

转录因子激活蛋白-1 在血管重构发生中的作用

姚华丽综述 戴秋艳审校

【摘要】 激活蛋白-1(AP-1)是目前研究心血管疾病发生和发展的分子机制中倍受关注的转录因子之一。AP-1 在调节细胞增殖和血管炎症反应中发挥着重要作用。目前研究最多的与转录因子 AP-1 激活相关的炎症因子主要为血管紧张素 II、表皮细胞生长因子、内皮素-1。在不同的细胞中,AP-1 的过度激活能够诱导多种炎症因子的释放,介导局部乃至全身血管炎症反应,诱导血管内皮细胞、血管平滑肌细胞及炎症细胞的增殖和迁移,引发病理性血管重构,导致高血压、冠心病等心血管疾病的发生及发展。该文根据目前研究现状,对转录因子 AP-1 在血管重构发生中的作用作一回顾。

【关键词】 激活蛋白-1;炎症因子;血管重构

DOI:10.3969/j.issn.1673-6583.2010.04.004

血管重构过程包括一切由血管内外因素(如炎症、介入治疗等)造成血管损伤后,引起血管数量减少,腔径扩大,管壁组成细胞的缺失和血管外基质降解一系列适应性改变,以及引起血管内膜增生、血栓形成、血管内皮细胞与血管平滑肌细胞(VSMC)增殖和迁移、基质合成增多、炎细胞浸润一系列修复性改变,参与心血管疾病的病理形成过程。血管内皮细胞结构和功能的完整性改变及 VSMC 的增殖和迁移是参与血管重构的重要环节,而炎症反应是引起上述变化的重要机制之一^[1]。越来越多证据表明,转录因子激活蛋白-1(AP-1)参与调节炎症因子在血管重构中的作用,在细胞增殖和炎症反应中发挥重要作用^[2]。

1 AP-1 的结构

AP-1 是具有亮氨酸拉链结构 bZIP 蛋白构成的同源或异源二聚体。这类 bZIP 蛋白家族包括 Jun(包括 c-Jun, JunB 和 JunD)、Fos(包括 c-Fos、FosB、Fra1 和 Fra2)、聚化伴侣(包括 JDP1、JDP2)和亲缘关系相近的激活转录因子(包括 ATF2、LRF1/ATF3、B-ATF)、Maf(包括 v-Maf、c-Maf、Nfl、MafB、MafF、MafG、MafK)。AP-1 主要由 c-Jun 和 c-Fos 形成,c-Fos 单独不能形成稳定的二聚体而激活 AP-1,需与 c-Jun 结合形成异源二聚体,此二聚体与 c-Jun 单独形成的同源二聚体相比结构

更加稳定,并结合到 AP-1 DNA 识别位点 5'-TGAG(C)TCA-3',即 TPA 应答元件(TRE),诱导 AP-1 基因表达和蛋白合成^[3]。作为 AP-1 核心成分的 c-Jun 蛋白,由 331 个氨基酸组成,其 N 端为转录激活结构域,C 端为 DNA 结合结构域。目前研究发现,c-Jun 分子内共有 8 个磷酸化位点:其中 S63/S73/T91/T93 磷酸化后能够增强转录激活能力,而 T231/S243/S249 磷酸化抑制 DNA 结合能力^[4]。

2 AP-1 的激活调节

2.1 转录调控

胞外信号分子,如生长因子、细胞因子、T 细胞激活物、神经递质等,可以调控 AP-1 蛋白的表达量及转录活性。一些相关实验提示,表皮细胞生长因子(EGF)、细胞因子使细胞内 c-Jun 氨基末端激酶(JNK)或细胞外刺激反应激酶(ERK)激活,经丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)信号传导途径,结合到 c-fos 基因的顺式作用元件如 SRE,启动 c-fos 基因的转录和 c-Fos 蛋白的表达增加。此外,作为细胞内第二信使物质如 cAMP 和钙离子,可分别激活蛋白激酶 A 和钙调结合蛋白激酶,经一系列级联放大反应,激活核内蛋白并使其与核内顺式作用元件如 CRE 结合,启动 c-fos 基因的转录和表达。相比 c-fos 基因,c-jun 基因转录调节较简单,相关炎性因子则需激活 JNK,经 MAPK 激酶途径,增强与 c-jun 基因的 TRE 结合活性,生成 c-Jun 蛋白的量增多,从而诱导 AP-1 合成增加。

2.2 翻译后调控

细胞内无论已有或是刚合成的 AP-1,其活性均

基金项目:上海市科委重点课题(09JC1412300)

作者单位:200080 上海交通大学附属第一人民医院心内科

通讯作者:戴秋艳,E-mail,daiqiuyan@medmail.com.cn

受蛋白磷酸化的修饰调节。c-Jun 的磷酸化修饰是快速调节 AP-1 功能的重要途径^[5]。转录因子 AP-1 在磷酸化水平的调控效应主要有两类:第一类是调控 AP-1 的 DNA 结合能力,可被磷酸化正调控或负调控(如 c-Jun);第二类是调控转录激活能力,磷酸化可以影响转录因子转录激活区的结合,包括刺激转录激活(如 c-Jun)和刺激转录抑制(如 c-Fos)。c-Jun 二聚体激活 JNK,使 S63 和 S73 位点磷酸化,增强转录活性的同时,不影响 DNA 结合活性。而近期有研究发现,经 JNK 和 p38MAPK 激活使 S73 位点磷酸化,不仅调节 c-Jun 转录活性,且影响 DNA 结合活性^[6]。针对此不同的结论还需要进一步的分子生物学实验加以解释和验证。

2.3 翻译调控

一直以来,很多研究集中在对 AP-1 转录和翻译后水平调控,却忽视了翻译水平对 AP-1 调控的重要性。2008 年, Spruill 研究^[7]报道了 c-Jun 分子在翻译水平的调控方式。实验发现,在经历短期压力负荷作用下的小鼠心肌细胞中, mRNA 在核糖体内进行选择性的翻译,并提出 c-Jun 翻译调控并不依赖于 5' 端帽子结构(CAP)调节机制。近期, Vesely 等^[8]在对 AP-1 组成的蛋白成分的翻译调控机制进行更深入的研究中发现:翻译调控主要发生在成熟 mRNA 翻译起始阶段,认为 AP-1 基因转录生成的前体 mRNA 与蛋白质形成 mRNP 过程中是翻译调控最关键之处。其中, c-jun mRNA 在翻译过程中受两条途径调节:依赖 5' 端 CAP 和不依赖 5' 端 CAP,后者经内部核糖体进入位点,即非翻译区(UTR)翻译调控的顺式作用元件进行调控。而不稳定的 c-fos mRNA 可被核内的微小 RNA 降解,阻止其进入细胞浆合成 c-Fos 分子。

3 AP-1 与炎症反应的关系

3.1 肾素-血管紧张素系统

血管紧张素 II (Ang II) 有致炎症作用,可以激活炎症反应,促进内皮细胞、VSMC 和炎症细胞增殖、迁移和细胞外基质增生,并引起这些细胞释放黏附分子(如细胞间黏附分子、血管细胞黏附分子)、趋化因子[如单核细胞趋化蛋白(MCP-1)]和细胞因子[如白细胞介素(IL)-1、-6]等炎症因子^[1,9]。在大鼠主动脉 SMC 中, Ang II 通过其 1 型(AT1)受体,经 MAPK 信号传导途径,不仅激活细胞外信号调节激酶(ERK1 和 ERK2),使得 p62 分子水平上调,后者是一种具有三重复杂结构的 SRE

结合蛋白,与 c-fos 基因顺式作用元件 SRE 结合引起 c-fos mRNA 过量表达,还能上调 p21 激活激酶的活性,促使其下游 JNK 活性增强,诱导 SMC 中 c-jun mRNA 表达增多,刺激 VSMC 增殖和单核细胞浸润及炎症因子的释放^[10]。近期国内一项对 Ang II 调节 AP-1 结合活性的分子机制研究中发现, Ang II 刺激 VSMC 后其细胞核内的 c-Jun 含量明显升高,并可诱导 c-jun 磷酸化^[11]。实验还证实, c-jun 的磷酸化水平与 AP-1 结合血管紧张素原基因顺式元件的活性和对血管紧张素原基因的转录激活作用呈正相关关系,结果表明, AP-1 的磷酸化激活是 Ang II 正反馈调节其前体基因表达的重要机制之一。

3.2 生长因子

血管内皮生长因子(VEGF)被认为是一种促进内皮细胞增殖和迁移、血管新生、增加血管通透性及促使单核/巨嗜细胞浸润至受损的血管壁而加重动脉粥样硬化的强大刺激物^[12]。VEGF 能够激活 ERK,通过上调 p62 分子水平,诱导 c-fos mRNA 表达增加。目前研究显示,在内皮细胞内, VEGF 能够增强转录因子 AP-1 与单核细胞趋化蛋白-1(MCP-1)基因启动区结合活性,诱导其产生 MCP-1 增多。MCP-1 是最关键的趋化因子之一,能够诱导单核/巨嗜细胞浸润至受损的血管壁,刺激 VSMC 增殖和迁移,促使血管局部炎症反应,引发血管重构^[13]。在细胞周期 G0 期,当 VSMC 受到生长因子[如 VEGF、血小板衍生生长因子(PDGF)]刺激时, c-fos 基因快速表达,参与 VSMC 增殖的调控,刺激迟反应基因表达。研究证实,生长因子及人血清作用于人类 VSMC 表面的胰岛素样生长因子-1 型受体后,³H-胸腺嘧啶核苷酸的摄取与 c-fos 表达呈正相关,其中血清中凝血酶 a(a-thrombin)的作用最大^[14]。

3.3 内皮素-1

多项研究表明,内皮素-1(ET-1)在脉管系统中是一种重要的炎症介质。近期,研究证实,在尚未接受治疗的高血压病人中, ET-1 表达量增加,可作为一种血浆内外周单核细胞相关的炎症标志物^[15]。Amiri 等^[16]在含有人 ET-1 前体基因的转基因小鼠体内,肠系膜动脉表现出一系列内皮细胞功能紊乱、血管氧化应激及血管重构性改变。他们在近期一项研究中发现,肠系膜动脉管壁内出现 VCAM-1 和 MCP-1 高表达、巨嗜细胞浸润和 AP-1 和核因子

(NF)- κ B 转录活性增强^[17],表明 ET-1 不仅是一种缩血管物质,而且作为高血压发病过程中重要的中间产物。然而,ET-1 发挥作用的分子机制目前尚不清楚。

4 AP-1 在血管重构中的作用

4.1 动脉粥样硬化和高血压

动脉粥样硬化和高血压被认为与慢性炎症相关。血管重构是动脉粥样硬化和高血压的重要发病原因及主要病理改变。在自发性高血压大鼠身上进行的实验发现,主动脉 SMC 和内皮细胞中的 ERK 和 JNK 活性与高血压发生及发展密切相关。另外,在同样动物身上进行的研究中,Touyz 等^[18]发现 Ang II 通过增加肠系膜 VSMC 中 c-fos mRNA 表达,介导 VSMC 在高血压中的增殖及迁移作用。

4.2 冠脉成形术后(PTCA)再狭窄

PTCA 后再狭窄的发病因素是多方面的,包括:血小板、生长因子、内皮细胞、SMC 等,其主要的病理变化是在各种因素作用下,血管中膜 VSMC 向内膜移行、增殖,并产生大量基质引起血管重构,最终导致内膜明显增厚,血管腔缩小甚至完全闭塞^[19]。因此,内皮细胞结构和功能的完整性在支架术后狭窄的形成过程中同样也发挥着重要作用。内皮细胞损伤的面积和修复程度及速度与再狭窄密切相关^[20]。当内皮细胞受损后,其分泌的促生长因子(如 ET-1 等)和抑生长因子(如一氧化氮等)平衡被打破,导致白细胞、血小板黏附、血栓形成和 VSMC 增殖及迁移,最终引起内膜增厚^[21]。研究提示,AP-1 激活后可使血管内皮合成 ET-1 增加,刺激内膜增殖,引起支架术后狭窄。实验中用 AP-1 抑制剂寡聚脱氧核苷酸(dODN)抑制 AP-1 的转录活性,通过阻止血管 ET-1 合成,可预防 PTCA 术后狭窄^[22]。AP-1 的抑制剂在为探究和治疗动脉粥样硬化、冠状动脉成形术后狭窄的问题上提供新的思路和方法。

4.3 代谢综合征

代谢综合征是一种以多种心血管危险因素集聚为特征的临床综合征,它包括高血压、肥胖、脂质代谢异常和胰岛素抵抗,其中胰岛素抵抗是代谢综合征最重要的病理生理改变。代谢综合征机制并不完全清楚,但是胰岛素抵抗刺激葡萄糖摄入,通过改变一些生化反应诱发代谢危险因素发生,其中起重要作用的是致炎细胞因子,如肿瘤坏死因子 α 、IL-6^[23]。过氧化物酶增殖激活受体(PPAR)与人

体营养素感知和调节碳水化合物、脂类代谢有关。其中, α -PPAR 激活可增加高密度脂蛋白合成刺激胆固醇反向转运降低三酰甘油,同时还具有抗炎和抗细胞增殖作用。已知,动脉粥样硬化的发生和发展是糖尿病最常见和最主要的并发症。实验研究也表明,炎症反应参与糖尿病和动脉粥样硬化的病理形成过程。血管内皮细胞在高糖环境下,促使活性氧(ROS)活化,激活转录因子 AP-1 和 NF- κ B 表达,下调内皮细胞 α -PPAR 表达量,使 MCP-1 的生成增加^[24]。结果提示抗炎药阿司匹林和 α -PPAR 激动剂可抑制 AP-1 和 NF- κ B 活性,减少高糖状态下 ROS 的活化,使得 MCP-1 分泌和合成减少,预防糖尿病并发动脉粥样硬化。

虽然激活 AP-1 的具体信号通路尚未阐明,但作为信号通路下游最早被认识的转录因子 AP-1,在介导炎症反应和血管重构方面,还不很明确,需要更深入地阐明在不同靶细胞内,AP-1 与其下游调节的炎症因子的关系及在血管重构中的细胞和分子机制,为今后的科研和临床工作提供新的治疗靶点。

参 考 文 献

- [1] Touyz RM. Intracellular mechanisms involved in vascular remodelling of resistance arteries in hypertension: role of angiotensin II [J]. *Exp Physiol*, 2005, 90(4): 449-455.
- [2] Shaulian E. AP-1—The Jun proteins: Oncogenes or tumor suppressors in disguise? [J]. *Cell Signal*, 2010, 22(6): 894-899.
- [3] Hess J, Angel P, Schorpp-Kistner M. AP-1 subunits: quarrel and harmony among siblings [J]. *J Cell Sci*, 2004, 117(25): 5965-5973.
- [4] Raivich G. c-Jun expression, activation and function in neural cell death, inflammation and repair [J]. *J Neurochem*, 2008, 107(4): 898-906.
- [5] Karin M, Gallagher E. From JNK to pay dirt: jun kinases, their biochemistry, physiology and clinical importance [J]. *IUBMB Life*, 2005, 57(4-5): 283-295.
- [6] Humar M, Loop T, Schmidt R, et al. The mitogen-activated protein kinase p38 regulates activator protein 1 by direct phosphorylation of c-Jun [J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2007, 39(12): 2278-2288.
- [7] Spruill LS, Baicu CF, Zile MR, et al. Selective translation of mRNAs in the left ventricular myocardium of the mouse in response to acute pressure overload [J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2008, 44(1): 69-75.
- [8] Vesely PW, Staber PB, Hoefler G, et al. Translational regulation mechanisms of AP-1 proteins [J]. *Mutat Res*, 2009, 682(1): 7-12.
- [9] Jiang B, Xu S, Hou X, et al. Angiotensin II differentially

regulates interleukin-1 beta inducible NO synthase (iNOS) and vascular cell adhesion molecule-1 (VCAM-1) expression; role of p38 MAPK [J]. *J Biol Chem*, 2004, 279(19): 20363-20368.

[10] Schmitz U, Th? mmes K, Beier I, et al. Angiotensin II-induced stimulation of p21-activated kinase and c-Jun NH2-terminal kinase is mediated by Rac1 and Nck [J]. *J Biol Chem*, 2001, 276(25): 22003-22010.

[11] 李爱英、温进坤、韩梅. AP-1 在 AngII 正反馈调节其前体基因表达中的作用[J]. *生物化学与生物物理进展*, 2006, 33(8): 775-780.

[12] Yamada M, Kim S, Egashira K, et al. molecular mechanism and role of endothelial monocyte chemoattractant protein-1 induction by vascular endothelial growth factor[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2003, 23(11): 1996-2001.

[13] Melgarejo E, Medina MA, Schez-Jimenez F, et al. Monocyte chemoattractant protein-1; a key mediator in inflammatory processes[J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2009, 41(5): 998-1001.

[14] Azar ZM, Mehdi MZ, Srivastava AK. Insulin-like growth factor type-1 receptor transactivation in vasoactive peptide and oxidant-induced signaling pathways in vascular smooth muscle cells[J]. *Can J Physiol Pharmacol*, 2007, 85(1): 105-111.

[15] Parissis JT, Korovesis S, Giatzoglou E, et al. Plasma profiles of peripheral monocyte-related inflammatory markers in patients with arterial hypertension[J]. *Int J Cardiol*, 2002, 83(1): 13-21.

[16] Amiri F, Virdis A, Neves MF, et al. Endothelium-restricted overexpression of human endothelin-1 causes vascular remodeling and endothelial dysfunction[J]. *Circulation*, 2004, 110(15): 2233-2240.

[17] Amiri F, Paradis P, Reudelhuber TL, et al. Vascular inflammation in absence of blood pressure elevation in transgenic murine model overexpressing endothelin-1 in endothelial cells[J]. *J Hypertens*, 2008, 26(6): 1102-1109.

[18] Touyz RM, Deschepper C, Park JB,. Inhibition of mitogen-activated protein/extracellular signal-regulated kinase improves endothelial function and attenuates Ang II-induced contractility of mesenteric resistance arteries from spontaneously hypertensive rats[J]. *J Hypertens*, 2002, 20(6): 1127-1134.

[19] Weintraub WS. The pathophysiology and burden of restenosis [J]. *Am J Cardiol*, 2007, 100(5A): 3K-9K.

[20] Zargham R. Preventing restenosis after angioplasty, a multi-stage approach[J]. *Clin Sci(Lond)*, 2008, 114(4): 257-264.

[21] Kipshidze N, Dangas G, Tsapenko M, et al. Role of the endothelium in modulating neointimal formation; vasculoprotective approaches to attenuate restenosis after percutaneous coronary interventions[J]. *J Am Coll Cardiol*, 2004, 44(4): 733-739.

[22] Buchwald AB, Wagner AH, Webel C, et al. Decoy oligodeoxynucleotide against activator protein-1 reduces neointimal proliferation after coronary angioplasty in hypercholesterolemic minipigs [J]. *J Am Coll Cardiol*, 2002, 39(4): 732-738.

[23] Shoelson SE, Lee J, Goldfine AB. Inflammation and insulin resistance[J]. *J Clin Invest*, 2006, 116(7): 1793-801.

[24] Dragomir E, Tircol M, Manduteanu I, et al. Aspirin and PPAR-alpha activators inhibit monocyte chemoattractant protein-1 expression induced by high glucose concentration in human endothelial cells[J]. *Vascul Pharmacol*, 2006, 44(6): 440-449.

(收稿:2010-04-19 修回:2010-05-10)

(本文编辑:金谷英)

第三届首都急诊医学高峰论坛通知

为了推动我国急诊与危重症医学的全面发展,提升我国院前急救管理和服务水准,探索符合我国院前急救管理和运行的机制,第三届首都急诊医学高峰论坛(CFECCM)将于 2010 年 8 月 27~30 日在北京国际会议中心隆重召开。

本次论坛由首都医科大学急诊医学系所属的 14 家医疗机构联合主办。届时,国内外急诊领域最权威的专家将把高质量学术内容通过创新的组织形式呈现给参会者,是一次促进我国急诊医学领域规范化、标准化、制度化、科学化的学术会议!

论坛设有心血管急诊、急危重症的救治进展等 12 个分论坛,欢迎与会代表按照主题提交论文,征文内容及要求请登录论坛网站:www.cfeccm.org

1. 报到时间:2010 年 8 月 27 日;2. 会议时间:2010 年 8 月 28 日—8 月 29 日;3. 学分授予:国家继续教育学分(2010-10-00-012) I 类 6 分;4. 会议注册费:800 元

组委会电话:010-8355 3348;传真:010-8355 4458;邮箱:cfeccm@163.com