

ATF3 在心肌缺血再灌注损伤中的负性调控作用*

杨超君¹ 杨俊^{1△} 王辉波¹

[摘要] 冠心病是危害人类健康的疾病,近几十年来其发病率和病死率呈上升趋势。再灌注治疗是挽救心肌梗死的有效手段,同时也可能对心脏产生更大的损伤,即心肌缺血再灌注损伤(myocardial ischemia reperfusion injury, MIRI)。大量研究表明,ATF /CERB 家族成员 ATF3 在缺血再灌注损伤中发挥负性调控作用。本文将对 ATF3 的表达特点和其在 MIRI 中的负性调控作用进行综述。这将为 ATF3 过表达治疗 MIRI 这一基因治疗策略提供理论基础。

[关键词] 心肌缺血再灌注损伤;转录激活因子 3;TLR4

doi:10.13201/j.issn.1001-1439.2015.08.004

[中图分类号] R541.4 **[文献标志码]** A

The negative regulatory factor in myocardial ischemia reperfusion injury of ATF3

YANG Chaojun YANG Jun WANG Huibo

(Cardiology Department, the First Affiliated Hospital of Three Gorges University, Yichang, Hubei, 443003, China)

Corresponding author: YANG Jun, E-mail: yangjun@medmail.com.cn

Summary Coronary heart disease (CHD) is a disorder that endangers human health, which appears to rise in morbidity and mortality in recent decades. Reperfusion therapies are the effective strategies to rescue infarcted myocardium, at the same time, these means of ischemia reperfusion may lead more serious injure in heart, which is called myocardial ischemia reperfusion injury (MIRI). Scores of researches demonstrated that ATF/ CREB family member ATF3 developed a negative regulation in ischemia reperfusion injury (IRI). This review will expound the expression characteristic of ATF3 and its negative regulation in MIRI. Here, we may provide a theoretical basis that over expression ATF3 in myocardium is a promising gene therapeutic strategy in MIRI.

Key words myocardial ischemia reperfusion injury; activating transcription factor; TLR4

2014 年美国心脏协会最新更新数据显示,在美国平均每年有 62 万人为新发冠心病(CHD),每 34 s 有 1 人发生 CHD,每 83 s 有 1 人死于 CHD^[1]。ACS 发生后,难以及时进行再灌注治疗,较晚的经皮冠状动脉介入治疗(PCI)、冠状动脉旁路移植术(CABG)以及药物溶栓抗等可能出现心肌缺血再灌注后的损伤,将影响其治疗效果。寻找 MIRI 的内源性调控因子(如 ATF3)^[2],已成为研究的热点并迫在眉睫。

1 概述

转录激活因子 3 (activating transcription factor, ATF3) 是为富含碱性亮氨酸拉链(basic leucine zipper, bZIP)结构的转录因子的 ATF /CERB 家族成员之一,分子量为 22 kDa^[3]。ATF3 基因含有 4 个外显子 A、B、C 和 E,可以编码含 181 个氨基酸^[3]。ATF3 可以通过 bZIP 结构自身形成同源二聚体,也可以与 ATF /CERB 其他家族成员或转录激活蛋白 1(transcriptional activating protein, AP-1)、CCAAT/增强子结合蛋白

(CCAAT/enhancer binding protein, C/EBP)家族成员等形成异源二聚体^[4]。ATF3 同二聚体和异二聚体在细胞核内基因转录激活中发挥不同的作用^[5]:ATF3 同源二聚体具有抑制靶基因转录的作用,其中第 40~84 氨基酸是发挥抑制作用的部位;ATF3 异源二聚体依据启动子和细胞状态发挥转录激活或抑制作用。因此靶基因含有与 ATF3 同源二聚体结合的启动子时,其转录活性能被 ATF3 抑制。

2 心肌缺血再灌注损伤中 ATF3 的表达

2.1 ATF3 的诱导因素

ATF3 在正常静息细胞中普遍存在,并呈低浓度稳态表达。ATF3 是应激早期快反应基因,当细胞暴露于一些压力条件时(如氧化应激、炎症反应等),ATF 就会被诱导大量增加^[6]。缺血再灌注损伤(myocardial Ischemia reperfusion injury, MIRI)涉及炎症反应、补体激活、钙超载、氧化应激、细胞凋亡以及细胞自噬等压力条件,这将促进 ATF3 的早期应激性表达。

Yamamoto 等^[7]对 SD 大鼠行肺移植术后再灌注,检测其缺血再灌注损伤后 0 min、30 min、180 min 时 ATF3 的表达水平,发现 ATF3 的表达明显上升且在 180 min 时达峰值。Wang 等^[8]在肾缺血再灌注损伤小鼠中检测 ATF3 表达水平,发现 ATF3

* 基金项目:国家自然科学基金(No:81170133,81200088,81470387);湖北省医学领军人才

¹ 三峡大学心血管病研究所 三峡大学第一临床医学院内科(湖北宜昌,443003)

△ 审校者

通信作者:杨俊, E-mail: yangjun@medmail.com.cn

水平在 IR 6 h 时较 IR 前显著升高 60 倍, IR 24 h 时较 IR 前升高 20 倍。Song 等^[9]发现大鼠大脑中动脉短暂缺血再灌注损伤后 1~2 d, 在身体同侧梗死区域附近可以观察到许多 ATF3 的免疫反应性细胞核, 但是在第 3 天开始下降。这些研究提示, 缺血再灌注损伤时, ATF3 呈一过性上升而非持续性上升。心肌缺血缺氧时也存在 ATF3 表达上调的适应性反应^[10-11]。Da Silva 等^[12]的研究显示心肌缺血再灌注损伤时 ATF3 表达上调发挥一定的心肌的保护作用。

2.2 心肌缺血再灌注损伤与 ATF3 表达的信号途径

MIRI 发生在无菌环境中, 释放的某些内源性分子, 如热休克蛋白 60、纤维连接蛋白、透明质酸碎片、防御素 3、细胞碎片等称为危险相关分子模式 (danger-associated molecular patterns, DAMPs)^[13]。DAMPs 识别心肌细胞表面的 Toll 样受体 4 (Toll-like receptor 4, TLR4), 激活 NF- κ B 和 SAPK/JNK 信号通路^[14], 促进大量炎症因子、趋化因子的产生及免疫细胞的激活, 从而诱导心肌损伤。

研究表明, TLR4 信号通路也参与了 ATF3 的表达^[2,15]。Whitmore 等^[15]用病原体激活小鼠和人类树突状细胞表明 TLRs 信号时, 观察到 ATF3 的表达水平升高。Gilchrist 等^[2]使用基因芯片技术分析 LPS 诱导巨噬细胞 TLR4/NF- κ B 通路活化时的转录谱, 发现 ATF3 的 mRNA 转录活性明显升高。Nguyen 等^[16]证实了 ATF3 是通过 TLR4 下游的 JNK/c-jun 信号通路被诱导表达上调的。这提示, 心肌缺血再灌注损伤激活的 TLR4/NF- κ B 和 SAPK/JNK 信号通路是诱导 ATF3 表达的直接路径。

3 ATF3 负性调控心肌缺血的再灌注损伤和作用机制

3.1 ATF3 负性调控心肌缺血再灌注损伤

ATF3 的表达是通过 TLR4/NF- κ B 信号通路来激活的, 反过来 ATF3 负反馈作用于 TLR4 信号通路^[15,17], 在缺血再灌注损伤中可以发挥保护作用。ATF3 在肾、脑、肝缺血灌注损伤中的保护作用的研究取得了较大进展^[8,18-19]。Li 等^[18]建立小鼠肾脏 I/R 模型的研究发现, 小鼠肾脏 I/R 中 ATF3 基因敲除组较未敲除组, 有较高的病死率、容易发生肾功能紊乱、炎症反应和细胞凋亡明显; 向 ATF3 基因敲除鼠肾脏通过腺病毒转入 ATF3, 可以通过抗炎和抗凋亡挽救 IR 损伤。Wang 等^[8]在脑 IR 小鼠模型中发现, ATF3 基因敲除的小鼠脑梗死面积和神经系统功能恶化较 WT 小鼠重, 神经细胞凋亡、炎症基因的表达、炎症细胞的募集和细胞炎症反应较 WT 小鼠上调、基质金属蛋白酶 9 (matrix metalloproteinase, MMP9) 的 mRNA 的

表达和蛋白的激活增加。Rao 等^[19]通过体内和体外的肝脏 IR 模型发现, ATF 基因敲除的情况下, TLR4/NF- κ B 的激活、促炎因子和巨噬细胞/中性粒细胞活化, 使 IR 损伤增强。

ATF3 在心脏 IR 损伤中的作用研究较少。Brooks 等^[20]利用 ATF3 基因敲除的小鼠, 心肌缺血预适应 (心肌短暂缺血) 处理后, 发现 ICAM 和 IL-6 水平显著升高、炎症细胞浸润 (CD45+/GR-1+) 显著增加, 这说明 ATF3 可以负性调控心肌缺血 TLR4 下游的 IL-6、ICAM 的水平和炎症细胞的浸润。

3.2 ATF3 负性调控因子的作用机制

Gilchrist 等^[2]研究认为 TLR4 炎症信号通路下游编码 IL-6 和 IL-12b 的启动子上有 2 个相近的结合位点为 CREB/ATF 和 NF- κ B, 当 ATF3 结合于下游靶基因的启动子 CREB/ATF 结合位点上时, 抑制了 NF- κ B 与靶基因的结合, 从而抑制炎症因子 IL-6、IL-12b 的转录, 阻断炎症信号通路。Suganami 等^[17]和 Kim 等^[21]的研究发现 ATF3 结合于下游靶基因的启动子 AP-1 结合位点, 抑制了 NF- κ B 与靶基因的结合, 从而抑制炎症因子 TNF α 的转录。ATF3 的与靶基因结合位点 CREB/ATF 和 AP-1 结合产生的效应与组蛋白去乙酰化有关, 组蛋白乙酰化或去乙酰化所致的染色体重塑对调节转录活性发挥重要作用^[22]。ATF3 是通过招募组蛋白去乙酰化酶 (histone deacetylase, HDAC) 结合于靶基因启动子上, 促进组蛋白去乙酰化从而使染色体结构浓缩, 干扰其他转录因子与靶基因 NF- κ B、IL-6、IL-12、TNF- α 、MCP-1 等的结合, 达到抑制 TLR4 炎症信号通路的作用^[15]。Zhao 等^[23]和 Granger 等^[24]的研究也证实了 HDAC 在心肌缺血再灌注炎症损伤中发挥保护作用。这说明了, ATF3 可以负性调控心肌缺血再灌注损伤 TLR4/NF- κ B 炎症信号通路。

4 小结

ATF/CERB 家族成员 ATF3 在靶基因转录过程中, 发挥反式作用因子的作用。ATF3 在稳态环境中呈低浓度表达, 受到压力信号如缺血再灌注损伤时, ATF3 通过 TLR4/NF- κ B 和 SAPK/JNK 信号通路呈早期应激性表达上调。大量研究显示在肾、脑、肝缺血灌注损伤, ATF3 同源二聚体与靶基因启动子区结合, 招募 HDAC, 使靶基因组蛋白乙酰化从而抑制靶基因转录, 抑制 TLR4/NF- κ B 信号通路的炎症因子、趋化因子等的产生, 从而发挥缺血再灌注保护作用。内源性调控因子 ATF3 在心肌缺血再灌注中的保护作用目前研究较少, 但 ATF3 抑制炎症反应的作用使其有望成为心肌 IR 损伤的新的基因治疗靶点。

参考文献

- [1] GO A S, MOZAFFARIAN D, ROGER V L, et al. Executive summary: heart disease and stroke statistics-2014 update: a report from the American Heart Association[J]. *Circulation*, 2014, 129: 399–410.
- [2] GILCHRIST M, THORSSON V, LI B, et al. Systems biology approaches identify ATF3 as a negative regulator of Toll-like receptor 4[J]. *Nature*, 2006, 441: 173–178.
- [3] HAI T W, LIU F, COUKOS W J, et al. Transcription factor ATF cDNA clones: an extensive family of leucine zipper proteins able to selectively form DNA-binding heterodimers [J]. *Genes Dev*, 1989, 3: 2083–2090.
- [4] CHEN B P, LIANG G, WHELAN J, et al. ATF3 and ATF3 delta Zip. Transcriptional repression versus activation by alternatively spliced isoforms[J]. *J Biol Chem*, 1994, 269: 15819–15826.
- [5] HAI T, CURRAN T. Cross-family dimerization of transcription factors Fos/Jun and ATF/CREB alters DNA binding specificity[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1991, 88: 3720–3724.
- [6] HAI T, WOLFORD C C, CHANG Y S. 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: 1–11.
- [7] YAMAMOTO S, YAMANE M, YOSHIDA O, et al. Activations of mitogen-activated protein kinases and regulation of their downstream molecules after rat lung transplantation from donors after cardiac death [J]. *Transplant Proc*, 2011, 43: 3628–3633.
- [8] WANG L, DENG S, LU Y, et al. Increased inflammation and brain injury after transient focal cerebral ischemia in activating transcription factor 3 knockout mice[J]. *Neuroscience*, 2012, 220: 100–108.
- [9] SONG D Y, OH K M, YU H N, et al. Role of activating transcription factor 3 in ischemic penumbra region following transient middle cerebral artery occlusion and reperfusion injury[J]. *Neurosci Res*, 2011, 70: 428–434.
- [10] ZHANG T, ZHAO L L, CAO X, et al. Bioinformatics analysis of time series gene expression in left ventricle (LV) with acute myocardial infarction (AMI) [J]. *Gene*, 2014, 543: 259–267.
- [11] KRIVORUCHKO A, STOREY K B. Activation of the unfolded protein response during anoxia exposure in the turtle *Trachemys scripta elegans*[J]. *Mol Cell Biochem*, 2013, 374: 91–103.
- [12] DA SILVA R, LUCCHINETTI E, PASCH T, et al. Ischemic but not pharmacological preconditioning elicits a gene expression profile similar to unprotected myocardium[J]. *Physiol Genomics*, 2004, 20: 117–130.
- [13] DELAROSA O, DALEMANS W, LOMBARDO E. Toll-like receptors as modulators of mesenchymal stem cells[J]. *Front Immunol*, 2012, 3:182.
- [14] GLUSHKOVA O V, KHRENOV M O, NOVOSELOVA T V, et al. The role of the NF- κ B, SAPK/JNK, and TLR4 signalling pathways in the responses of RAW 264.7 cells to extremely low-intensity micro-waves[J]. *Int J Radiat Biol*, 2015, 91:321–328.
- [15] WHITMORE M M, IPARRAGUIRRE A, KUBELKA L, et al. Negative Regulation of TLR-Signaling Pathways by Activating Transcription Factor-3[J]. *J Immunol*, 2007, 179: 3622–3630.
- [16] NGUYEN C T, KIM E H, LUONG T T, et al. TLR4 Mediates Pneumolysin-Induced ATF3 Expression through the JNK/p38 Pathway in -Infected RAW 264.7 Cells[J]. *Mol Cells*, 2015, 38:58–64.
- [17] SUGANAMI T, YUAN X, SHIMODA Y, et al. Activating Transcription Factor 3 Constitutes a Negative Feedback Mechanism That Attenuates Saturated Fatty Acid/Toll-Like Receptor 4 Signaling and Macrophage Activation in Obese Adipose Tissue [J]. *Circ Res*, 2009, 105: 25–32.
- [18] LI H F, CHENG C F, LIAO W J, et al. ATF3-mediated epigenetic regulation protects against acute kidney injury[J]. *J Am Soc Nephrol*, 2010, 21: 1003–1013.
- [19] RAO J, QIAN X, LI G, et al. ATF3-Mediated NRF2/HO-1 Signaling Regulates TLR4 Innate Immune Responses in Mouse Liver Ischemia/Reperfusion Injury[J]. *Am J Transplant*, 2015, 15:76–87.
- [20] BROOKS A C, 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] KIM H B, KONG M, KIM T M, et al. NFATc4 and ATF3 negatively regulate adiponectin gene expression in 3T3-L1 adipocytes[J]. *Diabetes*, 2006, 55: 1342–1352.
- [22] KOUZARIDES T. Acetylation: a regulatory modification to rival phosphorylation? [J]. *Embo J*, 2000, 19: 1176–1179.
- [23] ZHAO T C, CHENG G, ZHANG L X, et al. Inhibition of histone deacetylases triggers pharmacologic preconditioning effects against myocardial ischemic injury[J]. *Cardiovasc Res*, 2007, 76: 473–481.
- [24] GRANGER A, ABDULLAH I, HUEBNER F, et al. Histone deacetylase inhibition reduces myocardial ischemia-reperfusion injury in mice [J]. *FASEB J*, 2008, 22: 3549–3560.