

GRIM-19 蛋白在非肿瘤中的作用机制及研究进展

李永光 卿艳维 李 丽 高美芳 陆志刚 魏 盟

摘 要 GRIM-19 是线粒体氧化呼吸链复合物 I 中的一个亚基,其被命名为 NDUFA13,最初是由 IFN- β 和维甲酸共同作用发现,其在复合物 I 的组装,电子传递以及线粒体 ROS 生成方面起到非常重要的调控作用,而且其在肿瘤中也扮演了重要角色,并对胞内多条信号通路有调控。随着研究的逐渐深入,在近几年来,关于 GRIM-19 肿瘤之外的作用,研究也越来越多,GRIM-19 在非肿瘤中的作用也得到了大家的重视。本文阐述 GRIM-19 蛋白在非肿瘤中的作用机制及最新研究进展。

关键词 GRIM-19 STAT3 发育 炎症 代谢

[中图分类号] R318 [文献标识码] A

GRIM-19 (gene associated with retinoid-IFN-induced mortality 19) 是线粒体氧化呼吸链复合物 I 中的亚基,又被命名为 NDUFA13,其可以通过多种途径调控生长和细胞凋亡。然而除了在肿瘤以及生长调控中的作用,GRIM-19 在非肿瘤中的作用也得到了研究者的关注,并且其在非肿瘤中的机制有较大的进展,笔者就 GRIM-19 在肿瘤之外的功能以及机制进行系统阐述。

一、GRIM-19 概述

GRIM-19 的相对分子质量约 16kDa,最初是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,GRIM-19 在细胞中主要分布在细胞线粒体,是线粒体氧化呼吸链复合物 I 中的一个亚基。在线粒体 5 个主要复合物中,复合物 I 最大,它包括 45 个不同的蛋白,GRIM-19 便是其中之一^[1]。在心脏、肝脏、肾脏、脑、骨骼肌以及胃平滑肌中,GRIM-19 的表达水平很高,其在肌肉细胞中的高表达可能间接反映出肌肉组织线粒体情况^[2,3]。在 Chen 等^[4]的研究中,当敲除 GRIM-19,细胞线粒体的膜电势发生改变,而且细胞内 ROS 升高,NAD⁺/NADH 的改变,说明 GRIM-19 在电子传递中扮演了重要角色。而在 Tamminen 等^[5]研究中发现,GRIM-19 和 STAT3-Ser727 相结合,介导 STAT3 (signal transducer and activator of transcription 3) 进入线粒体。STAT3 作为细胞内重要的转录因子,其在线粒体中的作用研

究也颇多,STAT3 和线粒体氧化呼吸链结合,保护了线粒体结构的完整性,降低了细胞内 ROS 生成。而当敲除 GRIM-19,STAT3 和线粒体的结合率大大降低,这说明 GRIM-19 参与介导 STAT3 进入线粒体,并在其中扮演了重要角色。然而 GRIM-19 在肿瘤中的表达很低甚至不表达,其主要通过抑制 STAT3 以及 GW112 (olfactomedin-4) 信号通路、NF- κ B 信号通路以及作用于 caspase-3 从而诱导细胞的线粒体凋亡途径,从而诱导凋亡。GRIM-19 呈现出肿瘤生长抑制特点。GRIM-19 作为线粒体氧化呼吸链复合物 I 中的亚基,其在线粒体以及调控肿瘤细胞增殖、凋亡以及坏死中扮演了非常重要的角色,随着研究的不断深入,GRIM-19 作用又有新的发现。本文将从以下几方面阐述 GRIM-19 蛋白在肿瘤作用之外的功能以及机制:①缺血;②发育;③感染、炎症以及免疫;④代谢。

二、缺血

局灶性脑缺血中,INF- β /RA 可以诱导 GRIM-19 上调,GRIM-19 的表达水平在大鼠脑缺血受影响区域明显上调。然而在局部缺血 24H 时,GRIM-19 mRNA 水平上调了约 32 倍,但是蛋白水平只上调了 50%^[6]。GRIM-19 转录和翻译水平表达不一致,说明在缺血区可能存在抑制 GRIM-19 蛋白合成的机制。无论如何,GRIM-19 在缺血情况下大脑中的变化得到了阐明,研究显示同侧颞叶相对于另一侧含有较高的 GRIM-19,并且神经元较神经胶质细胞含有较高的 GRIM-19,因此 GRIM-19 可能在缺氧细胞中扮演了重要角色,这些问题需要以后进一步研究。

作者单位:200233 上海交通大学附属第六人民医院心血管内科

通讯作者:魏盟,主任医师,教授,博士生导师,电子信箱:weimeng_

sjtu6h@163.com

三、发育

在 GRIM-19 敲除的小鼠胚胎中,促进早期器官发育的转录因子 NFAT(nuclear factor of activated T cells)表达下调,NFAT 可以挽救早期心脏发育的关键基因 Nkx2.5 表达。NFAT 家族包括 4 个成员(NFATc1 到 NFATc4),NFAT 参与了部分器官的发育,心脏是其中之一^[7]。NFATc1 突变可导致心脏瓣膜以及房间隔缺损,而同时敲除 NFATc3 和 NFATc4,小鼠的心肌和血管缺损,重新激活 NFATc4 以后,小鼠胚胎心脏发育得到恢复^[8,9]。NFAT 活性受到钙蛋白激酶调节,然钙蛋白激酶以及钙调控的 NFAT 活性在 GRIM-19 敲除后受到损害^[7]。除此之外,同源缺失 GRIM-19 的小鼠,胚胎发育至 9.5 天时,可引起胚胎死亡^[10]。

而在对棉铃虫的研究中发现:Ha-GRIM-19 在幼虫时期高表达,其转录水平在保幼激素(JH)类似物 methoprene 或者 methoprene 与 20E 的调节下升高。methoprene 是通过 JH 受体 Ha-Met1 来起作用的。其他转录因子 HA-USP1 以及 HA-BR-Z2 抑制了 methoprene 引起的 Ha-GRIM-19 表达,但是 HA-BR-Z2 通过与 20E 以及 methoprene 作用上调 Ha-GRIM-19。当在棉铃虫幼虫以及成虫细胞水平,利用 RNA 干扰技术沉默 Ha-GRIM-19,可以诱导细胞程序性死亡^[11]。说明 Ha-GRIM-19 在调控棉铃虫正常发育中起到了重要作用。

四、感染、炎症以及免疫

IFN- β /RA 可以诱导 GRIM-19 表达,除此之外,GRIM-19 还可以受到病毒、细菌以及其他部分物质调控,GRIM-19 可以参与炎症以及免疫调控。

一些病毒参与抑制 IFN 系统,通过抑制 GRIM-19 表达,提高了细胞存活率。人类乳头瘤病毒 E6 可以和 GRIM-19 结合,研究发现,宫颈癌中 GRIM-19 表达下调。人类 HHV-8 和卡波氏肉瘤、B 细胞淋巴瘤、castleman 疾病以及人类原发性淋巴瘤相关。HHV-8 基因组和一些结构蛋白结合,编码一些细胞内蛋白类似物,如病毒 vIL-6、病毒 BCL-2 以及 3 个病毒 IRFs 类似物等^[12]。vIRF1 蛋白参与转染并拮抗宿主对入侵病原体的反应,vIRF1 可以和 GRIM-19 绑定,并抑制其表达^[13]。vIRF1 蛋白和共激活因子 IRF3,通过与 CBP/P300 共同反应,抑制了 IFN 相关基因的表达。而感染牛痘病毒 2h 以后,GRIM-19 表达水平显著降低,并在感染后一直保持在低水平达 16h,然机制依然不清楚^[14]。研究发现在人单核细胞

衍生的巨噬细胞(hMDMs)中,H5N1 型病毒感染却诱导 GRIM-19 表达,HIV 感染同样诱导了 GRIM-19 的表达^[15]。

细菌可以诱导 GRIM-19 表达,具体机制不是很清楚^[16]。GRIM-19 作为 NADPH 脱氢酶复合体同源蛋白在 HT29 细胞中与内源性 NOD2 相交。GRIM-19 控制病原体侵入肠上皮细胞。核苷酸寡聚化结构域 2(NOD2)是哺乳动物细胞内病原体识别分子,其突变体和克罗恩病相关,其可以拮抗侵入细胞的细菌体。Barnieh 等^[16]报道显示,当细胞内有细菌感染时,GRIM-19 表达上调。GRIM-19 作为先天性黏膜免疫反应中的重要组成部分,通过 NOD2 调节 NF- κ B 活性。NOD 蛋白是细胞内细菌识别传感器,其和细胞膜相关 Toll 样受体类似,NOD 蛋白在先天性和获得性免疫中扮演了重要角色,NOD 蛋白利用 RIP2/RICK 激活 NF- κ B。在 MDP-LD 作用下,siRNA 作用后,GRIM-19 在 HEK293 中降低,从而使 NOD2 提高 NF- κ B 活性能力降低,NOD2 在抗胞内菌能力是 NF- κ B 依赖性的。GRIM-19 在细胞 Caco-2 中的表达,降低了沙门杆菌的侵袭能力,GRIM-19 控制病原体侵入细菌肠道上皮细胞。在肠道黏膜发炎的患者中,GRIM-19 表达下降,在炎症性肠病患者的研究中,克罗恩病和溃疡性结肠炎表明,与非感染的肠黏膜相比,感染的肠黏膜 GRIM-19 丰度显著降低,然而这种下调机制尚不明^[16]。在先天免疫中,GRIM-19^{+/+}型小鼠容易自发尿路感染,大多由葡萄球菌导致。在这些小鼠中对巨噬细胞检测,发现线粒体复合物 I 活性降低,而且 ROS 水平升高。细菌感染以及脂多糖(LPS)处理导致促炎因子 IL-1、IL-12、IL-6 以及 IFN- γ 在 GRIM-19^{+/+}型小鼠中也降低。和自噬相关的 LC3 的表达在 GRIM-19^{+/+}型小鼠中降低。在野生型巨噬细胞中,细菌感染可以诱导 GRIM-19 表达以及复合物 I 活性提高,但是在 GRIM-19^{+/+}型小鼠中,细菌感染诱导作用降低^[4]。

除此之外,在类风湿关节炎中 GRIM-19 也扮演了非常重要的角色。DBA1/J 小鼠中过表达 GRIM-19 或者在 C57BL/6 转基因小鼠中过表达 GRIM-19,可以降低 CD4⁺/IL-17⁺细胞和 CD4⁺P-STAT3⁺细胞的数目,同时 CD4⁺/CD25⁺/Foxp3 细胞和 CD4⁺/p-STAT5⁺细胞数量增多,研究显示过表达 GRIM-19 促进关节炎症状态明显好转,同时抑制破骨细胞形成,炎性细胞因子(IL-1 β 、IL-6、肿瘤坏死因子- α 以

及 IL-17) 在关节炎关节中的表达显著降低^[17]。

五、代 谢

GRIM-19 参与调控代谢酶 PDK4 活性。代谢调节蛋白酶 PDK4 受到 SRC 的抑制, SRC 转导的细胞有高水平的缺氧诱导因子-1 表达, 这抑制了三羧酸循环的进行, 而 GRIM-19 可以恢复其表达^[18]。PDK4 通过直接磷酸化 PDHc 的亚单位, 抑制线粒体丙酮酸脱氢酶的磷酸化^[19]。而 GRIM-19 调控抑制的 STAT3 的一个靶基因可以引起糖酵解酶表达。然而在人类和锯齿类动物 PDK 基因的促进因子中并没有发现 STAT3 的结合点。因此, GRIM-19 对该基因的抑制是通过间接途径起作用, 在人成胶质细胞瘤新陈代谢中的研究发现, GRIM-19 通过调控 STAT3-HIF1 α 信号通路进而调控氧化呼吸和糖酵解途径的转化, 当沉默 GRIM-19 时, HK2、PKM2 以及 PFK1 下调, PDK1 以及 p-PDH 表达水平也下调, 同时乳酸产量增加。而且 PDK1 以及 HK2 下调是 HIF1 α 依赖性的^[20]。

六、展 望

虽然对 GRIM-19 在肿瘤之外的研究已经开始, 但是 GRIM-19 在其生理中所扮演的角色依然不明, 还有很多值得去探索和证明, 如内外界影响因素通过何种方式, 受到何种影响因子作用, 从而调控 GRIM-19 基因的表达; GRIM-19 如何通过下游效应分子起作用, 具体的信号通路又是什么; GRIM-19 如何在细胞各种生命现象中起作用。这些有待于在以后的工作中进一步研究和探讨。

参考文献

- Carroll J, Fearnley IM, Skehel JM, *et al.* Bovine complex I is a complex of 45 different subunits [J]. J Biol Chem, 2006, 281(43): 32724-32727
- Angell JE, Lindner DJ, Shapiro PS, *et al.* Identification of GRIM-19, a novel cell death-regulatory gene induced by the interferon-beta and retinoic acid combination, using a genetic approach [J]. J Biol Chem, 2000, 275(43): 33416-33426
- Maximo V, Lima J, Soares P, *et al.* GRIM-19 in health and disease [J]. Adv Anat Pathol, 2008, 15(1): 46-53
- Chen Y, Lu H, Liu Q, *et al.* Function of GRIM-19, a mitochondrial respiratory chain complex I protein, in innate immunity [J]. J Biol Chem, 2012, 287(32): 27227-27235
- Tamminen P, Anugula C, Mohammed F, *et al.* 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
- Mehrabian Z, Chandrasekaran K, Kalakonda S, *et al.* The IFN-beta and retinoic acid-induced cell death regulator GRIM-19 is upregulated during focal cerebral ischemia [J]. J Interferon Cytokine Res, 2007, 27(5): 383-392
- Chen Y, Yuen WH, Fu J, *et al.* The mitochondrial respiratory chain controls intracellular calcium signaling and NFAT activity essential for heart formation in *Xenopus laevis* [J]. Mol Cell Biol, 2007, 27(18): 6420-6432
- de la Pompa JL, Timmerman LA, Takimoto H, *et al.* Role of the NF-ATc transcription factor in morphogenesis of cardiac valves and septum [J]. Nature, 1998, 392(6672): 182-186
- Bushdid PB, Osinska H, Wacław RR, *et al.* NFATc3 and NFATc4 are required for cardiac development and mitochondrial function [J]. Circ Res, 2003, 92(12): 1305-1313
- Kelekar A, Chang BS, Harlan JE, *et al.* Bad is a BH3 domain-containing protein that forms an inactivating dimer with Bcl-XL [J]. Mol Cell Biol, 1997, 17(12): 7040-7046
- Dong DJ, Liu PC, Wang JX, *et al.* The knockdown of Ha-GRIM-19 by RNA interference induced programmed cell death [J]. Amino Acids, 2012, 42(4): 1297-1307
- Lee HR, Kim MH, Lee JS, *et al.* Viral interferon regulatory factors [J]. J Interferon Cytokine Res, 2009, 29(9): 621-627
- Burysek L, Pittha PM. Latently expressed human herpesvirus 8-encoded interferon regulatory factor 2 inhibits double-stranded RNA-activated protein kinase [J]. J Virol, 2001, 75(5): 2345-2352
- Guerra S, Lopez-Fernandez LA, Pascual-Montano A, *et al.* Cellular gene expression survey of vaccinia virus infection of human HeLa cells [J]. J Virol, 2003, 77(11): 6493-6506
- Tripathy MK, Ahmed Z, Ladha JS, *et al.* The cell death regulator GRIM-19 is involved in HIV-1 induced T-cell apoptosis [J]. Apoptosis, 2010, 15(12): 1453-1460
- Barnich N, Hisamatsu T, Aguirre JE, *et al.* GRIM-19 interacts with nucleotide oligomerization domain 2 and serves as downstream effector of anti-bacterial function in intestinal epithelial cells [J]. J Biol Chem, 2005, 280(19): 19021-19026
- Shi Y, Zhao Z, Zhu X, *et al.* Expression and functional characterization of a gene associated with retinoid-interferon-induced mortality 19 (GRIM-19) from orange-spotted grouper (*Epinephelus coioides*) [J]. Fish Shellfish Immunol, 2013, 34(1): 273-279
- Karni R, Dor Y, Keshet E, *et al.* Activated pp60c-Src leads to elevated hypoxia-inducible factor (HIF)-1 α expression under normoxia [J]. J Biol Chem, 2002, 277(45): 42919-42925
- Patel MS, Korotchkina LG. Regulation of mammalian pyruvate dehydrogenase complex by phosphorylation: complexity of multiple phosphorylation sites and kinases [J]. Exp Mol Med, 2001, 33(4): 191-197
- Liu Q, Wang L, Wang Z, *et al.* GRIM-19 opposes reprogramming of glioblastoma cell metabolism via HIF1 α destabilization [J]. Carcinogenesis, 2013, 34(8): 1728-1736

(收稿日期: 2013-12-20)

(修回日期: 2014-01-09)