

Research Progress of NR4A1、NR4A2 and IL-36 in Coronary Heart Disease and Myocardial Ischemia-reperfusion Injury

Wen Li Zhenjiang Ding*

Affiliated Hospital of Chengde Medical University, Chengde, Hebei, 067000, China

Abstract

Nuclear receptor subfamily 4group Amember 1, Nuclear receptor subfamily 4group Amember 1, Nuclear receptor subfamily 4group Amember 2 (NR4A2), a member of nuclear receptor subfamily 4group Amember 2, is a classic inflammatory regulator. Meanwhile, it was involved in the regulation of lipid metabolism and Myocardial ischemia reperfusion injury (MIRI). Recent studies suggest that interleukin-36 (IL-36) is correlated with the diagnosis of Coronary heart disease (CHD), evaluation of the severity of the lesions, and MIRI. This paper summarizes the correlation between NR4A1, NR4A2, IL-36 and CHD and MIRI, hoping to provide a new direction for early diagnosis, treatment and improvement of prognosis of CHD.

Keywords

NR4A1; NR4A2; IL-36; CHD; MIRI

NR4A1、NR4A2、IL-36 与冠状动脉性心脏病及心肌缺血再灌注损伤关系的研究进展

李文 丁振江*

承德医学院附属医院, 中国·河北承德 067000

摘要

核受体亚家族4A组成员1 (Nuclear receptor subfamily 4group Amember 1, NR4A1) 及核受体亚家族4A组成员2 (Nuclear receptor subfamily 4group Amember 2, NR4A2) 是核受体亚家族4A组中的成员, 是经典的炎症调控因子, 同时参与脂质代谢的调节及心肌细胞缺血再灌注(Myocardial ischemia-reperfusion injury, MIRI)。近期研究提示白介素36 (IL-36) 与冠状动脉性心脏病 (Coronary heart disease, CHD) 的诊断、评估病变的严重程度及MIRI等方面有相关性。论文通过对NR4A1、NR4A2、IL-36与CHD、MIRI的相关性进行概述, 期望为CHD的早期诊断、治疗及改善预后提供新方向。

关键词

核受体亚家族4A组成员1; 核受体亚家族4A组成员2; 白介素-36; 冠状动脉性心脏病; 心肌细胞缺血再灌注

1 引言

CHD 是由于动脉粥样硬化 (atherosclerosis, AS) 导致的心肌细胞缺血、缺氧而引起的心脏疾病。CHD 的危险因素复杂多样, 主要包括生活方式、环境及基因因素等, 如年龄、性别、高脂血症、糖尿病、原发性高血压病、吸烟史、家族史等^[1]。CHD 是 AS 导致器官病变的最常见类型, 严重危害人类健康。目前的观点认为 AS 的两个基本特征分别为炎症反应和脂质积聚^[2]。因此抑制炎症反应、改善脂质代

谢障碍, 在 CHD 的诊疗方面上具有相当大的意义。

MIRI 指冠状动脉部分或完全闭塞, 心肌细胞缺血损伤, 经急诊再灌注治疗使缺血区域血流供应恢复, 减轻心肌细胞损伤及坏死, 但这可能会引起心肌细胞的损伤程度进行性加重。目前尚未发现有效的治疗方法^[3]。因此, 改善心肌细胞缺血再灌注损伤对改善急性心肌梗死的预后有重要意义。

近年多项研究提示 NR4A 家族与炎症反应、脂质代谢及 MIRI 中起重要作用^[4]; IL-36 是 IL-1 家族的成员, 是与急慢性炎症相关的炎症标记物^[5], 相关研究表明三者均与 CHD 及 MIRI 有一定相关性。NR4A1、NR4A2、IL-36 有可能会成为冠心病病情严重程度的评估指标之一。接下来, 论文将对近年来 NR4A1、NR4A2、IL-36 与 CHD、MIRI 相关性的研究进展进行简要综述。

【作者简介】李文 (1997-), 女, 中国河北保定人, 硕士, 从事冠心病研究。

【通讯作者】丁振江 (1963-), 男, 中国河北石家庄人, 硕士, 教授、主任医师, 硕士研究生导师, 从事冠心病及介入研究。

2 NR4A1、NR4A2 的生物分子结构及功能

NR4A1、NR4A2 有极其相似的结构, 从 N 端到 C 端

分别为 TAD 即反式激活结构域、DNA 结合区、配体结合域^[6]。据知, NR4A 亚家族成员控制生长因子和细胞因子信号通路,并在多种生理调节过程中发挥作用^[4,7]。

3 NR4A1、NR4A2 与 CHD 的关系

AS 是 CHD 的重要病理过程,涉及促炎因子的产生、巨噬细胞积累及内皮细胞、血管平滑肌细胞 (VSMC) 功能障碍等,基础是脂质代谢异常^[2],由炎症反应驱动,从而导致血管病变局部的平衡被打破,同时增加组织损伤^[8]。

关于炎症反应的调节在巨噬细胞中,多种炎症刺激因子可诱导 NR4A1 的表达,如 LPS (脂多糖)、ox-LDL 等。有研究表明, NR4A1 可抑制 LPS 诱导的核转录因子- κ B (NF- κ B) 和 P38 丝裂原活化蛋白激酶 (P38 MAPK) 的磷酸化^[9]。一项动物实验发现在小鼠体内巨噬细胞中 LPS 可直接结合 NR4A1,启动蛋白酶级联反应,激活并产生核苷酸结合寡聚化结构域样受体 pyrin 结构域-containing 3 即 NLRP3 炎症小体,同时 NR4A1 和 NLRP3 之间的关联也需要 LPS 存在^[10]。对比发现,高脂饮食小鼠存在更多的脂质沉积增加、VSMC 减少、巨噬细胞浸润。敲除高脂饮食小鼠 NR4A1 基因,其巨噬细胞炎症反应明显增加,同时在 ox-LDL 处理下表现出 NLRP3 炎症小体介导的炎症水平进一步升高,进而促进 AS 的生成。体外研究也表明, ox-LDL 以 NLRP3 依赖性方式增加巨噬细胞中乳酸脱氢酶的释放,上调裂解的含半胱氨酸的天冬氨酸蛋白水解酶-77、裂解的白介素-3 β 和焦亡蛋白的表达^[11]。另有研究发现 ox-LDL 可通过 P38 MAPK 信号通路,通过剂量和时间依赖性方式,诱导 NR4A1 表达,研究者们同时发现 NR4A1 可抑制巨噬细胞凋亡且不影响其增殖^[12]。Bonta 等研究者通过对原代及 THP-1 巨噬细胞的对照发现过表达的 NR4A1、NR4A2 减少了 IL-1 β 、-6、-8、巨噬细胞炎症蛋白-1 α 和-1 β 及单核细胞趋化蛋白-1 的表达和产生,该研究同样证实 NR4A1、NR4A2 抑制巨噬细胞活化、抑制泡沫细胞形成和分化^[13]。

同时, NR4A1、NR4A2 也参与脂质代谢。既往有一项在人群中的研究表示:肥胖青少年肌肉组织中 NR4A1 的表达低,可能是因 NR4A1 抑制甾醇调节元件结合蛋白 1c 而抑制脂肪生成,低密度脂蛋白受体 (LDLR) 表达降低而增加 LDL 含量。同时体脂含量等指标可能会负反馈性影响 NR4A1 的表达^[14]。2009 年的一项研究发现 NR4A1 敲除小鼠肝脏甘油三酯、胆固醇含量、肌肉脂肪含量明显升高,肝脂肪变性加剧。NR4A1 敲除导致小鼠肌肉中多种偶链酰基肉碱物的积累增加,丙酮酸脱氢酶激酶同工酶 4 表达减少、脂蛋白脂肪酶表达升高,可能会增强细胞脂肪酸以提供替代的能量来源,从而导致脂质堆积;同时高脂饮食条件下的高胰岛素血症的成脂作用会导致肝脏脂肪变性^[15]。研究人员建立体外脂肪生成模型,已经证明在脂肪生成过程中 NR4A1 与 NR4A2 的表达被高度诱导, NR4A1 的慢性过

表达和慢性抑制均抑制脂肪生成,但瞬时过表达促进脂肪生成^[16]。目前已知, VSMC 在 AS 和再狭窄的内膜增厚中起关键作用。曾有研究者们结扎小鼠颈动脉,发现 NR4A1 敲除的小鼠 VSMC 增殖增加 3 倍,该项研究同时观察了多个不同人体 AS 样本,发现新生内膜的 VSMC 中 NR4A1 的表达明显增加,这可能表明 NR4A1 有抑制 VSMC 增殖的作用,可能与细胞周期蛋白依赖性激酶抑制蛋白 P27 kip1 相关。由此研究者提出 NR4A1 是血管病变的抑制剂,其在 AS 病变中表达,从而达到保护血管壁免受 SMC 过度增殖的影响^[17]。Bonta 等人在 2010 年的前瞻性研究观察到 NR4A2 单倍型与支架内在狭窄风险之间存在密切关联, NR4A2 在人支架内再狭窄中特异性表达。同时研究者通过基础性研究也证实 NR4A2 在人 VSMC 中表达,抑制 TNF- α 诱导的 VSMC 增殖和炎症反应^[18]。

以上讨论提示 NR4A1、NR4A2 在动物实验、离体实验及人体相关研究中证实其与炎症反应、脂质代谢等相关,可推断 CHD 患者存在 NR4A1 与 NR4A2 水平的减低。

4 NR4A1、NR4A2 与 MIRI 的关系

长期研究报告证实,线粒体损伤是 MIRI 的关键机制^[19]。曾有研究者构建 MIRI 模型,分析发现 NR4A1 在正常情况下位于心肌细胞核中,由 MIRI 产生的氧化应激诱导 NR4A1 与 B 细胞淋巴瘤-2 (Bcl-2) 家族蛋白相互作用易位到线粒体,将 Bcl-2 从抗凋亡介质转化为促凋亡介质,释放细胞色素 c 和细胞凋亡^[20]。同年徐爱斌等人的研究结果也支持在 MIRI 过程中 NR4A1 发生了从细胞核到线粒体的易位^[21]。同时在 NR4A2 也是调节线粒体稳态的重要转录因子。在氧化应激的情况下, NR4A2 易位到线粒体表面促进心肌细胞凋亡^[20]。这些发现表明, NR4A2 影响线粒体稳态和细胞活力,提示 NR4A2 可能是 MIRI 的重要调控因子。

MIRI 可导致更多的心肌细胞死亡,加重心功能不全, NR4A1、NR4A2 与 MIRI 存在一定相关性,待深入研究,可能为预防 MIRI 提供新靶点。

5 IL-36 的生物分子结构及功能

IL-36 是由三种内源性激动剂 (IL-36 α 、- β 和 - γ) 和一种受体拮抗剂 (IL-36Ra) 组成。激动剂主要作为促炎细胞因子,它们通过与 IL-36 受体 (IL-36R) 结合并激活下游 NF- κ B 和 MAPK 信号通路促进免疫细胞浸润和炎症趋化分子分泌而发挥促炎作用。相反, IL-36Ra 通过与 IL-36R 竞争性结合并抑制下游信号传导从而抑制炎症反应^[22]。已有研究证实, IL-36 在许多组织和细胞中表达,与多种疾病相关,如银屑病、炎症性肠病、恶性肿瘤等^[23]。

6 IL-36 与 CHD 的关系

2021 年一项研究表明, IL-36 γ 通过磷脂酰肌醇 36-激酶通路上调巨噬细胞 CD3 表达,放大炎症反应并促进氧

化低密度脂蛋白的摄取,从而刺激泡沫细胞形成和AS生成^[24]。在2020年袁田等人建立小鼠AS模型,在AS过程中,IL-36和IL-36Ra的表达均上调。IL-36Ra的过表达抑制了AS的发展,但当与IL-36同时表达时,抑制作用被逆转,同时NLRP3炎性小体的活性被IL-36恢复。该研究提示IL-36Ra通过剂量依赖性的方式抑制IL-36R作用于NLRP3炎症小体来抑制AS的发展^[25]。在近年一项临床研究中,Kazemian等人发现与对照组相比,CHD组血清IL-36水平显著升高,并与血清TNF- α 、IL-6、IL-32水平呈显著正相关,该相关性可能在CHD的发病机制中起重要作用^[26]。

综上,IL-36对于CHD有一定的预测价值,但目前相关研究尚不全面,待进一步研究。

7 IL-36与MIRI的关系

已知NF- κ B是冠状动脉微血管损伤的介质,上文中提到NF- κ B是IL-36的下游转录因子,因此,IL-36可能是MIRI的潜在治疗靶点。据此,Juma El-Awaisi等在2022年进行了一项基础性研究,通过构建心肌再灌注损伤小鼠模型首次证实小鼠心脏中IL-36 α 、 β 及其受体IL-36R存在。研究发现经IL-36Ra处理的小鼠血管内皮氧化损伤及血管细胞黏附分子-1(VCAM-1)减少,可减少中性粒细胞募集、改善血流并减小梗死面积。同时研究也发现在年龄相关的冠状动脉微血管炎症加剧情况下,IL-36Ra的血管保护作用仍存在。因此它可能是一种治疗老年人心肌梗死的新治疗靶点^[27]。后续研究者在2023年再次研究了MIRI与性别的相关性,研究者发现男性MIRI组织中血小板计数增加,女性中性粒细胞比例增加,但IL-36R、IL-36 $\alpha/\beta/\gamma$ 在女性中较高,同时IL-36Ra仍存在血管保护作用^[28]。综上,IL-36对MIRI的发生具有较高的价值,待研究的进一步深入,针对IL-36的相关靶向治疗可能会成为预防MIRI的重要方向。

8 展望

目前研究均表明NR4A1、NR4A2、IL-36在CHD及MIRI的发生发展中起到重要作用。这也意味着,随着相关研究的不断深入,三者CHD及MIRI中的作用机制,将会成为诊疗新的方向。

参考文献

[1] MALAKAR A K, CHOUDHURY D, HALDER B, et al. A review on coronary artery disease, its risk factors, and therapeutics[J]. J Cell Physiol,2019,234(10):16812-16823.

[2] GANJALI S, GOTTO A M, JR., RUSCICA M, et al. Monocyte-to-HDL-cholesterol ratio as a prognostic marker in cardiovascular diseases[J]. J Cell Physiol,2018,233(12):9237-9246.

[3] DENG R M, ZHOU J. The role of PI3K/AKT signaling pathway in myocardial ischemia-reperfusion injury[J]. Int Immunopharmacol,2023(123):110714.

[4] CHEN L, FAN F, WU L, ZHAO Y. The nuclear receptor 4A family

members: mediators in human disease and autophagy[J]. Cell Mol Biol Lett,2020,25(1):48.

[5] HAN Y, HUARD A, MORA J, et al. IL-36 family cytokines in protective versus destructive inflammation[J]. Cell Signal, 2020(75):109773.

[6] WANG Z, BENOIT G, LIU J, et al. Structure and function of Nurr1 identifies a class of ligand-independent nuclear receptors[J]. Nature, 2003,423(6939):555-560.

[7] MIAO L, YANG Y, LIU Y, et al. Glycerol kinase interacts with nuclear receptor NR4A1 and regulates glucose metabolism in the liver[J]. Faseb j,2019,33(6):6736-6747.

[8] PEKAYVAZ K, GOLD C, HOSEINPOUR P, et al. Mural cell-derived chemokines provide a protective niche to safeguard vascular macrophages and limit chronic inflammation[J]. Immunity, 2023,56(10):2325-2341.

[9] JIANG Y, ZENG Y, HUANG X, et al. Nur77 attenuates endothelin-1 expression via downregulation of NF- κ B and p38 MAPK in A549 cells and in an ARDS rat model[J]. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol,2016,311(6):L1023-11035.

[10] ZHU F, MA J, LI W, et al. The orphan receptor Nur77 binds cytoplasmic LPS to activate the non-canonical NLRP3 inflammasome[J].Immunity, 2023,56(4):753-767.

[11] YUAN R, ZHANG W, NIE P, et al. Nur77 Deficiency Exacerbates Macrophage NLRP3 Inflammasome-Mediated Inflammation and Accelerates Atherosclerosis[J]. Oxid Med Cell Longev,2022: 2017815.

[12] SHAO Q, HAN F, PENG S, HE B. Nur77 inhibits oxLDL induced apoptosis of macrophages via the p38 MAPK signaling pathway[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2016,471(4):633-638.

[13] BONTA P I, VAN TIEL C M, VOS M, et al. Nuclear receptors Nur77, Nurr1, and NOR-1 expressed in atherosclerotic lesion macrophages reduce lipid loading and inflammatory responses[J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol,2006,26(10):2288-2294.

[14] SINHA R, DUFOUR S, PETERSEN K F, et al. Assessment of skeletal muscle triglyceride content by (1)H nuclear magnetic resonance spectroscopy in lean and obese adolescents: relationships to insulin sensitivity, total body fat, and central adiposity[J]. Diabetes, 2002,51(4):1022-1027.

[15] CHAO L C, WROBLEWSKI K, ZHANG Z, et al. Insulin resistance and altered systemic glucose metabolism in mice lacking Nur77[J]. Diabetes,2009,58(12):2788-2796.

[16] CHAO L C, BENSINGER S J, VILLANUEVA C J, et al. Inhibition of adipocyte differentiation by Nur77, Nurr1, and Nor1[J]. Mol Endocrinol,2008,22(12):2596-2608.

[17] ARKENBOUT E K, DE WAARD V, VAN BRAGT M, et al. Protective function of transcription factor TR3 orphan

- receptor in atherogenesis: decreased lesion formation in carotid artery ligation model in TR3 transgenic mice[J]. *Circulation*,2002,106(12):1530-1535.
- [18] BONTA P I, POLS T W, VAN TIEL C M, et al. Nuclear receptor Nurr1 is expressed in and is associated with human restenosis and inhibits vascular lesion formation in mice involving inhibition of smooth muscle cell proliferation and inflammation[J]. *Circulation*, 2010,121(18):2023-2032.
- [19] ZHOU M, YU Y, LUO X, et al. Myocardial Ischemia-Reperfusion Injury: Therapeutics from a Mitochondria-Centric Perspective[J]. *Cardiology*,2021,146(6):781-792.
- [20] CHENG Z, VöLKERS M, DIN S, et al. Mitochondrial translocation of Nur77 mediates cardiomyocyte apoptosis[J]. *Eur Heart J*,2011,32(17):2179-2188.
- [21] XU A, LIU J, LIU P, et al. Mitochondrial translocation of Nur77 induced by ROS contributed to cardiomyocyte apoptosis in metabolic syndrome[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2014,446(4):1184-1189.
- [22] MELTON E, QIU H. Interleukin-36 Cytokine/Receptor Signaling: A New Target for Tissue Fibrosis[J]. *Int J Mol Sci*,2020,21(18).
- [23] GRESNIGT M S, VAN DE VEERDONK F L. Biology of IL-36 cytokines and their role in disease[J]. *Semin Immunol*, 2013,25(6):458-465.
- [24] ZHANG M, LIU J, GAO R, et al. Interleukin-36 γ aggravates macrophage foam cell formation and atherosclerosis progression in ApoE knockout mice[J]. *Cytokine*, 2021(146):155630.
- [25] TIAN Y, LING X Y, CHEN D L, et al. Interleukin-36 receptor antagonist attenuates atherosclerosis development by inhibiting NLRP3 inflammasome[J]. *J Cell Physiol*, 2020,235(12):9992-9996.
- [26] KAZEMIAN S, AHMADI R, RAFIEI A, et al. The Serum Levels of IL-36 in Patients with Coronary Artery Disease and Their Correlation with the Serum Levels of IL-32, IL-6, TNF- α , and Oxidative Stress[J]. *Int Arch Allergy Immunol*, 2022,183(10):1137-1145.
- [27] EL-AWAISI J, KAVANAGH D P, RINK M R, et al. Targeting IL-36 improves age-related coronary microcirculatory dysfunction and attenuates myocardial ischemia/reperfusion injury in mice[J]. *JCI Insight*,2022,7(5).
- [28] EL-AWAISI J, MITCHELL J L, RANASINGHE A, KALIA N. Interleukin-36 is vasculoprotective in both sexes despite sex-specific changes in the coronary microcirculation response to IR injury[J]. *Front Cardiovasc Med*, 2023(10):1227499.