DOI:10.16016/j.1000-5404.2000.12.041
第22卷第12期 第三军医大学学报 Vol. 22, No. 12
2000年12月 ACTA ACADEMIAE MEDICINAE MILITARIS TERTIAE Dec. 2000

文章编号:1000-5404(2000)12-1215-03

综述

p53基因家族研究进展

Recent advances in the research of p53 gene family

何 勇,范士志,蒋耀光 (第三军医大学附属大坪医院野战外科研究所胸心外科,重庆 400042)

人们在研究中发现,很多癌基因和抑癌基因常常是以家族形式存在。p53基因作为一个在人类肿瘤中发生变异频率最高的重要抑癌基因,已成为历史上研究最为深入的基因之一。但是,发现该基因近20年来,研究者却始终未发现p53基因其它家族成员的存在。然而,自1997年以来,几个研究组相继发现了2个新的基因——p73和p51[1~5],二者的产物与P53蛋白在结构和功能上具有明显的相似性,研究者确信它们与p53基因为同一基因家族的成员。

1 p53基因及其产物结构

在短短的10多年里,人们对p53基因的认识经历了癌蛋白抗原、癌基因到抑癌基因3个认识的转变,现已明确,人类p53基因定位于17p13.1,鼠p53定位于11号染色体,并在14号染色体上发现其无功能的假基因。即使进化程度迥异的动物中,p53也有异常相似的基因结构,长约20 Kb,都由11个外显子和10个内含子组成,第1个外显子不编码,外显子2、4、5、7、8分别编码5个进化上高度保守的结构域,这5个高度保守区即第13~19、117~142、171~192、236~258、270~286编码区。p53基因编码393个氨基酸的蛋白,分子量为53×10^3。P53蛋白分为N-末端的转录活化区(1~50位氨基酸)、信号区(60~94位氨基酸)、核心DNA连结区(100~290位氨基酸)、同源寡聚区(323~355位氨基酸)、C-末端的非专一DNA结合区(370~393位氨基酸)。p53基因的表达至少受转录及转录后2种水平的调控。

2 p53基因的功能

现已认识到,p53基因与人类50%的肿瘤有关,P53蛋白能整合细胞对各种危急状况的反应,其信息传递途径上游是各种危急状况的信息,包括各种理化因素造成的DNA损伤、缺氧等。当DNA损伤时,p53的N-末端会因磷酸化而影响其和DNA、HDM2结合的能力[6]。p53介导的下游事件主要表现为对靶基因的调控从而引起细胞周期停滞及细胞凋亡。目前p53的许多靶基因已经明确,例如细胞周期调节基因$p21^{Waf-1}$、CIP1、SDI1和14-3-3 sigma等[7]。P53蛋白可通过靶基因$p21^{Waf-1}$抑制周期依赖性激酶诱导G_1/S阻滞,通过14-3-3 sigma抑制Cdc25c并参与G_2/M关卡的调控[8];p53通过上调靶基因bax及IGF-BP-3,抑制bcl-2基因,调控凋亡,维持基因组的遗传学稳定性,行使抑癌基因功能。引起肿瘤形成或细胞转化的P53蛋白是p53基因突变的产物,是一种肿瘤促进因子,它可以消除正常p53的功能,而野生型p53基因是一种抑癌基因,它的失活对肿瘤形成起重要作用。

p53正常功能的丧失,最主要的方式是基因突变,迄今已发现10 000种人类肿瘤的2 500种基因突变,P53蛋白393个氨基酸有280个以上发现了突变[9]。通过肿瘤中大量的突变体分析,证实大部分突变是位于4个突变热点之一的错义突变。这4个突变热点是氨基酸129~146、171~179、234~260、270~287,正对应于p53基因进化最保守区段。p53基因突变是p53正常功能丧失的常见原因,另外,一些蛋白质与P53蛋白作用,也可导致其正常生物学功能的丧失。P53蛋白是一种半衰期短的核内磷酸化蛋白,能和DNA的特定顺序结合调节其周围基因的转录,它常通过自身修饰或和其它蛋白相互作用来调节细胞周期。DNA肿瘤病毒如HPV16、18、SV40和腺病毒编码的癌蛋白,都能引起宿主细胞的恶性变。例如,Storey等[10]已经证实人子宫颈癌、直肠癌的发生发展与HPVE6引起的P53蛋白功能的丧失有密切关系。进一步研究表明,癌蛋白如HPVE6与p53结合后可启动细胞内蛋白酶降解P53;而SV40LT Ag可阻断p53的DNA结合区;腺病毒E1B55K蛋白可阻断p53的转录活化区;癌基因产物Mdm-2/p300复合物也参加了P53蛋白稳定性的调节,其异常扩增能干扰P53的正常功能[11]。近来的研究发现p53对某些癌基因产生的刺激的反应受到$P14^{ARF}$蛋白的影响[12,13],或许是因为这些癌基因能诱导$P14^{ARF}$生成[14,15],$P14^{ARF}$能拮抗Mdm2(HDM2)对p53的作用[12,13]。

3 p73基因的发现和定位

1997年,Kaghad[1]等用对应于胰岛素信号介质(IRS-1)连接区的简并寡核苷酸探针对COS细胞的cDNA文库进行杂交筛选时,偶然发现了一个假阳性的cDNA克隆。其序列与IRS-1连接区缺乏同源性,而与p53基因却有高度的同源性。这些相似性足以提示两个基因是一些古老细胞事件中被复制的同一基因的"后裔"。新基因编码α、β、γ和δ4种不同的多肽,分别由636、499、475和403个氨基酸组成[16]。Kaghad等[1]的研究发现p73定位于1号染色体短臂(1p36)。该区在多种人类肿瘤如神经母细胞瘤、恶性黑色素瘤、结肠癌、肝细胞癌、乳癌中

基金项目:重庆市应用基础基金资助项目
作者简介:何 勇(1972-),男,贵州省遵义市人,博士研究生,医师,主要从事p53家族基因在肺癌中的表达方面的研究。电话:(023)68757241
收稿日期:2000-02-02;修回日期:2000-06-09

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

发生缺失的频率均非常高，而且研究提示该区至少隐藏了 2 个不同的抑癌基因。Oren[17] 进一步的研究表明 p73 定位于 1p36.33。由于 p73 基因极为特殊的定位，研究者认为 p73 基因就是该区一个极具希望的候选抑癌基因。

4 P73 和 P53 蛋白结构和功能的相似性

人 P53 蛋白由 393 个氨基酸组成，包括 3 个主要的功能结构区：N 末端的酸性转录活化区、中央的核心 DNA 连接区、C 末端寡聚(Oligomarization)区，这 3 个结构区在 p53 识别并转录活化靶基因的过程中发挥着重要作用[1]。随着 p73 的发现及其序列的测定，研究者在 P73 和 P53 的上述 3 个保守的功能结构区发现了强而广的相似性。在核心 DNA 连接区(第 113～290 氨基酸)P73 与 P53 蛋白有 63% 的氨基酸完全一致，而该区包含有 6 个“突变热点”在肿瘤细胞中是最易发生突变的功能结构区；转录活化区(第 1～45 氨基酸)有 29% 相同；寡聚区(第 319～363 氨基酸)有 38% 相同。P73 和 P53 蛋白结构的相似尤其是核心 DNA 连接区的高度相似性提示二者在细胞活动中可能具有相似的功能。

研究已知 p53 在细胞周期调控中发挥阻滞作用的重要途径之一是直接转录活化一组靶基因，其中最典型的靶基因是 $p21^{waf\text{-}1}$。Jost 等[18] 发现 p73 由于在转录活化区和核心 DNA 连接区与 p53 有高度的相似性，当其过表达时也能激活含有 p53 连接位点的受体如 $p21^{waf\text{-}1}$，而当 p73 发生突变，其诱导 p21 的活性也将被阻断。众所周知，p21 是参加 p53 介导的细胞生长阻滞最关键的因素。由此可见，p73 似乎固有连接并转录活化某些 p53 靶基因的特性[1,18]。Kaghad 等[1] 将 p73 和 p53 转染入细胞比较二者诱导 p21 的能力，发现野生型 p73 能诱导 p21 生成，而且野生型 p73 比野生型 p53 诱导 p21 的能力更强，提示 p73 能通过与 p53 一样的途径抑制细胞生长[18]。Kaelin 还发现 SAOS2 等细胞株中，野生型 p73α 和 p73β 都能诱导细胞调亡，尤其在 p73 过表达时，这一促凋亡活性更为肯定，p73 能以 p53 同样的方式激活 p53 的靶基因、诱导细胞凋亡并抑制细胞生长[18]；Zhu 等[19] 也发现了类似结果。p73 在生理情况下是否具有这一功能有待进一步研究[18]。

5 p73 与 p53 的差别

在发现 p73 与 p53 非常相似的同时，研究者也发现二者也有许多不同点。P53 蛋白的第 4 个结构区羧基端(第 367～393 氨基酸)非特异性核酸连接区，对调节核心 DNA 连接区与 DNA 的连接具有重要作用。正是在这个区域，研究者未发现 p73 与 p53 有任何有意义的同源性，因此，p73 的活化调节机制可能与 p53 完全不同[1,18]。Kaghad 等[1] 发现，p73 在所有正常组织中均为低表达，而且 p73 的确不象 p53 一样受辐射、缺氧、DNA 损伤等刺激而增强表达，p73 并不具有 p53“基因组卫士”的作用。Lee 等[20] 的研究表明因为 C-末端结构的差异，不同的 p73 剪接变型和 p53 对不同的靶基因具有不同的转录活化作用。

其次，p53 基因在人类多种肿瘤中存在 p53 基因突变、缺失或两者兼有的异常，并且很难在肿瘤中检测到野生型 p53 的表达。然而，迄今为止，在已检测的细胞株和人类肿瘤如肺癌、乳腺癌、神经母细胞瘤、前列腺癌及肝癌[2,21] 等的研究均未发现 p73 基因的突变[1,18,21]，并且在肿瘤组织中 p73 比正常组织中表达更高。目前对这一现象的解释尚缺乏进一步的研究。

再次，P73 蛋白与病毒癌蛋白的相互作用明显不同于 p53。众所周知，病毒癌蛋白在对 P53 和 PRB 等肿瘤抑制蛋白的研究中的作用是非常重要的。SV40 LT Ag 能与 P53 蛋白的核心 DNA 连接区结合，虽该区正是 P53 与 P73 同源性最高的区域，但 SV40 LT Ag 却不能与 P73 蛋白相结合[22]；同样，E1B55K 蛋白能与 P53 蛋白的转录活化区结合，HPVE6 能与 P53 蛋白的核心区和 C-末端结合，但二者也不能与 P73 蛋白相互作用将其降解或影响其功能[22,23]。另外，p73 基因似乎呈单等位基因表达的特点也与 p53 等经典抑癌基因的传统概念相悖[1]。

研究者认为：p73 或许在肿瘤发生机制中并不像 p53 一样是一个抑癌基因[21]。P73 蛋白不同于 P53 与病毒癌蛋白的关系也不支持其具有肿瘤抑制蛋白的作用。因此要弄清 p73 的真面目，对于 p73 是否呈单等位基因表达，p73 的正常生理功能，p73 的激活调控机制以及 p73 在肿瘤发生发展中的作用等问题，都有待进一步的研究。然而，目前的研究发现在人类肿瘤中 p73 基因很少突变[3,8,21]，p73 过表达能诱导肿瘤细胞发生细胞周期阻滞和细胞凋亡。近来 Prabhu 等[23] 发现即使肿瘤细胞中 HPV-E6 过表达，野生型 p73β 也能抑制癌细胞生长并诱导细胞凋亡。由此，我们有理由相信寻求方法以激发这一 p53 的同源基因的转录可能会恢复肿瘤细胞中 p53 的功能[1]，或许这能给人类肿瘤的治疗带来一种新的基因治疗策略[23]。

6 p51 基因

继 p73 之后，几个研究组相继在染色体 3q27－8 区发现了 p53 基因的又一个同源体——p51，不同的发现者分别将其命名为 Ket(鼠)，p40，p63 和 p73L[2～5]。与 p73 相似，p51 也存在 p51A 和 p51B 等不同的转录剪切变异体。Yang[5] 发现，p51 的亚型尽管缺乏 N-末端的转录活化区但却仍能与 DNA 连接，这种形式使 p51 能以 p53 样的显性负作用的方式发挥效应。和 P53 比较，P73 和 P51 蛋白的结构更为接近。因此，象 P73 一样，P51 蛋白能与 P53 蛋白的 DNA 连接区结合，能促进 p53 启动子的转录，也能诱导 p53 缺如的肿瘤细胞发生细胞凋亡[3,5]。

相对于 p53 基因在组织中的广泛表达，p73 在心脏、肝和胰腺等组织中表达较高，而 p51mRNA 更易在鼠的皮肤、舌、胸腺，人类的睾丸、胎盘、骨骼肌等几种组织中检测到[3,5]。结合二者结构的高度相似性，这似乎提示，p51 和 p73 在不同的组织中具有不同的分工[4]。

p51 基因定位于染色体 3q27-8，研究发现这一区域在膀胱肿瘤中缺失，在一些子宫颈癌、卵巢癌和肺癌中明显扩增[2～5]，这似乎说明 p51 基因也与肿瘤的发生发展有密切的关系。与 p73 基因相似，p51 在肿瘤细胞中很少发生突变，在 Osada 等[3] 检测的 101 个肿瘤组织和肿瘤细胞株中仅于 1 例肺癌组织和头颈部肿瘤、子宫颈癌细胞株各 1 例发现有突变。

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

7　小结与展望

由于 p53 具有“基因组卫士”的功能，因此，如何在人类肿瘤中恢复 p53 的功能成为基因治疗的研究热点。研究结果表明，p73、p51 和 p53 基因在序列上具有高度的同源性，功能上也有重叠之处，虽然也存在很多差异，但当二者的产物过表达时，都能模拟 P53 蛋白与 DNA 连接的能力，活化转录，诱导凋亡。研究者认为：p73 和 p51 能致 p53 缺失的肿瘤细胞发生细胞凋亡，寻求方法激发 p53 的同源基因的转录可能会恢复肿瘤细胞中 p53 的功能[1]。Jack 认为：即使 p73 并非抑癌基因，但找到一个方法开启 p53 缺失的肿瘤细胞中 p73 的功能，将使癌症治疗成为可能。

目前，对 p73 是不是一种抑癌基因、p73 和 p51 在肿瘤中为什么很少突变、它们的活化调节机制以及与 p53 的关系都有待进一步研究，但我们有理由相信：随着这些问题的阐明，我们对肿瘤的发生发展机制将会有进一步的认识，从而为我们制定更有效的基因治疗方案提供有效的帮助。

关键词：p73；p53；p51；抑癌基因
中图法分类号：R394　　文献标识码：A

参考文献：

[1] Kaghad M, Bonnet H, Yang A, *et al*. Monoallelically expressed gene related to p53 at 1p36, a region frequently deleted in neuroblastoma and other human cancers[J]. Cell, 1997, 90(4): 809—819.

[2] Trink B, Okami K, Wu L, *et al*. A new human p53 homologue [J]. Nat Med, 1998, 4(7): 747—748.

[3] Osada M, Ohba M, Kawahara C, *et al*. Cloning and functional analysis of human p51, which structurally and functionally resembles p53[J]. Nat Med, 1998, 4(7): 839—843.

[4] Senoo M, Seki N, Ohira M, *et al*. A second p53-related protein, p73L, with high homology to p73[J]. Biochem Biophys Res Commun, 1998, 248(3): 603—607.

[5] Yang A, Kaghad M, Wang Y, *et al*. p63, a p53 homoloy at 3q27—29, encodes multiple products with transactivating, death inducing, and dominant-negative activities[J]. Mol Cell, 1998, 2(3): 305—316.

[6] Woo R A, Mclure K G, Lees-Miller S P, *et al*. DNA dependent protein kinase acts upstream of p53 in response to DNA damage [J]. Nature 1998, 394(6 694): 700—704.

[7] Hermeking H, Lengauer C, Polyak K, *et al*. 14-3-3 sigma is a p53-regulated inhibitor of G_2/M progression[J]. Mol Cell, 1997, 1(1): 3—11.

[8] Peng C Y, Graves P R, Thoma R S, *et al*. Mitotic and G_2 checkpoint control: regulation of 14-3-3 protein binding by phosphorylation of Cdc25c on serine-216[J]. Science, 1997, 277(5 331): 1 501—1 505.

[9] Pfeifer G P, Denissenko M F. Formation and repair of DNA lesions in the p53 gene: relation to cancer mutations[J]? Environ Mol Mutagen, 1998, 31(3): 197—205.

[10] Storey A, Thomas M, Kalita A, *et al*. Role of a p53 polymorphism in the development of human papillomavirus-associated cancer[J]. Nature, 1998, 393(6 682): 229—234.

[11] Grossman S R, Perez M, Kung A L, *et al*. p300/MDM2 complexes participate in MDM2—mediated p53 degradation[J]. Mol cell, 1998, 2(4): 405—415.

[12] Zhang Y, Xiong Y, Yarbrough W G, *et al*. ARF promotes MDM2 degradation and stabilizes p53: ARF-INK4a locus deletion impairs both the Rb and p53 tumor suppression pathways[J]. Cell, 1998, 92(6): 725—732.

[13] Pomerantz J, Schreiber-Agus N, Liegeois N, *et al*. The Ink4a tumor suppressor gene product, p19Arf, interacts with MDM2 and neutralizes MDM2's inhibition of p53[J]. Cell, 1998, 92(6): 713—723.

[14] Bates S, Phillips A C, Clark P A, *et al*. p14ARF links the tumor suppressors RB and p53[J]. Nature, 1998, 395(6 698): 124—125.

[15] Palmero I, Pantoja C, Serrano M. p19ARF links the tumor suppressor p53 to RAS[J]. Nature, 1998, 395(6 698): 125—126.

[16] Laurenzi B V D, Costanzo A, Barcaroli D, *et al*. Two new p73 splice variants, γ and δ, with different transcriptional activity[J]. J Exp Med, 1998, 188(9): 1 763—1 768.

[17] Oren M. Lonely no more: p53 finds its kin in a tumor suppressor haven[J]. Cell, 1997, 90(5): 829—832.

[18] Jost C A, Marin M C, Kaelin W G, *et al*. p73 is a human p53—related protein that can induce apoptosis[J]. Nature, 1997, 389(6 647): 191—194.

[19] Zhu J H, Jiang J Y, Zhou W J, *et al*. The potential tumor suppressor p73 differentially regulates cellular p53 target genes[J]. Cancer Res, 1998, 58(22): 5 061—5 065.

[20] Lee C W, La-Thangue N B. Promoter specificity and stability control of the p53-related protein p73[J]. Oncogene, 1999, 18(29): 4 171—4 181.

[21] Mihara M, Nimura Y, Ichimiya S, *et al*. Absence of mutation of the p73 gene localized at chromosome 1p36.3 in hepatocellular carcinoma[J]. Br J Cancer, 1999, 79(1): 164—167.

[22] Reichelt M, Zang K D, Seifert M, *et al*. The yeast two-hybrid system reveals no interaction between p73 alpha and SV40 large T-antigen[J]. Arch Virol, 1999, 144(3): 621—626.

[23] Prabhu N S, Somasundaram K, Satyamoorthy K, *et al*. p73beta, unlike p53, suppresses growth and induces apoptosis of human papillomavirus E6-expressing cancer cells[J]. Int J Oncol, 1998, 13(1): 5—9.

（编辑　陈聪连）

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net