

自噬与 Cx43 在心血管疾病中的相关研究进展

毕亚光 王光宇 刘向东 张庆勇

摘 要 自噬是细胞内高度保守的降解过程,主要降解一些蛋白质、可溶性大分子物质和细胞器等,自噬过程增加了细胞的物质再利用并为细胞提供能量。缝隙连接蛋白是细胞间物理连接和化学交流的重要通道,在生物学过程中扮演着重要角色,其中最具有代表性且表达最广泛的为缝隙连接蛋白 43 (connexin43, Cx43)。在生理条件下,自噬可以介导 Cx43 的降解更新,维持 Cx43 的功能;但是在一些病理条件下,自噬活性增加介导 Cx43 明显下调从而使细胞间物质信号交流减少,这与许多心血管疾病如心肌缺血/再灌注、心力衰竭、肥厚性心肌病的发生、发展密切相关。本文旨在对自噬和 Cx43 进行介绍以及对自噬与 Cx43 在心血管疾病中的相关研究进行综述。

关键词 自噬 Cx43 缺血/再灌注 心力衰竭 肥厚性心肌病

中图分类号 R3 **文献标识码** A **DOI** 10.11969/j.issn.1673-548X.2017.02.006

一、自噬与 Cx43 的概述

1. 自噬的概述:自噬作为真核生物细胞中的重要降解途径,能够降解一些错构蛋白质和无功能细胞器,对维持细胞稳态起着重要的作用。自噬可分为巨自噬(macroautophagy)、微自噬(microautophagy)和分子伴侣介导的自噬(chaperone-mediated autophagy)^[1~4]。其中每种自噬方式在清除蛋白质时对底物都有选择性,但巨自噬与微自噬之间却无明显选择性^[5]。巨自噬是机体作用最广泛且研究最成熟的一种自噬方式,故本文中所述自噬均为巨自噬。巨自噬被诱发后会经历包括自噬体的形成、自噬体的成熟、与溶酶体融合形成自噬溶酶体进行物质降解几个过程^[6,7]。

2. 缝隙连接蛋白 Cx43 的概述:缝隙连接(Gap junctions GJs)是相邻细胞间进行化学信号传递和电传导的重要结构,对维持心肌细胞间的正常通讯和心脏正常的节律性跳动至关重要^[8]。缝隙连接的组成成分为缝隙连接蛋白,先由 6 个连接蛋白(connexin)在单个细胞表面组合形成环状的半通道(connexon)结构,再由相邻两个细胞各自的半通道聚合连接,才形成完整封闭的通道结构即缝隙连接^[9]。所以说缝隙连接蛋白是细胞间交流沟通的重要结构基础。在心肌中表达的缝隙连接蛋白包括 Cx40、Cx43、Cx45 3 种,其中 Cx43 是心室肌中主要表达的连接蛋白,对于

心脏的正常泵血和代谢调节十分重要,且它在脑组织中的表达与心脏组织中为同种型表达^[10~12]。缝隙连接蛋白的半衰期较短,只有 1~5h,所以需要不断更新^[9,13]。缝隙连接蛋白的降解方式有多种,包括蛋白酶体途径和内吞/溶酶体途径,而近期提出的自噬途径为了解缝隙连接蛋白的降解打开了新的大门^[12,14~16]。

3. 自噬介导 Cx43 的降解过程:不论是在生理条件下还是在一些病理过程中,自噬均可介导 Cx43 的降解。那么自噬如何被激活并识别受损或衰老的 Cx43? 在这一过程中泛素化系统起着非常重要的作用,被泛素化标记的连接蛋白会被自噬体识别结合并转运到溶酶体,所以泛素化被认为是蛋白降解的一种标志^[17]。在正常心脏中,泛素化在调节肌原纤维的降解、维持肌肉收缩以及调节心脏信号途径方面都发挥着重要的作用;然而在一些心脏功能失调的情况下如心肌肥厚、缺血/再灌注时也会造成泛素化系统损伤^[18]。在这些情况下,泛素化标记的连接蛋白累积聚集从而使自噬激活^[19]。然而位于胞外的缝隙连接蛋白又如何通过自噬降解? Baker 等^[20]发现胞外的缝隙连接蛋白可以通过网格蛋白介导的内吞作用进入细胞内,并在这个过程中产生典型的双层膜结构囊泡,也就是早期的环状缝隙连接(annular GJs AGJs),这种结构的改变也被认为是连接蛋白降解前的状态^[21]。值得一提的是这种内吞作用也是泛素化为前提的,可见自噬降解 Cx43 的过程离不开泛素化系统。泛素化标记的缝隙连接蛋白还要经过泛素化结合蛋白 ESP15(epidermal growth factor receptor 15)和 P62/

基金项目:上海市科委基金资助项目(13ZR1431500)

作者单位:200233 上海交通大学附属第六人民医院

通讯作者:张庆勇,电子邮箱:zhang_qingyong71@hotmail.com

SQSTM1 识别并结合后,再由自噬相关轻链蛋白 3 (LC3) 介导才能被自噬体吞噬,最后运送到溶酶体中进行降解^[1, 12]。自噬参与 Cx43 的降解的提出为很多心血管疾病的发生、发展揭示了新的机制。

二、自噬与 Cx43 在心血管疾病中的研究进展

1. 自噬与 Cx43 在心肌缺血/再灌注中的研究:缺血/再灌注会对心肌细胞造成损伤,不论是缺血阶段还是再灌注阶段都会引起 Cx43 的表达减少从而使心肌的损伤加重,而 Cx43 的表达量改变与此时激活的自噬有关。在心肌经历缺血/再灌注时,心肌细胞处在饥饿环境中并且产生大量的氧化应激,这些均是易诱导自噬激活的条件^[22]。研究表明在急性心肌缺血时,Cx43 的蛋白质内吞作用可以通过泛素化和 368 位点磷酸化作用发生,有趣的是近期研究发现除此之外由 Akt 介导 Cx43 的 373 位点磷酸化也可以驱使连接 Cx43 发生内吞作用,然后由自噬方式介导降解^[23, 24]。心肌的缺血再灌注过程会造成 Cx43 的大量破坏。Martins-Marques 等^[1]的研究发现在心肌细胞缺血 4h 后 Cx43 的表达量下降 40%,细胞活性下降 35%,细胞增殖能力下降 60%,而此时自噬活性明显增强。在心脏缺血、再灌注时,自噬活性增加使左心室 Cx43 数量减少也与缺血时间和再灌注过程有关^[10]。此外,在不同阶段介导自噬激活的通路也不是一成不变的,在缺血阶段,自噬通过 AMPK - eEF2K (eukaryotic elongation factor - 2 kinase) / mTOR 通路诱发激活使 Cx43 降解;而在再灌注阶段则通过 Class - III - PI₃K (phosphoinositide 3 - kinase) / Beclin1 途径诱发自噬引起 Cx43 进一步降解。这些发现提示在缺血/再灌注过程中,为了保护 Cx43 不被自噬破坏治疗指向也需要调整,或许在缺血早期治疗应指向 AMPK,而在长时间缺血或再灌注期治疗应指向 Beclin - 1^[1]。

2. 自噬与 Cx43 在心力衰竭中的研究:心力衰竭的病理改变包括心肌细胞收缩力降低、细胞肥大致心肌肥厚和细胞寿命缩短等,在心力衰竭时心肌细胞凋亡增加、心功能受损。以往的研究阐述了自噬在心力衰竭中的双面作用,自噬通过清除一些无功能的细胞器及肥大的心肌细胞,来维持心肌细胞大小和完整性以及心肌功能^[25]。但也有研究发现在心力衰竭中,濒死的心肌细胞具有很强的自噬活性,他们认为过度自噬引发细胞死亡也可能是心力衰竭的重要发病机制^[26]。并且研究表明心功能受损也与 Cx43 的表达减少和结构改变密切相关^[19]。直至近期研究才发现

心力衰竭过程中 Cx43 的改变与自噬紧密相关,Hesketh 等^[14]观察到在心力衰竭组织中侧面化的 Cx43 比正常组织中明显增加,且缝隙连接蛋白形态似同心圆环,提示缝隙连接蛋白的功能已经退化,但 Cx43 表达量较正常组织下降了 2/3,而此时自噬相关轻链蛋白 LC3 - II 的表达量是正常组织的 2 倍,在心力衰竭中自噬的激活并导致 Cx43 的降解是由 Cx43 的磷酸化改变所引起。

3. 自噬与 Cx43 在肥厚性心肌病中的研究:在心脏超负荷条件下,成年的心肌细胞没有再生能力,只能增加细胞的肌节数目而造成心肌纤维增粗心肌细胞肥大,这就是肥厚性心肌病的发病机制。长时间的肥厚性心肌病可能造成心肌细胞的大量损失,从而导致心力衰竭^[14]。自噬在肥厚性心肌病中不乏研究,一些观点表明适度自噬对于肥厚性心肌病具有保护作用^[25]。也有报道称一些炎性介质使自噬过度激活可以促进心肌病向心力衰竭的转变^[14]。不过有些学者认为在肥厚性心肌病中自噬功能一般会受到抑制。在肥厚性心肌病中自噬的改变也会导致 Cx43 的改变。Roberta 等的研究发现肥厚性心肌病的心肌细胞自噬水平在正常环境下与普通心肌细胞相比并没有差别,不过在氧化应激的条件下,普通心肌细胞自噬功能明显增加,肥厚性心肌病心肌细胞的自噬水平却相对较低,令人费解的是与目前大部分报道中自噬介导 Cx43 降解两者呈负相关关系有所不同,此时 Cx43 的表达也下调,自噬与 Cx43 呈现正相关关系,这可能与所选择的细胞种系和刺激条件有关^[1, 12]。这个研究打破了以往对自噬和 Cx43 关系的认识,也暗示了在肥厚性心肌病中自噬可能参与 Cx43 的其他过程以及对 Cx43 调节过程的复杂性。

综上所述,自噬作为一种保守的降解方式在维持细胞正常功能和适应性方面发挥着重要作用,而 Cx43 是细胞间沟通交流的重要通道,也是左心室中最为重要的连接蛋白。自噬参与 Cx43 的降解,在生理条件下为 Cx43 的降解更新提供了保障,却也是一些心血管疾病的发病机制。在心肌缺血/再灌注、心力衰竭、肥厚性心肌病中都有研究表明增强的自噬功能造成 Cx43 的表达改变从而引起更多心肌损伤^[1, 14]。目前自噬与 Cx43 在一些肿瘤细胞及脑组织中研究较多,然而在心脏中的研究还不成熟。对于在心肌细胞中是否还有其他自噬方式参与 Cx43 的降解仍不清楚,自噬与 Cx43 在心血管疾病领域中的具体作用机制和作用方式也还需要深入探索,这将有助

于将调节自噬与 Cx43 作为一种策略来治疗或预防一些疾病,使更多患者受益。

参考文献

- Martins - Marques T, Catarino S, Zuzarte M, *et al.* Ischaemia - induced autophagy leads to degradation of gap junction protein connexin43 in cardiomyocytes[J]. *Biochem J*, 2015,467(2):231 - 245
- 李澜,高慧,邢晓雪,等. 心肌自噬及其分子机制研究进展[J]. *中国临床药理学杂志*, 2015,24:2479 - 2482
- 唐淑丽,朱敏玲,尹新华. 自噬在常见心血管疾病中的作用[J]. *心脏杂志*, 2012,5:655 - 657
- Maejima Y, Chen Y, Isobe M, *et al.* Recent progress in research on molecular mechanisms of autophagy in the heart[J]. *Am J Physiol Heart Circulat Physiol*, 2015,308(4):H259 - H268
- Majeski AE, Dice JF. Mechanisms of chaperone - mediated autophagy[J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2004,36(12):2435 - 2444
- 李程飞,孙喜庆. 自噬在心血管疾病中的作用[J]. *心脏杂志*, 2016,2:216 - 220
- Klionsky DJ, Abdalla FC, Abeliovich H, *et al.* Guidelines for the use and interpretation of assays for monitoring autophagy[J]. *Autophagy*, 2012,8(4):445 - 544
- Tsui E, Hutnik C. To bridge the gap, make a proper connexin[J]. *J Pediatr Ophthalmol Strabismus*, 2016,53(2):77 - 78
- Leithe E. Regulation of connexins by the ubiquitin system: Implications for intercellular communication and cancer[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2016,1865(2):133 - 146
- Martins - Marques T, Catarino S, Marques C, *et al.* To beat or not to beat: degradation of Cx43 imposes the heart rhythm: figure 1[J]. *Biochem Soc Transact*, 2015,43(3):476 - 481
- Falk MM, Baker SM, Gumpert AM, *et al.* Gap junction turnover is achieved by the internalization of small endocytic double - membrane vesicles[J]. *Mol Biol Cell*, 2009,20(14):3342 - 3352
- Fong JT, Kells RM, Gumpert AM, *et al.* Internalized gap junctions are degraded by autophagy[J]. *Autophagy*, 2014,8(5):794 - 811
- Lichtenstein A, Minogue PJ, Beyer EC, *et al.* Autophagy: a pathway that contributes to connexin degradation[J]. *J Cell Sci*, 2011,124(Pt 6):910 - 920
- Hesketh GG, Shah MH, Halperin VL, *et al.* Ultrastructure and Regulation of Lateralized Connexin43 in the Failing Heart[J]. *Circul Res*, 2010,106(6):1153 - 1163
- Bejarano E, Girao H, Yuste A, *et al.* Autophagy modulates dynamics of connexins at the plasma membrane in a ubiquitin - dependent manner[J]. *Mol Biol Cell*, 2012,23(11):2156 - 2169
- Gaietta G, Deerinck TJ, Adams SR, *et al.* Multicolor and electron microscopic imaging of connexin trafficking[J]. *Science*, 2002,296(5567):503 - 507
- Catarino S, Ramalho JS, Marques C, *et al.* Ubiquitin - mediated internalization of connexin43 is independent of the canonical endocytic tyrosine - sorting signal[J]. *Biochem J*, 2011,437(2):255 - 267
- Li H, Du J, Fan Y, *et al.* The ubiquitin ligase MuRF1 Protects A - gainst cardiac ischemia/reperfusion injury by its proteasome - dependent degradation of phospho - c - Jun[J]. *Am J of Pathology*, 2011,178(3):1043 - 1058
- Thevenin AF, Kowal TJ, Fong JT, *et al.* Proteins and mechanisms regulating gap - junction assembly, internalization, and degradation[J]. *Physiology*, 2013,28(2):93 - 116
- Baker SM, Kim N, Gumpert AM, *et al.* Acute internalization of gap junctions in vascular endothelial cells in response to inflammatory mediator - induced G - protein coupled receptor activation[J]. *FEBS Lett*, 2008,582(29):4039 - 4046
- Gilleron J, Fiorini C, Carette D, *et al.* Molecular reorganization of Cx43, Zo - 1 and Src complexes during the endocytosis of gap junction plaques in response to a non - genomic carcinogen[J]. *J Cell Sci*, 2008,121(Pt 24):4069 - 4078
- Gottlieb RA, Mentzer RM. Autophagy during cardiac stress: joys and frustrations of autophagy[J]. *Annu Rev Physiol*, 2010,72:45 - 59
- Smyth JW, Zhang SS, Sanchez JM, *et al.* A 14 - 3 - 3 mode - 1 binding motif initiates gap junction internalization during acute cardiac ischemia[J]. *Traffic*, 2014,15(6):684 - 699
- Solan JL, Lampe PD. Specific Cx43 phosphorylation events regulate gap junction turnover in vivo[J]. *FEBS Lett*, 2014,588(8):1423 - 1429
- Ucar A, Gupta SK, Fiedler J, *et al.* The miRNA - 212/132 family regulates both cardiac hypertrophy and cardiomyocyte autophagy[J]. *Nat Commun*, 2012,3:1078
- Oka T, Hikoso S, Yamaguchi O, *et al.* Mitochondrial DNA that escapes from autophagy causes inflammation and heart failure[J]. *Nature*, 2012,485(7397):251 - 255

(收稿日期:2016 - 04 - 13)

(修回日期:2016 - 05 - 12)

《医学研究杂志》启用远程稿件处理系统的启事

《医学研究杂志》已经启用远程稿件处理系统,请各位作者登录《医学研究杂志》网站:<http://www.yxyjzz.cn>,注册为作者后进行投稿。咨询电话:010 - 52328677(路编辑),52328679(单编辑)。

《医学研究杂志》编辑部