

Received: 2007.10.24
Accepted: 2008.01.18
Published: 2008.02.15

Budowa białek z rodziny NF- κ B i ich rola w procesie apoptozy*

The structure of NF- κ B family proteins and their role in apoptosis

Aleksandra Piotrowska¹, Ilona Iżykowska¹, Marzena Podhorska-Okołów¹,
Maciej Zabel^{1,2}, Piotr Dzięgiel¹

¹ Katedra i Zakład Histologii i Embriologii Akademii Medycznej we Wrocławiu

² Katedra i Zakład Histologii i Embriologii Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu

Streszczenie

Rodzina białek NF- κ B obejmuje czynniki transkrypcyjne zaangażowane w regulację ekspresji genów ważnych dla wielu procesów zachodzących na poziomie komórki. Dotychczas odkryto u ssaków 5 czynników transkrypcyjnych zaliczanych do dwóch grup różniących się budową C-końca łańcucha peptydowego. Fizjologiczną rolę odgrywają heterodimery NF- κ B, których aktywność jest ściśle regulowana. Najbardziej powszechnym jest dimer utworzony z połączenia białek p50/RelA (p50/p65). Kompleksy NF- κ B zatrzymywane są w cytoplazmie w wyniku interakcji z inhibitorami κ B (I κ B). Po zadziałaniu bodźca I κ B podlega fosforylacji, następnie degradacji w proteasomie, a wolny dimer NF- κ B transportowany jest do jądra komórkowego, gdzie kontroluje transkrypcję określonych genów. Główną rolę w fosforylacji I κ B odgrywają kinazy inhibitorów κ B (IKKs). Jest to kompleks białek, w skład którego wchodzi dwie podjednostki enzymatyczne – IKK α i IKK β oraz podjednostka regulatorowa NEMO. Wyróżnia się 3 podstawowe drogi aktywacji NF- κ B, którym podlegają odmienne dimery NF- κ B. Aktywatorami klasycznej drogi aktywacji są m.in. LPS, wirusy oraz cytokiny prozapalne. Alternatywna droga aktywacji wywoływana jest w wyniku działania takich białek, jak limfotoksyna β . Czynniki transkrypcyjny NF- κ B ulega także aktywacji w odpowiedzi na uszkodzenie DNA.

Powszechnie wiadomo, że NF- κ B działa antyapoptotycznie, przez co przyczynia się do przeżywania komórek z defektami i rozwoju wielu nowotworów. Jednakże ostatnie doniesienia wskazują na proapoptotyczne właściwości NF- κ B. Niniejsza praca stanowi próbę przedstawienia stanu aktualnej wiedzy na temat udziału czynnika transkrypcyjnego NF- κ B w procesie apoptozy.

Słowa kluczowe:

NF- κ B • I κ B • IKK • apoptoza • drogi aktywacji NF- κ B

Summary

The NF- κ B protein family encompasses transcription factors involved in controlling the expressions of genes which are crucial for several processes taking part at the cellular level. Five transcription factors, differing in the structure of the polypeptide chain of the C terminus, have been discovered in mammals so far. NF- κ B heterodimers play a physiological role and their activity remains under strict control. The most common is a dimer composed of p50/RelA (p50/p65) proteins. NF- κ B complexes are retained in the cytoplasm due to their interaction with κ B inhibitors (I κ B). When stimulated, I κ B undergoes phosphorylation and then degradation in a pro-

* Praca naukowa finansowana ze środków na naukę MNiSW w latach 2006–2009 jako projekt badawczy nr 2 P05A 149 30.



teasome, while the free NF-κB dimer is translocated to the cell nucleus, where it regulates the transcription of target genes. A key role in IκB phosphorylation is played by kinases of κB inhibitors (IKKs). They involve a protein complex encompassing two enzymatic subunits, IKKα and IKKβ, and the regulatory subunit NEMO. Three principal pathways of NF-κB activation are distinguished, which involve distinct NF-κB dimers. Activators of the classical triggering pathway include, among others, lipopolysaccharide composing the envelope of Gram-negative bacteria, viruses, and pro-inflammatory cytokines. Another activation pathway is induced by the action of such proteins as lymphotoxin β. NF-κB transcription factor also becomes activated in response to DNA damage. As generally recognized, NF-κB exerts an anti-apoptotic action, promoting the survival of defective cells, which may result in the development of several tumors. Nevertheless, recent reports also point to a pro-apoptotic activity of NF-κB. This review is an attempt to present current knowledge on the involvement of NF-κB transcription factor in cell death by apoptosis.

Key words: NF-κB • IκB • IKK • apoptosis • signaling pathways to NF-κB

Full-text PDF: http://www.phmd.pl/pub/phmd/vol_62/11537.pdf

Word count: 3253

Tables: 2

Figures: 2

References: 96

Adres autorki: mgr Aleksandra Piotrowska, Katedra i Zakład Histologii i Embriologii Akademii Medycznej we Wrocławiu, ul. Chałubińskiego 6a, 50-368 Wrocław; e-mail: ola@hist.am.wroc.pl

Wykaz skrótów: **AIF** – czynnik indukujący apoptozę (apoptosis inducing factor); **ANT** – translokaza nukleotydów adeninowych (adenine nucleotide translocator); **ARD** – domena zawierająca powtórzenia ankirykowe (ankirin repeat domain); **ARF** – białko o alternatywnej ramce odczytu (alternative reading frame protein); **BAFF** – czynnik aktywujący limfocyty B (B cell activating factor); **Bcl** – białko onkogenu białaczki limfocytów B (oncogene B cell leukemia); **CD** – kompleks różnicowania (cluster of differentiation); **CDC** – białko cyklu podziałowego komórki (cell division cycle); **c-FLIP** – białko FLIP komórkowe (cellular FLIP); **c-IAP** – komórkowy inhibitor apoptozy (cellular inhibitor of apoptosis protein); **CK** – kinaza kazeiny (casein kinase); **COX** – cyklooksygenaza (cyclooxygenase); **DD** – domena śmierci (death domain); **DED** – wykonawcza domena śmierci (death execution domain); **ELKS** – białko bogate w aminokwasy leucynę, kwas glutaminowy, lizynę i serynę (protein rich in amino acids E, L, K and S); **FADD** – związane z Fas białko adaptorowe z domeną śmierci (Fas-associated death domain-containing protein); **Fas** – receptor liganda Fas; **FasL** – ligand Fas; **FLICE** – kaspaza 8 (FADD-like interleukin-1β-converting enzyme); **FLIP** – białko hamujące FLICE (FLICE-inhibitory protein); **GM-CSF** – czynnik stymulujący wzrost kolonii granulocytów i makrofagów (granulocyte and macrophage colony stimulating factor); **GRR** – region bogaty w glicynę (glycine rich region); **G-SCF** – czynnik stymulujący wzrost kolonii granulocytów (granulocyte colony stimulating factor); **HDAC** – deacetylaza histonowa (histone deacetylase); **HSP** – białko wstrząsu cieplnego (heat-shock protein); **IAP** – inhibitor apoptozy (inhibitor of apoptosis protein); **I-CAM** – cząsteczka adhezji międzykomórkowej (intercellular adhesion molecule); **IKK** – kinaza białka IκB (IκB kinase); **IL** – interleukina (interleukin); **iNOS** – indukowalna syntaza tlenu azotu (inducible nitric oxide synthase); **IκBs** – białka inhibitorowe czynnika jądrowego κB (inhibitory proteins of NF-κB); **JNK** – N-końcowa kinaza c-Jun (c-Jun N-terminal kinase); **LPS** – lipopolisacharyd (lipopolysaccharide); **LT** – limfotoksyna (lymphotoxin); **MHC I** – główny układ zgodności tkankowej klasy I (major histocompatibility complex class I); **MIP** – białko zapalne makrofagów (macrophage-inflammatory protein); **MMP** – metaloproteinaza macierzy zewnątrzkomórkowej (matrix metalloproteinase); **MnSOD** – manganowa dysmutaza ponadtlenkowa (manganese-containing superoxide dismutase); **M-SCF** – czynnik stymulujący wzrost kolonii makrofagów (macrophage colony stimulating factor); **NAP** – białko związane z kinazą NAK (NAK-associated protein); **NBD** – domena wiążąca NEMO (NEMO binding domain); **NEMO** – podjednostka regulatorowa IKKγ (NF-κB essential modulator); **NES** – sygnał eksportu jądrowego (nuclear export signal); **NF-κB** – transkrypcyjny czynnik jądrowy κB (nuclear factor κB); **NLS** – sygnał lokalizacji jądrowej

(nuclear localization signal); **PIR** – białko niezależne od inhibitora (proteasome inhibitor-resistant); **RANTES** – chemokina β syntetyzowana przez limfocyty T (regulated on activation normal T cell expressed and secreted); **RHD** – domena homologiczna Rel (Rel homology domain); **RIP** – białko wykazujące powinowactwo do receptora TNF (TNF-receptor interacting protein); **SRR** – region wrażliwy na sygnał (signal responsive region); **TAD** – domena aktywująca transkrypcję (transcription activation domain); **THANK** – homolog TNF aktywujący apoptozę, NF- κ B i kinazę JNK (TNF homologue that activates apoptosis, nuclear factor κ B and JNK kinase); **TNF** – czynnik martwicy nowotworu (tumor necrosis factor); **TRAF** – czynnik (białko adaptorowe) związany z receptorem dla TNF (TNF receptor associated factor); **TRAIL** – ligand związany z TNF- α indukujący apoptozę (TNF related apoptosis inducing ligand); **uPA** – urokinazowy aktywator plazminogenu (urokinase-type plasminogen activator); **V-CAM** – cząsteczka adhezji do śródbłonka naczyń (vascular cell adhesion molecule); **VEGF** – śródbłonkowy czynnik wzrostu naczyń (vascular endothelial growth factor); **VEGI** – inhibitor śródbłonkowego czynnika wzrostu naczyń (vascular endothelial growth inhibitor); **XIAP** – inhibitor apoptozy związany z chromosomem X (X-chromosome-linked inhibitor of apoptosis protein)

WSTĘP

Transkrypcyjny czynnik jądrowy κ B (nuclear factor- κ B) odkryli i opisali dwaj badacze, Sen i Baltimore [76] w 1986 r. jako jądrowy czynnik, który wiąże się z promotorem genu łańcucha lekkiego (κ) immunoglobulin w dojrzałych limfocytach B i odgrywa istotną rolę w procesach odpornościowych (odporność wrodzona i nabyta) oraz zapalnych. Dowiedziano, że jest on bardzo powszechnym czynnikiem transkrypcyjnym, występującym we wszystkich typach komórek, od muszki owocowej *Drosophila melanogaster* do człowieka [1]. W wielu badaniach przeprowadzonych w ostatnich 10 latach wykazano, iż białka z rodziny NF- κ B są zaangażowane również w procesy proliferacji i apoptozy.

Apoptoza jest swoistym rodzajem śmierci odpowiedzialnym za usuwanie zbędnych komórek podczas rozwoju embrionalnego, utrzymywanie homeostazy tkankowej oraz eliminację komórek z nieodwracalnymi defektami [79]. Dlatego tak ważne jest, aby apoptozie podlegały potencjalnie niebezpieczne komórki, które mogą zapoczątkować proces nowotworowy lub choroby autoimmunizacyjne. NF- κ B jest czynnikiem, któremu przypisuje się rolę inhibitora apoptozy, a ma to wpływ na rozwój wielu nowotworów [29]. Jednakże niektórzy badacze dowodzą, iż NF- κ B ma również aktywność proapoptotyczną [12,18,28,37,47,54,73,84]. Co decyduje o tym, że NF- κ B chroni komórki lub kieruje je na drogę apoptozy nie jest do końca poznane. W pracy omówiono stan wiedzy na temat białek z rodziny NF- κ B, ich dróg aktywacji oraz udziału w regulacji procesu apoptozy.

RODZINA BIAŁEK NF- κ B

U ssaków zidentyfikowano dotychczas 5 czynników transkrypcyjnych należących do rodziny białek NF- κ B: NF- κ B1 (p50 oraz jego prekursor p105), NF- κ B2 (p52 i jego prekursor p100), RelA (czyli p65), RelB oraz c-Rel [27,34,60]. Białka te charakteryzują się obecnością strukturalnie konserwatywnego regionu w N-końcowym odcinku łańcucha peptydowego, zwanego domeną RHD (Rel homology domain). Fragment ten zbudowany jest z około 300 aminokwasów i odpowiada za dimeryzację, łączenie się cząsteczek z właściwą sekwencją DNA oraz interakcje z białkami będącymi swoistymi inhibitorami (IkB) [25,27,60,66]. Ponadto w obrębie domeny RHD znajduje się sekwencja

NLS (nuclear localization sequence), która stanowi o translokacji dimerów do jądra komórkowego [25,57].

Ze względu na różnice w odcinku C-końcowym łańcucha peptydowego, wśród białek NF- κ B wyodrębniono 2 grupy. Do pierwszej zalicza się białka RelA, RelB i c-Rel zawierające na C-końcu sekwencję TAD (transcription activation domain), dzięki której mogą aktywować transkrypcję cząsteczki DNA. Drugą grupę stanowią białka NF- κ B1 (p105/p50) i NF- κ B2 (p100/p52) syntetyzowane jako białka prekursorowe p105 i p100 (o masie odpowiednio 105 i 100 kDa), które mają w odcinku C-końcowym domenę ARD (ankirin repeat domain) zawierającą wiele (5–7) powtórzeń ankirynowych. [9,25,32]. Są to sekwencje składające się z 30–33 aminokwasów charakterystycznych dla białka ankiryiny [51]. Powtórzenia te odpowiadają za wiązanie z sekwencją NLS białek NF- κ B [51,57,60]. Na skutek proteolizy ubikwitynozależnej tychże fragmentów generowane są postaci ostateczne (p50 i p52), które mają domenę RHD, dzięki czemu mogą się łączyć z cząsteczką DNA. Jednakże są one pozbawione domeny TAD, odpowiedzialnej za aktywację transkrypcji, dlatego też funkcjonują jako represory transkrypcji [25,34,57,66]. Ponadto białka p105 i p100 są zaopatrzone w region bogaty w glicynę (GRR – glycine-rich region), który zapobiega przed całkowitą degradacją tych cząsteczek w proteasomie oraz region SRR (signal responsive region), zawierający miejsce fosforylacji dla IKK (kinaza inhibitora κ B) [57,86]. W tabeli 1 przedstawiono informacje na temat obecnie funkcjonującego nazewnictwa białek NF- κ B.

Ponieważ mechanizm powstawania prekursora p105 w komórce jest o wiele bardziej wydajny niż powstawania prekursora p100, dlatego też większość komórek charakteryzuje się wysokim poziomem białka p50, a ilość białka p52 jest stosunkowo niewielka i ściśle regulowana [42,59].

DIMERY

Formami aktywnymi, pełniącymi funkcje regulatorowych białek transkrypcyjnych z rodziny NF- κ B są dimery utworzone przez łączenie się białek z wyżej wymienionych obu grup. Wszystkie białka z rodziny NF- κ B (z wyjątkiem Rel B) mogą występować w postaci zarówno homo-, jak i heterodimerów [25,35,60]. Jednakże efekt biologiczny wywierają tylko heterodimery. W cytoplazmie występują różnorodne



Tabela 1. Białka NF- κ B, I κ B i IKK (zmodyfikowane na podstawie [14,25])

Białko	Synonim	Możliwe kompleksy z innymi białkami z rodziny NF- κ B
Białka Rel/NF-κB		
p50 lub p105	NF- κ B1, p110, KBF1, EBO-1	RelA, RelB, Bcl-3
p52 lub p100	NF- κ B2, p50B lub p97, p49 lub p100, p55 lub p908, Lyt10, H2TF1	RelB, Bcl-3
RelA	p65	p50, p52
RelB	I-Rel	p50, p52
c-Rel	Brak	p50, p52, RelA
Białka IκB		
I κ B α	MAD-3, pp40, RL/IF-1, ECI-6	wszystkie dimery NF- κ B
I κ B β	Brak	wszystkie dimery NF- κ B
I κ B γ	P105/pdl, C-końcowy fragment p105	wszystkie dimery NF- κ B
I κ B ϵ	Brak	wszystkie dimery NF- κ B
Bcl-3	Brak	wszystkie dimery NF- κ B
Kinazy IκB (IKK)		
IKK α	IKK1, CHUK	nieznane
IKK β	IKK2	nieznane
IKK γ	IKK3, NEMO (NF- κ B essential modulator)	nieznane

kombinacje poszczególnych białek, a najbardziej powszechnym w wielu typach komórek jest dimer p50/RelA (p50/p65), określany mianem NF- κ B [32,35,96]. W zależności od struktury poszczególnych dimerów, mogą one w zróżnicowany sposób regulować ekspresję genów oraz mieć różne powinowactwo do poszczególnych miejsc promotorowych, przez co wywierają odmienny efekt biologiczny [14,25].

Homodimery p50/p50 i p52/p52 funkcjonują jako inhibitory transkrypcji, jednakże mogą aktywować ją w chwili, gdy utworzą kompleks z białkiem Bcl-3, należącym do rodziny białek I κ B [16,31]. RelA i c-Rel mają w swojej budowie domenę RHD, przez co funkcjonują jako aktywatory transkrypcji, podobnie jest z RelB, gdy tworzą kompleksy z p52 lub p50. Natomiast heterodimery RelB/RelA są represorami, ponieważ nie mogą się związać z cząsteczką DNA [65].

Bardzo duże znaczenie w regulacji transkrypcji genów przez białka z rodziny NF- κ B ma również czas przenikania aktywnych heterodimerów do jądra komórkowego. Translokacja p50/RelA jest znacznie szybsza niż p50/c-Rel nawet o kilka godzin od chwili zadziałania bodźca, co ma ogromny wpływ na efekt końcowy działającego dimeru [25].

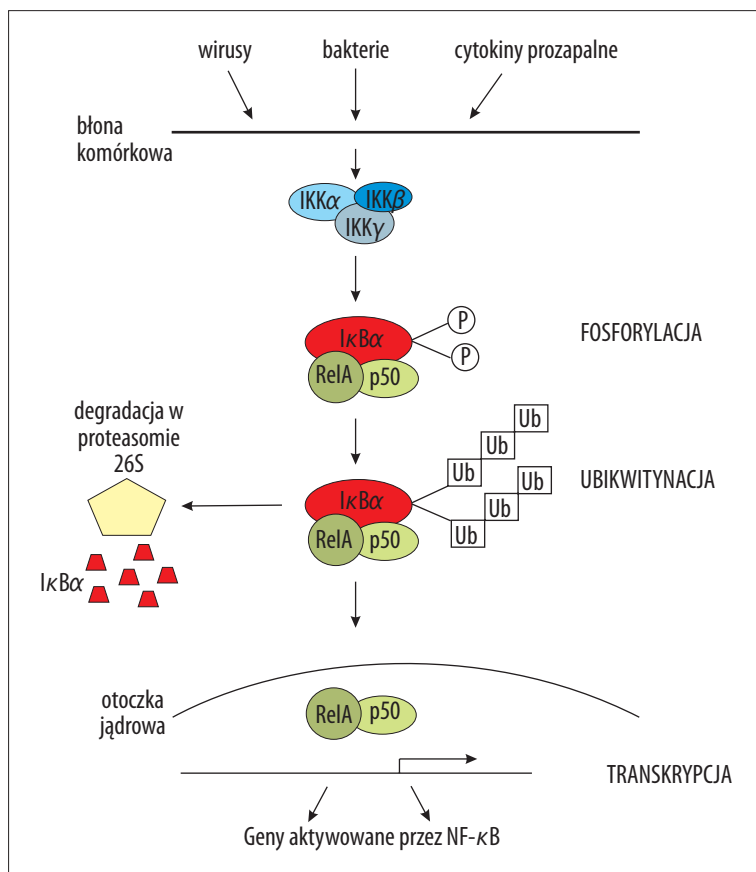
INHIBITORY NF- κ B (I κ B)

W większości komórek aktywność kompleksów NF- κ B jest bardzo ściśle regulowana (jedynie w dojrzałych limfocytach B odbywa się stała, konstytutywna aktywacja NF- κ B) [35,82]. Dlatego też dimery są zatrzymywane w cytoplazmie w po-

staci nieaktywnej przez niekwalentne związanie ich z białkami inhibitorowymi zwanymi I κ B [14,56,60]. Do rodziny białek I κ B należą: I κ B α , I κ B β , I κ B γ , I κ B ϵ , (C-końcowy fragment p105), I κ B δ (C-końcowy fragment p100), I κ B ζ , Bcl-3 [14,25,86,96]. Białka I κ B charakteryzują się obecnością wielu powtórzeń ankrynowych (6–7). Motyw ten stanowi o wiązaniu I κ B do sekwencji NLS białek NF- κ B [57,60]. Prekursory p105 i p100 również zawierają powtórzenia ankrynowe, dlatego zaliczane są do białek I κ B, mających zdolność do retencji podjednostek Rel w obrębie cytoplazmy [25,57,60]. Białka Bcl-3 i I κ B ζ są wyjątkami wśród I κ B. Zaliczono je do tej grupy tylko ze względu na ich budowę, jednak pełnią odmienną funkcję. Bcl-3 łączy się z homodimerami p52 i p50, i jest aktywatorem transkrypcji, gdyż ma w swej budowie domenę TAD [16,23,25,57]. Podobnie działa I κ B ζ , na stałe umiejscowiony w jądrze komórkowym [31,94].

Bottero i wsp. [15] wykazali, że kompleksy NF- κ B/I κ B występują również w międzybłonowych przestrzeniach mitochondrialnych. Inhibitor I κ B wiąże się tam z białkiem błony wewnętrznej mitochondrium – ANT, będącym głównym elementem struktury megakanalu [15,62].

Istotą działania białek I κ B jest maskowanie przez nie sekwencji NLS podjednostek NF- κ B. Jednakże badania krystalograficzne, strukturalne i biochemiczne ujawniły, że I κ B α maskuje sekwencję NLS tylko w podjednostce RelA, pozostawiając tym samym wolną NLS w p50 [13,45]. Pozwala to na ciągłą translokację kompleksu białek NF- κ B do jądra komórkowego [64]. Co ważne, białko I κ B zawiera na N-końcu



Ryc. 1. Klasyczna droga aktywacji NF-κB. Po zadziałaniu odpowiednich czynników pobudzających (np. wirusy, bakterie, cytokiny prozapalne) dochodzi do aktywacji kompleksu kinaz IKK. Aktywny kompleks IKK katalizuje fosforylację IκBα, czego następstwem jest przyłączenie ubikwityny i degradacja inhibitora w proteasomie 26S. Wolne dimery RelA/p50 wnikają do jądra komórkowego, gdzie zapoczątkowują transkrypcję określonych genów

łańcucha polipeptydowego sekwencją NES (nuclear export signal), która odpowiada jednocześnie za ciągłe usuwanie kompleksu NF-κB z jądra komórkowego. Ponieważ proces eksportu jest o wiele bardziej wydajny niż importu, dlatego przyjmuje się, że dimery pozostają uwięzione w cytoplazmie [39], a jądrową lokalizację kompleksu NF-κB/IκB można wykręcić po zablokowaniu transportu z jądra do cytoplazmy z użyciem inhibitora leptomycyny B [57].

Podobnie przemieszczają się pomiędzy jądrem a cytoplazmą kompleksy związane z inhibitorami IκBε [63]. Co ciekawe, IκBβ nie mają sekwencji NES, a kompleksy NF-κB/IκBβ pozostają w cytoplazmie, ponieważ inhibitor ten maskuje obie sekwencje NLS w dimerze [64,85].

KINAZY INHIBITORÓW κB (IKKs)

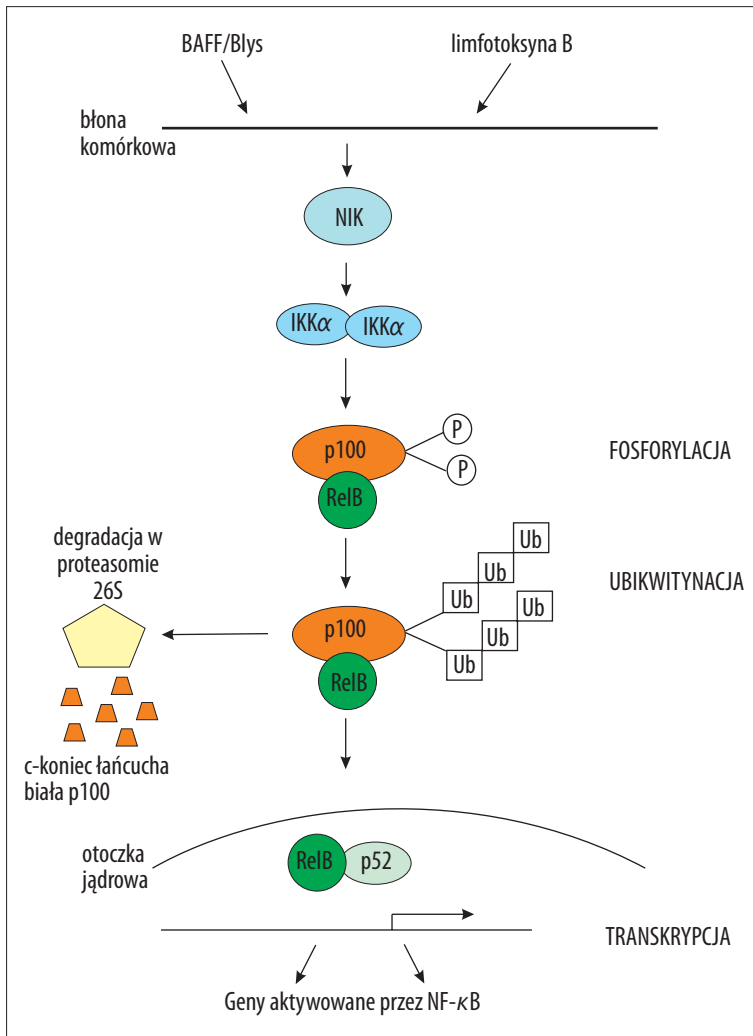
Jest to kompleks białek o masie cząsteczkowej 900 kDa, którego zadaniem jest fosforylacja IκB. Rdzeniem tej struktury są dwie podjednostki o właściwościach enzymatycznych – kinazy IKK1 (IKKα) i IKK2 (IKKβ) oraz podjednostka strukturalna IKKγ, powszechnie zwana NEMO (NF-κB essential modulator), niezbędna do prawidłowej fosforylacji cząsteczki inhibitora. Kinazy, oprócz charakterystycznych dla swojej funkcji domen, zawierają również motyw zamka leucynowego łączącego podjednostki katalityczne – motyw helisa-pętla-helisa oraz domenę NBD (NEMO binding domain), odpowiedzialną za kontakt z jednostką regulatorową. Niedawno odkryto dodatkowe elementy związane z kompleksem IKK: HSP90, CDC37, ELKS oraz białko NAPI, których funkcja nie została do końca poznana [86].

KLASYCZNY SPOSÓB AKTYWACJI NF-κB

Wyodrębniono 3 główne sposoby aktywacji NF-κB prowadzące do translokacji wolnych dimerów NF-κB z cytoplazmy do jądra komórkowego, które łącząc się z właściwą sekwencją DNA umożliwiają transkrypcję swoistych dla danego modelu aktywacji genów.

Aktywatorami klasycznej aktywacji są: LPS – lipopolisacharyd wchodzący w skład otoczki bakterii Gramujemnych, wirusy oraz cytokiny prozapalne, takie jak IL-1β i TNF-α [60,86]. Istotą tego sposobu jest degradacja IκBα, który więzi dimery p50/RelA i p50/c-Rel w cytoplazmie [36,41]. Dzieje się to z udziałem kinazy IKKβ [14,27,58]. Po zadziałaniu bodźca, IKKβ katalizuje fosforylację IκBα na N-końcowej domenie regulatorowej w dwóch resztach seryny – Ser-32 i Ser-36 [88] (inne rodzaje IκB mają następujące miejsca fosforylacji: Ser-19 i Ser-23 dla IκBβ, Ser-157 i Ser-161 dla IκBε) [74]. Ufosforylowane miejsca w IκBα są następnie rozpoznawane przez ligazę ubikwityny SCF, co prowadzi do gwałtownej ubikwitynacji IκBα na dwóch sąsiadujących resztach lizyny (Lys-21 i Lys-22) [10,14,50,60], a następnie do degradacji IκBα przez proteasom 26S i uwolnienia dimerów NF-κB. Odłączenie IκBα powoduje odsłonięcie sekwencji NLS i translokację dimerów NF-κB do jądra komórkowego, gdzie łączą się ze swoistym miejscem w cząsteczce DNA o wielkości 10 par zasad: 5'-GGGpuNNPyPyCC-3' (Pu – puryna, Py – pirymidyna, N – dowolna zasada) w przypadku p50/RelA [1,68] i aktywuje transkrypcję genów (ryc. 1) [33].





Ryc. 2. Alternatywna droga aktywacji NF-κB. W odpowiedzi na działanie niektórych białek z rodziny cytokin TNF (BAFF/Blys, LT β) dochodzi do aktywacji kinazy NIK, która fosforyluje i aktywuje kinazę IKKα, czego następstwem jest fosforylacja białka prekursorowego p100. Białko to podlega ubikwitynacji, wynikiem czego jest degradacja C-konca łańcucha peptydowego w proteasomie 26S. Nowo powstałe białko p52 wchodzi w skład heterodimeru RelB/p52, który transportowany jest do jądra komórkowego i reguluje transkrypcję odpowiednich genów

Klasyczna aktywacja NF-κB jest bardzo ściśle regulowana przez aktywność samego czynnika NF-κB. Wśród genów będących pod kontrolą NF-κB jest gen *IκBα*, kodujący białko IκBα [25,60]. Aktywacja NF-κB prowadzi do gwałtownej resyntezy inhibitora, który gromadzi się w obszarze jądra komórkowego i odłącza NF-κB od DNA [17]. Cytoplazmatyczna pula nowo powstałych, nieaktywnych kompleksów NF-κB/IκBα jest przywracana w procesie eksportu z jądra do cytoplazmy, dzięki sekwencji NES umiejscowionej w cząsteczce IκBα [44].

Fosforylacja IκB, a następnie degradacja inhibitora, jest niezbędnym etapem aktywacji czynnika NF-κB. W sytuacji, gdy zastąpi się fosforylowane aminokwasy serynowe Ser-32 i Ser-36 na reszty alaninowe, niemożliwa staje się degradacja inhibitora IκB [74]. W ten sposób powstałe zmutowane postaci IκB określa się mianem „super-represorów”, gdyż ich ekspresja uniemożliwia translokację dimerów NF-κB z cytoplazmy do jądra komórkowego [5,50,74,95].

ALTERNATYWNY SPOSÓB AKTYWACJI NF-κB

Drugim rodzajem aktywacji dimerów NF-κB jest tzw. alternatywna aktywacja, wywoływana w odpowiedzi na

działanie niektórych białek z rodziny cytokin TNF, takich jak np. limfotoksyna β (LTβ) i stymulator limfocytów B (BAFF) [60,86] oraz ligand CD40. Ten ostatni może jednak zapoczątkowywać również klasyczną aktywację [60]. Po zadziałaniu bodźca dochodzi do aktywacji kinazy NIK, która fosforyluje i aktywuje kinazę IKKα. W następstwie tego kinaza IKKα (niezależnie od jednostki enzymatycznej IKKβ i jednostki regulatorowej NEMO) [21,24] fosforyluje w obrębie regionu SRR białko prekursorowe p100, które jest związane z RelB i stanowi nieaktywną pulę w cytoplazmie [83,86]. Ufosforylowane białko p100 podlega ubikwitynacji i częściowej degradacji (proteolizie podlega C-koniec łańcucha polipeptydowego bogaty w powtórzenia ankrynowe), dzięki czemu powstaje postać p52 i aktywny transkrypcyjnie dimer p52/RelB [24,41,93], który jest transportowany do jądra komórkowego (ryc. 2) [24].

ATYPOWY SPOSÓB AKTYWACJI NF-κB

NF-κB ulega aktywacji również w odpowiedzi na uszkodzenie DNA. Aktywacja ta została nazwana atypową, ponieważ indukcja następuje bez udziału mechanizmu ligand-receptor oraz jest niezależna od działania kompleksu kinaz IKK [60,86]. Czynniki uszkadzające DNA, takie jak promieniowanie UV lub doksorubicyna powodują fosforyla-

Tabela 2. Geny, których ekspresja jest kontrolowana przez NF- κ B [56,86,96]

Klasa genów	Geny będące pod kontrolą NF- κ B
Cytokiny	interleukiny (IL) 1 α , 1 β , 2, 6, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 15; limfotoksyna (LT) α i β ; TNF α i β ; interferon β i γ ; TRAIL; Fas
Chemokiny	MIP (białko zapalne drobnoustrojów); RANTES
Czynniki wzrostu	G-SCF – czynnik stymulujący wzrost kolonii granulocytów, M-SCF – czynnik stymulujący wzrost kolonii makrofagów, GM-SCF – czynnik stymulujący wzrost kolonii granulocytów i makrofagów, erytropoetyna, VEGF
Cząsteczki immunoregulatorowe	CD40, immunoglobulina (IgG) γ 1, IgG γ 4, łańcuch lekki κ Ig, łańcuch ciężki ϵ Ig, MHC klasy I (H-2 Kb)
Cząsteczki adhezji komórkowej	E-selektyna, fibronektyna, I-CAM – cząsteczki adhezji międzykomórkowej, V-CAM – cząsteczki adhezji komórkowej naczyń
Geny stresu komórkowego	angiotensyna II, cyklooksigenaza (COX) 2, iNOS, dysmutaza nadtlenkowa (Mn SOD), fosfolipaza A2
Białka ostrej fazy	angiotensynogen, uPA, β -defensyna 2
Regulatory apoptozy	czynnik związany z receptorem TNF (TRAF) 1 i 2, inhibitor apoptozy (IAP), FasL, c-FLIP, kaspaza 11, Bcl-2, Bcl- χ ₁ , Bfl1/A1
Czynniki transkrypcyjne	c-myc, c-myc, białka z rodziny Rel/NF- κ B (p52/p100, p50/p105, c-Rel, RelB), białka I κ B (I κ B α , I κ B β , Bcl-3)
Enzymy	kolagenaza 1, lizozym, metaloproteinaza 9 macierzy zewnątrzkomórkowej (MMP-9), syntaza, fosfolipaza C δ 1, transglutaminaza

cję I κ B α z udziałem kinazy kazeiny 2 (CK2) aktywowanej kinazą p38 oraz następową degradację w proteasomie [53]. Wolne dimery NF- κ B, głównie p50/RelA, aktywują ekspresję genów w sposób podobny do metody klasycznej [86], jednakże nie dowiedziono jeszcze fizjologicznej roli tego typu aktywacji NF- κ B [71].

O'Connor i wsp. [69] opisali sposób aktywacji polegający na degradacji I κ B α (lecz nie I κ B β) z udziałem białka PIR (proteasome inhibitor-resistant), a co za tym idzie niewymagającą degradacji inhibitora κ B w proteasomie. W wyniku działania białka PIR zależnego od kompleksu kinaz IKK, powstają dimery p50/c-Rel, które wykazują konstytutywną aktywność w limfocytach B.

NF- κ B jest wszechobecnie występującym czynnikiem transkrypcyjnym, którego aktywacja na jeden z wyżej opisanych sposobów kontroluje ekspresję około 200 genów, związanych z ważnymi procesami komórkowymi, takimi jak proliferacja, różnicowanie oraz apoptoza komórek zarówno prawidłowych, jak i nowotworowych (tabela 2). Wśród genów podlegających aktywacji NF- κ B są również geny kodujące m.in. białka Rel, p100, p105 oraz I κ B, tworząc w ten sposób swoistą pętlę autoregulacyjną [25]. Wszystkie geny aktywowane przez NF- κ B mają sekwencję złożoną z 10 par zasad (która podana została powyżej), zwaną κ B [81].

ANTYAPOPTOTYCZNE DZIAŁANIA NF- κ B

Apoptoza jest procesem programowanej śmierci komórki, który wymaga wielu zmian biochemicznych i morfologicznych zachodzących w obrębie komórki apoptotycznej. Są to m.in.: kondensacja chromatyny, fragmentacja jądrowego DNA na odcinki o wielkości 180–200 par zasad, obkurczanie się komórki, powstanie ciałek apoptotycznych i ich późniejsza fagocytoza [3,20,22]. Prawidłowy przebieg pro-

cesu apoptozy gwarantuje właściwą liczbę komórek w organizmie oraz eliminację komórek potencjalnie niebezpiecznych (np. ulegających transformacji nowotworowej). Czynniki transkrypcyjne z rodziny Rel/NF- κ B działają antyapoptotycznie w wielu rodzajach komórek, przyczyniając się do ich przeżycia w dwojaki sposób – indukując transkrypcję genów antyapoptotycznych lub hamując aktywność genów proapoptotycznych [79]. NF- κ B pobudza ekspresję wielu genów, których produkty końcowe mają zdolność hamowania apoptozy. Są to m.in.: komórkowe inhibitory apoptozy (c-IAPs), inhibitory XIAPs, białko c-FLIP, białko A1/Bfl1, czy też czynnik związany z receptorem TNF (TRAF1 i TRAF2) [52]. Zablokowanie translokacji NF- κ B z cytoplazmy do jądra komórkowego wzmacnia działanie proapoptotyczne, m.in.: cytokin należących do rodziny TNF, chemioterapeutyków, promieniowania jonizacyjnego, hormonów oraz mikroorganizmów [79].

Komórka może odbierać sygnały kierujące ją na drogę apoptozy od innych komórek poprzez białka przez nie syntetyzowane, tzw. aktywatory śmierci, które łączą się ze swoistymi receptorami na powierzchni komórki (zewnętrzny szlak indukcji apoptozy). Możliwy jest także szlak wewnętrzny polegający na działaniu sygnałów wewnątrz komórki informujących o jej nieodwracalnym uszkodzeniu [79].

Szlak zewnętrzny inicjowany jest dzięki działaniu tzw. ligandów śmierci, które łączą się na powierzchni komórek z receptorami śmierci, co skutkuje aktywacją kaskady kaspaz prowadzących do programowanej degradacji składników komórki [4,78]. Najlepiej poznanym czynnikiem indukującym apoptozę w komórkach ssaków jest czynnik martwicy nowotworów (TNF), jednakże wiele innych czynników należących do nadrodziny TNF ma takie same właściwości. Są to m.in.: LT (limfotoksyna), FAS-ligand, TRAIL, THANK (homolog TNF aktywujący apoptozę,



NF- κ B i kinazę JNK) oraz VEGI (inhibitor naczyniowo-śródbłonkowego czynnika wzrostu) [40,67,79].

Beg i wsp. [8] jako pierwsi wykazali, że NF- κ B pełni bardzo ważną funkcję antyapoptotyczną. Badali oni myszy pozbawione podjednostki RelA, które umierały już w 15 dniu życia płodowego na skutek rozległej apoptozy komórek wątroby. Późniejsze eksperymenty wykonywane na fibroblastach również z niedoborem podjednostki RelA potwierdziły, że NF- κ B hamuje apoptozę indukowaną przez TNF- α [7,61,89]. Komórki stają się bardziej wrażliwe na czynniki wywołujące apoptozę po zadziałaniu białka E1A, które hamuje aktywność NF- κ B. Dzieje się to przez zablokowanie aktywności kinazy IKK, a co za tym idzie braku fosforylacji I κ B α [77]. Badania przeprowadzone z użyciem białek sygnałowych dowiodły, że przyłączenie się białek adaptorowych, takich jak FADD do receptorów śmierci (TNF-R1) wywołuje apoptozę, jednakże gdy do domeny śmierci (DD) kompleksu TNF-R1 dołączy się białko RIP i TRAF2, powoduje to aktywność czynnika transkrypcyjnego NF- κ B, który chroni komórki przed śmiercią w wyniku apoptozy wywołanej przez TNF- α [61].

Białka c-IAP (komórkowe inhibitory apoptozy) są najlepiej poznanymi białkami podlegającymi kontroli NF- κ B. Mają one zdolność do bezpośredniego wiązania się i jednocześnie hamowania kaspaz efektorowych 3 i 7, a także blokowania aktywności prokaspazy 6 i 9 [26]. c-IAP hamują zatem apoptozę wywołaną w wyniku aktywacji szlaku zewnątrzpochoźnego oraz wewnątrzpochoźnego (mitochondrialnego) [52]. W promotorze genu *c-IAP2* odkryto 2 funkcjonalne miejsca κ B, co wskazywałoby na to, iż ekspresja tego genu jest zależna od NF- κ B [43,90]. Białka c-IAP łączą się z kompleksem sygnałowym TNF-R1 poprzez białko TRAF2, w ten sposób hamując działanie kaspazy 8 (c-IAP nie mają zdolności bezpośredniego wiązania się z kaspazą 8) [26,80,91].

Kolejnym inhibitorem apoptozy, którego ekspresja podlega regulacji NF- κ B jest białko c-FLIP. Po raz pierwszy zostało zidentyfikowane jako komórkowy homolog wirusowego białka FLIP [87]. c-FLIP w swojej budowie zawiera dwie efektorowe domeny śmierci (DED) oraz katalitycznie nieaktywną domenę o właściwościach kaspazy. Może zatem wiązać się z domenami śmierci białka adaptorowego FADD oraz przyłączać prokaspazę 8 i skutecznie zakłócać jej aktywność, działając w ten sposób jako czynnik hamujący aktywność szlaku prowadzącego do śmierci komórki [46]. Białko c-FLIP może również oddziaływać z białkami TRAF2 i RIP wiążącymi się z kompleksem TNF-R1. Białka te mają zdolność do aktywowania kinazy IKK, a co za tym idzie translokacji dimerów NF- κ B do jądra komórkowego, gdzie zapoczątkowują transkrypcję określonych genów. Stąd wniosek, że c-FLIP ma wpływ na hamowanie apoptozy również poprzez zwiększenie aktywności samego NF- κ B [52,80].

NF- κ B ma również udział w hamowaniu apoptozy indukowanej przez czynniki uszkodzające DNA (szlak wewnątrzpochoźny) [6]. Główną rolę odgrywają tutaj białka z rodziny Bcl-2, takie jak A1 i Bcl-x_L [52]. Białko A1 ma zdolność do hamowania depolaryzacji mitochondriów, uwalniania z nich cytochromu c i czynników indukujących apoptozę (AIF) oraz aktywacji kaspazy 9 [89]. Podobną funkcję spełnia białko Bcl-x_L, którego wzmożona ekspre-

sja zapobiega apoptozie indukowanej przez TNF- α w komórkach charakteryzujących się obecnością „super-represorów” I κ B α [19]. NF- κ B działa hamująco na aktywność białka Bax, którego ekspresja zwiększała się w komórkach zawierających „super-represory” I α B α , natomiast nadekspresja NF- κ B opóźnia aktywność promotora genu Bax stymulowanego przez białko p53 [11].

W wielu typach komórek dochodzi do śmierci na skutek gromadzenia się reaktywnych form tlenu (ROS), które są ważnymi czynnikiem wywołującymi apoptozę [30]. NF- κ B indukując ekspresję genów hamujących akumulację ROS w komórce, chroni ją przed śmiercią apoptotyczną [75].

NF- κ B może również hamować apoptozę przez aktywację cykliny D1, która jest odpowiedzialna za przejście komórki z fazy G1 do fazy S cyklu podziałowego [38]. Czynniki ten reguluje więc ekspresję jednego z genów związanych z kontrolą cyklu komórkowego.

Z badań wynika, że aktywacja NF- κ B blokuje apoptozę, natomiast aktywacja apoptozy może powodować zahamowanie aktywacji czynnika transkrypcyjnego, co tworzy swoisty układ sprzężenia zwrotnego [79]. Na przykład komórki śródbłonna ulegają apoptozie na skutek braku właściwych czynników wzrostu. Komórki, które przeżywają charakteryzują się wzmożoną aktywnością NF- κ B, natomiast komórki apoptotyczne mają zdegradowaną podjednostkę RelA, pozbawioną C-końcowej domeny TAD (aktywacji transkrypcji), co czyni je inhibitorem NF- κ B, przyczyniając się tym samym do procesu apoptozy [79].

PROAPOPTOTYCZNA AKTYWNOŚĆ NF- κ B

Do komórek nieustannie docierają pozytywne i negatywne sygnały, które decydują o życiu lub śmierci. Powszechnie znana jest rola czynnika transkrypcyjnego NF- κ B jako inhibitora apoptozy indukowanej TNF- α lub chemioterapeutykami, jednak niektóre badania wskazują na całkowicie odmienne właściwości NF- κ B. Może on również kierować wiele rodzajów komórek na drogę apoptozy wywołanej różnorodnymi czynnikiem [79]. Kitajima i wsp. [54] udowodnili, iż w mysich osteoblastach aktywacja NF- κ B pośredniczy w apoptozie indukowanej przez TNF- α . Zahamowana aktywność NF- κ B oraz obniżona ekspresja białka Fas w komórkach ludzkiego czerniaka chroni je przed apoptozą indukowaną promieniowaniem UV [47]. Aktywacja NF- κ B kontroluje procesy, które pośredniczą w indukowaniu apoptozy wywołanej przez stres oksydacyjny w ludzkich komórkach śródbłonna aorty poprzez obniżenie aktywacji białka Bcl-2, translokację białka Bax i zwiększone działanie białka p53 [2]. Translokacja do jądra komórkowego czynnika transkrypcyjnego NF- κ B poprzedza proces apoptozy wywołany aspiryną [84]. Gupta i wsp. [37] dowiedli, że *Helicobacter pylori* wywołuje apoptozę w chronicznym nieżycie żołądka wykorzystując aktywność NF- κ B.

Niektóre czynniki aktywujące NF- κ B, takie jak białko ARF mobilizowane w odpowiedzi na uszkodzenie DNA, promieniowanie UV, chemioterapeutyki (daunorubicyna, doksorubicyna, cisplatyna) powodują, iż podjednostka RelA, będąca powszechnie uznanym aktywatorem transkrypcji genów antyapoptotycznych, zmienia się w represora transkrypcji tychże genów [28]. Po zadziałaniu aktywatora w postaci białka ARF

lub cisplatyny dochodzi do fosforylacji białka RelA w miejscu Thr-505, do którego przyłącza się następnie deacetylaza histonowa (HDAC). Skutkuje to zahamowaniem ekspresji białka Bcl-x_L, przez co komórka staje się wrażliwa na apoptozę [18,72]. Promieniowanie UV-C oraz przedstawiciel antracyklin – daunorubicyna wywołują podobny efekt, jakim jest zahamowanie ekspresji genów czynników antyapoptotycznych (Bcl-x_L i XIAP), jednakże odbywa się to z pominięciem fosforylacji podjednostki RelA [18]. Badania wykonane przez Biana i wsp. [12] dowiodły, że w komórkach neuroblastycznych typu N dochodzi do śmierci indukowanej doksorubicyną, za pośrednictwem aktywnego czynnika NF-κB.

Jednym z mechanizmów prowadzących do aktywacji NF-κB jest fosforylacja IκB przez swoiste kinazy (IKKs), a następnie degradacja inhibitora przez proteasomy. Wśród wielu strategii prowadzących do zahamowania aktywności NF-κB wymienić można zapobieganie fosforylacji IκB przez blokowanie kinaz (IKKs) oraz degradacji IκB w proteasomach [92]. Bortezomib (MG-341, PS-341) jest lekiem z powodzeniem stosowanym w terapii przeciwnowotworowej, który jest zaliczany do grupy inhibitorów proteasomów [70,72].

PIŚMIENICTWO

- [1] Aggarwal B.B.: Nuclear factor-κB: The enemy within. *Cancer Cell*, 2004; 6: 203–208
- [2] Aoki M., Nata T., Morishita R., Matsushita H., Nakagami H., Yamamoto K., Yamazaki K., Nakabayashi M., Ogiwara T., Kaneda Y.: Endothelial apoptosis induced by oxidative stress through activation of NF-κB. Antipapoptotic effect of antioxidant agents on endothelial cells. *Hypertension*, 2001; 38: 48–55
- [3] Arends M.J., Wyllie A.H.: Apoptosis: mechanisms and roles in pathology. *Int. Rev. Exp. Pathol.*, 1991; 32: 223–254
- [4] Ashkenazi A., Dixit V.M.: Death receptors: signaling and modulation. *Science*, 1998; 281: 1305–1308
- [5] Baichwal V.R., Baeuerle P.A.: Apoptosis: activate NF-κB or die? *Curr. Biol.*, 1997; 7: R94–R96
- [6] Baldwin A.S.: Control of oncogenesis and cancer therapy resistance by the transcription factor NF-κB. *J. Clin. Invest.*, 2001; 107: 241–246
- [7] Beg A.A., Baltimore D.: An essential role for NF-κB in preventing TNF-α-induced cell death. *Science*, 1996; 274: 782–784
- [8] Beg A.A., Sha W.C., Bronson R.T., Ghosh S., Baltimore D.: Embryonic lethality and liver degeneration in mice lacking the RelA component of NF-κB. *Nature*, 1995; 376: 167–170
- [9] Beinke S., Ley S.C.: Functions of NF-κB1 and NF-κB2 in immune cell biology. *Biochem. J.*, 2004; 382: 393–409
- [10] Ben-Neriah Y.: Regulatory functions of ubiquitination in the immune system. *Nat. Immunol.*, 2002; 3: 20–26
- [11] Bentires-Alj M., Dejardin E., Viatour P., Van Lint C., Froesch B., Reed J.C., Merville M.P., Bours V.: Inhibition of the NF-κB transcription factor increases Bax expression in cancer cell lines. *Oncogene*, 2001; 20: 2805–2813
- [12] Bian X., McAllister-Lucas L.M., Shao F., Schumacher K.R., Feng Z., Porter A.G., Castle V.P., Opipari A.W. Jr.: NF-κB activation mediates doxorubicin-induced cell death in N-type neuroblastoma cells. *J. Biol. Chem.*, 2001; 276: 48921–48929
- [13] Birbach A., Gold P., Binder B.R., Hofer E., de Martin R., Schmid J.A.: Signaling molecules of the NF-κB pathway shuttle constitutively between cytoplasm and nucleus. *J. Biol. Chem.*, 2002; 277: 10842–10851
- [14] Bonizzi G., Karin M.: The two NF-κB activation pathways and their role in innate and adaptive immunity. *Trends Immunol.*, 2004; 25: 280–288
- [15] Bottero V., Rossi F., Samson M., Mari M., Hofman P., Peyron J.F.: IκB-α, the NF-κB inhibitory subunit, interacts with ANT, the mitochondrial ATP/ADP translocator. *J. Biol. Chem.*, 2001; 276: 21317–21324
- [16] Bours V., Franzoso G., Azarenko V., Park S., Kanno T., Brown K., Siebenlist U.: The oncoprotein Bcl-3 directly transactivates through κB motifs via association with DNA-binding p50B homodimers. *Cell*, 1993; 72: 729–739
- [17] Brown K., Park S., Kanno T., Franzoso G., Siebenlist U.: Mutual regulation of the transcriptional activator NF-κB and its inhibitor, IκB-α. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1993; 90: 2532–2536
- [18] Campbell K.J., Witty J.M., Rocha S., Perkins N.D.: Cisplatin mimics ARF tumor suppressor regulation of RelA (p65) nuclear factor-κB transactivation. *Cancer Res.*, 2006; 66: 929–935
- [19] Chen C., Edelstein L.C., Gélinas C.: The Rel/NF-κB family directly activates expression of the apoptosis inhibitor Bcl-x_L. *Mol. Cell. Biol.*, 2000; 20: 2687–2695
- [20] Clarke P.G., Clarke S.: Historic apoptosis. *Nature*, 1995; 378: 230
- [21] Claudio E., Brown K., Park S., Wang H., Siebenlist U.: BAFF-induced NEMO-independent processing of NF-κB2 in maturing B cells. *Nat. Immunol.*, 2002; 3: 958–965
- [22] Cohen J.J.: Apoptosis. *Immunol. Today*, 1993; 14: 126–130
- [23] Dechend R., Hirano F., Lehmann K., Heissmeyer V., Ansieau S., Wulczyn F.G., Scheidereit C., Leutz A.: The Bcl-3 oncoprotein acts as a bridging factor between NF-κB/Rel and nuclear co-regulators. *Oncogene*, 1999; 18: 3316–3323
- [24] Dejardin E., Droin N.M., Delhase M., Haas E., Cao Y., Makris C., Li Z.W., Karin M., Ware C.F., Green D.R.: The lymphotoxin-β receptor induces different patterns of gene expression via two NF-κB pathways. *Immunity*, 2002; 17: 525–535
- [25] Deptala A., Nurzyńska D., Darzynkiewicz Z., Jędrzejczak W.W.: Rola białek z rodziny Rel/NFκB/IκB w patogenezie nowotworów. *Post. Biol. Kom.*, 2002; 29: 489–504
- [26] Deveraux Q.L., Roy N., Stennicke H.R., Van Arsdale T., Zhou Q., Srinivasula S.M., Alnemri E.S., Salvesen G.S., Reed J.C.: IAPs block apoptotic events induced by caspase-8 and cytochrome c by direct inhibition of distinct caspases. *EMBO J.*, 1998; 17: 2215–2223
- [27] Dolcet X., Llobet D., Pallares J., Matias-Guiu X.: NF-κB in development and progression of human cancer. *Virchows Arch.*, 2005; 446: 475–482
- [28] Dutta J., Fan Y., Gupta N., Fan G., Gélinas C.: Current insights into the regulation of programmed cell death by NF-κB. *Oncogene*, 2006; 25: 6800–6816
- [29] Escárrega R.O., Fuentes-Alexandro S., García-Carrasco M., Gatica A., Zamora A.: The transcription factor nuclear factor-kappa B and cancer. *Clin. Oncol.*, 2007; 19: 154–161
- [30] Fiers W., Beyaert R., Declercq W., Vandenabeele P.: More than one way to die: apoptosis, necrosis and reactive oxygen damage. *Oncogene*, 1999; 18: 7719–7730



- [31] Fujita T., Nolan G.P., Liou H.C., Scott M.L., Baltimore D.: The candidate proto-oncogene bcl-3 encodes a transcriptional coactivator that activates through NF- κ B p50 homodimers. *Genes Dev.*, 1993; 7: 1345–1363
- [32] Garg A., Aggarwal B.B.: Nuclear transcription factor- κ B as a target for cancer drug development. *Leukemia*, 2002; 16: 1053–1068
- [33] Ghosh S., Karin M.: Missing pieces in the NF- κ B puzzle. *Cell*, 2002; 109: S81–S96
- [34] Ghosh S., May M.J., Kopp E.B.: NF- κ B and Rel proteins: evolutionarily conserved mediators of immune responses. *Annu. Rev. Immunol.*, 1998; 16: 225–260
- [35] Gilmore T., Gapuzan M.E., Kalaitzidis D., Starczynowski D.: Rel/NF- κ B/I κ B signal transduction in the generation and treatment of human cancer. *Cancer Lett.*, 2002; 181: 1–9
- [36] Greten F.R., Karin M.: The IKK/NF- κ B activation pathway – a target for prevention and treatment of cancer. *Cancer Lett.*, 2004; 206: 193–199
- [37] Gupta R.A., Polk D.B., Krishna U., Israel D.A., Yan F., DuBois R.N., Peek R.M. Jr.: Activation of peroxisome proliferator-activated receptor γ suppresses nuclear factor κ B-mediated apoptosis induced by *Helicobacter pylori* in gastric epithelial cells. *J. Biol. Chem.*, 2001; 276: 31059–31066
- [38] Guttridge D.C., Albanese C., Reuther J.Y., Pestell R.G., Baldwin A.S. Jr.: NF- κ B controls cell growth and differentiation through transcriptional regulation of cyclin D1. *Mol. Cell. Biol.*, 1999; 19: 5785–5799
- [39] Harhaj E.W., Sun S.C.: Regulation of RelA subcellular localization by a putative nuclear export signal and p50. *Mol. Cell. Biol.*, 1999; 19: 7088–7095
- [40] Haridas V., Shrivastava A., Su J., Yu G.L., Ni J., Liu D., Chen S.F., Ni Y., Ruben S.M., Gentz R., Aggarwal B.B.: VEGI, a new member of the TNF family activates nuclear factor- κ B and c-Jun N-terminal kinase and modulates cell growth. *Oncogene*, 1999; 18: 6496–6504
- [41] Hayden M.S., Ghosh S.: Signaling to NF- κ B. *Genes Dev.*, 2004; 18: 2195–2224
- [42] Heusch M., Lin L., Geleziunas R., Greene W.C.: The generation of nfkb2 p52: mechanism and efficiency. *Oncogene*, 1999; 18: 6201–6208
- [43] Hong S.Y., Yoon W.H., Park J.H., Kang S.G., Ahn J.H., Lee T.H.: Involvement of two NF- κ B binding elements in tumor necrosis factor α -, CD40- and Epstein-Barr virus latent membrane protein 1-mediated induction of the cellular inhibitor of apoptosis protein 2 gene. *J. Biol. Chem.*, 2000; 275: 18022–18028
- [44] Huang T.T., Miyamoto S.: Postrepression activation of NF- κ B requires the amino-terminal nuclear export signal specific to I κ B α . *Mol. Cell. Biol.*, 2001; 21: 4737–4747
- [45] Huxford T., Huang D.B., Malek S., Ghosh G.: The crystal structure of the I κ B α /NF- κ B complex reveals mechanisms of NF- κ B inactivation. *Cell*, 1998; 95: 759–770
- [46] Irmeler M., Thome M., Hahne M., Schneider P., Hofmann K., Steiner V., Bodmer J.L., Schröter M., Burns K., Mattmann C., Rimoldi D., French L.E., Tschopp J.: Inhibition of death receptor signals by cellular FLIP. *Nature*, 1997; 388: 190–195
- [47] Ivanov V.N., Ronai Z.: p38 protects human melanoma cells from UV-induced apoptosis through down-regulation of NF- κ B activity and Fas expression. *Oncogene*, 2000; 19: 3003–3012
- [48] Kaltschmidt B., Kaltschmidt C., Hofmann T.G., Hehner S.P., Dröge W., Schmitz M.L.: The pro- or anti-apoptotic function of NF- κ B is determined by the nature of the apoptotic stimulus. *Eur. J. Biochem.*, 2000; 267: 3828–3835
- [49] Karin M.: Nuclear factor- κ B in cancer development and progression. *Nature*, 2006; 441: 431–436
- [50] Karin M., Ben-Neriah Y.: Phosphorylation meets ubiquitination: the control of NF- κ B activity. *Annu. Rev. Immunol.*, 2000; 18: 621–663
- [51] Karin M., Cao Y., Greten F.R., Li Z.W.: NF- κ B in cancer: from innocent bystander to major culprit. *Nat. Rev. Cancer*, 2002; 2: 301–310
- [52] Karin M., Lin A.: NF- κ B at the crossroads of life and death. *Nat. Immunol.*, 2002; 3: 221–227
- [53] Kato T. Jr., Delhase M., Hoffmann A., Karin M.: CK2 is a C-terminal I κ B kinase responsible for NF- κ B activation during the UV response. *Mol. Cell*, 2003; 12: 829–839
- [54] Kitajima I., Soejima Y., Takasaki I., Beppu H., Tokioka T., Maruyama I.: Ceramide-induced nuclear translocation of NF- κ B is a potential mediator of the apoptotic response to TNF- α in murine clonal osteoblasts. *Bone*, 1996; 19: 263–270
- [55] Kucharczak J., Simmons M.J., Fan Y., Gélinas C.: To be, or not to be: NF- κ B is the answer – role of Rel/NF- κ B in the regulation of apoptosis. *Oncogene*, 2003; 22: 8961–8982
- [56] Kumar A., Takada Y., Boriek A.M., Aggarwal B.B.: Nuclear factor- κ B: its role in health and disease. *J. Mol. Med.*, 2004; 82: 434–448
- [57] Lee S.H., Hannink M.: Characterization of the nuclear import and export functions of I κ B α . *J. Biol. Chem.*, 2002; 277: 23358–23366
- [58] Li Q., Verma I.M.: NF- κ B regulation in the immune system. *Nature*, 2002; 2: 725–734
- [59] Li Z.W., Chu W., Hu Y., Delhase M., Deerinc T., Ellisman M., Johnson R., Karin M.: The IKK β subunit of I κ B kinase (IKK) is essential for nuclear factor κ B activation and prevention of apoptosis. *J. Exp. Med.*, 1999; 189: 1839–1845
- [60] Lin L., DeMartino G.N., Greene W.C.: Cotranslational biogenesis of NF- κ B p50 by the 26S proteasome. *Cell*, 1998; 92: 819–828
- [61] Lindström T.M., Bennett P.R.: The role of nuclear factor κ B in human labour. *Reproduction*, 2005; 130: 569–581
- [62] Liu Z.G., Hsu H., Goeddel D.V., Karin M.: Dissection of TNF receptor 1 effector functions: JNK activation is not linked to apoptosis while NF- κ B activation prevents cell death. *Cell*, 1996; 87: 565–576
- [63] Łabędzka K., Grzanka A., Izdebska M.: Mitochondrium a śmierć komórki. *Post. Hig. Med. Dośw.*, 2006; 60: 439–446
- [64] Malek S., Chen Y., Huxford T., Ghosh G.: I κ B β , but not I κ B α , functions as a classical cytoplasmic inhibitor of NF- κ B dimers by masking both NF- κ B nuclear localization sequences in resting cells. *J. Biol. Chem.*, 2001; 276: 45225–45235
- [65] Marienfeld R., May M.J., Berberich I., Serfling E., Ghosh S., Neumann M.: RelB forms transcriptionally inactive complexes with RelA/p65. *J. Biol. Chem.*, 2003; 278: 19852–19860
- [66] Moynagh P.N.: The NF- κ B pathway. *J. Cell Sci.*, 2005; 118: 4589–4592
- [67] Mukhopadhyay A., Ni J., Zhai Y., Yu G.L., Aggarwal B.B.: Identification and characterization of a novel cytokine, THANK, a TNF homologue, that activates apoptosis, nuclear factor- κ B, and c-Jun NH2-terminal kinase. *J. Biol. Chem.*, 1999; 274: 15978–15981
- [68] Neurath M.F., Becker C., Barbulescu K.: Role of NF- κ B in immune and inflammatory responses in the gut. *Gut*, 1998; 43: 856–860
- [69] O'Connor S., Shumway S.D., Amanna I.J., Hayes C.E., Miyamoto S.: Regulation of constitutive p50/c-Rel activity via proteasome inhibitor-resistant I κ B α degradation in B cells. *Mol. Cell. Biol.*, 2004; 24: 4895–4908
- [70] Olivier S., Robe P., Bours V.: Can NF- κ B be a target for novel and efficient anti-cancer agents? *Biochem. Pharmacol.*, 2006; 72: 1054–1068
- [71] Perkins N.D.: Regulation of NF- κ B by atypical activators and tumor suppressors. *Biochem. Soc. Trans.*, 2004; 32: 936–939
- [72] Rocha S., Garrett M.D., Campbell K.J., Schumm K., Perkins N.D.: Regulation of NF- κ B and p53 through activation of ATR and Chk1 by the ARF tumor suppressor. *EMBO J.*, 2005; 24: 1157–1169
- [73] Russo A., Terrasi M., Agnese V., Santini D., Bazan V.: Apoptosis: a relevant tool for anticancer therapy. *Ann. Oncol.*, 2006; 17: vii115–vii123
- [74] Rutkowski R., Pancewicz S.A., Skrzydlewska E., Hermankowska-Szpakowicz T.: Właściwości biologiczne czynnika transkrypcji jądrowej NF- κ B. *Alergia Astma Immunologia*, 2005; 10: 125–131
- [75] Sasazuki T., Okazaki T., Tada K., Sakon-Komazawa S., Katano M., Tanaka M., Yagita H., Okumura K., Tominaga N., Hayashizaki Y., Okazaki Y., Nakano H.: Genome wide analysis of TNF-inducible genes reveals that antioxidant enzymes are induced by TNF and responsible for elimination of ROS. *Mol. Immunol.*, 2004; 41: 547–551
- [76] Sen R., Baltimore D.: Inducibility of k immunoglobulin enhancer-binding protein NF- κ B by a posttranslational mechanism. *Cell*, 1986; 47: 921–928
- [77] Shao R., Hu M.C., Zhou B.P., Lin S.Y., Chiao P.J., von Lindern R.H., Spohn B., Hung M.C.: E1A sensitizes cells to tumor necrosis factor-induced apoptosis through inhibition of I κ B kinases and nuclear factor κ B activities. *J. Biol. Chem.*, 1999; 274: 21495–21498
- [78] Sheikh M.S., Fornace A.J. Jr.: Death and decay receptors and p53-mediated apoptosis. *Leukemia*, 2000; 14: 1509–1513
- [79] Shishodia S., Aggarwal B.B.: Nuclear factor- κ B activation: a question of life and death. *J. Biochem. Mol. Biol.*, 2002; 35: 28–40

- [80] Shu H.B., Takeuchi M., Goeddel D.V.: The tumor necrosis factor receptor 2 signal transducers TRAF2 and c-IAP1 are components of the tumor necrosis factor signaling complex. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1996; 93: 13973–13978
- [81] Siebenlist U., Franzoso G., Brown K.: Structure, regulation and function of NF- κ B. *Annu. Rev. Cell. Biol.*, 1994; 10: 405–455
- [82] Silverman N., Maniatis T.: NF- κ B signaling pathways in mammalian and insect innate immunity. *Genes Dev.*, 2001; 15: 2321–2342
- [83] Solan N.J., Miyoshi H., Carmona E.M., Bren G.D., Paya C.V.: RelB cellular regulation and transcriptional activity are regulated by p100. *J. Biol. Chem.*, 2002; 277: 1405–1418
- [84] Stark L.A., Din F.V., Zwacka R.M., Dunlop M.G.: Aspirin-induced activation of the NF- κ B signaling pathway: a novel mechanism for aspirin-mediated apoptosis in colon cancer cells. *FASEB J.*, 2001; 15: 1273–1275
- [85] Tam W.F., Sen R.: I κ B family members function by different mechanisms. *J. Biol. Chem.*, 2001; 276: 7701–7704
- [86] Tergaonkar V.: NF κ B pathway: A good signaling paradigm and therapeutic target. *Int. J. Biochem. Cell Biol.*, 2006; 38: 1647–1653
- [87] Thome M., Schneider P., Hofmann K., Fickenscher H., Mehl E., Neipel F., Mattmann C., Burns K., Bodmer J.L., Schröter M., Scaffidi C., Kramer P.H., Peter M.E., Tschopp J.: Viral FLICE-inhibitory proteins (FLIPs) prevent apoptosis induced by death receptors. *Nature*, 1997; 386: 517–521
- [88] Traenckner E.B., Pahl H.L., Henkel T., Schmidt K.N., Wilk S., Baeuerle P.A.: Phosphorylation of human I κ B α on serines 32 and 36 controls I κ B α proteolysis and NF- κ B activation in response to diverse stimuli. *EMBO J.*, 1995; 14: 2876–2883
- [89] Van Antwerp D.J., Martin S.J., Kafri T., Green D.R., Verma I.M.: Suppression of TNF- α -induced apoptosis by NF- κ B. *Science*, 1996; 274: 787–789
- [90] Wang C.Y., Guttridge D.C., Mayo M.W., Baldwin A.S. Jr.: NF- κ B induces expression of the Bcl-2 homologue A1/Bfl-1 to preferentially suppress chemotherapy-induced apoptosis. *Mol. Cell. Biol.*, 1998; 19: 5923–5929
- [91] Wang C.Y., Mayo M.W., Korneluk R.G., Goeddel D.V., Baldwin A.S. Jr.: NF- κ B antiapoptosis: induction of TRAF1 and TRAF2 and c-IAP1 and c-IAP2 to suppress caspase-8 activation. *Science*, 1998; 281: 1680–1683
- [92] Wydmuch Z., Więclawek A., Besser P., Mazurek U., Pytel A., Pacha J.: Leki przeciwzapalne blokujące aktywność czynnika transkrypcyjnego NF κ B. *Poradnik farmaceutyczny*, 2005; 5: 1–4
- [93] Xiao G., Fong A., Sun S.C.: Induction of p100 processing by NF- κ B-inducing kinase involves docking I κ B kinase α (IKK α) to p100 and IKK α -mediated phosphorylation. *J. Biol. Chem.*, 2004; 279: 30099–30105
- [94] Yamamoto M., Yamazaki S., Uematsu S., Sato S., Hemmi H., Hoshino K., Kaisho T., Kuwata H., Takeuchi O., Takeshige K., Saitoh T., Yamaoka S., Yamamoto N., Yamamoto S., Muta T., Takeda K., Akira S.: Regulation of Toll/IL-1-receptor-mediated gene expression by the inducible nuclear protein I κ B ζ . *Nature*, 2004; 430: 218–222
- [95] Yamamoto Y., Gaynor R.B.: Therapeutic potential of inhibition of the NF- κ B pathway in the treatment of inflammation and cancer. *J. Clin. Invest.*, 2001; 107: 135–142
- [96] Zingarelli B.: Nuclear factor- κ B. *Crit. Care Med.*, 2005; 33: S414–S416

