

那些富含弹性纤维的部位(主动脉、肺、皮肤等)和富含 FMF 的部位(睫状小带、皮肤等)所发生的临床改变。

摘 要

微原纤维有 VI 型胶原蛋白微原纤维和原纤维蛋白微原纤维二种。前者广泛存在于固有结缔组织中,确切功能尚不清楚。原纤维蛋白微原纤维由原纤维蛋白、微原纤维相关蛋白、潜在转化生长因子 β 结合蛋白等成分构成,主要作为弹性纤维的组成部分,并参与弹性纤维的形成,其次是单独地分布于器官的细胞外基质中,提供一种柔韧性的连接方式。原纤维蛋白的基因突变可引发马凡综合征及相关的微原纤维病。

参 考 文 献

- [1] KIELTY CM, et al. , 1997, *Microsc Res Tech*, **38**:413-427.
 [2] FINNIS ML, et al. , 1997, *J Biol Chem*, **272**: 22817 - 22823.
 [3] KIELTY CM, et al. , 1998, *Anal Biochem*, **255**:108-112.
 [4] ROSENBLUM J, et al. , 1993, *FASEB J*, **7**:1208-1218.
 [5] HANSSON E, et al. , 1998, *Biol Cell*, **90**:223-228.

- [6] WESS TJ, et al. , 1998, *J Cell Biol*, **141**:829-837.
 [7] ROBINSON PN, et al. , 2000, *J. Med Genet*, **37**:9-25.
 [8] HAYES SL, et al. , 1997, *Br J Dermatol*, **137**:17-239.
 [9] FARACO J, et al. , 1995, *Genomics*, **25**:630-637.
 [10] FUJIMOTO N, et al. , 2000, *Arch Dermatol Res*, **292**:21-26.
 [11] HENDERSON M, et al. , 1996, *J Histochem Cytochem*, **44**:1389-1397.
 [12] GIBSON MA, et al. , 1999, *J Biol Chem*, **274**:13060-13065.
 [13] GIBSON MA, et al. , 1996, *J Biol Chem*, **271**:1096-1103.
 [14] GIBSON MA, et al. , 1998, *J Histochem Cytochem*, **46**:871-885.
 [15] RAGHUNATH M, et al. , 1998, *J Invest Dermatol*, **111**:559-564.
 [16] GIBSON MA, et al. , 1995, *Mol Cell Biol*, **15**:6932-6942.
 [17] SHIPLEY JM, et al. , 2000, *Mol Cell Biol*, **20**:4879-4887.
 [18] HAYNES SL, et al. , 1997, *Br J Dermatol*, **137**:17-23.
 [19] 褚仁远等, 遗传性眼疾病. 北京:科学出版社, 1998, 280-287.
 [20] PUTNAM EA, et al. , 1997, *Am J Hum Genet*, **60**:818-827.
 [21] WANG M, et al. , 1996, *Am J Hum Genet*, **59**:1027-1034.
 [22] STARCHER BC, 2000, *Chest*, **117**:229S-234S.
 [23] REINHARDT DP, et al. , 2000, *J Biol Chem*, **275**:12339-12345.
 [24] GIGANTE A, et al. , 1999, *J Pediatr Orthop*, **19**:283-288.

NF- κ B 家族特征及其调控途径和生物学功能

刘 苏 吴 乔*

(厦门大学生命科学学院细胞生物学与肿瘤细胞工程教育部重点实验室 厦门 361005)

NF- κ B(nuclear factor- κ B)广泛存在于机体细胞中,与细胞对外界刺激的应答、细胞生长、分化、发育、凋亡、粘附及炎症反应密切相关,是一类重要的转录调节因子。本文结合近年来的研究进展,对 NF- κ B 家族成员、NF- κ B 活化及调控途径,以及 NF- κ B 生物学功能作一综述。

一、NF- κ B, I κ B 和 I κ K 家族

NF- κ B 家族由 5 种蛋白组成: P65 (RelA)、c-Rel、RelB、P50 和 P52^[1], 这些蛋白的 N 端均存在一段约 300 个氨基酸组成的保守结构域 RHD(Rel-homology domain), 其中靠近 N 端的 180 个氨基酸组成 DNA 结合区; 中部约 100 个氨基酸是与另一个分子结合形成二聚体的部位, 其间由一条约 10 个氨基酸的柔性铰链区(flexible hinge)相连; 由 15 个氨基酸构成的核定位信号(nuclear localization signal, NLS)则位于 RHD 的 C 端。RHD 以外的区域主要

与 NF- κ B 家族成员的反式激活作用有关。细胞中 NF- κ B 家族成员主要以同源或异源二聚体形式存在, 不同的二聚体识别不同的 DNA 序列, 转录激活能力也不同, 其中 P50/P65 异源二聚体分布最广泛, 含量最丰富, 生物学活性也最高^[2]。

在静止细胞中, NF- κ B 结合 I κ B(Inhibitory NF- κ B)蛋白, 以无活性状态存在于胞浆中。目前已发现 7 个 I κ B 家族成员: I κ B- α 、I κ B- β 、I κ B- γ 、I κ B- ϵ 、Bcl-3、P100 和 P105^[1]。它们都具有一段多拷贝的 30-33 个氨基酸残基序列, 称为锚蛋白重复序列(ankyrin repeat domain, ARD), ARD 由于专一性结合 NF- κ B 的 RHD 结构域, 将 NF- κ B 的 NLS 区覆盖, 由此阻止 NF- κ B 由胞浆向核转移而使其处于失活状态。在 I κ B 家族中, 只有 I κ B- α 、I κ B- β 、I κ B- ϵ 在 ARD 的 N 端具有信号接收区域(signal receiving do-

* 通讯联系人。

main, SRD), 它对于外界信号引发的 I κ B 降解是必要的^[3]。

在外界信号刺激下, I κ B 被某些激酶磷酸化而导致泛素化(ubiquitination)和依赖于 26S 蛋白酶体的降解, 使 NF- κ B 自由进入细胞核, 启动相关基因转录。磷酸化 I κ B 的激酶称为 I κ K(I κ B kinase)^[4], 它是一个大分子量(>600kD)的多亚基复合物, 已确定的亚基有两个: 85kD 的 I κ K α 和 87kD 的 I κ K β , 两者都具有催化功能, 同源性极高, 构型也极为相似, 即: N 端均有激酶结构域, 中部的亮氨酸拉链(LZ)是两者的结合部位, C 端均有 HLH 基元序列。最新发现 I κ K 复合物第 3 种亚基是 I κ K- γ , 它以二聚体或三聚体形式存在, 没有激酶结构域, 无催化活性, 但对 I κ K α -I κ K β 的活化是必须的^[5]。另外, 还发现一种 150kD 的 I κ K 成分, 即 I κ AP(I κ K associated protein), 它可以结合 I κ K α , I κ K β , 在 I κ K 复合物的形成中起支架作用。

二、NF- κ B 的活化及调控途径

尽管外界信号通过不同的上游途径诱导 NF- κ B 活化, 但最终都需要 I κ B 的降解来释放 NF- κ B, 使其进入细胞核而发挥转录因子功能。

1. I κ B 降解对 NF- κ B 活化的影响

NF- κ B 向细胞核转移的关键在于 I κ B 的降解, 这一过程受磷酸化及泛素化调控, 由 26S 蛋白酶体完成。I κ B 磷酸化发生在 N 端两个保守的 Ser 残基上, 只要一个 Ser 发生突变就会阻碍 I κ B 的降解而影响 NF- κ B 活性。磷酸化的 I κ B 在几秒钟内发生泛素化, 这是一个以磷酸化为前提的多种酶参与的多步骤的级联酶促反应。I κ B α 泛素化位点在 Lys21 和 Lys22, 发生泛素化的 I κ B 由依赖于 ATP 的 26S 蛋白酶体降解^[6]。

I κ B 不仅对于活化 NF- κ B 而且对于终止 NF- κ B 活性非常重要。I κ B 基因上游有 NF- κ B 结合位点, 因此其转录表达受 NF- κ B 激活调控。NF- κ B 活化后刺激大量的 I κ B 重新合成, 新合成的 I κ B 在未结合 NF- κ B 之前持续转移入核, 这过程需要消耗 ATP, 并受 I κ B 的锚蛋白重复序列调控。I κ B α 进入细胞核后与 NF- κ B 结合, 使其自 DNA 上脱落, 并通过 exportin-1(CRM-1)蛋白识别 I κ B α C 端一段富含 Leu 的出核序列, 将 NF- κ B \cdot I κ B α 复合物转运出核, 并定位在胞浆中, 由此构成一个精密的负反馈调控体系, 严格调控 NF- κ B 活性^[7]。

2. I κ K 磷酸化作用对 I κ B 的影响

专一性磷酸化 I κ B Ser 的激酶是 I κ K(I κ B kinase)。

在上游信号刺激下, 无活性的 I κ K 激酶(I κ K-Ks)活化, 连接到 I κ K 复合物的 I κ K γ 上, 并磷酸化 I κ K β 。但这种由 I κ K-Ks 直接磷酸化激活的 I κ K β 只是 I κ K 复合物的一部分, 它们还需通过亚基间的反向-自动磷酸化作用(trans-autophosphorylation)再磷酸化相邻的亚基, 从而激活全部 I κ K 复合物^[8]。I κ K 复合物活化的关键在于 I κ K β 的磷酸化, 磷酸化部位是激酶结构域的 Ser177 和 Ser181。而 I κ K α 的磷酸化对于 I κ K 复合物的激活则不重要, 因为 I κ K α 的磷酸化位点(Ser176、Ser180)突变不影响 I κ K 复合物的激活。另外, 完整的 I κ K γ 亚基对于 I κ K 复合物的活化是必不可少的。I κ K 复合物的活化及其激酶活性还有赖于受 LZ 序列调节的 I κ K α \cdot I κ K β 二聚体的形成, 当 LZ 序列发生突变, I κ K 复合物失去激酶活性, 但这不影响其二聚体形成及对 I κ K γ 的结合。在磷酸化 I κ B 的同时, I κ K β 亚基 C 端 Ser 残基自身磷酸化, 当磷酸化的 Ser 残基数超过 9 个时, I κ K 复合物的活性就大大降低, 从而达到调控目的^[9]。

表 1 受 NF- κ B 调控的基因*

基因类型	受 NF- κ B 调控的基因
细胞因子/生长因子基因	IL-1 α 、 β , IL-2, -3, -6-8-12 TNF- α LT- α (lymphotoxin α) IFN- β G-CSF M-CSF GM-CSF
生长因子受体基因 信号蛋白基因	IL-2R c-IAP-1, c-IAP-2 (cellular inhibitor of apoptosis protein) TRAF-1, TRAF-2 (TNF receptor-associated factor)
癌基因/抑癌基因 粘附分子基因	P53, c-myc, Ras ICAM-1 (intercellular adhesion molecule) VCAM-1 (vascular cell adhesion molecule) MAdCAM-1 (mucosal addressin cell adhesion molecule) E-selectin
免疫调节分子基因	I κ κ MHC class I, II TCR α , β (T cell receptor) TAP1 (transporter associated with antigen processing) Ii (invariant chain)

* 引自 Michael J. May. 论文[1], 作者补充部分内容。

三、NF- κ B 的细胞生物学功能

NF- κ B 通过调控下游基因的转录,参与对细胞增殖、癌变及恶性转化、细胞凋亡以及细胞免疫反应等重要生命过程的调节。受 NF- κ B 调控的基因如表 1 所示。

1. NF- κ B 与细胞凋亡

TNF 刺激细胞引起两方面的效应,既诱导细胞凋亡,又启动细胞抗凋亡作用,细胞对 TNF 的应答取决于这两种效应间的动态平衡,其中抗凋亡作用的中枢环节就在于 NF- κ B 的激活。NF- κ B 的抗凋亡作用是通过对其下游抗凋亡基因的转录激活作用实现的,这些基因包括 IEX-IL、Bcl-2、Bcl-X、A20 和 IAP(inhibitor of apoptosis)家族的 XIAP、c-IAP-1、c-IAP-2 等等^[11,12]。例如,在纤维肉瘤(fibrosarcoma)细胞中,NF- κ B 诱导 c-IAP-1、c-IAP-2 与 TRAF-1(TNFR-associated factor-1)、TRAF-2 共表达,抑制 Caspase-8 活性,阻断细胞色素 C 释放,从而抑制细胞凋亡。B 淋巴细胞中,CD40 诱导的抗凋亡也需要 NF- κ B 参与,它通过上调 Bcl-2、Bcl-X 表达而发挥作用。多发性骨髓瘤(multiple myeloma)中,糖皮质激素(glucocorticoid)及地塞米松(dexamethasone)诱导细胞凋亡与 NF- κ B 的 DNA 结合能力及转录活性的下降有关。

2. NF- κ B 与肿瘤

NF- κ B 在肿瘤形成及发展中扮演了重要角色。许多诱发肿瘤的病毒转化蛋白可引起 NF- κ B 的活化,如:SV40(Simian Virus 40)编码的 T 抗原、腺病毒编码的 E1A、Epstein-Barr Virus(EBV)编码的蛋白等^[13]。NF- κ B 家族中的 c-Rel 是具有高度致癌性的反转录病毒 v-Rel 的细胞同源物。与正常细胞相比,许多人实体瘤细胞的 NF- κ B 活性普遍升高,例如 67% 的胰腺癌患者的 Rel-A 处于持续激活状态,而在正常胰脏组织中却无活性。某些淋巴瘤中,NF- κ B 与染色体易位有关,当 B 细胞淋巴瘤细胞、淋巴瘤母细胞瘤细胞等转染反义 NF- κ B 基因或 I κ B 基因后,不少癌细胞死亡。

霍奇金氏病(Hodgkin's disease)的细胞中持续活化 NF- κ B 是其重要标记之一,对于细胞的存活及增殖是必需的。在 H-Ras 诱导的细胞恶性转化中也观察到 NF- κ B 活性升高,这种 NF- κ B 的激活无须 Raf 参与,但与 Rac、PI3K 和 Akt 有关^[14]。此外,诱发白血病及造血细胞恶性转化的必需因子——嵌合蛋白 Bcr-Abl 诱发肿瘤时也需要 NF- κ B 的参与。相

对来说,NF- κ B 主要发生在癌症的早期事件中,通过刺激恶性细胞生长,激活癌基因转录,参与细胞恶性转化等促进癌症的发展进程^[15]。例如,在某些细胞中,NF- κ B 上调原癌基因 c-myc、c-myb 和 gro- α (黑色素瘤刺激因子)的表达。在癌症晚期发展中,NF- κ B 作为调节因子也发挥一定作用。例如,NF- κ B 通过上调环氧合酶 2(cyclooxygenases 2,cox-2)的表达,促进血管生成;通过调控某些编码细胞表面黏附因子的基因,如 ICAM-1,促进肿瘤转移^[15]。

3. NF- κ B 与细胞周期

尽管不少实验证实 NF- κ B 活化对恶性细胞的生长至关重要,但目前还没有足够证据显示 NF- κ B 直接参与细胞周期及细胞增殖分化的调控。实验证实,NF- κ B 上调 cyclin D1 表达,从而刺激 G1/S 期转换,促进胚胎纤维母细胞增殖;在原 B 细胞系 220-8 中,RelA 过表达导致 G1 期停滞,但在成熟或不成熟 B 细胞中无此现象;还有实验发现,cyclin E-CDK2 通过与 P300 蛋白的协同作用调节 NF- κ B 的转录激活作用;P21^{waf1/cip1} 通过抑制 cyclin E-CDK2 来抑制受 NF- κ B 调节的基因表达;此外,c-Rel 缺失导致 B 淋巴细胞停滞 G1 期,NF- κ B 还与 B 淋巴细胞终末分化有关,推测这些作用可能通过 NF- κ B 对下游基因的转录调控而进行的^[16,17],但其中还有不少环节有待于进一步探讨和阐明。

4. NF- κ B 与免疫

还有许多实验证实 NF- κ B 在机体免疫应答、炎症反应和机体早期皮肤、骨骼及肝脏发育中的重要作用。在所有造血细胞的衍生细胞包括淋巴细胞中,均发现 P50, c-Rel 及 Rel A 高表达,P52 则在免疫系统的辅助细胞如巨噬细胞中高表达。通过小鼠基因剔除的研究,发现 NF- κ B 家族在 T 细胞活化、B 细胞活化及亚型分化和抗原呈递细胞分化中均起重要作用^[18,19]。剔除 C-Rel 基因的小鼠 T 细胞、B 细胞增殖异常,T 细胞对丝裂原刺激无反应,体内抗原专一性的 IgG1 数量降低 50-100 倍,许多免疫反应因子如 IL-3、IL15、TNF 及 IFN 的作用也减少 2-3 倍;剔除 P50 基因的小鼠 T 细胞和 B 细胞功能受损,机体无法清除病原组织;剔除 P52 基因的小鼠脾脏边缘区结构发生变化,而这一区域正是免疫反应中调节细胞增殖的关键区;RelB 缺失的小鼠不能分化产生作为抗原呈递细胞前体的树突状细胞^[18,19],机体的混合淋巴细胞反应和迟发型超敏反应均有缺陷。实验还发现,在干细胞系 C_H 启动子及 3'IgH 增强子上均有 NF- κ B 结合位点,NF- κ B 由

此参与调节 B 细胞 IgG 重链亚型分化。RelB 基因剔除的小鼠不能分化产生 IgE、IgA 和 IgG1。在机体早期发育阶段,剔除 RelA 基因的小鼠胚胎因肝细胞凋亡导致死亡;剔除 I κ B α 基因的小鼠虽然胚胎发育正常,但出生后 7 天死于大面积的皮肤炎。此外, NF- κ B 激活调控的基因中还包括诸如 NCAM (neural cell adhesion molecule)、VCAM (vascular cell adhesion molecule)、MHC I、II 等因子, NF- κ B 在中枢神经系统结构可塑性(NCAM 是其主要调节因子)、风湿性关节炎(VCAM 表达是其临床指标)中也发挥了相当重要的作用。

四、NF- κ B 作为临床治疗靶目标的前景

NF- κ B 在细胞生命活动中的重要作用,使它成为许多疾病临床治疗的靶目标。纤维肉瘤细胞 HT1080 在遭受离子辐射及化疗药物柔红霉素(Daunorubicin)刺激时,如果 NF- κ B 活性提高就会增强肿瘤细胞对药物的抗性,因此,如能抑制 NF- κ B 活性,那么极低剂量的离子辐射或化疗药物就可杀死纤维肉瘤细胞 HT1060^[20]。EBV 病毒把正常 B 细胞转化为淋巴瘤细胞的过程需要 NF- κ B 的活化,通过抑制 NF- κ B 活性可诱导癌细胞凋亡,从而在 EBV 病毒引发的癌变治疗中发挥重要作用^[13]。此外,有多种早已广为使用的消炎药物也是 NF- κ B 的抑制剂,如具有广谱药理学作用的阿司匹林 Aspirin、哮喘病治疗中的常用药糖皮质激素(glucocorticoids)、抗风湿药水杨酸钠(Sodium Salicylate)等等。

目前药物合成家试图根据 NF- κ B 的调控途径,拓宽这些药物的治疗范围,用于治疗神经变性疾病^[21]。但是,这些都必须清楚地了解 NF- κ B 的作用途径及其生理功能的前提下进行。

参 考 文 献

- [1] May M J., et al., 1998, *Immunol Today*, **19**:80-88.
- [2] Jacobs M D., et al., 1998, *Cell*, **95**:749-758.
- [3] Rothwarf D M., et al., 1999, *Science's STKE*, **26**:1435-1439.
- [4] Mercurio F., et al., 1997, *Science*, **278**:860-866.
- [5] Mercurio F., et al., 1999, *Mol Cell Biol*, **19**:1526-1538.
- [6] Pando M P., et al., 2000, *J Biol Chem*, **275**:21278-21286.
- [7] Turpin P., et al., 1999, *J Biol Chem*, **274**:6804-6812.
- [8] Karin M., et al., 1999, *J Biol Chem*, **274**:27339-27342.
- [9] Delhase M., et al., 1999, *Science*, **284**:309-313.
- [10] Stancovski I., et al., 1997, *Cell*, **91**:299-302.
- [11] Chen C., et al., 2000, *Mol Cell Biol*, **20**:2687-2695.
- [12] Hong S Y., et al., 2000, *J Biol Chem*, **275**:18022-18028.
- [13] Cahir-McFarland E D., et al., 2000, *Proc Natl Acad Sci USA*, **97**:6055-6060.
- [14] Joneson T., et al., 1999, *Mol Cell Biol*, **19**:5892-5901.
- [15] Mayo M W., et al., 2000, *Reviews on Cancer Online*, **1470**:M55-M62.
- [16] Perkins N D., et al., 1997, *Science*, **275**:523-527.
- [17] Sheehy A M., et al., 1999, *J Biol Chem*, **274**:8708-8716.
- [18] Sha W C., et al., 1998, *J Exp Med*, **187**:143-146.
- [19] Ponnappan U., et al., 1998, *Frontiers in Bioscience*, **3**:152-168.
- [20] Antawerp D J V., et al., 1998, *Trends in Cell Biol*, **8**:107-111.
- [21] Grilli M., et al., 1996, *Science*, **274**:1383-1385.

β -1,4-半乳糖基转移酶家族的研究进展*

吴文英 龚兴国

(浙江大学生物技术系 杭州 310027)

β -1,4-半乳糖基转移酶(β -1,4-GT)是近年来研究最多的糖基转移酶之一。它一般负责合成最常见的二糖单位:N-乙酰基乳糖胺[Gal(β 1,4)GlcNAc]。 β -1,4-半乳糖基转移酶不同于其他糖基转移酶的是它不仅存在高尔基体膜上而且整合于细胞质膜上,它也是目前已知的唯一在高尔基体上负责将半乳糖基团从 UDP-半乳糖苷转移到 N-多糖复合物的末端 N-乙酰基葡萄糖胺上的酶。受体糖 GlcNAc 可以是自由单糖,也可以是糖蛋白或糖脂的糖侧链的非还原性末端单糖。另外,在哺乳期的哺乳动物乳腺中,

它与 α -乳清蛋白结合变成“乳糖合成酶”,催化半乳糖基转移到 D-葡萄糖上的反应,专一的合成乳汁中富含的乳糖。

一、 β -1,4-GT 家族成员的基因结构

β -1,4-GT(I)两种不同的定位对应着两种不同类型的 β -1,4-GT,即细胞膜上的较长的 β -1,4-GT

* 浙江省自然科学基金(396077)及浙江大学曹光彪高科技基金资助(171026)。