

·专家论坛·

DOI:10.16605/j.cnki.1007-7847.2021.04.0139



周建林, 湖南东安人, 博士, 二级教授, 博士生导师, 现主要从事肿瘤分子生物学研究。先后主持1项国家973计划前期研究专项、5项国家自然科学基金项目和多项省、厅级科研课题。以第一发明人获国家发明专利授权两项(其中1项已转让), 以第一或通信作者发表论文20余篇。获中国科学院科技进步奖三等奖(第四完成人)和湖南省自然科学奖一等奖(第二完成人)各1项。

癌症中 p53 失活的分子机制和靶向 p53 的抗癌药物研究进展

周建林

(湖南师范大学 生命科学学院 蛋白质化学与发育生物学教育部重点实验室; 省部共建淡水鱼类发育生物学国家重点实验室, 中国湖南 长沙 410081)

摘要: 肿瘤抑制因子 p53 主要作为转录因子发挥作用。当细胞受到诸如缺氧、DNA 损伤等胁迫时, p53 蛋白迅速在细胞内积聚并激活, 从而调控一系列基因的转录, 导致细胞周期停顿、凋亡或衰老, 避免细胞癌化。p53 功能的失活往往导致癌症发生。编码 p53 蛋白的 *TP53* 基因的突变是 p53 失活的主要方式。突变型 p53 不仅失去抑癌作用, 而且还具有显性负效应, 并获得致癌的新功能。其次, 野生型 p53 的功能还受到相互作用蛋白质或非编码 RNA 的调控, p53 正调控因子的下调或 / 和负调控因子的上调可以导致野生型 p53 蛋白功能的失活。p53 是一个重要的癌症药物靶点, 许多研究证实可通过恢复突变型 p53 的正常功能、降解突变型 p53 蛋白或者增强野生型 p53 蛋白的稳定性和活性, 达到治疗癌症的目标。本文在对癌症数据库和蛋白质相互作用数据库进行挖掘分析的基础上, 综述了 *TP53* 基因的突变、p53 相互作用蛋白质和非编码 RNA 对 p53 功能的影响, 并介绍了靶向 p53 的抗癌药物开发现状, 可为 p53 研究和靶向 p53 的抗癌药物的开发提供参考。

关键词: p53 蛋白; 基因突变; 蛋白质相互作用; 非编码 RNA; 癌症; 抗癌药物

中图分类号: R730.2

文献标识码: A

文章编号: 1007-7847(2021)03-0189-08

Research Progress on Molecular Mechanism of p53 Inactivation in Cancers and Drugs Targeting p53

ZHOU Jian-lin

(Key Laboratory of Protein Chemistry and Developmental Biology of Ministry of Education; State Key Laboratory of Developmental Biology of Freshwater Fish, College of Life Sciences, Hunan Normal University, Changsha 410081, Hunan, China)

Abstract: The tumor suppressor p53 functions mainly as a transcription factor. It accumulates in cells and becomes activated in response to various cellular stresses such as hypoxia or DNA damage. Upon activation, p53 regulates the transcription of a series of genes, resulting in cell cycle arrest, apoptosis or senescence to prevent tumorigenesis. Dysfunction of p53 often leads to cancer. Mutation of the *TP53* gene that encodes p53 protein is the main way of inactivating p53. Mutant p53 not only loses the tumor suppressive activity, but also gains dominant negative effect and new oncogenic property. Additionally, the function of wild-type p53 is

收稿日期: 2021-04-09; 修回日期: 2021-05-28

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(82070155)

作者简介: 周建林(1964—), 男, 湖南东安人, 博士, 二级教授, 博士生导师, 主要从事肿瘤分子生物学研究, E-mail: jlzhou@hunnu.edu.cn.

regulated by its interacting proteins or non-coding RNA. Down-regulation of its positive regulators or/and up-regulation of its negative regulators can also inactivate wild-type p53. p53 is an important drug target. Many studies have demonstrated that cancer can be treated through restoring the normal function of mutant p53, degrading it, or enhancing the stability and activity of the wild-type protein. Based on the analysis of public cancer database and protein-protein interaction database, the influences of *TP53* mutation, p53-interacting partners and non-coding RNA on p53 function are summarized, and the current status of the development of p53-targeted drugs is also introduced, which may be helpful for p53 and related drug research.

Key words: p53; gene mutation; protein interaction; non-coding RNA; cancer; anticancer drug

(*Life Science Research*, 2021, 25(3): 189~196)

肿瘤抑制因子 p53 由位于 17 号染色体 17p13.1 的 *TP53* (*tumor protein 53*) 基因编码, 由 393 个氨基酸残基组成, 因相对分子质量为 53 kD 而得名。p53 蛋白是一个典型的转录因子, 其转录激活域位于氨基端, DNA 结合域位于肽链的中段, 羧基端包含核定位信号和四聚化结构域(图 1)。野生型 p53 蛋白在细胞内的半衰期仅有 15~30 min, 当细胞受到诸如缺氧、DNA 损伤等胁迫时, p53 蛋白迅速在细胞内积聚并被激活, 调控一系列基因的转录, 导致细胞周期停顿、凋亡或衰老, 从而避免细胞癌化^[1]。细胞中 p53 正常功能的失活往往导致癌症发生。*TP53* 基因的突变是 p53 失活的主要机制, 其次其他蛋白质或非编码 RNA 的影响也可使其失活^[2]。

1 *TP53* 基因突变是 p53 失活的主要机制

1.1 *TP53* 基因突变是人类癌症中最常见的突变

TP53 基因突变是人类癌症中最常见的突变。Zehir 等^[3]对 10 000 例癌症患者的肿瘤组织样本进行了全基因组测序, 发现 *TP53* 基因的突变频率最高(突变频率为 41%), 其次是 *KRAS* (*V-Ki-ras2 Kirsten rat sarcoma viral oncogene homolog*) 基因(突变频率为 15%)。不同类型癌症中 *TP53* 基因的突变频率不一样, 其在小细胞肺癌中的突变频率最高(84%), 而在中枢神经系统肿瘤中几乎没有突变。需要指出的是, 该研究不包含血液系统肿瘤的样本。许多研究表明, 白血病样本中 *TP53* 的突变频率很低, 例如: 在急性髓细胞性白血病(M3 型除外)初诊病例中 *TP53* 的突变频率为 9.8%^[4], 在骨髓增生异常综合征中 *TP53* 的突变频率仅为 5.4%^[5]。*TP53* 的突变频率不仅与肿瘤类型有关, 而且与年龄也有关。通常, 青少年癌症患者中 *TP53* 基因的突变频率比成年患者的低。Gröbner 等^[6]对 876 例 18 岁以下癌症患者的样本进行了

测序, 结果显示, *TP53* 的突变频率仅为 10.3%, 儿童白血病人几乎没有 *TP53* 突变。另外, *TP53* 的突变频率还与病情进展有关。在恶性或非恶性疾病化疗和/或放疗以后发生的继发性白血病中, *TP53* 往往具有较高的突变率^[7]。化疗和放疗会杀死癌细胞, 但是仍有部分癌细胞幸存下来, 在这些细胞中受损的 DNA 未被修复, 最终转化为突变^[8]。

本文作者利用 cBioPortal 软件对 Zehir 等^[3]的数据进行分析, 结果表明: 在 *TP53* 的突变中, 最常见的是单核苷酸替换造成的错义突变(占 63.26%), 其次是截短突变(一种由无义突变、移码突变或剪接位点突变导致翻译提前终止而产生截短蛋白质的突变类型, 占 33.78%), 另外还有少量的框内突变(一种以 3 或 3 的倍数缺失或插入核苷酸, 造成 1 个或多个氨基酸缺失或增加的突变类型, 占 2.31%)和融合突变(指 *TP53* 基因和其他基因形成融合基因, 占 0.65%); *TP53* 突变多发生在编码 DNA 结合域的 DNA 区域, 且突变频率最高的氨基酸(即突变热点)均位于 DNA 结合域, 将其按突变频率从高到低排序, 依次是 R273、R248、R175、R213、G245 和 R282 (图 1)。这些结果与 Bouaoun 等^[9]根据 IRAC *TP53* 数据库分析的结果基本一致。

1.2 *TP53* 基因突变导致 p53 抑癌功能缺失且获得促癌功能

TP53 基因突变的后果有 4 种可能: 1) 功能丧失(loss of function, LOF), 即突变型 p53 蛋白丧失了 p53 正常功能; 2) 功能获得(gain of function, GOF), 即突变型 p53 蛋白获得致癌的新功能; 3) 显性负效应(dominant negative effect, DNE), 即突变型 p53 蛋白抑制同一细胞内野生型 p53 蛋白发挥正常功能; 4) 对 p53 正常功能没有影响。截短突变一般导致 p53 正常功能的丧失^[10], 但也有研究报道截断的 p53 突变体具有 DNE 特性^[11]。框内突变导

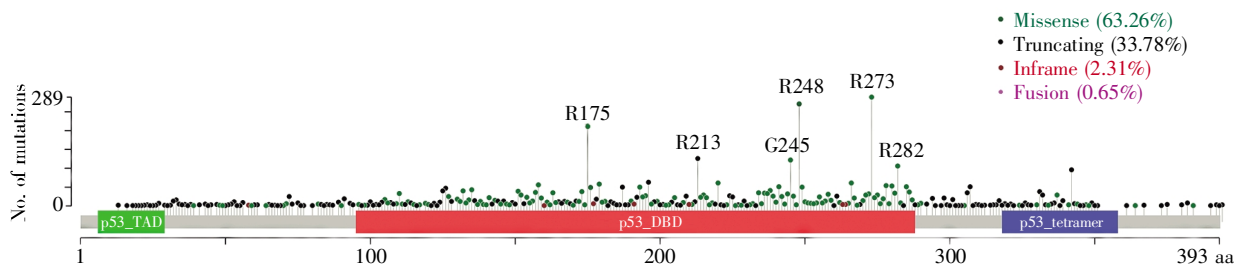


图 1 人类癌组织样本中 p53 蛋白的突变谱

TAD: 转录激活结构域; DBD: DNA 结合结构域; Tetramer: 四聚化结构域。

Fig.1 The mutation pattern of p53 protein in human cancer tissues determined using cBioPortal

TAD: Transactivation domain; DBD: DNA binding domain; Tetramer: Tetramerization domain.

致 p53 蛋白中 1 个或多个氨基酸的缺失或增加, 通常对 p53 功能没有影响; 但如果框内突变发生在重要的功能域, 也会影响 p53 功能, 例如: 255 位异亮氨酸的缺失导致 p53 的 DNA 结合能力减弱^[12]。

错义突变的 p53 不仅失去了野生型 p53 的抑癌功能, 而且表现出 GOF 和 DNE 特性。大部分错义突变发生在 DNA 结合域, DNA 结合域突变的 p53 失去了 DNA 结合能力, 不能激活野生型 p53 的靶基因, 从而失去抑癌功能。p53 蛋白并非是单个蛋白质发挥作用, 而是以四聚体形式与靶 DNA 结合。四聚化结构域突变的 p53 不能形成正常的四聚体, 也丧失了正常的功能, 同时突变型 p53 可以与野生型 p53 形成四聚体, 使野生型 p53 功能失活, 即 DNE^[13]。另外, 很多错义突变的 p53 不仅丧失 p53 正常功能, 而且表现出 GOF 特性。Kotler 等^[14]分析了一万多个 DNA 结合域突变体 p53, 发现大部分突变型 p53 表现出 GOF 特性。但是, Boettcher 等^[15]在急性髓细胞性白血病细胞中检测了 3 个 DNA 结合域的突变体(R175H、R248Q 和 R273H), 发现这 3 个突变体主要通过 DNE 起作用, 并没有 GOF 特性。突变型 p53 的致癌作用是 GOF 还是 DNE, 可能与突变的位点和细胞类型有关^[16]。对于 GOF p53 的作用机制, 多数研究认为: DNA 结合域突变的 p53 失去了 DNA 结合能力, 通过和其他转录因子或者转录共调节因子相互作用, 被招募到抗凋亡基因或者促增殖基因的启动子, 激活这些基因的转录, 从而促进癌症的发生发展^[17]。但也有研究表明, 部分 DNA 结合域突变的 p53 仍具有 DNA 结合能力, 只是 DNA 结合域上残基的改变导致其具有与野生型 p53 不同的 DNA 结合特性, 即调控的靶基因与野生型 p53 不同^[18]。总之, 错义突变的 p53 不仅失去了正

常的抑癌功能, 而且表现出 DNE 或/和 GOF 特性, 从而起促癌作用。

2 p53 正调控因子的下调或/和负调控因子的上调导致野生型 p53 蛋白功能的失活

p53 的功能还受到其他蛋白质或非编码 RNA 的调控, 这些调控因子的表达失调都可以导致 p53 功能的失活。许多研究表明: 在没有发生 TP53 基因突变的肿瘤中, 野生型 p53 往往由于其正调控因子的下调或/和负调控因子的上调而失活^[19]。

2.1 p53 相互作用蛋白对 p53 功能的影响

蛋白质相互作用是蛋白质发挥生理功能的基础。一个蛋白质可以通过与不同的蛋白质发生相互作用而发挥多种功能, 因此一个蛋白质的功能可受到多种蛋白质的影响。本文作者通过检索蛋白质相互作用数据库 BioGrid (<https://thebiogrid.org>) 得知, 目前人的细胞中已鉴定出 1 393 个可与 p53 相互作用的蛋白质, 其中 467 个蛋白质与 p53 蛋白的相互作用已被两篇文献报道或者两种实验方法所证实。进一步采用 GeneSetDB 软件(<https://genesetdb.auckland.ac.nz>)对这 467 个蛋白质进行基因本体论(Gene Ontology, GO)分析, 结果表明: 从分子功能(molecular function, MF)来看, p53 相互作用蛋白主要是泛素连接酶、激酶、转录共激活因子以及与转录因子、泛素连接酶、激酶、染色质、DNA 和雄激素受体相结合分子; 从参与的生物过程(biological process, BP)来看, p53 相互作用蛋白主要参与转录调控、DNA 损伤反应、DNA 修复、病毒感染、染色质修饰、泛素依赖的蛋白质降解; 从细胞组分(cellular component, CC)来看, p53 相互作用蛋白在细胞核内主要存在于 PML 小体、核斑点、转录因子复合物和染色质复合物, 在细胞质

中则位于核糖体和其他核糖核蛋白复合体, 另外其还存在于泛素连接酶复合物(图 2, 表 1)。这些结果说明 p53 相互作用蛋白可能主要影响 p53 蛋白的修饰和转录调控功能。

2.1.1 p53 蛋白的泛素化和类泛素化

泛素是由 76 个氨基酸残基组成的多肽。泛素分子可以通过一系列酶(包括 E1 泛素激活酶、E2

泛素结合酶和 E3 泛素连接酶)的作用共价连接到靶蛋白上, 这个过程叫泛素化^[20]。泛素化是一种非常重要的蛋白质修饰方式, 蛋白质经泛素化之后通过 26S 蛋白酶体被降解的途径即为泛素-蛋白酶体途径, 该途径是高等生物细胞内蛋白质降解的主要方式^[20]。前述提及的 467 个 p53 相互作用蛋白中, 有 4 个泛素结合酶和 51 个泛素连接酶

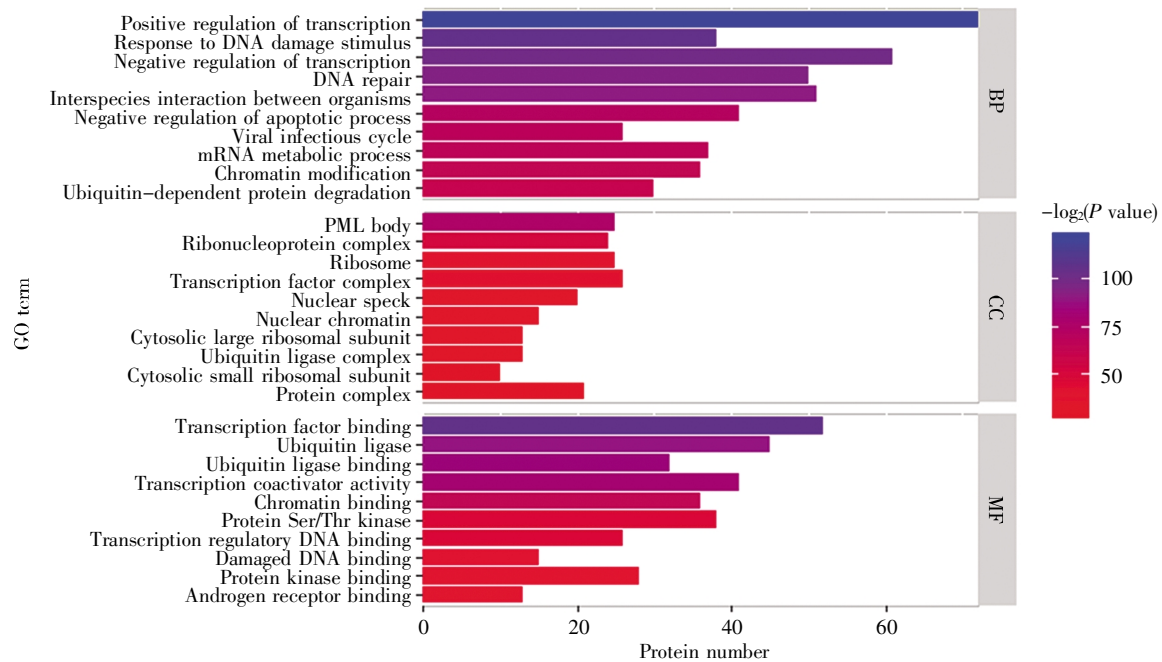


图 2 p53 相互作用蛋白的 GO 分析

BP: 生物过程; CC: 细胞组分; MF: 分子功能。

Fig.2 GO analysis of the p53-interacting proteins

BP: Biological process; CC: Cellular component; MF: Molecular function.

表 1 p53 蛋白的修饰酶

Table 1 The enzymes for modification of p53 protein

Type of enzymes	Count	Names
Ub-conjugatase	4	UBE2A, UBE2D1, UBE2N, UBE2I
Ub-ligase	51	ARIH2, BARD1, BRCA1, BTRC, COP1, DTL, E4F1, FBXO11, FBXO22, FBXW7, HECW1, HERC2, HUWE1, ITC, LNX1, MDM2, MKRN1, MSL2, MUL1, PARK2, PELI1, RBBP6, RBCK1, RBX1, RCHY1, RFFL, RFWD3, RING1, RNF125, RNF128, RNF2, RNF20, RNF38, RNF40, STUB1, SYVN1, TNFAIP3, TOPORS, TRAF6, TRIM24, TRIM25, TRIM27, TRIM28, TRIM39, TRIM71, UBE3A, UBE4B, UBR5, UHRF1, UHRF2, VHL
Deubiquitinase	9	ATXN3, BRCC3, CYLD, OTUD5, TNFAIP3, USP7, USP10, USP11, USP42
SUMO-E2	3	CDKN2A, MDM2, UBE2I
SUMO-E3	6	MUL1, PIAS1, PIAS2, PIAS4, RANBP2, TOPORS
Acetyltransferase	6	CREBBP, EP300, KAT2B, KAT5, KAT6A, KAT8
Deacetylase	4	HDAC1, HDAC2, MTA2, SIRT1
Ser/Thr kinase	42	ATM, ATR, AURKA, CDK1, CDK2, CDK4, CDK5, CDK7, CDK9, CHEK1, CHEK2, CSNK1A1, CSNK1D, CSNK2A1, CSNK2B, EIF2AK2, GSK3B, HIPK1, HIPK2, HIPK3, LRRK2, MAP3K1, MAPK1, MAPK14, MAPK3, MAPK8, NLK, NUA1, PAK4, PBK, PLK1, PLK3, RKDC, SQSTM1, SRPK1, STK11, TAF1, TP53RK, TTK, VRK1, VRK2, VRK3
Tyr kinase	1	SRC
Arg methyltransferase	3	CARM1, FBXO11, PRMT5
Lys methyltransferase	3	SETD7, SMYD2, EHMT1

(表 1)。其中, MDM2 是 p53 蛋白特异性的泛素连接酶, 也是 p53 蛋白最主要的负调控因子。一方面, MDM2 通过催化 p53 蛋白的多泛素化, 促进 p53 蛋白经蛋白酶体途径降解; 另一方面, MDM2 催化 p53 蛋白的单泛素化, 促进 p53 蛋白从细胞核迁移到细胞质, 从而抑制 p53 蛋白的转录活性^[21]。MDM2 是 p53 的直接靶基因, p53 激活可以促进 MDM2 的转录, 而 MDM2 水平的升高又反过来促进 p53 蛋白的降解。MDM2-p53 形成一个负反馈调控机制, 维持正常细胞中 p53 蛋白的平衡。但是, 在许多肿瘤中 MDM2 基因扩增, 导致 p53 蛋白降解, 这是肿瘤中野生型 p53 功能失活的主要原因。例如: 在急性髓细胞性白血病中, 虽然 p53 突变频率很低, 但是 MDM2 基因扩增普遍存在, 因此, 在急性髓细胞性白血病中 p53 功能是失活的^[22]。

泛素化是一个可逆的过程。细胞内存在一类去泛素化酶, 可以通过水解泛素羧基末端的酯键、肽键或异肽键, 将泛素分子特异性地从蛋白质分离^[20]。在上述提及的 467 个 p53 相互作用蛋白中, 去泛素化酶有 9 个(表 1), 这些蛋白质通过去泛素化, 增强 p53 蛋白的稳定性^[23]。因此, 去泛素化酶的表达缺失, 或泛素化酶的过表达, 都可以导致 p53 蛋白稳定性降低, 从而促进癌症的发生发展。

细胞内还存在一类泛素的类似物, 即类泛素分子, 如 SUMO (small ubiquitin-related modifier protein) 和 NEDD8 (neural precursor cell expressed, developmentally down-regulated gene 8), 它们也可以在酶的催化下共价连接到赖氨酸残基上。类泛素化的过程与泛素化基本一样, 如 SUMO 化也需要 E1 SUMO 激活酶、E2 SUMO 结合酶和 E3 SUMO 连接酶。在 467 个 p53 相互作用蛋白中, SUMO 结合酶有 3 种, SUMO 连接酶有 6 种(表 1)。与泛素化不一样, SUMO 化不会直接影响 p53 蛋白稳定性, 但可以影响 p53 蛋白的亚细胞定位和活性。需要指出的是, 目前关于 p53 蛋白 SUMO 化对 p53 功能的影响, 不同研究的结果不一致。Ashikari 等^[24]的研究表明: p53 被 SUMO 化之后, 导致 p53 转运到细胞质, 间接地抑制 p53 的活性。但也有研究表明: SUMO 化可以促进 p53 蛋白定位到细胞核内的 PML 小体和转录活性^[25]。

2.1.2 p53 蛋白的乙酰化

蛋白质乙酰化是在乙酰转移酶的作用下, 在蛋白质赖氨酸残基上添加乙酰基的过程, 而蛋白

质的乙酰基又可被去乙酰化酶所除去。上述提及的 467 个 p53 相互作用蛋白中, 有 6 个乙酰转移酶和 4 个去乙酰化酶(表 1)。乙酰化对于 p53 蛋白激活是不可或缺的。首先, 乙酰化和泛素化都发生在赖氨酸残基上, 因此乙酰化可以抑制 p53 的泛素化, 从而增强 p53 蛋白的稳定性^[26]。其次, 乙酰基结合到赖氨酸的 NH_3^+ , 中和掉 1 个正电荷。Wang 等^[27]发现: 癌蛋白 SET 通过其带负电荷的酸性结构域与 p53 羧基端(富含赖氨酸, 带负电荷)相互作用, 抑制 p53 活性; 当 p53 赖氨酸被乙酰化之后, 其羧基端的电荷被中和, 明显抑制了 p53-SET 的相互作用, 从而增强 p53 激活活性。另外, 乙酰化还可以影响 p53 蛋白的 DNA 结合活性。例如: TIP60 (KAT5) 催化 p53 蛋白 120 位赖氨酸的乙酰化, 从而通过改变 DNA 结合域的构象促进其与靶 DNA 的结合^[28]。去乙酰化酶的作用与乙酰化酶的作用相反, 去乙酰化酶增强 p53 的泛素化, 抑制去乙酰化酶的活性可以恢复 p53 蛋白的乙酰化, 降低泛素化水平, 从而激活 p53 信号通路^[29]。

2.1.3 p53 蛋白的磷酸化

在 467 个 p53 相互作用蛋白中, 催化蛋白质磷酸化的激酶有 43 个, 包括 42 个丝氨酸/苏氨酸激酶和 1 个酪氨酸激酶(表 1)。p53 的稳定性和转录活性都有赖于磷酸化修饰^[30]。当细胞受到胁迫时, 不同的激酶被激活, 使不同的位点发生磷酸化, 而不同位点的磷酸化对 p53 蛋白的稳定性和转录活性有不同的影响^[30]。Teufel 等^[31]的研究表明: p53 蛋白 Ser15、Ser20、Ser33 和 Ser37 的磷酸化可增强其与 p300 的结合, 从而激活 p53 的转录活性, 但对 p53-MDM2 的结合和 p53 蛋白的稳定性影响不大; Thr18 的磷酸化不仅可以显著增强 p53-p300 的结合, 而且可以干扰 p53-MDM2 的结合。

2.1.4 p53 蛋白的甲基化修饰

蛋白质的甲基化可以发生在精氨酸或赖氨酸残基上。在 467 个 p53 相互作用蛋白中, 精氨酸甲基转移酶和赖氨酸甲基转移酶各有 3 个(表 1)。p53 蛋白的甲基化主要发生在其羧基端的 4 个赖氨酸(K370、K372、K373 和 K382)^[32]和 3 个精氨酸(R333、R335 和 R337)^[33]。不同位点的甲基化或不同甲基化方式(单甲基化、双甲基化或三甲基化)对 p53 功能的影响不同。例如: K372 的甲基化激活 p53^[32], 而 K370 单甲基化会改变 p53 蛋白的构

象,抑制其和启动子 DNA 的亲合力,从而抑制 p53 活性^[34]。DNA 损伤时,PRMT5 (protein arginine methyltransferase 5)可以和 p53 相互作用并催化 R333、R335 和 R337 的甲基化,从而激活 p53 功能^[35]。

2.1.5 其他 p53 相互作用蛋白对 p53 功能的影响

上述 p53 相互作用蛋白影响靶蛋白的修饰,而其他蛋白质则通过与 p53 蛋白的相互作用,影响 p53 蛋白的三维结构、亚细胞定位、DNA 结合能力、转录激活活性等,同时也可以间接影响 p53 蛋白的修饰。许多 p53 相互作用蛋白通过影响 p53-MDM2 的相互作用,调控 p53 蛋白的稳定性。本团队前期研究表明,ZCCHC10 干扰 p53-MDM2 相互作用,从而抑制 MDM2 介导的 p53 泛素化^[35],而 CCDC106 则促进 MDM2 介导的 p53 泛素化^[36]。

2.2 非编码 RNA 对 p53 蛋白功能的影响

非编码 RNA (包括 miRNA、lncRNA 和 circRNA)对基因表达的调控作用愈来愈引起科学家们的重视。miRNA 主要通过结合到靶基因的 mRNA 上,促使 mRNA 降解或抑制 mRNA 翻译,从而负调控靶基因的表达。目前,多个 miRNA (如 miR-33、miR-125、miR-504、miR-380-5p、miR-25、miR-30d、miR-98、miR-150、miR-214、miR-375、miR-19b、miR-1285 和 miR-3151 等)已被发现可以直接结合到 TP53 基因的 mRNA,抑制 p53 的表达,这些 miRNA 的高表达与多种癌症的发生发展相关^[37]。而有的 miRNA (如 miR-192/194/215、miR-143/145、miR-29b、miR-605、miR-25、miR-32、miR-18b 和 miR-339-5p)则靶向抑制 p53 的负调控因子 MDM2 的表达,从而促进 p53 蛋白稳定,发挥抑癌作用^[37]。大部分 lncRNA 和 circRNA 是作为 miRNA “海绵”吸附 miRNA,从而解除 miRNA 对 TP53 基因的负调控作用^[38]。但最近人们发现,lncRNA 和 circRNA 也可以与 p53 蛋白或 TP53 基因组 DNA 结合,从而影响 p53 的转录、翻译或翻译后修饰等。例如: circRNA CDR1as

结合到 p53 蛋白的 DNA 结合域上,阻止其与 MDM2 相互作用,从而抑制 MDM2 对 p53 的泛素化降解^[39];而 lncRNA SENELOC 则作为一个“脚手架”促进 p53 和 MDM2 相互作用,从而促进 p53 的泛素化^[40]。此外,lncRNA 还可以影响 TP53 基因的 DNA 甲基化^[41]和 p53 蛋白的亚细胞定位^[42]。

3 靶向 p53 的抗肿瘤药物研究进展

TP53 基因是与癌症发生发展密切相关的基因。p53 功能异常是几乎所有癌症的共同特征,大约 50% 的癌症组织发生了 TP53 基因突变,而在另一半没有发生 TP53 基因突变的癌症中,野生型 p53 往往由于其正调控因子的下调或/和负调控因子的上调而失活^[19]。因此,p53 是一个重要的抗癌药物靶点。目前,许多以 p53 为靶点的抗癌药物已被开发出来(表 2)。

3.1 靶向突变型 p53 的药物

与野生型 p53 相比,突变型 p53 蛋白的空间构象和折叠方式发生了变化,失去了正常的 DNA 结合能力。许多研究证实,小分子化合物和多肽类药物可以诱导突变型 p53 的空间构象和折叠方式发生改变,从而恢复其野生型活性^[43]。最近,Chen 等^[44]发现三氧化二砷(arsenic trioxide, ATO; 一种治疗急性原发性髓系白血病的成熟药物),可以恢复突变型 p53 的功能,其原理是砷离子通过与 DNA 结合域的 3 个半胱氨酸残基结合,恢复 p53 突变体的转录活性。

癌细胞中存在不同类型的 p53 突变体,目前针对空间性突变的化合物并不能复活所有突变型 p53。靶向突变型 p53 药物发挥功能的另一种途径是促进突变型 p53 蛋白的降解。突变型 p53 分子往往要比野生型 p53 更加稳定,其原因是热休克蛋白 90 (heat shock protein 90, HSP90)和突变型 p53 蛋白结合,阻止了突变型 p53 蛋白的泛素化降解,而组蛋白去乙酰化酶 6 (histone deacetylase 6, HDAC6)通过催化 HSP90 去乙酰化促进 HSP90 和

表 2 靶向 p53 的抗肿瘤药物
Table 2 The antitumor drugs targeting p53 protein

Strategy	Drugs (examples)
Inducing reactivation of mutant p53	Arsenic trioxide, MIRA1, STIMA1, PRIMA-1, COTT2
Promoting degradation of mutant p53	Ganetespib, statin, luminespib, DNzyme DZ-249A
Inhibiting MDM2-mediated ubiquitination of wildtype p53	Nutlin-3a, RG7112, RG7388, RG7775, AMG232
Inhibiting dephosphorylation of wildtype p53	GSK2830371
Inhibiting deacetylation of wildtype p53	Tenovin-1, tenovin-2

突变型 p53 蛋白的结合。因此, HDAC6 抑制剂或 HSP90 抑制剂可以用来诱导 p53 突变体的降解。目前, 多种 HDAC6 抑制剂(如 statin)或 HSP90 抑制剂(如 ganetespib)已被发现可以诱导突变型 p53 降解^[43]。另外, 有科学家针对 p53 的突变位点设计特异性脱氧核酶(如 DZ-249A), 以降解突变 p53 的 mRNA, 从而降低突变 p53 蛋白的表达量^[45-46]。

3.2 靶向野生型 p53 的药物

野生型 p53 蛋白失活的主要机制是 MDM2 的过度表达导致 p53 蛋白被泛素化降解, 因此靶向野生型 p53 的药物主要是干扰 MDM2 对 p53 的泛素化从而稳定 p53 蛋白。目前, 已有多种抑制 p53-MDM2 通路的小分子化合物或天然药物(如 nutlin-3a)被开发出来^[47]。磷酸酶 Wip1/PPM1D 在多种癌症中过表达, 导致 p53 去磷酸化而失活。Wip1 的抑制剂 GSK2830371 可以激活 p53, 增强癌症患者对化疗的敏感性。另外, 去乙酰化酶的抑制剂也可以通过恢复 p53 的乙酰化, 增强 p53 的活性^[29]。除了通过化学药物影响 p53 蛋白的修饰之外, 我们还可以通过核酸药物(包括 miRNA 模拟物、抑制剂、siRNA 等)增强 TP53 基因的表达或/和抑制 MDM2 的表达, 从而达到激活 p53 的目的^[37]。

4 总结

TP53 基因是人体内重要的抑癌基因, 其编码的 p53 蛋白的激活可以促进 DNA 修复、细胞周期停顿或凋亡, 从而防止细胞癌变。TP53 基因突变或野生型 p53 蛋白的失活往往导致癌症发生。约 50% 的癌症组织存在 TP53 基因突变。突变型 p53 不仅丧失了正常的抑癌功能, 而且表现出 DNE 和 GOF 特性, 从而促进癌症发生发展。而在其余一半的癌症组织中, 虽然 TP53 基因没有发生突变, 但是野生型 p53 往往由于其负调控因子的上调或/和正调控因子的下调而失活。野生型 p53 失活的主要因素是 MDM2 的过表达。在具有野生型 p53 的癌细胞中, MDM2 基因常发生扩增, 导致 MDM2 蛋白表达上调, MDM2 蛋白的过表达则导致 p53 被降解而失活。

基于 p53 功能失活与癌症发生发展的关系, 目前人们已开发出许多靶向 p53 的抗癌药物。对于没有发生 TP53 突变但 p53 蛋白失活的肿瘤, 可通过药物干扰 MDM2-p53 的相互作用, 增加 p53 蛋白的稳定性和活性。对于发生 TP53 基因突变的肿瘤, 则可利用药物诱导突变型 p53 蛋白的

空间构象和折叠方式发生改变以恢复其活性, 或利用药物促进突变型 p53 降解。但是, 不同癌细胞中存在不同类型的 p53 突变体, 其空间结构和折叠方式不同, 尚无一种广谱药物可以复活所有突变型 p53。另外, p53 突变体表现出 GOF 特性的分子机制还有待进一步研究。

参考文献(References):

- [1] LEVINE A J. p53: 800 million years of evolution and 40 years of discovery[J]. *Nature Reviews Cancer*, 2020, 20(8): 471-480.
- [2] BOUTELLE A M, ATTARDI L D. p53 and tumor suppression: it takes a network[J]. *Trends in Cell Biology*, 2021, 31(4): 298-310.
- [3] ZEHIR A, BENAYED R, SHAH R H, *et al.* Mutational landscape of metastatic cancer revealed from prospective clinical sequencing of 10,000 patients[J]. *Nature Medicine*, 2017, 23(6): 703-713.
- [4] CHEN X, ZHU H, QIAO C, *et al.* Next-generation sequencing reveals gene mutations landscape and clonal evolution in patients with acute myeloid leukemia[J]. *Hematology*, 2021, 26(1): 111-122.
- [5] YU J F, LI Y M, LI T, *et al.* Gene mutational analysis by NGS and its clinical significance in patients with myelodysplastic syndrome and acute myeloid leukemia[J]. *Experimental Hematology & Oncology*, 2020, 9: 2.
- [6] GRÖBNER S N, WORST B C, WEISCHENFELDT J, *et al.* The landscape of genomic alterations across childhood cancers[J]. *Nature*, 2018, 555(7696): 321-327.
- [7] CHUNG J, SALLMAN D A, PADRON E. TP53 and therapy-related myeloid neoplasms[J]. *Best Practice & Research Clinical Haematology*, 2019, 32(1): 98-103.
- [8] PICH O, MUIÑOS F, LOLKEMA M P, *et al.* The mutational footprints of cancer therapies[J]. *Nature Genetics*, 2019, 51(12): 1732-1740.
- [9] BOUAOUN L, SONKIN D, ARDIN M, *et al.* TP53 variations in human cancers: new lessons from the IARC TP53 database and genomics data[J]. *Human Mutation*, 2016, 37(9): 865-876.
- [10] LINDENBERGH-VAN DER PLAS M, BRAKENHOFF R H, KUIK D J, *et al.* Prognostic significance of truncating TP53 mutations in head and neck squamous cell carcinoma[J]. *Clinical Cancer Research*, 2011, 17(11): 3733-3741.
- [11] OH L, HAINAUT P, BLANCHET S, *et al.* Expression of p53 N-terminal isoforms in B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia and its correlation with clinicopathological profiles[J]. *BMC Cancer*, 2020, 20: 110.
- [12] QUINN E A, MACIASZEK J L, PINTO E M, *et al.* From uncertainty to pathogenicity: clinical and functional interrogation of a rare TP53 in-frame deletion[J]. *Cold Spring Harbor Molecular Case Studies*, 2019, 5(4): a003921.
- [13] GENCEL-AUGUSTO J, LOZANO G. p53 tetramerization: at the center of the dominant-negative effect of mutant p53[J]. *Genes & Development*, 2020, 34(17/18): 1128-1146.
- [14] KOTLER E, SHANI O, GOLDFELD G, *et al.* A systematic p53 mutation library links differential functional impact to cancer mutation pattern and evolutionary conservation[J]. *Molecular Cell*, 2018, 71(5): 873.

- [15] BOETTCHER S, MILLER P G, SHARMA R, *et al.* A dominant-negative effect drives selection of *TP53* missense mutations in myeloid malignancies[J]. *Science*, 2019, 365(6453): 599–604.
- [16] STEIN Y, ALONI-GRINSTEIN R, ROTTER V. Mutant p53 oncogenicity: dominant-negative or gain-of-function?[J]. *Carcinogenesis*, 2020, 41(12): 1635–1647.
- [17] KIM M P, LOZANO G. Mutant p53 partners in crime[J]. *Cell Death and Differentiation*, 2018, 25(1): 161–168.
- [18] DELL'ORSO S, FONTEMAGGI G, STAMBOLSKY P, *et al.* ChIP-on-chip analysis of *in vivo* mutant p53 binding to selected gene promoters[J]. *OMICS*, 2011, 15(5): 305–312.
- [19] WASYLISHEN A R, LOZANO G. Attenuating the p53 pathway in human cancers: many means to the same end[J]. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, 2016, 6(8): a026211.
- [20] LIU J X, CHENG Y C, ZHENG M, *et al.* Targeting the ubiquitination/deubiquitination process to regulate immune checkpoint pathways[J]. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, 2021, 6: 28.
- [21] COUTTS A S, ADAMS C J, LA THANGUE N B. p53 ubiquitination by Mdm2: a never ending tail?[J]. *DNA Repair*, 2009, 8(4): 483–490.
- [22] QUINTÁS-CARDAMA A, HU C, QUTUB A, *et al.* p53 pathway dysfunction is highly prevalent in acute myeloid leukemia independent of *TP53* mutational status[J]. *Leukemia*, 2017, 31(6): 1296–1305.
- [23] KWON S K, SAINDANE M, BAEK K H. p53 stability is regulated by diverse deubiquitinating enzymes[J]. *Biochimica et Biophysica Acta-Reviews on Cancer*, 2017, 1868(2): 404–411.
- [24] ASHIKARI D, TAKAYAMA K, TANAKA T, *et al.* Androgen induces G3BP2 and SUMO-mediated p53 nuclear export in prostate cancer[J]. *Oncogene*, 2017, 36(45): 6272–6281.
- [25] MAURI F, MCNAMEE L M, LUNARDI A, *et al.* Modification of *Drosophila* p53 by SUMO modulates its transactivation and pro-apoptotic functions[J]. *The Journal of Biological Chemistry*, 2008, 283(30): 20848–20856.
- [26] TANG Y, ZHAO W H, CHEN Y, *et al.* Acetylation is indispensable for p53 activation[J]. *Cell*, 2008, 133(4): 612–626.
- [27] WANG D L, KON N, LASSO G, *et al.* Acetylation-regulated interaction between p53 and SET reveals a widespread regulatory mode[J]. *Nature*, 2016, 538(7623): 118–122.
- [28] TANG Y, LUO J Y, ZHANG W Z, *et al.* Tip60-dependent acetylation of p53 modulates the decision between cell-cycle arrest and apoptosis[J]. *Molecular Cell*, 2006, 24(6): 827–839.
- [29] HU Y Y, DAI J J, ZONG G Z, *et al.* Restoration of p53 acetylation by HDAC inhibition permits the necrosis/apoptosis switch of pancreatic ainar cell during experimental pancreatitis in mice[J]. *Journal of Cellular Physiology*, 2019, 234(12): 21988–21998.
- [30] YOGOSAWA S, YOSHIDA K. Tumor suppressive role for kinases phosphorylating p53 in DNA damage-induced apoptosis[J]. *Cancer Science*, 2018, 109(11): 3376–3382.
- [31] TEUFEL D P, BYCROFT M, FERSHT A R. Regulation by phosphorylation of the relative affinities of the N-terminal transactivation domains of p53 for p300 domains and Mdm2[J]. *Oncogene*, 2009, 28(20): 2112–2118.
- [32] MAROUCO D, GARABADGIU A V, MELINO G, *et al.* Lysine-specific modifications of p53: a matter of life and death?[J]. *Oncotarget*, 2013, 4(10): 1556–1571.
- [33] LI Y, DIEHL J A. PRMT5-dependent p53 escape in tumorigenesis[J]. *Oncoscience*, 2015, 2(8): 700–702.
- [34] CHANDRAMOULI B, MELINO G, CHILLEMI G. Smyd2 conformational changes in response to p53 binding: role of the C-terminal domain[J]. *Molecular Oncology*, 2019, 13(6): 1450–1461.
- [35] NING Y C, HUI N, QING B, *et al.* ZCCHC10 suppresses lung cancer progression and cisplatin resistance by attenuating MDM2-mediated p53 ubiquitination and degradation[J]. *Cell Death & Disease*, 2019, 10(6): 414.
- [36] NING Y C, WANG C Q, LIU X, *et al.* CK2-mediated CCDC106 phosphorylation is required for p53 degradation in cancer progression[J]. *Journal of Experimental & Clinical Cancer Research*, 2019, 38: 131.
- [37] SARGOLZAEI J, ETEMADI T, ALYASIN A. The p53/micro-RNA network: a potential tumor suppressor with a role in anti-cancer therapy[J]. *Pharmacological Research*, 2020, 160: 105179.
- [38] CHEN S, THORNE R F, ZHANG X D, *et al.* Non-coding RNAs, guardians of the p53 galaxy[J/OL]. *Seminars in Cancer Biology*, 2020. DOI: 10.1016/j.semcancer.2020.09.002.
- [39] LOU J C, HAO Y C, LIN K F, *et al.* Circular RNA *CDR1as* disrupts the p53/MDM2 complex to inhibit gliomagenesis[J]. *Molecular Cancer*, 2020, 19: 138.
- [40] XU C L, SANG B, LIU G Z, *et al.* SENELOC, a long non-coding RNA suppresses senescence via p53-dependent and independent mechanisms[J]. *Nucleic Acids Research*, 2020, 48(6): 3089–3102.
- [41] MA F, LEI Y Y, DING M G, *et al.* LncRNA NEAT1 interacted with DNMT1 to regulate malignant phenotype of cancer cell and cytotoxic T cell infiltration via epigenetic inhibition of p53, cGAS, and STING in lung cancer[J]. *Frontiers in Genetics*, 2020, 11: 250.
- [42] MITRA S, MURALIDHARAN S V, MARCO M D, *et al.* Subcellular distribution of p53 by the p53-responsive lncRNA *NBAT1* determines chemotherapeutic response in neuroblastoma[J]. *Cancer Research*, 2021, 81(6): 1457–1471.
- [43] 丁笠, 张新跃. 靶向突变型 p53 的抗肿瘤药物研究进展[J]. *扬州大学学报(农业与生命科学版)* (DING Li, ZHANG Xinyue. Research progress on the development of anticancer drugs targeting mutant p53[J]. *Journal of Yangzhou University (Agricultural and Life Science Edition)*), 2020, 41(6): 57–63.
- [44] CHEN S, WU J L, LIANG Y, *et al.* Arsenic trioxide rescues structural p53 mutations through a cryptic allosteric site[J]. *Cancer Cell*, 2021, 39(2): 225–239.e8.
- [45] WANG T H, LI W T, YU S H, *et al.* The use of 10–23 DNAzyme to selectively destroy the allele of mRNA with a unique purine-pyrimidine dinucleotide[J]. *Oligonucleotides*, 2008, 18(3): 295–299.
- [46] IYER S V, PARRALES A, BEGANI P, *et al.* Allele-specific silencing of mutant p53 attenuates dominant-negative and gain-of-function activities[J]. *Oncotarget*, 2016, 7(5): 5401–5415.
- [47] 刘佳敏, 付毅红, 樊思莉, 等. 靶向 p53-MDM2 通路的相关抑制剂研究进展[J]. *化学研究* (LIU Jia-min, FU Yi-hong, FAN Si-li, *et al.* Progress on the research of related inhibitors target on p53-MDM2 pathway[J]. *Chemical Research*), 2020, 31(4): 347–358.