亮点

乙酰化修饰对 p53 功能调控的新机制

朱卫国^{①②}^① 北京大学医学部基础医学院生物化学与分子生物学系, 北京 100191;^② 深圳大学医学部, 深圳 518060

E-mail: zhuweiguobjmu.edu.cn

收稿日期: 2016-10-12; 接受日期: 2016-10-30; 网络版发表日期: 2016-12-05

肿瘤抑制蛋白 p53 被称为“基因组卫士”, 其参与调控正常生理状态下细胞内环境稳态的维持, 并在细胞受到内外刺激因素作用时发挥抵抗肿瘤形成的重要功能. 正是因为 p53 功能的重要性, 所以对 p53 适时、适度的调控是确保其正常行使功能的必要条件. 研究发现, 对 p53 的调控主要发生在翻译后修饰水平, 主要包括对 p53 的乙酰化修饰、磷酸化修饰和泛素化修饰等^[1]. 其中, p53 的乙酰化修饰多年来备受关注, 尤其是 p53 羧基末端的乙酰化修饰. 事实上, p53 是第一个被发现的受到乙酰化/去乙酰化修饰调控的非组蛋白, 而其羧基末端的多个赖氨酸正是乙酰化修饰调控的主要靶点^[2-4]. 虽然多年来许多研究都证明 p53 羧基末端的乙酰化修饰对 p53 功能起多方面的调控作用, 但是对具体机制的认识仍然不十分清楚.

最近 Wang 等人发表在 *Nature* 杂志上的研究揭示了一种乙酰化调控 p53 转录活性的新机制^[5]. 研究人员通过对蛋白质组的筛选并结合质谱分析技术, 鉴定出一个名为 SET 的促癌蛋白, 其作为一个主要的蛋白因子特异性地与羧基末端非乙酰化状态的 p53 相互作用. 当 p53 羧基末端完全乙酰化时, 这种相互作用则完全消失. 更为重要的是, p53 羧基末端的赖氨酸残基可以发生多种修饰, 如甲基化、泛素化和类泛素化; 然而上述修饰并不能影响 p53 和 SET 的相互

作用, 说明了乙酰化修饰对 p53-SET 相互作用调控的特异性. 研究表明 Bromo 结构域能特异性地识别乙酰化的赖氨酸. 然而令人惊讶的是, 研究人员在其实验过程中并没有发现任何含有 Bromo 结构域的蛋白特异性地与完全乙酰化的 p53 羧基末端相互作用. 这种差异可能与使用的实验体系不同有关, 也反映了细胞内环境下的蛋白相互作用与体外环境下的蛋白相互作用存在差异.

在功能上, SET 作为 p53 的转录共抑制因子, 通过抑制乙酰基转移酶 p300 和 CBP 对 p53 靶基因启动子区组蛋白 H3 第 18 位和 27 位赖氨酸的乙酰化修饰来下调 p53 的转录活性. 为了在更为接近生理状态条件下研究 SET 对 p53 功能的影响, 研究人员通过小干扰 RNA 降低 SET 在一系列 p53 野生型的肿瘤细胞系中的表达, 并据此发现下调细胞中的 SET 能显著提高 p53 下游靶蛋白, 如 p21(cyclin-dependent kinase inhibitor 1, CDKN1A) 和 PUMA(Bcl-2-binding component 3, BBC3) 的表达水平. 这种调控作用依赖于 p53 的存在, 因为在 p53 缺失的细胞系中, 下调 SET 不能增加 p53 靶蛋白的表达水平. 进一步研究发现, 在存在野生型 p53 的肿瘤细胞中稳定敲减 SET 的表达, 能显著抑制该细胞在免疫缺陷小鼠皮下的成瘤能力, 而在 p53 缺失的细胞中, 则观察不到这种效应, 说明 p53 与 SET 的相互作用对调控 p53 抑制肿瘤

引用格式: 朱卫国. 乙酰化修饰对 p53 功能调控的新机制. 中国科学: 生命科学, 2016, 46: 1446-1448, doi: 10.1360/N052016-00322

英文版见: Zhu W G. Regulation of p53 acetylation. Sci China life Sci, 2016, in press, doi: 10.1007/s11427-016-0353-0

发生的功能起重要作用. 为了更充分证明这一观点, 研究人员建立了条件性 SET 基因敲除的小鼠模型. 与设想一致的是, 纯合性 SET 基因敲除的小鼠表现出胚胎期死亡的特征, 这很可能是由于在纯合性 SET 基因敲除的小鼠胚胎中 p53 被激活. 事实上, 在纯合性 SET 基因敲除的小鼠胚胎或小鼠胚胎纤维细胞中 p53 的下游靶基因/蛋白 p21 和 PUMA 的表达显著升高, 充分证明了在正常体内生理条件下 SET 对 p53 的负性调控作用. 虽然对 SET 基因敲除的小鼠模型的分析还没有完成, 但是在未来的研究中值得探讨这种 SET 基因敲除致小鼠胚胎死亡的表型能否被 p53 基因敲除所逆转. 这将为我们的进一步理解 p53 和 SET 在功能上的相互关系提供裨益.

在 DNA 损伤应答过程中, p53 的乙酰化水平与 p53 的活性呈正相关. 研究人员发现, 应用诱导 DNA 损伤的化学试剂处理细胞显著上调 p53 羧基末端乙酰化水平, 在此条件下观察到内源性 p53 与 SET 的相互作用明显减少. 同时, 在相同条件下, 应用染色质免疫沉淀实验发现, 尽管此时 p53 在其靶基因启动子区的富集程度明显增加, 但是 SET 在染色质上的结合却显著减少. 基于对 SET 负性调控 p53 转录活性以及 p53 羧基末端乙酰化破坏 p53-SET 相互作用的观察, 研究人员提出了一个新的乙酰化调控 p53 转录活性的机制: 在非应激情况下, SET 与 p53 相互作用, 抑制其转录活性使其保持在一个较低的水平, 这时的 p53 相当于处在一种“潜伏”的状态, 可以随时响应应激信号被迅速激活; 当细胞受到刺激时, p53 羧基末端的乙酰化水平大幅升高, 致使 p53 失去与 SET 的相互作用, 解除了 SET 对其转录活性的抑制作用, 最终使 p53 得以激活. 与以往 p53 激活过程中的“转录共激活因子招募”模式不同, Wang 等人研究提出了一个在 p53 转录激活过程中羧基末端乙酰化修饰介导的“去抑制”模型.

生物化学分析发现, SET 的酸性结构域与 p53 的羧基末端直接结合. 通过对这两个区域氨基酸组成的分析, 研究者发现 p53 羧基末端含有多个密集分布的赖氨酸, 整个区域呈正电性; 而 SET 的酸性结构域由于富含大量酸性氨基酸而呈高度负电性. 因此研究人员推测 p53 与 SET 之间的相互作用是通过两个结构域之间的电荷作用介导的. 当 p53 羧基末端被乙酰化后, 原有的正电荷被中和, 导致两个结构域之间

的电荷作用消失, 并最终导致两个蛋白的解离. 与这个假说相一致的是, p53 羧基末端赖氨酸的甲基化修饰不能改变其赖氨酸的电荷性质, 因此甲基化修饰对 p53-SET 的相互作用没有影响. 由于蛋白质的乙酰化修饰广泛存在, 研究人员接下来探讨这种乙酰化修饰依赖的对蛋白-蛋白相互作用的调控机制是否广泛存在. 研究人员发现另外三个含有与 SET 相似的酸性结构域的蛋白(VPRBP, DAXX, PELP1). 它们的酸性结构域也可以与 p53 的羧基末端相互作用, 而且羧基末端的乙酰化修饰会完全破坏这些蛋白与 p53 的结合. 另一方面, 研究人员还发现三个与 SET 酸性结构域结合的蛋白(组蛋白 H3, KU70, FOXO1). 有意思的是, 这三个蛋白结构上与 SET 结合的区域全都属于赖氨酸富集区, 并且有报道指出这些赖氨酸在细胞内存在乙酰化修饰. 与 p53-SET 的作用方式类似, 这三个蛋白的赖氨酸富集区全部与 SET 的酸性结构域相互作用; 当这些赖氨酸乙酰化后, 其与 SET 的相互作用消失. 基于这些发现, 研究人员拓展了他们的结论, 提出酸性结构域可作为一类“阅读者”, 特异性地“阅读”其非乙酰化状态的配体中存在的信息. 事实上, 生物信息学的研究已经发现, 人类蛋白质组中存在大量含有酸性结构域或赖氨酸富集区的蛋白, 它们作为潜在的“阅读者”和“被阅读者”. 功能上, 这些蛋白大多与转录调控和染色质重塑相关, 提示这类潜在的可被乙酰化修饰调控的蛋白-蛋白相互作用在调节基因表达方面起重要作用.

鉴于体外实验和细胞学实验观察到 p53 羧基末端的乙酰化修饰破坏 p53 与含有酸性结构域的蛋白因子的相互作用, 研究人员希望从正常生理的角度观察这一类相互作用丢失的意义, 因此构建了 $p53^{KQ/KQ}$ 基因敲入的小鼠模型. $p53^{KQ}$ 是一种 p53 突变体, 用以模拟羧基末端乙酰化状态的 p53. 纯合性 $p53^{KQ/KQ}$ 小鼠表现出出生后死亡的表型, 在其多个组织中发现 p53 呈过度活化的状态. 另外, 来源于 $p53^{KQ/KQ}$ 小鼠的胚胎纤维细胞表现出明显的细胞增殖障碍以及细胞衰老的特征. 更重要的是, 在这些小鼠胚胎纤维细胞中, $p53^{KQ}$ 蛋白不能与上述提及的含有酸性结构域的蛋白因子相互作用, 进一步证明 $p53^{KQ}$ 具有与羧基末端乙酰化 p53 相似的性质. 基于体内和体外的实验, 研究人员推测, 这种 p53 与含有酸性结构域的蛋白因子之间相互作用的消失, 可能是

$p53^{KQ/KQ}$ 小鼠呈现出 p53 过度活化表型的原因之一. 值得注意的是, 与早先的 $p53^{KR/KR}$ 小鼠模型相比较, $p53^{KQ/KQ}$ 特异性地指出了是乙酰化修饰而非其它修饰的作用, 使得 p53 呈过度活化的状态. 实际上, $p53^{KR/KR}$ 小鼠模拟了一种“功能丧失”的模型, 因为赖氨酸突变为精氨酸(K 变成 R)导致了所有可能发生在赖氨酸上的修饰的丧失, 而精氨酸本身则代表“非修饰”状态. 相应地, $p53^{KR/KR}$ 小鼠微弱的表型变化反应了所有修饰丧失后的一种综合的效果. 相反, 赖氨酸突变为谷氨酰胺(K 变成 Q)后专一地模拟了乙酰化修饰, 因此 $p53^{KQ/KQ}$ 小鼠模型揭示了 p53 羧基末端乙酰化修饰在体内的真正作用.

流行病学研究表明, 超过 50% 的人类肿瘤存在 p53 突变, 这表明大多数肿瘤在发生过程中不能耐受功能性 p53 的存在. 然而, 仍有一类肿瘤其保有野生型但处于低活性或无活性状态下的 p53. 因此, 激活这类肿瘤中野生型 p53 的活性就成了杀死这类肿瘤的一个可行的策略. 目前, 已经有多个针对促癌蛋白 SET 的化合物被开发出来, 但目前还不清楚这些化合物是否能通过靶向失活 SET 来激活 p53. 通过对 SET 调控 p53 机制的认识以及乙酰化对 p53-SET 相互作用调控的认识, 在未来精准医学的应用中, SET 抑制剂和去乙酰基酶抑制剂的联合应用可能发展为针对特定类型肿瘤一种潜在治疗手段.

参考文献

- 1 Kruse J P and Gu W. Modes of p53 regulation. *Cell*, 2009, 137: 609–622
- 2 Gu W and Roeder R G. Activation of p53 sequence-specific DNA binding by acetylation of the p53 C-terminal domain. *Cell*, 1997, 90: 595–606
- 3 Vaziri H, Dessain S K, Ng Eaton E, et al. hSIR2(SIRT1) functions as an NAD-dependent p53 deacetylase. *Cell*, 2001, 107: 149–159
- 4 Luo J, Nikolaev A Y, Imai S, et al. Negative control of p53 by Sir2alpha promotes cell survival under stress. *Cell*, 2001, 107: 137–148
- 5 Wang D, Kon N, Lasso G, et al. Acetylation-regulated interaction between p53 and SET reveals a widespread regulatory mode. *Nature*, 2016, 538: 118–122