

GRIM-19 与 STAT3 蛋白作用及相关机制研究进展

李永光 朱 伟 魏 盟

线粒体在细胞生理当中起非常重要的作用,为主要供能器官,其在能量生成、应激、ROS 生成方面起到了非常重要的作用,同时也在细胞凋亡方面扮演了重要角色。其中,线粒体 NADH complex I 是电子传递链第 1 步,随着 NADH 氧化成 NAD^+ ,伴随着质子穿越线粒体内膜,氧化还原辅助因子激活。研究显示,NADH:泛醌氧化还原酶(complex I)共有 45 个亚单位,7 个由线粒体 DNA 编码,其余由核编码基因编码,从胞质输送到线粒体。原核生物线粒体 complex I 系统由 13~14 个亚基组成,这些亚基在真核生物中得到了保留,并且进化出氧化还原辅助因子^[1]。线粒体 complex I 呈 L 型,其有 2 个臂,一个位于脂双层,另一个因含有更多亲水集团,突出于胞膜,且可以和胞膜分离,产生亚单位。其中 GRIM-19 是 complex I 亚单位中的一员,是已知的氧化还原辅助因子^[4]。GRIM-19 在细胞生长、凋亡以及维系线粒体复合物 I 功能方面起到了非常重要的作用,并在近期得到了广泛研究。

一、GRIM-19 的调控、结构及分布

GRIM-19 最初通过干扰素和维甲酸共同作用发现,利用遗传学方法鉴别出来^[4]。IFN- β 和 RA 在部分肺癌细胞中引起细胞死亡,和此过程相关的基因命名为 GRIM^[2];GRIM-19 又命名为 NDUFA13 (NADH dehydrogenase (ubiquinone) 1 alpha subcomplex, 13),在染色体中,GRIM-19 定位于 19P13.2;该蛋白在人类中由 NDUFA13 基因编码;GRIM-19 基因转录翻译的蛋白大小为 16.6kDa^[3],其序列包括线粒体定位、膜电位调控以及和相关蛋白反应的 N 端^[4];GRIM-19 mRNA 可以由 IFN- β /RA 引起,却不能由 RA 单独诱导。

Lufei 在 MCF-7 细胞核中检测到 GRIM-19,GRIM-19 的分布可能和细胞类型有关;除此之外,GRIM-19 的细胞定位可能受到自身磷酸化以及乙

酰化调节。通过凝胶电泳等分析发现,在线粒体复合物 I 中,复合物 5 个亚单位 NDUFA10、ESSS、NDUFA7、NDUFC2 以及 GRIM-19 被磷酸化,同时细胞死亡蛋白 AIF 也被磷酸化^[5]。转录水平检测发现,GRIM-19 mRNA 在正常细胞组织中表达,其在一些组织如心脏、肝脏、肾脏、骨骼肌中呈高水平表达,这在我们实验室得到证明。GRIM-19 在细胞生理以及信号通路中扮演了非常重要的角色,其在肿瘤中的作用近期得到较多研究,研究显示,GRIM-19 在 STAT3 Tyr705 磷酸化较高的细胞如肿瘤细胞中呈现低水平表达甚至不表达状态^[4]。

二、STAT3 的调控及功能

STAT3 家族共包括 7 个成员,STAT3 属于 STAT3 蛋白家族中一员,由 STAT3 基因编码;转录因子 STAT3 (signal transducer and activator of transcription 3),受 STAT3 基因编码,当受到细胞因子以及生长因子调控,如干扰素、内皮生长因子、白介素-5、白介素-6、肝细胞生长因子 (hepatocyte growth factor)、LIF 以及激素刺激后,STAT3 可被激活磷酸化^[5]。信号通路中 GP130 (glycoprotein 130) 受体系统激活 STAT3,同时伴随着 JAK 和 Tyk-2 在 GP130 的胞质内区域相组合并催化反应,导致 GP130 受体胞质内区域 C-端酪氨酸残基磷酸化;此区域磷酸化为 STAT3 结合提供平台,在 JAK 激酶作用下,STAT3 Tyr705 位点磷酸化;STAT3 Tyr705 磷酸化导致 STAT 蛋白同源或者异源二聚体结合,随后二聚体转移进细胞核,并激活胞内靶基因。除 STAT3 Tyr705 磷酸化位点,细胞外调节激酶 (ERK1、ERK2)、P38 和 JNK 激活时,STAT3 也在丝氨酸 (氨基酸位点 727) 磷酸化,STAT3 Ser727 磷酸化不是 STAT3 形成二聚体并转移 STAT3 进入细胞核所必需,但是研究显示,STAT3 Ser727 磷酸化是 STAT3 完全转录活性所必需,也是 STAT3 线粒体定位所必需。研究显示,除 IL-6/GP130 受体系统,其余配体受体也可以激活 STAT3,如 JAK,Src,或 Abl 激酶,最近的研究显示,瘦素 (leptin) 通过瘦素受体,血管紧张素 II 通过血管紧张素 I 型受体分别激活

作者单位:200233 上海交通大学附属上海市第六人民医院

通讯作者:魏盟,教授,主任医师,博士生导师,电子信箱:weimeng_

sju6h@163.com

STAT3,从而使 STAT3 形成同源或者异源二聚体转移至细胞核,起到转录因子调控作用。

STAT3 在很多细胞和组织中有表达,在病理学上,STAT3 和肿瘤的生长相关^[7]。因此在生理情况下,STAT3 受到严格调控。JAK/STAT 信号负性调节系统包括 GP130 受体复合物降解信号通路泛素蛋白酶体(UPS)信号通路、STAT3 负性调节因子 STAT 蛋白抑制剂(PIAS)以及细胞信号抑制因子(SOCS)^[8]。相对而言,p300/CREB 结合蛋白(CBP)和 CR-6 相互作用因子 1(Crif1)通过加强 STAT3 DNA 结合,正性调节 STAT3 转录活性^[9]。STAT3 通过调控下游靶基因参与机械压力下细胞应激以及炎症进展;除 STAT3 作为转录因子的经典途径之外,最近的研究显示,STAT3 可以通过与细胞器官如线粒体发生相互作用,从而调控细胞氧化呼吸链以及 ROS 生成^[6]。

总之,STAT3 普遍表达以及受到多种胞内/胞外信号通路调节,表明 STAT3 具有广阔的生理功能,STAT3 可以作为抑制肿瘤生长的药物研究靶点^[10]。

三、GRIM-19 对 STAT3 的调控

研究显示,GRIM-19 可以抑制 STAT3 Tyr705 磷酸化,抑制细胞增殖并促进凋亡^[2]。GEIM-19 作为一个最近发现的 STAT3 磷酸化抑制剂,最终定义为 NDUFA13,是细胞线粒体呼吸链 complex I 中的一个亚基,然而 GRIM-19 却可以在 STAT3 Tyr705 磷酸化较高的细胞中抑制 STAT3 Tyr705 磷酸化,这在很多细胞中得到了证明^[4]。GRIM-19 通过何种途径作用于 STAT3,引起了大家的广泛关注和研究。最近的研究显示,STAT3 在信号转导当中扮演了重要的角色,STAT3 的磷酸化可以引起抗凋亡蛋白 bcl-2 家族,如 bcl-2、mcl1 和 bcl-X1 的表达^[4],并抑制死亡受体 fas 表达,同时许多致癌基因,如 c-fos、c-myc 和 cyclin D1 受到 STAT3 上调。在部分肿瘤中,如果抑制 STAT3 磷酸化,将促进细胞凋亡;有趣的是,GRIM-19 通过 STAT3 Tyr705 磷酸化来干扰 STAT3 下游基因的表达并产生相应的生理功能。研究显示,GRIM-19 和 STAT3 的反式激活区 TAD 结合,并抑制其活性;其中,STAT3 Ser727 磷酸化在这些活动中起非常重要的作用^[6],STAT3 Ser727 磷酸化在线粒体上和 GRIM-19、NDUFA9、complex II Fp subunit 免疫共沉淀,此外,在缺血再灌情况下,可观察到部分 STAT3 Tyr705 在线粒体中表达^[6],同时 STAT3 还可以和细胞外膜转位酶 Tom20、cyclophilinD 免疫共沉淀。研究显示,在 pro-B 细胞中 STAT3 可存在于线

粒体,STAT3 和 complex I 中 GRIM-19 等结合^[6],其中,GRIM-19 在 STAT3 Ser727 进入线粒体中起重要作用^[11]。利用 EMSA 和免疫共沉淀分析发现 GRIM-19 和 STAT3 或者 S3C 结合,但并没有抑制它们的 DNA 结合活性。GRIM-19 可以和激活形式 STAT3 (S3C)结合^[12]。S3C 蛋白二聚体形成促进 STAT3 磷酸化以及在细胞核的定位。当敲除 STAT3、complex I 中一个亚单位:NDUFS4 表达降低。GRIM-19 与线粒体结合序列是氨基酸残基 20-60 位点^[13]。GRIM-19 抑制了一些和增殖相关的基因(基因表达分析,由 STAT3 调控)表达,包括 bcl-X1、cyclin B1 和 MMP1^[14],同时也使抑制生长的基因如 Fas 表达,从而抑制肿瘤生长。GRIM-19 在很多肿瘤中表达降低,而 STAT3 Tyr705 磷酸化在这些肿瘤中往往高表达,当在肿瘤细胞中过表达 GRIM-19,可发现其抑制 STAT3 Tyr705 磷酸化,同时抑制肿瘤细胞的生长并促进凋亡,这在小细胞肺癌、hela 细胞以及神经胶质瘤等中得到了证明^[15-17]。当敲除 Ha-GRIM-19 后,可导致 survivin 抑制以及 PCD 的效应基因 Ha-caspase-I 和 MMP 表达升高。存活素(survivin)是凋亡蛋白家族中的抑制剂,是一主要凋亡调节因子,可通过与 caspase 结合抑制凋亡^[18]。在染色质免疫共沉淀中,发现许多核基因背景下 GRIM-19 与 STAT3 结合^[19],可能原因是抗体所造成的假阳性,因最近研究发现,GRIM-19 存在于线粒体,是氧化呼吸链 complex I 中的一个亚基,在胞质和细胞核内没有观察到^[19]。当然这也有可能是因为 GRIM-19 的分布存在特异性或者 GRIM-19 在这些细胞中发生突变及空间结构的改变,具体原因需要在以后的研究中阐明。

四、展 望

研究显示,GRIM-19 在多种肿瘤中表达降低或缺失,而 STAT3 Tyr705 磷酸化在这些肿瘤中高表达^[15-17]。当在肿瘤细胞中过表达 GRIM-19,发现其抑制 STAT3 Tyr705 磷酸化,并抑制肿瘤细胞生长同时促进凋亡,这在肺癌细胞、hela 细胞以及神经胶质瘤等中都得到了证明,然而 GRIM-19 是否抑制 STAT3 转录水平尚存在争论。在线粒体中,GRIM-19 是 STAT3 Ser727 进入线粒体的重要参与因子^[11],而 STAT3 Ser727 在线粒体中保护线粒体氧化呼吸链,并作用于氧化应激,因此 GRIM-19 除作为一个肿瘤抑制因子之外,可能还存在更多功能,GRIM-19 在生理中所扮演的角色,还有很多等待我们去探索和

证明;鉴于 GRIM - 19 在成体心肌细胞中高表达, GRIM - 19 在心血管系统中的作用及生理功能迄今为止尚没有详细研究,因此 GRIM - 19 与 STAT3 的关系以及在心血管系统中的作用,需要在随后的实验中进一步研究。

参考文献

- 1 Kalvakolanu DV, Nallar SC. Cytokine - induced tumor suppressors: a GRIM story[J]. Cytokine, 2010, 52(1 - 2): 128 - 142
- 2 Moreira S, Correia M, Soares P. GRIM - 19 function in cancer development[J]. Mitochondrion, 2011, 11(5): 693 - 699
- 3 Lu H, Cao X. GRIM - 19 is essential for maintenance of mitochondrial membrane potential[J]. Mol Biol Cell, 2008, 19(5): 1893 - 1902
- 4 Moreira S, Correia M. GRIM - 19 function in cancer development [J]. Mitochondrion, 2011, 11(5): 693 - 699
- 5 Palmisano G, Sardanelli AM, Signorile A. The phosphorylation pattern of bovine heart complex I subunits [J]. Proteomics, 2007, 7(10): 1575 - 1583
- 6 Larner AC, Wegrzyn J. Function of mitochondrial stat3 in cellular respiration[J]. Science, 2009, 323(5915): 793 - 797
- 7 Aggarwal BB. Signal transducer and activator of transcription - 3, inflammation, and cancer: how intimate is the relationship? [J]. Ann N Y Acad Sci, 2009, 11(71): 59 - 76
- 8 Dabir S, Kluge A, Dowlati A. The association and nuclear translocation of the PIAS3 - STAT3 complex is ligand and time dependent[J]. Mol Cancer Res, 2009, 7(11): 1854 - 1860
- 9 Kwon MC. Crifl is a novel transcriptional coactivator of STAT3[J]. EMBO J, 2009, 27(4): 642 - 653
- 10 Masciocchi D, Gelain A. Signal transducer and activator of transcription 3 (STAT3): a promising target for anticancer therapy[J]. Future Med Chem, 2011, 3(5): 567 - 597
- 11 Tammineni P, Anugula C. The import of the transcription factor STAT3 into mitochondria depends on GRIM - 19, a component of the electron transport chain[J]. J Biol Chem, 2013, 288(7): 4723 -

4732

- 12 Kalvakolanu DV, Kalakonda S. Tumor - suppressive activity of the cell death activator GRIM - 19 on a constitutively active signal transducer and activator of transcription 3[J]. Cancer Research, 2007, 67(13): 6212 - 6220
- 13 Kalvakolanu DV, Nallar SC. Identification of a structural motif in the tumor - suppressive protein GRIM - 19 required for its antitumor activity[J]. American Journal of Pathology, 2010, 177(2): 896 - 907
- 14 Rao GN, Potula HSK. Src - dependent STAT - 3 - mediated expression of monocyte chemoattractant protein - 1 is required for 15(S) - hydroxyeicosatetraenoic acid - induced vascular smooth muscle cell migration[J]. Journal of Biological Chemistry, 2009, 284(45): 31142 - 31155
- 15 Kalakonda S, Nallar SC. Tumor suppressive protein gene associated with retinoid - interferon - induced mortality (GRIM) - 19 inhibits src - induced oncogenic transformation at multiple levels[J]. The American journal of pathology, 2007, 171(4): 1352 - 1368
- 16 Zhou AM, Zhao JJ. Expression and clinical significance of GRIM - 19 in non - small cell lung cancer[J]. Chinese journal of cancer, 2009, 28(4): 431 - 435
- 17 Zhou Y, Li M, Wei Y, et al. Down - regulation of GRIM - 19 expression is associated with hyperactivation of STAT3 - induced gene expression and tumor growth in human cervical cancers[J]. J Interferon Cytokine Res, 2009, 29(10): 695 - 703
- 18 Dong DJ, Liu PC. The knockdown of Ha - GRIM - 19 by RNA interference induced programmed cell death[J]. Amino Acids, 2012, 42(4): 1297 - 1307
- 19 Kalakonda S, Nallar SC. Tumor - suppressive activity of the cell death activator GRIM - 19 on a constitutively active signal transducer and activator of transcription 3[J]. Cancer Res, 2007, 67(13): 6212 - 6220

(收稿日期:2013 - 03 - 22)

(修回日期:2013 - 04 - 03)

肝癌的影像学检查方法研究进展

全紫薇 陶 菁

肝癌是指发生于肝脏的恶性肿瘤,包括原发性肝癌和转移性肝癌两种,其中原发性肝癌(primary liver cancer, PLC)是临床上最常见的恶性肿瘤之一,好发年龄为 40 ~ 49 岁。一般认为,PLC 的发病机制主要与黄曲霉毒素 B1、乙型肝炎、丙型肝炎及亚硝胺类等

化学物质的作用有关。肝癌被确诊时,大多已经属于晚期,那些能外科治疗的病例其术后 3 年的复发率仍高于 70%^[1,2]。目前主要以介入治疗作为不可切除的中、晚期肝癌的首选治疗手段。

肝癌早期无明显症状及体征,因此影像学检查在临床上尤其重要。肝癌的影像学检查现已形成包括超声、血管造影、CT、MRI 等较完整的检查体系。本文就此 4 种影像学检查方法对 PLC 诊断的价值进行

作者简介:100069 北京,首都医科大学基础医学院(全紫薇);首都医科大学生物医学工程学院(陶菁)

通讯作者:陶菁,电子信箱:jeana2002@163.com