

生变化。

E1 是泛素与底物蛋白结合所需的第 1 个酶。E1 的高效性使其在泛素浓度很低的情况下就能够激活泛素,即 E1 在耗能的条件下通过泛素 C 端甘氨酸残基与酶活性部分的半胱氨酸结合形成高能键,泛素被 E1 激活,产生了高能的 E1 - 硫醇 - 酯 - 泛素媒介,随后被激活的泛素被转移到 E2。随后 E2 在泛素化过程中发挥作用,其具体作用机制尚不清楚,需要进一步的研究。E2 在结构上包含 1 个含有半胱氨酸位点的保守核心结构域与多个基因,在一定程度上参与了泛素化特异性与效率的调节。在蛋白底物多聚泛素化的过程中,E2 在 E1 与 E3 之间往返运行,促使底物蛋白与泛素联结,也可与 E3 联合将泛素转移为高能 E3 - 泛素媒介。此外,E2 在 DNA 修饰、生长发育过程中也起到一定的作用。E3 是泛素化途径中的第 3 个酶,也是研究最多的酶。根据 E3 包含的具有识别功能的结构域的不同可将其分为以下两个家族:① HECT 家族,此家族包含了保守性的 HECT 结构域,该结构域可直接催化底物蛋白的泛素化过程,即通过与泛素的硫酯键连接形成作为过渡的 $ub - E3$,随后将泛素转移到靶蛋白上;② RING - finger 家族,包括了 $c - Cbt$, APC 和 SCF 等。RING 结构域在泛素转运过程中不能像 HECT 结构域可以直接与 ub 形成过渡的复合物 $ub - E3$,而是先与 $Ub - E2$ 形成复合物,随后直接将 Ub 转移至靶蛋白上。E3 决定了靶蛋白的特异识别性,这一点在泛素化途径中起到了重要的作用^[12]。E4 是最近发现新的泛素结合途径成员,它是一种具有蛋白酶体靶向定位的、泛素结合底物的、具有泛素化作用等特点的结合因子。E4 主要参与靶定带有融合 N 端的稳定泛素化位点的嵌合体模型底物的过程。E4 可通过结合到这些结合物的泛素基序上(E1、E2、E3 酶结合的位置上),去促进多聚泛素链的装配。

2. 泛素化过程与心肌肥厚的关系:泛素在 E1 的作用下活化,与 E1 以共价结合的方式连接,产生高能的 E1 - 硫醇 - 酯 - 泛素链接,而后泛素被转移到 E2。随后 E2 - 泛素复合物被 E3 识别,能将已经被活化的泛素从 E2 高效的转移到靶蛋白。一旦上述过程发生紊乱,就可能导致蛋白酶体功能障碍,继而导致心肌细胞内不需要的蛋白水平不断升高,最终引起心肌细胞的功能障碍甚至凋亡,在一些重要的心血管系统疾病的发生、发展中起到了重要的作用。有证据表明在出现颈动脉斑块破裂的糖尿病患者中 UPS 起

到了推波助澜的作用,这与 UPS 调节由氧化应激引起的炎症有关。

二、蛋白酶体

1. 蛋白酶体组成与功能:蛋白酶体可分为 20S 蛋白酶体和 26S 蛋白酶体两种形式,细胞内最普遍存在的蛋白酶体是 26S 蛋白酶体,它是一种包含有 1 个 20S 核心颗粒和 2 个 19S 调节颗粒的桶状结构,也是一种依赖 ATP 的蛋白水解复合物^[13]。20S 核心颗粒是由 4 个七元环叠成的蛋白酶体的降解核心,其两侧外环由 $\alpha 1 - 7$ 亚单位组成,主要对底物的识别起作用;两个内环由 $\beta 1 - 7$ 亚单位构成,主要对底物的降解起到催化的作用。最新的研究证明不同的 β 亚单位具有不同的蛋白酶活性,包括了胰蛋白酶样活性、糜蛋白酶样活性和半胱氨酸蛋白酶样活性,分别负责分解羧基碱性、疏水性或芳香性、酸性氨基酸残基,促使蛋白质降解,释放出短肽片段^[14]。19S 调节颗粒包含了由 10 个基底蛋白分子组成的碱性亚复合体和 9 个蛋白分子组成的亚复合体,它既可使底物蛋白去泛素化又可以识别多聚泛素化的底物。蛋白酶体可打断被标记的靶蛋白的肽键促使其降解,但泛素的结构与功能不会产生影响。临床上对蛋白酶体的关注程度正迅速增加,大量研究证明蛋白酶体的功能紊乱与亨廷顿舞蹈症、帕金森综合征、阿尔茨海默病等疾病密切相关^[15]。此外,UPS 功能紊乱对一些重要的心血管系统疾病如心肌病、心力衰竭、动脉粥样硬化等的发生和发展具有重要的病理生理学意义。

2. 蛋白酶体与心肌肥厚:尽管蛋白酶体在心肌肥厚中的具体作用有待研究,但在一些心肌肥厚的模型中检测出了蛋白酶体亚单位蛋白质表达的增强,这是因为蛋白酶体促进了心肌肥厚的抑制因子的降解,如早期诱导环腺苷酸抑制因子(inducible cyclic AMP early repressor, ICER)。此外蛋白酶体还参与了蛋白质降解、修改延长因子的活动等机制。在压力负荷诱导的心肌肥厚的动物模型中也发现心肌细胞内蛋白酶体亚基蛋白的水平与心肌肥厚呈正相关。此外,在酵母载体实验表明,细胞压力负荷的增加促进了胞质的蛋白酶体易位到细胞核外围,并通过超表达 H11 激酶伴侣蛋白和热休克蛋白 22 来维持细胞的稳态。这个反应同时伴随着糜蛋白酶的活性与蛋白酶体蛋白表达上的增强,以及 $\alpha 7$ 蛋白质的磷酸化作用的减弱^[16]。

三、蛋白酶体抑制剂

1. 蛋白酶体抑制剂作用机制:在心脏负荷增加的

情况下,心脏蛋白酶体功能可发生紊乱,进而产生一系列的变化并进展为心肌肥厚。蛋白酶体抑制剂抑制心肌肥厚的发生、发展是多种因素共同决定的,其机制可归纳为以下几点:①抑制 UPS 的功能可以抑制 UPS 对 G 蛋白偶联受体激酶 2 (G protein-coupled receptor kinases2, GRK2) 的降解^[17];②抑制 UPS 可以抑制 UPS 对有含半胱氨酸的天冬氨酸蛋白水解酶富集功能域的凋亡抑制因子的降解;③抑制 UPS 的功能可抑制核因子 κ B (NF- κ B) 参与的炎症途径的激活^[18]。在动物模型中也先发蛋白酶体抑制剂能够抑制蛋白酶体功能紊乱引起的生理性和病理性心肌肥厚。

2. 肽硼酸酯类抑制剂:肽硼酸酯类抑制剂是一类活性较高的蛋白酶体抑制剂,其代表性药物硼替佐米是第 1 种上市的蛋白酶体抑制剂,它是一种具有较高可逆性和选择性的 26S 蛋白酶体抑制剂,结构上与 PS-519 不同但却有着相似的作用,可特异性的与蛋白酶体 20S 亚基的活性位点结合,从而起到抑制 26S 蛋白酶体活性的作用^[19]。硼替佐米的不同计量会对心脏造成不同的影响,较低剂量的硼替佐米可以阻止或阻断心肌肥厚的过程,但高剂量硼替佐米则会使心脏承受额外的压力,甚至恶化过渡到心力衰竭。同时也必须提及,硼替佐米对多种肿瘤细胞具有细胞毒性,可延迟肿瘤的生长,现已治疗多发性骨髓瘤和套细胞淋巴瘤的常用药物。上文中提到的 PS-519,也是一种作用于 26S 蛋白酶体的核心蛋白酶的蛋白酶体抑制剂,它可以永久抑制 20S 蛋白酶体的糜蛋白酶的活性并能阻断 κ B 抑制蛋白 (I κ B) 降解。这不仅可以阻止核移位也可以防止在心肌肥厚过程中起到重要作用的 NF- κ B 信号通路被激活,在对抗心肌肥厚的发生发展过程有着显著的效果。

3. 肽醛类抑制剂:肽醛类抑制剂是一种类蛋白酶体抑制剂,可以高效、特异性的抑制蛋白酶体的活性。其代表性的药物是 MG132,即三肽基乙醛,它通过分子中的醛基与蛋白酶体活性中心苏氨酸上的羟基形成可逆性的半缩醛结构,从而起到抑制蛋白酶体水解活性、对抗心肌肥厚的作用^[20]。最新的研究也证明 MG132 通过调控 ERK1/2 和 JNK1 信号通路影响心肌肥厚的过程。尽管在一定的剂量范围内它呈现出浓度依赖性,超过此范围 MG132 则可能产生细胞毒性。MG132 对血压几乎没有影响,因此它可以做心肌肥厚的药理抑制剂,而不必担心血压波动对实验结果的影响。

四、展 望

众所周知,心肌肥厚是一个代偿性的过程。心肌肥厚是心肌细胞内的蛋白质不断累积,即细胞内蛋白质的合成大于蛋白质的分解产生的结果。同时,作为蛋白质稳态的重要调控手段的 UPS,可以通过调控不同的环节对心肌肥厚的过程进行干预,这使其可能成为心肌肥厚干预的新靶点。蛋白酶体抑制剂可以通过抑制蛋白质合成,抑制了长期内质网应激所造成的对心脏的不利影响并可以减少心肌细胞的凋亡,这为今后心肌肥厚的治疗提供了新的思路。展望未来,一些蛋白酶体抑制剂(如 MG132)可以作为抗高血压药的组成部分,在维持患者血压的相对稳定的情况下,特异性地解决患者心肌肥厚和心脏收缩功能下降等问题,仍需要在进一步的动物实验和临床治疗中评价蛋白酶体抑制剂对心肌细胞作用的有效性、安全性和最佳剂量。

参考文献

- 1 Balakumar P, Jagadeesh G. Multifarious molecular signaling cascades of cardiac hypertrophy: can the muddy waters be cleared? [J]. *Pharmacol Res*, 2010, 62(5): 365-383
- 2 Zaidi A, Sharma S. Exercise and heart disease: from athletes and arrhythmias to hypertrophic cardiomyopathy and congenital heart disease [J]. *Future Cardiol*, 2013, 9(1): 119-136
- 3 Kathodi RE, Couri LDM. Left ventricular hypertrophy: major risk factor in patients with hypertension: update and practical clinical applications [J]. *Int J Hypertens*, 2011, 11: 495349
- 4 Sadanandom A, Bailey M, Ewan R, et al. The ubiquitin-proteasome system: central modifier of plant signalling [J]. *New Phytol*, 2012, 196(1): 13-28
- 5 Chondrogianni N, Gonos ES. Structure and function of the ubiquitin-proteasome system: modulation of components [J]. *Prog Mol Biol Transl Sci*, 2012, 109: 41-74
- 6 Jankowska E, Stoj J, Karpowicz P, et al. The proteasome in health and disease [J]. *Curr Pharm Des*, 2013, 19(6): 1010-1028
- 7 Neutznier M, Neutznier A. Enzymes of ubiquitination and deubiquitination [J]. *Essays Biochem*, 2012, 52: 37-50
- 8 Shaid S, Brandts CH, Serve H, et al. Ubiquitination and selective autophagy [J]. *Cell Death Differ*, 2013, 20(1): 21-30
- 9 Zencheck WD, Xiao H, Weiss LM. Lysine post-translational modifications and the cytoskeleton [J]. *Essays Biochem*, 2012, 52: 135-145
- 10 Jung T, Catalgol B, Grune T. The proteasomal system [J]. *Mol Aspects Med*, 2009, 30(4): 191-296
- 11 Garcia ML, Reynolds TD, Mothes W, et al. Functional characterization of the putative hepatitis B virus core protein late domain using retrovirus chimeras [J]. *PLoS One*, 2013, 8(8): e72845
- 12 Teixeira LK, Reed SI. Ubiquitin ligases and cell cycle control [J]. *Annu Rev Biochem*, 2013, 82: 387-414

- 13 Luo H, Wong J, Wong B. Protein degradation systems in viral myocarditis leading to dilated cardiomyopathy[J]. Cardiovasc Res, 2010, 85(2): 347-356
- 14 Song CZ, Wang QW, Song CC. Diminution of hemoglobin-derived hemophan an underlying risk factor for cognitive deficit in diabetes[J]. Journal of the Neurological Sciences, 2012, 317(1-2): 157-158
- 15 Luo GR, Le WD. Collective roles of molecular chaperones in protein degradation pathways associated with neurodegenerative diseases[J]. Current Pharmaceutical Biotechnology, 2010, 11(2): 180-187
- 16 Hedhli N, Wang L, Rshed E, et al. Proteasome activation during cardiac hypertrophy by the chaperone H11 Kinase/Hsp22[J]. Cardiovasc Res, 2008, 77(3): 497-505
- 17 Huang S, Patterson E, Yu X, et al. Proteasome inhibition 1 h following ischemia protects GRK2 and prevents malignant ventricular tachyarrhythmias and SCD in a model of myocardial infarction[J]. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2008, 294(3): H1298-H1303
- 18 Li C, Chen S, Yue P, et al. Proteasome inhibitor PS-341 (bortezomib) induces calpain dependent IkappaB(alpha) degradation[J]. J Biol Chem, 2010, 285(21): 16096-16104
- 19 Moreau P, Richardson PG, Cavo M, et al. Proteasome inhibitors in multiple myeloma 10 years later[J]. Blood, 2012, 120(5): 947-959
- 20 Rajagopalan V, Zhao M, Reddy S, et al. Altered ubiquitin-proteasome signaling in right ventricular hypertrophy and failure[J]. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2013, 305(4): H551-H562
- (收稿日期: 2014-04-10)
(修回日期: 2014-05-06)

血管衰老与雄激素

孙 荣 谈世进

摘 要 血管衰老是多种心脑血管疾病发生、发展的独立危险因素。由于血管衰老缺乏具体而典型的临床症状, 主要作为基础病理变化影响衰老相关性疾病的发生、发展。血管衰老不仅表现为血管功能障碍且血管细胞的信号转导也发生了改变, 继而影响血管细胞的增殖、分化、衰老及凋亡。雄激素作为男性重要的性激素被广泛地认为有抗衰老作用, 可通过多种信号通路影响血管及血管细胞的功能。本文主要从血管衰老的功能及结构两个层面探讨雄激素对血管衰老产生的影响。

关键词 雄激素 心血管疾病 血管衰老

[中图分类号] R972 [文献标识码] A

年龄的增长不仅伴随着衰老, 还伴随着衰老性疾病的发生, 如动脉粥样硬化(atherosclerosis, AS)、高血压、脑卒中等心脑血管疾病。血管衰老作为推动衰老性疾病发生、发展的重要因素, 被认为是衰老性疾病的共同发病机制。近年来, 由于全国人口老龄化的加剧, 这些衰老性疾病的发生率及病死率一直处于高水平状态, 迫切需要探索加速血管衰老的影响因素及机制, 为临床干预措施提供依据。雄激素作为男性体内重要的性激素, 不仅决定了男性的第二性征, 尤其与老年男性心血管疾病关系密切。流行病学研究显示, 雄激素缺乏是心血管疾病(cardiovascular disease, CVD)的独立危险因素^[1]。本文着重阐述雄激素对血管衰老的影响, 主要从血管衰老的功能及结构两个层面探讨。

一、血管衰老

衰老不仅是年龄的增长, 还伴随着器官、组织、细胞的衰老, 尤其是血管的衰老。衰老是 CVD 主要的危险因素, 可以解释 50% 衰老患者临床 CVD 的出现。实际上, 由增龄导致的血管结构和功能的改变(即血管衰老), 独立于一些其他的危险因素, 如高血压、糖尿病及高胆固醇血症的存在而产生致病作用^[2]。血管的发育从 20 岁以后维持相对稳定, 中年期后开始衰老。随着年龄增长, 血管发生一系列病理生理变化如生理性硬化, 动脉壁延展性降低, 动脉供血功能减退。血管衰老的变化总结为动脉管腔的扩大、内膜中膜的增厚、血管硬化及内皮功能障碍^[3]。以往认为血管衰老是一系列不可变因素产生的不可避免的进程, 但随着近几年对衰老的深入研究, 目前认为探讨衰老相关的血管功能障碍的分子机制, 可以促使我们找到延缓血管衰老的策略, 减少 CVD 的发生并延缓其进展。

作者单位: 200233 上海交通大学附属第六人民医院老年科

通讯作者: 谈世进, 主任医师, 硕士生导师, 电子信箱: tanshijinsh@

163.com

泛素 - 蛋白酶体系统与心肌肥厚

张文斌 唐其柱 李 金

摘 要 在长期容量或者压力负荷诱导下,心肌会发生代偿性的变化,这一过程中包含一系列信号转导通路和转录因子的变化,使心肌细胞蛋白质不断累积,最终导致心肌肥厚。泛素 - 蛋白酶体系统广泛存在于细胞中并以高度特异方式对不需要的蛋白进行降解,其功能的紊乱与心肌肥厚发生、发展密切相关。在腹主动脉结扎的动物模型中已经证实,抑制泛素 - 蛋白酶体系统可阻止或逆转心肌肥厚的过程,这为寻找心肌肥厚防治靶点提供了新思路。

关键词 泛素蛋白酶体系统 蛋白酶体抑制因子 心肌肥厚

[中图分类号] R542.2 **[文献标识码]** A

心肌肥厚(cardiac hypertrophy)在广义上是指由于压力负荷或者容量负荷过大导致心肌产生的代偿性的变化,包括心室壁肥厚和心室腔扩大两个方面。心肌肥厚可以分为生理性肥厚和病理性肥厚两种,生理性肥厚作为一种适应性肥厚,本文不做过多探讨。而病理性肥厚则是一种代偿性肥厚,多见于高血压、心瓣膜病、心肌疾病等心血管疾病,是心肌对心血管疾病的一种病理反应^[1]。多项研究已经证明心肌肥厚是心律失常、心肌缺血等心血管疾病或并发症的独立危险因素,终末期可导致心力衰竭和恶性室性心律失常发生,也是猝死的一个危险因素^[2,3]。心肌肥厚必然伴随着心肌细胞内蛋白质合成与降解的失调,即蛋白质合成增加、降解的减少或是兼有两者,因此泛素蛋白酶体系统(ubiquitin - proteasome system, UPS)作为一个调节细胞内蛋白质的降解与功能的关键系统,在心肌肥厚的发生发展过程中起到了关键性的作用。美国心脏协会亦证实 UPS 是维持心脏平衡的重要条件。在细胞内,UPS 途径通过消耗腺嘌呤核苷三磷酸(adenosine triphosphate, ATP),对底物蛋白质进行高效的、高选择性的降解,哺乳动物细胞内约 80% ~ 90% 的蛋白质通过这个途径被降解^[4]。UPS 途径在降解错误折叠的、被氧化的以及损伤的蛋白质的过程中起到至关重要的作用^[5]。心肌肥厚的发生有高血压、神经内分泌因素以及生长因子和细胞因子等诸多因素的参与,但本文主要对 UPS 抑制剂对抗由高血压引起的心肌肥厚,尤其是左心室肥厚(left ven-

tricular hypertrophy, LVF)的机制进行阐述。

一、泛素化过程

泛素化在哺乳动物细胞内蛋白质降解的过程中起到重要作用,在调控蛋白质的活性与定位过程中扮演了重要角色^[6]。泛素化过程是泛素对底物蛋白进行分类、筛选及处理的耗能过程,也是一种蛋白质翻译后的修饰(post - translational modification, PTM)的过程。泛素化系统主要包括泛素(ubiquitin)、泛素活化酶(ubiquitin activating enzyme, E1)、泛素结合酶(ubiquitin conjugating enzyme, E2)、泛素连接酶(ubiquitin protein ligase, E3)、泛素链延长因子(E4)^[7]。泛素化修饰可作用于细胞中广泛的底物蛋白,故其可参与细胞凋亡、增殖、转录调节、DNA 损伤修复及炎症免疫应答等细胞活动,它所扮演的角色也远比我们最初认为的要重要的多^[8,9]。泛素化过程在心肌肥厚中的关键作用已经被证实,c - Jun、c - Fos 以及 P53 等参与心肌肥厚的信号分子都可以被 E3 特异性的识别。此外,体内胰岛素水平、反转录病毒的出芽等过程的调控也被证实有泛素化过程的参与^[10,11]。

1. 泛素化过程的主要因子:泛素是由 76 个氨基酸组成的具有特殊稳定性的小分子热稳定蛋白,广泛存在于哺乳动物的细胞中。泛素化修饰是指底物蛋白在酶的催化作用下与一个或多个泛素分子连接在一起从而完成对底物蛋白的修饰。一般认为多泛素化修饰后的蛋白质更易被水解,研究也证实细胞内的底物蛋白以多泛素链的形式被标记后再由蛋白酶体进行识别降解。靶蛋白被泛素作标记的实质是靶蛋白质上的一个赖氨酸(Lys)与泛素末端甘氨酸(Gly)之间形成共价结合而发挥生物作用,在此过程中作为热稳定蛋白的泛素也能保持自己的结构与功能不发

作者单位:430071 武汉大学人民医院心内科

通讯作者:唐其柱,教授,博士生导师,电子信箱:qztang@whu.edu.cn