

GSK-3 β 在心肌纤维化发展中的研究进展

宋 鹏 马振国 张 鑫 袁雨培 唐其柱

摘 要 心脏纤维化是一种几乎存在于所有心脏疾病中的显著性病理改变,是心肌重构的重要病理生理机制之一。当心脏受到损伤时,心脏中的纤维母细胞大量增殖并向肌成纤维细胞转化,分泌大量胶原纤维,导致心脏纤维化。心脏纤维化可以增加心室壁的僵硬程度,严重损害心脏的舒张功能;大量的纤维胶原包裹心肌细胞,破坏心肌细胞间收缩的协同性,引起心脏收缩功能下降;此外,血管周围的胶原纤维阻断心肌细胞的血供,造成心肌细胞缺血、缺氧,甚至发生凋亡,最终导致心力衰竭的发生。GSK-3 是一种丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶,包括 α 和 β 两种亚型,多种研究证明 GSK-3 家族可以调节细胞的多种功能,包括代谢、转录、翻译,细胞生长及凋亡等,并且在多种疾病的发生中起重要作用,尤其在多种心脏疾病的发生、发展中扮演着重要角色。而在目前的研究中,对于 GSK-3 α 的研究较少,而且目前的研究发现 GSK-3 α 对于心肌纤维化的发生、发展影响很小,因此本文着重讨论 GSK-3 β 在心脏纤维化发生和发展中的重要作用,并对最新的研究进展进行总结。

关键词 心脏纤维化 糖原合酶激酶-3 β 纤维化机制

中图分类号 R541

文献标识码 A

DOI 10.11969/j.issn.1673-548X.2019.02.037

一、GSK-3 家族概述

糖原合成激酶-3 (GSK-3) 是一种广泛表达并且高度保守的丝氨酸/苏氨酸激酶,是心肌细胞生长和凋亡主要的调节因子,并且参与许多心脏病理过程,包括心肌肥厚、心力衰竭及缺血再灌注损伤等^[1]。GSK-3 家族包括两种亚型 GSK-3 α 和 GSK-3 β ,在激酶结构域中他们有 98% 是相同的,但是他们的 N 末端和 C 末端序列有很大差异,因此他们总的序列同源性达到了 85%^[2]。虽然 GSK-3 亚型间有非常相似的结构和重叠的功能,但他们还是有各自独特的特征。与其他蛋白激酶不同,GSK-3 在未刺激细胞中保持特异性活化,并且在受到多种刺激后被抑制。虽然 GSK-3 是少数几个通过磷酸化失活的激酶之一,但是调节 GSK-3 的分子机制非常复杂,目前还没有被完全研究清楚。GSK-3 通过 N 端丝氨酸残端磷酸化被负性调节,GSK-3 α 磷酸化位点为丝氨酸 21 而 GSK-3 β 为丝氨酸 9^[3]。

从最初对 GSK-3 在心脏疾病发生、发展中所起作用的研究到现在已经过去了一个多世纪,而随着对 GSK-3 家族研究的不断深入,GSK-3 β 在心脏疾病

的发生、发展中起到的重要作用逐渐被发现,同时近几年的研究发现 GSK-3 β 可能在心脏纤维化发生过程中发挥重要作用。

二、心脏纤维化

在几乎所有的心脏疾病中都存在纤维化,纤维化的发生是由于心脏纤维母细胞产生了过量的细胞外基质蛋白,这些细胞外基质的积累在减弱了心肌顺应性的同时加速了心力衰竭的进程。心脏纤维母细胞是一种必须的细胞类型,主要存在于心肌间质、心外膜和血管周围区域^[4]。在生理条件下心脏纤维母细胞保持细胞外基质的平衡,并且为心肌细胞提供结构支架,通过心肌组织分散机械力并且调节电传导^[5]。虽然以前的研究表明在成年啮齿动物和人类心脏中纤维母细胞是主要的细胞类型,但是最近的研究表明纤维母细胞在成年啮齿动物总细胞中占比小于 20%^[6],远低于已有报道。

与其他器官不同,在受到损伤后,心脏的再生能力非常有限,因此在心脏受损伤后修复的程序主要包括坏死的心肌细胞的清除以及纤维化疤痕组织的替代修复,这些都有效地保持了心脏结构和功能的完整。为了执行这些功能,在结缔组织中纤维母细胞转化为肌成纤维细胞,通过分泌大量的细胞外基质蛋白来提供纤维化的环境^[5]。

病理性的心肌重构包括纤维母细胞的聚集以及过量细胞外基质蛋白的堆积,这些都导致了器官结构的损坏以及心肌功能的紊乱。纤维化产生的大量细

基金项目:国家自然科学基金资助项目(81530012,81470516);中央高校基本科研业务费专项资金资助项目(2042017k0085)

作者单位:430060 武汉大学人民医院心内科、武汉大学心血管病研究所、心血管病湖北省重点实验室

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

胞外基质增加了心室壁硬度并且导致心肌收缩功能紊乱,从而导致心脏功能的损坏。同时过多的细胞外基质和纤维母细胞损坏了心脏电生理,从而减弱了心脏的收缩,增加了发生心律失常和死亡的风险^[7]。这一病理过程同样能通过旁分泌途径导致心肌肥厚和功能失调,更进一步损害心脏功能。此外血管周围区域的感染和纤维化可能减弱组织摄取氧气和营养的能力并且增加心肌重构的病理性应答^[8]。

随着最初的损伤修复过程的完成,大量纤维母细胞发生凋亡,只留下成熟的瘢痕组织包括横向交联胶原及其他的基质成分。在这一过程中,心脏瘢痕组织中的肌成纤维细胞持续释放多种促炎性和心肌肥厚的细胞因子,导致心肌肥厚以及坏死区域被纤维组织替代^[9]。同时,在心脏发生急性损伤后,活化的纤维母细胞不仅大量存在于受损伤区域,同时还存在于受损伤区域周围的健康组织中,这种现象通常被称为反应性的纤维化^[4, 5]。反应性的纤维化加强了急性心肌损伤后的病理生理反应,减弱了心室的顺应性并同时增强了心室壁的力度。一部分的肌成纤维细胞在心肌损伤后很长时间依然持续存在于成熟的心肌瘢痕组织中,可能是为了应对细胞的凋亡,这样也使这些病理过程长久存在^[10]。

三、GSK-3 β 在心肌纤维化发生、发展中的作用

心脏纤维化在心肌重构的发生、发展中起到重要作用,同样也是导致心力衰竭的重要原因之一。多种因素均能够引起心脏纤维化,研究发现 GSK-3 β 是引起心脏纤维化的重要因素之一。许多模型也证明 GSK-3 β 在心脏纤维化发生、发展中起着重要作用。Wang 等^[11]通过构建心脏特异性金属硫蛋白过表达转基因模型来抑制心脏 GSK-3 β 的表达,并且实验证明 GSK-3 β 的失活抑制了糖尿病引起的心脏纤维化的发生。同时给野生糖尿病小鼠使用特异性 GSK-3 β 抑制剂后发现由糖尿病引起的心脏纤维化被完全抑制,从而验证了 GSK-3 β 与糖尿病后病理性改变的直接联系。因此也证明了全心脏敲除 GSK-3 β 后可以抑制糖尿病引起的心肌纤维化的发生。Yan 等^[12]通过构建 Mindin 过表达模型发现 Mindin 可以抑制 GSK-3 β 的表达,同时发现在压力负荷下 Mindin 过表达组的小鼠心脏纤维化程度明显减弱,心脏间质纤维化程度减弱,同时胶原分泌也大量减少,而 Mindin 过表达抑制压力负荷后心脏纤维化发生是通过 GSK-3 β -TGF- β 1 通路实现的,因此也证明了在压力负荷下 GSK-3 β 的过表达促进心脏纤维化的发生、发展。

而随着对心脏疾病发生过程中各种研究的不断深入,人们对心脏纤维母细胞在心脏相关疾病发生过程中的研究越来越深入,因此心脏纤维母细胞基因特异性敲除也越来越受到关注。Takeda 等^[13]首次使用以骨膜蛋白(Postn)启动子驱动的 Cre 重组酶构建了心脏纤维母细胞特异性基因敲除的老鼠系,并且在研究中证明了纤维母细胞在压力负荷下的适应性改变是非常重要的,更有意义的是,在相同情况下敲除心肌细胞中相同的基因位点并没有发生任何表型的改变,从而证明了心脏纤维母细胞在不同的心脏病理变化中都起着重要作用。同样 Duan 等^[14]使用他莫昔芬诱导的 Colla2Cre(T)特异性敲除全身纤维母细胞中的 β -连环蛋白,从而证明了纤维母细胞在保护急性缺血损伤后的心功能的过程中发挥了重要的作用。

Hind 等^[15]发现在心肌梗死发生后心脏中 GSK-3 β 的磷酸化水平升高,作者同时使用 Postn 和 Colla2Cre 两种方法特异性敲除纤维母细胞中的 GSK-3 β ,这也是首次对心脏纤维母细胞特异性敲除 GSK-3 β 的研究。与对照组比较,心肌梗死后 GSK-3 β 敲除组心脏发生明显的纤维化并且形成大量的瘢痕组织,证明心脏纤维母细胞特异性敲除后促进了心脏纤维化的发生。同时在离体实验中敲除纤维母细胞中的 GSK-3 β 后发现纤维化程度增强以及肌成纤维细胞的分化加快,从而证明了 GSK-3 β 在心肌梗死后可以抑制心脏纤维化的产生,并且保护心脏功能。

对于 GSK-3 β 是如何调控心肌纤维化发生的,研究认为主要通过 β -连环蛋白依赖性的信号通路和 TGF- β 1-SMAD-3 依赖性信号通路^[11]。现在已经清楚地证明 GSK-3 β 是 Wnt/frizzled 信号转导通路的重要组成部分并且以 β -连环蛋白为第二信使,而 GSK-3 β 作用于 β -连环蛋白使其泛素化和自酶体降解,使 β -连环蛋白在正常情况下处于一个较低水平。在纤维化的发生中 β -连环蛋白导致纤维母细胞的活化并且造成多个器官系统的纤维化,因此 GSK-3 β 可以通过抑制 β -连环蛋白来抑制纤维化的发生。

在 TGF- β 1-SMAD-3 依赖性信号通路中 TGF- β 1 是有效的促纤维化因子,是纤维母细胞活化的关键调节因子,并且在纤维化疾病中促进异常的细胞外基质的合成。TGF- β 1 信号通路主要分为 SMAD 依赖的经典通路和 SMAD 非依赖性的或者非经典通路,在 SMAD 依赖性通路中 GSK-3 β 可以通过控制 SMAD-3 的稳定性来调节 TGF- β 1 信号通路,从而促进纤维化表型的发生。

四、GSK-3 β 在纤维化发生、发展中的重要作用

纤维化不仅存在于心脏疾病的发生过程中,同时也普遍存在于其他多种疾病的病理变化中,并且许多实验证明 GSK-3 β 在纤维化发生、发展中起到了重要作用。Bergmann 等^[16]在体外培养纤维母细胞时发现 GSK-3 β 参与纤维母细胞向肌成纤维细胞转化的调节以及参与纤维化发生的信号通路,使用 GSK-3 β 抑制剂后引起了真皮纤维化的发生,实验中使用特异性的 GSK-3 β 抑制剂 SB216763 与纤维母细胞共培养后发现 Col1a1 的合成和释放增加,并且在体内实验中使用 GSK-3 β 抑制剂后同样发现皮肤纤维化的增强,而 GSK-3 β 抑制纤维化的过程可能与 GSK-3 β 激活后抑制经典的 Wnt 通路有关。Kapoor 等^[17]构建了全身 GSK-3 β 特异性敲除的小鼠模型,研究发现在皮肤受损后 GSK-3 β 敲除组小鼠纤维产生增多,伤口愈合加快并且出现更多的瘢痕组织。实验证明了 GSK-3 β 敲除后促进了纤维母细胞的增殖以及向肌成纤维细胞的转化,促进了纤维化的产生。以上研究都表明 GSK-3 β 与纤维化的发生、发展有着密切的关系,同样 GSK-3 β 在心脏纤维化的发生、发展中也起着重要的作用。

五、展 望

随着对纤维母细胞研究的不断深入,纤维母细胞不仅仅是心脏生理病理发生中的非必需细胞,而恰恰相反的,越来越多的研究发现纤维母细胞积极地参与了心脏结构和功能的塑造过程。并且由于纤维母细胞的聚集,塑造表型,与不同类型的细胞相互联系,并且积极参与心脏结构和电生理,心脏纤维母细胞被认为是心脏修复和再生中的重要受体细胞。因此更好地了解纤维母细胞的表型和特征以及纤维化发生过程的特征对心脏各种疾病的治疗具有更加重要的意义。而 GSK-3 β 在心脏疾病的发生、发展中发挥了重要的调控作用,尤其是在心脏纤维化的发生过程中,而目前对于 GSK-3 β 在心脏疾病发生中的研究还不是非常彻底,尤其是在纤维化发生过程中,全身 GSK-3 β 敲除模型甚至与纤维母细胞特异性 GSK-3 β 敲除模型中得到不同甚至相反的结果,因此对 GSK-3 β 发挥的根本作用需要更加深入的研究,而未来通过对 GSK-3 β 干扰来治疗心脏疾病以及心脏纤维化的发生具有更加广泛的前景。

参考文献

- Shinde MY, Sidoli S, Kulej K, *et al.* Phosphoproteomics reveals that glycogen synthase kinase-3 phosphorylates multiple splicing factors

and is associated with alternative splicing[J]. J Biol Chem, 2017, 292 (44): 18240-18255

- Zhou J, Ahmad F, Parikh S, *et al.* Loss of adult cardiac myocyte GSK-3 leads to mitotic catastrophe resulting in fatal dilated cardiomyopathy[J]. Circ Res, 2016, 118(8): 1208-1222
- Wang Y, Feng W, Xue W, *et al.* Inactivation of GSK-3 β by met-allothionein prevents diabetes-related changes in cardiac energy metabolism, inflammation, nitrosative damage, and remodeling[J]. Diabetes, 2009, 58(6): 1391-1402
- Travers JG, Kamal FA, Robbins J, *et al.* Cardiac Fibrosis: The Fibroblast Awakens[J]. Circ Res, 2016, 118(6): 1021-1040
- Krenning G, Zeisberg EM, Kalluri R. The origin of fibroblasts and mechanism of cardiac fibrosis[J]. J Cell Physiol, 2010, 225(3): 631-637
- Ali SR, Ranjbarvaziri S, Talkhabi M, *et al.* Developmental heterogeneity of cardiac fibroblasts does not predict pathological proliferation and activation[J]. Circ Res, 2014, 115(7): 625-635
- Chaturvedi RR, Herron T, Simmons R, *et al.* Passive stiffness of myocardium from congenital heart disease and implications for diastole [J]. Circulation, 2010, 121(8): 979-988
- Kai H, Mori T, Tokuda K, *et al.* Pressure overload-induced transient oxidative stress mediates perivascular inflammation and cardiac fibrosis through angiotensin II[J]. Hypertens Res, 2006, 29(9): 711-718
- Takeda N, Manabe I. Cellular interplay between cardiomyocytes and nonmyocytes in cardiac remodeling [J]. Int J Inflam, 2011, 2011: 535241
- Turner NA, Porter KE. Function and fate of myofibroblasts after myocardial infarction[J]. Fibrogenesis Tissue Repair, 2013, 6(1): 5
- Wang Y, Feng W, Xue W, *et al.* Inactivation of GSK-3 β by met-allothionein prevents diabetes-related changes in cardiac energy metabolism, inflammation, nitrosative damage, and remodeling[J]. Diabetes, 2009, 58(6): 1391-1402
- Yan L, Wei X, Tang QZ, *et al.* Cardiac-specific mindin overexpression attenuates cardiac hypertrophy via blocking AKT/GSK3 β and TGF- β 1-Smad signalling [J]. Cardiovasc Res, 2011, 92(1): 85-94
- Takeda N, Manabe I, Uchino Y, *et al.* Cardiac fibroblasts are essential for the adaptive response of the murine heart to pressure overload [J]. J Clin Invest, 2010, 120(1): 254-265
- Duan J, Gherghe C, Liu D, *et al.* Wnt1/betacatenin injury response activates the epicardium and cardiac fibroblasts to promote cardiac repair[J]. EMBO J, 2012, 31(2): 429-442
- Lal H, Ahmad F, Zhou J, *et al.* Cardiac fibroblast glycogen synthase kinase-3 β regulates ventricular remodeling and dysfunction in ischemic heart[J]. Circulation, 2014, 130(5): 419-430
- Bergmann C, Akhmetshina A, Dees C, *et al.* Inhibition of glycogen synthase kinase 3 β induces dermal fibrosis by activation of the canonical Wnt pathway[J]. Ann Rheum Dis, 2011, 70(12): 2191-2198
- Kapoor M, Liu S, Shi-Wen X, *et al.* GSK-3 β in mouse fibroblasts controls wound healing and fibrosis through an endothelin-1-dependent mechanism[J]. J Clin Invest, 2008, 118(10): 3279-3290

(收稿日期: 2018-03-08)

(修回日期: 2018-03-15)