p53 磷酸化修饰及其功能研究进展

胡汪来^{①*}, 吴缅^{②*}

① 安徽医科大学基础医学院免疫学系, 合肥 230032;

② 中国科学技术大学生命科学学院, 中国科学院天然免疫与慢性疾病重点实验室, 细胞信号网络协同创新中心, 合肥 230027

* 联系人, E-mail: wanglaihu@ahmu.edu.cn; wumian@ustc.edu.cn

收稿日期: 2015-04-26; 接受日期: 2015-05-22; 网络版发表日期: 2015-11-02

安徽省自然科学基金(批准号: 1508085QH181)和国家自然科学基金(批准号: 81430065)资助

doi: 10.1360/N052015-00070

摘要 p53 蛋白被认为是迄今为止最著名的肿瘤抑制因子之一, 在肿瘤发生发展过程中发挥复杂而重要的调控作用. 在正常生理情况下, 细胞内的 p53 维持在很低的水平, 当细胞受到多种刺激后, p53 被翻译后修饰, 蛋白因稳定而活性被激活, 参与细胞周期阻滞、细胞凋亡、细胞衰老、细胞代谢等生命活动过程. p53 翻译后修饰的类型很多, 本文重点就磷酸化修饰对 p53 功能及其在细胞生命活动过程中的作用予以探讨, 以期对 p53 本身的修饰研究及其在肿瘤等疾病治疗中的作用提供参考.

关键词

p53

p53 磷酸化修饰

p53 去磷酸化修饰

Lane 等人于 1979 年在被病毒 simian virus 40 (SV40)感染的小鼠(*Mus musculus*)胚胎成纤维细胞 NIH3T3 细胞核中发现一种蛋白质分子可以与 SV40-LT(simian virus 40 large T)抗原结合, 因为该蛋白分子在十二烷基磺酸钠 (sodium dodecyl sulfate, SDS)凝胶电泳中观测到的分子量约为 53 KD, 由此被命名为 p53. 后经过数十年的研究, p53 被确认是与细胞凋亡紧密相关的肿瘤抑制因子^[1,2]. 在正常情况下, 细胞内 p53 蛋白水平很低, 当细胞遭遇不利信号刺激(原癌基因的激活、DNA 损伤、缺氧等)时, p53 的蛋白稳定性及活性均得到增强, p53 被激活, 活化后的 p53 进入细胞核内, 作为转录因子调控一系列下游靶基因的表达, 启动细胞内的相关信号转导途径, 在细胞周期阻滞、细胞衰老、DNA 损伤修复和细胞凋亡等生命活动过程中发挥“分子警察”的作用. 当 DNA 被轻度损伤时, 野生型 p53 通过调控细胞周期中 G1 期的生长限制性位点, 阻滞细胞从 G1 期向 S

期转变, 使轻度损伤的 DNA 得到修复; 当 DNA 损伤程度达到严重至无法修复时, 则启动细胞凋亡程序, 防止将无法修复的突变 DNA 通过细胞分裂带到下一代. 越来越多的研究证实, p53 在细胞遇到不同的刺激时表现出不同的功能, 而 p53 之所以能够呈现功能的多样化, 是因为 p53 受到多种类型翻译后修饰的精细调节. p53 蛋白的翻译后修饰是调控 p53 应对多种不同信号刺激做出不同应答的重要机制. p53 蛋白的翻译后修饰包括磷酸化(phosphorylation)、泛素化(ubiquitination)、乙酰化(acetylation)、甲基化(methylation)等. 本文重点讨论磷酸化修饰对 p53 蛋白作用和功能的调控以及对细胞命运的影响.

1 p53 的结构和功能

人源 p53 基因位于染色体 17p13.1, 编码基因包括 10 个内含子和 11 个外显子. 野生型 p53 蛋白由 393

引用格式: 胡汪来, 吴缅. p53 磷酸化修饰及其功能研究进展. 中国科学: 生命科学, 2015, 45: 1093–1100

Hu W L, Wu M. Progress in p53 phosphorylation and function. SCIENTIA SINICA Vitae, 2015, 45: 1093–1100, doi: 10.1360/N052015-00070

个氨基酸组成, 包含多个功能结构域: 位于 N 端的转录激活结构域(transactivation domain, TAD); 位于序列中端的 DNA 结合结构域(DNA binding domain, DBD); 位于 p53 序列 C 端的主要是四聚化功能结构域(tetramerization domain)、p53 出核和核定位的相关信号序列(nuclear localization signal, NLS 以及 nuclear export signal, NES)和一个 C 端功能调控结构域(C-terminal domain)^[3].

X 衍射晶体学研究表明, 天然 p53 蛋白在细胞中以四聚体形式存在. 在 p53 蛋白的三级结构中含有 2 个 β 螺旋、10 个 α 折叠和 3 个环, 因此两个 p53 蛋白单体之间就会通过反向 β 螺旋和反向 α 折叠相互作用形成二聚体, 两个二聚体之间再借助于平行的螺旋-螺旋接触面形成四聚体结构^[4]. 近年来, 有报道称 p53 在核中主要以四聚体存在, 四聚体形式的 p53 能与特定 DNA 序列发生特异性结合, 并具备转录因子的功能; 在细胞质, p53 往往以单聚体形式存在, Jiang 等人^[5]首次阐明单体形式的 p53 在调控磷酸戊糖途径(pentose phosphate pathway, PPP)中发挥重要作用. 证实 p53 可以与磷酸戊糖途径上第一步反应的关键酶葡萄糖-6-磷酸脱氢酶(glucose-6-phosphate dehydrogenase, G6PD)相结合并且抑制它的活性. 在正常情况下, p53 通过抑制 G6PD 阻止 PPP 这一途径的进行, 细胞中的葡萄糖因此被主要用于进行酵解和三羧酸循环; 但在 p53 发生突变或缺失的肿瘤细胞中, 突变 p53 失去与 G6PD 结合的能力和对 G6PD 的抑制, 磷酸戊糖途径因此快速进行, 葡萄糖因此被大量消耗. 该研究成果部分解释了 19 世纪 20 年代末提出的

Warburg 现象(Warburg effect). 另外, PPP 的加速会产生大量 DNA 的组分原料戊糖及还原产物 NADPH, 能满足肿瘤细胞快速生长和抗 ROS 的能力.

p53 的生物学功能主要反映在对外界刺激的应答. 它通过转录调控下游众多的靶基因来实现其功能, 从而使机体对相应的刺激做出适当的反应. p53 介导的相关信号通路在调节细胞正常生命活动中起重要作用, 它与其他信号转导通路间的联系十分复杂. p53 及其调控的各个基因之间的关联组成了 p53 功能的网络, 它们相互联系共同决定细胞的命运. 防止出现细胞组织不正常生长、DNA 复制错误等导致肿瘤发生的情况. 活化的 p53 通过促进细胞周期阻滞、调节细胞自噬和细胞衰老、帮助 DNA 修复、促进细胞代谢及细胞凋亡来抑制细胞向恶性肿瘤的转化^[6,7].

2 p53 中不同位点磷酸化的生物学功能

磷酸化修饰是将磷酸基团加到蛋白质中某个氨基酸残基的侧链羟基上的过程, 是一种重要的翻译后修饰方式, 多见于丝氨酸、苏氨酸残基. 细胞生命活动过程中许多重要的蛋白发挥功能依赖磷酸化修饰作用, 各种磷酸酶和磷酸激酶参与其调控过程. p53 蛋白的磷酸化修饰作用可以发生在 p53 蛋白许多氨基酸残基上, 整个 p53 含有 38 个丝氨酸残基和 22 个苏氨酸残基, 但是常见的磷酸化位点包括 N 端的 Ser6, 9, 15, 20, 33, 37, 46 位以及 Thr18, 55, 81 位, DNA 结合结构域的 Ser149, 166 位以及 Thr150, 155 位, C 端结构域的 Ser315, 376, 378, 392 位(图 1). 这些

图 1 p53 蛋白常见的磷酸化位点

不同位点的磷酸化修饰分别由一系列激酶介导, 包括: ATM/ATR(ataxia telangiectasia mutated protein kinase/ATM and rad3 related protein kinase), ChK1/ChK2(checkpoint kinase 1/2), DNA-PK(DNA-dependent protein kinase), P38(P38 mitogen-activated protein kinase), HIPK2(homeodomain interacting protein kinase 2), JNK(c-jun N-terminal kinase), CK1(casein kinase 1)等^[8].

对于 p53 的磷酸化修饰的研究最早开始于 p53 N 端的转录激活结构域, 研究表明, p53 N 端区域的磷酸化修饰多与 DNA 损伤反应相关. 细胞在生理情况下, 泛素连接酶 MDM2(murine double minute 2)结合 p53 并介导 p53 通过泛素化途径的降解, 维持细胞中 p53 处于一个很低的水平. 在细胞遭受到引起 DNA 损伤的刺激时, p53 蛋白的 N 端区域有多个位点可以被磷酸化修饰. N 端的 Ser15, Ser20 位点磷酸化是最早被确定的 p53 翻译后修饰, p53 N 端的 Ser15, Ser20 位(小鼠中为 Ser18, Ser23 位)被磷酸化后通过抑制 p53 与 MDM2 的相互作用, 阻止了 MDM2 对 p53 的降解. 从而增强了 p53 的稳定性, p53 因此被激活, 通过转录调控一系列靶基因来决定细胞命运的走向^[9~11]. Chehad 等人^[12]发现, 当细胞受到电离辐射或紫外照射时, 蛋白激酶 ChK2 可以引起 p53 N 端的磷酸化修饰, 使 MDM2 无法降解 p53, 引起 p53 在细胞内积聚而增强其转录表达下游靶基因的能力. 但是 Stephen, Tyler 等人通过 knock-in 的方法将小鼠体内 Ser18, Ser23 位丝氨酸突变, 发现来自野生型和突变 p53 小鼠的胸腺细胞、脾细胞和成纤维细胞在 γ 射线刺激情况下 p53 的稳定效果基本相同, 于是有学者对 p53 N 端 Ser15, Ser20(小鼠 Ser18, Ser23 位)磷酸化修饰阻断 p53-MDM2 的相互作用, 从而影响 p53 泛素化修饰而使 p53 得到稳定的观点产生怀疑. 体内与体外不同的实验结果表明, 在特定情况下, p53 Ser15, Ser20 位(小鼠 Ser18, Ser23 位)磷酸化修饰在一定程度上是可以增加 p53 稳定性, 但是对于体内 p53 稳定性的调控可能存在一个更为复杂而精细的作用网络, 而不是单靠磷酸化修饰就可以完成的. 但是 p53 Ser15, Ser20 位(小鼠 Ser18, Ser23 位)磷酸化修饰可以增强 p53 转录活性的作用是确定的, 这一结论通过 p53 Ser18/Ser23 双突变(S18V23A)的小鼠实验可以得到验证; 采用电离辐射方法诱导 p53 依赖的细胞凋亡, 发现 S18V23A 双突变的小鼠胸腺细胞较野生型或

单个位点突变的(S18A 或 S23A)p53 依赖的凋亡程度会明显降低^[13~15].

在缺氧等不利信号刺激下 p53 N 端 Ser6, Ser9 位点会在 CK1 等酪蛋白激酶的作用下被磷酸化, 以此来调控 p53 的活性. 最近有研究证实在某些情况下, 受体酪氨酸激酶(receptor tyrosine kinases, RTK)通过激活 Ras/ MAPK(rat sarcoma viral oncogene/mitogen-activated protein kinase)级联酶促反应, 引起 p53 N 端的 Ser6 和 Ser9 位磷酸化. 另外, Cordenonsi 等人^[16]的研究也发现在胚胎发育和生物体内环境稳态维持过程中, p53 N 端 Ser6, Ser9 位的磷酸化可以促进 p53 与受 TGF- β (transforming growth factor β)通路调控的 Smad 蛋白相互结合, 特异性地调控非洲爪蟾(*Xenopus laevis*)胚胎中胚层的发育进程. 通过 p53 的磷酸化修饰作用将 RAS/RTK/ MAPK(rat sarcoma viral oncogene/receptor tyrosine kinase/mitogen-activated protein kinase)信号通路与 TGF- β 通路相互关联, 共同调节胚胎发育以及肿瘤发生过程中相关基因的表达.

此外, p53 N 端 Ser33, Ser46 位的磷酸化修饰也促进 p53 作为转录因子发挥作用, Zhang 等人^[17]和 Lambert 等人^[18]研究发现蛋白激酶 CDK5(cyclin-dependent kinase 5), CDK9 可以通过磷酸化 p53 Ser33 位来激活 p53, 同时增强其与 CREB(cAMP-response element binding protein)结合蛋白 CBP(CREB binding protein)的结合能力, 从而增强 p53 的转录活性, 上调其靶基因 *Bax*, *p21* 的表达. Taira 等人^[19]和 Kawasumi 等人^[20]研究发现, DYRK2(dual-specificity tyrosine phosphorylation regulated kinase 2)在 DNA 损伤情况下直接进入细胞核, 介导 p53 Ser46 位磷酸化, p53 Ser46 位磷酸化后获得转录活性, 靶向调控 p53AIP1(p53 regulated apoptosis inducing protein 1), p53AIP1 通过促进线粒体细胞色素 C 的释放而引起细胞凋亡. DYRK2 在 ATM 的下游发挥对 p53 磷酸化作用. DNA 损伤时, 在 p53DINP1(p53-dependent damage inducible nuclear protein 1)募集作用下, 蛋白激酶 C(protein kinase C, PKC)也可以磷酸化 p53 Ser46 位, 促进 p53 转录调控 p53AIP1, 诱导细胞凋亡^[21,22].

目前关于 p53 N 端的磷酸化修饰研究已经在体外实验、组织培养、动物敲入实验中得到广泛证实. 磷酸化修饰在细胞受到刺激后立即发生, p53 随即被

稳定并活化,但是仍然不清楚的是 p53 的 N 端磷酸化修饰应该达到何种程度才能影响其与 MDM2(murine double minute 2)结合。

p53 DNA 结合结构域目前发现的磷酸化位点较少,常见的有 Ser149, Thr150, 155 等,但是 p53 的 DNA 结合结构域是很多蛋白激酶的停泊位点, Craig 等人^[23]和 Waterman 等人^[24]发现钙调蛋白激酶超家族,包括: ChK1\ChK2, DAPK-1 可以停泊于 p53 的 DNA 结合结构域,促进 p53 Ser20 位点的磷酸化。

p53 C 端的磷酸化修饰的重要作用在于使 p53 蛋白 C 端构象发生改变,将 p53 从无活性的形式转变为具备 DNA 结合能力的活性形式。p53 可以结合 CK2(casein kinase 2)亚单位,CK2 可磷酸化 p53 C 端的 Ser392,使 p53 只能特异性结合含有特定结合序列的 DNA; PKC 可以响应多种应激信号而磷酸化 p53 Ser371 和 Ser376^[25]。另外, p53 Ser315 的磷酸化也可以增强 p53 的转录活性,研究证实 CDK5 和 CDK9 都可以磷酸化 Ser315^[26,27]。p53 Ser315 位的磷酸化还能调控 p53 抑制 Nanog 的能力, Nanog 主要通过招募下游的转录调节因子和共抑制因子参与干细胞的自我更新过程,将小鼠 p53 Ser315 突变后,突变 p53 失去对于 Nanog 的抑制能力^[28]。

通过对 p53 不同位点的磷酸化修饰分析发现,在不同刺激情况下 p53 的同一位点氨基酸可以被不同的激酶磷酸化,磷酸化修饰的位点也会因细胞受到不同刺激而不同,例如,紫外线照射可以引发 p53 Ser37, Ser46 高水平磷酸化,电离辐射对于 p53 Ser37, Ser46 磷酸化修饰影响却很弱^[29,30]。尽管如此,有些位点的磷酸化修饰只对应单一的蛋白激酶,如 p53Ser6, Ser9, Thr18 只能被 CK1 磷酸化, Thr81 只会被 JNK 磷酸化^[31,32]。磷酸化修饰作用发生的快慢也和刺激条件紧密相关,电离辐射会使得 p53 N 端 Ser6, Ser9, Ser15 位点在 0.5 h 左右就高度磷酸化,而紫外照射引发的磷酸化修饰却需要一个较长的时间^[31]。

3 p53 特定位点的去磷酸化作用

p53 蛋白磷酸化修饰作用不一定是发生在细胞受到刺激的情况下,一些位点,如 Thr55, Ser376, Ser378 在生理情况下就会处于磷酸化修饰状态。

Thr55 位的磷酸化修饰在生理情况下就可以发生^[33], Thr55 的磷酸化对于在正常情况下细胞内促进 p53 降解,使 p53 维持在较低水平至关重要。TAF1(TBP-associated factor 1)通过与 Thr55 位磷酸化的 p53 结合,从而诱导细胞在 G1 期阻滞;当将 Thr55 突变为 Gly(T55A)后, p53 稳定性增加, TAF1 诱导细胞周期 G1 阻滞的能力也明显减弱。在细胞受到 DNA 损伤刺激时, Thr55 位磷酸化水平降低, p53 被稳定^[34]。Li 等人^[35]的工作证明了这一结论,他们发现,在细胞受到 DNA 损伤刺激时,蛋白磷酸酶 2A(protein phosphatase 2, PP2A)表达增加,其中两个亚单位 PP2A B56γ1 和 B56γ3 能特异性地介导 p53 Thr55 位去磷酸化,从而稳定 p53。采用 RNA 干扰的方法抑制 PP2A B56γ1 和 B56γ3 的表达, DNA 损伤诱导的 p53 激活以及后续的 BAX 表达、细胞凋亡的发生均明显受到影响。Fan 等人^[36]还发现,在人肝癌细胞 HuH-7(human hepatoma cell-line 7)中, TGF-β 的作用可以使 p53 发生去磷酸化作用而被激活,引起 p21 等 p53 靶基因表达增加, Caspase 酶活性增加,细胞发生凋亡。

Waterman 等人^[24]报道在细胞未受到刺激的情况下, p53 的 Ser376 和 Ser378 处于磷酸化状态,处于磷酸化状态的 p53 Ser376 和 Ser378 使 p53 四聚体不具备与特异 DNA 序列结合的能力,它与 DNA 的结合是非特异的。当细胞受到 DNA 损伤刺激时, p53 Ser376 位去磷酸化,暴露出 p53 四聚体与 14-3-3 蛋白的相互作用位点, 14-3-3 蛋白与 p53 四聚体组成大的复合物,同时 p53 四聚体因为 14-3-3 的结合而具备与特异性 DNA 序列结合的能力,从而使 p53 在 DNA 损伤刺激情况下激活,并特异性地结合于相应靶基因的启动子序列,转录与 DNA 损伤相关基因的表达。

目前关于去磷酸化修饰对于 p53 稳定性和转录活性的影响已经在体外实验中得到证实,但是动物体内实验的报道较为少见。所以关于去磷酸化修饰对 p53 生物学功能的具体调控机制和效应还有待进一步研究和发现。

4 野生型 p53 和突变体 p53 磷酸化修饰后对细胞的不同影响

在正常细胞中野生型 p53 维持在很低的水平,而在肿瘤细胞中经常会聚积着大量突变的 p53(mut-

p53), 突变体 p53 不具备抑制肿瘤的功能. 研究人员猜测是否因为磷酸化修饰位点的不同导致野生型 p53 与突变 p53 功能上的差异. Minamoto 等人^[37]通过分析肿瘤细胞系、肿瘤组织样本和正常组织样本中 p53 磷酸化情况, 发现肿瘤组织样本与正常组织相比, Ser392, Ser15, Thr81 位点的磷酸化常常处于恒定的高水平状态, 而在正常细胞中, p53 的磷酸化修饰多发生在 Ser376, Thr55 等位点, 从而提示野生型 p53 与突变体 p53 在功能上的南辕北辙, 可能是因为磷酸化修饰的不同, 而且 p53 的磷酸化状态的改变可能与肿瘤的发展进程紧密相关. Melnikova 等人^[38]认为在肿瘤细胞中突变体 p53 Ser15 高度磷酸化与肿瘤组织中 ERK1/2(extracellular signal-regulated kinase1/2) 活性异常增高有关, 突变体 p53 Ser15 位的磷酸化依赖 ERK1/2 的激活. 而且突变体 p53 Ser15 位的磷酸化修饰可能是导致肿瘤细胞中大量突变 p53 聚积而不被降解的主要原因.

5 磷酸化修饰对 p53 其他修饰作用的影响

p53 的各种翻译后修饰, 包括乙酰化、甲基化和磷酸化修饰多集中发生于 p53 蛋白的 C 端结构域, 这样势必会造成各种修饰之间的相互竞争. 这种竞争可以表现为同一个氨基酸残基上的不同修饰方式之间的竞争, 也可以表现为相邻氨基酸残基不同修饰之间的相互促进/抑制作用. 例如, p53 N 端的很多位点受到磷酸化修饰后, 在减少 p53-MDM2 相互作用的同时也可以增加募集 p300 等辅助因子来促进 p53 的乙酰化, 从而影响 p53 的泛素化修饰^[39].

此外, p53 不同区域不同位点受到磷酸化修饰后可能会改变 p53 蛋白的空间构象, 暴露出新的蛋白结合位点, 通过招募具有不同作用的修饰酶, 促成其他位点的不同修饰. Zhu 等人^[40]和 Lau 等人^[41]证实了在 p53 Ser15 发生磷酸化修饰后, p53 结构产生改变, 通过进一步募集 PCAF 和 p300 分别对 p53 Lys320, K373 和 K382 位点乙酰化, 增强 p53 的转录活性, 从而靶向调控 p21 的表达.

6 p53 的磷酸化修饰与肿瘤等疾病治疗

p53 及其调控的下游基因组成的 p53 功能网络在调节细胞生命活动中起重要作用, 并与其他信号转

导通路共同决定细胞的命运. 对于肿瘤细胞来说, 生长失去控制和抵抗凋亡是其主要特征, 恢复肿瘤细胞对凋亡的敏感性, 促使肿瘤细胞发生凋亡是治疗肿瘤的一种有效手段. 肿瘤细胞中 p53 能否被激活而发挥诱导凋亡的作用, 对肿瘤疾病的治疗至关重要. p53 的磷酸化修饰是一种快速、有效地调节 p53 活性的机制, 因此, p53 的翻译后磷酸化修饰提供了一种治疗肿瘤的新思路.

目前关于 p53 磷酸化位点的研究多半是通过体外生物酶或人为过量表达的手段发现的, 且很多动物体外实验或组织培养实验仅限于小鼠或其他实验动物, 所得到的结果可能与人体内的自然生命过程中的真实情况还存在一定的差异. p53 蛋白结构中还包括很多潜在的可能被磷酸化修饰的丝氨酸、苏氨酸及酪氨酸残基, 这些尚未被发现的磷酸化位点以及这些位点是否存在其他未知的 p53 调控机制, 目前还不是十分清楚.

另外, 近年来非常受人瞩目的非编码 RNA(non-coding RNA, ncRNA) 是一类能转录但不编码蛋白质却具有特定功能的 RNA 分子. 根据其长度大小可以大致分为两大类: 微小 RNA(microRNA) 和长非编码 RNA(long non-coding RNA, lncRNA). 微小 RNA 主要通过沉默靶基因来发挥相应生物学功能, Rokhlin 等人^[42]和 Galluzzi^[43]发现在非小细胞肺癌细胞 A549 中, 在抗癌药物 cisplatin(CDDP) 作用下, 过量表达 *miR-181a* 和 *miR-630* 分别可增加和减少 p53 Ser15, Ser46 位的磷酸化, 从而影响 A549 细胞对 CDDP 诱导的凋亡敏感性. 有趣的是过量表达 *miR-181a* 和 *miR-630* 引起的 p53 Ser15, Ser46 位的磷酸化的变化并不影响 p53 总的蛋白水平, 只是特异性地增加和减少 p53 下游 *Bax*, *p27* 的表达, 具体机制还有待进一步明确. 相对于微小 RNA, lncRNA 仍是目前基因组转录产物中较为陌生的部分, 关于其对 p53 蛋白翻译后水平的修饰调控认识还非常有限. 已有报道, p53 能转录调控 *lincRNA-p21*^[44], 而后者在蛋白翻译后修饰、肿瘤代谢及干细胞重编程中起关键作用. Wu 研究组^[45]发现在低氧情况下低氧诱导因子 HIF-1 α 诱导 *lincRNA-p21* 的表达, 同时 *lincRNA-p21* 能通过阻止 *lincRNA-p21* 与 VHL 的结合稳定 HIF-1 α , 形成正反馈环路. 该环路能促进肿瘤生长, 揭示 *lincRNA-p21* 在 Warburg 效应中的作用. 另外 *lincRNA-p21* 可以通过 H3K9 甲基转移酶 SETDB1

(SET domain bifurcated 1) 和 DNA 甲基转移酶 DNMT1(DNA(cytosine-5-)-methyltransferase1)维持多能性基因启动子的 H3K9me3 和/或者 CpG 甲基化, 阻止干细胞重编程过程^[46]。相信不久的将来人们会发现更多的长非编码 RNA 参与 p53 翻译后修饰, 特别是磷酸化修饰, 并揭示它们的调控机制。

迄今为止, 不同位点的磷酸化修饰对 p53 功能产生的影响以及特定刺激情况下不同位点的磷酸化修饰的时序性还不能完全确定, 而且 p53 功能的发挥更

多的是通过多种翻译后修饰相互作用产生的级联反应的结果, 是不同类型的翻译后修饰共同作用所达到的精细平衡, 那么磷酸化修饰与 p53 的其他种类修饰方式之间是怎样相互影响的, 以及这些不同修饰方式相互作用的网络在肿瘤发生、发展以及治疗过程的意义如何, 这些都是目前关于 p53 翻译后修饰研究的重中之重。随着蛋白质组学等研究手段的发展, 相信对 p53 修饰作用的研究会更加深入, 很多目前未知的问题会逐渐得到解决。

参考文献

- 1 Bode A M, Dong Z G. Post-translational modification of p53 in tumorigenesis. *Nat Rev Cancer*, 2004, 4: 793–805
- 2 Bishop J M. Viral Oncogenes. *Cell*, 1985, 42: 23–38
- 3 Guay D, Gaudreault I, Massip L, et al. Formation of a nuclear complex containing the p53 tumor suppressor, YB-1, and the Werner syndrome gene product in cells treated with UV light. *Int J Biochem Cell B*, 2006, 38: 1300–1313
- 4 Montenarh M. Biochemical properties of the growth suppressor/oncoprotein p53. *Oncogene*, 1992, 7: 1673–1680
- 5 Jiang P, Du W J, Wang X W, et al. p53 regulates biosynthesis through direct inactivation of glucose-6-phosphate dehydrogenase. *Nat Cell Biol*, 2011, 13: 310–316
- 6 Vogelstein B, Kinzler K W. p53 function and dysfunction. *Cell*, 1992, 70: 523–526
- 7 Compton S, Kim C, Griner N B, et al. Mitochondrial dysfunction impairs tumor suppressor p53 expression/function. *J Biol Chem*, 2011, 286: 20297–20312
- 8 Chen Y Y, Hsieh C Y, Jayakumar T, et al. Andrographolide induces vascular smooth muscle cell apoptosis through a SHP-1-PP2A-p38MAPK-p53 cascade. *Sci Rep*, 2014, 4: 5651
- 9 Tibbetts R S, Brumbaugh K M, Williams J M, et al. A role for ATR in the DNA damage-induced phosphorylation of p53. *Gene Dev*, 1999, 13: 152–157
- 10 Khanna K K, Keating K E, Kozlov S, et al. ATM associates with and phosphorylates p53: mapping the region of interaction. *Nat Genet*, 1998, 20: 398–400
- 11 Ashcroft M, Vousden K H. Regulation of p53 stability. *Oncogene*, 1999, 18: 7637–7643
- 12 Chehab N H, Malikzay A, Appel M, et al. Chk2/hCds1 functions as a DNA damage checkpoint in G(1) by stabilizing p53. *Gene Dev*, 2000, 14: 278–288
- 13 Sluss H K, Armata H, Gallant J, et al. Phosphorylation of serine 18 regulates distinct p53 functions in mice. *Mol Cell Biol*, 2004, 24: 976–984
- 14 MacPherson D, Kim J H, Kim T, et al. Defective apoptosis and B-cell lymphomas in mice with p53 point mutation at Ser 23. *Embo J*, 2004, 23: 3689–3699
- 15 Chao C, Herr D, Chun J, et al. Ser18 and 23 phosphorylation is required for p53-dependent apoptosis and tumor suppression. *Embo J*, 2006, 25: 2615–2622
- 16 Cordenonsi M, Montagner M, Adorno M, et al. Integration of TGF-beta and Ras/MAPK signaling through p53 phosphorylation. *Science*, 2007, 315: 840–843
- 17 Zhang J, Krishnamurthy P K, Johnson G V. Cdk5 phosphorylates p53 and regulates its activity. *J Neurochem*, 2002, 81: 307–313
- 18 Lambert P F, Kashanchi F, Radonovich M F, et al. Phosphorylation of p53 serine 15 increases interaction with CBP. *J Biol Chem*, 1998, 273: 33048–33053
- 19 Taira N, Nihira K, Yamaguchi T, et al. DYRK2 is targeted to the nucleus and controls p53 via Ser46 phosphorylation in the apoptotic response to DNA damage. *Mol Cell*, 2007, 25: 725–738
- 20 Kawasumi M, Bradner J E, Tolliday N, et al. Identification of ATR-Chk1 pathway inhibitors that selectively target p53-deficient cells without directly suppressing ATR catalytic activity. *Cancer Res*, 2014, 74: 7534–7545
- 21 Yoshida K, Liu H, Miki Y. Protein kinase C delta regulates Ser46 phosphorylation of p53 tumor suppressor in the apoptotic response to DNA damage. *J Biol Chem*, 2006, 281: 5734–5740

- 22 Okamura S, Arakawa H, Tanaka T, et al. p53DINP1, a p53-inducible gene, regulates p53-dependent apoptosis. *Mol Cell*, 2001, 8: 85–94
- 23 Craig A L, Chrystal J A, Fraser J A, et al. The MDM2 ubiquitination signal in the DNA-binding domain of p53 forms a docking site for calcium calmodulin kinase superfamily members. *Mol Cell Biol*, 2007, 27: 3542–3555
- 24 Waterman M J, Stavridi E S, Waterman J L, et al. ATM-dependent activation of p53 involves dephosphorylation and association with 14-3-3 proteins. *Nat Genet*, 1998, 19: 175–178
- 25 Lain S, Xirodimas D, Lane D P. Accumulating active p53 in the nucleus by inhibition of nuclear export: a novel strategy to promote the p53 tumor suppressor function. *Exp Cell Res*, 1999, 253: 315–324
- 26 Radhakrishnan S K, Gartel A L. CDK9 phosphorylates p53 on serine residues 33, 315 and 392. *Cell Cycle*, 2006, 5: 519–521
- 27 Minamoto T, Buschmann T, Habelhah H, et al. Distinct pattern of p53 phosphorylation in human tumors. *Oncogene*, 2001, 20: 3341–3347
- 28 Vogelstein B, Lane D, Levine A J. Surfing the p53 network. *Nature*, 2000, 408: 307–310
- 29 Bulavin D V, Saito S, Hollander M C, et al. Phosphorylation of human p53 by p38 kinase coordinates N-terminal phosphorylation and apoptosis in response to UV radiation. *Embo J*, 1999, 18: 6845–6854
- 30 Wang B. Analyzing cell cycle checkpoints in response to ionizing radiation in mammalian cells. *Methods Mol Biol*, 2014, 1170: 313–320
- 31 Appella E, Anderson C W. Post-translational modifications and activation of p53 by genotoxic stresses. *Eur J Biochem*, 2001, 268: 2764–2772
- 32 Liu X, Qiu F, Liu Z, et al. Urokinase-type plasminogen activator receptor regulates apoptotic sensitivity of colon cancer HCT116 cell line to TRAIL via JNK-p53 pathway. *Apoptosis*, 2014, 19: 1532–1544
- 33 Gatti A, Li H H, Traugh J A, et al. Phosphorylation of human p53 on Thr-55. *Biochemistry*, 2000, 39: 9837–9842
- 34 Li H H, Li A G, Sheppard H M, et al. Phosphorylation on Thr-55 by TAF1 mediates degradation of p53: a role for TAF1 in cell G1 progression. *Mol Cell*, 2004, 13: 867–878
- 35 Li H H, Cai X, Shouse G P, et al. A specific PP2A regulatory subunit, B56 gamma, mediates DNA damage-induced dephosphorylation of p53 at Thr55. *Embo J*, 2007, 26: 402–411
- 36 Fan G, Ma X, Wong P Y, et al. p53 dephosphorylation and p21(Cip1/Waf1) translocation correlate with caspase-3 activation in TGF-beta1-induced apoptosis of HuH-7 cells. *Apoptosis*, 2004, 9: 211–221
- 37 Minamoto T, Buschmann T, Habelhah H, et al. Distinct pattern of p53 phosphorylation in human tumors. *Oncogene*, 2001, 20: 3341–3347
- 38 Melnikova V O, Santamaria A B, Bolshakov S V, et al. Mutant p53 is constitutively phosphorylated at Serine 15 in UV-induced mouse skin tumors: involvement of ERK1/2 MAP kinase. *Oncogene*, 2003, 22: 5958–5966
- 39 Teufel D P, Bycroft M, Fersht A R. Regulation by phosphorylation of the relative affinities of the N-terminal transactivation domains of p53 for p300 domains and Mdm2. *Oncogene*, 2009, 28: 2112–2118
- 40 Avantaggiati M L, Ogryzko V, Gardner K, et al. Recruitment of p300/CBP in p53-dependent signal pathways. *Cell*, 1997, 89: 1175–1184
- 41 Lau A W, Liu P D, Inuzuka H, et al. SIRT1 phosphorylation by AMP-activated protein kinase regulates p53 acetylation. *Am J Cancer Res*, 2014, 4: 245–255
- 42 Rokhlin O W, Scheinker V S, Taghiyev A F, et al. MicroRNA-34 mediates AR-dependent p53-induced apoptosis in prostate cancer. *Cancer Biol Ther*, 2008, 7: 1288–1296
- 43 Galluzzi L, Morselli E, Vitale I, et al. miR-181a and miR-630 regulate cisplatin-induced cancer cell death. *Cancer Res*, 2010, 70: 1793–1803
- 44 Huarte M, Guttman M, Feldser D, et al. A large intergenic noncoding RNA induced by p53 mediates global gene repression in the p53 response. *Cell*, 2010, 142: 409–419
- 45 Yang F, Zhang H F, Mei Y D, et al. Reciprocal regulation of HIF-1 alpha and lincRNA-p21 modulates the Warburg effect. *Mol Cell*, 2014, 53: 88–100
- 46 Bao X, Wu H, Zhu X, et al. The p53-induced lincRNA-p21 derails somatic cell reprogramming by sustaining H3K9me3 and CpG methylation at pluripotency gene promoters. *Cell Res*, 2015, 25: 80–92

Progress in p53 Phosphorylation and Function

HU WangLai¹ & WU Mian²

1 Department of Immunology, School of Basic Medicine, Anhui Medical University, Hefei 230032, China;

2 CAS Key Laboratory of Innate Immunity and Chronic Disease, Innovation Center for Cell Signaling Network, School of Life Sciences, University of Science & Technology of China, Hefei 230027, China

p53 is one of the most important tumor suppressors and is known to play critical roles in the process of tumor development. Under physiological conditions, the intracellular p53 sustains a relatively low level. Upon various stress stimuli, p53 is modified, stabilized and then activated, thus to regulate cell cycle arrest, apoptosis induction, cellular senescence, cell metabolism and many other life activities. Many types of post-translational modifications of p53 have been reported, and this short review will focus on the p53 phosphorylation and its role in the cellular functions. The purpose of this review is to provide a recent progress of p53 phosphorylation and its potential implications in both basic science and clinical application .

p53, p53 phosphorylation, p53 dephosphorylation

doi: 10.1360/N052015-00070