

转化生长因子 β /Smad3 信号通路与动脉粥样硬化

王文东 综述, 齐若梅 审校

(卫生部北京医院老年医学研究所, 北京市 100730)

[关键词] 转化生长因子 β ; Smad3; 血管平滑肌细胞; 炎症; 动脉粥样硬化

[摘要] 转化生长因子 β 是一组在结构上相似的转化生长因子, 对于维持血管壁的正常结构以及在动脉粥样硬化的发生发展中有着重要的作用。转化生长因子 β 主要是通过 Smad 信号通路传递信号。在此信号通路中, Smad3 蛋白与其他 Smad 蛋白相比, 主要是在胚胎后期发挥着重要的调控作用。近年来利用基因敲除及 siRNA 干扰等方法, 进一步解明了 Smad3 生理作用, 发现 Smad3 与转化生长因子 β 介导的细胞增殖与凋亡、免疫监督与心血管发育等有紧密的联系。最近的研究显示, 转化生长因子 β 通过 Smad3 介导参与动脉粥样硬化病理过程, 因而有可能成为疾病治疗的靶点。

[中图分类号] R363

[文献标识码] A

Transforming Growth Factor β /Smad3 Signaling Pathway in Atherosclerosis

WANG Wen Dong, and QI Ruo Mei

(Beijing Institute of Geriatrics, Beijing Hospital, Ministry of Health, Beijing 100730, China)

[KEY WORDS] Transforming Growth Factor β ; Smad3; Vascular Smooth Muscle Cells; Inflammation; Atherosclerosis

[ABSTRACT] The transforming growth factor β (TGF β) is superfamily of growth factors, which has similar structure and plays a pivotal role in holding the structure of the vascular wall and the development of atherosclerosis. The TGF β mediates Smad signaling to regulate cell function. In Smad family, Smad3 plays an important role in embryo later stage. Recently, the application of gene knockout and siRNA interference, Smad3's physiological role is further clarified. It has been found to participate in TGF β -mediated cell proliferation, apoptosis, immunity supervision and cardiovascular development. The studies suggested that the TGF β /Smad3 signaling is a critical pathway in the process of atherosclerosis, and that might be a potential therapeutic target.

转化生长因子 β (transforming growth factor β , TGF β) 是一组在结构上相似的转化生长因子, 具有多种调节细胞功能的作用, 如调节细胞增殖与分化、细胞凋亡、细胞迁移和细胞间粘连。另外, 它们在胚胎发育、免疫监督以及干细胞自我更新和分化中也起着重要的作用^[1-3]。TGF β 对于维持血管壁的正常结构起重要的作用, 并对动脉粥样硬化有一定的保护作用^[4]。在内皮细胞中, TGF β 通过抑制粘附因子 E 选择素的表达, 抑制内皮细胞活化, 减少对淋巴细胞的募集^[5]。TGF β 能够抑制血管平滑肌细胞增生, 并抑制基质金属蛋白酶, 促进胶原形成, 使胞外基质增生^[4]。TGF β 能够抑制巨噬细胞对脂肪颗粒的摄取, 从而减少泡沫细胞的形成^[6]。

TGF β 能够通过抗炎以及促纤维化, 促使斑块稳定^[7,8]。尽管 TGF β 对动脉粥样硬化的作用机制已经有大量研究, 但是其下游分子机制尚不完全清楚。本综述主要是阐述 TGF β 的下游重要分子 Smad3 在动脉粥样硬化中的作用以及调节机制。

1 转化生长因子 β /Smad3 信号通路

在哺乳动物中, TGF β 超家族有 3 种同分异构体: TGF β_1 、TGF β_2 、TGF β_3 , 它们结合相同的受体并发挥着相似的功能和作用, 其中, 对 TGF β_1 的研究较多^[9]。TGF β 家族主要通过 Smad 家族蛋白传递信号。根据功能的不同将 Smad 蛋白分为 3 种:

[收稿日期] 2011 05 25

[作者简介] 王文东, 硕士研究生, 研究方向为动脉粥样硬化的基础研究, E-mail 为 wwd.com2@163.com。通讯作者齐若梅, 硕士研究生导师, 研究方向为动脉粥样硬化与炎症的分子机制、血栓学研究, E-mail 为 ruomeiqi@yahoo.com.cn。

(1) 受体调节的 Smad 蛋白 (receptor regulated Smad, R Smad), 包括 Smad1、Smad2、Smad3、Smad5 和 Smad8; (2) 公共 Smad 蛋白 (co mediator Smad, Co-Smad), 包括 Smad4; (3) 抑制型 Smad 蛋白 (inhibitory Smad, I Smad), 包括 Smad6 和 Smad7^[1]。

转化生长因子 β 通过与细胞表面 TGF- β 受体结合, 参与调节细胞功能。TGF- β 与细胞表面 TGF- β 受体结合并使受体丝氨酸/苏氨酸激酶磷酸化。磷酸化的受体募集下游分子 R Smads (即 Smad2、Smad3) 并使其磷酸化, 在这一过程中需要辅助蛋白 SARA (Smad anchor for receptor activation) 参与, 使 R Smad 易于与磷酸化的受体结合。当 R Smad 蛋白 C 端的 SSXS 基序被磷酸化, 便从受体复合物上解离下来, 与 Co Smad (即 Smad4) 形成异二聚体复合物, 转移至核内, 与转录因子一起调控靶基因的转录^[1]。I Smad 主要通过与 R Smad 竞争结合活化的受体, 并使其泛素化, 降解活化的受体, 或者通过其他途径使受体去磷酸化, 从而抑制该信号通路活化^[1,10]。

在 TGF- β 信号通路中, Smad2 和 Smad3 都是不可或缺的, 但 Smad2 和 Smad3 在功能上存在着显著的不同。利用基因同源重组技术敲除 Smad2 或者 Smad3 的小鼠有着明显的不同。Smad2 基因敲除小鼠可导致小鼠胚胎的早期死亡^[11,12], 而 Smad3 基因敲除小鼠尽管可生存, 但出现免疫功能受损, 易发肿瘤^[13]。有研究证实 TGF- β 介导的中性粒细胞、巨噬细胞、角化细胞以及纤维原细胞的趋化性均需要 Smad3 参与^[14,15]。值得注意的是, 这些细胞在 Smad3 缺失后, 出现只对 TGF- β 刺激的迁移反应丧失或者减弱^[16,17]。

2 转化生长因子 β /Smad3 信号通路对动脉粥样硬化的影响

在动脉粥样硬化早期, 脂质在内皮细胞下沉积, 单核细胞浸润, 与血管内皮细胞粘附, 经受损的内皮细胞间隙进入内膜下, 衍变为巨噬细胞。巨噬细胞通过吞噬脂质转变为泡沫细胞。脂质沉积后刺激血管中层的血管平滑肌细胞迁移至内膜并增殖, 导致血管平滑肌增厚。在此过程中成纤维细胞也出现增殖和迁移, 分泌基质, 与血管平滑肌细胞一起形成了纤维斑块。随着泡沫细胞坏死崩解, 溶酶体释放各种溶酶, 促进其他细胞坏死崩解, 逐渐衍变成粥样斑块。

利用 Smad3 基因敲除小鼠模型研究发现,

Smad3 基因敲除小鼠动脉粥样硬化明显加重, 斑块局部血管平滑肌细胞明显增生, 基质显著减少^[18]。免疫组化结果显示单核细胞趋化蛋白 1 (monocyte chemotactic protein 1, MCP 1) 明显增多^[14]。体外实验对 Smad 家族成员的研究发现, TGF- β 只通过 Smad3 蛋白抑制脂多糖 (lipopolysaccharide, LPS) 引起的巨噬细胞活化并表达诱导型一氧化氮合酶 (inducible nitric oxide synthase, iNOS) 以及基质金属蛋白酶 12 (matrix metalloproteinases 12, MMP-12)^[19]。此外, TGF- β 通过 Smad3 也抑制血管平滑肌细胞的活化, 减少血管平滑肌细胞 iNOS 和白介素 6 的表达, 从而减轻斑块的进展^[20]。

3 转化生长因子 β /Smad3 信号通路对血管平滑肌细胞的影响

早期的一些研究显示 TGF- β 通过促纤维化等作用, 从而促进内膜增生。但也有研究显示了不同的结果, 认为 TGF- β 同样可通过抑制细胞增生和迁移, 抑制内膜增生。为此, TGF- β 通路促进内膜增生的机制尚有待于进一步研究。

由于 Smad3 在 TGF- β 通路中具有重要的生物学作用, 引起心血管生物学家们的极大兴趣。Bo Liu 小组通过颈总动脉球囊损伤法致内膜损伤后, 发现内源性 Smad3 在颈动脉损伤后上调; 体外实验 Smad3 高表达条件下, TGF- β 刺激血管平滑肌细胞增生。该小组认为, 在生理状态下 Smad3 表达水平较低, TGF- β 抑制血管平滑肌细胞增生。而病理状态下炎症或者损伤后, Smad3 水平上调, TGF- β 则促进血管平滑肌细胞增生。因此认为, Smad3 可能对血管平滑肌细胞具有双向调节作用^[21]。利用腺病毒转染技术增加 Smad3 表达水平, 则观察到细胞增殖水平上升; 而利用 siSmad3 下调过表达的 Smad3 水平, 细胞增殖水平下降^[22]。

近来研究发现 Smad3 还影响血管平滑肌细胞的分化。Smad3 水平上调, 血管平滑肌细胞分化水平比较高, 多为成熟型的。Smad3 水平下调则结果相反。体外研究发现在蛋白激酶 C ζ protein kinase C ζ PKC ζ 缺失的细胞中, Smad3 的 mRNA 和蛋白水平明显下调。在 PKC ζ 敲除小鼠中, TGF- β 促血管平滑肌细胞纤连蛋白的合成作用减少, 分化减弱^[23]。此外, 研究发过表达的 Smad3 可促进血管平滑肌细胞向内膜迁移^[21]。由此可见, Smad3 对血管平滑细胞的增生、分化和迁移都有着重要的作用。

4 转化生长因子 β /Smad3 信号通路对胞外基质的影响

转化生长因子 β /Smad3 信号通路活化,可显著促进原胶原蛋白、纤连蛋白增生,抑制基质金属蛋白酶的表达和活性,在血管内膜修复损伤中发挥了一定的作用。对腺病毒转染缺失 Smad3 小鼠和过表达 Smad3 小鼠模型研究,发现过表达 Smad3 小鼠胞外基质明显增加,这是由于 Smad3 参与炎症细胞抑制基质金属蛋白酶 12 和基质金属蛋白酶 9 的表达。在缺失 Smad3 的小鼠中,抑制炎症细胞介导的基质金属蛋白酶的能力减弱,细胞外基质增生减少^[24]。

5 转化生长因子 β /Smad3 信号通路对炎症细胞的影响

转化生长因子 β 被证实具有抗炎作用,利用 Smad2 基因敲除小鼠和 Smad3 基因敲除小鼠的研究,证明 TGF- β 主要是通过 Smad3 来发挥其抗炎作用^[13]。MCP-1 可以介导单核/巨噬细胞的聚集以及趋化,使单核/巨噬细胞浸润到血管壁以及内膜,引起内膜增生、内皮活化。TGF- β /Smad3 通路能够抑制 MCP-1 的表达,其机制是 Smad3 和转录调节因子 c-jun 结合,从而抑制活化蛋白 1(activator protein 1, AP-1) 结合 DNA^[14]。此外,研究还发现 Smad3 对于 T 细胞的分化也有着重要调节作用,Smad3 通过促进转录因子 Foxp3(forkhead box p3) 的表达,影响 T 细胞的分化^[25-27]。

6 转化生长因子 β /Smad3 信号通路对粥样斑块稳定性的影响

目前普遍认为, TGF- β /Smad3 信号通路通过抗炎作用以及促纤维化作用等使斑块稳定。通过对易损斑块和稳定斑块比较,发现易损的斑块主要有以下几种特征:薄的纤维帽;巨噬细胞和淋巴细胞增多;平滑肌细胞凋亡减少;内皮细胞功能紊乱^[28,29]。TGF- β 可以通过 Smad3 减少炎症细胞,并抑制炎症细胞活化。内皮功能紊乱,也促使血管平滑肌细胞、内皮细胞、成纤维细胞细胞外基质合成增多,抑制细胞外基质的减少,导致血管纤维化,增厚纤维帽。研究显示,在高血压以及动脉粥样硬化病人离体内膜增厚的肾动脉中发现,活化的 Smad3 水平显著增高。在野生型小鼠中,血管紧张素 II(angiotensin II, Ang II) 上调 Smad3,通过依赖于 TGF- β 的信号

通路使血管平滑肌细胞中胶原合成增多,从而引起血管纤维化;相反,在 Smad3 基因敲除小鼠中,这种现象并未出现^[30]。这些研究表明,Smad3 在维持粥样斑块稳定方面起到了重要的保护作用。

7 小结与展望

在动脉粥样硬化的发生发展过程中, TGF- β /Smad3 通路发挥着重要的作用。TGF- β /Smad3 在生理水平下,可抑制血管平滑肌的增生。但在炎症以及损伤状态下,Smad3 表达增加, TGF- β 可能促进血管平滑肌细胞增生,并促纤维化,从而使内膜增生。在动脉粥样硬化早期,Smad3 高表达可以促进血管平滑肌细胞增生,促进内膜增生,参与动脉粥样硬化的发生发展。在动脉粥样后期, TGF- β /Smad3 通过促纤维化以及抗炎作用可以稳定斑块的作用。因此认为, TGF- β /Smad3 在疾病不同的阶段,对动脉粥样硬化的影响不同。通过对 Smad3 作用机制的深入研究, TGF- β /Smad3 信号通道可能成为动脉粥样硬化药物研究干预靶点,并在动脉粥样硬化以及 TGF- β 超家族相关疾病的治疗中发挥其重要作用。

[参考文献]

- [1] Shi Y, Massague J. Mechanisms of TGF beta signaling from cell membrane to the nucleus[J]. Cell, 2003, 113(6): 685-700.
- [2] Massague J. TGF beta in cancer[J]. Cell, 2008, 134(2): 215-130.
- [3] Ungefroren H, Groth S, Sebens S, et al. Differential roles of Smad2 and Smad3 in the regulation of TGF- β mediated growthinhibition and cell migration in pancreatic ductal adenocarcinoma cells: control by Rac1[J]. Mol Cancer, 2011, 10(1): 67.
- [4] David J, Grainger. Transforming growth factor and atherosclerosis: so far, so good, for the protective cytokine hypothesis[J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2004, 24(3): 399-404.
- [5] Gamble JR, Khew-Goodall Y, Vadas MA. Transforming growth factor beta inhibits E-selectin expression on human endothelial cells[J]. J Immunol, 1993, 150(10): 4494-503.
- [6] Argmann CA, Van Den Diepstraten CH, Sawyez CG, et al. Transforming growth factor beta1 inhibits macrophage cholesteryl ester accumulation induced by native and oxidized VLDL remnants[J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2001, 21(12): 2011-018.
- [7] 周志斌, 郭毅, 王思鸿, 等. 基质金属蛋白酶及转化生

- 长因子 β 在人动脉粥样硬化斑块的表达及其与斑块稳定性的关系[J]. 中国动脉硬化杂志, 2006, 14(3): 217-220.
- [8] Graf K, Schaefer-Graf UM. Is Smad3 the key to inflammation and fibrosis in hypertensive heart disease? [J]. Hypertension, 2010, 55(5): 1165-1171.
- [9] 张恺芳, 田英. 转化生长因子 β 在动脉粥样硬化中的作用研究进展[J]. 中国动脉硬化杂志, 2006, 14(7): 636-638.
- [10] Shi W, Sun C, He B, et al. GADD34-PP1c recruited by Smad7 dephosphorylates TGF β type I receptor [J]. J Cell Biol, 2004, 164(2): 291-300.
- [11] Nomura M, Li E. Smad2 role in mesoderm formation, left-right patterning and craniofacial development [J]. Nature, 1998, 393(6687): 786-790.
- [12] Waldrip WR, Bikoff EK, Hoodless PA, et al. Smad2 signaling in extraembryonic tissues determines anterior-posterior polarity of the early mouse embryo [J]. Cell, 1998, 92(6): 797-808.
- [13] Yang X, Letterio JJ, Lechleider RJ, et al. Targeted disruption of Smad3 results in impaired mucosal immunity and diminished T cell responsiveness to TGF β [J]. EMBO J, 1999, 18(5): 1280-1291.
- [14] Feinberg MW, Shimizu K, Lebedeva M, et al. Essential role for Smad3 in regulating MCP-1 expression and vascular inflammation [J]. Circ Res, 2004, 94(5): 601-608.
- [15] Datto MB, Frederick JP, Pan L, et al. Targeted disruption of Smad3 reveals an essential role in transforming growth factor β mediated signal transduction [J]. Mol Cell Biol, 1999, 19(4): 2495-504.
- [16] Ashcroft GS, Yang X, Glick AB, et al. Mice lacking Smad3 show accelerated wound healing and an impaired local inflammatory response [J]. Nat Cell Biol, 1999, 1(5): 260-266.
- [17] Flanders KC, Major CD, Arabshahi A, et al. Interference with transforming growth factor/Smad3 signaling results in accelerated healing of wounds in previously irradiated skin [J]. Am J Pathol, 2003, 163(6): 2247-2257.
- [18] Kobayashi K, Yokote K, Fujimoto M, et al. Targeted disruption of TGF β Smad3 signaling leads to enhanced neointimal hyperplasia with diminished matrix deposition in response to vascular injury [J]. Circ Res, 2005, 96(8): 904-912.
- [19] Werner F, Jain MK, Feinberg MW, et al. Transforming growth factor β 1 inhibition of macrophage activation is mediated via Smad3 [J]. J Biol Chem, 2000, 275(47): 36653-36658.
- [20] Feinberg MW, Watanabe M, Lebedeva MA, et al. Transforming growth factor β 1 inhibition of vascular smooth muscle cell activation is mediated via Smad3 [J]. J Biol Chem, 2004, 279(16): 16388-16393.
- [21] Tsai S, Hollenbeck ST, Ryer EJ, et al. TGF β through Smad3 signaling stimulates vascular smooth muscle cell proliferation and neointimal formation [J]. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2009, 297(2): H540-H549.
- [22] Edlin RS, Tsai S, Yamanouchi D, et al. Characterization of primary and restenotic atherosclerotic plaque from the superficial femoral artery: Potential role of Smad3 in regulation of SMC proliferation [J]. J Vasc Surg, 2009, 49(5): 1289-1295.
- [23] Ryer EJ, Hom RP, Sakakibara K, et al. PKC δ is necessary for Smad3 expression and transforming growth factor β induced fibronectin synthesis in vascular smooth muscle cells [J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2006, 26(4): 780-786.
- [24] Bonniaud P, Kolb M, Galt T, et al. Smad3 null mice develop airspace enlargement and are resistant to TGF β mediated pulmonary fibrosis [J]. J Immunol, 2004, 173(3): 2099-1108.
- [25] Tone Y, Furuuchi K, Kojima Y, et al. Smad3 and NFAT cooperate to induce Foxp3 expression through its enhancer [J]. Nat Immunol, 2008, 9(2): 194-202.
- [26] Yisong Y, Wan, Richard A. Flavel 'Yin-Yang' functions of TGF and Tregs in immune regulation [J]. Immunol Rev, 2007, 220(1): 199-213.
- [27] Takimoto T, Wakabayashi Y, Sekiya T, et al. Smad2 and Smad3 are redundantly essential for the TGF β mediated regulation of regulatory T plasticity and Th1 development [J]. J Immunol, 2010, 185(2): 842-855.
- [28] Davies MJ. The pathophysiology of acute coronary syndromes [J]. Heart, 2000, 83(3): 361-366.
- [29] Falk E. Morphologic features of unstable atherothrombotic plaques underlying acute coronary syndromes [J]. Am J Cardiol, 1989, 63(10): 114E-120E.
- [30] Wang W, Huang XR, Canlas E, et al. Essential role of Smad3 in angiotensin II induced vascular fibrosis [J]. Circ Res, 2006, 98(8): 1032-1039.

(此文编辑 曾学清)