

Нарушения в системе белка p53 и их влияние на патогенез хронических лимфопролиферативных заболеваний

П.М. Кондратовский, А.И. Дубиков, А.Ю. Дорошевская
Владивостокский государственный медицинский университет

Контакты: Павел Максимович Кондратовский k855va@gmail.com

В настоящее время активно обсуждается роль белков семейства p53 как в рамках патогенеза хронических лимфопролиферативных заболеваний, так и в свете растущего интереса к терапевтическому потенциалу так называемых малых молекул, способных влиять на регуляторные «взаимоотношения» молекул p53, MDM2, p21 и PUMA. Представленная статья является попыткой обобщить данные экспериментальных моделей на тканях опухоли и мышинных моделях и доступных в литературе исследований с использованием материала лимфоидных опухолей человека. Рассмотрены как аспекты прогностической значимости экспрессии белков семейства p53 при лимфопролиферативных заболеваниях, так и возможные терапевтические подходы, использующие особенности взаимоотношений p53-молекулы с генами-регуляторами и эффекторами.

Ключевые слова: хронические лимфопролиферативные заболевания, лимфомы, хронический лимфолейкоз, апоптоз, p53, MDM2, p21, PUMA

P53 pathway changes and their influence on chronic lymphoproliferative diseases pathogenesis

P.M. Kondratovskiy, A.I. Dubikov, A.Yu. Doroshevskaya
Vladivostok State Medical University

The role of p53 family proteins, both in the pathogenesis of chronic lymphoproliferative disorders, and in aspects of the growing interest in the therapeutic potential of so-called small molecules capable of influencing the regulatory "relationship" of p53, MDM2, p21 and PUMA is currently actively debated. The article is an attempt to summarize the data on experimental tumor and mouse models and available literature results of studies using human lymphoid tumors. Prognostic significance of p53 family proteins expression in lymphoproliferative diseases and possible therapeutic approaches using the features of the p53 relationship with regulators and effectors genes are considered.

Key words: chronic lymphoproliferative diseases, lymphomas, chronic lymphocytic leukemia, apoptosis, p53, MDM2, p21, PUMA

Введение

Учение о лимфопролиферативных заболеваниях (ЛПЗ) — пожалуй, самая обширная область гематологии и внутренних болезней. Поскольку клетки, составляющие иммунную систему, являются широко распространенными и обладают значительной функциональной гетерогенностью, ЛПЗ могут возникать фактически в любом органе и иметь различные гистологические черты, клинические проявления и прогноз.

Во всем мире наблюдается рост частоты неходжкинских лимфом (НХЛ). В России, по данным РО НЦ им. Н.Н. Блохина РАМН за 2004 год и отдельных публикаций, показатель заболеваемости всеми формами лимфом составил 8,0 на 100 тыс. населения, что на 3,9 % больше, чем в 2003 г. Заболеваемость хроническим лимфолейкозом колеблется от 2,0 до 6,0 на 100 тыс. взрослого населения. Максимальный уровень заболеваемости приходится на возраст 70–79 лет за счет НХЛ. В целом наблюдается линейная зависимость возраста и заболеваемости всеми формами лимфом.

Утрата контроля над пролиферацией, вызванная последствиями транслокаций хромосомного материала, открывает путь к неоплазии, но сама по себе недостаточна для злокачественной трансформации. Имеющиеся данные свидетельствуют, что для окон-

чательного становления автономной пролиферации клеток (опухоли) необходимо наличие еще как минимум одного случайного неблагоприятного события.

В настоящее время активно обсуждается роль белков семейства p53 как в рамках патогенеза хронических ЛПЗ, так и в свете растущего интереса к терапевтическому потенциалу так называемых малых молекул, способных влиять на регуляторные «взаимоотношения» молекул p53, MDM2, p21 и PUMA. Данные в этой области проходят стадию первоначального накопления и представлены экспериментальными моделями на тканях опухоли и мышинных моделях и доступных в литературе исследований с использованием материала лимфоидных опухолей человека представлены сравнительными описаниями частоты экспрессии различных белков семейства p53 с выводами об их вероятной прогностической значимости. Принимая во внимание лавинообразный рост подобных сообщений и привлекательность идеи использования воздействия малых молекул на регуляторные механизмы естественной клеточной гибели, особенно в такой широко распространенной группе онкогематологических заболеваний, возникает естественный интерес к анализу доступных литературных данных и проведению иссле-

дований на материале опухолей человека с использованием современных технологий.

Апоптоз и онкогенез

Одним из важных патогенетических механизмов онкогенеза является нарушение механизма программируемой гибели клетки — апоптоза. Апоптоз регулируется белками p53 и Bcl-2. Дикий (т. е. нормальный) тип p53 индуцирует апоптоз, а Bcl-2 и Bcl-X его блокируют. В результате мутации дикого типа *TP53* образуется мутантный тип гена *TP53*, клетка теряет способность к апоптозу, вследствие чего может возникать опухоль. Дикий тип гена *TP53* является геном-супрессором, продукт которого ингибирует трансформацию клеток, мутантный ген *TP53* — онкогеном, который наряду с другими онкогенами участвует в механизмах канцерогенеза. Дикий тип белка p53 не только индуцирует апоптоз, но и блокирует клеточный цикл, возможно, совместно с MYC протеином, в точке контроля в фазе G1 или перехода фазы G1 в S-фазу. Продукты гена *TP53* нужны клетке для инициации апоптоза в ответ на генотоксические повреждения. Этот фундаментальный путь позволяет организму освобождаться от поврежденных и потенциальных опухолевых клеток [1] (рис. 1).

Другие гены, контролирующие апоптоз, — это семейство *Bcl-2*. Первым белком, регулирующим апоптоз, был описан Bcl-2, кодируемый протоонкогеном *Bcl-2*. Затем было выявлено целое семейство генов *Bcl-2*, контролирующих апоптоз.

Ген *TP53*, располагающийся на коротком плече хромосомы 17, кодирует образование ядерного белка, состоящего из 393 аминокислот, с молекулярной массой 53 кД. Тетрамер p53 функционирует как транскрипционный фактор, связываясь своим карбоксильным окончанием со специфическими регионами генов-мишеней [2]. Белок p53 находится в цитоплазме в латентном состоянии, активация его происходит не только в ответ на поражение ДНК, но также может явиться следствием многих других процессов, происходящих в клетке, в том числе, активации онкогенов, гипоксии, дефицита питания, старения и др. (рис. 2).

При активации белок p53 способен инициировать независимо друг от друга 2 программы:

- временную остановку клеточного цикла в G1-фазе с помощью белка p21WAF1, ингибирующего циклин-зависимые киназы;
- стимуляцию апоптоза путем активации генов *Bax* или *Bid* — проапоптотических генов семьи *Bcl-2* и/или активации образования свободных форм кислорода, способствующих выходу цитохрома из митохондрий.

Экспериментальные данные с выключением генов позволяют предположить, что приоритетной для большинства клеток является программа временной остановки митотического цикла. Есть сведения и об участии p53 в процессах репарации ДНК путем активации

гена *P53R2*, кодирующего рибонуклеотидредуктазу. Программа апоптоза включается при невозможности репарировать ДНК во время остановки клеточного цикла и/или дефиците белка p21WAF1. В некоторых клетках генетически обусловлен приоритет программы апоптоза при активации гена *TP53*.

Основной функцией гена *TP53* следует считать включение программы апоптоза при повреждении клеточного генома, что можно рассматривать как защитную реакцию организма от накопления генетически дефектных клеток. Снижение активности гена *TP53* или мутация в нем, приводящая к потере способности к включению апоптоза, является серьезным фактором, предрасполагающим к возникновению опухолей и развитию резистентности к химиотерапии. Мутация гена *TP53* обнаруживается более чем в половине раковых опухолей, частота ее повышается при длительной химиотерапии.

Итак, ген *TP53* необходим для реализации программы апоптоза при повреждении ДНК и токсических воздействиях на клетку. Следующим шагом в проведении проапоптотического сигнала по этому пути является включение семьи *Bcl-2* генов.

Интерес к апоптозу резко возрос в середине 80-х годов, когда было выявлено [3, 4], что усиление активности онкогена *Bcl-2*, являющееся следствием обычной для В-клеточной фолликулярной лимфомы человека транслокации t(14;18), приводит к образованию опухолевого клона не за счет усиления пролиферации, а вследствие повышения выживаемости опухолевых клеток. Позднее было показано, что при этой транслокации онкоген *Bcl-2*, изначально располагавшийся на хромосомном сегменте 18q21, сливается с локусом, кодирующим тяжелую цепь Ig на хромосоме 14q32, что приводит к его повышенной экспрессии. Молекулярно-генетические исследования показали, что в так называемую семью *Bcl-2* генов, картированных у человека на хромосоме 18, входят и другие гены, экспрессирующие белки с противоположной функцией [5–7].

В настоящее время клонировано 16 генов, составляющих эту семью. Белки, производные этих генов, объединяет сходный морфологический состав — каждый из них имеет хотя бы одну из четырех консервативных аминокислотных последовательностей, характерных для *Bcl-2*. Эти последовательности известны как регионы, гомологичные Bcl-2 (BH1–BH4). Функциональное значение этих регионов до конца не ясно, но, по мнению некоторых исследователей, именно они определяют реактивные способности белков этого семейства.

Только 6 белков из 16 контролируемых генами семейства *Bcl-2* оказывают антиапоптотическое действие: защищают клетки от широкого спектра физиологических и экспериментальных воздействий, направленных на индукцию апоптоза. К таким стимулам относятся повреждение ДНК, действие глюкокортикоидов, прекращение цитокиновой регуляции и др.

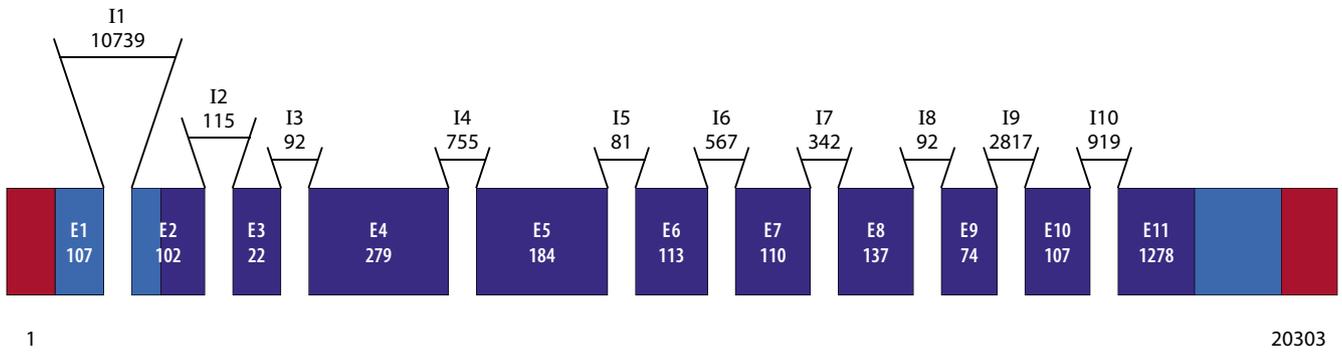
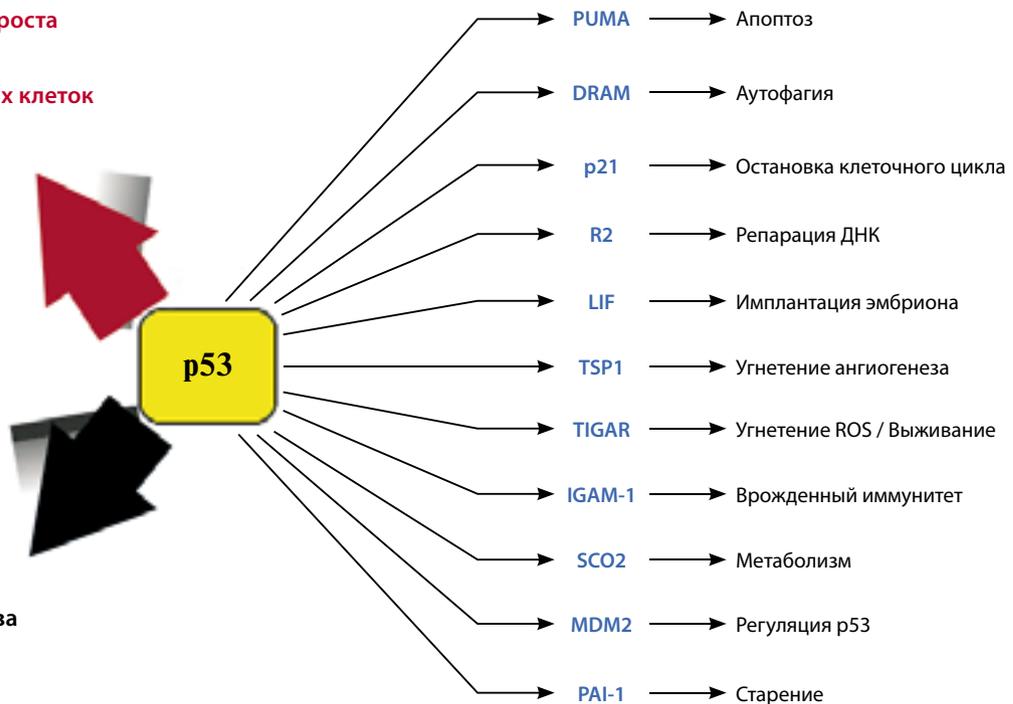


Рис. 1. Структура гена p53 человека: 22 000 пар оснований; 11 экзонов (синий цвет), кодирующих матричную РНК. Транскрипция начинается в экзоне 2. Размеры экзонов и интронов указаны в парах оснований

Подавление опухолевого роста
Созревание
Модулирование стволовых клеток
Фертильность



Ишемия
Синдром Тричера Коллинза
Нейродегенерация
Старение

Рис. 2. Схема основных каскадов, в которых участвует p53

В дополнение к своей хорошо известной роли опухолевого супрессора, p53 также регулирует другие клеточные (справа) и физиологические/патологические процессы (слева). Эти процессы включают как положительные исходы (красная стрелка), так и заболевания и другие неблагоприятные исходы (черная стрелка). Также показаны примеры генов-мишеней p53 (выделены синим цветом), регулируемые p53 и влекущие указанные клеточные ответы

Некоторые из белков этой группы имеют СОО Н-концевой гидрофобный регион, ответственный за прикрепление белков к наружной поверхности митохондриальной мембраны.

Остальные 10 членов семьи Bcl-2 вызывают апоптоз. Эти проапоптотические белки могут быть подразделены на 2 подгруппы в зависимости от числа ВН-регионов, которыми они располагают. Первые 3 имеют по 2–3 ВН-региона, в то время как у 7 остальных обнаруживается только 1 ВН3-регион. Именно с этим регионом связывают проапоптотическую функ-

цию белков. Многие из проапоптотических белков также, как антиапоптотические белки этой семьи, имеют концевой гидрофобный домен, но в отличие от последних не прикрепляются к митохондриии до получения проапоптотического сигнала.

Восприятие анти- или проапоптотических сигналов членами семьи Bcl-2 происходит как на уровне генов (так, белок p53 повышает экспрессию гена *Bax*), так и на уровне посттранскрипционных белков (действие цитокинов). При этом между самими белками наблюдаются сложные взаимодействия, иногда антагонистические.

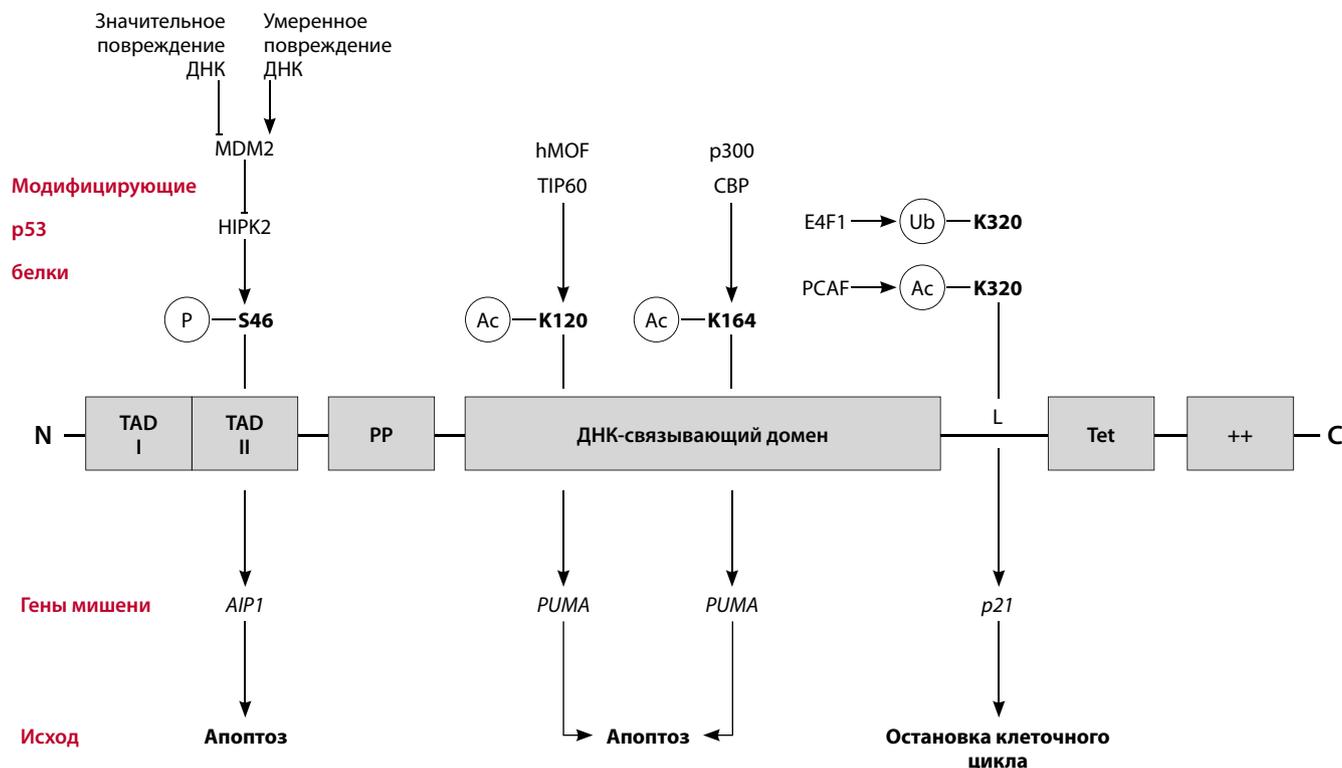


Рис. 3. Основные функциональные домены p53 и основные механизмы его регуляции. Основные домены p53 включают домены активации транскрипции (TAD I, остатки 20-40 и TAD II, остатки 40-60), пролиновый домен (PP, остатки 60-90), ДНК-связывающий домен (остатки 100-300), связывающий регион (L, остатки 301-324), домен тетрамеризации (Tet, остатки 325-356) и основной С-терминальный домен (++ ,остатки 363-393). Приведены примеры, в которых есть некоторые остатки, модифицируемые через фосфорилирование (P), ацетилирование (Ac) или убиквитинирование (Ub), что приводит к специфическим клеточным исходам в ответ на активацию p53 (для примера — апоптоз или остановка клеточного цикла), что в свою очередь зависит от преимущественной активации указанных генов-мишеней

В процессе этих взаимодействий про- и антиапоптотические протеины могут образовывать гомо- и гетеродимеры как внутри своей группы, так и с протеинами противоположной направленности действия.

В результате многочисленных экспериментов к настоящему времени сложилось впечатление, что решение, жить или умереть клетке, принимается на уровне семьи Bcl-2 на основании относительного преобладания активных супрессоров или промоторов апоптоза [7, 8] (рис. 3).

p53 белок и хронические лимфопролиферативные заболевания

Известно, что от 50 до 80 % солидных опухолей содержат мутации гена *TP53*. Исследования, проведенные ранее, показали, что мутантный *TP53* определяется в 16% фолликулярных лимфом [9] и в 13% первичных В-крупноклеточных лимфом средостения [10]. По данным Gaidano et al., мутации *TP53* были выявлены в опухолевой ткани MALT-лимфом высокой степени злокачественности [11]. В этих условиях именно врожденные полиморфизмы гена *TP53*, приводящие к нарушению функционирования соответствующего белка, могут обуславливать предрасположенность их носителей к развитию неходжкинских злокачественных лимфом.

Ниже приведены иллюстрации частоты мутационных событий и их распределение в гене *TP53* при В-клеточных лимфомах/лейкозах и В-клеточных НХЛ (рис. 4–7).

Ряд исследователей в своих работах указывают на влияние экспрессии белка p53 и мутационного статуса *TP53* на прогноз, ответ на проводимую терапию у больных с ЛПЗ. Отмечено повышение экспрессии p53 при Т- и НК-клеточных лимфомах с редко встречающимися мутациями гена [12]. С другой стороны, снижение экспрессии белка p53 и мутации гена *TP53* приводят к ухудшению ответа на терапию при кожных лимфомах [13]. Выяснено, что мутации в *TP53* являются спутниками озлокачествления MALT-лимфом [14], потеря экспрессии p53 и нарушения регуляции гена приводят к резистентности к лечению и ухудшению прогноза при лимфомах из клеток маргинальной зоны селезенки [15], лимфомах из клеток зоны мантии [16] и фолликулярных лимфомах [17].

Имеются данные, что уровень экспрессии p53 может отличаться в зависимости от степени злокачественности. В недавнем исследовании показано, что более высокий уровень экспрессии p53 имеют лимфомы высокой степени злокачественности и соответственно более низкий — лимфомы низкой степени злокачественности [18].

The UMD p53 database
Linn Hjortsbeg and Thierry Soussi, 2008

<http://p53.free.fr>

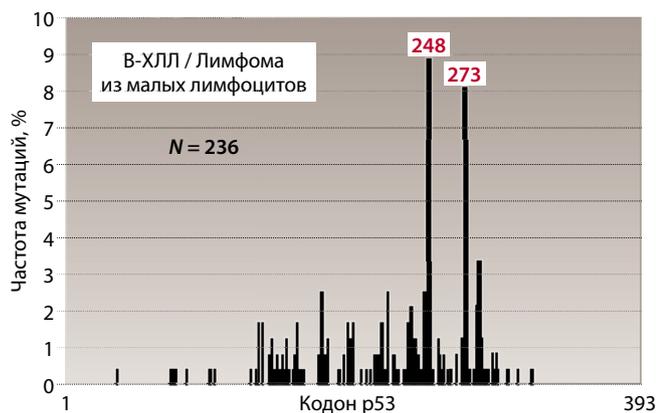


Рис. 4. Мутационные события в гене p53 при В-клеточных лимфомах/лейкозах

The UMD p53 database
Linn Hjortsbeg and Thierry Soussi, 2008

<http://p53.free.fr>

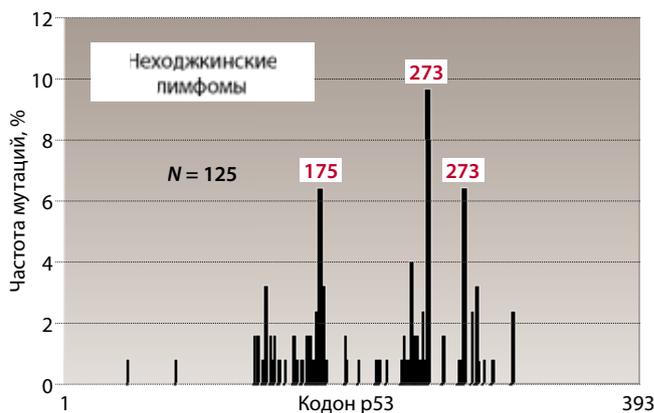


Рис. 6. Мутационные события в гене p53 при В-клеточных НХЛ

The UMD p53 database
Linn Hjortsbeg and Thierry Soussi, 2008

<http://p53.free.fr>

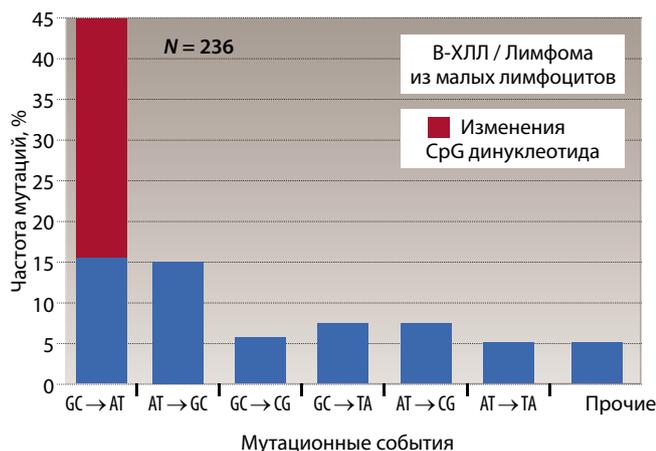


Рис. 5. Распределение мутаций p53 при В-клеточных лимфомах/лейкозах

The UMD p53 database
Linn Hjortsbeg and Thierry Soussi, 2008

<http://p53.free.fr>

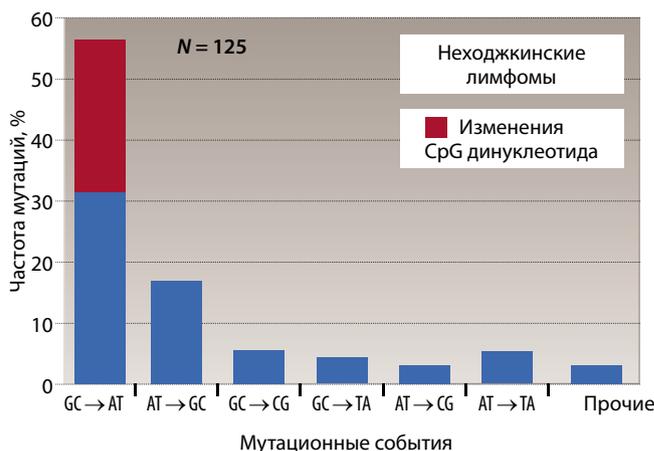


Рис. 7. Распределение мутаций p53 при В-клеточных НХЛ

Что касается хронического лимфолейкоза, то экспрессия p53 в подавляющем большинстве случаев для этого заболевания нехарактерна. Случаи заболевания с гиперэкспрессией p53 характеризуются более агрессивным течением, как правило, плохим ответом на терапию, в том числе и пуриновыми аналогами, что происходит либо ввиду мутаций TP53 с развитием множественной лекарственной устойчивости, либо со снижением апоптотической гибели клеток при воздействии пуриновых аналогов [19].

Практический интерес представляют потенциальные возможности использования измененной экспрессии p53 при различных ЛПЗ у человека как в диагностическом, так и в терапевтическом аспектах. Очевидно, что само по себе изменение экспрессии p53 не имеет самостоятельного значения без изучения полиморфизма ассоциированных с ним генов-эффекторов, каковыми являются молекулы PUMA, p21, MDM2.

Белок PUMA: активный участник лимфопротиферации

Доминирующий взгляд на ключевую роль p53 в развитии феномена запрограммированной клеточной смерти (апоптоз) не подвергается сомнению. Однако неуклонно растет количество фактов, указывающих на то, что p53 обладает и другими функциями, сдерживающими процессы пролиферации и злокачественного роста. То, что апоптоз не является единственным феноменом в арсенале p53, стало очевидным с открытием белка PUMA (p53-upregulated modulator of apoptosis). PUMA — единственный ВНЗ (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 p53-молекулы во многих тканях [20]. Тем не менее нулевые по белку PUMA мыши необязательно разви-

вают злокачественные опухоли [21], хотя ряд исследований показал, что потеря PUMA способствует канцерогенезу, определяемому онкогеном *MYC* [22]. Становится ясным, что p53 может сохранять антипролиферативные свойства даже в отсутствие апоптотического ответа.

В 2 исследованиях, результаты которых опубликованы в журнале *Genes & Development* [23, 24], изучали белок PUMA в условиях повреждения ДНК. Известно, что p53 не может инициировать процесс апоптоза в отсутствие белка PUMA. Принимая во внимание этот факт, исследователи создали линию нокаутированных по гену *PUMA* мышей и подвергли их воздействию радиации, вызывающей повреждение молекул ДНК. Ученые ожидали увидеть быстрое развитие опухолей и гибель животных, но вместо этого мыши жили дольше, чем животные из контрольной группы.

Другая исследовательская группа, под руководством Андреаса Штрассера (Andreas Strasser), наблюдала этот же феномен: отсутствие белка PUMA несколько не вредило мышам, подвергшимся воздействию радиации и, напротив, увеличивало продолжительность их жизни в сравнении с нормальными животными, подвергавшимся облучению [24]. Исследования проводились на конкретном типе опухоли, а именно на тимической лимфоме, которая была вызвана многократным воздействием радиации на экспериментальных животных в течение месяца.

В то же время другими авторами на модели лимфомы Беркитта у мышей было отчетливо показано, что делеция гена *PUMA* приводит к ускорению лимфомогенеза и 75 % клеток опухолевой линии избавляется от его экспрессии [22]. Более того, в 40 % первичных опухолей вообще не выявлено какого-либо уровня экспрессии PUMA [22].

Анализ литературных данных, посвященных исследованию экспрессии PUMA и его связи с белком p53 при ЛПЗ, позволяет предполагать, что наибольшее значение нарушения в белке PUMA, со снижением его экспрессии, имеют при В-клеточных ЛПЗ [21, 24].

Исследование экспрессии PUMA при хроническом лимфолейкозе в сопоставлении с уже достаточно известными прогностическими факторами, такими как стадия заболевания, экспрессия CD38, ZAP-70, уровни ЛДГ и β 2-микроглобулина, а также неблагоприятными хромосомными аномалиями, отчетливо демонстрирует снижение уровня экспрессии PUMA при всех факторах плохого прогноза [25]. Голландские исследователи продемонстрировали, что терапия пуриновыми аналогами вызывает индукцию проапоптотических генов *Bax* и *PUMA*, опосредованную p53, с более выраженным эффектом в случае наличия мутаций в генах *IgVH* [26].

Следует отметить, что вышеприведенные исследования проводились на мышинных моделях В-клеточных лимфом высокой степени злокачественности, а указаний на исследования в группе более распространенных В-зрелоклеточных лимфом с использованием

опухолевого материала лимфомной ткани человека нам не встретилось. Также вызывают ряд вопросов противоречия, связанные с ролью нарушений в активности гена *PUMA*, а именно отсутствие однозначного эффекторного ответа при его инактивации или снижении экспрессии. Тем более актуальной становится попытка комплексной оценки системы медиаторов и эффекторов системы p53 при ЛПЗ.

Белок p21 и p53: диалектика взаимодействия и особенности экспрессии при лимфо-пролиферативных заболеваниях

P53 содержит также другие возможности антипролиферативного эффекта. Одной из них является способность останавливать клеточную пролиферацию и рост, эффективно останавливать клеточный цикл, активируя транскрипцию ингибитора циклин-зависимой киназы p21, хотя несколько других генов-мишеней p53-молекулы (*14-3-3 sigma* и *GADD45*) могут вносить свой вклад в этот феномен [27]. При этом надо отметить, что p21 чрезвычайно чувствителен к самым низким концентрациям p53 и ведет к немедленной остановке клеточного 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. Серия интереснейших исследований высветила важность феномена старения в ингибировании злокачественной пролиферации и идентифицировала при этом ключевую роль p53-молекулы в биологическом ответе подобного рода. 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 p53 протеина [28, 29].

Более того, старение остается ключевым феноменом в ответ на активацию p53 при злокачественной пролиферации в далеко зашедших стадиях. В моделях на мышях реактивация p53 белка привела к существенной регрессии различных типов злокачественных опухолей, доказывая высокий терапевтический потенциал такого подхода к лечению [30–32]. Что интересно, при саркомах и карциномах в ответ на повышение активности p53-молекулы развивается 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 при сопутствующей стимуляции иммунной системы [32]. Одним из ключевых регуляторов p53 опосредованного старения является белок p21 [33]. Супрессия злокачественной пролиферации мутантной формой p53 R172P, дефект-

ной по апоптозу, сопровождается, прежде всего, активацией p21-молекулы и феномена старения [34, 35]. Более того, введение мутантной формы p53-линии мышей нулевой по наличию p21 белка, приводило к полной потере способности к остановке клеточного цикла и ускоряло рост злокачественных опухолей [36]. Все эти факты убедительно свидетельствуют, что p53 опосредованная активация p21-молекулы является важным звеном в угнетении злокачественной пролиферации через феномен старения.

Складывается впечатление, что p53-зависимые феномен апоптоза и феномен старения являются своего рода страховкой друг для друга и развитие того или иного определяется конкретным типом клеток и состоянием окружающей среды (тканевым контекстом).

На модели тимической лимфомы было показано, что снижение экспрессии p21 у мышей нока утных или гаплodefицитных по *TP53* сдерживает темпы прогрессирования опухоли и приводит к увеличению средней продолжительности жизни [37]. Более того, выяснено, что снижение экспрессии p21 у облученных мышей снижает вероятность возникновения лимфомы, а уровень апоптоза у p21 дефицитных мышей выше, чем у мышей с достаточной (профицитной) экспрессией p21.

Большое ретроспективное исследование, выполненное на гистологическом материале различного типа ЛПЗ, достаточно четко дает понять, что повышение экспрессии p21, напрямую коррелирующее в большинстве случаев с повышенной экспрессией p53, более характерно для анапластических вариантов лимфом, тогда как при CD30 негативных вариантах лимфопротиферации экспрессии этих партнеров не выявлено [38].

Исследователи из Китая на примере НК/Т-клеточной лимфомы показали, что интенсивность экспрессии p21 прямо коррелирует с экспрессией p53 и зависит от стадии заболевания и степени его злокачественности. Чем более продвинута стадия заболевания и (или) имеется более злокачественный гистологический вариант болезни, тем интенсивнее будет экспрессия p21 и p53 [39].

Данную тенденцию можно проследить и по материалам, представленным корейскими коллегами. Анализ экспрессии p21 и p53 в группе лимфом желудка продемонстрировал активность p21 и p53 белков практически только у В-крупноклеточных лимфом, тогда как в группе В-зрелоклеточных MAL T-лимфом экспрессия p53 единичная, а p21 вовсе отсутствует [40].

Обзор литературных данных роли p21 при ЛПЗ раскрывает как минимум одну сторону вопроса, а именно, экспрессия p21 в подавляющем большинстве случаев коррелирует с экспрессией p53 и характерна для быстро растущих и продвинутых вариантов пролиферации. Это может оказаться полезным для определения дополнительных прогностических характеристик заболевания, и заставляет задуматься о p21-молекуле как о потенциальной терапевтической мишени.

MDM2-молекула — негативный регулятор p53 белка

При нормальных условиях в клетке экспрессируются и белок p53, и белок MDM2. Функция белка MDM2 первоначально была установлена у мышей, отсюда название MDM2 (mouse double minute chromosome amplified oncogene — онкоген, который был амплифицирован на хромосоме типа «double minute»).

N-концевой домен белка MDM2 связывается с N-концевым трансаktивирующим доменом белка p53. Таким образом, белок MDM2 препятствует активирующему действию белка p53. Кроме того, комплекс MDM2:p53 является ингибитором транскрипции (вероятно, вследствие сохранения способности белка p53 к присоединению к ДНК). Опубликованы детальные обзоры о взаимодействии p53 с MDM2 [41–44].

Недавнее исследование, показавшее, что потеря p53 приводит к снижению ранней летальности у мышей с мутацией *MDM2* (отсутствует активность лигазы E3), указывает на первичную роль MDM2 в деградации p53 [45]. Как было показано, MDM2 способен уменьшать ацетилирование белка p53, смещая остаток p300, ингибируя и разрушая белок PCAF [46, 47]. MDM2 также может рекрутировать гистоновые деацетилазы HDAC1 и KAP1, которые являются дополнительными инструментами, с помощью которых MDM2 репрессирует ацетилирование p53 или гистонов в местах связывания с p53. MDM2, экспрессируемый из эндогенных локусов, ассоциируется с p53 в зоне p21 промотора [48, 49]. Гиперэкспрессируемый эктопически MDM2 (MdmX) связывается с некоторыми другими целевыми промоторами p53, за исключением самого *MDM2* промотора [49].

Повышение в 2 раза уровня MDM2 в клетках линии H1299 в условиях тетрациклин-регулируемой экспрессии p53 сопровождается снижением уровня PIG3, но не влияет на экспрессию p21 и *Bax* [48]. В связи с наличием способности смещать деацетилазы или убиквитинировать гистон H2B, а, возможно, и через другие механизмы MDM2, белок ассоциируется с p53-молекулой в зоне промоторов генов-мишеней, тем самым отрицательно влияя на трансаktивацию p53 [50].

Белок MDM2 является ферментом группы E3 системы убиквитин-зависимого протеолиза, причем MDM2 специфичен в отношении белка p53. Это означает, что белок MDM2 катализирует перенос активированного убиквитина с фермента группы E2 на белок p53. Таким образом, белок MDM2 является E3-лигазой. Маркированный убиквитином белок p53 является субстратом для 26S-протеасомы, которая осуществляет протеолиз молекул белка p53. В нестрессовых условиях постоянно образуется комплекс MDM2:p53 и осуществляется протеолиз p53. Этим объясняется низкая концентрация p53 в клетке в отсутствие стресса. Центральная роль белка MDM2 в деградации белка p53 подтверждается и тем фактом, что добавление к клеткам моноклональных

антител к комплексу MDM2:p53 приводит к значительному увеличению концентрации белка p53. Из приведенных рассуждений становится понятным, что повышенная экспрессия белка MDM2 является онкогенным фактором, а сам белок следует отнести к протоонкогенам.

Анализ 87 случаев НХЛ и в более специализированной группе В-клеточных MALT-лимфом на предмет коэкспрессии p53, p21 и MDM2 [51, 52] выявил, что преимущество в коэкспрессии одновременно 3 протеинов имели лимфомы более высокой степени злокачественности. Авторы указывают, что в отсутствие экспрессии p53 не стоит ждать экспрессии p21 и MDM2, а одновременная экспрессия всех 3 белков указывает на наличие, скорее всего, дикого (немутантного) p53. Вместе с тем дискордантная экспрессия p53 в отсутствие экспрессии p21 и MDM2 доказывает присутствие мутировавшего варианта p53 белка. В свою очередь, отсутствие экспрессии MDM2 при сохраненной экспрессии p53 и p21 не исключает как мутацию p53 с сохраненным (независимо) уровнем p21, так и само нарушение регуляции MDM2 при диком типе p53.

На основании ретроспективного анализа комплексного иммуногистохимического исследования гистологического материала 186 случаев фолликулярной лимфомы с использованием значительного количества антител, в частности, к MDM2, p21 белкам, а также клинических данных, было отмечено, что случаи с более высокой экспрессией MDM2 характеризовались менее длительной общей выживаемостью. Это позволило включить ряд иммуногистохимических критериев, в том числе уровень экспрессии MDM2, в международный прогностический индекс фолликулярной лимфомы [53].

Непосредственное участие MDM2 белка в лимфогенезе было подтверждено в другом исследовании. На материале В-клеточных опухолей мышей показано, что увеличенная экспрессия MDM2 способствует пролиферации и уменьшает чувствительность к p53-обусловленному апоптозу, что связано с угнетением p53 и подавлением экспрессии p21. Отмечено также повышение уровня спонтанных генетических аномалий в клетках этих линий, что также способствовало В-клеточной трансформации *in vivo* [54].

Недавнее исследование на материале анапластической крупноклеточной лимфомы, характеризующейся в большинстве случаев наличием транслокации t(2;5)(p23;q35), которая кодирует, в свою очередь, продукцию NPM-ALK белка со свойствами киназы, показало, что вновь образованный белок обладает способностью инактивировать и/или уменьшать уровень дикого p53. В связи с этим опухолевая линия с данной хромосомной аномалией обладает сниженной способностью к апоптозу и, несмотря на наличие немутантного p53, — нормальной экспрессией MDM2. Более того, применение Nutlin-3a, связывающего

MDM2, приводит к активации апоптоза в клетках опухоли [55].

Описано успешное применение новых терапевтических агентов при хроническом лимфолейкозе. Исходя из того, что в большинстве случаев хронического лимфолейкоза имеется гиперэкспрессия MDM2, препятствующая активации p53-опосредованного апоптоза в ответ на стандартную химиотерапию, Kensuke Kojima et al. предложили использовать малую молекулу Nutlin-3a, как антагонист MDM2-молекулы. Nutlin-3a вызывает как транскрипционно-зависимую, так и транскрипционно-независимую индукцию апоптотических механизмов, стимулируя, при сочетанном применении с флударабином, значительное повышение уровня p53 белка [56].

Вполне очевидно, что самостоятельной роли в патогенезе хронических ЛПЗ MDM2 не играет. Несмотря на достаточно хорошо описанные общие механизмы взаимодействия в системе p53-MDM2, в доступных литературных источниках пока недостаточно данных, чтобы можно было сделать окончательный вывод о роли подобного тандема в патогенезе лимфопролиферации.

Терапевтический потенциал

Несмотря на то что многие аспекты «жизни» молекулы p53 еще не изучены, представляется вполне реальным использование регуляторных механизмов p53 в лечении многих заболеваний. Поскольку функция p53 нарушена при многих пролиферативных процессах, особенно злокачественного характера, независимо от морфологического типа ткани и локализации, кажется логичным восстановление ингибиторных свойств белка p53. Эта концепция получила наглядное подтверждение в экспериментальных моделях на животных, в которых реактивация нормального белка p53 сопровождалась выраженной регрессией опухолевой массы [30–32].

Каким же образом молекула p53 может быть реактивирована? Одно из направлений, которое оказалось успешным, это использование генной терапии для введения p53 в опухоль с использованием в качестве вектора аденовируса [57]. Существенно расширившееся понимание механизмов регуляции функций молекулы p53 привело к созданию препаратов (малых молекул), которые способны стабилизировать и активировать p53 протеин. Недавно были идентифицированы клеточные ингибиторы сиртуина, белка, который может ограничивать диапазон активности p53 [58].

Надо отметить, что создание подобного рода лекарств вызвало большую дискуссию об их потенциальной токсичности, обусловленной системной активацией молекулы p53 в здоровых тканях. В экспериментальных моделях на животных отсутствие MDM2 в здоровых тканях, экспрессирующих p53, сопровождалось множеством побочных эффектов [59]. Авторы высказывают мнение, что, может быть, лекарства,

ингибирующие активность MDM2, будут менее эффективны, но с лучшей переносимостью в сравнении с препаратами, удаляющими этот ген. Более того, поскольку ингибиторы активности не являются генотоксичными, они смогут избежать побочных эффектов, характерных для традиционной химиотерапии, также активирующей функции молекулы p53 в клетках. Интересно, что в некоторых исследованиях было показано, что лечение ингибиторами MDM2 было эффективней, если в клетке были запущены сигнальные механизмы, возникающие при повреждении ДНК. Последнее обстоятельство отличает здоровую клетку от злокачественной [60]. Если использование активаторов p53-молекулы кажется перспективным при злокачественной пролиферации, следует оценить возможный побочный эффект ускоренного старения — следствие длительной системной терапии подобного рода препаратами. Восстановление функций мутантного p53 в злокачественных опухолях — очень сложная задача, хотя описаны малые молекулы, способные реактивировать нормальные функции молекулы p53 [61]. Такого рода подход является наиболее трудным, но он обещает избирательное воздействие на злокачественные клетки с мутантной формой p53.

Одна из перспективных областей — это применение малых молекул, способных угнетать активность негативного регулятора p53-молекулы, — MDM2 белка. Опубликовано достаточно большое количество работ по использованию таких малых молекул на моделях ЛПЗ у животных, и в частности мышей [62–68]. Наиболее исследованы возможности одной из первых, использованной в терапевтических целях, малой молекулы Nutlin-3a. Изучены возможности нутлина в активации апоптоза при лимфомах из клеток зоны мантии как в монотерапии [62], так и в комбинации с другими проапоптотическими препаратами, такими как бортезомиб. При этом терапевтический ответ наблюдался даже в линии клеток, резистентных к монотерапии бортезомибом [63, 64]. Описаны терапевтическая активность Nutlin-3a на модели анапластической крупноклеточной лимфомы [65], у спешное его применение в комбинации с другими цитостатическими препаратами при хроническом В-клеточном лимфолейкозе [66].

Проходят доклинические испытания и другие малые молекулы, способные специфически угнетать активность MDM2, отличаясь в большинстве своем аффинностью действия, но имеющие сходные механизмы и сопоставимую эффективность *in vitro* и *in vivo*. Подобные исследования, например, проведены на клеточной линии фолликулярной лимфомы с использованием малых молекул MI-319, MI-219 в сопоставлении с Nutlin-3a [67]. Описано эффективное применение малой молекулы MI-63, нарушающей взаимодействие между MDM2 (HDM2) и p53, в комбинации с ингибиторами протеасом (бортезомибом) на клеточной линии лимфомы из клеток мантийной зоны и множественной миеломе [68].

Концепция реактивации нормальных функций p53 белка в озлокачественных клетках подтверждается экспериментальными исследованиями и рядом исследований у человека, показавшими связь между мутациями p53-молекулы и плохим прогнозом [69]. Однако клеточный ответ на стимуляцию p53 может широко варьировать от смерти клетки до выживания, что трудно предсказать. В самом деле, ингибирование функции p53 белка при раке молочной железы защищает раковые клетки от некоторых видов химиотерапии и, таким образом, ассоциируется с плохим ответом на лечение [70]. Возможно, подобного рода эффект можно использовать как повод к изменению тактики терапевтического подхода. Отсутствие ответа опухолевой клетки на манипуляции с p53-молекулой предполагает сохранение чувствительности к химиотерапевтическим препаратам, воздействующим на S-фазу или G2/M-фазу клеточного цикла. Эти лекарственные препараты будут менее токсичными для нормальной клетки [71]. Продолжением этой идеи является использование препаратов, активирующих p53 с целью защиты здоровых клеток во время химиотерапии [72, 73].

Что интересно, идея хемопротекции нормальных клеток предлагает в том числе использовать лекарственные препараты, ингибирующие p53-молекулу. Понятно, что большинство токсических эффектов во время химиотерапии генотоксическими препаратами обусловлено активацией p53-молекулы и p53-индуцированной смертью радиочувствительных клеток гематopoэтической системы, эпителия кишечника и других тканей. В этом случае супрессия функций p53-молекулы в здоровых клетках поможет защитить их от смерти и повысить толерантность больного к более высоким дозам химиопрепаратов и лучевой нагрузки [74, 75].

Что касается использования белка PUMA как мишени для потенциальных терапевтических воздействий, то препарат АВТ-263, ингибирующий белок PUMA, недавно успешно прошел I фазу клинических испытаний [24].

Выводы

Таким образом, ЛПЗ являются широко распространенными заболеваниями с тенденцией к постоянному росту. Они характеризуются значительной разнородностью благодаря особенностям созревания клеток иммунной системы, что в большинстве случаев ведет к фактической неизлечимости патологического процесса, несмотря на разработанные в последнее время новые терапевтические агенты. Эти особенности диктуют необходимость разработки новых и коррекции существующих подходов в терапии ЛПЗ.

В основе патогенеза ЛПЗ лежат изменения на уровне человеческого генома. До настоящего времени окончательно неясна роль системы белка p53 в патогенезе онкологических заболеваний в целом и ЛПЗ в частно-

сти, ввиду необычайно широкого спектра эффекторных ответов p53. Изучение роли программируемой клеточной гибели, взаимоотношений p53-молекулы с генами-

регуляторами и эффекторами в процессе развития ЛП3 может открыть новые перспективы не только в диагностике, но и в лечении этого вида патологии.

ЛИТЕРАТУРА

- Новиков В.С. Программированная клеточная гибель. СПб.: «Наука», 1996.
- Hansen R., Oren M. P53 from inductive signal to cellular effect. *Curr Opin Genet* 1997;7:46–51.
- Bakhshi A.J., Jensen P., Goldman P. et al. Cloning the chromosomal breakpoint of t(14;18) human lymphomas: clustering around JH on chromosome 14 and near a transcriptional unit on 18. *Cell* 1985;41:889–906.
- Tsujimoto Y., Gorham J., Cossman J. et al. The t(14;18) chromosome translocations involved in B-cell neoplasms result from mistakes in VDJ joining. *Science* 1985;229:1390–3.
- Deary M., Smith S., Sclar J. Cloning and structural analysis of cDNAs Bcl-2 and a hybrid Bcl-2/immunoglobulin transcript resulting from the t(14;18) translocation. *Cell* 1986;47:19–23.
- Kelekar T., Thompson C. Bcl-2 family proteins: the role of the BH3 domain in apoptosis. *Trends Cell Biol* 1998;8:324–30.
- Puthalakath H., Huang D., O'Reilly L. et al. The proapoptotic activity of the Bcl-2 family member Bim is regulated by interaction with the dynein motor complex. *Mol Cell* 1999;3:287–96.
- Oltvai Z., Korsmeyer S. Checkpoints of dueling dimers foil death wishes. *Cell* 1994;79:189–92.
- Bellido M., Capello D., Altes A. et al. Bcl-6 p53 mutations in lymphomas carrying the Bcl-2/Jh rearrangement. *Haematologica* 2002;87(9):908–17.
- Scorpa A., Moore P.S., Rigaud G. et al. Molecular features of primary mediastinal B-cell lymphoma: involvement of p16INK4A, p53 and c-myc. *Br J Haematol* 1999;107(1):106–13.
- Gaidano G., Volpe G., Pastore C. et al. Detection of BCL-6 rearrangements and p53 mutations in MALT-lymphomas. *Am J Hematol* 1997;56(4):206–13.
- Petit B., Leroy K., Kanavaros P. et al. Expression of p53 protein in T- and natural killer-cell lymphomas is associated with some clinicopathologic entities but rarely related to p53 mutations. *Hum Pathol* 2001 Feb;32(2):196–204.
- Kapur S., Tiemann M., Menke M.A. et al. The role of p53 and anaplastic lymphoma kinase genes in the progression of cutaneous CD30(+) lymphoproliferative diseases. *Indian J Med Res* 2005 Jan;121(1):46–54.
- Поддубная И.В. Лимфосаркома желудочно-кишечного тракта (клиника, диагностика, лечение). Автореф. дис. ... докт. мед. наук. М., 1985.
- Gruszka-Westwood A.M., Hamoudi R.A., Matutes E. et al. P53 abnormalities in splenic lymphoma with villous lymphocytes. *Blood* 2001 Jun 1;97(11):3552–8.
- Greiner T.C., Moynihan M.J., Chan W.C. et al. P53 mutations in mantle cell lymphoma are associated with variant cytology and predict a poor prognosis. *Blood* 1996 May 15;87(10):4302–10.
- Sander C.A., Yano T., Clark H.M. et al. P53 mutation is associated with progression in follicular lymphomas. *Blood* 1993 Oct 1;82(7):1994–2004.
- Villuendas R., Piris M.A., Orradre J.L. et al. P53 protein expression in lymphomas and reactive lymphoid tissue. *J Pathol* 1992 Mar;166(3):235–41.
- Cordone I., Masi S., Mauro F.R. et al. P53 expression in B-cell chronic lymphocytic leukemia: a marker of disease progression and poor prognosis. *Blood* 1998 Jun 1;91(11):4342–9.
- Yu J., Zhang L. No PUMA, no death: implications for p53-dependent apoptosis. *Cancer Cell* 2003;4:248–9.
- Michalak E.M., Villunger A., Adams J.M. et al. In several cell types tumour suppressor p53 induces apoptosis largely via Puma but Noxa can contribute. *Cell Death Differ* 2008;15:1019–29.
- 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.
- Labi V., Erlacher M., Krumschnabel G. et al. Apoptosis of leukocytes triggered by acute DNA damage promotes lymphoma formation. *Genes Dev* 2010 August 1;24:1602–7; doi:10.1101/gad.1940210.
- Michalak E.M., Vandenberg C.J., Delbridge A.R., Wu L., Scott C.L., Adams J.M., Strasser A. Apoptosis-promoted tumorigenesis: gamma-irradiation-induced thymic lymphomagenesis requires Puma-driven leukocyte death. *Genes Dev* 2010 August 1;24:1608–13; doi:10.1101/gad.1940110.
- Zhu H.J., Xu W., Cao X. et al. Detection of puma mRNA levels by real-time quantitative RT-PCR in chronic lymphocytic leukemia and its clinical significance. *Zhongguo Shi Yan Xue Ye Xue Za Zhi* 2010 Aug;18(4):843–8.
- Mackus W.J., Kater A.P., Grummels A. et al. Chronic lymphocytic leukemia cells display p53-dependent drug-induced Puma upregulation. *Leukemia* 2005 Mar;19(3):427–34.
- El-Deiry W.S. Regulation of p53 downstream genes. *Semin Cancer Biol* 1998;8:345–57.
- Deng Y., Chan S.S., Chang S. Telomere dysfunction and tumour suppression: the senescence connection. *Nat Rev Cancer* 2008;8:450–8.
- Halazonetis T.D., Gorgoulis V.G., Bartek J. An oncogene-induced DNA damage model for cancer development. *Science* 2008;319:1352–5.
- Martins C.P., Brown-Swigart L., Evan G.I. Modeling the therapeutic efficacy of p53 restoration in tumors. *Cell* 2006;127:1323–34.
- Ventura A., Xu G., Wang H. et al. Expressions of p53 and p21 in nasal NK/T-cell lymphoma and their relationship with the proliferation and apoptosis of cells. *Lin Chung Er Bi Yan Hou Tou Jing Wai Ke Za Zhi* 2009 Jan;23(2):73–6.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- Barboza J.A., Liu G., El-Naggar A.K. et al. p21 delays tumor onset by preservation of chromosomal stability. *Proc Natl Acad Sci USA* 2006;103:19842–7.
- De la Cueva E., García-Cao I., Herranz M. et al. Tumorigenic activity of p21Waf1/Cip1 in thymic lymphoma. *Oncogene* 2006 Jul 6;25(29):4128–32. *Epub* 2006 Feb 6.
- Chilosi M., Doglioni C., Magalini A. et al. p21/WAF1 cyclin-kinase inhibitor expression in non-Hodgkin's lymphomas: a potential marker of p53 tumor-suppressor gene function. *Blood* 1996 Nov 15;88(10):4012–20.
- Xu G., Wang H., He G. et al. Expressions of p53 and p21 in nasal NK/T-cell

- lymphoma and their relationship with the proliferation and apoptosis of cells. *Lin Chung Er Bi Yan Hou Tou Jing Wai Ke Za Zhi* 2009 Jan;23(2):73–6.
40. Go J.H., Yang W.I. Expressions of p53 and p21 in primary gastric lymphomas. *J Korean Med Sci* 2001 Dec;16(6):731–5.
41. Marine J.C., Francoz S., Maetens M. et al. Keeping p53 in check: essential and synergistic functions of MDM2 and MDM4. *Cell Death Differ* 2006;13:927–34.
42. Marine J.C., Dyer M.A., Jochemsen A.G. MDMX: from bench to bedside. *J Cell Sci* 2007;120:371–8.
43. Poyurovsky M.V., Prives C. Unleashing the power of p53: lessons from mice and men. *Genes Dev* 2006;20:125–31.
44. Toledo F.G., Wahl M. Regulating the p53 pathway: *in vitro* hypotheses, *in vivo* veritas. *Nat Rev Cancer* 2006;6:909–23.
45. Itahana K., Mao H., Jin A. et al. Targeted inactivation of MDM2 RING finger E3 ubiquitin ligase activity in the mouse reveals mechanistic insights into p53 regulation. *Cancer Cell* 2007;12:355–66.
46. Ito A., Lai C.H., Zhao X. et al. p300/CBP-mediated p53 acetylation is commonly induced by p53-activating agents and inhibited by MDM2. *EMBO J* 2001;20:1331–40.
47. Teufel D.P., Freund S.M., Bycroft M. et al. Four domains of p300 each bind tightly to a sequence spanning both transactivation subdomains of p53. *Proc Natl Acad Sci USA* 2007;104:7009–14.
48. Ohkubo S., Tanaka T., Taya Y. et al. Excess HDM2 impacts cell cycle and apoptosis and has a selective effect on p53-dependent transcription. *J Biol Chem* 2006;281:16943–50.
49. Tang Y., Zhao W., Chen Y., et al. Acetylation is indispensable for p53 activation. *Cell* 2008;133:612–26.
50. Minsky N., Oren M. The RING domain of Mdm2 mediates histone ubiquitylation and transcriptional repression. *Mol Cell* 2004;16:631–9.
51. Tzardi M., Kouvidou Ch., Panayiotides I. et al. p53 protein expression in non-Hodgkin's lymphoma. Comparative study with the wild type p53 induced proteins MDM2 and p21/waf1. *Clin Mol Pathol* 1996 Oct;49(5):278–82.
52. Stefanaki K., Tzardi M., Kouvidou C. et al. Expression of p53, p21, MDM2, Rb, Bax and Ki67 proteins in lymphomas of the mucosa-associated lymphoid (MALT) tissue. *Anticancer Res* 1998 Jul–Aug; 18(4A): 2403–8.
53. Camacho F.I., Bellas C., Corbacho C. et al. Improved demonstration of immunohistochemical prognostic markers for survival in follicular lymphoma cells. *Mod Pathol* 2011 May;24(5):698–707. Epub 2011 Jan 14.
54. Wang P., Lushnikova T., Odvody J. et al. Elevated MDM2 expression induces chromosomal instability and confers a survival and growth advantage to B cells. *Oncogene* 2008 Mar 6;27(11):1590–8.
55. Cui Y.X., Kerby A., McDuff F.K. et al. NPM-ALK inhibits the p53 tumor suppressor pathway in an MDM2 and JNK-dependent manner. *Blood* 2009 May 21;113(21):5217–27.
56. Kojima K., Konopleva M., McQueen T. et al. MDM2 inhibitor Nutlin-3a induces p53-mediated apoptosis by transcription-dependent and transcription-independent mechanisms and may overcome Atm-mediated resistance to fludarabine in chronic lymphocytic leukemia. *Blood* 2006 August 1; 108(3):993–1000.
57. Senzer N., Nemunaitis J. A review of contusugene ladenovec (Advexin) p53 therapy. *Curr Opin Mol Ther* 2009; 11:54–61.
58. Lain S., Hollick J.J., Campbell J. et al. Discovery, *in vivo* activity, and mechanism of action of a small-molecule p53 activator. *Cancer Cell* 2008;13:454–63.
59. Ringshausen I., O'Shea C.C., Finch A.J. et al. MDM2 is critically and continuously required to suppress lethal p53 activity *in vivo*. *Cancer Cell* 2006;10:501–14.
60. Brummelkamp T.R., Fabius A.W., Mullenders J. et al. An shRNA barcode screen provides insight into cancer cell vulnerability to MDM2 inhibitors. *Nat Chem Biol* 2006;2:202–6.
61. Selivanova G., Wiman K.G. Reactivation of mutant p53: molecular mechanisms and therapeutic potential. *Oncogene* 2007;26:2243–54.
62. Drakos E., Atsaves V., Li J. et al. Stabilization and activation of p53 downregulates mTOR signaling through AMPK in mantle cell lymphoma. *Leukemia* 2009 Apr;23(4):784–90.
63. Jin L., Tabe Y., Kojima K. et al. MDM2 antagonist Nutlin-3 enhances bortezomib-mediated mitochondrial apoptosis in TP53-mutated mantle cell lymphoma. *Cancer Lett* 2010 Dec 28;299(2):161–70.
64. Tabe Y., Sebasigari D., Jin L. et al. MDM2 antagonist nutlin-3 displays antiproliferative and proapoptotic activity in mantle cell lymphoma. *Clin Cancer Res* 2009 Feb 1;15(3):933–42.
65. Drakos E., Atsaves V., Schlette E. et al. The therapeutic potential of p53 reactivation by nutlin-3a in ALK+ anaplastic large cell lymphoma with wild-type or mutated p53. *Leukemia* 2009 Dec;23(12):2290–9.
66. Coll-Mulet L., Iglesias-Serret D., Santidrián A.F. et al. MDM2 antagonists activate p53 and synergize with genotoxic drugs in B-cell chronic lymphocytic leukemia cells. *Blood* 2006 May 15; 107(10):4109–14.
67. Mohammad R.M., Wu J., Azmi A.S. et al. An MDM2 antagonist (MI-319) restores p53 functions and increases the life span of orally treated follicular lymphoma bearing animals. *Mol Cancer* 2009 Dec 3;8:115.
68. Jones R.J., Chen Q., Voorhees P.M. et al. Inhibition of the p53 E3 ligase HDM-2 induces apoptosis and DNA damage — independent p53 phosphorylation in mantle cell lymphoma. *Clin Cancer Res* 2008 Sep 1;14(17):5416–25.
69. Petitjean A., Achatz M.I., Borresen-Dale A.L. et al. TP53 mutations in human cancers: functional selection and impact on cancer prognosis and outcomes. *Oncogene* 2007;26:2157–65.
70. Bertheau P., Espie M., Turpin E. et al. TP53 status and response to chemotherapy in breast cancer. *Pathobiology* 2008; 75:132–9.
71. Sur S., Pagliarini R., Bunz F. et al. A panel of isogenic human cancer cells suggests a therapeutic approach for cancers with inactivated p53. *Proc Natl Acad Sci USA* 2009;106:3964–9.
72. Carvajal D., Tovar C., Yang H. et al. Activation of p53 by MDM2 antagonists can protect proliferating cells from mitotic inhibitors. *Cancer Res* 2005;65:1918–24.
73. Kranz D., Dobbstein M. Nongenotoxic p53 activation protects cells against S-phase-specific chemotherapy. *Cancer Res* 2006;66:10274–80.
74. Gudkov A.V., Komarova E.A. Prospective therapeutic applications of p53 inhibitors. *Biochem Biophys Res Commun* 2005;331:726–36.
75. Strom E., Sathe S., Komarov P.G. et al. Small-molecule inhibitor of p53 binding to mitochondria protects mice from gamma radiation. *Nat Chem Biol* 2006;2:474–9.