

БЕЛОК Р-53: НОВАЯ ЖИЗНЬ СТАРОЙ МОЛЕКУЛЫ

Часть I

Контакты: Александр Иванович Дубиков

Contact: Alecsandr Ivanovich Dubikov aihavlad@online.vladivostok.ru

Упрощенные представления о молекуле р-53 как определяющей исключительно сдерживание роста злокачественных опухолей потерпели полное фиаско. В последние годы опубликовано большое количество работ, открывающих новые аспекты влияния протеина р-53 на метаболизм, фертильность, развитие и дифференцировку клеток. Только сейчас мы начинаем понимать интимные механизмы некоторых функций р-53 и пути непосредственной регуляции активности самой молекулы р-53.

Белок р-53 и болезни суставов

Хотя позиция р-53 в канцерогенезе довольно четко очерчена, его роль в развитии иммунопатологических и воспалительных процессов остается весьма туманной. Дисфункция белка р-53 создает предпосылки к развитию так называемого пролиферативного, гипеоапоптотического или гиперпластического фенотипа. Изучение роли р-53 в механизмах развития артритов первоначально ограничивалось определением его мутаций, что, как считалось, приводило к потере свойств р-53 [1, 2]. Однако некоторые авторы отмечали повышенную склонность синовиоцитов к инвазивному росту при угнетении активности нормального р-53 [3]. Восстановление локальной экспрессии р-53 с помощью аденовирусной доставки последнего в воспаленные суставы кроликов сопровождалось регрессией воспаления синовиальной оболочки [4]. Хотя причины повреждения молекулы р-53 в клетках синовиальной оболочки остаются неизвестными, понятно, что следствием этого является склонность синовиальной ткани к гиперпластическому росту с повышенной инвазивностью. Эта гипотеза была подтверждена в одном исследовании на модели коллаген-индуцированного артрита у мышей с отсутствием молекулы р-53, что ассоциировалось с большей тяжестью артрита, высокой гиперпластичностью синовиоцитов и снижением активности апоптоза [5]. Было показано, что ненарушенная экспрессия р-53 на локальном и системном уровнях способствует снижению тяжести антиген-индуцированного артрита, тогда как потеря функций р-53 ведет к увеличению тяжести и выраженности воспаления [6]. При этом авторы отмечали, что р-53 влияет на точность иммунного ответа благодаря воздействию на антиген-специфическую Т-клеточную активацию и модуляции высвобождения цитокинов. Все это говорит о существовании других, неапоптотических механизмов реализации эффектов молекулы р-53 при иммунопатологических процессах и определяет актуальность систематизации знаний в этой области молекулярной биологии.

Оставляя в стороне многие фундаментальные вопросы биологии р-53 (с ними можно ознакомиться в обзорах), мы остановимся на новейших данных, раскрываю-

щих возможные перспективы изучения роли белка р-53 в патогенезе ревматических болезней.

Антипролиферативный эффект р-53 обусловлен не только апоптозом

Доминирующий взгляд на ключевую роль р-53 в развитии феномена запрограммированной клеточной смерти (апоптоза) не подвергается сомнению. Однако неуклонно растет количество фактов, указывающих, что р-53 обладает и другими функциями, сдерживающими процессы пролиферации, злокачественного роста. То, что апоптоз не является единственным феноменом в арсенале р-53, стало очевидным с открытием белка PUMA (p53-upregulated modulator of apoptosis). PUMA — единственный ВН 3 (Bcl-2 homology domain 3)-протеин, инициирующий митохондриальный путь апоптоза. Изучение мышей, не имеющих этого протеина, показало, что PUMA необходим для развития апоптоза в ответ на активацию молекулы р-53 во многих тканях [7]. Тем не менее нулевые по белку PUMA мыши необязательно развивают злокачественные опухоли [8], хотя ряд исследований показал, что потеря PUMA способствует канцерогенезу, определяемому Мус-онкогеном [9, 10]. Становится ясным, что р-53 может сохранять антипролиферативные свойства даже в отсутствие твердого апоптотического ответа.

Анализ необычных мутантных форм белка р-53 приводит к тому же выводу. В то время как большинство ассоциированных со злокачественной опухолью мутаций р-53 ведут к полной утрате всех его функций, некоторые типы опухолевых мутаций р-53 позволяют ему сохранить способность к остановке клеточного цикла при полной утрате способности вызвать апоптоз [11]. Линия мышей, несущая одну такую мутацию (единичная аминокислотная замена пролина на аргинин в 172-м остатке), представляет собой очень интересный фенотип: будучи совершенно дефицитной по р-53-опосредованному апоптозу, эта линия мышей защищена от развития опухолей [12]. Очевидно, что мутантный р-53 содержит другие возможности антипролиферативного эффекта.

Феномен старения — вновь установленная антипролиферативная функция р-53

Каким же еще механизмом, сдерживающим рост злокачественной опухоли, обладает молекула р-53? Наиболее очевидным свойством является способность р-53 останавливать клеточную пролиферацию и рост. Также р-53 может эффективно останавливать клеточный цикл, активируя транскрипцию ингибитора циклин-зависимой киназы р-21, хотя несколько других генов-мишеней молекулы р-53 (*14-3-3 sigma* и *GADD45*) могут вносить свой вклад в этот феномен [13]. При этом надо отметить, что р-21 чрезвычайно чувствителен к самым низким концентрациям р-53 и ведет к немедленной остановке клеточно-

го цикла в фазе G1 при малейшем повреждении клетки, позволяя ей пережить неблагоприятный период. Однако в случае канцерогенеза (или нецелесообразной пролиферации) подобного рода реакция позволит сохраниться клеткам со злокачественным потенциалом. Так что же, как не элиминация клеток через запрограммированную клеточную смерть, способно предотвратить злокачественную пролиферацию? Ответ может быть найден в активации феномена старения — необратимой остановке клеточного цикла. Серия интереснейших исследований высветила важность феномена старения в ингибировании злокачественной пролиферации и идентифицировала при этом ключевую роль молекулы p-53 в такого рода биологическом ответе. В нескольких работах было показано, что ключевую роль в развитии феномена старения играет повреждение ДНК через активацию онкогенов или в ответ на дисфункцию теломер, что повышает активность протеина p-53 [14, 15].

Более того, старение остается ключевым феноменом в ответ на активацию p-53 при злокачественной пролиферации в далеко зашедших стадиях. В моделях на мышах реактивация белка p-53 приводила к существенной регрессии различных типов злокачественных опухолей, доказывая высокий терапевтический потенциал такого подхода к лечению [16—18]. Интересно, что при саркомах и карциномах в ответ на повышение активности молекулы p-53 проявляется прежде всего феномен старения, а не апоптоза. Хотя исследования на культурах тканей свидетельствуют о том, что развитие феномена старения является скорее цитостатическим ответом, стабилизирующим заболевание, но не вызывающим его обратное развитие, исследования *in vivo* отчетливо показали возможность полной эрадикации злокачественного клона клеток при сопутствующей стимуляции иммунной системы [18]. Одним из ключевых регуляторов p-53-опосредованного старения является белок p-21 [19]. Супрессия злокачественной пролиферации мутантной формой p-53 R172P, дефектной по апоптозу, сопровождается прежде всего активацией молекулы p-21 и феномена старения [20, 21]. Более того, введение мутантной формы p-53 линии мышей, нулевой по наличию белка p-21, приводило к полной потере способности к остановке клеточного цикла и ускоряло рост злокачественных опухолей [22]. Все эти факты убедительно свидетельствуют о том, что p-53-опосредованная активация молекулы p-21 является важным звеном в угнетении злокачественной пролиферации через феномен старения.

Складывается впечатление, что p-53-зависимые феномены апоптоза и старения являются своего рода страховкой друг для друга и развитие того или иного определяется конкретным типом клеток и состоянием окружающей среды (тканевым контекстом).

Что определяет характер ответа белка p-53?

Диалектика функции молекулы p-53 такова, что, кроме способности уничтожать потенциально опасные клетки, она может содействовать выживанию клетки в чрезвычайно неблагоприятных условиях через целый ряд механизмов. В арсенале p-53 имеется ряд белков-мишеней, которые предотвращают развитие апоптоза. Это молекула p-21, такие рецепторы смерти, как DcR 1 и DcR 2, фактор транскрипции SLUG (обладает способностью тормозить экспрессию PUMA) и некоторые активаторы АКТ/РКВ (протеин-киназы B) [23]. Недавно было пока-

зано, что группа p-53-индуцируемых генов действуют как мощные антиоксиданты, снижая уровень кислородных радикалов внутри клетки [24, 25]. Хотя эти механизмы могут тормозить канцерогенез, предотвращая повреждение ДНК и генную нестабильность, тем не менее снижение уровня внутриклеточных кислородных радикалов уменьшает чувствительность клетки к апоптозу [26].

Такая двойственность природы протеина p-53 позволяет поставить закономерный вопрос: а что же определяет в итоге характер ответа p-53? Скорее всего, вариант ответа зависит от морфологического типа ткани, природы стрессорного сигнала, клеточной среды. Есть факты, указывающие, что выбор между «смертью и жизнью» зависит от тяжести повреждения клетки и длительности воздействия стресса. Показано, что кратковременный характер стресса инициирует сигнал к выживанию клетки (p-53 действует как цитопротектор). Напротив, длительно действующие интенсивные стрессорные факторы запускают сигнал к апоптозу и старению [27].

Несмотря на абсолютную противоположность ответов, запускаемых активированной молекулой p-53, все они могут иметь антипролиферативную направленность (антиканцерогенез), предотвращая накопление онкогенных повреждений или удаляя поврежденные клетки посредством апоптоза и старения. Такая модель функционирования p-53 подразумевает, что в некоторых случаях, в условиях невозможности восстановления клетки, протективная активность p-53 может быть чрезвычайно опасна.

Влияние p-53 на метаболизм клетки — вновь выявленный антипролиферативный механизм. Феномен аутофагии

Изменения, которые способствуют злокачественной пролиферации клеток и их выживанию, часто сопровождаются отклонениями в клеточном метаболизме, что, в свою очередь, также способствует канцерогенезу [28]. Репрограммирование клеточного метаболизма дает озлокачествленной клетке ряд неоспоримых преимуществ, включая возможность выживать в неблагоприятных условиях (таких как гипоксия, аноксия), способность к мобилизации анаболического синтеза (что обеспечивает клетку макромолекулами, необходимыми для дальнейшего роста) и уменьшению последствий оксидативного стресса [28]. Зависимость канцерогенеза от метаболических трансформаций ярко проиллюстрирована соответствующими экспериментальными моделями. Изменение метаболической программы в этих моделях приводило к резкому ограничению возможностей злокачественного роста [29—31].

Роль p-53 в регуляции метаболизма клетки и ответе на его изменения — область новейших и перспективных исследований. Каков же вклад p-53 в контроль клеточного метаболизма и как это отражается на антипролиферативных свойствах p-53? Известно, что p-53 может быть активирован отклонениями в метаболизме (например, голоданием) — ответ, опосредуемый АМФ-активированной протеинкиназой (AMP-activated protein kinase, AMPK), которая является ключевым компонентом клеточного ответа на биоэнергетический стресс [32]. p-53 вызывает экспрессию ряда генов (включая ген AMPK), тормозящих активность киназы mTOR (mammalian target of rapamycin), центрального узла в контроле синтеза белка [33, 34].

Роль молекулы p-53 в развитии клеточных реакций на голодание и метаболический стресс проявляется в способности p-53 регулировать феномен аутофагии, мембранопосредованное «самопоедание» клетки, процесс лизосомального переваривания внутриклеточных компонентов. Аутофагия в условиях голодания способствует очищению от поврежденных органелл и других белковых субстанций, обеспечивая тем самым кратковременное выживание здоровых клеток.

Способность p-53 инициировать аутофагию посредством активации лизосомальных белков, таких как DRAM (damage-regulated autophagy modulator) [35], или через репрессию белка mTOR находится в логической связи с антипролиферативной функцией аутофагии (угнетение злокачественного роста) [36].

Однако взаимоотношения между p-53 и аутофагией, очевидно, являются более сложными. Было показано, что базальный уровень p-53 в цитоплазме обладает способностью ингибировать аутофагию [37]. Такими же сложными являются взаимоотношения между аутофагией и злокачественным ростом: показано, что p-53-индуцированная аутофагия может как тормозить рост опухоли, так и способствовать ему [38]. Каким образом определяется и координируется тип ответа на p-53-индуцированную аутофагию — остается неизвестным.

Помимо влияния на активность белка mTOR и тем самым на белковый синтез, p-53 может вмешиваться в метаболизм клетки еще более интимным образом [39]. Эти недавно открытые возможности p-53 включают в себя способность модулировать захват глюкозы [40], усиление митохондриального дыхания [41], ослабление гликолиза [27, 42]. Интересно, что ряд этих эффектов способен нейтрализовать отрицательные последствия анаэробного гликолиза (эффект Варбурга), типичного для злокачественной трансформации метаболического пути. Таким образом, p-53 имеет достаточно широкий арсенал метаболических возможностей ограничения пролиферации, в том числе не только злокачественной по своему характеру.

Признание роли p-53 в регуляции гликолиза, оксидативного стресса и процесса выживания клеток привело нас к пониманию всей сложности сигнальных путей, связанных с этой молекулой. Адекватная регуляция функции p-53 сопровождается антипролиферативными эффектами. В случае неадекватной регуляции молекула p-53 может способствовать злокачественному росту. В качестве примера приведем возможности p-53 в торможении феномена аутофагии, что способствует опухолевой прогрессии. Другой пример — метаболический дуализм p-53: влияя на гликолиз, она может тормозить рост опухоли, но в то же время, активируя пентозо-фосфатный путь, содействует опухолевому росту [28]. Складывается впечатление, что тонкий контроль функций молекулы p-53 может предотвратить превращение одного из самых мощных супрессоров злокачественной пролиферации из друга во врага.

Целесообразность активации молекулы p-53: всегда ли она необходима?

Хотя возможности p-53 управлять процессами клеточной смерти представляются весьма целесообразными, особенно в контексте развития злокачественных опухолей, тем не менее не во всех случаях стрессорных воздействий на клетку они благоприятны. Например,

вызванная повреждением ДНК активация p-53 несет ответственность за побочные эффекты лучевой и химиотерапии. Хотя эти эффекты рассматриваются как неизбежные и непременно возникающие при активации защищающих геном механизмов, тем не менее недавние исследования показали, что для торможения роста опухоли этот первоначальный ответ p-53 совсем не обязателен [43, 44]. Складывается впечатление, что кратковременная ингибция p-53 во время лечения злокачественных опухолей может быть полезна в смысле защиты здоровых тканей [45].

p-53 вовлечен в мириады ответов на непрерывно действующие стрессорные факторы, не будучи способным определить, когда это целесообразно для клетки, а когда нет. Например, p-53-индуцированный апоптоз в ответ на гипоксию, которая явилась следствием недостаточного кровоснабжения быстро растущей злокачественной опухоли, — целесообразный биологический феномен. Однако такой вариант развития событий нежелателен, если результатом гипоксии явился инсульт или инфаркт. Действительно, было показано, что супрессия p-53 исключительно полезна в ранних стадиях ишемических повреждений тканей [46].

p-53 и нейродегенеративные процессы

Рибосомальный стресс (отклонения в синтезе некоторых рибосомальных белков) ведет к активации p-53 и супрессии злокачественной пролиферации [47]. С другой стороны, нарушения рибосомального синтеза, связанные с мутацией гена *TCOF 1* (Treacher Collins-Franceschetti syndrome 1), сопровождаются конституциональной активацией p-53, клинически проявляющейся врожденным расстройством, известным как синдром Treacher Collins [48]. Аналогично, p-53 вносит вклад в развитие некоторых нейродегенеративных процессов. Активация p-53 некоторыми мутантными формами белка huntingtin (ответственными за развитие болезни Huntington) частично определяет нейродегенеративные изменения и нейроповеденческие отклонения в мышечных моделях [49]. В экспериментальных моделях болезни Паркинсона на животных было показано, что потеря экспрессии гена DJ 1 (ген, мутация которого определяется на ранних стадиях болезни Паркинсона) ведет к активации p-53 и смерти допаминергических нейронов [50]. Считается, что p-53 является медиатором смерти нейронов при болезни Альцгеймера [51], хотя недавние исследования показали, что экспрессия β -амилоидных пептидов может вызывать конформационные изменения молекулы p-53 [52]. Это открытие позволило идентифицировать новый маркер болезни Альцгеймера (мутантная форма p-53) и определить роль p-53 в патогенезе этого тяжелого заболевания. С другой стороны, выявлены новые возможности p-53 в аксональной регенерации при повреждении центральной и периферической нервной системы [53].

Роль p-53 в эмбриогенезе и тканевой дифференцировке

Трактовка биологической задачи p-53 только в связи с контролем злокачественной пролиферации в живых организмах — великое упрощение. Действительно, развитие механизмов противодействия канцерогенезу с точки зрения эволюции p-53 — более поздняя стадия развития этой молекулы, которой предшествовала функция контроля эмбриогенеза и мониторинга развития [54, 55].

Эти примордиальные функции p-53 (защита эмбриогенеза) появляются у низших животных (таких как черви и мухи), у которых нет необходимости в защите от злокачественной пролиферации [56, 57].

Роль p-53 в развитии и дифференцировке тканей продемонстрирована у лягушек вида *Xenopus laevis*, у которых p-53 участвует в комплексе сложных взаимодействий с регулятором транскрипции Smad, обеспечивая специализацию эмбриональной ткани [58].

В настоящее время не вызывает сомнения тот факт, что проявление различных функций p-53 в условиях патологического процесса и здоровья не требует обязательного присутствия стрессорного фактора. Активизация функций p-53 зависит от базальной концентрации молекулы и воздействия неинтенсивных конститутивных событий. Одна из возможных функций, осуществляемая без дополнительной активации p-53 на фоне базальной концентрации, — контроль обновления стволовых клеток. Даже в отсутствие дополнительного воздействия p-53 может тормозить процесс обновления стволовых нейрональных клеток [59] и активность гемопоэтических стволовых клеток [60]. p-53 супрессирует экспрессию рецептора клеточной мембраны CD 44, несущего ответственность за миграцию и выживание клеток [61]. p-53 принимает непосредственное участие в контроле плодovitости у мышей, регулируя активность фактора LIF (leukemia inhibitory factor), определяющего способность blastocитов к имплантации [62]. Интересно, что полиморфизм p-53, влияющий на активность белка, ассоциируется с неудачными имплантациями у женщин, подразумевающая консервацию этой функции p-53 у человека [63].

Белок p-53 и преждевременное старение

Способность p-53 на уровне базальной концентрации влиять на метаболизм сопровождается новыми интересными возможностями, помимо торможения канцерогенеза: так, способность p-53 поддерживать аэробный тип дыхания является критичной в поддержании высокого уровня физической выносливости у мышей во время физической нагрузки [64]. Но, может быть, самая интригующая функция p-53 — влияние на продолжительность жизни и процессы старения. У низших организмов, таких как мухи и черви, утрата активности p-53 увеличивает продолжительность жизни [65, 66]. Результаты первоначальных исследований показали, что у теплокровных p-53 активно влияет на раннее старение, хотя более поздние исследования определили такую возможность только в случаях неадекватной регуляции функций молекулы p-53 (возможно, в условиях оксидативного стресса) [36]. Тем не менее наше понимание антиоксидантной функции базального уровня p-53 в свете новейших данных и возможность p-53 отрицательно регулировать процессы роста через влияние на IGF/mTOR дают основание подозревать альтернативную возможность: активация p-53 увеличивает продолжительность жизни. Действительно, мыши, экспрессирующие дополнительные копии нормального типа p-53, кроме того что были устойчивы к развитию злокачественных опухолей, не проявляли признаков преждевременного старения [67].

Таким образом, p-53 может выступать в роли как защитника, так и убийцы в рамках его антиканцерогенных эффектов. В то же время p-53 способен как предотвращать старение, так и способствовать ему. Примечательно, что с возрастом активность p-53 снижается [68]. Воз-

можно, это влияет не только на увеличение частоты развития злокачественных опухолей с возрастом, но и на сам процесс старения.

Транскрипционные факторы, геном определяют характер ответа p-53

Как было отмечено ранее, последствия активации p-53 могут драматически различаться в зависимости от массы факторов и контекста событий. Что же определяет окончательный вариант ответа? Исследования последних 5 лет проливают свет на этот вопрос. Десятки транскрипционных факторов опосредуют различия в ответах на активацию p-53. Хотя большинство мишеней p-53 индуцируются определенным стрессорным фактором, некоторые из них могут быть инициированы базальным уровнем p-53, без дополнительного стрессорного воздействия. p-53 может иметь независимый от факторов транскрипции, ассоциированный с митохондриями путь развития апоптоза [69, 70]. Вполне вероятно, что оба пути (зависимый и независимый от факторов транскрипции) необходимы p-53 для контроля канцерогенеза и реализации апоптоза. Действительно, PUMA, проапоптотический белок, кодируемый геном, который является мишенью p-53, необходим для высвобождения цитоплазматического p-53 от связи с антиапоптотическим белком Bcl-XL с последующей активацией митохондриальной мембраны [71].

Чтобы представить глобально все функции p-53, необходим синтетический подход (микро- и макроскопический), позволяющий оценить полный набор генов-мишеней и механизм запуска их экспрессии молекулой p-53. С макроскопической точки зрения важно знать полный репертуар транскрипционных факторов, регулируемых p-53. В одном из последних обзоров упоминаются 129 таких транскрипционных целей [72]. Должно быть, в действительности их гораздо больше, а генов, экспрессия которых затрагивается непрямым образом при активации p-53, насчитываются тысячи.

С целью идентификации новых мишеней p-53 необходимо хорошо знать структуру мест связывания p-53 с геномом. Общеизвестным местом связывания p-53 является последовательность RRRCA/TT/AGYYY (где R — пурин, а Y — пиримидин), расшифрованная благодаря биоинформационному анализу [72—75] и экспериментальному методу иммунопреципитации хроматина [76—78].

Скрининг мест связывания p-53 с использованием экспериментальных методов позволил получить интересную информацию касательно деталей самого процесса связывания. Во-первых, было выяснено, что p-53 не всегда связывается в геноме в местах с типичной для этого структурой. На этот процесс влияют местоположение в пределах гетерохроматического локуса, присутствие p-53 доминантных и негативных изоформ в местах связывания [79]. Во-вторых, не все регионы связывания с p-53 имеют соответствующую последовательность аминокислот. Это может быть результатом ассоциации p-53 с другим ДНК-связывающимся белком, ядерным фактором транскрипции Y [80]. В-третьих, не все гены, связывающиеся с p-53, отвечают экспрессией. Промутеры генов эукариот обычно нуждаются в многофакторном воздействии для активации. Более того, присутствие корепрессоров в зоне промотора может противодействовать эффектам p-53. Очень актуально расширить и интенсифицировать текущие биоинформацион-

ные и экспериментальные подходы для того, чтобы получить больше динамической глобальной информации о механизмах связывания и активации p-53. Особенно важно проследить кинетику связывания p-53 с мишенями в геноме после различных стимулов и в разных типах клеток.

Транскрипционная репрессия, вызываемая p-53, является важным механизмом клеточной смерти. p-53 может угнетать экспрессию генов несколькими путями [81]. Прежде всего, p-53 может увеличивать экспрессию белка (например, p-21), который предотвращает фосфорилирование белка ретинобластомы, таким образом поддерживая гены, регулируемые фактором транскрипции E2F, в репрессивном состоянии. Действительно, репрессия множества генов-мишеней p-53 опосредуется белком p-21 [82–84]. Далее, p-53-опосредованная транскрипционная репрессия может быть обусловлена связью p-53 с промоторами, имеющими участки для связывания с другими факторами транскрипции, такими как Sp1 [85, 86], NF-Y [80, 87], SMADs [88]. Наконец, репрессия генов может быть опосредована прямой связью p-53 с так называемым элементом репрессии [61, 89].

Анализ репертуара генов, регулируемых p53, показал, что он не ограничивается только генами, участвующими в остановке клеточного цикла и инициации апоптоза. К кластеру генов, отвечающих на активность p-53, относятся гены, влияющие на различные процессы, такие как репарация поврежденной ДНК, клеточная адгезия, подвижность клеток, метаболизм клетки и функции мембраны. Как p-53 выбирает свои мишени — вопрос, требующий настойчивых исследований.

Механизмы взаимодействия p-53 с геномом

Каким образом белок p-53 распознает в широком диапазоне геномной ДНК свои места связывания? Хотя на этот вопрос до сих пор нет ответа, два недавних исследования в условиях *in vitro* показали, что p-53 может диффундировать по ДНК в двух плоскостях [90, 91]. Необычное, даже в какой-то степени экзотическое исследование показало, что фотооксидант антрахинон может переносить электрический заряд с ДНК на молекулу p-53, что сопровождается освобождением p-53 от связи с ДНК в специфическом месте (например, место связи с промотором гена, кодирующим белок Mdm2) [92].

Несколько белков и малых молекул, как было показано, регулируют специфичность связывания p-53 с ДНК. Например, изоформа p-53 (p-53β), которая может формировать гетеротетрамеры с диким типом p-53, стимулирует связывание p-53 и активацию *Bax*-гена (Bcl-2-associated X protein) [93]. Тирозин-киназа c-Abl стабилизирует тетрамеризацию p-53 и обеспечивает связывание p-53 с промотором гена *p-21* [94]. Другие факторы могут вмешиваться в процесс связывания p-53 с ДНК напрямую, взаимодействуя с центральным стержневым доменом p-53. Среди них — ASPPs (apoptosis stimulating proteins of p53), белок, селективно стимулирующий связывание p-53 с *Bax*-промотором (но не с *p-21*-промотором) с последующей его активацией [95]. Напротив, белок HZF (hematopoietic zinc finger), сам являющийся транскрипционной целью p-53, взаимодействует с p-53-ДНК-связывающим доменом и способствует связыванию p-53 с промотором *p-21* и *14-3-3* (но не с промотором *Bax* или проапоптотического гена *Noxa*). Эти факты находятся в логической связи с наблюдениями, свидетельствующими о том, что фибробласты мышинных эмбрионов, не содержащие белка HZF, демонстрируют повышенную экспрессию *Bax* и снижение уровня экспрессии *p-21* в сравнении с фибробластами мышинных эмбрионов дикого типа [96]. Даже такие малые молекулы, как никотинамид аденин динуклеотид, могут целенаправленно влиять на связывание p-53 с ДНК *in vitro* и, соответственно, изменять уровень p-53-индуцированной экспрессии *Mdm2* без влияния на уровень экспрессии *p-21* [97]. Это лишь некоторые примеры дифференцированной регуляции связывания p-53 с ДНК и его транскрипционной активности.

Завершая первую часть обзора новых данных о роли и функции молекулы p-53, хотелось бы подчеркнуть, что, хотя большинство этих данных получено из области экспериментальной онкологии, тем не менее широкий биологический смысл молекулы p-53 предполагает их универсальную прикладную значимость. Гиперпластический статус синовиальной оболочки при многих болезнях суставов иммуновоспалительного характера схож по своим характеристикам со злокачественной пролиферацией. Расшифровка пролиферативного ответа с участием p-53-опосредованных механизмов могла бы открыть новые перспективные (инновационные) направления диагностики и лечения болезней соединительной ткани.

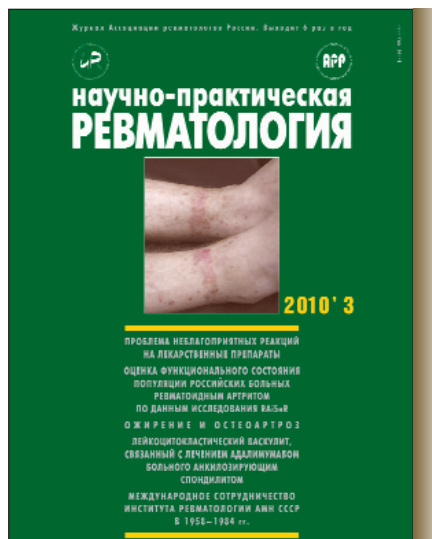
ЛИТЕРАТУРА

1. Firestein G.S., Echeverri F., Yeo M. et al. Somatic mutations in the p53 tumor suppressor gene in rheumatoid arthritis synovium. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997;94:10895–900.
2. Yamanishi Y., Boyle D.L., Rosengren S. et al. Regional analysis of p53 mutations in rheumatoid arthritis synovium. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002;99:10025–30.
3. Pap T., Aupperle K.R., Gay S. Invasiveness of synovial fibroblasts is regulated by p53 in the SCID mouse in vivo model of cartilage invasion. *Arthr Rheum* 2001;44:676–81.
4. Yao Q., Wang S., Glorioso J.C. et al. Gene transfer of p53 to arthritic joints stimulates synovial apoptosis and inhibits inflammation. *Mol Theor* 2001;3:901–10.
5. Yamanishi Y., Boyle D.L., Pinkoski M.J. et al. Regulation of joint destruction and inflammation by p53 in collagen-induced arthritis. *Am J Pathol* 2002;160:123–30.
6. Leech M., Xue J.R., Dacumos A. et al. The tumour suppressor gene p53 modulates the severity of antigen-induced arthritis and the systemic immune response. *Clin Exp Immunol* 2008;152(2):345–53.
7. Yu J., Zhang L. No PUMA, no death: implications for p53-dependent apoptosis. *Cancer Cell* 2003;4:248–9.
8. Michalak E.M., Villunger A., Adams J.M., Strasser A. In several cell types tumour suppressor p53 induces apoptosis largely via Puma but *Noxa* can contribute. *Cell Death Differ* 2008;15:1019–29.
9. Garrison S.P., Jeffers J.R., Yang C. et al. Selection against PUMA gene expression in Myc-driven B cell lymphomagenesis. *Mol Cell Biol* 2008;28:5391–402.
10. Hemann M.T., Zilfou J.T., Zhao Z. et al. Suppression of tumorigenesis by the p53 target PUMA. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004;101:9333–8.
11. Rowan S., Ludwig R.L., Haupt Y. et al. Specific loss of apoptotic but not cell cycle arrest function in a human tumour derived p53 mutant. *EMBO J* 1996;15:827–38.
12. Liu G., Parant J.M., Lang G. et al. Chromosomal stability, in the absence of apoptosis, is critical for suppression of tumorigenesis in Trp53 mutant mice. *Nat Genet* 2004;36:63–8.
13. El-Deiry W.S. Regulation of p53 downstream genes. *Semin. Cancer Biol* 1998;8:345–57.
14. Deng Y., Chan S.S., Chang S. Telomere dysfunction and tumour suppression: the

- senescence connection. *Nat Rev Cancer* 2008;8:450—8.
15. Halazonetis T.D., Gorgoulis V.G., Barteck J. An oncogene-induced DNA damage model for cancer development. *Science* 2008;319:1352—5.
 16. Martins C.P., Brown-Swigart L., Evan G.I. Modeling the therapeutic efficacy of p53 restoration in tumors. *Cell* 2006;127:1323—34.
 17. Ventura A., Kirsch D.G., McLaughlin M.E. et al. Restoration of p53 function leads to tumour regression in vivo. *Nature* 2007;445:661—5.
 18. Xue W., Zender L., Miething C. et al. Senescence and tumour clearance is triggered by p53 restoration in murine liver carcinomas. *Nature* 2007;445:656—60.
 19. Brown J.P., Wei W., Sedivy J.M. Bypass of senescence after disruption of p21CIP1/WAF1 gene in normal diploid human fibroblasts. *Science* 1997;277:831—4.
 20. Cosme-Blanco W., Shen M.-F., Lazar A.J.F. et al. Telomere dysfunction suppresses spontaneous tumorigenesis in vivo by initiating p53-dependent cellular senescence. *EMBO Rep* 2007;8:497—503.
 21. Van Nguyen T., Puebla-Osorio N., Pang H. et al. DNA damage-induced cellular senescence is sufficient to suppress tumorigenesis: a mouse model. *J Exp Med* 2007;204:1453—61.
 22. Barboza J.A., Liu G., El-Naggar A.K., Lozano G. p21 delays tumor onset by preservation of chromosomal stability. *Proc Natl Acad Sci USA* 2006;103:19842—7.
 23. Janicke R.U., Sohn D., Schulze-Osthoff K. The dark side of a tumor suppressor: anti-apoptotic p53. *Cell Death Differ* 2008;15:959—76.
 24. Liu B., Chen Y., St Clair D.K. ROS and p53: a versatile partnership. *Free Radic Biol Med* 2008;44:1529—35.
 25. Sablina A.A., Budanov A.V., Ilyinskaya G.V. et al. The antioxidant function of the p53 tumor suppressor gene. *Nat Med* 2005;11:1306—13.
 26. Bensaad K., Tsuruta A., Selak M.A. et al. TIGAR, a p53-inducible regulator of glycolysis and apoptosis. *Cell* 2006;126:107—20.
 27. Bensaad K., Vouden K.H. p53: new roles in metabolism. *Trends Cell Biol* 2007;17:286—91.
 28. DeBerardinis R.J., Lum J.J., Hatzivassilou G., Thompson C.B. The biology of cancer: metabolic reprogramming fuels cell growth and proliferation. *Cell Metab* 2008;7:11—20.
 29. Bonnet S., Archer S.L., Allalunis-Turner J. et al. A mitochondrial-K⁺ channel axis is suppressed in cancer and its normalization promotes apoptosis and inhibits cancer cell growth. *Cancer Cell* 2007;11:37—51.
 30. Christofk H.R., Vander Heiden M.G., Harris M.H. et al. The M2 splice isoform of pyruvate kinase is important for cancer metabolism and tumor growth. *Nature* 2008;452:230—3.
 31. Fantin V.R., Syt-Pierre J., Leder P. Attenuation of LDH-A expression uncovers a link between glycolysis, mitochondrial physiology, and tumor maintenance. *Cancer Cell* 2006;9:425—34.
 32. Jones R.G., Plas D.R., Kubek S. et al. AMP-activated protein kinase induces a p53-dependent metabolic checkpoint. *Mol Cell* 2005;18:283—93.
 33. Budanov A.V., Karin M. p53 target genes sestrin1 and sestrin2 connect genotoxic stress and mTOR signaling. *Cell* 2008;134:451—60.
 34. Feng Z., Hu W., de Stanchina E. et al. The regulation of AMPK beta1, TSC2, and PTEN expression by p53: stress, cell and tissue specificity, and the role of these gene products in modulating the IGF-1-AKT-mTOR pathways. *Cancer Res* 2007;67:3043—53.
 35. Crighton D., Wilkinson S., O'Prey J. et al. DRAM, a p53-induced modulator of autophagy, is critical for apoptosis. *Cell* 2006;14:121—34.
 36. Matthew R., Karantza-Wadsworth V., White E. Role of autophagy in cancer. *Nat Rev Cancer* 2007;7:961—7.
 37. Tasdemir E., Maiuri M.C., Galluzzi L. et al. Regulation of autophagy by cytoplasmic p53. *Nat Cell Biol* 2008;10:676—87.
 38. Amaravadi R.K., Yu D., Lum J.J. et al. Autophagy inhibition enhances therapy-induced apoptosis in a Myc-induced model of lymphoma. *J Clin Invest* 2007;117:326—36.
 39. Jones R.G., Thompson C.B. Tumor suppressors and cell metabolism: a recipe for cancer growth. *Genes Dev* 2009;23:537—48.
 40. Kawauchi K., Araki K., Tobiume K., Tanaka N. p53 regulates glucose metabolism through an IKK-NF- κ B pathway and inhibits cell transformation. *Nat Cell Biol* 2008;10:611—8.
 41. Ma W., Sung H.J., Park J.Y. et al. A pivotal role for p53: balancing aerobic respiration and glycolysis. *J Bioenerg Biomembr* 2007;39:243—6.
 42. Kondoh H., Leonart M.E., Gil J. et al. Glycolytic enzymes can modulate cellular lifespan. *Cancer Res* 2005;65:177—85.
 43. Christophorou M.A., Ringhausen I., Finch A.J. The pathological p53-mediated response to DNA damage is distinct from p53-mediated tumor suppression. *Nature* 2006;14:214—7.
 44. Efeyan A., Garcia-Cao I., Herranz D. et al. Policing of oncogene activity by p53. *Nature* 2006;443:159.
 45. Berns A. Cancer biology: can less be more for p53? *Nature* 2006;443:153—4.
 46. Liu P., Xu B., Cavalieri T.A., Hock C.E. Pifithrin-alpha attenuates p53-mediated apoptosis and improves cardiac function in response to myocardial ischemia/reperfusion in aged rats. *Shock* 2006;26:608—14.
 47. Montanaro L., Trere D., Derenzini M. Nucleolus, ribosomes, and cancer. *Am J Pathol* 2008;173:301—10.
 48. Jones N.C., Lynn M.L., Gaudenz K. et al. Prevention of the neurocristopathy Treacher Collins syndrome through inhibition of p53 function. *Nat Med* 2008;14:125—33.
 49. Bae B.I., Xu H., Igarashi S. et al. p53 mediates cellular dysfunction and behavioral abnormalities in Huntington's disease. *Neuron* 2005;47:29—41.
 50. Bretau S., Allen C., Ingham P.W., Bandmann O. p53-dependent neuronal cell death in a DJ-1-deficient zebrafish model of Parkinson's disease. *J Neurochem* 2007;100:1626—35.
 51. Culmsee C., Landshamer S. Molecular insights into mechanisms of the cell death program: role in the progression of neurodegenerative disorders. *Curr Alzheimer Res* 2006;3:269—83.
 52. Lanni C., Uberti D., Racchi M. et al. Unfolded p53: a potential biomarker for Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis* 2007;12:93—9.
 53. Di Giovanni S., Knights C.D., Rao M. et al. The tumor suppressor protein p53 is required for neurite outgrowth and axon regeneration. *EMBO J* 2006;25:4084—96.
 54. Aranda-Anzaldo A., Dent M.A. Reassessing the role of p53 in cancer and ageing from an evolutionary perspective. *Mech Ageing Dev* 2007;128:293—302.
 55. Vouden K.H., Lane D.P. p53 in health and disease. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2007;8:275—83.
 56. Derry W.B., Putzke A.P., Rothman J.H. *Caenorhabditis elegans* p53: role in apoptosis, meiosis and stress resistance. *Science* 2001;294:591—5.
 57. Sutcliffe J.E., Brehm A. Of flies and men; p53, a tumour suppressor. *FEBS Lett* 2004;567:86—91.
 58. Piccolo S. p53 regulation orchestrates the TGF- β response. *Cell* 2008;133:767—9.
 59. Meletis K., Wirtz V., Hede S.M. p53 suppresses the self-renewal of adult neural stem cells. *Development* 2006;133:363—9.
 60. Liu Y., Elf S.E., Miyata Y. et al. p53 regulates hematopoietic stem cell quiescence. *Cell Stem Cell* 2009;4:37—48.
 61. Godar S., Ince T.A., Bell G.W. et al. Growth-inhibitory and tumor-suppressive functions of p53 depend on its repression of CD44 expression. *Cell* 2008;134:62—73.
 62. Hu W., Feng Z., Teresky A.K., Levine A.J. p53 regulates maternal reproduction through LIF. *Nature* 2007;450:721—4.
 63. Kay C., Jeyendran R.S., Coulam C.B. p53 tumour suppressor gene polymorphism is associated with recurrent implantation failure. *Reprod Biomed Online* 2006;13:492—6.
 64. Matoba S., Kang J.G., Patino W.D. et al. p53 regulates mitochondrial respiration. *Science* 2006;312:1650—3.
 65. Arum O., Johnson T.E. Reduced expression of the *Caenorhabditis elegans* p53 ortholog cep-1 results in increased longevity. *J Gerontol Biol Sci Med Sci* 2007;62:951—9.
 66. Bauer J.H., Poon P.C., Glatt-Deeley H. et al. Neuronal expression of p53 dominant-

- negative proteins in adult *Drosophila melanogaster* extends life span. *Curr Biol* 2005;15:2063–8.
67. Matheu A., Maraver A., Klatt P. et al. Delayed ageing through damage protection by the Arf/p53 pathway. *Nature* 2007;448:375–9.
68. Feng Z., Hu W., Teresky A.K. et al. Declining p53 function in the aging process: a possible mechanism for the increased tumor incidence in older populations. *Proc Natl Acad Sci USA* 2007;104:16633–8.
69. Moll U.M., Wolff S., Speidel D., Deppert W. Transcription-independent proapoptotic functions of p53. *Curr Opin Cell Biol* 2005;17:631–6.
70. Schuler M., Green D.R. Transcription, apoptosis and p53: catch-22. *Trends Genet* 2005;21:182–7.
71. Chipuk J.E., Bouchier-Hayes L., Kuwana T. et al. PUMA couples the nuclear and cytoplasmic proapoptotic function of p53. *Science* 2005;309:1732–5.
72. Riley T., Sontag E., Chen P., Levine A. Transcriptional control of human p53-regulated genes. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2008;9:402–12.
73. Hoh J., Jin S., Parrado T. et al. The p53MH algorithm and its application in detecting p53-responsive genes. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002;99:8467–72.
74. Miled C., Pontoglio M., Garbay S. et al. A genomic map of p53 binding sites identifies novel p53 targets involved in an apoptotic network. *Cancer Res* 2005;65:5096–104.
75. Sbsa E., Catalano D., Grillo G. et al. p53FamTaG: a database resource of human p53, p63 and p73 direct target genes combining in silico prediction and microarray data. *BMC Bioinformatics* 2007;8(Suppl. 1):S20.
76. Cawley S., Bekiranov S., Ng H.H. et al. Unbiased mapping of transcription factor binding sites along human chromosomes 21 and 22 points to widespread regulation of noncoding RNAs. *Cell* 2004;116:499–509.
77. Hearn J.M., Mays D.J., Schavolt K.L. et al. Chromatin immunoprecipitation-based screen to identify functional genomic binding sites for sequence-specific transactivators. *Mol Cell Biol* 2005;25:10148–58.
78. Smeenk L., van Heeringen S.J., Koepfel M. et al. Characterization of genome-wide p53-binding sites upon stress response. *Nucleic Acids Res* 2008;36:3639–54.
79. Jordan J.J., Menendez D., Inga A. et al. Noncanonical DNA motifs as transactivation targets by wild type and mutant p53. *PLoS Genet* 2008;4:e1000104.
80. Imbriano C., Gurtner A., Cocchiarella F. et al. Direct p53 transcriptional repression: in vivo analysis of CCAAT-containing G2/M promoters. *Mol Cell Biol* 2005;25:3737–51.
81. Laptenko O., Prives C. Transcriptional regulation by p53: one protein, many possibilities. *Cell Death Differ* 2006;13:951–96.
82. Lohr K., Moritz C., Contente A., Dobbstein M. p21/CDKN1A mediates negative regulation of transcription by p53. *J Biol Chem* 2003;278:32507–16.
83. Shats I., Milyavsky M., Tang X. et al. p53-dependent down-regulation of telomerase is mediated by p21waf1. *J Biol Chem* 2004;279:50976–85.
84. Tang X., Milyavsky M., Shats I. et al. Activated p53 suppresses the histone methyltransferase EZH2 gene. *Oncogene* 2004;23:5759–69.
85. Esteve P.O., Chin H.G., Pradhan S. Molecular mechanisms of transactivation and doxorubicin-mediated repression of survivin gene in cancer cells. *J Biol Chem* 2007;282:2615–25.
86. Zaky A., Busso C., Izumi T. et al. Regulation of the human AP-endonuclease (APE1/Ref-1) expression by the tumor suppressor p53 in response to DNA damage. *Nucleic Acids Res* 2008;36:1555–66.
87. Matsui T., Katsuno Y., Inoue T. et al. Negative regulation of Chk2 expression by p53 is dependent on the CCAAT-binding transcription factor NF-Y. *J Biol Chem* 2004;279:25093–100.
88. Wilkinson D.S., Tsai W.W., Schumacher M.A., Barton M.C. Chromatin-bound p53 anchors activated Smads and the mSin3A corepressor to confer transforming-growth-factor-beta-mediated transcription repression. *Mol Cell Biol* 2008;28:1988–98.
89. Johnson R.A., Ince T.A., Scotto K.W. Transcriptional repression by p53 through direct binding to a novel DNA element. *J Biol Chem* 2001;276:27716–20.
90. McKinney K., Mattia M., Gottifredi V., Prives C. p53 linear diffusion along DNA requires its C terminus. *Mol Cell* 2004;16:413–24.
91. Tafvizi A., Huang F., Leith J.S. et al. Tumor suppressor p53 slides on DNA with low friction and high stability. *Biophys J* 2008;95:L01–L03.
92. Augustyn K.E., Merino E.J., Barton J.K. A role for DNA-mediated charge transport in regulating p53: Oxidation of the DNA-bound protein from a distance. *Proc Natl Acad Sci USA* 2007;104:18907–12.
93. Bourdon J.C., Fernandes K., Murray-Zmijewski F. et al. p53 isoforms can regulate p53 transcriptional activity. *Genes Dev* 2005;19:2122–37.
94. Wei G., Li A.G., Liu X. Insights into selective activation of p53 DNA binding by c-Abl. *J Biol Chem* 2005;280:12271–8.
95. Sullivan A., Lu X. ASPP: a new family of oncogenes and tumour suppressor genes. *Br J Cancer* 2007;96:196–200.
96. Das S., Raj L., Zhao B. et al. Determines cell survival upon genotoxic stress by modulating p53 transactivation. *Cell* 2007;130:624–37.
97. McLure K.G., Takagi M., Kastan M.B. NAD+ modulates p53 DNA binding specificity and function. *Mol Cell Biol* 2004;24:9958–67.

Поступила 24.11.09



Уважаемые читатели!

Журнал «Научно-практическая ревматология»

выходит раз в 2 месяца (6 выпусков в год).

Подписка на журнал — через каталог «Газеты, журналы» агентства «Роспечать».

Подписной индекс — 36896.