

儿茶酚抑素在心血管系统的作用

叶小巾 丁文惠 孟 磊

儿茶酚抑素(catestatin, CST)是一种新的内源性多肽,具有抑制烟碱诱导的儿茶酚胺释放、刺激肥大细胞释放组胺、趋化单核细胞、促进血管新生等活性,能发挥扩张血管、降低血压、降低心肌收缩力的作用,是一种新的心血管活性肽,在心血管疾病中的作用日益受到关注。

一、儿茶酚抑素的来源、结构和生化特性

CST的前体嗜铬颗粒蛋白A(chromogranin A, CHGA/Chga)是促发儿茶酚胺分泌囊泡合成的重要成分,与儿茶酚胺共同储备和释放。CHGA分布于肾上腺嗜铬细胞和肾上腺素能神经元中,在心肌细胞中也有表达^[1]。血清CHGA可作为原发性高血压、肥厚性心肌病、扩张性心肌病、心力衰竭的血清标志物,还可以用来预测急性冠脉综合征患者的远期病死率和心力衰竭住院率^[2~4]。研究证明CHGA对心血管系统的重要影响与其作为前激素的作用有关,人类CHGA在蛋白水解酶作用下可生成多种活性肽,除了儿茶酚抑素外,还有扩张血管的血管抑制素(vasostatin)和抑制胰岛素分泌的胰抑制素(pancreastatin)等,降解CHGA生成CST的蛋白酶可能是激素原转化酶、纤溶酶及组织蛋白酶L。

人类CST(CHGA352-372)是一种疏水性多肽,其基因位于染色体14q32,氨基酸序列为SSMKLS-FRRAYGFRGPGPQL,含正电荷的精氨酸环状结构(R₃₅₁AR₃₅₃GYGFR₃₅₈)在与受体的结合中发挥关键作用^[5]。牛CST(CHGA344-364)氨基端的15个残基片段是活性核心,其中氨基酸残基Arg351、Arg353和Arg358的地位尤其重要,任何一个被替换都会导致CST的活性严重下降^[6]。

二、儿茶酚抑素的生物学效应及机制

1. 抑制儿茶酚胺的释放:在原代培养的不同种属来源的肾上腺素能细胞和小鼠体内^[7,8],CST均能抑

制神经元烟碱型乙酰胆碱受体(nicotinic acetylcholine receptor, nAChR)介导的儿茶酚胺的释放,且效能明显强于经典的nAChR拮抗剂六甲铵。CST能作用于nAChR全部受体亚型,在 $\alpha 3\beta 4$ 亚型(肾上腺嗜铬细胞nAChR的主要类型)以可逆、非竞争性、电压及使用依赖的方式抑制内向电流来发挥此作用^[8]。与儿茶酚抑素共同释放的还有CHGA、ATP、儿茶酚胺和神经肽Y,均不能抑制烟酸诱导的儿茶酚胺释放。CST是特异、非竞争性的神经元nAChR拮抗剂,以自分泌、负反馈机制强效地抑制烟酸诱导的儿茶酚胺的释放。

2. 抑制烟碱型乙酰胆碱受体失活:CST还可抑制nAChR失活,避免nAChR长时间或反复暴露于烟碱胆碱能激动剂后产生脱敏效应,此作用具有剂量依赖性、非竞争性及非协同性,效能较高。CST不能抑制其他类型受体的失活,仅特异地作用于nAChR^[9]。CST对nAChR受体的这两种作用——拮抗作用和阻止受体失活作用均为非竞争性,两者之间没有协同性,阻止失活作用的选择性要高于拮抗作用,这对儿茶酚胺的释放具有一定的反向调节作用。

3. 刺激肥大细胞产生组胺:CST是一种内源性组胺释放激动剂,研究发现牛CST的核心区域(CHGA344-358)能刺激腹膜及胸膜肥大细胞质浆内的组胺释放,这种效应在0.01~5.00 $\mu\text{mol/L}$ 范围内呈剂量依赖性,比黄蜂毒液、P物质和神经紧张素这些组胺促泌剂都具有更强的效能^[10]。与CST抑制儿茶酚胺释放的不同,CST促组胺释放作用在药代动力学上无饱和性,提示存在非受体依赖途径,G蛋白参与了这一过程^[11]。

4. 促进血管新生:Egger等^[12]发现CST能促进内皮细胞增生、迁移和抗凋亡,诱导原始血管网形成和血管生成,在动物试验中CST可增加微血管密度,提高内皮祖细胞整合度,从而促进鼠角膜新生血管化,增加缺血肢体血流灌注。这种促血管新生作用可被碱性成纤维细胞生长因子的特异性抗体中和,提示碱性成纤维细胞生长因子介导此作用的发挥,G蛋白、

基金项目:首都医学发展科研基金资助项目(2009-3026)

作者单位:100034 北京大学第一医院心内科

通讯作者:丁文惠,电子邮箱:dwh_rd@126.com

丝裂原活化蛋白激酶和蛋白激酶 B 也参与了相关的信号转导。另外, CST 还可通过 Ca^{2+} - calcineurin - NFAT signaling pathway 组成的信号通路作用于血管平滑肌细胞, 共同调控新生血管形成^[13]。

5. 趋化单核细胞: CST 作为神经肽类物质, 可趋化单核细胞, 介导神经源性的炎症。该作用呈剂量依赖性, 在 1 nmol/L 时达到最大效应, 能被特异性的中和抗体所阻滞, 具有特异性。酪氨酸激酶受体、G 蛋白、磷酸鞘氨醇 - 1、三磷酸肌醇、一氧化氮及丝裂原活化蛋白激酶通路参与了信号通路的组成。CST 还可促进蛋白激酶 B 及细胞外调节蛋白激酶的磷酸化, 参与趋化过程^[14]。

三、儿茶酚抑素的血压调节作用

Mahapatra 等^[15]发现 CST 具有扩张血管作用。将苯肾上腺素注入手背静脉使血管收缩后, 再注射不同浓度的人 CST 可呈剂量依赖性地引起血管扩张, 在 50 nmol/L 时就可发挥大部分效应, 而此浓度与人体内源性的 CST 浓度 (4.4 nmol/L) 在一个量级, 在同样实验条件下注入另一种 CHGA 来源的多肽——胰抑制素无此效应, 提示人体内生理浓度的 CST 对血管张力具有高效且特异的调节作用。

O'Connor 等^[14]对原发性高血压的研究发现, 血浆 CST 不仅在高血压患者中降低, 在有高血压家族史的血压正常子代中也明显降低, 提示家族史对于高血压的发生有重要作用, 同时也说明高血压病患者体内 CHGA 向 CST 转化率降低, CST 减少增加了高血压的发病风险。O'Connor 还发现血浆 CST 浓度低的个体在寒冷刺激下舒张压和平均动脉压的增幅明显高于 CST 正常的个体, 尿液中肾上腺素的排泄率显著升高, 说明 CST 减少使人体对交感肾上腺应激的压力反应增强, 由此推测 CST 很可能通过肾上腺素能机制来调节人体血压^[14]。

为进一步探寻 CST 的血压调节机制, Mahata 等^[16]制造了 chga 基因敲除 ($\text{chga}^{-/-}$) 小鼠, 其基础血压明显高于野生型 ($\text{chga}^{+/+}$) 小鼠 (收缩压升高 44 mmHg, 舒张压升高 26 mmHg, $P < 0.0001$), 血浆去甲肾上腺素及肾上腺素浓度亦升高 2 倍。注入 CST 使细胞外浓度达 4 $\mu\text{mol/L}$ 后可使 $\text{chga}^{-/-}$ 小鼠血压降低至野生型小鼠血压水平, 血浆儿茶酚胺浓度也同步降低, 证实 CST 的降压效应与抑制儿茶酚胺释放有关。但是, 在体外实验中人 CST 抑制儿茶酚胺释放的 IC_{50} 约 500 ~ 800 nmol/L, 远高于人体内试验中 CST 产生降压效应的浓度, 提示 CST 的降压效应并不

完全来自于抑制儿茶酚胺释放, 进一步研究证实 CST 的降压效应还与促组胺释放有关^[17, 18]。Kennedy 等^[17]向大鼠体内注入 CST 使细胞外浓度达到 6 $\mu\text{mol/L}$, 能明显降低电刺激时及电刺激后交感神经激活继发的升压反应, 同时发现血浆中组胺浓度升高了 21 倍, 而且 CST 的降压效应可被 H_1 受体阻滞剂苯嗪所阻断, 证实 CST 还通过刺激组胺释放发挥降压作用, 其机制可能与组胺 H_1 受体介导的一氧化氮释放增加, 继发性鸟苷酸环化酶激活, 以及 ATP 敏感性钾通道开放有关。

四、儿茶酚抑素的心脏调节作用

Mahapatra 等^[15]还发现 $\text{chga}^{-/-}$ 小鼠长至 5 个月时, 左心室壁厚度和重量明显高于 $\text{chga}^{+/+}$ 小鼠, 左心室舒张末及收缩末内径亦明显增加, 推测可能与 $\text{chga}^{-/-}$ 小鼠缺乏 CST, 导致血压升高、心脏后负荷增加有关。但进一步研究发现, 除血压改变对心脏的继发性影响外, CST 对心脏还有直接调节作用。

研究者用离体蛙、鳗鱼心脏和离体无血管的大鼠心脏模型研究 CST 对心脏的作用及机制, 结果发现 CST 呈剂量依赖性地降低左心室内压力、心率压力乘积和正负左心室内压力变化峰速率 ($\text{dP/dt}_{\text{max}}$)。CST 是通过抑制受磷蛋白 (phospholamban, PLN) 的磷酸化发挥降低心室收缩力的作用, β 肾上腺素能受体、 α 肾上腺素能受体、Gi 蛋白、内皮型一氧化氮合酶及鸟氨酸环化酶也参与了信号通路的组成, 胆碱能受体没有参与其中。此外, CST 还能非竞争性抑制异丙肾上腺素的正性肌力作用和扩张冠脉作用, 抑制内皮素 - 1 通过内皮素 A 受体发挥的正性肌力和收缩冠脉的作用^[19-21]。

CST 虽然具有一定负性肌力作用, 但其抗肾上腺素能、抗内皮素 - 1 作用可以发挥重要的心脏保护作用, 所以 CST 对心脏的综合作用需在疾病模型上进行总体评价。应用大鼠离体心脏研究 CST 对心肌缺血 - 再灌注损伤后心肌梗死面积和收缩功能的影响, 观察到缺血的大鼠心脏收缩期 $\text{dP/dt}_{\text{max}}$ 和左心室发展压 (dLVP) 下降, 左心室舒张末压 (LVEDP) 升高, 实施再灌注后上述指标逐渐恢复但仍未达到缺血前水平。与对照组相比, 再灌注之前使用 CST (75 nmol/L) 灌注 20 min 后心脏 $\text{dP/dt}_{\text{max}}$ 和 dLVP 明显升高, LV-EDP 明显降低, 且心肌梗死面积小于对照组 ($P < 0.05$), 证明 CST 对缺血再灌注心脏有明显的保护作用。已有研究证实大鼠心脏在缺血等应激状态下存在交感神经系统过度兴奋, 而 β_1 肾上腺素能受体的

激活可促进再灌注损伤,导致梗死面积的扩大,由此推测 CST 的心脏保护作用在一定程度上与其抗肾上腺素能作用有关。而且,CST 能通过碱性成纤维细胞生长因子途径促进血管新生,也有利于增加心脏灌注,挽救缺血心肌,改善缺血心脏功能。离体培养的大鼠心肌细胞在缺血前用 CST (5nmol/L) 灌注 5min 也可提高缺血再灌注后的心肌细胞存活率,提示 CST 具有独立于抗儿茶酚胺以外的直接心脏保护作用,可能与募集再灌注损伤补救激酶 (reperfusion injury salvage kinases, RISK) 途径有关。

刘琳等^[22]研究发现,严重心力衰竭患者血浆 CST 水平与去甲肾上腺素同步升高,抗心力衰竭治疗后降低,提示 CST 在心力衰竭时可能发挥了拮抗交感神经的内源性保护作用。所以,CST 不仅具有调节血压的作用,还是一种重要的调节心脏功能的内源性因子。

五、儿茶酚抑素调节自主神经活性的作用

CST 对自主神经系统的活性也有重要影响,表现在对压力感受器反射敏感性和心率变异性的调节。Gayen 等^[23]发现 $chga^{-/-}$ 小鼠血浆儿茶酚胺浓度、基础血压和心率均明显高于 $chga^{+/+}$ 小鼠,心率变异性明显下降,压力感受器反射敏感性减弱,用 CST 替代治疗后明显缩小这种差别,证实 CST 能改善压力感受器敏感性和心率变异性。而刺激孤束核压力感受器控制区中的烟酸胆碱能突触能增加压力感受器的敏感性,提高副交感神经活性,降低交感神经活性,推测 CST 可能通过作用于孤束核的突触发挥调节自主神经活性作用,确切机制尚有待深入研究明确。

六、人类儿茶酚抑素的自然变异体的不同效能

对人类 CHGA 基因位点多态性的研究发现 CST 存在 3 种氨基酸亚型: Gly364Ser、Pro370Leu 和 Arg374Gln。前一种亚型的等位基因频率约为 3% ~ 4%,后两种分别为 0.3% 和 0.6%,3 种亚型的生物学效能不相同。CST 抑制儿茶酚胺释放的效能排序为 Pro370Leu > 野生型 > Gly364Ser > Arg374Gln,趋化单核细胞的效能排序为 Pro370Leu > 野生型 > Arg374Gln > Gly364Ser,抑制异丙肾上腺素正性肌力作用的效能排序为野生型 > Gly364Ser > Pro370Leu,抑制内皮素-1 通过内皮素 A 受体发挥的正性肌力作用效能排序为 Pro370Leu > Gly364Ser > 野生型,抑制内皮素-1 收缩冠脉作用的效能排序为 Gly364Ser > 野生型 > Pro370Leu^[14,18,24]。

在大鼠离体心脏模型中,野生型 CST 可降低每

搏排出量及输出做功,增加心率和冠状动脉压力, Gly364Ser 对基础状态下的心脏功能无明显影响,但可抑制异丙肾上腺素的正性肌力作用,Pro370Leu 与野生型 CST 一样具有负性肌力作用,对异丙肾上腺素的抑制作用可达 70%。在大鼠心脏缺血-再灌注研究中, Gly364Ser 亚型比野生型和 Pro370Leu 亚型能减小心肌梗死面积,这种差异可能是通过抑制磷酸化蛋白激酶 B 及其下游的 FoxO1、促凋亡蛋白 BAD 来实现的。

最近研究发现人类 Gly364Ser 携带者静息收缩压和舒张压水平明显降低,血浆去甲肾上腺素水平降低,寒冷刺激下的升压反应明显减弱,压力感受器反射敏感性增加,心脏的副交感指数也明显增加,说明 Gly364Ser 基因型能够降低高血压的发病危险。但上述降低血压作用仅在男性中出现,这种性别依赖的基因型作用机制尚不明确。

CST 亚型之间存在效能差别的机制尚不清楚,推测可能与各亚型多肽骨架结构改变导致功能上的变化有关,尚待研究证实。CST 是一种能调节血压、心脏及自主神经功能的心血管活性肽,在以交感过度兴奋为特征的疾病状态下可能发挥独特的作用,参与高血压、心肌肥厚、心肌缺血再灌注损伤、心力衰竭等疾病过程。了解 CST 的生物学作用及机制将对心血管疾病的病理研究产生重要的影响。

参考文献

- 1 Pieroni M, *et al.* Myocardial production of chromogranin A in human heart: a new regulatory peptide of cardiac function[J]. *Eur Heart J*, 2007,28(9):1117-1127
- 2 Jansson AM, *et al.* Prognostic value of circulating chromogranin A levels in acute coronary syndromes[J]. *Eur Heart J*, 2009,30(1):25-32
- 3 Ceconi C, *et al.* Chromogranin A in heart failure: a novel neurohumoral factor and a predictor for mortality[J]. *Eur Heart J*, 2002,23(12):967-974
- 4 Rao F, *et al.* Catecholamine release - inhibitory peptide catestatin [chromogranin A(352-372)]: naturally occurring amino acid variant Gly364Ser causes profound changes in human autonomic activity and alters risk for hypertension[J]. *Circulation*, 2007,115(17):2271-2281
- 5 Tsigelny I, *et al.* Mechanism of action of chromogranin A on catecholamine release: molecular modeling of the catestatin region reveals a beta-strand/loop/beta-strand structure secured by hydrophobic interactions and predictive of activity[J]. *Regul Pept*, 1998,77(1-3):43-53
- 6 Mahata SK, *et al.* Primary structure and function of the catecholamine release inhibitory peptide catestatin [chromogranin A(344-364)]:

- identification of amino acid residues crucial for activity[J]. *Mol Endocrinol*, 2000,14(10):1525 – 1535
- 7 Mahata SK, *et al.* Desensitization of catecholamine release. The novel catecholamine release – inhibitory peptide catestatin (chromogranin a344 – 364) acts at the receptor to prevent nicotinic cholinergic tolerance[J]. *J Biol Chem*, 1999,274(5):2920 – 2928
- 8 Kruger P G, Mahata SK, Helle KB. Catestatin (CgA344 – 364) stimulates rat mast cell release of histamine in a manner comparable to mastoparan and other cationic charged neuropeptides[J]. *Regul Pept*, 2003,114(1):29 – 35
- 9 Helle KB, *et al.* The endocrine role for chromogranin A: a prohormone for peptides with regulatory properties[J]. *Cell Mol Life Sci*, 2007,64(22):2863 – 286
- 10 Theurl M, *et al.* The neuropeptide catestatin acts as a novel angiogenic cytokine via a basic fibroblast growth factor – dependent mechanism. *Circ Res*, 2010,107(11):1326 – 1335
- 11 Guo X, Zhou C, Sun N. The neuropeptide catestatin promotes vascular smooth muscle cell proliferation through the Ca^{2+} – calcineurin – NFAT signaling pathway[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2011,407(4):807 – 812
- 12 Egger M, *et al.* Monocyte migration: a novel effect and signaling pathways of catestatin[J]. *Eur J Pharmacol*, 2008,598(1 – 3):104 – 111
- 13 Fung MM, *et al.* Direct vasoactive effects of the chromogranin A (CHGA) peptide catestatin in humans in vivo[J]. *Clin Exp Hypertens*, 2010,32(5):278 – 287
- 14 O'Connor DT, *et al.* Early decline in the catecholamine release – inhibitory peptide catestatin in humans at genetic risk of hypertension[J]. *J Hypertens*, 2002,20(7):1335 – 1345
- 15 Mahapatra NR, *et al.* Hypertension from targeted ablation of chromogranin A can be rescued by the human ortholog[J]. *J Clin Invest*, 2005,115(7):1942 – 1952
- 16 Mahata SK, *et al.* The catecholamine release – inhibitory “catestatin” fragment of chromogranin a: naturally occurring human variants with different potencies for multiple chromaffin cell nicotinic cholinergic responses[J]. *Mol Pharmacol*, 2004,66(5):1180 – 1191
- 17 Kennedy BP, *et al.* Mechanism of cardiovascular actions of the chromogranin A fragment catestatin in vivo[J]. *Peptides*, 1998,19(7):1241 – 1248
- 18 Angelone T, *et al.* The antihypertensive chromogranin a peptide catestatin acts as a novel endocrine/paracrine modulator of cardiac inotropism and lusitropism[J]. *Endocrinology*, 2008,149(10):4780 – 4793
- 19 Imbrogno S, *et al.* The catecholamine release – inhibitory peptide catestatin (chromogranin A344 – 363) modulates myocardial function in fish[J]. *J Exp Biol*, 2010,213(Pt 21):3636 – 3643
- 20 Penna C, *et al.* Catestatin improves post – ischemic left ventricular function and decreases ischemia/reperfusion injury in heart[J]. *Cell Mol Neurobiol*, 2010,30(8):1171 – 1179
- 21 Gao F, *et al.* Comparison of bisoprolol and carvedilol cardioprotection in a rabbit ischemia and reperfusion model[J]. *Eur J Pharmacol*, 2000,406(1):109 – 116
- 22 刘琳,等. 心力衰竭患者血浆儿茶酚胺水平及作用[J]. *放射免疫学杂志*, 2009,22(4):393 – 396
- 23 Gayen JR, *et al.* Global disturbances in autonomic function yield cardiovascular instability and hypertension in the chromogranin a null mouse[J]. *Endocrinology*, 2009,150(11):5027 – 5035
- 24 Gaede AH, Pilowsky PM. Catestatin in rat RVLM is sympathoexcitatory, increases barosensitivity, and attenuates chemosensitivity and the somatosympathetic reflex[J]. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 2010,299(6):R1538 – 1545

(收稿:2011 – 05 – 17)

(修回:2011 – 05 – 20)

松弛素对心脏的保护作用

王 萍 王宇朋 李虹伟

松弛素(relaxin,RLX)最初被认为是一种妊娠相关激素。近年来发现,RLX在非生殖系统(心脏、肾脏、神经系统等)发挥作用。RLX的表达在一些心脏病病理状态下发生变化:心力衰竭患者血浆和心脏局部松弛素表达增加,并且和心力衰竭的程度呈正相关。

作者单位:100050 首都医科大学附属北京友谊医院心脏中心(王萍、李虹伟);干部保健中心(王宇朋)

通讯作者:李虹伟,教授,主任医师,博士生导师,电子信箱:mcw19656@yahoo.com.cn

自发性高血压大鼠心脏松弛素 mRNA 和蛋白水平显著升高。高血压患者血浆松弛素水平降低^[1]。在异丙肾上腺素诱导的大鼠心肌缺血损伤模型中,心脏和血浆中松弛素水平明显升高^[2]。RLX通过拮抗心肌纤维化,改善心室重塑,改善血流动力学状态,降低心脏负荷,促进心肌再生,抑制炎症反应来发挥对心脏的保护作用。

一、松弛素拮抗心肌纤维化

心肌纤维化主要是由于成纤维细胞的增殖、活