

DOI:10.3724/SP.J.1008.2011.00334

• 综述 •

p73 基因及其在妇科肿瘤中的研究进展

彭平平, 黄利鸣*, 王艳林

三峡大学医学院分子生物学研究所, 宜昌 443002

[摘要] p73 作为 p53 家族成员之一, 因具有与 p53 极为类似的结构和功能受到广泛关注。其中 p73 基因全长模式 TAp73 能够引起细胞周期停滞和诱导细胞凋亡, 并能作用于 p53 的靶基因, 推测 TAp73 很可能是另一个新型的抑癌基因。该基因的深入研究将为癌症的诊断和治疗提供新视野。本文将对 p73 的结构、生物学功能及其与妇科肿瘤发生、发展、预后之间的关系简要阐述。

[关键词] p73; 肿瘤抑制基因; 细胞凋亡; 女性生殖器肿瘤; 乳腺肿瘤

[中图分类号] R 737.3; R 737.9 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 0258-879X(2011)03-0334-03

p73 gene and its role in gynecological tumors: an advance

PENG Ping-ping, HUANG Li-ming*, WANG Yan-lin

Institute of Molecular Biology, Medical College, Three Gorges University, Yichang 443002, Hubei, China

[Abstract] As a member of p53 family, p73 is gaining increasing attention because it has high structural and functional homology with p53. TAp73, a full-length isoform of p73, can arrest cell cycle and induce cell apoptosis; it may also exert its effect on the target gene of p53, and is therefore considered as a new tumor suppressor gene. Further research on p73 may cast new lights on the diagnosis and therapy of cancer. This paper describes the structure and function of p73 and its relationship with development, progression and prognosis of gynecological tumors.

[Key words] p73; tumor suppressor genes; apoptosis; female genital neoplasms; breast neoplasms

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2011, 32(3): 334-336]

p73 是 1997 年由 Kaghad 等^[1]发现的定位于 1p36 上的一个新基因, 属 p53 超家族成员。p73 基因能编码生物学功能不同的截短蛋白^[2], 其中 TAp73 是 p73 的全长模式, 具有与 p53 极为类似的结构和功能, 与肿瘤的发生发展关系密切。本文以 p73 蛋白结构、诱导凋亡分子机制, 及其与妇科肿瘤发生、发展、预后之间的关系为视角, 着重探讨其作为女性肿瘤新的诊断方法和治疗靶点的意义。

1 p73 的结构

1.1 p73 的结构和剪切体 p73 基因全长 116 kb, 由 14 个外显子和 13 个内含子构成, 有两个特殊的启动子, 分别位于第一外显子上游和第三内含子^[3]。通过不同启动子转录和选择性剪接, 可产生十多种不同的亚型。其中 C 末端的剪接体主要有 p73 α 、p73 β 、p73 γ 、p73 δ 、p73 ϵ 、p73 ζ 、p73 η 。这些亚型在人正常组织和细胞株中表达各异。N 末端的剪接体有 Δ Np73、 Δ 'Np73、 Δ Ex2p73 和 Δ Ex2/3p73, 由于缺乏全部或大部分激活区, 被统称为 DNp73^[4], 这些亚型在人肿瘤和肿瘤细胞株均有表达。

1.2 p73 与 p53 结构比较 p73 与 p53 具有相当程度的同源性, 从而推测其可能与 p53 具有相似的功能。另外 p73 在神经细胞瘤和其他肿瘤中经常缺失, 因而被认定为另一个新的肿瘤抑制基因^[5]。在结构上, p73 与 p53 蛋白主要有 3 个相对应的功能区域, 即 N 端激活区(transactivation domain, TAD)、DNA 结合区(DNA-binding domain, DBD)和寡聚区域(oligomerization domain, OD)^[1], 其中 DNA 结合区是 p53 超家族成员所共有的一个高度保守结构区域^[4]。与 p53 不同的是, 在 p73 蛋白 C 末端有 SAM 区域(sterile α motif domain), 研究发现, SAM 区对于 p73 转录蛋白的活化是必需的, 含有该结构的蛋白一般参与细胞生长调节, 从而进一步支持 p73 在细胞分化中发挥着重要作用^[1,6]。

2 p73 的生物学功能

2.1 p73 与 p53 靶基因 由于 p73 与 p53 的 DBD 和 OD 区具有较高的同源性, p53 靶基因(如 CDKN1A/p21、MDM2、BBC3/PUMA、PMAIP1/NOXA 和 BAX 等)也受到 p73 的反式调控。另外, p73 还能够诱导 p53 依赖的相关基因 Bax、

[收稿日期] 2010-07-11 **[接受日期]** 2010-12-24

[基金项目] 国家自然科学基金(30873282), 湖北省自然科学基金(2009CDA060), Supported by National Natural Science Foundation of China (30873282) and Natural Science Foundation of Hubei Province (2009CDA060).

[作者简介] 彭平平, 硕士。E-mail: 282738065@qq.com

* 通信作者(Corresponding author). Tel: 0717-6397358, E-mail: pengip520@126.com

MDM2、GADD45 和 cyclin G 的表达。

对于 p73 各亚型功能,研究较透彻的是 TAp73、p73 β 、 Δ Np73。由第一启动子转录而来的 TAp73 是 p73 基因的全长模式,能够引起细胞周期停滞和诱导细胞凋亡^[7]。相反, Δ Np73 能够竞争 p53、TAp63、TAp73 与靶基因启动子结合位点,通过抑制靶基因转录来阻断凋亡。另外, Δ Np73 能够直接与 TAp73 结合,形成功能缺陷的异质复合物,阻碍靶基因转录。p73 C 末端剪接体能够不同程度诱导 p53 靶基因活化,其中 p73 β 作用最强。与 p53 不同的是, p73 β 能够作用于细胞周期蛋白依赖激酶抑制因子 p57KIP2,该因子是细胞周期依赖性激酶(CDK)的抑制蛋白,参与肿瘤的增殖、分化与凋亡; p73 β 还能增强 Wnt/ β -catenin 信号转导途径,诱导 WNT4 启动子,使 p73 表现出 p53 所不具有的生物学活性^[4]。

2.2 p73 诱导凋亡及机制 p73 有与 p53 类似的活性,这种特性对于研究 p73 在肿瘤发展和治疗中的作用具有重要意义^[8]。Lau 等^[5]的研究表明, TAp73 由于含完整的激活区,能够使 p53 靶基因活化,从而诱导凋亡。最近, Zheng 等^[9]研究发现, p73 可能补偿由吉西他滨诱导的 p53 突变的胆管癌细胞株凋亡。关于 p73 诱导凋亡的机制主要有以下学说:

(1)p73 参与了 DNA 损伤凋亡应答,并受酪氨酸激酶 c-Ab1 调控。酪氨酸激酶 c-Ab1 能够被特定的 DNA 损伤试剂激活并通过 p53 依赖或非依赖途径促成细胞凋亡。在 Yuan 等^[10]的研究中发现,在电离辐射下 c-Ab1 可以与 p73 结合,并通过 SH3 与 p73 OD 区相互作用,使 p73 第 99 位酪氨酸残基磷酸化。

(2) TAp73 诱导 Scotin 基因的表达,从而改变内质网(ER)应激,实现细胞凋亡。Scotin 是哺乳动物凋亡前基因, p53 依赖途径中, DNA 损伤或细胞应激反应诱导其上调。在鼠的 Scotin 基因启动子中有 p53 的效应元件, DNA 损伤时 p53 能结合该效应元件,直接反式激活 Scotin 基因。Scotin 基因过表达能通过 caspase 途径促进 p53 基因敲除的肿瘤细胞凋亡。同时,紫外线照射抑制 Scotin 基因表达,能够显著降低 p53 依赖的细胞凋亡。由于内源性 Scotin 蛋白定位于 ER, Scotin 所致的 ER 应激触发细胞凋亡。TAp73 与 p53 一样,通过引发 ER 应激改变诱导细胞凋亡^[11]。

(3)p73 通过 PUMA(p53 up-regulated modulator of apoptosis)和 Bax 诱导线粒体途径的细胞凋亡。PUMA 是 p53 的靶基因,能够被内外源性 p53 快速诱导,具有强大的促凋亡作用。TAp73 通过诱导 PUMA,依次促进 Bax 向线粒体迁移及细胞色素 C 向胞浆释放。TAp73 可直接反式作用于 Bax 启动子,但这种作用很弱,只在凋亡后才检测到,因而该途径与凋亡启动无关。TAp73 诱导凋亡是通过直接反式激活 PUMA, PUMA 使 Bax 向线粒体迁移后, Bax 构象迅速变化而被激活,由此启动细胞凋亡程序^[12]。

(4)p73 通过死亡受体途径诱导凋亡。初步 DNA 微点阵分析显示: TAp73 能够诱导 CD95 和死亡受体^[8]。Terrason 等^[13]在前期的研究中发现,感染人巨细胞病毒(HCMV)的细胞中 Δ Np73 α 堆积,且能够对抗 p53 和 p73 依赖的细胞凋亡。继而又发现,顺铂处理细胞或外源性增强细胞中 p73 表达,能上调 Fas 转录和其在细胞膜上的表达。且 HCMV

感染同样能够抑制 p73 依赖的 Fas 介导的凋亡。

(5)细胞在 DNA 发生损伤时选择性降解 Δ Np73,使 TAp73 诱导凋亡。p73 基因编码的 TAp73 和 Δ Np73 是两种功能相对的亚型,其中 TAp73 发挥前期凋亡效应, Δ Np73 则是 N 末端截短的抗凋亡亚型^[8]。在 Maisse 等^[14]的研究中发现, DNA 损伤后, Δ Np73 迅速降解,而 p53 和 TAp73 的表达水平并没有改变,提示 Δ Np73 的降解解除了对 p53 和 TAp73 诱导凋亡作用的抑制。但 DNA 损伤中 Δ Np73 选择性降解机制不明。

3 p73 与妇科肿瘤

p73 在不同肿瘤组织中的表达水平不尽相同,其亚型在同一种肿瘤中的表达也有差别。p73 在多种肿瘤(如神经细胞瘤、膀胱癌、肝癌、结肠癌、肺癌、黑色素瘤、乳腺癌和卵巢瘤)都呈高表达^[15]。现主要就其与妇科肿瘤的关系进行阐述。

3.1 p73 与宫颈癌 Liu 等^[16]对 117 例宫颈鳞状细胞癌和 113 例正常宫颈组织中 TAp73 和 Δ Np73 的表达情况进行了研究。结果表明,在宫颈鳞状细胞癌患者中, 30.8% 病例高表达 TAp73,患者都有较高的存活率,对放疗敏感; 41% 的患者 Δ Np73 高表达,且 Δ Np73 的高表达与放疗不敏感、复发和不良预后显著相关;高表达 TAp73 的肿瘤组织, Δ Np73 表达量较低($P < 0.001, R = -0.368$),反之亦然;放疗不敏感的患者中, 70.6% 高表达 Δ Np73,而高表达 TAp73 的只有 5.6%。说明 TAp73 和 Δ Np73 可能是宫颈鳞状细胞癌患者对放疗敏感性的重要的决定因子,两种亚型的表达可以作为判断预后和对放疗敏感性的潜在指标。

Wakatsuki 等^[17]研究了 68 例宫颈鳞状细胞癌患者放疗前后 p73 的表达与辐射诱发凋亡的相关性。发现平均凋亡指数由放疗前 0.93% 达到放疗后(放疗吸收剂量达 9 Gy)的 1.97% ($P < 0.001$),放疗后 p73 的表达与凋亡指数比率(放疗后凋亡指数/放疗前凋亡指数)具有相关性($P = 0.021$)。根据放疗后 p53 的表达情况, 41 例呈 p53 表达阳性, 27 例阴性。27 例 p53 阴性患者中, p73 的表达与凋亡指数比率显著相关($P < 0.001$),而在 41 例反应型患者中相关性不明显($P = 0.940$)。由此推测,在放疗诱导细胞凋亡的宫颈癌患者中, p73 能够补偿 p53 的缺失,发挥与 p53 类似的抑癌功能。

3.2 p73 与乳腺癌 Garcia 等^[18]用半定量 PCR 的方法检测了 93 例乳腺癌患者 p16INK4a(p16 cyclin-dependent kinase inhibitor 1A)和 p73 的表达状况及相关性。p16INK4a 是肿瘤抑制基因之一,参与细胞周期调控。研究发现 24 例患者高表达 p73, 17 例高表达 p16INK4a。同时高表达 p16INK4a 和 p73 与有 3 个或以上淋巴结转移灶($P = 0.0007$)、免疫组织化学检测 p53 阳性($P = 0.014$)、血管浸润($P = 0.048$)、黄体酮受体阴性($P = 0.004$)显著相关。说明 p16INK4a 和 p73 同时高表达可能参与乳腺癌的发生,且与其恶性度相关。

Li 等^[19]研究了 p73 多态性和乳腺癌患者存活率之间的关系。p73 基因第二个外显子中一个非编码多态区(GC/AT)可能影响基因的表达,从而导致 p73 功能的显著改变。应用 PCR-SSCP 检测 526 例乳腺癌患者基因组 DNA 中 p73GC/AT 的多态性,其中 4% 为纯合子 AT/AT 表型, 57%

为纯合子 GC/GC 表型,39%为杂合子 GC/AT 表型。GC/GC 表型的患者 5 年及 5 年以上生存率均比含 AT 表型的患者(包括 GC/AT 和 AT/AT)低($P < 0.05$)。结果显示:GC/GC 表型与乳腺癌的不良预后显著相关,对 p73 表型的分析为乳腺癌患者的预后提供有价值的信息。

3.3 p73 与卵巢癌 Muscolini 等^[20]在顺铂诱导卵巢癌 A2780 细胞株凋亡的试验中发现,p73 的表达增加 A2780 对顺铂的敏感性。顺二氯二氨铂(CDDP)能够诱导野生型 A2780 卵巢癌细胞株经线粒体途径凋亡,而 A2780CIS 能够抵抗 CDDP 的作用。A2780 野生型和 A2780CIS 经 CDDP 处理后,蛋白质印迹分析结果表明:p53 蛋白在 2 株细胞中表达均上调,而 Bax 和 p73 的表达仅在野生型 A2780 细胞株中上调。用制滴菌素 A 预处理 A2780CIS 细胞能够通过恢复 Bax 和 p73 的表达从而逆转 A2780CIS 细胞对 CDDP 的抵抗。

另外,Kang 等^[21]研究了 p73(G4C14-to-A4T14)和 MDM2(309T/G, Del1518^{+/-})多态性罹患卵巢癌的风险。作者将 257 例卵巢癌患者和 257 例健康的妇女年龄配对后对比研究,用 PCR 的方法鉴定 p73 和 MDM2 的表型。结果显示:患病组和正常组在 p73(G4C14-to-A4T14)等位基因频率和基因表型分布之间没有显著性区别, P 值分别为 0.55 和 0.2。而患病组 MDM2(309T/G)等位基因频率显著低于正常组($P=0.01$)。相对于 T/T 表型,T/G 和 G/G 表型罹患卵巢癌的危险显著降低。根据似然比检验,p73 与 MDM2 多态性显著相关。

4 展 望

综上所述,p73 的各种剪接体在肿瘤的发生发展中分别发挥着不同作用。TAp73 作为与 p53 具有相同作用的抑癌基因,与细胞周期停滞、细胞凋亡、染色体数目及染色体稳定异常之间的关系研究已有初步进展,其作用机制有待进一步深入,具有潜在研究意义和临床应用价值。p73 的表达及多态性在妇科肿瘤发生发展中发挥着重要作用。p73 的胞内调控信号途径和其发挥作用的分子机制的研究,可能为妇科肿瘤的诊断和治疗提供新方法。

[参 考 文 献]

[1] Kaghad M, Bonnet H, Yang A, Creancier L, Biscan J C, Valent 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: 809-819.

[2] 吴晓茜,陈燕,黄晓园,曹阳,罗爱月,卢运萍,等. p63, p73 蛋白在宫颈癌及癌前病变中的表达及其相关性研究[J]. 华中科技大学学报:医学版, 2008, 37: 73-76.

[3] Sayan A E, Rossi M, Melino G, Knight R A. p73: in silico evidence for a putative third promoter region[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2004, 313: 765-770.

[4] Marabese M, Vikhanskaya F, Broggin M. p73: a chiaroscuro gene in cancer[J]. Eur J Cancer, 2007, 43: 1361-1372.

[5] Lau L M, Nugent J K, Zhao X, Irwin M S. HDM2 antagonist Nutlin-3 disrupts p73-HDM2 binding and enhances p73 function[J]. Oncogene, 2008, 27: 997-1003.

[6] Harms K L, Chen X. The C terminus of p53 family proteins is a cell fate determinant[J]. Mol Cell Biol, 2005, 25: 2014-2030.

[7] Oswald C, Stiewe T. In good times and bad: p73 in cancer[J]. Cell Cycle, 2008, 7: 1726-1731.

[8] Ramadan S, Terrinoni A, Catani M V, Sayan A E, Knight R A, Mueller M, et al. p73 induces apoptosis by different mechanisms[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2005, 331: 713-717.

[9] Zheng T, Wang J, Chen X, Meng X, Song X, Lu Z, et al. Disruption of p73-MDM2 binding synergizes with gemcitabine to induce apoptosis in HuCCT1 cholangiocarcinoma cell line with p53 mutation[J]. Tumour Biol, 2010, 31: 287-295.

[10] Yuan Z M, Shioya H, Ishiko T, Sun X, Gu J, Huang Y Y, et al. p73 is regulated by tyrosine kinase c-Abl in the apoptotic response to DNA damage[J]. Nature, 1999, 399: 814-817.

[11] Terrinoni A, Ranalli M, Cadot B, Leta A, Bagetta G, Vousden K H, et al. p73-alpha is capable of inducing Scotin and ER stress[J]. Oncogene, 2004, 23: 3721-3725.

[12] Melino G, Bernassola F, Ranalli M, Yee K, Zong W X, Corazzari M, et al. p73 induces apoptosis via PUMA transactivation and Bax mitochondrial translocation[J]. J Biol Chem, 2004, 279: 8076-8083.

[13] Terrason J, Allart S, Martin H, Lulé J, Haddada H, Caput D, et al. p73-dependent apoptosis through death receptor: impairment by human cytomegalovirus infection[J]. Cancer Res, 2005, 65: 2787-2794.

[14] Maise C, Munarriz E, Barcaroli D, Melino G, De Laurenzi V. DNA damage induces the rapid and selective degradation of the DeltaNp73 isoform, allowing apoptosis to occur[J]. Cell Death Differ, 2004, 11: 685-687.

[15] Cheung A N, Tsun K L, Ng K M, Szeto E, Siu M K, Wong E S, et al. P63A4 and TAp73 immunocytochemistry in liquid-based cervical cytology - potential biomarkers for diagnosis and progress prediction of cervical neoplasia[J]. Mod Pathol, 2010, 23: 559-566.

[16] Liu S S, Chan K Y, Cheung A N, Liao X Y, Leung T W, Ngan H Y. Expression of deltaNp73 and TAp73alpha independently associated with radiosensitivities and prognoses in cervical squamous cell carcinoma[J]. Clin Cancer Res, 2006, 12: 3922-3927.

[17] Wakatsuki M, Ohno T, Iwakawa M, Ishikawa H, Noda S, Ohta T, et al. p73 protein expression correlates with radiation-induced apoptosis in the lack of p53 response to radiation therapy for cervical cancer[J]. Int J Radiat Oncol Biol Phys, 2008, 70: 1189-1194.

[18] Garcia V, Silva J, Dominguez G, Garcia J M, Peña C, Rodriguez R, et al. Overexpression of p16INK4a correlates with high expression of p73 in breast carcinomas[J]. Mutat Res, 2004, 554 (1-2): 215-221.

[19] Li H, Yao L, Ouyang T, Li J, Wang T, Fan Z, et al. Association of p73 G4C14-to-A4T14 (GC/AT) polymorphism with breast cancer survival[J]. Carcinogenesis, 2007, 28: 372-377.

[20] Muscolini M, Cianfrocca R, Sajeve A, Mozzetti S, Ferrandina G, Costanzo A, et al. Trichostatin A up-regulates p73 and induces Bax-dependent apoptosis in cisplatin-resistant ovarian cancer cells[J]. Mol Cancer Ther, 2008, 7: 1410-1419.

[21] Kang S, Wang D J, Li W S, Wang N, Zhou R M, Sun D L, et al. Association of p73 and MDM2 polymorphisms with the risk of epithelial ovarian cancer in Chinese women[J]. Int J Gynecol Cancer, 2009, 19: 572-577.