

# 氧化修饰对转录因子活性的调节

桑晶易静\*

(上海交通大学医学院细胞生物学教研室, 上海 200025)

**摘要** 基因的表达同时受到生理信号和环境刺激的调节。近年来, 活性氧被认为是多种生长因子和细胞因子信号通路中的一种第二信使, 同时其也产生在细胞损伤应激过程中。活性氧对转录因子的半胱氨酸位点的氧化还原状态有重要的决定作用, 其主要影响转录因子二聚体构象的形成、与DNA结合的关键半胱氨酸位点的氧化还原状态、锌指等蛋白质构象的形成。关于氧化还原环境对控制增殖、分化、凋亡功能的转录因子OxyR、Yap-1、AP1、NF- $\kappa$ B、p53、Sp1、USF、HIF-1、C/EBP等的调节, 已有大量研究提示氧化还原调节是一种关键的基因表达的调节方式。本文总结了氧化修饰对转录因子发挥调节作用的一般原理和若干典型例子。

**关键词** 活性氧; 氧化还原; 氧化修饰; 转录因子

需氧生物的细胞在利用氧气的过程中产生活性氧(reactive oxygen species, ROS), 如单线态氧、超氧阴离子、羟自由基、过氧化氢和氧化氮。同时细胞内部具有抗氧化系统用以中和、清除过多的活性氧以保持细胞的氧化还原(redox)平衡。在许多生理性和病理性因素作用下, 当内外源的活性氧过多而打破氧化还原平衡时, 细胞出现氧化应激, 此时细胞发生信号转导和基因表达的改变。其中的关键环节是, 转录因子作为细胞信号转导的中介物常常被激活或失活, 产生新的基因表达格局。氧化还原环境如何调控转录因子活性是近年细胞生物学和自由基生物学研究的一个热点, 本文将对这一领域的最新观点作以综述。

## 1 氧化还原平衡、氧化应激与氧化修饰

氧化还原平衡是一种类似于酸碱平衡的机制, 这种机制涉及一系列分子间的电子交换, 分子按照各自的氧化电位表现一系列不同的氧化还原状态。当细胞内部的氧化还原平衡转变为一种更加氧化的条件时, 细胞将产生应答, 发生众所周知的氧化应激<sup>[1]</sup>。在正常需氧代谢过程中, 氧到水的不完全还原会产生对需氧生物有着复杂效应的活性氧。大量的活性氧能够对生物大分子比如DNA、蛋白质、磷脂等形成氧化损伤, 导致细胞行为异常、细胞毒害作用和诱变转化, 然而近年研究发现, 活性氧对很多生理过程有着重要的意义。小量活性氧对于蛋白质半胱氨酸位点的氧化还原状态和蛋白质构象有重要的调控作用, 可以影响很多信号通路中, 蛋白质间相互作用以

及蛋白质和DNA间的相互作用。因此, 氧化还原成为蛋白质功能调节的一种常见机制<sup>[2]</sup>。

氧化修饰, 通常是指细胞内的活性氧诱导生物大分子的氧化反应引起的结构及构象改变。目前越来越多的研究提示, 在调控信号转导通路中, 这种氧化修饰可能成为除磷酸化修饰外的另一种重要的分子开关, 其可以快速有效地调控信号转导的过程<sup>[3]</sup>。氧化修饰的主要靶点是蛋白质中半胱氨酸残基的巯基(RSH), 巯基易被氧化成次磺酸(RSOH)、亚磺酸(RSO<sub>2</sub>H), 直至磺酸(RSO<sub>3</sub>H)。当活性氧进攻巯基生成RSOH后, 另一个巯基加入反应, 生成二硫键(RSSR)。由于胞内抗氧化剂, 尤其是各种巯基抗氧化剂的存在, 二硫键又可在还原型谷胱甘肽(glutathione, GSH)、硫氧还原蛋白(thioredoxin, Trx)等抗氧化剂作用下恢复为巯基。而若是抗氧化剂作用不力, RSOH就有可能进一步氧化为RSO<sub>2</sub>H、RSO<sub>3</sub>H, 形成不可回复的受损蛋白。通常认为蛋白处于RSH态时为活性态, 而氧化为RSSR等就会引起失活, 但也不可一概而论<sup>[1,2]</sup>。

## 2 氧化修饰对转录因子的调控环节

转录因子是指RNA聚合酶与任何一种启动子序列的结合所需要的调节性蛋白质。通常转录因子分为四类: 第一类是基础性转录因子, 每一种RNA聚合

收稿日期: 2008-10-21 接受日期: 2009-02-16

国家自然科学基金项目(No.30570965)、上海市科委基础研究重点项目(No.05JC14033)、上海市教委重点学科第四期(No.ZDXK2001)资助

\* 通讯作者。Tel: 021-63846590-776565, Fax: 021-53065329, E-mail: yijing@shsmu.edu.cn

酶 II 启动子都需要这类因子; 第二类是 DNA 结合反式激活蛋白, 这类蛋白质通过与增强子或 UAS 结合促进转录; 第三类是共激活蛋白, 这类蛋白质并不和 DNA 直接结合, 但对反式激活蛋白和含有 RNA 聚合酶 II 与通用转录因子的复合体之间的联系是必须的; 第四类是阻遏蛋白, 它通过干扰 RNA 聚合酶 II 与 DNA 结合反式激活蛋白之间的联系, 抑制转录。

氧化修饰对转录因子的作用主要是对转录因子的空间构象和半胱氨酸位点的影响。目前已知的转录因子的基序构象包括锌指结构、亮氨酸拉链、螺旋-环-螺旋以及螺旋-转角-螺旋, 这些构象的形成是转录因子识别 DNA 结合位点所必需的, 其中大部分转录因子的构象的形成都能够受到氧化修饰的调节。活性氧通过改变转录因子上半胱氨酸残基的氧化还原状态, 造成转录因子正常活性构象的改变, 或者转录因子活性所必需的二聚体结构的改变, 或者与 DNA 结合所必需的构象改变, 从而调节转录因子活性的发挥。目前已知的很多转录因子上的半胱氨酸残基处于 RSH 态时为活性态, 而氧化为 RSSR 等就会引起失活。反之, 如果转录因子处于活性态时需要适当的二硫键, 那么活性氧的加入就会促进其活性, 过分的还原将导致转录因子的失活<sup>[4]</sup>。

活性氧对转录因子的调控根据微环境不同, 可大体分为胞浆中对转录因子的调控和核内对转录因子的调控两部分(图 1)。在胞浆中的调控包括直接或间接地影响上游信号的激活、转录因子蛋白质的稳定、活性构象的形成, 以及转录因子入核的过程; 而核内调节包括活性氧通过氧化修饰影响转录因子二聚体活性构象的形成、转录因子与 DNA 的结合、转

录因子和转录复合物中其它转录因子的相互作用以及转录因子的出核等, 从而造成了对转录因子众多下游靶基因的表达激活和抑制调控。即氧化修饰对转录因子存在某种选择性, 当细胞受到氧化修饰时, 胞内不同微环境受到氧化修饰效果不同, 成为了环境信号对转录机制影响的一种简单而有效的调控机制<sup>[3-5]</sup>。这里我们主要对活性氧在核内调控转录因子活性的机制进行重点阐述。

### 3 氧化修饰对转录因子活性的调节

#### 3.1 氧化修饰对转录因子核内调节途径的三种方式及其效果

氧化修饰在核内对转录因子调节途径主要有三种: 一, 修饰转录因子 DNA 结合域上的半胱氨酸位点。通过影响在这些位点的巯基, 造成氢键或电子交互作用的改变, 使得转录因子与 DNA 结合位点相互作用或者 DNA 的识别发生改变; 二, 修饰转录因子的转录激活结构域上的半胱氨酸位点, 使得转录因子与转录复合物中其它转录因子的相互作用的改变; 三, 修饰的半胱氨酸残基可能定位于除上述两点以外的区域, 具体可能通过影响二硫键的形成或者金属离子螯合, 改变蛋白质的整体构象(比如锌指、亮氨酸拉链、螺旋-环-螺旋等基序构象)的形成, 造成转录因子出入核信号的暴露以及二聚体(二聚化通常是转录因子激活所必需的)等活性形式的发挥。因而, 如果转录因子上的半胱氨酸对于蛋白质与蛋白质相互作用或者蛋白质和 DNA 相互作用至关重要, 氧化修饰就能够改变转录因子的功能<sup>[4,5]</sup>。

氧化修饰对转录因子在核内活性的影响有几种结果(图 2、表 1): 一, 在转录因子的 DNA 结合域(DNA binding domain, DBD)上半胱氨酸位点的氧化修饰, 直接影响蛋白质与 DNA 的相互作用, 从而抑制转录因子的活性; 二, 在转录因子的转录激活结构域(transactivating domain, TAD)上半胱氨酸位点的氧化修饰, 即使不能改变转录因子与 DNA 的结合活性, 也可能通过影响与转录复合物中其他转录因子和/或共激活因子的相互作用, 阻碍转录激活过程; 三, 在转录因子其他位点的氧化修饰, 造成局部构象的改变或者二硫键的形成, 从而影响蛋白整体构象的变化, 这种整体构象上的变化可能影响转录因子的关键活性的发挥, 包括转录因子二聚体的形成、配体的结合以及蛋白质间和蛋白质与 DNA 间的相互作用, 但是这种影响可以是抑制性的, 也可以是促进性的<sup>[4-6]</sup>。

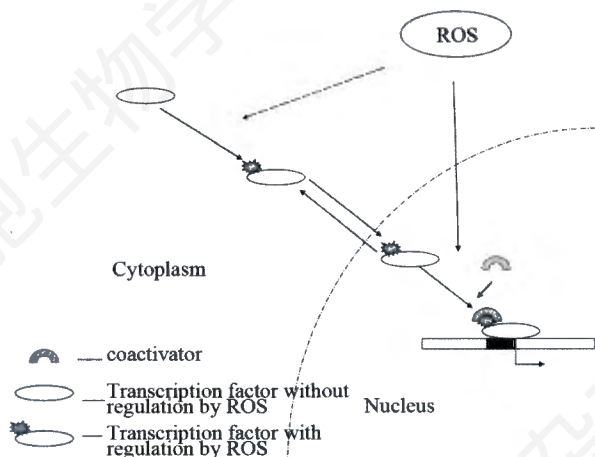


Fig.1 Two steps of involvement in activities of transcription factors by ROS



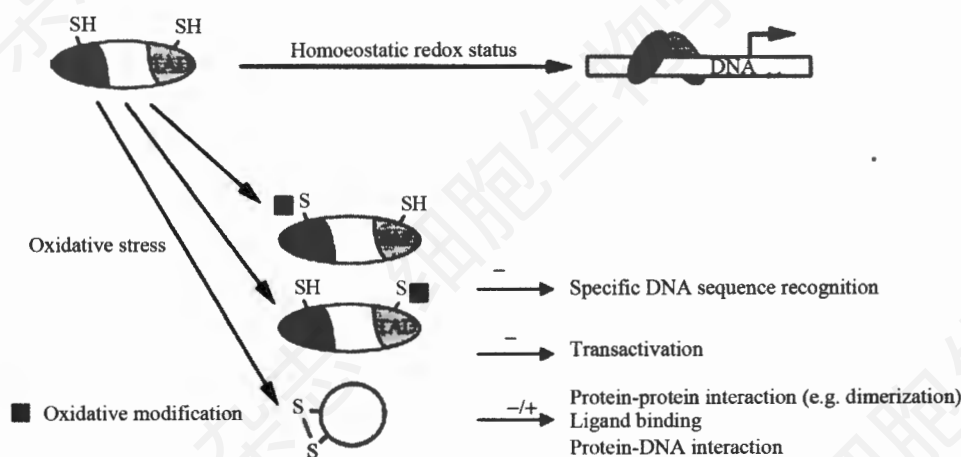


Fig.2 Three types of forms and functions of transcription factors in redox<sup>[2]</sup>

Table 1 Effects of transcription factors in redox

Transcription factor	ROS target	The involving domain of TF	Effect
NF-κB	(DBD) Cys61	Dimer forms and zinc motif	Inhibition
AP-1 (FOS)	(DBD) Cys154	Dimer form and DNA binding domain	Activation
AP-1 (JUN)	(DBD) Cys252	Dimer form and DNA binding domain	Inhibition
USF	(DBD) Cys229, Cys248	Dimer form and DNA binding domain	Inhibition
HIF-1α	(TAD) Cys744	Co-activator and transcriptional activation domain	Inhibition
Sp1	Cys and His in zinc motif	Zinc motif and DNA binding domain	Inhibition
P53	Several cystines in DBD and zinc motif	DNA binding domain	Inhibition
C/EBP	Several cystines in TAD and zinc motif	Transcriptional activation domain and zinc motif	Inhibition
OxyR	Cys199 and Cys208	motif	Activation
Yap-1	Cys303 and Cys598	DNA binding domain	Activation

受氧化修饰调节的转录因子很多,代表性的转录因子包括 OxyR、Yap-1、AP1、NF-κB、C/EBP、USF、p53、Sp1、HIF-1 等。下面将分别加以阐述。

### 3.2 各种受到氧化修饰的转录因子

**3.2.1 OxyR** OxyR 是大肠杆菌中发现的一种对氧化还原敏感的转录因子,它具有保守的螺旋-转角-螺旋(helix-turn-helix, HTH)结构,属于具有亮氨酸拉链构象类型的蛋白家族成员。在氧化修饰作用下,活性氧改变了转录因子二聚体的构象,能够激活转录因子与 DNA 的启动子区特异结合,启动下游基因的表达<sup>[7]</sup>。已经鉴定在 OxyR 中的六个半胱氨酸残基中,有五个残基是对于识别 DNA 上面的 OxyR 结合区是保守的。还原形式的 OxyR 具有 DNA 的结合活性但是无法整体激活转录。体内 OxyR 有几种稳定的巯基转录后调控的形式,包括硝基化(S-NO)、羟基化(S-OH)和谷胱甘肽化(S-SG)三种修饰形式。这几种修饰形式虽然在构象、构成转录复合体成分、与 DNA 结合亲和性以及激活启动子活性方面存在差

异,但是都具有转录因子活性<sup>[8]</sup>。因此, OxyR 在经历不同氧化还原相关信号后会产生不同的转录应答<sup>[9]</sup>。Lee 等<sup>[8]</sup>通过在纯化蛋白体系上的研究发现, OxyR 在受到过氧化氢刺激后,通过在 199 位和 208 位半胱氨酸形成二硫键而激活下游基因的表达。有报道称在氧化应激条件下, OxyR 能够激活靶基因,同时负调控抑制自身基因的表达<sup>[10,11]</sup>。OxyR 作为原核生物的一种受到氧化修饰调控的典型的转录因子,近年来备受关注,说明转录因子的氧化修饰调控机制作为关键的基因调控机制早在进化过程初期的原核生物中就已经存在了。OxyR 的氧化修饰调控被发现的更重要的意义在于,此前发现的转录因子氧化修饰调控都是经修饰后活性降低或丧失,常被认为是与氧化损伤相关,而 OxyR 的氧化修饰导致激活,其氧化修饰可以作为类似于磷酸化修饰的方式发挥作用提供了重要证据。

**3.2.2 AP-1** 激活蛋白-1 (activating protein-1, AP-1) 是与表达胶原酶、基质、细胞周期蛋白 D 以及 TGF-1β

等很多细胞因子相关的重要转录因子。AP-1 通过结合到基因启动子的应答元件(TPA response elements, TRES)位上, 控制很多基因的表达。AP-1 是具有亮氨酸拉链基序转录因子家族中的一员, 是一种由介导早期应答基因家族成员的蛋白质产物 FOS 和 JUN 构成的异源二聚体或者 JUN 二聚体。这种二聚体形式的转录因子具有特异的结合域并且通过反式激活作用控制 DNA 元件而进行转录调节。

AP-1 活性受到氧化还原紧密调控的证据有很多, 在氧化条件下, 其关键的半胱氨酸残基与 DNA 的结合受到影响, 而经过在体外硫氧还原蛋白处理后以及在体内过表达硫氧还原蛋白后, AP-1 与 DNA 的结合活性明显增强, 证明 AP-1 与 DNA 的结合活性依赖于 FOS 和 JUN 上关键的半胱氨酸氧化还原状态。硫氧还原蛋白维持 AP-1 与 DNA 的结合活性, 而 AP-1 氧化产物可能形成一种复杂的硫化物<sup>[12]</sup>。FOS 上 154 位的半胱氨酸或者 JUN 上 272 位半胱氨酸突变成丝氨酸后, 造成氧化还原调节对 AP-1 与 DNA 结合的失调。氧化条件影响了关键半胱氨酸残基与 DNA 的结合, 而经还原剂处理后它们的结合活性得到恢复。内源的还原因子(redox factor1, Ref-1)是与硫氧还原蛋白协同作用的一个氧化还原因子, 通过促进 AP-1 在还原形式和氧化形式间的转化, 从而调节了 AP-1 上关键半胱氨酸的氧化还原状态以及 AP-1 的 DNA 结合域的活性<sup>[12,13]</sup>。有研究表明果蝇的共激活因子 MBF-1 之所以能够维持氧化还原条件下 AP-1 的活性, 正是由于 MBF-1 能够维持关键性的半胱氨酸位点活性并且激活 AP-1 与 DNA 结合的活性<sup>[14]</sup>。

**3.2.3 Yap-1** Yap-1 (yeast activator protein-1) 是酵母中的一种重要转录因子, 它是 AP-1 的一个亚家族, 具有保守的亮氨酸结构域, 与 AP-1 具有相似的结合位点<sup>[15,16]</sup>。同时 Yap-1 还与 OxyR 具有相同的同源功能域。Yap-1 在受到过氧化氢的刺激后, 能够激活至少 115 种蛋白质的合成。氧化应激造成出核信号(nuclear export signal, NES)构象上的变化, 从而阻止了信号向外运输并造成 Yap-1 在核内的积累, 这其中的机制涉及二硫键的形成, 在硫氧还原蛋白处理下, 定位在出核信号 N 端半胱氨酸富集区 303 位 Cys 和 C 端结构域上 598 位的 Cys 之间二硫键被破坏, 因而造成 Yap-1 活性和定位的改变<sup>[17,18]</sup>。D'Autréaux 等<sup>[17]</sup>研究发现, 在酿酒酵母中 Orp1-Yap1 感受器和原核中 OxyR 一样是胞内过氧化氢稳态平衡的主要调控蛋白, 所不同的是在酵母中应答过氧化氢和激活基因表

达的蛋白是分开的, Orp1 和 Yap1 分别行使感受器与转录调控的功能。

**3.2.4 HIF-1** 另一个有趣的例子是低氧诱导因子(hypoxia-inducible factor-1, HIF-1), 这种转录因子涉及血红素以及低氧条件下一系列基因的表达调控。HIF-1 是由三种  $\alpha$  亚基和一种  $\beta$  亚基(也叫 ARNT 亚基)组成的异二聚体, 两者均为真核细胞转录因子螺旋-环-螺旋(basic helix-loop-helix, bHLH)蛋白家族成员。螺旋-环-螺旋中的碱性区域介导与 DNA 的结合, bHLH 和 PAS 结构域则共同提供了亚基之间蛋白二聚化的功能界面。目前认为 HIF-1 有 3 种同源性  $\alpha$  亚基 HIF-1 $\alpha$ 、HIF-2 $\alpha$ 、HIF-3 $\alpha$ , 三者均受氧调节, 是调节 HIF 活性的功能亚单位, 而  $\beta$  亚基属组成型表达蛋白, 不受氧调节和影响, 其功能可能与保持 HIF 结构稳定性及二聚化引起的活性构象转变有关。

HIF-1 $\alpha$  在缺氧或者在抗氧化剂条件下稳定, 与 HIF-1 $\beta$  形成异源二聚体反式激活基因的表达<sup>[20]</sup>。除此之外, HIF-1 $\alpha$  还受另一种氧化还原调节。最近有报道称内源的还原因子(Ref-1)和硫氧还原蛋白(Trx)能够增强这种反式激活作用, 而这种激活是与 HIF-1 上 774 位半胱氨酸残基密切相关的<sup>[19]</sup>。

**3.2.5 p53** 已经被了解得很清楚的肿瘤抑制因子 p53, 是一种具有锌指基序构象的多聚体转录因子。它的氨基酸序列包含 12 个半胱氨酸残基, 其中 9 个定位在 DNA 结合域上, 其余 3 个还原型的半胱氨酸与锌指构象的形成相关<sup>[21,23,24]</sup>。在体外, 氧化产生很多非功能的 p53 构象。而在体内 p53 蛋白水平不变的情况下, p53 的 DNA 结合活性会受到过氧化氢的破坏<sup>[20-22]</sup>。由 p53 应答的启动子报告基因受氧化处理后表达降低<sup>[25]</sup>。此外, 研究表明氧化还原调控因子(Ref-1)能够重新激活氧化了的 p53, 并且增强内源的 p53 的反式激活功能<sup>[20]</sup>。胞内氧化条件改变了 p53 的活性以及相关基因的表达, 因而 p53 的抑制作用可能与肿瘤发生过程中的胞内氧化修饰异常现象相关<sup>[26]</sup>。已知使用提取线粒体后非氧化产物的 p53 可以诱导凋亡, 而在加入胞内活性氧产物的情况下, p53 活性的抑制可能使得细胞逃避 p53 介导的凋亡作用<sup>[27]</sup>。

**3.2.6 Sp1** Sp1 (specificity protein 1) 转录因子是一种广泛存在, 并且结合在启动子的 GC 富集序列上的重要转录因子, 尤其那些没有 TATA 框基序的启动子。Sp1 存在锌指构象, 对于与 DNA 的结合非常重要。已经有报道称体外 Sp1 的 DNA 结合活性对巯基氧化非常敏感。DNA 结合活性在体内受到过氧化氢



以及巯基调节剂的破坏, 这种改变是可逆的, 因为经  $H_2O_2$  处理的细胞核提取物在巯基还原剂处理后, 能够恢复 DNA 的结合活性。此外, 有报道表明在胞内低量的 GSH 的聚集能够降低 Sp1 的结合活性, 而转录因子 CAAT 增强子连接蛋白(CCAAT/enhancer binding protein, C/EBP)并不受影响<sup>[29]</sup>。Sp1 的转录活性在体内受到氧化修饰的调节。Sp1 下游基因的表达产物比如醛缩酶 A、丙酮酸激酶 M2、 $\beta$ - 烯醇化酶以及二氢叶酸还原酶均受到  $H_2O_2$  的抑制<sup>[30,31]</sup>。而在同样条件下氧合血红素以及金属硫蛋白基因却受到激活。而在衰老的老鼠上发现, 在应答内部氧化还原平衡过程中有一种缓慢的转变机制, 这关系到 Sp1 的 DNA 结合活性<sup>[32,33]</sup>。总的来说, 这些发现表明 Sp1 转录因子是一种对体内氧化修饰敏感分子。由于 Sp1 广泛存在, 它可能是细胞氧化还原调节的基因抑制的主要调控靶点之一。

**3.2.7 C/EBP** 共激活因子(C/EBP)家族中的 C/EBP- $\beta$  是一种与应答发挥先天免疫、炎症反应、脂肪和淋巴细胞分化作用以及急性应答作用相关的关键调控因子。已知共激活因子 C/EBP 家族的 C 端具有对于 DNA 的结合和二聚化有重要作用的保守锌指结构, 而不同的 N 端包含典型的激活结构域, 不同的转录起始位点能够结合不同调节功能的 C/EBP 相关蛋白。

C/EBP- $\beta$  是一种参与诱导白介素 IL-6 和 IL-8 表达的重要转录因子。研究表明在调控细胞因子 IL-6 的表达中, C/EBP- $\beta$  是一种新的氧化还原开关。已知 C/EBP- $\beta$  的单体产生于不同的翻译起始阶段, 并且表现出不同的基因调控的功能。其中一种主要的单体形式 C/EBP- $\beta$  (LAP\*) 的 11 位半胱氨酸位点是决定分子间二硫键形成的关键调控开关, 在 LPS 诱导 IL-6 信号通路中发挥了重要的调控作用<sup>[34,35]</sup>。还原条件能够增强 C/EBP- $\beta$  (LAP\*) 单体与 DNA 的结合活性和自身的转录活性。而另外两种 C/EBP- $\beta$  的单体(LAP、LIP)由于分别缺失 N 端结构域上 21 位和 151 位的氨基酸, 它们不能通过相同的氧化修饰方式受调节<sup>[28]</sup>。

**3.2.8 USF** 上游激活因子(upstream stimulatory factor, USF)具有螺旋-环-螺旋的蛋白质构象的二聚体转录因子, 它们以二聚体的形式结合到很多基因启动子的 E 框, 即 CANNTG 序列上面, 其功能受到氧化修饰的调节<sup>[34]</sup>。活性形式的 USF 仅包含两个半胱氨酸位点, 分别定位于螺旋-环-螺旋基序的 229 和 249 氨基酸位点上, 后一个半胱氨酸位点是 USF 形成二聚体所必须的, 而这些半胱氨酸位点突变成丝氨酸

并不影响与 DNA 的结合活性。氧化条件导致异常的分子间和分子内二硫键的形成, 从而阻碍二聚化过程, 并阻止 USF 连接到目的 DNA 序列上<sup>[36]</sup>。相反, 巯基还原剂二硫苏糖醇则会增强 USF 连接域连接到 E 框上<sup>[37]</sup>。因此, 对于 USF 来说, 这两个半胱氨酸位点不是 DNA 结合所必需的, 但是它们通过抑制转录因子活性发挥了氧化修饰的感受器作用。

**3.2.9 NF- $\kappa$ B** NF- $\kappa$ B (nuclear factor- $\kappa$ B)是一种与细胞凋亡、细胞防御机制、免疫应答有关的重要转录因子。功能性的 NF- $\kappa$ B 的 DNA 结合位点存在于所有 NF- $\kappa$ B 应答基因的启动子上。具有转录活性的 NF- $\kappa$ B, 是一种由两个螺旋-环-螺旋(HLH)基序构象的蛋白质构成的二聚体。活性形式的 NF- $\kappa$ B 复合物是由一个 p50/p52 和 REL/RELA/RELB 家族的一个成员或者 p65 构成的分子聚合体。而非活性形式的 NF- $\kappa$ B 复合物是由两个 p50 构成的同源二聚体或者由 p50 和 p65 构成的异源二聚体。

研究表明, 氧化修饰通过调控 NF- $\kappa$ B 二聚体转录因子的构象从而调节与 DNA 的结合活性。如通过氧化 p50 亚基上 62 位的半胱氨酸巯基抑制 DNA 结合活性, 因为此位点必须保持还原状态才能够与 DNA 结合, 而用丝氨酸取代该位点降低了转录因子与 DNA 的结合活性, 使得该位点对还原剂失效, 功能无法恢复。而除 62 位氨基酸外, 其他位点的野生型突变则可以通过硫氧还原蛋白激活<sup>[38]</sup>。有研究表明在人白血病和结肠腺癌细胞中, 通过  $\beta$ -胡萝卜素增加活性氧的水平, 可以抑制 NF- $\kappa$ B 与 DNA 的结合活性, 从而抑制细胞的生长<sup>[39]</sup>。还有研究发现在氧化还原因子(Ref-1)缺失的内皮细胞中, NF- $\kappa$ B 的 DNA 结合活性明显降低, 导致细胞易于凋亡<sup>[40]</sup>。

## 4 小结

有关氧化还原环境对转录因子活性的调控已经有比较深入的研究, 我们将已知的受到氧化修饰调节的转录因子及其作用方式和调控效应总结于表 1。随着结构生物学和系统生物学的研究应用越来越广泛, 人们对氧化还原环境对转录因子的活性调节作用及其分子机制有了越来越多的认识, 这为我们找到有效的氧化还原调节的靶点, 从而有效干预相关疾病提供了线索。虽然不是所有的转录因子都受到氧化修饰的直接调控, 但是上述与衰老、凋亡、生长、增殖相关以及广泛存在的很多转录因子都受到氧化还原环境的影响, 可见氧化修饰通过对转录因子的调控,

对细胞信号转导通路和细胞命运发挥了重要作用。

然而,这方面还有很多问题有待解决。首先,很多受到氧化还原调节的重要的转录因子,尤其是共激活因子如CBP/P300等受到氧化修饰的作用机制还不清楚,一些转录因子受到氧化修饰调节的构象和关键位点还未被证实。其次,由于不同种细胞体内氧化水平难以测定和控制,真核生物体内像细菌中OxyR一样发挥氧化应激中转录因子感受器开关作用的区域并未完全阐明。但我们相信,不久的将来氧化还原对转录因子的调节机制会像磷酸化调节机制一样,逐步为人们所熟知,从而为治疗各种与氧化应激相关的疾病带来更加光明的前景。

### 参考文献(References)

- [1] Dalton TP, Shertzer HG, Puga A. Regulation of gene expression by reactive oxygen, *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, 1999, 39: 67-101
- [2] Morel Y, Barouki R. Repression of gene expression by oxidative stress, *Biochem J*, 1999, 342(Pt3): 481-496
- [3] Miotto B, Struhl K. Differential gene regulation by selective association of transcriptional coactivators and bZIP DNA-binding domains, *Mol Cell Biol*, 2006, 26(16): 5969-5982
- [4] Vinson C, Myakishev M, Acharya A, *et al.* Classification of human B-ZIP proteins based on dimerization properties, *Mol Cell Biol*, 2002, 22(18): 6321-6335.
- [5] Amoutzias GD, Bornberg-Bauer E, Oliver SG, *et al.* Reduction/oxidation-phosphorylation control of DNA binding in the bZIP dimerization network, *BMC Genomics*, 2006, 7:107
- [6] Georgiou G. How to Flip the (redox) Switch, *Cell*, 2002, 111(5): 607-610
- [7] D'Autréaux B, Toledano MB. ROS as signalling molecules: mechanisms that generate specificity in ROS homeostasis, *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2007, 8(10): 813-824
- [8] Lee C, Lee SM, Mukhopadhyay P, *et al.* Redox regulation of OxyR requires specific disulfide bond formation involving a rapid kinetic reaction path, *Nat Struct Mol Biol*, 2004, 11(12): 1179-1185
- [9] Toledano MB, Delaunay A, Monceau L, *et al.* Microbial H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> sensors as archetypical redox signaling modules, *Trends Biochem Sci*, 2004, 29(7): 351-357
- [10] Kim SO, Merchant K, Nudelman R, *et al.* OxyR: a molecular code for redox-related signaling, *Cell*, 2002, 109(3): 383-396
- [11] Chen H, Xu G, Zhao Y, *et al.* A novel OxyR sensor and regulator of hydrogen peroxide stress with one cysteine residue in *Deinococcus radiodurans*, *PLoS ONE*, 2008, 3(2): e1602
- [12] Hirota K, Matsui M, Iwata S, *et al.* AP-1 transcriptional activity is regulated by a direct association between thioredoxin and Ref-1, *Proc Natl Acad Sci USA*, 1997, 94(8):3633-3638
- [13] Xanthoudakis S, Curran T. Identification and characterization of Ref-1, a nuclear protein that facilitates AP-1 DNA-binding activity, *EMBO J*, 1992,11(2): 653-665
- [14] Jindra M, Gaziova I, Uhlirova M, *et al.* Coactivator MBF1 preserves the redox-dependent AP-1 activity during oxidative stress in *Drosophila*, *EMBO J*, 2004, 23(17): 3538-3547
- [15] Kuge S, Jones N, Nomoto A. Regulation of yAP-1 nuclear localization in response to oxidative stress, *EMBO J*, 1997,16(7): 1710-1720
- [16] Toone WM, Morgan BA, Jones N. Redox control of AP-1-like factors in yeast and beyond, *Oncogene*, 2001, 20(19): 2336-2346
- [17] Kuge S, Arita M, Murayama A, *et al.* Regulation of the yeast Yap1p nuclear export signal is mediated by redox signal-induced reversible disulfide bond formation, *Mol Cell Biol*, 2001, 21(18): 6139-6150
- [18] Wood MJ, Storz G, Tjandra N. Structural basis for redox regulation of Yap1 transcription factor localization, *Nature*, 2004, 430(7002): 917-921
- [19] Gu J, Milligan J, Huang LE. Molecular mechanism of hypoxia-inducible factor 1 $\alpha$ -p300 interaction. A leucine-rich interface regulated by a single cysteine, *J Biol Chem*, 2001, 276(5): 3550-3554
- [20] Pan Y, Mansfield KD, Bertozzi CC, *et al.* Multiple factors affecting cellular redox status and energy metabolism modulate hypoxia-inducible factor prolyl hydroxylase activity *in vivo* and *in vitro*, *Mol Cell Biol*, 2007, 27(3): 912-925
- [21] Rainwater R, Parks D, Anderson ME, *et al.* Role of cysteine residues in regulation of p53 function, *Mol Cell Biol*, 1995, 15(7): 3892-3903
- [22] Hainaut P, Milner J. Redox modulation of p53 conformation and sequence-specific DNA binding *in vitro*, *Cancer Res*, 1993, 53(19): 4469-4473
- [23] Fuchs SY, Adler V, Pincus MR, *et al.* MEKK1/JNK signaling stabilizes and activates p53, *Proc Natl Acad Sci USA*, 1998, 95(18): 10541-10546
- [24] Ho E, Ames BN. Low intracellular zinc induces oxidative DNA damage, disrupts p53, NF $\kappa$ B, and AP1 DNA binding, and affects DNA repair in a rat glioma cell line, *Proc Natl Acad Sci USA*, 2002, 99(26): 16770-16775
- [25] Xanthoudakis S, Curran T. Identification and characterization of Ref-1, a nuclear protein that facilitates AP-1 DNA-binding activity, *EMBO J*, 1992, 11(2): 653-665
- [26] Johnson TM, Yu ZX, Ferrans VJ, *et al.* Reactive oxygen species are downstream mediators of p53-dependent apoptosis, *Proc Natl Acad Sci USA*, 1996, 93(21): 11848-11852
- [27] Merad-Boudia M, Nicole A, Santiard-Baron D, *et al.* Mitochondrial impairment as an early event in the process of apoptosis induced by glutathione depletion in neuronal cells: relevance to Parkinson's disease, *Biochem Pharmacol*, 1998, 56(5): 645-655
- [28] Su WC, Chou HY, Chang CJ, *et al.* Differential activation of a C/EBP $\beta$  isoform by a novel redox switch may confer the lipopolysaccharide-inducible expression of interleukin-6 gene, *J Biol Chem*, 2003, 278(51): 51150-51158
- [29] Knoepfel L, Steinkühler C, Carrí MT, *et al.* Role of zinc-coordination and of the glutathione redox couple in the redox susceptibility of human transcription factor Sp1, *Biochem Biophys Res Commun*, 1994, 201(2): 871-877
- [30] Wu X, Bishopric NH, Discher DJ, *et al.* Physical and functional sensitivity of zinc-finger transcription factor to redox changes,



- Mol Cell Biol*, 1996, 16(3): 1035-1046
- [31] Hamm-Künzelmann B, Schäfer D, Weigert C, *et al.* Redox-regulated expression of glycolytic enzymes in resting and proliferating rat thymocytes, *FEBS Lett*, 1997, 403(1): 87-90
- [32] Seve M, Favier A, Osman M, Hernandez D, *et al.* The human immunodeficiency virus-1 Tat protein increases cell proliferation, alters sensitivity to zinc chelator-induced apoptosis, and changes Sp1 DNA binding in HeLa cells, *Arch Biochem Biophys*, 1999, 361(2): 165-172
- [33] Ammendola R, Mesuraca M, Russo T, *et al.* Sp1 DNA binding efficiency is highly reduced in nuclear extracts from aged rat tissues, *J Biol Chem*, 1992, 267(25): 17944-17948
- [34] Luo X, Sawadogo M. Functional domains of the transcription factor USF2: atypical nuclear localization signals and context-dependent transcriptional activation domains, *Mol Cell Biol*, 1996, 16(4): 1367-1375
- [35] Ma L, Sham YY, Walters KJ, *et al.* A critical role for the loop region of the basic helix-loop-helix/leucine zipper protein Mlx in DNA binding and glucose-regulated transcription, *Nucleic Acids Res*, 2007, 35(1): 35-44
- [36] Pognonec P, Kato H, Roeder RG. The helix-loop-helix/leucine repeat transcription factor USF can be functionally regulated in a redox-dependent manner, *J Biol Chem*, 1992, 267(34): 24563-24567
- [37] Read ML, Masson MR, Docherty K. A RIPE3b1-like factor binds to a novel site in the human insulin promoter in a redox-dependent manner, *FEBS Lett*, 1997, 418(1-2): 68-72
- [38] Matthews JR, Wakasugi N, Virelizier JL, *et al.* Thioredoxin regulates the DNA binding activity of NF- $\kappa$ B by reduction of a disulphide bond involving cysteine 62, *Nucleic Acids Res*, 1992, 20(15): 3821-3830
- [39] Palozza P, Serini S, Torsello A, *et al.* Beta-carotene regulates NF- $\kappa$ B DNA-binding activity by a redox mechanism in human leukemia and colon adenocarcinoma cells, *J Nutr*, 2003, 133(2): 381-388
- [40] Guan Z, Basi D, Li Q, *et al.* Loss of redox factor 1 decreases NF- $\kappa$ B activity and increases susceptibility of endothelial cells to apoptosis, *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2005, 25(1): 96-101

## Oxidative Modification in Regulating the Activity of Transcription Factors

Jing Sang, Jing Yi\*

(Department of Cell Biology, Shanghai Jiao Tong University School of Medicine, Shanghai 200025, China)

**Abstract** Gene expression is modulated by both physiological signals and environmental stimuli. Recently, reactive oxygen species (ROS) have been suggested as second messengers for several growth factors and cytokines, and have also been shown to rise following cellular insults. ROS can change the redox states of cysteine residues on transcriptional factors, thus playing an important role in regulating the activity of the transcriptional factors through changing the dimer formation, the DNA binding domain, and the motifs of transactivating domain such as zinc fingers. There are lots of studies about the oxidative modification of transcriptional factors relating with proliferation, differentiation apoptosis, such as OxyR, Yap-1, AP-1, NF- $\kappa$ B, p53, Sp1, USF, HIF-1 and C/EBP, which suggests that oxidative modification is a critical way in regulating gene expression. Here we summarize the rationales and a number of examples for regulating transcription factors by oxidative modification.

**Key words** reactive oxygen species; redox; oxidative modification; transcription factors

Received: October 21, 2008 Accepted: February 16, 2009

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (No.30570965), the Shanghai Science and Technology key project of basic research (No.05JC14033), the Shanghai Education Commission of Key Disciplines in the Fourth (No.ZDXK2001)

\*Corresponding author. Tel: 86-21-63846590-776565, Fax: 86-21-53065329, E-mail: yijing@shsmu.edu.cn