

简析 p53 基因与肿瘤多药耐药

李无为, 刘克辛*

大连医科大学 药学院, 辽宁 大连 116044

摘要: 在过去的数十年内对 p53 基因及其产物的研究取得了重大进展, 而肿瘤的多药耐药已经成为现今肿瘤治疗的重大障碍。考虑到 p53 基因作为抑癌基因的重要意义, 整理归纳了 p53 及其产物在抑癌方面的主要机制, 肿瘤多药耐药基因之间的相互作用关系以及在神经系统中 p53 基因突变的反常保护机制, 以期为逆转抗肿瘤药的多药耐药提供新思路。

关键词: p53 基因; p53 蛋白; 肿瘤多药耐药; 中枢神经系统 p53 缺失反常保护

中图分类号: R962.2 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-6376 (2018) 06-0958-05

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2018.06.004

A brief analysis of p53 gene and tumor multidrug resistance

LI Wuwei, LIU Kexin

College of Pharmacy, Dalian Medical University, Dalian 116044, China

Abstract: significant progress has been made in the study of p53 gene and its products in the past decades, the multidrug resistance of tumor has become a major obstacle in the treatment of tumor. Considering the significance of p53 gene a tumor suppressor genes, in this article, we sums up the main mechanism of the interaction between tumor multi-resistant genes and p53 with its products, accompanied with p53 gene mutation in the nervous system of abnormal protection mechanism in order to provide new thought of reversing the tumor MDR.

Key words: p53 gene; p53 protein; tumor multidrug resistance; central nervous system p53 loss with abnormal protection

化疗是治疗恶性肿瘤的主要方式之一, 化疗除了伴随着化疗药物本身的副作用外, 还存在着肿瘤细胞对化疗药物产生耐药性的问题, 多药耐药 (multiple drug resistance, MDR) 的产生已经成为当今恶性肿瘤治疗中的重大障碍。当细胞不能对化疗做出反应时, 耐药性便产生了。耐药性即抗药性, 是肿瘤细胞在多次接触治疗药物后出现的对治疗药物敏感性下降, 导致疗效下降甚至无疗效。p53 基因一直是癌症研究的主要焦点, 越来越多的证据表明, p53 能发挥肿瘤抑制作用, 存在 p53 基因的细胞处于缺陷状态时, p53 会发挥对细胞生长周期的能力, 如短暂或永久的细胞周期阻滞或细胞死亡^[1]。

P53 基因编码高表达和广泛修饰的 p53 蛋白, 称之为“转录因子”蛋白。p53 基因在细胞生长周期中发挥了一种类似于遗传过程的“安检”作用,

通过对表观遗传状态的正确维护以及 DNA 的低甲基化来调控胚胎干细胞的更新和分化^[2]。基于 p53 基因的对抗恶性肿瘤的疗法将成为目前规避产生的肿瘤多药耐药的一种新思路。与此同时, 由于中枢神经系统中神经细胞不可再生的特殊性 & 神经功能的重要性和不可替代性, 反向利用 p53 基因的突变来实现对神经系统及其功能的保护是对神经功能减退患者临床治疗的新思路。

1 p53 基因的抑癌作用及作用机制

p53 基因是一种抑癌基因, 定位于人类染色体 17p13.1, 由编码 393 个氨基酸组成 53 kD 的核内磷酸化蛋白, 被称为 p53 蛋白。P53 基因分为野生型与突变型。野生型 p53 基因在细胞生长负调控中起至关重要的作用, 参与调控细胞凋亡, 调控细胞周期, 编码的 P-糖蛋白 (P-gp) 是肿瘤抑制蛋白^[3]。

收稿日期: 2018-04-05

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81473280)

第一作者: 李无为 (1996—), 男, 大连医科大学临床七年制学生。Tel: 18340814009 E-mail: 785374616@qq.com

*通信作者: 刘克辛, 男, 博士, 教授, 博士生导师, 研究方向为药物转运体与药动学。Tel: (0411)86110407 E-mail: liukexin89@163.com

研究显示,在暴露于DNA损伤的药物后,细胞中的p53会过度表达,表明它可能参与促进DNA修复。然而,p53的抗细胞增殖和终止细胞周期的作用可因失去p53等位基因、细胞质的固定位点突变而发生改变或丧失其相关功能。当p53基因丧失其阻止带有受损DNA的细胞进入复制周期的功能后,耐药性便表现出来了,本质上就是p53基因发生了突变^[4]。发生p53基因突变的细胞能够像肿瘤细胞一样在体外无限生长。突变位于染色体17p13.1,超过50%的肿瘤组织中会出现p53基因的突变,意味着p53基因在抑癌方面的重要作用。

在大多数情况下,是发生在编码蛋白质的保守区域的点突变,引起了基因过表达,进而对构象产生了影响。p53基因的突变可以加速细胞的恶性转化,或直接造成其他癌基因的激活^[5]。最近的研究表明,p53的突变可以增加体内和体外培养细胞对电离辐射和其他DNA损伤的药物的抗性;p53基因突变可以引起体内癌细胞对多柔比星和 γ -射线治疗的抗性。p53基因的突变可能与人类肿瘤细胞的多药耐药有关。具体表现为,抗多柔比星的人乳腺癌细胞系MCF-7/Adr对多种化疗药物(如长春新碱、蒽醌、秋水仙碱、紫杉醇、放线菌素D等)具有交叉抗性。P-gp、谷胱甘肽转硫酶(glutathione S-transferase, gst-pi)与谷胱甘肽过氧化物酶(glutathione peroxidase, gst-px)的过表达都可能是造成MCF-7/Adr细胞不同程度的耐药的原因^[6-7]。

最新的研究对确定p53蛋白的改变是否可能是MCF-7/Adr细胞中多药耐药发展的机制之一进行了研究。研究者对经多柔比星治疗后筛选出来的多药耐药的MCF-7/Adr细胞和敏感MCF-7细胞的p53蛋白表达水平、突变状态、稳定性和细胞定位进行了研究,测序结果显示MCF-7细胞在p53 codon 72中具有野生型p53;相比之下,MCF-7/Adr细胞在p53基因的构象域中的4个保守区域中检测到1个21 bp缺失导致的结果直接是对多柔比星耐药性的显著差异。耐药细胞系对多柔比星的耐药浓度是非耐药细胞系的1 000~10 000倍^[8-10]。MCF-7细胞内野生型p53蛋白的半衰期很短(约4 h),而MCF-7/Adr细胞内p53蛋白的半衰期延长(约24 h)。该研究结果显示,p53蛋白构象域的突变增加了其稳定性,延长了突变型p53的半衰期。突变型p53在细胞周期调控中的低活性无异于间接激活了癌基因,加剧了细胞的恶性转化^[11]。bcl-2是一种癌

基因,具有抑制凋亡的作用,MCF-7细胞系相比与MCF-7/Adr细胞中抗凋亡蛋白bcl-2出现低水平,bcl-2蛋白与野生型p53基因蛋白表达上具有负相关性,进而佐证了P53基因对细胞周期的负向调控作用^[12]。

2 通过调节MDR基因及其表达逆转MDR

MDR基因负责编码位于细胞膜上P-170糖蛋白,该种糖蛋白具有药物泵的作用,能够将药物泵出细胞外从而产生耐药。P53蛋白具有调节某些蛋白质转录的作用,野生型的p53与突变型的p53蛋白在MDR-1基因转录的调控中发挥着不同的作用^[13]。突变型的p53蛋白增强了MDR基因启动子的活性,而野生型的p53蛋白对Bel-7402细胞(一种肝癌细胞)的MDR1-P-gp的表达具有明显的抑制作用^[14-15]。p53的突变对难治疗肿瘤的产生,对药物敏感性降低和对体内和体外的DNA损伤药物的耐药性增加有关^[16]。

此外,突变的p53在淋巴细胞性白血病和乳腺癌抗药性研究中都有被发现,尽管占突变型大部分的p53基因特定点突变和这些研究中的抗药性的发展之间没有相关性,但p53基因外显子5中的突变是那些造成对某些药物和紫外线照射产生高抗性等相关突变的原因^[17-18]。在p53基因中,密码子126-133的缺失可能与MDR表型的发展有关,也可能与MCF-7/Adr乳腺癌细胞的耐药程度相关^[19]。突变的p53的产物突变型的P-糖蛋白介导了耐药性或其他耐药性变化,如对gst-pi和gst-px的过度表达;虽然其作用机制仍有待确定,但是有证据表明p53的突变导致了癌细胞对DNA损伤因子诱导的细胞凋亡敏感性降低。MCF-7/Adr细胞对细胞凋亡的高度抗性可能是通过该细胞系中突变的p53进行调控的^[20-21]。所以,p53基因中开始于外显子5的21 bp的缺失影响着多药耐药系列MCF-7/Adr细胞中蛋白质的表达水平,其结构功能稳定以及其细胞定位,这也说明突变的p53基因是细胞系中多药耐药产生与发展的原因之一。

3 中枢神经系统p53缺失的反常保护以及p53与MDR相关蛋白

MDR是一种复杂的现象,其产生机制并非完全由于暴露于化疗药物产生,MDR现象也在一些未接触化疗药物的基底细胞中被观察到。在正常组织中,多药耐药基因MDR1通常在具有屏障作用的细胞中表达^[22]。在对选取的癫痫病人及患癫痫的动物模型的星形胶质细胞进行研究的过程中,发现血脑屏障(blood brain barrier, BBB)内皮细胞、肠和

肾上皮细胞均表达 MDR1^[23]。p53 和 MDR1 的表达在癫痫发作的动物模型中被广泛的研究,发现癫痫发作似乎导致了野生型 p53 的减少^[24]。由于神经元细胞是一类不可再生细胞,所以野生型 p53 的缺失可能是对神经功能的保护。在 MDR1 表达增加的区域观察到野生型 p53 的缺失,一方面失去野生型 p53 可能对神经元有益,胶质细胞将被迫进入一种“带病体”状态,即细胞存活,但却永久“患病”,有缺陷的神经细胞“带病”存活,却能继续行使相应神经功能,神经细胞的细胞凋亡机制不能发挥作用。MDR1 表达增加造成的对细胞凋亡的低敏感性避免了神经元细胞的细胞凋亡,也就保护了神经功能^[25-27]。

对于在 MDR1 基因高表达区域 p53 基因的缺失问题,另一种解释是 MDR1 的表达阻止 p53 的表达,即 p53 的缺失是 MDR1 表达的结果。cDNA 基因阵列分析顽固性癫痫患者的脑 ECs 时,发现 MDR1、多药耐药相关蛋白(MRP2)和肿瘤相关蛋白顺铂耐药蛋白的过度表达。在癫痫动物的大脑中发现了这些与肿瘤细胞的抗药性相关的标志物,不禁引发一个大胆的猜想,即肿瘤发生、MDR 和癫痫之间

存在重叠^[28]。

目前较公认的学说认为,在成熟的哺乳动物大脑中,细胞的增殖和细胞死亡率都很低。细胞内稳态的改变或细胞损伤会引发细胞的一系列变化,或导致细胞分裂,或造成细胞死亡^[25]。无论确切的机制是什么,细胞周期的再进入和细胞凋亡都可以通过 p53 基因的表达联系起来,未能表达 p53 会导致有害的、促癌基因改变^[29]。

矛盾的是,中枢神经系统(CNS)中缺少 p53 可能是一种“神经保护”,在 p53 表达完好的大脑区域,损伤会被触发。P53 产物介导的凋亡信号将导致神经元细胞死亡,反应性胶质细胞增多,最终导致损伤的星形胶质细胞凋亡。神经细胞的重排,以及神经胶质细胞的反应性变化可能导致癫痫发作,而癫痫发作增加了 MDR1 的表达,MDR 的表达影响 p53 基因的表达水平,从而触发对神经细胞的保护机制^[30]。p53 的缺失和突变与 MDR 蛋白水平表达有关,在 CNS 中 p53 基因的缺失对神经细胞的“保护作用”在治疗领域或许存在特殊的价值^[31-32]。神经系统中 p53 反常保护及多药耐药相关机制见图 1。

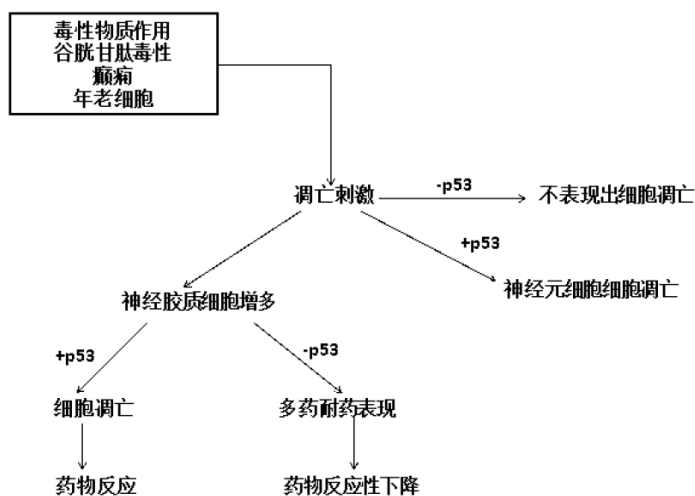


图 1 神经系统中 p53 反常保护及多药耐药相关机制

Fig. 1 Mechanism of p53 abnormal protection and multidrug resistance in nervous system

4 结语

多药耐药的主要机制是 MDR1 基因的过度表达,它编码一种 P-糖蛋白。逆转多药耐药性可以通过抑制 MDR1 基因的表达来实现。许多抗癌药品可以诱导细胞凋亡(程序性细胞死亡),这是一种受基因调控的细胞死亡方式。p53 基因是一种肿瘤抑制基因,可以显著抑制肿瘤增殖和肿瘤的体外生长,

药物诱导的细胞凋亡可能与 p53 基因的状态有关,而 DNA 损伤因子的刺激能够在细胞凋亡过程中提升细胞内 p53 蛋白水平。当基因组 DNA 受损时, p53 基因抑制细胞增殖,给予细胞更多时间修复损伤,如果损伤无法修复, p53 基因则诱导细胞凋亡;当 p53 基因突变时,细胞增殖为 S 期,凋亡就不能触发。

肿瘤细胞内的耐药性是临床肿瘤治疗中常见的事件,肿瘤患者常常对化疗耐药。因此,逆转耐药是肿瘤化疗的关键。细胞凋亡是抑癌基因主要的调控形式之一;许多抗癌药通过诱导细胞凋亡杀死肿瘤细胞。p53 基因是细胞凋亡的重要调控因子,p53 基因的表达状态与化疗药物诱导的细胞凋亡相关。p53 基因发生突变时,肿瘤细胞不易被细胞毒性药物诱发细胞凋亡,而将 p53 基因导入肿瘤细胞,并将 p53 等位基因删除后,细胞凋亡能够在导入细胞中被轻易地诱发,即表现为肿瘤细胞对抗癌药物的耐药性下降。所以,p53 不仅可以抑制肿瘤的生长,而且可以通过调节细胞凋亡来提高药物的敏感性,从而起到降低肿瘤细胞的多药耐药的作用。

参考文献

- [1] Wang J, Hendrix S. Bone marrow stromal cell-driven exosomes as communicators in drug resistance in multiple myeloma cells [J]. Blood, 2014, 124(4): 555-566.
- [2] Chan K T, Lung M L. Mutant p53 expression enhance drug resistance in a hepatocellular carcinoma cell line [J]. Cancer Chemother Pharmacol, 2004, 53(6): 519-526.
- [3] Russell B, Matthew T. A p53-regulated apoptotic gene signature predicts treatment response and outcome in pediatric acute lymphoblastic leukemia [J]. Cancer Manag Res, 2017, 9: 397-410.
- [4] Marroni M, Agrawal L. Relationship between expression of multiple drug resistance proteins and p53 tumor suppressor gene protein in human brain atrocities [J]. Neuroscience, 2003, 121(3): 605-617.
- [5] Miron P, Alina M. Dysfunctional diversity of p53 proteins in adult acute myeloid leukemia. Projections on diagnostic workup and therapy [J]. Blood, 2017, 130(6): 699-712.
- [6] Sylvanie S, Géraldine D. Reactivating p53 and inducing tumor apoptosis is efficient against TP53 abnormal myeloma cells independently of the p53 pathway [J]. BMC Cancer, 2014, 14: 437. doi.org/10.1186/1471-2407-14-437.
- [7] Hua Y, Qin X B. Reversal effects of local anesthetics on P-glycoprotein-mediated cancer multidrug resistance [J]. Anti-Cancer Drugs, 2017, 28(3): 243-249.
- [8] Nino K, Denise T. Pyrazoloacridine is active in multidrug-resistant neuroblastoma cell lines with nonfunctional p53 [J]. Clin Cancer Res, 2003, 9(9): 3492-3502.
- [9] Shin H, Keiko T. Nrf2 promotes mutant K-ras/p53-driven pancreatic carcinogenesis [J]. Carcinogenesis, 2017, 38(6): 661-670.
- [10] Teoh P J, Chng W J. p53 abnormalities and potential therapeutic targeting in multiple myeloma [J]. Biol Med Res Int, 2014, 2014: 717919.
- [11] Dietrich B, Ana-Maria F. Targeting intracellular calcium signaling ($[Ca^{2+}]_i$) to overcome acquired multidrug resistance of cancer cells [J]. A Mini-Overview Cancers, 2017, 9(5): 48.
- [12] Thomas E, Erich G. Identification of gene expression profiles predicting tumor cell response to L-alanosine [J]. Biochem Pharmacol, 2003, 66(4): 613-621.
- [13] Du Y, Chen B A. Detection approaches for multidrug resistance genes of leukemia [J]. Drug Design Develop Ther, 2017, 11: 1255-1261.
- [14] Kim J Y, Lee J Y. Targeting tumor adaption to chronic hypoxia. implications for drug resistance, and how it can be overcome [J]. Mol Sci, 2017, 18(9): 1854.
- [15] Tung M C, Lin P L. Mutant p53 confers chemoresistance in non-small cell lung cancer by upregulating Nrf2 [J]. Oncotarget, 2015, 6(39): 692-705.
- [16] Oleg L, Carol P. p53: master of life, death, and the epigenome [J]. Gen Develop, 2017, 31(10): 955-956.
- [17] Lin T X, Lin Y. p53 switches off pluripotency on differentiation [J]. Stem Cell Res Ther, 2017, 8(1): 44.
- [18] Besim O, Ahmad R S. Expression of the mutated p53 tumor suppressor protein and its molecular and biochemical characterization in multidrug resistant MCF-7/Adr human breast cancer cells [J]. Oncogene, 1997, 14(4): 499-506.
- [19] Yasuyuki N, Hirofumi A. Discovery of Miceap-regulated mitochondrial quality control as a new function of tumor suppressor p53 [J]. Cancer Sci, 2017, 108(5): 809-817.
- [20] Marie K, Fritsche A K. The tumor suppressor p53 in mucosal melanoma of the head and neck [J]. Genes, 2017, 8(12): 384.
- [21] Tsou S H, Hou M H. Gain-of-function p53 mutant with 21-bp deletion confers susceptibility to multidrug resistance in MCF-7 cells [J]. Int J Mol Med, 2016, 37(1): 233-242.
- [22] Annapina R, Assunta S. Role of uL3 in multidrug resistance in p53-mutated lung cancer cells [J]. Mol Sci, 2017, 18(3): 547.
- [23] Kazuhiro K, Hiroyuki T. p53 expression as a diagnostic biomarker in ulcerative colitis-associated cancer [J]. Mol Sci, 2017, 18(6): 1284.
- [24] Koshino A, Goto-Koshino Y. Mutation of p53 gene and its correlation with the clinical outcome in dogs with

- lymphoma [J]. *J Vet Intern Med*, 2016, 30(1): 223-229.
- [25] Walerch D, Lisek K. Proteasome machinery is instrumental in a common gain-of-function program of the p53 missense mutants in cancer [J]. *Nat Cell Biol*, 2016, 18(8): 897-909.
- [26] Flöter J, Kaymak I. Regulation of metabolic activity by p53 [J]. *Metabolites*, 2017, 7(2): 21.
- [27] Danielly C, Ferraz D C, Eliane F. Cancer chemoprevention by resveratrol: the p53 tumor suppressor protein as a promising molecular target [J]. *Molecules*, 2017, 22(6): 1014.
- [28] Ye S N, Shen J. P53 overexpression increases chemosensitivity in multidrug resistant osteosarcoma cell lines [J]. *Cancer Chemother Pharmacol*, 2016, 77(2): 349-356.
- [29] Wang W, Zhang Y. Chromosomal instability and acquired drug resistance in multiple myeloma. *Oncotarget*, 2017, 8(44): 78234-78244.
- [30] Marta P V, Takahashi R. Drug resistance driven by cancer stem cells and their niche [J]. *Mol Sci*, 2017, 12(18): 2574.
- [31] Leanne G A, Ryan B C. Strategies for monitoring and combating resistance to combination kinase inhibitors for cancer therapy [J]. *Ahron Corcor Gen Med*, 2017, 9(1): 37.
- [32] Rani, Sweta. Mesenchymal stem cell-derived extracellular vesicles. Roles in tumor growth, progression, and drug resistance [J]. *Mol Ther*, 2015, 5(23): 812-823.