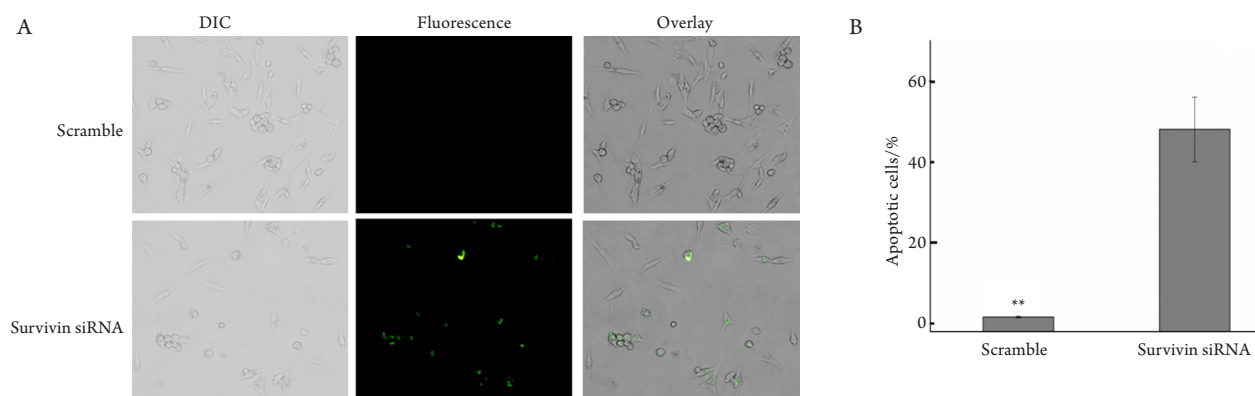


图4 RD细胞中survivin表达的抑制增加细胞凋亡

Figure 4 Suppression of survivin expression increased cell apoptosis in RD cell

(A)用survivin siRNA和对照组寡核苷酸转染RD细胞48 h，然后进行TUNEL试验和荧光素成像分析( $\times 100$ )。数据代表3个独立的试验。(B)分别检测阴性对照siRNA和survivin-siRNA处理RD细胞的凋亡率。 $**P<0.01$ 。

(A) RD cell were transfected with survivin siRNA and control oligonucleotide for 48 h by TUNEL assay and the fluorescein imaging ( $\times 100$ ). Data were representative of three independent experiments; (B) quantification of apoptotic cells in RD cells with scramble siRNA and survivin-specific siRNA treatment.  $**P<0.01$ .

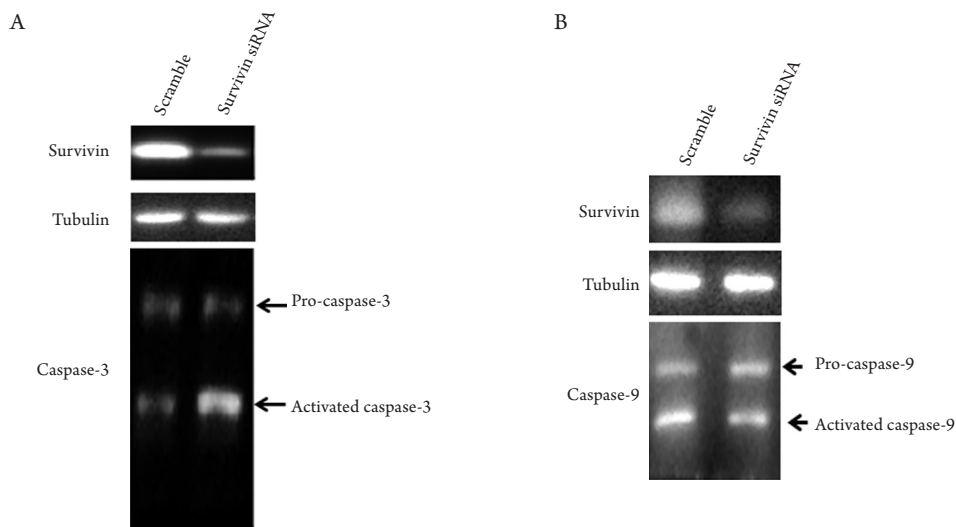


图5 Western印迹检测survivin抑制后裂解产物

Figure 5 Cleavage products by following survivin suppression was detected by Western blot

(A)Procaspase-3/procaspase-3的裂解产物；(B)procaspase-9/procaspase-9的裂解产物。

(A) Procaspase-3/procaspase-3 cleavage product; (B) procaspase-9/procaspase-9 cleavage product.

### 3 讨论

RMS是儿童最常见的恶性软组织肉瘤之一, 具有多种组织学亚型并与临床治疗和预后相关, 多个染色体畸变和遗传变异已被证实与RMS的发展和进展有关<sup>[13-14]</sup>。本研究证实了抗凋亡蛋白survivin在原发性ERMS组织中的异常表达, 并提示survivin过度表达引起的细胞凋亡失调可能与RMS发生发展相关。

Survivin是凋亡抑制蛋白(IAP)家族一种保守的成员, 具有单个杆状病毒IAP重复(BIR)结构域和延伸的羧基端 $\alpha$ -螺旋, 但无环指序列<sup>[15]</sup>, 定位于多个亚细胞器并以细胞周期依赖的方式调节。有丝分裂过程中survivin与Aurora-B激酶<sup>[16]</sup>、Borealin蛋白和内着丝粒蛋白INCENP形成复合物进行细胞分裂, 参与从染色体微管相互作用到姐妹染色单体内聚再到胞质分裂整个过程<sup>[17-18]</sup>。Survivin能拮抗外源性和内源性的凋亡途径启动细胞凋亡<sup>[19]</sup>, 在大多数肿瘤和转化细胞系中显著表达, 但在分化的成熟组织中很少表达<sup>[20-21]</sup>。研究<sup>[22-23]</sup>表明: survivin表达增加是癌症进展或预后不良的危险因素。目前survivin被认为是一种很有前途的生物标志物, 也是癌症治疗的一个有吸引力的目标<sup>[24-25]</sup>。

Survivin参与许多细胞功能, 包括细胞分裂、凋亡、细胞应激反应和基因组完整性检查<sup>[26]</sup>。Survivin在胚胎发育和人类肿瘤(如肺癌、结肠癌、胰腺癌、乳腺癌和高级别非霍奇金淋巴瘤等)中均有显著表达<sup>[27]</sup>; 在一些正常的成熟组织中也表达和调节, 如原始造血细胞、T淋巴细胞、多形核中性粒细胞和血管内皮细胞, 但成熟组织中的表达水平显著低于转化细胞<sup>[28]</sup>。本研究证明了survivin在ERMS组织中表达, 而未在正常骨骼肌组织中表达, 研究<sup>[29-30]</sup>表明survivin在许多儿童肿瘤如神经母细胞瘤、Wilms肿瘤和一些儿童中枢神经系统恶性肿瘤过表达, 本研究结果支持上述结论。

程序性细胞死亡由半胱氨酸蛋白酶(caspase)的执行, 凋亡刺激一系列前半胱氨酸蛋白酶被依次激活, 而激活的半胱氨酸蛋白酶会切割许多下游底物, 最终导致凋亡细胞死亡<sup>[31]</sup>。在哺乳动物细胞中, 凋亡信号通路受Bcl-2家族和IAPs蛋白家族的调控<sup>[32-33]</sup>。本研究采用免疫组织化学染色法观察survivin在儿童ERMS肿瘤组织中的异常表达, 探讨survivin在ERMS RD细胞中的生物学作用, 结果显示: survivin特异性siRNA对RD细胞survivin蛋白在48 h达到最佳抑制效果; TUNEL分析survivin-siRNA转染细胞导致更高的凋亡率( $P < 0.05$ ), 说明

survivin在ERMS RD细胞中具有抗凋亡作用, 并提示ERMS肿瘤的发生与survivin的过表达及其抑制细胞凋亡有关; Western印迹法分析caspase-3和caspase-9的裂解模式, survivin可直接抑制凋亡终末效应酶caspase-3的活性来阻断各种刺激诱导的细胞凋亡过程, 或者与周期蛋白激酶CDK4, CDK2相互作用阻断凋亡信号转导通路。本研究结果基本证实survivin基因的凋亡途径, caspase-9活化的微小差异可能归因于不同的RMS细胞系进行研究, 以上结果均证明survivin过度表达引起的细胞凋亡失调可能是导致ERMS发病的主要原因。

综上所述, survivin在原发性ERMS肿瘤中过度表达, 敲除人RD细胞中survivin的表达增加caspase-3依赖性细胞凋亡。因此, survivin靶向治疗有望成为ERMS干预的有效策略。

### 参考文献

1. Rudzinski ER, Anderson JR, Chi YY, et al. Histology, fusion status, and outcome in metastatic rhabdomyosarcoma: a report from the Children's Oncology Group[J]. *Pediatr Blood Cancer*, 2017, 64(12).
2. Moghadam AR, da Silva Rosa SC, Samiei E, et al. Autophagy modulates temozolomide-induced cell death in alveolar rhabdomyosarcoma cells[J]. *Cell Death Discov*, 2018, 4: 52.
3. Charville GW, Varma S, Forgó E, et al. PAX7 Expression in rhabdomyosarcoma, related soft tissue tumors, and small round blue cell neoplasms[J]. *Am J Surg Pathol*, 2016, 40(10): 1305-1315.
4. Arnold MA, Anderson JR, Gastier-Foster JM, et al. Histology, fusion status, and outcome in alveolar rhabdomyosarcoma with low-risk clinical features: a report from the Children's Oncology Group[J]. *Pediatr Blood Cancer*, 2016, 63(4): 634-639.
5. Arnold MA, Barr FG. Molecular diagnostics in the management of rhabdomyosarcoma[J]. *Expert Rev Mol Diagn*, 2017, 17(2): 189-194.
6. Hanna JA, Garcia MR, Go JC, et al. PAX7 is a required target for microRNA-206-induced differentiation of fusion-negative rhabdomyosarcoma[J]. *Cell Death Dis*, 2016, 7(6): e2256.
7. Kohsaka S, Shukla N, Ameer N, et al. A recurrent neomorphic mutation in MYOD1 defines a clinically aggressive subset of embryonal rhabdomyosarcoma associated with PI3K-AKT pathway mutations[J]. *Nat Genet*, 2014, 46(6): 595-600.
8. Robbins KM, Stabley DL, Holbrook J, et al. Paternal uniparental disomy with segmental loss of heterozygosity of chromosome 11 are hallmark characteristics of syndromic and sporadic embryonal rhabdomyosarcoma[J]. *Am J Med Genet A*, 2016, 170(12): 3197-3206.
9. de Kock L, Rivera B, Revil T, et al. Sequencing of DICER1 in

- sarcomas identifies biallelic somatic DICER1 mutations in an adult-onset embryonal rhabdomyosarcoma[J]. *Br J Cancer*, 2017, 116(12): 1621-1626.
10. Beccafico S, Morozzi G, Marchetti MC, et al. Artesunate induces ROS- and p38 MAPK-mediated apoptosis and counteracts tumor growth in vivo in embryonal rhabdomyosarcoma cells[J]. *Carcinogenesis*, 2015, 36(9): 1071-1083.
  11. Huang HJ, Liu J, Hua H, et al. MiR-214 and N-ras regulatory loop suppresses rhabdomyosarcoma cell growth and xenograft tumorigenesis[J]. *Oncotarget*, 2014, 5(8): 2161-2175.
  12. Mohamed AD, Shah N, Hettmer S, et al. Analysis of the relationship between the KRAS G12V oncogene and the Hippo effector YAP1 in embryonal rhabdomyosarcoma[J]. *Sci Rep*, 2018, 8(1): 15674-15684.
  13. Pandey PR, Chatterjee B, Olanich ME, et al. PAX3-FOXO1 is essential for tumour initiation and maintenance but not recurrence in a human myoblast model of rhabdomyosarcoma[J]. *J Pathol*, 2017, 241(5): 626-637.
  14. Liu C, Li D, Hu J, et al. Chromosomal and genetic imbalances in Chinese patients with rhabdomyosarcoma detected by high-resolution array comparative genomic hybridization. *Int J Clin Exp Pathol*, 2014, 7: 690-698.
  15. Hu F, Pan D, Zheng W, et al. Elucidating respective functions of two domains BIR and C-helix of human IAP surviving for precise targeted regulating mitotic cycle, apoptosis and autophagy of cancer cells[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(69): 113687-113700.
  16. Chen L, Yin T, Nie ZW, et al. Survivin regulates chromosome segregation by modulating the phosphorylation of Aurora B during porcine oocyte meiosis[J]. *Cell Cycle*, 2018, 17(21/22): 2436-2446.
  17. Dai X, Zhang M, Lu Y, et al. Cullin9 protects mouse eggs from aneuploidy by controlling microtubule dynamics via survivin[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2016, 1863(12): 2934-2941.
  18. Makrantonis V, Ciesiolka A, Lawless C, et al. A functional link between Bir1 and the *Saccharomyces cerevisiae* Ctf19 kinetochore complex revealed through quantitative fitness analysis[J]. *G3 (Bethesda)*, 2017, 7(9): 3203-3215.
  19. Zumbrägel FK, Machtens DA, Curth U, et al. Survivin does not influence the anti-apoptotic action of XIAP on caspase-9[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2017, 482(4): 530-535.
  20. Fan R, Wang Y, Wang Y, et al. Mechanism of progesterin resistance in endometrial precancer/cancer through Nrf2-survivin pathway[J]. *Am J Transl Res*, 2017, 9(3): 1483-1491.
  21. Zhang J, Xu R, Tao X, et al. TAT-IL-24-KDEL-induced apoptosis is inhibited by survivin but restored by the small molecular survivin inhibitor, YM155, in cancer cells[J]. *Oncotarget*, 2016, 7(24): 37030-37042.
  22. Ejarque M, Ceperuelo-Mallafre V, Serena C, et al. Survivin, a key player in cancer progression, increases in obesity and protects adipose tissue stem cells from apoptosis[J]. *Cell Death Dis*, 2017, 8(5): e2802.
  23. Li S, Wang L, Meng Y, et al. Increased levels of LAPTM4B, VEGF and surviving are correlated with tumor progression and poor prognosis in breast cancer patients[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(25): 41282-41293.
  24. Jaiswal PK, Goel A, Mittal RD. Survivin: a molecular biomarker in cancer[J]. *Indian J Med Res*, 2015, 141(4): 389-397.
  25. Chen X, Zhang Y, Tang C, et al. Co-delivery of paclitaxel and anti-survivin siRNA via redox-sensitive oligopeptide liposomes for the synergistic treatment of breast cancer and metastasis[J]. *Int J Pharm*, 2017, 529(1/2): 102-115.
  26. Li Z, Pei XH, Yan J, et al. CUL9 mediates the functions of the 3M complex and ubiquitylates surviving to maintain genome integrity[J]. *Mol Cell*, 2014, 54(5): 805-819.
  27. Martínez-García D, Manero-Rupérez N, Quesada R, et al. Therapeutic strategies involving survivin inhibition in cancer[J]. *Med Res Rev*, 2018 [Epub ahead of print].
  28. Assadiasl S, Mousavi MJ, Amirzargar A, et al. Antiapoptotic molecule survivin in transplantation: helpful or harmful?[J]. *J Transplant*, 2018, 2018: 6492034.
  29. Voges Y, Michaelis M, Rothweiler F, et al. Effects of YM155 on surviving levels and viability in neuroblastoma cells with acquired drug resistance[J]. *Cell Death Dis*, 2016, 7(10): e2410.
  30. Polosukhina D, Love HD, Moses HL, et al. Pharmacologic inhibition of  $\beta$ -catenin with pyrvinium inhibits murine and human models of wilms tumor[J]. *Oncol Res*, 2017, 25(9): 1653-1664.
  31. Nagata S, Tanaka M. Programmed cell death and the immune system[J]. *Nat Rev Immunol*, 2017, 17(5): 333-340.
  32. Huang Q, Zheng Y, Ou Y, et al. miR-34a/Bcl-2 signaling pathway contributes to age-related hearing loss by modulating hair cell apoptosis[J]. *Neurosci Lett*, 2017, 661(20): 51-56.
  33. McCann C, Crawford N, Majkut J, et al. Cytoplasmic FLIP(S) and nuclear FLIP(L) mediate resistance of castrate-resistant prostate cancer to apoptosis induced by IAP antagonists[J]. *Cell Death Dis*, 2018, 9(11): 1081-1093.

本文引用: 曹娟, 杨国城, 张欢, 何潇潇, 缪秋玲, 陈永先, 何鹏, 文飞球. Survivin基因在胚胎性横纹肌肉瘤RD细胞中的作用[J]. 临床与病理杂志, 2019, 39(3): 486-492. doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2019.03.005

**Cite this article as:** CAO Juan, YANG Guocheng, ZHANG Huan, HE Xiaoxiao, MIAO Qiuling, CHEN Yongxian, HE Peng, WEN Feiqiu. Role of survivin gene in RD cells of embryonic rhabdomyosarcoma[J]. *Journal of Clinical and Pathological Research*, 2019, 39(3): 486-492. doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2019.03.005