

- 15 Norbury C et al. *Ann Rev Biochem*, 1992;61:441-470
- 16 Knoblich JA et al. *EMBO J*, 1993;12:65-74
- 17 Lock RB et al. *Cancer Res*, 1990;50:3761-3766
- 18 Muschel RJ et al. *Cancer Res*, 1993;53:1128-1135
- 19 Muschel RJ et al. *Radiat Res*, 1992;132:153-157
- 20 Weinert TA et al. *Mol Cell Biol*, 1990;10:6554-6564
- 21 Kharbanda S et al. *Cancer Res*, 1994;54:1412-1414
- 22 O'connor PM et al. *Cell Growth Differ*, 1992;3:43-52

(收稿日期:1994-08-22)

## 抗癌基因 p53与辐射致癌

白求恩医科大学(长春, 130021) 冯彪 田生礼综述 刘 及审校

**摘要:** p53是一种抗癌基因,可能参与细胞生长的负调控,它的失活与肿瘤发生有关。辐射是一种尚缺乏深入了解的致癌因子,它可以引起肿瘤。现将辐射致癌分子机理尤其是与 p53的关系根据文献报道作一简要综述。

**关键词:** p53基因 辐射致癌

继肿瘤抑制基因 Rb 之后,又发现了另一重要的肿瘤抑制基因 p53,其产物为一种 52 581. 3u(53kD)的磷酸化核蛋白,它与多种肿瘤的发生有关。辐射是一种有效的致癌因子,它可使细胞发生转化,形成肿瘤,但至今人们对辐射致癌的分子机制认识的还不够。近年来由于分子生物学的进展,使这一领域进入一个崭新的阶段。特别是有人证实辐射和化学致癌剂等多种因素造成的转化细胞系中存在 p53蛋白或相类似的蛋白,从而使 p53与辐射致癌关系的研究成为当今研究的热点<sup>[1]</sup>。

### 1 p53基因及其产物的一般性质

p53基因最初被认为是一个具有转化活性的癌基因。1979年, Lane 等<sup>[2]</sup>用免疫学方法发现在 SV40转化的 NIH3T3鼠细胞核中存在一种能与 SV40大 T 抗原相互作用的磷

酸化核蛋白,分子量 52 581. 3u(53kD),命名为 p53 蛋白。随后在其它一些由 DNA 和 RNA 肿瘤病毒、辐射和化学致癌剂等多种因素造成的转化细胞系中,也发现了 p53蛋白或相类似的蛋白<sup>[1]</sup>。由于肿瘤病毒 SV40大 T 抗原在维持肿瘤转化表型中具有重要作用,故认为 p53蛋白与 SV40大 T 抗原的结合对于细胞的转化及转化状态的维持同样是非常重要的,因此认为 p53是一种肿瘤抗原。

David 研究证明,在 HL60细胞系中,p53基因失活并伴有 p53表达产物水平减少,甚至缺失,而 c-myc 有增幅,提示 p53基因可能是一个抗癌基因<sup>[3]</sup>。晚近研究证明,起癌基因作用的 p53基因是一种突变型,野生型 p53基因的高度表达能抑制突变型 p53基因与活化的 ras 等基因对细胞的转化作用,因此证明了野生型 p53基因为抗癌基因。

Harlow 等<sup>[4]</sup>的分析表明,p53基因位于

17号染色体短臂13上(17p13.1),全长约20kb,由11个外显子、10个内含子组成,其中第一个外显子为非编码外显子,第二个外显子5'端有28bp的非编码顺序,其后出现第一个翻译起始信号ATG,其第一个内含子长达10kb<sup>[5]</sup>。p53基因5'端未发现有TATA、CAAT结构,但在-252~-259有CTTGCCC顺序,在-265有CCCGCC顺序,与N-ras ECF和TGF- $\beta$ 等基因相类似,这些顺序可能与p53基因的调控有关<sup>[6]</sup>。

p53基因转录的mRNA长度为2.5kb,其5'端有一个高度保守和稳定的发夹结构,其3'端非翻译区有一个Alu顺序。p53基因编码一个由393个氨基酸残基的核磷蛋白<sup>[7]</sup>。该蛋白的一级结构可分为3个不同的区域:①N端酸性区(1~75氨基酸),此区为高电荷区域,含有大量酸性氨基酸残基和个别碱性残基,易形成螺旋结构;②中间疏水区(100~300氨基酸),此区主要为中性氨基酸,它含有3个高度疏水区,分别为进化保守区Ⅰ、Ⅳ和Ⅴ;③C端碱性区(310~390氨基酸),此区中含有 $\alpha$ 螺旋结构,有很强的亲水性质。p53的全面功能尚未确定,但有证据表明它是一个细胞周期相关蛋白,参与细胞增殖的调节<sup>[8]</sup>。野生型p53蛋白的过量表达可以阻断细胞周期的进程,它在S期结束前发挥作用。其机制:①可能是调节DNA复制起始复合物的装配或功能;②可能是转录的反式作用,既能启动也能抑制mRNA合成<sup>[9-11]</sup>。p53基因在多种肿瘤组织中频繁失活,说明它是肿瘤发生过程中的一个环节,但在辐射致癌过程中起什么作用,怎样起作用,尚待研究。

## 2 p53与辐射致癌

体外研究表明,辐射既可诱发点突变,又可诱发染色体易位,由于抑癌基因为辐射直接作用提供的靶(通常 $10^2$ bp到整个染色体)比原癌基因提供的靶( $10\sim 10^4$ bp)大,所以抑癌基因的丢失在辐射致癌中起的作用可能更

大<sup>[12]</sup>。p53这种抑癌基因在辐射过程中的作用还不清楚。Vahakangas等<sup>[13]</sup>对19例铀矿工人肺癌细胞中p53基因5~9外显子用PCR(聚合酶链反应)产物直接DNA测序发现,7例患者p53基因有9处突变(其中包括2例缺失),但在p53基因的编码链上没有发现G:C到T:A的转换,而这种碱基的替换在吸烟导致的肺癌中极其常见,说明辐射致癌有一定特点。

Chandar等<sup>[14]</sup>用骨肉瘤的移植鼠模型研究p53基因的结构和表达时发现鼠肿瘤中p53的重排现象,重排位于第一内含子内,未发现有p53的表达。用p53探针也检测到辐射诱发的肿瘤中同样存在第一内含子中的重排现象,说明了第一内含子的重排在肿瘤抑制基因失活引起的肿瘤中起重要作用。Strauss等<sup>[15]</sup>用辐射诱导鼠骨肉瘤和肿瘤细胞株中,有58%(18/31)的肿瘤和89%(8/9)的肿瘤细胞株发生p53基因改变或p53RNA水平升高。表明p53除调节DNA合成外,可能还与骨肉瘤形成中骨的分化控制有关。另外,p53基因的突变与放射治疗诱发的软组织肉瘤形成有关<sup>[16]</sup>。Brachman在基因及蛋白质水平上对6例辐射诱发的肿瘤中p53基因的变化进行了研究,通过对外显子的PCR扩增及SSCP(单链构象多态性)分析表明:在检测的6例肉瘤中有3例p53基因发生改变。显示p53的失活可能是辐射致癌的重要机制。

p53突变产生的突变型蛋白可能与其致癌性有关。Gjerset等<sup>[17]</sup>报道,在X射线诱发的胸腺淋巴瘤细胞中,其表达的两种特殊形式的p53蛋白稳定性大大增加( $t_{1/2}=1$ 小时),而正常细胞中p53蛋白的半衰期仅为20~30min。p53水平升高,可能与MDM<sub>2</sub>蛋白有关,MDM<sub>2</sub>蛋白可以与p53结合并可抑制其转录活性<sup>[18]</sup>。人成纤维细胞受照后,MDM<sub>2</sub>mRNA在1小时内升高,并可维持8小时,此mRNA不会被蛋白质合成抑制剂所抑制。在毛细血管扩张性共济失调与p53突变(或缺

失)细胞中,DNA损伤后,MDM<sub>2</sub> mRNA不会增加,表明MDM<sub>2</sub>转录在DNA损伤后需要p53存在。业经查明,辐射后可见到p53的特异DNA结合作用,表明击断DNA链可使p53水平增加,从而使细胞进入永久性有丝分裂期<sup>[19]</sup>。

Kastan等<sup>[22]</sup>在研究癌倾向疾病AT(共济失调性毛细血管扩张)和p53功能之间的关系时发现,辐射诱导的G<sub>1</sub>期抑制与p53蛋白水平增加有密切关系。遗传正常但被Epstein-Barr病毒永生化的淋巴母细胞经2Gy辐照1小时后,用<sup>35</sup>S甲硫氨酸标记法和免疫印迹法易检出p53蛋白。与之相对应,AT病人的淋巴母细胞经辐照后,则未发现p53蛋白。在正常人和AT病人二倍体纤维母细胞p53蛋白的诱导实验中也发现辐照后正常细胞p53增加,而AT病人的纤维母细胞则未见增加。在探索辐照后p53诱导其它基因表达时发现,辐照可诱导GADD45基因表达,并且该基因表达依赖野生型p53功能,表明野生型p53基因和GADD基因表达丧失对肿瘤发生起重要作用。

原癌基因的激活和抑癌基因的失活是正常细胞转变成肿瘤细胞的驱动力<sup>[22]</sup>,在人的肺癌和结肠癌细胞中已观察到p53的失活。因此,对肿瘤发生来说,p53失活是致癌因子和潜在性辐射靶。可以预见,通过保护该抗癌基因或使其恢复活性,可防治癌症发生或使已发生的癌症过程得到逆转。

### 3 展望

p53基因作为肿瘤抑制基因在肿瘤分子生物学研究中受到越来越多的重视,它在各种肿瘤中频繁失活表明它是肿瘤发生中基因异常的一个共同靶,在肿瘤发生中起着重要作用。目前它的研究进展虽激动人心,但仍有许多问题尚待解决。如辐照后p53基因是如何失活的?失活后产物即突变型p53蛋白是

通过何种途径引发肿瘤的?p53与特异DNA顺序的结合,可能参与某些抑制细胞生长基因的表达调控,但辐照后这些调控又发生何等变化等等,这些都仍需进一步研究。

### 参 考 文 献

- 1 Koeffler HP et al. Proc Natl Acad Sci USA, 1986;83:4035-4039
- 2 Lane DP et al. Nature,1979;278:261-263
- 3 Wolf D et al. Proc Natl Acad Sci USA,1985;82:790-794
- 4 Harlow E et al. Mol Cell Biol,1985;5:1601-1610
- 5 Lamb P et al. Mol Cell Biol,1986;6:1379-1385
- 6 Tadmor BB et al. EMBO J,1985;4:3209-3214
- 7 Lane DP et al. Genes Dev,1990;4:1-8
- 8 Cheng J et al. Mol Cell Biol,1990;10:5502-5509
- 9 Gennon JV et al. Nature,1987;329:456-458
- 10 Braithwaite AW et al. Nature,1987;329:458-460
- 11 Kern SE et al. Oncogene,1991;6:131-136
- 12 Sankaranarayank et al. Mutat Res,1991;258:75-83
- 13 Vahakangas KH et al. Lancet,1992;339:576-580
- 14 Chandar N et al. Br J Cancer,1992;65:208-214
- 15 Strauss PG et al. Int J Cancer,1992;50:252-258
- 16 Brachman DG et al. Cancer Res,1991;51:6393-6396
- 17 Gjerset RA et al. Mol Carcinog,1992;5:190-198
- 18 Price BD et al. Cancer Res,1994;54:896-899
- 19 Tishler RR et al. Cancer Res,1993;53:2212-2216
- 20 Katotan MB et al. Cell,1992;71:587-597
- 21 Anderson MW et al. Environ Health Perspect, 1992;98:13-24

(收稿日期:1994-08-22)