

Peran Gen *p63* dalam Regulasi Proliferasi Sel

Teresa Liliana Wargasetia

Bagian Biologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Kristen Maranatha, Bandung

Abstract

*p63 gene that exists in chromosome 3q27-28 has two promoters and three different C ends, namely α , β , and γ so that the transcription of *p63* gene produces 6 variants. Various researches show that *p63* gene plays a role in inducing the stoppage of cell cycles in the form of G1 arrest and G2 arrest. The products of *p63* gene also have a role in activating the extrinsic/death receptor-mediated apoptosis pathway and the intrinsic/mitochondria-mediated apoptosis pathway. Understanding of the role of *p63* gene in regulating cell proliferation and the synergic effect of *p63* and chemotherapy medicines is essential to develop strategies for cancer therapy.*

Keywords: *p63* gene, G1 arrest, G2 arrest, death receptor, mitochondria, cancer therapy

Pendahuluan

Pertumbuhan jaringan serta organ terjadi karena penambahan ukuran dan jumlah sel-sel pada populasi sel yang aktif menjalankan siklus sel atau berproliferasi. Secara mendasar siklus sel adalah program untuk pertumbuhan dan pembelahan sel. Siklus sel melibatkan 4 fase yaitu fase G1 (dan G0), S, G2, dan M. Berbagai fase ini adalah kejadian yang berurutan dan suatu fase dapat terjadi bila fase sebelumnya telah berjalan baik. Mekanisme pengontrolan ini akan menjamin bahwa pembelahan sel menghasilkan dua sel anak dengan informasi genetik yang lengkap.

Homeostasis jaringan tidak hanya bergantung pada pertumbuhan dan proliferasi sel tetapi juga pada mekanisme kematian sel terprogram yang dikenal dengan istilah apoptosis. Apoptosis merupakan mekanisme penting untuk mencegah proliferasi sel yang mengalami kerusakan DNA. Apoptosis merupakan salah satu *checkpoint* dalam siklus sel.

Pengontrolan dalam siklus sel adalah suatu hal yang sangat penting. Bila siklus sel tidak terkontrol maka sel yang rusak dapat terus menerus tumbuh dan membelah menjadi sel-sel kanker. Regulasi siklus sel dan apoptosis melibatkan berbagai gen. Salah satu gen yang terlibat dalam regulasi yang kompleks itu adalah gen *p63*.

Struktur Gen *p63*

Gen *p63* berada pada kromosom 3q27-28.¹ Gen *p63* mempunyai homologi struktural dan homologi urutan DNA yang tinggi dengan *p53*. Seperti *p53*, gen *p63* mengkode domain transaktivasi ujung amino (pada manusia TAp63, asam amino 1-59), domain pengikatan DNA (pada manusia TAp63, asam amino 142-321) dan domain oligomerisasi karboksi (pada manusia TAp63, asam amino 353-397). Namun terdapat perbedaan yang signifikan antara *p63* dengan *p53*. Gen *p53* mempunyai promotor tunggal, sedangkan gen *p63* mempunyai dua

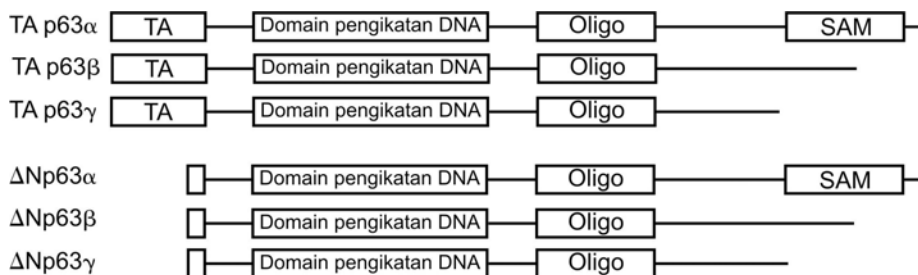
tempat awal transkripsi yang digunakan untuk menghasilkan transkrip pengkode protein dengan atau tanpa domain transaktivasi ujung amino. Protein-protein dengan domain transaktivasi disebut TAp63 dan protein-protein tanpa domain transaktivasi disebut ΔNp63. Pada proses ekspresi gen *p63* dapat terjadi pemotongan (*splicing*) pada tempat yang berbeda sehingga menghasilkan protein-protein dengan ujung karboksi yang berbeda. Enam varian dapat dihasilkan dari dua promoter gen *p63* dengan tiga ujung C yang berbeda yaitu α, β, dan γ (Gambar 1). Protein-protein p63α (TA dan ΔNp63) juga mempunyai daerah tambahan yang tidak ditemukan pada p53 yaitu *sterile alpha motif* atau domain SAM.² SAM adalah modul interaksi protein yang ditemukan pada banyak protein yang berkaitan dengan perkembangan.³

Peran Gen *p63* di dalam Sel

Studi awal aktivitas biokimia p63 memperlihatkan bahwa transfeksi transien atau infeksi adenovirus dengan

menggunakan versi yang mengandung TA dari varian-varian p63 dapat menginduksi penghentian siklus sel dan apoptosis.⁴ Penemuan itu didukung oleh Flores *et al.* yang menemukan bahwa hilangnya p63 mengakibatkan kegagalan sel-sel yang mengandung p53 untuk memasuki apoptosis sebagai respon terhadap kerusakan DNA.⁵ Tiga isotipe p63 yaitu α, β, dan γ berbeda pada ujung 3' karena pemotongan intron alternatif. Ketiga isotipe tersebut mengandung domain transaktivasi domain dan dapat mengaktifkan transkripsi gen-gen reporter p53 serta menginduksi apoptosis.⁶

Penelitian dengan kultur sel menunjukkan bahwa p63α dan ΔNp63α dapat meregulasi gen-gen target p53 dan menginduksi penghentian siklus sel dan apoptosis.⁷ Adanya delesi 26 asam amino pada ujung N dari ΔNp63α menghilangkan kemampuan protein tersebut untuk mentransaktivasi gen-gen target p53 dan menginduksi penghentian siklus sel dan apoptosis.



Gambar 1. Gambaran Skematik Gen *p63* (Modifikasi dari Westfall & Pietenpol, 2004)²

Ket:

TA = domain transaktivasi

ΔN = domain di ujung amino tanpa domain transaktivasi

Oligo = domain oligomerisasi

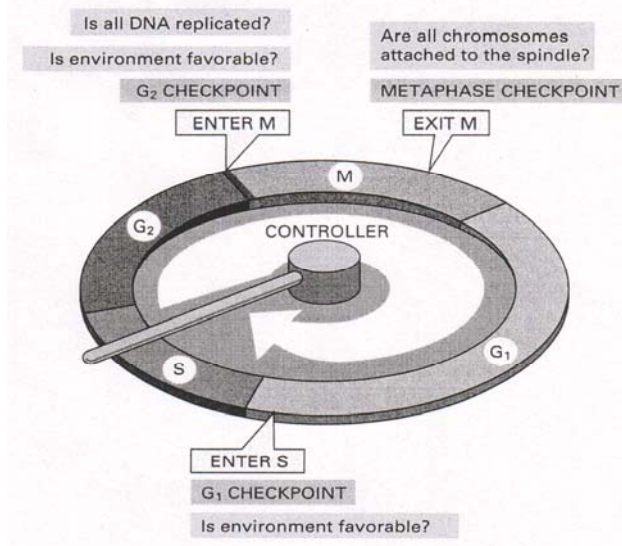
SAM = *Sterile Alpha Motif*

Siklus sel adalah proses yang dikontrol ketat, sel mereplikasikan DNANYa dan membagi diri menjadi dua sel anak. Siklus sel terdiri atas 4 fase: fase mitosis (fase M), fase sintesis (fase S), Gap 1 antara fase M dan fase S (fase G1) dan Gap 2 antara fase S dan fase M (fase G2). Progresi melalui siklus diregulasi oleh sejumlah *checkpoint* yaitu *checkpoint* G1/S, *checkpoint* M, *checkpoint* G2/M (Gambar 2). Para peneliti menemukan bahwa *p63* berkaitan dengan regulasi G1 dan G2 *arrest*. G1 dan G2 *arrest* (penghentian proses pada G1 dan G2) merupakan respon terhadap berbagai sinyal stres yang berfungsi untuk mencegah transmisi materi genetik yang tidak stabil pada sel-sel anak ketika pembelahan sel.

Checkpoint G1/S dan G2/M merupakan pusat regulasi dan aktivasi kompleks *cyclin-dependent kinase* (CDK). Fosforilasi protein-protein target oleh CDK yaitu *serine/threonine kinase*

mengarah pada progresi siklus sel. Karena level CDK stabil sepanjang siklus sel, aktivitas CDK diregulasi oleh berbagai macam *cyclin*.⁸

Fase G1 dari siklus sel diregulasi oleh *cyclin* G1 (*cyclin* tipe D dan E) dan CDK 2, 4, 6. Pada fase G1 awal, *cyclin* D/CDK4/6 memfosforilasi protein retinoblastoma (pRB). pRB mengikat dan menghambat faktor transkripsi E2F. Selama fase G1 akhir, *cyclin* E/CDK4 menghiperfosforilasi pRB (ppRB) dan memfasilitasi pelepasan E2F. E2F aktif untuk menginduksi ekspresi gen-gen yang diperlukan untuk memasuki fase S. Pada sinyal stres seperti kerusakan DNA, G1 *arrest* diinduksi oleh inhibisi CDK oleh *cyclin-dependent kinase inhibitors* (CKIs). CKIs berikatan dengan *cyclin*, CDKs, atau kompleks *cyclin*-CDK. Tanpa aktivitas *cyclin*/CDK, E2F tidak dapat berfungsi untuk menginduksi ekspresi gen-gen yang dibutuhkan untuk memasuki fase S.⁸



Gambar 2. Beberapa Mekanisme *Checkpoint* dalam Siklus Sel.⁹

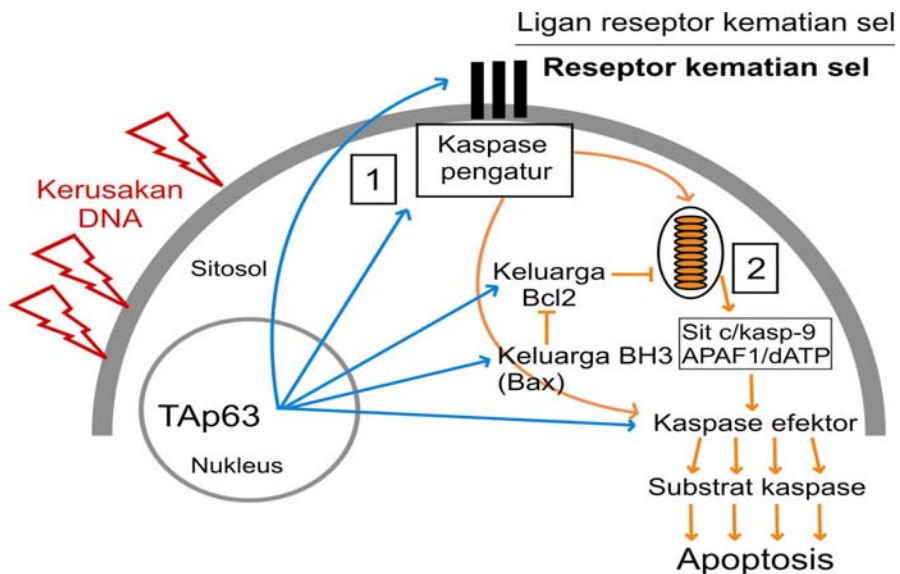
Baru-baru ini ditemukan bahwa target dari keluarga p53 yang terlibat dalam G1 *arrest* adalah p21, suatu CKI dari keluarga Cip/Kip. p53, p63 dan p73 meningkatkan level mRNA dan protein p21. Sebagai respon terhadap tekanan selular dan sinyal perkembangan tertentu, p53, p63, dan p73 meningkatkan dengan cepat level protein p21. Peningkatan konsentrasi p21 menghambat aktivitas kompleks *cyclin*/CDK sehingga menginduksi G1 *arrest*.⁸

p21 yang merupakan mediator utama dari G1 *arrest*, juga berpartisipasi dalam G2 *arrest*.⁸

Penelitian Gressner *et al.* memperlihatkan bahwa TAp63α terlibat dalam aktivasi jalur apoptosis yang dimediasi oleh reseptor kematian sel (ekstrinsik) dan jalur apoptosis yang

dimediasi oleh mitokondria (intrinsik).¹⁰ Model dari kedua jalur apoptosis yang diinduksi TAp63α tersebut dapat dilihat pada Gambar 3.

Apoptosis atau kematian sel terprogram terjadi ketika sel dipicu oleh faktor dari luar maupun dari dalam untuk menjalani kematian tanpa dikenali oleh sistem imun sehingga tidak terjadi inflamasi. Karakteristik dari sel yang mengalami apoptosis adalah kondensasi dan fragmentasi inti, perubahan membran dan pembengkakan mitokondria. Apoptosis terjadi melalui dua jalur yaitu jalur ekstrinsik yang diaktifkan ketika ligan ekstraseluler berikatan dengan reseptor kematian yang ada di permukaan sel. Jalur intrinsik melibatkan perubahan potensial membran mitokondria.⁸



Gambar 3. Model dari Apoptosis yang Diinduksi oleh TAp63α.
(Modifikasi dari Gressner *et al.*, 2005).¹⁰

Keterangan :

Apabila terjadi kerusakan DNA, TAp63 α mengaktifkan berbagai jalur apoptosis, yaitu jalur reseptor kematian sel (1) dan jalur mitokondria (2).

TAp63 α mentransaktivasi suatu reseptor kematian sel yaitu CD95 dengan cara berikatan dengan tempat pengikatan p53/p63 pada intron pertama gen tersebut sehingga menghasilkan ekspresi dari CD95. Percobaan dengan melibatkan berbagai reseptor kematian sel lainnya seperti TNF-R dan TRAIL-R memperlihatkan bahwa TAp63 α dapat memicu ekspresi dari setiap reseptor kematian sel tersebut.¹⁰ Hal itu menginisiasi suatu sinyal untuk mengaktifkan *initiator caspase* 8 yang dilanjutkan dengan peristiwa-peristiwa seluler yang melibatkan *caspase* 3, 6, dan 7 dengan peristiwa apoptosis sebagai puncaknya.⁸

Lebih jauh lagi, penelitian tersebut menunjukkan adanya kaitan antara TAp63 α dengan jalur apoptosis mitokondria. TAp63 α meningkatkan ekspresi dari protein-protein proapoptosis yang berkaitan dengan mitokondria. Protein-protein tersebut adalah anggota keluarga Bcl2 seperti Bax dan BCL2L11 dan protein-protein RAD9, DAP3, dan APAF1. Pada saat sel mengalami kerusakan, protein Bax menstimulasi pelepasan protein sitokrom c dari mitokondria ke sitosol. Protein itu kemudian berikatan dan mengaktifkan protein APAF-1, juga mengaktifkan prokaspase-9 (Gambar 3).¹⁰ Peristiwa tersebut memicu *cascade* kaspase yang memotong-motong sejumlah protein penting dalam sel yang mengarah pada kematian sel.⁹

Pemanfaatan Mekanisme Apoptosis pada Terapi Kanker

Salah satu upaya dalam mengatasi masalah kanker adalah mengembalikan fungsi sel yang terganggu.

Pada penelitian yang dilakukan oleh Gressner *et al.* ditemukan bahwa TAp63 α endogen diinduksi oleh berbagai obat-obatan untuk kemoterapi dan penghambatan TAp63 endogen menyebabkan aktivitas mitokondria terganggu. Penemuan ini mengindikasikan bahwa penurunan ekspresi *TAp63a* menyebabkan kemoresistensi dari sel-sel tumor. Kombinasi dari transfer gen *TAp63a* dan penanganan kemoterapi mengarah pada efek sinergis terhadap penginduksian apoptosis. TAp63 α mengaktifkan jalur apoptosis yang dimediasi oleh reseptor kematian maupun mitokondria, dan kedua mekanisme tersebut diperkuat dengan pemberian obat-obatan kemoterapi.¹⁰ Efek sinergis dari p63 dan obat-obatan kemoterapi perlu dipertimbangkan untuk pengembangan strategi terapi gen di masa depan.

Penutup

Pemahaman mengenai mekanisme regulasi sel dan apoptosis yang melibatkan gen *p63* penting untuk memahami lebih dalam tentang terjadinya penyakit kanker. Gen *p63* terlibat dalam pengaturan siklus sel yaitu pengaturan *G1 arrest* dan *G2 arrest*. Produk gen *p63* mengaktifkan berbagai jalur apoptosis yaitu jalur reseptor kematian sel dan jalur mitokondria.

Pengetahuan mengenai peran p63 dalam menginduksi apoptosis dan kemoresistivitas penting untuk memahami respons penderita terhadap terapi, bahkan untuk dijadikan landasan pengobatan kanker secara terapi gen di kemudian hari.

Daftar Pustaka

1. Hibi K, Trink B, Patturajan M, Westra WH, Caballero OL *et al.* AIS is an Oncogene Amplified in Squamous Cell Carcinoma. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 2000; 97:5462-7.
2. Westfall MD & Pietenpol JA. p63: Molecular Complexity in Development and Cancer. *Carcinogenesis* 2004; 25(6): 857-64.
3. Moll UM. The Role of p63 and p73 in Tumor Formation and Progression: Coming of Age Toward Clinical Usefulness. *Clin Cancer Res.* 2003; 9(15): 5437-41.
4. Yang A, Kaghad M, Wang Y, Giller E, Fleming M *et al.* p63, a p53 Homolog at 3q27-29, Encodes Multiple Products with Transactivating, Death-inducing, and Dominant-negative Activities. *Mol Cell.* 1998; 2(3): 305-16.
5. Flores ER, Tsai KY, Crowley D, Sengupta S, & Yang A. p63 and p73 are Required for p53-dependent Apoptosis in Response to DNA Damage. *Nature* 2002; 416(6880): 560-4.
6. Wang X, Mori I, Tang W, Nakamura M, Nakamura Y *et al.* p63 Expression in Normal, Hyperplastic, and Malignant Breast Tissue. *Breast Cancer* 2002; 9(3): 216-9.
7. Dohn M, Zhang S, & Chen X. p63 α dan Δ p63 α can Induce Cell Cycle Arrest and Apoptosis and Differentially Regulate p53 Target Genes. *Oncogene* 2001; 20(25): 3193-205.
8. Harms K, Nozell S, Chen X. The Common and Distinct Target Genes of the p53 Family Transcription Factors. *CMLS, Cell. Mol. Life Sci*, 2004; 61: 822-42.
9. Albert B, Johnson A, Lewis J, Raff M, Roberts K & Walter P. *Molecular Biology of the Cell.* 4thed. USA: Garland Science, 2002.
10. Gressner O, Schilling T, Lorenz K, Schleithoff ES, Koch A *et al.* TAp63 α Induces Apoptosis by Activating Signaling via Death Receptors and Mitochondria. *The EMBO Journal* 2005; 24: 2458-71.

