G 蛋白信号调节因子 5 在动脉粥样硬化发展中的作用

肖亚莉 黄 鹤 黄 丹 廖佳芬 孔 彬 王志强 贺王伟

摘 要 动脉粥样硬化是一种慢性炎症性疾病,其中易损斑块已被确认为冠状动脉疾病潜在的危险因素。作为 G 蛋白信号调节蛋白(RGS)家族中的一员,RGS5 能负性调节 G 蛋白信号通路,调控内皮细胞功能和炎性介质的表达,从而增加动脉粥样硬化斑块的稳定性,进而影响动脉粥样硬化的发生、发展。本文将对 RGS5 与动脉粥样硬化发展中的作用做一综述。

关键词 动脉粥样硬化 G 蛋白信号调节因子 5

中图分类号 R3 **文献标识码** A **DOI** 10.11969/j.issn.1673-548X.2016.03.047

动脉粥样硬化是心血管疾病重要的病理生理状态,是西方国家发生率和病死率的主要原因^[1]。动脉粥样硬化是一种慢性炎症性疾病,是由氧化修饰的低密度脂蛋白诱导激活内皮功能障碍,随着趋化因子和黏附分子的分泌,吸附单核细胞,并逐渐迁移到动脉粥样硬化病变区域分化成巨噬细胞^[2,3]。最近,作为心肌梗死、心源性猝死和脑卒中等各种急性心血管事件发生的危险因素,动脉粥样硬化发展过程中的特征性易损斑块的识别已受到广泛关注^[4]。据报道,G 蛋白信号调节蛋白(regulators of G protein signaling, RGS)5 与易损斑块的关系密切,影响动脉粥样硬化的进展^[5]。

一、RGS5 的分子结构与功能

RGS 是一个拥有 120 ~ 130 个氨基酸残基保守序列(即 RGS 结构域)的蛋白家族,能负性调控 G 蛋白介导的受体信号(G protein-mediated receptor signaling, GPCRs)转导通路,并通过调控细胞参与多种生物过程。作为鸟苷酸酶激活蛋白,RGS 可以催化 G α 亚基所结合的 GTP 水解为 GDP,使 G α 亚基与 G β 、G γ 亚基重新结合,恢复成无活性的 G 蛋白三聚体状态^[6]。RGS5 是 RGS 蛋白家族中 B/R4 家族的重要成员之一,分子质量约 21kDa,位于 1 号染色体的 q23 区域,分别以单体和二聚体两种形式存在于细胞的胞质和胞膜中,在主动脉、心脏和骨骼肌表达丰富,特别是周细胞、平滑肌细胞(smooth muscle cells, SMC)和

心血管组织内皮细胞^[7]。

除了负性调节 GPCRs 转导通路的作用,RGS5 还能与效应器竞争结合 G α 亚基。Moroi 等^[8]发现 RGS5 蛋白的第 166 位丝氨酸残基可被蛋白激酶 C 磷酸化后引起 RGS 功能的丧失。这个丝氨酸残基是很多 RGS 蛋白的保守结构域,其磷酸化可视为一个分子开关,具有重要的功能意义。

二、RGS5 降低动脉粥样硬化斑块的不稳定性,延缓动脉粥样硬化发展

在人类动脉粥样硬化引起的心血管疾病中,斑块形态比斑块的直径和坏死中心的直径在不稳定斑块的破裂和急性临床事件发生的预测中更为重要,尤其是能起确定易损斑块的作用^[9]。血管壁通透性增加导致血管内皮细胞的凋亡,促进细胞因子、生长因子、脂质和免疫细胞的浸润,增加血管内皮细胞的促凝血活性并诱导动脉粥样硬化斑块的破裂^[10]。胶原含量和平滑肌细胞覆盖的纤维帽变薄、高水平的炎性细胞因子、脂质和内膜细胞凋亡的显著积累,也有助于动脉粥样硬化斑块的易损性^[11]。

在载脂蛋白 E(apolipoprotein E, ApoE)敲除构建的动脉粥样硬化模型小鼠中敲除 RGS5 基因,纤维帽坏死总面积几乎为 ApoE 敲除小鼠的 1.6 倍,脂质累积,SMC 和胶原含量的百分比下降,导致巨噬细胞的浸润显著增加^[5]。众所周知,巨噬细胞浸润有助于动脉粥样硬化泡沫细胞的形成。既往研究也证明,由于巨噬细胞吞噬清除能力的缺陷,晚期动脉粥样硬化病变中导致巨噬细胞凋亡的坏死中心比早期动脉粥样硬化病变中更多^[12]。由此可知,RGS5 与动脉粥样硬化发展过程中易损斑块的关系十分密切。

Cheng 等^[5]还对冠心病患者公认的动脉粥样硬化易发区,即右冠状动脉,采用 HE 染色进行形态学

基金项目:国家自然科学基金资助项目(81270249);湖北省科技支撑计划项目(2013BCB013);湖北省自然科学基金资助项目(2013CFA059)

作者单位:430060 武汉大学人民医院心内科

通讯作者:黄鹤,教授,主任医师,博士生导师,电子邮箱:huang-he1977@hotmail.com

分析、双免疫荧光标记冠状动脉壁内皮细胞层的方法,证明人类动脉粥样硬化斑块中 RGS5 的表达下调;同时,在动脉粥样硬化模型小鼠中,也得到了相同的 HE 染色和免疫荧光染色结果。总之,RGS5 缺失降低动脉粥样硬化斑块的稳定性。

在人脐静脉内皮细胞和动脉粥样硬化斑块中, ERK1/2 磷酸化的增加是 RGS5 缺失的结果^[13]。近年来研究发现,在 ApoE 敲除构建的动脉粥样硬化模型小鼠中敲除 RGS5 基因, MEK 和 ERK1/2 磷酸化蛋白的表达活性增加,而 p38 和 JNK1/2 的磷酸化未受影响;在体外,磷酸化的 ERK1/2、p65、I κ B α 以及标记的凋亡细胞和裂解的半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶 3 的表达水平增加,此外,与对照组相比,实验组小鼠病变的 NF- κ B p65 亚基的核易位增加^[5]。总的来说, RGS5 缺失激活 NF- κ B 和 MEK-ERK1/2 信号通路,在 RGS5 敲除的动脉粥样硬化中起着关键作用。

三、RGS5 调控内皮细胞功能

目前,越来越多的研究证明, RGS5 在内皮功能起重要作用。RGS5 是第 1 个能够标记血小板源生长因子受体 β 祖血管周细胞的因子,并参与血管重塑、皮肤伤口愈合和肿瘤血管的生成^[14]。在人类肾细胞癌的肿瘤血管中, RGS5 高度表达于血管内皮细胞中。Gu 等^[15]研究表明, RGS5 缺失能促进周细胞的成熟化、血管发育的正常化,从而提高肿瘤的缺氧状态,改善血管渗漏。这种效果类似于短暂性脑缺血后, RGS5 缺失能通过降低血管通透性而改善水肿,尤其是周围脑毛细血管周细胞的 RGS5 缺失的效果更为明显。据报道, RGS5 对缺氧环境下内皮细胞的存活也有重要作用,可通过拮抗血管内皮生长因子的血管生成作用,参与血管内皮细胞凋亡的诱导^[16]。此外, RGS5 缺失下调动脉粥样硬化斑块的内皮细胞层,并促进内皮细胞凋亡^[5]。

RGS5 缺失激活 NF- κ B 和 MEK-ERK1/2 信号通路,而活化的 NF- κ B 在炎性介质表达中起关键的调控作用,且已被确定存在于动脉粥样硬化病变的血管内皮细胞、SMC 和巨噬细胞^[17]。内皮功能障碍包括渗透性增强和炎性改变,与内皮细胞凋亡是公认的在动脉粥样硬化形成过程中的对氧化修饰的低密度脂蛋白早期炎性反应的重要结果。RGS5 缺失促进内皮细胞和巨噬细胞的凋亡。

四、RGS5 影响炎性介质的表达

MAPK 通路在大多数哺乳动物中存在表达,和 NF- κ B 通路一起,影响炎性刺激和其他各种刺激,

包括生长因子受体和环境应激,如氧化应激和内质网应激。MAPK 家族包括 3 个主要通路, ERK、p38 和 JNK。ERKs 信号通路是由炎性刺激激活 Ras 系统而被活化,包括 TNF 细胞因子家族和内源性危险信号,如在动脉粥样硬化中氧化的低密度脂蛋白和痛风中的尿酸结晶^[18]。JNK 和 p38 信号通路是由炎性细胞因子如 TNF- α 和 IL-1 β 刺激内皮细胞,或者由细胞应激反应如遗传毒性、渗透、缺氧或氧化应激而被活化。

Iiyama 等^[19]研究表明,在 ApoE 敲除构建的动脉粥样硬化模型小鼠中敲除 RGS5 基因,主动脉根部的血清细胞间黏附分子-1 (intercellular adhesion molecule-1, ICAM-1) 和血管内皮黏附分子-1 (vascular cell adhesion molecule-1, VCAM-1) 显著上调,并在不同地点大量表达。在早期的研究中, RGS5 缺失通过 JNK 和 NF- κ B 信号通路导致血脂异常增加、肥胖、脂肪沉积、肝细胞脂肪变性和循环炎症^[20]。近期研究表明,在 ApoE 敲除构建的动脉粥样硬化模型小鼠中敲除 RGS5 基因,除了浸润的巨噬细胞的数量增加,促炎因子 IL-6、IL-1 β 和 TNF- α 的表达也增强^[5]。随着 NF- κ B 信号高度活化,促炎因子可在巨噬细胞中表达。

此外, IL-10 的抗炎特性在动脉粥样硬化体内有大量的证据。例如, IL-10 cDNA 的转染明显降低内皮细胞 NF- κ B 的活化及 VCAM-1 和 ICAM-1 的表达,而 IL-10 缺失加重动脉粥样硬化^[2]。在 Cheng 等^[5]的研究中,在 ApoE 敲除构建的动脉粥样硬化模型小鼠中敲除 RGS5 基因,可以观察到小鼠动脉粥样硬化病变区 IL-10 的表达显著降低。

同时,内皮细胞特异性抑制 NF- κ B,减少促炎性细胞因子、趋化因子和黏附分子的表达,干扰单核细胞向动脉粥样硬化斑块的聚集,影响动脉粥样硬化斑块的形成^[21]。而 RGS5 缺失也会使由活化的内皮细胞分泌的 ICAM-1 和 VCAM-1 的增加,单核-吞噬细胞浸润明显增加,导致动脉粥样硬化的程度加剧^[3]。晚期的坏死中心和易损斑块的恶化导致了急性动脉粥样硬化临床事件的发生。总之, RGS5 缺失加速动脉粥样硬化发展。

五、其他

研究表明, RGS5 不仅在动脉粥样硬化中起重要作用,还在心脏的其他方面有着重要影响。据报道, RGS5 蛋白通过 MAPKs 途径对心肌肥厚心脏功能的改善作用以及对心脏间质纤维化的抑制效应。RGS5

通过介导蛋白激酶 C, 丝裂原活化蛋白激酶/胞外信号调节激酶和 Rho 激酶信号转导途径直接控制血管阻力、血管收缩和重塑, 调控血压的平衡^[22]。更有研究表明, RGS5 基因缺失可通过衰减的钾电流使心房复极相延长, 从而为房性快速型心律失常发生提供潜在条件, 并可通过增加心脏复极的时空离散度促进室性快速型心律失常的发生, 而且该现象并不依赖于心脏结构的改变^[23]。

六、展 望

鉴于急性心血管事件动脉粥样硬化斑块的破裂的无法预防和阻止性, 探索减缓动脉粥样硬化斑块进展和破裂的潜在分子机制, 从而制定有效的预防措施和治疗策略是十分必要的。

众多研究表明, RGS5 缺失通过激活 NF- κ B 和 MEK-ERK1/2 信号通路促进内皮细胞和巨噬细胞凋亡以及影响炎性介质表达, 导致血管内皮功能障碍和血管炎症增强, 加速动脉粥样硬化的发展, 同时, 降低动脉粥样硬化斑块的稳定性^[5,12,16,22]。因此, RGS5 有望成为未来防治动脉粥样硬化的新靶点, 特别是在维持斑块稳定方面。然而, 需要更多的进一步临床研究来确定, RGS5 水平的增加是否是对具有潜在动脉粥样硬化倾向的冠心病患者的一种有效治疗, 或者说 RGS5 是否是一个预防动脉粥样硬化与动脉粥样硬化斑块稳定性的潜在靶点。

参考文献

- Lloyd-Jones D, Adams RJ, Brown TM, *et al.* Executive summary: heart disease and stroke statistics - 2010 update: a report from the American Heart Association [J]. *Circulation*, 2010, 121(7): 948 - 954
- Libby P. Inflammation in atherosclerosis [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2012, 32(9): 2045 - 2051
- Ley K, Laudanna C, Cybulsky MI, *et al.* Getting to the site of inflammation: the leukocyte adhesion cascade updated [J]. *Nat Rev Immunol*, 2007, 7(9): 678 - 689
- Virmani R, Burke AP, Kolodgie FD, *et al.* Vulnerable plaque: the pathology of unstable coronary lesions [J]. *J Interv Cardiol*, 2002, 15(6): 439 - 446
- Cheng W, Wang P, Wang T, *et al.* Regulator of G-protein signaling 5 protects against atherosclerosis in apolipoprotein E-deficient mice [J]. *Br J Pharmacol*, 2015, 172(12): 2929 - 2932
- Hollinger S, Hepler JR. Cellular regulation of RGS proteins: modulators and integrators of G protein signaling [J]. *Pharmacol Rev*, 2002, 54(3): 527 - 559
- Yang Z, Gaudio S, Song W, *et al.* Evidence for the dimerization of human regulator of G-protein signalling 5 (RGS5) [J]. *Cell Physiol Biochem*, 2007, 20(5): 303 - 310

- Moroi K, Nishiyama M, Kawabata S, *et al.* Phosphorylation of Ser166 in RGS5 by protein kinase C causes loss of RGS function [J]. *Life Sci*, 2007, 81(1): 40 - 50
- Brown BG, Zhao XQ, Sacco DE, *et al.* Atherosclerosis regression, plaque disruption, and cardiovascular events: a rationale for lipid lowering in coronary artery disease [J]. *Annu Rev Med*, 1993, 44: 365 - 376
- Choy JC, Granville DJ, Hunt DW, *et al.* Endothelial cell apoptosis: biochemical characteristics and potential implications for atherosclerosis [J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2001, 33(9): 1673 - 1690
- Clarke M, Bennett M. The emerging role of vascular smooth muscle cell apoptosis in atherosclerosis and plaque stability [J]. *Am J Nephrol*, 2006, 26(6): 531 - 535
- Tabas I. Macrophage death and defective inflammation resolution in atherosclerosis [J]. *Nat Rev Immunol*, 2010, 10(1): 36 - 46
- Anger T, Grebe N, Osinski D, *et al.* Role of endogenous RGS proteins on endothelial ERK 1/2 activation [J]. *Exp Mol Pathol*, 2008, 85(3): 165 - 173
- Hamzah J, Jugold M, Kiessling F, *et al.* Vascular normalization in Rgs5-deficient tumours promotes immune destruction [J]. *Nature*, 2008, 453(7193): 410 - 414
- Gu S, Cifelli C, Wang S, *et al.* RGS proteins: identifying new GAPs in the understanding of blood pressure regulation and cardiovascular function [J]. *Clin Sci (Lond)*, 2009, 116(5): 391 - 399
- Jin Y, An X, Ye Z, *et al.* RGS5, a hypoxia-inducible apoptotic stimulator in endothelial cells [J]. *Biol Chem*, 2009, 284(35): 23436 - 23443
- Potteaux S, Deleuze V, Merval R, *et al.* In vivo electrotransfer of interleukin-10 cDNA prevents endothelial upregulation of activated NF- κ B and adhesion molecules following an atherogenic diet [J]. *Eur Cytokine Netw*, 2006, 17(1): 13 - 18
- Kyriakis JM, Avruch J. Mammalian MAPK signal transduction pathways activated by stress and inflammation: a 10-year update [J]. *Physiol Rev*, 2012, 92(2): 689 - 737
- Iiyama K, Hajra L, Iiyama M, *et al.* Patterns of vascular cell adhesion molecule-1 and intercellular adhesion molecule-1 expression in rabbit and mouse atherosclerotic lesions and at sites predisposed to lesion formation [J]. *Circ Res*, 1999, 85(2): 199 - 207
- Deng W, Wang X, Xiao J, *et al.* Loss of regulator of G protein signaling 5 exacerbates obesity, hepatic steatosis, inflammation and insulin resistance [J]. *PLoS One*, 2012, 7(1): e30256
- De Martin R, Hoeth M, Hofer-Warbinek R, *et al.* The transcription factor NF- κ B and the regulation of vascular cell function [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2000, 20(11): E83 - E88
- Vasyl H, Mitali M, Marianne T, *et al.* Regulator of G-protein signaling 5 controls blood pressure homeostasis and vessel wall remodeling [J]. *Circulation Research*, 2013, 112(5): 781 - 791
- Qin M, Huang H, Wang T, *et al.* Atrial tachyarrhythmia in Rgs5-null mice [J]. *PLoS One*, 2012, 7(11): e46856

(收稿日期: 2015-06-13)

(修回日期: 2015-07-10)