

特约综述



我们的研究工作以“转化医学”为研究宗旨,以“表观遗传学”为视角,通过“模式生物学”手段探索细胞稳态维系机制——研究细胞周期阻滞、细胞衰老、细胞凋亡、细胞自噬等生物学功能及它们之间的“动态平衡”对细胞稳态的影响机制,并进一步探索这些机制在肿瘤与衰老发生发展中的作用。

<http://202.118.40.5/fzghc/xkddrdetail.aspx?ID=27>

DNA损伤修复反应的双刃剑效应在肿瘤与衰老发生发展中的作用

李小曼 徐红德 蔺美娜 宋晓宇 冯艳玲 羿菲 刘爽 曹流*

(中国医科大学转化医学研究所,教育部医学细胞生物学重点实验室,沈阳 110001)

摘要 人类生存环境中的有害物质、机体正常代谢产生的氧化自由基、端粒缩短或端粒酶活性改变、原癌基因激活或抑癌基因失活等均可造成DNA损伤。通过启动DNA损伤修复反应,激活p53/p21或p16/Rb信号转导途径可以引发细胞周期阻滞,为修复破损的DNA赢得时间,避免不完整的DNA信息继续传递下去。过度的细胞周期阻滞将引起不可逆的细胞增殖停滞并最终引起细胞衰老,而当损伤的DNA没有完全修复就无限制的进入细胞周期时,将会诱发肿瘤的形成。肿瘤和衰老的发生机制是相互对立、相互交织的,而DNA损伤修复反应是联系二者的纽带。

关键词 DNA损伤修复反应;细胞周期阻滞;凋亡;肿瘤;衰老

DNA Damage: A Double-edge Sword in Tumor and Cellular Senescence

Li Xiaoman, Xu Hongde, Lin Meina, Song Xiaoyu, Feng Yanling, Yi Fei, Liu Shuang, Cao Liu*

(Key Laboratory of Medical Cell Biology, Ministry of Education, China Medical University, Shenyang 110001, China)

Abstract Both exogenous and endogenous insults can result in DNA damage, which can be readily sensed by DNA repair machinery, and consequently trigger a series of cellular events, namely “DNA Damage Response” (DDR), to achieve cell cycle arrest. Transient cell cycle arrest will allow DNA repair and prevent the passing of aberrant DNA to the daughter cells. However, persistent DNA damage could result in irreversible cell proliferation arrest (senescence) to terminate cell function, or programmed cell death (apoptosis) to eliminate impaired cells.

国家自然科学基金(批准号: 81130042、31171323)和辽宁省高等学校创新团队支持计划(批准号: LT2011011)资助的课题

*通讯作者。Tel: 024-23264417, E-mail: caoliu@mail.cmu.edu.cn

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China(Grant No.81130042, 31171323) and the University Innovation Team Support Plan of Liaoning(Grant No.LT2011011)

*Corresponding author. Tel: +86-24-23264417, E-mail: caoliu@mail.cmu.edu.cn

Under circumstances of excessive accumulation of incompletely or inaccurately repaired DNA and hence gathering of oncogenic mutations, cells may acquire unrestrictedly proliferative properties and propagate into cancer. Despite the fact that cancer and senescence are oppositely characterized by hyperproliferation and hypoproliferation, respectively, they are not mutually exclusive and actually driven by a unified mechanism: DNA damage.

Key words DNA damage response; cell cycle arrest; apoptosis; tumorigenesis; senescence

肿瘤(tumor)来源于因未完全分化而具有无限繁殖能力的异常细胞;细胞衰老又称老化(senescence, aging)则是指正常细胞进入了一种不可逆的生长停滞状态。肿瘤和衰老的发生发展过程有很多共同特征,包括:与年龄增长的正相关性、DNA损伤及其修复反应的参与、端粒长度和端粒酶活性的改变以及细胞周期调控因子的正负向调控失调,这些共同特质提示二者在发生发展中存在着密切的内在联系,探索这种联系将是揭开肿瘤与衰老形成机制的关键。本文中,我们将分别介绍DNA损伤与DNA损伤修复反应,并着重阐述p53作为压力应激蛋白在肿瘤与衰老发生发展过程中的“双刃剑”效应。

1 DNA损伤及DNA损伤修复反应

1.1 DNA损伤与修复

DNA作为遗传物质,其完整性的维系对生命个体准确无误地将遗传信息传递给下一代起到至关重要的作用。然而,在生命进程中,DNA难免会受到各种威胁,这些威胁因素可能源于外界环境中有害的化学物质、紫外线以及射线等。同时,正常代谢反应产生的自由基(reactive oxygen species, ROS)、因细胞分裂所致的端粒缩短、原癌基因被激活后所产生“DNA复制压力(DNA replication stress)”以及抑癌基因失活等均可造成DNA损伤。常见的DNA损伤类型包括DNA单、双链断裂及核苷酸碱基错误配对等(图1)。

在进化过程中,生物个体获得了应对DNA损伤的一系列修复功能,确保遗传信息得以准确地传递。细胞中针对DNA损伤的主要识别因子包括53BP1(p53结合蛋白)与组蛋白H2A变异体(histone family 2A variant, H2AX)等;而其修复系统则有一组DNA损伤修复因子组成,包括NBS1(Nijmegen break-age syndrome 1)、FANCD2(Fanconi anemia 2, complementation group D2)、BLM(bloom syndrome)、BRCA1(breast cancer gene 1)、RAD51、Ku70、

Ku80等。这些功能蛋白在DNA损伤识别因子的指引下,由DNA损伤修复募集因子如:MRN(Mre11-Rad50-Nbs1)、ATRIP(ATR-interacting protein)及RPA(replicative protein A)等,将DNA损伤修复因子招募到损伤地点,形成功能性复合体,共同完成DNA损伤的修复工作^[1-2]。

1.2 DNA损伤修复反应与修复反应途径

为了有效地配合DNA损伤修复反应,细胞内一系列协同反应将被激活,包括ATM(Ataxia telangiectasia-mutated)-CHK2(cell cycle checkpoint kinase 2)-p53及ATR(Ataxia telangiectasia and Rad3-related)-CHK1(cell cycle checkpoint kinase 1)等途径。这种被称为“DNA损伤修复反应(DNA damage response, DDR)”的病理生理反应可以通过诱导细胞周期阻滞(cell cycle arrest),阻止DNA损伤后的细胞继续增殖,为DNA损伤修复赢得时间。ATM与ATR属于同一家族,它们虽然有功能上的重叠,但普遍认为ATM主要应对DNA的双链断裂,而ATR则是在DNA单链断裂时被激活。正常情况下,p53极易被降解,因此很少能被检测到;应激条件下,ATM与ATR的启动既可以直接磷酸化p53^[3-6],也可以通过磷酸化MDM2并诱导其降解来解除MDM2对p53的抑制作用^[7-9]。除了ATM-CHK2-p53途径,癌基因活化所导致的复制性压力也可以通过激活ARF来解除MDM2对p53的抑制,进而激活p53。经过磷酸化或乙酰化等蛋白修饰后,p53的稳定性大大增强^[10-11],进而介导包括修复、短暂的细胞周期阻滞、衰老及凋亡等在内的一系列细胞应激反应(图1)。

细胞分裂周期分为G₁期、S期、G₂期和M期,其进程受细胞周期蛋白(cyclins)、周期蛋白依赖激酶(cycle-dependent kinases, CDKs)和周期蛋白依赖性激酶抑制物(cycle-dependent kinase inhibitors, CDKIs)等因子的严密调控。CDKIs参与细胞周期的负性调控,主要分为两个家族:INK4和Cip/KIP家族。前者包括p16^{INK4a}、p15^{INK4b}、p18^{INK4c}和p19^{INK4d},

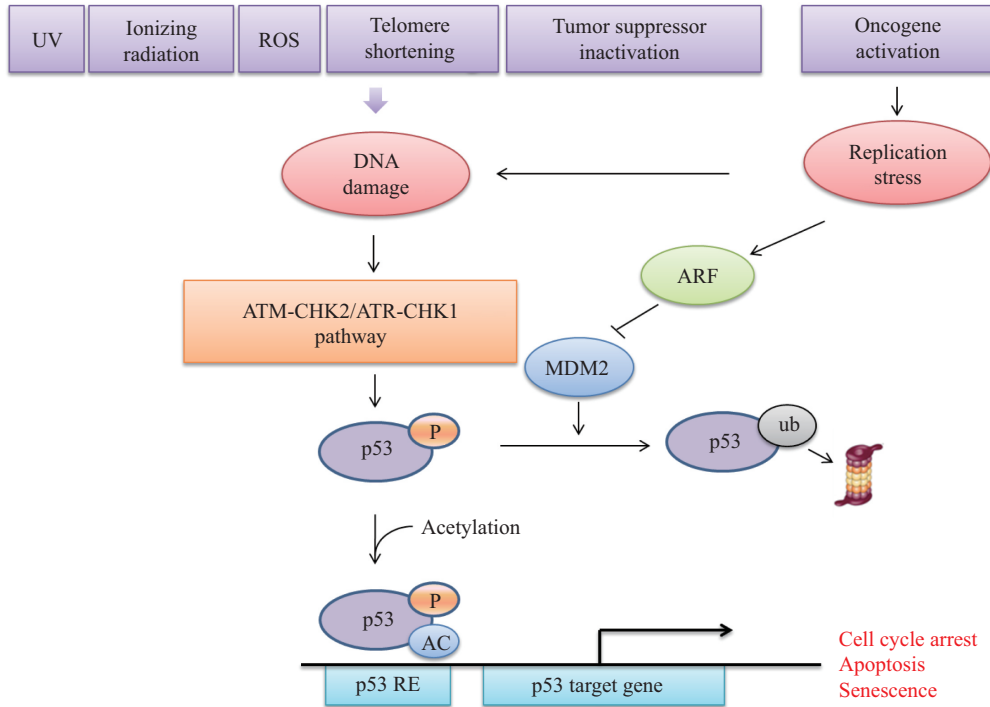


图1 DNA损伤和DNA损伤修复反应

Fig.1 DNA damage and DNA damage response

后者主要有 $p21^{Cip1}$ 。当细胞DNA发生损伤时, CDKIs如p16、p21等被激活, 通过介导p53/p21/pRb/E2F及p16/pRb/E2F信号转导途径, 引起G₁期限限制点停顿, 即细胞周期阻滞。

p53/p21/pRb/E2F及p16/pRb/E2F途径是介导细胞周期阻滞的重要途径, 与细胞衰老和肿瘤的形成密切相关。DNA的损伤会激活p53并在转录水平活化p21, 进而通过抑制CDK2/cyclin E使pRb转变至非磷酸化的失活状态, 从而引起细胞周期停滞并进行DNA修复, 试图使细胞重新达到稳态。类似的, 抑癌因子p16也可通过抑制CDK4-6/cyclin D复合体而阻止Rb的磷酸化等一系列信号转导通路, 从而使细胞停滞于G₀/G₁期而无法进入S期启动染色体的复制完成细胞周期。需要指出的是, 这两条通路中的两个重要基因p16和p19^{ARF}(在小鼠中为p14^{ARF})由同一个基因位点-INK/ARF编码^[12](图2), 提示INK/ARF位点可能在DNA损伤修复以及衰老和肿瘤的发生发展中起到至关重要的作用。近期研究表明, 人类肿瘤中, 确实存在大量INK4a/ARF位点纯合缺失^[13]。当CDKIs有功能缺陷或cyclins及CDKs持续激活时, 细胞可无限增殖, 进而形成肿瘤, 因此, CDKIs也被视为抑癌因子。

2 DNA损伤修复反应与肿瘤和衰老发生发展的关系

短暂的细胞周期阻滞可以为DNA损伤修复赢得时间, 试图使细胞重新达到稳态。但当损伤修复反应不足以完全修复受损的DNA而使细胞内累积过多损伤的DNA时, 细胞可进入以下三种状态之一: (1)不可逆的生长停滞状态, 即所谓的细胞衰老; (2)完全失控的细胞分裂, 最终导致肿瘤的发生; (3)细胞凋亡, 以清除不可修复的细胞。

2.1 衰老的发生

衰老通常是指成熟后的生物个体在漫长的生命过程中, 组织器官的结构、功能逐步发生不可逆的退行性变化, 是一种病理生理的渐进性迁移过程。生物界中, 衰老过程发生在整体水平、细胞水平和分子水平等不同的层次。细胞衰老(cellular senescence)是指细胞不可逆地脱离细胞周期并丧失增殖能力后进入的一种相对稳定的状态, 这种细胞具有代谢活性, 形态大而扁平、胞内颗粒增加并伴有β-半乳糖苷酶(senescence-associated β-galactosidase, SA-β-gal)活性增强。正常情况下, 随着细胞的不断分裂, 染色体末端的特殊结构“端粒(telomere)”会逐渐缩短, 当端粒缩短到一定程度时, 细胞增殖停滞,

诱发细胞衰老, 这种衰老称之为增殖性衰老(replicative senescence)或生理性衰老, 主要由p53/p21/pRb/E2F信号通路介导。而另一种衰老——早熟性衰老(premature senescence), 主要源于氧化应激、癌基因激活所造成的DNA损伤及其引发的DNA损伤修复反应。早熟性衰老与应激信号引发的p53/p21/pRb/E2F或p16/pRb/E2F信号通路有关, 对于这两种途径的选择, 取决于细胞的类型和物种来源^[14-16]。

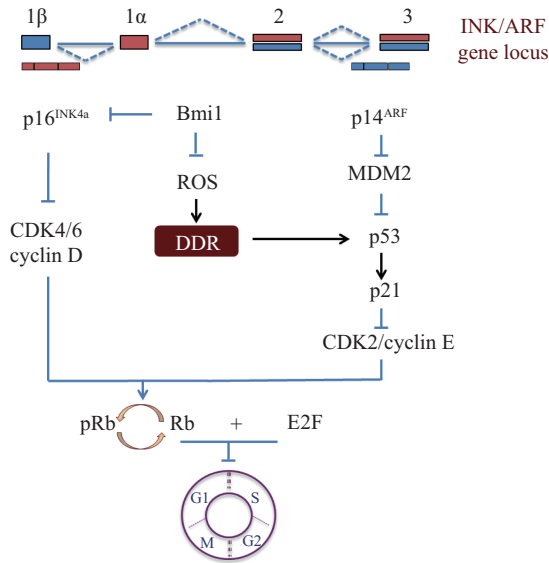


图2 p53/p21/pRb/E2F及p16/pRb/E2F途径
Fig.2 p53/p21/pRb/E2F and p16/pRb/E2F pathway

2.2 肿瘤的发生

肿瘤是具有无限增殖能力的细胞组织, DNA损伤及其修复机制缺陷是导致其形成的重要因素。癌前病变期, 人们经常会检测到DNA损伤及这种损伤激活的DNA损伤修复反应途径, 具体表现为检查点激酶ATM、Chk1、Chk2、H2AX和p53、p16的活化及DNA损伤标志物foci的形成^[17-23]。而当p53或其重要调节因子(如ATM)发生突变、DDR途径功能不全时, 癌前病变就会进展为肿瘤^[17-18,20-23]。人类一半以上的肿瘤都是由p53以各种形式的失活引起的^[24]。此外, p16也是重要的抑癌因子, 超过30%的人类肿瘤中存在p16失活。

3 DNA损伤修复反应的双刃剑效应

在DNA损伤所诱导的细胞应激反应中, p53处于核心的位置, p53介导的DNA损伤修复反应对于维系基因组和细胞稳态发挥着重要的作用(图3)。然而, 如果压力持续存在, 细胞会终止分裂, 通过p53诱导细胞衰老或凋亡来阻止受损细胞的继续增殖。目前普遍认为, p21参与p53介导的衰老, p53依赖的凋亡是通过激活内源及外源性凋亡通路中的多个因子(如PUMA、NOXA等)来实现的^[25-28], p53的丢失或突变会导致肿瘤的发生。近年来的研究表明, 提高p53的活性能够防止肿瘤的发生, 但却为此付出了代价, p53过度活跃使生物个体发生过早衰老现象。

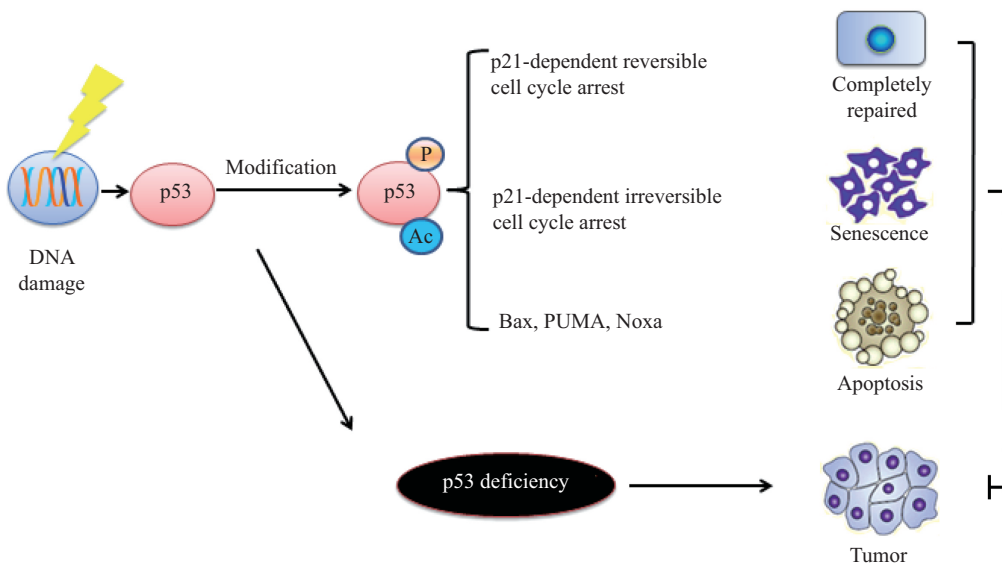


图3 p53作为压力应激反应蛋白对DNA损伤修复、肿瘤、衰老及凋亡的调控作用
Fig.3 The key role of p53 as stress protein in regulation DNA damage repair, tumorigenesis, senescence and apoptosis

BRCA1是重要的DNA损伤修复因子之一。*BRCA1*的缺失引发基因组不稳定、细胞衰老及胚胎死亡并激活DNA损伤修复反应途径因子如p53、ATM和CHK2等^[29], 阻断p53、ATM或CHK2可以在一定程度上对抗早衰, 但也会使动物个体陷入肿瘤易发的状态^[29-30]。这进一步证实DNA损伤修复反应与衰老和肿瘤机制密切相关, 肿瘤与衰老是多种因素的两个对立面, 两者有时会达到“此消彼长”的效果。

DNA损伤途径中的另一重要因子p16也参与调控肿瘤和衰老的进程。近来研究发现, 随着细胞分裂次数的增加, p16表达不断上调, p16水平的持续升高会导致端粒缩短^[31-33], 因而, p16的表达水平已经作为衡量老化的指标。相比而言, 癌变组织中p16的表达比正常组织低, 并且有超过30%的人类肿瘤中存在p16缺失。Bmi1属于polycomb家族, 可抑制*p16*基因, 进而促使肿瘤的形成, 被视为原癌基因(图2)。Bmi1还可以抑制ROS的产生, 从而参与调控DDR途径^[34]。Bmi1缺陷小鼠或缺陷鼠来源的胚胎成纤维细胞中p16水平较高, 呈现过早衰老; 而Bmi1和p16或Bmi1和CHK2(DDR途径关键因子)双重缺陷的小鼠的早衰现象得到缓解^[15,34]。

由此可见, p53/p21与p16/Rb途径在DNA损伤修复反应途径中的双面性及其维护机体稳态的重要性。DNA损伤修复反应可谓是一把“双刃剑”, 它虽然可以预防肿瘤的形成, 却易使机体陷入衰老。DNA损伤是发生在肿瘤与衰老过程中的共同病理现象, 维系DNA损伤修复反应途径的“阴阳平衡”是抗肿瘤与抗衰老的关键。

4 诱导细胞凋亡或衰老对治疗肿瘤的意义

4.1 诱导肿瘤细胞凋亡

凋亡是程序化的细胞死亡, 这种死亡方式可以在不影响周围细胞正常生长的情况下清除破损的细胞, 对组织的更新起到很重要的作用。凋亡可由内源性或外源性凋亡途径介导。外源性凋亡途径中, Fas与其配体(Fas-L)结合, 引起caspase-8(胱天蛋白酶8)及caspase-3的活化, 最终导致细胞凋亡; 而内源性凋亡是由促凋亡因子(Bax等)和抑凋亡因子(如Bcl-2)之间的平衡所调控, 当促凋亡信号较强时, 会引起线粒体cytochrome C(细胞色素C)释放、caspase活化和凋亡的发生。细胞凋亡受到

严格地基因调控, 如癌基因*Bcl-2*、*C-myc*、抑癌基因*p53*等都是重要的细胞凋亡调控因子, 其中, p53作为转录因子, 可上调包括*PUMA*^[25-26]、*Noxa*^[27]、*Bax*^[35]、*Bid*^[28]和*Apaf-1*^[36-39]等在内的多个促凋亡基因, 同时针对内外源途径的不同水平来调控凋亡^[40]。由此可见, 细胞凋亡与肿瘤有着不可分割的联系。在复杂的肿瘤发生过程中, 因DNA损伤而诱导的基因突变是引发肿瘤的内在因素, DNA损伤修复机制的功能正常是维护基因组稳定的保障。当由于DNA损伤修复失败, 使基因组陷入不稳定状态时, 细胞凋亡机制将被启动, DNA损伤了的细胞通过细胞凋亡机制而被清除, 从而避免肿瘤发生的潜在可能。因此, 凋亡途径可视为肿瘤发生发展的内在抑制机制。肿瘤形成过程中, 凋亡激活途径常常受到抑制, 使细胞凋亡无法正常实施, 临床上有许多肿瘤的发生就是由于缺乏凋亡应答反应而引起的^[41], 由此, 我们也可以将肿瘤看作是一种凋亡异常的疾病。在对肿瘤的临床治疗上, 选择性地诱导肿瘤细胞凋亡已是抗肿瘤的主要策略之一, 目前临床上所采用的放射治疗以及多数化疗药物治疗多是通过诱导肿瘤细胞凋亡来清除肿瘤细胞的。

4.2 诱导肿瘤细胞衰老

衰老细胞的生长停滞与肿瘤细胞的无限生长的生物学特性形成鲜明对照, 也因此被视为抑制肿瘤形成的另一天然屏障^[42]。近期研究发现, 在癌前病变中存在衰老细胞及衰老细胞的特异性标志物如p16、p53及经典的细胞衰老标志物SA- β -Gal等, 而恶性肿瘤中却几乎没有衰老细胞出现及这些蛋白的表达^[43-46]。因此, 诱导肿瘤细胞衰老就成了颇有前景的肿瘤治疗策略。近期的研究发现, 肿瘤细胞经化疗药物处理或导入*p16*、*p53*、*pRb*及*p21*等基因后可进入衰老状态, 且衰老细胞的表达率与预后密切相关^[45,47-49]。但就目前而言, 人为诱导肿瘤细胞发生衰老仍存在着一定的风险, 诱导性细胞衰老常伴有DNA损伤、氧化应激、癌基因激活及炎症因子的释放, 这些因素都有刺激恶性肿瘤生长的可能^[50-51]。现阶段, 在肿瘤与衰老的发生发展机制中尚存在诸多未知因素, 而进一步明确肿瘤与衰老之间的内在联系将是我们今后研究中的重点。

5 总结与展望

正常生命状态下的细胞稳态包括细胞结构的

完整以及在此基础上的功能协调,它是维持生物体正常新陈代谢的基本保障。在正常生命过程中,细胞稳态时刻受到体内有害因素的威胁,从而引起机体从生理状态向病理生理状态的迁移,最终导致包括衰老与肿瘤等相关疾病的发生发展。随着生物进化,生命个体获得了一系列维护细胞稳态的机制,包括:DNA损伤修复反应、细胞周期检验点、细胞凋亡与细胞自噬等自我保护功能,担负着维护细胞稳态的使命。DNA损伤以及基因组不稳定激活DNA损伤修复反应途径,触发细胞周期阻滞、细胞凋亡、细胞衰老,进而加速生物个体衰老进程。反之,当DNA损伤修复反应途径失活,机体发生癌变的风险将随之增加。综上所述,DNA损伤修复反应具有“双刃剑”效应;DNA损伤修复反应的“阴阳平衡”是维护细胞稳态的保障;细胞稳态维护机制的“平衡失调”将导致肿瘤与衰老相关疾病的发生发展。因此,细胞稳态有赖于维护细胞稳态机制的“功能和諧”,而有效地调控细胞稳态维护机制的“阴阳平衡”,将是延缓衰老与防止肿瘤发生发展的关键。

参考文献 (References)

- Bartek J, Bartkova J, Lukas J. DNA damage signalling guards against activated oncogenes and tumour progression. *Oncogene* 2007; 26(56): 7773-9.
- Lowe SW, Cepero E, Evan G. Intrinsic tumour suppression. *Nature* 2004; 432(7015): 307-15.
- Banin S, Moyal L, Shieh S, Taya Y, Anderson CW, Chessa L, *et al.* Enhanced phosphorylation of p53 by ATM in response to DNA damage. *Science* 1998; 281(5383): 1674-7.
- Canman CE, Lim DS, Cimprich KA, Taya Y, Tamai K, Sakaguchi K, *et al.* Activation of the atm kinase by ionizing radiation and phosphorylation of p53. *Science* 1998; 281(5383): 1677-9.
- Khanna KK, Keating KE, Kozlov S, Scott S, Gatei M, Hobson K, *et al.* Atm associates with and phosphorylates p53: Mapping the region of interaction. *Nat Genet* 1998; 20(4): 398-400.
- Lakin ND, Hann BC, Jackson SP. The ataxia-telangiectasia related protein atr mediates DNA-dependent phosphorylation of p53. *Oncogene* 1999; 18(27): 3989-95.
- Meulmeester E, Maurice MM, Boutell C, Teunisse AF, Ovaa H, Abraham TE, *et al.* Loss of hausp-mediated deubiquitination contributes to DNA damage-induced destabilization of hdmx and hdm2. *Mol Cell* 2005; 18(5): 565-76.
- Meulmeester E, Pereg Y, Shiloh Y, Jochemsen AG. Atm-mediated phosphorylations inhibit mdmx/mdm2 stabilization by hausp in favor of p53 activation. *Cell Cycle* 2005; 4(9):1166-70.
- Stommel JM, Wahl GM. Accelerated mdm2 auto-degradation induced by DNA-damage kinases is required for p53 activation. *EMBO J* 2004; 23(7): 1547-56.
- Sakaguchi K, Herrera JE, Saito S, Miki T, Bustin M, Vassilev A, *et al.* DNA damage activates p53 through a phosphorylation-acetylation cascade. *Genes Dev* 1998; 12(18): 2831-41.
- Ito A, Kawaguchi Y, Lai CH, Kovacs JJ, Higashimoto Y, Appella E, *et al.* Mdm2-hdac1-mediated deacetylation of p53 is required for its degradation. *EMBO J* 2002; 21(22): 6236-45.
- Jacobs JJ, Keblusek P, Robanus-Maandag E, Kristel P, Lingbeek M, Nederlof PM, *et al.* Senescence bypass screen identifies tbx2, which represses cdkn2a (p19(arf)) and is amplified in a subset of human breast cancers. *Nat Genet* 2000; 26(3): 291-9.
- Sherr CJ, Bertwistle D, W DENB, Kuo ML, Sugimoto M, Tago K, *et al.* P53-dependent and -independent functions of the arf tumor suppressor. *Cold Spring Harb Symp Quant Biol* 2005; 70: 129-37.
- Lundberg AS, Hahn WC, Gupta P, Weinberg RA. Genes involved in senescence and immortalization. *Curr Opin Cell Biol* 2000; 12(6): 705-9.
- Jacobs JJ, Kieboom K, Marino S, DePinho RA, van Lohuizen M. The oncogene and polycomb-group gene bmi-1 regulates cell proliferation and senescence through the ink4a locus. *Nature* 1999; 397(6715): 164-8.
- Carnero A, Hudson JD, Price CM, Beach DH. P16ink4a and p19arf act in overlapping pathways in cellular immortalization. *Nat Cell Biol* 2000; 2(3): 148-55.
- Bartkova J, Horejsi Z, Koed K, Kramer A, Tort F, Zieger K, *et al.* DNA damage response as a candidate anti-cancer barrier in early human tumorigenesis. *Nature* 2005; 434(7035): 864-70.
- Gorgoulis VG, Vassiliou LV, Karakaidos P, Zacharatos P, Kotsinas A, Liloglou T, *et al.* Activation of the DNA damage checkpoint and genomic instability in human precancerous lesions. *Nature* 2005; 434(7035): 907-13.
- DiTullio RA Jr, Mochan TA, Venere M, Bartkova J, Sehested M, Bartek J, *et al.* 53bp1 functions in an atm-dependent checkpoint pathway that is constitutively activated in human cancer. *Nat Cell Biol* 2002; 4(12): 998-1002.
- Bartkova J, Rezaei N, Liontos M, Karakaidos P, Kletsas D, Issaeva N, *et al.* Oncogene-induced senescence is part of the tumorigenesis barrier imposed by DNA damage checkpoints. *Nature* 2006; 444(7119): 633-7.
- Di Micco R, Fumagalli M, Cicalese A, Piccinin S, Gasparini P, Luise C, *et al.* Oncogene-induced senescence is a DNA damage response triggered by DNA hyper-replication. *Nature* 2006; 444(7119): 638-42.
- Nuciforo PG, Luise C, Capra M, Pelosi G, d'Adda di Fagnana F. Complex engagement of DNA damage response pathways in human cancer and in lung tumor progression. *Carcinogenesis* 2007; 28(10): 2082-8.
- Fan C, Quan R, Feng X, Gillis A, He L, Matsumoto ED, *et al.* Atm activation is accompanied with earlier stages of prostate tumorigenesis. *Biochim Biophys Acta* 2006; 1763(10):1090-7.
- Soussi T, Wiman KG. Shaping genetic alterations in human cancer: the p53 mutation paradigm. *Cancer Cell* 2007; 12(4):303-12.
- Kaesser MD, Iggo RD. Chromatin immunoprecipitation analysis fails to support the latency model for regulation of p53 DNA binding activity *in vivo*. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002; 99(1): 95-100.
- Yu J, Wang Z, Kinzler KW, Vogelstein B, Zhang L. Puma mediates the apoptotic response to p53 in colorectal cancer cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003; 100(4): 1931-6.

- 27 Oda E, Ohki R, Murasawa H, Nemoto J, Shibue T, Yamashita T, *et al.* Noxa, a bh3-only member of the bcl-2 family and candidate mediator of p53-induced apoptosis. *Science* 2000; 288(5468): 1053-8.
- 28 Haupt S, Berger M, Goldberg Z, Haupt Y. Apoptosis - the p53 network. *J Cell Sci* 2003; 116(Pt 20): 4077-85.
- 29 Cao L, Li W, Kim S, Brodie SG, Deng CX. Senescence, aging, and malignant transformation mediated by p53 in mice lacking the brca1 full-length isoform. *Genes Dev* 2003; 17(2): 201-13.
- 30 Cao L, Kim S, Xiao C, Wang RH, Coumoul X, Wang X, *et al.* Atm-chk2-p53 activation prevents tumorigenesis at an expense of organ homeostasis upon brca1 deficiency. *EMBO J* 2006; 25(10): 2167-77.
- 31 Wang W, Wu J, Zhang Z, Tong T. Characterization of regulatory elements on the promoter region of p16(ink4a) that contribute to overexpression of p16 in senescent fibroblasts. *J Biol Chem* 2001; 276(52): 48655-61.
- 32 Palmero I, McConnell B, Parry D, Brookes S, Hara E, Bates S, *et al.* Accumulation of p16ink4a in mouse fibroblasts as a function of replicative senescence and not of retinoblastoma gene status. *Oncogene* 1997; 15(5): 495-503.
- 33 Tsutsui T, Kumakura S, Yamamoto A, Kanai H, Tamura Y, Kato T, *et al.* Association of p16(ink4a) and prb inactivation with immortalization of human cells. *Carcinogenesis* 2002; 23(12): 2111-7.
- 34 Liu J, Cao L, Chen J, Song S, Lee IH, Quijano C, *et al.* Bmi1 regulates mitochondrial function and the DNA damage response pathway. *Nature* 2009; 459(7245): 387-92.
- 35 Thornborrow EC, Patel S, Mastropietro AE, Schwartzfarb EM, Manfredi JJ. A conserved intronic response element mediates direct p53-dependent transcriptional activation of both the human and murine bax genes. *Oncogene* 2002; 21(7): 990-9.
- 36 Kannan K, Kaminski N, Rechavi G, Jakob-Hirsch J, Amariglio N, Givol D. DNA microarray analysis of genes involved in p53 mediated apoptosis: Activation of apaf-1. *Oncogene* 2001; 20(26): 3449-55.
- 37 Moroni MC, Hickman ES, Lazzarini Denchi E, Caprara G, Colli E, Cecconi F, *et al.* Apaf-1 is a transcriptional target for e2f and p53. *Nat Cell Biol* 2001; 3(6): 552-8.
- 38 Robles AI, Bemmels NA, Foraker AB, Harris CC. Apaf-1 is a transcriptional target of p53 in DNA damage-induced apoptosis. *Cancer Res* 2001; 61(18): 6660-4.
- 39 Rozenfeld-Granot G, Krishnamurthy J, Kannan K, Toren A, Amariglio N, Givol D, *et al.* A positive feedback mechanism in the transcriptional activation of apaf-1 by p53 and the coactivator zac-1. *Oncogene* 2002; 21(10): 1469-76.
- 40 Fridman JS, Lowe SW. Control of apoptosis by p53. *Oncogene* 2003; 22(56): 9030-40.
- 41 Chandeck C, Mooi WJ. Oncogene-induced cellular senescence. *Adv Anat Pathol* 2010; 17(1): 42-8.
- 42 van Nguyen T, Puebla-Osorio N, Pang H, Dujka ME, Zhu C. DNA damage-induced cellular senescence is sufficient to suppress tumorigenesis: A mouse model. *J Exp Med* 2007; 204(6): 1453-61.
- 43 Chen Z, Trotman LC, Shaffer D, Lin HK, Dotan ZA, Niki M, *et al.* Crucial role of p53-dependent cellular senescence in suppression of pten-deficient tumorigenesis. *Nature* 2005; 436(7051): 725-30.
- 44 Braig M, Lee S, Loddenkemper C, Rudolph C, Peters AH, Schlegelberger B, *et al.* Oncogene-induced senescence as an initial barrier in lymphoma development. *Nature* 2005; 436(7051): 660-5.
- 45 Schmitt CA, Fridman JS, Yang M, Lee S, Baranov E, Hoffman RM, *et al.* A senescence program controlled by p53 and p16ink4a contributes to the outcome of cancer therapy. *Cell* 2002; 109(3): 335-46.
- 46 Michaloglou C, Vredeveld LC, Soengas MS, Denoyelle C, Kuilman T, van der Horst CM, *et al.* Braf600-associated senescence-like cell cycle arrest of human naevi. *Nature* 2005; 436(7051): 720-4.
- 47 Chang BD, Swift ME, Shen M, Fang J, Broude EV, Roninson IB. Molecular determinants of terminal growth arrest induced in tumor cells by a chemotherapeutic agent. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002; 99(1): 389-94.
- 48 Krtolica A, Parrinello S, Lockett S, Desprez PY, Campisi J. Senescent fibroblasts promote epithelial cell growth and tumorigenesis: A link between cancer and aging. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001; 98(21): 12072-7.
- 49 Schmitt CA. Cellular senescence and cancer treatment. *Biochim Biophys Acta* 2007; 1775(1): 5-20.
- 50 Campisi J. Senescent cells, tumor suppression, and organismal aging: Good citizens, bad neighbors. *Cell* 2005; 120(4): 513-22.
- 51 Dilley TK, Bowden GT, Chen QM. Novel mechanisms of sublethal oxidant toxicity: Induction of premature senescence in human fibroblasts confers tumor promoter activity. *Exp Cell Res* 2003; 290(1): 38-48.