

·综述·

p73 与淋巴系统恶性肿瘤

殷小成 综述,曹励之 审核

(中南大学湘雅医院儿科,湖南 长沙 410008)

[中图分类号] R733 [文献标识码] A [文章编号] 1008-8830(2001)06-0735-03

癌基因及抑癌基因多以家族的形式存在,如原癌基因 myc 家族包括 C-myc, N-myc 和 L-myc; 抑癌基因 Rb 家族成员除 Rb 蛋白外,还有 p107 和 p130 蛋白, p53 基因是迄今为止发现的与人类肿瘤相关性最高的抑癌基因, p73 基因是 p53 基因家族的一个新成员,所编码的蛋白质无论在结构上还是功能上都与 p53 蛋白相似。随着对 p73 结构、功能、分布和表达情况的深入研究,发现其在肿瘤发生、发展、预后等方面具有一定意义,本文就 p73 基因的研究现状、在淋巴系统恶性肿瘤中的表达及意义作一综述。

1 p73 基因及蛋白结构和功能

1.1 p73 基因的定位

1997 年, Kaghad 小组^[1]在筛选介导胰岛素信号传递的因子时,意外发现了一个假阳性 cDNA 克隆,测序发现与 p53 的大部分保守序列同源,根据此序列编码的多肽的分子量,将其命名为 p73 基因,利用荧光原位杂交技术将 p73 最终定位于人类 1 号染色体 1p36.33。Tso 等^[2]又将其精细定位于 DIS2983,由于该部位是人类多种肿瘤基因经常发生缺失的区域,而被认为可能存在抑癌基因,因此 p73 的发现及定位似乎提示了一个新的抑癌基因的发生。

1.2 p73 蛋白的结构

p73 基因由 13 个外显子及 12 个内含子组成,它编码 73 kda 的蛋白,其序列与 p53 蛋白有高度的同源性^[1,3],在 N 末端的酸性转录活化区(transactivation domain, TAD)、中央的核心 DNA 连接区(DNA-binding core domain, DBD)和寡聚化区(oligomerization domain, OD),两者分别有 29%, 63% 和 38% 的同源序列,转录激活区也有 MDM2 的结合序列,且 p53 的 2

个突变位点在 p73 均完全保守,这些证据提示 p73 与 p53 可能为同一基因的后代。

根据 p73 基因第 10~14 外显子不同的剪接方式,产生不同 mRNA 的转录剪接变体,已知的有 p73 α , p73 β , p73 γ , p73 δ , p73 ϵ 和 p73 ϕ ^[4-6]。Scaruffi 等^[7]发现有别于已知的 p73 mRNA 剪接变体($\alpha \sim \phi$)的尚未确认的变体,并将其暂命名为 p73 η , $\eta 1$ 和 θ , 如图 1 所示。这些多肽分别是由于 p73 基因转录过程中的不同剪接方式造成的。p73 α 含全部 5 个外显子 10~14, 由 636 个氨基酸组成; p73 β 不含外显子 13, 由 499 个氨基酸组成; p73 γ 不含外显子 11, 由 475 个氨基酸组成; p73 δ 不含外显子 11, 12 和 13, 只有 403 个氨基酸; p73 ϵ 不含外显子 11 和 12, p73 ϕ 则不含外显子 11 和 13, 而 p73 η 不含外显子 10, 11, 12 和 13; p73 $\eta 1$ 不含外显子 10, 11 和 12, p73 θ 不含外显子 10, 11 和 13。p73 α 和 p73 β 在人体多种组织中普遍存在, 而 De Laurenzi 等^[8]报道转录剪接变体 γ 和 δ 在人外周血淋巴细胞、初生角化细胞及不同的肿瘤细胞株(包括神经母细胞瘤、黑色素瘤、肝细胞瘤和白血病)中表达。

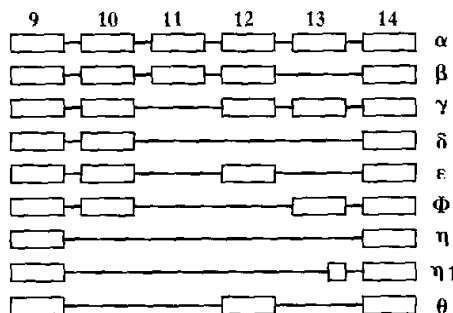


图1 p73 基因的转录剪接变体模式图

1.3 p73 基因的功能及调控

p73 基因所在位置以及 p73 蛋白与 p53 在结构上的相似性,均提示它可能也是一个肿瘤抑制因子,并且可能与 p53 蛋白在功能上有相似性。Jost CA 等^[9]发现,拥有完整的核心 DNA 连接区(DBD)的 p73 基因,其表达产物 p73 蛋白可以抑制正常和转化细胞的生长以及引起细胞凋亡,此类似于 p53 基因功能;由 Gong 等^[10]、Agami 等^[11]及 Yuan 等^[12]三个研究小组研究表明,当顺铂或 γ -射线致 DNA 损伤时,C-Ab1 经 ATM(ataxiatangiectasia-mutated)催化发生磷酸化被激活,参与调控细胞周期 G1/S 过渡点。p73 基因是 C-Ab1 的下游靶效应器,C-Ab1 以它的 SH3(Src-homolog-3)结构域与 p73 羧基端的 PXXP 元件直接作用,两者一同诱导凋亡,即 C-Ab1 激酶活化 p73 蛋白,参与到一定条件下 DNA 损伤所引起的凋亡反应中,p73 能激活部分 p53 的靶基因^[13],p73 激活 14-3-3S 基因的能力是 p53 的 3~6 倍,14-3-3S 基因通过与 cdc25 磷酸酶结合,阻滞 cyclinB-cdc2 活性达到抑制有丝分裂的目的,p73 基因可能通过此途径对细胞周期进行负调控。

2 p73 和淋巴系统恶性肿瘤

肿瘤发生的实质就是细胞生长与凋亡的正常动态平衡状态被打破而致细胞生长过度、凋亡受阻,作为 p53 的家族成员,因而可以肯定 p73 基因在肿瘤发病中占重要地位。

2.1 p73 在急性淋巴细胞白血病中的失活机制

急性淋巴细胞白血病(ALL)是儿童常见的白血病。Corn 等^[14]检测了 35 例原发性 ALL,有 11 例(31%)p73 基因不表达,它们在 p73 基因第一外显子存在高甲基化,高甲基化在 T-ALL 明显高于 B-ALL(62% vs 17%)。RT-PCR 证实 p73 基因高甲基化程度与该基因的 mRNA 转录失活有关,作者认为,p73 基因的高甲基化在 ALL 中是高频率发生事件,通过基因外调节使基因不转录。p73 基因在 ALL 形成中起着抑癌基因作用,p73 基因通过高甲基化而失表达导致淋巴细胞恶性转化。Kawano 等^[15]在 55 株 ALL 和 B-NHL 的细胞系以及 39 例原发性 ALL 和 NHL 的病人标本中,共检测出 32% 的 p73 基因不表达,p73 基因阴性表达的细胞系,在 p73 基因启动子区域存在 CpG 岛的高甲基化。作者认为,p73 基因启动子内 CpG 岛的高甲基化导致 p73 在 ALL 中低水平或阴性表达,后者在 ALL 的

发生及发展中起重要作用。Lin 等^[16]检测了 61 株 ALL 细胞系 p73 基因 mRNA 表达及 p73 基因第 1 外显子的甲基化情况,结果显示,61 株细胞系中有 19 株细胞系(31.1%)既不表达 p73 α ,也不表达 p73 β (称之为 p73 mRNA 阴性表达),包括 11/35(31.4%)前 B-ALL,2/12(16.7%)B-ALL/BL(B 系 ALL 占 27.7%),6/14(42.9%)T-ALL,而正常淋巴细胞 p73 mRNA 皆有表达,通过 RT-PCR,REP 和 MSP 等方法检出缺乏 p73 基因表达的细胞系都存在高甲基化。作者认为,ALL 中 p73 mRNA 存在较高的阴性表达,主要机制为 p73 基因高甲基化。在 p73 基因失表达的 ALL 中,均未检测到 p73 基因突变^[14,15],说明 p73 在 ALL 中发病机制不同于 p53。

2.2 p73 在淋巴瘤中的失活机制

Corn 等检测 10 例 Burkitt's 淋巴瘤,有 30%(3/10)存在 p73 基因的 mRNA 转录失活,RT-PCR 证实 p73 mRNA 失表达与 p73 基因高甲基化有关,Kawano 等也发现在 37.5%(3/8)B-NHL p73 基因低表达的标本中,在 p73 基因启动子区域存在 CpG 岛的高甲基化,这种高甲基化状态与基因不转录明显相关。p73 在 NHL 低水平或阴性表达在淋巴瘤发生、发展中起重要作用。Herranz M 等^[17]等在 γ 射线诱发产生的小鼠 T 细胞淋巴瘤中检测出 32.6%(16/49)的 p73 基因(位于 4 号染色体上)的杂合性缺失(loss of heterozygosity, LOH),作者认为 p73 基因作为抑癌基因,功能失活导致淋巴瘤。

3 p73 研究在淋巴系统恶性肿瘤治疗中的展望

如前所述,p73 低水平或阴性表达在 ALL/淋巴瘤的发生和发展中起重要作用。p73 基因在这些类型淋巴系统肿瘤的形成中起着抑癌基因的作用,p73 基因失活与高甲基化有关,高甲基化抑制基因转录的机理之一可能是通过转录抑制因子如 MeCP-1 与甲基化的 DNA 模板结合,阻止转录因子与 DNA 链结合,从而达到破坏基因转录、使基因失活的目的^[18]。Kawano 等用去甲基化制剂 5-氮杂胞嘧啶(5-AC)处理高甲基化细胞系,p73 基因可重新表达,提示临床可以通过检测 ALL/淋巴瘤 p73 基因失活与高甲基化程度,利用 5-氮杂胞嘧啶(5-AC)等去甲基化制剂调节 p73 基因的表达而达到临床治疗目的。

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

(下转封3)

最典型的靶基因是细胞周期蛋白依赖激酶抑制因子 p21waf-1。ALL 的发生及预后与 p53 功能失活有关^[19,20]。Kaghad 等将 p73 和 p53 转染入细胞比较二者诱导 p21 的能力,发现转染了野生型 p73 的细胞中 p21 的表达水平比转染野生型 p53 的细胞明显要高,提示 p73 能通过 p53 一样的途径抑制细胞生长,说明 p73 能充当转录因子并在协调细胞生长、死亡、分化等途径中发挥作用。Kaelin 小组^[9]在对骨肉瘤细胞 SAOS2 和 BHK(baby hamster kidney)细胞株的研究中发现两种野生型 p73 多肽都能诱导细胞发生细胞凋亡,尤其在 p73 过度表达时,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,所以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的 p53 的功能^[21],即使 p73 并非抑癌基因,但找到一个方法开启 p53 缺失的肿瘤细胞中的 p73 的功能,将使癌症治疗成为可能^[3],这对于与 p53 功能失活相关的 ALL 的发生、预后来有着极其重要意义,即通过 p73 开启、恢复肿瘤细胞中 p53 功能,有望成为 ALL 治疗的新途径。

[参 考 文 献]

- [1] Kaghad M, Bonnet H, Yang A, et al. Monoallelically expressed gene related in neuroblastoma and other human cancers [J]. *Cell*, 1997, 90(22): 809-819.
- [2] Tsao H, Zhang H, Majewski P, et al. Mutational and expression analysis of the p73 gene in melanoma cell lines [J]. *Cancer Res*, 1999, 59(1): 172-174.
- [3] Dickman S. First p53 relative may be a new tumor suppressor [J]. *Science* 1997, 277(5332): 1605-1606.
- [4] Ueda Y, Hijikata M, Takagi S, et al. New p73 variants with altered C-terminal structures have varied transcriptional activities [J]. *Oncogene*, 1999, 18(35): 4993-4998.
- [5] De Laurenzi V, Costanzo A, Barcaroli D, et al. Two new p73 splice variants, gamma and delta, with different transcriptional activity [J]. *J Exp Med*, 1998, 188(9): 1763-1768.
- [6] Zalka AI, Kovalev S, Marchenko ND, et al. Over expression of the wild type p73 gene in breast cancer tissues and cell lines [J]. *Cancer Res*, 1999, 59(1): 3257-3263.
- [7] Scaruffi P, Casciano I, Masiero L, et al. Lack of p73 expression in mature B-ALL and in B cell ALL differentiation [J]. *Leukemia*, 2000, 14(3): 518-519.
- [8] De Laurenzi V, Catani MV, Terrinoni A, et al. Additional complexity in p73 induction by mitogens in lymphoid cells and identification of two new splicing variants ϵ and ζ [J]. *Cell Death Differ*, 1999, 6(5): 389-390.
- [9] Jost CA, Martin MC, Kaelin WG Jr, et al. P73 is a human p53-related protein that can induce apoptosis [J]. *Nature*, 1997, 399(11): 191-194.
- [10] Gong JG, Costanzo A, Yang HO, et al. The tyrosine kinase c-Abl regulates p73 in apoptotic response to cisplatin-induced DNA damage [J]. *Nature*, 1999, 399(24): 806-809.
- [11] Agami R, Blandino G, Oren M, et al. Interaction of c-Abl and p73 α and their collaboration to induce apoptosis [J]. *Nature*, 1999, 399(24): 809-813.
- [12] Yuan ZM, Shioya H, Ishiko T, et al. p73 is regulated by tyrosine kinase in the apoptosis response to DNA damage [J]. *Nature*, 1999, 399(24): 814-817.
- [13] Zhu J, Jiang J, Zhou W, et al. The potential tumor suppressor p73 differentially regulates cellular p53 target genes [J]. *Cancer Res*, 1998, 58(22): 5061-5068.
- [14] Corn PG, Kuerbitz SJ, van Noesel MM, et al. Transcriptional silencing of the p73 gene in acute lymphoblastic leukemia and Burkitt's lymphoma is associated with 5' CpG island methylation [J]. *Cancer Res*, 1999, 59(14): 3352-3356.
- [15] Kawano S, Miller CW, Gombart AF, et al. Loss of p73 gene expression in leukemias/lymphomas due to hypermethylation [J]. *Blood*, 1999, 94(3): 1113-1120.
- [16] Liu M, Taketani T, Li R, et al. Loss of p73 gene expression in lymphoid leukemia cell lines is associated with hypermethylation [J]. *Leuk Res*, 2001, 25(6): 441-447.
- [17] Herranz M, Sarotes J, Salido E, et al. Mouse p73 gene maps to the distal part of chromosome 4 and might be involved in the progression of g-radiation induced T-cell lymphoma [J]. *Cancer Res*, 1999, 59: 2068-2071.
- [18] Singal R, Ginder GD. DNA methylation [J]. *Blood*, 1999, 93(12): 4059-4070.
- [19] Mirkes DI, Kurz BW, Link MP, et al. Altered expression of p53 and mdm-2 protein at diagnosis is associated with early treatment failure in children acute lymphoblastic leukemia [J]. *J Clin Oncol*, 1997, 15(3): 1158-1162.
- [20] Gustafsson B, Stal O, Gustafsson B. Overexpression of MDM2 in acute childhood lymphoblastic leukemia [J]. *Pediatr Hematol Oncol*, 1998, 15(6): 519-526.
- [21] White PS, Maris JM, Beltinger C, et al. A region of consistent deletion in neuroblastoma maps within human chromosome 1p36.2-36.3 [J]. *Proc Natl Acad Sci*, 1995, 92(6): 5520-5524.

(本文编辑:俞燕)