

## Gen *TP53* i białko p53 a rak błony śluzowej trzonu macicy

### *TP53 gene and p53 protein vs. endometrial carcinoma*

Agnieszka Zając, Grzegorz Stachowiak, Tomasz Stetkiewicz, Jacek R. Wilczyński

Klinika Ginekologii i Onkologii Ginekologicznej, Instytut Centrum Zdrowia Matki Polki w Łodzi,  
kierownik Kliniki: prof. dr hab. med. Jacek R. Wilczyński

Przeгляд Menopauzalny 2013; 3: 228–230

#### Streszczenie

Gen *TP53* i kodowane przez niego białko p53 odgrywają ważną rolę w cyklu komórkowym, naprawie uszkodzonego DNA oraz inicjowaniu procesu apoptozy. Zaburzenia dotyczące *TP53* mają związek z występowaniem szeregu nowotworów, w tym raka endometrium. Anomalie dotyczące zarówno *TP53*, jak i p53, mogą inicjować proces nowotworzenia w obrębie endometrium, są powiązane z II typem oraz niskozróżnicowanymi postaciami *carcinoma endometrii*. Ocena immunoekspresji *TP53/p53* może być pomocna w diagnostyce i leczeniu oraz być czynnikiem prognostycznym dla tego nowotworu.

**Słowa kluczowe:** rak endometrium, *TP53*, p53, menopauza.

#### Summary

The *TP53* gene and its protein p53 play an important role in the cell cycle, DNA repair and apoptosis initiation. Genetic anomalies of *TP53* are related to some neoplasms, including endometrial cancer. These alterations may initiate cancerogenesis within endometrium, being observed in type II and poorly-differentiated carcinomas. Immunoexpression of *TP53/p53* may be helpful in the diagnostic and therapeutic process and be a prognostic factor for this carcinoma.

**Key words:** endometrial carcinoma, *TP53*, p53, menopause.

Rak endometrium pozostaje istotnym problemem onkologii ginekologicznej okresu menopauzy.

Charakterystyka tego nowotworu, a mianowicie:

- wzrastająca częstość zachorowań (w danych GLOBOCAN z 2008 r. szacowana liczba zachorowań na raka błony śluzowej macicy w Polsce wynosi ogółem 3995, w tym 2176 zachorowań u kobiet < 65. roku życia i 1819 zachorowań u kobiet > 65. roku życia),
- brak badania skriningowego (przezpochwowe badanie ultrasonograficzne, z dokładną oceną endometrium – grubość, homogenność, obrys zewnętrzny – nie spełnia, niestety, kryteriów wymaganych w skriningu);
- średni wiek zachorowań przypadający na okres pomenopauzalny (największą zachorowalność obserwuje się w przedziale wiekowym 55–70 lat);
- charakterystyczne czynniki ryzyka (w tym podwyższone BMI, nadciśnienie tętnicze czy cukrzyca – częste i typowe dla wieku menopauzalnego, jak również dieta bogata w tłuszcze, rasa biała i wysoki status socjoekonomiczny)

stawiają *carcinoma endometrii* w grupie szczególnego zainteresowania wszystkich zajmujących się opieką menopauzalną w Polsce [1, 2].

Należy pamiętać, że rak endometrium nie jest homogeny – wyróżnia się dwa podstawowe typy tego nowotworu:

- typ I – rak endometrioidalny (ok. 80% przypadków), pierwotny rak gruczolowy, o etiologii zdecydowanie hormonozależnej, rozwijający się na podłożu wzrostów błony śluzowej macicy, mający łagodniejszy przebieg i lepsze rokowanie,
- typ II – histologicznie rak surowiczny lub jasnokomórkowy, występujący rzadziej (10–15% przypadków), o etiologii niezwiązanej z stymulacją estrogenową, rozwijający się na podłożu atroficznego endometrium, gorzej rokujący.

Stąd też m.in. coraz większe zainteresowanie genetyką tego nowotworu. Zaburzenia genetyczne wydają się leżeć u przyczyn nowotworzenia. Dotyczy to w szczególności genów (i ich białkowych produktów)

Adres do korespondencji:

Grzegorz Stachowiak, Klinika Ginekologii i Onkologii Ginekologicznej, Instytut Centrum Zdrowia Matki Polki w Łodzi, ul. Rzgowska 281/289, Łódź

regulujących cykl komórkowy, w tym równowagę pomiędzy powstawaniem nowych komórek a ich kontrolowaną śmiercią (apoptozą). W procesie tym uczestniczą geny mutatorowe, supresorowe i protoonkogeny [3]. Zaburzona funkcja każdego z ww. rodzajów genów (m.in. na podłożu mutacji) będzie wpływać na cykl komórkowy, może też być początkiem onkogenezy.

## Gen *TP53* i białko p53

Gen *TP53* należy do grupy genów supresorowych, których zadaniem jest zapobieganie przekazywaniu nowo powstających zaburzeń genetycznych komórkom potomnym: gdy dochodzi do uszkodzenia DNA, *TP53* hamuje cykl komórkowy na etapie G1/S – zostają uruchomione wówczas mechanizmy naprawcze, w tym (gdy uszkodzenie komórki jest zbyt duże) również proces apoptozy. Jest on uważany za jeden z najważniejszych genów supresorowych dla rozwoju nowotworów. *TP53* położony jest na ramieniu krótkim chromosomu 17 (*locus* 17p13). Składa się z 11 egzonów. Po raz pierwszy został sklonowany w 1984 r. Nie jest to gen swoisty dla człowieka, występuje także, choć w innej lokalizacji, u innych ssaków (np. u psa leży na chromosomie 5, u szczura na chromosomie 10, a u myszy na chromosomie 11) [4].

Mutacje *TP53* występują w wielu nowotworach, a ich obecność wiąże się z ciężkim przebiegiem choroby i niekorzystnym rokowaniem.

Dziedziczne występowanie mutacji *TP53* jest znane pod nazwą zespołu Li-Fraumeniego (LFS1). Zespół ten został opisany po raz pierwszy w 1969 r. przez dwóch amerykańskich lekarzy – Fredericka Pei Li i Josepha F. Fraumeniego [5]. Jego inna nazwa to zespół SBLA (skrót od pierwszych liter angielskich słów – *sarcoma, breast, leukaemia, adrenal gland*). Jest to rzadki, dziedziczny autosomalnie dominujący zespół predyspozycji do zachorowania na nowotwory w młodym wieku (tj. przed 45. rokiem życia), obejmujący (klasycznie) zwiększone ryzyko wystąpienia mięsaków (tkanki miękkie, osteosarcoma), raka sutka, ostrej białaczki, raka kory nadnerczy, guzów mózgu. Powyższe choroby nowotworowe stanowią ok. 80% wszystkich nowotworów rozwijających się u osób z LFS1. Zespół Li-Fraumeniego cechuje występowanie u jednej osoby kilku (z powyższych) nowotworów, często w młodym wieku, pojawiających się szereg razy w ciągu życia danej osoby z mutacją *TP53*. Ryzyko rozwoju nowotworu złośliwego jest niezwykle wysokie – w wieku 30 lat wynosi ok. 50% i aż 90% w wieku lat 70. Rozwój nowotworu w młodym wieku dotyczy w szczególności raka sutka (1/4 wszystkich nowotworów w LFS1). Rak sutka rozwinie się u ok. 90% kobiet z LFS do 60. roku życia (u większości z nich przed 45. rokiem życia), a ryzyko dla całego życia jest niemal stuprocentowe [6].

Pacjentki z diagnozą LFS1 winny podlegać wczesnemu i regularnemu skринingowi nowotworowemu. Rekomendowane jest m.in. unikanie napromieniowania,

rozpoczęcie monitoringu raka sutka w wieku 25 lat, profilaktyczna mastektomia.

*TP53* może utracić swą funkcję supresorową nie tylko w wyniku mutacji, lecz także degradacji (np. działanie pewnych wirusów), czy też na drodze tworzenia (nieaktywnych) kompleksów pomiędzy jego produktem – białkiem p53 a innymi białkami (np. mdm2) [7].

Produkt działania genu *TP53* – białko p53 – jest proteiną niezmiernie ważną dla organizmu. Zostało odkryte w 1979 r. i od tego czasu zainteresowanie nim ciągle wzrasta. Choć masa cząsteczkowa p53 wyliczona na podstawie mas tworzących go aminokwasów to 43,7 kDa, w jego nazwie figuruje cyfra 53 wynikająca z masy cząsteczkowej (= 53 kDa) obliczonej w procesie elektroforezy, co jest pochodną nietypowej migracji elektroforetycznej białka (i jest związane z dużą zawartością reszt prolinowych – aromatyczny pierścień proliny zmniejsza mobilność p53 w żelu w trakcie elektroforezy). Będąc czynnikiem transkrypcyjnym o cechach supresora nowotworowego, białko to bierze udział w regulacji wielu procesów komórkowych – szczególnie ważny jest udział p53 w aktywowaniu mechanizmów naprawy uszkodzeń DNA, w tym indukcji apoptozy. Warunkuje to przeciwnowotworowe działanie białka (p53 w komórce hamuje również procesy starzenia) nazywanego często z tego powodu „strażnikiem genomu”. Łańcuch ludzkiego p53 zawiera 393 aminokwasy tworzące 7 domen. Dla aktywności apoptotycznej białka niezmiernie ważna jest domena druga (domena aktywacyjna 2 – AD2) oraz trzecia (bogata w reszty proliny). Mutacje p53 obserwowane w nowotworach u ludzi mogą dotyczyć:

- domeny centralnej (*DNA binding domain* – DBD) – tzw. recesywna mutacja utraty funkcji białka, powodująca jego dezaktywację, niezdolność do wiązania DNA i zahamowanie transkrypcji białek docelowych;
- domeny OD, co uniemożliwia oligomeryzację białka i blokuje aktywację transkrypcji.

Innym działaniem przeciwnowotworowym p53 jest hamowanie angiogenezy w obrębie guza i jego bezpośrednim otoczeniu, co zmniejsza zaopatrzenie w krew i substancje odżywcze, hamując (tym samym) progresję zmiany nowotworowej. Do aktywacji białka p53 dochodzi także w innych sytuacjach, takich jak stres osmotyczny czy oksydacyjny, jak również pod wpływem promieniowania ultrafioletowego (co doprowadza m.in. do powstania opalenizny). Mutacje w obrębie domen apoptotycznych białka p53 są odpowiedzialne za oporność nowotworów na apoptozę indukowaną stresem oksydacyjnym, hipoksją i działaniem cytotoksycznym komórek odpornościowych gospodarza [8].

Białko p53 po przyłączeniu do DNA w obszarze promotorowym, może zmieniać ekspresję wielu genów, np. genu *MDM2*. Prawidłowo w zdrowej komórce białko p53 oraz białko mdm2 (kodowane przez gen *MDM2*) są połączone w nieczynnym kompleksie. Kompleks ten

ulega rozpadowi w sytuacjach, gdy dochodzi do uszkodzeń DNA – białko p53 uwolnione z kompleksu p53/mdm2 działa dwojako, powodując:

- aktywację białek hamujących cykl komórkowy i naprawę DNA
- aktywację genu *MDM2*.

Po zaktywowaniu *MDM2* dochodzi do zwiększonej produkcji białka mdm2, mogącego unieczynnić białko p53, a tym samym znosić jego właściwości supresorowe i prowadzić w prostej linii do rozpoczęcia procesu nowotworzenia [9].

### TP53/p53 a rak endometrium

Badacze japońscy oceniali wpływ polimorfizmu *TP53* Arg72Pro, ale i *MDM2* SNP309, p21 kodon 31, ESR1 PvuII i XbaI, na ryzyko raka endometrium w grupie 125 kobiet z rakiem i w grupie kontrolnej ( $n = 200$ ). Związek każdego z ww. polimorfizmów z ryzykiem raka badano, stosując metodę regresji logistycznej. Żaden z badanych polimorfizmów osobno nie miał związku ze wzrostem ryzyka rozwoju *carcinoma endometrii* (jedynie genotyp *MDM2* SNP309 GG nieznacznie zwiększał to ryzyko). Dopiero kombinacja polimorfizmów *TP53* (kodon 72 Arg/Arg) i *MDM2* (SNP309 GG+TG) miała uchwytyny statystycznie związek z podwyższonym ryzykiem tego nowotworu – OR = 2,53 (95% CI = 2,53, 1,03–6,21;  $p = 0,04$ ) [10]. Badacze ci w swoim wcześniejszym doniesieniu wykazali, że ścieżka ER/MDM2/p53/p21 odgrywa znaczącą rolę w endometrialnej kancerogenezie [11].

Ciekawym doniesieniem, choć nie dotyczącym polimorfizmów a jedynie ekspresji genów w raku endometrium, jest badanie greckie, w którym oceniano ekspresję dwóch genów, *TP53* i *PTEN* (*phosphatase and tensin homolog deleted on chromosome ten* lub *MMAC1 – mutated in multiple advanced cancers 1*) – genu supresorowego, zlokalizowanego na ramieniu długim chromosomu 10 (*locus* 10q23.31), w kontekście *gradingu* i *stagingu* tego nowotworu. Było to 5-letnie badanie przeprowadzone na grupie 61 kobiet: 49 (80,32%) z typem I raka (gruczolowy rak endometrioidalny), 12 (19,67%) z typem II (surowiczy rak brodawkowy). W grupie z typem I nowotworu (średnia wieku 62,5 roku) stwierdzono, że wraz ze wzrostem *gradingu* dochodzi do wzrostu ekspresji *TP53* i spadku ekspresji *PTEN*: odpowiednio w G1 – 18,2% i 81,8% pacjentek, w G2 – 17,3% i 73,91%, w G3 – 50% i 0%. W grupie z II typem raka (średni wiek 76 lat) ekspresję *TP53* stwierdzono u prawie wszystkich pacjentek – 91,66%, a *PTEN* w dwóch przypadkach – 16,66%. Na tej podstawie wyciągnięto dwa wnioski: po pierwsze, ocena immunoekspresji *TP53* i *PTEN* jest pomocna w diagnostyce i terapii różnych rodzajów raka endometrium, po drugie, *TP53* i *PTEN* to prognostyczne markery dla tego rodzaju guzów [12].

W badaniu na modelu zwierzęcym (szczury Donryu) wykazano, że akumulacja zmutowanego p53 i jego eks-

presja są związane z niskozróżnicowanym *adenocarcinoma endometrioides endometrii*. Wyniki sugerują też, że ekspresja p53 pojawia się na późnym etapie kancerogenezy tego nowotworu [13].

Zaburzenia genetyczne dotyczące *TP53/p53* (ale i *PPP2R1A*, *HER-2/ERBB2*, *PIK3CA* oraz *PTEN*) są opisywane w surowiczym raku endometrium, podobne zmiany występują w raku jasnokomórkowym (stabilnie poznany) – obydwa zaliczane do typu II *Carcinoma endometrii*. Najczęstszy typ I charakteryzują natomiast inne anomalie genetyczne, dotyczące przede wszystkim *PIK3CA*, *PIK3R1*, *PTEN*, *KRAS*, *FGFR2*, *ARID1A* (*BAF250a*) oraz *CTNNB1* ( $\beta$ -katenina) [14]. Jest to o tyle istotne, że choć typ II raka endometrium stanowi tylko 10% wszystkich jego przypadków, to jest odpowiedzialny za aż 40% wszystkich zgonów z powodu tego nowotworu [15].

### Piśmiennictwo

1. Zając A, Pertyński T. Polimorfizm genu *MDM2* a ryzyko wystąpienia raka endometrium. *Prz Menopauz* 2009; 13: 269-72.
2. Sobczuk A, Romanowicz-Makowska H, Pertyński T. Ekspresja genu *MMAC/PTEN* w raku endometrium – badania RT-PCR. *Prz Menopauz* 2007; 11: 344-6.
3. Schafer KA. The cell cycle: a review. *Vet Pathol* 1998; 35: 461-78.
4. Hainaut P. TP53: Coordinator of the Processes That Underlie the Hallmarks of Cancer. In: p53 in the Clinics. Pierre H, Magali O, Klas GW (eds.). Springer, New York 2013; 1-23.
5. Li FP, Fraumeni Jr JF. Soft-tissue sarcomas, breast cancer and other neoplasms: a familial syndrome? *Ann Intern Med* 1969; 71: 747-52.
6. Cotran R, Kumar V, Collins T. Robbins Pathologic Basis of Disease, 8<sup>th</sup> ed. W.B. Saunders, Philadelphia 2010; 288-90.
7. Prives C, Hall PA. The p53 pathway. *J Pathol* 1999; 187: 112-26.
8. Schmitt CA, Fridman JS, Yang M, et al. Dissecting p53 tumor suppressor functions in vivo. *Cancer Cell* 2002; 1: 289-98.
9. Hu W, Feng Z, Ma L, et al. A single nucleotide polymorphism in the *MDM2* gene disrupts the oscillation of p53 and *MDM2* levels in cells. *Cancer Res* 2007; 67: 2757-65.
10. Yoneda T, Kuboyama A, Kato K, et al. Association of *MDM2* SNP309 and *TP53* Arg72Pro polymorphisms with risk of endometrial cancer. *Oncol Rep* 2013; 30: 25-34.
11. Ohgami T, Kato K, Kobayashi H, et al. Low-dose mithramycin exerts its anticancer effect via the p53 signaling pathway and synergizes with nutlin-3 in gynecologic cancers. *Cancer Sci* 2010; 101: 1387-95.
12. Daniilidou K, Frangou-Plemenou M, Grammatikakis J, et al. Prognostic significance and diagnostic value of *PTEN* and p53 expression in endometrial carcinoma. A retrospective clinicopathological and immunohistochemical study. *J BUON* 2013; 18: 195-201.
13. Yoshida M, Katsuda S, Maekawa A. Involvements of estrogen receptor, proliferating cell nuclear antigen and p53 in endometrial adenocarcinoma development in Donryu rats. *J Toxicol Pathol* 2012; 25: 241-7.
14. O'Hara AJ, Bell DW. The genomics and genetics of endometrial cancer. *Adv Genomics Genet* 2012; 2012: 33-47.
15. Akbay EA, Peña CG, Ruder D, et al. Cooperation between p53 and the telomere-protecting shelterin component Pot1a in endometrial carcinogenesis. *Oncogene* 2013; 32: 2211-9.