

本文引用: 李超超, 黄会紫, 张璟怡, 等. PIAS3 缺失促进雌性 ApoE 基因敲除小鼠动脉粥样硬化发展[J]. 中国动脉硬化杂志, 2025, 33(8): 665-672. DOI: 10.20039/j.cnki.1007-3949.2025.08.003.

[文章编号] 1007-3949(2025)33-08-0665-08

· 实验研究 ·

PIAS3 缺失促进雌性 ApoE 基因敲除小鼠动脉粥样硬化发展

李超超^{1,2}, 黄会紫^{1,2}, 张璟怡^{1,2}, 费浩^{1,2}, 杨立伟^{1,2}, 王蓉^{1,2}

1. 西安交通大学医学部转化医学研究院心血管研究所, 2. 西安交通大学医学部基础医学院实验动物学系, 陕西省西安市 710061

[摘要] **[目的]** 探讨活化 STAT3 蛋白抑制因子 (PIAS3) 缺失是否促进雌性 ApoE 基因敲除小鼠动脉粥样硬化 (As) 的发生发展。**[方法]** 繁育 ApoE^{-/-} 背景的 PIAS3 基因敲除小鼠 (PIAS3^{-/-}/ApoE^{-/-}), 并饲喂高脂高胆固醇饮食 12 周诱导 As。以同窝 PIAS3^{+/+}/ApoE^{-/-} 小鼠作为对照。每周测量小鼠体重, 每 4 周检测血脂水平 (包括总胆固醇、甘油三酯、高密度脂蛋白胆固醇和非高密度脂蛋白胆固醇)。对小鼠主动脉树、主动脉根部冰冻切片进行油红 O 染色、HE 染色、免疫组织化学染色和免疫荧光染色, 以评估 As 斑块的面积、细胞成分及其稳定性。此外, 通过免疫荧光染色分析斑块内雌激素受体 α (ER α) 的表达及其与血管平滑肌细胞 (VSMC) 共定位情况。**[结果]** 与 PIAS3^{+/+}/ApoE^{-/-} 小鼠相比, PIAS3^{-/-}/ApoE^{-/-} 小鼠的体重、主要脏器 (心脏、肝脏、脾脏、肾脏和附睾脂肪) 的重量及血脂水平均无明显改变; 然而, PIAS3 缺失促进了雌性 PIAS3^{-/-}/ApoE^{-/-} 小鼠 As 的形成。与 PIAS3^{+/+}/ApoE^{-/-} 小鼠相比, PIAS3^{-/-}/ApoE^{-/-} 小鼠 As 斑块内脂质蓄积含量增加 ($P < 0.05$), VSMC 含量减少 ($P < 0.05$), 斑块稳定性降低。除此之外, PIAS3^{-/-}/ApoE^{-/-} 小鼠 As 斑块内 ER α 的表达明显下调 ($P < 0.05$), 且 ER α 与 VSMC 存在明显共定位。PIAS3^{-/-}/ApoE^{-/-} 小鼠斑块内 VSMC 的减少可能导致 ER α 的表达降低, 进而减弱雌激素抗 As 的作用。**[结论]** PIAS3 缺失促进雌性 ApoE^{-/-} 小鼠 As 斑块形成, 并且 PIAS3 可能通过调控斑块内 ER α 的表达来发挥作用。

[关键词] 动脉粥样硬化; 活化 STAT3 蛋白抑制因子; 雌激素受体; 血管平滑肌细胞

[中图分类号] R363; R5

[文献标识码] A

PIAS3 deficiency exacerbates the development of atherosclerosis in female ApoE knockout mice

LI Chaochao^{1,2}, HUANG Huizi^{1,2}, ZHANG Jingyi^{1,2}, FEI Hao^{1,2}, YANG Liwei^{1,2}, WANG Rong^{1,2}

1. Institute of Cardiovascular Science, Translational Medicine Institute of Health Science Center, Xi'an Jiaotong University, 2. Department of Laboratory Animal Science, School of Basic Medical Sciences, Xi'an Jiaotong University, Xi'an, Shaanxi 710061, China

[ABSTRACT] **Aim** To investigate whether protein inhibitor of activated STAT3 (PIAS3) deficiency exacerbates the occurrence and development of atherosclerosis (As) in female ApoE knockout mice. **Methods** PIAS3 gene knockout mice with ApoE^{-/-} background (PIAS3^{-/-}/ApoE^{-/-}) and their littermate PIAS3^{+/+}/ApoE^{-/-} mice were bred and fed with a high-fat/high-cholesterol diet for 12 weeks to induce As. Body weight (every week) and plasma lipid levels including total cholesterol, triglyceride, high density lipoprotein cholesterol and non-high density lipoprotein cholesterol (every 4 weeks) of the mice were measured. Oil red O staining, HE staining, immunohistochemistry staining and immunofluorescence staining were performed on mouse aortic tree and frozen sections of aortic root to evaluate the area, cellular composition and stability of As plaques. Moreover, the expression of estrogen receptor α (ER α) and its co-localization with vascular smooth muscle cells (VSMC) in plaques were determined by immunofluorescence staining. **Results** Compared with PIAS3^{+/+}/ApoE^{-/-} mice, PIAS3^{-/-}/ApoE^{-/-} mice showed no significant differences in body weight, major organ weight (heart, liver, spleen, kidney and epididymal fat) and plasma lipid levels; however, PIAS3 deficiency promoted the formation of As in female PIAS3^{-/-}/ApoE^{-/-} mice. Compared with PIAS3^{+/+}/ApoE^{-/-} mice, PIAS3^{-/-}/ApoE^{-/-} mice showed an increased lipid accumulation and a decreased VSMC content in As plaques ($P < 0.05$), leading to a decrease in plaque

[收稿日期] 2024-10-24

[修回日期] 2025-04-01

[基金项目] 国家自然科学基金项目 (82170471); 陕西省自然科学基金项目 (2023-CX-PT-01)

[作者简介] 李超超, 硕士研究生, 研究方向为心血管疾病的发生发展机制, E-mail: lcc120@stu.xjtu.edu.cn. 通信作者王蓉, 副教授, 博士研究生导师, 研究方向为心血管疾病的发生发展机制, E-mail: rongw1986@mail.xjtu.edu.cn.

stability. In addition, the expression of ER α in the As plaques of PIAS3^{-/-}/ApoE^{-/-} mice was significantly downregulated ($P < 0.05$), and there was a obvious co-localization between ER α and VSMC. The reduction of VSMC content in PIAS3^{-/-}/ApoE^{-/-} mouse plaques might lead to a decrease of ER α expression, thereby weakening the anti-As effect of estrogen. **Conclusion** PIAS3 deficiency exacerbates the formation of As plaques in female PIAS3^{-/-}/ApoE^{-/-} mice, which might be due to the regulatory effect of PIAS3 on ER α expression in plaques.

[**KEY WORDS**] atherosclerosis; protein inhibitor of activated STAT 3; estrogen receptor α ; vascular smooth muscle cell

近年来,心血管疾病(cardiovascular diseases, CVD)的患病率呈现上升趋势,其发病率和死亡率居高不下。据《中国心血管健康与疾病报告 2023》的数据显示,CVD已成为我国城乡居民疾病死亡中的首要原因^[1]。动脉粥样硬化(atherosclerosis, As)是CVD的主要病理学基础,主要表现为血管壁内膜下脂质蓄积,炎症因子释放,导致内皮功能障碍。此外,单核细胞招募并分化为巨噬细胞,血管内膜增厚,最终导致As斑块的形成^[2]。As的发生发展受多种因素调控,雌激素是已知的抗As保护因子。研究表明,内源性雌激素对绝经前女性具有一系列的血管保护作用,育龄妇女的CVD发病率要明显低于同等年龄的男性,但绝经后的女性患CVD的风险是男性的两倍^[3]。雌激素对CVD的保护作用主要依赖于雌激素受体(estrogen receptor, ER),上调ER α 的表达可抑制As的发生^[4]。因此,研究ER α 对As的作用机制,可为治疗As提供理论基础。

已知雌激素通过与细胞内的ER特异性结合,改善脂质代谢紊乱,促进内皮细胞中NO合成,并抑制血管平滑肌细胞(vascular smooth muscle cell, VSMC)增殖等,从而发挥抗As的作用^[5]。ER α 是ER家族的主要成员^[6],在与雌激素结合后发生二聚化,并快速与细胞核中的雌激素反应元件相互作用,进而调控下游基因的表达^[7]。研究证实,ER α 参与调控多种CVD的发生发展。目前,安全使用雌激素替代疗法是临床治疗的一个热点领域。雌激素作为一种预防性治疗药物,已被广泛应用于CVD的防治^[8]。Yang等^[9]报道绞股蓝皂苷XVII(GP-17)可以上调ER α 的表达,通过介导PI3K/Akt通路,抑制ApoE^{-/-}小鼠As斑块形成。

SUMOylation是一种由小泛素样修饰物(small ubiquitin-related modifier, SUMO)所介导的蛋白质翻译后修饰,可以调控蛋白质间的相互作用、定位和活性。其过程由一系列酶催化,包括SUMO激活酶、SUMO结合酶和SUMO连接酶^[10]。已知SUMOylation可调控NF- κ B、p53、KLF和AMPK等多种因子的表达或活化,进而参与As过程中炎症应答、内皮细胞功能障碍和VSMC表型调控等多个环

节^[11]。据报道,ER介导的信号传导通路中存在多个SUMOylation靶点,其中ER α 作为SUMOylation底物,其AF-1结构域中的赖氨酸残基是发生SUMOylation的靶点^[12]。活化STAT3蛋白抑制因子(protein inhibitor of activated STAT3, PIAS3)具有SUMO连接酶活性,可介导ER α 的SUMOylation,从而激活雌激素依赖性的转录活性,并增强ER α 信号传导^[13]。PIAS3对雌性小鼠As发生发展的作用仍不明确。本研究繁育PIAS3与ApoE基因双敲除的雌性小鼠(PIAS3^{-/-}/ApoE^{-/-}),并采用高脂高胆固醇饮食诱导As模型,旨在探究PIAS3缺失对雌性小鼠As形成的影响。

1 材料和方法

1.1 实验动物

ApoE^{-/-}小鼠购自西安交通大学实验动物中心,PIAS3基因杂合敲除(PIAS3^{+/-})小鼠购自赛业生物科技有限公司,进一步繁育获得PIAS3^{-/-}/ApoE^{-/-}基因双敲除小鼠。选取8周龄雌性PIAS3^{-/-}/ApoE^{-/-}小鼠($n=8$)和同窝PIAS3^{+/-}/ApoE^{-/-}小鼠($n=8$)分别作为实验组和对照组,所有小鼠均接受高脂高胆固醇饮食(high-fat/high-cholesterol diet, HFCD),该饮食含有0.15%胆固醇和21%脂肪,持续喂养12周以诱导As形成,随后用于后续的实验分析。高脂高胆固醇饲料购自北京科澳协力饲料公司;小鼠的繁殖与饲养工作均在西安交通大学实验动物中心的标准化屏障设施中进行。该动物实验方案经西安交通大学实验动物管理委员会批准,并按照西安交通大学动物实验指南和美国国立卫生研究院发布的《实验动物护理与使用指南》进行。

1.2 PIAS3^{-/-}/ApoE^{-/-}小鼠的繁育及基因型鉴定

以PIAS3^{+/-}小鼠为亲本进行交配,筛选获得PIAS3^{-/-}小鼠,再将PIAS3^{-/-}和ApoE^{-/-}小鼠进行交配,获得PIAS3^{+/-}/ApoE^{-/-}小鼠。其子代进一步杂交,获得实验所需的PIAS3^{-/-}/ApoE^{-/-}和同窝对照PIAS3^{+/-}/ApoE^{-/-}小鼠。采用蛋白酶K裂解法从小鼠鼠尾组织中提取基因组DNA,并利用特异性引物

进行 PCR 扩增以鉴定其基因型(表 1)。

表 1. 基因型鉴定引物序列表

Table 1. List of primer sequences for genotyping

引物名称	引物序列(5'-3')	目标基因
ApoE-F	GCCTAGCCGAGGGAGAGCCG	ApoE 基因
ApoE-R1	TGTGACTTGGGAGCTCTGCAGC	
ApoE-R2	GCCGCCCGACTGCATCT	
PIAS3-F	AAACAAGACTAAAGGAGTATGGGC	PIAS3 基因
PIAS3-R1	TAGAGGAAGGGGAAGGGAACATAAG	
PIAS3-R2	CTCAGACACTCGGAACTCATC	

1.3 体重、主要脏器重量及血脂水平检测

对 8 周龄雌性 PIAS3^{+/+}/ApoE^{-/-}小鼠($n=8$)和 PIAS3^{-/-}/ApoE^{-/-}小鼠($n=8$)进行 HFCD 喂养 12 周,以诱导 As 形成。在喂养的 12 周内,每周评估小鼠体重,并于第 0、4、8、12 周进行血脂检测。使用肝素抗凝毛细管对禁食 8 h 的小鼠进行尾尖采血,离心分离血浆,采用血脂检测试剂盒(中生北控生物有限公司)测定血浆总胆固醇(total cholesterol, TC)、甘油三酯(triglyceride, TG)和高密度脂蛋白胆固醇(high density lipoprotein cholesterol, HDLC)水平,并用 TC 值减去 HDLC 值来计算非高密度脂蛋白胆固醇(non-HDLC)水平。对经过 12 周 HFCD 喂养的小鼠执行安乐死,并对其主要脏器(心脏、肝脏、脾脏、肾脏和附睾脂肪)进行称重。

1.4 As 斑块面积和细胞成分的分析

经过 12 周的 HFCD 喂养,PIAS3^{+/+}/ApoE^{-/-}和 PIAS3^{-/-}/ApoE^{-/-}小鼠被施以异氟烷进行安乐死,分离其主动脉树,并进行油红 O 染色。此外,采用 OCT 包埋剂对小鼠主动脉根部进行包埋,制作连续的冰冻切片(厚度为 7 μm),并分别进行 HE 染色和油红 O 染色以分析斑块面积;使用购自 BD Biosciences 的抗 Mac-3 抗体进行免疫组织化学染色,以标记斑块内的巨噬细胞;同时,利用购自 ImmunoWay Biotechnology 的抗 α -SMA 抗体进行免疫荧光染色,以标记斑块内的 VSMC。完成染色的切片用尼康 E-CLIPSE 80i 显微镜或 Olympus CKX53 荧光显微镜观察并拍照,使用 WinROOF 6.5 软件评估 As 斑块面积和斑块成分。

1.5 As 斑块内 ER α 的表达分析

对已制备的 PIAS3^{+/+}/ApoE^{-/-}和 PIAS3^{-/-}/ApoE^{-/-}小鼠主动脉根部组织进行连续冰冻切片,并使用抗 ER α 抗体(万类生物科技有限公司)进行免

疫荧光染色,以分析 As 斑块内 ER α 的表达水平。同时,对冰冻切片应用抗 ER α 抗体和抗 α -SMA 抗体进行免疫荧光双染,以分析 ER α 与 VSMC 的共定位情况。免疫荧光二抗包括 FITC 标记的山羊抗兔 IgG 和 Cy3 标记的山羊抗小鼠 IgG(西安壮志生物科技有限公司)。染色后的切片通过 Olympus CKX53 荧光显微镜进行观察和拍照,使用 WinROOF 6.5 软件进行图像处理和分析。

1.6 统计学分析

利用 GraphPad Prism 9.5 软件进行数据处理和图表的绘制,数据以 $\bar{x} \pm \text{SEM}$ 表示。运用 Shapiro-Wilk 检验来评估数据的正态分布情况,对于正态分布的数据,采用 Student t 检验进行两组间的比较;对于非正态分布的数据,则使用非参数 Mann-Whitney 检验来进行两组间的比较。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 成功繁育 PIAS3^{-/-}/ApoE^{-/-}小鼠

以 PIAS3^{+/+}小鼠为亲本进行交配获得 PIAS3^{-/-}子代,再将 PIAS3^{-/-}小鼠与 ApoE^{-/-}小鼠进行交配,获得 PIAS3^{-/-}/ApoE^{-/-}小鼠,然后以其为亲本进一步交配,构建 PIAS3^{-/-}/ApoE^{-/-}基因双敲除小鼠模型,其同窝 PIAS3^{+/+}/ApoE^{-/-}小鼠为后续实验对照组。基因型 PCR 鉴定结果显示:对于 PIAS3 基因,仅扩增出 394 bp 片段的样本代表 PIAS3^{-/-}小鼠,仅扩增出 564 bp 片段的样本代表 PIAS3^{+/+}小鼠,同时扩增出 394 bp 和 564 bp 片段的样本代表 PIAS3^{+/+}小鼠;对于 ApoE 基因,仅扩增出 245 bp 片段的样本代表 ApoE^{-/-}小鼠,仅扩增出 155 bp 片段的样本代表 ApoE^{+/+}小鼠,同时扩增出 155 bp 和 245 bp 片段的样本代表 ApoE^{+/+}小鼠。综合上述分析可知,12 号、26 号小鼠为实验所需的 PIAS3^{-/-}/ApoE^{-/-}小鼠,6 号、14 号和 25 号小鼠为实验所需的 PIAS3^{+/+}/ApoE^{-/-}小鼠(图 1)。

2.2 PIAS3 缺失对 ApoE^{-/-}小鼠生长和血脂水平的影响

对 8 周龄雌性 PIAS3^{-/-}/ApoE^{-/-}小鼠(实验组)和 PIAS3^{+/+}/ApoE^{-/-}小鼠(对照组)给予 HFCD 饲喂 12 周,每周测量小鼠体重,每 4 周检测血浆 TC、TG、HDLC 和 non-HDLC 水平。结果显示,对照组小鼠和实验组小鼠的生长情况大致相同,其体重、主要脏器重量均无明显差异($P > 0.05$);HFCD 饲喂导致两组小鼠的血浆 TC、TG 和 non-HDLC 水平均随着

饲喂时间的延长逐步升高,而 HDLC 水平逐步降低,但两组小鼠的血浆 TC、TG、HDLC 和 non-HDLC 水

平无明显差异 ($P > 0.05$; 图 2)。以上结果表明, PIAS3 缺失不影响 ApoE^{-/-}小鼠血脂水平。

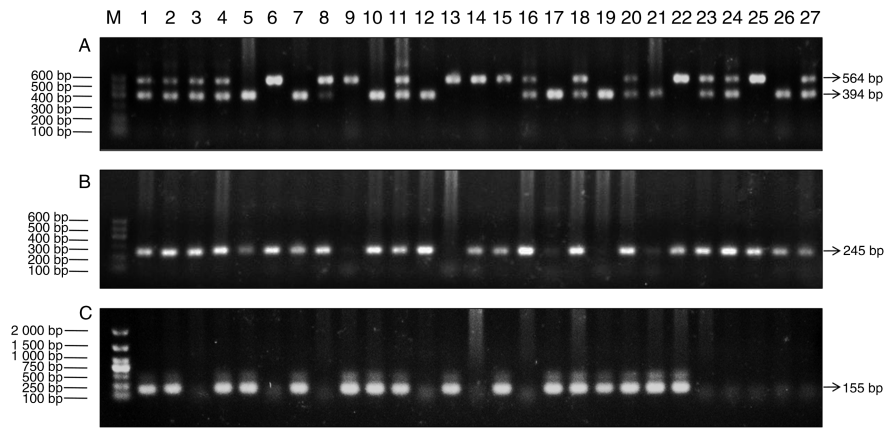


图 1. PIAS3^{-/-}/ApoE^{-/-}和 PIAS3^{+/+}/ApoE^{-/-}小鼠基因型的 PCR 鉴定凝胶电泳图

A 为 PIAS3 基因型鉴定结果, B 为 ApoE 基因型 (ApoE-F+ApoE-R2 引物) 鉴定结果, C 为 ApoE 基因型 (ApoE-F+ApoE-R1 引物) 鉴定结果。

Figure 1. Gel electrophoresis diagram for PCR identification of PIAS3^{-/-}/ApoE^{-/-} and PIAS3^{+/+}/ApoE^{-/-} mice genotypes

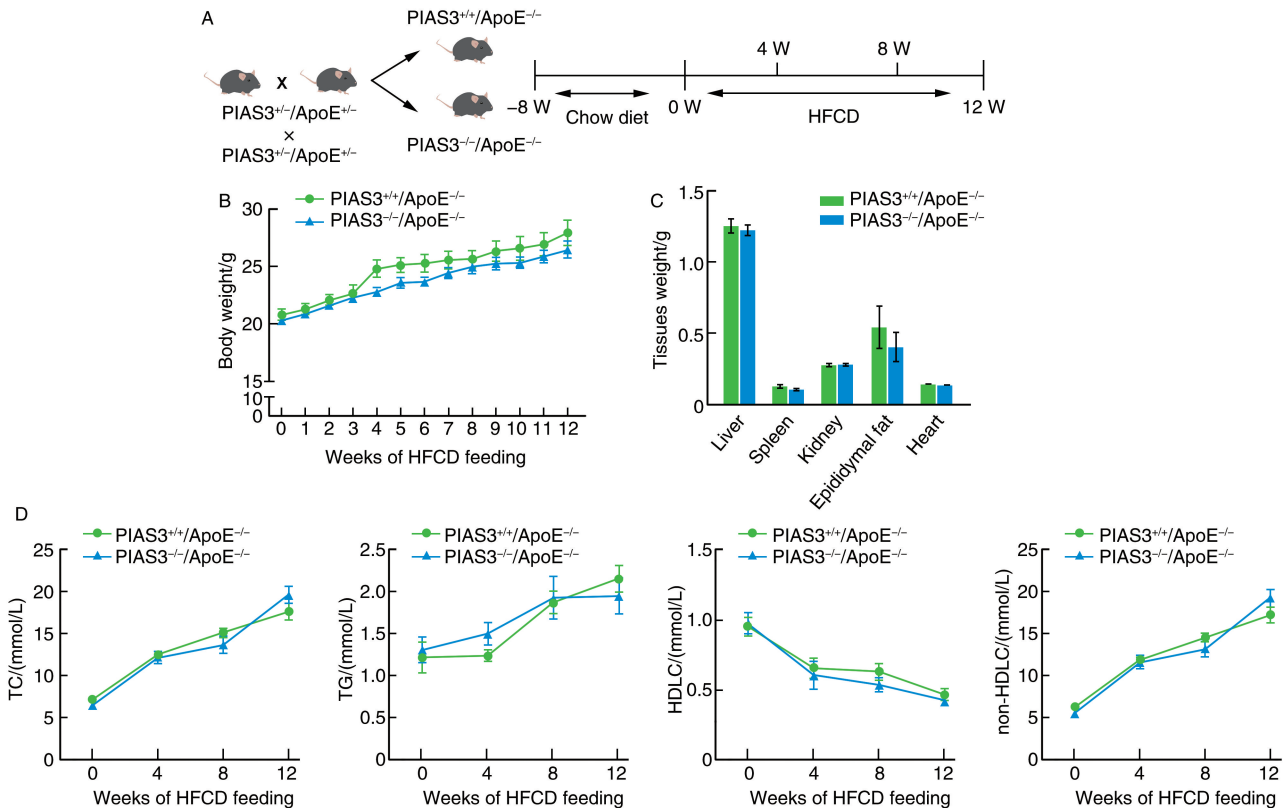


图 2. PIAS3 缺失对 ApoE^{-/-}小鼠体重、主要脏器重量及血脂水平的影响

A 为 PIAS3^{-/-}/ApoE^{-/-}和 PIAS3^{+/+}/ApoE^{-/-}小鼠造模实验过程图, B 为两组小鼠体重变化,

C 为两组小鼠主要脏器重量比较, D 为两组小鼠血脂水平比较。

Figure 2. The effect of PIAS3 deficiency on body weight, major tissue weight and plasma lipid levels in ApoE^{-/-} mice

2.3 PIAS3 缺失对 ApoE^{-/-}小鼠 As 斑块面积的影响
通过 HFCD 饲喂诱导 As 模型, 对 PIAS3^{-/-}/

ApoE^{-/-}小鼠的主动脉树和主动脉根部进行染色, 以评估 As 斑块的大小, 同时以同窝的 PIAS3^{+/+}/

ApoE^{-/-}小鼠作为对照。主动脉树油红 O 染色结果显示,与 PIAS3^{+/+}/ApoE^{-/-} 小鼠相比,PIAS3^{-/-}/ApoE^{-/-}小鼠主动脉树斑块面积增加($P<0.05$)。主动脉根部冰冻切片 HE 染色结果显示,与 PIAS3^{+/+}/ApoE^{-/-}小鼠相比,PIAS3^{-/-}/ApoE^{-/-}小鼠主动脉根

部斑块面积显著增加($P<0.05$)。主动脉根部油红 O 染色结果显示,与 PIAS3^{+/+}/ApoE^{-/-}小鼠相比,PIAS3^{-/-}/ApoE^{-/-}小鼠主动脉根部斑块内的脂质蓄积增加($P<0.05$;图 3)。以上结果表明可知,PIAS3 缺失促进雌性 ApoE^{-/-}小鼠 As 斑块形成。

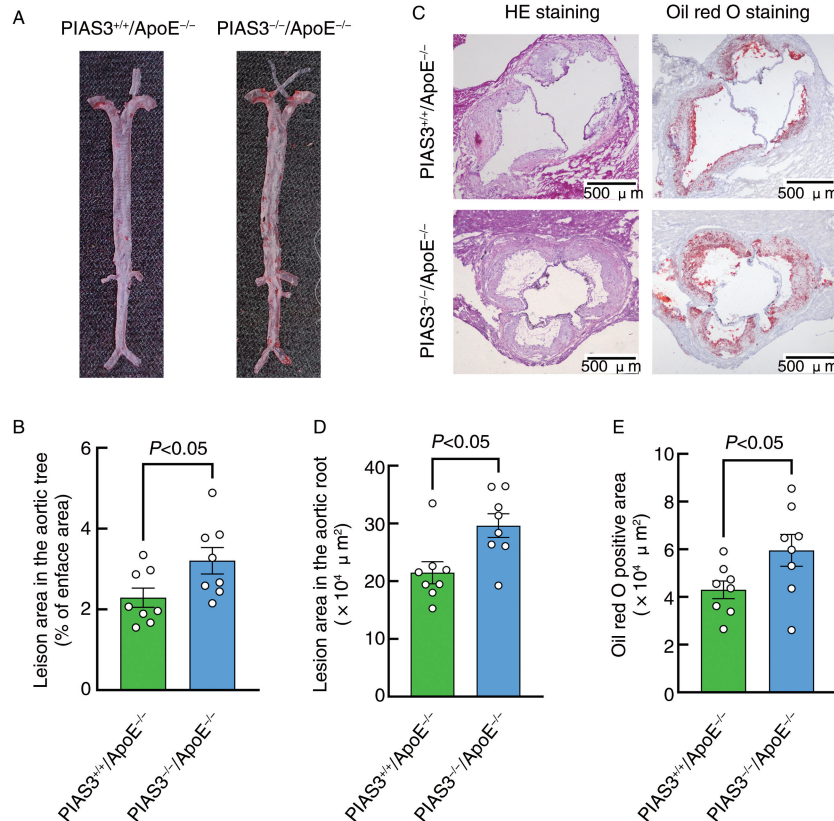


图 3. 主动脉树和主动脉根部斑块染色分析

A 和 B 为主动脉树油红 O 染色及统计分析图,C、D 和 E 为主动脉根部 HE 染色和油红 O 染色及统计分析图。

Figure 3. Staining and statistical analysis of aortic trees and aortic roots

2.4 PIAS3 缺失对 ApoE^{-/-} 小鼠 As 斑块细胞组成的影响

对 PIAS3^{+/+}/ApoE^{-/-}和 PIAS3^{-/-}/ApoE^{-/-}小鼠主动脉根部冰冻切片用抗 Mac-3 抗体和抗 α -SMA 抗体分别进行免疫组织化学染色和免疫荧光染色分析斑块内巨噬细胞和 VSMC 含量,结果显示,PIAS3^{+/+}/ApoE^{-/-}小鼠和 PIAS3^{-/-}/ApoE^{-/-}小鼠 As 斑块内巨噬细胞含量相近($P>0.05$),但与 PIAS3^{+/+}/ApoE^{-/-}小鼠相比,PIAS3^{-/-}/ApoE^{-/-}小鼠主动脉根部斑块内 VSMC 含量明显减少($P<0.05$;图 4)。斑块内 VSMC 是保障 As 斑块稳定性的重要细胞,其含量的减少,加上斑块内脂质蓄积的增多,可能导致斑块稳定性降低。

2.5 PIAS3 缺失对 ApoE^{-/-} 小鼠 As 斑块内 ER α 表达的影响

为了评估 PIAS3 缺失是否影响 ER α 在 As 斑块中的表达,用抗 ER α 抗体对 PIAS3^{+/+}/ApoE^{-/-}和 PIAS3^{-/-}/ApoE^{-/-}小鼠主动脉根部冰冻切片进行免疫荧光染色。结果显示,与 PIAS3^{+/+}/ApoE^{-/-}小鼠相比,PIAS3^{-/-}/ApoE^{-/-}小鼠 As 斑块中 ER α 的表达显著下调($P<0.05$)。此外,通过使用抗 ER α 抗体和抗 α -SMA 抗体进行免疫荧光双染,结果发现,As 斑块内 ER α 与 α -SMA 存在显著共定位(图 5),这说明 ER α 在斑块内的 VSMC 中表达。由此推测,PIAS3^{-/-}/ApoE^{-/-}小鼠斑块内 VSMC 的减少可能导致 ER α 的表达降低,进而减弱雌激素抗 As 的作用。

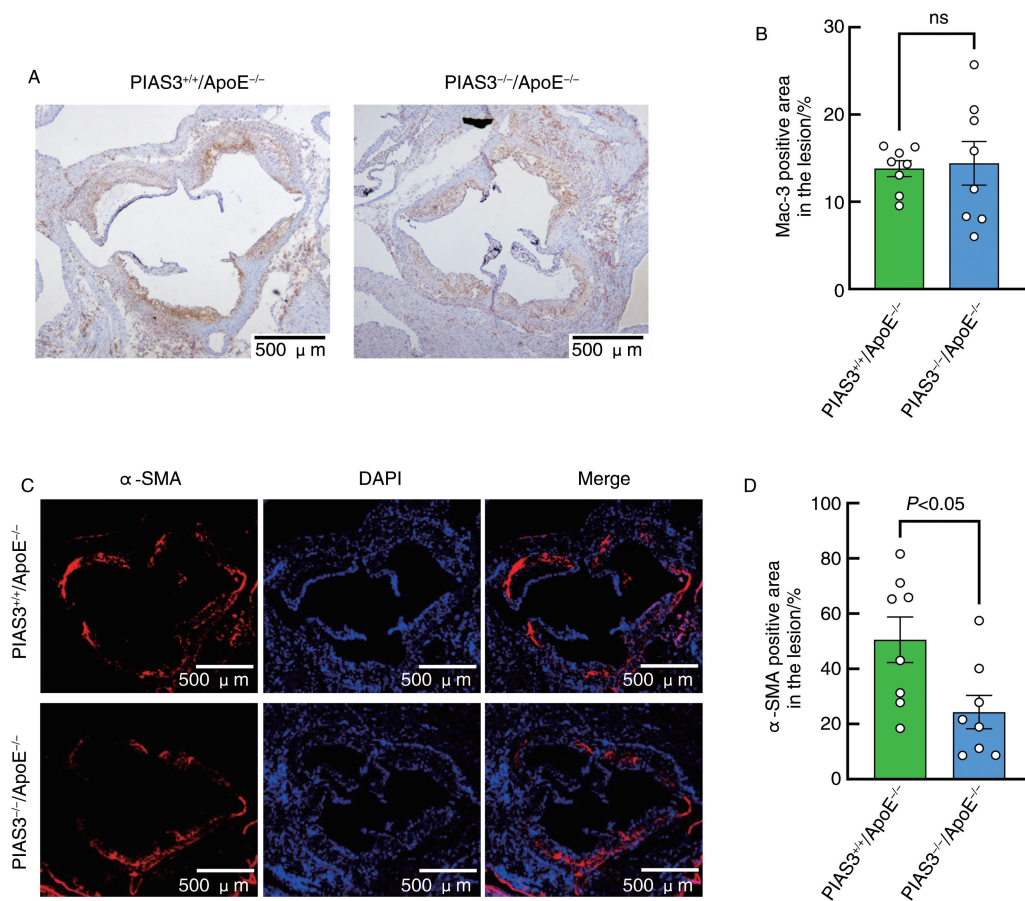


图4. 主动脉根部As斑块内细胞组成分析

A和B为主动脉根部巨噬细胞免疫组织化学染色及其统计分析图,C和D为主动脉根部VSMC免疫荧光染色及其统计分析图。

Figure 4. Analysis of cell composition in As plaques of aortic roots

3 讨论

CVD是全球人口死亡的主要原因之一,As作为其重要的病理学基础,受到人们的广泛关注^[14]。在我国,由As引发的CVD发病率和死亡率呈现出逐年上升的趋势^[15]。在致As因素的刺激下,单核细胞会转化为巨噬细胞并形成泡沫细胞,且VSMC增殖和迁移导致内膜增厚及粥样斑块形成。随着斑块内脂质蓄积、巨噬细胞增多、VSMC减少,斑块的稳定性逐渐降低,容易发生破裂并形成血栓,从而增加引发其他并发症的风险^[16]。研究发现,绝经前女性患As的风险低于同龄男性^[17],雌激素及其相关信号通路在抗As的过程中发挥着重要的作用,但这种保护效应在女性绝经后就消失了。本课题组前期研究发现,PIAS3缺失可显著促进雄性ApoE^{-/-}小鼠As斑块的形成,雄性PIAS3^{-/-}/ApoE^{-/-}小鼠主动脉根部斑块面积约是雄性PIAS3^{+/+}/ApoE^{-/-}小鼠的2.0倍^[18]。然而,本研究发现,在雌性小鼠中,PIAS3缺失虽然也可促进As斑块的形成,但其促进

作用有所减弱。与雌性PIAS3^{+/+}/ApoE^{-/-}小鼠相比,雌性PIAS3^{-/-}/ApoE^{-/-}小鼠主动脉根部斑块面积仅升高1.4倍。这表明,PIAS3缺失能够促进ApoE^{-/-}小鼠As斑块的形成,但其作用受雌激素或雌激素相关信号通路的影响。

脂质代谢紊乱是As形成的重要危险因素^[19]。研究证明,血浆中高水平的HDL可抵抗As的发生,而TC、TG和LDL水平与患As的风险呈正相关^[20]。本研究对HFD饲喂12周的PIAS3^{-/-}/ApoE^{-/-}小鼠和PIAS3^{+/+}/ApoE^{-/-}小鼠进行血脂水平分析发现,PIAS3^{-/-}/ApoE^{-/-}小鼠和PIAS3^{+/+}/ApoE^{-/-}小鼠TC、TG、HDL和non-HDL水平均无明显差异,说明PIAS3缺失并非通过影响血脂水平促进ApoE^{-/-}小鼠As的发展。此外,本研究还发现,PIAS3^{-/-}/ApoE^{-/-}小鼠与PIAS3^{+/+}/ApoE^{-/-}小鼠相比,斑块内脂质蓄积含量增加,而VSMC含量降低。这表明PIAS3缺失可能对斑块的稳定性造成损害。

ER广泛存在于机体的多种组织细胞中,不仅能够作为转录因子直接结合到雌激素应答元件上,从而

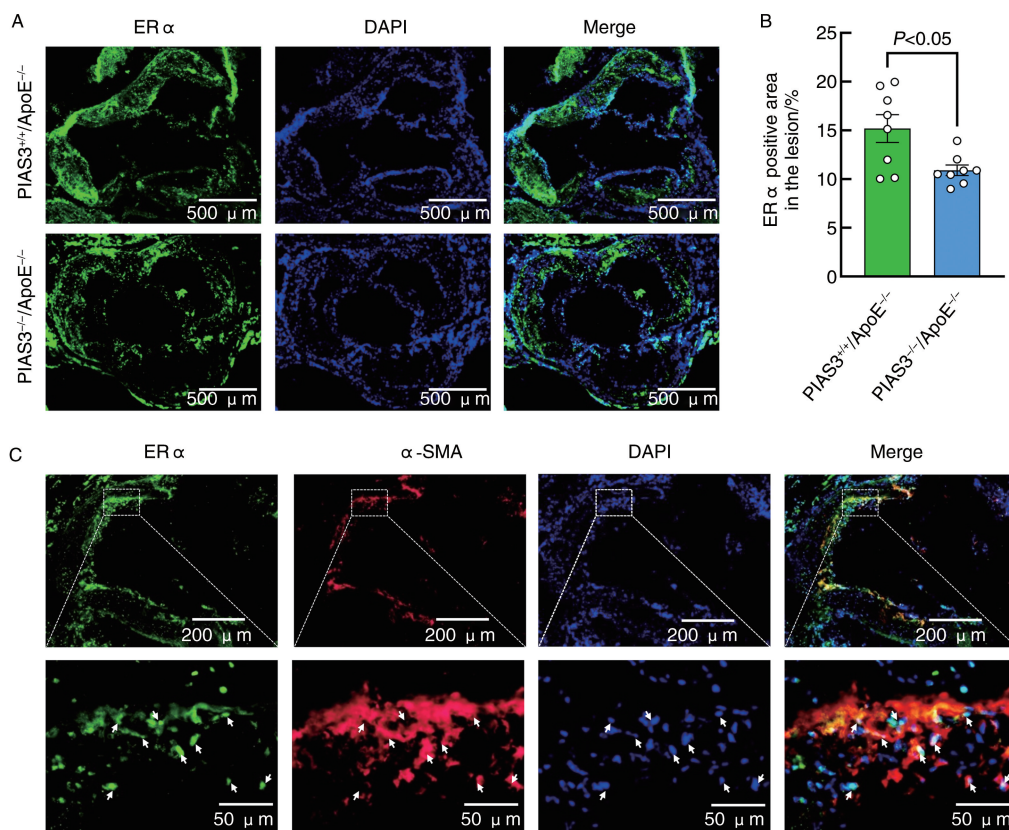


图 5. 主动脉根部 As 斑块内 ER α 的表达分析

A 和 B 为主动脉根部 ER α 免疫荧光染色及其统计分析图, C 为主动脉根部 ER α 和 α -SMA 免疫荧光双染图。

Figure 5. Analysis of ER α expression in As plaques of aortic roots

调节基因表达,还能够通过第二信使系统发挥间接的转录调控作用^[21]。已知雌激素通过与 ER 结合发挥抗 As 的作用,ER α 的表达失调会增加 CVD 风险^[22]。本研究发现,PIAS3 缺失导致 ApoE^{-/-} 小鼠斑块内 ER α 的表达降低,这可能进一步造成小鼠体内雌激素对 As 的拮抗作用减弱。因此,与 PIAS3^{+/+}/ApoE^{-/-} 小鼠相比,PIAS3^{-/-}/ApoE^{-/-} 小鼠斑块形成增加。此外,本研究还发现小鼠 As 斑块内 ER α 的表达与 VSMC 有明显共定位。与 PIAS3^{+/+}/ApoE^{-/-} 小鼠相比,雌性 PIAS3^{-/-}/ApoE^{-/-} 小鼠斑块内 VSMC 含量减少,这可能是 PIAS3^{-/-}/ApoE^{-/-} 小鼠斑块内 ER α 表达降低的原因之一。SUMOylation 是调控 ER α 通路活化的重要途径之一^[23]。研究发现,ER α 的转录激活区和铰链区存在多个 SUMOylation 靶点,PIAS3 可介导其铰链区上赖氨酸残基的 SUMOylation,进而在不影响 ER α 细胞定位的情况下调控 ER α 的转录活性,最终影响 ER α 信号通路的活化^[23-24]。除此之外, Lee 等^[25] 报道,PIAS3 可能通过其酸性结构域促进 ER α 的 C 端 AF-2 结构域与核受体共激活因子 TIF2 相互作用,进而调控 ER α 的转

录活性。在本研究中,与雌性 PIAS3^{+/+}/ApoE^{-/-} 小鼠相比,雌性 PIAS3^{-/-}/ApoE^{-/-} 小鼠 As 病变更严重,这可能是因为 PIAS3 的缺失削弱了 ER α 的 SUMOylation,进而影响了 ER α 信号通路的激活,从而干扰了 ER α 介导的心血管保护作用。

综上所述,本研究结果表明,PIAS3 缺失促进雌性 ApoE^{-/-} 小鼠 As 斑块形成,PIAS3 可能通过调控斑块内 ER α 的表达发挥作用。PIAS3 缺失导致 As 斑块内 ER α 的表达降低,减弱了 ER α 介导的心血管保护作用。这一发现有助于深入理解 As 的发病机制,并为探索抗 As 的新靶点提供参考。

[参考文献]

- [1] 刘明波,何新叶,杨晓红,等.《中国心血管健康与疾病报告 2023》要点解读[J]. 中国心血管杂志, 2024, 29(4): 305-324.
LIU M B, HE X Y, YANG X H, et al. Interpretation of report on cardiovascular health and diseases in China 2023 [J]. Chin J Cardiovasc Med, 2024, 29(4): 305-324.
- [2] 范增光,袁野. 补阳还五汤加减抑制 ApoE^{-/-} 小鼠动脉粥样硬化病变形成及降低血清炎症因子水平的机制

- [J]. 中国动脉硬化杂志, 2024, 32(4): 285-292.
- FAN Z G, YUAN Y. Study on the mechanism of Buyang Huanwu decoction in inhibiting atherosclerotic lesion formation and reducing serum inflammatory factors in ApoE^{-/-} mice[J]. Chin J Arterioscler, 2024, 32(4): 285-292.
- [3] GAO Z, CHEN Z, SUN A, et al. Gender differences in cardiovascular disease [J]. Med Nov Technol Devices, 2019, 4: 100025.
- [4] CUI Y, ZHAO D, LIU H, et al. A comparative study of efficacy of tibolone and simvastatin on atherosclerosis in ovariectomized cholesterol-fed rabbits [J]. Maturitas, 2005, 50(4): 337-343.
- [5] DAVEZAC M, BUSCATO M, ZAHREDDINE R, et al. Estrogen receptor and vascular aging [J]. Front Aging, 2021, 2: 727380.
- [6] NOUR J, BONACINA F, NORATA G D. Gonadal sex vs genetic sex in experimental atherosclerosis[J]. Atherosclerosis, 2023, 384: 117277.
- [7] 李蕊, 许海涛, 王佳子, 等. USP22 参与雌激素受体 α 基因转录调控及其在血管钙化中的作用[J]. 中国动脉硬化杂志, 2021, 29(12): 1033-1039.
- LI R, XU H T, WANG J Z, et al. The effects of deubiquitin ubiquitin-specific peptidase USP22 via participating in ER α on vascular calcification [J]. Chin J Arterioscler, 2021, 29(12): 1033-1039.
- [8] GERSH F, O'KEEFE J H, ELAGIZI A, et al. Estrogen and cardiovascular disease [J]. Prog Cardiovasc Dis, 2024, 84: 60-67.
- [9] YANG K, ZHANG H, LUO Y, et al. Gypenoside XVII prevents atherosclerosis by attenuating endothelial apoptosis and oxidative stress: insight into the ER α -mediated PI3K/Akt pathway[J]. Int J Mol Sci, 2017, 18(2): 77.
- [10] CELEN A B, SAHIN U. SUMOylation on its 25 th anniversary: mechanisms, pathology, and emerging concepts [J]. FEBS J, 2020, 287(15): 3110-3140.
- [11] LIU Y Z, XIAO X, HU C T, et al. SUMOylation in atherosclerosis[J]. Clin Chim Acta, 2020, 508: 228-233.
- [12] ARAO Y, KORACH K S. The physiological role of estrogen receptor functional domains [J]. Essays Biochem, 2021, 65(6): 867-875.
- [13] RABELLINO A, KHANNA K K. The implication of the SUMOylation pathway in breast cancer pathogenesis and treatment [J]. Crit Rev Biochem Mol Biol, 2020, 55(1): 54-70.
- [14] 徐倩, 姜志胜. 动脉粥样硬化机制研究的新认识[J]. 中国动脉硬化杂志, 2024, 32(11): 921-931.
- XU Q, JIANG Z S. New insights into the mechanisms of atherosclerosis[J]. Chin J Arterioscler, 2024, 32(11): 921-931.
- [15] 支晨曦, 谢忠成, 李靓, 等. 中国动脉粥样硬化近三年基础研究进展[J]. 中国动脉硬化杂志, 2022, 30(9): 744-752.
- ZHI C X, XIE Z C, LI L, et al. The progress of the National preclinical research of atherosclerosis in the recent three years [J]. Chin J Arterioscler, 2022, 30(9): 744-752.
- [16] LIBBY P. The changing landscape of atherosclerosis[J]. Nature, 2021, 592(7855): 524-533.
- [17] GHAFAR U B. Determinants of risk factors associated with aortic atherosclerosis: a quantitative study in forensic autopsies[J]. Biotech Res Asia, 2024, 21(1): 157-162.
- [18] WANG R, ZHANG Y, XU L, et al. Protein inhibitor of activated STAT3 suppresses oxidized LDL-induced cell responses during atherosclerosis in apolipoprotein E-deficient mice[J]. Sci Rep, 2016, 6: 36790.
- [19] BJÖRKEGREN J L M, LUSIS A J. Atherosclerosis: recent developments[J]. Cell, 2022, 185(10): 1630-1645.
- [20] WANG L, ZHANG Q, WU Z, et al. A significant presence in atherosclerotic cardiovascular disease: remnant cholesterol: a review[J]. Medicine (Baltimore), 2024, 103(27): e38754.
- [21] ARYAN L, YOUNESSI D, ZARGARI M, et al. The role of estrogen receptors in cardiovascular disease [J]. Int J Mol Sci, 2020, 21(12): 4314.
- [22] THAM Y K, BERNARDO B C, CLARIDGE B, et al. Estrogen receptor alpha deficiency in cardiomyocytes reprograms the heart-derived extracellular vesicle proteome and induces obesity in female mice [J]. Nat Cardiovasc Res, 2023, 2(3): 268-289.
- [23] SENTIS S, LE ROMANCER M, BIANCHIN C, et al. SUMOylation of the estrogen receptor alpha hinge region regulates its transcriptional activity [J]. Mol Endocrinol, 2005, 19(11): 2671-2684.
- [24] JEFFREYS S A, POWTER B, BALAKRISHNAR B, et al. Endocrine resistance in breast cancer: the role of estrogen receptor stability [J]. Cells, 2020, 9(9): 2077.
- [25] LEE W R. Mechanisms of hormonal activation of Cdc25A and coactivation of estrogen receptor alpha by protein inhibitor of activated STAT3 (PIAS3) [D]. College Station: Texas AM University, 2009.
- (此文编辑 文玉珊)