

1 Einleitung

1.1 Das NF- κ B-System

Transkriptionsfaktoren der Nuklearfaktor- κ B (NF- κ B)/Rel-Protein-Familie spielen bei der Regulation zahlreicher zellulärer Prozesse eine wichtige Rolle. Sie sind zentrale Vermittler bei entzündlichen und immunologischen Vorgängen und haben außerdem bei Proliferation, Differenzierung und Apoptose eine große Bedeutung [7,8,25,43,44,62,166,169]. Sowohl bei akut und chronisch entzündlichen Prozessen, als auch bei malignen Erkrankungen wird eine Dysregulation von NF- κ B postuliert [9,10,14,16,24,45,139,166,169].

1.1.1 Transkriptionsfaktoren der NF- κ B/Rel Familie

Das regulatorische NF- κ B-Protein besteht aus zwei Untereinheiten, die miteinander Homo- und Heterodimere bilden. Der bisher am häufigsten identifizierte dimere NF- κ B-Komplex besteht aus p50 und p65 (RelA) [43]. Zusätzlich wurden andere mögliche Untereinheiten wie p52, c-Rel und RelB, aber auch die Vorläuferproteine p105 (p50) bzw. p100 (p52) nachgewiesen [7,8,10,43,49,93,129]. Den Transkriptionsfaktoren der Rel-Protein-Familie ist eine C-terminale Region, die Rel-Homologie-Domäne (RHD, 300 Aminosäuren) gemeinsam (Abb. 1). Diese Domäne besteht aus einem Helix-Loop-Helix (HLH)-Motiv mit positiv geladenen Aminosäuren zur DNA-Bindung und einem daran anschließenden Teil, der für die Dimerisierung (Dimerisierungsdomäne, DD) und die nukleäre Translokation („nuclear localization site“, NLS) der Proteine zuständig ist [43,93,110,129]. Zur Komplexbildung mit den inhibitorischen I κ B-Proteinen trägt die NLS sowie zusätzlich eine C-terminal zur NLS gelegene Region der RHD bei [110]. Darüber hinaus verfügen Untereinheiten wie z.B. p65 über einen N-terminalen Anteil in ihrer RHD, die sogenannte NF- κ B/Rel/dorsal (NRD)-Domäne, die ebenfalls für die Interaktion mit den I κ B-Proteinen verantwortlich ist [8,110].

1.1.2 I κ B-Inhibitorproteine

Der dimere NF- κ B-Komplex wird im Zytosol unstimulierter Zellen durch Bindung an verschiedene I κ B-Inhibitorproteine, wie I κ B α , - β und - ε neutralisiert [7,43,44,149,150,162], zusätzlich können aber auch die NF- κ B-Vorstufenproteine p105 (I κ B γ) und p100 (I κ B δ) inhibitorische Funktionen übernehmen [8,93,129]. Die I κ B-Proteine bestehen aus drei

bedeutenden Regionen: einer N-terminalen Signal-Empfänger-Domäne („signal receiving domain“, SRD), einer zentralen ARD („ankyrin repeat domain“) und C-terminal aus einer säurehaltigen PEST („proline-, glutamic acid-, serine- and threonin-rich region“)-ähnlichen Domäne [10,43,93,110]. Die ARD ist von entscheidender Bedeutung für die Bindung an die NF- κ B-Dimere und die Maskierung der NLS (Abb. 1), über die PEST-Region wird Kontakt mit der N-terminalen Domäne von p65 aufgenommen [110]. Die Vorläuferproteine p105 und p100 verfügen sowohl über die für die NF- κ B-Proteine typische RHD als auch eine über C-terminale ARD; dies spiegelt die beiden Funktionen dieser Proteine wider (Abb. 1) [43].

1.1.3 Die Aktivierung des NF- κ B-Systems

Mehr als 150 verschiedene Stimuli und Bedingungen können das NF- κ B-System aktivieren. Hierzu gehören proinflammatorische Zytokine (einschließlich Tumornekrosefaktor, TNF; Interleukin (IL)-1), Bakterien und bakterielle Produkte (z.B. Lipopolysaccharid, LPS), Viren und virale Produkte sowie Wachstumsfaktoren. Weiter führen auch verschiedene Formen von Streß zu einer Aktivierung des NF- κ B-Systems, wie z.B. physikalische (ultraviolette Strahlung), oxidative (oxidiertes Low-Density-Lipoprotein, oxLDL) oder umweltbedingte (Schwermetalle, Zigarettenrauch) Streßfaktoren [8,10,15,23,43,49,105,129].

Eine solche Stimulation der Zelle führt zunächst zu einer Phosphorylierung der I κ B-Proteine, z.B. I κ B α , - β und - ϵ . Diese erfolgt durch einen hochmolekularen Proteinkomplex, der gemeinhin als I κ B-Kinase (IKK)-Komplex bezeichnet wird, an zwei spezifischen N-terminalen Serinresten in der SRD der I κ B-Proteine: I κ B α an Serin³²/Serin³⁶, I κ B β an Serin¹⁹/Serin²³ und I κ B ϵ an Serin¹⁸/Serin²² [35,162]. Es kommt daraufhin zur ubiquitinabhängigen Markierung an zwei spezifischen Lysinresten, z.B. bei I κ B α an Lysin²¹/Lysin²² [32,35,123] und zur anschließenden Degradierung der Inhibitorproteine durch das 26S Proteasom [7,51,124,129,149,153]. Die Degradierung des Inhibitorproteins setzt NF- κ B frei, das durch I κ B als inaktive Form im Zytosol gehalten wird; in der Regel handelt es sich dabei um p50/p65 (RelA), [7,129,149]. Dies erlaubt die Translokation von NF- κ B in den Kern und die anschließende Bindung an Promotoren oder Enhancer verschiedener Gene (Abb. 2) [7,8,10,61,93]. Neben diesem universellen Signalweg gibt es nur wenige Ausnahmen. Ein Beispiel ist die Aktivierung von NF- κ B als Antwort auf ultraviolette Strahlung,

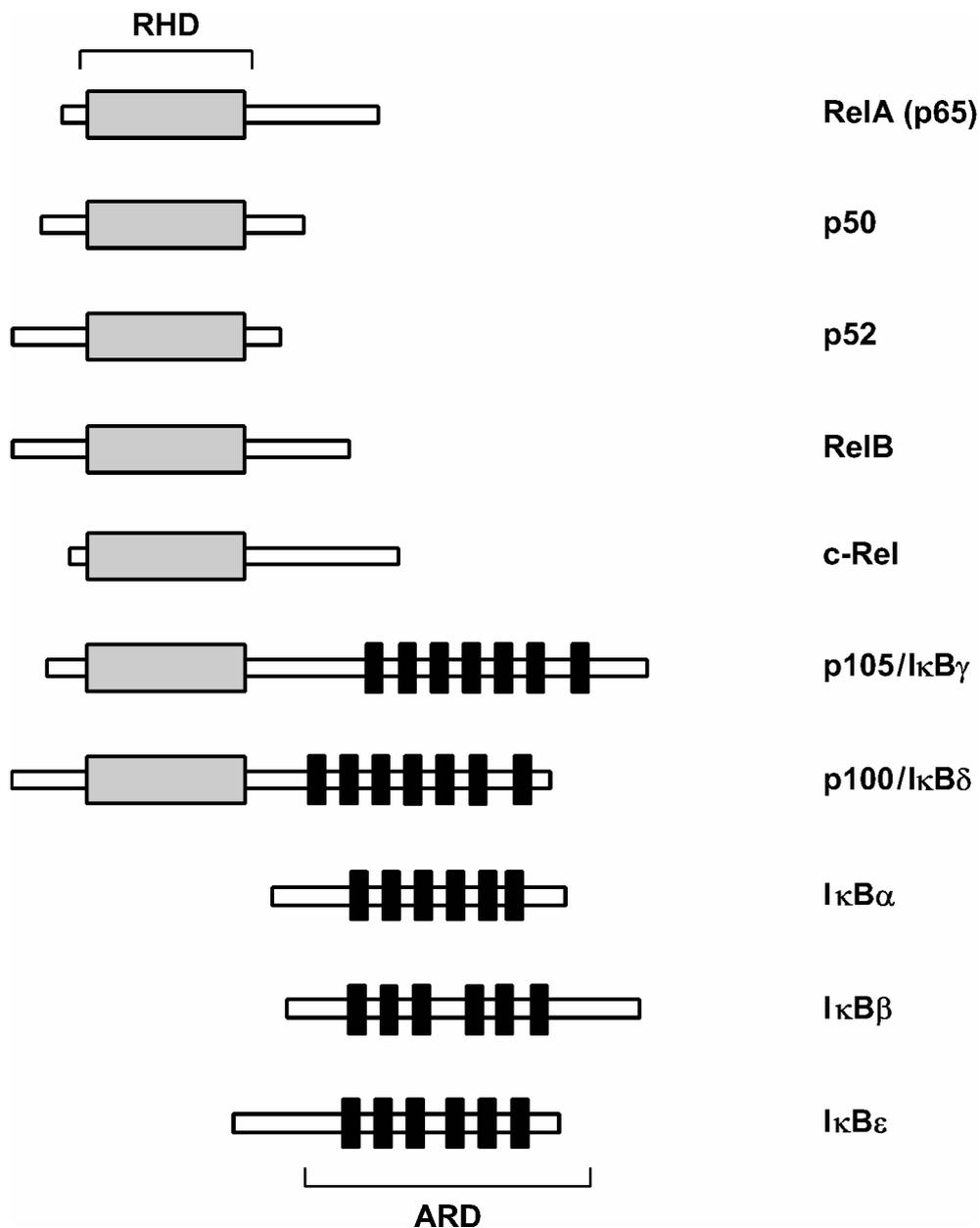


Abbildung 1: Wichtige Regionen der NF-κB/Rel-Familie und deren Inhibitorproteine. Den NF-κB Dimeren ist eine Rel-Homologie-Domäne (RHD) gemein, deren Bestandteile für die Dimerisierung, die DNA-Bindung, die nukleäre Translokation und die IκB-Bindung notwendig ist. Die IκB Proteine haben eine charakteristische Domäne („ankyrin repeat domain“, ARD), die essentiell für die Bindung an NF-κB und für die Maskierung der nukleären Lokalisationsdomäne (NLS) ist. Die Vorläuferproteine p100 und p105 besitzen eine RHD und eine ARD.

die, obwohl sie von I κ B Degradierung abhängig zu sein scheint, nicht die N-terminale Phosphorylierung von I κ B beinhaltet. [20,75].

Durch die Aktivierung von NF- κ B kommt es zur Induktion von mehr als 150 Genen, die z.B. für Zytokine (TNF, IL-1, IL-6, IL-8), Chemokine (z.B. „monocyte chemotactic protein-1“, MCP-1), Adhäsionsmoleküle („intercellular adhesion molecule-1“, ICAM-1; „vascular cell adhesion molecule-1“, VCAM-1), Wachstumsfaktoren, Proteasen oder prokoagulatorische Proteine kodieren, die in Inflammation und Immunantwort, aber auch in Proliferation und Apoptose involviert sind [149,166]. Darüber hinaus induziert NF- κ B die Produktion von Proteinen, die ihrerseits NF- κ B aktivieren, so z.B. TNF oder IL-1 [105]. Das Inhibitorprotein I κ B α unterliegt ebenfalls der transkriptionellen Kontrolle durch NF- κ B und erlaubt dadurch eine strenge Autoregulation des Systems.

Die verschiedenen Signalwege, die zu einer Aktivierung der NF- κ B/Rel Familie, aber auch zu der Expression der entsprechenden Zielgene führen, sind nur teilweise verstanden und stellen möglicherweise attraktive Ziele für spezifische therapeutische Ansätze bei Inflammation oder Tumorerkrankungen dar [11,16,89,169].

1.1.4 Der IKK-Komplex – ein zentraler Schritt der Aktivierung

Die Phosphorylierung der Inhibitorproteine, der initiale Schritt der I κ B-Degradierung und damit der NF- κ B-Aktivierung, wird über einen hochmolekularen Komplex vermittelt, der als IKK-Komplex bezeichnet wird. Dieser Komplex stellt somit einen entscheidenden Schritt bei der Regulation des NF- κ B/Rel Systems dar [43,57]. Der eigentliche Komplex besteht aus drei Untereinheiten: IKK α (IKK1; 85 kDa), IKK β (IKK2; 87 kDa) und IKK γ (auch bekannt unter dem Namen NF- κ B essential modulator, NEMO; IKK-associated protein 1, IKKAP1; 50 und 52 kDa) (Abb. 3) [36,95,96,116,120,164,170,177]. IKK α und IKK β sind die beiden kinaseaktiven Komponenten dieses Komplexes, während vermutet wird, daß es sich bei IKK γ um ein Adapter- oder Gerüstprotein handelt, das den hochmolekularen IKK-Komplex stabilisiert und/oder dessen Kinaseaktivität reguliert [2,43,57,95,147,170].

Die I κ B-Kinasen IKK α und IKK β weisen eine sehr ähnliche Primärstruktur mit etwa 52 % Identität auf. Sie verfügen über eine N-terminale Serin-Threonin-Kinasedomäne (KD) und am C-Terminus über ein HLH-Motiv, das die Aktivität der KD moduliert und für die Interaktion mit IKK γ benötigt wird. Zwischen diesen beiden Regionen liegt eine Leucin-Zipper (LZ)-

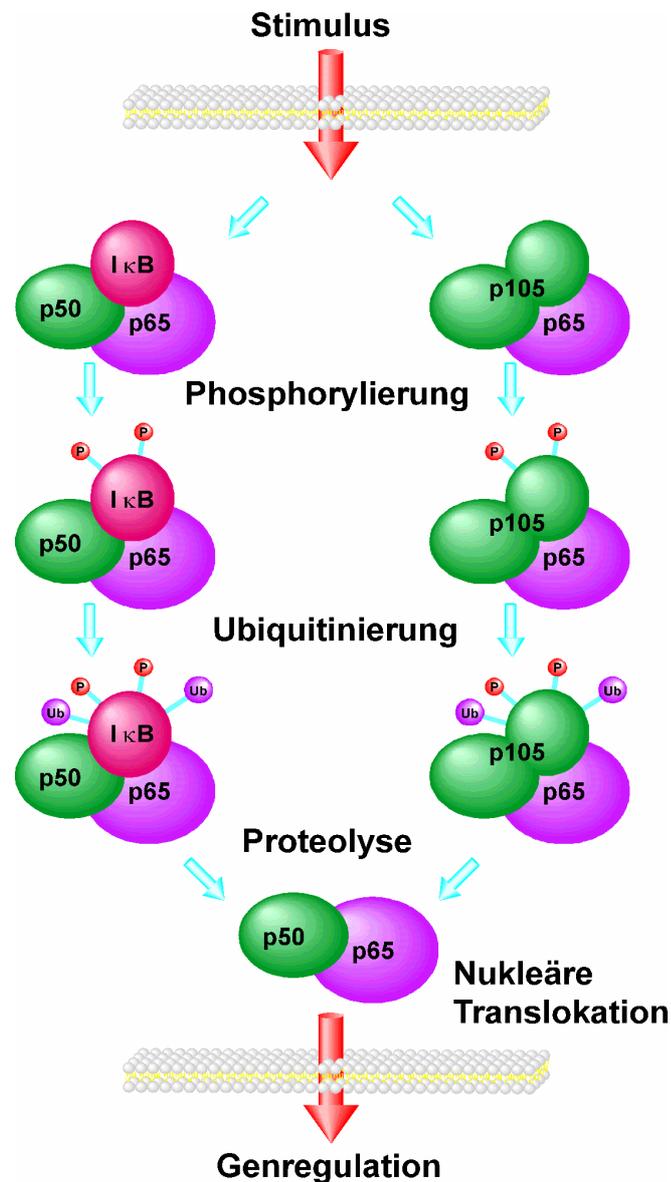


Abbildung 2: Aktivierungsschema von NF-κB. Eine Stimulierung der Zelle führt zur Phosphorylierung und Ubiquitinmarkierung von IκB sowie p105/p100 und liefert damit das Signal für deren Proteolyse. Der aktivierte NF-κB-Komplex wandert in den Zellkern ein, bindet an regulatorische κB-Promotor- und Enhancer-Elemente verschiedener Gene und steuert dadurch deren Transkription.