

Jak/STAT 信号通路与脓毒血症

周振华 徐卫东

脓毒血症是指感染和创伤等引起微生物侵入人体诱发剧烈的全身炎症反应,并引起组织器官继发性损伤的病理生理过程及临床症候群。尽管新的抗生素和支持治疗方法不断涌现,脓毒血症仍然是严重创伤的重要死亡原因之一。目前,医学界对多器官功能衰竭的处理除了诸如机械通气和肾脏透析等对症支持治疗外尚无其他有效的治疗,理论认为如果能够针对脓毒血症发病机制进行早期干预或人为控制阻断脓毒血症病程转归,可以取得更好的临床治疗效果。因此,国外已经将研究重点转移到脓毒血症的病理生理学研究,其中 Majetschak 等^[1]提出脓毒血症中炎性细胞因子的异常反应在多器官功能衰竭进程中发挥了重要甚至是主导作用。进一步研究发现,脓毒血症中大部分炎性因子生理效应的发挥都是通过某种信号转导的方式实现,近来发现的 Jak/STAT 信号通路是多种炎性细胞因子的共同信号通路之一,在脓毒血症中发挥着举足轻重的作用。

一、细胞因子在脓毒血症中的作用

在脓毒血症病程中,炎症反应贯穿始终,对组织器官的损害及病程的转归都起着主导作用,炎症抑制或过强都可造成相应的损害,何种炎症反应程度或炎症平衡能使机体得到最大保护一直是研究的热点。在炎症平衡过程中,起关键作用的是炎性细胞因子,直接或间接通过某种信号通路发挥生理效应,左右炎症过程。随着研究的深入,发现越来越多的促炎性或抑制炎性细胞因子对炎症起着制约、调节和平衡作用,因此在创伤感染领域细胞因子及其相关研究已成为一个重要的组成部分。

1. 脓毒血症相关细胞因子分类:根据结构和功能,脓毒血症中发挥作用的细胞因子可分为 I 型和 II 型。I 型细胞因子包括 4 个 α -螺旋结构,并相应的与 I 型受体结合,白细胞介素家族的大部分细胞因子如 IL-2、-4、-5 等都属于 I 型,此类细胞因子的功能倾向于诱导红细胞和淋巴细胞增殖分化,尤其是 T 和 B 淋巴细胞。I 型细胞因子受体具有较多保守结构的特征,其中保守的胞外结构域与富含脯氨酸的胞内结构域是与 Jaks 相联系的位点。II 型细胞因子包括 IFN 家族(IFN- α 、IFN- β 、IFN- γ),TNF 家族(TNF- α 、TNF- β 、CD40、Fas)和免疫球蛋白家族(B7.1 和 B7.2)。IFN 家族细胞因子能加强细胞介导的免疫应答反应,特别是通过增加巨噬细胞活性对抗病毒感染发挥重要作用;TNF 家族受体是一种三聚体,它能改变 B 和 T 淋巴细胞活性发挥信号转导的作用而导致细胞凋亡;B7.1 和 B7.2 是 T 细胞的协同刺激因子。除上述四个家族的细胞因子参与脓毒血症外,

作者单位:200433 上海市,第二军医大学附属长海医院骨关节外科
通讯作者:徐卫东 Email: article_zzh@126.com

TGF- β 等也参与炎症反应并发挥重要作用,但目前尚未对这些细胞因子进行规范分类。

此外,细胞因子也可根据辅助 T 淋巴细胞(TH)进行分类,TH1 细胞因子参与促进细胞介导的免疫应答反应,起促炎症发生的作用,其中以 IFN- γ 和 IL-2 为代表。TH2 细胞因子主要参与体液免疫应答反应,在全身多发性感染中发挥重要作用,主要包括 IL-4、-10、-13。TH1 和 TH2 细胞因子间的相互对抗和调制对机体抗感染免疫应答过程起重要作用,如果某种促炎症或抗炎症细胞因子失去制约完全占据主导地位,这将对组织和器官带来灾难性的损害,最后导致多器官功能衰竭。严重脓毒血症患者晚期的免疫反应主要由 TH2 细胞因子主导,但往往预后不佳,这可能同机体免疫抑制有一定的关系^[2]。在炎症发生过程中,TH1 和 TH2 两类细胞因子对脓毒血症的转归起着重要作用。机体的许多调控系统可调节脓毒血症病程中细胞因子间的平衡,其中 TH1 和 TH2 分化的调节机制尚不明确,目前认为细胞的分化过程由 Jak/STAT 和其他未知信号通路调控。Singh 等^[3]认为在脓毒血症 TH1 和 TH2 分化过程中,p38 有丝分裂原活化蛋白酶参与调节过程并对 IL-12 介导的 STAT4 磷酸化和转录活性调节也起着重要的作用。

2. 细胞因子与脓毒血症发生: Weighardt 等^[4]发现在外科手术前降低患者体内 IL-12 水平能够降低手术脓毒血症的发生率和病死率,这在动物模型上也得到了验证,IL-12 缺乏的小鼠不能产生足够的 IFN- γ 从而影响 TH1 的良好分化。通过盲肠穿刺^[5]或腹腔内注射大肠埃希菌^[6]构建小鼠腹膜炎模型,阻断抗-IL-12 抗体的作用后,小鼠对细菌的清除力明显下降。但在脓毒血症内毒素模型中,抗-IL-12 抗体却对机体起保护作用。IFN- γ 为脓毒血症中另一重要的促炎性因子,其能促进 TH1 分化和细胞介导的免疫应答反应。创伤患者血液中单核细胞 HLA-DR 表达水平下降,这将导致脓毒血症的发生率上升产生不良的预后。早在上世纪九十年代,国外就已经证实 IFN- γ 能增加 HLA-DR 表达,并进行了创伤患者的 IFN- γ 临床治疗试验。IL-4 为另一能促进 TH2 细胞分化和加强体液免疫的细胞因子。Douglas 等^[7]发现 IL-4 的水平与创伤严重程度及其伴随的脓毒血症预后有直接关系,同时创伤患者体内低 IL-4 水平可增加院内肺炎的发生率。抗-IL-4 抗体能够恢复 CLP 小鼠脾细胞抑制 TH1 细胞因子的生成能力,而且这与 STAT6 磷酸化数量减少相关^[8]。在金黄色葡萄球菌感染动物模型中,IL-4 缺失的小鼠存活率不同,这种差异主要取决于小鼠的品系来源。129SV 背景的小鼠趋向于产生 TH2 免疫反应,C57BL/6 背景的小鼠则主要产生 TH1 反应。在绿脓杆菌感染的动物模型中,感染 24 h 后给予 IL-4 治疗降低动物的存活率,但对已经感染的动物进行 IL-4 治疗却能增加存活率^[9]。这些研究表明对动物个体感染后的免疫应答反应由 TH1 还是 TH2 占主导地位,何时产生何种细胞因子会截然不同。IL-10 是一种强效的抗炎因子,能够抑制脓毒血症中巨噬细胞的炎性功能^[6,10]。不论是在脓毒血症患者还是动物实验模型中,IL-10 水平的增高均可导致不良的转归^[11]。

二、炎性细胞因子信号通路——Jak/STAT 信号通路

细胞因子是细胞通过自分泌或旁分泌产生的能够调节细胞多种功能的低分子量的多肽或糖蛋白,对机体内炎症反应等多种病理和生理过程起调节作用。除此之外,细胞因子还在细胞的增殖、分化和免疫方面发挥重要作用。细胞因子通常与细胞膜外受体结合后启动胞内信号转导系统,引起目的基因表达发生改变,这种从胞外到细胞核的信号转导极其迅速,其中 Jak/STAT 信号通路是许多细胞因子的共同信号通路之一。由于大部分细胞因子受体不具有内在酪氨酸激酶活性,因此在蛋白磷酸化中需媒介通路将受体与酶连接,而 Jaks 信号通路正是在上述过程中起桥梁作用,当细胞因子与相应受体结合后形成二聚体以促进 Jaks 自身磷酸化和受体磷酸化,受体能够与 STATs 通过特定的结合域结合,结合后 Jaks 可以通过使 STATs 磷酸化的方式使其与受体二聚体分离,并转移至细胞核内,与 DNA 结合启动转录^[12]。目前在哺乳动物已经发现了 4 种 Jaks 和 7 种 STATs,并对其中部分蛋白的结构功能进行了相关研究。

1. Jak/STAT 的结构和功能:目前已经明确的 Jak 家族包括 Jak1、Jak2、Jak3 和 Tyk2,分子量均在 120 ~ 140 kD,且均具有不同的保守区域。其中两个保守区域具有酶样活性,即具备功能的酶活化结构域和伪酶活性结构域(pseudokinase domain)。Jaks 的两个结构域国外以罗马神话中双面神“Janus”命名。其中伪酶活性结构域的功能仍在研究中,目前推测其可能为 STATs 的一个潜在调控位点或“锚点”。有研究显示 Jak1 和 Tyk2 在 IFN- α/β 信号通路中发挥着重要的作用。较多细胞因子均能够诱导 Jak 家族中的酶活化,在蛋白磷酸化过程中,至少两种同类或不同类的 Jaks 参与,因为如果一种 Jak 缺乏,信号转导将会中断。不同细胞因子可活化同一种 Jak 酶,而且同一种 Jak 可在不同的信号通路中发挥作用。

目前已有 7 种 STAT 蛋白在哺乳动物中得到证实,分别为 STAT1、-2、-3、-4、-5a、-5b 和 -6,分子量 750 ~ 950 kD,由 3 个不同染色体基因编码。STAT 蛋白共享功能结构域-SH2(Src homology)使 STAT 能够与对应磷酸化因子受体联系,此结构域与 STAT 与不同细胞因子间的选择性应答反应相关。其 N-末端有一个约 700 氨基酸长度的酪氨酸保守序列,此序列能够被 Jaks 磷酸化使 STAT 变成二聚体,并进入细胞核内发挥效应。STAT 能够进行同源或异源二聚体化,通过绑定不同转录因子位点发挥不同的作用。

2. STAT 蛋白研究现状:目前国内外对 STAT 蛋白家族的研究仍有一定的局限性,各种蛋白在信号通路中的作用机制及对其他旁路的影响甚至个别蛋白的结构都未能完全阐明。国外研究报道以 STAT1、-3、-4、-6 多见。目前,STAT4 和 STAT6 被认为是脓毒血症免疫反应的 STAT 信号通路中最重要的两类蛋白,主要是因为其对 TH 细胞分化具有重要的作用,为脓毒血症中研究最广的蛋白。在 Matsukawa 等^[13]的脓毒血症动物模型研究中,与野生型对照组相比,敲除 STAT4 和 STAT6 基因的小鼠 CLP 后存活率提高,而单独 STAT4 敲除小鼠与 STAT6 敲除小鼠相比,前者存活率更高。CLP 后 STAT6 缺乏小鼠体内致病菌水平也比野生

型小鼠低,可能与巨噬细胞活化及 IL-12 水平上升有关。STAT4 缺乏小鼠在 CLP 后尽管存活率显著提高,但体内致病菌的水平也显著提高^[14],可能是由于 STAT4 缺乏小鼠血清中 IL-12 水平上升缓慢,阻止了针对细菌的剧烈促炎症反应而提高了存活率。有趣的是,STAT4 缺乏小鼠 CLP 后 IL-10 和 IL-13 水平上升,肝功能损害下降,Matsukawa 推测由于肝脏是多器官功能衰竭中最常见的受损器官之一,STAT4 与多器官衰竭之间存在必然联系。IL-4 活化的 STAT6 对 TH2 细胞分化至关重要,而 TH1 诱导因子 IFN- γ 能对其进行负调控。与 STAT6 相比,STAT4 对 TH1 介导的免疫反应同样重要,研究表明 STAT4 的活性和水平对 C57BL/6 小鼠 TH1-优势的宿主免疫反应、BALB/c 小鼠 TH2-优势的宿主免疫反应具有影响作用^[15]。有学者已经开展了 STAT4 和 STAT6 在细胞内感染如刚地弓形虫^[16](*Toxoplasma gondii*)和克氏锥虫(*Trypanosoma cruzi*)^[17]感染的研究,证明二者在抗感染的过程中起重要作用。在机体抗感染过程中,TH2 介导的免疫应答较晚,当机体对感染不能迅速进行 TH1 介导的免疫应答时,BALB/c 小鼠对细胞内致病病原体具有更高的易感性。与此相似,临床中 STAT4 缺乏患者对非典型分枝杆菌和葡萄球菌易感。值得注意的是,除了细胞因子外,很多化学因子在脓毒血症白细胞更新中发挥着重要作用,TH1 和 TH2 细胞均可产生化学因子,而 STAT6 在 TH1 和 TH2 化学因子相关反应中也发挥着作用。

在小鼠 CLP 模型,肝脏 STAT3 活性和小鼠的生存率呈正相关,肝脏及血清内 IL-6 水平降低或活性下降,会导致小鼠的病死率增加,而 IL-6 信号传递正是通过 STAT3 实现。对此现象的一种推测是在脓毒血症发生过程中,肝脏对 IL-6 的反应力降低,从而降低 STAT3 的磷酸化作用,因此在脓毒血症中维持足够浓度的 IL-6 非常重要,不论在鼠科动物还是创伤患者都可根据 IL-6 的水平判断疾病的预后^[14,18]。STAT1 对 IFN- γ 的信号转导起主导作用,而后者是促进单核巨噬细胞活化的重要因子,STAT1 在 IFN- γ 和其他刺激因子例如细菌产物 LPS 等信号通路之间起桥梁作用,其效应的发挥是通过其位点上的丝氨酸和酪氨酸交替磷酸化实现,同时也需要 LPS 诱导基因的表达。结核分枝杆菌阻断 IFN- γ 活化巨噬细胞的吞噬作用是通过干扰与 STAT1 相关的能上调 IFN- γ 依赖基因表达的转录因子活性而实现。许多病毒也能够抑制 STAT1,Nichole 等^[19]发现分枝杆菌感染的患者可引起 STAT1 或 IFN- γ 受体突变。其他病原体如单核细胞增多性李斯特菌能够降低 STAT1 磷酸化从而限制宿主的免疫反应,并且能够增加 SOCS3 的 mRNA 表达水平^[20]。有更多的证据表明 STAT1 是一种重要的免疫调节蛋白,并且和诱导细胞凋亡有关^[21]。目前关于 STAT1 的更多研究正在进行之中。

3. Jak/STAT 信号通路在脓毒血症中的作用及其调控:国外研究人员通过基因敲除小鼠模型研究 STAT 蛋白的功能,结果提示 STAT 蛋白在机体抵御不同形式脓毒血症的过程中扮演了极其重要的角色。STAT1 基因敲除小鼠的 IL-6、IL-10 和生长激素合成减少,IFN- $\alpha/\beta/\gamma$ 信号通路活性减弱,使小鼠对病毒和细菌等病原体易感。STAT2 缺乏小鼠同样也出现 IFN- $\alpha/\beta/\gamma$ 信号通路活性减弱和病原

体易感现象。STAT3 缺乏的小鼠往往在胚胎早期便发生死亡,间接研究结果^[22]显示 STAT3 在 T 细胞分化过程和脓毒血症中 IL-10 及 IL-6 的效应发挥中起着重要作用,NK 细胞中的 STAT3 能够被 IL-18 活化产生 IFN- γ 。STAT4 似乎只与 IL-12 这一种细胞因子有关,IL-12 是 TH1 细胞分化的主要调节因子之一,只活化 NK 细胞而不活化 T 细胞中的 STAT4,缺乏 STAT4 的小鼠 TH1 相关细胞因子合成数量下降,免疫力降低。STAT5a 和 STAT5b 缺乏小鼠表现出类似的功能缺陷,提示这两类蛋白具有相近的同源结构。对感染的反应而言,这两类蛋白缺乏的小鼠主要表现为 NK 细胞数量和功能下降及 IL-2 生理效应显著增高。STAT6 缺乏可以导致 IL-4 和 IL-13 效应严重减弱,TH2 细胞分化缺陷和免疫球蛋白 E 缺乏。因此,STAT6 缺乏的小鼠对许多致病菌易感。

许多细胞因子效应的发挥是通过 Jak/STAT 信号通路实现,因此在控制脓毒血症免疫反应过程中 Jak/STAT 信号通路的调控显得尤为重要。STAT 蛋白可以通过酪氨酸磷酸酶或泛素蛋白酶旁路降解而实现去磷酸化,例如在脓毒血症中 STAT1 降解可调节 IFN- γ 活性。另一种主要调控方式是通过细胞因子信号抑制蛋白(SOCS)调节。该类蛋白是近年发现的一类调节蛋白,根据其最初发现的功能命名。目前已经发现了 8 种不同的 SOCS 家族蛋白,分别是 SOCS1-7 和 CIS 1。SOCS 蛋白结构包括了一个酶抑制区域和延伸的 SH2 子域,SOCS 蛋白能够通过上述位点抑制 Jak/STAT 信号通路。SOCS1 和 SOCS3 可直接与 Jaks 结合而抑制其功能,其他 SOCS 蛋白通过阻止 STAT 与受体结合或受体磷酸化方式而抑制 Jak/STAT 信号通路转导。由于 SOCS3 是通过 IL-10 产生,所以有人推测这可能是 IL-10 介导的巨噬细胞促炎症功能抑制的机制之一^[21,23]。与很多蛋白相似,SOCS 蛋白的合成是通过经典的反馈回路调节,其基因表达由 STAT 蛋白及各个细胞因子诱导产生。

三、结语

细胞因子在脓毒血症中发挥重要作用,在某种程度上决定了炎症的发展和病情的转归。随着分子生物学的发展和研究手段的进步,细胞因子的作用方式或其相关的信号通路被逐渐阐明,其中炎性细胞因子作用方式大部分都是通过 Jak/STAT 信号通路实现,这一通路是细胞及体液免疫最重要的组成部分之一,除帮助实现相关细胞因子功能外,该通路还参与 T 淋巴细胞的分化过程,并且在机体的其他免疫过程如过敏反应和自身免疫反应中发挥不可或缺的作用。目前,国外很多学者都在从事该领域的相关研究,对该信号通路的相关研究将来可为治疗脓毒血症的提供更好方法,从而为脓毒血症及各种感染患者带来希望。

参 考 文 献

- 1 Majetschak M, Krehmeier U, Ostroverkh L, et al. Alterations in leukocyte function following surgical trauma: differentiation of distinct reaction types and association with tumor necrosis factor gene polymorphisms. Clin Diagn Lab Immunol. 2005, 12: 296-303.

- 2 Feili-Hariri M, Falkner DH, Morel PA. Polarization of naive T cells into Th1 or Th2 by distinct cytokine-driven murine dendritic cell populations: implications for immunotherapy. *J Leukoc Biol*, 2005, 78:656-664.
- 3 Singh RA, Zhang JZ. Differential activation of ERK, p38, and JNK required for Th1 and Th2 deviation in myelin-reactive T cells induced by altered peptide ligand. *J Immunol*, 2004, 173:7299-7307.
- 4 Weighardt H, Heidecke CD, Westerholt A, et al. Impaired monocyte IL-12 production before surgery as a predictive factor for the lethal outcome of postoperative sepsis. *Ann Surg*, 2002, 235:560-567.
- 5 Matsukawa A, Kudoh S, Sano G, et al. Absence of CC chemokine receptor 8 enhances innate immunity during septic peritonitis. *FASEB J*, 2006, 20:302-324.
- 6 Watanabe H, Kubo M, Numata K, et al. Overexpression of suppressor of cytokine signaling-5 in T cells augments innate immunity during septic peritonitis. *J Immunol*, 2006, 177:8650-8657.
- 7 Faunce DE, Gamelli RL, Choudhry MA, et al. A role for CD1d-restricted NKT cells in injury-associated T cell suppression. *J Leukoc Biol*, 2003, 73:747-755.
- 8 Chen Z, Lund R, Aittokallio T, et al. Identification of novel IL-4/Stat6-regulated genes in T lymphocytes. *J Immunol*, 2003, 171:3627-3635.
- 9 Min B, Prout M, Hu-Li J, et al. Basophils produce IL-4 and accumulate in tissues after infection with a Th2-inducing parasite. *J Exp Med*, 2004, 200:507-517.
- 10 Nemeth ZH, Lutz CS, Csoka B, et al. Adenosine augments IL-10 production by macrophages through an A2B receptor-mediated posttranscriptional mechanism. *J Immunol*, 2005, 175:8260-8270.
- 11 Ismail HF, Fick P, Zhang J, et al. Depletion of neutrophils in IL-10(-/-) mice delays clearance of gastric *Helicobacter* infection and decreases the Th1 immune response to *Helicobacter*. *J Immunol*, 2003, 170:3782-3789.
- 12 Zorn E, Nelson EA, Mohseni M, et al. IL-2 regulates FOXP3 expression in human CD4⁺ CD25⁺ regulatory T cells through a STAT-dependent mechanism and induces the expansion of these cells in vivo. *Blood*, 2006, 108:1571-1579.
- 13 Matsukawa A, Kaplan MH, Hogaboam CM, et al. Pivotal role of signal transducer and activator of transcription (Stat)4 and Stat6 in the innate immune response during sepsis. *J Exp Med*, 2001, 193:679-688.
- 14 Kuroda E, Kito T, Yamashita U. Reduced expression of STAT4 and IFN-gamma in macrophages from BALB/c mice. *J Immunol*, 2002, 168:5477-5482.
- 15 Rodriguez M, Zocklein L, Gamez JD, et al. STAT4- and STAT6-signaling molecules in a murine model of multiple sclerosis. *FASEB J*, 2006, 20:343-345.
- 16 Dawson HD, Beshah E, Nishi S, et al. Localized multigene expression patterns support an evolving Th1/Th2-like paradigm in response to infections with *Toxoplasma gondii* and *Ascaris suum*. *Infect Immun*, 2005, 73:1116-1128.
- 17 Reyes JL, Terrazas LI, Espinoza B, et al. Macrophage migration inhibitory factor contributes to host defense against acute *Trypanosoma cruzi* infection. *Infect Immun*, 2006, 74:3170-3179.
- 18 Klein C, Wustefeld T, Assmus U, et al. The IL-6-gp130-STAT3 pathway in hepatocytes triggers liver protection in T cell-mediated liver injury. *J Clin Invest*, 2005, 115:860-869.
- 19 Korpi-Steiner NL, Bates ME, Lee WM, et al. Human rhinovirus induces robust IP-10 release by monocytic cells, which is independent of viral replication but linked to type I interferon receptor ligation and STAT1 activation. *J Leukoc Biol*, 2006, 80:1364-1374.
- 20 Ben-Zvi T, Yayon A, Gertler A, et al. Suppressors of cytokine signaling (SOCS) 1 and SOCS3 interact with and modulate fibroblast growth factor receptor signaling. *J Cell Sci*, 2006, 119:380-387.
- 21 Zhang Y, Takami K, Lo MS, et al. Modification of the Stat1 SH2 domain broadly improves interferon efficacy in proportion to p300/CREB-binding protein coactivator recruitment. *J Biol Chem*, 2005, 280:34306-34315.
- 22 Niemand C, Nimmegern A, Haan S, et al. Activation of STAT3 by IL-6 and IL-10 in primary human macrophages is differentially modulated by suppressor of cytokine signaling 3. *J Immunol*, 2003, 170:3263-3272.
- 23 Qasimi P, Ming-Lum A, Ghanipour A, et al. Divergent mechanisms utilized by SOCS3 to mediate interleukin-10 inhibition of tumor necrosis factor alpha and nitric oxide production by macrophages. *J Biol Chem*, 2006, 281:6316-6324.

(收稿日期:2008-01-03)

(本文编辑:温少芳)

周振华,徐卫东. Jak/STAT 信号通路与脓毒血症[J/CD]. 中华实验和临床感染病杂志:电子版, 2008, 2(3):220-225.