

整合素:心肌病精准医疗的新靶标?

邹云增¹ 张潇伊¹ 龚惠¹

[摘要] 心肌病通常与遗传有关,常由单个心肌蛋白突变造成。精准诊治目前是心肌病面临的困境。整合素在心肌细胞机械刺激的传导和感应中起到主要作用。整合素和一些相关的细胞骨架蛋白,能将肌动蛋白同细胞外基质联系起来,并触发细胞内信号途径,引起心肌肥大。本文通过对整合素致心肌肥大机制的深入认识,揭示心肌病精准医疗的新靶标。

[关键词] 心肌病;心肌肥大;整合素;精准医疗

doi:10.13201/j.issn.1001-1439.2016.08.001

[中图分类号] R542.2 **[文献标志码]** C

Integrin: a new target for precision medicine of cardiomyopathy?

ZOU Yunzeng ZHANG Xiaoyi GONG Hui

(Department of Cardiology, Zhongshan Hospital, Fudan University, Shanghai, 200032, China)

Corresponding author: ZOU Yunzeng, E-mail: yunzengzou1024@aliyun.com

Summary Cardiomyopathy is usually associated with genetic mutations, which caused by the single mutation in cardiac protein. Precision diagnosis and treatment of cardiomyopathy are difficult at present. Integrin plays an important role in the conduction and induction of mechanical stimulation in cardiomyocytes. Integrin and a number of related cytoskeletal proteins, can link to actin and extracellular matrix, and trigger the intracellular signaling pathway, which causes cardiac hypertrophy. In this paper, we explore the mechanism about cardiac hypertrophy induced by integrin, and reveal the new target of the precise medical treatment in cardiomyopathy.

Key words cardiomyopathy; cardiac hypertrophy; integrin; precision medicine

精准医疗基于个体基因、环境与生活习惯差异,运用基因和蛋白分析技术,对疾病进行生物标记物的分析、鉴定、验证和应用,从而精确寻找到疾病的原因和治疗的靶点。它能对一种疾病不同状态和过程进行精确分类,最终实现对于疾病和特定患者进行个性化精准治疗的目的,提高疾病诊治与预防的效益。精准医疗的实质包括两方面,即精准诊断和精准治疗。在精准诊断方面,必须深入到体细胞突变,这些都离不开基因测序。在形成精准的诊断后,还需要精准的靶向治疗,比如分子靶向药物、抗体药物和受体偶联药物等。

心肌病往往与遗传有关,常由单个心肌蛋白突变造成。随着基因组测序技术的飞速发展,测序成本逐渐降低,部分心肌病能够实现病因诊断,但缺乏有效治疗手段一直是心肌病面临的困境。针对不同类型心肌病的病理特点及疾病发生机制的精准认识,为探寻新的治疗靶点带来希望。整合素是一类细胞膜受体家族,在心肌细胞机械刺激的传导和感应中起主要作用。整合素和一些相关的细胞骨架蛋白,将肌动蛋白同细胞外基质联系起来,并

触发细胞内信号途径,引起心肌肥大。本文通过对整合素致心肌肥大机制的深入认识,为探寻心肌病的精准治疗提供了理论依据。

1 整合素的结构和家族成员

整合素是细胞表面的跨膜受体。对心肌细胞和细胞外基质(ECM)起粘附和介导作用,导致心肌肥大。若通过整合素介导的细胞与ECM粘附发生障碍,则可导致细胞凋亡。几乎所有动植物细胞均表达至少一种以上整合素。整合素具有调控基因表达、细胞增殖、分化和凋亡等多重作用。

1.1 整合素的结构

整合素作为一类非共价相关的异源二聚体跨膜受体的复杂家族,其由 α 和 β 两个亚单位组成。 α 分子量为120~180 kDa,而 β 分子量为90~110 kDa。除了 $\beta 4$ 整合素有一段1 000残基的胞内区外,每一个亚单位都包括一段长的胞外区、跨膜区和短的胞内区^[1]。 α 亚单位和 β 亚单位在其N末端存在与配体结合的位点。整合素通过短的胞内区传递信号以及和细胞骨架成分相互作用。

1.2 整合素的家族成员

在哺乳动物中,已经发现了18种 α 链和8种 β 链的基因。在人体内,这些亚单位已经组合超过了24种整合素的异源二聚体^[2]。许多作为整合素受

¹复旦大学附属中山医院内科(上海,200032)
通信作者:邹云增,E-mail: yunzengzou1024@aliyun.com

体配体的 ECM 蛋白包括有纤维连接蛋白、胶原蛋白、层粘连蛋白、血管细胞黏附因子-1(VCAM-1)、细胞间黏附因子-1(ICAM-1)、玻连蛋白、腱糖蛋白、骨桥蛋白、von Willebrand 因子和凝血酶敏感蛋白等。

每一种 ECM 蛋白可以作为多种不同的整合素的配体,同样,一种整合素也可以与多种 ECM 配体结合。正因为整合素家族庞大的成员变化才可以使细胞能够处理和适应环境的变化。而对心肌特定整合素的研究和干预,能通过多种途径减轻心肌肥大。

2 心肌中整合素的表达

2.1 整合素在正常心肌细胞的表达

在心肌细胞中可以检测到整合素 $\alpha 1$ 、 $\alpha 3$ 、 $\alpha 5$ 、 $\alpha 7$ 、 $\alpha 9$ 、 $\alpha 10$ 、 $\beta 1$ 、 $\beta 3$ 和 $\beta 5$ 亚单位的表达。绝大部分 α 亚单位的表达是短暂并随着发育而变化的。例如, $\alpha 1\beta 1$ 和 $\alpha 5\beta 1$ 在胚胎心脏中表达,而出生后表达下调。在肌细胞中 $\beta 1A$ 和 $\beta 1D$ 是两种主要的 $\beta 1$ 亚型剪接变体。 $\beta 1A$ 在老鼠的胚胎心肌细胞中表达,而在约孕 18 周后开始下调。 $\beta 1D$ 是骨骼肌和心肌中的亚型。在心脏中,怀孕后期其开始表达,出生后其为主要的表达亚型。

由于整合素是 ECM 主要的受体,它们正确的表达和功能对于正常心血管系统来说是非常重要的。给予 $\alpha 1\beta 1$ 抗体或腺病毒诱导的抑制剂,可以改变培养细胞的表型和肌原纤维的发育^[3]。 $\beta 1$ 整合素基因的失活可以导致非常早期的小鼠胚胎致死表型^[4]。心肌细胞缺少 $\beta 1$ 整合素的表达,会导致小鼠 6 个月时心肌的纤维化和扩张^[5]。

2.2 整合素在肥大心肌细胞上的表达

而在心肌肥大过程中,整合素的表达也是非常重要的。体外研究发现新生心室肌细胞的肥大直接与 $\beta 1$ 整合素(包括亚型 A 和 D)相关。 $\alpha 1$ 肾上腺素能激动引起整合素 $\beta 1$ 的过度表达(增加 3.5 倍),从而导致心肌肥大或增大;而 $\beta 1$ 抑制剂可以减少这种改变。在出生后的小鼠心肌细胞内通过 $\beta 1$ 基因的失活证实了其在心脏肥大中的作用^[4]。已有研究表明了 $\beta 3$ 整合素亚单位在离体心肌细胞中有重要作用。在大鼠和小鼠的体内心脏肥大模型研究中发现 $\beta 1A$ 、 $\beta 1D$ 、 $\alpha 1$ 、 $\alpha 3$ 、 $\alpha 5$ 和 $\alpha 7B$ 的表达增加^[6]。 $\beta 1D$ 这一亚型在体内的功能研究已经通过只表达 $\beta 1A$ 的基因小鼠所证实。在右心室压力负荷下, $\beta 3$ 整合素、c-SRC 和 FAK 协同形成一个细胞骨架结合复合物。在小鼠肥大心肌细胞内给予 $\beta 1$ 阻断抗体的抗体抑制了血管紧张素 II 的产生。在 $\beta 3$ 敲除基因小鼠中发现心肌炎症反应,在压力负荷下表现更为明显^[7]。

在心肌肥大的模型中,细胞在外形上发生变化,为了适应这种变化,整合素同 ECM 和细胞骨架

之间的联系也必然发生变化。在正常的心肌或是起初的生理适应阶段例如压力负荷刚开始时,ECM 和整合素的表达是同步的。但当心肌细胞从代偿进入失代偿的心衰阶段,两者的平衡就打破了。例如,早期 $\alpha 5\beta 1$ 和纤连蛋白平行表达,而后期这种平衡就被破坏,其可能会导致心肌细胞从 ECM 的附着点脱离而凋亡。近年的研究发现 $\beta 3$ 的泛素化作用可能通过 $\beta 3$ 整合素/Ub/NF- κ B 通路激活细胞存活信号,参与了代偿性心肌肥大的过程;而 $\beta 3$ 功能的缺失可能是 calpain 分子介导的压力负荷下心肌细胞凋亡的关键机制^[8]。还有研究发现其在压力负荷小鼠模型中可能通过心肌纤维细胞非受体酪氨酸激酶 Pyk2 信号通路参与了心肌细胞纤维化的过程^[9]。对心肌整合素受体阻断剂的研发,为心肌病的靶向治疗带来曙光。

3 整合素 4 大信号传导

整合素除了作为黏附分子,也是机械压力传导器。整合素受体将压力信号通过细胞膜传递给细胞浆分子,参与调控细胞的粘附、存活、增殖、播散、分化、基因的表达、细胞骨架重组和细胞形状^[10]。整合素并不参与酶类的激活,为了传递信号他们务必要启动下游分子。下面是 4 种近年来研究较热的整合素相关信号通路。

3.1 局部粘附斑激酶

局部粘附斑激酶(FAK),一种被机械和体液刺激激活的细胞存活和肥大信号传导器,是在整合素信号传导中扮演重要角色的胞质酪氨酸激酶^[11]。FAK 通过与踝蛋白、桩蛋白和 β 整合素亚单位结合,从而聚集于心肌细胞的细胞-基质黏附部位和肋条带,通过自磷酸化 Tyr-397 而激活。FAK 的酪氨酸磷酸化产生了可以结合 SRC 激酶的 SH2 结构域,其可以进一步磷酸化 Tyr-397 以保持 FAK 的激活状态。磷酸化的 Tyr-397 也可以同 PI3K 的 p85 亚单位结合,从而提供了一个 PIP3 的局部来源,以便启动下游调节细胞存活和繁殖的信号通路。

FAK 在心肌细胞的肥大生长和存活中有着非常重要的作用。研究发现心肌细胞 FRNK 的表达的增加(一种干扰 FAK 信号的显性失活突变细胞)可以增加细胞的死亡^[12]。这种 FAK 的保护作用可能是通过磷脂酰肌醇 3 激酶/AKT 通路发生的,并可能是阻止代偿性心肌肥大向心衰转变的极其关键的一步。

3.2 Melusin

Melusin,一种只被机械牵张激活的细胞存活和肥大信号传导器,是局限在肋条带上的肌肉特殊蛋白,它有和整合素 $\beta 1$ 胞内区的近膜区结合的特性^[13]。在生物化学水平,在机械负荷下 Melusin 控制 AKT 和 GSK3 β 的磷酸化。事实上, Melusin 的缺乏会破坏这些蛋白的磷酸化,而在机械刺激下

Melusin 的过度表达也会造成这些蛋白的过磷酸化^[14]。已知 AKT 可以调控 3 种造成蛋白质合成增加和细胞肥大的丝氨酸/苏氨酸激酶 mTor, p70S6 和 GSK3 β 的磷酸化^[15]。不同的实验室证据表明,这些分子控制增大的心肌细胞体积和向心性肥大,并触发了有益的代偿性心肌肥大机制^[16]。Melusin 在人类心肌病中可以作为一种修饰基因。

3.3 整合素连接肌酶

整合素连接肌酶(ILK),心脏机械牵张的感应器的重要组成部分,一种机体内广泛分布富集于肋状带的丝/苏氨酸蛋白激酶。在有舒缩性的心肌细胞中,ILK 介导的是 $\beta 1$ 整合素依赖的生物力学应激转导过程。近来研究发现,ILK 在多条与心脏肥大相关的经典信号途径中发挥着调节因子的作用。ILK 诱导的肥大并不损害正常的心脏功能,并且也没有引发心肌纤维化的证据,提示 PI3K-ILK-PKB 途径介导的是生理性肥大。反过来,缺失 ILK 的心脏引起的是自发的心肌肥厚,以紊乱的心肌细胞结构和间质纤维组织沉积为特点,并最终导致收缩功能受损^[17]。

3.4 锚定整合素和肌动蛋白的分子

在机械刺激下还有很多蛋白与整合素胞内区紧密结合从而参与与肌球蛋白链接产生细胞内信号传导。主要有纽蛋白、斑联蛋白,ENA/Wasp 和 Migfilin。

纽蛋白对于心脏正常的心肌组织结构是必要的。纽蛋白基因也编码旁粘着斑蛋白。在扩张型心肌病的患者体内发现旁粘着斑蛋白外显子 19 突变减少或这种亚型完全缺乏^[18],同时还伴随肌间盘超微结构严重的异常。因此,旁粘着斑蛋白在心肌细胞传导收缩力的黏附装置中起到重要作用,改变其功能会直接或是作为“修饰”基因而造成心脏肥大和心衰^[19]。

与斑联蛋白结合的蛋白包括 α 辅肌动蛋白,小 GTP 酶交换因子 VAV 和 p130CAS 受体。斑联蛋白还可直接与 ENA/VASP 蛋白家族相互作用^[20]。斑联蛋白可使 VASP 蛋白锚定到细胞基质黏附部位。而 ENA/VASP 家族成员亚细胞水平的准确锚定,对于其在体内发挥正常功能很重要。VASP 显性失活突变株转基因老鼠发展成心肌肥大和心动过缓的扩张型心肌病,导致了出身后早期的死亡^[21]。

Migfilin 是一种与细丝蛋白、VASP 结合的蛋白。Migfilin 在一种钙调节的方式下转移入细胞核,同一种对于心脏发育很重要的转录因子 NKX2-5 相结合,并启动其转录。NKX2-5 的突变参与了心脏疾病的发病,导致人类心脏畸形和房室传导异常,在心肌肥大时其表达增加^[22-23]。提示 Migfilin 可以在机械刺激诱导的心脏肥大过程中,通过连接整合素信号

到基因转导,来发挥重要的作用。

4 总结与展望

整合素是一种具有粘附和信号传递作用的跨膜受体,不仅介导由外到内的信号,也介导由内到外的细胞信号。整合素将 ECM 的化学成分和力学状态传入细胞,也能将细胞的状态传递给外界,从而迅速和灵活地响应环境中的变化。整合素有可能成为将来精准治疗心肌病的靶点。国家目前推行了大批精准医疗科技支撑项目,主要用于支持基础研究,在基础研究与临床实践之间架起一座桥梁,帮助精准医疗在心血管疾病领域尽快由理论转化为实践。因此,在分子水平对基因和蛋白的研究和应用,必将是精准医疗的重要环节。精准医疗之路任重道远,需要临床医师、基础研究者和患者的密切合作,才能达到医疗领域的精准诊治。

参考文献

- [1] HUMPHRIES M J. Integrin structure[J]. *Biochem Soc Trans*, 2000, 28:311-339.
- [2] HYNES R O. Cell adhesion: old and new questions [J]. *Trends Cell Biol*, 1999, 9:M33-37.
- [3] SIMPSON D G, TERRACIO L. Modulation of cardiac myocyte phenotype in vitro by the composition and orientation of the extracellular matrix [J]. *J Cell Physiol*, 1994, 161:89-105.
- [4] SHAI S Y, HARPF A E. Cardiac myocyte-specific excision of the beta1 integrin gene results in myocardial fibrosis and cardiac failure[J]. *Circ Res*, 2002, 90: 458-464.
- [5] KELLER R S, SHAI S Y. Disruption of integrin function in the murine myocardium leads to perinatal lethality, fibrosis, and abnormal cardiac performance [J]. *Am J Pathol*, 2001, 158:1079-1090.
- [6] ROSS R S, BORG T K. Integrins and the myocardium[J]. *Circ Res*, 2001, 88:1112-1119.
- [7] JIE REN, JOAN AVERY, . Muslin, $\beta 3$ Integrin deficiency promotes cardiac hypertrophy and inflammation [J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2007, 42:367-377.
- [8] GEETHA SURYAKUMAR, HARINATH KASIGANESAN. Lack of $\beta 3$ Integrin Signaling Contributes to Calpain-Mediated Myocardial Cell Loss in Pressure-Overloaded Myocardium [J]. *J Cardiovasc Pharmacol*, 2010, 55: 567-573.
- [9] BALASUBRAMANIAN S, QUINONES L, KASIGANESAN H, et al. $\beta 3$ integrin in cardiac fibroblast is critical for extracellular matrix accumulation during pressure overload hypertrophy in mouse [J]. *PLoS One*, 2012, 7:e45076.
- [10] LAFLAMME S E, HOMAN S M. Integrin cytoplasmic domains as connectors to the cell's signal transduction apparatus [J]. *Matrix Biol*, 1997, 16:153-163.

• 综述 •

心脏磁共振在心肌梗死微血管阻塞及心肌出血中的应用

马敏^{1,2} 祝焯² 贺勇²

[摘要] 微血管阻塞或无复流现象是急性心肌梗死行冠状动脉再灌注治疗中常见的并发症。这种现象是不良预后的征象,亦是导致不良左心室重构的原因。尽管微血管病变可以通过心电图、心肌声学造影、核素扫描及冠状动脉造影等检查,但远没有心脏磁共振有效、全面。微血管病变的评估已经成为了心肌梗死行再灌注治疗后效果评价及指导药物治疗的重要辅助手段。本文就微血管的病理生理,心脏磁共振用于该病变的诊断、临床意义及将来发展方向作一综述。

[关键词] 微血管阻塞;心肌梗死;心脏磁共振;心肌出血

doi:10.13201/j.issn.1001-1439.2016.08.002

[中图分类号] R542.2 **[文献标志码]** A

Application of cardiac MRI in microvascular obstruction and myocardial hemorrhage after myocardial infarction

MA Min^{1,2} ZHU Ye² HE Yong²

(¹Department of Cardiology, The Sixth People's Hospital of Chengdu, 610051, China; ²Department of Cardiology, West China Hospital of Sichuan University, Chengdu, 610041, China)

Corresponding author: HE Yong, E-mail: zznnyeah@163.com

Summary Microvascular obstruction and no reflow phenomenon are the common complications in coronary reperfusion after acute myocardial infarction. They induce left ventricular remodeling and indicate the adverse

¹成都市第六人民医院心内科(成都,610051)

²四川大学华西医院心内科(成都,610041)

通信作者:贺勇, E-mail: zznnyeah@163.com

[11] MITRA S K, HANSON D A. Focal adhesion kinase: in command and control of cell motility[J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2005, 6:56-68.

[12] HEIDKAMP M C, BAYER A L. GFPFRNK disrupts focal adhesions and induces anoikis in neonatal rat ventricular myocytes[J]. *Circ Res*, 2002, 90:1282-1289.

[13] BRANCACCIO M, GUAZZONE S. Melusin is a new muscle-specific interactor for beta (1) integrin cytoplasmic domain[J]. *J Biol Chem*, 1999, 274:29282-29288.

[14] DE ACETIS M, NOTTE A. Cardiac overexpression of melusin protects from dilated cardiomyopathy due to long-standing pressure overload [J]. *Circ Res*, 2005, 96:1087-1094.

[15] DORN II G W, FORCE T. Protein kinase cascades in the regulation of cardiac hypertrophy[J]. *J Clin Invest*, 2005, 115:527-537.

[16] CECI M, ROSS JR J, CONDORELLI G. Molecular determinants of the physiological adaptation to stress in the cardiomyocyte: a focus on AKT[J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2004, 37:905-912.

[17] WHITE D E, COUTU P. Targeted ablation of ILK from the murine heart results in dilated cardiomyopathy and spontaneous heart failure [J]. *Genes Dev*, 2006, 20: 2355-2360.

[18] MAEDA M, HOLDER E. Dilated cardiomyopathy associated with deficiency of the cytoskeletal protein metavinculin[J]. *Circulation*, 1997, 95:17-20.

[19] MARIAN A J. Modifier genes for hypertrophic cardiomyopathy[J]. *Curr Opin Cardiol*, 2002, 17:242-252.

[20] KRAUSE M, DENT E W. Ena/VASP proteins: regulators of the actin cytoskeleton and cell migration [J]. *Annu Rev Cell Dev Biol*, 2003, 19:541-564.

[21] EIGENTHALER M, ENGELHARDT S. Disruption of cardiac Ena-VASP protein localization in intercalated disks causes dilated cardiomyopathy [J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2003, 285: H2471-2481.

[22] THOMPSON J T, RACKLEY M S, O'BRIEN T X. Upregulation of the cardiac homeobox gene Nkx2-5 (CSX) in feline right ventricular pressure overload [J]. *Am J Physiol*, 1998, 274:H1569-1573.

[23] 邹云增,杨茗. II型糖尿病合并冠心病的机制[J]. *临床心血管病杂志*, 2015, 31(4): 366-369.

(收稿日期:2016-07-05)