

STAT3 蛋白在心肌缺血再灌注损伤中的保护作用的研究进展

李 茜 夏中元

摘要 心肌缺血性疾病是人类健康的主要威胁之一,对其治疗后的再灌注性损伤也是临床需要面临和解决的问题。研究表明,STAT3 蛋白在心肌缺血再灌注损伤的应答反应中发挥重要保护作用,但其机制并未完全明确。本文旨在基本阐明 STAT3 蛋白是通过哪些可能方式发挥其在心肌缺血再灌注损伤中的保护作用并介绍其在疾病治疗方面的应用。通过研究 STAT3 与缺血预处理、后处理、线粒体功能以及和细胞凋亡之间的关系说明 STAT3 在心肌保护作用中的可能机制,并提出激活 STAT3 可能是治疗心血管疾病的靶点之一。STAT3 可通过调节多种信号通路和线粒体功能以及调节细胞凋亡从而发挥心脏保护功能,在心血管疾病的治疗中具有一定潜能,但具体应用还需进一步的研究和探索。

关键词 STAT3 缺血再灌注损伤 心脏保护

中图分类号 R3

文献标识码 A

DOI 10.11969/j. issn. 1673-548X. 2016. 02. 002

STAT 家族(signal transducer and activator of transcription)有 7 个组成成员,分别是 STAT1、STAT2、STAT3、STAT4、STAT5A、STAT5B、STAT6,均可以在心脏中表达。尽管这些蛋白具有相似的结构,但都具有不同的功能,每一种 STAT 蛋白都可制备相应基因敲除的小鼠,但只有在 STAT3 缺失时,小鼠在胚胎时期就会死亡,因此可设定 STAT3 具有重要的促进胚胎发育作用。本文旨在说明 STAT3 对于心脏的保护作用及可能方式。

一、STAT3 与缺血预处理对心脏的作用

预处理是指预先给予某种损伤性刺激,以提高心肌细胞自身抗损伤的耐受性或适应性。心肌可通过在致死性的缺血再灌注之前或之后进行一系列短期的非致死性的缺血再灌注的处理,达到使心肌对缺血再灌注损伤具有更好的耐受。缺血预处理的机制尚未完全明确,但其过程包括了细胞膜受体的活化,该过程使细胞膜上的信号通过大量的蛋白激酶转导,并且活化的质膜受体可拆解线粒体^[1]。在缺血再灌注(ischemia/reperfusion, I/R)期间,NADPH 氧化酶的激活以及磷酸化解偶联作用可产生某些活性氧物质(reactive oxygen species, ROS),过剩的活性氧物质可通过开放线粒体上的渗透性转换孔而引起心肌细胞损伤,而少量的 ROS 可激活某些蛋白激酶(如蛋白激酶 C 而潜在发挥心脏保护作用^[2~4])。也有研究表明,

用氯甲苯噻嗪作为预处理,ROS 也可作为第二信使发挥保护功能。

与野生型小鼠心肌细胞相比,STAT3 敲除的小鼠心肌细胞在模拟缺血环境中培养 26h 后,两种细胞存活能力无明显差异。除缺血预处理外,药物预处理如雷帕霉素、TNF-α、氯甲苯噻嗪或腺苷对减少心肌细胞死亡的作用在 STAT3 敲除的心肌细胞中也消失^[5]。缺血预处理可激活心肌保护性 JAK/STAT 通道,在经过 3 次缺血 5min 再灌注 5min 的预处理后,离体心脏的 STAT3 磷酸化程度确实升高,并且在 6 次缺血 4min 再灌注 4min 后,原位小鼠心肌可使 JAK 蛋白的酪氨酸磷酸化,其中包括 JAK1 和 JAK2,不包括 TYK2^[6]。预处理 30min 后,STAT3 酪氨酸和丝氨酸磷酸化均增加,蛋白质向细胞核转移,细胞质中蛋白水平降低而胞核中蛋白水平升高,同时 STAT DNA 结合也升高^[7]。通过在预处理前使用 JAK/STAT 通道阻滞剂 AG-490 可进一步说明 JAK/STAT 的作用。在应用 5 μmol/L 的 AG-490 后,STAT3 的磷酸化消失,且预处理减少心肌梗死面积的作用也消除^[6]。

在缺血前使用转录抑制剂放线菌素 D 并不能消除早期缺血预处理对心脏的保护作用说明早期的心脏保护作用不依赖于 mRNA 水平的增高^[8]。STAT 蛋白是作为基因翻译靶点催化剂而发挥心脏保护作用的,并且这种作用发生在缺血预处理的晚期。一氧化氮合酶(iNOS)可在缺血预处理的晚期介导其保护作

用,在使用 AG - 490 阻滞 JAK/STAT 通道后分析 iNOS 的表达,显示在经腹腔给予小鼠 40 μg/g AG - 490,在缺血刺激 24h 及 24h 后,iNOS 蛋白上调受到阻滞,活性不升高^[7]。

激活 JAK/STAT3 通道或在新生小鼠心肌细胞中转染有活性的 STAT3,可减少由缺氧/复氧导致的有害 ROS 的形成。ROS 的下降是通过上调线粒体基质中的自由基清除酶 MnSOD 实现的。在 MnSOD 催化区中出现 STAT3 结合位点,STAT3 蛋白与核 MnSOD 催化基团结合,使 MnSOD mRNA 水平增高,从而增加 MnSOD 表达量。同野生型小鼠相比,在再灌注早期,心肌 STAT3 过表达的小鼠 ROS 的产量相对较低,可能同 mRNA 水平以及自由基清除酶代谢产物 1 和 2 (MT1 和 MT2) 水平升高有关。

综上所述,在缺血和药物介导的与处理中,STAT3 通过其对靶基因的翻译修饰而在心肌保护中发挥重要作用,且这种保护作用主要表现在预处理的晚期^[9]。

二、STAT3 与缺血后处理对心脏的作用

在野生型小鼠中,在给予缺血后处理后 2h 评估心肌梗死的范围,后处理可缩小心肌梗死面积,且在给予 3 次缺血 10s 再灌注 10s 的后处理时,心肌保护效应与 STAT3 磷酸化程度增加相关。但给予 AG - 490 后该保护作用消失,STAT3 磷酸化程度也不增加。另一方面,在心肌 STAT3 敲除的小鼠中,后处理的保护效应也消失,证明 STAT3 不仅在缺血预处理中发挥关键作用,在缺血后处理中也有重要功能。但是,若以 5s 缺血 5s 再灌注作为后处理时,心肌 STAT3 敲除的小鼠心肌梗死面积仍然缩小,缺血后处理心肌保护机制中包括独立于 STAT3 的信号级联反应。STAT3 可影响多种细胞功能,包括调节多种靶基因的翻译过程,或单独影响线粒体功能等,使 STAT3 成为心肌保护功能信号转导级联反应中的一个关键因素^[10]。

三、STAT3 与线粒体功能

在缺血预处理的心脏保护过程中,线粒体可能参与了其信号转导的级联反应。线粒体在缺血再灌注期间由氧化磷酸化解偶联作用产生 ROS,少量 ROS 可触发缺血预处理对心脏的保护^[11]。此外,缺血预处理可阻滞线粒体渗透性转换孔 (MPTP) 的开放,提示线粒体可能是预处理的一个终末感受器^[12]。在细胞内 pH 正常时,MPTP 在 ROS 和钙离子大量聚集时开放^[3]。非激活状态的 GSK3β 和 BCl - xL 过表达可

减少 MPTP 的开放频率。STAT3 也可直接影响线粒体的氧化呼吸。

STAT3 水平增加可减少有缺血再灌注导致的细胞坏死和凋亡。STAT3 可调控抗凋亡基因 BCl - xL 的表达使其水平上升,BCl - xL 在线粒体外膜上的表达可稳定线粒体的膜结构^[13]。

在胚胎心脏中,STAT3 涉及激活 RISK 通道 (the reperfusion injury salvage kinase pathway) 的相关组件,包括 PI₃K、Akt、GSK3β 和 ERK₂,RISK 通道的激活可阻滞 MPTP 在再灌注期间的开放^[14]。某些心肌保护因子,如可作为 STAT3 激活剂之一的胰岛素,也可激活 RISK 通道^[15]。此外,线粒体中 STAT3 与亲环蛋白 D 的相互作用亦可阻滞 MPTP 开放^[10]。STAT3 可诱导内源性心肌保护因子金属硫蛋白的产生,通过其自由基清除作用和稳定生物膜作用发挥心脏保护功能^[9]。

四、STAT3 和细胞凋亡

缺血预处理和后处理均可减少细胞坏死和细胞凋亡,在研究 JAK - STAT 蛋白的作用时,焦点主要在 STAT1 和 STAT3^[16]。由缺血诱导的新生大鼠心肌细胞凋亡的原因包括 STAT1 的激活。与 STAT1 不同,STAT3 可减少心肌细胞凋亡。用过氧化氢处理新生大鼠心肌细胞,可诱导产生对凋亡敏感或凋亡抵抗的两种细胞亚群,其中,抗凋亡的心肌细胞表现出更高的 STAT3 水平^[17]。用 AG - 490 灌注离体心脏后坏死心肌细胞增多。在急性心肌梗死模型中,AG - 490 可抑制 STAT3 磷酸化,Bax 表达增加,坏死细胞核增多,进一步证实了 STAT3 的抗凋亡作用^[18]。

五、STAT3 在心血管疾病治疗中的意义

STAT 翻译因子的持续激活,特别是 STAT1、STAT3、STAT5 的持续激活,已被证实对机体存在一定的伤害性。如在血液中 STAT 信号的异常表达可导致白血病、淋巴瘤和多发性骨髓瘤的发生,持续激活的 STAT3 可通过靶基因表达失调导致细胞增殖、凋亡和血管再生的失衡,从而诱导肿瘤形成^[19,20]。尽管在肿瘤的发生过程中 STAT3 的激活至关重要,但 STAT3 在介导缺血预处理和后处理的心脏保护效应中也具有关键作用,如可促进心脏的代偿性肥大并减少细胞凋亡。因此不同于肿瘤治疗,在心血管疾病的治疗以及刺激心肌保护级联反应中,激活 STAT3 表达是一种可能的治疗方式,并且在心脏代偿至心力衰竭这一过程中,其激活可能发挥有益作用。

心脏中某些 STAT3 激动剂可能具有治疗潜

能^[21]。但是诱导STAT3信号激活的措施中,如通过激活gp130信号从而激活STAT3信号时则必须考虑到gp130并不是将信号特异性的传递至JAK-STAT通路,同时也可激活其他的信号通路如PI₃K/Akt或MEK/ERK通路等^[22]。并且,由于持续激活的STAT3与恶性肿瘤的产生相关,所以在通过激活STAT3治疗心血管疾病时,应着力避免其持续激活状态的产生^[23]。因此,为达到平衡STAT3信号以减轻心脏生理病理性损伤的目的,在治疗心血管疾病时,应小心控制STAT3的激活程度并严格制定治疗措施。

综上所述,STAT3在心脏保护中具有重要作用,与其激活心肌保护性信号通路、抗细胞凋亡、稳定线粒体结构等特性相关,并且为心血管疾病的治疗提供新思路,但具体应用还需开展深入研究和探索。

参考文献

- 1 Cohen MV, Downey JM. Adenosine: trigger and mediator of cardioprotection[J]. Basic Res Cardiol, 2008, 103(3): 203–215
- 2 Lan W, Tan JL, Wang ZH, et al. ROS generated during early reperfusion contribute to intermittent hypobaric hypoxia–afforded cardioprotection against postischemia–induced Ca²⁺ overload and contractile dysfunction via the JAK2/STAT3 pathway[J]. Journal of Molecular and Cellular Cardiology, 2015, 81(2):150–161
- 3 Heusch G, Boengler K, Schulz R, et al. Inhibition of mitochondrial permeability transition pore opening: the Holy Grail of cardioprotection[J]. Basic Res Cardiol, 2010, 105(2): 151–154
- 4 Dong S, Teng Z, Lu FH, et al. Post-conditioning protects cardiomyocytes from apoptosis via PKC(epsilon) – interacting with calcium-sensingreceptors to inhibit endo(sarco)plasmic reticulum–mitochondria crosstalk[J]. Mol Cell Biochem, 2010, 341(2): 195–206
- 5 Das A, Salloum FN, Scott M, et al. Inhibition of mammalian target of rapamycin protects against reperfusion injury in diabetic heart through STAT3 signaling[J]. J Basic Research in Cardiology, 2015, 110:31
- 6 Barsukovich V, Basalay M, Sanchez J, et al. Distinct cardioprotective mechanisms of immediate, early and delayed ischaemic postconditioning[J]. Basic Res Cardiol, 2015, 110(10):452
- 7 Xuan YT, Guo Y, Zhu Y, et al. Endothelial nitric oxide synthase plays an obligatory role in the late phase of ischemic preconditioning by activating the protein kinase C epsilon p44/42 mitogen–activated protein kinase pSer–signal transducers and activators of transcription1/3 pathway[J]. Circulation, 2007, 116(5): 535–544
- 8 Rowland RT, Meng X, Cleveland JC, et al. Cardioadaptation induced by cyclic ischemic preconditioning is mediated by translational regulation of de novo protein synthesis[J]. Surg Res, 2007, 71(2): 155–160
- 9 Oshima Y, Fujio Y, Akanishi T, et al. STAT3 mediates cardioprotection against ischemia/reperfusion injury through metallothionein induction in the heart[J]. Cardiovasc Res, 2008, 65(2): 428–435
- 10 Tian YK, Zhang WJ, Xia DC, et al. Postconditioning inhibits myocardial apoptosis during prolonged reperfusion via a JAK2–STAT3–Bcl–2 pathway[J]. Journal of Biomedical Science, 2011, 18(1):53
- 11 Kalogeris T, Baines CP, Krenz M, et al. Cell biology of ischemia/reperfusion injury[J]. Cell Mol Biol, 2012, 298(10):229–317
- 12 Szczepanek K, Chen Q, Derecka M, et al. Mitochondrial–targeted signal transducer and activator of transcription 3 (STAT3) protects against ischemia–induced changes in the electron transport chain and the generation of reactive oxygen species[J]. Biol Chem, 2011, 286(34):29610–29620
- 13 Gabriel B, Sureau F, Casselyn M. Retroactive pathway involving mitochondria in electroloaded cytochrome c–induced apoptosis protective properties of Bcl–2 and Bcl–(XL)[J]. Exp Cell Res, 2003, 289: 195–210
- 14 Pedretti S, Raddatz E. STAT3a interacts with nuclear GSK3beta and cytoplasmic RISK pathway and stabilizes rhythm in the anoxic–reoxygenated embryonic heart[J]. Basic Res Cardiol, 2011, 106(3):355–369
- 15 Fuglesteg BN, Suleman N, Tiron C, et al. Signal transducer and activator of transcription 3 is involved in the cardioprotective signalling pathway activated by insulin therapy at reperfusion[J]. Basic Res Cardiol, 2008, 103(5):444–453
- 16 Stephanou A, Latchman DS. Opposing actions of STAT–1 and STAT–3[J]. Growth Factors, 2005, 23(3):177–182
- 17 Ma H, Gong H, Chen ZD, et al. Association of Stat3 with HSF1 plays a critical role in G–CSF–induced cardio–protection against ischemia/reperfusion injury[J]. Journal of Molecular and Cellular Cardiology, 2012, 52(2):1282–1290
- 18 Luan HF, Zhao ZB, Zhao QH, et al. Hydrogen sulfide postconditioning protects isolated rat hearts against ischemia and reperfusion injury mediated by the JAK2/STAT3 survival pathway[J]. Braz J Med Biol Res, 2012, 45(10):898–905
- 19 Yu H, Lee H, Herrmann A, et al. Revisiting STAT3 signalling in cancer: new and unexpected biological functions[J]. Nat Rev Cancer, 2014, 14(10):736–746
- 20 Walker SR, Frank DA. Screening approaches to generating STAT inhibitors: allowing the hits to identify the targets[J]. JAKSTAT, 2012, 1(4):292–299
- 21 Kurdi M, Booz GW. Can the protective actions of JAK–STAT in the heart be exploited therapeutically? Parsing the regulation of interleukin–6–type cytokine signaling[J]. J Cardiovasc Pharmacol, 2007, 50(2): 126–141
- 22 Fischer P, Hilfiker–Kleiner D. Survival pathways in hypertrophy and heart failure. The gp130–STAT3 axis[J]. Basic Res Cardiol, 2007, 102: 279–297
- 23 Ehret GB, Reichenbach P, Schindler U, et al. DNA binding specificity of different STAT proteins – comparison of in vitro specificity with natural target sites[J]. J Biol Chem, 2001, 276: 6675–6688

(收稿日期:2015–06–23)

(修回日期:2015–07–19)