

核因子 κ B 信号通路的研究进展

方年富¹综述,李弼民²审校

(1. 江西省景德镇市第二医院消化科 333000; 2. 南昌大学第一附属医院消化科, 江西南昌 330006)

关键词:核因子- κ B; 信号通路; 生物反馈

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2012.01.036

文献标识码:A

文章编号:1671-8348(2012)01-0090-03

核因子- κ B(nuclear factor- κ B, NF- κ B)是广泛存在于哺乳动物细胞中的一种重要转录调控因子,能与多种细胞基因的启动子和增强子序列位点发生特异性结合,通过调控多种重要的细胞因子、黏附分子、趋化因子、生长因子和免疫受体的表达,在机体的免疫应答、炎症反应及细胞的生长调控等方面发挥重要的作用^[1],其活化也参与细胞增殖和凋亡的过程^[2-3]。鉴于 NF- κ B 在信号通路中的重要作用,研究 NF- κ B 及其信号传导途径的活化与调节对于预防和治疗疾病有重要的意义。

1 NF- κ B 的组成

NF- κ B 是由 Sen 和 Baltimore^[4] 在 1986 年首次从成熟的 B 淋巴细胞中提取出来,因其能与 K 轻链基因增强子的 κ B 序列(5-GGG ACT TTC C-3)特异性结合并促进 K 轻链基因蛋白的表达,故称之为核因子- κ B。它由 Rel 的转录激活因子家族蛋白组成,在哺乳动物细胞中 Rel/NF- κ B 家族有 5 位成员^[5]: NF- κ B1(p50/p105)、NF- κ B2(p52/p100)、RelA(p65)、c-Rel 和 RelB。它们的共同特征是 N 末端均有一个由约 300 个氨基酸组成的保守区域,称之为 Rel 同源区(Rel homology domain, RHD)。Rel 同源区包含 3 个功能区即 DNA 结合域、二聚化域、核定位信号(nuclear translocation signal, NLS)区,分别负责与 DNA 结合、二聚化、与 NF- κ B 抑制蛋白相互作用。Rel 蛋白成员间可形成同源或异源二聚体,不同的 NF- κ B/Rel 蛋白二聚体具有不同的结合序列,而且具有各自的特性。绝大多数 NF- κ B 蛋白(p50/p65、p50/c-Rel、p65/c-Rel)是转录激活的复合体,但 p50 同源二聚体和 p52 同源二聚体则是转录抑制的复合体。NF- κ B 最常见的形式是由 p50 或 p52 与 p65 亚基组成的异二聚体,标准 NF- κ B p50 与 p65 二聚体的结合序列为 5-GGG RNN YYC C-3。而 Rel/c-Rel 二聚体的结合序列为 5-HGG ARN YYC C-3(其中 H 代表 A、C 或 T, R 为嘌呤, Y 为嘧啶)。根据结构、功能和合成方式可将 Rel 蛋白分为两类:一类是含有锚蛋白重复序列(ankyrin repeat motif)的前体蛋白 p105 和 p100,经 ATP 依赖的蛋白酶水解,可生成成熟的 p50 和 p52;另一类是 p65(RelA)、RelB、c-Rel,它们没有前体,其 C 端含有一个或多个转录活化功能域(transcriptional activation domain, TAD),具有独立激活基因转录的功能。

2 NF- κ B 抑制蛋白(inhibitory subunit of NF- κ B, I κ B)

I κ B 是一个相对分子质量为 36 kD 的阻碍蛋白,拥有 5~7 个与 Rel 蛋白相互作用的锚蛋白重复序列 C 末端序列,与 Rel/NF- κ B 蛋白的 RHD 氨基酸残基相互作用,可掩盖 NF- κ B 的核定位信号,从而使其以非活性复合物形式被锚定于细胞浆内。其 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 降解过程中起作用。I κ B 有多种亚型,包括 I κ B α 、I κ B β 、I κ B γ 、I κ B δ 、I κ B ϵ 、I κ B ζ 、Bcl-3、p105(NF- κ B 1)、p100(NF- κ B 2)及 MAIL 等。不同亚型蛋白生物学功能不同,如新合成的 I κ B α 与 NF- κ B 结合终止其在胞浆中的反应;而新合成的 I κ B β 由于

未经基础磷酸化,当它与 NF- κ B 结合后不但不能掩盖 NF- κ B 的核易位信号序列,反而还能阻止 NF- κ B 与 I κ B α 的结合。这样与未经基础磷酸化 I κ B β 结合的 NF- κ B 仍能进入核内并具有转录活性^[6]。而对 I κ B ϵ 的功能,有学者认为与 I κ B β 相似上调炎症反应^[6];也有学者认为它对 NF- κ B 的激活存在负反馈调节^[7]。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 的活化,但非核易位抑制或 DNA 结合抑制^[8]。I κ B α 是 NF- κ B 的主要调控蛋白,主要与含有 RelA 和 c-Rel 的二聚体具有高亲和力,而与其他 Rel 亲和力低。

3 κ B 激酶(I κ B kinase, I κ K)

I κ K 是控制 I κ B 活性的主要成分,I κ K 复合物是一个大的多组分蛋白激酶复合体(>700 000),它至少包括 4 种组分。即具有催化活性的 I κ K α 、I κ K β 和 2 个辅助蛋白 I κ K γ /NEMO、IKAP。I κ K α 相对分子质量为 85 000,由 745 个氨基酸残基组成;I κ K β 相对分子质量为 87 000,由 756 个氨基酸残基组成。I κ K α 和 I κ K β 的同源性达 70%,它们的 N 端含有激酶功能区和亮氨酸拉链,C 端拥有螺旋-环-螺旋(HLH)结构域。在激酶功能区,I κ K α 和 I κ K β 之间通过亮氨酸拉链紧密结合在一起。I κ K γ /NEMO 作为调节亚基,由 419 个氨基酸残基组成,具有 α 螺旋区域和 1 个锌指结构域,I κ K γ /NEMO 通过锌指结构域与 I κ K α 、I κ K β 相结合而发挥作用^[9]。I κ K α 和 I κ K β 为酶解功能单位,都含有丝分裂原激活蛋白激酶激酶(mitogen activated protein kinase kinase, MAPKK)激活环序列(SxxxS)。若将 I κ K β 激活环上的丝氨酸突变为丙氨酸,I κ K 复合物失去对 TNF- α 、IL-1 和 LPS 的反应,NF- κ B 不活化。将 I κ K α 激活环上的丝氨酸同样突变为丙氨酸,却不影响 TNF- α 和 IL-1 激活 I κ K,单独去除 I κ K α 并不影响促炎性细胞因子激活 NF- κ B,NF- κ B 活性也只是轻微下降。I κ K α 可以使 I κ B α 上的 Ser32 和 Ser36 磷酸化,激活的是 NF- κ B RelB/p52 二聚体;而 I κ K β 不仅可以使 I κ B α 的 Ser32 和 Ser36 磷酸化,还能使 I κ B β 上的 Ser19 和 Ser23 磷酸化,激活的是 RelA/p50 二聚体。因此,I κ K β 激活环的 2 个部位磷酸化对 I κ K 复合体的激活是必需的^[10]。I κ K γ 为调解单位,不含有催化激酶结构域,对于募集上游的激活物是必要的。

4 NF- κ B 的激活

NF- κ B 的激活机制是一个复杂的过程,细胞在静息状态下,NF- κ B 与 I κ B 结合组成异源多聚体(p50-p65-I κ B α 或 p50-p65-I κ B β),以无活性的潜在状态存在于细胞浆中。当细胞受到 NF- κ B 激活剂刺激时,胞浆中 NF- κ B 三聚体复合物中的 I κ B 的 N 端调节区的 Ser32/36 磷酸化,随后与泛素连接酶中含有 F 框的 B-TrCP 蛋白结合,其氨基端第 21、22 位赖氨酸残基发生泛素化,I κ B 构象改变并经 ATP 依赖性 26 S 蛋白酶小体识别并降解,从三聚体中解离出来,暴露出 p50 亚基的易位信号

和 p65 亚基的 DNA 位点,从而使 p50/p65 异二聚体表现出 NF- κ B 活性,活化的 NF- κ B 从细胞浆易位至细胞核内,与 κ B 反应元件(5-GGG RNY YYC C-3,R 为嘌呤,Y 为嘧啶,N 为任意核酸)结合发挥转录调控作用^[11]。

5 NF- κ B 信号通路的活化和转导过程

大量的刺激因素如促炎性细胞因子——肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)及白介素 1(interleukin-1, IL-1)、活性氧簇(reactive oxygen species, ROS)、脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)、T 细胞和 B 细胞激活抗原、紫外线照射、电离辐射、病毒感染和各种集落刺激因子(如粒-巨噬细胞集落刺激因子)等均能激活 NF- κ B 信号通路。NF- κ B 信号传导通路属于受调蛋白水解酶依赖的受体信号传导通路。目前研究表明, NF- κ B 信号传导通路主要通过 3 种途径活化,其中 2 种途径是 I κ K 依赖性的,另一途径则与酪蛋白激酶 2 有关^[12]。

经典途径由病原体相关分子模式(PAMP)或促炎性细胞因子引发。具体过程如 LPS 首先与 LBP(LPS 结合蛋白)-CD14 形成复合物,此复合物中的 LPS 解聚后与 TLR4 结合导致 TLR4 的聚合而活化,在一种分泌蛋白 MD2 的辅助下,活化的 TLR4 与接头蛋白 MyD88(myeloid differentiation factor 88)结合,MyD88 通过其死域(death domain)再与 IL-1 受体相关丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶(IL-1R associated serine threonine kinase, IRAK)结合,依次活化 IRAK、肿瘤坏死因子受体相关因子-6 (tumor necrosis factor receptor associated factor 6, TRAF-6)、转化生长因子 B 激酶 1(TAK-1)、MAPKK、NF- κ B 诱导激酶(NF- κ B inducing kinase, NIK); TNF 激活 NF- κ B 时,首先与 1 型 TNF 受体(TNFR1)结合,在胞浆内区与 TNFR1 相关死亡域蛋白(tumor necrosis factor receptor associated death domain protein, TRADD)、受体作用蛋白(ribosome-inactivating protein, RIP)、TRAF-2 发生作用,激活 NIK; 而 IL-1 与 1 型 IL-1 受体(IL-1R)结合,经 IL-1 受体相关蛋白(interleukin-1 receptor accessory protein, IL-1RACP)进一步激活 IRAK 及 TRAF-6,从而激活 NIK,最终活化 I κ K α /I κ K β /I κ K 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 I κ K β 发挥主要作用,此途径反应十分迅速,5 min 即可使 NF- κ B 的活性水平达到峰值。旁路途径主要发生在 B 细胞中,是通过选择性活化 p52/RelB 二聚体实现 NF- κ B 活化。它由 TNF 受体家族如肿瘤坏死因子超家族 B 细胞活化因子、CD40 或淋巴毒素 b 等配体引发,NIK 活化后选择性活化 I κ K 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 的活化。值得注意的是,此途径是以 I κ K α 依赖性、I κ K β 和 I κ K γ 非依赖性的方式激活的。非典型途径是非依赖 I κ K 的激活通路,在这个途径中 I κ B α 磷酸化是通过依赖 p38 丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)导致酪氨酸激酶 II (CK-II)活化,活化 CK-II 将 I κ B α 富含脯氨酸、谷氨酸、丝氨酸、苏氨酸和天冬氨酸残基的 C-末端(PEST)序列磷酸化,磷酸化的 I κ B α 随后被相应的蛋白体降解而实现的。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。

还有 2 种 NF- κ B 活化途径:一种是细胞在低氧或 pervanadate 的处理下,I κ B α 的第 42 位酪氨酸残基(Tyr)发生磷酸化,磷酸化后的 I κ B α 通过与磷脂酰肌醇-3 激酶(PI-3K)调节亚基 p85 的 Src 同源区 2 特异结合而与 NF- κ B 脱离而非降解,从而

可使 NF- κ B 进入细胞核^[13];另一种情况出现在线粒体,当线粒体受到遗传或化学应力时,钙调磷酸酶磷酸酶的活化将使 I κ B β 的 313 位的丝氨酸脱磷酸,从而解除其对 p50/c-Rel 双体的抑制^[14]。

6 NF- κ B 的反馈调节

NF- κ B 的反馈调节包括细胞内的反馈调节、I κ K 水平的调节和 p65 蛋白的磷酸化调节等。细胞内的反馈调节为主要的调节方式:(1)正反馈调节,胞外刺激因子与 NF- κ B 相互作用形成正反馈是炎症反应放大的重要机制,如前炎症介质 TNF- α 、IL-1、ROI 及 LPS 等是 NF- κ B 诱导剂,NF- κ B 活化后又能增强其基因转录和表达,进一步活化 NF- κ B;据报道 RelA 增强 I κ B α 的磷酸化和降解,被认为是高亲和力 NF- κ B 复合物的一个正反馈环^[15];NF- κ B 活化调节它的上游激酶,也形成正反馈。(2)负反馈调节,胞内 NF- κ B 活化后,抑制蛋白 I κ B α 、I κ B ζ 、MAIL、p105 基因转录和表达上调^[16],下调 NF- κ B 活性;另外,NF- κ B 也可激活其上游信号分子的调节器,最终导致 NF- κ B 活性抑制^[17];胞外 LPS、TNF- α 等同时可刺激抗炎性细胞因子 IL-10、IL-13 的产生,后者抑制 NF- κ B 的活化。在机体内,正、负反馈 2 种调节方式往往同时进行。NF- κ B 的活化状态取决于占优势的一方。

7 NF- κ B 的生物学功能

7.1 细胞增殖和凋亡的调节 NF- κ B 参与多种细胞活化,它参与细胞增殖和胚胎发育的重要性在 NF- κ B 或 I κ K 基因敲除小鼠的研究中进一步证实如 p65 或 I κ K β 缺乏的小鼠,由于过度增殖致小鼠在胚胎的第 12.5~14.5 天死亡^[11],而 I κ K α 缺乏小鼠则表现出颅面、躯干及其他器官严重畸形^[18]。NF- κ B 对细胞凋亡的调控均具有双向性,它既可以促进凋亡的发生,也可抑制凋亡。NF- κ B 可直接上调凋亡抑制因子-1(IAP-1)、Bcl-2、caspase-3、A20 等抗凋亡基因的表达而发挥抗凋亡作用^[19-20],又可以抑制抗凋亡蛋白的表达和诱导 Fas、FasL、DR4、DR5 等促凋亡蛋白的表达促进细胞凋亡^[21]。它到底是抑制还是诱导凋亡取决于细胞的类型及刺激因素和刺激时间的不同。Chen 等^[22]研究发现,NF- κ B 亚单位的种类及数量在细胞凋亡中起着决定性的作用,当 p65(RelA)过度表达时,发生凋亡抑制;当 c-Rel 表达增加时,则促进凋亡的发生。

7.2 免疫调节 NF- κ B 在细胞免疫中起重要作用,是免疫细胞功能的主要调节器,对巨噬细胞、中性粒细胞发挥对入侵细菌病原体的宿主防御功能,还直接参与树突状细胞抗原递呈和 T 细胞的活化过程;同时 NF- κ B 在调节体液免疫中也至关重要,直接调节免疫球蛋白 K 链的表达,促进免疫球蛋白的合成。NF- κ B 活性的抑制或敲除 NF- κ B 依赖基因导致宿主免疫功能障碍,并削弱细菌清除能力^[23],如 p50 缺乏小鼠除细菌清除能力下降外,对肺炎链球菌的易感性亦增加。

7.3 炎症反应调节 NF- κ B 激活后使细胞因子受体信号进入细胞核,增强或抑制一些涉及炎症或自身细胞生存的基因。NF- κ B 调节的靶基因迄今已达 200 余种,这些基因包括细胞因子(GCSF、GM-CSF、TNF- α 、IFN- β 、IL-1 β 、IL-2、IL-3、IL-6 等)、化学趋化因子(IL-8)、巨噬细胞炎症蛋白(MIP)-1 α 、黏附分子[E 选择素、细胞间黏附分子 1(intercellular adhesion molecule, ICAM-1)、血管内皮细胞黏附分子 1(vascular cell adhesion molecule, VCAM-1)等]、免疫受体、酶[诱导型一氧化氮合酶(inducible nitric oxide synthase, iNOS)、环氧酶 2(cyclooxygenase-2, COX-2)、磷脂酶 A2 等]、生长因子[粒细胞巨噬细胞集落刺激因子(granulocyte macrophage colony stimulating fac-

tor, GM-CSF)、粒细胞集落刺激因子(granulocyte colony stimulating factor, G-CSF)、巨噬细胞集落刺激因子(macrophage colony stimulating factor, M-CSF)等]、免疫受体、急性期蛋白(C 反应蛋白)、转录因子 I κ B α 等^[24-25],可见 NF- κ B 调节大量炎症基因表达,从而成为炎症调控的枢纽和关键。抑制 NF- κ B 活化、阻止病理条件的发展,对炎症缓解也有作用。

参考文献:

- [1] Karin M, Greten FR. NF- κ B: linking inflammation and immunity to cancer development and progression[J]. Nat Rev Immunol, 2005, 5(10): 749-759.
- [2] Sarkar FH, Li Y, Wang Z, et al. NF- κ B signaling pathway and its therapeutic implications in human diseases[J]. Int Rev Immunol, 2008, 27(5): 293-319.
- [3] Naugler WE, Karin M. NF- κ B and cancer-identifying targets and mechanisms[J]. Curt Opin Genet Dev, 2008, 18(1): 19-26.
- [4] Sen R, Baltimore D. Inducibility of kappa immunoglobulin enhancer-binding protein NF- κ B by a posttranslational mechanism[J]. Cell, 1986, 47(6): 921-928.
- [5] Tak PP, Firestein GS. NF- κ B: a key role in inflammatory diseases[J]. J Clin Invest, 2001, 107(1): 7-11.
- [6] Hoffmann A, Levchenko A, Scott ML, et al. The I κ B α -NF- κ B signaling module: temporal control and selective gene activation[J]. Science, 2002, 298: 1241-1245.
- [7] Kearns JD, Basak S, Wemer SL, et al. I κ B α epsilon provides negative feedback to control NF- κ B oscillations, signaling dynamics, and inflammatory gene expression[J]. J Cell Biol, 2006, 173(5): 659-664.
- [8] Motoyama M, Yamazaki S, Eto-Kimura A, et al. Positive and negative regulation of nuclear factor- κ B-mediated transcription by I κ B α -zeta, an inducible nuclear protein[J]. J Biol Chem, 2005, 280(9): 7444-7451.
- [9] Lawrence T, Bebiën M, Liu GY, et al. IKK α limits macrophage NF- κ B activation and contributes to the resolution of inflammation[J]. Nature, 2005, 434: 1138-1143.
- [10] Perkins ND. Integrating cell-signaling pathways with NF- κ B and IKK function[J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2007, 8: 49-62.
- [11] Li Q, Verma IM. NF- κ B regulation in the immune system[J]. Nat Rev Immunol, 2002, 2(10): 725-734.
- [12] Hayden MS, Ghosh S. Shared principles in NF- κ B signaling[J]. Cell, 2008, 132(3): 344-362.
- [13] Imbert V, Rupec RA, Livolsi A, et al. Tyrosine phosphorylation of I κ B α activates NF- κ B without proteolytic degradation of I κ B α [J]. Cell, 1996, 86(5): 787-798.
- [14] Biswas G, Anandatheerthavarada HK, Zaidi M, et al. Mitochondria to nucleus stress signaling: a distinctive mechanism of NF- κ B/Rel activation through calcineurin-mediated inactivation of I κ B α beta[J]. J Cell Biol, 2003, 161(3): 507-519.
- [15] Yang L, Ross K, Qvarnstrom EE. RelA control of I κ B α phosphorylation: a positive feedback loop for high affinity NF- κ B complexes[J]. J Biol Chem, 2003, 278: 30881-30888.
- [16] Eto A, Muta T, Yamazaki S, et al. Essential roles for NF- κ B and a Toll/IL-1 receptor domain-specific signal (s) in the induction of I κ B α -zeta[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2003, 301: 495-501.
- [17] Papa S, Zazzeroni F, Bubici C, et al. Gadd45 beta mediates the NF- κ B suppression of JNK signaling by targeting MKK7/JNKK2[J]. Nat Cell Biol, 2004, 6: 146-153.
- [18] Karin M, Ben-Neriah Y. Phosphorylation meets ubiquitination: the control of NF- κ B activity[J]. Annu Rev Immunol, 2000, 18: 621-663.
- [19] Karin M. Nuclear factor- κ B in cancer development and progression[J]. Nature, 2006, 441(3): 431-436.
- [20] Toruner M, Fernandez-Zapico M, Sha JJ, et al. Antitumor effect of nuclear factor- κ B through up-regulated expression of osteoprotegerin, BCL-2, and IAP-1[J]. J Biol Chem, 2006, 281: 8686-8696.
- [21] Chen F, Castranova V. Nuclear factor- κ B, an unappreciated tumor suppressor[J]. Cancer Res, 2007, 67(23): 11093-11098.
- [22] Chen X, Kandasamy K, Srivastava RK. Differential roles of RelA (p65) and c-Rel subunits of nuclear factor κ B in tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand signaling[J]. Cancer Res, 2003, 63(8): 1059-1066.
- [23] Sadikot RT, Zeng H, Joo M, et al. Targeted immunomodulation of the NF- κ B pathway in airway epithelium impacts host defense against Pseudomonas aeruginosa[J]. J Immunol, 2006, 176(18): 4923-4930.
- [24] Lee HJ, Oh TH, Yoon WJ, et al. Eutigoside C inhibits the production of inflammatory mediators (NO, PGE2, IL-6) by down-regulating NF- κ B and MAP kinase activity in LPS-stimulated RAW 264.7 cells[J]. J Pharm Pharmacol, 2008, 60(7): 917-924.
- [25] Brown KD, Clandio E, Siebenlist U. The roles of the classical and alternative nuclear factor- κ B pathways: potential implications for autoimmunity and rheumatoid arthritis[J]. Arthritis Res Ther, 2008, 10(4): 212-225.

(收稿日期: 2011-06-12 修回日期: 2011-08-15)

《重庆医学》——中国科技论文核心期刊, 欢迎投稿, 欢迎订阅!