

·综述·

p53 在 DNA 损伤反应中的研究进展

王娅杰, 孙 华, 刘耕陶, 陈晓光*

(中国医学科学院、北京协和医学院药物研究所, 北京 100050)

摘要: p53 基因是研究最广泛的抑癌基因之一, 也是细胞内的一个强大的转录因子, 在正常状态下呈低水平表达。在各种应激包括 DNA 损伤时, p53 可以被不同的信号通路激活并稳定, 通过增强其下游多种基因的转录而引起细胞周期阻滞、凋亡或衰老, 保持细胞基因组的完整性并清除损伤细胞, 这些生物学作用取决于不同的应激信号和细胞类型。p53 通路是机体应对 DNA 损伤的天然防护屏障, 对这一机制的深入研究可为肿瘤的发生发展和抗肿瘤药物的开发提供重要的信息。

关键词: p53; DNA 损伤; MDM2; ATM

中图分类号: R963

文献标识码: A

文章编号: 0513-4870 (2011) 12-1413-07

Advances in the study of p53 in response to DNA damage

WANG Ya-jie, SUN Hua, LIU Geng-tao, CHEN Xiao-guang*

(Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Medical Sciences & Peking Union Medical College, Beijing 100050, China)

Abstract: p53 (encoded by *TP53*) is undoubtedly one of the most extensively studied genes and proteins. It is a highly potent transcription factor which, under normal circumstances, is maintained at low level. Both genotoxic and non-genotoxic stresses can induce p53 stabilized leading to changes in the expression of p53-responsive genes. The biological outcome inducing this pathway can be either growth arrest and apoptosis or senescence to maintain the integrity of the genome or to delete the damaged cells. The biochemical activity of p53 itself and the cellular environment govern the choice between these outcomes in a cell type- and stress-specific manner. So, p53 is a pivotal tumour suppressor and a mainstay of our body's natural anticancer defence. This review could provide some useful information for further study on the mechanisms of tumorigenesis and its progression, and also could contribute to the discovery of antitumor agents.

Key words: p53; DNA damage; murine double minute 2; ataxia-telangiectasia mutated gene

p53 基因是目前发现的与人类肿瘤发病相关性最大的抑癌基因之一, 有“基因卫士”的称号。p53 蛋白在细胞应对环境和自身的各种应激中起着重要的作用, 包括 DNA 损伤、原癌基因激活、缺氧等。p53 位于这些应激信号的中心, 将信号传入细胞, 并作为转录因子通过促进下游目的基因的转录来实现

其功能, 主要包括细胞周期的短暂或长期阻滞 (分化或衰老)、DNA 复制与修复及细胞凋亡^[1], 从而维持细胞基因组的完整性或阻止癌细胞的早期增殖。

1 p53 的结构与功能

p53 位于人染色体 17p13.1, 作为一个核序列特异性的转录因子, 主要包括 3 个功能结构域。N 末端的转录活化区 (transactivation domain, TAD), 通过与通用转录因子 (multi-subunit transcription factor II D, TF II D) 结合并相互作用而发挥转录激活功能。DNA 序列结合区域为中心活性区 (DNA-binding domain, DB), 可结合特定的 DNA 序列。C 末端四聚

收稿日期: 2011-05-10.

基金项目: 国家“重大新药创制”科技重大专项资助项目 (2009ZX09301-003-9-1).

*通讯作者 Tel: 86-10-63165207, Fax: 86-10-63017757,

E-mail: chxg@imm.ac.cn

体化区 (tetramerization domain, TED) 可以使 p53 形成同源四聚体的活性形式, 除此之外还包括核定位信号 (nuclear localization signals, NLS), 富含亮氨酸的核输出信号 (nuclear export signal, NES) 和 C-末端结构域 (carboxy terminus domain, CTD)^[2], 如图 1。

2 p53 激活的上游信号调控网络

正常情况下, p53 基因及其相关网络处于关闭状态, 当细胞在应对外界刺激时, 包括 DNA 损伤和过度增殖等, p53 可被快速激活, 并通过一系列翻译后的修饰作用处于稳定状态; p53 通路可识别微小的双链断裂和 DNA 单链间隙, 此通路一旦被激活便可通过之后的一系列生物学效应而决定细胞的命运, 包括周期阻滞、凋亡、衰老、DNA 修复等。

p53 的诱导和激活由上游蛋白所介导, 其中最主要的是毛细血管扩张性共济失调突变基因 (ataxia-telangiectasia mutated gene, ATM) 和毛细血管扩张性共济失调相关基因 (ataxia-telangiectasia related gene, ATR)。ATM 和 ATR 属于三磷酸肌醇激酶家族的成员, 分别感应不同形式的 DNA 损伤^[3], ATM 主要在双链 DNA 损伤时发挥“检测点”的作用, ATR 则负责感应并传导其他形式的 DNA 损伤, 包括复制叉损伤、DNA 交联等; 这两条通路是相对独立而又相互交通的, 共同激活下游目的蛋白而发挥作用, 包括 CHK1 (checkpoint kinase 1, 检测点激酶 1)、CHK2 (checkpoint kinase 2, 检测点激酶 2) 及其他 p53 通路蛋白。

DNA 双链断裂 (double strand breaks, DSB) 被

MRN (MRE11-RAD50-NBS1) 复合物识别并导致 ATM 的激活, 活化的 ATM 能磷酸化一系列底物分子。其他形式的 DNA 损伤如 UV 所致损伤及复制叉的破坏等导致的单链断裂被复制蛋白 A (replication protein A, RPA) 包被, 并形成 ATRIP 复合物 [the ataxia – telangiectasia an Rad3-related (ATR) – ATR-interacting protein complex], 通过活化 9-1-1 复合物 (comprising RAD9, RAD1 and HUS1), 最终导致 ATR 的激活^[4], 如图 2。这两个激酶被 DNA 损伤激活后, 分别磷酸化下游底物如 CHK1、CHK2、p53 等, 将损伤信号向下一级信号分子传递, p53 的激活在 DNA 损伤信号传导中有着重要的作用, 处于 DNA 损伤信号网络中的“分子节点”, 负责“信号”的集中及决定损伤效应所导致的细胞的最终“命运”^[5]。在不同的应激诱导 p53 的通路研究中, 对于 DSB 所导致的 p53 激活研究最多, 此类型的损伤包括电离辐射、活性氧以及复制过程中复制叉的破坏等。DSB 可以激活细胞周期检测点以“评估”损伤的严重程度, 通过同源重组及非同源重组对损伤进行修复, 当损伤无法修复时将启动凋亡过程^[6]。

在 DNA 损伤过程中, p53 经历复杂的翻译后修饰作用, 包括泛素化、磷酸化、乙酰化、甲基化和 SUMO (small ubiquitin-related modifier) 化等, N 末端包含有转录激活区域, NES 和与小鼠双微体基因 MDM2 (murine double minute 2) 相互作用的区域, 这些区域可以被各种激酶磷酸化修饰。p53 的磷酸化启动了其应对损伤应激的第一步, ATM 激酶是电离辐射诱导

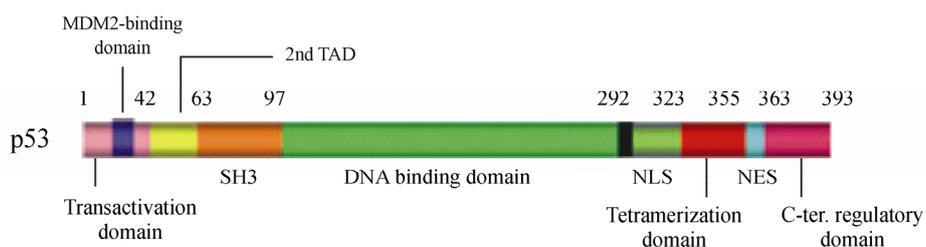


Figure 1 Structure of p53^[2]

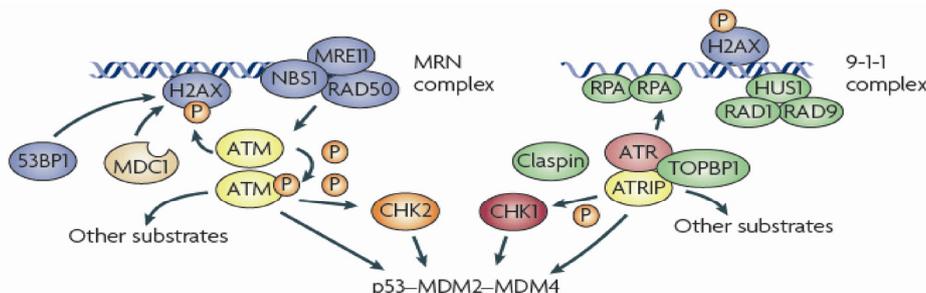


Figure 2 DNA damage response signaling pathways target p53 and its key regulators^[4]

p53 Ser15 快速磷酸化的主要激酶, 几小时之后 ATR 才会启动, Ser15 磷酸化促进了 CHK2 磷酸化 Ser20, Ser15 和 Ser20 的磷酸化为 Thr18 磷酸化所必须, 而这一过程由 CK1 所介导^[7]。在 UV 损伤的细胞中, ATR 激酶磷酸化 p53 Ser15 和 Ser37, UV 还可通过 CK2、hSpt16 和 SSRP1 组成的蛋白酶复合体使 p53 Ser392 磷酸化^[8], 此外, 有研究表明, ERK 和 p38 参与了 UV 损伤 p53 Ser15 的磷酸化, 而 JNK 则参与 p53 Ser20 的磷酸化^[9, 10]。p38 与 p53 相互作用起到了“分子开关”的作用, 决定细胞在 UV 损伤之后的命运, 低剂量 UV 作用时, p38 与 p53 分别作用, 使细胞修复损伤而存活; 高剂量 UV 作用时, p38 直接与 p53 Ser15 磷酸化连接, 进而启动凋亡^[11]。

N 末端的磷酸化对于 p53 的激活是非常重要的, 可以改变与 MDM2 的亲合力, 增加 p53 蛋白的稳定性; Ser20 和 Thr18 的磷酸化可以显著降低 p53-MDM2 的相互作用, 抑制 MDM2 介导的降解; Ser15、Thr18 和 Ser20 磷酸化可以封闭 p53 核输出信号区域, 阻止其被运出核, 而保留在核内发挥转录激活的作用, 还可以募集其他一些辅转录因子如 p300/CBP^[12, 13], 增强转录激活功能。此外, N 末端的磷酸化还有助于 p53 转录特异性的调节, 如 Ser46 的磷酸化使 p53 优先选择前凋亡基因的转录^[14]。

p53 含有多个赖氨酸残基, 它们均是潜在的乙酰化位点, 磷酸化可增强 p53 与乙酰化酶的相互作用, 促进 p53 C 端乙酰化, p53 C 端赖氨酸乙酰化受组蛋白乙酰化转移酶所介导, 如 p300 和 p300/CBP 相关因子 (PCAF)。p300/CREB 结合蛋白 (CBP) 和 PCAF 能分别乙酰化 p53 羧基末端的 Lys373、Lys382、Lys305 (p300/CBP) 和 Lys320 (PCAF)^[15, 16]。Lys320 乙酰化可以增强 p53 蛋白生长阻滞作用^[17]。Lys373 乙酰化有助于 p53 N 末端磷酸化, 提高对于低亲和力结合位点转录活性, 包括前凋亡目的基因, 如 Bax、p53AIP1 和 PIG3^[18]。在 DNA 损伤时, Lys320 和 Lys373 的乙酰化起着“感应器”的作用, 使 p53 感应并协调损伤信号, 进而决定细胞的“生长阻滞”和“死亡”。p53 乙酰化后稳定性增高并激活 p53 的转录活性, 加速 DNA 与 RNA 聚合酶 II 的作用, 对 p53 依赖性的凋亡反应和 p53 的稳定性有重要意义。p53 的乙酰化位点也是泛素化位点, 高水平的乙酰化很可能扰乱泛素化和其后对 p53 突变蛋白的降解, 从而更有利于它的累积^[12]。

此外, 研究发现, 在细胞恶性转化之前, MKK7 激酶可以感知基因组 DNA 的早期损伤, 从而起到肿

瘤抑制作用。MKK7 激酶通过激活其下游信号分子 JNK1 和 JNK2, 使 p53 Ser6、Ser33 和 Thr81 磷酸化而稳定 p53, 减少其降解, 但不影响 p53 mRNA 的表达, 这又是细胞维护基因组稳定的一个重要通路^[19]。而 RPL26 蛋白则可与 p53 mRNA 5'-3'-UTR 相互作用, 增加 p53 mRNA 的翻译, 从而提高 p53 的表达^[20]。

3 p53 的负反馈调节

在正常细胞中, p53 与 MDM2 之间有着精细平衡, MDM2 作为 E3 连接酶, 可导致 p53 经蛋白酶体途径降解, 使 p53 在正常细胞中保持低水平; 而 p53 蛋白作为一个转录因子, 可以激活 MDM2 基因的转录, 此负反馈回路细胞内的 MDM2/p53 比率保持恒定, 在细胞增生中发挥着重要作用。

MDM2 通过介导 p53 降解和抑制其转录活性的两种形式实现对 p53 功能的调节^[21]。① MDM2 介导 p53 穿过核膜进入胞浆降解。p53 可通过 MDM2 依赖途径和 MDM2 非依赖途径从核内向胞浆内转运。MDM2 与 p53 结合后, 通过特异性泛素蛋白连接酶 (E3) 使 p53 蛋白的 C-末端上多个氨基酸位点泛素化, 从而使 p53 能被胞浆中的蛋白水解酶识别并降解; p53 的降解又可减少 MDM2 基因转录, 将 p53-MDM2 负反馈环路关闭。② MDM2 对 p53 转录活性的直接抑制作用。MDM2 含有 1 个 p53 基因结合位点, 与 p53 结合形成复合物, 抑制 p53 的转录活性。MDM2 表达过强则可封闭 p53 介导的反式激活作用, 使 p53 功能丧失, 导致基因的不稳定和细胞增生, 表现出癌基因的作用, 参与肿瘤形成。

在各种损伤因素刺激下, p53 蛋白急剧增加, 转录活性增强并诱导其负调节子 MDM2 的转录和表达。然而, 在 DNA 损伤应激下, MDM2 和 p53 均经历了一系列翻译后修饰作用, 从而破坏了两者的负反馈作用。ATM 可以直接磷酸化 MDM2 Ser386、Ser395、Ser425 和 Ser428, 还有 Thr419, ATR 磷酸化 MDM2 Ser407, ATM 还可磷酸化 c-AB1 激酶进而磷酸化 MDM2 Tyr276 和 Tyr394^[22]。

MDM2 的磷酸化使得其 E3 连接酶的活性丧失, 使其不能形成高度有序的 MDM2 寡聚体^[22]。同样如上所述, p53 在特定的氨基酸残基也经历磷酸化和乙酰化的修饰, 这些修饰打破了 MDM2 与 p53 之间的相互作用。有研究发现, 仅仅阻断 MDM2 与 p53 之间的相互作用便足以激发 p53 的转录因子活性^[23], 而且 p53 没有磷酸化和乙酰化修饰时, 用 RNAi 技术沉默 MDM2 基因, 便足以诱发其转录活性^[24]。还有学者发现只有在 MDM2 存在时, 乙酰化修饰对于

p53 的激活才是必要的^[25], 研究显示, MDM2 除了对 p53 蛋白的直接作用之外, 还可通过影响 p53 的翻译来影响它的功能, 主要通过两种机制: ① 通过与其 mRNA 直接作用, 影响 p53 的翻译; ② 核糖体蛋白 RPL26 在应激状态下对于 p53 的翻译有重要作用, MDM2 可以定向作用于 RPL26 而导致其泛素化降解, 在 DNA 损伤时这种作用被抑制, 从而使得 p53 的 mRNA 可以通过 RPL26 而进行翻译^[26]。

MDM2 基因编码蛋白除全长 p90 (MDM2) 之外, 还有 p76 (MDM2), 后者虽然没有 p53 连接结构域, 但是仍然可以作用于 p53。p76 (MDM2) 有内在的泛素连接降解蛋白质的活性, 可以拮抗 MDM4 对 p53 的抑制作用, 而且还可以减弱 MDM4 与 p53 和 p90 (MDM2) 之间的作用, 通过阻止 MDM4/p90 (MDM2) 异源二聚体的形成而减少 p53 的降解。在基础生长条件下, p76 (MDM2) 对 MDM4 的调节作用发生在胞浆; 相反, 当有 DNA 损伤存在时, MDM4 Ser403 与 p76 (MDM2) 分离, 阻止了 MDM4 的降解。总之, 这些发现揭示了一个新的调控 p53 基础活性的机制, 阐明了在应激状态下, 组织的不同反应取决于 MDM 蛋白之间的平衡状态, 揭示了一个 MDM2 原癌基因产物的肿瘤抑制作用^[27]。激活转录因子 3 (activating transcription factor 3, ATF3) 是新近发现的 p53 激活因子, 在 MDM2 还可以通过降解 ATF3 从而减少 p53 的含量, 这是 MDM2 抑制 p53 的新的反馈机制^[28]。microRNA 家族也参与了 MDM2 的降解, 在细胞应激状态下, p53 作用于 miR-605 的启动子从而激活基因转录, 激活的 miR-605 在转录后水平降解 MDM2 基因, 这样形成 p53 : miR-605 : MDM2 正反馈环路, 从而使 p53 水平快速增加^[29]。

除了 MDM2 与 p53 形成负反馈环路, PPP1R13L (iASPP) 和 p53 蛋白同系物 $\Delta 133p53a$ 也可与 p53 形成负反馈调节, 从而影响 p53 的功能。PPP1R13L 是抗凋亡家族成员之一, 能被各种 DNA 损伤剂所诱导。研究显示, PPP1R13L 的诱导依赖于 p53, 可能通过直接结合从而负性调节 p53 的功能, 减弱了 DNA 损伤之后的 p53 累积和活性, 推测两者之间形成一个负反馈环而起作用^[30]。而 p53 在 mRNA 和蛋白水平诱导 $\Delta 133p53a$ 增加, 后者不但与 p53 形成复合物影响 p53 的功能, 其本身还可降低 p21 表达, 增加 MDM2、Bcl-2 的表达, 最终影响 p53 引起的凋亡和 G₁ 期阻滞, 但对 G₂ 期无影响^[31]。

4 p53 的下游传导通路

在 DNA 损伤信号的传导过程中, p53 蛋白经历了

各种翻译后的修饰及调节机制, 从而使得 p53 蛋白在细胞内大量积聚并激活而发挥功能, 不同的修饰决定了 p53 作为转录因子与 DNA 结合的“选择性”, 因此使 p53 蛋白成为一个“决策者”, 激活下游特定的靶基因或通过蛋白质之间的相互作用, 进一步决定细胞的命运, 如周期阻滞、损伤修复或者凋亡; 影响其做出“决策”的因素包括 DNA 损伤的类型、时间程度、细胞类型、细胞外的刺激、细胞增殖的蛋白和 DNA 修复的效率。

4.1 p53 在细胞周期阻滞和衰老中的作用 细胞对 DNA 损伤作用的反应是激活细胞周期的检查点。至少有两个检查点在细胞周期转换过程中发挥重要作用。G₁ 期检查点, 决定 G₁/S 期转换, 阻止受损 DNA 进行复制; G₂ 期检查点, 决定 G₂/M 期转换, 阻止损伤的或不完全复制的 DNA 进入有丝分裂。

p53 一旦被激活, 它会启动一系列转录程序来对应激信号, 连接到一段特定的 DNA 序列, 即 p53 反应元件 (response element, RE), 启动相关基因的转录, 导致细胞周期阻滞、衰老或凋亡。而不同的蛋白激酶修饰 p53 不同的 DNA 结合位点, 诱导激活不同的 p53 靶基因, 导致细胞停顿于不同的周期位点。p53 调控细胞周期主要体现在通过对 CDKs 的影响而作用于 G₁/S 期和 G₂/M 期两个关键检查点。组蛋白乙酰化酶抑制剂可使 p53 的羧基末端 373/382 位点的赖氨酸发生乙酰化, 并且证明该特异位点的乙酰化导致 p53 下游重要的靶基因 *p21* 激活, 进而启动一系列生物学效应^[32]。

G₁ 期阻滞主要是通过 ATM-p53 通路激活 p21 即周期依赖性激酶抑制剂而起作用, 而对 p21 的调节也可以通过非 p53 依赖而起作用, CHK2 和 p38 MAPK 检测点可以通过此途径发挥非 p53 依赖的 p21 诱导作用而引起细胞衰老^[33]。p53 的另外 3 个下游基因 *cyclin B1*、*gadd45* 和 *14-3-3 σ* 则参与 G₂/M 期阻滞。p53 下调 Cyclin B1 的表达, GADD45 通过抑制 Cyclin B1-Cdc2 复合物的活性而发挥作用, 14-3-3 σ 与 CDC25C 磷酸酶结合, 使其不能入核激活细胞周期复合物 Cyclin B1-Cdc2, 而后者在细胞周期 G₂ 期过渡至 M 期发挥重要作用, 由此导致 G₂/M 期阻滞^[34]。细胞周期的阻滞使细胞可以“评估”损伤的严重程度, 进而决定细胞的“命运”, 而具体通过什么样的机制做出“决定”, 目前尚不清楚。

一方面周期阻滞使细胞可以修复损伤的 DNA, 这对于维护整个基因组的稳定性有着重要意义; 另一方面如果损伤未得到充分修复细胞便进入细胞周

期, 这些细胞有可能发展成为癌细胞, 因此当细胞面对 DNA 损伤时, 这两种选择之间存在着精细的平衡。细胞的“衰老”作用是另一种重要的 p53 依赖的作用机制, 可以阻止损伤的细胞进入生长期。p53 可以激活“衰老”相关的基因转录, 如 *p21*、*pai-1*, 体内实验证明, 这些 p53 依赖基因的激活是 DNA 损伤事件的一种生理反应。p53 突变的 p53R172P 小鼠应对应激状态时, 虽然仍然保留部分周期阻滞的功能, 却不能诱导凋亡, 而且在这种情况下, 仍然可延缓小鼠肿瘤的发生^[35]。这些结果表明, 在应对外界刺激时, p53 诱导的细胞衰老作用是另一种同等有效的抑癌功能, 而且这种作用很可能和染色体损伤的长度和严重程度有关。细胞在低水平损伤时, 可以修复损伤的 DNA, 使细胞存活; 当损伤严重时, 细胞会启动 p53 依赖的凋亡或者衰老反应, “清除”损伤的细胞^[36]。

4.2 p53 在细胞凋亡中的作用 细胞在应对各种各样的细胞外信号时, 可以启动内源和 (或) 外源性凋亡途径发挥肿瘤抑制作用。p53 蛋白作用于不同层面而启动凋亡途径, 包括诱导多种凋亡相关基因的转录或通过非转录依赖的机制。

p53 可以激活内源途径相关的基因如 *bax*、*noxa*、*puma* 和 *apaf-1*^[37], 当 p53 依赖的凋亡途径被细胞“接受”, 这些细胞将进入内源性凋亡途径。OKL38 定位于线粒体可以增加细胞色素 c 的释放, p53 通过诱导肿瘤抑制基因 OKL38 的表达而促进这一过程^[38]。对于外源性途径, p53 可以诱导死亡受体 FAS 和 DR5 的表达, 而且还诱导 TRAIL 和 FASL 的表达^[39]。除了作为转录因子的调节活性之外, p53 还可通过非转录依赖的机制导致细胞死亡。有研究显示, p53 可以和位于线粒体膜上的 Bcl-2、Bcl-xL 和 Mcl-1 相互作用, 而这些蛋白一旦和 p53 结合, 便丧失了稳定线粒体膜的作用, 从而使线粒体膜的通透性改变, 导致细胞色素 c 释放; 此外, p53 可以直接和 Bak 相互作用导致细胞色素 c 的释放^[40], 以上说明线粒体 p53 可以诱导凋亡。线粒体 cyclin B1/Cdk1 激酶可以激活 p53 Ser-315 而提高线粒体 ATP 的产生, 阻止 p53 与 Bcl-2 和 Bcl-xL 的结合, 从而抑制凋亡^[41]。

miR-34 家族在 p53 诱导的凋亡中也有着重要作用^[42], miR-34 的失活可以减弱 p53 诱导的凋亡。D4S234E 是新近发现的 p53 应答基因, 在 p53 应对 DNA 损伤中起着重要作用。p53 可以与 D4S234E 的启动子结合从而调节其转录, RNAi 抑制 D4S234E 表达可以阻止凋亡的发生, 而且一部分 D4S234E 位于

内质网, 这一定位对于 D4S234E 诱导凋亡有着重要作用^[43]。二氢嘧啶酶相关蛋白 4 (dihydropyrimidinase-related protein 4, DPYSL4) 是应用微阵列分析技术发现的 p53 相关凋亡基因, 分析显示 p53 可以直接作用于 DPYSL4 基因, 在运用抗肿瘤药物作用时, 其 mRNA 和蛋白质表达均呈现上调, 基因沉默后细胞的凋亡作用被抑制^[44]。一些化疗药物可以通过葡萄糖转运体 3 (GLUT3) 影响葡萄糖代谢而产生抗肿瘤作用, 在 HeLa 细胞中, DNA 损伤激活细胞外信号调节激酶 MAPK/ERK 通路, 引起 GLUT3 的下调, 且这一途径通过不依赖于 p53 的作用, 最终引起细胞的凋亡或死亡^[45]。

4.3 p53 在 DNA 修复中作用 在外界损伤的刺激下, 细胞能启动 7 条修复通路来分别应对不同类型的损伤: ① 直接修复 (direct repair, DR) 通路; ② 碱基切除修复 (base excision repair, BER); ③ 核苷酸切除修复 (nucleotide excision repair, NER); ④ 碱基错配修复 (mismatch repair, MMR) 纠正碱基错配; ⑤ 同源重组修复 (homologous repair, HR); ⑥ 非同源的末端连接 (non-homologous end-joining, NHEJ) 通路, 其中后两条通路专门修复 DNA 双链断裂 (DSBs); ⑦ translesion DNA 合成 (translesion DNA synthesis, TLS)^[46]。

p53 参与 DNA 的修复过程。p53 的结合结构域本身具有核酸内切酶活性, 可切除错配核苷酸, 结合并调节核苷酸内切修复因子活性; 还通过与 p21、GADD45 和 PCNA 形成复合物, 利用自身的核酸外切酶活性, 在 DNA 修复中发挥作用^[47]。p53 还可以促进 NER 和 BER, 在复制应激时, 参与了损伤的修复。当存在错误的同源序列时, p53 阻止 Rad51 依赖的 DNA 交换事件的发生, 拓扑异构酶 I 和其他结合蛋白可募集 p53 到特定的修复复合物, 帮助重组的修复, 这些研究进一步确定了在 DNA 损伤和修复中, p53 蛋白转录依赖性和非转录依赖性的多重作用^[48]。

5 p53 DNA 损伤通路在药物研发中的作用

p53 DNA 损伤通路的研究进展对基于 p53 的肿瘤治疗提供了很多有益的信息和借鉴, 这一领域的成果引起了极大的学术和商业兴趣。虽然 p53 在 DNA 损伤中发挥着重要的屏障作用, 但是人类 50% 的肿瘤细胞存在 p53 基因突变, 所以在许多研究领域, 针对 p53 开辟了很多新的治疗方法, 比如直接或间接激活 p53 的小分子抑制剂已经进入临床研究, 其中最引人注目的为针对 p53-MDM2 负反馈环路的小分子抑制剂; 还有学者通过基因治疗, 运用腺病毒载

体将野生型 p53 载入肿瘤细胞内从而发挥作用, 运用基因干扰技术调控 p53 负性调控因子, 如 MDM2, 从而激活 p53。针对 p53 的疫苗已经进入临床研究, 此外, 这一领域的研究对于药物的联合应用提供了有益的借鉴, 可以提高抗肿瘤药物的选择性, 降低其由于 p53 激活而导致的副作用, 从而保护正常的组织细胞。虽然在药物研究中有一些问题还有待解决, 比如如何提高抗肿瘤药物对于 p53 通路激活的特异性, 从而减少其毒副作用的发生等, 但是利用 p53 通路的肿瘤药物研发在肿瘤治疗中取得了很重要的成果^[49]。

6 结语

细胞对 DNA 损伤的反应是一个复杂的多方位信号传导网络系统, p53 作为 DNA 损伤信号传导的“分子节点”而发挥着举足轻重的作用。目前研究认为, p53 的激活不但需要特定末端的一系列翻译后修饰作用, 还需要 p53 “适应性”的转录活性的调节, 这些可能与细胞类型、组织类型及它们所处的微环境有关, 也与 p53 激活的下游基因有关。目前, 这一研究领域还有许多分子机制需要阐明, 比较明确的一点是, p53 可以“接受”、“评估”和“整合”不同的上游信号从而引导细胞死亡或存活。然而, p53 是如何整合并完成这些功能的, 其确切的机制还有待于更加深入地研究。同样, 在不同的 DNA 损伤和应激状态下或者在不同的组织细胞类型或细胞外微环境中, 机体如何通过对 p53 蛋白的精细调节来应对, 这也是一个需要不断完善的研究领域。在今后的研究中, 我们期待更多有价值的实验数据来阐明 p53 在细胞应对 DNA 损伤反应时, 如何在复杂的网络系统中发挥细胞命运的“决策者”的作用, 这方面的突破性进展不仅对于理解肿瘤发生发展的病理机制有着重要作用, 同时可以为研究抗肿瘤药物作用机制提供有益的借鉴, 并对相关的抗肿瘤药物开发和应用提供重要的理论依据。

References

- [1] Horn HF, Vousden KH. Coping with stress: multiple ways to activate p53 [J]. *Oncogene*, 2007, 26: 1306-1316.
- [2] Yoshida K, Miki Y. The cell death machinery governed by the p53 tumor suppressor in response to DNA damage [J]. *Cancer Sci*, 2010, 101: 831-835.
- [3] Shiloh Y. ATM and related protein kinases: safeguarding genome integrity [J]. *Nat Rev Cancer*, 2003, 3: 155-168.
- [4] Meek DW. Tumour suppression by p53: a role for the DNA damage response? [J]. *Nat Rev Cancer*, 2009, 9: 714-723.
- [5] Sengupta S, Harris CC. p53: traffic cop at the crossroads of DNA repair and recombination [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2005, 6: 44-55.
- [6] Khanna KK, Jackson SP. DNA double-strand breaks: signaling, repair and the cancer connection [J]. *Nat Genet*, 2001, 27: 247-254.
- [7] Helt CE, Cliby WA, Keng PC, et al. Ataxia telangiectasia mutated (ATM) and ATM and Rad3-related protein exhibit selective target specificities in response to different forms of DNA damage [J]. *J Biol Chem*, 2005, 280: 1186-1192.
- [8] Brooks CL, Gu W. Ubiquitination, phosphorylation and acetylation: the molecular basis for P53 regulation [J]. *Curr Opin Cell Biol*, 2003, 15: 164-171.
- [9] She QB, Chen N, Dong Z. ERKs and p38 kinase phosphorylate p53 protein at serine 15 in response to UV radiation [J]. *J Biol Chem*, 2000, 275: 20444-20449.
- [10] Wu GS. The functional interactions between the p53 and MAPK signaling pathways [J]. *Cancer Biol Ther*, 2004, 3: 156-161.
- [11] Gong X, Liu A, Ming X, et al. UV-induced interaction between p38 MAPK and p53 serves as a molecular switch in determining cell fate [J]. *FEBS Lett*, 2010, 584: 4711-4716.
- [12] Bode AM, Dong Z. Post-translational modification of p53 in tumorigenesis [J]. *Nat Rev Cancer*, 2004, 4: 793-805.
- [13] Zhang Y, Xiong Y. A p53 amino-terminal nuclear export signal inhibited by DNA damage-induced phosphorylation [J]. *Science*, 2001, 292: 1910-1915.
- [14] Mayo LD, Seo YR, Jackson MW, et al. Phosphorylation of human p53 at serine 46 determines promoter selection and whether apoptosis is attenuated or amplified [J]. *J Biol Chem*, 2005, 280: 25953-25959.
- [15] Xu Y. Regulation of p53 responses by posttranslational modifications [J]. *Cell Death Differ*, 2003, 10: 400-403.
- [16] Wang YH, Tsay YG, Tan BC, et al. Identification and characterization of a novel p300 mediated p53 acetylation site, lysine 305 [J]. *J Biol Chem*, 2003, 278: 25568-25576.
- [17] Barlev NA, Liu L, Chehab NH, et al. Acetylation of p53 activates transcription through recruitment of coactivators / histone acetyltransferases [J]. *Mol Cell*, 2001, 8: 1243-1254.
- [18] Knights CD, Catania J, Di Giovanni S, et al. Distinct p53 acetylation cassettes differentially influence gene-expression patterns and cell fate [J]. *J Cell Biol*, 2006, 173: 533-544.
- [19] Schramek D, Kotsinas A, Meixner A, et al. The stress kinase MKK7 couples oncogenic stress to p53 stability and tumor suppression [J]. *Nat Gene*, 2011, 3: 212-219.
- [20] Chen J, Kastan MB. 5'-3'-UTR interactions regulate p53 mRNA translation and provide a target for modulating p53 induction after DNA damage [J]. *Genes Dev*, 2010, 19:

- 2146–2156.
- [21] Lee MH, Lozano G. Regulation of the p53-MDM2 pathway by 14-3-3 sigma and other proteins [J]. *Cancer Biol*, 2006, 16: 225–234.
- [22] Waning DL, Lehman JA, Batuello CN, et al. Controlling the Mdm2-Mdmx-p53 Circuit [J]. *Pharmaceuticals (Basel)*, 2010, 5: 1576–1593.
- [23] Vassilev LT, Vu BT, Graves B, et al. *In vivo* activation of the p53 pathway by small-molecule antagonists of MDM2 [J]. *Science*, 2004, 303: 844–848.
- [24] Giono LE, Manfredi JJ. Mdm2 is required for inhibition of Cdk2 activity by p21, thereby contributing to p53-dependent cell cycle arrest [J]. *Mol Cell Biol*, 2007, 27: 4166–4178.
- [25] Tang Y, Zhao W, Chen Y, et al. Acetylation is indispensable for p53 activation [J]. *Cell*, 2008, 133: 612–626.
- [26] Manfredi JJ. The Mdm2-p53 relationship evolves: Mdm2 swings both ways as an oncogene and a tumor suppressor [J]. *Genes Dev*, 2010, 24: 1580–1589.
- [27] Giglio S, Mancini F, Pellegrino M, et al. Regulation of MDM4 (MDMX) function by p76 (MDM2): a new facet in the control of p53 activity [J]. *Oncogene*, 2010, 9: 5935–5945.
- [28] Mo P, Wang H, Lu H, et al. MDM2 mediates ubiquitination and degradation of activating transcription factor 3 [J]. *J Biol Chem*, 2010, 285: 26908–26915.
- [29] Xiao J, Lin H, Luo X, et al. miR-605 joins p53 network to form a p53: miR-605: Mdm2 positive feedback loop in response to stress [J]. *EMBO J*, 2011, 3: 524–532.
- [30] Laska MJ, Vogel UB, Jensen UB, et al. p53 and PPP1R13L (alias iASPP or RAI) form a feedback loop to regulate genotoxic stress responses [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2010, 12: 1231–1240.
- [31] Aoubala M, Murray-Zmijewski F, Khoury MP, et al. p53 directly transactivates $\Delta 133p53\alpha$, regulating cell fate outcome in response to DNA damage [J]. *Cell Death Differ*, 2010, 2: 248–258.
- [32] Zhao Y, Lu S, Wu L, et al. Acetylation of p53 at lysine 373/382 by the histone deacetylase inhibitor depsipeptide induces expression of p21 (Waf1/Cip1) [J]. *Mol Cell Biol*, 2006, 26: 2782–2790.
- [33] Al-Ejeh F, Kumar R, Wiegman A, et al. Harnessing the complexity of DNA-damage response pathways to improve cancer treatment outcomes [J]. *Oncogene*, 2010, 46: 6085–6098.
- [34] Zilfou JT, Lowe SW. Tumor suppressive functions of p53 [J]. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 2009, 5: a001883.
- [35] Barboza JA, Liu G, Ju Z, et al. p21 delays tumor onset by preservation of chromosomal stability [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2006, 103: 19842–19847.
- [36] Christopher LB, Wei G. New insights into p53 activation [J]. *Cell Res*, 2010, 20: 614–621.
- [37] Holley AK, St Clair DK. Watching the watcher: regulation of p53 by mitochondria [J]. *Future Oncol*, 2009, 5: 117–130.
- [38] Yao H, Li P, Venters BJ, et al. Histone Arg modifications and p53 regulate the expression of OKL38, a mediator of apoptosis [J]. *J Biol Chem*, 2008, 283: 20060–20068.
- [39] Kuribayashi K, Kringsfeld G, Wang W, et al. TNFSF10 (TRAIL), a p53 target gene that mediates p53-dependent cell death [J]. *Cancer Biol Ther*, 2008, 7: 2034–2038.
- [40] Wolff S, Erster S, Palacios G, et al. p53's mitochondrial translocation and MOMP action is independent of Puma and Bax and severely disrupts mitochondrial membrane integrity [J]. *Cell Res*, 2008, 18: 733–744.
- [41] Nantajit D, Fan M, Duru N, et al. Cyclin B1/Cdk1 phosphorylation of mitochondrial p53 induces anti-apoptotic response [J]. *PLoS One*, 2010, 8: e12341.
- [42] He L, He X, Lowe SW, et al. microRNAs join the p53 network—another piece in the tumour-suppression puzzle [J]. *Nat Rev Cancer*, 2007, 7: 819–822.
- [43] Kudoh T, Kimura J, Lu ZG, et al. D4S234E, a novel p53-responsive gene, induces apoptosis in response to DNA damage [J]. *Exp Cell Res*, 2010, 316: 2849–2858.
- [44] Kimura J, Kudoh T, Miki Y, et al. Identification of dihydropyrimidinase-related protein 4 as a novel target of p53 the tumor suppressor in the apoptotic response to DNA damage [J]. *Int J Cancer*, 2010, 128: 1524–1531.
- [45] Watanabe M, Naraba H, Sakyō T, et al. DNA damage-induced modulation of GLUT3 expression is mediated through p53-independent extracellular signal-regulated kinase signaling in HeLa cell [J]. *Mol Cancer Res*, 2010, 11: 1547–1557.
- [46] Al-Ejeh F, Kumar R, Wiegman A, et al. Harnessing the complexity of DNA-damage response pathways to improve cancer treatment outcomes [J]. *Oncogene*, 2010, 29: 6085–6098.
- [47] Wang JL, Jiao SC. Progress of p53 in basic research and drug application [J]. *Chin J Drug Appl Monit (中国药物应用与监测)*, 2008, 5: 38–40.
- [48] Braithwaite AW, Royds JA, Jackson P. The p53 story: layers of complexity [J]. *Carcinogenesis*, 2005, 2: 1161–1169.
- [49] Lane DP, Cheok CF, Lain S. p53-based cancer therapy [J]. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 2010, 2: a001222.