

53BP1 在妇科恶性肿瘤中的研究进展

诸海燕 赵楚楚 朱雪琼

摘要 p53 结合蛋白 1(p53-binding proteins 1, 53BP1) 由于能快速地聚集在 DNA 双链断裂部位, 被认为是内源性 DNA 双链损伤的标记分子之一。近年来的研究认为, 53BP1 基因参与恶性肿瘤的发生、发展。本文就 53BP1 在妇科恶性肿瘤的发生、发展、放化疗敏感度、预后评估中的作用的进展进行综述。

关键词 p53 结合蛋白 1 卵巢癌 宫颈癌 输卵管癌 子宫肉瘤

中图分类号 R737

文献标识码 A

DOI 10.11969/j.issn.1673-548X.2015.10.055

p53 结合蛋白 1(p53-binding proteins 1, 53BP1) 是由 Iwabuchi 等于 1994 年通过酵母双杂交筛选获得的与 p53 相互作用的蛋白^[1]。其基因定位于人类染色体 15q15~21, 有 11.0kb 和 6.6kb 两种转录本, 该基因编码的蛋白质由 1972 个氨基酸残基组成, 与 p53 的 DNA 结合部分相作用, 从而增强 p53 介导的目的基因的转录启动^[2]。

53BP1 生理功能广泛, 由于能快速地聚集在 DNA 双链断裂部位并形成核聚, 53BP1 被认为是内源性 DNA 双链损伤的标志物分子之一。53BP1 不仅参与 DNA 损伤修复反应, 而且调控细胞周期, 可致 DNA 发生损伤的细胞产生周期阻滞并增加细胞凋亡率, 从而避免基因组遗传信息的不稳定而阻断肿瘤的发生。真核生物中的 DNA 损伤修复途径主要包括同源重组(HR)和非同源末端连接路径(NHEJ), 近年研究表明, 在细胞周期的 G₁ 期及 S/G₂ 期选择哪条途径来修复受损伤的 DNA 时, 53BP1 扮演了重要角色, 53BP1 缺失将引起细胞周期阻滞在 G₂/M 阶段, 并引起基因不稳定^[3]。近年来有研究认为 53BP1 基因作为一个潜在的抑癌基因参与恶性肿瘤的发生、发展, 从正常细胞、癌前病变到肿瘤的发生、发展过程中, 53BP1 表达减少甚至失活, 细胞凋亡率降低^[4]。

一、53BP1 与卵巢癌

1. 53BP1 在卵巢癌发生、发展中的作用: 研究发现各级别卵巢肿瘤原代细胞中均存在不同程度的 53BP1 核聚, 且随着肿瘤细胞恶性程度的增加, 53BP1

核聚逐渐增多(低分化癌 > 中分化癌 > 高分化癌 > 交界性浆液性囊腺瘤)^[5]。体内试验发现 53BP1 也可以抑制上皮性卵巢癌细胞的裸鼠致瘤能力, 并认为 53BP1 可能通过抑制 pAkt 及其通路蛋白的表达, 促进上皮性卵巢癌细胞的凋亡及周期阻滞, 抑制侵袭, 从而抑制上皮性卵巢癌发生、发展^[6]。

BRCA1(breast cancer susceptibility gene 1) 是一个已发现的与卵巢癌关系极为密切的基因。真核生物中的 DNA 损伤修复途径主要包括同源重组(HR)和非同源末端连接路径(NHEJ), 有缺陷的 HR 是 BRCA1 基因突变引起肿瘤发生的主要因素, 而 53BP1 可以抑制这种有缺陷的 HR, 从而减低肿瘤的发生^[7]。Rauch 等^[8]在体内、外实验均证明 53BP1 可以正向调控 BRCA1。Pennington 等^[9]发现携带野生型以及 BRCA1 突变卵巢癌组中 53BP1 的 mRNA 水平与 BRCA1 的 mRNA 明显相关, 携带 BRCA1 突变卵巢癌组织中 53BP1 蛋白表达明显增高, 53BP1 蛋白的高表达可以加强 NHEJ, 这解释了携带 BRCA1 突变基因卵巢癌的染色体畸变频繁发生的原因。

为研究 53BP1 基因与卵巢癌的易感性是否存在相关性, Rapakko 等^[10]系统筛查了芬兰 126 个乳腺癌和(或)卵巢癌家族的 53BP1 基因的编码区的突变情况, 共发现 11 个 53BP1 基因种系, 其中 6 个变异型出现在外显子, 另外 5 个出现在内含子, 但这些突变均不处于重要功能域, 都不影响拼接序列的一致性, 因此认为家族型的卵巢癌和乳腺癌中虽然存在大量的 53BP1 基因的变异型, 但与肿瘤易感性并无关联。

2. 53BP1 与卵巢癌放、化疗的关系: 放、化疗杀死肿瘤细胞的主要机制是通过产生 DNA 损伤或者促进细胞周期阻滞及增加细胞凋亡^[11]。研究已证实 53BP1 缺失小鼠的放疗敏感度明显增加, 因此 53BP1

基金项目: 浙江省高层次创新人才基金资助项目; 温州市科技计划项目(Y20140345)

作者单位: 325027 温州医科大学附属第二医院妇产科

通讯作者: 朱雪琼, 电子信箱 zjwzzxq@163.com

与卵巢癌放疗、化疗敏感度的研究成为研究的热点^[2]。王思等^[5]研究发现 53BP1 参与的 ATM 通路对于离子射线(X 光)诱导的 DNA 损伤迅速激活,并可有效启动损失应答机制,促进损伤修复,上皮性卵巢肿瘤强大的细胞周期检测点激活能力及 DNA 损伤修复能力可能是其对放射治疗不敏感的原因之一,因此认为可以通过放大或者减少 DNA 损伤应答级联反应中关键蛋白的活性,如 53BP1,改善放疗的效果。贾月改等^[12]在对 14 例新鲜卵巢组织的研究中发现,透明细胞腺癌中存在大量内源性 DNA 损伤,诱使 53BP1 异常激活募集到损伤位点,阻碍了 ATM 对 H2AX 的磷酸化,因此不能对射线造成的 DNA 损失产生有效应答。因此,认为 53BP1 活性与卵巢癌细胞的放疗敏感并有一定的关联。

对于 53BP1 是否与卵巢癌的化疗敏感度相关,存在不同意见。多数研究者认为 53BP1 高表达与卵巢癌的化疗敏感相关^[13~15]。Pan 等^[13]运用定量蛋白组学和完整的微阵列数据分析了化疗敏感的和化疗耐药的卵巢癌组织中差异蛋白,发现 53BP1 在化疗敏感的卵巢癌组织中表达是上调的。而 Hong 等^[6]则存在不同意见,提出 53BP1 高表达可逆转上皮性卵巢癌细胞的恶性行为,但却增加了对顺铂的耐药性,认为 53BP1 过表达能够增加细胞内 p-Akt 蛋白水平,降低 Bax/Bcl-2 及 p21^{waf1/cip1}的表达量,从而使细胞对于顺铂的耐药性增加。Pennington 等^[9]却发现在原发性卵巢癌中 53BP1 低表达与顺铂的耐药无关。因此,卵巢癌中 53BP1 与化疗敏感度的关系尚待进一步研究。

3. 53BP1 与卵巢癌预后的关系:Pennington 等^[9]的研究发现,在携带野生型 BRCA1 基因的卵巢癌中,低 53BP1 mRNA 预示较高的生存率,而在携带 BRCA1 突变基因卵巢癌中其 53BP1 mRNA 的表达与预后无关。

二、53BP1 与宫颈癌

1. 53BP1 在宫颈癌发生、发展中的作用:笔者的前期研究发现^[16],53BP1 核聚水平在正常宫颈组织,宫颈上皮内瘤变及宫颈癌组织中逐渐递增,宫颈癌及 CIN 的 53BP1 核聚水平明显高于正常宫颈组织,结果与 Matsuda 等^[17]的研究相似,认为免疫荧光法检测 53BP1 表达可以作为一种评估基因组不稳定性水平以及宫颈癌恶性潜能的有效工具。周熹等^[18]应用免疫组化法也得到了类似的结果,认为 53BP1 蛋白弥漫阳性可作为预测宫颈病变进展的一个有效的标志

物。在笔者的前期研究中,还发现在 60 例宫颈癌组织中除了 2 例 53BP1 缺失型外,均呈现高 DDR 型及强 DDR 型^[16]。在人宫颈癌 HeLa 和 Caski 细胞株中,53BP1 核聚表达分别呈强 DDR 型和高 DDR 型,进一步研究发现宫颈癌组织中 53BP1 mRNA 相对表达量明显低于正常宫颈组织,部分病例甚至存在基因缺失。因此认为,内源性 DNA 双链损伤较早出现在宫颈癌癌前病变,且随着宫颈病变进程而逐渐增多,这些损伤将诱导 53BP1 从核内的弥散分布状态快速地聚集在 DNA 双链断裂部位并形成核聚,而宫颈恶性肿瘤中由于 53BP1 明显减少甚至缺失,使这些 DNA 损伤不能及时被识别并修复,导致染色体不稳定性,从而诱发肿瘤发生。

高危型 HPV 持续感染,是宫颈癌发生的主要危险因素。Matsuda 等^[17]研究发现 53BP1 核聚的分布与原位杂交中 HPV 斑点状信号,以及与 CIN 中 p16^{INK4a}的过表达相似,表明 53BP1 核聚水平和 HPV 感染以及 p16^{INK4a}高表达相关,认为其可能与 HPV 感染以及复制相关。笔者的前期研究发现,53BP1 核聚水平与宫颈 HPV 感染呈正相关,而 53BP1 基因表达下降与 HPV 感染呈负相关,考虑可能与 53BP1 等 DNA 损伤修复缺失会增加 E7 驱动的宫颈癌的易感性有关^[19,20]。Roosink 等研究发现 53BP1 缺失可导致 MDM2 和 p21(p53 的靶基因)表达完全缺失,提示在宫颈癌细胞中 p53 的残余活性依赖于 53BP1。

Oliveira 等运用 TaqMan[®] SNP 基因分型回顾性分析了 429 例宫颈组织中 ATM G5557A 和 53BP1 C1236G 多态性与宫颈癌易感性的相关性,结果发现 ATM 5557GG 纯合子增加了低度鳞状上皮内病变的风险,而 53BP1 1236C > G 多态性则与之无关。进一步研究发现 53BP1 1236C 等位基因增加了低度鳞状上皮内病变的风险。提示 53BP1 C1236G 位点可能与宫颈癌的遗传易感性无关,但携带 53BP1 1236C 等位基因明显增加低度鳞状上皮内病变风险。

2. 53BP1 与宫颈癌放疗的相关性:Roosink 等研究发现抑制 53BP1 不能增加宫颈癌细胞放疗的敏感度,认为 53BP1 作为预测宫颈癌放疗敏感度的依据不足。

3. 53BP1 与宫颈癌预后相关性:Roosink 等的研究发现 53BP1 与宫颈癌的临床病理特征以及预后并无相关。而笔者的前期研究发现,53BP1 mRNA 表达水平虽然与宫颈癌的病灶大小和临床分期无明显相关,但是在宫颈癌高分化组中 53BP1 mRNA 相对表

达水平明显高于低分化组,而在无淋巴结转移组中的相对表达水平明显高于淋巴结转移组^[16]。

三、53BP1 与输卵管癌

研究表明,53BP1 在输卵管的发生、发展中同样起重要作用。Chene 等通过免疫组化法分别分析了 21 例良性输卵管组织,21 例浆液性输卵管上皮内癌,17 例高分化浆液性卵巢癌合并浆液性输卵管上皮内癌,30 例高分化浆液性卵巢癌不合并浆液性输卵管上皮内癌组织中 53BP1 蛋白表达情况,结果发现从良性输卵管组织到浆液性输卵管上皮内癌 53BP1 的表达逐渐增高,53BP1 基因的不稳定较早出现在高分化浆液性卵巢癌的癌前病变中,53BP1 参与的 DNA 损伤修复通路的激活在浆液性输卵管上皮内癌的发生发展中起一定作用。

四、53BP1 与子宫肉瘤

沙利霉素近年来被认为可以抑制各种肿瘤干细胞, Kim 等通过免疫细胞化学法检测了人子宫肉瘤细胞 MES-SA 中 53BP1 核聚,结果发现加入沙利霉素处理后 53BP1 核聚增加,进一步研究发现沙利霉素联合阿霉素和依托泊苷,磷酸化的 53BP1 水平明显增高,认为沙利霉素通过增加磷酸化的 53BP1 等 DNA 损伤相关蛋白从而增强阿霉素和依托泊苷化疗敏感度。研究结果表明 53BP1 与妇科恶性肿瘤的发生、发展相关,与放、化疗的敏感度相关,且对患者的预后评估提供帮助。

参考文献

- Guerra B, Iwabuchi K, Issinger OG. Protein kinase CK2 is required for the recruitment of 53BP1 to sites of DNA double-strand break induced by radiomimetic drugs [J]. *Cancer Lett*, 2014, 345(1):115-123
- Ward IM, Difilippantonio S, Minn K, *et al*. 53BP1 cooperates with p53 and functions as a haploinsufficient tumor suppressor in mice [J]. *Mol Cell Biol*, 2005, 25(22):10079-10086
- Gupta A, Hunt CR. Role of 53BP1 in the regulation of DNA double-strand break repair pathway choice [J]. *Radiat Res*, 2014, 181(1):1-8
- Carr SM, Munro S, Zalmas LP, *et al*. Lysine methylation-dependent binding of 53BP1 to the pRb tumor suppressor [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2014, 111(31):11341-1146
- 王思, 郭莲娣, 贾月改. 上皮性卵巢癌细胞原代培养及放化疗相关的 dna 损伤应答机制的研究 [J]. *四川大学学报:医学版*, 2014, 45(2):185-191
- Hong S, Li X, Zhao Y, *et al*. 53BP1 suppresses tumor growth and promotes susceptibility to apoptosis of ovarian cancer cells through modulation of the Akt pathway [J]. *Oncology Reports*, 2012, 27(4):1251-1257
- Chapman JR, Barral P, Vannier JB, *et al*. RIF1 is essential for 53BP1-dependent nonhomologous end joining and suppression of DNA double-strand break resection [J]. *Mol Cell*, 2013, 49(5):858-871
- Rauch T, Zhong X, Pfeifer GP, *et al*. 53BP1 is a positive regulator of the BRCA1 promoter [J]. *Cell Cycle*, 2005, 4(8):1078-1083
- Pennington KP, Wickramanayake A, Norquist BM, *et al*. 53BP1 expression in sporadic and inherited ovarian carcinoma: relationship to genetic status and clinical outcomes [J]. *Gynecol Oncol*, 2013, 128(3):493-499
- Rapakko K, Heikkinen K, Karppinen SM, *et al*. Germline alterations in the 53BP1 gene in breast and ovarian cancer families [J]. *Cancer Lett*, 2007, 245(1-2):337-340
- Ahmed N, Abubaker K, Findlay J. Epithelial mesenchymal transition and cancer stem cell-like phenotypes facilitate chemoresistance in recurrent ovarian cancer [J]. *Current cancer drug targets*, 2010, 10(3):268-278
- 贾月改, 杨月明, 左斌, 等. 卵巢透明细胞腺癌 dna 损伤应答反应 [J]. *四川大学学报:医学版*, 2012, 43(3):331-334
- Pan S, Cheng L, White JT, *et al*. Quantitative proteomics analysis integrated with microarray data reveals that extracellular matrix proteins, catenins, and p53 binding protein 1 are important for chemotherapy response in ovarian cancers [J]. *OMICS*, 2009, 13(4):345-354
- Johnson N, Johnson SF, Yao W, *et al*. Stabilization of mutant BRCA1 protein confers PARP inhibitor and platinum resistance [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2013, 110(42):17041-17046
- Andrew JW, Anum SL, Erika W, *et al*. Romidepsin (FK228) combined with cisplatin stimulates DNA damage-induced cell death in ovarian cancer [J]. *Gynecol Oncol*, 2013, 128(3):493-499
- Zhu H, Yan H, Jin W, *et al*. The staining patterns of 53BP1 nuclear foci and 53BP1 mRNA level are associated with cervical cancer progression and metastasis [J]. *Int J Gynecol Pathol*, 2014, 33(3):241-247
- Matsuda K, Miura S, Kurashige T, *et al*. Significance of p53-binding protein 1 nuclear foci in uterine cervical lesions: endogenous DNA double strand breaks and genomic instability during carcinogenesis [J]. *Histopathology*, 2011, 59(3):441-451
- 周熹, 何家玉. 53BP1 在宫颈鳞状细胞癌及其癌前病变中的表达 [J]. *临床与实验病理学杂志*, 2012, 28(7):772-774
- 诸海燕, 金经纬, 胡燕, 等. 53BP1 在宫颈癌组织中的表达及其与 p53 和 HPV 感染的关系 [J]. *医学研究杂志*, 2013, 42(2):124-127
- Park JW, Shin MK, Lambert PF. High incidence of female reproductive tract cancers in FA-deficient HPV16-transgenic mice correlates with E7's induction of DNA damage response, an activity mediated by E7's inactivation of pocket proteins [J]. *Oncogene*, 2014, 33(26):3383-3391

(收稿日期:2014-12-27)

(修回日期:2015-01-07)