

ATF3 在心血管系统中的研究进展

胡哲夫 唐其柱 刘 源

摘 要 转录激活因子 3 (activating transcription factor 3, ATF3) 是一种应激快反应基因, 属于 ATF/CREB 家族成员, 在大部分细胞中能够稳定表达。ATF3 广泛参与机体内各种生理病理过程, 如调节细胞周期、影响凋亡、抑制炎症因子表达等, 其活性异常甚至与多种肿瘤的形成密切相关。近年研究发现, ATF3 与多种心血管疾病的发生、发展有关, 已成为心血管疾病的研究热点之一。

关键词 转录激活因子 3 心血管疾病 研究进展

中图分类号 R541

文献标识码 A

DOI 10.11969/j.issn.1673-548X.2015.09.046

过去几十年里, 人类在心血管疾病领域取得了很大的进步, 各种诊疗技术的不断提高使大多数地区的心血管疾病发生率显著降低。但是, 很多心脏病患者的预后仍较差。据全球疾病负担研究数据统计, 近年来全球心脑血管疾病的病死率已达到 30% 左右, 尤其是在西方国家, 并且随着人类生活水平的提高和社会压力的增大, 其发生率有着不断增加的趋势^[1]。因此, 心血管疾病仍是严重威胁人类健康的疾病。近年来许多研究发现, ATF3 在心肌组织中的含量与各种心血管疾病相关, 因此本文通过对该领域的相关研究进行归纳总结, 以探讨 ATF3 与心血管疾病之间的关系。

一、ATF3 来源及研究背景

ATF/CREB 家族包括一系列分子, 如 ATF1 (TREB36)、CREB、CREM、ATF2 (CRE - BP1)、ATF3、ATF4、 β -ATF 等, 它们的共同特点是都具有亮氨酸拉链结构 (bZIP), 通过与体内许多基因中 cAMP 反应元件的启动子共同序列“TGACGTCA”相结合来调控基因的转录^[2, 3]。自从 ATF3 首次于 He-La 细胞中被发现后, 科学家就对其做了大量研究, 证明其在调控细胞增殖、凋亡、炎症、免疫稳态以及器官和组织的分化等方面具有重要功能^[4~7]。例如, 在前列腺癌患者中, ATF3 可加速肿瘤细胞凋亡达到抗癌效果^[8]。既往研究表明^[9~12], ATF3 属于应激早期快反应基因, 在正常情况下于细胞内低水平稳定表达, 但一定的刺激如活性氧、紫外线刺激、心肌缺血、低氧

状态, 甚至是某些药物的使用如胰岛素、多柔比星等可使其瞬间表达增加, 尤其在心肌组织。

在胚胎时期, 血液循环中有大量的 BMP10, 其属于 TGF- β 超家族成员之一, 对于心脏发育十分关键, 尤其是心肌组织^[13]。Wang 等^[14]通过将骨形态生成带白 10 (BMP10) 在小鼠体内过表达后, 检测 ATF/CREB 家族各成员, 结果表明只有 ATF3 升高显著。因此, Wang 等^[14]假设心肌组织存在 BMP10/ATF3 信号通路, 且该信号通路在调节免疫反应和心血管发育中十分重要。在 TGF- β /BMP10 反应域中存在一种可被 Smad1 ~ Smad4 分子调控的 ATF/CREB 结合域。在通过连续检测胚胎期及出生后小鼠血液循环中的 BMP10 浓度和 ATF3 表达水平, 他们发现其浓度均随着心脏发育而逐渐升高, 且在 BMP10 基因过表达小鼠体内, ATF3 含量明显升高。他们认为, BMP10 能够不仅能够调节免疫稳态, 且对于胚胎期心脏发育十分重要, 尤其是心肌组织, 其通过影响 ATF3 的含量及活性来调控心脏的发育。但 ATF3 是否确切通过 BMP10 调控, 依然需要通过大量实验证实。因此, 笔者可认为 ATF3 是一种与心血管发育极其相关的重要基因。

二、ATF3 的自体抑制环路

Koivisto 等^[15]认为, ATF3 是一种压力诱导性基因, 在压力负荷诱导下于大鼠心肌组织中广泛表达, 且涉及多条信号通路, 如 MAPK、NF- κ B、JNK、cAMP-PKA 等。该研究发现, ATF3 的表达在多种应激信号刺激下可激活, 其在心肌组织中的表达量常异常升高。在内皮素-1 (ET-1) 刺激条件下, 心脏中 MAPK 信号通路激活, 逐渐导致心肌肥厚及心室重构, 与此同时, ATF3 被有效诱导, 其通过抑制各种促肥厚分子的表达来达到对心脏的保护作用。在机

基金项目: 中央高校基本科研业务费专项基金资助项目 (2012302020212)

作者单位: 430060 武汉大学人民医院心血管内科

通讯作者: 唐其柱, 教授, 博士生导师, 电子信箱: qztang@whu.edu.cn

体内,ATF3 的表达受到多种因素的调控,如各种信号分子、生长因子、microRNA 等^[16, 17]。然而近几年,Tindall 等^[18]提出 ATF3 存在一种自体抑制环路的概念 (autorepression loop),即 ATF3 存在一种自体反馈性抑制。

既往研究证实,ATF3 可能通过与其下游靶标启动子的 TATA 盒相结合来抑制自身的表达,然而在一个内生系统中很难检测其表达状态。Tindall 等^[18]使用 ET-1 刺激大鼠,后通过 RT-PCR 以及基因芯片测试等实验表明,其通过激动 Gq 蛋白偶联受体 (GqPCR) 活化 MAPK 信号通路,使 ERK1/2 表达增加,继而通过激动 p90 核糖体 S6 蛋白激酶 (RSKs) 使心肌组织中 ATF3 和早期生长因子 (Egr1) 表达增加。Tindall 同时检测了心肌组织 ATF3 mRNA 表达水平和蛋白表达量之间的关系,结果表明,ATF3 基因在 ET-1 刺激后逐渐上升,于 30min 后达到高峰后逐渐下降,于 4h 降至基线水平,而其蛋白的表达曲线相对延迟,因此他推测 ATF3 的蛋白产物能够抑制其 mRNA 表达。其后 Tindall 通过数学建模 (mathematical modelling) 的实验方法证实了这一假说,即 ATF3 存在自体抑制环路来调控自身基因的表达。

三、ATF3 与心血管系统疾病

1. ATF3 与心肌缺血再灌注损伤:心肌缺血再灌注损伤 (myocardial ischemia reperfusion injury, MIRI) 是指心肌在缺血的基础之上恢复血流后损伤加重,甚至发生不可逆损伤的现象。尽管科学家对 MIRI 做过大量研究,然而其确切机制仍有待阐明。缺血预适应 (ischemic preconditioning, PC) 对于心脏是一种保护性机制,然而该机制仍在研究之中。心肌组织 PC 按照时间分为适应性缺血期 (2 ~ 3h) 与缺血晚期 (72h),在 PC 发展过程中,心肌细胞内的基因转录,信号分子的合成以及代谢情况都发生一系列变化,而心肌缺血会诱发内质网应激反应 (endoplasmic reticulum stress, ERS),导致非折叠蛋白质 (unfolded protein response, UPR) 合成增加及降解速率减慢,继而 PERK、IRE-1 及 ATF6 信号转导通路活化,最终导致缺血区心肌组织代谢异常加剧缺血再灌注损伤^[19]。尽管 PC 与 UPR 在 MIRI 中存在,但二者的确切关系仍未阐明。Brooks 等^[20]以 ATF3 基因敲除小鼠和野生小鼠为研究对象,通过模拟缺血再灌注模型,经过 RT-PCR 法和 Western blot 法,计算心肌梗死面积等方法,结果表明,在心脏 ATF3 敲除的情况下,心肌组织的梗死面积明显增加,且炎症因子和黏附分子如

IL-6、IL-12 β 、ICAM1 等明显增多,表明在缺血期 ATF3 对心脏有保护效应。其中 Western blot 法结果证明,在缺血的条件下,心肌组织 PERK、ATF4、ATF3、XBP1 等表达增加,表明缺血诱发了 UPR,导致非折叠蛋白增加,诱发心肌损害,而 ATF3 能够反馈性抑制 UPR 弱化心肌组织中的 UPR,减少梗死面积来达到保护心肌缺血再灌注带来的损伤。该研究表明,ATF3 对于 MIRI 的发展十分重要,具有保护心肌的作用,该基因能够改善心肌缺血期的炎症浸润以及弱化 ERS,可能会成为预防心肌缺血损伤的新靶点。

2. ATF3 与心肌肥厚:心肌肥厚是心脏对压力、容量超负荷的一种慢性适应性代偿机制,是由多种神经体液因素介导的复杂病理生理过程。Hasin 等^[21]使用血管紧张素 II (Angiotensin II, Ang II) 刺激小鼠心脏,结果表明 Ang II 可通过激动 AT2R,进而活化表皮生长因子受体 (EGFR) 及 p-AKT 信号转导通路诱导左心房中 ATF3 的表达。Zhou 等^[22]以 ATF3 基因敲除小鼠与 WT 小鼠为研究对象,通过颈总动脉结扎术 (aortic banding, AB) 诱导压力负荷,采用 RT-PCR, Western blot 法以及免疫组化等实验技术进行分析。Western blot 法结果表明,在压力负荷诱导下,心肌组织的 ATF3 表达于术后一天开始上升,于 4 周达到高峰。不仅如此,在人类扩心病患者中,同样伴随着 ATF3 的升高。与 WT 组相比,在 ATF3 敲除小鼠的心脏中,心脏体积明显增大,超声结果提示射血分数、短轴缩短率明显下降。Western blot 法结果也显示 collagen-I、ANP、BNP、TGF- β 、Fibronectin 等肥厚及纤维化指标明显上升,PSR 染色结果也提示心脏纤维化程度加重。这些结果均表明,ATF3 敲除能够加剧压力负荷诱导的心肌肥厚及心肌纤维化,进一步损害心功能。另一方面,Zhou 通过研究信号通路证实 ATF3 能够抑制 MAPK、JNK、PI₃K-AKT 等信号通路来弱化心肌肥厚的发展。以上研究证实 ATF3 对于心肌肥厚是一种有效的保护性基因。然而,Koren 等^[23]却认为 ATF3 在心脏的表达能够促进血压升高及心肌肥厚的发生、发展,引起心功能恶化,与以上观点相悖。因此,ATF3 对心肌肥厚的具体影响机制仍需要进一步通过研究证实。

3. ATF3 与心力衰竭:心力衰竭是各种心血管疾病的终末期,尽管人类在心力衰竭的治疗领域取得了突出成就,许多患者的预后并不佳。在心力衰竭的发展过程中,同时伴随着自噬 (autophagy) 的产生^[24]。根据细胞内底物进入溶酶体腔方式的不同,自噬分为

大自噬 (macroautophagy)、小自噬 (microautophagy) 和分子伴侣介导的自噬 (chaperone-mediated autophagy) 3 种方式。Hill 等研究证实,大自噬主要发生在心肌细胞,且涉及多种信号分子,其中较为重要的是自噬相关基因 5 (autophagy-related protein 5, Atg5) 和 Beclin-1,而 Beclin-1 能够调控 Atg5 的活性。Lin 等^[24]以 ATF3 基因敲除小鼠与 WT 小鼠为研究对象,通过横主动脉结扎术 (transverse aortic banding, TAB) 诱导压力负荷引起心力衰竭。心脏超声和 Western blot 法结果表明,ATF3 敲除组心功能明显恶化并且 c-caspase-3 表达增加。叔丁基对苯二酚 (tert-butylhydroquinone, tBHQ) 是一种促进 ATF3 表达的药物。通过腺病毒转染 ATF3 或静脉注射 tBHQ 使小鼠心脏中 ATF3 过表达后,上述情况有明显逆转。以上结果提示,ATF3 的缺失能够加剧压力负荷诱导的心力衰竭。Lin 为了探讨 ATF3 抑制心力衰竭发展的具体机制,采用 RT-PCR 和基因芯片分别对自噬基因 BECN 及其表达产物 Beclin-1 的表达进行检测,结果表明,在心力衰竭发展的过程中其表达水平平均增加。当给小鼠心肌组织转染 ATF3 后,Beclin-1 的表达水平明显降低。以上结果提示,ATF3 通过抑制压力负荷诱导心力衰竭发展过程中自噬相关性 Beclin-1 信号通路来抑制心力衰竭的发展。因此,ATF3 在将来可能会成为治疗高血压及心力衰竭的治疗靶点,另一方面,tBHQ 有可能成为一种新兴研究药物。

四、展 望

近年来,研究者们发现在各种心血管疾病中,常伴随着 ATF3 的表达异常,ATF3 基因与心血管系统疾病发生、发展的关系不断被揭示。自 ATF3 首次于 HeLa 细胞中发现后,大量研究表明其主要与肿瘤细胞的代谢密切相关,但随着研究的深入,ATF3 与心血管系统疾病的关系正逐步明确,以评价其是否能够作为安全有效的治疗靶点。与此同时,分子靶向治疗的研究在不断进展,相信在不久的将来能通过这个基因研制出更好的药物,为心血管疾病治疗提供新思路。

参考文献

- Lewsey JD, Lawson KD, Ford I, *et al.* A cardiovascular disease policy model that predicts life expectancy taking into account socioeconomic deprivation[J]. *Heart*, 2015,101(3):201-208
- Thompson MR, Xu D, Williams BR. ATF3 transcription factor and its emerging roles in immunity and cancer[J]. *J Mol Med (Berl)*, 2009,87(11):1053-1060
- Hai T, Hartman MG. The molecular biology and nomenclature of the activating transcription factor/cAMP responsive element binding family of transcription factors: activating transcription factor proteins and homeostasis[J]. *Gene*, 2001,273(1):1-11
- Mashima T, Udagawa S, Tsuruo T. Involvement of transcriptional repressor ATF3 in acceleration of caspase protease activation during DNA damaging agent-induced apoptosis[J]. *J Cell Physiol*, 2001,188(3):352-358
- Chen HH, Lai PF, Lan YF, *et al.* Exosomal ATF3 RNA attenuates pro-inflammatory gene MCP-1 transcription in renal ischemia-reperfusion[J]. *J Cell Physiol*, 2014,229(9):1202-1211
- Chen YL, Tsai YT, Lee CY, *et al.* Urotensin II inhibits doxorubicin-induced human umbilical vein endothelial cell death by modulating ATF expression and via the ERK and Akt pathway[J]. *PLoS One*, 2014,9(9):e106812
- Hai T, Wolford CC, Chang YS. ATF3, a hub of the cellular adaptive-response network, in the pathogenesis of diseases: is modulation of inflammation a unifying component[J]. *Gene Expr*, 2010,15(1):1-11
- Huang X, Li X, Guo B. KLF6 induces apoptosis in prostate cancer cells through up-regulation of ATF3[J]. *J Biol Chem*, 2008,283(44):29795-29801
- Clerk A, Kemp TJ, Zoumpoulidou G, *et al.* Cardiac myocyte gene expression profiling during H2O2-induced apoptosis[J]. *Physiol Genomics*, 2007,29(2):118-127
- Markou T, Marshall AK, Cullingford TE, *et al.* Regulation of the cardiomyocyte transcriptome vs translome by endothelin-1 and insulin: translational regulation of 5' terminal oligopyrimidine tract (TOP) mRNAs by insulin[J]. *BMC Genomics*, 2010,11:343
- Kim MY, Seo EJ, Lee DH, *et al.* Gadd45beta is a novel mediator of cardiomyocyte apoptosis induced by ischaemia/hypoxia[J]. *Cardiovasc Res*, 2010,87(1):119-126
- Nobori K, Ito H, Tamamori-Adachi M, *et al.* ATF3 inhibits doxorubicin-induced apoptosis in cardiac myocytes: a novel cardioprotective role of ATF3[J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2002,34(10):1387-1397
- Ye L, Kynaston H, Jiang WG. Bone morphogenetic protein-10 suppresses the growth and aggressiveness of prostate cancer cells through a Smad independent pathway[J]. *J Urol*, 2009,181(6):2749-2759
- Wang Y, Zhang YW, Xu L, *et al.* The potential role of ATF3 on immune response is regulated by BMP10 through Smad dependent pathway[J]. *Med Hypotheses*, 2011,76(5):685-688
- Koivisto E, Jurado AA, Moilanen AM, *et al.* Characterization of the regulatory mechanisms of activating transcription factor 3 by hypertrophic stimuli in rat cardiomyocytes[J]. *PLoS One*, 2014,9(8):e105168
- Lan YF, Chen HH, Lai PF, *et al.* MicroRNA-494 reduces ATF3 expression and promotes AKI[J]. *J Am Soc Nephrol*, 2012,23(12):2012-2023
- Hai T, Wolfgang CD, Marsee DK, *et al.* ATF3 and stress responses[J]. *Gene Expr*, 1999,7(4-6):321-335
- Tindall MJ, Clerk A. Modelling negative feedback networks for activa-

ting transcription factor 3 predicts a dominant role for miRNAs in immediate early gene regulation[J]. PLoS Comput Biol, 2014,10(5): e1003597

19 Groenendyk J, Sreenivasiah PK, Kim DH, *et al.* Biology of endoplasmic reticulum stress in the heart[J]. Circ Res, 2010,107(10): 1185 – 1197

20 Brooks AC, Guo Y, Singh M, *et al.* Endoplasmic reticulum stress – dependent activation of ATF3 mediates the late phase of ischemic preconditioning[J]. J Mol Cell Cardiol, 2014,76:138 – 147

21 Hasin T, Elhanani O, Abassi Z, *et al.* Angiotensin II signaling up – regulates the immediate early transcription factor ATF3 in the left but not the right atrium[J]. Basic Res Cardiol, 2011,106(2):175 – 187

22 Zhou H, Shen DF, Bian ZY, *et al.* Activating transcription factor 3 deficiency promotes cardiac hypertrophy, dysfunction, and fibrosis induced by pressure overload[J]. PLoS One, 2011,6(10):e26744

23 Koren L, Elhanani O, Kehat I, *et al.* Adult cardiac expression of the activating transcription factor 3, ATF3, promotes ventricular hypertrophy[J]. PLoS One, 2013,8(7):e68396

24 Lin H, Li HF, Chen HH, *et al.* Activating transcription factor 3 protects against pressure – overload heart failure via the autophagy molecule Beclin – 1 pathway[J]. Mol Pharmacol, 2014,85(5):682 – 691

(收稿日期:2015 – 01 – 30)

(修回日期:2015 – 02 – 05)

(上接第 161 页)

6 Sayed AS, Xia K, Yang TL, *et al.* Circulating microRNAs: a potential role in diagnosis and prognosis of acute myocardial infarction[J]. Dis Markers, 2013,35(5): 561 – 566

7 Batista PJ, Chang HY. Long noncoding RNAs: cellular address codes in development and disease[J]. Cell, 2013,152(6):1298 – 1307

8 Klattenhoff CA, Scheuermann JC, Surface LE, *et al.* Braveheart, a long noncoding RNA required for cardiovascular lineage commitment[J]. Cell, 2013,152(3):570 – 583

9 D'Alessandra Y, Carena MC, Spazzafumo L, *et al.* Diagnostic potential of plasmatic microRNA signatures in stable and unstable angina[J]. PLoS One, 2013,8(11):e80345

10 Sayed AS, Xia K, Yang TL, *et al.* Circulating microRNAs: a potential role in diagnosis and prognosis of acute myocardial infarction[J]. Dis Markers, 2013,35(5):561 – 566

11 Liebetrau C, Mollmann H, Dorr O, *et al.* Release kinetics of circulating muscle – enriched microRNAs in patients undergoing transcatheter ablation of septal hypertrophy[J]. J Am Coll Cardiol, 2013,62(11): 992 – 998

12 Eitel I, Adams V, Dieterich P, *et al.* Relation of circulating MicroRNA – 133a concentrations with myocardial damage and clinical prognosis in ST – elevation myocardial infarction[J]. Am Heart J, 2012,164(5):706 – 714

13 Ho PC, Chang KC, Chuang YS, *et al.* Cholesterol regulation of receptor – interacting protein 140 via microRNA – 33 in inflammatory cytokine production[J]. FASEB J, 2011,25(5):1758 – 1766

14 Harris TA, Yamakuchi M, Kondo M, *et al.* Ets – 1 and Ets – 2 regulate the expression of microRNA – 126 in endothelial cells[J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2010,30(10):1990 – 1997

15 Stakos DA, Gatsiou A, Stamatelopoulous K, *et al.* Platelet microRNAs: From platelet biology to possible disease biomarkers and therapeutic targets[J]. Platelets, 2013,24(8):579 – 589

16 Kondkar AA, Bray MS, Leal SM, *et al.* VAMP8/endobrevin is overexpressed in hyperreactive human platelets: suggested role for platelet

microRNA[J]. J Thromb Haemost, 2010,8(2):369 – 378

17 Castoldi G, Di Gioia CR, Bombardi C, *et al.* MiR – 133a regulates collagen 1A1: potential role of miR – 133a in myocardial fibrosis in angiotensin IIdependent hypertension[J]. J Cell Physiol, 2012,227(2): 850 – 856

18 Yamasaki K, Nakasa T, Miyaki S, *et al.* Expression of microRNA – 146a in osteoarthritis cartilage[J]. Arthritis Rheum, 2009,60(4): 1035 – 1041

19 Pasmant E, Sabbagh A, Vidaud M, *et al.* ANRIL, a long, noncoding RNA, is an unexpected major hotspot in GWAS[J]. FASEB J, 2011,25(2): 444 – 448

20 Motterle A, Pu X, Wood H, *et al.* Functional analyses of coronary artery disease associated variation on chromosome 9p21 in vascular smooth muscle cells[J]. Hum Mol Genet, 2012,21(18):4021 – 4029

21 Congrains A, Kamide K, Oguro R, *et al.* Genetic variants at the 9p21 locus contribute to atherosclerosis through modulation of ANRIL and CDKN2A/B[J]. Atherosclerosis, 2012,220(2):449 – 455

22 Wu G, Cai J, Han Y, *et al.* LincRNA – p21 regulates neointima formation, vascular smooth muscle cell proliferation, apoptosis and atherosclerosis by enhancing p53 activity[J]. Circulation, 2014,130(17): 1452 – 1465

23 Liu Y, Li G, Lu H, *et al.* Expression profiling and ontology analysis of long noncoding RNAs in post – ischemic heart and their implied roles in ischemia/reperfusion injury[J]. Gene, 2014,543(1):15 – 21

24 Kumarswamy R, Bauters C, Volkmann I, *et al.* Circulating long noncoding RNA, LIPCAR, predicts survival in patients with heart failure[J]. Circ Res, 2014,114(10):1569 – 1575

25 Salmena L, Poliseno L, Tay Y, *et al.* A ceRNA hypothesis: the Rosetta stone of a hidden RNA language? [J]. Cell, 2011,146(3):353 – 358

26 王阶, 虞桂. MicroRNA 与冠心病中医证候研究[J]. 中国中西医结合杂志, 2012,32(11):1562 – 1565

(收稿日期:2015 – 01 – 07)

(修回日期:2015 – 01 – 20)