

# 肿瘤抑制因子CYLD对细胞功能的调控作用

张澄<sup>1,2</sup> 王萍<sup>1</sup> 杜艳涛<sup>1</sup> 段世伟<sup>1\*</sup> 叶孟<sup>2\*</sup>

(<sup>1</sup>宁波大学医学院, 浙江省病理生理学技术研究重点实验室, 宁波 315211;

<sup>2</sup>宁波大学医学院附属医院肿瘤内科, 宁波 315000)

**摘要** 肿瘤抑制因子(cylindromatosis, CYLD)是一种在体内广泛分布的去泛素酶, 其包含去泛素化酶结构域和富含甘氨酸细胞骨架相关蛋白结构域, 前者可通过去泛素化信号分子, 调控细胞信号传导途径, 后者主要通过对微管的调节, 改变多聚化和乙酰化过程, 进而调控其组装和排列。CYLD主要通过对信号传导和细胞骨架的调节, 从而调控细胞增殖、细胞凋亡、细胞运动和细胞分化等细胞功能。该文对近年来肿瘤抑制因子CYLD对细胞功能调控的研究进行概述。

**关键词** CYLD; 信号传导; 细胞增殖; 细胞凋亡; 细胞运动; 细胞分化

## Regulatory Effects of Tumor Suppressor CYLD on Cell Function

Zhang Cheng<sup>1,2</sup>, Wang Ping<sup>1</sup>, Du Yantao<sup>1</sup>, Duan Shiwei<sup>1\*</sup>, Ye Meng<sup>2\*</sup>

(<sup>1</sup>Zhejiang Provincial Key Laboratory of Pathophysiology, School of Medicine, Ningbo University, Ningbo 315211, China;

<sup>2</sup>Department of Medical Oncology, the Affiliated Hospital, School of Medicine, Ningbo University, Ningbo 315000, China)

**Abstract** Tumor suppressor CYLD is a deubiquitination enzyme, which contains a deubiquitinase domain and three cytoskeleton-associated protein glycine-rich domains. The deubiquitinase domain can regulate signal transduction pathways by deubiquitinating signal molecules. The CAP-Gly domains mediate multimerization and acetylation through regulating microtubule chiefly, in turns changing its assembly and permutation. CYLD regulates cell proliferation, apoptosis, cell movement and cell differentiation through the adjustment of signal transduction and cytoskeleton. In this review, recent progress in studying the regulatory effects of tumor suppressor CYLD on cell function was summarized.

**Key words** CYLD; signal transduction; cell proliferation; apoptosis; cell movement; cell differentiation

肿瘤抑制因子(cylindromatosis, CYLD)在人体内广泛存在, 由956个氨基酸残基构成, 包括细胞骨架关联蛋白甘氨酸富含结构域(cytoskeleton-associated protein glycine-rich domain, CAP-Gly domain)和C-末端结构域(图1)<sup>[1-2]</sup>。C-末端结构域含泛素特异性蛋白酶(ubiquitin-specific protease, USP)催化结构域, 能从蛋白底物上除去多聚泛素链, 具去泛素化作用; 而CAP-Gly结构域主要通过微管调节, 影响底

物多聚化与乙酰化, 进而调控其组装及排列。此外, CYLD蛋白的一个重要的特点是具有与肿瘤坏死因子受体相关因子2(TNF receptor-associated factor 2, TRAF2)和NF-κB必需调节分子(NF-κB essential modulator, NEMO)结合的特异性位点<sup>[3-4]</sup>, TRAF2作为接头蛋白和调控因子在几乎所有TNF-R1介导的NF-κB和c-Jun氨基末端激酶(c-Jun N-terminal kinases, JNK)激活过程中起重要作用<sup>[5]</sup>。CYLD主要通过

收稿日期: 2013-08-15 接受日期: 2013-10-08

浙江省重点科技创新团队(批准号: 2010R50046)、宁波市科技创新团队(批准号: 2011B82014)和宁波市社会发展项目(批准号: 2011C50010)资助的课题

\*通讯作者。Tel: 0574-87609950, E-mail: duanshiwei@nbu.edu.cn; Tel: 0574-87035866, E-mail: yemeng@nbu.edu.cn

Received: August 15, 2013 Accepted: October 8, 2013

This work was supported by the Innovative Research Team in Zhejiang Province (Grant No.2010R50046), the Science and Technology Innovation Team of Ningbo (Grant No.2011B82014) and Ningbo Social Development Research Projects (Grant No.2011C50010)

\*Corresponding authors. Tel: +86-574-87609950, E-mail: duanshiwei@nbu.edu.cn; Tel: +86-574-87035866, E-mail: yemeng@nbu.edu.cn

网络出版时间: 2013-12-11 15:21 URL: <http://www.cnki.net/kcms/doi/10.11844/cjcb.2014.01.0250.html>

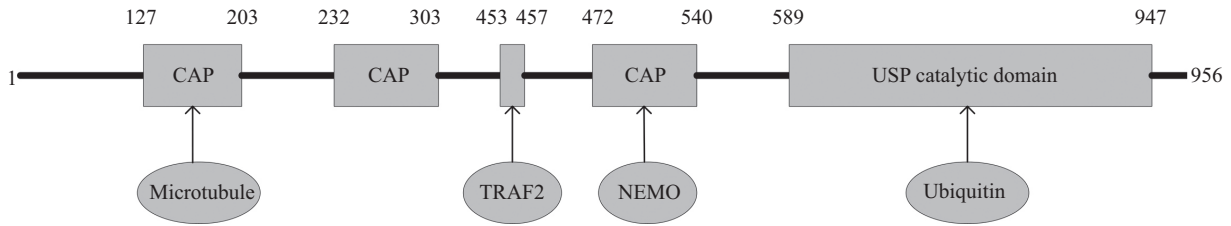


图1 CYLD蛋白结构示意图(根据参考文献[2]修改)

Fig.1 The structure of CYLD (modified from reference [2])

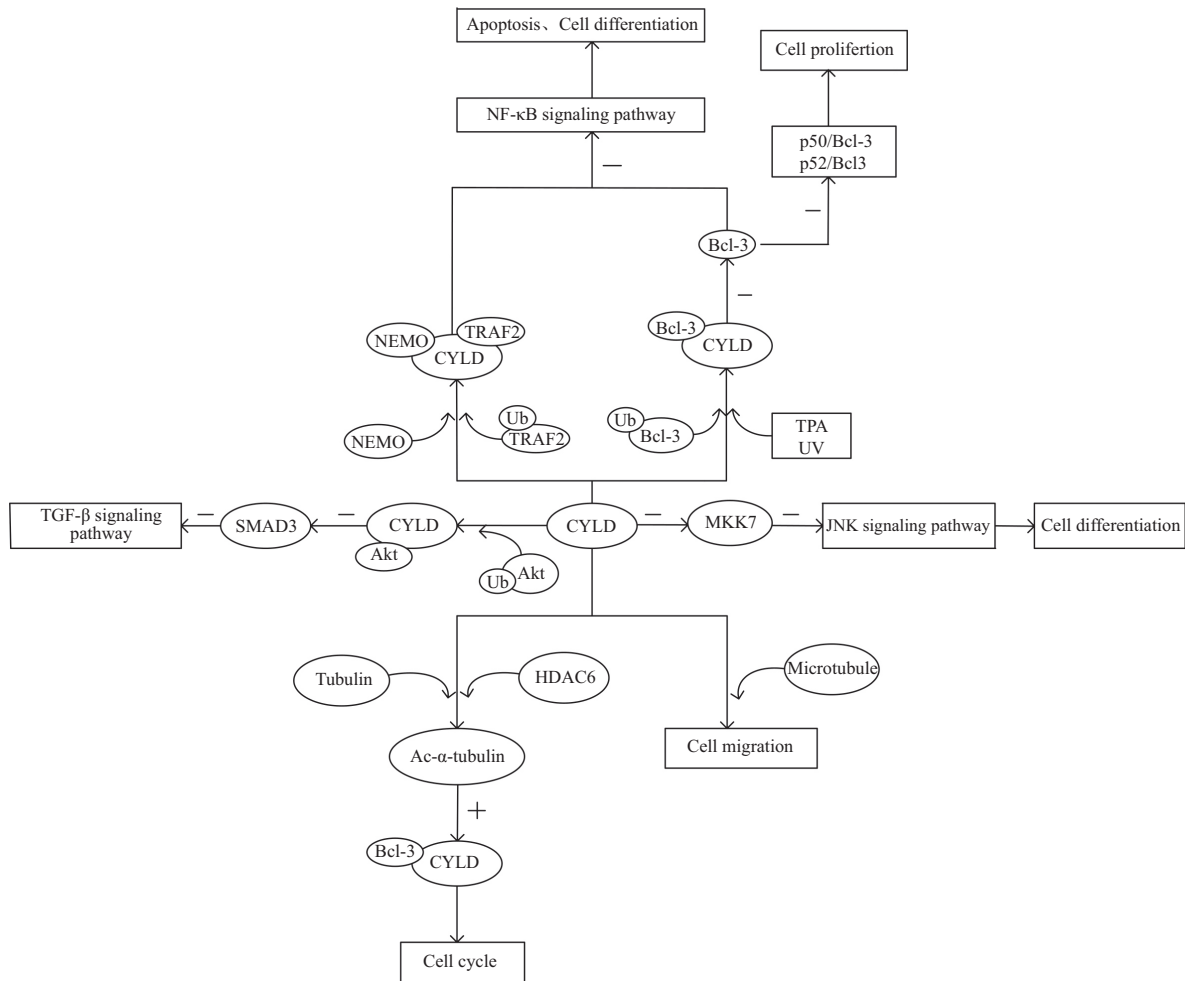


图2 CYLD信号传导通路在调控细胞功能中的作用

Fig.2 The role of CYLD signal transduction pathway in regulating cell function

对信号传导和细胞骨架的调节,从而发挥调控细胞增殖、细胞凋亡、细胞运动以及细胞分化等细胞功能(图2)。本文就近年来CYLD对细胞功能调控的研究进行概述。

## 1 CYLD对信号传导的调控

### 1.1 CYLD对经典NF-κB途径的调控

NF-κB由RelA(p65)、RelB、c-Rel、p50/p105和p52/p100五个成员构成<sup>[6]</sup>,它们可两两结合形成

同源或异源二聚体,其中p50/p65为最常见的NF-κB形式。静息状态下,NF-κB以失活状态存在于胞浆中,它与一种IκB结合成异源二聚体,IκB使得NF-κB处于失活状态。当细胞受到肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF)、豆蔻酸佛波醇乙酸酯(phorbol myristate acetate, PMA)等NF-κB激活剂刺激后,接头蛋白TRAF2发生Lys63连接的多聚泛素化,活化IκB激酶,并诱使IκB N-端发生磷酸化和泛素化降解,使NF-κB和IκB解离,从而暴露核定位信号,NF-κB迅速

介导进入细胞核, 激活靶基因的转录和表达<sup>[7]</sup>。

当胞外信号如TNF- $\alpha$ 、PMA等刺激细胞时, CYLD与NEMO相结合, 去除TRAF2上Lys63连接的多聚泛素链, 从而阻断TRAF2的下游信号通路, 抑制NF- $\kappa$ B激活<sup>[4]</sup>, 是其负向调节因子<sup>[8]</sup>。CYLD不能直接抑制IKK $\beta$ 介导的NF- $\kappa$ B激活, 而是靶向于IKK $\beta$ 的上游分子。CYLD与NEMO结合后可到达IKK全酶的位置, 在细胞受到细胞因子的刺激下, IKK全酶已到达激活的TNFR胞浆尾部, 因此允许CYLD去泛素化与TNFR结合的TRAF蛋白。CYLD能与NEMO及TRAF2结合, 降低HeLa细胞对TNF- $\alpha$ 的应答敏感性。CYLD特异位点的磷酸化是其发挥调控功能的重要机制<sup>[9]</sup>。CYLD磷酸化的缺陷小鼠细胞中, TRAF2泛素化水平降低, 表明CYLD的瞬时磷酸化是TRAF2泛素化和激活下游信号转导途径的必要条件。一旦CYLD活性丧失, 就不能抑制TRAF2的信号转导功能, 从而激活NF- $\kappa$ B途径, 开启下游信号途径, 导致细胞的异常增殖并形成肿瘤。因此, CYLD通过去泛素化方式抑制NF- $\kappa$ B途径<sup>[10]</sup>, 对阻止肿瘤的形成、发展及转移具有重要作用, 并可作为未来治疗肿瘤的一个新靶点。

## 1.2 CYLD对Bcl-3依赖的NF- $\kappa$ B途径的调控

Bcl-3为I $\kappa$ B蛋白家族成员, 是一种核共激活因子, 可协同p50或p52同源二聚体发挥转录激活功能。Bcl-3的活化与否是p50和p52二聚体参与转录调控的分子开关<sup>[11]</sup>。CYLD去泛素化TRAF2后抑制IKK, 使得NF- $\kappa$ B p65/p50停留在胞浆而失活。由此推断这条NF- $\kappa$ B经典途径的高度激活是肿瘤细胞生长的原因, 而鼠角化细胞核内NF- $\kappa$ B p65/p50过度表达导致表皮萎缩及生长抑制<sup>[12]</sup>。

在角质细胞中, CYLD/Bcl-3途径并不包括在经典的NF- $\kappa$ B途径中。用12-O-十四烷酰佛波醇-13-乙酸酯(12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate, TPA)或紫外线(UV)照射正常的角质细胞, 可诱导CYLD从细胞质移位到细胞核周围发挥去泛素化作用, 将Bcl-3上Lys-63连接的多聚泛素链去除, 从而阻断这种多聚泛素的信号识别作用, 抑制Bcl-3在核内聚集, 阻断Bcl-3与NF- $\kappa$ B结合从而激活靶基因的转录, 可见CYLD对这种途径是负调控的。当CYLD基因缺失时, TPA和UA照射诱发Bcl-3泛素化, 使其在细胞核内聚集并与NF- $\kappa$ B家族的p50或p52结合, 激活细胞周期蛋白D1(*cyclin D1*)基因的转录和表达, 导致

癌症发生。CYLD缺陷型(CYLD<sup>-/-</sup>)小鼠对化学致癌剂高度敏感, TPA或UV处理的CYLD<sup>-/-</sup>小鼠角质细胞的鳞状上皮和角化细胞高度增生, 同时cyclin D1水平升高。Cyclin D1升高不是由p65/p50活性增加所致, 而是与P50/Bcl-3及P52/Bcl-3核内活性增加后激活其靶向基因*cyclin D1*基因有关。CYLD<sup>+/+</sup>的角化细胞中, TPA或UV会导致CYLD从胞浆转向核周区, 在此, CYLD结合并去泛素化Bcl-3, 从而阻止Bcl-3核周沉积, 抑制P50/Bcl-3或P52/Bcl-3依赖的增生。由此可见, 在外界信号的作用下, CYLD负性调控不同的NF- $\kappa$ B途径, 发挥不同的作用, 使TRAF2失活可抑制肿瘤生长及炎症反应, 使Bcl-3失活则与控制增生及肿瘤形成有关<sup>[13]</sup>。

## 1.3 CYLD对JNK途径的调控

JNK是促分裂原活化的蛋白激酶(mitogen-activated protein kinases, MAPKs)家族成员, 是细胞内重要信号通路, 在肿瘤的形成和发展中起重要作用<sup>[14-15]</sup>。典型的MAPK信号通路包括3个级联酶促反应, 即MAPKKKs-MAPKKs-MAPKs。静息状态下, 非活化状态的JNK能够结合并泛素化降解转录调节因子p53, 使细胞得以生存。当细胞受到应激因素激活时, JNK可磷酸化p53上第81位的苏氨酸残基, 稳定P53蛋白, 起到促进细胞凋亡的作用<sup>[16]</sup>。丝裂原活化蛋白激酶激酶7(mitogen activated protein kinase kinase 7, MAPKK7)是JNK途径必须的, 因此CYLD可以通过下调MKK7而抑制JNK信号途径, 并且TNF- $\alpha$ 及CD40两种信号途径可负性调控JNK<sup>[17]</sup>。另外, CYLD不能抑制TNF- $\alpha$ 信号途径激活的IKK, 但可抑制特定受体所致的IKK激活。在CYLD缺陷鼠的免疫细胞中, 与TRAF2及NEMO泛素化相关的JNK及NF- $\kappa$ B活性增加, 且CYLD缺陷的鼠更容易诱导结肠炎症, 并有更高的肿瘤发生率<sup>[18]</sup>。果蝇CYLD基因缺失可引发泛素化增强和TRAF2的降解, 使细胞无法通过JNK通路发生凋亡<sup>[19]</sup>。在恶性黑色素瘤中, CYLD通过抑制JNK/AP-1和整合素 $\beta$ 1信号途径, 阻止肿瘤的生长和进展<sup>[20]</sup>。

在黏膜相关淋巴组织1(mucosa-associated lymphoid tissue 1, MALT1)中, T细胞受体诱导JNK激活需要CYLD蛋白水解的灭活作用<sup>[21]</sup>, JNK瞬时激活有助于细胞生长。另外, CYLD敲除可增加JNK的瞬时激活, 但不影响其持续激活的动力学。CYLD通过负性调控JNK信号通路而发挥抑癌作用<sup>[17]</sup>。

#### 1.4 CYLD对TGF- $\beta$ 途径的调控

转化生长因子- $\beta$ (transforming growth factors- $\beta$ , TGF- $\beta$ )是一类具有多种生物学活性的细胞因子,参与调节细胞的增殖、分化、发育和凋亡等多种生命活动<sup>[22-23]</sup>。TGF- $\beta$ 信号通路在肿瘤发生、发展中发挥重要作用,介导的信号传导涉及多种下游分子的激活,其中SMADs是TGF- $\beta$ 家族特异性下游靶分子<sup>[24-25]</sup>。肺炎链球菌感染后的小鼠,去泛素化酶CYLD减少,导致肺纤维化进一步发展。深入研究发现,CYLD通过降低SMAD3的稳定性,从而抑制TGF- $\beta$ 信号途径的传导和阻碍肺纤维化。CYLD通过去泛素化K63多聚泛素化的Akt来降低SMAD3的稳定性,调节肺损伤以及抑制肺纤维化<sup>[26]</sup>。

在敲除CYLD小鼠的外周淋巴器官中,调节性T细胞(regulatory T cell, Tregs)数量上升,而在胸腺中则无此现象。在体外,与刺激性幼稚CD4对照,CYLD缺陷型抗CD3/28幼稚T细胞在TGF- $\beta$ 的存在下,导致Foxp3表达性T细胞数量上升。在内源性条件下,CYLD和SMAD7形成复合体,从而有助于CYLD对SMAD7在赖氨酸360和374残基端去泛素化。在主细胞中,敲除SMAD或抑制p38会损害调节性T细胞分化。CYLD通过调节T细胞中TGF- $\beta$ 信号功能以及SMAD去泛素化过程来调节Tregs发展<sup>[27]</sup>。

#### 1.5 CYLD对TLR2途径的调控

Toll样受体(Toll-like receptors, TLRs)是在胞外结构域和胞质结构域中富含亮氨酸重复单位的I型跨膜受体<sup>[28]</sup>,人类TLR家族中有11个成员已被克隆,其中TLR2和TLR4研究较为清楚。TLR2信号途径的激活不仅可诱导自然免疫激活,指导获得性免疫的形成和发展,而且在炎症和感染性疾病中会导致不利炎症反应<sup>[29]</sup>发生。肿瘤抑制因子CYLD可负向调节TLR2信号通路,从而控制炎症的发生与发展。TLR2配体,肽聚糖、巨噬细胞活化脂肽(macrophage-activating lipopeptide, MALP-2)以及Pam3-半胱氨酸-丝氨酸-赖氨酸4(Pam3-Cys-Ser-Lys4, Pam3CSK4),激活TLR2信号通路,通过TRAF6和TRAF7诱导IKKs-I $\kappa$ B $\alpha$ 和MKK3/6-p38途径的激活。此两条信号途径的激活导致TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-8以及CYLD转录。反过来,CYLD会导致TRAF6和TRAF7的抑制,这可能是通过去泛素化依赖机制所致。研究证实,一个新的自动调节反馈机制通过与TRAF6和TRAF7的负向交互调制,从而达到负性控制TLR2-IKKs-I $\kappa$ B $\alpha$ /

MKK3/6-p38-NF- $\kappa$ B依赖性免疫诱导和炎症反应<sup>[30]</sup>的作用。

## 2 CYLD对细胞凋亡的调控

细胞凋亡是机体细胞在正常生理或病理状态下发生的一种自发的、程序化的死亡过程,它的发生受到机体的严密调控,涉及一系列基因的激活、表达以及调节等<sup>[31]</sup>。细胞凋亡的主要信号传导通路分为3条:(1)死亡受体介导的细胞凋亡;(2)线粒体相关的凋亡诱导途径;(3)内质网相关的凋亡诱导途径。其中,CYLD对细胞凋亡的调控主要与死亡受体介导的细胞凋亡途径有关。细胞因子与死亡受体(如Fas/Apo1、TNFR1、TNFR2等)结合可以引起受体的三聚化,后者通过接头蛋白激活特异蛋白酶caspase-8,活化的caspase-8可以进一步激活执行死亡的caspase-3,6,7等,导致细胞凋亡<sup>[32]</sup>(图3)。在TNF的刺激下,caspase-8剪切CYLD,从而产生生存信号。相反,caspase-8的缺失会抑制CYLD的降解,以致坏死性死亡。采用质粒构建,CYLD在D215位点替代突变后,导致CYLD不能被caspase-8剪切,从而在TNF应答下,促使细胞生存转向细胞坏死<sup>[33]</sup>。

研究报道,抑制CYLD能提高对细胞凋亡的抵抗性,CYLD丢失有助于肿瘤的形成。阿司匹林衍生物能抑制NF- $\kappa$ B的活性,这显示干预治疗策略在家族性圆柱瘤病患者的恢复生长控制作用<sup>[4]</sup>。NF- $\kappa$ B的激活可被水杨酸类药物及PGAI所抑制,二者均可抑制IKK $\beta$ ,CYLD丢失所致的凋亡阻滞也可被水杨酸类药物解除。

CYLD基因缺失能减弱精子细胞凋亡早期波动,导致小鼠体内缺陷的精子形成。睾丸细胞中CYLD的缺失导致转录因子NF- $\kappa$ B激活和抗凋亡基因的异常表达。进一步研究显示,CYLD可负向调节泛素依赖性NF- $\kappa$ B激活剂一大鼠胰岛素基因I启动子(rat insulin I gene promoter, RIP1),CYLD结合RIP1并阻止其泛素化和信号传导功能。CYLD作为一个关键的去泛素化酶,能调节精子细胞凋亡和精子形成,并且对控制睾丸的RIP1/NF- $\kappa$ B信号轴起到关键作用<sup>[34]</sup>。

通过TAK1和JNK的自发性和慢性激活,CYLD特异性损坏肝脏,从而引发门静脉周围区肝细胞的死亡。随后,肝星状细胞和Kupffer细胞激活,导致程序性纤维化、炎症、TNF的生成和肝细胞凋亡逐渐向中央静脉扩增。因此,在肝脏中,CYLD是肝细胞

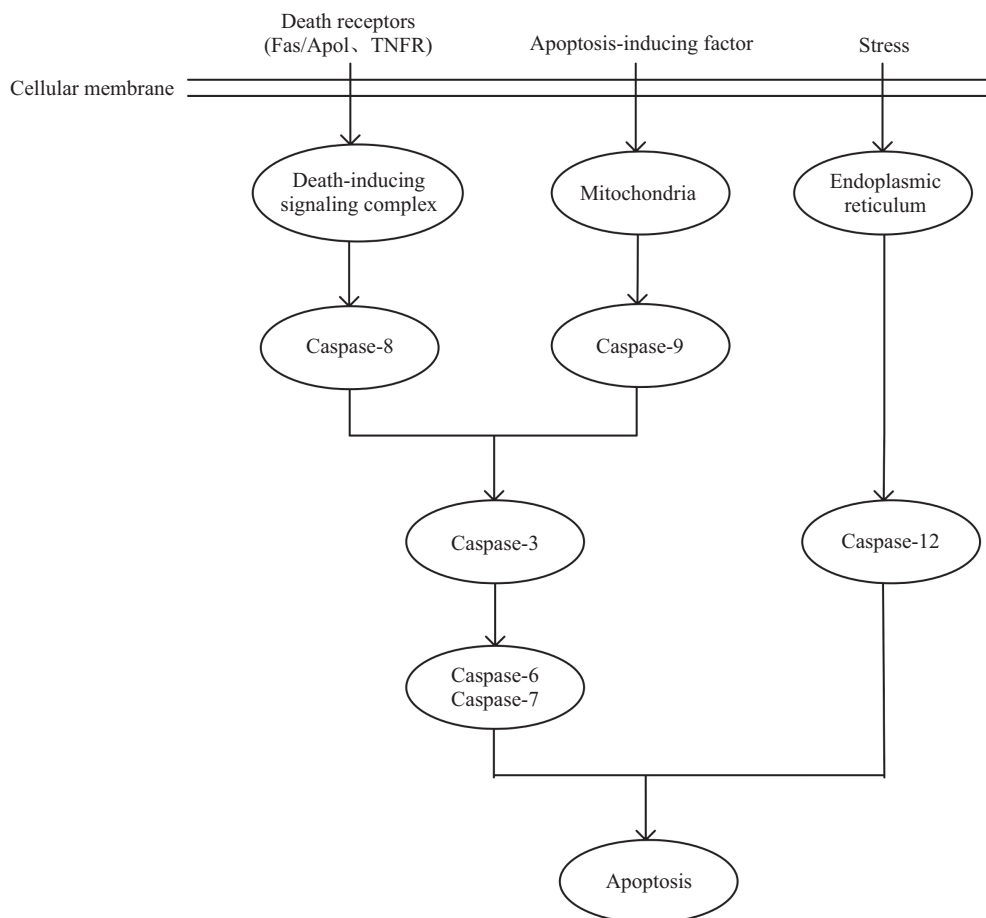


图3 细胞凋亡的信号传导通路

Fig.3 The signal transduction pathways of apoptosis

稳态的重要调节因子, 通过抑制不受控制的TAK1和JNK激活, 防止细胞自发性凋亡<sup>[35]</sup>。

与周围非恶性组织相比, CYLD的蛋白和mRNA在肝细胞癌(HCC)均降低。为了深入研究CYLD在HCC细胞中的凋亡敏感性, 通过RNA干扰发现, 在HCC细胞株中CYLD特异性下调, 从而导致阿霉素和顺铂治疗的抵抗性升高。此外, 在HCC细胞中CYLD下调可降低肿瘤坏死因子诱导凋亡的敏感性。CYLD的降低导致NF- $\kappa$ B抑制剂的降解, 以致在HCC细胞中NF- $\kappa$ B活性增强<sup>[36]</sup>。

此外, CYLD也是一种新程序性死亡necroptosis的调节因子。通过siRNA介导, CYLD表达量减少, 显著减缓软脂酸(palmitic acid, PA)诱导的内皮细胞坏死。相反, 受体相互作用蛋白激酶1(receptor interacting protein kinase 1, RIPK1)的抑制和敲除与PA诱导的凋亡坏死无关, 这说明CYLD诱导依赖于细胞凋亡途径, 而RIPK1的诱导则是独立的<sup>[37]</sup>。另外, 通过RNAi介导敲除CYLD可抑制TNF诱导的necroptosis,

CYLD抑制NF- $\kappa$ B信号通路从而导致necroptosis发生<sup>[38-39]</sup>。在慢性淋巴细胞白血病(chronic lymphocytic leukemia, CLL)中, RIP3和CYLD显著下调。并且, CYLD的转录抑制因子—淋巴增强结合因子1(lymphoid enhancer-binding factor 1, LEF1), 为Wnt/ $\beta$ -catenin信号通路的下游效应因子。以necroptosis关键调节因子LEF1为靶向修复Wnt/ $\beta$ -catenin信号通路, 为CLL治疗提供了新的途径<sup>[40]</sup>。

### 3 CYLD对细胞增殖的调控

细胞增殖指细胞通过生长和分裂使细胞数目增加, 使子细胞获得和母细胞相同遗传特性的过程。在正常情况下, 细胞增殖过程受到体内复杂调控网络精密而有序地调控。在多种因素的作用下, 这种调控功能失常, 引起细胞异常增殖与持续分裂, 导致肿瘤的发生。CYLD通过对NF- $\kappa$ B信号传导途径和细胞骨架微管蛋白的调节, 从而调控细胞增殖。CYLD的抑制或缺失, 可导致细胞增殖和肿瘤生长。

CYLD通过抑制NF- $\kappa$ B信号,来调节细胞增殖、细胞存活和炎症反应。我们前期研究发现,在大肠癌HCT116细胞中,CYLD过度表达可抑制NF- $\kappa$ B的转录活性,下游基因***bcl-2***表达减少。并且,CYLD抑制细胞增殖,cyclin D1含量降低,但对细胞凋亡没有促进作用。Wickstrom等<sup>[41]</sup>研究显示,CYLD通过其CAP-Gly结构域,与 $\alpha$ -微管蛋白和微管相关联,从而调控细胞生长、G<sub>1</sub>/S期的间隔。活化的CYLD易位到细胞周围区域,在组蛋白去乙酰化酶-6(histone deacetylase 6, HDAC6)存在的情况下发挥抑制作用,导致乙酰化 $\alpha$ -微管蛋白在细胞核周围升高,CYLD和Bcl-3相互作用,进而导致G<sub>1</sub>期向S期过渡的显著变慢。最后,在中间体,CYLD与HDAC6相互作用,调节胞浆移动的速率。综上所述,CYLD可在细胞周期的不同阶段调节细胞增殖<sup>[41]</sup>。

研究显示,有丝分裂的适时进入需要CYLD。蛋白激酶Plk1是CYLD调节有丝分裂进入的潜在目标。与细胞周期调节功能相一致,CYLD在间期坐落于微管,而在末期坐落于中间体。当细胞离开有丝分裂时,CYLD蛋白水平降低。CYLD不仅具有抑制肿瘤活性的功能(细胞凋亡调节),而且具有促进肿瘤活性的作用(有丝分裂进入的增强子)<sup>[42]</sup>。

在不同类型肿瘤中CYLD缺失会导致细胞存活或细胞增殖。研究发现,在血清依赖性浓度下且并未影响细胞存活的情况下,CYLD<sup>-/-</sup>MEFs的增殖速率提高,而CYLD<sup>+/+</sup>则无<sup>[43]</sup>。在CYLD<sup>+/+</sup>血清中,血清反应因子(serum response factor, SRF)与CYLD启动子上的血清反应元件结合,细胞增殖速率减慢,并且CYLD启动子可使CYLD水平上调。SRF向CYLD启动子的募集依赖于p38 MAPK的活性。通过siRNA或抑制p38 MAPK,SRF去除,导致CYLD表达水平降低和细胞增殖提高。在MEF细胞异常增殖过程中,SRF为CYLD表达的正性调节因子,CYLD则可减弱血清促有丝分裂激活<sup>[43]</sup>。

抑制CYLD促使原癌基因***Bcl-3***易位进入细胞核内,激活cyclin D1和N-钙黏蛋白启动子,导致黑色素瘤细胞增殖和侵袭。在黑色素瘤细胞中,CYLD表达可减少体外细胞的增殖和侵袭,以及体内肿瘤的生长和转移。从患者原发性黑色素瘤的组织基因芯片分析显示,***Snail1***诱导与CYLD表达缺失呈负相关。并且,肿瘤厚度、进展性和总体生存率均与CYLD的表达呈负相关<sup>[44]</sup>。

## 4 CYLD对细胞运动的调控

细胞运动,即细胞本身的形态变化和胞内的物质流动,与细胞骨架变化相关。细胞骨架主要由微丝、微管、中间丝等构成。CYLD通过其CAP-Gly结构域,与 $\alpha$ -微管蛋白和微管相关联,在细胞迁移、细胞分裂和胞浆移动等方面发挥调控作用。

肿瘤抑制因子CYLD包含3个与细胞骨架蛋白相关CAP-Gly结构域,后者存在于大量微管结合蛋白中。研究显示,无论在细胞内抑或在体外,CYLD均与微管相关,CYLD的第一个CAP-Gly结构域主要负责相互作用。细胞中CYLD表达减少可显著延迟在达唑冲洗后微管的再生长,深入研究显示,通过降低在微管组装中的关键浓度,CYLD可增强微管蛋白多聚化从而形成微管。此外,CYLD第一个CAP-Gly结构域参与介导细胞迁移过程,并在其中起到关键作用<sup>[45]</sup>。CYLD通过介导血管内皮细胞扩散和迁移来调节血管再生,沉默CYLD可显著减弱内皮细胞微管动态变化,并且通过阻断多聚化进程,抑制内皮细胞迁移。激活Rac1有助于CYLD在调节内皮细胞迁移和血管再生中发挥作用<sup>[46]</sup>。

Yang等<sup>[47]</sup>研究显示,CYLD可调节RhoA活性,而后可介导细胞骨架重排、染色体分裂和细胞极化等过程。深入研究发现,CYLD不与RhoA直接相互作用,而与白血病相关Rho鸟嘌呤核苷酸交换因子(leukemia-associated Rho guanine nucleotide-exchange factor, LARG)相互作用并将其去泛素化。LARG-RhoA信号途径在CYLD介导的多种细胞活动中发挥作用。

研究显示,CYLD通过其CAP-Gly结构域与 $\alpha$ -微管蛋白和微管相关联,从而调控胞浆移动。活化的CYLD易位到细胞周围区域,通过CYLD的抑制作用,在HDAC6存在的情况下,导致乙酰化 $\alpha$ -微管蛋白在细胞核周围升高。这有助于CYLD和Bcl-3的相互作用,从而导致G<sub>1</sub>期向S期过渡的显著变慢。最后,在中间体,CYLD与HDAC6相互作用,调节胞浆移动的速率<sup>[41]</sup>。

## 5 CYLD对细胞分化的调控

细胞分化,指由一个或一种细胞增殖产生后代,在形态结构和生理功能上发生稳定性差异的过程。在细胞内外环境因素作用下,基因选择性表达,从而产生各种不同类型的细胞。CYLD主要通过通过对下游信号传导通路的调控,从而影响细胞分化进程。

在CYLD基因缺陷小鼠中, 破骨细胞异常分化, 导致严重骨质疏松症。从CYLD基因缺陷小鼠中分离得到的破骨细胞前体, 对核转录因子- $\kappa$ B受体活化因子配体(receptor activator for nuclear factor- $\kappa$ B ligand, RANKL)诱导的细胞分化具有高反应性, 与对照组相比, 生成的破骨细胞数量多、体积大。CYLD通过抑制TRAF6泛素化和激活下游信号分子, 从而负向调节RANK信号传导通路<sup>[48]</sup>。另外, 在表皮细胞中, CYLD通过调节JNK信号通路, 从而调控细胞分化。研究显示, CYLD过度表达, 可促进角化细胞分化; CYLD功能缺失, 减弱表皮细胞分化。并且发现, CYLD调节细胞分化与皮肤肿瘤进展有关<sup>[49]</sup>。

## 6 结语和展望

CYLD在很多信号途径中均有重要作用, CYLD基因的缺失或缺陷不仅是肿瘤发生的主要分子机制, 而且在其他病理的形成和发展中也有重要作用。通过CYLD去泛素化酶结构域对TRAFs、NEMO、Bcl-3、p53、SMADs等信号分子的去泛素化作用和CAP-Gly结构域对微管的调节及改变多聚化和乙酰化过程, 从而对细胞增殖、细胞凋亡、细胞运动和细胞分化发挥调控作用。以上任何一种细胞功能失常, 均有可能导致肿瘤发生、免疫异常或组织纤维化<sup>[50-55]</sup>。然而, 目前CYLD对细胞功能的调节机制尚不清楚, 还有很多问题值得深入研究。未来研究热点主要有, CYLD如何特异性识别其靶向泛素化蛋白, CYLD翻译后修饰对其生物学功能的影响, 以及CYLD在免疫炎症和肿瘤发生中的相互交叉作用机制等。因此, 阐明CYLD对细胞功能的调节机制, 可为肿瘤的分子靶向治疗、免疫炎症的预防控制提供新途径。

### 参考文献 (References)

- 1 Sun L, Gao J, Huo L, Sun X, Shi X, Liu M, *et al.* Tumour suppressor CYLD is a negative regulator of the mitotic kinase Aurora-B. *J Pathol* 2010; 221(4): 425-32.
- 2 Harhaj EW, Dixit VM. Deubiquitinases in the regulation of NF-kappaB signaling. *Cell Res* 2011; 21(1): 22-39.
- 3 Kovalenko A, Chable-Bessia C, Cantarella G, Israel A, Wallach D, Courtois G. The tumour suppressor CYLD negatively regulates NF-kappaB signalling by deubiquitination. *Nature* 2003; 424(6950): 801-5.
- 4 Brummelkamp TR, Nijman SM, Dirac AM, Bernards R. Loss of the cylindromatosis tumour suppressor inhibits apoptosis by activating NF-kappaB. *Nature* 2003; 424(6950): 797-801.
- 5 Komander D, Lord CJ, Scheel H, Swift S, Hofmann K, Ashworth A, *et al.* The structure of the CYLD USP domain explains its specificity for Lys63-linked polyubiquitin and reveals a B box module. *Mol Cell* 2008; 29(4): 451-64.
- 6 Chen ZJ. Ubiquitin signalling in the NF-kappaB pathway. *Nat Cell Biol* 2005; 7(8): 758-65.
- 7 Lindstrom TM, Bennett PR. The role of nuclear factor kappa B in human labour. *Reproduction* 2005; 130(5): 569-81.
- 8 Song L, Liu L, Wu Z, Li Y, Ying Z, Lin C, *et al.* TGF-beta induces miR-182 to sustain NF-kappaB activation in glioma subsets. *J Clin Invest* 2012; 122(10): 3563-78.
- 9 Reiley W, Zhang M, Wu X, Granger E, Sun SC. Regulation of the deubiquitinating enzyme CYLD by IkappaB kinase gamma-dependent phosphorylation. *Mol Cell Biol* 2005; 25(10): 3886-95.
- 10 Harhaj EW, Dixit VM. Regulation of NF-kappaB by deubiquitinases. *Immunol Rev* 2012; 246(1): 107-24.
- 11 Zhang X, Wang H, Claudio E, Brown K, Siebenlist U. A role for the IkappaB family member Bcl-3 in the control of central immunologic tolerance. *Immunity* 2007; 27(3): 438-52.
- 12 Seitz CS, Lin Q, Deng H, Khavari PA. Alterations in NF-kappaB function in transgenic epithelial tissue demonstrate a growth inhibitory role for NF-kappaB. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998; 95(5): 2307-12.
- 13 Massoumi R, Chmielarska K, Hennecke K, Pfeifer A, Fassler R. Cyld inhibits tumor cell proliferation by blocking Bcl-3-dependent NF-kappaB signaling. *Cell* 2006; 125(4): 665-77.
- 14 An J, Liu H, Magyar CE, Guo Y, Veena MS, Srivatsan ES, *et al.* Hyperactivated JNK is a therapeutic target in pVHL-deficient renal cell carcinoma. *Cancer Res* 2013; 73(4): 1374-85.
- 15 Jung MK, Houh YK, Ha S, Yang Y, Kim D, Kim TS, *et al.* Recombinant Erdr1 suppresses the migration and invasion ability of human gastric cancer cells, SNU-216, through the JNK pathway. *Immunol Lett* 2013; 150(1/2): 145-51.
- 16 Yin ZM, Sima J, Wu YF, Zhu J, Jiang Y. The effect of C-terminal fragment of JNK2 on the stability of p53 and cell proliferation. *Cell Res* 2004; 14(5): 434-8.
- 17 Reiley W, Zhang M, Sun SC. Negative regulation of JNK signaling by the tumor suppressor CYLD. *J Biol Chem* 2004; 279(53): 55161-7.
- 18 Zhang J, Stirling B, Temmerman ST, Ma CA, Fuss IJ, Derry JM, *et al.* Impaired regulation of NF-kappaB and increased susceptibility to colitis-associated tumorigenesis in CYLD-deficient mice. *J Clin Invest* 2006; 116(11): 3042-9.
- 19 Xue L, Igaki T, Kuranaga E, Kanda H, Miura M, Xu T. Tumor suppressor CYLD regulates JNK-induced cell death in *Drosophila*. *Dev Cell* 2007; 13(3): 446-54.
- 20 Ke H, Augustine CK, Gandham VD, Jin JY, Tyler DS, Akiyama SK, *et al.* CYLD inhibits melanoma growth and progression through suppression of the JNK/AP-1 and beta1-integrin signaling pathways. *J Invest Dermatol* 2013; 133(1): 221-9.
- 21 Staal J, Driege Y, Bekaert T, Demeyer A, Muyllaert D, Van Damme P, *et al.* T-cell receptor-induced JNK activation requires proteolytic inactivation of CYLD by MALT1. *EMBO J* 2011; 30(9): 1742-52.
- 22 Derynck R, Zhang YE. Smad-dependent and Smad-independent pathways in TGF-beta family signalling. *Nature* 2003; 425(6958): 577-84.

- 23 Siegel PM, Massague J. Cytostatic and apoptotic actions of TGF-beta in homeostasis and cancer. *Nat Rev Cancer* 2003; 3(11): 807-21.
- 24 Devine DJ, Rostas JW, Metge BJ, Das S, Mulekar MS, Tucker JA, *et al.* Loss of N-Myc interactor promotes epithelial-mesenchymal transition by activation of TGF-beta/SMAD signaling. *Oncogene* 2013; doi: 10.1038/onc.2013.215.
- 25 Kamato D, Burch ML, Piva TJ, Rezaei HB, Rostam MA, Xu S, *et al.* Transforming growth factor-beta signalling: Role and consequences of Smad linker region phosphorylation. *Cell Signal* 2013; 25(10): 2017-24.
- 26 Lim JH, Jono H, Komatsu K, Woo CH, Lee J, Miyata M, *et al.* CYLD negatively regulates transforming growth factor-beta-signalling via deubiquitinating Akt. *Nat Commun* 2012; 3: 771.
- 27 Zhao Y, Thornton AM, Kinney MC, Ma CA, Spinner JJ, Fuss IJ, *et al.* The deubiquitinase CYLD targets Smad7 protein to regulate transforming growth factor beta (TGF-beta) signaling and the development of regulatory T cells. *J Biol Chem* 2011; 286(47): 40520-30.
- 28 Medzhitov R. Toll-like receptors and innate immunity. *Nat Rev Immunol* 2001; 1(2): 135-45.
- 29 Barton GM, Medzhitov R. Toll-like receptor signaling pathways. *Science* 2003; 300(5625): 1524-5.
- 30 Yoshida H, Jono H, Kai H, Li JD. The tumor suppressor cylindromatosis (CYLD) acts as a negative regulator for toll-like receptor 2 signaling via negative cross-talk with TRAF6 AND TRAF7. *J Biol Chem* 2005; 280(49): 41111-21.
- 31 Elmore S. Apoptosis: A review of programmed cell death. *Toxicol Pathol* 2007; 35(4): 495-516.
- 32 Fotin-Mleczek M, Henkler F, Samel D, Reichwein M, Hausser A, Parmryd I, *et al.* Apoptotic crosstalk of TNF receptors: TNF-R2-induces depletion of TRAF2 and IAP proteins and accelerates TNF-R1-dependent activation of caspase-8. *J Cell Sci* 2002; 115(Pt 13): 2757-70.
- 33 O'Donnell MA, Perez-Jimenez E, Oberst A, Ng A, Massoumi R, Xavier R, *et al.* Caspase 8 inhibits programmed necrosis by processing CYLD. *Nat Cell Biol* 2011; 13(12): 1437-42.
- 34 Wright A, Reiley WW, Chang M, Jin W, Lee AJ, Zhang M, *et al.* Regulation of early wave of germ cell apoptosis and spermatogenesis by deubiquitinating enzyme CYLD. *Dev Cell* 2007; 13(5): 705-16.
- 35 Nikolaou K, Tsagaratou A, Eftychi C, Kollias G, Mosialos G, Talianidis I. Inactivation of the deubiquitinase CYLD in hepatocytes causes apoptosis, inflammation, fibrosis, and cancer. *Cancer Cell* 2012; 21(6): 738-50.
- 36 Urbanik T, Kohler BC, Boger RJ, Worns MA, Heeger S, Otto G, *et al.* Down-regulation of CYLD as a trigger for NF-kappaB activation and a mechanism of apoptotic resistance in hepatocellular carcinoma cells. *Int J Oncol* 2011; 38(1): 121-31.
- 37 Khan MJ, Rizwan Alam M, Waldeck-Weiermair M, Karsten F, Groschner L, Riederer M, *et al.* Inhibition of autophagy rescues palmitic acid-induced necroptosis of endothelial cells. *J Biol Chem* 2012; 287(25): 21110-20.
- 38 Hitomi J, Christofferson DE, Ng A, Yao J, Degterev A, Xavier RJ, *et al.* Identification of a molecular signaling network that regulates a cellular necrotic cell death pathway. *Cell* 2008; 135(7): 1311-23.
- 39 Vandenabeele P, Galluzzi L, Vanden Berghe T, Kroemer G. Molecular mechanisms of necroptosis: An ordered cellular explosion. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2010; 11(10): 700-14.
- 40 Liu P, Xu B, Shen W, Zhu H, Wu W, Fu Y, *et al.* Dysregulation of TNFalpha-induced necroptotic signaling in chronic lymphocytic leukemia: suppression of CYLD gene by LEF1. *Leukemia* 2012; 26(6): 1293-300.
- 41 Wickstrom SA, Masoumi KC, Khochbin S, Fassler R, Massoumi R. CYLD negatively regulates cell-cycle progression by inactivating HDAC6 and increasing the levels of acetylated tubulin. *EMBO J* 2010; 29(1): 131-44.
- 42 Stegmeier F, Sowa ME, Nalepa G, Gygi SP, Harper JW, Elledge SJ. The tumor suppressor CYLD regulates entry into mitosis. *Proc Natl Acad Sci USA* 2007; 104(21): 8869-74.
- 43 Liang G, Ahlqvist K, Pannem R, Posern G, Massoumi R. Serum response factor controls CYLD expression via MAPK signaling pathway. *PLoS One* 2011; 6(5): e19613.
- 44 Massoumi R, Kuphal S, Hellerbrand C, Haas B, Wild P, Spruss T, *et al.* Down-regulation of CYLD expression by Snail promotes tumor progression in malignant melanoma. *J Exp Med* 2009; 206(1): 221-32.
- 45 Gao J, Huo L, Sun X, Liu M, Li D, Dong JT, *et al.* The tumor suppressor CYLD regulates microtubule dynamics and plays a role in cell migration. *J Biol Chem* 2008; 283(14): 8802-9.
- 46 Gao J, Sun L, Huo L, Liu M, Li D, Zhou J. CYLD regulates angiogenesis by mediating vascular endothelial cell migration. *Blood* 2010; 115(20): 4130-7.
- 47 Yang Y, Sun L, Tala, Gao J, Li D, Zhou J, *et al.* CYLD regulates RhoA activity by modulating LARG ubiquitination. *PLoS One* 2013; 8(2): e55833.
- 48 Jin W, Chang M, Paul EM, Babu G, Lee AJ, Reiley W, *et al.* Deubiquitinating enzyme CYLD negatively regulates RANK signaling and osteoclastogenesis in mice. *J Clin Invest* 2008; 118(5): 1858-66.
- 49 Alameda JP, Fernandez-Acenero MJ, Moreno-Maldonado R, Navarro M, Quintana R, Page A, *et al.* CYLD regulates keratinocyte differentiation and skin cancer progression in humans. *Cell Death Dis* 2011; 2: e208.
- 50 Masoumi KC, Shaw-Hallgren G, Massoumi R. Tumor suppressor function of CYLD in nonmelanoma skin cancer. *J Skin Cancer* 2011; 2011: 614097.
- 51 Ye H, Liu X, Lü M, Wu Y, Kuang S, Gong J, *et al.* MicroRNA and transcription factor co-regulatory network analysis reveals miR-19 inhibits CYLD in T-cell acute lymphoblastic leukemia. *Nucleic Acids Res* 2012; 40(12): 5201-14.
- 52 Ahmed N, Zeng M, Sinha I, Polin L, Wei WZ, Rathinam C, *et al.* The E3 ligase Itch and deubiquitinase Cyld act together to regulate Tak1 and inflammation. *Nat Immunol* 2011; 12(12): 1176-83.
- 53 Tsagaratou A, Kontoyiannis DL, Mosialos G. Truncation of the deubiquitinating domain of CYLD in myelomonocytic cells attenuates inflammatory responses. *PLoS One* 2011; 6(1): e16397.
- 54 Kolls JK. Balancing mucosal immunity: Caught between CYLD and Charybdis. *Immunity* 2007; 27(2): 187-9.
- 55 Lim JH, Stirling B, Derry J, Koga T, Jono H, Woo CH, *et al.* Tumor suppressor CYLD regulates acute lung injury in lethal *Streptococcus pneumoniae* infections. *Immunity* 2007; 27(2): 349-60.