

NF- κ B 在细胞凋亡中的调节作用和应用前景

张 勇 崔 岩

(沈阳农业大学畜牧兽医学院, 沈阳 110866)

摘 要: 核转录因子- κ B (nuclear factor-kappa B, NF- κ B) 是细胞核内重要的转录调节因子, 是细胞存活、细胞周期、细胞黏附和迁移的重要调节者。本文主要介绍了 NF- κ B 在细胞凋亡中的作用, 探讨了细胞凋亡与宰后肌肉嫩化的关系, 并展望了 NF- κ B 参与宰后肌肉嫩化过程的研究前景。

关键词: NF- κ B; 细胞凋亡; 肌肉嫩化

中图分类号: S852.2

文献标识码: A

文章编号: 1006-267X(2011)05-0715-05

近些年来, 随着生活水平的日益提高, 消费者对畜产品的品质要求也越来越高, 肉品质的提高毫无疑问成为当下讨论的热点之一, 而嫩度则是衡量肉品质的一项重要指标。宰后肌肉嫩化是改善肌肉嫩度的重要途径之一, 肌肉嫩化的发生普遍认为是肌细胞的细胞骨架降解造成的^[1]。而目前对于细胞骨架降解的机理研究大部分集中在钙激活酶系统、组织蛋白酶系统和蛋白酶体上, 有关于细胞凋亡在肌肉嫩化中的作用国内外还鲜见报道。据证实, 核转录因子- κ B (nuclear factor-kappa B, NF- κ B) 与细胞凋亡存在密切关系, 并参与多种凋亡相关基因的转录调控^[2]。

1 NF- κ B 概述

1.1 NF- κ B 的组成

NF- κ B 最早是于 1986 年由 Sen 和 Baltimore 发现, 他们应用凝胶电泳迁移率方法在 B 淋巴细胞核提取物中检测到一种能与免疫球蛋白 κ 轻链基因的增强子 κ B 序列 (GGG ACT TTCC) 特异结合的核蛋白因子, 并命名为 NF- κ B。NF- κ B 是细胞核内重要的转录调节因子, 是细胞存活、细胞周期、细胞黏附和迁移的重要调节者^[3]。

NF- κ B 是由 NF- κ B/Rel 蛋白家族成员 NF- κ B1

(p50, 前体为 p105)、NF- κ B2 (p52, 前体为 p100)、RelA (p65)、RelB 和 C-Rel 以同源或异源二聚体形式组成的。所有 NF- κ B/Rel 蛋白的 N 端均有 1 段由大约 300 个氨基酸组成的 Rel 同源结构域 (Rel homology domain, RHD), 该结构域包括二聚体化结构域, I κ B 结合位点, 核定位信号和 DNA 结合部位 (NLS)。p65、RelB 和 c-Rel 的 C 端含有转录激活域 (transactivation domain), 其中富含丝氨酸、酸性氨基酸和疏水性氨基酸, 能直接作用于转录元件而激活转录过程, 而 p50 和 p52 则无此结构^[4]。p50/p65 发现最早, 分布和作用最广泛, 是我们通常所说的 NF- κ B, 存在于细胞浆中^[5-6]。目前已知存在于细胞质中的 Rel/NF- κ B 蛋白复合物有 2 种类型, 即 Rel/NF- κ B 二聚体与 I κ B 家族结合所形成的三聚体以及 Rel 蛋白与未裂解前体 (如 p100) 结合所形成的二聚体^[7]。

1.2 NF- κ B 的激活

NF- κ B 的内源性抑制因子主要是 I κ B 抑制蛋白家族, 主要包括 I κ B α 、I κ B β 、I κ B ϵ 、I κ B γ 、Bcl3、p105 和 p100。在细胞静息状态下, NF- κ B 与其抑制蛋白 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), 阻止 NF- κ B 进入细胞核, 以非活性复合物的形式存在于细胞质中。不同的 I κ B

收稿日期: 2010-12-14

基金项目: 国家自然科学基金“钙蛋白酶调控猪体蛋白降解的信号途径研究” (30972112)

作者简介: 张 勇 (1972—), 男, 甘肃武威人, 博士, 教授, 硕士生导师, 主要从事分子营养学和饲料资源开发利用研究。E-mail: syndzhy@yahoo.com.cn

抑制 NF- κ B 的能力不同,它们与 NF- κ B 二聚体上的 RHD 发生作用,掩盖 NF- κ B 的 NLS,使之停留在胞质而抑制 NF- κ B 核易位^[8]。但是处于静息状态的成熟 B 淋巴细胞等极少数细胞例外,它们的胞浆中存在活化的 NF- κ B。NF- κ B 是一类具有和某些基因上启动子区固定核苷酸序列结合而启动基因转录的功能性蛋白质,所以诸多因素可以使 NF- κ B 促进基因转录活性增强^[9]。

NF- κ B 的激活机制是一个较为复杂的过程,目前公认的主要有 2 条途径:经典途径和旁路途径^[10-11]。当细胞受到蛋白激酶 C、细胞因子、钙离子载体等细胞外信号刺激时,I κ B 激酶(I κ B kinase, IKK)的亚单位 IKK β 由于磷酸化而激活,进而作用于 NF- κ B 二聚体(p50/p65)与 I κ B 结合的复合物,引起 I κ B α 被磷酸化,I κ B α 磷酸化进一步被泛素结合酶快速泛素化,然后在蛋白水解酶复合体作用下发生降解,从而将 NF- κ B 二聚体从三聚体(p50-p65-I κ B)中释放出来进行核易位,与基因上的 κ B 位点发生特异性结合,进而转入细胞核内发挥作用^[12],这个过程即为经典途径。与经典途径不同的是,旁路途径主要指 NF- κ B 中所含有的 p100 或者 p105 的二聚体被激活。在特定的细胞类型中,当细胞受到外界信号刺激后,在 NF- κ B 诱导激酶(NIK)的作用下使 IKK α 和前体 p100 磷酸化,经蛋白激酶作用诱导 NF- κ B/p100 产生 p52-RelB 异源二聚体,并使其进入细胞核与靶基因结合参与一系列的核转录活动^[13]。

除此之外,近年的研究发现,紫外线激活 NF- κ B 的机制与以上途径均不相同。紫外线通过激活酪蛋白激酶 2(CK2)引起 I κ B α 的 C 端磷酸化,从而引起 I κ B α 泛素化后降解。CK2 的激活不依赖 IKK 而是通过 p38 丝裂原活化蛋白激酶,因此 p38-CK2-I κ B α 也是激活 NF- κ B 的途径之一^[14]。

2 NF- κ B 与细胞凋亡

细胞凋亡(apoptosis)是指机体在一定生理、病理条件下为维持内环境稳定,一个细胞接受其内在指令而自动结束生命的过程。这个现象最早由 Carl Vogt 发现的,并将其命名为细胞凋亡^[15]。其形态学改变包括细胞皱缩、染色质浓缩、核裂解成碎片等。研究表明,活化后的 NF- κ B 与细胞凋亡有密切关系,其参与多种凋亡相关基因的转录调

控,具有抑制细胞凋亡和促进细胞凋亡的双向作用^[2]。

2.1 NF- κ B 对细胞凋亡的抑制作用

NF- κ B 具有抑制细胞凋亡的作用最早是在 1995 年被证实的,试验中发现被剔除 *RelA* 基因的胎鼠发育到 15 ~ 16 d 时死亡,并伴随着肝细胞的大量凋亡,其机制是通过肿瘤坏死因子受体 1(tumor necrosis factor receptor 1, TNFR1)介导发挥作用^[16]。NF- κ B 对细胞凋亡的抑制过程是一个涉及多个信号通路的复杂过程,其主要是通过对下游抗凋亡基因的转录激活作用来实现的,这些基因包括 *IEX-IL*、*Bcl-2* 家族、*c-FLIP* 以及 *IAP*(inhibitor of apoptosis)家族的 *XIAP*、*c-IAP-1*、*c-IAP-2* 等,其调节位点上均有 NF- κ B 的结合位点^[17],它们的产物通过作用于细胞凋亡酶-3(caspase-3)和线粒体的上游而发挥作用。例如,在纤维肉瘤细胞中,NF- κ B 诱导 *c-IAP-1*、*c-IAP-2*、*TNFR1* 和 *TNFR2* 共同表达,抑制细胞凋亡酶-8(caspase-8)活性,阻断细胞色素 C 释放,从而抑制细胞凋亡。众所周知,细胞色素 C 是 caspase-3 激活的促发因素,是调控的关键环节。又如 B 淋巴细胞中,CD₄₀ 诱导的抗凋亡也需要 NF- κ B 参与,通过上调 *Bcl-2*、*Bcl-X* 表达而发挥作用,如果阻断 NF- κ B 的激活就会消除上调作用而无法起到抗凋亡作用。

随着研究的深入,人们发现 NF- κ B 的抗细胞凋亡作用与越来越多的信号途径有关。A20 是一种锌指蛋白,研究表明,NF- κ B 可以通过调控 A20 蛋白的表达影响由 TNF 诱导的细胞凋亡过程^[18]。Gadd45 β 是一种核蛋白,研究发现,NF- κ B 是其上游的调节因子,可以通过调节其表达来影响激酶(JNK),进而抑制细胞凋亡的过程^[19]。

2.2 NF- κ B 对细胞凋亡的促进作用

在对 NF- κ B 的抗细胞凋亡作用的研究同时,一些证据则显示在不同的刺激因素和特定的细胞类型中,NF- κ B 对细胞凋亡具有促进作用。Baichwal 等^[20]报道,人的胚胎肾细胞系 293 在血清撤除时随着 NF- κ B 的活化而发生细胞凋亡,NF- κ B 的负显性突变基因已具有同样的结果。Dumont 等^[21]报道,抑制 NF- κ B 的活性可以使 T 细胞免于由过氧化氢诱导的细胞凋亡。Ivanov 等^[22]发现,在紫外线诱导黑色素瘤细胞凋亡的过程中 NF- κ B 的表达下调,细胞凋亡也随之减少。Campbell 等^[23]则发现,NF- κ B 是通过抑制抗凋亡基因而促

进细胞发生凋亡。Chen 等^[24]在肿瘤坏死因子相关凋亡途径的研究中发现,当 *RelA* 过量表达时,呈现对细胞凋亡的抑制作用,当 *c-Rel* 表达增加时,则呈现对细胞凋亡的促进作用。由此可见, NF- κ B 在细胞凋亡中的双向作用不仅取决于不同的刺激因素和细胞类型,也与激活的 NF- κ B 成员的种类和数量有关。

3 细胞凋亡与宰后肌肉嫩化

动物被屠宰放血后,肌细胞便失去营养基质的供给,血液循环的终止导致肌细胞没有氧气运

输的途径。缺血使细胞酸中毒,缺氧使线粒体内三羧酸循环受抑制,心肌转向糖酵解以寻求能量的补充,糖酵解产生大量乳酸堆积在心肌中引起细胞内 H^+ 浓度增高,从而使 Na^+/H^+ 交换增强, H^+ 流出胞外而 Na^+ 流入胞内,造成细胞内 H^+ 浓度下降, pH 升高, Na^+ 超载,继而引起 Na^+/Ca^{2+} 交换增加,并引起 Ca^{2+} 超载。在这种非常有害的生理条件下,细胞内产生了凋亡信号,很有可能诱发肌细胞强制性死亡。正如 Ouali 等^[25]推断,动物宰后应该有一个细胞凋亡的过程,如图 1 所示。

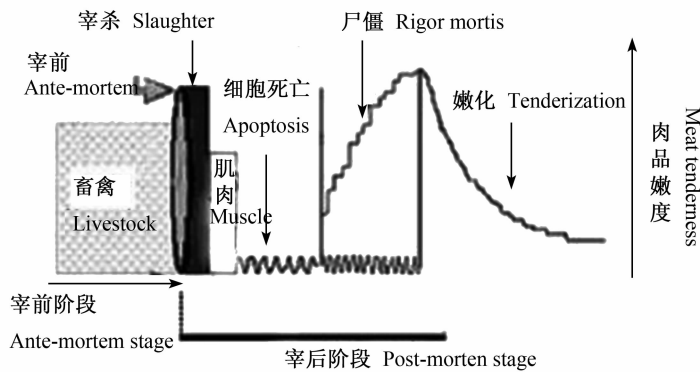


图 1 宰后肌肉转化为肉的过程

Fig. 1 The process of muscle transformed to meat after slaughter

宰后肌肉的成熟嫩化对嫩度的改善主要归因于对肌肉结构蛋白的有限降解。而大量试验已经证明,在细胞凋亡过程中,一些细胞凋亡酶参与细胞骨架和结构蛋白的降解。如 Communal 等^[26]研究证实了 caspase-3 在体外条件下参与心肌多种骨架蛋白的降解过程。黄明等^[27]在试验中发现 caspase-3 的专一抑制剂可以使鸡肉样品的多种骨架蛋白降解受抑制。从微观角度看,肌肉的成熟嫩化是肌细胞发生凋亡进而继发性坏死的过程,因此,细胞凋亡与肌肉的成熟嫩化有着密切的关系。

4 NF- κ B 在肌肉嫩化机制研究中的前景

肌肉嫩化机理学说有很多种,如肌肉自身成熟机制的“酶假说”,认为钙蛋白酶(calpain)系统经肌质网释放 Ca^{2+} 激活后,calpain 对细胞骨架进行降解,导致细胞支撑体系瓦解,从而改善肌肉的嫩度。对此已有报道研究了不同饲喂方式、不同的饲料蛋白质水平对猪背最长肌钙蛋白酶抑制蛋白表达量及嫩度的影响^[28-29]。又如外界刺激导

致肌肉成熟机制的理论,认为通过一定外界刺激加强肌肉收缩,肌动蛋白细丝过度插入引起 Z 线断裂,肌原纤维结构松弛,进而改善肌肉的嫩度^[30]。而目前,国内外研究人员均没有对动物屠宰后骨骼肌细胞的凋亡在肌肉嫩化中的作用机制进行深入研究。

NF- κ B 广泛存在于多种组织细胞中,激活后参与多种因子的转录调控,与细胞的凋亡存在密切关系。研究表明, NF- κ B 可以促进细胞凋亡,激发细胞凋亡酶家族,降解细胞骨架蛋白^[4]。NF- κ B 很可能参与了肉的嫩化过程,然而对于 NF- κ B 的研究大部分停留在人类和动物的疾病预防及治疗方面,在动物肉品质上的研究甚少。因此,深入研究二者之间的联系,便可以通过对 NF- κ B 的调节来诱导细胞凋亡,控制凋亡速率,进而可以缩短肌肉的成熟嫩化时间,调控和改善肉品质。

5 小结

NF- κ B 是一种多功能转录因子,以往多限于

在免疫细胞及各种疾病中的研究,在骨骼肌中,其研究刚刚起步。NF- κ B 在细胞凋亡中的作用已经逐渐明朗,细胞凋亡与肌肉嫩度的关联性也得到证实,因此,在动物营养领域的研究中,对 NF- κ B 作用的研究将极具前景。

参考文献:

- [1] 李胜杰,胡忠良,郭向莹,等. 细胞凋亡对肌肉宰后嫩化的贡献[J]. 食品工业科技,2010,4(31):395 - 398.
- [2] DUTTA J, FAN Y, GUPTA N, et al. Current insights into the regulation of programmed cell death by NF-kappa B[J]. *Oncogene*, 2006, 25:6800 - 6816.
- [3] KARIN M. Nuclear factor-kappa B in cancer development and progression [J]. *Nature*, 2006, 441 (7092):431 - 436.
- [4] 苏剑东,吴灵飞. NF- κ B 与细胞凋亡[J]. 世界华人消化杂志,2007,15(12):1411 - 1416.
- [5] GHOSH S, MAY M J, KOPP E B. NF-kappa B and Rel proteins; evolutionarily conserved mediators of immune responses[J]. *Annual Review Immunology*, 1998, 16:225 - 260.
- [6] HUXFORD T, MALRK S, GHOSH G. Structure and mechanism in NF-kappa B/I kappa B signaling [J]. *Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology*, 1999, 64:533 - 540.
- [7] PEREIRA S G, OAKLEV F. Nuclear factor-kappa B1; regulation and function [J]. *The International Journal of Biochemistry and Cell Biology*, 2008, 40 (8):1425 - 1430.
- [8] MALEK S, HUANG D B, HUXFORD T, et al. X-ray crystal structure of an I kappa Beta \times NF-kappa B p65 homodimer complex[J]. *The Journal of Biological Chemistry*, 2003, 278:23094 - 23100.
- [9] UEDA M, KOKURA S, IMAMOTO E, et al. Blocking of NF- κ B activation enhances the tumor necrosis factor α -induced apoptosis of a human gastric cancer cell line[J]. *Cancer Letters*, 2003, 193 (2):177 - 182.
- [10] BONIZZIGI G, KARIN M. The two NF-kappa B activation pathway and their role in innate and adaptive immunity [J]. *Trends in Immunology*, 2004, 25 (6):280 - 288.
- [11] LUO J L, KAMATA H, KARIN M. IKK/NF-kappa B signaling; balancing life and death-a new approach to cancer therapy[J]. *The Journal of Clinical Investiga-*
- [12] KARIN M, BEN-NEFINH Y. Phosphorylation meets ubiquitination; the control of NF- κ B activity[J]. *Annual Review of Immunology*, 2000, 18:621 - 663.
- [13] SENFTLEBEN U, CAO Y, XIAO G, et al. Activation by IKK alpha of a second, evolutionary conserved, NF-kappa B signaling pathway[J]. *Science*, 2001, 293(5534):1495 - 1499.
- [14] ESCARCEGA R O, FUENTES-ALECANDRO S, GATICA A, et al. The transcription factor nuclear factor-kappa B and cancer [J]. *Clinical Oncology*, 2007, 19(2):154 - 161.
- [15] KERR J F, WYLLIE A H, CURRIE A R. Apoptosis: a basic biological phenomenon with wide-ranging implications in tissue kinetics [J]. *British of Journal of Cancer*, 1972, 26:239 - 257.
- [16] DOI T S, MATINO M W, TAKAHASHI T, et al. Absence of tumor necrosis factor rescues RelA-deficient mice from embryonic lethality [J]. *Proceeding of the National Academy Sciences of the United States of America*, 1999, 96(6):2994 - 2999.
- [17] VERMEULEN L, VANDEN B W, HAEGEMAN G. Regulation of NF-kappaB transcriptional activity [J]. *Cancer Treatment and Research*, 2006, 130: 89 - 102.
- [18] MALEWICZ M, ZELLER N, YILMAZ Z B, et al. NF- κ B controls the balance between Fas and tumor necrosis factor cell death pathways during T cell receptor-induced apoptosis via the expression of its target gene A20[J]. *The Journal of Biological Chemistry*, 2003, 278:32825 - 32833.
- [19] ZAZZERONI F, PAPA S, ALVAREZ K, et al. Gadd45 β mediates the protective effects of CD40 costimulation against Fas-induced apoptosis [J]. *Blood*, 2003, 102(9):3270 - 3279.
- [20] BAICHWAL R, BAEUERLE A. Apoptosis; activate NF- κ B or die? [J]. *Current Biology*, 1997, 7(2): 94 - 96.
- [21] DUMONT A, HEHNER S P, HOFMANN T G, et al. Hydrogen peroxide-induced apoptosis is CD95-independent, requires the release of mitochondria-derived reactive oxygen species and the activation of NF-kappa B [J]. *Oncogene*, 1999, 18(3): 47 - 757.
- [22] IVANOV V, RONAI Z. P38 protects human melanoma cells from UV-induced apoptosis through down-regulation of NF-kappa B activity and Fas expression [J]. *Oncogene*, 2000, 19:3003 - 3012.

- [23] CAMPBELL K J, ROCHA S, PERKINS N D. Active repression of antiapoptotic gene expression by RelA(65) NF-kappa B [J]. *Molecular Cell*, 2004, 13(6):853-865.
- [24] CHEN X, KANDASAMY K, STIVASTAVA R K. Differential roles of RelA(65) and c-Rel subunits of nuclear factor kappa B in tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand signaling [J]. *Cancer Research*, 2003, 63:1059-1066.
- [25] OUALI A, HERRERA-MENDEZ C H, COULIS G, et al. Revisiting the conversion of muscle into meat and the underlying mechanisms [J]. *Meat Science*, 2006, 74(1):44-58.
- [26] COMMUNAL C, SUMANDEA M, TOMBE P, et al. Functional consequences of caspase activation in cardiac myocytes [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2002, 99(9):6252-6256.
- [27] 黄明,赵莲,徐幸莲,等. 鸡肉在成熟过程中肌原纤维蛋白的降解机制研究 [J]. *农业工程学报*, 2007(11):42-46.
- [28] 张勇,李方方,朱宇旌,等. 日粮不同蛋白质水平对猪骨骼肌钙蛋白酶抑制蛋白和钙蛋白酶基因表达及嫩度的影响 [J]. *动物营养学报*, 2008, 20(3):360-365.
- [29] 张勇,高彦,朱宇旌,等. 不同饲喂方式对猪背最长肌钙蛋白酶抑制蛋白和钙蛋白酶基因表达及剪切力的影响 [J]. *动物营养学报*, 2010, 22(3):640-646.
- [30] KEMP C, PARR T. Comparison of the relative expression of caspase isoforms in different porcine skeletal muscles [J]. *Meat Science*, 2006, 73:426-431.

NF- κ B: Modulation in Apoptosis and Application Prospects

ZHANG Yong CUI Yan

(School of Animal Science and Veterinary, Shenyang Agricultural University, Shenyang 110866, China)

Abstract: NF- κ B, an important factor for the modulation of gene transcription in cell nucleus, has major functions in the modulation of survival, cycle and agglutination of cells. This article reviewed the functions of NF- κ B in apoptosis, the relationship between apoptosis and tenderization of postmortem muscles, and the research prospects of NF- κ B as a modulator in tenderization of postmortem muscles. [*Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2011, 23(5):715-719]

Key words: NF- κ B; apoptosis; muscle tenderization