

综述

靶向p53信号通路在癌症治疗中的作用

魏红¹, 刘倩¹, 张祖禹¹, 王耀强¹, 罗瑞英¹, 罗长江^{2*}(¹兰州大学第二临床医学院, 兰州 730030; ²兰州大学第二医院普外科, 兰州 730030)

摘要: 作为一种肿瘤抑制因子, p53可协调多种反应, 包括细胞周期阻滞、DNA修复、抗氧化作用、抗血管生成作用、自噬、衰老和凋亡等。p53主要通过调节其靶基因的转录发挥其肿瘤抑制功能, 但p53是癌症中最常见的突变基因之一, 当p53发生突变时, 就会导致其功能丧失进而导致肿瘤细胞生长。p53已成为癌症治疗中最重要和最具有吸引力的药物靶点之一, 因此以p53为靶点产生了许多癌症治疗方式。本文回顾了靶向p53信号通路在基因治疗、靶向治疗以及免疫治疗中的研究, 以期了解靶向p53的研究提供新思路。

关键词: 癌症; p53; 基因治疗; 靶向治疗; 免疫治疗

Roles of targeting p53 signaling pathway in cancer treatment

WEI Hong¹, LIU Qian¹, ZHANG Zuyu¹, WANG Yaoqiang¹, LUO Ruiying¹, LUO Changjiang^{2*}(¹The Second Clinical Medical College, Lanzhou University, Lanzhou 730030, China;²The Department of General Surgery, Lanzhou University Second Hospital, Lanzhou 730030, China)

Abstract: As a tumor suppressor, p53 can coordinate a variety of reactions, including cell cycle arrest, DNA repair, anti-oxidation, anti-angiogenesis, autophagy, senescence and apoptosis. p53 exerts its tumor suppressor function mainly by regulating the transcription of its target genes. However, p53 is one of the most common mutant genes in cancer. When p53 mutates, it will lead to the loss of its function and lead to the growth of tumor cells. It has become one of the most important and attractive drug targets in cancer treatment. Therefore, many cancer treatment methods are produced by targeting p53. This article reviews the research of targeted p53 signaling pathway in gene therapy, targeted therapy and immunotherapy, in order to provide new ideas for understanding the research of targeting p53.

Key Words: cancer; p53; gene therapy; targeted therapy; immunotherapy

作为一种肿瘤抑制因子, p53是人类癌症中最常见的突变基因之一^[1]。由于其在肿瘤抑制中的重要作用, p53在药物研发中引起了研究人员的极大兴趣。作为一种转录因子, p53直接或间接参与调控众多基因, 涉及细胞周期阻滞、细胞凋亡、衰老和DNA的修复等^[2]。近年来, p53已成为癌症治

疗中最重要和最具有吸引力的药物靶点之一。本文将对基于p53的基因治疗、靶向治疗和免疫治疗的研究作一综述。

1 p53基因的结构和功能概述

人p53基因位于17p13.1染色体上, 含有11个外

收稿日期: 2023-04-07

基金项目: 甘肃省自然科学基金项目(21JR1RA139); 甘肃省青年科技基金项目(21JR11RA113); 甘肃省卫生健康行业科研计划项目(GSWSKY2021-030); 兰州大学第二医院“萃英科技创新计划”项目(CY2019-MS20)

第一作者: E-mail: 1507786966@qq.com

*通信作者: E-mail: 157264922@qq.com

显子, 编码393个氨基酸, 相对分子质量为43 700。p53是一种序列特异性的DNA结合蛋白, 其N-末端存在两个反式激活结构域, 随后是一个保守的富含脯氨酸的结构域, 中心位置是DNA结合结构域、最后是一个编码其核定位信号的C末端和一个转录活性所需的寡聚化结构域^[2]。在大约一半的癌症患者中都存在p53的突变或缺失, 它也是癌症中最常见的突变基因之一。p53突变主要发生在DNA结合结构域, 有几个氨基酸残基的突变频率远高于其他氨基酸, 这些残基通常被称为热点TP53突变, 其中R175、G245、R248、R249、R273和R282是主要的热点^[3]。

作为一种肿瘤抑制因子, p53可以调控细胞分裂, 阻止DNA突变或受损的细胞进行分裂并通过向这些细胞传导凋亡信号, 从而阻止肿瘤形成。p53可以对细胞应激或DNA损伤作出响应, 激活多种转录靶标, 可协调多种反应, 包括细胞周期阻滞、DNA修复、抗氧化作用、抗血管生成作用、代谢、自噬、衰老和凋亡等^[4]。在非应激条件下, p53被鼠双微体蛋白2(murine double minute 2, MDM2)、组成型光形态建成蛋白1(constitutively photomorphogenic 1, COP1)、RING结构域家族成员2(p53-induced ring-H2 protein, PIRH2)和三重基序蛋白24(tripartite motif 24, TRIM24)等E3连接酶泛素化, 随后被蛋白酶体降解, 使得p53蛋白维持在一个较低水平^[3]。另一个重要的p53负调控因子是鼠双微体蛋白X(murine double minute X, 又称为MDM4), 它是MDM2的同系物, 但没有E3连接酶活性, 而是与MDM2共同抑制p53的活性^[5]。p53可以通过多种方式抑制细胞周期进程, 其中之一是上调p21蛋白表达, 随后, p21蛋白可以通过结合细胞周期蛋白, 导致细胞周期G₁期阻滞。此外, p53还可以与其他靶基因结合, 如14-3-3 σ 和细胞分裂周期蛋白25(CDC25), 将细胞周期阻滞在G₂/M期^[5]。另外, p53在多种不同类型的DNA修复中也发挥着积极的作用, 包括核苷酸切除修复、碱基切除修复、错配修复和非同源末端连接^[6]。除此之外, p53突变为肿瘤细胞提供了选择性优势, 使其能够避开细胞周期检查点, 避免凋亡和衰老, 并在正常细胞无法增殖的条件下增殖^[7]。综上所述, 作为一种重要的肿瘤抑制因子, p53在维持人体正

常的生理过程中发挥了重要作用, 并且, 几乎所有肿瘤都存在p53信号通路的失调, 针对p53信号通路的治疗药物的开发引起了研究人员的极大兴趣。

2 基因治疗

由于大多数癌细胞都存在缺陷的p53信号通路, 将野生型p53(wild type p53, WT p53)重新导入癌细胞会导致肿瘤消退。基于上述理论, 学者们研究出了表达WT p53的重组腺病毒(Gendicine™), 该药物的用途在不断更新, 研究发现, 其可以应用于头颈癌的免疫治疗^[8,9]。也有研究显示, Gendicine™在其他类型的癌症中的临床应用^[10]。Gendicine™经常被认为是第一种基因疗法, 但它还没有在其他国家获得临床使用的批准。

与p53相关的另一类治疗方式是条件复制性溶瘤腺病毒。已知存在几种能使p53失活的DNA病毒编码癌蛋白, 比如多瘤病毒SV40、腺病毒E1B和人乳头瘤病毒。一种被称为ONYX-015的突变腺病毒, 在删除E1B基因转录组之后, 可以特异性地杀死携带有缺陷p53(突变或缺失)的肿瘤细胞。在p53缺陷癌细胞中, ONYX-015能够快速扩增, 最终导致因p53缺陷引起的细胞周期停滞和细胞凋亡而裂解细胞。但是, 在携带WT p53的癌细胞或正常细胞中, 病毒不能有效扩增, 因为WT p53引起应激反应, 限制了病毒的传播^[11]。此外, 另一种类似的表达p53的腺病毒(Ad-p53), 能够与免疫检查点抑制剂相结合, 诱导有效的局部和全身抗肿瘤免疫反应, 具有逆转免疫检查点抑制剂治疗抵抗的潜力。目前, 这种腺病毒正在进行一项治疗复发或转移性头颈癌的临床试验(NCT03544723)^[12,13]。综上, 靶向p53基因治疗的腺病毒药物为肿瘤治疗提供了一种新的选择, 未来需要开展更多的临床研究确定不同靶向p53腺病毒药物的疗效及安全性。

3 靶向MDM2和MDMX

3.1 MDM2抑制剂

MDM2是p53的主要负调控因子, 在携带WT p53的癌细胞中, MDM2经常通过基因扩增或转录上调而过表达, 因此, MDM2是治疗癌症的良好

靶点^[14]。MDM2常见的抑制剂是Nutlin3a和Nutlin-3a-aa, 它们属于顺式-咪唑类化合物, 能够在WT p53癌细胞中诱导p53活化, 而在突变型p53(mutant p53, mutp53)细胞中不发挥作用, Nutlin-3a-aa比Nutlin-3a对纯化的野生型MDM2更具活性, 并且在增加p53水平和从MDM2诱导的抑制中释放p53靶基因的转录方面更有效^[15]。此外, Vu等^[16]发现, Nutlin3a的衍生物RG7112(RO5045337)占据了MDM2的p53结合口袋, 在表达WT p53的癌细胞中, RG7112稳定p53并激活p53介导的细胞信号通路, 导致细胞周期阻滞、细胞凋亡以及人肿瘤异种移植瘤的抑制或消退。并且, 它也是第一个在临床试验中测试的MDM2抑制剂, 已完成了两项登记的癌症治疗I期试验(NCT00623870、NCT00559533), 确定了RG7112在血液肿瘤和晚期实体肿瘤中的最大耐受量, 但因其众多的不良反应^[3], RG7112后来被第三代衍生物RG7388取代, 目前正在测试RG7388在各种癌症中的安全性和有效性^[17]。除此之外, 还有其他的MDM2抑制剂, 如AMG232、SAR405838(MI-77301)和MK-8242(SCH-900242)^[18], 这些MDM2抑制剂也正在单独或联合用于多种癌症的临床试验中进行评估(NCT04022876、NCT03725436、NCT03654716)^[5]。综上所述, MDM2抑制剂作为肿瘤患者的靶向治疗药物已被广泛研究。研究人员已经确定了不同的化合物, 这些化合物可以通过直接与MDM2结合抑制p53的泛素化降解, 抑制肿瘤的发生及发展^[19]。它们可以通过不同方式发挥作用, 有望在经过临床试验后为癌症治疗提供新的途径。

3.2 MDMX抑制剂

与MDM2一样, 作为p53的负调控因子, MDMX也引起了抑制剂开发者的极大关注, 但迄今为止发现的抑制剂较少, 且大多数为抑制MDMX活性的短肽。为了抑制MDMX与p53的相互作用, Bernal等^[20]设计了一个高度特异性的短肽(SAH-p53-8), 能在MDMX依赖的癌细胞中激活p53, 并在体内诱导细胞凋亡。然而, 后来的研究表明, SAH-p53-8与血清结合非常紧密, 这限制了其进入肿瘤细胞发挥作用和进一步的临床发展^[21]。Aileron药物公司开发了另一种短肽ALRN-6924^[22], 它是MDM2和MDMX的双固定肽抑制

剂, 能够同时抑制MDM2和MDMX, 并在多个过表达MDM2或MDMX的异种移植瘤模型中显示出良好抗肿瘤作用, 正在急性髓系白血病(acute myeloid leukemia, AML)和几种实体肿瘤中进行临床试验中进行评估(NCT04022876、NCT03725436、NCT03654716)^[5]。最近, Cheng等^[23]通过分析MDMX和Nutlin3a复合物晶体结构, 他们发现了新的分子间相互作用, 这些相互作用能够靶向增强Nutlin3a与MDMX的结合亲和力, 从而得到具有抗癌活性的MDM2/MDMX抑制剂。这些研究说明, 靶向抑制MDM2/MDMX具有良好的抗癌活性, 能为癌症治疗提供新选择。

4 靶向p53突变体

大多数肿瘤细胞都含有p53基因改变, 包括突变、缺失和易位。但p53基因突变的发生率比缺失和易位更高, p53突变不仅导致p53功能的改变, 而且赋予这些突变体新的功能, 称为功能获得(gain of function, GOFs)^[24]。为了靶向具有p53突变的癌细胞, 研究出了以下几种疗法。

4.1 激活WT p53活性

作为一种抑癌基因, 重新激活WT p53的活性是一种较优的治疗方式。p53-Y220C突变体是通过蛋白稳定开发突变体p53治疗药物的优良范例。有研究发现, 了靶向Y220C突变所产生的独特表面裂缝的小分子化合物PK083和PK7080, 它们均与Y220C突变体结合, 恢复野生构象, 诱导Y220C依赖的细胞周期阻滞和细胞凋亡^[25]。研究表明, p53的正确折叠需要锌的存在, 而DNA结合域中锌的缺乏会导致蛋白质的错误折叠, 通过向某些p53突变体如R175H提供锌, 这些突变体可以恢复WT p53的构象和功能, 再次发挥抑癌基因的作用^[26,27]。Carpizo等^[28]发现了一种名为NSC319726/ZMC1的化合物, 通过增加细胞内锌离子的浓度, 改变R175H突变体的空间构象, 恢复了WT p53的功能而发挥作用。小分子化合物的直接或间接作用, 改变了mutp53的空间构象, 重新激活p53活性, 发挥肿瘤抑制因子的作用。

4.2 抑制突变型p53的GOFs

大多数基于p53的药物研发都是针对癌细胞中WT p53活性, 但也有尝试通过靶向mutp53快速降

解来消除mutp53 GOFs活性^[5]。自mutp53 GOFs提出以来, mutp53 GOFs的许多机制被提出, 比如: BAG5与mutp53蛋白相互作用, 促进mutp53蛋白积累, 从而导致GOFs促进细胞增殖、肿瘤生长、细胞迁移和化学抗性^[29]。p53突变体通过表皮生长因子受体(epithelial growth factor receptor, EGFR)/细胞外调节蛋白激酶(extracellular regulated protein kinases, ERK)循环或通过转录调节蛋白1(transcription regulator protein 1, BACH1)介导的溶质载体家族成员SLC7A11(solute carrier family 7 member 11)下调等机制增强了癌细胞的侵袭和转移^[30,31]。针对突变型p53的GOFs的一般策略是利用针对突变型p53影响的通路或基因的现有治疗药物, 例如EGFR抑制剂、甲氧戊酸途径的他汀类药物和混合谱系白血病(mixed lineage leukemia, MLLs)的抑制剂^[32,33]。此外, 有新的证据表明, mutp53与肿瘤微环境之间的相互作用可能塑造突变型p53的GOFs^[34]。p53的GOFs在癌症的发生发展中起到了关键作用, 全面了解p53的GOFs将有助于为癌症治疗的个性化药物治疗提供更好的理论依据。

4.3 靶向突变型p53稳定性

靶向p53突变体的策略之一是降低其稳定性, 某些p53突变体具有致癌性, 而其水平的降低会导致癌细胞死亡。研究发现, 突变型p53的稳定性可被热休克蛋白(heat shock proteins, HSPs)家族增强, HSPs复合物的结合阻止了MDM2和HSP70相互作用蛋白(carboxyl terminus of Hsc70-interacting protein, CHIP)等E3泛素连接酶对突变型p53的降解^[35,36]。Alexandrova等^[37]发现, 长期抑制HSP90可以增加携带突变的p53表达肿瘤的小鼠的存活率, 但不能增加那些p53缺失肿瘤的小鼠的存活率。上述研究表明, HSPs的抑制剂可能为靶向p53治疗癌症提供一个新的方法。除此之外, Chen等^[38]发现, 一种美国食品药品监督管理局(Food and Drug Administration, FDA)批准的用于治疗急性早幼粒细胞白血病的药物三氧化二砷(arsenic trioxide, ATO), 能够恢复结构性p53突变体的功能, 在细胞和小鼠异种移植模型中, ATO重新激活突变的p53以抑制肿瘤, 这为ATO靶向p53突变治疗癌症提供了机制基础。

5 免疫治疗

5.1 基于p53的过继性免疫细胞治疗

过继性免疫细胞疗法(adoptive cell transfer therapy, ACT)是一种癌症免疫治疗的方法, 它包括多种类型, 一种是肿瘤浸润淋巴细胞(tumor infiltrating lymphocyte, TILs)疗法, 另一种是T细胞受体(T cell receptor, TCR-T)疗法, 第三种是嵌合抗原受体T细胞(chimeric antigen receptor t cell, CAR-T)疗法^[39]。

产生有效的TCR-T或CAR-T的关键步骤是构建对肿瘤新抗原高度特异的TCR, 新抗原是来源于肿瘤细胞中突变蛋白的抗原。由于在肿瘤中的高表达水平, p53突变体是产生新抗原的良好选择。自发现p53蛋白具有免疫原性并且可以激活CD4⁺ T(辅助T细胞)细胞以来, 人们逐渐发现人类的WT p53和某些p53突变体都具有免疫原性, 可以激活CD8⁺ T细胞(细胞毒性T细胞), 但这都是在体外实验中发现的^[40]。因此, 人类肿瘤中的内源性突变型p53是否能激活T细胞反应, 以及含有p53突变的多肽是否具有免疫原性, 目前尚不清楚。

最近的一项研究表明, 内源性p53突变体可诱导CD4⁺ T和CD8⁺ T细胞反应, 值得注意的是, 39%的患者具有识别自体突变p53新抗原的TILs^[41]。此外, 分离的TILs或TCR工程T细胞能够识别内源性表达p53突变体的癌细胞系。尽管这项研究没有显示这些TILs和TCR改造的T细胞在肿瘤消退中是否具有治疗效益, 但它证明了人类肿瘤细胞中的内源性p53突变体具有免疫原性, 并标志着基于突变p53的ACT方法的第一步, 为基于p53的过继性免疫细胞治疗提供了理论依据。

5.2 阻断免疫检查位点

另一类癌症免疫治疗是阻断免疫检查点^[42]。肿瘤常通过各种机制来逃避宿主T细胞或自然杀伤细胞的免疫监视, 其中一种是通过上调参与免疫检查点的分子, 如肿瘤细胞上的程序性细胞死亡配体1(programmed cell death-ligand 1, PD-L1), PD-L1可以抑制T细胞的活化并诱导其凋亡。抑制PD-L1与其受体(programmed cell death 1 receptor, PD-1)之间的相互作用已被证明可以使患者获益, FDA已经批准了几种针对PD-L1或PD-1的抗体来治疗各

种癌症^[43]。研究表明, p53在免疫检查点调节中的发挥相应的作用, 激活的p53在体外能诱导几种癌细胞中PD-L1和PD-1的表达^[44]。此外, 有研究发现, p53通过诱导miR-34a下调PD-L1的表达, miR-34a与PD-L1的3'非翻译区(untranslated regions, UTR)结合降低其表达, 表明p53在免疫检查点调节中发挥作用^[45,46]。一项使用载有miR-34a的脂质体的I期临床试验显示, 该药能增加CD8⁺ T细胞的细胞毒作用, 提示p53-miR-34a-PD-L1轴可能被用于抑制PD-L1, 而且miR-34家族成员具有包括CDK4、RUNX2在内的多种靶基因, 以及多种其他促癌因子^[45,46]。因此, p53-miR-34轴的激活会同时抑制PD-L1和多个致癌通路。这些研究说明, p53突变状态可能成为临床生物标志物并指导免疫检查点阻断治疗。

6 总结与展望

p53作为一种肿瘤抑制因子, 在肿瘤的发生发展中有非常重要的作用, 参与调控细胞周期阻滞、DNA修复、抗氧化作用、抗血管生成作用、代谢、自噬、衰老和凋亡等, 已成为癌症治疗中最重要和最有吸引力的药物靶点之一。靶向p53信号通路已经产生了多种治疗方式, 包括基因治疗、靶向治疗和免疫治疗(图1)。基因治疗包括通

过导入重组腺病毒(GendicineTM)、ONYX-015或Ad-p53重新激活p53, 使其发挥出肿瘤抑制因子的作用, 抑制癌症发生。靶向治疗通过调节p53的负调控因子MDM2及MDMX, 从而上调WT p53来发挥抑制肿瘤的作用。或者通过靶向p53突变体, 通过重新激活WT p53、抑制突变型p53的GOFs或降低mutp53的稳定性来发挥抗癌作用。免疫治疗主要有继性免疫细胞治疗和阻断免疫检查点两种方式。靶向p53信号通路的治疗方式多种多样, 也研发出了多种药物, 但是被批准可用于临床的治疗药物仍然有限, 大多数药物还处于临床试验阶段, 相信在不久的将来能在肿瘤治疗中发挥重要作用。展望未来, 基于ACT的免疫治疗方法, 如TILs、TCR-T或CAR-T, 在很大程度上依赖于肿瘤细胞中p53突变体的新抗原的表达, 且大多数p53突变聚集在DNA结合域的几个热点残基上, 而来自这些热点突变的新抗原的多样性较低, 因此在设计针对p53通路的治疗方法方面非常有希望, 针对p53的免疫疗法有可能癌症治疗的新方向。总体而言, p53信号通路的研究为癌症治疗提供了新的思路 and 手段, 并取得了一定的进展。未来还需通过深入探索和研究, 进一步拓展靶向p53信号通路的治疗的应用潜力, 以实现更好的临床效果。

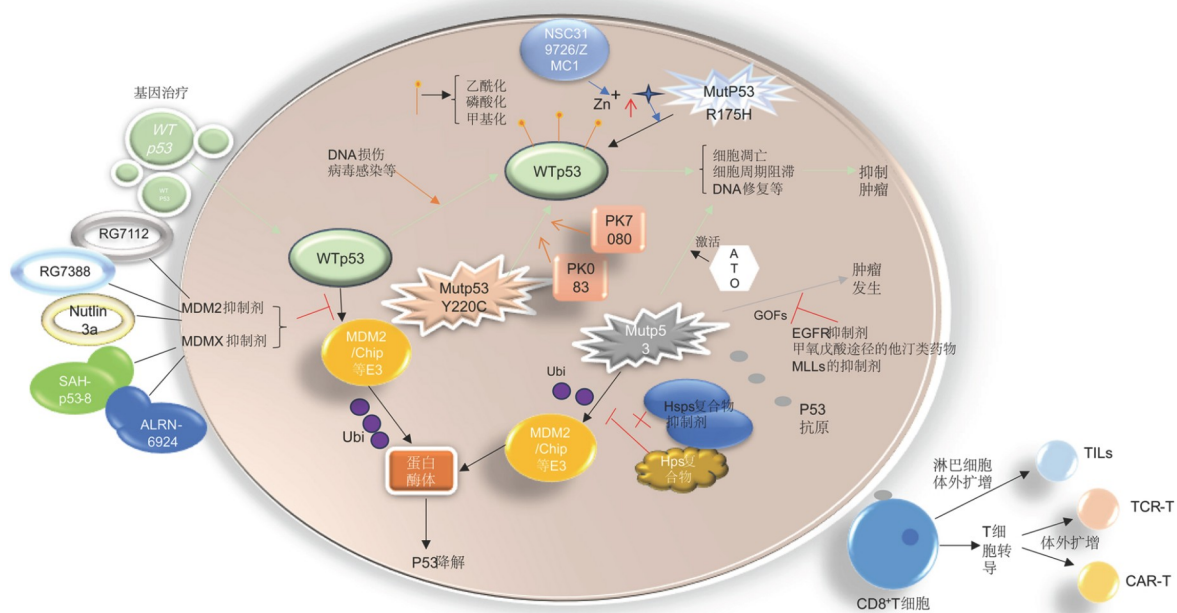


图1 靶向p53信号通路治疗癌症

参考文献

- [1] Zehir A, Benayed R, Shah RH, et al. Mutational landscape of metastatic cancer revealed from prospective clinical sequencing of 10,000 patients. *Nat Med*, 2017, 23(6): 703-713
- [2] Tan YS, Mhoumadi Y, Verma CS. Roles of computational modelling in understanding p53 structure, biology, and its therapeutic targeting. *J Mol Cell Biol*, 2019, 11(4): 306-316
- [3] Huang J. Current developments of targeting the p53 signaling pathway for cancer treatment. *Pharmacol Ther*, 2021, 220: 107720
- [4] Panatta E, Zampieri C, Melino G, et al. Understanding p53 tumour suppressor network. *Biol Direct*, 2021, 16(1): 14
- [5] Hassin O, Oren M. Drugging p53 in cancer: one protein, many targets. *Nat Rev Drug Discov*, 2023, 22(2): 127-144
- [6] Lindström MS, Bartek J, Maya-Mendoza A. p53 at the crossroad of DNA replication and ribosome biogenesis stress pathways. *Cell Death Differ*, 2022, 29(5): 972-982
- [7] Pascual M, Mena-Varas M, Robles EF, et al. PD-1/PD-L1 immune checkpoint and p53 loss facilitate tumor progression in activated B-cell diffuse large B-cell lymphomas. *Blood*, 2019, 133(22): 2401-2412
- [8] Bhatia A, Burtneß B. Treating head and neck cancer in the age of immunotherapy: a 2023 update. *Drugs*, 2023, 83(3): 217-248
- [9] Pearson S, Jia H, Kandachi K. China approves first gene therapy. *Nat Biotechnol*, 2004, 22(1): 3-4
- [10] Zhang WW, Li L, Li D, et al. The first approved gene therapy product for cancer Ad-p53 (Gendicine): 12 years in the clinic. *Hum Gene Ther*, 2018, 29(2): 160-179
- [11] Dahiya V, Agam G, Lawatscheck J, et al. Coordinated conformational processing of the tumor suppressor protein p53 by the Hsp70 and Hsp90 chaperone machineries. *Mol Cell*, 2019, 74(4): 816-830
- [12] Chada S, Wiederhold D, Menander KB, et al. Tumor suppressor immune gene therapy to reverse immunotherapy resistance. *Cancer Gene Ther*, 2022, 29(6): 825-834
- [13] Sobol RE, Menander KB, Chada S, et al. Analysis of adenoviral p53 gene therapy clinical trials in recurrent head and neck squamous cell carcinoma. *Front Oncol*, 2021, 11: 645745
- [14] Oliner JD, Saiki AY, Caenepeel S. The role of MDM2 amplification and overexpression in tumorigenesis. *Cold Spring Harb Perspect Med*, 2016, 6(6): a026336
- [15] Nietzold F, Rubner S, Labuzek B, et al. Nutlin-3a-aa: improving the bioactivity of a p53/MDM2 interaction inhibitor by introducing a solvent-exposed methylene group. *Chembiochem*, 2023, 24(6): e202300006
- [16] Vu B, Wovkulich P, Pizzolato G, et al. Discovery of RG7112: a small-molecule MDM2 inhibitor in clinical development. *ACS Med Chem Lett*, 2013, 4(5): 466-469
- [17] Yee K, Papayannidis C, Vey N, et al. Murine double minute 2 inhibition alone or with cytarabine in acute myeloid leukemia: results from an idasanutlin phase 1/1b study. *Leukemia Res*, 2021, 100: 106489
- [18] Tisato V, Voltan R, Gonelli A, et al. MDM2/X inhibitors under clinical evaluation: perspectives for the management of hematological malignancies and pediatric cancer. *J Hematol Oncol*, 2017, 10(1): 133
- [19] Hu J, Cao J, Topatana W, et al. Targeting mutant p53 for cancer therapy: direct and indirect strategies. *J Hematol Oncol*, 2021, 14(1): 157
- [20] Bernal F, Wade M, Godes M, et al. A stapled p53 helix overcomes HDMX-mediated suppression of p53. *Cancer Cell*, 2010, 18(5): 411-422
- [21] Wachter F, Morgan AM, Godes M, et al. Mechanistic validation of a clinical lead stapled peptide that reactivates p53 by dual HDM2 and HDMX targeting. *Oncogene*, 2017, 36(15): 2184-2190
- [22] Carvajal LA, Neria DB, Senecal A, et al. Dual inhibition of MDMX and MDM2 as a therapeutic strategy in leukemia. *Sci Transl Med*, 2018, 10(436): eaao3003
- [23] Cheng X, Chen R, Zhou T, et al. Leveraging the multivalent p53 peptide-MdmX interaction to guide the improvement of small molecule inhibitors. *Nat Commun*, 2022, 13(1): 1087
- [24] Zhang C, Liu J, Xu D, et al. Gain-of-function mutant p53 in cancer progression and therapy. *J Mol Cell Biol*, 2020, 12(9): 674-687
- [25] Bauer MR, Jones RN, Tareque RK, et al. A structure-guided molecular chaperone approach for restoring the transcriptional activity of the p53 cancer mutant Y220C. *Future Medicinal Chem*, 2019, 11(19): 2491-2504
- [26] Margalit O, Simon AJ, Yakubov E, et al. Zinc supplementation augments *in vivo* antitumor effect of chemotherapy by restoring p53 function. *Int J Cancer*, 2012, 131(4): E562-E568
- [27] Pintus SS, Ivanisenko NV, Demenkov PS, et al. The substitutions G245C and G245D in the Zn²⁺-binding pocket of the p53 protein result in differences of conformational flexibility of the DNA-binding domain. *J Biomol Structure Dyn*, 2013, 31(1): 78-86
- [28] Yu X, Vazquez A, Levine AJ, et al. Allele-specific p53 mutant reactivation. *Cancer Cell*, 2012, 21(5): 614-625
- [29] Yue X, Zhao Y, Huang G, et al. A novel mutant p53 binding partner BAG5 stabilizes mutant p53 and promotes mutant p53 GOFs in tumorigenesis. *Cell Discov*, 2016, 2(1): 16039

- [30] Barra J, Cerda-Infante J, Sandoval L, et al. D-propranolol impairs EGFR trafficking and destabilizes mutant p53 counteracting AKT signaling and tumor malignancy. *Cancers*, 2021, 13(14): 3622
- [31] Su Z, Kon N, Yi J, et al. Specific regulation of BACH1 by the hotspot mutant p53R175H reveals a distinct gain-of-function mechanism. *Nat Cancer*, 2023, 4(4): 564-581
- [32] Martinho MS, Nancarrow DJ, Lawrence TS, et al. Chaperones and ubiquitin ligases balance mutant p53 protein stability in esophageal and other digestive cancers. *Cell Mol Gastroenterol Hepatol*, 2021, 11(2): 449-464
- [33] Zhu J, Sammons MA, Donahue G, et al. Gain-of-function p53 mutants co-opt chromatin pathways to drive cancer growth. *Nature*, 2015, 525(7568): 206-211
- [34] Amelio I, Melino G. Context is everything: extrinsic signalling and gain-of-function p53 mutants. *Cell Death Discov*, 2020, 6(1): 16
- [35] Wang YL, Wu W, Su YN, et al. Buxus alkaloid compound destabilizes mutant p53 through inhibition of the HSF1 chaperone axis. *Phytomedicine*, 2020, 68: 153187
- [36] Li D, Marchenko ND, Schulz R, et al. Functional inactivation of endogenous MDM2 and CHIP by HSP90 causes aberrant stabilization of mutant p53 in human cancer cells. *Mol Cancer Res*, 2011, 9(5): 577-588
- [37] Alexandrova EM, Yallowitz AR, Li D, et al. Improving survival by exploiting tumour dependence on stabilized mutant p53 for treatment. *Nature*, 2015, 523(7560): 352-356
- [38] Chen S, Wu JL, Liang Y, et al. Arsenic trioxide rescues structural p53 mutations through a cryptic allosteric site. *Cancer Cell*, 2021, 39(2): 225-239
- [39] Norberg SM, Hinrichs CS. Engineered T cell therapy for viral and non-viral epithelial cancers. *Cancer Cell*, 2023, 41(1): 58-69
- [40] Yanuck M, Carbone DP, Pendleton CD, et al. A mutant p53 tumor suppressor protein is a target for peptide-induced CD8⁺ cytotoxic T-cells. *Cancer Res*, 1993, 53(14): 3257-3261
- [41] Malekzadeh P, Pasetto A, Robbins PF, et al. Neoantigen screening identifies broad TP53 mutant immunogenicity in patients with epithelial cancers. *J Clin Invest*, 2019, 129(3): 1109-1114
- [42] Pardoll DM. The blockade of immune checkpoints in cancer immunotherapy. *Nat Rev Cancer*, 2012, 12(4): 252-264
- [43] Zou W, Wolchok JD, Chen L. PD-L1 (B7-H1) and PD-1 pathway blockade for cancer therapy: mechanisms, response biomarkers, and combinations. *Sci Transl Med*, 2016, 8(328): 328rv324
- [44] Kim S, Harford JB, Moghe M, et al. A tumor-targeting nanomedicine carrying the p53 gene crosses the blood-brain barrier and enhances anti-PD-1 immunotherapy in mouse models of glioblastoma. *Int J Cancer*, 2019, 145(9): 2535-2546
- [45] Cortez MA, Ivan C, Valdecana D, et al. PDL1 regulation by p53 via miR-34. *J Natl Cancer Institute*, 2016, 108(1): djv303
- [46] Wang X, Li J, Dong K, et al. Tumor suppressor miR-34a targets PD-L1 and functions as a potential immunotherapeutic target in acute myeloid leukemia. *Cell Signal*, 2015, 27(3): 443-452