

鼠双微染色体 2 作为肿瘤治疗新靶点的研究进展

王多多, 翁勤洁, 张 蕾, 何俏军, 杨 波*

(浙江大学药学院药理毒理与生化药理学研究所, 浙江 杭州 310058)

摘要: 鼠双微染色体 2 (*mdm2*) 是一种进化保守的癌基因, 其编码蛋白参与细胞调控的多条通路, 在肿瘤的发生和发展过程中发挥重要作用。很多人类肿瘤中都存在着 *mdm2* 基因扩增和(或)MDM2 蛋白的过度表达。MDM2 主要通过 P53 蛋白中 Phe¹⁹, Trp²³ 和 Leu²⁶ 位点的结合参与 MDM2-P53 作用的负反馈环。P53 蛋白可以促进 MDM2 的表达, 而 MDM2 则可以通过与 P53 蛋白的结合介导其出核, 减弱其转录活性, 并促进其降解, 发挥 P53 依赖性的 MDM2 活性作用。同时, MDM2 还可以通过与 P21 蛋白、早幼粒细胞白血病蛋白、成视网膜细胞瘤蛋白 Rb 等的结合而不依赖于 P53 促进肿瘤的生长。低氧环境及肿瘤抑制因子 PTEN、抑癌蛋白 ARF 等刺激因子均可以通过对 MDM2 的活性调控影响 MDM2 的功能发挥。在此基础上, 针对 MDM2-P53 之间相互作用的化合物研究受到了较大关注。其中 MDM2 特异性拮抗剂 nutlins 高度模拟了 P53 肽段进而与 P53 竞争结合 MDM2 表面的 P53 口袋域, 干扰 MDM2-P53 的相互作用, 从而导致了 P53 的稳定以及 P53 通路的激活。关于 nutlins 在肿瘤细胞周期、凋亡、新生血管形成及药物合用等方面的研究结果表明, 其作为分子工具可有效地抑制或阻断 MDM2 作用, 为肿瘤的治疗提供了全新的思路和策略。

关键词: 原癌基因蛋白质 c-mdm2; 肿瘤抑制蛋白 P53; 肿瘤; nutlins

中图分类号: R730

文献标识码: A

文章编号: 1000-3002(2009)03-0232-05

DOI: 10.3867/j.issn.1000-3002.2009.03.012

鼠双微染色体 2 (murine double minute 2, *mdm2*) 基因最初由 Cahilly-Snyder 等^[1] 在 1987 年从荷自发肿瘤小鼠 BALB/c 3T3 成纤维细胞系 3T3DM 中鉴定出来, 很多人类肿瘤中都存在着 *mdm2* 基因扩增和(或)MDM2 蛋白的过度表达。大量研究表明, MDM2 是 P53 肿瘤抑制功能的主要调节者, 两者之间存在着一个自动调节的负反馈环^[2-6]。P53 蛋白作为转录因子可以促进 MDM2 的表达, 而 MDM2 则可以通

过与 P53 的结合介导其出核, 减弱其转录活性, 并促进其降解。除此之外, MDM2 还可以与 P21 蛋白、早幼粒细胞白血病 (promyelocytic leukemia, PML) 蛋白和成视网膜细胞瘤蛋白 (retinoblastoma protein, Rb) 等多种蛋白结合, 发挥 P53 非依赖性的作用, 参与到细胞增殖及凋亡调控过程的多条通路^[7]。因此, MDM2 被认为是肿瘤治疗中的潜在靶标, 已经成为目前肿瘤治疗研究的热点。其中 MDM2 和 P53 相互作用的小分子抑制剂的研究是肿瘤治疗的一个新策略, 具有广阔的应用前景。

1 依赖 P53 的 MDM2 活性

P53 是一个在多种应激条件下可以被激活的潜在的转录因子, 有包括转录活性区域、N 端富含脯氨酸的区域、DNA 的结合位点以及在 C 端存在的 1 个四聚化区和 1 个规则调节区域在内的多个位点。这种结构允许 P53 蛋白的四聚化、与 DNA 结合并调节不同基因的表达而发挥不同的生物学功能。

MDM2 与 P53 之间的作用由 Momand 等^[8] 首先提出, 其相互作用通过免疫沉淀实验被证实, 两者之间的作用位点也已经得到阐明。通过 *p53* 基因的部分缺失和突变, 发现 MDM2 结合在 P53 N 端的转录活性区域。对 P53 N 端 11 个氨基酸和 MDM2 N 端 109 个氨基酸片段形成的复合物晶体进行 X 衍射分析结果表明, MDM2-P53 结合界面的表面积为 14.98 nm², 二者之间主要以疏水作用结合。MDM2 疏水裂隙界面上排列有 14 个芳香性和疏水性氨基酸, P53 的疏水面与 MDM2 螺旋结合, 另一侧则与 MDM2 的折叠接近, 使 Phe¹⁹, Trp²³ 和 Leu²⁶ 深深嵌入到 MDM2 的疏水裂隙中, 同时结合界面还有 2 处分子间的氢键相连。研究表明, 有 3 种翻译后修饰, 包括磷酸化、寡聚化及与其他蛋白的结合影响 MDM2-P53 的相互作用^[9]。MDM2 的磷酸化, 如 MDM2 在 Ser¹⁷ 位上被 DNA 依赖性蛋白激酶 (DNA-dependent protein kinase, DNA-PK) 磷酸化, 在 Ser¹⁶⁶ 和 Ser¹⁸⁶ 位上被丝/苏氨酸激酶蛋白激酶 B (又被称为 Akt) 磷酸化, 均可调控 MDM2-P53 复合物的形成^[10]。P53 蛋白寡聚化是 MDM2 与 P53 蛋白结合以及 MDM2 介导的 P53 蛋白降解所必需的, 而 P53 蛋白寡聚化能使 N 端形成一个稳定构象, 增加对 MDM2 的亲合力。

在上述的结构基础上, MDM2 一个非常重要的作用就是抑制野生型 *p53* 的激活转录功能和抗肿瘤活性。正常情况下 MDM2 和 P53 在细胞内的表达维持在一个较低水平。在 DNA 发生损伤时, 细胞内 P53 水平升高, 激活 *mdm2* 基因转录, 增强其蛋白表达; 而 MDM2 编码蛋白中含有的 P53 的口袋结合域可以特异性地结合到 P53 上, 抑制 P53 的转录调控

收稿日期: 2008-04-02 接受日期: 2008-09-16

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(30672484)

作者简介: 王多多(1986-), 女, 浙江省衢州人, 硕士研究生, 研究方向为肿瘤药理学; 杨波(1971-), 女, 博士, 教授, 博士生导师, 主要从事肿瘤药理学研究。

* 联系作者 E-mail: yang924@zju.edu.cn Tel: (0571)

88208400 Fax: (0571)88208400

功能,参与 P53 向核外转运的调控过程^[11],并能 * 作为 E3 酶使 P53 蛋白经由泛素化途径降解^[12-14],使之不可逆地失活。对 P53 和 MDM2 的翻译后修饰、亚细胞再分布及 MDM2 活性的抑制均可以促使 P53 快速积聚,防止细胞发生恶性生长。而细胞内 MDM2 的过表达则能够阻止 P53 与转录调节蛋白的相互作用,促进 P53 的泛素化降解,降低 P53 的抗肿瘤作用。

2 非依赖 P53 的 MDM2 活性

除了能够与 P53 结合外,MDM2 还可以和其他的细胞蛋白相作用,即具有不依赖于 P53 而促进肿瘤生长的作用。

p21 是 P53 通路中的下游基因,其编码蛋白可以介导细胞周期阻滞及凋亡并增加肿瘤细胞对化疗的敏感性。作为 P21 的负性调节因子,MDM2 可以通过 180~298 位的氨基酸与 P21 中 20S 蛋白酶体的 C8 亚基结合,绕过 P53 通路直接作用于 P21,引起蛋白酶体介导的 P21 降解,降低 P21 蛋白的稳定性^[15-16]。MDM2 与 P21 之间的这种作用不需要其他蛋白的参与,在体内、体外实验中均可以检测到。当 MDM2 水平降低后(如应用反义技术敲除 *mdm2*),P21 蛋白的表达增加并介导细胞周期阻滞,且在不同的肿瘤细胞中产生化学增敏作用,该作用和 P53 的状态无关^[17]。相反,MDM2 的过表达会导致 P21 蛋白水平明显降低。

PML 蛋白是一个广谱的肿瘤生长抑制因子,能够抑制多种肿瘤细胞及癌性转化细胞的生长及致瘤性。与 MDM2 降低 P53 蛋白的作用相反,PML 通过聚集 P53 形成与核基质结合的、动态的、亚核多蛋白复合物如早幼粒细胞白血病-核体(PML-nuclear bodies, PML-NB)促进 P53 的活性。MDM2 结构的中心区域可以和 PML 上 300~633 位氨基酸残基编码的羧基端相结合,其环指(ring finger)可以和 PML 上 100~200 位氨基酸残基编码的环指相结合,而 PML 蛋白的泛素化修饰可以抑制这两者之间的相互作用^[18]。与 MDM2 抑制 P53 相似的是,PML 可以被 MDM2 从核内向核外的易位所抑制。MDM2 通过抑制 PML 的功能来促进 GAL4-CBP 融合蛋白的转录活性,且 MDM2 与 PML 在体内的相互作用是非 P53 依赖性的。关于 MDM2 调控 PML 蛋白的活性及定位在 PML 蛋白抑制肿瘤功能方面仍需深入研究。

Bianco 等^[19]报道,第 2 代的杂化反义寡核苷酸药物反义 MDM2 可以抑制前列腺肿瘤细胞中血管内皮细胞生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)的表达,同时磷酸化 Rb 蛋白、磷酸化丝裂原活化蛋白激酶(mitogen activated protein kinase, MAPK)及磷酸化 Akt 的表达也被抑制,表明 MDM2 通路参与了细胞增殖调控机制。其中,磷酸化 Rb 是一种肿瘤抑制蛋白,在细胞周期调控中处于中心环节。MDM2 的酸性区域和锌指结构能与磷酸化 Rb 结合,抑制抑癌 *Rb* 基因的生长抑制活性,发挥生长调控功能。MDM2 也可与 Rb 蛋白相关的 E2F1 蛋白以及 E2F1 相关的 DP1 蛋白结合,通过增强 MDM2-E2F1/DP1 复合体的形成,促进 E2F 相关基因的表达,使细胞由 G₁ 期进入 S 期,加快了细胞的分裂与增殖。另外,MDM2 可能结合启动整个细胞周期的基因

启动子,使细胞从 G₁ 期向 S 期转化。

3 影响 MDM2 活性的若干因素

3.1 低氧

据文献报道,低氧可以通过抑制 MDM2 的表达或者 MDM2 与 P53 的作用来诱导 P53 水平的升高^[20]。在许多细胞株中,低氧条件可以非依赖 P53 地增强 MDM2 表达^[21]。该作用可能与细胞特异性有关,尚待进一步研究。

3.2 肿瘤抑制因子 PTEN

肿瘤抑制因子 PTEN(phosphatase and tensin homologue deleted on chromosome ten)可以通过磷脂酰肌醇-3 激酶-Akt(phosphatidylinositol-3 kinase/Akt, PI₃K/Akt)依赖性或非依赖性 2 种方式抑制 MDM2 的相关活性。研究表明,MDM2 需要定位到细胞核才能与 P53 相作用,而 PI₃K/Akt 信号可以磷酸化 MDM2,这对于 MDM2 从细胞质移位进入细胞核是必需的^[10]。PTEN 可以抑制 PI₃K/Akt 信号通路,导致 MDM2 在细胞质内的聚集,削弱 MDM2 与 P53 结合的能力。共转染实验结果表明,PTEN 并没有直接作用于 MDM2 的调节。另外,免疫共沉淀分析发现,PTEN 也可以直接结合 P53 抑制 MDM2 的作用,消除 MDM2 介导的 P53 功能抑制。而 PTEN 的缺失将会激活 MDM2 介导的抗凋亡机制,引起细胞产生凋亡抵抗。

3.3 抑癌蛋白 ARF

抑癌蛋白 ARF 是细胞周期素依赖蛋白激酶 4 抑制蛋白 P16INK4 α 可变读码框(alternative reading frame, ARF)基因所编码的一种蛋白质。它是一种细胞周期抑制剂,可以通过与 MDM2 的结合来抑制 MDM2 的泛素连接酶活性。ARF 还可能与 MDM2 及 P53 形成三体复合物,进而阻止 MDM2 和 P53 从核中运出,从而提高了 P53 的稳定性。

3.4 其他因素

MAPK 通路也参与了对 MDM2 水平的调节。据报道,小鼠成纤维细胞中,Ras-Raf-MEK-MAPK 通路信号级联放大可以诱导 MDM2 在 mRNA 及蛋白表达水平上的增加^[22]。其他细胞因子,如胰岛素样生长因子 1(insulin-like growth factor 1)可以通过 P38/MAPK 通路抑制 MDM2-P19ARF 复合物的联系,调节对 *mdm2* 转录活性的影响^[23];核转录因子 κ B(nuclear factor- κ B, NF- κ B)可以通过激活 MAPK 途径,对包括低氧在内的一些紧张因素起反应,进而增加 *mdm2* 的转录水平。NF- κ B 的活化激活包括细胞外信号调节激酶, P38/MAPK 通路也有报道^[24]。另外,NF- κ B 活性的抑制还与非依赖 P53 的 E2F1 的凋亡活性相关。

4 以 MDM2 为靶点的抑制剂 nutlins

虽然大约有 50% 的人类肿瘤细胞中表达了野生型 p53,但是由于 P53 信号通路中不正常的调节,使得 P53 不能完全发挥其抗肿瘤的功能。当 P53 与 MDM2 的结合被抑制时,MDM2 就不能对 P53 进行有效的负反馈调节,从而使 P53 发挥其抗肿瘤的功能。因此,抑制 P53 与 MDM2 的结合是一种很有应用前景的抗肿瘤策略。

目前已报道的针对 MDM2-P53 之间相互作用而发现或设计得到的化合物大致可分为 3 类:①多肽及其类似物;②利用基因工程对野生型 *p53* 基因进行结构改造,使新产生的 P53 蛋白不与 MDM2 蛋白结合;③非肽小分子干扰 MDM2-P53 的相互作用。其中,于 2004 年发现的一系列能够特异性结合 MDM2 进而激活 P53 通路的顺式咪唑啉类似物 nutlins 受到了广泛的关注。体内外研究发现,该类小分子化合物能有效地干扰 MDM2-P53 的相互作用,可以导致细胞周期阻滞、凋亡从而发挥抗肿瘤作用。移植骨肉瘤 SJSA-1 的裸鼠给予 nutlins 200 mg·kg⁻¹,每日 2 次,连用 20 d,肿瘤完全消失,且与 MDM2 反义寡核苷酸相比细胞毒作用较小^[11]。目前,关于 nutlins 的研究主要有以下几个方面。

4.1 Nutlins 与 MDM2 的作用方式

研究报道,nutlins 作为 MDM2 的小分子抑制剂,高度模拟了 P53 肽段的作用,其咪唑啉结构代替了 P53 肽段主链,相当精密地占据了 P53 蛋白中 Phe¹⁹, Trp²³ 和 Leu²⁶ 这些与 MDM2 蛋白上 P53 口袋域结合的位置^[11]。Nutlins 与 P53 竞争结合 MDM2 表面的 P53 口袋域,干扰了 MDM2-P53 的相互作用,从而导致了 P53 的稳定以及 P53 通路的激活,并相应地介导了一系列的周期、凋亡反应。

4.2 Nutlins 的可能作用机制

实验表明,在含有野生型 *p53* 基因的细胞株内给予 nutlin-1 孵育 8 h 后,P53 的表达水平以剂量依赖的方式增加,而在不含野生型 *p53* 基因的细胞株中并没有出现这种增长^[11]。现已证实,nutlins 只在含野生型 *p53* 基因的细胞中显示活性;而在那些 P53 蛋白不能作为转录因子的细胞内,nutlins 无法发挥作用^[25-27]。

在这些含野生型 *p53* 基因的细胞内,nutlins 通过后转录机制上调 P53 蛋白从而选择性地激活 P53 通路,并引起细胞周期阻滞在 G₁/G₂ 期^[26-28]。由于 nutlins 对 MDM2 的抑制不具有遗传毒性,因而正常体细胞内 MDM2-P53 作用阻断所引起的 P53 暂时诱导效应,可能会导致相应的细胞生长停滞的可逆变化^[29]。有研究发现,相比于多柔比星(doxorubicin)、氟尿嘧啶(flourouracil)引起的 G₁ 期的细胞阻滞,nutlin-3 介导了 AJ02-NM0 细胞在 G₂/M 期的相对聚集,这可能是细胞对 P53 后转录修饰中的差异造成的^[30]。

另外,有关作用机制研究表明,nutlins 介导了由 Bcl-2 家族蛋白的转录活化以及由 P53 易位引起的非转录依赖性的线粒体膜通透作用所调节的细胞凋亡^[26]。由 nutlins 引起的 P53 介导凋亡过程还包括了天冬氨酸半胱氨酸蛋白酶(caspases)介导的级联反应的激活。并且 Raf/MEK/ERK 通路可能参与到 P53 亚细胞定位及上述凋亡的调控过程中^[10]。同时,进一步的研究还表明,nutlins 不仅是高选择的 MDM2 拮抗剂,同时也是 P53 的诱导剂^[27,30-31]。Aizu 等^[30]发现,nutlin-3 可以在 AJ02-NM0 细胞中活化 P53 的 DNA 连接,同时在很大程度上增加了 P53 目标基因 *Bax* 和 *PERP* 的表达,从而促进凋亡的发生。Drakos 等^[25]的研究表明,nut-

lin-3a 可以引起霍金奇淋巴瘤细胞凋亡,同时伴随有 *Bax* 和 P53 upregulated mediator of apoptosis(PUMA) 蛋白的上调,且其对 P53 蛋白的稳定作用与细霉菌素 B(leptomycin B)抑制核转运或蛋白酶体抑制剂 MG132 抑制泛素化降解途径后的效果相当。而体内基质胶实验结果表明,nutlin-3 在 0.1 ~ 10 μmol·L⁻¹ 内可以浓度依赖性地抑制毛细血管的形成,且在低浓度时就表现出较强的抗迁移能力^[32]。

4.3 Nutlins 的应用

最近研究表明,nutlins 是一个对含野生型 *p53* 基因细胞有效的辐射增敏剂,对肺癌有辐射敏化作用^[33]。Nutlins 和辐射的联合作用减少了内皮细胞形成脉管系统的能力,引起更广泛的细胞周期阻滞和细胞凋亡。此外,nutlins 也可用于克服各种药物化疗引起的抵抗性^[33-34]。

在内皮细胞中,nutlin-3 10 μmol·L⁻¹ 引起的 P53 蛋白积累作用与多柔比星 0.5 μmol·L⁻¹ 相当。进一步研究表明,nutlin-3 10 μmol·L⁻¹ 对 P53 的靶基因如 *p21* 和 *mdm2* 的上调作用强于上述浓度的多柔比星,且对细胞周期的阻滞作用更强^[32]。在含野生型 *p53* 的霍金奇淋巴瘤细胞内,nutlin-3a 与多柔比星的合用可以显著增加药物的细胞毒作用。在成神经细胞瘤细胞株内,nutlins 与依托泊苷和顺铂等药物的合用能引起细胞内 P53 的迅速积聚,增强药物的作用,这对于将 nutlins 作为含野生型 *p53* 的肿瘤治疗中的辅助药物提供了一定的理论依据^[35]。

目前已报道的 nutlins 相关的动物实验并未发现有不良反应,其对人的潜在毒性还有待于深入探索。尽管如此,nutlins 对 MDM2-P53 作用的高选择性为 P53 蛋白对肿瘤细胞的调控研究提供了新的分子工具,并将在今后的临床应用中发挥重要的作用。

5 结语

癌基因 *mdm2*、抑癌基因 *p53* 及其他活性因子与肿瘤的发生发展均有密切关系,其作用机制正逐渐被阐明。这一研究将扩展针对新靶标研制抗癌药的领域,同时也有助于推动分子生物学和分子药理学在药物研究中的结合和应用。随着研究的深入,通过抑制或阻断 MDM2 的作用,有可能开发出具有临床应用价值的药物,为治疗肿瘤带来希望。

6 参考文献:

- [1] Cahilly-Snyder L, Yang-Feng T, Francke U, George DL. Molecular analysis and chromosomal mapping of amplified genes isolated from a transformed mouse 3T3 cell line[J]. *Somat Cell Mol Genet*, 1987, 13(3):235-244.
- [2] Wu X, Bayle JH, Olson D, Levine AJ. The p53-mdm-2 autoregulatory feedback loop[J]. *Genes Dev*, 1993, 7(7A):1126-1132.
- [3] Chène P. Inhibition of the p53-MDM2 interaction; targeting a

- protein-protein interface[J]. *Mol Cancer Res*, 2004, **2**(1):20 – 28.
- [4] Lahav G, Rosenfeld N, Sigal A, Geva-Zatorsky N, Levine AJ, Elowitz MB, *et al.* Dynamics of the p53-Mdm2 feedback loop in individual cells[J]. *Nat Genet*, 2004, **36**(2):147 – 150.
- [5] Bose I, Ghosh B. The p53-MDM2 network: from oscillations to apoptosis[J]. *J Biosci*, 2007, **32**(5):991 – 997.
- [6] Pigolotti S, Krishna S, Jensen MH. Oscillation patterns in negative feedback loops[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2007, **104**(16):6533 – 6537.
- [7] Michael D, Oren M. The p53 and Mdm2 families in cancer[J]. *Curr Opin Genet Dev*, 2002, **12**(1):53 – 59.
- [8] Momand J, Zambetti GP, Olson DC, George D, Levine AJ. The mdm-2 oncogene product forms a complex with the p53 protein and inhibits p53-mediated transactivation[J]. *Cell*, 1992, **69**(7):1237 – 1245.
- [9] Brooks CL, Gu W. Ubiquitination, phosphorylation and acetylation: the molecular basis for p53 regulation[J]. *Curr Opin Cell Biol*, 2003, **15**(2):164 – 171.
- [10] Mayo LD, Donner DB. A phosphatidylinositol 3-kinase/Akt pathway promotes translocation of Mdm2 from the cytoplasm to the nucleus[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2001, **98**(20):11598 – 11603.
- [11] Vassilev LT, Vu BT, Graves B, Carvajal D, Podlaski F, Filipovic Z, *et al.* *In vivo* activation of the p53 pathway by small-molecule antagonists of MDM2[J]. *Science*, 2004, **303**(5659):844 – 848.
- [12] Lahav G, Rosenfeld N, Sigal A, Geva-Zatorsky N, Levine AJ, Elowitz MB, *et al.* Dynamics of the p53-Mdm2 feedback loop in individual cells[J]. *Nat Genet*, 2004, **36**(2):147 – 150.
- [13] Oren M, Damalas A, Gottlieb T, Michael D, Taplick J, Leal JF, *et al.* Regulation of p53: intricate loops and delicate balances[J]. *Ann N Y Acad Sci*, 2002, **973**:374 – 383.
- [14] Moll UM, Petrenko O. The MDM2-p53 interaction[J]. *Mol Cancer Res*, 2003, **1**(14):1001 – 1008.
- [15] Zhang Z, Wang H, Li M, Agrawal S, Chen X, Zhang R. MDM2 is a negative regulator of p21WAF1/CIP1, independent of p53[J]. *J Biol Chem*, 2004, **279**(16):16000 – 16006.
- [16] Zhang Z, Wang H, Prasad G, Li M, Yu D, Bonner JA, *et al.* Radiosensitization by antisense anti-MDM2 mixed-backbone oligonucleotide in *in vitro* and *in vivo* human cancer models[J]. *Clin Cancer Res*, 2004, **10**(4):1263 – 1273.
- [17] Zhang Z, Li M, Wang H, Agrawal S, Zhang R. Antisense therapy targeting MDM2 oncogene in prostate cancer: effects on proliferation, apoptosis, multiple gene expression, and chemotherapy[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2003, **100**(20):11636 – 11641.
- [18] Ganguli G, Wasylyk B. p53-independent functions of MDM2[J]. *Mol Cancer Res*, 2003, **1**(14):1027 – 1035.
- [19] Bianco R, Caputo R, Caputo R, Damiano V, De Placido S, Ficorella C, *et al.* Combined targeting of epidermal growth factor receptor and MDM2 by gefitinib and antisense MDM2 cooperatively inhibit hormone-independent prostate cancer[J]. *Clin Cancer Res*, 2004, **10**(14):4858 – 4864.
- [20] Chen D, Li M, Luo J, Gu W. Direct interactions between HIF-1 alpha and Mdm2 modulate p53 function[J]. *J Biol Chem*, 2003, **278**(16):13595 – 13598.
- [21] Zhang L, Hill RP. Hypoxia enhances metastatic efficiency by up-regulating Mdm2 in KHT cells and increasing resistance to apoptosis[J]. *Cancer Res*, 2004, **64**(12):4180 – 4189.
- [22] Ries S, Biederer C, Woods D, Shifman O, Shirasawa S, Sasazuki T, *et al.* Opposing effects of Ras on p53: transcriptional activation of mdm2 and induction of p19ARF[J]. *Cell*, 2000, **103**(2):321 – 330.
- [23] Héron-Milhavet L, LeRoith D. Insulin-like growth factor I induces MDM2-dependent degradation of p53 via the p38 MAPK pathway in response to DNA damage[J]. *J Biol Chem*, 2002, **277**(18):15600 – 15606.
- [24] Kuphal S, Poser I, Jobin C, Hellerbrand C, Bosserhoff AK. Loss of E-cadherin leads to upregulation of NF-kappaB activity in malignant melanoma[J]. *Oncogene*, 2004, **23**(52):8509 – 8519.
- [25] Drakos E, Thomaidis A, Medeiros LJ, Li J, Leventaki V, Konopleva M, *et al.* Inhibition of p53-murine double minute 2 interaction by nutlin-3A stabilizes p53 and induces cell cycle arrest and apoptosis in Hodgkin lymphoma[J]. *Clin Cancer Res*, 2007, **13**(11):3380 – 3387.
- [26] Kojima K, Konopleva M, Samudio IJ, Shikami M, Cabreira-Hansen M, McQueen T, *et al.* MDM2 antagonists induce p53-dependent apoptosis in AML: implications for leukemia therapy[J]. *Blood*, 2005, **106**(9):3150 – 3159.
- [27] Tovar C, Rosinski J, Filipovic Z, Higgins B, Kolinsky K, Hilton H, *et al.* Small-molecule MDM2 antagonists reveal aberrant p53 signaling in cancer: implications for therapy[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2006, **103**(6):1888 – 1893.
- [28] Arva NC, Talbott KE, Okoro DR, Brekman A, Qiu WG, Bargonetti J. Disruption of the p53-Mdm2 complex by nutlin-3 reveals different cancer cell phenotypes[J]. *Ethn Dis*, 2008, **18**(2 Suppl 2):S2-1 – S2-8.
- [29] Fischer PM, Lane DP. Small-molecule inhibitors of the p53 suppressor HDM2: have protein-protein interactions come of age as drug targets[J]. *Trends Pharmacol Sci*, 2004, **25**(7):343 – 346.
- [30] Aizu W, Belinsky GS, Flynn C, Noonan EJ, Boes CC, Godman CA, *et al.* Circumvention and reactivation of the p53 oncogene checkpoint in mouse colon tumors[J]. *Biochem Pharmacol*, 2006, **72**(8):981 – 991.
- [31] Gu L, Zhu N, Findley HW, Zhou M. MDM2 antagonist nutlin-3 is a potent inducer of apoptosis in pediatric acute lymphoblastic leukemia cells with wild-type p53 and overexpression of MDM2[J]. *Leukemia*, 2008, **22**(4):730 – 739.
- [32] Secchiero P, Corallini F, Gonelli A, Dell'Eva R, Vitale M, Capitani S, *et al.* Antiangiogenic activity of the MDM2 antagonist nutlin-3[J]. *Circ Res*, 2007, **100**(1):61 – 69.

- [33] Cao C, Shinohara ET, Subhawong TK, Geng L, Woon Kim K, Albert JM, *et al.* Radiosensitization of lung cancer by nutlin, an inhibitor of murine double minute 2[J]. *Mol Cancer Ther*, 2006, 5(2):411-417.
- [34] Kranz D, Dobbstein M. Nongenotoxic p53 activation protects cells against S-phase-specific chemotherapy [J]. *Cancer Res*, 2006, 66(21):10274-10280.
- [35] Barbieri E, Mehta P, Chen Z, Zhang L, Slack A, Berg S, *et al.* MDM2 inhibition sensitizes neuroblastoma to chemotherapy-induced apoptotic cell death[J]. *Mol Cancer Ther*, 2006, 5(9):2358-2365.

Progress of murine double minute 2 as a new target for tumor therapy

WANG Duo-Duo, WENG Qin-Jie, ZHANG Lei, HE Qiao-Jun, YANG Bo*
(*Institute of Pharmacology, Toxicology and Biochemical Pharmaceutics, School of Pharmaceutical Science, Zhejiang University, Hangzhou 310058, China*)

Abstract: Murine double minute 2 (*mdm2*), as an oncogene, contributes to several pathways involved in cellular regulation, which plays an important role in cancer etiology and progression. Overexpression of MDM2, found in many human tumors, effectively impairs P53 function. MDM2 binds the P53 tumor suppressor protein by Phe¹⁹, Trp²³, and Leu²⁶ with high affinity and negatively modulates its transcriptional activity and stability. P53 can activate MDM2 expression which, in turn, leads to the repression of P53 by three mechanisms. First, MDM2 binds P53 at its transactivation domain and blocks its ability to activate transcription. Second, it is involved in the nuclear export of P53. Third, MDM2 serves as a ubiquitin ligase that promotes P53 degradation. Besides, MDM2 may also interact with other proteins like P21, promyelocytic

leukemia protein and Rb to exert P53-independent activities. Several main regulators, such as hypoxia, PTEN and ARF, were also presented in this review. Furthermore, nutlins, the specific antagonists of MDM2, can stabilize P53 by inhibition of MDM2-P53 interaction and offer a novel strategy for cancer therapy, indicating the potential value of MDM2 for new therapeutics against cancer.

Key words: proto-oncogene proteins c-mdm2; tumor suppressor protein P53; neoplasm; nutlins

Foundation item: The project supported by National Natural Science Foundation of China (30672484)

* Corresponding author.

(本文编辑 齐春会)

关于《中国当代医药新进展全书》诚邀主编、副主编、编委的公告

《医药与保健》杂志编辑部与中国医护服务网编辑部及图书中心联合编写《中国当代医药新进展全书》。该套丛书分为《中国当代医药新进展全书·内科学分册》、《外科学分册》、《妇产科学分册》、《儿科学分册》、《心脑血管分册》、《肿瘤学分册》、《心理学分册》、《妇幼保健学分册》、《中医内科学分册》、《医技分册》等(参编者也可以自选或自定学科)。目前,各分册正在撰写之中,有的分册已经进入出版程序,将陆续由国家正规出版社出版,全国公开发行,您若有兴趣参加(担任非第一主编、副主编、编委),请立即与编委会联系。

截稿日期:2009年10月底。欢迎临床医务工作者、专家学者及医学院校的科研、教学人员参加该书的编写或发行工作。

电话:(010)67534765 传真:(010)67538381 联系人:孙奉涛(编辑)

网站:www.bimtdoctor.com 电子邮箱:bimtdoctor@126.com;yxts@bimtdoctor.com

通讯地址:北京丰台区马家堡东路2号416室《医药与保健》杂志编辑部《中国当代医药新进展全书》编委会

邮编:100068