

# Kruppel 样因子 15 在冠状动脉粥样硬化性心脏病中的作用

杜胜利 范一帆 钟久昌 王乐丰

**【摘要】** Kruppel 样因子(KLF)15 是 KLF 家族的一个亚型,能够调节细胞增殖、分化、发育和凋亡等生物学过程。在心血管系统,KLF15 具有调控糖脂代谢、改善血管壁重构、减轻心肌细胞炎症反应及缺血再灌注损伤等作用。该文主要介绍 KLF15 在冠状动脉粥样硬化性心脏病中的作用。

**【关键词】** 冠状动脉粥样硬化性心脏病;Kruppel 样因子 15;心肌缺血;血管重构

doi:10.3969/j.issn.1673-6583.2020.05.006

冠状动脉粥样硬化性心脏病(冠心病)的特征是动脉粥样硬化、血管狭窄或堵塞、心肌缺血缺氧、心肌重构,根本原因是糖脂代谢障碍、内皮细胞损伤及功能紊乱、炎症反应和心肌纤维化。Kruppel 样因子(KLF)15 参与调节心肌缺血、心肌细胞肥大及纤维化,在促进心血管系统发育、调节缺血适应、心脏重构等方面发挥重要作用。

## 1 KLF15 概述

KLF 是包含锌指结构的一类转录因子。在哺乳动物中,已经发现了 18 种 KLF,命名为 KLF1~KLF18<sup>[1]</sup>。KLF 在所有的细胞类型中均有表达,不同亚型的 KLF 具有相似的调节域,在不同细胞中发挥重要作用,包括促进心脏和血管发育,增强造血功能,抑制肿瘤发生,促进内皮型一氧化氮合酶(eNOS)的产生,抑制单核细胞活化,促进糖异生等。KLF 家族成员均含有 3 个高度保守的 Cys<sub>2</sub>His<sub>2</sub> 锌指结构,能够结合 CACCC 或 GC 盒等序列,在氨基末端均含有转录调控区,能与不同辅助因子结合,从而实现其功能的多样性和特异性。KLF15 作为 KLF 家族的亚型,是重要的转录调节因子,其氨基末端含有丝氨酸和脯氨酸,这使其不同于其他 KLF。KLF15 首先被鉴定为肾脏特异性氯通道 CLC-K1 的抑制剂,随后发现其在肝脏、心脏、脂肪和骨骼肌等多种组织中表达,参与细胞增殖和分化、细胞死亡、抗肿瘤细胞增殖等生物学过

程<sup>[2]</sup>。KLF15 主要定位于细胞核,但持续缺氧可使其从细胞核向细胞质转移。KLF15 的表达受多种物质的调控,激活的糖皮质激素受体、糖皮质激素信号、禁食等能够上调其表达,肥胖、白细胞介素-17 等抑制其表达。在心脏中,KLF15 更多表达于心肌细胞和成纤维细胞<sup>[3]</sup>。

## 2 KLF15 在冠心病中的作用

### 2.1 KLF15 与动脉粥样硬化

动脉粥样硬化是一种多因素疾病,涉及炎症细胞聚集、血管平滑肌细胞(VSMC)迁移和增殖、细胞外基质沉积等,其特征是血管内膜增厚,动脉壁变硬、弹性丧失,动脉管腔变窄,可能导致动脉血栓形成,是冠心病、急性冠脉综合征的重要病理基础。血管内皮细胞损伤和功能障碍是启动和促进动脉粥样硬化病理生理发展的重要因素。与 VSMC 相比,内皮细胞的 KLF15 表达水平相对较高<sup>[4]</sup>。研究发现,KLF15 在人类动脉粥样硬化组织中的表达显著降低,敲减 KLF15 能使血管壁易受炎症损伤的影响。KLF15 的过表达可激活 Nrf2 信号,抑制核因子  $\kappa$ B(NF- $\kappa$ B)信号,增加一氧化氮(NO)的释放及 eNOS 的表达,降低肿瘤坏死因子- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )、单核细胞趋化蛋白-1(MCP-1)、细胞间黏附分子-1(ICAM-1)的表达<sup>[5]</sup>,对血管内皮细胞功能有保护作用。VSMC 在维持血管内稳态方面发挥着重要作用,VSMC 增殖是血管炎性反应致动脉粥样硬化及介入术后再狭窄的病理基础。在生理条件下,KLF15 在 VSMC 中大量表达,但在机械损伤或促增殖/促炎性因子刺激下表达降低<sup>[6]</sup>。血管内膜损

伤促使 VSMC 增殖、迁移,促进细胞外基质沉淀及细胞因子/趋化因子释放<sup>[7]</sup>。动物研究发现,相对于野生型小鼠,KLF15<sup>-/-</sup>小鼠新生内膜过度生长,VSMC 增殖和迁移均明显增加<sup>[8]</sup>,表明 KLF15 可抑制上述过程。此外,KLF15 通过与组蛋白直接作用,改变 NF- $\kappa$ B 通路蛋白活性,参与调节 VSMC 炎症激活过程<sup>[9]</sup>。因此,KLF15 是血管对损伤应答的重要调节因子,在粥样硬化损伤的病理过程中具有重要作用。冠心病支架术后再狭窄的病理基础主要为血管内膜炎性反应及内皮细胞、平滑肌细胞增殖,KLF15 有望成为治疗支架内再狭窄的潜在靶点。

## 2.2 KLF15 与血管重构

KLF 被证明是血管系统发育和生物学功能的关键调节因子<sup>[10]</sup>。血管内皮细胞通过产生促进生长或抑制生长的物质调控血管重构,通过表达和释放趋化因子和黏附分子介导炎症反应,通过合成和释放 NO 等血管活性产物来调节 VSMC 的舒缩。BMP 结合内皮调节因子(BMPER)是血管发育重要的调控因子,是血管正常形成所必需的,而 KLF15 是直接促进 BMPER 表达的强有力激活因子。同样,精氨酸酶 II (Arg II)通过负调控 eNOS 来源的 NO,导致血管舒缩及内皮细胞功能紊乱。缺氧时,KLF15 和 eNOS 表达明显下降,而 Arg II 蛋白表达升高。KLF15 过表达能够拮抗 Arg II 的缩血管效应,增加内皮细胞 eNOS 的产生,从而减轻血管舒缩及内皮功能障碍<sup>[11]</sup>。肾素-血管紧张素-醛固酮系统(RAAS)及血管紧张素 II (Ang II)诱导的血管炎症反应和纤维化对冠状动脉粥样硬化、血管狭窄及重构等病理过程有重要的促进作用。平滑肌肌动蛋白  $\alpha$ 2(ACT $\alpha$ 2)调节细胞增殖、迁移和细胞外基质蛋白的合成,促进血管重构,而 KLF15 能够抑制 Ang II 诱导的 ACT $\alpha$ 2 表达增加、心肌成纤维细胞迁移和增殖,下调胶原蛋白基因的表达,抑制 Smad2/3 及 Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路的激活,从而减轻 Ang II 诱导的血管外膜炎性反应和纤维化,对 RAAS 激活相关的血管重构起到保护作用<sup>[12-13]</sup>。

## 2.3 KLF15 与缺血再灌注损伤

缺血再灌注损伤机制比较复杂,包括钙超载、氧自由基形成、氧化应激、线粒体功能障碍、细胞能量代谢障碍和细胞凋亡增加等。实验证明,缺血再灌注损伤可以导致 KLF15 表达水平下调,而应用螺内酯可以逆转其水平下降<sup>[14]</sup>。心肌成纤维细胞中

KLF15 表达的增强能促进血管内膜生成<sup>[15]</sup>,而血管闭塞后侧支形成的数量及侧支血管开发时间均可影响再灌注损伤程度,所以 KLF15 可影响闭塞血管侧支形成从而减轻缺血再灌注对心肌的损伤。内质网在细胞内主要参与蛋白的生物合成、折叠、加工、分泌及转运<sup>[16]</sup>。在营养缺乏、缺血缺氧等病理状态下,内质网的内环境稳态被打破,导致蛋白质的错误合成、聚集及折叠,被称为内质网应激。内质网应激通过多种机制参与心肌缺血再灌注损伤。内质网应激同样可诱导 KLF15 表达,以恢复内质网稳态。动物实验发现,与野生型小鼠相比,KLF15<sup>-/-</sup>小鼠内质网应激、炎症反应和 c-Jun 氨基末端激酶(JNK)活化增加,其机制可能是哺乳动物雷帕霉素靶蛋白复合体 1(mTORC1)的激活<sup>[17]</sup>。mTORC1 是细胞能量稳态的关键调节因子,能够活化内质网应激信号通路,促进胰岛素抵抗和脂质积累。Twist2 属于转录因子,能够抑制炎症反应和内质网应激,改善线粒体含量和氧化应激,KLF15 可以直接与 Twist2 启动子相互作用,增强 Twist2 的转录,抑制炎症反应和内质网应激,改善心肌细胞代谢及功能<sup>[18]</sup>。KLF15 同时也是微小 RNA(miRNA)-223-3p、miR-137-3p 的直接靶标,两者均可以通过靶向抑制 KLF15,降低 KLF15 的表达,增加心肌细胞凋亡和氧化应激,加重缺血再灌注损伤<sup>[19-20]</sup>。

## 2.4 KLF15 与缺血后心肌重构

心肌缺血及坏死可导致心室重构,引起心力衰竭,导致死亡。KLF15 可拮抗心脏重构相关基因的表达。研究发现,慢性心肌梗死导致心肌重构与 KLF15 蛋白水平降低有关,而白藜芦醇能够诱导 KLF15 的表达升高,改善心肌缺血及心肌重构<sup>[21]</sup>。结缔组织生长因子(CTGF)是介导心肌重构的重要因子。在新生大鼠心脏成纤维细胞中,KLF15 的过表达抑制了转化生长因子- $\beta$ 1(TGF- $\beta$ 1)诱导的 CTGF 的表达;相反,在 KLF15<sup>-/-</sup>小鼠的心脏中,CTGF 表达水平升高,心肌胶原沉积增加<sup>[22]</sup>,提示 KLF15 是 CTGF 表达和心肌纤维化的负性调节因子,通过调节 TGF- $\beta$ 1、CTGF 和心肌素相关转录因子 A(MRTF-A)的表达,改善甚至逆转心肌纤维化,延缓心肌重构。KLF15 尚可调节  $\beta$ -连环蛋白( $\beta$ -catenin)转录,而  $\beta$ -catenin 转录是心脏祖细胞分化的关键调控因子<sup>[23]</sup>,这可能会为增强坏死心肌的内源性修复提供治疗方法。

## 2.5 KLF15 与心律失常

昼夜节律和生物钟在心血管生理和病理学中发挥重要作用,如突发心肌梗死或卒中等心脑血管事件经常发生在清晨,经常昼夜倒班的员工患心血管和代谢性疾病的风险明显增加。KLF15 可调控心脏昼夜震荡节律<sup>[24]</sup>。恶性心律失常是冠心病、心肌梗死患者发生猝死的主要原因,心肌细胞复极的改变如延长、缩短和早期复极均可增加室性心动过速、心室颤动等恶性心律失常的易感性。Jeyaraj 等<sup>[25]</sup>研究发现,野生型小鼠在 KLF15 的调节下,心脏的离子通道表达和 QT 间期表现出昼夜变异性;而 KLF15 的过表达或缺失均可导致 QT 间期变化失节律,表现为 QT 间期的昼夜变化节律紊乱,心肌复极异常以及室性心律失常风险显著增加。进一步研究发现,KLF15 可在转录水平调控钾离子通道相互作用蛋白 2(KChIP2)的表达,KChIP2 是编码瞬时外向钾离子通道所需的关键亚基,在心室复极的昼夜变化中起核心作用。无论 KLF15 缺失还是过表达,KChIP2 的表达及心脏复极的昼夜变化都会受到影响,进而使心律失常的发生显著增加。

## 2.6 KLF15 与冠心病危险因素

脂代谢紊乱与慢性炎症反应密切相关。血脂升高尤其是低密度脂蛋白胆固醇水平升高是动脉粥样硬化及冠心病发病的重要启动因素。研究表明,KLF15 是脂肪形成晚期的调节因子<sup>[26]</sup>。肥胖小鼠的脂肪组织中 KLF15 表达明显下调。硬脂酰辅酶 A 去饱和酶 1(SCD1)在肥胖症的发生、发展中发挥重要作用。通过与 SCD1 启动子连接,KLF15 呈剂量依赖性地抑制 SCD1 的表达,从而降低脂质合成。乙酰辅酶 A 是各种代谢通路(脂肪酸代谢、胆固醇生物合成、三羧酸循环)的中间产物,由乙酰辅酶 A 合成酶 2(ACAS2)合成。研究发现,KLF15 能够诱导 ACAS2 基因的转录表达<sup>[27]</sup>,从而促进脂质分解,增强能量代谢。在心脏中,KLF15 对维持心脏脂质代谢的平衡至关重要,其通过与 p300 的相互作用,招募启动子关键激活因子,发挥调节心肌细胞脂肪代谢的功能<sup>[28]</sup>。此外,KLF15 是过氧化物酶体增殖物激活受体  $\alpha$ (PPAR $\alpha$ )参与心肌脂肪酸氧化时所必需的<sup>[29]</sup>。我国的一项人群研究发现,KLF15 表达水平与三酰甘油、低密度脂蛋白胆固醇、体质量指数呈显著负相关,而与高密度脂蛋白胆固醇呈正相关<sup>[30]</sup>。这些研究均提示 KLF15 在脂质代谢中的重要作用,其有可能成为干预冠心病脂

质水平的潜在治疗靶点。

高血糖是冠心病、动脉粥样硬化的另一危险因素。KLF15 过表达可选择性抑制高血糖诱导的细胞外调节激酶 1/2 (ERK1/2) 磷酸化和细胞增殖<sup>[31]</sup>,而 ERK1/2 信号转导通路激活是冠心病、血管炎性反应的重要机制。在禁食状态下,KLF15 通过上调分解支链氨基酸((BCAA)的关键酶来抑制脂肪生成并促进糖异生<sup>[32-33]</sup>,抑制固醇调节元件结合蛋白 1c(SREBP-1c)及其下游产脂基因的表达。然而,在餐后,KLF15 被认为能够激活下游产脂基因的表达<sup>[33]</sup>,表明 KLF15 通过双向调节维持糖脂代谢平衡,降低动脉粥样硬化风险。Nagare 等<sup>[34]</sup>等研究发现,与对照组相比,KLF15 转基因小鼠胰岛素分泌增加,糖耐量也相应增加。研究发现,KLF15 的过表达可以增加糖异生途径的关键酶磷酸烯醇式丙酮酸羧激酶(PEPCK)的表达,促进糖异生并导致血糖升高<sup>[35]</sup>。二甲双胍则是通过下调 KLF15 抑制糖异生及 PEPCK 的表达,抑制葡萄糖的生成。这些研究进一步揭示了 KLF15 在糖脂代谢中的双向调节功能,表达过高或过低均可导致代谢失衡,引发动脉粥样硬化。

## 3 小结

KLF15 作为一类转录因子,通过多种机制起到抑制心肌及血管重构、减轻缺血再灌注损伤、调节心脏节律及糖脂代谢等作用。随着研究的深入,KLF15 有望成为治疗冠心病的新干预靶点。然而,冠心病、心肌缺血的发生发展涉及到多种机制和病理基础,KLF15 在其中的确切作用机制尚不完全清楚。

## 参 考 文 献

- [1] Pei J, Grishin NV. A new family of predicted Kruppel-like factor genes and pseudogenes in placental mammals[J]. PLoS One, 2013, 8(11):e81109.
- [2] Yoda T, McNamara KM, Miki Y, et al. KLF15 in breast cancer: a novel tumor suppressor? [J]. Cell Oncol (Dordr), 2015, 38(3):227-235.
- [3] Prosdocimo DA, Sabeh MK, Jain MK. Kruppel-like factors in muscle health and disease[J]. Trends Cardiovasc Med, 2015, 25(4):278-287.
- [4] Pandey D, Nomura Y, Rossberg MC, et al. Hypoxia triggers SENP1 (sentrin-specific protease 1) modulation of KLF15 (Kruppel-like factor 15) and transcriptional regulation of Arg2 (Arginase 2) in pulmonary endothelium [J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2018, 38(4):913-926.
- [5] Bing L, Lili X, Xinming Y, et al. Protective effect of KLF15

- on vascular endothelial dysfunction induced by TNF- $\alpha$ [J]. Mol Med Rep, 2018, 18(2):1987-1994.
- [6] Alaiti MA, Orasanu G, Tugal D, et al. Kruppel-like factors and vascular inflammation: implications for atherosclerosis [J]. Curr Atheroscler Rep, 2012, 14(5):438-449.
- [7] Raines EW. PDGF and cardiovascular disease[J]. Cytokine Growth Factor Rev, 2004, 15(4):237-254.
- [8] Lu Y, Halder S, Croce K, et al. Kruppel-like factor 15 regulates smooth muscle response to vascular injury—brief report [J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2010, 30(8):1550-1552.
- [9] Lu Y, Zhang L, Liao X, et al. Kruppel-like factor 15 is critical for vascular inflammation[J]. J Clin Invest, 2013, 123(10):4232-4241.
- [10] Abe J, Berk BC. Novel mechanisms of endothelial mechanotransduction[J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2014, 34(11):2378-2386.
- [11] Jiang J, Xia Y, Liang Y, et al. miR-190a-5p participates in the regulation of hypoxia-induced pulmonary hypertension by targeting KLF15 and can serve as a biomarker of diagnosis and prognosis in chronic obstructive pulmonary disease complicated with pulmonary hypertension[J]. Int J Chron Obstruct Pulmon Dis, 2018, 13:3777-3790.
- [12] Gu X, Mallipattu SK, Guo Y, et al. The loss of Kruppel-like factor 15 in Foxd1(+) stromal cells exacerbates kidney fibrosis [J]. Kidney Int, 2017, 92(5):1178-1193.
- [13] Lu YY, Li XD, Zhou HD, et al. Transactivation domain of Kruppel-like factor 15 negatively regulates angiotensin II-induced adventitial inflammation and fibrosis[J]. FASEB J, 2019, 33(5):6254-6268.
- [14] Mihailidou A, Ashton A. Os 15-04 mineralocorticoid receptor antagonists target endogenous repressor of hypertrophy[J]. J Hypertens, 2016, 34:e215-e216.
- [15] 余杨, 邹书帆, 马杰, 等. kruppel 样因子 15 在压力超负荷所致心肌重构血管生成中的作用及机制[J]. 中华心血管病杂志, 2015, 43(2):162-166.
- [16] Gallo A, Vannier C, Galli T. Endoplasmic reticulum-plasma membrane associations: structures and functions[J]. Annu Rev Cell Dev Biol, 2016, 32(1):279-301.
- [17] Jung DY, Chalasani U, Pan N, et al. KLF15 is a molecular link between endoplasmic reticulum stress and insulin resistance[J]. PLoS ONE, 2013, 8(10):e77851.
- [18] Zhou L, Li Q, Chen A, et al. KLF15-activating Twist2 ameliorated hepatic steatosis by inhibiting inflammation and improving mitochondrial dysfunction via NF-kappaB-FGF21 or SREBP1c-FGF21 pathway[J]. FASEB J, 2019, 33(12):14254-14269.
- [19] Tang Q, Li MY, Su YF, et al. Absence of miR-223-3p ameliorates hypoxia-induced injury through repressing cardiomyocyte apoptosis and oxidative stress by targeting KLF15[J]. Eur J Pharmacol, 2018, 84(1):67-74.
- [20] Zhao T, Qiu Z, Gao Y. MiR-137-3p exacerbates the ischemia-reperfusion injured cardiomyocyte apoptosis by targeting KLF15 [J]. Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol, 2020, 393(6):1013-1024.
- [21] Rogers RG, Otis JS. Resveratrol-mediated expression of KLF15 in the ischemic myocardium is associated with an improved cardiac phenotype [J]. Cardiovasc Drugs Ther, 2017, 31(1):29-38.
- [22] Wang B, Halder SM, Lu Y, et al. The Kruppel-like factor KLF15 inhibits connective tissue growth factor (CTGF) expression in cardiac fibroblasts [J]. J Mol Cell Cardiol, 2008, 45(2):193-197.
- [23] Noack C, Zafiriou MP, Schaeffer HJ, et al. Krueppel-like factor 15 regulates Wnt/ $\beta$ -catenin transcription and controls cardiac progenitor cell fate in the postnatal heart[J]. EMBO Mol Med, 2012, 4(9):992-1007.
- [24] Zhang L, Prosdocimo DA, Bai X, et al. KLF15 establishes the landscape of diurnal expression in the heart[J]. Cell Rep, 2015, 13(11):2368-2375.
- [25] Jeyaraj D, Halder SM, Wan X, et al. Circadian rhythms govern cardiac repolarization and arrhythmogenesis [J]. Nature, 2012, 483(7387):96-99.
- [26] Fei Z, Bera TK, Liu X, et al. Ankrd26 gene disruption enhances adipogenesis of mouse embryonic fibroblasts[J]. J Biol Chem, 2011, 286(31):27761-27768.
- [27] Yamamoto J, Ikeda Y, Iguchi H, et al. A Kruppel-like factor KLF15 contributes fasting-induced transcriptional activation of mitochondrial acetyl-CoA synthetase gene AceCS2[J]. J Biol Chem, 2004, 279(17):16954-16962.
- [28] Prosdocimo DA, Anand P, Liao X, et al. Kruppel-like factor 15 is a critical regulator of cardiac lipid metabolism[J]. J Biol Chem, 2014, 289(9):5914-5924.
- [29] Prosdocimo DA, John JE, Zhang L, et al. KLF15 and PPAR $\alpha$  cooperate to regulate cardiomyocyte lipid gene expression and oxidation [J]. PPAR Res, 2015, 2015:201625.
- [30] Wang C, Ha X, Li W, et al. Correlation of A2bAR and KLF4/KLF15 with obesity-dyslipidemia induced inflammation in Uyghur population[J]. Mediators Inflamm, 2016, 2016(6):7015620.
- [31] Zhang J, Zhong HB, Lin Y, et al. KLF15 suppresses cell proliferation and extracellular matrix expression in mesangial cells under high glucose[J]. Int J Clin Exp Med, 2016, 8(11):20330-20336.
- [32] Fan L, Hsieh PN, Sweet DR, et al. Krüppel-like factor 15: regulator of BCAA metabolism and circadian protein rhythmicity[J]. Pharmacol Res, 2018, 130(4):123-126.
- [33] Takeuchi Y, Yahagi N, Aita Y, et al. KLF15 enables rapid switching between lipogenesis and gluconeogenesis during fasting[J]. Cell Rep, 2016, 16(9):2373-2386.

- [34] Nagare T, Sakaue H, Matsumoto M, et al. Overexpression of KLF15 transcription factor in adipocytes of mice results in down-regulation of SCD1 protein expression in adipocytes and consequent enhancement of glucose-induced insulin secretion[J]. J Biol Chem, 2011, 286(43):37458-37469.
- [35] Teshigawara K, Ogawa W, Mori T, et al. Role of Kruppel-

like factor 15 in PEPCK gene expression in the liver[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2005, 327(3):920-926.

(收稿:2020-02-13 修回:2020-06-06)

(本文编辑:胡晓静)

**NO NSOMKING**

THE LIFE WILL BE MORE BEAUTIFUL

**不吸烟，生活更美好**

