

NF- κ B 在调控肿瘤细胞凋亡中的作用

李 萌 李继承*

(浙江大学细胞生物学研究所, 杭州 310058)

摘要 细胞凋亡在维持细胞动态平衡和机体稳定方面发挥重要作用。核转录因子 κ B (nuclear factors κ B, NF- κ B)参与细胞生长、分化及炎症反应等基因表达调控,同时参与了肿瘤的发生、发展及转移,一度被认为是肿瘤治疗的靶点之一。近年来研究发现,NF- κ B活化在炎症诱发的肿瘤形成中发挥重要作用,但同时发现NF- κ B活化也可发挥促凋亡作用,抑制肿瘤发生发展。对NF- κ B在肿瘤形成中两方面作用的认识,为肿瘤临床治疗提供理论依据。

关键词 转录因子 κ B; 凋亡; 肿瘤

1 NF- κ B 家族

1986年Sen等^[1]在成熟B细胞中发现了一种能与免疫球蛋白 κ 轻链基因增强子 κ B序列特异结合并调节 κ 轻链转录的核蛋白因子,因而命名为核转录因子 κ B (nuclear factors κ B, NF- κ B)。在哺乳动物细胞中NF- κ B家族由RelA (p65)、c-Rel、RelB、NF- κ B1 (p105)和NF- κ B2 (p100)组成,这些蛋白质在氨基末端有Rel同源区(Rel homology domain, RHD),其中包括DNA结合域、二聚化结构域和核定位信号(nuclear translocation signal, NLS)区。RelA、RelB和c-Rel的C端含有反式激活域(transactivation domain),其中富集Ser、酸性氨基酸和疏水性氨基酸。NF- κ B1 (p105)和NF- κ B2 (p100)是p50和p52的前体蛋白,C端含有锚蛋白重复序列(ankyrin repeat motif, ARM),可以通过依赖ATP的蛋白水解过程裂解为成熟的p50和p52。

有活性的NF- κ B以二聚体形式存在,以p50/RelA二聚体多见且研究最多。在非激活条件下,NF- κ B与 κ B抑制因子(inhibitor of NF- κ B, I κ B)形成三聚体p50/RelA/I κ B,以无活性的形式存在于胞浆中。I κ B家族包括I κ B α 、I κ B β 、I κ B γ 和I κ B δ ,它们含有ARM能与RelA结合,掩盖p50的NLS区,抑制NF- κ B发生核易位发挥转录活性而滞留在胞浆中^[2]。I κ B在C端有PEST序列,在稳定分子结构及抑制NF- κ B与DNA结合中发挥作用。N端是信号反应区,含有磷酸化和泛素化位点,在诱导I κ B降解过程中发挥重要作用。Bcl-3和I κ B ζ 是I κ B家族比较特殊的成员,它们位于细胞核内,协同具有转录抑制活性的同源二聚体p50/p50或p52/p52抑制NF- κ B活化,而非核易位

抑制或DNA结合抑制^[3,4]。值得注意的是,由于p105和p100也含有ARM,因此可以发挥I κ B样功能。

NF- κ B活化需要I κ B解离或NF- κ B表达增加实现核易位,通常以前者为主。I κ B受I κ B激酶(I κ B kinase, IKK)的调节,IKK由两个激酶亚基IKK α 、IKK β 和一个调节亚基IKK γ 组成,IKK α 和IKK β 的同源性达52%,它们的N端含有激酶功能区可使I κ B特定Ser位点磷酸化,在I κ B降解中发挥作用^[5]。在刺激因子作用下,IKK活化,I κ B磷酸化并从复合体中解离,NF- κ B二聚体释放并发生核易位,与 κ B反应元件(5'-GGGRNYYYCC-3',R为嘌呤,Y为嘧啶,N为任意核酸)结合调控基因转录;而游离的I κ B在发生泛素化后被蛋白酶体识别降解^[6]。NF- κ B活化还存在IKK上游激酶(NF- κ B-inducing kinase, NIK)对IKK活化进行调节,因此NF- κ B信号通路受多级多分子的网络调控。

2 NF- κ B 的三种活化途径

目前研究表明,NF- κ B主要通过三种途径活化,其中两种途径是IKK依赖性的,另一途径则与酪蛋白激酶2(casein kinase 2, CK2)有关(图1)^[7-9]。

经典途径(the classical pathway)由病原体相关分子模式(pathogen associated molecular patterns, PAMPs)或促炎细胞因子引发,通过与肿瘤坏死因子受体相关因子(tumor necrosis factor receptor associated factor, TRAF)及TNFRSF1A相关的死亡域(TNFRSF1A-

收稿日期: 2007-05-16 接受日期: 2007-07-24

* 通讯作者。Tel: 0571-88208088, Fax: 0571-88208094, E-mail: lijichen@zju.edu.cn

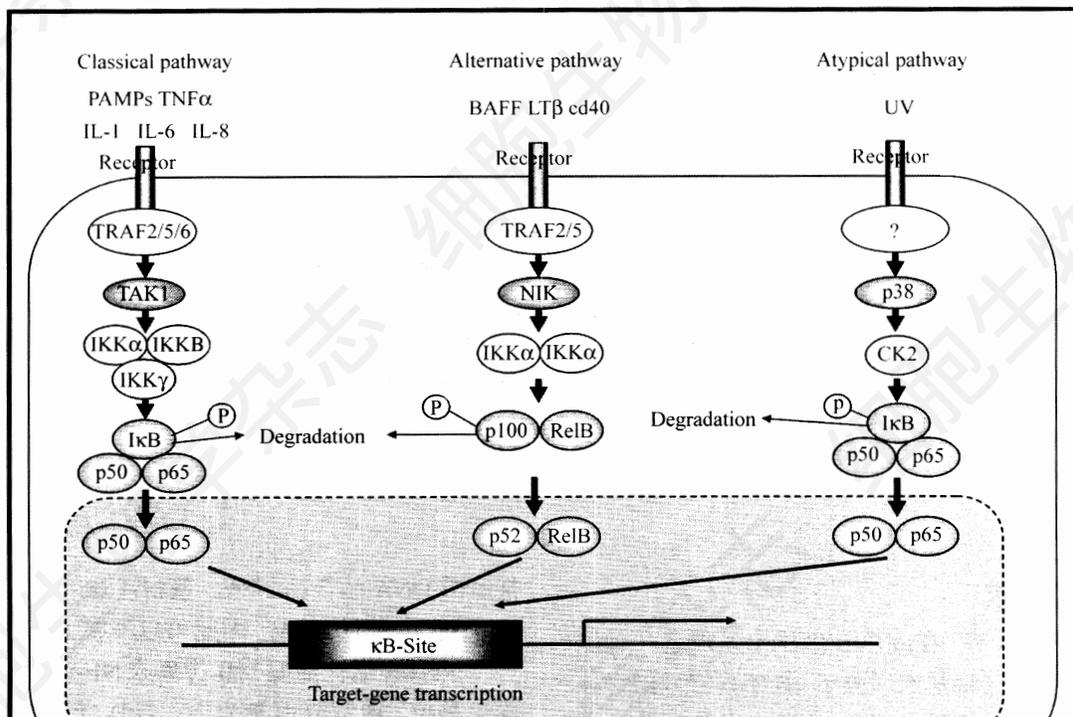


图1 NF- κ B活化的三种途径^[9,10]

associated via death domain, TRADD)蛋白相互作用,通过转化生长因子 β (TGF β)-激活性激酶1(TAK1)活化IKK α /IKK β /IKK γ 三聚体,导致I κ B磷酸化和降解,p50/RelA发生核易位,实现快速强烈的NF- κ B信号通路激活。在这个过程中IKK β 发挥主要作用。

旁路途径(the alternative pathway)主要发生在B细胞中,是通过选择性活化p52/RelB二聚体实现NF- κ B活化。由TNFR家族配体引发,例如,肿瘤坏死因子超家族B细胞活化因子(B cell activating factor of the tumour necrosis factor family, BAFF)、CD40或淋巴毒素(lymphotoxin, LT) β 等,NIK活化后选择性活化IKK α 同源二聚体,进而使前体蛋白p100的C末端降解形成p52,最终与胞浆中RelB形成异源二聚体,发生核易位,实现NF- κ B活化。值得注意的是,在这个途径中是以IKK α 依赖性,IKK β 和IKK γ 非依赖性的方式激活的。

非典型途径(the atypical pathways)是非依赖IKK的激活通路。在这个途径中I κ B α 磷酸化是通过CK2实现的。非典型途径诱导相对较弱并缓慢的NF- κ B活化反应,通常处理2~4 h后达到活化高峰。紫外线辐射通过该途径诱导NF- κ B活化。

TRAF家族是联系受体与IKK的关键分子,TRAF2、TRAF5和TRAF6参与经典活化通路的正

向调节,但对于TRAF在旁路活化途径中的作用仍不明确,有学者推测TRAF2和TRAF5可能参与旁路活化途径^[10]。

3 NF- κ B与抗凋亡作用

NF- κ B广泛存在于真核生物中,参与细胞生长、分化、炎症及免疫反应、病毒基因组的转录等多种基因表达调控。NF- κ B在多种肿瘤的发生发展中发挥了重要作用,NF- κ B的组成性活性(constitutive activity)不仅参与了淋巴瘤和骨髓瘤发生,如多发性骨髓瘤、霍奇金病、非霍奇金病等;而且也存在于多种实体瘤中,如乳腺癌、神经胶质母细胞瘤、肝癌、非小细胞肺癌、卵巢癌、胰腺癌等^[11]。实验证实,化疗药物引起NF- κ B活化能抑制细胞死亡,是肿瘤临床治疗中耐药性产生的关键因素^[12]。不管是组成性活性还是由药物诱导引起的NF- κ B活化,其主要作用都是抑制细胞死亡,因此NF- κ B被认为是抗凋亡因子,是影响抗肿瘤药物疗效的因素之一。大量的研究结果显示,抑制NF- κ B活性可以诱导多种肿瘤细胞凋亡或使细胞恢复凋亡现象^[13]。通过进一步对已应用临床多年的抗癌药的作用机制研究,发现阿司匹林、柳氮磺吡啶、地塞米松等也是通过抑制NF- κ B活性而实现肿瘤治疗的,因此认为寻找有效NF-

表1 NF- κ B 基因产物与凋亡反应

	NF- κ B 靶基因产物
抗凋亡蛋白	cIAP-1, cIAP-2, TRAF-1, TRAF-2, MnSOD, xIAP, A20, Bcl-2, Bcl-xL, cyclin D1, survivin, COX-2
促凋亡蛋白	TRAIL, DR5, p53, caspase-1

κ B 抑制剂成为治疗肿瘤的靶点之一^[14,15]。

NF- κ B 的抗凋亡作用主要是通过调节靶基因的转录实现的(表1)。NF- κ B 活化能上调凋亡蛋白抑制剂(cIAP-1、cIAP-2)和 TRAF-1、TRAF-2 表达,抑制细胞凋亡^[16]。HeLa 细胞经低剂量 γ 射线照射后, NF- κ B 活化引起细胞中 SOD 表达改变能抵抗由顺铂诱导的细胞凋亡。NF- κ B 通过上调锰超氧化物歧化酶(MnSOD)的表达,抑制由 β -淀粉样变引起的神经细胞凋亡,发挥神经保护作用^[17]。由 TNF α 诱导 NF- κ B 活化后,能通过选择性活化 caspase 抑制剂 xIAP 和锌指蛋白 A20 的表达发挥抗凋亡作用,促进肿瘤的形成^[18]。此外, Bcl-2、Bcl-xL、周期蛋白(cyclin) D1、存活素(survivin)及 COX-2 等 NF- κ B 靶基因产物的表达也参与了抗凋亡反应。

近年来, NF- κ B 在由炎症诱发的肿瘤中所起的作用受到人们关注^[19,20]。在肿瘤的早期形成阶段, NF- κ B 在抗凋亡方面发挥了主要作用并参与肿瘤的形成和转移。应用化学致癌剂对小鼠结肠诱导建立损伤和炎症模型,当除去结肠上皮细胞中特异的 IKK β 后,由于 I κ B 不能降解而导致 NF- κ B 活化受限,最终引起肿瘤发生率下降,而并没有影响炎症的形成。Mdr2 基因剔除小鼠能自发肝炎并在晚期能形成肝细胞癌,通过 I κ B 显性负性突变体抑制肝细胞中 NF- κ B 活化,能抑制肝细胞癌的形成。另外,在应用 TNF- α 拮抗剂后,肝细胞中 NF- κ B 仍可以由临近的炎症细胞产生的 TNF α 诱导活化。TNF- α I 型受体(TNFR I)缺失的小鼠,能抵抗由胆碱缺失诱导的肝细胞癌。因此, NF- κ B 起着抗凋亡作用,使细胞免受由基因毒性逆境(genotoxic stress)引起的细胞凋亡,但也促进了肿瘤的形成。NF- κ B 将慢性炎症和癌症的形成联系起来,提示抑制 NF- κ B 的活性可以有效的预防由炎症诱发的肿瘤形成。

4 NF- κ B 与促凋亡作用

随着研究的深入,对 NF- κ B 在肿瘤中的作用也不断得到补充,已有实验表明 NF- κ B 可以通过上调凋亡基因的表达(表1),抑制抗凋亡基因的表达或 NF- κ B 家族 NF- κ B2 (p100)参与的非转录模式细胞死亡途径

诱导细胞凋亡^[21]。如:肿瘤坏死因子相关凋亡诱导配体(TNF-related apoptosis-inducing ligand, TRAIL)可以通过 NF- κ B 活化上调死亡受体 5 (death receptor 5, DR5)表达,诱导 MCF-7、HEK-293 细胞凋亡; U2OS 和 MEF 细胞经柔红霉素、阿霉素或 UV-C 照射处理后, NF- κ B 活化,下调 Bcl-xL、xIAP 和 A20 表达并诱导细胞凋亡; p100 的死亡结构域(death domain, DD)可以征集 TNFR I 和 Fas 等死亡受体,激活 caspase 途径,诱导细胞凋亡。

NF- κ B 活化作为促凋亡因子诱导凋亡,抑制 NF- κ B 活化将导致肿瘤的发生。小分子 NF- κ B 必须调节蛋白结合区(NF- κ B essential modifier binding domain, NBD)多肽可以选择性地抑制 NF- κ B 的活性,从而降低阿霉素等抗肿瘤药物的细胞毒作用,导致 KBM-5 和 Jurkat 细胞凋亡反应减弱,而且抑制 H157 肺癌细胞凋亡并且促进了裸鼠模型中肺肿瘤形成^[22]。抑制皮肤组织中 NF- κ B 活性后,将导致鳞状细胞癌(squamous cell carcinoma, SCC)的发生。Toftgard 领导的课题组建立的小鼠模型通过上皮特异性的 K5 启动子在上皮中组成性表达 I κ B-SR,抑制 NF- κ B 活化。通过对小鼠进行大面积的皮肤渗透嗜中性粒细胞建立慢性皮肤感染模型,最终形成 SCC。该模型抑制了 NF- κ B 活化导致皮肤中 TNF- α 上调,表明抑制 NF- κ B 活化促进了由感染引起的肿瘤的形成。对 TNFR I 基因剔除小鼠给予同样的刺激,感染和肿瘤的进程都受到阻滞^[23,24]。

5 抗凋亡作用与促凋亡作用

5.1 影响因素

NF- κ B 在肿瘤细胞凋亡中的双重作用已倍受学者关注。由于 NF- κ B 处于复杂多级的信号通路中,因此 NF- κ B 到底是作为抗凋亡因子还是促凋亡因子发挥生物学作用应从细胞种类、刺激因素及 NF- κ B 活化时的细胞环境等多方面进行具体问题具体分析。

在某些情况下, RelA 能显著的抑制细胞死亡。TNF 对 RelA^{-/-} 鼠纤维母细胞和巨嗜细胞有较强的细胞毒作用,而 RelA^{+/-} 细胞却对 TNF 诱导的细胞毒作用不敏感;将 RelA 重新在 RelA^{-/-} 纤维母细胞中表达,

使细胞存活率增加,表明 RelA 在抵抗 TNF 诱导的细胞凋亡中发挥重要作用^[25]。而过表达 RelA 的乳腺癌细胞 MCF7/ADR 和黑色素瘤细胞 M14 表现出明显的细胞死亡,提示 NF- κ B 在这两种细胞系中发挥促凋亡作用。在裸鼠模型中,过表达 RelA 也同样可以抑制这两种细胞的肿瘤形成^[26]。说明 NF- κ B 在凋亡中扮演的角色有一定的细胞种属依赖性。

此外,刺激因素也是影响 NF- κ B 活化发挥不同作用的重要因素。在 HeLa 细胞中, TNF α 能诱导 NF- κ B 活化并保护细胞发挥抗凋亡作用;而过钒酸盐 (pervanadate) 和过氧化氢同样能引起 NF- κ B 活化,却诱导 HeLe 细胞凋亡^[27]。在神经元中也有同样现象,金丝桃素 (hypericin) 通过氧化作用诱导 NF- κ B 活化,起到神经元保护作用;蛋白激酶 C 抑制剂十字孢碱 (staurosporine, ST) 可以活化 NF- κ B 引起细胞死亡。对嗜铬细胞瘤 PC12 细胞而言,当 NF- κ B 由 6-羟基多巴胺 (hydroxydopamine) 活化表现出促凋亡作用,而由 TNF α 诱导活化则表现出抗凋亡作用^[28]。在 T 杂交瘤细胞中,当用 PMA/离子霉素 (ionomycin) 处理后, NF- κ B 活化上调 Fas 配体表现出促凋亡活性,而由地塞米松诱导的活化则表现为抗凋亡反应^[29]。

除了细胞种类和刺激因素的不同, NF- κ B 活化时细胞的具体环境也关系到 NF- κ B 在凋亡中作用的发挥。例如,在 HeLa 细胞中, c-Rel 过表达早期可以将由 TNF- α 诱导产生的毒性 O₂ 转化为 H₂O₂, 抵抗由 TNF- α 诱导的细胞凋亡;但是后期由于 H₂O₂ 的积累增多,最终诱导细胞凋亡。在同种细胞同种刺激因素作用下,随着 c-Rel 表达水平的增加将引起抗凋亡和促凋亡的不同作用^[30]。

5.2 活化途径

目前对于 NF- κ B 在凋亡中双重作用的选择已有两种模式对其进行解释。

(1) 抑癌基因非依赖性途径^[31]。普遍认为 NF- κ B 活化能诱导靶基因的表达,但在一些特定的情况下 RelA 不仅失去了诱导转录的活性,而且获得了抑制转录的功能。研究发现,当紫外线或阿霉素诱导 NF- κ B 活化的同时能诱导活化抑制蛋白 HDACs 的产生,形成 RelA-HDACs 复合物抑制转录活性。虽然对于这种解释是否适用于 Rel 家族其他成员仍存有争议,但至少可以肯定的是 NF- κ B 不仅仅作为抗凋亡基因表达的活化因子,而且可以作为抑制因子。

(2) 抑癌基因依赖性途径。Rocha 等^[32]认为抑癌基因对 NF- κ B 在肿瘤细胞凋亡过程中角色的转换起

了决定性作用。NF- κ B 作为细胞存活因子诱导细胞的增殖,而抑癌基因可以引起细胞周期阻滞和凋亡。基因毒性逆境等刺激因子能同时活化两者,抑癌基因通过竞争共同的转录因子或将 Rel 家族成员从激活状态转化为失活状态来抑制 NF- κ B 的转录活性。例如,抑癌基因 p53 通过竞争共同的转录辅因子 CBP/p300,抑制 NF- κ B 的转录活性^[33]。抑癌基因 ARF 通过磷酸化 RelA 特定位点,形成 RelA-HDAC1 复合物,抑制 NF- κ B 转录活性。因此,在肿瘤早期野生型 p53 和 (或) ARF 等抑癌基因表达能抑制 NF- κ B 活化,进而抑制肿瘤的发展^[32]。但随着抑癌基因突变的增加,对 NF- κ B 的抑制作用明显减弱,这时 NF- κ B 表现出抗凋亡作用,并促进肿瘤的发展。

6 小结

NF- κ B 在凋亡中双重作用的研究为肿瘤的预防和治理提供了有利的理论依据。在分析 NF- κ B 是促凋亡因子还是抗凋亡因子时,还应从细胞种类,刺激因素,活化时所处的环境及相关抑癌基因的活化等多角度进行分析。因此,对 NF- κ B 活化发挥不同作用的机制研究及在不同病理情况下抑制 NF- κ B 活化所引起的不同后果的研究就显得尤为重要。通过对 NF- κ B 在凋亡中作用的不断补充,不仅能正确认识 NF- κ B 的双重作用避免盲目应用抑制剂,而且为今后临床肿瘤治疗和预防其他疾病诱发的肿瘤形成提供理论依据。

参考文献 (References)

- [1] Sen R *et al. Cell*, 1986, **47**: 921
- [2] Chen LF *et al. Nat Rev Mol Cell Biol*, 2004, **5**: 392
- [3] Dechend R *et al. Oncogene*, 1999, **18**: 3316
- [4] Motoyama M *et al. J Biol Chem*, 2005, **280**: 7444
- [5] Karin M *et al. Semin Immunol*, 2000, **12**: 85
- [6] Shen J *et al. J Immunol*, 2001, **167**: 4919
- [7] Hayden MS *et al. Genes Dev*, 2004, **18**: 2195
- [8] Escárcega RO *et al. Clin Oncol (R Coll Radiol)*, 2007, **19**: 154
- [9] Janssens S *et al. Cell Death Differ*, 2006, **13**: 773
- [10] Inoue J *et al. Cancer Sci*, 2007, **98**: 268
- [11] Radhakrishnan SK *et al. Biochim Biophys Acta*, 2006, **1766**: 53
- [12] Wang CY *et al. Science*, 1996, **274**: 784
- [13] Nakanishi C *et al. Nat Rev Cancer*, 2005, **5**: 297
- [14] Olivier S *et al. Biochem Pharmacol*, 2006, **72**: 1054
- [15] Sharma V *et al. Curr Med Chem*, 2007, **14**: 1061
- [16] Okamoto T *et al. Curr Pharm Des*, 2007, **13**: 447
- [17] Sompol P *et al. J Mol Neurosci*, 2006, **29**: 279
- [18] Bubicic C *et al. Histol Histopathol*, 2006, **21**: 69

- [19] Greten FR *et al. Cell*, 2004, **118**: 285
[20] Pikarsky E *et al. Nature*, 2004, **431**: 461
[21] Shetty S *et al. Apoptosis*, 2002, **7**: 413
[22] Ashikawa K *et al. Biochem Pharmacol*, 2004, **67**: 353
[23] van Hogerlinden M *et al. Cancer Res*, 1999, **59**: 3299
[24] Lind MH *et al. Proc Natl Acad Sci USA*, 2004, **101**: 4972
[25] Beg AA *et al. Science*, 1996, **274**: 782
[26] Ricca A *et al. Br J Cancer*, 2001, **85**: 1914
[27] Kaltschmidt B *et al. Eur J Biochem*, 2000, **267**: 3828
[28] Tarabin V *et al. Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol*, 2004, **369**: 563
[29] Lin B *et al. Cell Death Differ*, 1999, **6**: 570
[30] Bernard D *et al. Oncogene*, 2002, **21**: 4392
[31] Campbell KJ *et al. Mol Cell*, 2004, **13**: 853
[32] Rocha S *et al. Mol Cell*, 2003, **12**: 15
[33] Huang WC *et al. Mol Cell* 2007, **26**: 75

Anti-apoptotic and Pro-apoptotic Roles of NF- κ B in Cancer

Meng Li, Ji-Cheng Li*

(Institute of Cell Biology, Zhejiang University, Hangzhou 310058, China)

Abstract Apoptosis plays an important role in both dynamic balance of cells and homeostasis of body. nuclear factors κ B (NF- κ B) has been shown to be intimately not only involved in the gene regulation such as cell proliferation, differentiation and inflammation, but also participated in the generation, development and metastasis of tumors. Thus, NF- κ B has been considered as a target for cancer therapy. The recent works indicate the important role of NF- κ B in inflammation-induced cancer, and also approve that activating pro-apoptosis of NF- κ B inhibit tumourigenesis. Cognizing the different roles of NF- κ B in generation of tumors can provide basic theoretics of cancer therapy.

Key words NF- κ B; apoptosis; cancer

Received: May 16, 2007 Accepted: July 24, 2007

*Corresponding author. Tel: 86-571-88208088, Fax: 86-571-88208094, E-mail: lijichen@zju.edu.cn