

- [J]. Hypertension, 2011, 57(2): 308–313
- 5 Mazak I, Fiebeler A, Muller DN, *et al.* Aldosterone potentiates angiotensin II – induced signaling in vascular smooth muscle cells[J]. Circulation, 2004, 109(22): 2792–2800
- 6 Sihm G, Rousselle A, Vilianovitch L, *et al.* Physiology of the (pro) renin receptor: Wnt of change&quest [J]. Kidney International, 2010, 78(3): 246–256
- 7 Ghosh P, Dahms NM, Kornfeld S. Mannose 6 – phosphate receptors: new twists in the tale [J]. Nature Reviews Molecular cell biology, 2003, 4(3): 202–213
- 8 Pessôa BS, Van der Lubbe N, Verdon K, *et al.* Key developments in renin – angiotensin – aldosterone system inhibition [J]. Nature Reviews Nephrology, 2012, 9(1): 26–36
- 9 Stegbauer J, Coffman TM. New insights into angiotensin receptor actions: from blood pressure to aging [J]. Current Opinion in Nephrology and Hypertension, 2011, 20(1): 84–88
- 10 Gross V, Schunck WH, Honeck H, *et al.* Inhibition of pressure natriuresis in mice lacking the AT₂ receptor [J]. Kidney International, 2000, 57(1): 191–202
- 11 Lemarié CA, Schiffrin EL. The angiotensin II type 2 receptor in cardiovascular disease [J]. Journal of Renin – Angiotensin – Aldosterone System, 2010, 11(1): 19–31
- 12 Yatabe J, Yoneda M, yatabe MS, *et al.* Angiotensin III stimulates aldosterone secretion from adrenal gland partially via angiotensin II type 2 receptor but not angiotensin II type 1 receptor [J]. Endocrinology, 2011, 152(4): 1582–1588
- 13 Padia SH, Kemp BA, Howell NL, *et al.* Conversion of renal angiotensin II to angiotensin III is critical for AT₂ receptor – mediated natriuresis in rats [J]. Hypertension, 2008, 51(2): 460–465
- 14 Hilliard LM, Jones ES, Steckelings UM, *et al.* Sex – specific influence of angiotensin type 2 receptor stimulation on renal function a novel therapeutic target for hypertension [J]. Hypertension, 2012, 59(2): 409–414
- 15 Verdon K, Durik M, Abd-alla N, *et al.* Compound 21 induces vaso-relaxation via an endothelium – and angiotensin II type 2 receptor – independent mechanism [J]. Hypertension, 2012, 60(3): 722–729
- 16 Ardura JA, Friedman PA. Regulation of G protein – coupled receptor function by Na⁺/H⁺ exchange Regulatory factors [J]. Pharmacological reviews, 2011, 63(4): 882–900
- 17 Hamm LL, Feng Z, Hering – Smith KS. Regulation of sodium transport by ENaC in the kidney [J]. Current Opinion in Nephrology and Hypertension, 2010, 19(1): 98–105
- 18 Gurley SB, Riquier – Brison AD, Schnermann J, *et al.* AT1A angiotensin receptors in the renal proximal tubule regulate blood pressure [J]. Cell Metabolism, 2011, 13(4): 469–475
- 19 Mutig K, Saritas T, Uchida S, *et al.* Short – term stimulation of the thiazide – sensitive Na⁺ – Cl[–] cotransporter by vasopressin involves phosphorylation and membrane translocation [J]. American Journal of Physiology – Renal Physiology, 2010, 298(3): F502–F509
- 20 Van der Lubbe N, Zietse R, Hoorn EJ. Effects of angiotensin II on kinase – mediated sodium and potassium transport in the distal nephron [J]. Current Opinion in Nephrology and hypertension, 2013, 22(1): 120–126
- 21 Frindt G, Palmer LG. Effects of dietary K on cell – surface expression of renal ion channels and transporters [J]. American Journal of Physiology – Renal Physiology, 2010, 299(4): F890–F897

(收稿日期:2014–06–16)

(修回日期:2014–08–19)

缝隙连接蛋白 43 在心血管疾病中的研究进展

王光宇 祝俊英 张庆勇

摘 要 缝隙连接蛋白 43 (connexin43, Cx43) 在维持心脏正常电生理活动中扮演着重要角色。在心肌细胞闰盘处, Cx43 组成的缝隙连接 (gap junctions, GJs) 是正常细胞和组织的特征性标志之一。在心血管疾病中, 包括先天性心脏病、高血压、心肌梗死及心力衰竭等都能引起 Cx43 的含量和 (或) 分布发生改变, 从而导致心肌细胞间的化学信号和 (或) 电信号传递发生障碍, 进而形成了各种心律失常的解剖学基础。与此同时, Cx43 的磷酸化状态改变也影响缝隙连接通道的开关, 阻碍细胞间的信息交流。本文就 Cx43 在心血管疾病中的最新研究进展做一综述。

关键词 Cx43 高血压 心肌梗死 心房颤动 心力衰竭

中图分类号 R3

文献标识码 A

DOI 10.3969/j.issn.1673-548X.2015.01.003

作者单位: 200233 上海交通大学附属第六人民医院心内科 (王光宇、张庆勇); 200233 上海交通大学医学院 (祝俊英)

通讯作者: 张庆勇, 电子信箱: wanggysjtj@163.com

近年来, 心血管疾病已经成为影响人类身体健康的重要因素之一。包括先天性心脏病、高血压、动脉粥样硬化、心肌梗死及心力衰竭等都能导致心肌收缩不良、心室重构及各种心律失常。由 Cx43 组成的

GJs 在心室组织中大量表达,其具有低电阻、高传导的特点,使得心脏成为一个功能性合胞体同步收缩^[1]。然而这些疾病都能导致 Cx43 含量、分布及磷酸化状态发生改变,进而影响 GJs 的开关,心肌细胞间的电活动就无法正常有序进行,从而诱发各种心律失常。

一、Cx43 与先天性心脏病

GJs 在维持正常心肌细胞生长、发育和分化过程中具有至关重要的作用。一些研究表明心脏发育不良与 Cx43 基因突变相关^[1]。前期的研究发现在 Cx43 基因敲出的动物模型中,心脏改变和法洛四联症患者具有一定的相似性^[2]。Yu 等^[3]研究发现用 ENU 诱导 Cx43 基因突变可以引起心脏圆锥动脉干畸形和冠状动脉瘤。一项临床研究表明 Cx43 基因点突变与左心室发育不全综合征及内脏心房异位综合征相关^[4,5]。2010 年,在一项针对中国儿童研究中发现,绝大多数先心病患儿都有 Cx43 羧基末端基因突变^[6]。然而 Salameh 等^[1]的研究表明虽然 Cx43 在心脏发育过程中必不可少,但是 Cx43 基因的点突变并不是导致法洛四联症的主要原因,这和 Sawaya 等^[7]研究一致。Huang 等^[8]的研究表明,不论从临床上还是基因敲除小鼠模型中,Cx43 基因点突变都不是引起先心病的主要原因,特别是对那些流出道异常的先心病。综合上述实验结果,Cx43 基因突变与一部分先心病有关,同时这些研究结论的不一致性或许和实验动物物种、动物模型、实验条件及实验技术等不同相关。

二、Cx43 与高血压

心血管疾病包括高血压增加了恶性心律失常风险^[9]。心律失常的发生又与 GJs 重构密切相关,然而一切变化归根结底是由于 Cx43 发生改变。Benova 等^[9]研究发现在自发性高血压大鼠 (SHR) 模型中,Cx43 mRNA 水平显著增多,但是 Cx43 总量和磷酸化水平却是降低的,表明 SHR 引起 Cx43 降解增多,代偿性引起 Cx43 mRNA 水平增多。免疫荧光发现 SHR 中 Cx43 排列紊乱,心肌细胞侧面荧光强度增加,而且定量图像分析提示 SHR Cx43 阳性信号强度显著减少。而 Haefliger 等^[10]实验结果表明在高血压模型中 Cx43 mRNA 含量没有明显变化。这可能是由于高血压动物模型不同。Alonso 等^[11]用结扎 1 支肾动脉的方法和用 N-硝基-L-精氨酸诱导高血压的方法,高血压动物模型大动脉厚度增加,平滑肌细胞上 Cx45 和 Cx37 含量增加,内皮细胞上 Cx43 含量增加。

但是只有在肾素依赖型高血压动物模型中,平滑肌细胞上 Cx43 含量增加,但是 Ser368 磷酸化水平没有变化。进一步研究发现肾素依赖型高血压导致 Ang II 激活 ERK1/2,进而引起 NF- κ B 激活。NF- κ B 又与 Cx43 基因启动子结合,导致 Cx43 合成增加。当 ERK 活性恢复到基础水平时,Cx43 的变化却并没有因此而终止,表明还有其他机制参与 Cx43 的表达调控,这和 Zhao 等^[12]研究结果一致,而且用 Ang II 受体拮抗剂缬沙坦可以抑制 GJs 的重构,推测很可能是通过 NF- κ B 途径发挥作用。但 Dlugosova 等^[13]研究却得出截然不同的结果,他们发现在临界高血压大鼠 (BHR) 和自发性高血压大鼠 (SHR) 中,Cx43 表达量在 BHR 阶段就已经降低,SHR 阶段更明显。一项更为引人注目的研究发现,结扎一支肾动脉的方法和用去氧皮质酮盐混合剂方法诱导产生的高血压动物模型中大动脉 Cx43 的含量增加了 2 倍,磷酸化水平也相应的增加。而用 N-硝基-L-精氨酸诱导高血压的方法中颈动脉 Cx43 含量减少了 50%^[10]。这些实验结果的不一致表明在不同的高血压模型中调控 Cx43 的途径是不相同的,而且也支持 Cx43 表达具有空间异质性这一观点。

三、Cx43 与动脉粥样硬化

动脉粥样硬化是一个多步骤病变过程,包括氧化型低密度脂蛋白和低密度脂蛋白在血管壁的沉积、炎症瀑布效应,其晚期结局就是纤维斑块破裂和血栓形成^[14]。动脉粥样硬化病理表现为动脉内皮损伤、平滑肌细胞增殖和泡沫巨噬细胞形成等^[15]。这一系列的病理变化需要细胞间信息交流才能有效完成。Wei 等^[16]发现高脂饮食组 Cx43 的表达量增加,同时 Cx43 荧光信号强度增加,而且有研究者发现动脉粥样硬化过程中不仅 Cx43 表达量增加,Cx43 Ser279/282 磷酸化水平也增加^[17]。前期研究提示动脉粥样硬化早期阶段动脉内膜 Cx43 mRNA 和蛋白总量就有所增加,透射电子显微镜提示增殖的平滑肌细胞间 GJ 结构增大,用缬沙坦治疗可以减少 Cx43 mRNA 和蛋白水平,提示在动脉粥样硬化条件下 RAS 系统参与 Cx43 的调节^[18]。高脂饮食饲养 Cx43^{+/-} LDLR^{-/-} 和 Cx43^{+/+} LDLR^{-/-} 小鼠,前者大动脉粥样硬化斑块大约减少了 50%,而且前者斑块体积减小、泡沫细胞数量减少及平滑肌细胞和胶原纤维增加,这提示抑制 Cx43 的表达有助于减慢动脉粥样硬化病程发展^[19]。

四、Cx43 与心肌梗死

最近研究发现,心肌梗死后易于发生心律失

常^[20]。心肌梗死后发生的室性心动过速(VT)是导致患者猝死的常见原因,瘢痕边界形成的折返途径是形成VT的解剖学基础^[20]。Cody等发现心肌梗死后瘢痕边界的Cx43含量显著降低,而且Cx43从心肌闰盘处向细胞侧面分布。进一步研究发现,心肌梗死后Cx43的磷酸化水平降低,这和前期研究结果一致。Cody等用c-Src抑制剂提高了Cx43的含量和磷酸化水平,降低VT易感性,但并没有改善Cx43侧面化分布。Ester等研究发现心肌梗死后瘢痕边界Cx43 Ser368磷酸化水平增加,蛋白激酶C(PKC)活性显著提高,闰盘处Cx43与ZO-1分离。Fabien等研究发现MI后,磷酸化的Src与ZO-1作用增强,与此同时ZO-1与Cx43的作用减弱,从而诱发Cx43从闰盘处向侧面分布。Ester等使用缝隙连接偶联剂增加了瘢痕边界Cx43含量,但未能反转转导速度(CV)的降低、Cx43的侧面化和Ser368磷酸化,表明还有其他机制参与心肌梗死后Cx43的调控。

早期研究认为心律失常的发生与离子通道异常相关,但Cody等^[21]的研究表明,各组间的动作电位时程并没有显著性改变,而且CV的改变不能用Na⁺通道改变来解释。Greener等^[20]用转基因技术提高梗死边界Cx43的含量,最终发现转基因组梗死边界Cx43含量是对照组的2倍,CV提高,只有40%的转基因动物易于诱发VT,而对照组100%易于诱发VT。据此Greener等^[20]推测提高梗死边界Cx43的含量可以减少VT易感性,而且未来心肌梗死后发生VT患者Cx43的转基因治疗是一种有效的措施。然后Macia等^[22]研究并不赞同这一点。Lee等^[23]研究发现使用ATP敏感度K⁺阻滞剂可降低心肌梗死后Cx43的减少,而且降低了心律失常的易感性。进一步研究发现ATP敏感度K⁺阻滞剂是通过PKC ϵ 途径发挥作用。有研究表明一些抗心律失常的药物或者缝隙连接通道偶联剂保持GJs处于开放状态可以增加梗死面积,但是Greener等^[20]的研究表明通过转基因技术提高Cx43含量,GJs可以根据内环境变化作出恰当反映,在缺血阶段可以适当关闭GJs,降低心肌梗死面积。

五、Cx43与心房颤动

心房颤动是心律失常中最常见的一种。前期的研究发现,心房颤动患者心肌细胞中Cx43侧面化明显,细胞极分布显著减少,同时横向转导速度增加。最近Susanne等的研究也支持这一观点,他们发现在心房颤动患者中,Cx43侧面分布提高,特别是对那些

心房颤动伴肥胖患者。Kato等发现心房颤动患者不仅Cx43侧面化分布增加,而且Cx43的总量也发生改变。Igarashi等用猪诱导心房颤动模型,使用腺病毒转染Cx43技术发现,对照组Cx43含量和磷酸化水平均降低,转染组Cx43含量、分布及磷酸化状态恢复正常,而且减少了心房颤动发生率。另外,他们研究发现转基因技术不仅恢复Cx功能而且改善心房颤动相关的转导异常,是未来治疗心房颤动患者的有效措施。综上所述,发生心房颤动时,Cx43数量减少,分布呈现侧面化及磷酸化水平降低。这些变化都影响GJs的功能状态,进而影响心脏的收缩和转导功能,但是心房颤动引起Cx43改变的具体机制还需要进一步的研究探索。

六、Cx43与心力衰竭

绝大部分心血管疾病发展到晚期阶段进展为心力衰竭(HF),HF临床表现为心肌泵血功能障碍和各种心律失常。有研究发现GJs的异质性重构导致心室肌非合胞体性收缩,Cx蛋白的破坏可以引起恶性室性心动过速,这是引起HF患者主要的死亡原因。减少GJ重构可改善细胞间偶联,有助于心肌同步收缩和心功能恢复。有研究认为,HF条件下氧化应激效应增加,而氧化应激可以抑制细胞间通信降低Cx43的表达,Liu等使用抗氧化剂改善心力衰竭动物Cx43的表达,减少GJs重构和抗心律失常效应。Wang等研究发现,HF动物QT间期及QTc间期显著性延长,Cx43总量减少及侧面化分布增加,在电子显微镜下观察发现GJ结构变的模糊不清。Ai等同样发现HF组织中Cx43含量减少,而Cx43非磷酸化含量却是增加的,进一步研究发现过表达Cx43可以改善细胞间通信,但是过表达的Cx43分布在整个细胞膜表面,而不像正常情况下聚集在心肌细胞闰盘处。最近Ai等发现HF组织中PAK1总量和PAK1磷酸化含量增加,进一步研究发现过表达PAK1增加PP2A活性,从而导致Cx43去磷酸化增加,减少细胞间通信,但是Cx43蛋白总量没有变化,使用PP2A抑制剂冈田酸可以抑制这一效应。Hesketh等研究发现HF心肌细胞中,Cx43内吞作用增加,而且内吞的Cx43与自噬体结合在一起,同时发现侧面分布的Cx43与线粒体或者其他细胞结构联系在一起。

综上所述,Cx43在心血管疾病发生、发展中具有至关重要作用,大多数疾病都能导致Cx43降解、侧面化分布及去磷酸化水平增加;但是在动脉粥样硬化阶段Cx43含量及磷酸化水平却是增加的。维

持 Cx43 含量、分布及磷酸化状态稳定,可以减缓疾病的发展,延长患者生命,改善患者生活质量。但是在这些病理条件下引起 Cx43 变化的具体机制还不清楚,有待于进一步研究。同时目前针对于 Cx43 的药物种类屈指可数,而且主要用于科研工作,这就需要加大对 Cx43 临床药物的开发力度。一方面,目前针对 Cx43 在心血管疾病中的作用认识还不够,大部分实验结论建立在表观现象上,未能深入研究具体信号传递机制;另一方面,现在的研究绝大部分建立在实验动物模型基础上,人体的调节机制还是和动物有所区别,不能一味地将动物实验结论套用在人体上,这就需要以后的研究重点侧向人体。总之,对 Cx43 在心血管疾病中的作用还需要以后更深入地研究。

参考文献

- 1 Salameh A, Haunschild J, Brauchle P, *et al.* On the role of the gap junction protein Cx43 (GJA1) in human cardiac malformations with fallot – pathology. A study on paediatric cardiac specimen [J]. PLoS One, 2014, 9(4): e95344
- 2 Reaume AG, De Sousa PA, Kulkarni S, *et al.* Cardiac malformation in neonatal mice lacking connexin43 [J]. Science, 1995, 267(5205): 1831 – 1834
- 3 Yu Q, Shen Y, Chatterjee B, *et al.* ENU induced mutations causing congenital cardiovascular anomalies [J]. Development, 2004, 131(24): 6211 – 6223
- 4 Dasgupta C, Martinez A M, Zuppan C W, *et al.* Identification of connexin43 (alpha1) gap junction gene mutations in patients with hypoplastic left heart syndrome by denaturing gradient gel electrophoresis (DGGE) [J]. Mutat Res, 2001, 479(1 – 2): 173 – 186
- 5 Britz – Cunningham SH, Shah MM, Zuppan CW, *et al.* Mutations of the connexin43 gap – junction gene in patients with heart malformations and defects of laterality [J]. N Engl J Med, 1995, 332(20): 1323 – 1329
- 6 Wang B, Wen Q, Xie X, *et al.* Mutation analysis of Connexon43 gene in Chinese patients with congenital heart defects [J]. Int J Cardiol, 2010, 145(3): 487 – 489
- 7 Sawaya F, Souki R, Arabi M, *et al.* Absence of GJA1 gene mutations in four patients with anomalous left coronary artery from the pulmonary artery (ALCAPA) [J]. J Med Liban, 2011, 59(3): 149 – 153
- 8 Huang GY, Xie LJ, Linask KL, *et al.* Evaluating the role of connexin43 in congenital heart disease: screening for mutations in patients with outflow tract anomalies and the analysis of knock – in mouse models [J]. J Cardiovasc Dis Res, 2011, 2(4): 206 – 212
- 9 Benova T, Vicenczova C, Radosinska J, *et al.* Melatonin attenuates hypertension – related proarrhythmic myocardial maladaptation of connexin – 43 and propensity of the heart to lethal arrhythmias [J]. Can J Physiol Pharmacol, 2013, 91(8): 633 – 639
- 10 Haefliger JA, Meda P. Chronic hypertension alters the expression of Cx43 in cardiovascular muscle cells [J]. Braz J Med Biol Res, 2000, 33(4): 431 – 438
- 11 Alonso F, Krattinger N, Mazzolai L, *et al.* An angiotensin II – and NF – kappaB – dependent mechanism increases connexin 43 in murine arteries targeted by renin – dependent hypertension [J]. Cardiovasc Res, 2010, 87(1): 166 – 176
- 12 Zhao LL, Chen HJ, Chen JZ, *et al.* Losartan reduced connexin43 expression in left ventricular myocardium of spontaneously hypertensive rats [J]. J Zhejiang Univ Sci B, 2008, 9(6): 448 – 454
- 13 Dlugosova K, Mitasikova M, Bernatova I, *et al.* Reduced connexin – 43 expression in the aorta of prehypertensive rats [J]. Physiol Res, 2008, 57(Suppl 2): S23 – 29
- 14 Lewis DR, Kamisoglu K, York AW, *et al.* Polymer – based therapeutics: nanoassemblies and nanoparticles for management of atherosclerosis [J]. Wiley Interdiscip Rev Nanomed Nanobiotechnol, 2011, 3(4): 400 – 420
- 15 Morel S. Multiple roles of connexins in atherosclerosis – and restenosis – Induced vascular remodelling [J]. J Vasc Res, 2014, 51(2): 149 – 161
- 16 Wei JM, Wang X, Gong H, *et al.* Ginkgo suppresses atherosclerosis through downregulating the expression of connexin 43 in rabbits [J]. Arch Med Sci, 2013, 9(2): 340 – 346
- 17 Johnstone S, Isakson B, Locke D. Biological and biophysical properties of vascular connexin channels [J]. Int Rev Cell Mol Biol, 2009, 278: 69 – 118
- 18 Ruan LM, Cai W, Chen JZ, *et al.* Effects of Losartan on expression of connexins at the early stage of atherosclerosis in rabbits [J]. Int J Med Sci, 2010, 7(2): 82 – 89
- 19 Kwak BR, Veillard N, Pelli G, *et al.* Reduced connexin43 expression inhibits atherosclerotic lesion formation in low – density lipoprotein receptor – deficient mice [J]. Circulation, 2003, 107(7): 1033 – 1039
- 20 Greener ID, Sasano T, Wan X, *et al.* Connexin43 gene transfer reduces ventricular tachycardia susceptibility after myocardial infarction [J]. J Am Coll Cardiol, 2012, 60(12): 1103 – 1110
- 21 Rutledge CA, Ng FS, Sulkin MS, *et al.* c – Src kinase inhibition reduces arrhythmia inducibility and connexin43 dysregulation after myocardial infarction [J]. J Am Coll Cardiol, 2014, 63(9): 928 – 934
- 22 Macia E, Dolmatova E, Cabo C, *et al.* Characterization of gap junction remodeling in epicardial border zone of healing canine infarcts and electrophysiological effects of partial reversal by rotigaptide [J]. Circ Arrhythm Electrophysiol, 2011, 4(3): 344 – 351
- 23 Lee TM, Lin CC, Lien HY, *et al.* K ATP channel agonists preserve connexin43 protein in infarcted rats by a protein kinase C – dependent pathway [J]. J Cell Mol Med, 2012, 16(4): 776 – 788

(收稿日期:2014 – 06 – 09)

(修回日期:2014 – 06 – 24)