

## KOMÓRKOWA ŚCIEŻKA SYGNAŁOWA ZALEŻNA OD CZYNNIKA TRANSKRYPCYJNEGO NF- $\kappa$ B I JEJ WSPÓLZALEŻNOŚCI ZE SZLAKAMI p53 I HSF1\*

THE NF- $\kappa$ B-DEPENDENT CELLULAR SIGNALING PATHWAY  
AND ITS INTERFERENCE WITH p53 AND HSF1-DEPENDENT PATHWAYS

Katarzyna SZOŁTYSEK, Patryk JANUS, Piotr WIDLAK

Centrum Badań Translacyjnych i Biologii Molekularnej Nowotworów,  
Centrum Onkologii – Instytut im. Marii Skłodowskiej-Curie,  
Oddział w Gliwicach

*Streszczenie:* Ścieżki sygnałowe zależne od białek NF- $\kappa$ B są kluczowym elementem komórkowej odpowiedzi na stres. U ssaków rodzinę NF- $\kappa$ B tworzy pięć białek NF- $\kappa$ B/Rel, będących czynnikami transkrypcyjnymi, oraz cztery białka I $\kappa$ B, będące swoistymi inhibitorami tych czynników transkrypcyjnych. Aktywacja NF- $\kappa$ B polega na odłączeniu ufosforylowanego inhibitora I $\kappa$ B, po którym następuje transport czynnika transkrypcyjnego do jądra komórkowego. Czynniki transkrypcyjne NF- $\kappa$ B mogą uczestniczyć w regulacji ekspresji kilkuset genów istotnych m.in. dla proliferacji, apoptozy, odpowiedzi immunologicznej i reakcji zapalnych. Ścieżka sygnałowa zależna od NF- $\kappa$ B interferuje z dwoma innymi szlakami komórkowej odpowiedzi na stres zależnymi od p53 i HSF1, a od równowagi między ekspresją genów regulowanych przez wszystkie trzy czynniki transkrypcyjne zależy prawidłowe funkcjonowanie komórki w warunkach stresu. Wszystkie trzy ścieżki sygnałowe mają istotne znaczenie dla patogenezy szeregu chorób, między innymi nowotworowych oraz dla skuteczności leczenia tych chorób.

*Słowa kluczowe:* czynniki transkrypcyjne, NF- $\kappa$ B, przekazywanie sygnału, regulacja ekspresji genów, stres komórkowy.

*Summary:* The NF- $\kappa$ B-dependent signaling pathways are essential components of cellular response to stress. Mammalian family of NF- $\kappa$ B consists of five NF- $\kappa$ B/Rel proteins, which are subunits of the NF- $\kappa$ B transcription factor, and four I $\kappa$ B proteins, which are their specific inhibitors. Activation of NF- $\kappa$ B requires degradation of I $\kappa$ B, which allows nuclear translocation of NF- $\kappa$ B and its binding to *cis*-acting DNA regulatory elements. NF- $\kappa$ B transcription factors regulate expression of numerous genes, which are involved in cell proliferation, apoptosis, immune response and inflammatory response. The NF- $\kappa$ B-dependent signaling pathways interfere with two other stress-related pathways regulated by p53 and HSF1 transcription factors. All three pathways are essential for both pathogenesis of serious human diseases, including cancer, and for response to therapeutic treatment.

*Keywords:* cellular stress, NF- $\kappa$ B, regulation of gene expression, signal transduction, transcription factors.

\*Praca finansowana ze środków projektów badawczych: N301-264536 i N514-411936 oraz ze środków Unii Europejskiej w ramach Europejskiego Funduszu Społecznego – projekt RFSD 2.

## WPROWADZENIE

Ścieżka sygnałowa zależna od czynnika transkrypcyjnego NF- $\kappa$ B jest jednym z kluczowych elementów komórkowej odpowiedzi na stres. Białko to bierze udział w regulacji ekspresji wielu genów, których produkty decydują o przebiegu proliferacji komórki, apoptozy, odpowiedzi immunologicznej, stanu zapalnego i innych ważnych procesów komórkowych. Poziom ekspresji oraz aktywność NF- $\kappa$ B podlega ścisłej regulacji przez działanie pętli sprzężeń zwrotnych [41]. W wielu sytuacjach ścieżka NF- $\kappa$ B jest aktywowana jednocześnie z aktywacją ścieżek zależnych od czynników transkrypcyjnych p53 lub HSF1, a ostateczna odpowiedź komórki stanowi wypadkową wzajemnych oddziaływań tych szlaków sygnałowych.

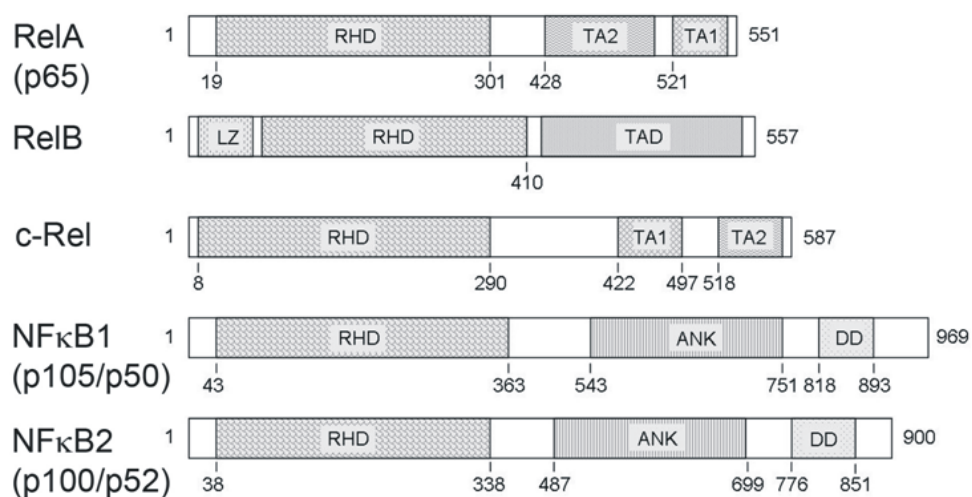
Podstawowym procesem komórkowym, w którym obserwuje się typową („klasyczną”) odpowiedź zależną od NF- $\kappa$ B, jest stan zapalny. Jest on objawem reakcji obronnej organizmu na infekcje, inwazje patogenów i stymulacje antygenami. Stanowi także ważny mechanizm umożliwiający naprawę tkanek uszkodzonych w wyniku zranienia [38]. Powstanie odczynu zapalnego może być wywołane działaniem zarówno czynników endogennych, jak i egzogennych (np. fizyczne i chemiczne czynniki uszkodzające materiał genetyczny, bakterie, wirusy). W większości przypadków stan zapalny jest następstwem destrukcji błon komórkowych, dysregulacji mechanizmów transportu wewnątrz- oraz międzykomórkowego bądź zakłócenia prawidłowej aktywności enzymów i mediatorów stanu zapalnego (np. cytokin, chemokin, prostaglandyn) [59]. Endogenną przyczyną uszkodzeń prowadzących do odczynu zapalnego może być także starzenie się komórek. Niezależnie od rodzaju czynnika wywołującego, pojawiająca się odpowiedź ustrojowa jest stosunkowo jednolita. Jest ona sterowana za pośrednictwem tzw. mediatorów odczynu zapalnego, które wywierają pro- i przeciwzapalne działanie na komórki docelowe, modulując przebieg całego procesu reakcji zapalnej [30]. Kluczową rolę w procesie regulacji reakcji odpornościowych i stanu zapalnego odgrywa właśnie czynnik transkrypcyjny NF- $\kappa$ B.

## RODZINA BIAŁEK NF- $\kappa$ B

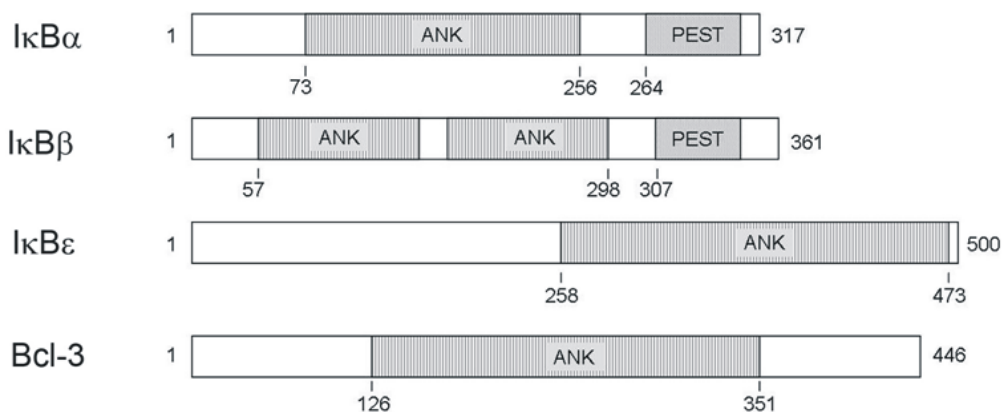
Nazwa białek należących do rodziny NF- $\kappa$ B, wywodzi się od opisanego po raz pierwszy w 1986 roku czynnika jądrowego (*Nuclear Factor* – NF) wiążącego się z promotorem genu kodującego łańcuch kappa immunoglobulin w limfocytach typu B ( $\kappa$ B) [3, 7]. U ssaków w rodzinie białek NF- $\kappa$ B wyróżnia się dwie podrodziny: w pierwszej znajdują się regulatory procesów transkrypcyjnych, a do drugiej należą białka pełniące funkcje inhibitorowe. Na rycinie 1 przedstawiono strukturę białek z rodziny NF- $\kappa$ B obecnych w komórkach ludzkich.

Do pierwszej podrodziny, grupującej białka nazywane NF- $\kappa$ B/Rel, zalicza się pięć białek należących do dwóch klas (ryc. 1A). Pierwsza klasa obejmuje: RelA (p65), RelB i c-Rel. Są one syntetyzowane w postaci dojrzałych produktów nie wymagających dodatkowej obróbki proteolitycznej. Do drugiej klasy należą białka

## A. Białka NF- $\kappa$ B/Rel



## B. Białka I $\kappa$ B



RYCINA 1. Schemat struktury białek z rodziny NF- $\kappa$ B. Zaznaczono następujące domeny strukturalne: ANK – motyw powtórzeń ankirynowych, DD – *Death Domain*, LZ – *Leucine Zipper-like motif*, PEST – *Proline - Glutamic Acid - Serine - Threonine*, RHD – *Rel Homology Domain*, TA – *RelA Transactivation Domain*, TAD – *Transcription Activation Domain*; numerami zaznaczono kolejne pozycje aminokwasów (zmodyfikowane wg [36])

FIGURE 1. Structure of proteins from the NF- $\kappa$ B family. Shown are structural domains: ANK – *Ankyrine repeats*, DD – *Death Domain*, LZ – *Leucine Zipper-like motif*, PEST – *Proline - Glutamic Acid - Serine - Threonine*, RHD – *Rel Homology Domain*, TA – *RelA Transactivation Domain*, TAD – *Transcription Activation Domain*; numbers delineate positions of aminoacid residues (according to [36], modified)

kodowane przez geny *NFκB1* i *NFκB2*. Produktem ich ekspresji są duże formy prekursorowe, odpowiednio p105 i p100, które w wyniku potranslacyjnej obróbki proteolitycznej ulegają przekształceniu w dojrzałe białka p50 i p52 [16, 58]. Wszystkie białka NF-κB/Rel zawierają homologiczną domenę RHD (*Rel Homology Domain*), zlokalizowaną w N-końcowym odcinku łańcucha polipeptydowego. Domena ta odpowiedzialna jest za tworzenie dimerów i przyłączanie się do DNA. Ten fragment białka odpowiada także za interakcje z inhibitorami IκB. Ponadto, w obrębie domeny RHD znajduje się sekwencja NLS (*Nuclear Localisation Signal*), odpowiedzialna za translokację czynnika NF-κB z cytoplazmy do jądra komórkowego [36, 45]. Białka tworzące pierwszą klasę – RelA(p65), RelB i c-Rel – w C-końcowym odcinku mają domenę odpowiedzialną za aktywację transkrypcji. Natomiast białka NF-κB1 i NF-κB2 w formach prekursorowych p105 i p100 zawierają w rejonie C-końcowym motyw powtórzeń ankirynowych (ANK), dzięki któremu mogą pełnić funkcje inhibitorowe procesu dimeryzacji i aktywacji czynnika NF-κB [36, 58].

Aktywne czynniki transkrypcyjne NF-κB są dimerami, zawierającymi różnorakie kombinacje wymienionych wyżej białek NF-κB/Rel. Heterodimery różniące się podjednostkami mogą poprzez regulowanie ekspresji swoistych genów w odmienny sposób wywierać różne efekty biologiczne. Natomiast homodimery białek p50 lub p52 nie pełnią funkcji białek inicjujących transkrypcję, lecz czynników blokujących ekspresję genów [7]. Czynniki transkrypcyjne NF-κB w formie nieaktywnej obecne są w cytoplazmie w postaci kompleksu z inhibitorem IκB.

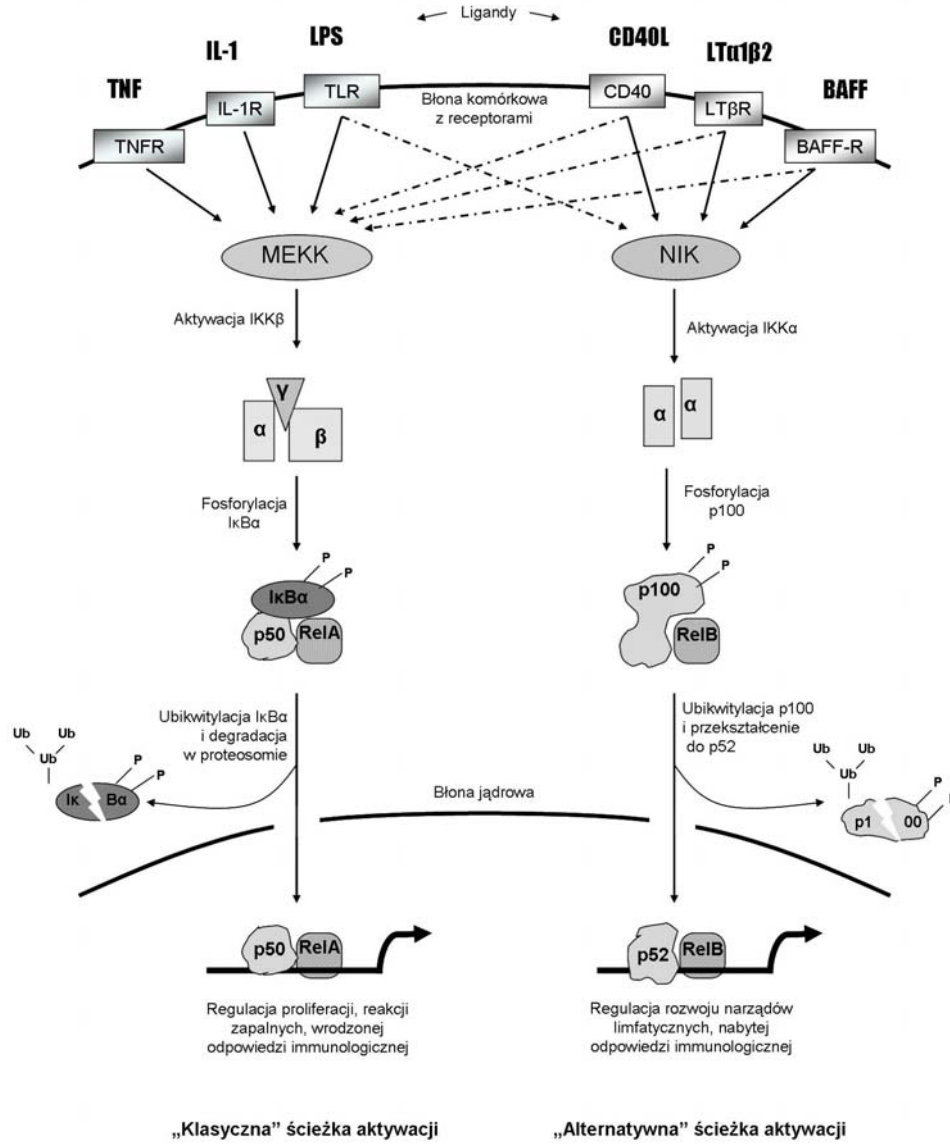
W komórkach ssaków do podrodziny białek inhibitorowych IκB należą trzy białka: IκBα, IκBβ i IκBε (ryc. 1B). Różne białka IκB wykazujące odmienne powinowactwo do różnych dimerów NF-κB/Rel. Białka IκB mają w swojej sekwencji aminokwasowej motyw powtórzeń ankirynowych (ANK). Domena N-terminalna pełni funkcję regulatorową i jest zaangażowana w proces proteolitycznej degradacji białka. Obecna w C-końcowym odcinku IκBα i IκBβ domena zawierająca motyw PEST (region bogaty w prolinę, kwas glutaminowy, serynę i treoninę), stabilizuje kompleks NF-κB/IκB [36, 58]. Funkcja inhibitora białek IκB polega na stymulowaniu zmian konformacyjnych w podjednostkach Rel, w wyniku których następuje przesłonięcie sygnału lokalizacji jądrowej oraz hamowanie wiązania do DNA [3, 17]. Białko IκBα jest kluczowe dla regulacji klasycznej ścieżki NF-κB, w którą zaangażowany jest przede wszystkim heterodimer p65/p50. Czynnikiem IκBα jako jedyny przedstawiciel rodziny białek IκB ma bogatą w leucynę sekwencję transportu jądrowego NES (*Nuclear Export Sequence*), dzięki której może indukować przechodzenie dimerów NF-κB z jądra komórkowego do cytoplazmy [45]. Do podrodziny białek IκB należy również białko Bcl-3, które pełni jednak odmienną funkcję niż pozostałe białka IκB [3]. Białko Bcl-3 obecne jest w jądrze komórkowym, gdzie w wyniku interakcji z homodimerami p50 lub p52 funkcjonuje jako transkrypcyjny ko-aktywator lub ko-represor [6, 36].

## MECHANIZM AKTYWACJI CZYNNIKA TRANSKRYPCYJNEGO NF- $\kappa$ B

Pod wpływem szeregu czynników środowiskowych komórki uruchamiają ścieżki sygnałowe, które są kaskadami zależnych od siebie i powiązanych biochemicznie procesów wewnątrzkomórkowych. W przypadku czynnika NF- $\kappa$ B istnieje kilka różnych ścieżek funkcjonujących odmiennie w zależności od rodzaju czynnika stymulującego, typu komórki oraz jej aktualnego zapotrzebowania. Dwa najczęściej występujące mechanizmy aktywacji czynnika NF- $\kappa$ B to ścieżka klasyczna i ścieżka alternatywna [36], których schemat przedstawiony jest na rycinie 2.

Mechanizm klasycznej ścieżki aktywacji NF- $\kappa$ B związany jest z odpowiedzią na stymulację prozapalną (np. cytokinami TNF i IL-1, lub bakteryjnymi lipopolisacharydami). Podstawą mechanizmu jest fosforylacja I $\kappa$ B katalizowana przez kinazy IKK (*I $\kappa$ B Kinase*), a następnie proteosomalna degradacja ufosforylowanego (i ubikwitylowanego) białka inhibitorowego [33, 36, 63]. Proces aktywacji tej ścieżki mogą inicjować m.in. kinazy MEKK (*Mitogen activated protein kinase/ERK Kinase Kinase 1*), kinaza Akt/PKB (*Protein Kinase B*) oraz kinazy z rodziny MAPK (*Mitogen Activated Protein Kinases*). Takie kinazy inicjatorowe aktywowane są m.in. przez receptory znajdujące się w błonie komórkowej, a następnie aktywują kompleks IKK [33, 45]. Kompleks IKK składa się z dwóch podjednostek katalitycznych IKK $\alpha$  i IKK $\beta$  oraz z jednostki regulatorowej NEMO (*NF- $\kappa$ B Essential MOdulator*), tzw. IKK $\gamma$ . Proces fosforylacji inhibitorów I $\kappa$ B w przypadku klasycznej aktywacji NF- $\kappa$ B zależy głównie od aktywności kinazy IKK, która z udziałem jednostki regulatorowej NEMO katalizuje przeniesienie grupy fosforanowej na dwie reszty serynowe znajdujące się w łańcuchu aminokwasowym tych białek (Ser-32 i Ser-36 w przypadku I $\kappa$ B $\alpha$ , Ser-19 i Ser-23 w przypadku I $\kappa$ B $\beta$  bądź Ser-157 i Ser-161 w przypadku I $\kappa$ B $\epsilon$ ) [36, 45]. W konsekwencji prowadzi to do ich zmiany konformacyjnej, umożliwiającą przyłączenie się kompleksu ligazy ubikwitynowej i degradacji w proteasomie 26S. Uwolniony w ten sposób, aktywny dimer NF- $\kappa$ B może przejść z cytoplazmy do jądra komórkowego. W przypadku stymulacji komórek czynnikami genotoksycznymi (np. promieniowaniem jonizującym) aktywacja kompleksu kinaz IKK poprzedzona jest transportem NEMO do jądra, jego fosforylacją i przemieszczeniem z jądra w postaci kompleksu z kinazą ATM (*Ataxia Telangiectasia Mutated*) [36].

Alternatywna ścieżka aktywacji czynnika NF- $\kappa$ B wymaga udziału kinaz IKK $\alpha$  i NIK (*NF $\kappa$ B Inducing Kinase*). Bodźcem niezbędnym do zaindukowania tej ścieżki sygnałowej może być połączenie limfotoksyny- $\beta$  z jej receptorem (LT $\beta$ R), związanie się czynnika aktywującego limfocyty B (BAFF) z jego receptorem bądź stymulacja komórki ligandem CD40 (CD40L, CD154) należącym do rodziny TNF (*Tumor Necrosis Factor*) [45, 63]. Właściwości aktywujące ma także białko LMP1 (*Latent Membrane Protein 1*) produkowane przez wirusa Epsteina-Barr, które indukuje m.in. wydzielanie ludzkiej IL10 [56]. Pierwszym etapem kaskady sygnałowej jest aktywacja homodimeru IKK $\alpha$  przez kinazę NIK. Aktywna kinaza IKK $\alpha$  fosforyluje



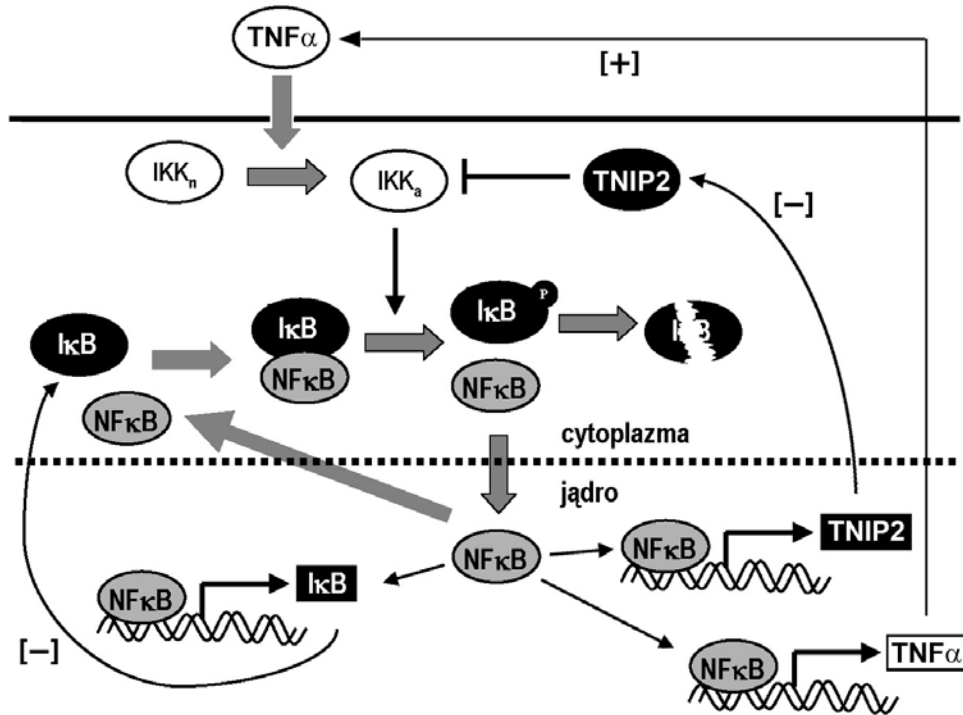
RYCINA 2. Schemat mechanizmu aktywacji „klasycznej” i „alternatywnej” ścieżki sygnałowej zależnej od NF-κB. Wybór ścieżki aktywacji białka NF-κB zależy od czynnika indukującego. W aktywacji klasycznej biorą udział m.in. receptory cytokin (np. TNFα, IL-1) lub lipopolisacharydu, a w przypadku ścieżki alternatywnej – receptory CD40, LTβ lub BAFF. Wybór uruchomionej ścieżki determinuje m.in. rodzaj aktywowanego efektora (np. odpowiednio heterodimerów p50/RelA lub p52/RelB) (zmodyfikowane wg [33, 36])

FIGURE 2. Chart of activation mechanisms of „classical” and „alternative” NF-κB pathways. Selection of a pathway depends on a triggering factor: cytokines (like TNFα or IL-1) and lipopolysaccharides are involved in classical pathway, while CD40, LTβ, BAFF ligands in alternative pathway. Activated pathway determines type of transcriptional effector (e.g., p50/RelA or p52/RelB heterodimers, respectively) (according to [33, 36], modified)

jednostkę prekursorową p100 heterodimeru NF- $\kappa$ B2/RelB. Białko to jest w następnej kolejności poddane proteolitycznej obróbce w proteasomie 26S, przy udziale ubikwityny, po czym dojrzały heterodimer p52/RelB jest transportowany do jądra komórkowego [33, 45].

Nietypowe szlaki indukujące NF- $\kappa$ B mogą zachodzić również w sposób niezależny od IKK, np. w komórkach traktowanych promieniowaniem UV lub poddanych hipoksji. W obu przypadkach dochodzi do fosforylacji I $\kappa$ B i uwolnienia NF- $\kappa$ B z nieaktywnego kompleksu, jednak kinazy zaangażowane w ten proces fosforylują I $\kappa$ B w nietypowych miejscach [36]. W przypadku odpowiedzi na promieniowanie UVC obserwuje się aktywację kinazy p38, która aktywuje kinazę kazeinową CK2. Ta z kolei fosforyluje I $\kappa$ B w obrębie domeny PEST znajdującej się w C-końcowej części (w mechanizmie klasycznym fosforylowana jest N-końcowa część białka) [29]. Ponadto, w komórkach napromieniowanych UV obserwuje się wydłużony czas aktywności czynnika NF- $\kappa$ B (do 12 godzin po napromieniowaniu). Sugeruje się, że taka wydłużona odpowiedź związana jest z regulacją na poziomie translacji białka inhibitorowego I $\kappa$ B $\alpha$ . Promieniowanie UV aktywuje kinazę PERK (*RNA-dependent Protein kinase-like ER-Kinase*), za której pośrednictwem dochodzi do zatrzymania syntezy białka I $\kappa$ B [62].

W ścieżki aktywacji czynnika NF- $\kappa$ B włączonych jest kilka pętli regulatorowych działających na zasadzie sprzężeń zwrotnych, w których uczestniczą białka kodowane przez geny aktywowane przez ten czynnik transkrypcyjny (ryc. 3). Takie pętle sprzężeń zwrotnych zawierają w sobie elementy zarówno wewnątrz-, jak i zewnątrzkomórkowe. Podstawowym elementem wewnątrzkomórkowej pętli sprzężenia zwrotnego ujemnego jest białko I $\kappa$ B $\alpha$  kodowane przez gen należący do tzw. wczesnych genów aktywowanych przez NF- $\kappa$ B. Aktywacja NF- $\kappa$ B prowadzi do uruchomienia ekspresji białka I $\kappa$ B $\alpha$ , które nagromadza się w komórce w ciągu kilkunastu- czy kilkudziesięciu minut, a następnie wiąże się z obecnym w jądrze czynnikiem NF- $\kappa$ B i powoduje jego przemieszczenie do cytoplazmy i inaktywację. Elementem drugiej wewnątrzkomórkowej pętli sprzężenia zwrotnego ujemnego jest białko A20/TNIP2 (*TNF Interacting Protein 2*), które jest czynnikiem hamującym aktywację kinazy IKK. Pętle pozytywnych sprzężeń zwrotnych zawierają elementy zewnątrzkomórkowe i związane są z uwolnieniem do przestrzeni pozakomórkowej szeregu cytokin wzmacniających pierwotny sygnał prozapalny. NF- $\kappa$ B aktywuje ekspresję genów kodujących cytokiny wczesnej odpowiedzi komórkowej, takie jak TNF $\alpha$  oraz IL1 $\beta$ , a także mediatory późnej odpowiedzi, takie jak interleukiny IL6 oraz IL8, co umożliwia zwielokrotnianie sygnału i jego przekazywanie do innych komórek. Cytokiny, których ekspresja aktywowana jest przez NF- $\kappa$ B, mogą również stymulować produkcję cytokin o działaniu antagonistycznym (np. IL10), które blokują produkcję cytokin prozapalnych, i w efekcie tworzą zewnątrzkomórkową pętlę sprzężenia zwrotnego ujemnego [36]. Ponadto promotory genów kodujących podjednostki NF- $\kappa$ B (poza RelA) zawierają miejsca wiązania się tego czynnika transkrypcyjnego i są przez niego aktywowane. Pętle regulatorowe biorące udział w ścieżkach aktywacji czynnika NF- $\kappa$ B są wdzięcznym obiektem modeli matematycznych



RYCINA 3. Schemat pętli autoregulacyjnych ścieżki sygnałowej zależnej od NF- $\kappa$ B; zaznaczono ujemne [-] i dodatnie [+] sprzężenia zwrotne. Ujemne pętle sprzężeń zwrotnych z udziałem inhibitora I $\kappa$ B oraz białka A20/TNIP2 mają charakter wewnątrzkomórkowy i prowadzą do zablokowania ścieżki NF- $\kappa$ B. Dodatnie sprzężenie zwrotne, związane z wydzielaniem cytokin (np. TNF $\alpha$ ), powoduje wzmocnienie pierwotnego sygnału aktywacji ścieżki zależnej od NF- $\kappa$ B

FIGURE 3. Chart of auto-regulatory loops involved in the NF- $\kappa$ B signaling: shown are negative [-] and positive feedback [+] loops. Negative feedback control bases on intracellular components and includes transcriptional activation of I $\kappa$ B and A20/TNIP2 inhibitors of NF- $\kappa$ B pathway. Positive feedback loop bases on secretion of cytokines (e.g., TNF $\alpha$  and stimulates NF- $\kappa$ B signaling through extracellular component

opisujących dynamikę odpowiedzi komórkowej zależnej od tego czynnika transkrypcyjnego i jej interferencji z innymi ścieżkami sygnałowymi [31, 41].

### GENY AKTYWOWANE PRZEZ CZYNNIK TRANSKRYPCYJNY NF- $\kappa$ B

Czynnik transkrypcyjny NF- $\kappa$ B uważany jest za wspólny element wielu szlaków sygnalizacji wewnątrzkomórkowej, mogący regulować ekspresję kilkuset genów. Podstawowa grupa genów aktywowanych przez ten czynnik transkrypcyjny to geny kodujące cytokiny i inne białka biorące udział w regulacji stanu zapalnego i odpowiedzi immunologicznej [45]. Druga duża grupa genów, których ekspresja regulowana jest przez NF- $\kappa$ B, to geny kodujące białka uczestniczące w procesie apoptozy, przede wszystkim białka anty-apoptotyczne. Można wśród nich wyróżnić kilka kategorii: białka inhibitorowe procesu apoptozy z rodziny IAP (*Inhibitors of*



*Apoptosis*), takie jak: c-IAP1/2 (*cellular Inhibitor of Apoptosis Protein 1/2*) i XIAP (*X-linked Inhibitor of Apoptosis Protein*), anty-apoptotyczne białka z rodziny Bcl-2, takie jak: Bcl-2 (*B-cell lymphoma 2*) i Bcl-XL (*B-cell lymphoma-eXtra Large*) oraz białka adaptorowe oddziałujące z receptorami śmierci, takie jak: TRAF-1/2 (*TNF Receptor-Associated Factor 1/2*). Ponadto, wśród genów zależnych od NF- $\kappa$ B znajdują się geny kodujące ważne aktywatory progresji cyklu komórkowego – cyklina D1 oraz czynnik transkrypcyjny c-myc [9]. Wiele genów aktywowanych przez czynnik NF- $\kappa$ B ma istotne znaczenie dla procesów nowotworzenia. Poza wspomnianymi wcześniej genami kodującymi białka anty-apoptotyczne lub stymulujące aktywność podziałową komórki, należą tu geny regulujące proces angiogenezy, takie jak: VEGF (*Vascular Endothelial Growth Factor*) lub aktywator plazminogenu, oraz geny kodujące białka adhezyjne ICAM-1 (*Inter-Cellular Adhesion Molecule 1*), VCAM (*Vascular Cell Adhesion Molecule*) i ELAM-1 (*Endothelium Leukocyte Adhesion Molecule 1*), które biorą udział w procesie przerzutowania [9]. Innym genem aktywowanym przez NF- $\kappa$ B jest gen *CCL5* kodujący chemokinę RANTES, którego wysoka aktywność koreluje ze wzmożonym przerzutowaniem w czerniaku i raku piersi [2, 32].

## **MODYFIKACJE POTRANSLACYJNE I ICH UDZIAŁ W REGULACJI SZLAKU NF- $\kappa$ B**

Białka z rodziny NF- $\kappa$ B są obiektem szeregu modyfikacji i interakcji regulacyjnych, które określają ich aktywność i swoistość dla genów docelowych. Fosforylacja białek p50 i p65 katalizowana przez kinazy IKK, PKA, PKC i CK2 zwiększa ich powinowactwo do swoistych sekwencji DNA oraz zdolność wiązania ko-aktywatorów, takich jak p300/CBP [7, 36]. Natomiast fosforylacja białka p65 przez kinazę Chk1 powoduje zahamowanie jego zdolności transaktywacyjnych, wskutek czego obserwuje się represję genów anty-apoptotycznych [36]. Podjednostka p65 ulega również innej modyfikacji – acetylacji. Uważa się, iż następująca wcześniej zmiana konformacyjna białka wywołana jego fosforylacją może sprzyjać przyłączaniu się acetylaz typu HAT (*Histone Acetyl Transferase*). Acetylacja p65 uniemożliwia jego wiązanie się z I $\kappa$ B, a tym samym blokuje jego transport do cytoplazmy i inaktywację [7].

Oddziaływania NF- $\kappa$ B z acetylazami i deacetylazami – HDAC (*Histone DeAcetylase*) histonów ułatwiają zmiany lokalnego poziomu acetylacji histonów. Indukuje to zmiany struktury chromatyny w obrębie genów, z których promotorami wiąże się ten czynnik transkrypcyjny. Mechanizm ten ma istotne znaczenie dla regulacji ekspresji wielu genów zależnych od NF- $\kappa$ B. Niezależnie od rodzaju czynnika aktywującego ścieżkę sygnałową NF- $\kappa$ B (wzrostowego lub apoptotycznego), NF- $\kappa$ B wiąże się do genów zarówno pro-, jak i anty-apoptotycznych. Jednak w odpowiedzi na stymulację czynnikami wzrostowymi w promotorach genów o charakterze pro-apoptotycznym NF- $\kappa$ B występuje w postaci kompleksu z białkami HDAC, co powoduje represję tych genów. Natomiast w promotorach genów anty-apoptotycznych NF- $\kappa$ B obecny jest w postaci kompleksu z białkami HAT, co w rezultacie prowadzi do aktywacji transkrypcji tych

genów. W przypadku odpowiedzi komórkowej na stymulację czynnikami apoptotycznymi sytuacja jest odwrotna, w rezultacie czego następuje zależna od NF- $\kappa$ B aktywacja genów pro-apoptotycznych [15].

## ZNACZENIE CZYNNIKA NF- $\kappa$ B W ETIOLOGII I TERAPII NOWOTWORÓW

Biorąc pod uwagę zdolność NF- $\kappa$ B do aktywacji szeregu genów istotnych w procesie nowotworzenia nie jest niespodzianką, że wiele typów komórek nowotworowych uzyskuje zdolność do konstytutywnej aktywacji tego czynnika transkrypcyjnego. Jest to nie tylko czynnik ułatwiający transformację nowotworową i wzrost guza, ale także przyczyna odporności komórek guza na terapię przeciwnowotworową [10, 42, 54]. O onkogennych właściwościach białek z rodziny NF- $\kappa$ B może również świadczyć wysoka homologia między wirusowym onkogenem v-Rel i jego komórkowym odpowiednikiem c-Rel [24]. Z kolei w niektórych przypadkach chłoniaków z limfocytów T lub B gen *NF $\kappa$ B2* ulega rearanżacji, co w konsekwencji prowadzi do jego konstytutywnej obecności w jądrze komórkowym [22]. Również gen kodujący białko Bcl-3, inny członek rodziny NF- $\kappa$ B, także jest protoonkogenem, pierwotnie identyfikowanym z częścią przypadków przewlekłej białaczki limfatycznej [6, 48].

Konstytutywna aktywacja NF- $\kappa$ B występuje w wielu typach raka, stanowiąc duży problem dla terapii przeciwnowotworowej. Zahamowanie aktywności tego czynnika transkrypcyjnego mogłoby stać się elementem efektywnej terapii tego typu [33, 54]. Jedną z testowanych strategii jest terapia nacelowana na kinazy białkowe (np. IKK lub CK2), które biorą udział w aktywacji ścieżki NF- $\kappa$ B [4, 27]. Inna strategia polega na stosowaniu inhibitorów proteasomów, której skutkiem jest m.in. zablokowanie proteolizy białek I $\kappa$ B [44]. Stwierdzono, że zahamowanie ścieżki NF- $\kappa$ B może uczulać komórki nowotworowe na apoptozę aktywowaną przez „receptory śmierci”, interferon czy komórki efektorowe układu odpornościowego, co daje nadzieję na rozwój nowych terapii kombinowanych przeciwko nowotworom pochodzenia hematologicznego i nabłonkowego [42].

Do szlaków komórkowych, z którymi oddziałuje ścieżka NF- $\kappa$ B i które również mają duże znaczenie dla rozwoju nowotworów i terapii przeciwnowotworowej, należą ścieżki sygnałowe zależne od czynników transkrypcyjnych p53 i HSF1. Obie te ścieżki sygnałowe i ich funkcjonalne powiązania ze szlakiem NF- $\kappa$ B omówione są w dalszej części pracy.

## WSPÓLZALEŻNOŚCI ŚCIEŻEK SYGNAŁOWYCH ZALEŻNYCH OD NF- $\kappa$ B I p53

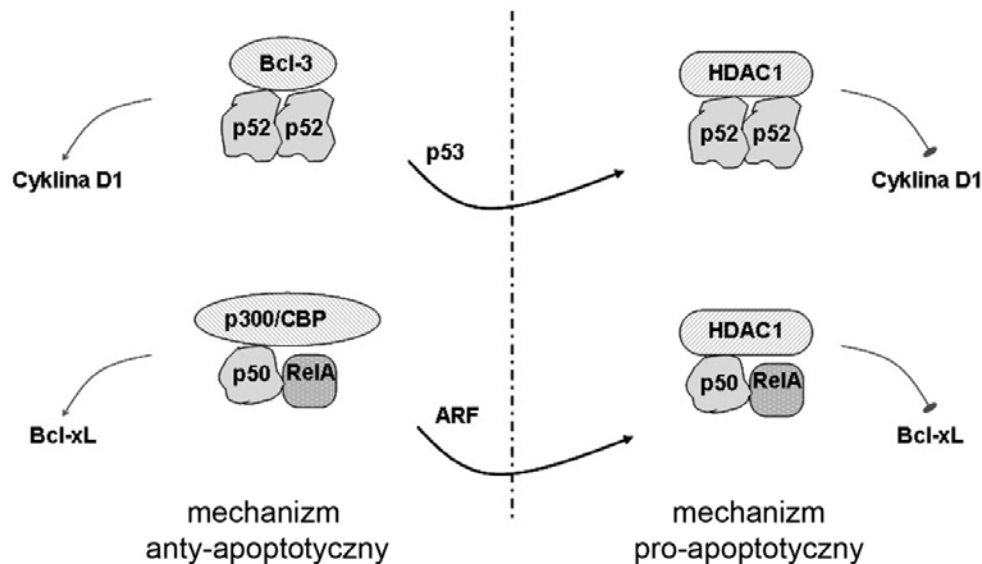
Białko p53 jest czynnikiem transkrypcyjnym kodowanym przez gen *TP53*, należący do konserwatywnej rodziny genów, w skład której wchodzi geny kodujące homologiczne białka o nazwie p63 i p73 [20]. Podstawowe grupy genów aktywowanych

przez p53 to geny kodujące białka zaangażowane w regulację cyklu komórkowego, apoptozę i naprawę DNA. Białko p53 – często nazywane „strażnikiem genomu” – odgrywa kluczową rolę w determinacji losu komórki zawierającej uszkodzony materiał genetyczny. Aktywacja p53 następuje w wyniku uruchomienia różnych ścieżek odpowiedzi na stres komórkowy, i zależna jest m.in. od kinaz białkowych ATM, ATR, Chk1, Chk2, JNK i c-Abl [13]. Kinazy te fosforylują białko p53, co umożliwia utworzenie tetrameru i jego stabilizację jako czynnika transkrypcyjnego [34]. Aktywność białka p53 w komórce w warunkach prawidłowych utrzymywana jest na niskim poziomie za pośrednictwem białka MDM2 (u człowieka HDM2), które kodowane jest przez gen aktywowany przez p53. M/HDM2 jest swoistą ligazą ubikwityny, która promuje proteosomalną degradację białka p53, a tym samym pełni funkcje jego negatywnego regulatora [50]. Mutacje w genie *TP53* należą do najczęstszych zmian genetycznych obserwowanych w komórkach ludzkich nowotworów. Uważa się, że ponad połowa z nich ma defekt białka p53. Większość z tych zaburzeń powodowana jest przez nonsensowne mutacje prowadzące do zmiany powinowactwa białka p53 do DNA lub innych białek. Mechanizmy regulacji aktywności i funkcji białka p53 zostały przedstawione w licznych pracach przeglądowych [13, 26, 28, 37], również publikowanych w języku polskim [12].

Wiele bodźców docierających do komórki jednocześnie indukuje ścieżki zależne od p53 i od NF- $\kappa$ B, a współdziałanie obu ścieżek sygnałowych reguluje procesy proliferacji komórki i apoptozy. Jednak w odróżnieniu od aktywacji p53, która związana jest z indukcją blokady cyklu komórkowego i/lub apoptozy, indukcja NF- $\kappa$ B jest generalnie związana z opornością na apoptozę i stymulacją proliferacji komórki. Znanych jest szereg mechanizmów, dzięki którym oba szlaki sygnałowe wpływają na swoją aktywność. Miejsce wiązania NF- $\kappa$ B znajduje się w promotorze genu *TP53* i NF- $\kappa$ B aktywuje ekspresję tego genu [61]. Jednocześnie NF- $\kappa$ B wzmacnia poziom ekspresji M/HDM2, a tym samym negatywnie reguluje poziom białka p53 [57]. Z kolei białko p53 w sposób pośredni z udziałem kinazy RSK1 (*Ribosomal S6 Kinase 1*) indukuje fosforylację RelA w pozycji Ser-536, a tym samym jego lokalizację jądrową [36]. Dodatkowo, oba białka – NF- $\kappa$ B (forma RelA) i p53 – współzawodniczą o wiązanie z ko-aktywatorem transkrypcji p300/CBP, którego aktywność jest istotna dla ekspresji genów aktywowanych przez oba czynniki transkrypcyjne. Za pośrednictwem wiązania się z p300/CBP NF- $\kappa$ B może pełnić rolę supresora genów zależnych od p53, a z drugiej strony wiązanie aktywnego p53 z p300/CBP powoduje utratę aktywności NF- $\kappa$ B [19]. Uważa się, iż „przełącznikiem” wiązania się białka p300/CBP z p53 na NF- $\kappa$ B jest fosforylacja białka CBP (*CREB Binding Protein*) katalizowana przez IKK $\alpha$ . Kinaza IKK $\alpha$  wykazująca zdolność przemieszczania się między cytoplazmą i jądrem komórkowym (np. w wyniku stymulacji przez TNF $\alpha$ ) fosforyluje CBP w pozycji Ser-1382/Ser-1386, zwiększając preferencję jego wiązania z NF- $\kappa$ B [19]. Złożoność oddziaływań między ścieżkami sygnałowymi p53 i NF- $\kappa$ B zwiększa dodatkowo obecność w komórce różnych form czynnika NF- $\kappa$ B. Białko p52 (NF- $\kappa$ B2) może wiązać się do promotorów genów zależnych od p53, w sposób zależny od p53, nawet jeśli takie promotory nie mają miejsca wiązania NF- $\kappa$ B. Do promotorów niektórych genów,

na przykład genu *WAF/CIP1* (który koduje podstawowy inhibitor kinaz cyklicznych p21), p52 rekrutowany jest w formie związanej z HDAC1, co powoduje represję tych genów. Z drugiej strony p52 może wspomagać p53 w aktywacji szeregu genów zaangażowanych w apoptozę (m.in. PUMA, DR5, GADD45 $\alpha$ ), ułatwiając rekrutację ko-aktywatorów transkrypcji p300/CBP [49].

Generalnie uważa się, że NF- $\kappa$ B pełni funkcje onkogenne, a jego aktywność jest antagonistyczna do aktywności p53. Jednak w niektórych sytuacjach NF- $\kappa$ B może hamować wzrost nowotworu i działać jako nowotworowy supresor. Zaobserwowano, że forma RelA (p65) może być zaangażowana w apoptozę zależną od białka p53 [46]. Stwierdzono również, że białko p53 reguluje aktywność NF- $\kappa$ B występującego w formie homodimeru p52, który zaangażowany jest w regulację ekspresji genu kodującego cyklinę D1, białka odpowiedzialnego za proliferację komórki. Obecność p53 indukuje przekształcenie kompleksu aktywującego p52/Bcl-3 w kompleks hamujący, na który składa się dimer p52 oraz deacetylaza histonowa HDAC1 [35, 49] (ryc. 4). Również inny supresor nowotworów – białko p14ARF, może zmieniać aktywność NF- $\kappa$ B na anti-onkogeną. W obecności białka p14ARF kompleks p50/



RYCINA 4. Wpływ białek supresorowych p53 i p14ARF na modulację funkcji czynnika NF- $\kappa$ B. Czynniki transkrypcyjne NF- $\kappa$ B pełni funkcje onkogenne poprzez aktywację ekspresji genów kodujących białka o charakterze anty-apoptotycznym (np. Bcl-XL) lub stymulujących proliferację (np. Cyklina D1). Białka supresorowe, takie jak p53 i p14ARF, indukują wiązanie podjednostek NF- $\kappa$ B z deacetylazą histonową HDAC1 i tworzenie kompleksów o charakterze ko-represorów transkrypcji. W ten sposób zahamowana zostaje ekspresja swoistych genów zależnych od NF- $\kappa$ B, co prowadzi do zatrzymania cyklu komórkowego i/lub indukcji apoptozy (zmodyfikowane wg [35])

FIGURE 4. The influence of p53 and p14ARF tumor suppressor proteins on regulation of NF- $\kappa$ B functions. NF- $\kappa$ B transcription factor reveals pro-oncogenic functions through activation of anti-apoptotic genes (e.g. Bcl-XL) and genes involved in proliferation (e.g. Cyclin D1). Interactions of p53 or p14ARF with NF- $\kappa$ B promote formation of complexes between NF- $\kappa$ B and HDAC1 histone deacetylase. Such complexes play a role of transcriptional co-repressors and inhibit expression of specific NF- $\kappa$ B-dependent genes (according to [35], modified)

RelA wiąże deacetylazę HDAC1, co w rezultacie powoduje represję zależnych od NF- $\kappa$ B genów oporności na apoptozę (np. Bcl-xL) [35] (ryc. 4).

## WSPÓLZALEŻNOŚCI ŚCIEŻKI NF- $\kappa$ B I KOMÓRKOWEJ ODPOWIEDZI NA STRES ZALEŻNEJ OD CZYNNIKA HSF1

Szereg czynników środowiskowych nazywanych czynnikami stresu komórkowego (między innymi podwyższona temperatura, niedotlenienie, chemiczne i fizyczne czynniki uszkadzające makrocząsteczki komórkowe), indukuje swoistą odpowiedź komórki, tzw. *heat shock/stress response* (HSR). Uniwersalnym czynnikiem wewnątrzkomórkowym wyzwalającym ten rodzaj odpowiedzi jest obecność nieprawidłowych (zdenaturowanych) białek. Bezpośrednią reakcją komórki na obecność nieprawidłowych białek jest aktywacja czynnika transkrypcyjnego HSF1 (*Heat Shock Factor 1*), który indukuje syntezę i akumulację białek HSP (*Heat Shock Protein*). HSP to duża grupa polipeptydów pełniących funkcję głównych komórkowych białek opiekuńczych, tworzona przez kilka wielogenowych rodzin (np. HSP70, HSP90 i inne). HSP kontrolują strukturę innych białek pełniąc funkcję podstawowych komórkowych białek opiekuńczych (*molecular chaperones*). Biorą one udział m.in. w fałdowaniu nowo syntetyzowanych peptydów, transporcie białek przez błony, regulacji struktury receptorów, prezentacji antygenów, a w warunkach stresu umożliwiają renaturację nieprawidłowo pofałdowanych białek lub ich usuwanie w proteasomach. HSP najsilniej indukowane w czasie stresu nazwano indukowalnymi HSP (np. HSP70i), natomiast inne białka HSP obecne są w komórce również w warunkach fizjologicznych. Uważa się, że dla cytoprotekcyjnego działania HSP najistotniejszy jest efekt anty-apoptotyczny; np. białka HSP70 mogą hamować szereg szlaków prowadzących do aktywacji kaspaz [11, 14, 23]. W ostatnich latach wykazano, że w komórkach nowotworowych często dochodzi do stałej aktywacji HSF1 i uruchomienia nadmiernej syntezy i akumulacji białek HSP, co wiąże się z podwyższoną opornością na terapię i gorszymi rokowaniami [1, 5, 8, 47]. Głównym regulatorem odpowiedzi HSR jest czynnik transkrypcyjny HSF1, który wiąże się z elementem regulatorowym HSE (*Heat Shock Element*) obecnym w promotorach genów z rodziny HSP. W warunkach fizjologicznych HSF1 występuje jako monomer w kompleksach z białkami HSP. Po pojawieniu się w komórce zdenaturowanych białek monomery HSF1 uwalniane są z kompleksów, co umożliwia ich trimeryzację. Homotrimery HSF1 przemieszczają się do jądra komórkowego, gdzie ulegają hiperfosforylacji, a następnie wiążą się z sekwencjami HSE i aktywują ekspresję genów HSP. Odtworzona pula białek HSP ponownie wiąże czynnik HSF1 w cytoplazmie, dopełniając pętlę ujemnego sprzężenia zwrotnego [8, 25, 39, 60].

Poza genami HSP również inne geny, także te niemające elementu HSE, są regulowane przez czynnik HSF1. Do takich genów, których ekspresja w różny sposób modulowana jest przez HSF1, należy szereg genów zależnych od NF- $\kappa$ B. Aktywny HSF1 może wchodzić w interakcje z różnymi białkami uczestniczącymi

w regulacji odpowiedzi zapalnej, m.in. STAT-1 lub C/EBP $\beta$  [18, 53]. HSF1 może oddziaływać z białkiem NF-IL6, aktywatorem genu IL1 $\beta$ , powodując hamowanie transkrypcji tego genu [21]. Hamujący wpływ aktywnego HSF1 na ekspresję genów zależnych od NF- $\kappa$ B może mieć także charakter bezpośredni, wynikający z wiązania się HSF1 do miejsc regulatorowych takich genów. Przykładem jest wiązanie HSF1 do promotora genu kodującego cytokinę TNF $\alpha$  i hamowanie jego transkrypcji zależnej od NF- $\kappa$ B [52, 53]. Wykazano również, że wiązanie się HSF1 do promotora genu *IL6* jest niezbędne do regulacji jego aktywacji, co związane jest z miejscowym rozluźnieniem chromatyny umożliwiającym przyłączenie się aktywatorów (NF- $\kappa$ B) lub represorów (ATF3) [21].

Mechanizmy odpowiedzi HSR, na przykład indukowanej szokiem termicznym, mogą blokować aktywację ścieżki NF- $\kappa$ B niezależnie od czynnika HSF1. Stwierdzono, że w wyniku hipertermii inaktywacji ulegają kinazy IKK $\alpha$ , IKK $\beta$ , NIK i IRAK4 niezbędne do fosforylacji inhibitora I $\kappa$ B $\alpha$ , w efekcie czego czynnik NF- $\kappa$ B (heterodimer p50/p65) utrzymywany jest w formie nieaktywnej w cytoplazmie [40]. W proces ten zaangażowane jest m.in. białko HSP72, które wiąże się do IKK $\gamma$ , blokując jego przyłączenie do IKK $\alpha$  i IKK $\beta$  oraz uformowanie kompleksu kinaz IKK [43].

Również ekspresja genów zależnych od czynnika HSF1 może być modulowana przez ścieżkę NF- $\kappa$ B. Wykazano, że geny kodujące białka HSP70 i HSP90 mają miejsca wiązania dla zależnych od NF- $\kappa$ B białek STAT-1 czy NF-IL6. Wiązanie tych białek do promotorów genów HSP stymuluje ich ekspresję zależną od HSF1 [55]. Stwierdzono również, że cytokina TNF $\alpha$  może krótkotrwale hamować HSF1 przez modulację aktywności fosfataz białkowych, zaangażowanych w regulację stopnia jego fosforylacji [51].

## PODSUMOWANIE

Ścieżki sygnałowe zależne od białek NF- $\kappa$ B, p53 i HSF1 należą do najważniejszych szlaków regulujących odpowiedź na stres komórkowy. Prawidłowe funkcjonowanie komórki w warunkach stresu jest związane z zachowaniem równowagi między ekspresją genów regulowanych przez te czynniki transkrypcyjne. W wyniku defektów lub inaktywacji którejkolwiek z tych ścieżek sygnałowych obserwuje się zachwianie homeostazy, co w kontekście całego organizmu może prowadzić do śmierci lub powstania nowotworu. Ścieżki sygnałowe omówione w pracy odgrywają ważną rolę zarówno w patogenezie szeregu chorób, jak i w mechanizmach decydujących o skuteczności ich leczenia (m.in. regulują złożoną odpowiedź komórkową indukowaną terapią przeciwnowotworową lub przeciwzapalną). Wyjaśnienie współzależności tych ścieżek sygnałowych może więc mieć kluczowe znaczenie dla projektowania w przyszłości nowych strategii terapeutycznych.

**BIBLIOGRAFIA**

- [1] ARYA R, MALLIK M, LAKHOTIA SC. Heat shock genes – integrating cell survival and death. *J Biosci* 2007; **32**: 595–610.
- [2] AZENSHTAIN E, LUBOSHITS G, SHINA S, NEUMARK E, SHAHBAZIAN D, WEIL M, WIGLER N, KEYDAR I, BEN-BARUCH A. The CC Chemokine RANTES in Breast Carcinoma Progression: Regulation of Expression and Potential Mechanisms of Promalignant Activity. *Cancer Res* 2002; **62**: 1093–1102.
- [3] BAI L, ZHU WG. p53: Structure, Function and Therapeutic Applications. *J Cancer Mol* 2006; **2**: 141–153.
- [4] BROWN MS, DIALLO OT, HU M, EHSANIAN R, YANG X, ARUN P, LU H, KORMAN V, UNGER G, AHMED K, WAES CV, CHEN Z. CK2 Modulation of NF- $\kappa$ B, TP53, and the malignant phenotype in head and neck cancer by anti-CK2 oligonucleotides *in vitro* or *in vivo* via sub-50-nm nanocapsules. *Clin Cancer Res* 2010; **16**: 2295–2307.
- [5] CALDERWOOD SK, KHALEQUEA A, SAWYERC DB, CIOCCA DR. Heat shock proteins in cancer: chaperones of tumorigenesis. *Trends Biochem Sci* 2006; **31**: 164–172.
- [6] CARMODY RJ, RUAN Q, PALMER S, HILLIARD B, CHEN YH. Negative regulation of Toll-like receptor signaling by NF- $\kappa$ B p50 ubiquitination blockade. *Science* 2007; **317**: 675–678.
- [7] CZYŻ M. Specyficzność i selektywność działania czynnika transkrypcyjnego NF $\kappa$ B. *Post Biochem* 2005; **51**: 60–68.
- [8] DAI C, WHITESELL L, ROGERS AB, LINDQUIST S. Heat shock factor 1 is a powerful multifaceted modifier of carcinogenesis. *Cell* 2007; **130**: 1005–1018.
- [9] DEBATIN KM, FULDA S. Apoptosis and cancer therapy. WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim 2006.
- [10] DEPTAŁA A, NURZYŃSKA D, DARŻYŃKIEWICZ Z, JĘDRZEJCZAK WW. Rola białek z rodziny Rel/NF $\kappa$ B/I $\kappa$ B w patogenezie nowotworów. *Post Biol Kom* 2002; **29**: 489–504.
- [11] DUDEJA V, MUJUJDAR N, PHILLIPS P, CHUGH R, BORIA-CACHO D, DAWRA RK, VICKERS SM, SALUJAAK. Heat shock protein 70 inhibits apoptosis in cancer cells through simultaneous and independent mechanisms. *Gastroenterology* 2009; **136**: 1772–1782.
- [12] DWORAKOWSKA D. Rola białka p53, pRb, p21<sup>WAF1/CIP1</sup>, PCN2, mdm2 oraz cykliny D1 w regulacji cyklu komórkowego oraz apoptozy. *Onkol Pol* 2005; **8**: 223–228.
- [13] EFEYAN A, SERRANO M. p53: guardian of the genome and policeman of the oncogenes. *Cell Cycle* 2007; **6**: 1006–1010.
- [14] FENG X, BONNI S, RIABOWOL K. Hsp70 induction by ING proteins sensitizes cells to tumor necrosis factor alpha receptor-mediated apoptosis. *Mol Cell Biol* 2006; **26**: 9244–9255.
- [15] GRAHAM B, GIBSON SB. The two faces of NF $\kappa$ B in cell survival responses. *Cell Cycle* 2005; **4**: 1342–1344.
- [16] GRIMM S, BAEUERLE PA. The inducible transcription factor NF- $\kappa$ B: structure-function relationship of its protein subunits. *Biochem J* 1993; **290**: 297–230.
- [17] GRUBER BM. Czynniki transkrypcyjne NF $\kappa$ B – nowa perspektywa w leczeniu nowotworów. *Post Biochem* 2004; **50**: 118–130.
- [18] HE H, CHEN C, XIE Y, ASEA A, CALDERWOOD SK. Hsp70 and heat shock factor 1 cooperate to repress Ras-induced transcriptional activation of the c-fos gene. *Cell Stress Chaperones* 2000; **5**: 406–411.
- [19] HUANG WCH., JU TK, HUNG MCH., CHEN CHCH. Phosphorylation of CBP by IKK $\alpha$  promotes cell growth by switching the binding preference of CBP from p53 to NF $\kappa$ B. *Mol Cell* 2007; **26**: 75–87.
- [20] HUPP TR, LANE DP, BALL KL. Strategies for manipulating the p53 pathway in the treatment of human cancer. *Biochem J* 2000; **352**: 1–17.
- [21] INOUE S, FUJIMOTO M, NAKAMURA T, TAKAKI E, HAYASHIDA N, HAI T, NAKAI A. Heat shock transcription factor 1 opens chromatin structure of interleukin-6 promoter to facilitate binding of an activator or a repressor. *J Biol Chem* 2007; **282**: 33210–33217.
- [22] ISOGAWA M, HIGUCHI M, TAKAHASHI M, OIE M, MORI N, TANAKA Y, AOYAGI Y, FUJII M. Rearranged NF-kappa B2 gene in an adult T-cell leukemia cell line. *Cancer Sci* 2008; **99**: 792–798.
- [23] JIANG B, WANG K, LIANG P, XIAO W, WANG H, XIAO X. ATP-binding domain of heat shock protein 70 is essential for its effects on the inhibition of the release of the second mitochondria-derived activator of caspase and apoptosis in C2C12 cells. *FEBS J* 2009; **276**: 2615–2624.

- [24] KARIN M. NF- $\kappa$ B as a critical link between inflammation and cancer. *Cold Spring Harb Perspect Biol* 2009; **1**: 1–14.
- [25] KNOWLTON AA. NF $\kappa$ B, heat shock proteins, HSF-1, and inflammation. *Cardiovasc Res* 2006; **69**: 7–8.
- [26] LAPTENKO O, PRIVES C. Transcriptional regulation by p53: one protein, many possibilities. *Cell Death Differ* 2006; **13**: 951–961.
- [27] LE D-F, HUNG M-C. Advances in targeting IKK and IKK-related kinases for cancer therapy. *Clin Cancer Res* 2008; **14**: 5656–5662.
- [28] LEVINE AJ. p53, the cellular gatekeeper for growth and division. *Cell* 1997; **88**: 323–331.
- [29] LIN, KARIN M. Ionizing radiation and short wavelength UV activate NF- $\kappa$ B through two distinct mechanisms. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998; **95**: 13012–13017.
- [30] LICASTRO F, CANDORE G, LIO D, PORCELLINI E, COLONNA-ROMANO G, FRANCESCHI C, CARUSO C. Innate immunity and inflammation in ageing: a key for understanding age-related diseases. *Immunity Ageing* 2005; **2**: 8–21.
- [31] LIPNIACKI T, PUSZYŃSKI K, PASZEK P, BRASIER AR, KIMMEL M. Single TNF $\alpha$  trimers mediating NF- $\kappa$ B activation: stochastic robustness of NF- $\kappa$ B signaling. *BMC Bioinformatics* 2007; **8**: e37.
- [32] MROWIETZ U, SCHWENK U, MAUNE S, BARTELS J, KÜPPER M, FICHTNER I, SCHRÖDER JM, SCHADENDORF D. The chemokine RANTES is secreted by human melanoma cells and is associated with enhanced tumour formation in nude mice. *Br J Cancer* 1999; **79**: 1025–1031.
- [33] NISHIKORI M. Classical and Alternative NF- $\kappa$ B Activation Pathways and Their Roles in Lymphoid Malignancies. *J Clin Exp Hematopathol* 2005; **45**: 15–24.
- [34] OREN M. Regulation of the p53 Tumor Suppressor Protein. *J Biol Chem* 1999; **274**: 36031–36034.
- [35] PERKINS ND. NF- $\kappa$ B: tumor promoter or suppressor? *Trends Cell Biol* 2004; **14**: 64–69.
- [36] PERKINS ND. Integrating cell-signaling pathways with NF $\kappa$ B and IKK function. *Mol Cell Biol* 2007; **8**: 49–62.
- [37] PIETSCH EC, SYKES SM, McMAHON SB, MURPHY ME. The p53 family and programmed cell death. *Oncogene* 2008; **27**: 6507–6521.
- [38] PIOTROWSKA A, IŻYKOWSKA I, PODHORSKA-OKOŁÓW M, ZABEL M, DZIĘGIEL P. Budowa białek z rodziny NF- $\kappa$ B i ich rola w procesie apoptozy. *Post Hig Med Dośw* 2008; **62**: 64–74.
- [39] PIRKKALA L, NYKANEN P, SISTONEN L. Roles of the heat shock transcription factors in regulation of the heat shock response and beyond. *FASEB J* 2001; **15**: 1118–1131.
- [40] PITTET JF, LEE H, PESPENI M, O'MAHONY A, ROUX J, WELCH WJ. Stress-induced inhibition of the NF-kappaB signaling pathway results from the insolubilization of the IkappaB kinase complex following its dissociation from heat shock protein 90. *J Immunol* 2000; **174**: 384–394.
- [41] PUSZYŃSKI K, BERTOLUSSO R, LIPNIACKI T. Crosstalk between p53 and NF- $\kappa$ B systems: pro- and anti-apoptotic functions of NF- $\kappa$ B. *IET Syst Biol* 2009; **3**: 356–367.
- [42] RAJANI R, ATUL B. NF- $\kappa$ B in cancer: a friend turned foe. *Drug Resist Update* 2004; **7**: 53–67.
- [43] RAN R, LU A, ZHANG L, TANG Y, ZHU H, XU H, FENG Y, HAN C, ZHU G, RIGBY AC, SHARP FR. Hsp70 promotes TNF-mediated apoptosis by binding IKK gamma and impairing NF-kappa B survival signaling. *Genes Dev* 2004; **18**: 1466–1481.
- [44] ROSSI M, OBERST A, SAYAN AE, SALOMONI P. Proteasome inhibitors in cancer therapy: death by indigestion. *Cell Death Differ* 2005; **12**: 1255–1257.
- [45] RUTKOWSKI R, PANCEWICZ SA, SKRZYDLEWSKA E, HERMANOWSKA-SZPAKOWICZ T. Właściwości biologiczne czynnika transkrypcji jądrowej NF- $\kappa$ B. *Alergia Astma Immunol* 2005; **10**: 125–131.
- [46] RYAN KM, ERNST MK, RICE NR, VOUSDEN KH. Role of NF- $\kappa$ B in p53-mediated programmed cell death. *Nature* 2000; **404**: 892–896.
- [47] SALUJA A, DUDEJA V. Heat shock proteins in pancreatic diseases. *J Gastroenterol Hepatol* 2008; **1**: 42–45.
- [48] SCHLETTE E, RASSIDAKIS GZ, CANOZ O, MEDEIROS LJ. Expression of bcl-3 in chronic lymphocytic leukemia correlates with trisomy 12 and abnormalities of chromosome 19. *Am J Clin Pathol* 2005; **123**: 465–471.
- [49] SCHUMM K, ROCHA S, CAAMANO J, PERKINS ND. Regulation of p53 tumour suppressor target gene expression by the p52 NF- $\kappa$ B subunit. *EMBO J* 2006; **25**: 4820–4832.
- [50] SHANGARY S, WANG S. Targeting the MDM2-p53 interaction for cancer therapy. *Clin Cancer Res* 2008; **14**: 5318–5324.



- [51] SHETT G, STEINER C-W, XU Q, SMOLEN JS, STEINEN G. TNF $\alpha$  mediates susceptibility to heat-induced apoptosis by protein phosphatase-mediated inhibition of the HSF1/hsp70 stress response. *Cell Death Differ* 2003; **10**: 1126–1136.
- [52] SINGH IS, HE J-R, CALDERWOOD S, HASDAY JD. A high affinity HSF-1 binding site in the 5'-untranslated region of the murine tumor necrosis factor- $\alpha$  gene is a transcriptional repressor. *J Biol Chem* 2002; **277**: 4981–4988.
- [53] SINGH IS, VISCARDI RM, KALVAKOLANU I, CALDERWOOD S, HASDAY JD. Inhibition of tumor necrosis factor- $\alpha$  transcription in macrophages exposed to febrile range temperature. A possible role for heat shock factor-1 as a negative transcriptional regulator. *J Biol Chem* 2000; **275**: 9841–9848.
- [54] STAŃCZYK M, MAJSTEREK I. Apoptoza – cel ukierunkowanej terapii przeciwnowotworowej. *Post Biol Kom* 2008; **35**: 467–484.
- [55] STEPHANOOU A, ISENBERG DA, NAKAJIMA K, LATCHMAN DS. Signal transducer and activator of transcription-1 and heat shock factor-1 interact and activate the transcription of the Hsp-70 and Hsp-90  $\beta$  gene promoters. *J Biol Chem* 1999; **274**: 1723–1728.
- [56] SZMIDT A, STAŃCZYK-PRZYŁUSKA A. Rola wirusa EBV w patogenezie chorób alergicznych. *Alergia Astma Immunol* 2005; **10**: 169–174.
- [57] TERGAONKAR V, PANDO M, VAFA O, WAHL G, VERMA I. p53 stabilization is decreased upon NF $\kappa$ B activation: a role for NF $\kappa$  B in acquisition of resistance to chemotherapy. *Cancer Cell* 2002; **1**: 493–503.
- [58] TRIPATHI P, AGGARWAL A. NF- $\kappa$ B transcription factor: a key player in the generation of immune response. *Curr Sci* 2006; **90**: 519–531.
- [59] VAN DYKE TE, KORNMAN KS. Inflammation and Factors That May Regulate Inflammatory Response. *J Periodontol* 2008; **79**: 1503–1507.
- [60] VOELLMY R. On mechanisms that control heat shock transcription factor activity in metazoan cells. *Cell Stress Chaperon* 2004; **9**: 122–133.
- [61] WU H, LOZANO G. NF- $\kappa$ B activation of p53. *J Biol Chem* 1994; **269**: 20067–20074.
- [62] WU S, TAN M, HU Y, WANG JL, SCHEUNER D, KAUFMAN RJ. Ultraviolet light activates NF- $\kappa$ B through translational inhibition of I $\kappa$ B synthesis. *J Biol Chem* 2004; **279**: 24898–34902.
- [63] WU ZH, MIYAMOTO S. Many faces of NF- $\kappa$ B signaling induced by genotoxic stress. *J Mol Med* 2007; **85**: 1187–1202.

Redaktor prowadzący – Maria Olszewska

Otrzymano: 15.07.2010 r.

Przyjęto: 04.12.2010 r.

prof. dr hab. Piotr Widlak

Centrum Badań Translacyjnych i Biologii Molekularnej Nowotworów,

Centrum Onkologii – Oddział w Gliwicach

44-100 Gliwice, ul. Wybrzeże Armii Krajowej 15

e-mail: widlak@io.gliwice.pl