

DOI: 10.13376/j.cbls/2020054

文章编号: 1004-0374(2020)05-0431-08

NF- κ B家族成员RelA的翻译后修饰及其 生理病理作用的研究进展

耿云峰^{1,2}, 杜鸿斌¹, 刘琳琳¹, 孙梦莹¹, 鞠吉雨³, 张杰彪¹, 赵春玲^{1*}, 田春艳^{2*}

(1 潍坊医学院山东省高校生物药物重点实验室, 潍坊 261053; 2 军事科学院军事医学研究院
生命组学研究所, 北京 100850; 3 潍坊医学院山东省高校免疫学重点实验室, 潍坊 261053)

摘要: 真核细胞转录因子 NF- κ B 通过调节多种靶基因表达, 参与炎症、免疫反应、程序性细胞死亡、细胞增殖和分化的调控。RelA 是 NF- κ B 家族一个重要的成员, 其翻译后修饰可精准调控 NF- κ B 的转录活性, 在调节炎症、肿瘤、代谢以及免疫应答等重要生命活动及相关疾病的发生发展过程中起重要作用。现总结相关领域最新研究进展, 综述 RelA 翻译后修饰的种类、调控机制, 对 NF- κ B 通路功能的影响, 及其在 NF- κ B 介导的炎症、癌症等多种疾病中的功能。

关键词: NF- κ B; 翻译后修饰; RelA; 磷酸化; 乙酰化; 甲基化

中图分类号: Q51 **文献标志码:** A

Research progress on post-translational modification of NF- κ B family member RelA and its physiological and pathological effects

GENG Yun-Feng^{1,2}, DU Hong-Bin¹, LIU Lin-Lin¹, SUN Meng-Ying¹,
JU Ji-Yu³, ZHANG Jie-Biao¹, ZHAO Chun-Ling^{1*}, TIAN Chun-Yan^{2*}

(1 Key Laboratory of Biopharmaceutics in Universities of Shandong Province, Weifang Medical University,
Weifang 261053, China; 2 Institute of Life Science, Military Medical Research Institute,
Academy of Military Sciences, Beijing 100850, China; 3 Key Laboratory of Immunology
in Universities of Shandong Province, Weifang Medical University, Weifang 261053, China)

Abstract: The eukaryotic transcription factor NF- κ B is involved in the regulation of inflammation, immune response, programmed cell death, cell proliferation and differentiation by regulating the expression of multiple target genes. RelA is one of the most important members of the NF- κ B family. Its post-translational modification can precisely regulate the transcriptional activation of NF- κ B, and plays an important role in inflammation, tumor, metabolism, immune, and the occurrence and development of related diseases. In this review, we summarized the types, regulatory mechanisms, effects of post-translational modifications of RelA, and discussed its functions in various diseases such as NF- κ B-mediated inflammation and cancer.

Key words: NF- κ B; post-translational modification; RelA; phosphorylation; acetylation; methylation

核因子 κ B (nuclear factor κ B, NF- κ B) 是一类真核转录因子, 调控细胞增殖、分化及凋亡相关基因表达, 涉及肿瘤、炎症、免疫反应等众多生理和病理活动。哺乳动物中, 该家族包括 5 个亚单位:

收稿日期: 2019-10-25; 修回日期: 2020-03-03

基金项目: 国家自然科学基金项目(31771563, 81572578); 山东省自然科学基金项目(ZR2018MH014, ZR2015HM028); 潍坊医学院大学生科技创新基金项目(KX2018005)

*通信作者: E-mail: tianchunyan@mail.ncpsb.org (田春艳); zhaochunlingbj@163.com (赵春玲)

RelA (p65, NF- κ B3)、RelB、cRel、p50/p105 (NF- κ B1)、p52/p100 (NF- κ B2)^[1-2]。各亚单位均通过 N 末端 DNA 结合域, 即 Rel 同源结构域 (Rel homology domain, RHD), 形成同源或异源二聚体发挥相应的功能, 其中 RelA/p50 是最典型且最具有代表性的二聚体。除所有家族成员共有的 Rel 同源结构域外, RelA 还具有特殊的反式激活结构域 (transactivation domain, TAD) 可将共转录调节因子和基础转录因子募集到靶基因, 调控下游数百种基因的转录, 使 NF- κ B 与其抑制蛋白 I κ B α C 末端特定的锚蛋白重复基序 (ankyrin repeat motif) 结合, 形成无活性复合物存在于胞质中。应激条件下, NF- κ B 短暂激活, 调控下游靶基因的转录。NF- κ B 的活性通常保持严密调控、正确终止, 其异常失控易导致如自身免疫性疾病、炎症甚至肿瘤等恶性疾病。目前, NF- κ B 组成性异常激活已经成为多种实体瘤的标志, 因此, 下调 NF- κ B 活性成为癌症治疗的重要靶标, 如 NF- κ B 通路抑制分子 I κ B 的降解抑制剂硼替佐米已应用于肿瘤治疗^[3-5]。为了在肿瘤治疗中调控 NF- κ B 的活性, 系统阐释此途径激活及失活的机制具有极其重要的意义。

近年来, RelA/p65 的翻译后修饰对 NF- κ B 通路的调控逐渐被阐释, 它们通过对 RelA 的蛋白质相互作用、稳定性和降解的调控^[6], 对 NF- κ B 通路进行精准和复杂的调控, 在相关疾病的发生和发展过程中扮演重要角色。本文重点关注 NF- κ B 的 RelA 亚基翻译后修饰的最新研究进展, 综述 RelA 翻译后修饰的种类、调控机制, 对 NF- κ B 通路活性的调节, 以及在 NF- κ B 介导的炎症、癌症等多种疾病中的功能。

RelA 的翻译后修饰研究多集中于 RelA 的磷酸

化修饰及相关的各种激酶, 此外, 乙酰化、甲基化等修饰形式也是现今此领域的热门话题。RelA 翻译后修饰关乎整个信号通路的传递, 其调控失常与多种恶性疾病发生密切相关, 是临床检测与治疗重要的借鉴策略^[6-8]。

1 RelA 磷酸化修饰

RelA 磷酸化对 NF- κ B 通路活性的调节长期以来一直是 NF- κ B 翻译后修饰研究领域关注的重点^[9]。目前, 已经在 RelA 上鉴定到了 7 个丝氨酸 (serine, S) 和 3 个苏氨酸 (threonine, T) 的磷酸化位点以及多个相关的激酶 (图 1)。大多数磷酸化位点位于 Rel 同源结构域和转录激活域内。RelA 可以响应多种刺激信号, 进而在胞质和细胞核中被磷酸化; 不同应激条件下, 不同位点的磷酸化可以导致 NF- κ B 通路被激活或者被抑制。

1.1 S276 磷酸化

S276 位丝氨酸是首个被鉴定的 RelA 的磷酸化位点, 在多种诱导信号, 如 LPS、TNF- α 或 TGF- β 的作用下, I κ B α 降解释放 RelA 分子, 组成型激活的蛋白激酶 A (protein kinase A, PKA) 使 RelA S276 位点磷酸化^[10-11]。共济失调毛细血管扩张突变蛋白 (ataxia-telangiectasia mutated, ATM) 在 I κ B α 降解和 RelA S276 磷酸化中起关键支架作用, 是 TNF 诱导的 NF- κ B 活化的核损伤反应信号的调节剂。研究发现, 经活化的 ATM 参与 E3-泛素连接酶 β -TrCP 选择性募集以及磷酸化 I κ B α 的降解, 同时结合并激活 PKA, 使其促进 RelA S276 的磷酸化^[12]。此外, 研究发现姜黄素类似物 UBS109 可通过抑制 PKA 下调 RelA S276 的磷酸化, 进而抑制小鼠 Tu212 头颈部鳞状细胞癌 (squamous cell carcinoma, SCC) 的

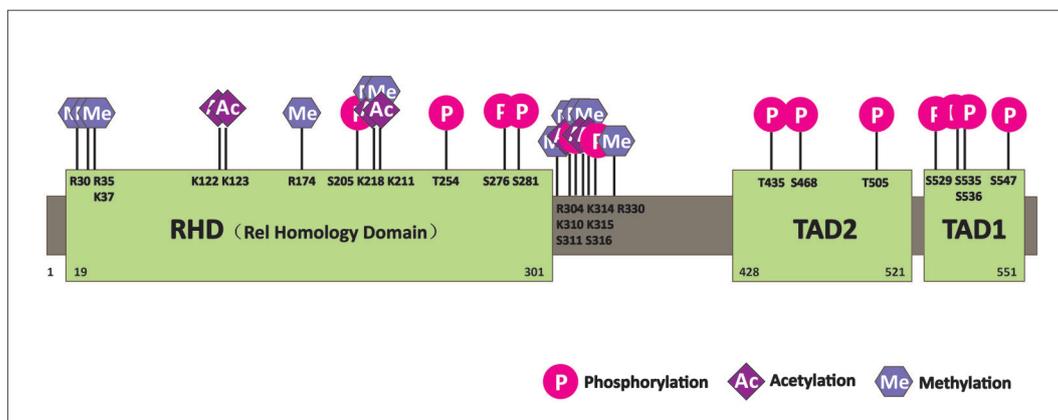


图1 RelA蛋白翻译后修饰位点

生长,提示其可用于治疗头颈部 SCC 肿瘤^[13]。Pim-1 是催化 RelA S276 磷酸化的另一种激酶。作为 Pim 家族的一员, Pim-1 可提高 RelA S276 的磷酸化水平,进而抵抗泛素介导的对 RelA 的降解,从而激活 NF- κ B 信号转导^[14]。Pim 激酶抑制剂 NJC97-NH 可抑制 I κ B α 以及 RelA S276 的磷酸化,同时 NJC97-NH 还可以下调 G₂/M 期阻滞相关蛋白 cyclin A 和 cyclin B1 以及细胞凋亡相关蛋白 Mcl-1 和 XIAP 的表达,表明 Pim 激酶有望成为成人 T 细胞白血病治疗药物的潜在靶标^[15]。

S276 的磷酸化可与 RelA 其他位点的磷酸化协同对 NF- κ B 的活化发挥不同的调控功能。蛋白磷酸酶 2C (protein phosphatases 2C, PP2C) 磷酸酶家族成员 PPM1A 能够在 S536 和 S276 位点直接使 RelA 去磷酸化,并选择性抑制 NF- κ B 转录活性,下调单核细胞趋化蛋白-1 (monocyte chemoattractant protein 1, MCP-1)、趋化因子配体 2 [chemokine (C-C motif) ligand 2, CCL2] 和 IL-6 的表达。PPM1A 与癌症转移密切相关,其活性降低能够增强多种不同类型肿瘤细胞 NF- κ B 依赖性的侵袭能力^[16]。

1.2 S536磷酸化

另一个被广泛研究的 RelA 的磷酸化位点是位于 TAD 区的 S536,该位点可受到多种激酶的作用发生磷酸化并影响下游的生物学功能。目前已报道多个 S536 激酶,包括 IKKs (IKK α 、IKK β 及 IKK ϵ)、核糖体亚基激酶 1 (ribosomal subunit kinase-1, RSK1)、TANK 结合激酶 1 (TANK binding kinase 1, TBK1) 等。研究表明, S536 磷酸化的 RelA 依赖肿瘤类型表现出不同的细胞学效应,影响肿瘤的发生发展。已有文献报道, RelA S536 磷酸化抑制肝癌细胞凋亡,表现为促癌作用^[17];而在结肠癌、乳腺癌和前列腺癌细胞中,其通过诱导细胞凋亡和衰老表现为抑癌作用^[18]。

RelA 的去磷酸化是应激信号去除或靶基因表达终止后 NF- κ B 信号通路重建正常反应性的重要步骤。S536 的去磷酸化修饰也是目前研究的热点。Wang 等^[19]的研究显示, HER2 激活促进 RelA S536 去磷酸化。该去磷酸化的 RelA 可能在 miR-22 的反式激活中起关键作用,影响抗氟维司特的乳腺癌细胞对氟维司特的敏感性。由牙龈卟啉单胞菌分泌的一个卤酸脱卤酶 (haloacid dehalogenase, HAD) 家族丝氨酸磷酸酶 (phosphoserine aminotransferase, SerB) 可以在牙龈上皮细胞中特异性地使 RelA 的 S536 去磷酸化。SerB 能够与 RelA 结合并与其共定位在细

胞质中,促进其去磷酸化,抑制 TNF- α 激活的上皮细胞 RelA 核转运,进而调控宿主的炎症途径,并抑制黏膜表面的固有免疫^[20]。Yang 等^[21]将蛋白磷酸酶 2A (protein phosphatase 2A, PP2A) 鉴定为 RelA 磷酸酶,其在体外特异性地使 S536 去磷酸化并抑制 NF- κ B 的转录活性。Liu 等^[22]研究发现,非受体型蛋白酪氨酸磷酸酶 2 (tyrosine-protein phosphatase nonreceptor type 2, PTPN2; 也被称为 TC45) 和 PP2A 与 RelA 形成复合物以介导其 S536 去磷酸化,而泛素样蛋白 4A (ubiquitin-like protein 4A, UBL4A) 可中断 TC45/PP2A/RelA 复合物的形成,并通过捕获 TC45 限制 RelA 的去磷酸化,正调控 NF- κ B 信号通路,维持固有免疫应答。靶向 UBL4A 可能减少炎症性疾病中过度激活的免疫反应。RelA 的另一种磷酸酶 Wip1 可直接介导 S536 去磷酸化或抑制 p38 MAPK 的活性,抑制 RelA 与 p300 的相互作用,负调节 NF- κ B 信号通路^[23]。2017 年, Xu 等^[24]报道, Wip1 和 RelA 可能参与了增生性糖尿病视网膜病患者视网膜上星形胶质细胞的增殖过程。LPS 处理后,星形胶质细胞中 Wip1 和磷酸化的 RelA 显著增加,敲低 Wip1 可进一步增强 LPS 诱导的 RelA 入核以及促炎性细胞因子的释放。虽然 PP2A 和 Wip1 都能使 S536 去磷酸化,但这些 S536 磷酸酶不能协同作用,并且在体内具有非冗余的特点^[23]。

1.3 S468磷酸化

RelA 磷酸化通常与 NF- κ B 的转录激活有关,但某些残基的磷酸化可导致 NF- κ B 的转录活性降低。RelA TAD 内的 S468 可以在不同刺激条件下被 3 种不同的激酶磷酸化,包括 GSK3 β 、IKK β 和 IKK ϵ 。诱导条件不同, S468 位点磷酸化后发挥的功能也不相同。S468 被 GSK3 β 组成型磷酸化后可负调节 NF- κ B 基础活性。研究报道,非肌肉肌球蛋白重链 IIA (non-muscle myosin heavy chain IIA, NMMHC IIA) 抑制剂 Blebbistatin 通过诱导 GSK3 β 的磷酸化抑制 RelA 核易位,从而发挥抗血栓形成的作用^[25]。而与上述激酶不同, IKK ϵ 诱导的 S468 磷酸化在卡波西氏肉瘤 (Kaposi's sarcoma, KS) 病变中则发挥增强 NF- κ B 活性的功能^[26]。KS 是一种内皮细胞纺锤状细胞的高度侵入性和血管生成性肿瘤,是由 KS 相关疱疹病毒 (Kaposi's sarcoma-associated herpes virus, KSHV) 感染引起的最常见的艾滋病相关癌症。KSHV 编码的病毒 FLICE 抑制蛋白 (viral FLICE inhibitory protein, vFLIP) 是一种病毒致癌蛋白。Yang 等^[27]研究发现, vFLIP 可上调 IKK ϵ , 通过激活 RelA (p-RelA

S468) 诱导 KS 中纺锤体细胞形态的形成, 提示 IKK ϵ 可能是治疗 KSHV 相关癌症的潜在靶标。

1.4 RelA 在其他残基处的磷酸化

与 NF- κ B 磷酸化调节相关的残基还包括 S205、S281、S311、S529、T254、T435 和 T505。其中, T435 可响应 TNF- α 刺激, 抑制 RelA 与 HDAC1 的相互作用, 并选择性增强 NF- κ B 依赖性基因的表达^[28]。RHD 内 S205、S281 被未知激酶磷酸化, 激活部分 NF- κ B 下游靶基因转录^[29]; 而蛋白激酶 C ζ (protein kinase C ζ , PKC ζ) 可使 RelA S311 磷酸化, 进而激活 NF- κ B^[30]。DNA 双链断裂时, ATM 激酶与 RelA 相互作用并特异性磷酸化 RelA S547 位点, 诱导炎症相关基因转录激活, RelA S547 位点磷酸化不影响其与 DNA 结合^[31]。酪蛋白激酶 2 (casein kinase II, CKII) 可介导 RelA S529 磷酸化。研究发现, TNF- α 刺激后, CKII α 亚基与 TNF- α 复合体分子 (如 RIP、c-IAP1 和 TRAF2) 缔合以磷酸化断点簇区域 (breakpoint cluster region, BCR) 激酶的 Y177 位点并建立一个与 RelA 结合的位点, BCR-CKII α 复合物与 RelA 结合并使其 S529 位点磷酸化, 同时产生 p300 结合位点, 增强 RelA 转录并诱发体内炎症反应, 提示 BCR-CKII α 复合物可能是各种炎症疾病的新型治疗靶标^[32]。文献报道, T505 的磷酸化参与 DNA 损伤诱导的细胞凋亡, 可激活促凋亡基因 NOXA 并抑制抗凋亡基因 Bcl-xL 的转录^[33]。此外, 有研究显示, RelA T505 突变小鼠肝损伤时, 肝细胞增殖及对化学药物四氯化碳 (CCl₄) 诱导的肝细胞癌变的敏感性增加, 表明了 T505 磷酸化在促进凋亡、抑制肝细胞增殖中的重要性^[34]。

2 RelA 乙酰化修饰

RelA 的乙酰化修饰多年来也被广泛研究。与磷酸化不同, 乙酰化主要发生在细胞核中, 介导该修饰的大多数酶也存在于细胞核中。该修饰主要由组蛋白乙酰转移酶 (histone acetyltransferase, HAT) 介导向赖氨酸 (lysine, K) 残基添加乙酰基, 是由组蛋白去乙酰化酶 (histone deacetylase, HDAC) 介导的从赖氨酸残基除去乙酰基的可逆事件。RelA 乙酰化修饰可精细调控 NF- κ B 的多种功能, 包括其与 I κ B α 以及 DNA 的结合能力, 维持转录激活活性, 并在 NF- κ B 介导的炎症反应和癌症中起重要作用。

2.1 RelA 乙酰化

迄今已发现 7 个 RelA 乙酰化位点, 分别是 K122、K123、K218、K221、K310、K314 和 K315。修饰大

部分赖氨酸位点的 HAT 为 p300/CBP, 其中 K221 位乙酰化促进 NF- κ B 与 DNA 的结合, 并与 K218 乙酰化一起削弱 NF- κ B 与 I κ B α 的结合。K310 乙酰化能增强 NF- κ B 的转录激活功能。而 K122 和 K123 还可以被 p300/CBP 相关因子 (p300/CBP-associated factor, PCAF) 乙酰化, 其乙酰化会中和赖氨酸的正电荷, 竞争性抑制其甲基化, 并通过诱导 RelA 的降解下调 NF- κ B 转录活性。p300 对 RelA K314 和 K315 的乙酰化既不会影响 NF- κ B 穿梭并与 DNA 结合, 也不会影响其对抗凋亡基因的诱导, 但是会响应 TNF- α 刺激而差异性调节特定 NF- κ B 靶基因的表达。信号转导和转录激活因子 3 (signal transducer and activator of transcription 3, STAT3) 介导的 p300 调节的 RelA 过度乙酰化对于 NF- κ B 激活至关重要, 糖松酸 (lambertianic acid, LA) 通过 miRNA-134 介导的对 STAT3 和 RelA 乙酰化的抑制作用诱导了细胞凋亡^[35]。

2.2 RelA 去乙酰化

HDAC 是赖氨酸残基乙酰化的消除剂, 而 RelA AcK310 是多种 HDAC 的通用底物。常见的几种调节该位点及 NF- κ B 活性的 HDAC 有 HDAC1、HDAC3 和 SIRT1。Ding 等^[36]发现, vFLIP 能够抑制 SAP18/HDAC1 复合体形成, 促进 RelA 的乙酰化并激活 NF- κ B 通路, 进而促进卡波西氏肉瘤细胞侵袭和血管生成。组蛋白去乙酰化酶 SIRT1 介导 RelA AcK310 去乙酰化, 下调炎症反应。已知炎症反应在血栓形成中起重要作用, SIRT1 的激活通过其抗炎作用减轻了下腔静脉狭窄引起的深静脉血栓形成 (deep vein thrombosis, DVT)^[37]。因此, SIRT1 可能是改善 DVT 的潜在治疗靶标。随着研究的积累, 其他 HDAC, 如 HDAC6 对 RelA AcK310 的去乙酰化亦被人们所熟知。例如, 迁移和侵袭抑制蛋白 (migration and invasion inhibitor protein, MIIP) 的 PKC ϵ 依赖性磷酸化促进了细胞核中 MIIP 和 RelA 之间的相互作用, MIIP 通过这种相互作用抑制 HDAC6 介导的 RelA AcK310 去乙酰化, 增强 RelA 的转录活性并促进肿瘤转移^[38]。2017 年的研究显示, RelA AcK310 也可以被 SIRT3、SIRT5、SIRT6 和 HDAC8 去乙酰化, 而 SIRT7 无此活性^[39]。

研究显示, HDAC 抑制剂有望成为 NF- κ B 通路相关肿瘤治疗的候选药物。NF- κ B 在癌旁通路中活性的上调伴随着胶质母细胞瘤 (glioblastoma, GBM) 细胞替莫唑胺 (temozolomide, TMZ) 耐药性的获得。组蛋白去乙酰化酶 (HDAC1 和 HDAC3) 选择性抑制

剂 RGFP109 可诱导 RelA 和组蛋白的过度乙酰化, 抑制 RelA 与 DNA 的结合, 阻断 NF- κ B 通路的活化, 进而抑制其介导的基因转录, 逆转胶质母细胞瘤细胞的 TMZ 耐药性, 因此 RGFP109 有望成为 TMZ 耐药性 GBM 患者的候选治疗药物^[40]。Setoguchi 等^[41]证明了 HDAC5 参与对造血干细胞归巢和移植的表现遗传调控。HDAC5 抑制剂 LMK235 对 HDAC5 的抑制作用会导致 H3K9 和 H4K16 的乙酰化增强, 促进染色质重塑, 而 RelA K310 乙酰化可进一步促进其转录活性。乙酰化的 RelA 可与趋化因子受体 4 (CXCR chemokine receptor 4, CXCR4) 启动子区域结合并诱导 CXCR4 高表达, 从而增强造血干细胞归巢和移植。由于癌细胞中 CXCR4 的高表达与转移性迁移有关, 因此通过靶向 HDAC5 抑制肿瘤细胞的迁移在临床上也是可行的。

3 RelA 甲基化修饰

除磷酸化和乙酰化外, 甲基化修饰已成为调节核 NF- κ B 功能的另一重要修饰形式。迄今为止, 已经在 NF- κ B 的 RelA 亚基上鉴定了赖氨酸 (K) 和精氨酸 (arginine, R) 的甲基化。6 个赖氨酸位点 K37、K218、K221、K310、K314 和 K315 被不同的蛋白质赖氨酸甲基转移酶 (protein lysine methyltransferase, PKMT) 和赖氨酸去甲基化酶 (lysine demethylase, KDM) 修饰。而 RelA 的 5 个精氨酸残基 R30、R35、R174、R304 和 R330 目前已发现可被蛋白质精氨酸甲基转移酶 5 (protein arginine methyltransferase 5, PRMT5) 甲基化修饰。

3.1 Set9 介导的 RelA 甲基化

蛋白质赖氨酸甲基转移酶 Set7/9 是 SET 家族成员, 最初被认为只能特异调控组蛋白 H3 的赖氨酸甲基化。随着研究不断深入, 一些包括 RelA 在内的非组蛋白亦能被 Set9 甲基化修饰。已证实 Set9 可以特异性地甲基化 RelA 的 K314 和 K315 位点并增强其降解, 发挥负调控 NF- κ B 通路的作用^[42]。2013 年, Hu 等^[8]在 U266 多发性骨髓瘤细胞系中发现, 小檗碱通过 Set9 介导的 RelA K314 和 K315 位甲基化阻碍 NF- κ B 入核, 导致 miR-21 和 Bcl-2 水平降低, 从而诱导 ROS 的产生和细胞凋亡。Kim 等^[43]研究发现, 赖氨酸特异性去甲基化酶 1 (lysine specific demethylase 1, LSD1) 的磷酸化状态及其去甲基化酶活性对炎症反应的表现遗传调控至关重要。LSD1 作为与 Set9 对应的 RelA 的去甲基化酶, 在 RelA 的赖氨酸去甲基化中起重要作用, 磷酸化

的 LSD1 可与 RelA 相互作用, 并通过其去甲基化酶活性阻断核中 RelA 甲基化依赖性的降解。

Set9 还参与 RelA K37 位赖氨酸残基的甲基化。与 K314 和 K315 甲基化对 NF- κ B 的负调控作用不同, Set9 通过稳定 NF- κ B 与其增强子的结合来正调控 NF- κ B 靶基因的转录^[44]。

3.2 NSD1 和 FBXL11 介导的 RelA 的可逆甲基化

在 IL-1 β 刺激下, RelA 在 K218 和 K221 位点能够可逆性甲基化, 这对其功能具有深远的影响。K218 的单甲基化和 K221 的二甲基化均由 H3K36 甲基转移酶核受体结合 SET 域蛋白 1 (nuclear receptor binding SET domain protein 1, NSD1) 催化, 从而激活 NF- κ B 通路。此位点还可以去甲基化, 降低 NF- κ B 通路的活性, 而赖氨酸去甲基化酶 FBXL11 可介导 K218 和 K221 的去甲基化。FBXL11 过表达能够下调 NF- κ B 通路活性, 进而抑制 HT29 癌细胞的生长^[45]。

3.3 SETD6 介导的 RelA 甲基化

SETD6 被鉴定为介导 RelA K310 位点单甲基化 (RelA K310me1) 的赖氨酸甲基转移酶。该位点的甲基化修饰可使 RelA 呈惰性, 并减弱 RelA 驱动的转录, 进而抑制原代免疫细胞中的炎症反应。RelA K310me1 可以被组蛋白甲基转移酶 GLP 的锚蛋白重复序列识别, 该序列在基础条件下通过 GLP 介导的组蛋白 H3K9me2 降低 RelA 靶基因染色质的开放状态。PKC ζ 通过磷酸化 RelA 的 Ser311, 阻断 GLP 与 RelA K310me1 的结合, 减弱对靶基因的抑制^[46]。SETD6 在记忆形成中起关键作用, 其对 RelA K310 甲基化以及背侧海马中 H3K9me2 的增强是必需的; 敲低 SETD6 会干扰记忆整合, 改变基因表达模式, 并破坏脊柱形态^[47]。蛋白质赖氨酸甲基转移酶可以通过发生在酶活性位点之外的相互作用来识别底物, 从而增强其在细胞环境中的催化活性和特异性。Kublanovsky 等^[48]研究发现, SETD6 和 SETD7 活性位点外部的相互作用显著增强了其对 RelA 的甲基转移活性。

3.4 PRMT5 介导的 RelA 的甲基化

RelA 赖氨酸甲基化位点和调控机制的研究较为完善, 而精氨酸甲基化调控 NF- κ B 的研究刚刚开始。研究发现, II 型蛋白质精氨酸甲基转移酶 PRMT5 可二甲基化 RelA 的 R30 位点, 促进 NF- κ B 下游基因的转录。基因芯片分析显示, R30A 突变可造成约 85% 被 PRMT5 诱导的 NF- κ B 靶基因表达下调^[49-50]。PRMT5 可催化组蛋白 H3 (S2Me-H3R8) 和 H4 (S2Me-H4R3) 改变染色质结构以抑制靶基因

转录。针对这一特性,使用 PRMT5 小分子抑制剂可下调 PRMT5,导致 miR-96 启动子上 PRMT5/RelA/HDAC3 抑制复合物的募集缺失,miR-96 表达恢复,最终表现出抗肿瘤活性^[51]。除了 PRMT5 之外,几种 I 型 PRMT,包括 PRMT1、PRMT2、PRMT4 和 PRMT6,也参与 NF- κ B 靶基因表达的调控。TRAF6 是先天性免疫信号转导所必需的关键 E3 泛素连接酶。Tikhanovich 等^[52]报道,TRAF6 受 PRMT1 介导的精氨酸甲基化的调节。PRMT1 直接与 TRAF6 结合并使其发生甲基化,TRAF6 的精氨酸甲基化会降低其泛素连接酶活性,并抑制 NF- κ B 活化。

4 其他修饰方式

除以上修饰方式外,近年来 RelA 的其他修饰也备受关注,如聚 ADP-核糖基化、SUMO 化等。

聚 ADP-核糖聚合酶 1 (poly ADP-ribose polymerase 1, PARP1) 是 PARP 家族中最有特色的成员,其参与的聚 ADP-核糖基化是真核细胞中必需的和保守的翻译后蛋白质修饰之一,该修饰在体内和体外炎症性疾病模型中普遍存在。Liu 等^[53]采用 LPS 刺激小鼠巨噬细胞 Ana-1 或 Raw264.7 发现,PARP1 与 RelA 的相互作用以及 RelA 的聚 ADP-核糖基化增加,进一步增强了促炎性细胞因子 IL-1 β 和 IL-18 基因的表达,激活了 NF- κ B 转录活性。此外,ERK 通路调节 PARP-1 的激活,该通路抑制剂可以阻断 PARP1 与 ERK1/2 的相互作用、PARP1 的磷酸化以及 RelA 的聚 ADP-核糖基化,提示 PARP1 依赖 ERK 调节自身活性和激活 NF- κ B,表明巨噬细胞中的 ERK-PARP1-RelA 途径可促进败血症的炎症进程。

小型泛素相关修饰物 (small ubiquitin-related modifier, SUMO) 参与 RelA 的 SUMOylation 修饰,并调节多种细胞内过程,例如靶向蛋白质以导入核。研究显示,在肝癌细胞中 SUMO1 与 RelA 相互作用,TNF- α 刺激和缺氧均会增强 SUMO1 蛋白水平和 RelA 的 SUMOylation 修饰,促进 RelA 核易位并上调 NF- κ B 活性,从而促进肝细胞癌 (HCC) 进程^[54]。该研究有助于了解肝癌发生和发展的机制。

5 结语

NF- κ B 在炎症、免疫反应以及肿瘤等多种疾病中发挥重要作用。大量研究显示,NF- κ B 信号通路在多种癌细胞系及实体瘤中被异常激活,因此下调 NF- κ B 活性已成为癌症治疗的重要靶标。使用特定的药物抑制剂(如:硼替佐米)抑制 NF- κ B 活性是

目前的一种临床治疗策略,但临床试验证实 NF- κ B 抑制剂在肿瘤治疗中的临床疗效并不理想。随着研究的深入,逐渐发现了翻译后修饰在 NF- κ B 活性调控中的重要影响。不同的翻译后修饰类型修饰 NF- κ B 分子的不同位点,精准调控 NF- κ B 通路的活性,并影响多种生理病理活动,如肿瘤等的发生发展。本文集中阐述了有关 RelA 的几种翻译后修饰调节方式,在此基础上,不仅可以深入探讨 NF- κ B 的功能与调控机制,同时也可进一步剖析 NF- κ B 介导相关疾病发生的分子机制,揭示疾病治疗的新靶点,从而使研发具有较少副作用、直接靶向 NF- κ B 通路特定功能的药物成为可能。

[参 考 文 献]

- [1] Baldwin AS Jr. The NF- κ B and I κ B proteins: new discoveries and insights. *Annu Rev Immunol*, 1996, 14: 649-83
- [2] Ghosh S, May MJ, Kopp EB. NF- κ B and Rel proteins: evolutionarily conserved mediators of immune responses. *Annu Rev Immunol*, 1998, 16: 225-60
- [3] Jiang GM, Wang HS, Du J, et al. Bortezomib relieves immune tolerance in nasopharyngeal carcinoma via STAT1 suppression and indoleamine 2,3-dioxygenase downregulation. *Cancer Immunol Res*, 2017, 5: 42-51
- [4] Philippe L, Ceroi A, Bole-Richard E, et al. Bortezomib as a new therapeutic approach for blastic plasmacytoid dendritic cell neoplasm. *Haematologica*, 2017, 102: 1861-8
- [5] Lopez-Iglesias AA, Gonzalez-Mendez L, San-Segundo L, et al. Synergistic DNA-damaging effect in multiple myeloma with the combination of zalypsis, bortezomib and dexamethasone. *Haematologica*, 2017, 102: 168-75
- [6] Perkins ND. Post-translational modifications regulating the activity and function of the nuclear factor κ B pathway. *Oncogene*, 2006, 25: 6717-30
- [7] Guo L, Li S, Zhao Y, et al. Silencing angiopoietin-like protein 4 (ANGPTL4) protects against lipopolysaccharide-induced acute lung injury via regulating SIRT1/NF- κ B pathway. *J Cell Physiol*, 2015, 230: 2390-402
- [8] Hu HY, Li KP, Wang XJ, et al. Set9, NF- κ B, and microRNA-21 mediate berberine-induced apoptosis of human multiple myeloma cells. *Acta Pharmacol Sin*, 2013, 34: 157-66
- [9] Lu X, Yarbrough WG. Negative regulation of RelA phosphorylation: emerging players and their roles in cancer. *Cytokine Growth Factor Rev*, 2015, 26: 7-13
- [10] Zhong H, SuYang H, Erdjument-Bromage H, et al. The transcriptional activity of NF- κ B is regulated by the I κ B-associated PKAc subunit through a cyclic AMP-independent mechanism. *Cell*, 1997, 89: 413-24
- [11] Jamaluddin M, Wang S, Boldogh I, et al. TNF- α -induced NF- κ B/RelA Ser(276) phosphorylation and enhanceosome formation is mediated by an ROS-dependent PKAc pathway. *Cell Signal*, 2007, 19: 1419-33
- [12] Fang L, Choudhary S, Zhao Y, et al. ATM regulates NF-

- κ B-dependent immediate-early genes via RelA Ser 276 phosphorylation coupled to CDK9 promoter recruitment. *Nucleic Acids Res*, 2014, 42: 8416-32
- [13] Zhu S, Moore TW, Morii N, et al. Synthetic curcumin analog UBS109 inhibits the growth of head and neck squamous cell carcinoma xenografts. *Curr Cancer Drug Targets*, 2014, 14: 380-93
- [14] Nihira K, Ando Y, Yamaguchi T, et al. Pim-1 controls NF- κ B signalling by stabilizing RelA/p65. *Cell Death Differ*, 2010, 17: 689-98
- [15] Ishikawa C, Senba M, Hashimoto T, et al. Expression and significance of Pim-3 kinase in adult T-cell leukemia. *Eur J Haematol*, 2017, 99: 495-504
- [16] Lu X, An H, Jin R, et al. PPM1A is a RelA phosphatase with tumor suppressor-like activity. *Oncogene*, 2014, 33: 2918-27
- [17] Shu G, Zhang L, Jiang S, et al. Isoliquansin induces dephosphorylation of NF- κ B p65 subunit at Ser536 via a PP2A-dependent mechanism in hepatocellular carcinoma cells: roles of impairing PP2A/I2PP2A interaction. *Oncotarget*, 2016, 7: 40285-96
- [18] Bu Y, Li X, He Y, et al. A phosphomimetic mutant of RelA/p65 at Ser536 induces apoptosis and senescence: an implication for tumor-suppressive role of Ser536 phosphorylation. *Int J Cancer*, 2016, 138: 1186-98
- [19] Wang B, Li D, Filkowski J, et al. A dual role of miR-22 modulated by RelA/p65 in resensitizing fulvestrant-resistant breast cancer cells to fulvestrant by targeting FOXP1 and HDAC4 and constitutive acetylation of p53 at Lys382. *Oncogenesis*, 2018, 7: 54
- [20] Takeuchi H, Hirano T, Whitmore SE, et al. The serine phosphatase SerB of *Porphyromonas gingivalis* suppresses IL-8 production by dephosphorylation of NF- κ B RelA/p65. *PLoS Pathog*, 2013, 9: e1003326
- [21] Yang J, Fan GH, Wadzinski BE, et al. Protein phosphatase 2A interacts with and directly dephosphorylates RelA. *J Biol Chem*, 2001, 276: 47828-33
- [22] Liu C, Zhou Y, Li M, et al. Absence of GdX/UBL4A protects against inflammatory diseases by regulating NF- κ B signaling in macrophages and dendritic cells. *Theranostics*, 2019, 9: 1369-84
- [23] Chew J, Biswas S, Shreeram S, et al. WIP1 phosphatase is a negative regulator of NF- κ B signalling. *Nat Cell Biol*, 2009, 11: 659-66
- [24] Xu J, Zhong H, Cui L, et al. Expression of wild-type p53-induced phosphatase 1 in diabetic epiretinal membranes. *Oncotarget*, 2017, 8: 35532-41
- [25] Zhai K, Tang Y, Zhang Y, et al. NMMHC IIA inhibition impedes tissue factor expression and venous thrombosis via Akt/GSK3 β -NF- κ B signalling pathways in the endothelium. *Thromb Haemost*, 2015, 114: 173-85
- [26] Rajurkar M, Dang K, Fernandez-Barrena MG, et al. IKBKE is required during KRAS-induced pancreatic tumorigenesis. *Cancer Res*, 2017, 77: 320-9
- [27] Yang Z, Honda T, Ueda K. vFLIP upregulates IKK ϵ , leading to spindle morphology formation through RelA activation. *Virology*, 2018, 522: 106-21
- [28] O'Shea JM, Perkins ND. Thr435 phosphorylation regulates RelA (p65) NF- κ B subunit transactivation. *Biochem J*, 2010, 426: 345-54
- [29] Anrather J, Racchumi G, Iadecola C. cis-acting, element-specific transcriptional activity of differentially phosphorylated nuclear factor- κ B. *J Biol Chem*, 2005, 280: 244-52
- [30] Duran A, Diaz-Meco MT, Moscat J. Essential role of RelA Ser311 phosphorylation by ζ PKC in NF- κ B transcriptional activation. *EMBO J*, 2003, 22: 3910-8
- [31] Sabatel H, Di Valentin E, Gloire G, et al. Phosphorylation of p65(RelA) on Ser(547) by ATM represses NF- κ B-dependent transcription of specific genes after genotoxic stress. *PLoS One*, 2012, 7: e38246
- [32] Meng J, Jiang JJ, Atsumi T, et al. Breakpoint cluster region-mediated inflammation is dependent on casein kinase II. *J Immunol*, 2016, 197: 3111-9
- [33] Msaki A, Sánchez AM, Koh LF, et al. The role of RelA (p65) threonine 505 phosphorylation in the regulation of cell growth, survival, and migration. *Mol Biol Cell*, 2011, 22: 3032-40
- [34] Moles A, Butterworth JA, Sanchez A, et al. A RelA(p65) Thr505 phospho-site mutation reveals an important mechanism regulating NF- κ B-dependent liver regeneration and cancer. *Oncogene*, 2016, 35: 4623-32
- [35] Sim DY, Lee HJ, Jung JH, et al. Suppression of STAT3 phosphorylation and RelA/p65 acetylation mediated by microRNA134 plays a pivotal role in the apoptotic effect of lumbardianic acid. *Int J Mol Sci*, 2019, 20: E2993
- [36] Ding X, Xu J, Wang C, et al. Suppression of the SAP18/HDAC1 complex by targeting TRIM56 and Nanog is essential for oncogenic viral FLICE-inhibitory protein-induced acetylation of p65/RelA, NF- κ B activation, and promotion of cell invasion and angiogenesis. *Cell Death Differ*, 2019, 26: 1970-86
- [37] Yao X, Chen W, Liu J, et al. Deep vein thrombosis is modulated by inflammation regulated via Sirtuin 1/NF- κ B signalling pathway in a rat model. *Thromb Haemost*, 2019, 119: 421-30
- [38] Chen T, Li J, Xu M, et al. PKC ϵ phosphorylates MIIP and promotes colorectal cancer metastasis through inhibition of RelA deacetylation. *Nat Commun*, 2017, 8: 939
- [39] Yoshida M, Kudo N, Kosono S, et al. Chemical and structural biology of protein lysine deacetylases. *Proc Jpn Acad Ser B Phys Biol Sci*, 2017, 93: 297-321
- [40] Li ZY, Li QZ, Chen L, et al. Histone deacetylase inhibitor RGFP109 overcomes temozolomide resistance by blocking NF- κ B-dependent transcription in glioblastoma cell lines. *Neurochem Res*, 2016, 41: 3192-205
- [41] Setoguchi S, Watase D, Matsunaga K, et al. Antitumor effects and delivery profiles of menahydroquinone-4 prodrugs with ionic or nonionic promoiety to hepatocellular carcinoma cells. *Molecules*, 2018, 23: E1738
- [42] Yang XD, Huang B, Li M, et al. Negative regulation of NF- κ B action by Set9-mediated lysine methylation of the RelA subunit. *EMBO J*, 2009, 28: 1055-6
- [43] Kim D, Nam HJ, Lee W, et al. PKC α -LSD1-NF- κ B-

- signaling cascade is crucial for epigenetic control of the inflammatory response. *Mol Cell*, 2018, 69: 398-411
- [44] Ea CK, Baltimore D. Regulation of NF- κ B activity through lysine monomethylation of p65. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2009, 106: 18972-7
- [45] Lu T, Jackson MW, Wang B, et al. Regulation of NF- κ B by NSD1/FBXL11-dependent reversible lysine methylation of p65. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2010, 107: 46-51
- [46] Levy D, Kuo AJ, Chang Y, et al. Lysine methylation of the NF- κ B subunit RelA by SETD6 couples activity of the histone methyltransferase GLP at chromatin to tonic repression of NF- κ B signaling. *Nat Immunol*, 2011, 12: 29-36
- [47] Webb WM, Irwin AB, Pepin ME, et al. The SETD6 methyltransferase plays an essential role in hippocampus-dependent memory formation. *Biol Psychiatry*, 2020, 87: 577-87
- [48] Kublanovsky M, Aharoni A, Levy D. Enhanced PKMT-substrate recognition through non active-site interactions. *Biochem Biophys Res Commun*, 2018, 501: 1029-33
- [49] Wei H, Wang B, Miyagi M, et al. PRMT5 dimethylates R30 of the p65 subunit to activate NF- κ B. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2013, 110: 13516-21
- [50] Wei H, Mundade R, Lange KC, et al. Protein arginine methylation of non-histone proteins and its role in diseases. *Cell Cycle*, 2014, 13: 32-41
- [51] Kota SK, Roening C, Patel N, et al. PRMT5 inhibition promotes osteogenic differentiation of mesenchymal stromal cells and represses basal interferon stimulated gene expression. *Bone*, 2018, 117: 37-46
- [52] Tikhanovich I, Kuravi S, Artigues A, et al. Dynamic arginine methylation of tumor necrosis factor (TNF) receptor-associated factor 6 regulates Toll-like receptor signaling. *J Biol Chem*, 2015, 290: 22236-49
- [53] Liu L, Ke Y, Jiang X, et al. Lipopolysaccharide activates ERK-PARP-1-RelA pathway and promotes nuclear factor- κ B transcription in murine macrophages. *Hum Immunol*, 2012, 73: 439-47
- [54] Liu J, Tao X, Zhang J, et al. Small ubiquitin-related modifier 1 is involved in hepatocellular carcinoma progression via mediating p65 nuclear translocation. *Oncotarget*, 2016, 7: 22206-18