Quarterly of the Horizon of Medical Sciences
Volume 20, Issue 3, 2014
Pages: 191-201
Type: Analytic Review

Role of p53 in Apoptosis and Cancer Therapy

Noori-Daloii M.R.* ***PhD*****, Abdollahzade R.**[1] ***BSc***

*Medical Genetics Department, Medicine Faculty, Tehran University of Medical sciences, Tehran, Iran
[1]Medical Genetics Department, Medicine Faculty, Tehran University of Medical sciences, Tehran, Iran

Abstract

Introduction: P53 is the most famous tumor suppressor gene that is mutated in over 50% of human cancers. This gene has been described as "guardian of the genome"," the guardian angel gene", and the " master watchman", referring to its critical role in genomic stability, and tumor suppression mainly by inducing apoptosis, cell cycle arrest, and senescence, inhibition of angiogenesis. In this review article were discussed recent advances in p53 research, mainly its role in apoptosis and the approaches to target p53 and its regulators for cancer treatment aimed to either to activate p53 in cancer cells to kill them or temporarily inactivation of p53 in the normal cells to protect them against chemo-radiation.

Conclusion: Due to the vital roles of P53 in carcinogenesis inhibition, this protein is one of the most important therapeutic targets for cancer therapy. Based on genetic variation type in P53, in the normal and tumor cells, a combination of different therapies can be used and also by more comprehensive consideration of the involved signaling pathways new upstream and downstream novel proteins can be discovered to act as targets for new therapeutic targets.

Keywords
Genes, p53 (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/mesh/68016158);
Apoptosis (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/mesh/68017209);
Mutation (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/mesh/68009154);
Genetic Therapy (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/mesh/68015316)

* Corresponding Author
Tel: +98218853005
Fax: +98218853005
Address: Medical Genetics Department, Medicine Faculty, Tehran University of Medical sciences, Poursian Street, Keshavarz Boulevard, Tehran, Iran
nooridaloii@sina.tums.ac.ir
Received: July 2, 2014 Accepted: September 16, 2014 ePublished: September 23, 2014

نقش p53 در آپوپتوز و درمان سرطان

محمدرضا نوری دلویی* PhD
گروه ژنتیک پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران
رسول عبداله‌زاده BSc
گروه ژنتیک پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران

چکیده
مقدمه: ژن p53، معروف‌ترین ژن بازدارنده توموری است که در بیش از ۵۰٪ سرطان‌های انسانی دچار جهش می‌شود. این ژن با عنوان‌هایی چون "نگهبان ژنوم"، "ژن فرشته نگهبان" و "استاد نگهبان" توصیف شده است که به نقش حیاتی آن در پایداری ژنومی، و سرکوب توموری عمدتاً با القای آپوپتوز، توقف چرخه سلولی، پیری، و مهار رگ‌زایی اشاره دارد. در این مقاله مروری، پیشرفت‌های اخیر در رابطه با p53، به‌ویژه نقش آن در آپوپتوز و نیز رویکردهایی جهت هدف قراردادن p53 و تنظیم کننده‌های آن برای درمان سرطان مورد بحث و بررسی قرار گرفته است که هدف کلی این درمان‌ها فعال‌کردن p53 در سلول‌های سرطانی به‌منظور کشتن آنها یا غیرفعال‌کردن موقتی p53 در سلول‌های سالم برای محافظت آنها در مقابل پرتودرمانی یا شیمی‌درمانی است.
نتیجه‌گیری: با توجه به نقش‌های حیاتی p53 در مهار سرطان‌زایی، این پروتئین یکی از مهم‌ترین اهداف دارویی برای درمان سرطان است. براساس نوع تغییرات ژنتیکی ایجادشده در p53 در سلول‌های توموری و سالم، می‌توان ترکیبی از داروهای متفاوت را به کار برد و نیز با فهم بهتر از مسیرهای پیام‌رسانی که p53 در آنها درگیر است می‌توان پروتئین‌های بالادست یا پایین‌دست جدیدی را کشف کرد که به عنوان اهدافی برای داروهای جدید عمل کنند.
کلیدواژه‌ها: ژن p53؛ آپوپتوز؛ جهش؛ ژن‌درمانی

تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۰۴/۱۱
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۰۶/۲۵
*نویسنده مسئول: nooridaloii@sina.tums.ac.ir

مقدمه
سرطان معمولاً با پیشرفت نابه‌جای چرخه سلولی و آپوپتوز ناقص، به دلیل فعال‌شدن پروتوانکوژن‌ها و غیرفعال‌شدن ژن‌های سرکوب کننده تومور یا TSG (Tumor Suppressor Gene) ایجاد می‌شود [۱]. با توجه به اینکه در ایجاد سرطان ژن‌های زیادی درگیر هستند، یافتن ژن‌های نامزد برای درمان سرطان بسیار مهم است. یکی از مهم‌ترین ژن‌های هدف، p53 است که به دلیل مشارکت آن در پهنه بسیار وسیعی از تومورها (حدود ۵۵٪)، فوق‌العاده مورد توجه قرار گرفته است. این ژن، در واقع بیشترین هدف جهش در سرطان‌های انسانی است، به‌نحوی که در سال ۱۹۹۳ به عنوان "مولکول سال" گزینش شده است. در ۲۰ تا ۲۵٪ سرطان‌های پستان و در بیش از ۵۰٪ سرطان‌های مثانه، کولون و ریه جهش‌هایی در ژن p53 مشاهده شده است. این جهش‌ها در کلیدهای رمز متفاوت که در نواحی به‌شدت ابقاشده در اگزون‌های ۵ تا ۱۰ به حالت خوشه مستقر هستند، رخ می‌دهد. این یافته‌ها برعکس جهش‌های مشاهده‌شده در Tp53 مربوط به کارسینوم هپاتوسلولار هستند که در نقاط داغ (Hot Spots)، در کلید رمز ۲۴۹ رخ می‌دهند [۲، ۳].

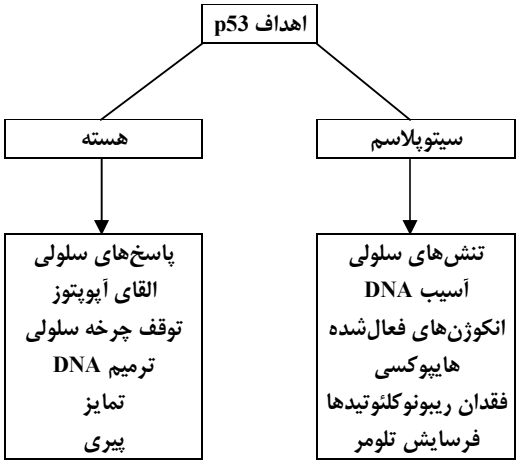
ژن p53 در بازوی کوتاه کروموزوم ۱۷ (17p) واقع است و اطلاعات مربوط به فسفوپروتئین هسته‌ای p53 را در خود دارد که موجب بیان ژن‌های هدف می‌شود. فرآورده این ژن‌ها، چرخه سلولی را در G1 و با ممانعت از فعالیت کمپلکس‌های cdk2- سایکلین D و cdk2- سایکلین E متوقف می‌کند و بدین ترتیب، موجب مهار آنزیم‌های کینازی وابسته به گروهی از پروتئین‌ها به نام سایکلین‌ها می‌شود [۲]. نقش p53 از جنبه‌های متعدد به‌ویژه موارد زیر چشمگیر است:

- تنظیم بیان ژن به عنوان عامل رونویسی و چنان‌چه مستقیماً به DNA وصل شود، رونویسی را فعال می‌کند. جهش‌های کوچک در ردیف بازی ژن p53، توانایی اتصال پروتئین p53 به ردیف‌های بازی ویژه DNA را به‌شدت کاهش می‌دهند.
- برهمکنش با پروتئین اتصال به TATA یا PTB (Protein TATA Binding) که به پروموتر وصل شده، رونویسی را مهار می‌کند.
- نظارت بر کنترل چرخه سلولی و در واقع در کنترل رشد عادی سلول نقش دارد.
- حفظ نظارت ژنومی و پاسخ به آسیب DNA و ترمیم DNAی آسیب‌دیده و القای آپوپتوز
- تنظیم‌کننده منفی رشد که این نقش را با کنترل رونویسی ژن‌های وابسته به چرخه سلولی انجام می‌دهد.
- دارابودن همزمان ویژگی‌های بازدارندگی تومور و خصوصیات انکوژنی

دلیل غیرعملکردی‌بودن p53 در سرطان‌هایی که این مولکول طبیعی است می‌تواند بیان بیش از حد E3- یوبیکویتین‌لیگاز Mdm2 (که موجب پلی‌یوبیکویتیناسیون p53 و در نتیجه تخریب سریع آن می‌شود) یا جلوگیری از ورود p53 به هسته (جایی که به عنوان عامل رونویسی عمل می‌کند) باشد. از زمان کشف p53 در سال ۱۹۷۹ به عنوان انکوژن [۴] و به‌ویژه پس از کشف دوباره آن به عنوان ژن سرکوب‌کننده تومور در سال ۱۹۸۹ [۵، ۶]، p53 نامزد بسیار مهم برای درمان سرطان به شمار می‌آید [۷، ۸]. تحت شرایط طبیعی و بدون تنش، پروتئین p53 به دلیل نیمه‌عمر پایین آن قابل شناسایی نیست. از دلایل اصلی ناپایداری p53 یکی پلی‌یوبیکویتیناسیون آن توسط E3- یوبیکویتین‌لیگازها (Mdm2،

Pirh2 و COP1) و در نهایت تجزیه آن توسط مجموعه پروتئازوم [۹، ۱۰] و دیگری ویژگی‌های فیزیکی خود p53، مانند داشتن دمای ذوب کمی بالاتر از دمای بدن و واسرشت‌شدن (Denature) در همان دمای معمولی بدن است [۱۱].

پروتئین p53 به دلیل داشتن سازوکار عملکردی چندگانه در فعال‌کردن پروتئین‌های درگیر در ترمیم DNA آسیب‌دیده، القای توقف چرخه سلولی در نقطه کنترلی G1/S و القای آپوپتوز درصورتی‌که آسیب‌های واردشده به DNA جبران‌ناپذیر باشند، به عنوان ژن ضدسرطانی شناخته شده است (شکل ۱).



شکل ۱) پروتئین p53 در سیتوپلاسم و هسته نقش‌های اختصاصی ایفا می‌کند؛ یعنی در سیتوپلاسم تنش سلولی (آسیب DNA، انکوژن‌های فعال‌شده، هایپوکسی، فقدان ریبونوکلئوتیدها و فرسایش تلومر) را نشان می‌دهد اما در هسته پاسخ‌های سلولی مانند آپوپتوز [۱۲، ۱۳]، توقف چرخه سلولی، ترمیم DNA، تمایز، پیری و مهار رگ‌زایی را موجب می‌شود.

در این مقاله مروری تحلیلی تلاش شده تا خلاصه‌ای جامع و روزآمد از پیشرفت‌های حاصل‌شده در شناسایی سازوکارهایی که p53 از طریق آنها موجب القای آپوپتوز شده و همچنین راهکارهای مناسب برای درمان سرطان از طریق هدف قراردادن p53 ارایه شود. آپوپتوز القاشده توسط p53 از طریق دو سازوکار "وابسته به رونویسی" و "مستقل از رونویسی" صورت می‌گیرد.

آپوپتوز وابسته به فعالیت رونویسی p53

p53 برای مجموعه‌ای از پروتئین‌های پروآپوپتوزی از خانواده Bcl-2 (Bax، Bid، Noxa و Puma) به عنوان عامل رونویسی عمل می‌کند که موجب افزایش بیان این پروتئین‌ها و در نهایت القای نفوذپذیری میتوکندریایی و آزادشدن سیتوکروم C می‌شود. سیتوکروم C برای فعال‌کردن Apaf-1 ضروری است. این پروتئین در فعال‌کردن کاسپازها نقش حیاتی دارد. p53 همچنین ASC (Apoptosis-associated Speck-like Protein) را القا می‌کند که در قرارگیری پروتئین Bax در میتوکندری و القای نفوذپذیری غشای میتوکندری برای آزادشدن سیتوکروم C نقش دارد [۱۴، ۱۵].

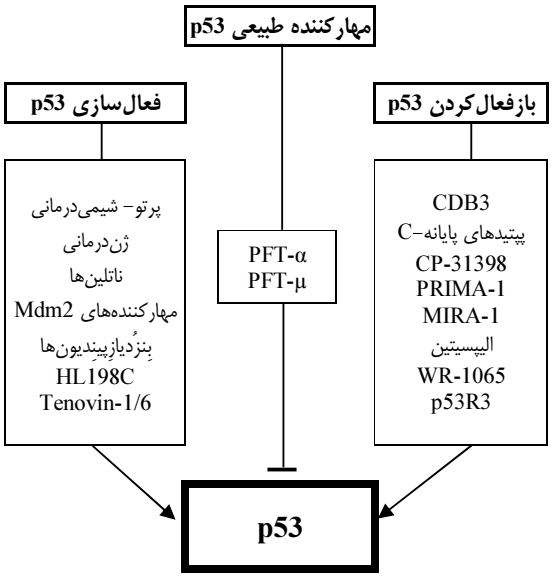
چندین پروتئین میتوکندریایی دیگر نیز توسط p53 القا می‌شوند. نقش برخی از این پروتئین‌ها، مانند فرودوکسین‌ردوکتاز که در تولید گونه‌های واکنشگر اکسیژن نقش دارد، در آپوپتوز تا حدودی شناسایی شده، درحالی‌که پروتئین‌های دیگر، مانند p53AIP و PIDD که در فعال‌شدن کاسپاز-۲ نقش دارد و پروتئین هیستون H1.2، به‌طور مستقیم یا غیرمستقیم موجب نفوذپذیری میتوکندری می‌شوند و سازوکارهای مولکولی آنها کمتر شناخته شده است. p53 همچنین موجب القای پروتئین‌های درگیر در مسیر بیرونی آپوپتوز (مانند Fas/CD95، DR5 و PERP)، پروتئین‌های موجود در شبکه اندوپلاسمی، کاسپاز-۶ و کاسپاز-۹ می‌شود. افزون بر این، p53 موجب سرکوب رونویسی از ژن‌های ضدآپوپتوزی مانند Bcl-2، سوروایوین (Survivin)، IGFR، Mcl-1 و PIK3CA می‌شود [۱۸-۱۶]. بنابراین، پروتئین p53 در سطح رونویسی از طریق افزایش بیان ژن‌های آپوپتوزی و کاهش بیان ژن‌های ضدآپوپتوزی موجب تحریک آپوپتوز در سلول‌های توموری می‌شود.

آپوپتوز مستقل از فعالیت رونویسی p53

p53، در مسیر مستقل از رونویسی، به‌طور مستقیم میتوکندری‌ها را هدف قرار می‌دهد، به‌نحوی که پس از آسیب به DNA، نسبتی از پروتئین‌های p53 از هسته خارج شده و به غشای بیرونی میتوکندری متصل می‌شوند. p53 میتوکندریایی به Bcl-2 و Bcl-xL متصل شده و اثر مهاری آنها بر پروتئین‌های Bak و Bax را خنثی می‌کند و در نهایت موجب نفوذپذیرشدن میتوکندری و آزادشدن سیتوکروم C می‌شود [۱۴، ۱۹]. پروتئین‌های Bcl-2 و Bcl-xL به ناحیه متصل‌شونده به DNAی p53 متصل می‌شوند؛ همان ناحیه‌ای که اصلی‌ترین نقاط داغ برای جهش در سلول‌های سرطانی انسان را حمل می‌کند. بنابراین، اکثر جهش‌های p53 که مانع از اتصال آن به DNA می‌شوند، موجب تداخل در اتصال به Bcl-2 و Bcl-xL نیز می‌شوند [۱۴، ۲۰]. بنابراین، پروتئین p53 از طریق دو موج موجب القای آپوپتوز می‌شود. نخستین موج که سریع است و در طول چند دقیقه رخ می‌دهد، مستقل از رونویسی بوده و خود p53 به‌طور مستقیم به میتوکندری متصل می‌شود. دومین موج که چند ساعت به طول می‌انجامد، وابسته به رونویسی است. اهمیت قرارگیری p53 روی میتوکندری در پاسخ به آسیب DNA بحث‌برانگیز است و جهت‌گیری میتوکندریایی p53 به نوع سلول بستگی دارد. برای نمونه، در فیبروبلاست‌های اولیه، p53 در پاسخ به آسیب DNA روی میتوکندری قرار نمی‌گیرند، درحالی‌که در تیموسیت‌ها، p53 در پاسخ به آسیب DNA روی میتوکندری قرار می‌گیرد [۱۴].

هیستون H1.2 به دنبال برش‌های دورشته‌ای DNA روی میتوکندری قرار می‌گیرد. برای انجام این فرآیند به فعالیت مستقل

از رونویسی p53 نیاز است. هیستون H1 به DNAی رابط بین نوکلئوزوم‌ها متصل می‌شود و در انسان و موش، ۸ ژن کدکننده برای آن وجود دارد. پس از ایجاد DSB در DNA، همه هیستون‌های H1 به مقداری جزیی وارد سیتوپلاسم می‌شوند. با این وجود تنها H1.2 توانایی آزادسازی سیتوکروم C از میتوکندری‌ها را دارد. خود DSBها یا فرآیند ترمیم وابسته به p53 موجب رهاشدن H1.2 از کروماتین به نوکلئوپلاسم و سپس سیتوپلاسم می‌شود. در غشای بیرونی میتوکندری، هیستون H1.2 موجب تغییر ساختار فضایی Bak به حالت فعال و الیگومریزاسیون آن می‌شود. سازوکار H1.2 در فعال‌کردن Bak و در نهایت آزادشدن سیتوکروم C از میتوکندری‌ها تنها در پاسخ به برش‌های دورشته‌ای رخ می‌دهد [۱۵، ۱۶، ۲۰، ۲۱].



شکل ۲) سه رویکرد درمانی اصلی برای هدف گیری p53. ۱- فعال‌کردن p53 طبیعی با پرتو- شیمی‌درمانی، ژن‌درمانی، ناتلین‌ها، مهارکننده‌های Mdm2 و غیره؛ ۲- مهار موقتی p53 طبیعی برای محافظت سلول‌های غیرتوموری در برابر پرتو- شیمی‌درمانی به واسطه دو داروی کلیدی α-(PFT) و PFT-μ؛ ۳- بازفعال‌کردن p53 جهش‌یافته در سلول‌های توموری یا کشتن انتخابی سلول‌های سرطانی دارای p53 جهش‌یافته با استفاده از داروهایی چون CD3، پپتیدهای پایانه-C، PRIMA-1، MIRA-1 و الیپتیسین.

پروکاسپاز-۲ ممکن است دو رویداد "آسیب به DNA" و "آسیب به میتوکندری" را به هم مرتبط می‌سازد. پروکاسپاز-۲ توسط کمپلکس مولکولی PIDDosome در هسته فعال می‌شود. بیان PIDDosome توسط p53 و RAIDD/CRAIDD القا می‌شود. بیان افزایش‌یافته PIDD موجب فعال‌شدن خودبه‌خودی پروکاسپاز-۲ و حساسیت به آپوپتوز توسط آسیب‌های DNA می‌شود. در هسته، مولکول‌های پروکاسپاز-۲ در کنار هم قرار گرفته و توسط فرآیند خودبرشی (Autocleavage) فعال می‌شوند، سپس کاسپاز-۲ فعال از هسته خارج شده و به‌طور مستقیم آزادسازی سیتوکروم C از میتوکندری را تحریک می‌کند [۲۳، ۲۴].

رویکردهای درمانی اصلی در هدف‌گیری p53

رویکردهای درمانی اصلی در هدف‌گیری p53، فعال‌کردن p53 طبیعی؛ مهار موقتی p53 طبیعی (برای محافظت از سلول‌های غیرتوموری در برابر پرتو- شیمی‌درمانی)؛ و بازفعال‌کردن p53 جهش‌یافته با دو رویکرد فعالیت مجدد آن در سلول‌های توموری یا کشتن انتخابی سلول‌های سرطانی دارای p53 جهش‌یافته (شکل ۲) است.

۱) هدف قراردادن p53 طبیعی برای فعال‌کردن آن

این رویکردها عبارت از استفاده از پرتو- شیمی‌درمانی برای فعال‌کردن p53 طبیعی؛ استفاده از ژن‌درمانی برای معرفی p53 طبیعی یا آدنوویروس تغییریافته برای کشتن سلول‌های سرطانی با p53 جهش‌یافته؛ و استفاده از پپتیدهای سنتزی یا مولکول‌های کوچک غیرژنوتوکسیک برای فعال‌کردن p53 طبیعی هستند.

الف) پرتو- شیمی درمانی

داروهای ضدسرطانی معمول p53 را هدف قرار می‌دهند، زیرا تقریباً همه داروهای ضدسرطان ژنوتوکسیک، مانند پرتوهای یونیزه‌کننده یا IR (Ionizing Radiation) موجب آسیب‌های DNA می‌شوند. رخدادی که فعال‌شدن و پایداری p53 را به همراه دارد [۲۵]. پژوهش‌های *این‌ویترو* پیش‌بالینی اولیه بر سلول‌ها و الگوهای *این‌ویوو* توموری نشان می‌دهند که سلول‌ها یا تومورهایی که p53 طبیعی را حمل می‌کنند، حساسیت بیشتری به پرتو و دارو دارند [۲۶]. افزون بر این، پژوهش‌های بالینی اولیه نشان می‌دهند که p53 جهش‌یافته موجب مقاومت به پرتو- شیمی‌درمانی در بیماران مبتلا به سرطان‌های تخمدان، پستان، معده و روده می‌شود. پژوهش‌های بیشتر در هر دو سطح بالینی و پیش‌بالینی مشخص می‌کنند که معمولاً سلول‌های سرطانی با p53 طبیعی به پرتو و دارو حساسیت بیشتری دارند [۲۷، ۲۸]؛ اگر چه استثنائاتی هم وجود دارند. برای نمونه، مبتلایان به سرطان پستان با p53 جهش‌یافته‌ای که از لحاظ رونویسی معیوب است، نسبت به بیماران با p53 طبیعی پاسخ بهتری به پرتو- شیمی‌درمانی می‌دهند [۲۹]. نبود فعالیت p53 در چند رده از سلول‌های سرطانی سروگردن، موجب حساسیت آنها به IR می‌شود. افزون بر این، وضعیت p53، پاسخ سلولی را به پرتو- شیمی‌درمانی به شیوه‌ای وابسته به نوع داروی ضدسرطانی مشخص می‌کند. سلول‌های سرطان کولون با p53ی حذف‌شده، حساسیت بیشتری به داروی آسیب‌زننده به DNA و دوکسوروبیسین (Doxorubicin) دارند، اگر چه نسبت به داروی ضدمتابولیت ۵- فلوئوروواوراسیل مقاومت بیشتری بروز

می‌دهند [۳۰]. این گزارش‌ها نشان می‌دهند که تومورها به دلیل هتروژن‌بودن ذاتی‌شان، پاسخ‌های سلولی متفاوتی را به پرتو- شیمی‌درمانی می‌دهند و این پاسخ منحصراً توسط وضعیت p53 (طبیعی یا جهش‌یافته) مشخص نمی‌شود. با این وجود، درک پاسخ‌های سلولی با توجه به وضعیت p53، می‌تواند در طراحی منطقی داروهای ضدسرطانی با بیشترین کارآیی ممکن کمک شایانی داشته باشد.

ب) ژن‌درمانی

- واردسازی ژن p53 طبیعی به سلول‌های سرطانی: به دلیل اینکه عملکرد p53 در بسیاری از سرطان‌های انسانی دچار نقص می‌شود، واردسازی ژن p53 طبیعی برای درمان این سلول‌ها، روشی منطقی به شمار می‌آید [۳۱]. رویکردی معمول در ژن‌درمانی استفاده از ویروس‌ها برای واردکردن p53 است. در پژوهشی اولیه برای ژن‌درمانی p53 با استفاده از رتروویروس‌ها، ژن p53 طبیعی وارد سلول‌های توموری سرطان ریه انسان شده و موجب مهار رشد *این‌ویترو* و *این‌ویوو* تومور گردید. ژن‌درمانی با انتقال p53 طبیعی انسان توسط آدنوویروس‌های معیوب (Ad-p53) برای انتقال کارآمدتر و با سمّیت پایین‌تر، به‌طور گسترده در سطوح پیش‌بالینی و بالینی مورد استفاده قرار گرفته و از طریق القای توقف رشد و القای آپوپتوز، فعالیت ضدسرطانی بسیار موثری داشته است [۳۲، ۳۳]. Ad-p53 با نام تجاری جندیسین (Gendicine) یا آدوکسین (Advexin)، در حال حاضر در کارآزمایی بالینی در چین و مرحله ۱ تا ۳ کارآزمایی بالینی در ایالات متحده استفاده می‌شود [۷، ۳۴]. نتایج نشان می‌دهد که جندیسین/آدوکسین در درمان سرطان‌های مری، سروگردن و ریه، به‌تنهایی یا در ترکیب با شیمی‌درمانی یا پرتودرمانی بسیار موثر است [۷، ۳۵].

- حذف سلول‌های سرطانی دارای p53 جهش‌یافته به‌وسیله آدنوویروس‌ها: یکی دیگر از رویکردهای ژن‌درمانی مرتبط با p53، استفاده از آدنوویروس‌هایی است که ژن E1B در آنها حذف شده (ONYX-015) [۳۶، ۳۷] و به‌طور انتخابی در سلول‌های سرطانی با p53 معیوب همانندسازی کرده و موجب لیز آنها می‌شوند. پژوهش‌های پیش‌بالینی فعالیت ضدتوموری قوی ONYX-015 را *این‌ویترو* و *این‌ویوو* نشان می‌دهند، به‌ویژه اگر در شکل ترکیبی همراه با پرتو- شیمی‌درمانی استفاده شود [۳۸].

ج) هدف‌قراردادن تنظیم‌کننده‌های منفی p53 به‌منظور فعال‌کردن آن

رویکرد موثر دیگر برای فعال‌کردن p53 طبیعی، مهار تنظیم‌کننده‌های منفی آن است. یکی از مهارکننده‌های p53 طبیعی که به‌خوبی شناخته شده، پروتئین Mdm2 (در انسان Hdm2) است. این پروتئین در پایانه N خود، قلمرو متصل‌شونده به p53 و در پایانه C دارای قلمروی RING است. Mdm2 از طریق دو سازوکار موجب مهار p53 می‌شود: ۱) اتصال به p53 از طریق پایانه N خود و مهار فعال‌سازی ترانس آن؛ و ۲) پلی‌یوبیکویتیناسیون p53 از طریق فعالیت E3- یوبیکویتین‌لیگازی Mdm2 و در نتیجه تجزیه پروتئازومی آن.

افزون بر این، Mdm2 در خارج‌کردن p53 از هسته، جایی‌که p53 به عنوان عامل رونویسی عمل می‌کند، نقش مهمی دارد [۳۹]. بیان Mdm2 تقریباً در ۷٪ سرطان‌های انسانی البته بیشتر در تومورهای بافت نرم، مانند استئوسارکوما (Osteosarcoma)، افزایش می‌یابد. پژوهش‌های *این‌ویترو* و *این‌ویوو* نشان داده است که فعالیت انکوژنی Mdm2 به دلیل اثر مهاری آن بر p53 است [۴۰]. بنابراین مهار Mdm2 در این زیرمجموعه از سرطان‌های انسانی باید موجب فعال‌شدن دوباره p53 و القای مرگ سلولی شود. برای رسیدن به این هدف، سه رویکرد ۱) تداخل در برهمکنش بین Mdm2 و p53 توسط پپتیدهای سنتزی یا آنتی‌بادی‌های مونوکلونال؛ ۲) مهار فعالیت E3- یوبیکویتین‌لیگازی Mdm2؛ و ۳) کاهش سطوح Mdm2 با استفاده از الیگونوکلئوتیدهای آنتی‌سنس یا siRNA وجود دارد [۴۱].

- مولکول‌های کوچک برای تخریب برهمکنش Mdm2-p53: ساختار کریستالی Mdm2-p53 آشکار کرده است که اتصال این دو پروتئین به برهمکنش بین زنجیره جانبی اسیدآمینه‌های Phe19، Trp23 و Leu26 از p53 با اسیدآمینه‌های ۱۷-۱۲۵ در پایانه-N پروتئین Mdm2 وابسته است [۴۲]. چند رده از ترکیبات که از نظر ساختاری از هم مجزا هستند، می‌توانند موجب تداخل در برهمکنش Mdm2-p53 شوند [۴۳] که مهم‌ترین آنها عبارت از ناتلین‌ها (Nutlins)، بِنزُدیازِپیندیون‌ها (Benzodiazepinedions) و مهارکننده‌های Mdm2 (MI) مشتق‌شده از اسپیرو- اُکسیندول‌ها (Spiro-oxindoles) هستند.

ناتلین‌ها: این مجموعه، نخستین مولکول‌هایی هستند که از طریق ایجاد برهمکنش‌های قوی با Mdm2، موجب جداشدن Mdm2 از p53 می‌شوند [۴۴]. Nutlin-3 یکی از آنالوگ‌های این مجموعه است که از طریق افزایش سطوح p53 و افزایش فعالیت رونویسی آن، نقش مهمی در سلول‌های سرطانی که p53 طبیعی دارند (مانند رده‌های سلولی سرطان‌های پستان و کولون، سلول‌های استئوسارکوما، لوکمی لینفوبلاستیک و رتینوبلاستوما) ایفا می‌کند [۴۵]. Nutlin-3 در ترکیب با پرتو- شیمی‌درمانی، نقش هم‌افزا (Synergistic) را علیه سرطان‌های پروستات، ریه، لوکمی لیمفوسیتیک و رتینوبلاستوما نشان داده است [۴۶، ۴۷].

بِنزُدیازِپیندیون‌ها: بررسی ساختار کریستال اشعه ایکس نشان می‌دهد که این مولکول‌ها از طریق اتصال به قلمرو متصل‌شونده به p53 از Mdm2 موجب تداخل در برهمکنش Mdm2-p53 می‌شوند. این ترکیبات از طریق افزایش فعالیت رونویسی p53، موجب مهار تکثیر سلول‌های سرطانی در شیوه‌ای وابسته به p53

طبیعی می‌شوند و همراه با دوکسوروبیسین اثری هم‌افزا را در مهار رشد سلول‌های توموری *این‌ویترو* و *این‌ویوو* دارند [۴۸].

مجموعه MI: از مشتقات اسپیرو- اُکسیندول‌ها، شامل MI-219، MI-63 و MI-43 هستند. این ترکیبات از طریق تقلید ساختار هر ۴ ریشه اسیدآمینه‌ای p53 (Phe19، Trp 23، Leu 22 و Leu 26) با Mdm2 برهمکنش می‌دهند. در میان ۳ ترکیب نامبرده، MI-219 قوی‌ترین برهمکنش را با Mdm2 برقرار می‌کند [۴۹]. ترکیب دیگر که به مراتب سمّیت کمتری برای سلول‌های طبیعی نسبت به سلول‌های توموری دارد، MI-43 است. در درمان سرطان ریه، MI-43 ترجیحاً موجب مهار رشد در سلول‌هایی می‌شود که ژن p53 طبیعی دارند [۵۰].

- مهارکننده‌های فعالیت E3- یوبیکویتین‌لیگازی Mdm2

HLI98: شامل مجموعه‌ای از ترکیبات است که موجب مهار فعالیت E3- یوبیکویتین‌لیگازی Mdm2 می‌شوند. یکی از آنالوگ‌های این مجموعه، HLI98C است که افزون بر مهار فعالیت E3- یوبیکویتین‌لیگازی Mdm2، موجب افزایش پایداری p53، افزایش رونویسی وابسته به p53 و آپوپتوز می‌شود. HLI98C بیشترین کارآیی را بر سلول‌های سرطانی با p53 طبیعی دارد، اگر چه سمّیت مستقل از p53 را بر سلول‌ها نشان می‌دهد [۵۱، ۵۲]. در درمان سرطان با استفاده از رویکرد مهارکننده‌های Mdm2، دو نکته مهم باید مورد توجه قرار گیرند:

۱) القای p53 در نتیجه مهار Mdm2 توسط این ترکیبات، عوارض جانبی مهمی را در سلول‌های طبیعی در پی دارد.

۲) فعال‌شدن p53، در مرحله پس از درمان توسط این ترکیبات، خود موجب تجمع پروتئین‌های Mdm2 می‌شود؛ زیرا یکی از ژن‌هایی که هدف رونویسی p53 قرار می‌گیرد، ژن Mdm2 است. پروتئین Mdm2 افزون بر p53، پروتئین‌های p73، p63، E2F1 و HIF1a را نیز هدف قرار می‌دهد [۵۳]. پژوهشی در سال ۲۰۰۹ نشان می‌دهد که Mdm2 موجب تجمع XIAP و مهار آپوپتوز می‌شود [۵۴]. این اثرات مستقل از p53 اما وابسته به Mdm2، در نهایت کارآیی این دسته از ترکیبات را تحت تاثیر قرار می‌دهند.

SirT1/SirT2: دسته دوم از تنظیم‌کننده‌های منفی p53 هستند. SirT1 و SirT2 دو عضو هیستون‌دِاستیلازهای رده ۳ وابسته به NAD^+ هستند که در انسان ۷ عضو دارد [۵۵]. این ۲ آنزیم واکنش بین لیزین استیله‌شده و NAD^+ را کاتالیز می‌کنند که موجب تولید لیزین دِاستیله، ′۲-O- استیل-ADP- ریبوز و نیکوتین‌آمید می‌شود. استیله‌شدن p53 در لیزین- ۳۸۲، تمایل اتصالی p53 را به DNA افزایش می‌دهد. بنابراین، دِاستیله‌شدن p53 در لیزین- ۳۸۲ توسط SirT1 موجب غیرفعال‌شدن و ناپایداری p53 می‌شود؛ در نتیجه آنزیم SirT1 به عنوان تنظیم‌کننده منفی p53 عمل کرده و با مهار آن توسط داروهایی خاص، می‌توان فعالیت p53 طبیعی را افزایش داد [۵۶، ۵۷]. مهم‌ترین داروهایی که به عنوان مهارکننده‌های SirT1/SirT2 عمل می‌کنند، Tenovin-1 و Tenovin-6 هستند. این ترکیبات با مهار SirT1/SirT2 موجب پایداری p53 طبیعی، القای توقف چرخه سلولی وابسته به p53 و تحریک آپوپتوز می‌شوند. بنابراین تنوین‌ها رده جدیدی از عامل‌های فعال‌کننده p53 هستند که می‌توانند در موارد بالینی برای درمان سرطان مورد استفاده قرار گیرند [۵۸].

۲- هدف‌قراردادن p53 طبیعی برای مهار موقتی آن

شیمی‌درمانی یا پرتودرمانی، سلول‌های سرطانی را می‌کشد، در عین حال موجب ایجاد عوارض جانبی به دلیل سمّیت آنها برای سلول‌های طبیعی نیز می‌شود. بخشی از این سمّیت ناشی از فعال‌شدن p53 و القای آپوپتوز در سلول‌ها/بافت‌های در حال تکثیر، مانند مغز استخوان، اندام‌های لنفوئیدی، فولیکول‌های مو و سطوح اپیتلیوم روده کوچک است. مهار موقتی p53 در سلول‌های طبیعی در طول درمان تومورهای با p53 معیوب باید این اثرات جانبی را کاهش دهد [۵۹]، چراکه p53، آپوپتوز را در دو مسیر وابسته به رونویسی و مستقل از رونویسی القا می‌کند. ۲ رده از مولکول‌های کوچک شناسایی شده‌اند که فعالیت رونویسی p53 و توانایی اتصال آن را به میتوکندری مهار می‌کنند. اولین رده از این ترکیبات تحت عنوان پیفیترین- آلفا (PFT-α) نامیده می‌شوند که به‌طور قابل برگشت فعالیت رونویسی وابسته به p53 و آپوپتوز را مهار کرده و موجب محافظت موش‌ها از دوزهای کشنده IR بدون القای تشکیل تومور می‌شوند. دومین گروه از این ترکیبات پیفیترین- مو (PFT-μ) نام دارند که موجب مهار اتصال p53 به میتوکندری، از طریق کاهش تمایل اتصالی آن به Bcl-xL و Bcl-2 می‌شوند. پروتئین PFT-μ نیز مشابه PFT-α موجب محافظت تیموسیت‌های اولیه موش از آپوپتوز وابسته به p53 در پاسخ به IR می‌شود. این ۲ گروه از ترکیبات می‌توانند برای استفاده بالینی در ترکیب با پرتو- دارو در درمان سرطان‌ها استفاده شوند [۶۰].

۳- بازفعال‌کردن p53

الف) هدف‌قراردادن p53 جهش‌یافته برای بازیابی عملکرد آن

به این دلیل که در بیش از ۵۰٪ سرطان‌های انسانی، ژن p53 جهش‌یافته است، رویکردی موثر برای درمان سرطان، بازفعال‌کردن p53 جهش‌یافته است. فنون مورد استفاده برای بازیابی فعالیت p53 جهش‌یافته به نوع جهش بستگی دارد. یکی از رویکردهای اصلی برای بازیابی فعالیت p53 جهش‌یافته، استفاده از پپتیدهای سنتزی یا مولکول‌های کوچک است که به تاخوردن مناسب ساختار

فضایی p53 کمک می‌کنند که نمونه‌هایی از آنها در ادامه معرفی شده‌اند:

CDB3: یک پپتید کوتاه سنتزی با ۹ ریشه اسیدآمینه که از p53-BP2 (53BP2 یا ASPP) مشتق شده است. 53BP2 پروتئین متصل‌شونده به p53 است که با قلمرو هسته‌ای p53 برهمکنش می‌دهد و موجب فعال‌سازی ترانس وابسته به p53 می‌شود [۶۱]. ایده نهفته در این رویکرد این است که پپتید با تمایل بیشتری به گونه تاخورده پروتئین نسبت به گونه تانخورده‌ی جهش‌یافته متصل می‌شود که در نهایت تعادل را به سمت ساختار فضایی طبیعی تغییر می‌دهد [۵۵]. پژوهش‌های *این‌ویترو* نشان می‌دهند که پپتید CDB3 هر ۲ نوع از جهش‌های p53 را بازیابی می‌کند. افزون بر این، CDB3 موجب القای تجمع p53 شده و در نتیجه، افزایش حساسیت سلول‌های سرطانی به پرتودرمانی را موجب می‌شود [۶۲].

CP-31398: نخستین مولکولی است که توانایی تبدیل ساختار فضایی p53 از حالت جهش‌یافته به طبیعی را نشان داده است [۶۳]. CP-31398 از طریق پایدارکردن قلمرو هسته‌ای p53 موجب افزایش فعالیت رونویسی آن در سلول‌های زنده می‌شود. این مولکول از طریق سازوکار ناشناخته‌ای موجب کاهش یوبیکویتیناسیون p53 و در نتیجه افزایش سطوح بیان آن می‌شود. از جنبه زیست‌شناختی، CP-31398 موجب القای توقف رشد و القای آپوپتوز در چند رده از سلول‌های سرطانی انسان *این‌ویترو* و *این‌ویوو* می‌شود. همچنین از سرطان‌زایی پوست توسط UVB جلوگیری می‌کند [۶۴].

PRIMA-1 و MIRA-1: دو گروه از ترکیبات با ساختار شیمیایی منحصربه‌فرد هستند که هم موجب بازیابی توانایی اتصال p53 جهش‌یافته به DNA می‌شوند و هم ساختار فضایی p53 جهش‌یافته را به حالت طبیعی تغییر می‌دهند [۶۵، ۶۶]. این ترکیبات بر خلاف CP-31398 و CDB3، تاثیری بر فعالیت p53 طبیعی ندارند. پژوهشی در سال ۲۰۰۹ نشان می‌دهد که PRIMA-1 به فرآورده‌ای فرعی تبدیل می‌شود که با تشکیل ترکیبات اضافی کووالانسی تیول بر p53 جهش‌یافته موجب بازیابی فعالیت سرکوب‌کنندگی توموری آن می‌شود [۶۷]. از نقطه‌نظر زیست‌شناختی، هر ۲ ترکیب PRIMA-1 و MIRA-1، فعالیت ضدتوموری را در چند رده از سلول‌های سرطانی که p53 جهش‌یافته را حمل می‌کردند، از خود نشان دادند. پژوهش‌های دیگری نشان می‌دهند که PRIMA-1 علیه سلول‌های سرطانی، توسط مسیر JNK و پروتئین شوک گرمایی-۹۰ (Hsp-90) عمل می‌کند [۶۸]. در نهایت، PRIMA-1 و آنالوگ آن، PRIMA-1 (met) سلول‌های سرطانی ریه و پروستات را به ترتیب به آدریامایسین (Adriamycin) و پرتو حساس می‌کند [۶۹].

اِلیپتیسین (Ellipticine): یکی از مشتقات اصلی این ترکیب ۹-هیدروکسی‌اِلیپتیسین است که موجب افزایش رونویسی p21 و Bax شده و از سویی موجب القای توقف چرخه سلولی در G1 در سلول‌هایی که در p53 جهش‌یافته‌اند، می‌شود [۷۰]. پژوهشی دیگر نشان می‌دهد که اِلیپتیسین، ساختار فضایی p53 جهش‌یافته را به حالت طبیعی تغییر می‌دهد و همچنین موجب بازیابی توانایی اتصال p53 جهش‌یافته به DNA می‌شود. به دلیل اینکه اِلیپتیسین و مشتقات آن فعالیت‌های ناخواسته مانند القای تجزیه p27 را موجب می‌شوند، کاربردهای بالینی محدودی دارند [۷۱].

WR-1065: نام دیگر این ترکیب، آمینوتیول است که یک متابولیت فعال از آمیفوستین (Amifostine) محافظ سلولی است و در حذف گونه‌های واکنشگر اکسیژن نقش مهمی ایفا می‌کند. WR-1065، هر دو شکل جهش‌یافته و طبیعی p53 را فعال می‌کند و موجب افزایش بیان ژن‌های هدف p53 در روشی مستقل از آسیب DNA می‌شود [۷۲].

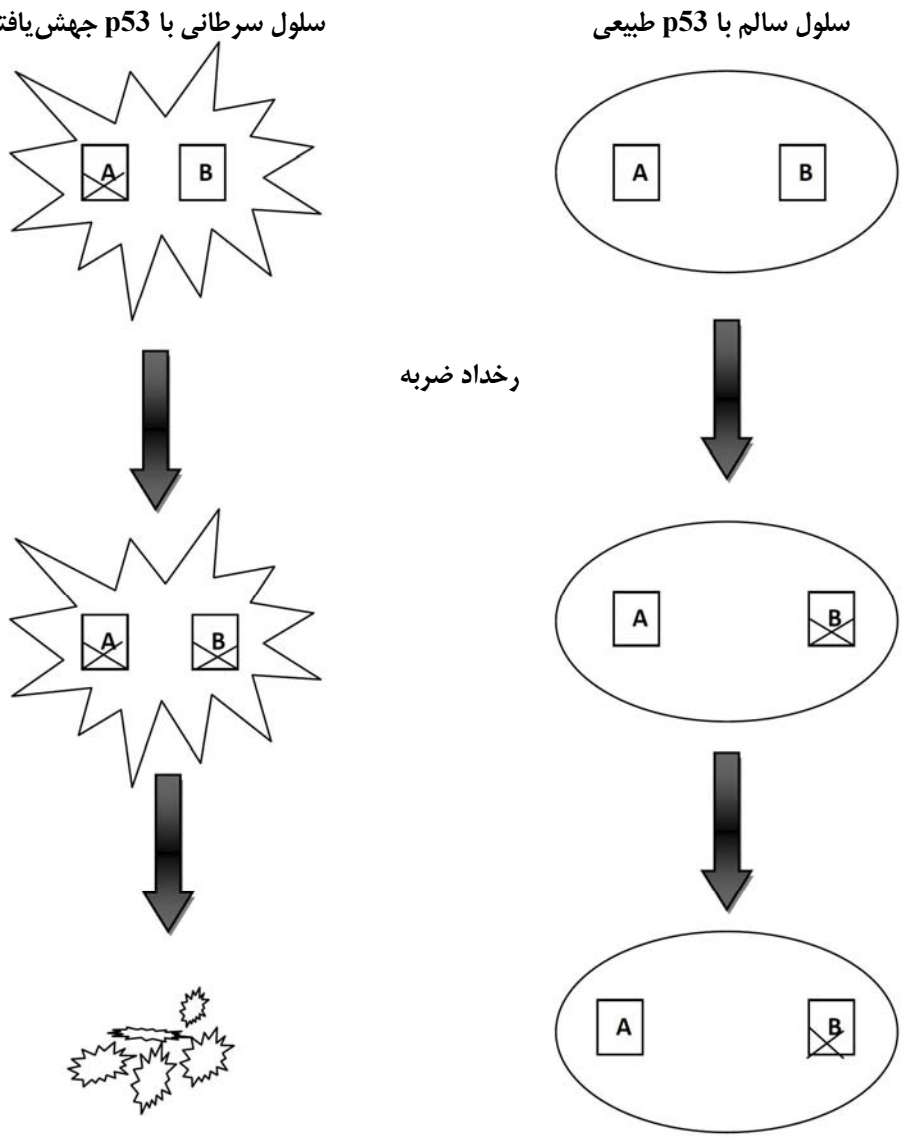
p53R3: این مولکول کوچک از طریق فراخواندن هر دو شکل جهش‌یافته و طبیعی p53 به پروموترهای هدف، موجب افزایش بیان ژن‌های هدف p53 می‌شود. از نظر زیست‌شناختی، این ترکیب توقف رشد وابسته به p53 را القا می‌کند و همچنین رده‌های سلول گلیوما را به مرگ سلولی القاشده توسط TRAIL حساس می‌نماید [۷۳].

ب) هدف‌قراردادن p53 جهش‌یافته برای کشتن سلول حاوی آن

کشندگی سنتزی (Synthetic Lethality) وضعیتی است که در آن جهش مرتبط با سرطان، خودش کشنده نیست اما موجب می‌شود سلول‌های سرطانی مستعد به ضربه دومی شوند که کشنده است [۷۴]. در مورد p53 که در ۵۰٪ سرطان‌های انسانی دچار جهش می‌شود، کاربرد راهکار کشندگی سنتزی برای شناسایی ترکیبات شیمیایی که به‌طور انتخابی سلول‌های سرطانی دارای p53 جهش‌یافته را حمل می‌کنند، اهمیت فوق‌العاده‌ای در کشف رده‌ای جدید از داروهای ضدسرطانی خواهد داشت (شکل ۳). داروهای کشنده سنتزی p53 در صورت شناسایی و توسعه می‌توانند برای کشتن انتخابی سلول‌های سرطانی دارای p53 جهش‌یافته و حذف سلول‌های مستعد سرطان در مرحله اولیه سرطان‌زایی که دارای p53 جهش‌یافته هستند، استفاده شوند.

افزون بر این داروهای کشنده سنتزی p53 از جهت نظری دارای کمترین عوارض جانبی هستند؛ زیرا سلول‌های سالم دارای p53 با عملکرد طبیعی هستند [۷۵]. چندین داروی کشنده سنتزی p53 شناسایی شده‌اند که مهم‌ترین آنها به شرح زیر است:

پاکلیتاکسل (Paclitaxel): مهارکننده قوی برای پلیمریزاسیون میکروتوبول‌هاست. MAP-4 یکی از ژن‌های هدفی است که بیان آن در سطح رونویسی توسط p53 مهار شده و احتمالاً موجب حساسیت سلول‌های فاقد فعالیت p53 به پاکلیتاکسل و در نتیجه مرگ آنها می‌شود [۷۶].



شکل ۳) مرگ سلول‌های سرطانی با p53 جهش‌یافته به‌واسطه سازوکار کشندگی سنتزی. در این روش فقط سلول‌های سرطانی یا سلول‌هایی که در نتیجه ازدست‌دادن یکی از نسخه‌های ژن p53 مستعد سرطانی‌شدن هستند، هدف قرار گرفته و از بین می‌روند.

متفورمین (Metformin)**:** داروی دیابتی است که احتمالاً از طریق فعال‌کردن AMPکیناز و مهار فسفریلاسیون اکسایشی، به‌طور انتخابی موجب مهار رشد سلول‌های توموری با p53 جهش‌یافته می‌شود [۷۷].

UCN01**:** داروی بسیار قوی برای ازبین‌بردن نقطه کنترلی G2/ M است که سلول‌های سرطانی جهش‌یافته در p53 را به IR مستعد می‌کند، درحالی‌که سلول‌های سرطانی با p53 عملکردی بیشتر مقاوم بودند [۷۸]. مولکول‌های کوچکی که نقطه کنترلی G2/M را در چرخه سلولی از بین می‌برند، می‌توانند به عنوان داروی ضدسرطانی از طریق سازوکار کشندگی سنتزی علیه سلول‌های توموری که فاقد p53 طبیعی هستند، استفاده شوند. این فرضیه براساس این واقعیت است که سلول‌های فاقد p53 فعال، نقطه کنترلی G1/S را از دست داده‌اند و بنابراین، فقدان بیشتر نقطه کنترلی G2/ M به‌طور انتخابی سلول‌های سرطانی فاقد p53 عملکردی را از طریق سازوکار فاجعه میتوزی خواهد کشت.

PD0166285**:** مهارکننده قوی کیناز Wee-1 است که نقطه کنترلی G2/M را از بین برده و به طور انتخابی سلول‌های p53 جهش‌یافته را به IR حساس می‌کند [۷۹].

نتیجه‌گیری

سرطان بیماری پیچیده با تغییرات ژنتیکی و اپی‌ژنتیکی چندگانه است. تغییرات ژنتیکی ایجادشده در هر سرطان، حتی مواردی که دارای منشا بافتی/اندامی یکسانی هستند، ممکن است بسیار متفاوت باشند یا برعکس، سرطان‌های منشاگرفته از بافت‌های متفاوت ممکن است تغییرات ژنتیکی یکسانی را در مسیرهای پیام‌رسانی خاص داشته باشند. بنابراین، برای درمان موثر هر سرطان، فهم دقیقی از تغییرات ژنتیکی و اپی‌ژنتیکی مربوط به آن سرطان از ضرورت‌هاست تا بتوان با طراحی منطقی داروهای ترکیبی، مولکول‌ها و مسیرهای تغییریافته را هدف قرار داد. با توجه به نقش‌های حیاتی p53 در مهار سرطان‌زایی، این پروتئین یکی از مهم‌ترین اهداف دارویی برای درمان سرطان است. براساس نوع تغییر ژنتیکی ایجاد شده در p53 در سلول‌های توموری و سالم، ترکیبی از داروهای متفاوت را به کار می‌برند. برای نمونه در تومورهای با p53 طبیعی، پرتو- شیمی‌درمانی می‌تواند در ترکیب با داروهای فعال‌کننده p53 مورد استفاده قرار گیرد. یا ترکیبی از پرتو- شیمی‌درمانی با داروهایی که موجب بازیابی فعالیت p53 جهش‌یافته می‌شوند، یا داروهایی که از طریق سازوکار کشندگی سنتزی عمل می‌کنند موجب افزایش کارآیی داروها علیه تومورهایی می‌شوند که p53 جهش‌یافته دارند. افزون بر این، با فهم بهتر از مسیرهای پیام‌رسانی که p53 در آنها درگیر است، می‌توان پروتئین‌های بالادست یا پایین‌دست جدیدی را کشف کرد که به عنوان اهدافی برای داروهای جدید عمل کنند. برای نمونه، استفاده از داروهایی مانند ناتلین‌ها که موجب فعال‌شدن p53، اما برعکس موجب تجمع Mdm2 می‌شوند، به‌طور ترکیبی همراه با داروهای تقلیدکننده فعالیت Smac که از طریق تخریب کمپلکس XIAP- کاسپاز موجب فعال‌شدن کاسپازها می‌شوند، کارآیی درمان بسیار بالاتر می‌رود [۸۰]. در نهایت، می‌توان گفت که با شناسایی و فهم بهتر مسیرهای پیام‌رسانی که ژن فرشته نگهبان یعنی p53 از طریق آنها موجب مهار سرطان‌زایی می‌شود، می‌توان داروهای جدیدی را تولید کرد که به کمک آنها با قدرت هر چه بیشتر به نبرد با سرطان بپردازیم.

تشکر و قدردانی: موردی توسط نویسندگان گزارش نشده است.
تاییدیه اخلاقی: موردی توسط نویسندگان گزارش نشده است.
تعارض منافع: موردی توسط نویسندگان گزارش نشده است.
منالع مالی: موردی توسط نویسندگان گزارش نشده است.

منابع

1- Hanahan D, Weinberg RA. The hallmarks of cancer. Cell. 2000;100(1):57-70.
2- Noori-Daloii MR. Medical molecular genetics in the third millennium. Tehran: Nashr-e-akhar; 2009. [Persian]
3- Turnpenny PD, Ellard S. Principles of medical genetics Emery's elements of medical genetics. Noori Daloii MR (Translator). 14th ed. Tehran: Jame'e Negar; 2012. [Persian]
4- Lane DP, Crawford LV. T antigen is bound to a host protein in SY40-transformed cells. Nature. 1979;278:261-3.
5- Baker SJ, Fearon ER, Nigro JM, Hamilton SR, Preisinger AC, Jessup JM, et al. Chromosome 17 deletions and p53 gene mutations in colorectal carcinomas. Science. 1989;244(4901):217-21.
6- Finlay CA, Hinds PW, Levine AJ. The p53 proto-oncogene can act as a suppressor of transformation. Cell. 1989;57(7):1083-93.
7- Vazquez A, Bond EE, Levine AJ, Bond GL. The genetics of the p53 pathway, apoptosis and cancer therapy. Nat Rev Drug Discov. 2008;7(12):979-87.
8- Vogelstein B, Lane D, Levine AJ. Surfing the p53 network. Nature. 2000;408(6810):307-10.
9- Dornan D, Wertz I, Shimizu H, Arnott D, Frantz GD, Dowd P, et al. The ubiquitin ligase COP1 is a critical negative regulator of p53. Nature. 2004;429(6987):86-92.
10- Leng RP, Lin Y, Ma W, Wu H, Lemmers B, Chung S, et al. Pirh2, a p53-induced ubiquitin-protein ligase, promotes p53 degradation. Cell. 2003;112(6):779-91.
11- Bullock AN, Henckel J, Fersht AR. Quantitative analysis of residual folding and DNA binding in mutant p53 core domain: Definition of mutant states for rescue in cancer therapy. Oncogene. 2000;19(10):1245-56.
12- Noori-Daloii MR, Yaghoubi MM. Apoptosis or programmed cell death and cancer. Tehran: 6th Razi Conference of Medical Sciences; 2000. [Persian]
13- Noori-Daloii MR, Vand Rajabpour F. Roles of miRNAs in gene expression regulation, apoptosis, diagnosis and treatment of cancer. Med Sci J Islamic Azad Univ Tehran Med Branch. 2011;21(3):151-161. [Persian]
14- Tiwari M. Apoptosis, angiogenesis and cancer therapies. J Cancer Ther Res. 2012;1(1):3.
15- Carmeliet P. Angiogenesis in health and disease. Nat Med. 2003;9(6):653-60.
16- Sharma MR, Tuszynski GP, Sharma MC. Angiostatin-induced inhibition of endothelial cell proliferation/apoptosis is associated with the down-regulation of cell cycle regulatory protein cdk5. J Cell Biochem. 2004;91(2):398-409.
17- Browder T, Folkman J, Pirie-Shepherd S. The hemostatic system as a regulator of angiogenesis. J Biol Chem. 2000;275(3):1521-4.
18- Jiang L, Sheikh MS, Huang Y. Decision making by p53: Life versus death. Mol Cell Pharmacol. 2010;2(2):69-77.
19- Sridhar SS, Shepherd FA. Targeting angiogenesis: A review of angiogenesis inhibitors in the treatment of lung cancer. Lung Cancer. 2003;42 Suppl 1:S81-91.
20- Kelly PN, Strasser A. The role of Bcl-2 and its pro-survival relatives in tumourigenesis and cancer therapy. Cell Death Differ. 2011;18(9):1414-24.
21- Kim K, Jeong KW, Kim H, Choi J, Lu W, Stallcup MR, et al. Functional interplay between p53 acetylation and H1. 2 phosphorylation in p53-regulated transcription. Oncogene. 2012;31(39):4290-301.
22- Nicholls P, Mason MG, Cooper CE. Cytochrome c oxidase heme and Cu centres: Redox and spectral interactions. Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Bioenergetics. 2012;1817:S111.
23- Manzl C, Fava L, Krumschnabel G, Peintner L, Tanzer M, Soratroi C, et al. Death of p53-defective cells triggered by forced mitotic entry in the presence of DNA damage is not uniquely dependent on Caspase-2 or the PIDDosome. Cell Death Disease. 2013;4(12):e942.

24- Dorstyn L, Puccini J, Wilson C, Shalini S, Nicola M, Moore S, et al. Caspase-2 deficiency promotes aberrant DNA-damage response and genetic instability. Cell Death Differ. 2012;19(8):1288-98
25- El-Deiry WS. The role of p53 in chemosensitivity and radiosensitivity. Oncogene. 2003;22(47):7486-95.
26- Lowe SW, Bodis S, McClatchey A, Remington L, Ruley HE, Fisher DE, et al. p53 status and the efficacy of cancer therapy in vivo. Science. 1994;266(5186):807-10.
27- Lu C, El-Deiry WS. Targeting p53 for enhanced radio- and chemo-sensitivity. Apoptosis. 2009;14(4):597-606.
28- Williams JR, Zhang Y, Zhou H, Gridley DS, Koch CJ, Russell J, et al. A quantitative overview of radiosensitivity of human tumor cells across histological type and TP53 status. Int J Radiat Biol. 2008;84(4):253-64.
29- Bertheau P, Plassa F, Espié M, Turpin E, de Roquancourt A, Marty M, et al. Effect of mutated TP53 on response of advanced breast cancers to high-dose chemotherapy. Lancet. 2002;360(9336):852-4.
30- Bunz F, Hwang PM, Torrance C, Waldman T, Zhang Y, Dillehay L, et al. Disruption of p53 in human cancer cells alters the responses to therapeutic agents. J Clin Invest. 1999;104(3):263-9.
31- Sobol RE, Guan Y-S, Li L-J, Zhang W-W, Peng Z, Menander KB, et al. Hainaut P, Oliver M, Wiman KG. Tp53 Gene Therapy for Cancer Treatment and Prevention. In: p53 in the Clinics. Heidelberg: Springer; 2013. Pp. 189-208.
32- Roth JA. Adenovirus p53 gene therapy. Expert Opin Biol Ther. 2006;6(1):55-61.
33- Tazawa H, Kagawa S, Fujiwara T. Advances in adenovirus-mediated p53 cancer gene therapy. Expert Opin Biol Ther. 2013;13(11):1569-83.
34- Pearson S, Jia H, Kandachi K. China approves first gene therapy. Nat Biotechnol. 2004;22(1):3-4.
35- Noori-Daloii MR, Maheronnaghsh R, Sayyah MK. Molecular genetics and gene therapy in esophageal cancer: A review article. Tehran Univ Med J. 2011;69(6):331-43. [Persian]
36- Noori-Daloii MR, Tabarestani S. Molecular genetics, diagnosis and treatment of breast cancer: Review article. Sabzevar Univ Med Sci J. 2010;17(2):74-87. [Persian]
37- Tassone P, Old M, Teknos TN, Pan Q. p53-based therapeutics for head and neck squamous cell carcinoma. Oral Oncol. 2013;49(8):733-7.
38- Rogulski KR, Freytag SO, Zhang K, Gilbert JD, Paielli DL, Kim JH, et al. In vivo antitumor activity of ONYX-015 is influenced by p53 status and is augmented by radiotherapy. Cancer Res. 2000;60(5):1193-6.
39- Zhang Y, Xiong Y. Control of p53 ubiquitination and nuclear export by MDM2 and ARF. Cell Growth Differ. 2001;12(4):175-86.
40- de Rozieres S, Maya R, Oren M, Lozano G. The loss of mdm2 induces p53-mediated apoptosis. Oncogene. 2000;19(13):1691-7.
41- Wang H, Nan L, Yu D, Lindsey JR, Agrawal S, Zhang R. Anti-tumor efficacy of a novel antisense anti-MDM2 mixed-backbone oligonucleotide in human colon cancer models: p53-dependent and p53-independent mechanisms. Mol Med. 2002;8(4):185-99.
42- Kussie PH, Gorina S, Marechal V, Elenbaas B, Moreau J, Levine AJ, et al. Structure of the MDM2 oncoprotein bound to the p53 tumor suppressor transactivation domain. Science. 1996;274(5289):948-53.
43- Bassett EA, Wang W, Rastinejad F, El-Deiry WS. Structural and functional basis for therapeutic modulation of p53 signaling. Clin Cancer Res. 2008;14(20):6376-86.
44- 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. Science. 2004;303(5659):844-8.
45- Haaland I, Opsahl JA, Berven FS, Reikvam H, Fredly HK, Haugse R, et al. Molecular mechanisms of nutlin-3 involve acetylation of p53, histones and heat shock proteins in acute myeloid leukemia. Mol Cancer. 2014;13:116.
46- 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. Leukemia. 2008;22(4):730-9.
47- Supiot S, Hill RP, Bristow RG. Nutlin-3 radiosensitizes hypoxic prostate cancer cells independent of p53. Mol Cancer Ther. 2008;7(4):993-9.
48- Koblish HK, Zhao S, Franks CF, Donatelli RR, Tominovich RM, LaFrance LV, et al. Benzodiazepinedione inhibitors of the Hdm2: p53 complex suppress human tumor cell proliferation in vitro and sensitize tumors to doxorubicin in vivo. Mol Cancer Ther. 2006;5(1):160-9.
49- Shangary S, Ding K, Qiu S, Nikolovska-Coleska Z, Bauer JA, Liu M, et al. Reactivation of p53 by a specific MDM2 antagonist (MI-43) leads to p21-mediated cell cycle arrest and selective cell death in colon cancer. Mol Cancer Ther. 2008;7(6):1533-42.
50- Ding K, Lu Y, Nikolovska-Coleska Z, Wang G, Qiu S, Shangary S, et al. Structure-based design of spiro-oxindoles as potent, specific small-molecule inhibitors of the MDM2-p53 interaction. J Med Chem. 2006;49(12):3432-5.
51- Yang Y, Ludwig RL, Jensen JP, Pierre SA, Medaglia MV, Davydov IV, et al. Small molecule inhibitors of HDM2 ubiquitin ligase activity stabilize and activate p53 in cells. Cancer Cell. 2005;7(6):547-59.
52- Nag S, Zhang X, Srivenugopal KS, Wang MH, Wang W, Zhang R. Targeting MDM2-p53 interaction for cancer therapy: are we there yet?. Curr Med Chem. 2014;21(5):553-74.
53- Lau LM, Nugent JK, Zhao X, Irwin MS. HDM2 antagonist Nutlin-3 disrupts p73-HDM2 binding and enhances p73 function. Oncogene. 2008;27(7):997-1003.
54- Gu L, Zhu N, Zhang H, Durden DL, Feng Y, Zhou M. Regulation of XIAP translation and induction by MDM2 following irradiation. Cancer Cell. 2009;15(5):363-75.
55- Haigis MC, Guarente LP. Mammalian sirtuins-emerging roles in physiology, aging and calorie restriction. Genes Dev. 2006;20(21):2913-21.
56- Luo J, Li M, Tang Y, Laszkowska M, Roeder RG, Gu W. Acetylation of p53 augments its site-specific DNA binding both in vitro and in vivo. Proc Natl Acad Sci U S A. 2004;101(8):2259-64.
57- Sasca D, Hähnel PS, Szybinski J, Khawaja K, Kriege O, Pante SV, et al. SIRT1 prevents genotoxic stress-induced p53 activation in acute myeloid leukemia. Blood. 2014;124(1):121-33.
58- Lain S, Hollick JJ, Campbell J, Staples OD, Higgins M, Aoubala M, et al. Discovery, in vivo activity, and mechanism of action of a small-molecule p53 activator. Cancer Cell. 2008;13(5):454-63.
59- Gudkov AV, Komarova EA. Dangerous habits of a security guard: the two faces of p53 as a drug target. Hum Mol Genet. 2007;16 Spec No 1:R67-72.
60- Strom E, Sathe S, Komarov PG, Chernova OB, Pavlovska I, Shyshynova I, et al. Small-molecule inhibitor of p53 binding to mitochondria protects mice from gamma radiation. Nat Chem Biol. 2006;2(9):474-9.
61- Friedler A, Hansson LO, Veprintsev DB, Freund SM, Rippin TM, Nikolova PV, et al. A peptide that binds and stabilizes p53 core domain: chaperone strategy for rescue of oncogenic mutants. Proc Natl Acad Sci U S A. 2002;99(2):937-42.

Ther. 2007;6(3):360-6.
72- North S, Pluquet O, Maurici D, El-Ghissassi F, Hainaut P. Restoration of wild-type conformation and activity of a temperature-sensitive mutant of p53 (p53(V272M)) by the cytoprotective aminothiol WR1065 in the esophageal cancer cell line TE-1. Mol Carcinog. 2002;33(3):181-8.
73- Weinmann L, Wischhusen J, Demma MJ, Naumann U, Roth P, Dasmahapatra B, et al. A novel p53 rescue compound induces p53-dependent growth arrest and sensitises glioma cells to Apo2L/TRAIL-induced apoptosis. Cell Death Differ. 2008;15(4):718-29.
74- Kaelin WG Jr. The concept of synthetic lethality in the context of anticancer therapy. Nat Rev Cancer. 2005;5(9):689-98.
75- Fang B. Development of synthetic lethality anticancer therapeutics. J Med Chem. 2014;57(19):7859-73.
76- Zhang CC, Yang JM, Bash-Babula J, White E, Murphy M, Levine AJ, et al. DNA damage increases sensitivity to vinca alkaloids and decreases sensitivity to taxanes through p53-dependent repression of microtubule-associated protein 4. Cancer Res. 1999;59(15):3663-70.
77- Buzzai M, Jones RG, Amaravadi RK, Lum JJ, DeBerardinis RJ, Zhao F, et al. Systemic treatment with the antidiabetic drug metformin selectively impairs p53-deficient tumor cell growth. Cancer Res. 2007;67(14):6745-52.
78- Wang Q, Fan S, Eastman A, Worland PJ, Sausville EA, O'Connor PM. UCN-01: A potent abrogator of G2 checkpoint function in cancer cells with disrupted p53. J Natl Cancer Inst. 1996;88(14):956-65.
79- Wang Y, Li J, Booher RN, Kraker A, Lawrence T, Leopold WR, et al. Radiosensitization of p53 mutant cells by PD0166285, a novel G(2) checkpoint abrogator. Cancer Res. 2001;61(22):8211-7.
80- Lu J, Bai L, Sun H, Nikolovska-Coleska Z, McEachern D, Qiu S, et al. SM-164: A novel, bivalent Smac mimetic that induces apoptosis and tumor regression by concurrent removal of the blockade of cIAP-1/2 and XIAP. Cancer Res. 2008;68(22):9384-93.
62- Issaeva N, Friedler A, Bozko P, Wiman KG, Fersht AR, Selivanova G. Rescue of mutants of the tumor suppressor p53 in cancer cells by a designed peptide. Proc Natl Acad Sci U S A. 2003;100(23):13303-7.
63- Rippin TM, Bykov VJ, Freund SM, Selivanova G, Wiman KG, Fersht AR. Characterization of the p53-rescue drug CP-31398 in vitro and in living cells. Oncogene. 2002;21(14):2119-29.
64- Tang X, Zhu Y, Han L, Kim AL, Kopelovich L, Bickers DR, et al. CP-31398 restores mutant p53 tumor suppressor function and inhibits UVB-induced skin carcinogenesis in mice. J Clin Invest. 2007;117(12):3753-64.
65- Bykov VJ, Issaeva N, Zache N, Shilov A, Hultcrantz M, Bergman J, et al. Reactivation of mutant p53 and induction of apoptosis in human tumor cells by maleimide analogs. J Biol Chem. 2005;280(34):30384-91
66- Bykov VJ, Wiman KG. Mutant p53 reactivation by small molecules makes its way to the clinic. FEBS Lett. 2014;588(16):2622-7.
67- Lambert JM, Gorzov P, Veprintsev DB, Söderqvist M, Segerbäck D, Bergman J, et al. PRIMA-1 reactivates mutant p53 by covalent binding to the core domain. Cancer Cell. 2009;15(5):376-88.
68- Li Y, Mao Y, Brandt-Rauf PW, Williams AC, Fine RL. Selective induction of apoptosis in mutant p53 premalignant and malignant cancer cells by PRIMA-1 through the c-Jun-NH2-kinase pathway. Mol Cancer Ther. 2005;4(6):901-9.
69- Supiot S, Zhao H, Wiman K, Hill RP, Bristow RG. PRIMA-1(met) radiosensitizes prostate cancer cells independent of their MTp53-status. Radiother Oncol. 2008;86(3):407-11.
70- Sugikawa E, Hosoi T, Yazaki N, Gamanuma M, Nakanishi N, Ohashi M. Mutant p53 mediated induction of cell cycle arrest and apoptosis at G1 phase by 9-hydroxyellipticine. Anticancer Res. 1999;19(4B):3099-108.
71- Pamarthy D, Tan M, Wu M, Chen J, Yang D, Wang S, et al. p27 degradation by an ellipticinium series of compound via ubiquitin-proteasome pathway. Cancer Biol