

转录因子 NF- κ B 的研究现状及其应用前景

史艳晖 卢圣栋*

(中国医学科学院基础医学研究所 中国协和医科大学基础医学院 北京 100005)

摘要 介绍一组重要的转录因子、NF- κ B(nuclear factor kappa B) 的组成与分子结构, NF- κ B 抑制蛋白 I κ B、NF- κ B 激酶 IKK 对其活性的调节, NF- κ B 的激活机制, NF- κ B 对相当多数量的基因发挥中心性转录调节作用及其在免疫、炎症、细胞的生存、增殖分化和凋亡等方面的重要作用, NF- κ B 与疾病发生及疾病治疗的关系;展望 NF- κ B 作为新靶点在新药设计与相关疾病治疗新策略方面的应用前景。

关键词 NF- κ B 转录因子 研究现状 应用前景

中图分类号 Q813

作为一组重要转录因子, NF- κ B(nuclear factor kappa B) 在生命活动中与疾病发生中重要作用, 已越发引人注目。

1 NF- κ B 的组成与结构

NF- κ B 是由 Rel/NF- κ B 家族多肽成员组成的一组转录因子。1986 年, NF- κ B 首次被确认为一种能与免疫球蛋白 Ig κ 轻链基因增强子元件(5'-GGGACTTTC-3') 相结合核因子。当时认为 NF- κ B 只在成熟 B 细胞中特异表达^[1]。随后研究发现, NF- κ B 在组织细胞中广泛存在, 只是在不同类型和不同生存状态组织细胞中, 其活性有所不同。

现已查明, Rel/NF- κ B 家族成员分成两组: 一组包括 NF- κ B1(p50 及其前体 p105) 和 NF- κ B2(p52 及其前体 p100); 另一组包括 Rel(c-Rel), v-Rel, RelA(p65, 或 NF- κ B3) 和 RelB, 以及果蝇 dorsal 和 Dif。两组在转录激活能力上有所差异。哺乳动物 Rel/NF- κ B 家族包括上述除 v-Rel 和果蝇外其它所有五个成员。Rel/NF- κ B 家族成员各自都拥有一个高度保守长度约为 300 个氨基酸的 Rel 同源区, 称为 RHR(Rel homology region), 或 RHD(Rel homology domain), 在该区域, 两个类 Ig 折叠型借柔性连接子区彼此

相连。此为 Rel/NF- κ B 家族各成员之间唯一共同拥有区域; 各成员间 RHR 约有 35% ~ 60% 同源性。其主要功能是, 负责 NF- κ B 与 DNA 结合(类 Ig 折叠内环状结构可特异识别特定 DNA 序列), 形成 NF- κ B 二聚体; 以及 NF- κ B 与 I κ B 相互作用; 在其 RHR C 末端还含有一个保守带正电氨基酸, 行使核定位序列(NLS) 功能^[2]。

Rel/NF- κ B 家族成员借助水相相互作用介导的二聚化作用, 形成二聚体结构。Rel/NF- κ B 家族成员之间几乎可以形成所有理论上可能组合形式的同源和异源二聚体(其中, RelB/RelB、RelB/RelA 和 RelB/Rel 到目前为止尚未检测到)。作为转录因子 NF- κ B 所对应特异 DNA 结合序列, 即 κ B 位点, 呈二元对称性结构, 不同组织细胞来源的 κ B 结合位点具有 5'-GGGpuNNPyPyCC-3' 这一共同序列。与 DNA 相结合 NF- κ B 晶体结构呈蝴蝶状, 其所包含两个亚单位分别与二分之一 κ B 位点相结合。参与 NF- κ B 二聚体组成的亚单位类型决定了该 NF- κ B 复合体结合 DNA 特异性(即对 κ B 位点亲和力)。

就人类而言, 最先被确认且为唯一生存所必需 NF- κ B 是 p50/RelA(p50/p65), 通常所说的 NF- κ B 即指此。该二聚体与相应 DNA κ B 位点具有较高亲和力; 位于 RelA C 端转录结构域可与基本转录装置发生直接相互作用, 从而发挥一定转录调节功能; p50 则在二聚体形成及其与相应 DNA κ B 位点结

合方面发挥着“帮助”亚单位功能。

2 I κ B, IKK 与 NF- κ B 的活性调节

NF- κ B 通常与其抑制因子 I κ B (inhibitor of NF- κ B) 相结合, 并以非活性状态贮存于细胞质中; 在某些有效刺激作用下, NF- κ B 可被激活, 从而进入细胞核发挥作用。

I κ B 家族成员包括 I κ B α 、I κ B β 、I κ B ϵ 、Bcl-3、前体 NF- κ B1 (p105)、前体 NF- κ B2 (p100)、以及果蝇 Cactus。其中, I κ B α 、I κ B β 和 I κ B ϵ 对于哺乳动物而言最为重要; I κ B α 在所有家族成员中, 最先被克隆, 其特性也研究得最为透彻。

该家族所有成员都各自拥有一个由彼此紧邻的多个 ankyrin (ANK) 重复序列所构成的部分保守的核心结构域。ANK 重复序列是 I κ B 对 NF- κ B 的 DNA 结合亚单位的活性进行抑制所需的最小限度氨基酸序列。每个 ANK 重复序列均由同源 33 个氨基酸残基组成, 多个重复序列通过彼此所形成的螺旋核心结构域介导其与 NF- κ B 的 RHR 牢固结合, 通过其在空间上对组成 NF- κ B 的 NLS 的遮蔽作用, 妨碍 NLS 与核转运信号间的相互识别, 从而阻止细胞质中的 NF- κ B 进入细胞核及其随后转录调控功能的发挥, 实现对 NF- κ B 的抑制作用; I κ B 不仅可抑制细胞质中的 NF- κ B, 而且可抑制那些已进入细胞核发挥功能的 NF- κ B。该再抑制作用具体表现为, 大量经诱导合成的 I κ B α 进入细胞核并与核内的 NF- κ B 相结合。I κ B α 与游离 NF- κ B 的结合将妨碍后者与 DNA 的 κ B 位点结合; 而与已同 DNA 的 κ B 位点相结合并正发挥功能的 NF- κ B 的结合, 将促使后者与 DNA 分离 (由于 NF- κ B 对 I κ B 的亲合力高于其对 DNA 的 κ B 位点的亲合力); 随后, I κ B α 将借助于自身核输出序列 (NES) 携带其所结合的 NF- κ B 返回细胞质, 如此导致了 NF- κ B 功能发挥的迅速终止。

I κ B 对 NF- κ B 的抑制作用的去除, 是以磷酸化作用所引起 I κ B 的释放为基本。NF- κ B 的激活还涉及另外一组蛋白 IKK。

I κ B 激酶 (I κ B kinase, IKK), 作为 NF- κ B 信号转导途径与“环境”联系的关键蛋白, 可与 NF- κ B 激活信号直接作用并被激活。活化的 IKK 将诱导 I κ B 磷酸化, 继而达到激活 NF- κ B 的目的。IKK 是由多种亚单位组成的复合体, 已明确 IKK 亚单位包括可使 I κ B 发生磷酸化的催化亚单位 IKK α (IKK1) 和 IKK β

(IKK2), 以及调节亚单位 IKK- γ (或 NEMO); 对于分子量较大的 IKK 复合体, 还有多种 I κ B 和 Rel/NF- κ B 家族成员参与。

3 NF- κ B 的激活机制

NF- κ B 的激活机制主要依赖于翻译后的调节, 即依赖于 I κ B 的磷酸化所诱导的泛素化及其水解作用。目前已得到广泛认同的 NF- κ B 的激活途径大致为: 细胞质中的 NF- κ B 因与 I κ B 相结合而处于非活性状态; 有效细胞内、外刺激通过对 IKK 的直接激活作用诱使 I κ B (尤指 I κ B α) 发生磷酸化, 磷酸化作用可使 I κ B 的三维结构发生改变, 令其原本隐藏的基序得以暴露; 从而可被泛素连接酶所识别, 并引导发生泛素化, 以致 I κ B 迅速被水解释放; 解除了 I κ B 的抑制作用的 NF- κ B 因其 NLS 重新暴露而被迅速介导进入细胞核, 与位于相应基因的启动子和增强子区的 κ B 位点发生特异结合, 并在转录起始过程中, 通过与位于增强子与启动子范围内的其他因子相互影响, 或通过对基本转录装置中的成分进行募集的方式, 参与 mRNA 的合成, 实现对相关基因表达的调控作用。NF- κ B 激活途径因其所利用的 NF- κ B 前体有所不同而分为两种, 即规范途径和不规范 (可供选择) 途径。两途径所利用的 NF- κ B 前体分别为 p105 和 p100, 随后将分别被加工成成熟的 p50 和 p52^[3]。

NF- κ B 的激活机制还受到转录水平的调节。例如, NF- κ B 的激活信号不仅可以诱导 p105 (p50) 和 p100 (p52) 的编码基因发生组成性表达水平提高, 还可以大大增强 I κ B α 基因的表达, 从而使 I κ B 在核内迅速发挥对 NF- κ B 的再抑制作用。

IKK 的迅速激活及随后的快速失活, I κ B 的迅速降解及随后的快速诱导性高表达和对 NF- κ B 的再抑制作用, NF- κ B 的迅速激活、进入细胞核、功能发挥, 及随后的快速被 I κ B 干扰和携带出细胞核, 保证了 NF- κ B 的功能发挥呈明显迅速、高效和一过性特征。

NF- κ B 激活作用的刺激因子涉及范围很广, 主要包括生长因子 (如 NGF、GM-CSF)、致炎细胞因子 (如 IL-1、TNF- α)、免疫受体 (如 CD40、FasL)、神经毒素、细菌及其产物 LPS、病毒与病毒蛋白及某些理化因素 (如紫外线) 等。

4 NF- κ B 的功能

NF- κ B 作为可诱导并普遍存在的转录因子, 可对

相当多转录因子发挥中心性转录调节作用,从而在免疫、炎症、细胞生存、增殖分化和凋亡等方面起到广泛而重要的作用。

受到 NF- κ B 调控的基因,主要包括如下几个方面:

(1) 免疫功能和炎症刺激相关细胞因子和生长因子基因。NF- κ B 通过对肿瘤坏死因子 α (TNF- α), 白细胞介素-1 (IL-1), IL-6, IL-8 和 GM-CSF 等基因的诱导性调节作用,参与免疫细胞增殖、分化及所引发的免疫应答,并起到中心性作用,这是多种疾病发病机制的重要基础^[4]。

(2) 细胞增殖和细胞凋亡有关基因。NF- κ B 通过对生长调节因子编码基因的转录和表达促进作用,对细胞增殖进行调节。研究表明, NF- κ B 是 c-myc 启动子的重要调节因素;细胞增殖刺激对 NF- κ B 有激活作用。对于大多数细胞而言, NF- κ B 还可以通过对生存所必需基因的诱导作用,发挥保护细胞免受凋亡威胁的功能。NF- κ B 对多种凋亡抑制子如 c-IAP1, c-IAP2 等都有诱导性表达作用。NF- κ B 家族抗凋亡功能的实现,既可以来自其对凋亡抑制子和抗凋亡因子的不平衡表达调节作用,又可以来自其与肿瘤抑制蛋白(如 p53)的直接相互作用;由 NF- κ B 所介导的对自我吞噬作用的抑制效应,是该转录因子发挥抗凋亡作用的新机制^[5]。

(3) 编码细胞黏附分子基因,如 VCAM-1, ICAM-1 等。

(4) 一些病毒基因。多种病毒启动子与增强子之间都存在着 NF- κ B 结合位点,例如 HIV, CMV 和 SV40。

通常, NF- κ B 与 DNA 的 κ B 位点结合对所调控基因将产生转录激活效应,从而实现表达促进作用。NF- κ B 还可通过非转录依赖途径抑制基因表达,如 NF- κ B 对抑癌基因 PTEN 的作用。实验表明, NF- κ B 的激活是抑制 PTEN 表达的必要条件,将导致 PTEN 启动子的转录活性、RNA 转录水平及蛋白表达水平全面下调;而 PTEN 蓄积则可以抑制 NF- κ B 的转录活性,并可促进 TNF- α 所引发的凋亡作用^[6]。

5 NF- κ B 与疾病及疾病治疗

许多人类疾病与 NF- κ B 调节障碍有关。NF- κ B 的调节障碍可引起细胞因子过高表达,从而在多种疾病,诸如风湿性关节炎、败血症性休克、系统性红斑狼疮、动脉硬化症等发病机制中,导致病理性炎症、免疫反

应发生^[7]。NF- κ B 调节障碍还可通过对相应基因的转录调节,实现对肿瘤发生,肿瘤细胞的增殖、入侵、转移促进作用^[8~11]。目前,已在多种肿瘤中发现存在 NF- κ B 非生理性高表达和组成性激活现象^[12,13],同时还可伴有 IKK 持续激活或 I κ B 激活缺陷等^[14~16]。

阿尔茨海默病(Alzheimer disease, AD)患者脑组织中存在 NF- κ B 活性升高。一系列研究表明, NF- κ B 与 AD 发病关系密切。

另外, sAPP (secretase-derived form of secreted amyloidprecursor protein) 是中枢神经系统内神经元的一个有效兴奋性保护剂和抗氧化剂。sAPP 促进的 NF- κ B 激活对代谢性和兴奋性毒性损害有一定抗衡作用。早老素(presenilin-1)突变常与遗传早发型 AD 的发生有关。通过激活 NF- κ B, sAPP 可以对抗这种突变促凋亡作用。另一方面, AD 神经元变性时细胞膜脂质过氧化可以通过抑制 NF- κ B 活性而进一步加重。

已发现在帕金森(Parkinson disease, PD)晚期患者脑中核内 NF- κ B 阳性多巴胺能神经元数量是正常人的 70 倍,提示 NF- κ B 激活与 PD 病理机制有关。但动物模型研究结果表明, NF- κ B 活化对亨廷顿舞蹈病动物模型有神经保护作用。

看来,一些研究发现 NF- κ B 参与了神经细胞死亡信号通路;另一些研究结果表明, NF- κ B 在几种神经退行性疾病中起到保护作用。NF- κ B 究竟是促进神经细胞存活,还是诱导神经细胞死亡,仍是一个尚待深入研究的问题。

对疾病发生与发展机制的了解引导了一些治疗此类疾病的新思路。NF- κ B 是神经系统损伤时调控细胞反应的重要信号转录因子,因此参与 NF- κ B 信号途径的各种蛋白质应是治疗神经系统疾病的重要靶点。这就是说,可设计与研制出一类新药以干预 NF- κ B 自身及其上下游信号转导途径,从而发挥治疗作用。免疫抑制剂和抗炎药试用,主要是试图通过抑制 I κ B 降解或阻止 NF- κ B 与其靶基因上的 κ B 位点结合。水杨酸盐药物能阻止 T 细胞内 NF- κ B 活化,其机制是直接抑制 I κ B 磷酸化及降解。抗炎药糖皮质激素可以诱导 I κ B 基因转录且可直接作用于 NF- κ B 从而抑制其激活。免疫抑制剂雷公藤内酯(triptolide),主要是抑制 NF- κ B 与 DNA 结合后靶基因的转录,即通过抑制 p65 转录激活从而发挥治疗作用。研究还发现, 酪氨

酸激酶抑制剂如除莠霉素 A 可以抑制 IL-1 诱导的 NF- κ B 激活。其机制是通过共价修饰 p38 亚基以降低其 DNA 结合活性。免疫抑制剂环孢素 A 能够抑制细菌脂多糖 LPS 诱导的 NF- κ B 激活。环孢素 A 可非竞争性抑制 20S 蛋白酶体, 从而阻止 I κ B 降解。还尝试了抑制 NF- κ B 的其他策略, 如利用反义寡核苷酸、siRNA, IKK 抑制剂等, 利用 decoy NF- κ B 位点或位点类似物等干扰 NF- κ B 与 DNA κ B 位点的结合等^[17]。抑制 NF- κ B 的策略, 在治疗实践应用中, 在一定程度上达到了抑制免疫、炎症反应和提高抗肿瘤治疗效果的目的^[18~21]。当然这些尝试所获得的结果都是初步的, 但这些研究展示了新途径, 从而启发新型药物设计, 以期取得更好的疗效。

6 展望

随着研究的深入, NF- κ B 作为转录因子, 在生命活动中与疾病发生发展中重要作用已得到广泛认同。对 NF- κ B 及其调控网络与疾病发生、发展机制相关性深入了解引导出了一些治疗此类疾病的新思路。相信对该机制的进一步研究必将引导出更多更佳的治疗相关疾病的新策略。对已开展的新治疗策略的改进与提高, 必将有更多成熟的新技术、新策略被应用于临床防治疾病的实践。

参考文献

- [1] Sen R, Baltimore D. Inducibility of kappa immunoglobulin enhancer-binding protein NF-kappa B by a posttranslational mechanism. *Cell*, 1986, 47(6): 921 ~ 928
- [2] Henkel T, Zabel U, van Zee K, et al. Intramolecular masking of the nuclear location signal and dimerization domain in the precursor for the p50 NF-kappa B subunit. *Cell*, 1992, 68(6): 1121 ~ 1133
- [3] Pomerantz JL, Baltimore D. Two pathways to NF-kappaB. *Mol Cell*, 2002, 10(4): 693 ~ 695
- [4] Prendes M, Zheng Y, Beg AA. Regulation of developing B cell survival by RelA-containing NF-kappa B complexes. *J Immunol*, 2003, 171(8): 3963 ~ 3969
- [5] Djavaheri-Mergny M, Amelotti M, Mathieu J, et al. NF-kappaB activation represses tumor necrosis factor-alpha-induced autophagy. *J Biol Chem*, 2006, 281(41): 30373 ~ 30382
- [6] Vasudevan KM, Gurumurthy S, Rangnekar VM. Suppression of PTEN expression by NF-kappa B prevents apoptosis. *Mol Cell Biol*, 2004, 24(3): 1007 ~ 1021
- [7] Aya K, Alhawagri M, Hagen-Stapleton A, et al. NF- κ B-inducing kinase controls lymphocyte and osteoclast activities in inflammatory arthritis. *J Clin Invest*, 2005, 115(7): 1848 ~ 1854
- [8] Hagemann T, Wilson J, Kulbe H, et al. Macrophages induce invasiveness of epithelial cancer cells via NF-kappa B and JNK. *J Immunol*, 2005, 175(2): 1197 ~ 1205
- [9] Bernal-Mizrachi L, Lovly CM, Ratner L. The role of NF- κ B-1 and NF- κ B-2-mediated resistance to apoptosis in lymphomas. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2006, 103(24): 9220 ~ 9225
- [10] Biswas DK, Shi Q, Baily S, et al. NF-kappa B activation in human breast cancer specimens and its role in cell proliferation and apoptosis. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2004, 101(27): 10137 ~ 10142
- [11] Pacifico F, Mauro C, Barone C, et al. Oncogenic and anti-apoptotic activity of NF-kappa B in human thyroid carcinomas. *J Biol Chem*, 2004, 279(52): 54610 ~ 54619
- [12] Mori N, Fujii M, Ikeda S, et al. Constitutive activation of NF-kappaB in primary adult T-cell leukemia cells. *Blood*, 1999, 93(7): 2360 ~ 2368
- [13] Bargou RC, Emmerich F, Krappmann D, et al. Constitutive nuclear factor-kappaB-RelA activation is required for proliferation and survival of Hodgkin's disease tumor cells. *J Clin Invest*, 1997, 100(12): 2961 ~ 2969
- [14] Wang D, Yang W, Du J, et al. MGSA/GRO-mediated melanocyte transformation involves induction of Ras expression. *Oncogene*, 2000, 19(40): 4647 ~ 4659
- [15] Shattuck-Brandt RL, Richmond A. Enhanced degradation of I-kappaB alpha contributes to endogenous activation of NF-kappaB in Hs294T melanoma cells. *Cancer Res*, 1997, 57(14): 3032 ~ 3039
- [16] Wood LD, Richmond A. Constitutive and cytokine-induced expression of the melanoma growth stimulatory activity/GRO alpha gene requires both NF-kappa B and novel constitutive factors. *J Biol Chem*, 1995, 270(51): 30619 ~ 30626
- [17] Schimmer AD, Welsh K, Pinilla C, et al. Small-molecule antagonists of apoptosis suppressor XIAP exhibit broad antitumor activity. *Cancer Cell*, 2004, 5(1): 25 ~ 35
- [18] Clohisy JC, Roy BC, Biondo C, et al. Direct inhibition of NF-kappa B blocks bone erosion associated with inflammatory arthritis. *J Immunol*, 2003, 171(10): 5547 ~ 5553
- [19] Mitsiades N, Mitsiades CS, Poulaki V, et al. Biologic sequelae of nuclear factor-kappaB blockade in multiple myeloma: therapeutic applications. *Blood*, 2002, 99(11): 4079 ~ 4086
- [20] Hideshima T, Richardson P, Chauhan D, et al. The proteasome inhibitor PS-341 inhibits growth, induces apoptosis, and overcomes drug resistance in human multiple

myeloma cells. Cancer Res, 2001, 61(7): 3071 ~ 3076
[21] Bharti AC, Donato N, Singh S, et al. Curcumin
(diferuloylmethane) down-regulates the constitutive activation

of nuclear factor-kappa B and IkappaBalpha kinase in human
multiple myeloma cells, leading to suppression of proliferation
and induction of apoptosis. Blood, 2003, 101(3): 1053 ~ 1062

Current Research Status and Application Prospect on Transcription Factor NF- κ B

SHI Yan-hui LU Sheng-dong

(Institute of Basic Medical Sciences, Chinese Academy of Medical Sciences

School of Basic Medicine, Peking Union Medical College, Beijing 100005, China)

Abstract NF- κ B, a group of important transcription factors, are introduced and discussed here on several aspects: their component and molecular structure; their activity control by I κ B and IKK, the mechanism of their activation; their important roles in transcriptional regulation for large numbers of genes; and their importance in immunity, inflammation, cell survival, proliferation and apoptosis. The analysis of the relation between NF- κ B and disease occurrence, the analysis of the relation between NF- κ B and disease therapy, and the application prospect of the new strategy regarding the novel drug design and correlative diseases therapy on the basis of NF- κ B as the target, are also included.

Key words NF- κ B Transcription factor Current research status Application prospect

科学出版社新书

发育神经生物学(第二版)

蔡文琴主编 定价: 85.00 2007年3月出版

发育神经生物学是神经科学的一个重要分支学科。本书在参阅国际出版相关专著的基础上,结合近年发育神经生物学的发展,着重介绍了神经系统从发育至成熟有关问题及其分子调控与研究方法。本书适合从事神经科学的研究人员、研究生,以及生命科学相关专业学者及医学院校师生参考。

现代生物工程(应用生物技术大系)

焦炳华、孙树汉主编 定价: 78.00 2007年3月出版

本书全面介绍了现代生物技术的概念、原理、研究方法发展方向及其应用领域,共分现代生物工程导论及基因工程、细胞工程、蛋白质工程、酶工程、抗体工程、组织工程和生物芯片7分册,共33章。本书可作为高等院校生物学专业学生专业教材,也可供高等院校有关专业师生作为参考用书。

医学分子生物学

胡维新主编 定价: 45.00 2007年3月出版

全书共分十五章,第一章介绍了分子生物学的研究对象、发展历史以及与医学的关系;第二章至第六章为分子生物学基本理论和基础知识;第七章至第十章介绍了现在分子生物学研究策略、方法、原理及其应用;第十一章至第十五章讨论了疾病产生的分子基础和分子生物学在医学领域中的应用。本书不仅可以作为相关专业本科生、研究生的教材,也可作为医学、生命科学领域从事教学、科研的教师以及医务工作者参考书。

邮购地址: 100717 北京东黄城根北街16号科学出版社科学分社,联系人: 阮芯,电话: 010-64034622(传真)。更多精彩图书请登陆网站 <http://www.lifescience.com.cn>, 欢迎索要书目。