

EB 病毒潜伏膜蛋白 1 通过结合 TRAFs 调控 NF- κ B*

王承兴** 李晓艳 顾焕华 邓锡云 曹 亚

(湖南医科大学肿瘤研究所, 长沙 410078)

摘要 为了探讨 EB 病毒潜伏膜蛋白 1 (LMP1) 的致瘤机制, 对鼻咽癌中 LMP1 激活重要的核转录因子 NF- κ B 机制进行了研究. 首先, 采用免疫共沉淀-蛋白质印迹在稳定表达 LMP1 的鼻咽癌细胞系 HNE2-LMP1 中证实 LMP1 与 TRAF1, 2, 3 结合形成免疫共沉淀复合物, 进一步以野生型 LMP1 及其三种突变体的鼻咽癌细胞系 LMP1 (野生型, wt)、HNE2-LMP1 del187~351 (CTAR1 缺失型)、HNE2-LMP1 (1~231) (CTAR2 缺失型)、HNE2-LMP1 (1~187) (羧基端胞浆区缺失型)、HNE2-pSG5 (空白载体型) 为材料, 结合 NF- κ B 报道基因质粒 (pGL2-NF- κ B-luc) 的荧光素酶活性表达分析 NF- κ B 的活性, 证实: 较之母细胞, 野生型 LMP1 活化 NF- κ B 达 13.8 倍, LMP1 (1~187) 几乎不活化 NF- κ B, LMP1 (1~231) 活化 NF- κ B 达 4.9 倍, LMP1 (del187~351) 活化 NF- κ B 达 9.1 倍; TRAF1 过表达升高 LMP1 (wt) 及 LMP1 (1~231) 介导的 NF- κ B 活性, 而对 LMP1 (del187~351) 活化 NF- κ B 无影响; TRAF3 过表达或 TRAF3 负显性突变体抑制 LMP1 (wt) 及 LMP1 (1~231) 介导的 NF- κ B 活性, 而不影响 LMP1 (del187~351) 活化 NF- κ B; TRAF2 过表达升高 LMP1 (wt)、LMP1 (1~231) 及 LMP1 (del187~351) 介导的 NF- κ B 活性. 这些结果表明: 鼻咽癌中 LMP1 通过 TRAF1、TRAF2 或 TRAF3 调控 NF- κ B, TRAF1 和 TRAF3 主要通过 CTAR1 发挥作用, TRAF2 的作用主要是通过 CTAR1 和 CTAR2 介导的.

关键词 鼻咽癌, 潜伏膜蛋白 1, 肿瘤坏死因子受体相关因子 (TRAFs), NF- κ B

学科分类号 R78.3

EB 病毒 (Epstein-Barr Virus, EBV) 与鼻咽癌 (nasopharyngeal carcinoma, NPC) 的发生密切相关. 作为 EBV 编码的且目前唯一被证实具有瘤基因功能的潜伏膜蛋白 1 (latent membrane protein 1, LMP1), 一直是 EBV 致瘤机制研究的核心. 但是, 迄今为止, LMP1 致瘤机制远未被阐明. 1996 年 Kieff 提出一种新的 LMP1 作用机制, 即 LMP1 可能类似肿瘤坏死因子受体家族中的 CD40, 通过介导细胞内信号传导而发生生物学效应, 这一开创性的假说为我们从一个新的领域——信号传导来揭示 LMP1 致瘤机制提供了重要的启示, 并由此正在形成一个引人注目的领域.

LMP1 是由 386 个氨基酸组成的跨膜蛋白, 在羧基端有两个结构域与 LMP1 的信号传导功能密切相关, 一个是位于 194~231 位氨基酸的 CTAR1 (carboxy-terminal activating region 1); 另一个是位于 351~386 位的 CTAR2. 在 LMP1 参与的细胞内信号传导通路中, 尤其令人关注的是 LMP1 通过调控重要的核转录因子 NF- κ B 介导的信号传导在其致瘤机制中的作用. 新近, 我们的实验证实鼻咽癌中 LMP1 能有效地激活 NF- κ B, 且与细胞恶性

表型密切相关^[1], 在此基础上, 进一步研究 LMP1 如何激活 NF- κ B, 确定何种效应分子参与这种活化, 将为深入探讨鼻咽癌中 LMP1 激活 NF- κ B 的机制提供有意义的实验依据.

TRAF (tumor necrosis factor receptor associated factor) 是一类新的蛋白质家族, 现已发现 TRAF1、2、3、4、5、6. 作为一种重要的衔接蛋白 (adaptor protein), 在淋巴细胞系中, TRAF1、2、3 能与 LMP1 PxQxTA 结构域直接结合, 使下游信号分子活化, 导致 I κ B (inhibitor of NF- κ B) 磷酸化, 最终调控 NF- κ B 活化^[2]. 这些研究进展为我们在上皮性肿瘤鼻咽癌中阐明上述问题提供了极为有益的启示. 通过实验, 我们将确定 LMP1 是否通过结合 TRAF1、2、3 而调控 NF- κ B 活化以及 LMP1 中的那部分结构域导致了这种活化.

* 国家重点基础研究发展规划 (973) “恶性肿瘤发生发展的基础研究” (G1998051201), 国家自然科学基金重点项目 (39830410) 及国家自然科学基金杰出青年基金 (39525022) 项目资助.

** 通讯联系人.

Tel: 0731-4805448, E-mail: ycao98@public.cs.hn.cn

收稿日期: 2000-05-08, 接受日期: 2000-07-07

1 材料与方法

1.1 细胞系

鼻咽癌细胞系 HNE2 是本所建立的 EB 病毒阴性的低分化鳞癌细胞系, LMP1 阴性^[3]. 我们以转染空白载体为对照, 分别将野生型 B958 来源的全长 LMP1 或其三种突变体 (CTAR1 缺失型、CTAR2 缺失型、羧基端胞浆区缺失型) 表达质粒和新霉素选择标志 *Neo* 表达质粒用电穿孔法共同导入 HNE2 中, G418 筛选, 挑单个克隆, 经 RT-PCR 及蛋白质印迹鉴定, 建立稳定表达 LMP1 及其三种突变体的鼻咽癌细胞系: HNE2-LMP1 (野生型)、HNE2-LMP1del (187~ 351) (CTAR1 缺失型)、HNE2-LMP1 (1~ 231) (CTAR2 缺失型)、HNE2-LMP1 (1~ 187) (羧基端胞浆区缺失型)、HNE2-pSG5 (空白载体型).

1.2 质粒

1.2.1 LMP1 及其突变体表达质粒: B346-FLAG-LMP1 1~ 386 (野生型 LMP1); B462-FLAG-LMP1 1~ 386 del (187~ 351) (CTAR1 缺失型); B467-FLAG-LMP1 (1~ 231) (CTAR2 缺失型); B579-FLAG-LMP1 (1~ 187) (羧基端胞浆区缺失型); pSG5-vector 由美国 Brigham and Women's Hospital, Lzumi 博士馈赠.

1.2.2 TRAFs 及其负显性突变体表达质粒: pSG5-TRAF1-FLAG (1~ 409), GFP-TRAF1 (185~ 409) 由德国 Abt. Innere Medizin I Universitatulm, Schwenzer 馈赠; PCR2FL-TRAF2 (1~ 501), PCR2FL-TRAF2 (272~ 501); PCR2FL-TRAF3 (1~ 568), PCR2FL-TRAF3 (288~ 568). 由日本 Juntendo University Nakano 馈赠.

1.2.3 NF- κ B 报道基因质粒 (pGL2-NF- κ B-luc) 包含萤火虫荧光酶基因, 它的表达受 CMV 启动子调控, 在其下游插入了 HIV 来源的 κ B 元件, 由美国国立癌症研究院李建建博士馈赠. 将质粒按常规方法转化大肠杆菌 TG1, 纯化质粒, 酶切鉴定后, 测定 DNA 浓度, 置 4℃ 保存.

1.3 抗体与试剂

TRAF1 (G-20), TRAF2 (G-20), TRAF3 (H-20) 均为兔多克隆抗体, 分别针对人 TRAF1 蛋白羧基端的 6~ 25 位氨基酸、人 TRAF2 蛋白羧基端的 478~ 497 位氨基酸、人 TRAF3 蛋白羧基端的 8~ 27 位氨基酸. 购自 Santa 公司; LMP1

(CS1-4) 鼠单克隆抗体, 针对 LMP1 疏水性的胞浆羧基端氨基酸, 购自 Dako 公司; BCA Assay Reagent 为 Pierce Chemical 公司产品; 免疫沉淀试剂盒 (ImmunoCATCHER Kit) 为 CytoSignal 公司产品; Luciferase Assay System 购自美国 Promega 公司; QIAGEN Plasmid Purification Kit 购自美国 QIAGEN 公司, LipofectAMINE 购自美国生命技术公司 (GIBCO BRL).

1.4 方法

1.4.1 免疫共沉淀-蛋白质印迹: 按 ImmunoCATCHER Kit 说明操作, 将 TRAFs 抗体与已建立的稳定表达 LMP1 或其载体的鼻咽癌细胞系 (HNE2-LMP1 或 HNE2-pSG5) 细胞裂解物温育, 形成 TRAFs 抗原-抗体复合物, 12% SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳, 电转移至硝基纤维膜, 再与鼠抗 LMP1 单克隆抗体温育 12 h, 最后和 HRP 标记的二抗温育 1 h, DAB 显色.

1.4.2 LipofectAMINE 介导的瞬间转染: 按 LipofectAMINE 转染说明书, 转染前 24 h 将细胞种植于 24 孔细胞培养板中, 待细胞生长至 50%~ 80% 的融合度时弃培养基. 取 2 μ g DNA 稀释到 100 μ l 无血清培养基中, 加入 4 μ l lipofectAMINE, 混匀后室温静置 30 min. 加入 800 μ l 无血清培养基至 DNA-lipofectAMINE 混合物中, 混匀. 培养细胞经 D-Hank's 液漂洗干净后, 再将 DNA-lipofectAMINE 混合物加入, 混匀. 5% CO₂ 培箱 37℃ 培养 3 h 后, 用 D-Hank's 液洗涤细胞, 加入 10% 血清的培养基继续培养直到收获.

1.4.3 荧光素酶活性分析: 用 LipofectAMINE 的方法将报道质粒瞬间转染入细胞, 24 h 后, 按 Luciferase Assay System 的说明, 加入 100 μ l 5 $\times$ 裂解缓冲液, 室温下裂解 30 min, 用细胞刮子将细胞刮下, 移至 Eppendorf 管内, 室温离心 12 000 r/min 10 min, 取 20 μ l 上清液, 加入 100 μ l 反应底物, 迅速推入单光子检测仪, 检测 cpm 值. 间隔 10 s, 每一样本读两个数值, 取均值. 然后以导入载体的 HNE2 系 (HNE2-pSG5) cpm 值为基数, 计算 LMP1 或突变体 HNE2 系 cpm 值倍数.

2 结 果

2.1 鼻咽癌细胞系中 LMP1 结合 TRAFs 信号分子

为了探讨在鼻咽癌中 LMP1 是否结合 TRAFs 信号分子而发挥作用, 我们以 HNE2-LMP1, HNE2-pSG5 为材料, 用免疫共沉淀-蛋白质印迹方

法探讨在鼻咽癌细胞系中 LMP1 结合 TRAFs 信号分子的可能性。

应用免疫共沉淀-蛋白质印迹方法, 先分别用 TRAF1、TRAF2、TRAF3 抗体免疫共沉淀下与之作用的信号分子, 再用 LMP1 抗体进行蛋白质印迹杂交分析, 以证实 LMP1 是否与 TRAFs 作用。结果证实 HNE2-LMP1 中 LMP1 分别与 TRAF1、TRAF2、TRAF3 形成复合物沉淀, 而 HNE2-pSG5 为阴性 (图 1)。这表明 LMP1 可结合 TRAF1、TRAF2、TRAF3 信号分子。

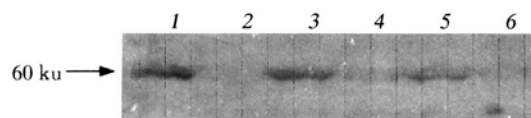


Fig.1 Determination of binding LMP1 with TRAF1, TRAF2 or TRAF3 from HNE2 - LMP1 cell lines by immunoprecipitation - Western blotting assay

In the HNE2-LMP1 cells, lane 1, 3, 5 respectively shows the LMP1 was immunoprecipitated with anti-TRAF3, anti-TRAF1, anti-TRAF2 antibody.

Whereas no LMP1 (2, 4 or 6) was detected in HNE-pSG5 cells.

2.2 LMP1 及其不同结构域激活 NF- κ B

为了确定在鼻咽癌中野生型 LMP1 及其不同结构域激活 NF- κ B 的活性, 将 pGL2-NF- κ B-luc 表达质粒转染入稳定表达 LMP1 及其突变体鼻咽癌细胞系中, 通过单光子检测仪检测荧光素酶活性, 结果显示: 较之母细胞, 野生型 LMP1 活化 NF- κ B 为 13.8 倍, LMP1 CTAR2 缺失型活化 NF- κ B 为 4.9 倍, LMP1 CTAR1 缺失型活化 NF- κ B 达 9.1

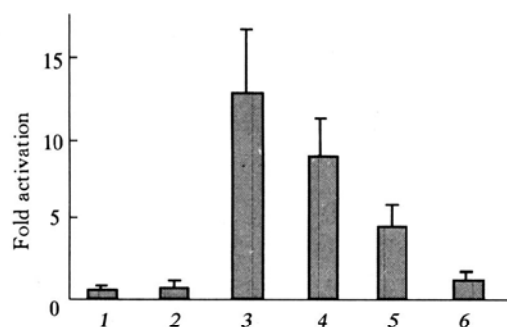


Fig.2 Mutational analysis of LMP1 with respect to NF- κ B activation

NF- κ B activation activated by wild-type LMP1 is 13.8-fold than that of the control vector, the del 187~351 mutant had nearly 9.1-fold wild-type activity, The mutant (1~231) had reduced 4.9-fold wild-type activity. However, the mutant (1~187) completely lacked the ability to activate NF- κ B. The data represents three experiments. 1: HNE2; 2: HNE2-pSG5; 3: HNE2-LMP1 (wt); 4: HNE2-LMP1 (del 187~351); 5: HNE2-LMP1 (1~231); 6: HNE2-LMP1 (1~187).

倍, LMP1 整个胞浆羧基端缺失几乎不活化 NF- κ B (图 2)。这说明 LMP1 羧基端 200 个氨基酸与 LMP1 活化 NF- κ B 密切相关, 其中 CTAR1 活化 36% 的 NF- κ B 活性, CTAR2 活化 66% 的 NF- κ B 活性。

2.3 LMP1 通过 TRAFs 调控 NF- κ B 活性

在证明鼻咽癌细胞系中 LMP1 结合 TRAFs 信号分子的基础上, 进一步确定 LMP1 是否通过 TRAFs 调控 NF- κ B 激活。将 TRAF1、2、3 表达质粒或其负显性突变体表达质粒各自同 NF- κ B-luc 表达质粒导入野生型 LMP1 表达的鼻咽癌细胞系中, 通过单光子检测仪检测荧光素酶活性, 结果显示: TRAF1、TRAF2 过表达分别升高了 LMP1 (wt) 介导的 NF- κ B 活性 4.4 及 5 倍, 而导入 TRAF1、TRAF2 负显性突变体使 LMP1 (wt) 介导的 NF- κ B 活性分别下降了原有水平的 83% 及 25% (图 3 和图 4); 但是, 不论 TRAF3 过表达或是 TRAF3 负显性突变体均抑制 LMP1 (wt) 介导的 NF- κ B 活性, 分别下降了原有水平的 33% 及 41% (图 5)。这表明: LMP1 通过 TRAFs 调控 NF- κ B 活性。在 TRAFs 信号分子中, TRAF1、TRAF2 可能是 LMP1 介导 NF- κ B 的正向活化子, 而 TRAF3 为负向抑制子。

2.4 LMP1 调控 NF- κ B 结构域是 CTAR1 及 CTAR2

在证明 LMP1 通过 TRAFs 调控 NF- κ B 活性的基础上, 进一步确定 LMP1 哪部分结构域通过 TRAFs 调控了 NF- κ B 活性。将 TRAF1、2、3 表达质粒或其负显性突变体表达质粒各自同 NF- κ B-luc 表达质粒导入稳定表达 LMP1 不同突变体的鼻咽癌细胞系中, 通过单光子检测仪检测荧光素酶活性, 结果显示: TRAF1 过表达升高 LMP1 (1~231) 介导的 NF- κ B 活性 4 倍, 而导入 TRAF1 负显性突变体则使 LMP1 (1~231) 介导的 NF- κ B 活性下降了原有水平的 62%, 但对 LMP1 (del 187~351) 及 LMP1 (1~187) 不影响 (图 4); TRAF2 过表达分别升高了 LMP1 (1~231) 及 LMP1 (del 187~351) 介导的 NF- κ B 活性 3 倍及 4 倍, 而导入 TRAF2 负显性突变体则分别下降了 LMP1 (1~231) 介导的 NF- κ B 活性原有水平的 77% 及 LMP1 (del 187~351) 介导的 NF- κ B 活性原有水平的 47%, 而对 LMP1 (1~187) 介导的 NF- κ B 活性不影响 (图 5); 不论 TRAF3 过表达或是 TRAF3 负显性突变体均抑制 LMP1 (1~231) 介导的 NF- κ B 活性, 分别下降了原有水平的 81% 及 85%, 但对

LMP1 (del 187~ 351) 及 LMP1 (1~ 187) 不影响 (图 6). 这些结果提示: TRAF1 及 TRAF3 仅与

LMP1 的 CTAR1 作用, 而 TRAF2 可能与 LMP1 的 CTAR1 及 CTAR2 作用.

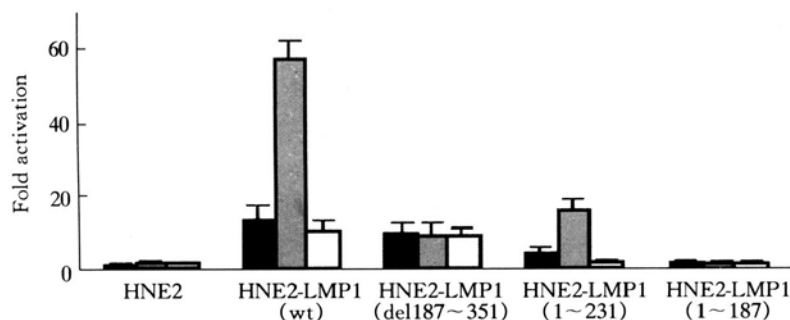


Fig.3 TRAF1 acts with LMP1(wt) or LMP1(1~231) to augment NF-κB activation

The results are shown as fold activation over controls transfected with vector (pSG5) alone. The data represent three independent experiments performed in triplicate. ■:vector; ▒:TRAF1; □:TRAF1-DN.

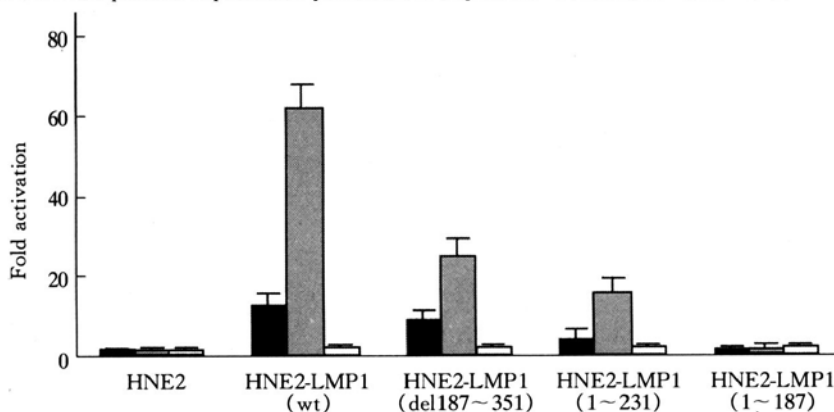


Fig.4 TRAF2 acts with LMP1(wt), LMP1(del187~351) or LMP1(1~231) to augment NF-κB activation

The results are shown as fold activation over controls transfected with vector (pSG5) alone. The data represent three independent experiments performed in triplicate. ■:vector; ▒:TRAF2; □:TRAF2-DN.

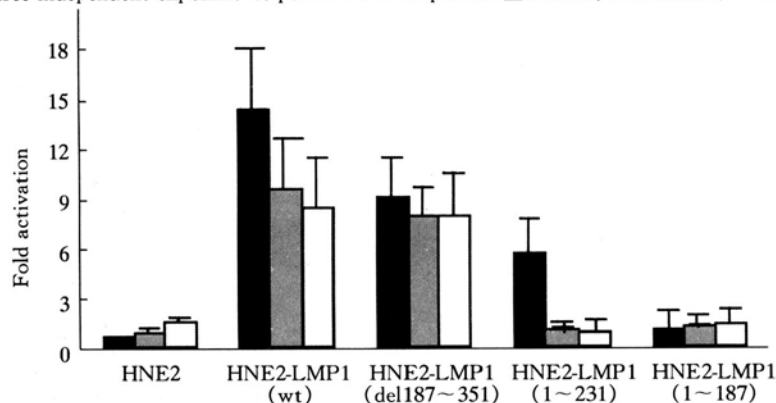


Fig.5 TRAF3 overexpression and domain negative TRAF3 inhibit NF-κB activation by the LMP1(wt) or LMP1(1~231)

The results are shown as fold activation over controls transfected with vector (pSG5) alone. The data represent three independent experiments. ■:vector; ▒:TRAF3; □:TRAF3-DN.

3 讨 论

最近, 不断获得 NF-κB 在一些病毒性肿瘤中所起作用的证据. HTLV-1 编码的 Tax 蛋白, 乙型

肝炎病毒的基因产物 P_x 均可通过激活 NF-κB 调节一些含 κB 位点的基因表达, 参与肿瘤的形成^[6]. 我们的实验将为深入确定 EB 病毒致瘤蛋白 LMP1 激活 NF-κB 机制并深入探讨这种激活在鼻咽癌中

的意义提供新的依据。

首先, 以导入载体 pSG5 的鼻咽癌细胞系 HNE2-pSG5 为对照, 采用免疫共沉淀-蛋白质印迹在稳定表达 LMP1 的鼻咽癌细胞系 HNE2-LMP1 (LMP1 位于细胞膜上) 中证实 LMP1 与 TRAF1、2、3 结合形成免疫共沉淀复合物, 这表明在鼻咽癌细胞中 LMP1 可结合 TRAF1、2、3 而发挥作用。LMP1 表达可能通过结合 TRAF1、2、3 而使下游信号分子活化, 进而使 I κ B 磷酸化, 调控 NF- κ B 活化。一般在静息时, TRAFs 仅弥散于细胞浆内, 位于细胞膜上的跨膜蛋白 LMP1 究竟如何使 TRAF1、2、3 与之结合, 目前, 尚未见有报道, 有待进一步探讨。

进一步在鼻咽癌细胞系中证实 LMP1 羧基端 200 个氨基酸内的 CTAR1 及 CTAR2 与 LMP1 活化 NF- κ B 密切相关, 其中 CTAR1 活化 36% 的 NF- κ B 活性, CTAR2 活化 66% 的 NF- κ B 活性。同时, 还证实在 TRAFs 信号分子中, TRAF1、TRAF2 可能是 LMP1 介导 NF- κ B 的正向活化子, 而 TRAF3 为负向抑制子, 其中 TRAF2 扮演着关键效应分子的角色。这可能由于 TRAF2 是 LMP1 活化 NF- κ B 所必需的^[7]。TRAF1 及 TRAF3 均通过影响 TRAF2 而调控 NF- κ B 的活性。虽然 TRAF1、TRAF2、TRAF3 均可通过与 LMP1 的 CTAR1 区 PxQxTA 结合, 但是三者结合能力不同, 从强到弱依次为: TRAF3 > TRAF1 > TRAF2, TRAF3 结合能力最强, 可竞争性抑制 TRAF2 与 LMP1 结合, 从而抑制 NF- κ B 活化。虽然 TRAF1 结合能力较 TRAF2 强, 也可竞争性抑制 TRAF2 与 LMP1 结合, 但是 TRAF1 过表达可与 TRAF2 形成异源二聚体, 从而增高 NF- κ B 活性。TRAF2 负显性突变体因为缺失活化 NF- κ B 的结构域因而抑制 LMP1 介导的 NF- κ B 活化; TRAF1 负显性突变体因为缺失聚集 TRAF2 的结构域, 不能与 TRAF2 形成异源二聚体, 但能与 LMP1 结合因而竞争性抑制 TRAF2 与 LMP1 结合, 从而抑制 NF- κ B 活化; TRAF3 负显性突变体也能与 LMP1 结合, 竞争性

抑制 TRAF2 与 LMP1 结合, 从而抑制 NF- κ B 活化。

我们进一步还证实了 TRAF1 及 TRAF3 仅与 LMP1 的 CTAR1 作用, 而 TRAF2 不仅与 LMP1 的 CTAR1 作用, 而且可与 LMP1 的 CTAR2 作用。在鼻咽癌细胞系中, LMP1 可能通过 CTAR1 的 PxQxTA 与 TRAF1、TRAF2 及 TRAF3 结合, 使下游信号分子活化, 进而使 I κ B 磷酸化而活化 36% NF- κ B, LMP1 的 CTAR2 可能通过结合 TRADD, TRADD 再聚集 TRAF2 而活化 66% NF- κ B^[4]。

可见, 在鼻咽癌中 LMP1 CTAR1 通过 TRAF1、TRAF2 或 TRAF3 调控 NF- κ B, 而 CTAR2 通过 TRAF2 活化 NF- κ B, NF- κ B 的活性是一个受到 LMP1 精细调控的过程。NF- κ B 被激活后进一步调节一些含 κ B 基因表达, 这些基因参与细胞增殖、凋亡、分化及转化反应。这可能是作为 EBV 致瘤蛋白 LMP1 参与鼻咽癌癌变的重要机制之一。

参 考 文 献

- 1 潘 雷, 顾焕华, 曹 亚, 等. 鼻咽癌中 EBV LMP1 激活 NF- κ B 的实验研究. 中国耳鼻喉科颅底外科学杂志, 1999, 5 (2): 95~ 99
Pan L, Gu F Y H, Cao Y, *et al.* Chinese Journal of Otorhinolaryngology Skull Base Surgery, 1999, 5 (2): 95~ 99
- 2 王承兴, 曹 亚. EB 病毒潜伏膜蛋白 1 介导的信号传导. 生物化学与生物物理进展, 1999, 26 (6): 528~ 530
Wang C X, Cao Y. Prog Biochem Biophys, 1999, 26 (6): 528~ 530
- 3 祝和成, 姚开泰, 李桂源, 等. 4 株鼻咽癌上皮细胞株的建立及其生物学特性. 湖南医科大学学报, 1992, 17 (2): 103~ 107
Zhu H C, Yao K T, Li G Y, *et al.* Bulletin of Hunan Medical University, 1992, 17 (20): 103~ 107
- 4 Mosialos G. The role of Rel/ NF- κ B proteins in viral on carcinogenesis and the regulation of viral transcription. Seminars in Cancer Biology, 1997, 8 (1): 121~ 129
- 5 Kaye K M, Devergne O, Harada J N, *et al.* TRAF2 is a mediator of NF- κ B activation by latent membrane protein 1, the Epstein-Barr virus transforming protein. Proc Natl Acad Sci USA, 1996, 93 (5): 11085~ 11090

Interaction of Tumor Necrosis Factor Receptor-associated Factors with the Latent Membrane Protein 1 Is Essential for Activation of NF- κ B*

WANG Cheng-Xing^{**}, LI Xiao-Yan, GU Huan-Hua, DENG Xi-Yun, CAO Ya

(Cancer Research Institute, Hunan Medical University, Changsha 410078, China)

Abstract The Epstein-Barr virus latent membrane protein 1 (LMP1) oncoprotein causes multiple cellular changes, including activation of the NF- κ B transcription factor. To elucidate its possible mechanism, the interaction between LMP1 and the tumor necrosis factor receptor associated factor (TRAF) molecules was detected by the immunoprecipitation-Western blotting assay. Results showed that LMP1 was co-precipitated with TRAF1, 2, 3 in the LMP1-HNE2 cell line. In the meantime, κ B reporter gene analysis revealed that overexpression of TRAF1 or TRAF2 augmented LMP1-mediated NF- κ B activation from LMP1, suprisingly, overexpression of either TRAF3 or an dominant negative TRAF3 inhibited the NF- κ B activation, indicating that TRAF1 or TRAF2 is a positive modulator of LMP1-mediated NF- κ B activation, whereas, TRAF3 is a negative modulator. Rather both CTAR1 (carboxy-terminal activating region 1) and CTAR2 domains of LMP1 can independently activate NF- κ B by interacting with TRAF proteins. These data indicate that LMP1 interacts TRAF1, 2, 3 which are important for LMP1-mediated NF- κ B activation, and further suggest that signaling from TRAFs may be involved in the progression to malignancy in cells of epithelial origin such as nasopharyngeal carcinoma (NPC).

Key words nasopharyngeal carcinoma, latent membrane protein 1, tumor necrosis factor receptor associated factors, NF- κ B

* This work was supported by grants from State Key Basic Research Program, Fundamental Investigation on Human Carcinogenesis (G1998051201), Key Program of National Science Foundation of China (39830410), National Science Fund for Distinguished Young Scholars (39525022).

** Corresponding author. Tel: 86-731-4805448, E-mail: ycao98@public.cs.hn.cn

Received: May 8, 2000 Accepted: July 7, 2000