

doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2020.12.031

View this article at: <http://dx.doi.org/10.3978/j.issn.2095-6959.2020.12.031>

突变型 p53 调节蛋白在淋巴瘤中作用的研究进展

吴仕收^{1,2} 综述 于国华² 审校

(1. 滨州医学院临床医学院, 山东 烟台 264003; 2. 烟台毓璜顶医院病理科, 山东 烟台 264000)

[摘要] 肿瘤抑制因子p53在维持细胞正常生长及抑制细胞恶性增殖过程发挥重要作用。当发生突变后形成突变型p53, 其表达产物MTp53 (mutant type p53)即失去原有的抑癌作用, 导致细胞内信号通路紊乱, p53扮演的控制细胞增殖和凋亡的开关作用消失, 细胞发生癌变, 此过程受多种调节蛋白的影响。

[关键词] 突变型肿瘤抑制因子p53; 调节蛋白; 淋巴瘤; 代谢

Research advance on the role of mutant type p53 regulatory protein in lymphoma

WU Shishou^{1,2}, YU Guohua²

(1. Department of Clinical Medicine, Binzhou Medical University, Yantai Shandong 264003;

2. Department of Pathology, Yantai Yuhuangding Hospital, Yantai Shandong 264000, China)

Abstract Tumor suppressor p53 plays an important role in maintaining normal cell growth and inhibiting cell malignant proliferation. When mutant type p53 is formed, its expression product, mutant type p53 loses original anti-tumor effect and leads to the disorder of intracellular signal pathway. p53 acts as a switch to control cell proliferation and apoptosis, and cells become cancerous, which is affected by a variety of regulatory proteins.

Keywords mutant type p53; regulatory protein; lymphoma

p53基因定位于17号染色体(17p13.1), 是人类肿瘤突变热点区之一。p53基因分为野生型(wild type p53, WTp53)和突变型(mutant type p53, MTp53)两种, WTp53能够抑制细胞增殖、调节细胞分裂时期、诱导细胞凋亡, 防止产生错配修复^[1], 当野生型转变为MTp53时, 可与WTp53结合形成异源寡聚体抑制WTp53发挥正常生理功

能, 进而对细胞生长的调控作用消失, 使细胞基因组不稳定导致染色体畸变、基因突变, 最终使细胞发生癌变, 形成肿瘤^[2-3]。已经发现2 000多种不同的p53突变与人类癌症有关。然而, 它们在6个特定的氨基酸“热点”残基(R175, G245, R248, R249, R273, R282)上出现的比率较高^[4], 是人类癌症中WTp53的热点突变, 但并不是每一

收稿日期 (Date of reception): 2020-05-12

通信作者 (Corresponding author): 于国华, Email: ygh0535@hotmail.com

基金项目 (Foundation item): 烟台市重点研发项目 (2017WS101)。This work was supported by Yantai Key Research and Development Project, China (2017WS101).

种突变都具有抑制WTp53基因的抑癌作用或具有致癌功能。

人体内前体蛋白没有活性, 常常要进行一系列的翻译后加工, 才能成为具有功能的成熟蛋白, WTp53翻译后修饰主要包括乙酰化、甲基化、磷酸化等过程。当基因发生突变后, 其调控蛋白也是作用于翻译后修饰过程及调控泛素蛋白酶降解过程(通过影响底物被泛素化水平和蛋白酶活性水平)发挥功能。MTp53促进肿瘤发生的决定因素是功能获得(gain of function, GOF), 新获得的特性促进肿瘤细胞对邻近组织的侵袭、从原发肿瘤床迁移、转移和耐药。WTp53作为体内最重要的抑癌基因之一, 约超过50%的人类肿瘤中检测到p53的突变, 而此种突变常与患者的治疗抵抗和不良预后有关^[5-6]。MTp53发挥作用的过程受到多种蛋白调控, 研究这些调节蛋白在淋巴瘤发生发展中的调控机制能有助于解释MTp53基因促癌作用以及获得相关治疗靶点, 促进研究成果向临床转化。

1 ATF3

转录激活因子3(activating transcription factor 3, ATF3)属含亮氨酸拉链结构的转录因子ATF/CREB家族成员, 与p53相似, 在静止细胞中ATF3维持在较低水平, 其表达是由广泛的环境损伤引起^[7], 并通过调节增殖与凋亡的平衡在肿瘤的发生及转移方面发挥作用。ATF3是WTp53的调控因子, 它能够与WTp53的羧基末端结合, 从而阻断MDM2介导的WTp53的降解。ATF3又是MTp53的调控因子, 在一项体外实验^[8]中, 运用蛋白-蛋白相互作用的谷胱甘肽巯基转移酶下拉菜单实验证实ATF3能特异性捕获体外翻译的MTp53。Wang等^[9]的体外实验发现类泛素化的ATF3能完全抑制MTp53的活性。Buganim等^[10]利用蛋白激酶抑制剂TPA探究在弥漫性大B细胞淋巴瘤(diffuse large B-cell lymphoma, DLBCL)中MTp53对ATF3表达的调控, 发现肿瘤组织MTp53的高表达能够下调ATF3的表达。由此可见, 在部分MTp53的肿瘤中, MTp53-ATF3之间存在调节作用。

2 TRRAP

除肿瘤抑制功能丧失和通过显性-负性机制获得的抑制剩余WTp53基因功能的能力外, p53突变还可以表现出异常的GOF。GOF使MTp53具有促

进肿瘤发生的新特性, 新获得的特性促进肿瘤细胞侵袭能力、转移能力和耐药能力。MTp53水平升高是其GOF特性的先决条件, 这种突变常常导致患者化疗的不良反应和包括淋巴瘤在内的许多实体肿瘤的不良预后^[11]。WTp53在翻译后的水平受到严格控制, 生理条件下WTp53的水平很低。相反, 携带MTp53的肿瘤通常以大量积累MTp53蛋白为特征, 导致MTp53积累的原因一方面为MDM2-p53环的破坏^[11], 另一方面则是MTp53翻译后修饰(如乙酰化)有助于其稳定性^[11]。Jethwa等^[12]对Burkitt淋巴瘤中MTp53积累的调控因子进行研究, 结果显示TRRAP(Transformation/transcription domain-Associated Protein)具有稳定的MTp53作用。TRRAP可以通过抑制MDM2-蛋白酶体轴介导的MTp53降解, 这表明TRRAP可通过屏蔽天然WTp53的降解机制来维持MTp53水平。因此, TRRAP正是通过抑制MTp53泛素化和蛋白酶体降解的途径, 在不同肿瘤和p53突变中作为MTp53的转录后水平调节器。因此, 对MTp53积累的干扰可成为Burkitt淋巴瘤治疗值得利用的靶点。

3 MDM2

鼠双微体2(murine double minute 2, MDM2), 人体内称为HDM2, 是一种肿瘤蛋白, 具有E3泛素连接酶活性, 并针对WTp53进行蛋白酶体降解, 从而抑制WTp53介导的转录激活作用^[13], 是WTp53的主要负调控因子。MDM2主要由N端的p53结合结构域、酸性结构域、锌指结构域和C端环指结构域构成。MDM2调节WTp53时, N端结构区域与WTp53蛋白转录激活结合区结合成复合物晶体, 抑制WTp53的转录, 并可将WTp53从细胞核转移至细胞质^[14-15]。在携带WTp53基因的细胞中, 功能性WTp53蛋白在翻译后能够迅速降解, 主要是通过MDM2与WTp53之间的负反馈循环保持正常细胞中WTp53的较低水平。因此, 在携带WTp53基因的肿瘤中, 可以利用这一特性阻断MDM2-p53的相互作用以稳定WTp53蛋白并保持其抗肿瘤的活性。目前普遍认为MTp53在肿瘤细胞中的积聚是由于MTp53不能诱导MDM2, 从而导致MDM2-p53负反馈环的中断。Zheng等^[16]对MTp53基因敲入小鼠中发现仅在肿瘤组织中观察到MTp53的积聚, 当小鼠MDM2缺失可导致MTp53在正常组织中积聚, 而在肿瘤组织中浓度不积累, 这些结果表明MDM2的过表达是MTp53积聚的

重要机制,也参与了MTp53的GOF。

4 p14^{ARF}

由CDKN2A位点编码的p14^{ARF}蛋白是一种真正的肿瘤抑制因子,p14^{ARF}能够结合并抑制靶向MTp53的拮抗剂MDM2,其作用被证实为将MDM2隔离在核仁中,并抑制MDM2的泛素连接酶活性,从而触发MTp53的积累。若使WTP53在生长停滞中发挥作用,就要保持其水平的稳定。稳定WTP53的主要机制是通过抑制WTP53与MDM2之间的相互作用,在涉及抑制MDM2-WTP53相互作用的几种机制中,上调肿瘤抑制蛋白p14^{ARF}是一个重要的机制^[17-20]。在至少30%的Burkitt淋巴瘤(Burkitt lymphoma, BL)活检组织和60%~70%的BL细胞系中都能发现p53的突变。Lindström等^[21]对BL细胞株的研究证实所有含有MTp53的细胞株均呈低到中等程度表达p14^{ARF}蛋白。在编码的WTP53的BL细胞系中,通过Western印迹和免疫组织化学染色没有检测到p14^{ARF}蛋白,这证实了WTP53抑制p14^{ARF}蛋白的表达,而携带MTp53的BL细胞系过表达p14^{ARF}蛋白。因此对于携带MTp53的BL可抑制p14^{ARF}蛋白的表达,抑制p14^{ARF}对MDM2的作用,减弱MTp53积累所带来的促进肿瘤生成的作用。

5 早幼粒细胞白血病蛋白

人类早幼粒细胞白血病蛋白(promyelocytic leukemia, PML)至少有9种异构体,这些异构体被认为是作为肿瘤抑制因子而存在,即PML有阻止MTp53稳定的作用。PML的缺失是人类癌症中常见的基因改变。在健康细胞中,WTP53和PML这两个关键的肿瘤抑制因子存在于一个正调控环路中,促进细胞凋亡和细胞衰老。Haupt等^[22]采用p53R175H突变体的小鼠模型来研究PML缺失对MTp53积累和肿瘤发生及转移的影响发现缺失1个或2个PML等位基因的肿瘤中MTp53蛋白,p14^{ARF},c-myc水平明显升高,由此表明PML缺失可以诱导MTp53的积聚,并且当p53突变与PML缺失复合时,实验小鼠存活率降低,肿瘤表现为向结缔组织肿瘤转化,并具有性别决定的性别相关肿瘤谱^[23]。对MTp53和PML的进一步探索为某些血液系统恶性肿瘤和肉瘤的标志物提供了合理的研究基础,也预测了MTp53特异性治疗与PML增强药物联合治疗新时代的可能性。

6 TGF-β1

转化生长因子(transforming growth factor, TGF)家族的成员在广泛的细胞系中具有多种功能,包括增殖、分化、迁移和凋亡^[24-25]。TGF-β1的部分功能可概括为向磷酸化激活的细胞内信号转导的Smad复合体发出信号,激活的Smad复合体移位到细胞核中,并与其他核辅助因子一起调节靶基因的转录^[26]。p53基因在TGF-β1诱导的生长抑制中的作用因其野生型或突变型的不同而不同。据报道^[27],在某些哺乳动物细胞中,WTP53是TGF-β1介导的生长停滞所必需的。Chen等^[28]报道了TGF-β1诱导的生长抑制与B细胞淋巴瘤细胞中MTp53水平的降低有关。该研究利用B细胞淋巴瘤研究TGF-β1对MTp53基因表达的影响,结果显示:在TGF-β1过表达的情况下,诱导E2F-1转录因子表达下调,导致p14^{ARF}和MTp53表达下调,从而起到对B细胞淋巴瘤细胞系的生长抑制作用。

7 人髓细胞增生原癌基因

人髓细胞增生原癌基因(myelocytomatosis oncogene, C-Myc)基因是细胞核内癌基因,是MYC基因家族重要成员之一,具有促进细胞增殖和诱导细胞凋亡的功能。正常生理状态下,C-Myc的表达受到严格的调控,接受细胞外刺激时表达升高。Roy等^[29]利用BL和其他B细胞淋巴瘤检测c-Myc和MTp53的相对水平,发现c-Myc蛋白和p53 mRNA的表达之间存在相关性,特别是c-Myc蛋白表达水平很低的细胞也表达低水平的p53 mRNA,而高水平表达的c-Myc的细胞倾向于表达高水平的p53 mRNA。为验证MTp53是否可以作为体内c-Myc的靶点,进而检测了反义c-Myc RNA对内源性p53 mRNA水平的影响。结果表明:反义c-Myc RNA的存在导致c-Myc蛋白、p53 mRNA和p53启动子表达水平降低。Roy等^[29]及Bhatia等^[30]的实验结果支持c-Myc在某些B细胞淋巴瘤中能提高MTp53基因表达的直接作用。

8 p21

p21是一种细胞周期调控蛋白,也是新发现的抑癌基因,其在细胞中表达水平降低可抑制肿瘤细胞增殖,还可使正常细胞增生转化为异常,增加细胞癌变风险。p21的表达是反映p53基因状态

的一个很好的替代物, p21的缺失与p53错义突变的存在有关^[31]。癌细胞依赖谷氨酰胺来维持增殖并对抗氧化应激反应, 但是由于过度的细胞消耗和血管形成, 肿瘤部位的谷氨酰胺经常被耗尽, 但Tran等^[32]报道MTp53蛋白在体内体外都能促进细胞在低谷氨酰胺水平下存活。Tran等^[32]进一步利用MTp53淋巴瘤细胞系蛋白质印迹实验证实, 低谷氨酰胺水平组细胞明显阻滞于G₁/S期, 引起此种现象的原因是p21表达的诱导。由此表明MTp53蛋白对低谷氨酰胺水平的细胞保护是p21蛋白被诱导表达升高, 依赖p21蛋白的细胞周期阻滞被激活, 从而促进细胞在低谷氨酰胺条件下的存活。

9 神经损伤诱导蛋白 1

神经损伤诱导蛋白是在受损外周神经远端的施万细胞中被发现的一种蛋白, 因其在神经损伤后可促进神经的再生与修复得名, 目前证实Ninjurin是由两个同源分子Ninjurin1和Ninjurin2组成的小家族。Ninjurin1具有黏附作用, 参与炎症反应和通过信号分子调节细胞功能^[33-35]。但在Yang等^[36]的实验中, Ninjurin1分别通过调控野生型和突变型p53在细胞生长、迁移和肿瘤发生中发挥两种相反的作用。Yang等^[36]利用野生型和突变型(R270H)两类发生了T淋巴瘤细胞淋巴瘤的小鼠, 分别研究Ninjurin1缺失的情况下的肿瘤易感性, 结果证实携带MTp53的细胞中, Ninjurin1缺失促进了细胞的生长, 加速了肿瘤的进展, 缩短了寿命; 在WTp53的细胞中, Ninjurin1的缺失抑制了细胞的生长, 并同时表明, Ninjurin1发挥这一功能是通过调节MTp53的表达来实现的, 由此认为Ninjurin1可能是治疗癌症等相关疾病的潜在治疗靶点^[34]。

10 结语

MTp53不仅代表WTp53活性的丧失, 还代表对特定肿瘤的发生、维持和转移有重要促进作用的致癌功能的获得。分子靶向治疗凭借疗效好、不良反应小等优点越来越被临床医生及患者所接受, 为部分实体肿瘤及血液系统恶性肿瘤的治疗提供了更多的选择, 深入探讨MTp53及其调控蛋白在淋巴瘤发生发展的分子病理机制, 可为抗淋巴瘤药物的研发提供新的思路。

参考文献

1. 丁欣, 侯淑玲, 李雅琴, 等. P53表达对双表达淋巴瘤患者预后影响的研究[J]. 中国实验血液学杂志, 2019, 27(5): 1504-1514.
DING Xin, HOU Shuling, LI Yaqin, et al. Effect of P53 expression on prognosis of patients with double expressor lymphoma[J]. Journal of Experimental Hematology, 2019, 27(5): 1504-1514.
2. Baugh EH, Ke H, Levine AJ, et al. Why are there hotspot mutations in the TP53 gene in human cancers? [J]. Cell Death Differ, 2018, 25(1): 154-160.
3. Chen D, Shan J, Zhu WG, et al. Transcription-independent ARF regulation in oncogenic stress-mediated p53 responses [J]. Nature, 2010, 464(7288): 624-627.
4. Aubrey BJ, Janic A, Chen Y, et al. Mutant TRP53 exerts a target gene-selective dominant-negative effect to drive tumor development [J]. Genes Dev, 2018, 32: 1420-1429.
5. Wang X, Jiang X. Mdm2 and MdmX partner to regulate p53 [J]. FEBS Lett, 2012, 586(10): 1390-1396.
6. Nag S, Qin J, Srivenugopal KS, et al. The MDM2-p53 pathway revisited [J]. J Biomed Res, 2013, 27(4): 254-271.
7. Yan C, Lu D, Hai T, et al. Activating transcription factor 3, a stress sensor, activates p53 by blocking its ubiquitination [J]. EMBO J, 2005, 24(13): 2425-2435.
8. Green TA, Alibhai IN, Unterberg S, et al. Induction of activating transcription factors (ATFs) ATF2, ATF3, and ATF4 in the nucleus accumbens and their regulation of emotional behavior [J]. J Neurosci, 2008, 28(9): 2025-2032.
9. Wang CM, Brennan VC, Gutierrez NM, et al. SUMOylation of ATF3 alters its transcriptional activity on regulation of TP53 gene [J]. J Cell Biochem, 2013, 114(3): 589-598.
10. Buganim Y, Kalo E, Brosh R, et al. Mutant p53 protects cells from 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate-induced death by attenuating activating transcription factor 3 induction [J]. Cancer Res, 2006, 66(22): 10750-10759.
11. Stein Y, Rotter V, Aloni-Grinstein R. Gain-of-Function Mutant p53: All the Roads Lead to Tumorigenesis [J]. Int J mol sci, 2019, 20(24): 6197.
12. Jethwa A, Slabicki M, Hülle J, et al. TRRAP is essential for regulating the accumulation of mutant and wild-type p53 in lymphoma [J]. Blood, 2018, 131(25): 2789-2802.
13. Halasi M, Pandit B, Gartel AL. Proteasome inhibitors suppress the protein expression of mutant p53 [J]. Cell Cycle, 2014, 13(20): 3202-3206.
14. Khoury K, Dömling A. P53 mdm2 inhibitors [J]. Curr. Pharm. Des, 2012, 18(30): 4668-4678.
15. Li J, Kurokawa M. Regulation of MDM2 stability after DNA

- damage[J]. *Cell. Physiol*, 2015, 230(10): 2318-2327.
16. Zheng T, Wang J, Zhao Y, et al. Spliced MDM2 isoforms promote mutant p53 accumulation and gain-of-function in tumorigenesis[J]. *Nat Commun* 2013, 4: 2996.
 17. Lowe SW, Sherr CJ. Tumor suppression by Ink4a-Arf: progress and puzzles[J]. *Curr Opin Genet Dev*, 2003, 13(1): 77-83.
 18. Brady M, Vlatkovic N, Boyd MT. Regulation of p53 and MDM2 activity by MTBP[J]. *Mol Cell Biol*, 2005, 25(2): 545-553.
 19. Zhao K, Yang Y, Zhang G, et al. Regulation of the Mdm2-p53 pathway by the ubiquitin E3 ligase MARCH7[J]. *EMBO Rep*, 2018, 19(2): 305-319.
 20. Vogelstein B, Lane D, Levine AJ. Surfing the p53 network[J]. *Nature*, 2000, 408(6810): 307-310.
 21. Lindström MS, Klangby U, Wiman KG. p14ARF homozygous deletion or MDM2 overexpression in Burkitt lymphoma lines carrying wild type p53[J]. *Oncogene*, 2001, 20(17): 2171-2177.
 22. Haupt S, Mitchell C, Corneille V, et al. Loss of PML cooperates with mutant p53 to drive more aggressive cancers in a gender-dependent manner[J]. *Cell Cycle*, 2013, 12(11): 1722-1731.
 23. Di Agostino S, Strano S, Blandino G. Gender, mutant p53 and PML: a growing "affaire" in tumor suppression and oncogenesis[J]. *Cell Cycle*, 2013, 12(12): 1824-1825.
 24. Shi Y, Massagué J. Mechanisms of TGF-beta signaling from cell membrane to the nucleus[J]. *Cell*, 2003, 113(6): 685-700.
 25. Derynck R, Budi EH. Specificity, versatility, and control of TGF-β family signaling[J]. *Sci Signal*, 2019, 12(570): eaav5183.
 26. Miyazawa K, Miyazono K. Regulation of TGF-β family signaling by inhibitory Smads[J]. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 2017, 9(3): a022095.
 27. Cordenonsi M, Dupont S, Maretto S, et al. Links between tumor suppressors: p53 is required for TGF-beta gene responses by cooperating with Smads[J]. *Cell*, 2003, 113(3): 301-314.
 28. Chen G, Ghosh P, O'Farrell T, et al. Transforming growth factor β1 (TGF-β1) suppresses growth of B-cell lymphoma cells by p14(ARF)-dependent regulation of mutant p53[J]. *J Biol Chem*, 2012, 287(27): 23184-23195.
 29. Roy B, Beamon J, Balint E, et al. Transactivation of the human p53 tumor suppressor gene by c-Myc/Max contributes to elevated mutant p53 expression in some tumors[J]. *Mol cell biol*, 1994, 14(12): 7805-7815.
 30. Bhatia K, Goldschmidt W, Gutierrez M, et al. Hemi- or homozygosity: a requirement for some but not other p53 mutant proteins to accumulate and exert a pathogenetic effect[J]. *FASEB J*, 1993, 7(10): 951-956.
 31. Quintanilla-Martinez L, Kremer M, Keller G, et al. p53 Mutations in nasal natural killer/T-cell lymphoma from Mexico: association with large cell morphology and advanced disease[J]. *Am J Pathol*, 2001, 159(6): 2095-2105.
 32. Tran TQ, Lowman XH, Reid MA, et al. Tumor-associated mutant p53 promotes cancer cell survival upon glutamine deprivation through p21 induction[J]. *Oncogene*, 2017, 36(14): 1991-2001.
 33. Ifergan I, Kebir H, Terouz S, et al. Role of Ninjurin-1 in the migration of myeloid cells to central nervous system inflammatory lesions[J]. *Annals Neurol*, 2011, 70(5): 751-763.
 34. Matsuki M, Kabara M, Saito Y, et al. Ninjurin1 is a novel factor to regulate angiogenesis through the function of pericytes[J]. *Circ J*, 2015, 79(6): 1363-1371.
 35. Ahn BJ, Le H, Shin MW, et al. Ninjurin1 deficiency attenuates susceptibility of experimental autoimmune encephalomyelitis in mice[J]. *J Biol Chem*, 2014, 289(6): 3328-3338.
 36. Yang HJ, Zhang J, Yan W, et al. Ninjurin 1 has two opposing functions in tumorigenesis in a p53-dependent manner[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2017, 114(43): 11500-11505.

本文引用: 吴仕收, 于国华. 突变型p53调节蛋白在淋巴瘤中作用的研究进展[J]. 临床与病理杂志, 2020, 40(12): 3287-3291. doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2020.12.031

Cite this article as: WU Shishou, YU Guohua. Research advance on the role of mutant type p53 regulatory protein in lymphoma[J]. *Journal of Clinical and Pathological Research*, 2020, 40(12): 3287-3291. doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2020.12.031