

一种新的肿瘤抑制因子 *Cylindromatosis*

徐德立*

(曲阜师范大学生命科学学院, 曲阜 273165)

摘要 肿瘤抑制因子 *cylindromatosis* (CYLD) 是新发现的一种细胞因子, 具有去泛素化酶活性。肿瘤坏死因子受体相关因子 2 (TRAF2) 是 NF- κ B 信号转导途径中的一员, TRAF2 如果发生 Lys48 相互连接的多聚泛素化, 则导致其自身的降解; 如果发生 Lys63 相互连接的多聚泛素化, 则能开启 NF- κ B 的下游信号通路。CYLD 很可能是通过把 TRAF2 上 Lys63 相互连接的多聚泛素链去掉, 而在 NF- κ B 信号转导途径中起负调节物的作用, 阻止下游信号途径的转导。因此 CYLD 功能异常会导致 NF- κ B 过度活化, 从而引起多种病理生理反应。NF- κ B 的抑制剂如水杨酸钠、前列腺素 A1 等简单的药物试剂, 有可能减弱由于 CYLD 缺失所引起的后果, 这为头帕肿瘤综合症和其他癌症在临床治疗中所需药物的研究提供了新的策略。

关键词 CYLD; NF- κ B 信号转导通路; 肿瘤坏死因子受体相关因子 2; 泛素

1 *Cylindromatosis* 的发现

2003 年, *Nature* 报道了一种新的肿瘤抑制因子 *cylindromatosis* (CYLD)^[1-3], 这是在研究人类“头帕肿瘤综合症 (turban tumour syndrome or *cylindromatosis*)”时发现的; 这种疾病为蘑菇形状的肿瘤, 从头皮或者身体其他长毛的部位长出来; 虽然这些肿瘤是良性的, 但他们能够引起可怕的毁容和不适, 最终转变为威胁生命的癌症。头帕肿瘤综合症是由于患者细胞中 CYLD 功能丧失引起的, 控制合成该因子的基因 *CYLD* 位于人类 16 号染色体上; 进一步的研究表明: 头帕肿瘤综合症患者细胞 *CYLD* 的两个等位基因都发生了突变, 结果使患者细胞中 CYLD 丧失功能, 导致核转录因子 NF- κ B 的过度活化; NF- κ B 可与特定基因的 κ B 序列 (5'-GGGACTTCC-3') 结合, 启动基因的转录, 导致细胞的过度增殖, 而引起头帕肿瘤综合症的发生。

2 CYLD 的分子结构

CYLD 是一长度为 956 个氨基酸残基的蛋白质 (其氨基酸序列可参考网站: <http://ncbi.nlm.gov/Omim/>), 具有 NEMO、TRAF2 (TNF-receptor-associated factor 2) 结合的位点 (图 1)。NEMO 又称为 IKK γ , 是 IKK (I κ B kinase complex, IKK α /IKK β /NEMO 或 IKK γ) 的调节亚基, 在 NF- κ B 活化中起着重要作用。CYLD 上与 NEMO 结合的位点为第 470



图 1 CYLD 结构示意图^[2]

位至第 684 位氨基酸序列; 在结合过程中, NEMO 羧基端由最后 39 个氨基酸残基形成的锌指模体 (zinc-finger motif) 是必须的。实验证实缺失羧基端锌指模体的突变体 dC385NEMO, 则不能与 CYLD 结合^[2,3]。TRAF2 也参与细胞因子介导的 NF- κ B 激活过程, 并且通常与其结合的位点具有 Pro-X-Gln-X-(Ser/Thr) 模式^[4]; CYLD 上与 TRAF2 结合的位点是第 394 位至第 470 位氨基酸, 同样含有与该模式相似的序列 Pro453-Val454-Gln455-Glu456-Ser457; 如果 Ser457 突变为 Ala, 则与 TRAF2 结合能力丧失, 说明 Ser457 是两者结合的关键氨基酸。进一步实验证明 CYLD 不与 TRAF 家族的其他成员或信号蛋白质结合, 如肿瘤坏死因子受体 (tumor necrosis factor receptor, TNFR) 的细胞内结构域、肿瘤坏死因子受体相关死亡域 (TNF-receptor-associated death domain, TRADD)、Fas 相关死亡域 (Fas-associated death domain, FADD)、胱天蛋白酶 (caspase-8)、凋亡蛋

收稿日期: 2004-03-11 接受日期: 2004-05-13

* 通讯作者。Tel: 0537-4458281; Fax: 0537-4458471; E-mail: xudl1975@163.com

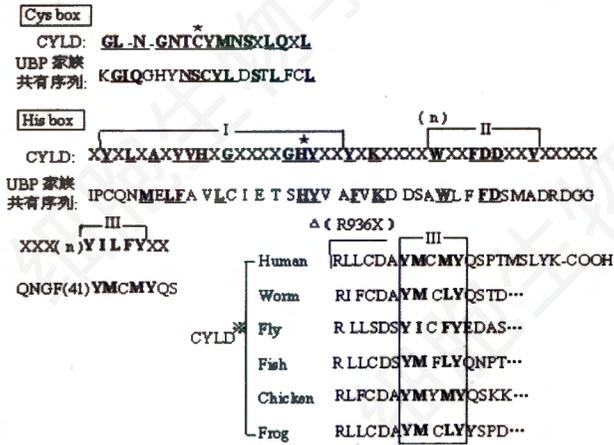


图2 CYLD蛋白C末端片段与UBP蛋白共有序列及保守氨基酸残基的序列比较^[2]

★表示催化机制中的Cys、His残基；n表示UBP蛋白之间氨基酸数目的变化；※表示不同生物中与His框中亚域III相对应的CYLD蛋白C末端区的进化保守程度；△(R936X)表示人类头帕肿瘤综合症(TT17家族)患者CYLD与正常相比第936位氨基酸至C末端的20个氨基酸发生了缺失。

白抑制因子(inhibitor of apoptosis proteins, IAP-1)、凋亡蛋白酶活化因子(apoptotic protease-activating factor, APAF1)等^[2]。

3 CYLD的生物学作用

体内^[1-3]和体外^[2,3]的实验结果表明, CYLD具有

去泛素化酶(de-ubiquitinating enzyme, DUB)的活性, DUB具有将泛素化底物的多聚泛素链除去的功能; CYLD作用的底物不是Lys48连接的多聚泛素链, 而是Lys63连接的多聚泛素链。泛素专一性加工蛋白酶(ubiquitin-specific processing protease, UBP)是DUB家族的一个亚家族。UBP结构中具有保守的Cys框(box)和His框^[2], CYLD同样含有与之相似的Cys框和His框, 因此CYLD是UBP亚家族中成员之一^[5-8]。与UBP的His框中亚域III(subdomain III)相应的CYLD羧基端, 在不同生物中存在着定向同源进化的保守序列(图2), 该序列中即使最微小的缺失都可引起CYLD功能的异常。人类头帕肿瘤综合症患者细胞中CYLD与正常相比, 其羧基端缺失了20个氨基酸残基, 结果导致其功能丧失。CYLD功能缺失导致头帕肿瘤综合症的发生, 是由于它的功能异常引起了NF-κB过度活化的结果。

静息状态下, 抑制蛋白IκB与NF-κB二聚体结合, NF-κB以无活性的三聚体形式驻留在细胞质中, NF-κB的激活是一个非常复杂的信号转导过程(图3)^[9]。当细胞受到TNF-α等外界信号刺激时, 引起细胞膜受体TNFR与TRADD的结合; 随后RIP、TRAF2结合在TRADD上。TRAF2可以发生多聚泛素化, 如果发生Lys48连接的多聚泛素化, 则导致其自身的降解; 如果发生Lys63连接的多聚

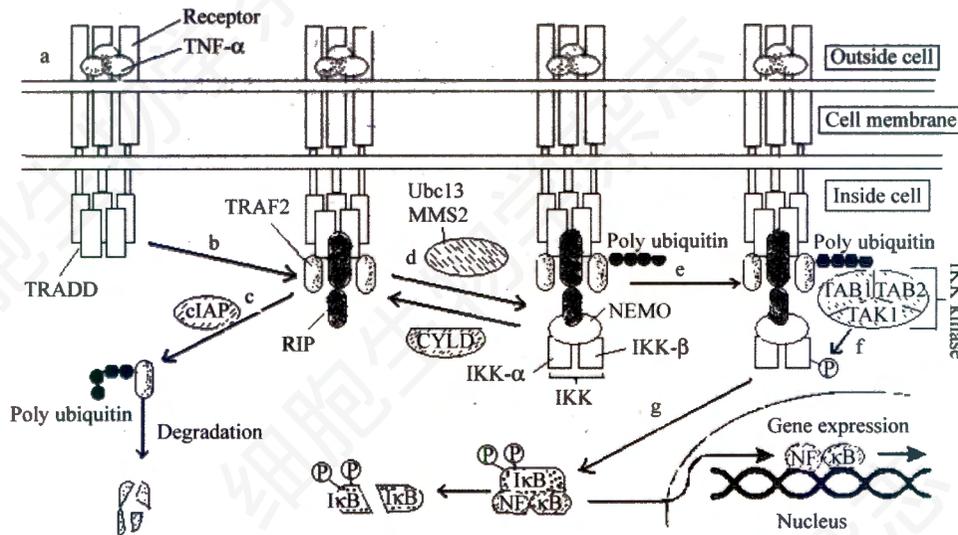


图3 NF-κB信号转导途径^[9]

a: TNF-α与受体TNFR结合, 引起TRADD蛋白的结合; b: RIP、TRAF2与TRADD结合; c: cIAP蛋白能催化TRAF2发生Lys48连接的多聚泛素化而导致其降解^[9,10]; d: Ubc13-MMS2复合体能使TRAF2发生Lys63连接的多聚泛素化; e: 多聚泛素化的TRAF2激活IKK激酶(TAB1/TAB2/TAK1); f: IKK激酶IKK发生磷酸化; g: 磷酸化的IKK进而使IκB发生磷酸化, 磷酸化IκB再发生Lys48连接的多聚泛素化而导致其降解; NF-κB被释放出来, 进入细胞核内, 并激活其靶基因。CYLD通过把TRAF2上Lys63连接的多聚泛素链去掉, 而起阻止下游信号进一步传递的作用。

泛素化, 则能开启 NF- κ B 的下游信号通路。Ubc13-MMS2 复合体具有泛素化酶活性, 但使 TRAF2 发生的是 Lys63 连接的多聚泛素化^[11], 结果激活了 IKK 激酶(TAB1/TAB2/TAK1); 随后 IKK 激酶催化 IKK- β 磷酸化而激活 IKK^[12,13], 活化的 IKK 使 I κ B 氨基端第 32 和 36 位 Ser 残基磷酸化; 泛素化系统的连接酶 SCF β -Trep 复合物能识别磷酸化的 I κ B, 并使之发生泛素化, 继而泛素化的 I κ B 被胞内专门降解蛋白质的 26S 蛋白酶复合体识别并降解。于是 NF- κ B 被释放出来并进入细胞核内, 启动特异基因的转录^[6,9]。由于 CYLD 能将 TRAF2 上 Lys63 连接的多聚泛素链去掉, 因此 CYLD 能阻断 TRAF2 进一步传递信号。一旦 CYLD 活性丧失, 就不能抑制 TRAF2 的信号转导功能, 从而引起 NF- κ B 信号转导途径过度活化, 导致细胞的异常增生, 形成肿瘤; 可见 CYLD 在 NF- κ B 信号转导途径中起负调节功能^[1-3]。其他许多具有去泛素化酶活性的蛋白质, 包括已知能抑制 NF- κ B 信号转导的蛋白质, 其作用很可能是在不同组织中对 NF- κ B 信号转导途径行使相同的负调节功能^[14]。

4 小结

NF- κ B 过度活化可引起多种病理生理反应, 近年来越来越多的实验证实多种疾病如急性肺损伤、

急慢性炎症反应、肿瘤等都与 NF- κ B 的过度活化相关。因此, 在病理状态下如何抑制 NF- κ B 的过度活化从而治疗缓解疾病已成为当前临床治疗学研究的热点, 而 CYLD 对 NF- κ B 信号转导途径负调节作用, 为抑制 NF- κ B 由静息向激活状态的转变提供了新的调控点。NF- κ B 的抑制剂如水杨酸钠、前列腺素 A1 等简单的药物试剂, 就有可能减弱由于 CYLD 缺失所引起的后果^[15], 这为头帕肿瘤综合症和其他癌症在临床治疗中药物的设计提供了新的策略。

参考文献 (References)

- [1] Brummelkamp TR *et al. Nature*, 2003, **424**: 797
- [2] Kovalenko A *et al. Nature*, 2003, **424**: 801
- [3] Trompouki E *et al. Nature*, 2003, **424**: 793
- [4] Ye H *et al. Mol Cell*, 1999, **4**: 321
- [5] Wilkinson KD. *FASEB J*, 1997, **11**: 1245
- [6] Wilkinson KD. *Semin Cell Dev Biol*, 2000, **11**: 141
- [7] Chung CH *et al. Biochem Biophys Res Commun*, 1999, **266**: 633
- [8] D'Andrea A *et al. Crit Rev Biochem Mol Biol*, 1998, **33**: 337
- [9] Wilkinson KD. *Nature*, 2003, **424**: 738
- [10] Baud V *et al. Trends Cell Biol*, 2001, **11**: 372
- [11] Chen G *et al. Mol Cell*, 2002, **9**: 401
- [12] Yamaoka S *et al. Cell*, 1998, **93**: 1231
- [13] Rothwarf DM *et al. Nature*, 1998, **395**: 297
- [14] Zhang SQ *et al. Immunity*, 2000, **12**: 301
- [15] Yin MJ *et al. Nature*, 1998, **396**: 77

A Novel Tumor Suppressor *Cylindromatosis*

De-Li Xu*

(College of Life Sciences, Qufu Normal University, Qufu 273165, China)

Abstract The familial cylindromatosis (CYLD) tumor suppressor has been identified as a novel cytokine which has the activity of deubiquitinating enzyme. It is known that TNF-receptor-associated factor 2 (TRAF2) can be connected to poly ubiquitin chains linked through either lysine 48 or lysine 63, the former leads to its degradation and the latter seems to lead to the assembly of IKK kinase (TAB1/TAB2/TAK1) that activates IKK, and finally activates NF- κ B. The likely model is that CYLD functions to turn TNF-receptor signaling off by removing lysine-63-linked poly ubiquitin chains from TRAF2, which acts as a negative regulator of NF- κ B signalling pathway. CYLD dysfunction may result in excessive activation of NF- κ B and leads to many pathological and physiological reactions. Therefore simple pharmacological agents like sodium salicylate and prostaglandin A1 suggests a strategy to restore normal growth control in patients suffering from familial cylindromatosis.

Key words cylindromatosis; NF- κ B signalling pathway; TNF-receptor-associated factor 2; ubiquitin