

Janus激酶-信号转导与转录激活因子信号通路 与脓毒症关系的复杂性

于欣睿 曾辉

【摘要】脓毒症是机体对感染反应失调,导致危及生命的器官功能障碍。其损伤范围广泛,严重威胁生命健康,主要由全身炎症反应综合征(SIRS)与代偿性抗炎反应综合征(CARS)共同导致,机体表现为免疫功能紊乱与器官功能障碍。随着对脓毒症发生机制研究的深入,Janus激酶-信号转导与转录激活因子(JAK-STAT)信号通路在脓毒症中的作用逐渐受到关注。本文就JAK-STAT信号通路在脓毒症关系的复杂性进行综述,阐述该通路在脓毒症的发生、发展与调控中的作用以及相关治疗的新进展。

【关键词】脓毒症; Janus激酶-信号转导与转录激活因子信号通路; 细胞因子

Complexity between the Janus kinase-signal transducer and activator of transcription proteins signaling pathway and sepsis Yu Xinrui, Zeng Hui. Biomedical Innovation Center, Beijing Shijitan Hospital, Capital Medical University, Beijing 100038, China

Corresponding author: Zeng Hui, Email: zenghui@ccmu.edu.cn

【Abstract】Sepsis occurs when the body's response to infection results in end-organ dysfunction, which can cause extensive organ damage and life-threatening medical emergency. Systemic inflammatory response syndrome (SIRS) and compensatory anti-inflammatory response syndrome (CARS) are two main pathways which lead to sepsis-induced organ dysfunction. With further research on the pathogenesis of sepsis, the role of the Janus kinase-signal transducer and activator of transcription proteins (JAK-STAT) signaling pathway in sepsis has gradually attracted more attention. This paper provides an overview of the complexity between the JAK-STAT signaling pathway and sepsis by expounding the role of JAK-STAT signaling pathway in the occurrence, development, regulation and potential new treatment of sepsis.

【Key words】Sepsis; Janus kinase-signal transducer and activator of transcription proteins signaling pathway; Cytokines

脓毒症是机体对感染反应失调所导致危及生命的器官功能障碍^[1]。病毒感染是脓毒症最重要的病因之一^[2]。据统计,每年约有3 000万人罹患脓毒症,其病死率高达40%^[3],是重症监护病房患者重要的死因。

脓毒症的免疫机制非常复杂,Janus激酶-信号转导与转录激活因子(janus kinase-signal transducer and activator of transcription, JAK-STAT)信号通路作为免疫系统调控的重要节点之一,参与细胞分化、凋亡和免疫调节等重要过程。本文就JAK-STAT通路在脓毒症间的复杂关系进行综述,并对JAK-STAT通路靶向药物的研发方向进行展望。

一、JAK-STAT信号通路结构功能的复杂性

(一) JAK-STAT通路的成员与信号转导过程

JAK-STAT信号通路主要包含3种组分:酪氨酸激酶相

关受体、Janus可溶性酪氨酸激酶(janus kinase, JAK)和信号转导与转录激活因子(signal transducer and activator of transcription, STAT)。JAK是一类非受体型酪氨酸蛋白激酶家族,由4个成员组成,分别为JAK1、JAK2、JAK3和TYK2^[4];每个成员有7个同源区域(JAK homology domain, JH),即JH1~JH7,并形成4个结构域。其中,JH1因具有激酶活性,故成为调控该通路活性的重要药物靶点。JAK的底物是STAT;STAT属于脱氧核糖核酸结合蛋白家族,有7个成员,分别为STAT1、STAT2、STAT3、STAT4、STAT5A、STAT5B和STAT6,并形成包括Src同源2结构域(Src-homology 2, SH2)在内的6个结构域^[5]。

JAK-STAT信号通路的转导过程可分为5个步骤(图1):

1. 细胞因子与细胞膜表面受体结合,诱导受体二聚体化。
2. 受体的不同亚基胞内段结合着不同JAK, JAK相互接近,相互磷酸化激活的同时也将受体胞内段的酪氨酸残基磷酸化。
3. 磷酸化的酪氨酸残基给胞质中STAT提供停泊位点, STAT通过SH2结构域与受体结合。

DOI: 10.3877/cma.j.issn.1674-1358.2022.06.002

基金项目: 国家自然科学基金面上项目(No. 81971862); 北京市医院管理中心“登峰”人才培养计划(No. DFL20191801)

作者单位: 100038 北京, 首都医科大学附属北京世纪坛医院生物医学创新中心

通信作者: 曾辉, Email: zenghui@ccmu.edu.cn

4. STAT被磷酸化激活,与受体分离,通过SH2结构域形成STAT二聚体。

5. STAT二聚体进入细胞核,与DNA特定区域结合,调节相关基因的表达^[4]。

(二) JAK-STAT通路正向转导作用的复杂性

1. JAK-STAT通路活化的正向调控十分复杂:脓毒症状态下,免疫细胞可释放多种细胞因子。目前已能激活JAK-STAT通路的细胞因子有50余种^[6]。这些因子可调控机体免疫、凝血以及神经内分泌等多系统的功能。而且JAK-STAT通路众多成员间的信号转导复杂多样;一种细胞因子可能激活不同JAK家族成员,同一种JAK分子亦可能传递多种细胞因子的信号。其他通路,如核因子 κ B (nuclear factor-kappa B, NF- κ B)通路^[7]和丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinases, MAPK)通路^[8]等也与JAK-STAT通路相互影响。JAK-STAT通路又参与调控多种下游细胞的免疫应答,如巨噬细胞、中性粒细胞、T细胞、自然杀伤细胞(natural killer cell, NK)和树突状细胞(dendritic cell, DC)等。例如,STAT4既可调节辅助性T细胞(helper T cell, Th)1与Th2细胞间的平衡,也可介导白细胞介素(interleukin, IL)-12对NK细胞和树突状细胞的调控^[9]。

2. JAK-STAT通路负向调控机制的复杂性:机体存在3种重要的JAK-STAT通路负向调控机制,即细胞因子信号转导抑制因子(suppressors of cytokine signaling, SOCS)、蛋白酪氨酸磷酸酶(protein tyrosine phosphatase, PTP)和STAT蛋白抑制因子(protein inhibitors of activated STAT, PIAS)。SOCS由8个成员构成(SOCS1~7和CIS)。活化的STAT可迅速激活SOCS表达,SOCS直接抑制JAK和STAT磷酸化并阻止STAT与受体结合^[4]。参与调控JAK-STAT通路的PTP主要有6种,即为CD45、PTP-RT、PTP1B、TC-PTP、SHP1和SHP2^[5]。PTP可催化STAT去磷酸化。PIAS有PIAS1、PIASx α 、PIASx β 、PIAS3和PIAS4 (PIAS γ) 5个成员。PIAS为结构蛋白,不受JAK-STAT通路激活的影响,可与不同STAT选择性结合,掩盖STAT的DNA结合域,从而阻止干扰素(interferon, IFN)- α 、IFN- γ 等相关DNA的转录,并促进STAT泛素化^[5]。

这三种机制在脓毒症的抗炎反应阶段发挥着重要作用。

二、JAK-STAT信号通路在脓毒症中作用的复杂性

JAK-STAT信号通路在脓毒症的全过程中(促炎反应阶段、抗炎反应阶段和免疫抑制阶段)均发挥着重要作用^[10]。

参与脓毒症中促炎与抗炎反应的上游细胞因子主要包括I类细胞因子、II类细胞因子和肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF)等^[11]。这些上游因子选择性激活JAK-STAT通路不同组分发挥不同作用(表1)。目前已有实验证实STAT1、STAT4、TYK2和JAK2可介导脓毒症促炎反应。Tyk2^{-/-}小鼠可通过减少促炎因子IL-27的产生抵抗脓毒症休克^[12]。而STAT3^[13]、STAT5^[14]和STAT6^[15]则被证明可通过调控巨噬细胞、中性粒细胞和Th2细胞等介导抗炎反应。有研究在脓毒症小鼠模型中发现,STAT3可抑制单核巨噬细胞产生TNF- α 和IL-6等促炎因子^[13]。

值得注意的是, TNF- α 、IFN- γ 和高迁移率族蛋白(human high-mobility group box, HMGB)1等可诱发炎症级联反应:①TNF- α :脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)可激活MAPK通路,产生TNF- α ,继而激活JAK-STAT通路,活化的STAT可诱导STAT3表达,STAT3反过来又可结合TNF- α 启动子,促进其转录^[16]。②IFN- γ :II类细胞因子可通过JAK1/JAK2-STAT1,启动IFN- γ 表达,而IFN- γ 反过来又可再激活JAK1/JAK2-STAT1并使STAT3磷酸化,上调干扰素调控因子(interferon regulatory factor, IRF)-1的转录,增加IL-2和诱导性一氧化氮合酶(inducible nitric oxide synthase, iNOS)的基因表达^[17]。③HMGB1:细胞损伤后释放的HMGB1与Toll样受体(Toll-like receptor, TLR)4等受体结合,激活NF- κ B通路,使促炎因子(如TNF- α 和IL-6)释放,激活JAK2-STAT1/STAT3通路^[18],加重炎症损伤,释放更多HMGB1。若能针对相关通路设计特异性阻断药物,可能使脓毒症在早期炎症阶段得到逆转^[19]。

JAK-STAT通路中STAT1、STAT3和STAT5通过调控调节性T细胞(regulatory cell, T_{reg})与骨髓衍生抑制细胞(myeloid derived suppressor cells, MDSCs)^[20],介导脓毒症诱导的免疫抑制效应。STAT1和STAT5可调控

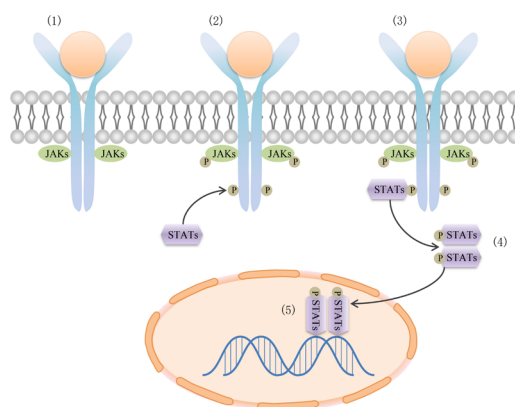


图1 JAK-STAT信号通路转导过程示意图

表1 脓毒症中 JAK-STAT 通路相关因子及其作用

因子	JAK	STAT	作用
I 类细胞因子			
IL-2	JAK1、JAK3	STAT3、STAT5	诱导T细胞分化
IL-4	JAK1、JAK3	STAT6	抗炎, 诱导Th2细胞分化
IL-5	JAK2	STAT3、STAT5、STAT6	诱导B细胞成熟
IL-6	JAK1、JAK2、TYK2	STAT1、STAT3	促炎, 诱导免疫细胞成熟活化
IL-7	JAK1、JAK3	STAT3、STAT5	促进T、B细胞存活
IL-12	JAK2、TYK2	STAT4	促炎, 激活T细胞、NK细胞
IL-13	JAK1、JAK2、JAK3、TYK2	STAT6	抗炎
IL-23	JAK2、TYK2	STAT3、STAT4	促炎
GM-CSF	JAK2	STAT3、STAT5	诱导粒细胞、单核细胞生成
II 类细胞因子			
IFN- α	JAK1、TYK2	STAT1、STAT2、STAT4	促炎或抗炎
IFN- β	JAK1、TYK2	STAT1、STAT2、STAT4	抗病毒, 促炎
IFN- γ	JAK1、JAK2	STAT1	促炎, 激活单核巨噬细胞, 正反馈
IL-10	JAK1、JAK2、TYK2	STAT1、STAT3	抗炎, 诱导Th2分化, 上调SOCS
其他			
TNF- α	JAK2	STAT1、STAT3	促炎, 正反馈; 抗炎
HMGB1	JAK1、JAK2	STAT1、STAT3	晚期促炎因子, 正反馈

CD4⁺CD25⁺CD127^{low}FOXP3⁺ (CD³⁹⁺) T_{reg}细胞表面FOXP3基因的表达式, 影响T_{reg}生成。T_{reg}可通过表达共抑制受体、分泌抑制性细胞因子(如IL-10)和产生细胞毒性作用的方式, 诱导免疫抑制效应^[10]。MDSCs的存活与STAT3和STAT5密切相关。此外, 有研究提出脓毒症还可通过阻滞分化, 使髓系祖细胞急剧减少, 产生免疫麻痹^[21]; 与造血功能密切相关的JAK2可能在其中起到重要作用^[22]。

三、针对JAK-STAT信号通路治疗脓毒症药物研发的复杂性

(一) 上游细胞因子相关药物

细胞因子相关药物可通过调控细胞因子的浓度、活性或受体结合力的方式, 影响JAK-STAT通路的活化, 从而调控脓毒症中的免疫反应。该类药物可分为重组细胞因子、细胞因子抗体、细胞因子受体抗体和激素等类别^[10], 包括IFN- α 、IFN- γ 、重组人白细胞介素(recombinant human interleukin, rhIL)-11和糖皮质激素等, 现广泛应用于脓毒症治疗^[23]; 如IFN- α 可通过JAK-STAT通路抑制IL-6、粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子(granulocyte-macrophage colony stimulating factor, GM-CSF)的产生^[24], 可减轻脓毒症中促炎反应对肺的损伤。此外, IL-6R抑制剂(托珠单抗)可阻断IL-6激活JAK-STAT (STAT1、STAT3、STAT5)通路, 控制脓毒症中的细胞因子风暴^[25]。

但此类药物的疗效有限, 原因可能是: ①在脓毒症中, 有多种细胞因子同时作用于机体, 仅调控某一种或某一类细胞因子作用范围小、强度弱, 不足以控制病情。②阻断某细胞因子与JAK-STAT相关受体的结合后, 该因子可通过其他信号转导通路参与脓毒症的调控。而针对下游共同通路的靶向药可能通过提高作用强度与特异性, 使疗效得到提升。

(二) JAK-STAT通路特异性抑制剂

1. JAK抑制剂与STAT抑制剂研发的复杂性: JAK抑制剂(JAK inhibitors, Jakinibs)主要作用于JH1。目前,

Jakinibs分为两代^[4]: 第一代包括鲁索替尼、巴瑞替尼和托法替尼等, 其特异性低、范围广、效应强, 但二次感染风险高。第二代主要针对JAK1与JAK3, 特异性强, 减少了对与造血功能相关的JAK2的抑制, 但目前大多处于临床试验阶段。

STAT缺少激酶结构域, 保守性较差, 其抑制剂的设计存在一定困难。目前已研制出的STAT3特异性抑制剂选择性和生物利用度均较低, 在体内试验中降解过快^[19]。

2. JAK-STAT通路抑制剂用于脓毒症治疗的复杂性: 首先, JAK-STAT通路抑制剂的临床研究困难。因现阶段对该通路在脓毒症中的作用认识有限, 故在评估该类药物对脓毒症的治疗时, 其用药方案、药物疗效及不良反应只能依靠动物实验或在其他疾病中的应用进行推测, 亟需相关研究进一步补充。

第二, JAK-STAT通路抑制剂可能引起严重的不良反应。该药在治疗风湿类疾病时就已发现了继发感染(如带状疱疹)、心血管系统损害和血细胞减少症等不良反应^[19]。因此在全身给药治疗脓毒症时, 若给药方案不当或药物特异性不强则可能会引发严重的不良反应。

第三, 机体可对Jakinibs治疗脓毒症产生耐受。这可能与JAK-STAT成员间广泛的相互作用有关。如在某种Jakinibs的作用下JAK2虽不能与JAK1和TYK2相互作用磷酸化, 但其他JAK成员仍可活化JAK2, 介导下游信号转导^[26]。

3. JAK-STAT通路抑制剂治疗脓毒症的展望: 为提高JAK-STAT通路抑制剂的特异性, 减少不良反应, 研究者可参考以下思路进行探索: (1)继续深入研究JAK-STAT通路信号转导模式、JAK与STAT家族的化学结构, 寻找更具特异性的作用位点。例如, Ferrao等^[27]研究提出, JAK蛋白FEBM结构域, STAT蛋白的卷曲螺旋结构域(coiled coil domain, CCD)与DNA结合结构域(DNA-binding

domain, DBD)可能具有特异性更强的位点。

(2) 使Jak inhibitors同时作用于JH1和其他结构域,即激酶以外的部位。

(3) 将Jak inhibitors包裹入纳米颗粒,并在颗粒表面嵌入特异性配体,使药物结合于特定受体。该颗粒可与受严重损害的组织结合,如将得克替尼(抗JAK3)包裹入表面带有CD31配体的纳米胶囊^[28],使其特异性作用于内皮组织,减轻内皮功能损伤,阻断多器官功能衰竭的发生。该颗粒也可与免疫细胞特异性结合,如将托法替尼(抗JAK1-3)包裹入表面带有CD206配体的纳米胶囊^[29],作用于巨噬细胞,在不诱导其凋亡的情况下,促进其向替代性活化巨噬细胞(alternatively activated macrophage, M2)方向转化,以控制炎症反应。

(4) 从肿瘤治疗、MDSCs调控、设计直接影响特定基因表达的长链非编码RNA(long non-coding RNA, lncRNA)和微小RNA(microRNA, miRNA)^[30]等方面寻找突破点。

四、小结与展望

本文综述了JAK-STAT通路于脓毒症发生、发展与调控间错综复杂的关系,探讨脓毒症治疗的新方向:研究者可从深入研究JAK-STAT通路分子结构,提高药物特异性等方面寻找改进药物的新方案。但目前脓毒症的免疫治疗主要用于减轻过度炎症反应,而针对脓毒症诱导的免疫抑制治疗研究尚少。随着研究的深入,针对JAK-STAT通路的药物在脓毒症治疗中将有非常广阔的前景。

参 考 文 献

- [1] Singer M, Deutschman CS, Seymour CW, et al. The third international consensus definitions for sepsis and septic shock (sepsis-3)[J]. J Am Med Assoc, 2016, 315(8):801-810.
- [2] Rubio I, Osuchowski MF, Shankar-Hari M, et al. Current gaps in sepsis immunology: New opportunities for translational research[J]. Lancet Infect Dis, 2019, 19(12):E422-E436.
- [3] Fleischmann C, Scherag A, Adhikari NKJ, et al. Assessment of global incidence and mortality of hospital-treated sepsis[J]. Am J Respir Crit Care Med, 2016, 193(3):259-272.
- [4] Xin P, Xu X, Deng C, et al. The role of JAK/STAT signaling pathway and its inhibitors in diseases[J]. Int Immunopharmacol, 2020, 80:106210.
- [5] Morris R, Kershaw NJ, Babon JJ. The molecular details of cytokine signaling via the JAK/STAT pathway[J]. Protein Sci, 2018, 27(12):1984-2009.
- [6] Villarino AV, Kanno Y, O'shea JJ. Mechanisms and consequences of Jak-STAT signaling in the immune system[J]. Nat Immunol, 2017, 18(4):374-384.
- [7] Amini-Farsani Z, Yadollahi-Farsani M, Arab S, et al. Prediction and analysis of micromRNAs involved in COVID-19 inflammatory processes associated with the NF- κ B and JAK/STAT signaling pathways[J]. Int Immunopharmacol, 2021, 100:108071.
- [8] Tzeng HT, Chyuan IT, Lai JH. Targeting the JAK-STAT pathway in autoimmune diseases and cancers: A focus on molecular mechanisms and therapeutic potential[J]. Biochem Pharmacol, 2021, 193:114760.
- [9] Stark R, Hartung A, Zehn D, et al. IL-12-mediated STAT4 signaling and TCR signal strength cooperate in the induction of CD40L in human and mouse CD8⁺ T cells[J]. Eur J Immunol, 2013, 43(6):1511-1517.
- [10] Venet F, Monneret G. Advances in the understanding and treatment of sepsis-induced immunosuppression[J]. Nat Rev Nephrol, 2018, 14(2):121-137.
- [11] Clere-Jehl R, Mariotte A, Meziani F, et al. JAK-STAT targeting offers novel therapeutic opportunities in sepsis[J]. Trends Mol Med, 2020, 26(11):987-1002.
- [12] Bosmann M, Strobl B, Kichler N, et al. Tyrosine kinase 2 promotes sepsis-associated lethality by facilitating production of interleukin-27[J]. J Leukocyte Biol, 2014, 96(1):123-131.
- [13] Hillmer EJ, Zhang HY, Li HS, et al. Stat3 signaling in immunity[J]. Cytokine Growth Factor Rev, 2016, 31:1-15.
- [14] Eddy WE, Gong KQ, Bell B, et al. Stat5 is required for CD103(+) dendritic cell and alveolar macrophage development and protection from lung injury[J]. J Immunol, 2017, 198(12):4813-4822.
- [15] Horhold F, Eisel D, Oswald M, et al. Reprogramming of macrophages employing gene regulatory and metabolic network models[J]. PLoS Comput Biol, 2020, 16(2):e1007657.
- [16] Zhang S, Liu X, Goldstein S, et al. Role of the JAK/STAT signaling pathway in the pathogenesis of acute myocardial infarction in rats and its effect on NF- κ B expression[J]. Mol Med Rep, 2013, 7(1):93-98.
- [17] Karki R, Kanneganti TD. The 'cytokine storm': Molecular mechanisms and therapeutic prospects[J]. Trends Immunol, 2021, 42(8):681-705.
- [18] Li T, Wu S, Zhang H, et al. Activation of nicotinic receptors inhibits TNF- α -induced production of pro-inflammatory mediators through the jak2/stat3 signaling pathway in fibroblast-like synoviocytes[J]. Inflammation, 2015, 38(4):1424-1433.
- [19] Banerjee S, Biehl A, Gadina M, et al. JAK-STAT signaling as a target for inflammatory and autoimmune diseases: Current and future prospects[J]. Drugs, 2017, 77(5):521-546.
- [20] Xu WL, Li SL, Li M, et al. Targeted elimination of myeloid-derived suppressor cells via regulation of the STAT pathway alleviates tumor immunosuppression in neuroblastoma[J]. Immunol Lett, 2021, 240:31-40.
- [21] 孔雅娴, 栗雅杰, 马雅奎, 等. 小鼠腹腔持续置管引流模型骨髓髓系造血受抑制的研究[J/CD]. 中华实验和临床感染病杂志(电子版), 2014, 8(4):453-457.
- [22] Van Egeren D, Escabi J, Nguyen M, et al. Reconstructing the lineage histories and differentiation trajectories of individual cancer cells in myeloproliferative neoplasms[J]. Cell Stem Cell, 2021, 28(3):514-523. e9.
- [23] 尹江宁, 殷雪平, 陈义坤, 等. 重组人白细胞介素-11对脓毒症大鼠肺损伤的保护作用[J]. 中国急救医学, 2020, 40(2):164-169.
- [24] 智鹏, 杨波, 陈浩然, 等. A干扰素抗病毒相关全基因组表达谱的生物信息学分析及其对新型冠状病毒肺炎潜在药物研究的意义[J]. 转化医学杂志, 2020, 9(6):368-372.
- [25] Zhang C, Wu Z, Li JW, et al. Cytokine release syndrome in severe COVID-19: Interleukin-6 receptor antagonist tocilizumab may be the key to reduce mortality[J]. Int J Antimicrob Agents, 2020, 55(5):105954.
- [26] Luo Y, Alexander M, Gadina M, et al. JAK-STAT signaling in human disease: From genetic syndromes to clinical inhibition[J]. J Allergy Clin Immunol, 2021, 148(4):911-925.
- [27] Ferrao R, Wallweber HJA, Ho H, et al. The structural basis for class II cytokine receptor recognition by JAK1[J]. Structure, 2016, 24(6):897-905.
- [28] Ansari MJ, Alshahrani SM. Nano-encapsulation and characterization of baricitinib using poly-lactic-glycolic acid co-polymer[J]. Saudi Med J, 2019, 27(4):491-501.
- [29] De Vries LCS, Duarte JM, De Krijger M, et al. A JAK1 selective kinase inhibitor and tofacitinib affect macrophage activation and function[J]. Inflamm Bowel Dis, 2019, 25(4):647-660.
- [30] 莫均荣, 张振辉, 陈美婷, 等. 基于GEO芯片和生物信息学分析构建脓毒症相关ceRNA网络[J]. 中华危重病急救医学, 2021, 33(4):427-432.

(收稿日期: 2021-12-30)

(本文编辑: 孙荣华)

于欣睿, 曾辉. Janus 激酶 - 信号转导与转录激活因子信号通路于脓毒症关系的复杂性 [J/CD]. 中华实验和临床感染病杂志(电子版), 2022, 16(6):366-369.