

运动神经元生存蛋白缺失与心脏疾病的研究进展

钟 晓 宋紫光 高萍萍 宋 湘

摘 要 运动神经元生存蛋白(SMN)的缺失是导致遗传性神经退行疾病—脊髓性肌萎缩(SMA)的直接原因。近年来的研究表明,其浓度降低不仅影响脊髓腹角,而且会导致心脏异常。SMN 蛋白浓度降低可以引起结构性心肌损害以及心律失常的发生。SMN 蛋白减少可以影响线粒体功能,增加心肌细胞凋亡,增加心肌纤维化以及通过影响下游蛋白导致心脏异常。针对 SMN 蛋白减少导致的心脏疾病目前还没有特异性治疗,SMN 蛋白减少导致心血管异常具体机制还有待于进一步研究。SMN 蛋白减少导致 SMA 患者心血管异常为未来诊断和治疗提供新思路。

关键词 运动神经元生存蛋白 结构性心脏病 心律失常 扩张型心脏病

中图分类号 R5

文献标识码 A

DOI 10.11969/j.issn.1673-548X.2020.04.005

脊髓性肌萎缩症(spinal muscular atrophy, SMA)是一种常染色体隐性遗传疾病,在新生儿中的发生率约为 1/6000^[1]。运动神经元生存基因 1 (survival of motor neuron 1, SMN1) 突变引起运动神经元生存蛋白(survival of motor neuron, SMN)水平降低,继而导致 SMA 的发生。虽然 SMN 蛋白普遍表达于各种细胞内,但在 SMA 疾病中主要表现为脑干和脊髓中 α 运动神经元的退化。进行性神经元退化使延髓受损、躯干和四肢肌肉无力,在疾病的终末阶段可以导致患者瘫痪、呼吸衰竭,最终死亡^[2]。

SMA 传统上被认为是神经肌肉疾病,但越来越多的证据表明它是一种多系统疾病。据报道,在 SMA 患者和小鼠模型中外周组织和细胞均有受到影响,包括肝脏、肺、胰腺、脾脏、睾丸、肠和心血管系统的异常^[3]。

SMA 患者存在心脏异常在 60 多年前已经被提出,但直到现在心脏异常是 SMA 的一个潜在的核心病变这一观点才被接受,尤其是在严重的疾病中^[4]。为了更详细地研究 SMN 蛋白与心脏异常的关系,笔者对现有的临床和实验文献做一综述。

一、SMN 蛋白的结构、分布和功能

SMN 蛋白主要由位于 5 号染色体长臂 1 区 3 带(5q13)上的 SMN1 基因表达产生^[5]。SMN 蛋白由 294 个氨基酸组成,相对分子质量为 38kDa,在所有细

胞类型的细胞质和细胞核中普遍表达,并且可以和许多蛋白质与 RNA 相互作用^[4]。

目前已经清楚 SMN 蛋白参与了许多细胞通路,但 SMN 蛋白第 1 个确定的和研究最多的功能是其在小核糖核蛋白(small nuclear ribonucleoproteins, snRNP)组装中的作用。SMN 蛋白参与了 snRNP 的生成以及其向细胞核转移的过程^[6]。snRNP 与一些额外的蛋白质一起形成大型颗粒状复合物,称为剪接体。剪接体是一个复杂的机器,它催化移除前体 mRNA 中的内含子^[7]。对 SMA 患者或小鼠模型细胞剪接活性的研究揭示了 SMN 蛋白在 snRNP 组装中的基本作用,以及 snRNP 水平降低与疾病严重程度之间的相关性^[6]。

SMN 蛋白在神经生长、轴突及突触细胞骨架的形成过程中起着重要的作用,并且参与高尔基体相关分泌囊泡转运^[8]。SMN 蛋白还可以通过多种机制调控蛋白质翻译。如改变 mRNA 亚细胞定位,通过与核糖体自身的联系调节核糖体单位的局部翻译,通过调控 mTOR 通路来影响蛋白质的表达。研究表明,SMN 蛋白在其他领域也具有重要功能,如影响细胞骨架动力学、内吞作用,参与蛋白质周转过程的自噬、泛素蛋白酶体途径和线粒体活动的监管^[6]。

二、SMN 蛋白缺失导致的心脏异常改变

1. SMN 蛋白缺乏导致 SMA 患者心脏异常:2017 年一项综述纳入 72 篇发表的文章,包括 264 例心脏异常的 SMA 患者。SMA 患者中主要表现为心律失常和结构性心脏改变。77 例 SMA 1 型患者中有 33 例患者出现心电图异常,15 例患者心电图显示有严重症状的心动过缓,即心率低于 40 次/分,其他 18 例

基金项目:国家自然科学基金资助项目(81300248,81570258)

作者单位:150001 哈尔滨医科大学(钟晓、宋紫光、高萍萍、宋湘);150001 哈尔滨医科大学附属第四医院心内科(宋湘)

通讯作者:宋湘,教授,博士生导师,电子信箱:song761231@sina.com

com

患者出现基线震颤。77 例 SMA 1 型患者中有 42 例 SMA 1 型患者存在结构性心脏缺陷,其中 50% 存在单一的心脏结构异常,包括房间隔缺损、室间隔缺损和左心发育不良综合征。其余患者存在多处结构性心脏异常^[4]。

63 例 SMA 2 型患者有心电图基线震颤。少数患者还有一个或多个心电图异常,包括冲动发生异常的窦性心动过速,冲动传导异常的右束支传导阻滞,以及心房扩大、心室扩大、心室肥大和心肌损害^[4]。124 例 SMA 3 型患者中有 67 例仅有心电图基线震颤。6 例患者同时出现心电图异常和结构性心脏病,如 QT 间期延长、二尖瓣和三尖瓣脱垂、室间隔肥厚、心室后壁肥厚或萎缩、左心室舒张末期容量减少等异常改变^[4]。

从上述研究可以发现结构性心脏病几乎只在 SMA 1 型患者中发生,而获得性心脏病理学,包括心律失常和传导异常,在受影响较轻的患者中报告更频繁,即 SMN 蛋白水平越低心脏异常表现越严重。Rudnik - Schoneborn 等^[9]研究支持了 SMN 蛋白在心脏发育中的关键作用。事实上,他们发现在单拷贝 SMN2 的患者中(产生 SMN 蛋白水平较少),先天性间隔缺损的发生率接近 75%。而在无 SMA 的患者中,其发生率接近 1/5000 万。心房扑动和心房颤动在 50 岁以下的年轻人中发生率特别低,但在 SMA 患者中普遍发生于年轻时期,这也揭示了 SMN 蛋白在心脏异常发生中的重要作用^[4]。

2. SMN 蛋白缺乏导致小鼠心脏异常:在轻度和重度 SMA 小鼠模型中,SMN 蛋白缺乏也造成了心血管的异常。包括以室间隔和左心室壁变薄为代表的结构变化、扩张型心肌病、纤维化和氧化应激增加,但先天性心脏病如房室间隔缺损的发病却很少^[10]。在轻度和重度的小鼠模型中,射血分数下降和心律失常,特别是心动过缓的报道都表明了心功能的改变^[11,12]。值得注意的是,在非常温和的 Burgheron 小鼠模型中,一些小鼠死于严重的心肌病,而不是神经肌肉病理学的影响^[12]。

Bevan 等^[11]研究发现 SMN 蛋白缺乏会导致小鼠早期和持续性的心功能障碍。出生后 14 天,重型 SMN Δ 7 小鼠和正常野生小鼠对照,超声心动图显示心脏大小、左心室质量均下降,室壁厚度变薄、左心室短轴缩短率下降、心动过缓。随着疾病的发展,逐渐发展为心肌收缩力下降的扩张型心肌病。

Wijngaarde 等^[4]总结了 14 项研究,记录了 SMA

小鼠模型心脏病理学的改变。常见的宏观表现包括心脏尺寸减小、左心室壁和室间隔厚度减少。而显微镜观察最常见的是心脏纤维化,中等及严重 SMA 小鼠模型中在疾病的症状前阶段就可以检测到。此外,几乎所有对 SMA 小鼠模型的研究都报道了慢速心律失常^[4]。最近一项 SMA 严重小鼠模型的研究证实了此前的许多研究结果,但也注意到心脏中血液的显著汇集,以及心肌细胞的解体和肌小梁的缺失^[13]。可见 SMN 蛋白的缺乏也会导致小鼠心脏异常改变。

三、SMN 蛋白降低导致心脏异常改变可能的机制

SMN 蛋白的降低是如何导致心脏机械和电生理改变,相关的研究较少,但目前的几项研究可以提供一定的参考。

1. SMN 蛋白的减少导致线粒体功能障碍:Maxwell 等^[13]在 SMA 小鼠出生早期发现线粒体源性氧化应激增加,尤其是与 SMN 蛋白直接作用的 ATP 合成复合物亚基 6(该物质参与氧化应激反应)表达增加。心肌细胞含有许多线粒体以支持其高能量需求,因此对线粒体功能障碍介导的氧化应激非常敏感。出生时氧化应激增加不仅表明这是 SMA 心脏病理学病因中的一个重要事件,而且还表明早期线粒体功能障碍。Bevan 等^[11]对出生晚期的 SMN Δ 7 小鼠心脏进行分析,发现心肌细胞的超微结构发生了显著变化,肌细胞的肌质几乎充满了线粒体。许多线粒体表现出退行性改变,如嵴碎裂,伴有相关的空泡变性,这与晚期心力衰竭一致。衰竭的 SMA 心肌线粒体大小的增加可能是由于能量需求增加所进行的代偿。也可能是由于不适应导致氧化细胞色素的释放,和(或)线粒体通透性转变的开始,两者对心泵功能都有害^[14]。以上研究均表明线粒体功能障碍可能是 SMA 心脏缺陷的主要驱动因素,SMN 蛋白的缺乏影响线粒体的形态和功能改变。

2. SMN 蛋白的减少影响心肌细胞的凋亡:为了建立 SMA 心脏结构变化的细胞基础,Maxwell 等^[13]对从出生(P1)到症状早期(P5)的心肌细胞进行了专门的研究。SMA 心脏在症状前(P3)和早期(P5)心肌细胞密度显著减少,但在出生时没有。为了确定心肌细胞密度下降的本质,他们对细胞增殖凋亡进行了分析。用 Western blot 法对 caspase - 3 进行凋亡分析,因为 caspase - 3 参与了 caspases 的激活级联反应,也参与了凋亡的发生^[15]。在症状早期性 SMA 小鼠心脏中,caspase - 3 显著增加。同时在 SMA 小鼠模型

上发现氧化应激的增加导致了细胞进一步的凋亡^[13]。这表明心肌细胞密度的降低可能与细胞凋亡的增加有关,而细胞凋亡与心脏萎缩是一致的。

Sheng 等^[16]通过 TUNEL 染色和透射电镜分析超微结构,发现细胞凋亡发生在相对较晚的时间点,细胞凋亡增强存在于组织中,并导致了心脏缺陷。他们还检测了肿瘤抑制蛋白 TRP53/P53 (一种 SMN 相互作用蛋白) 的下游基因,包括 CDKN1a/p21、Pmaip1/Noxa、Bbc3/Puma、Fas 和 Bax,发现它们在 P4 时显著上调。这些凋亡相关基因的上调可以解释为什么 SMA 小鼠心脏组织的凋亡增强,SMN 蛋白的减少可引起凋亡级联反应的发生。

3. SMN 蛋白的减少导致心肌纤维化增加:心肌纤维化是心肌细胞外基质过度沉积的结果。它导致组织僵硬和心律失常,并使心力衰竭患者易发生心性猝死^[17]。Shababi 等^[1]报道,SMN Δ 7 小鼠心脏间质纤维化,最初在 P2 上发展,在 P5 和 P9 上增强。高水平的纤维化与诸如心率减慢等心脏缺陷相关,提示心肌纤维化是 SMA 小鼠心脏病理学的重要因素。Shababi 等^[1]进一步发现 SMA 小鼠新生心脏组织中存在高水平的活性氧,因此提出氧化应激,一种已知的促纤维化因子,是心脏纤维化的潜在机制。Sheng 等^[16]观察到生存蛋白 survivin 在出生时表达下调,生存蛋白 survivin 的失调和氧化应激都可能导致 SMA 小鼠心脏间质纤维化。所以,SMN 蛋白减少可以通过增加活性氧和影响下游蛋白导致心肌纤维化。

4. SMN 蛋白降低影响下游蛋白表达进一步导致心脏病理性改变:许多微阵列的研究,观察到广泛的基因表达缺陷存在于 SMA 小鼠模型中,包括前 mRNA 剪接。然而,在脊髓和心脏等受影响组织中,作用于 SMN 下游的关键基因仍不清楚。最近,Sheng 等^[16]确认 Birc5 (survivin) 是 SMA 心脏发病的关键基因。存活蛋白 survivin 作为凋亡抑制因子家族中最小的成员,在有丝分裂细胞中起着关键作用。最重要的是,survivin 决定了心肌细胞总数,是出生后心脏发育必不可少的。他们用特异性 siRNA 抑制正常小鼠原代心肌细胞 SMN 基因表达,发现存活蛋白 survivin 表达降低,并引起细胞周期停滞,表明存活蛋白 survivin 是 SMN 的下游。单独过表达存活蛋白 survivin 可以显著恢复细胞周期进展,表明 SMN 蛋白缺乏在 SMA 心肌细胞的细胞停滞中的关键作用。而且,只要 survivin 的表达得以恢复,其他基因的失调可在一定程度上得到耐受。因此,作为 SMN 下游蛋白,sur-

vivin 是导致 SMA 心力衰竭的主要因素之一。

有研究者对 SMN 下游蛋白进行蛋白组学分析,发现在严重脊髓性肌萎缩的小鼠模型中,核纤层蛋白 A/C 失调导致心脏病理改变。核纤层蛋白 A 和 C,由 LMNA 基因编码,除了为细胞核提供结构支持外,还涉及其他几种功能,包括机械信号、染色质组织和基因表达调控。LMNA 基因突变引起的疾病主要表现为心脏病理改变。每个患者患有严重的心脏疾病,最终需要起搏器治疗。在每个病例中进行家族史检查,显示出高频率的心脏异常和突然无法解释的心脏病死亡^[18]。这使得核纤层蛋白 A/C 的正确功能成为维持心脏健康的关键要求。他们发现,在 SMA 小鼠模型的心脏组织中,核纤层蛋白 A/C 强有力地增加,因此表明核纤层蛋白 A/C 至少部分负责先前报道的 SMA 中的心脏缺陷。SMN 蛋白水平降低,似乎很可能增加的核纤层蛋白 A/C 水平使心肌细胞变硬,阻碍其正常收缩的能力并诱导先前在 SMA 中报道的心脏缺陷。

对于 SMN 蛋白的缺陷如何导致心脏异常,还有其他一些可能的解释,包括可能干扰正常心脏发育的特定 mRNA 剪接^[19]。低水平 SMN 蛋白已经显示出影响动物模型中的胚胎器官发育,包括心脏发生^[2]。低水平的 SMN 蛋白也可能导致心脏发生中特定细胞类型的功能障碍。潜在的候选细胞类型是神经嵴细胞(NCC),心脏神经嵴细胞(cNCC)由 NCC 迁移并分化而成。这些细胞参与大血管的肌结缔组织(中膜)、心脏流出道间隔(将圆锥管分为主动脉和肺干)、心房和心室间隔的发育^[4]。SMN 蛋白缺乏可能改变下游信号通路的功能,这些通路对于 NCC 的迁移过程很重要^[20]。此外,尽管心脏电传导系统本身来自心肌细胞,但导致心律失常的心脏自主神经系统发展来自 NCC^[21]。所以 SMN 蛋白浓度降低后对心肌细胞和自主神经系统产生双重影响导致 SMA 患者及动物模型表现出心脏异常改变。

四、SMN 蛋白减少导致心肌损害的治疗

目前对于 SMA 疾病除了支持和对症治疗外,特异性治疗很有限。而对于 SMN 蛋白降低导致的心肌损害的治疗,目前只在动物模型上进行初步尝试。Heier 等^[22]用曲古抑菌素 A (一种组蛋白去乙酰化酶抑制剂) 治疗的小鼠可以改善心率和心脏大小,而且神经肌肉功能也得到改善。Bevan 等^[11]研究了自身互补腺相关病毒 9 型 (selfcomplementary adeno-associated virus type 9,scAAV9) 携带 SMN 基因对 SMN Δ 7

小鼠心脏缺损的治疗作用。同样在产后早期使用 scAAV9-SMN 治疗,可以预防心动过缓和扩张型心肌病的早期发展。Shababi 等^[23]也使用表达全长 SMN cDNA 的 scAAV9 处理 SMN Δ 7 模型,表明 SMA 心脏存在纤维化、氧化应激激活、血管重塑和毛细血管数量显著减少。在治疗的动物中,心脏结构缺陷得到改善。通过体内心脏磁共振成像的功能分析显示,经治疗的 SMA 小鼠的心脏仍然表现出功能缺陷。所以在出生后治疗的 SMA 动物中仅部分挽救了心脏功能。Biondi 等^[24]在 SMA 小鼠模型中研究了体育锻炼对心肺功能的影响,并观察到许多益处,包括减少心肌成熟的延迟、减少纤维化、提高心肌传导速度和减少心律失常、心肌梗死和心动过缓,恢复部分心脏功能。此外,该研究结果显示交感神经系统有助于改善该模型中的心律失常和心动过缓。

五、展 望

综上所述,SMA 患者及模型研究表明 SMN 蛋白在心脏的发生和维持心脏正常功能中具有重要作用,SMN 蛋白的缺乏导致了心脏结构、电和机械功能的病理改变。这些发现提供了一个新的研究领域,有利于对遗传学确诊的 SMA 患者进行可控、标准、统一和全面的心脏检查。解开 SMN 相关细胞类型中的分子通路,有助于设计最适合治疗的靶点,这些靶点可与 SMN 靶向治疗相结合,有助于提高 SMA 治疗的临床成功率。

参考文献

- Shababi M, Habibi J, Yang HT, *et al.* Cardiac defects contribute to the pathology of spinal muscular atrophy models [J]. *Hum Mol Genet*, 2010, 19(20): 4059-4071
- Shababi M, Lorson CL, Rudnik-Schöneborn SS. Spinal muscular atrophy: a motor neuron disorder or a multi-organ disease [J]. *J Anat*, 2014, 224(1): 15-28
- Nash LA BJ, Chardon JW, Kothary R, *et al.* Spinal muscular atrophy more than a disease of motor neurons [J]. *Curr Mol Med*, 2016, 16: 779-792
- Wijngaarde CA, Blank AC, Stam M, *et al.* Cardiac pathology in spinal muscular atrophy: a systematic review [J]. *Orphanet J Rare Dis*, 2017, 12(1): 67
- Lefebvre S, Bürglen L, Reboullet S, *et al.* Identification and characterization of a spinal muscular atrophy-determining gene [J]. *Cell*, 1995, 80(1): 155-165
- Chaytow H, Huang YT, Gillingwater TH, *et al.* The role of survival motor neuron protein (SMN) in protein homeostasis [J]. *Cell Mol Life Sci*, 2018, 75(21): 3877-3894
- Matera AG, Wang Z. A day in the life of the spliceosome [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2014, 15(2): 108-121
- Todd AG, Lin H, Ebert AD, *et al.* COPI transport complexes bind to

- specific RNAs in neuronal cells [J]. *Hum Mol Genet*, 2013, 22(4): 729-736
- Rudnik-Schöneborn S, Heller R, Berg C, *et al.* Congenital heart disease is a feature of severe infantile spinal muscular atrophy [J]. *J Med Genet*, 2008, 45(10): 635-638
- Schreml J, Riessland M, Paterno M, *et al.* Severe SMA mice show organ impairment that cannot be rescued by therapy with the HDACi JNJ-26481585 [J]. *Eur J Hum Genet*, 2013, 21(6): 643-652
- Bevan AK, Hutchinson KR, Foust KD, *et al.* Early heart failure in the SMN Δ 7 model of spinal muscular atrophy and correction by postnatal scAAV9-SMN delivery [J]. *Hum Mol Genet*, 2010, 19(20): 3895-3905
- Bogdanik LP, Osborne MA, Davis C, *et al.* Systemic, postsymptomatic antisense oligonucleotide rescues motor unit maturation delay in a new mouse model for type II/III spinal muscular atrophy [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2015, 112(43): E5863-5872
- Maxwell GK, Szunyogova E, Shorrock HK, *et al.* Developmental and degenerative cardiac defects in the Taiwanese mouse model of severe spinal muscular atrophy [J]. *J Anat*, 2018, 232(6): 965-978
- Lesnfsky EJ, Moghaddas S, Tandler B, *et al.* Mitochondrial dysfunction in cardiac disease: ischemia—reperfusion, aging, and heart failure [J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2001, 33(6): 1065-1089
- Porter AG, Janicke RU. Emerging roles of caspase-3 in apoptosis [J]. *Cell Death Differ*, 1999, 6(2): 99-104
- Sheng L, Wan B, Feng P, *et al.* Downregulation of survivin contributes to cell-cycle arrest during postnatal cardiac development in a severe spinal muscular atrophy mouse model [J]. *Hum Mol Genet*, 2018, 27(3): 486-498
- Talman V, Ruskoaho H. Cardiac fibrosis in myocardial infarction—from repair and remodeling to regeneration [J]. *Cell Tissue Res*, 2016, 365(3): 563-581
- Bernabó P, Tebaldi T, Groen EJN, *et al.* In vivo translome profiling in spinal muscular atrophy reveals a role for SMN protein in ribosome biology [J]. *Cell Rep*, 2017, 21(4): 953-965
- Li DK, Tisdale S, Lotti F, *et al.* SMN control of RNP assembly: from post-transcriptional gene regulation to motor neuron disease [J]. *Semin Cell Dev Biol*, 2014, 32: 22-29
- Kirby ML, Hutson MR. Factors controlling cardiac neural crest cell migration [J]. *Cell Adh Migr*, 2010, 4(4): 609-621
- Shen MJ, Zipes DP. Role of the autonomic nervous system in modulating cardiac arrhythmias [J]. *Circ Res*, 2014, 114(6): 1004-1021
- Heier CR, Satta R, Lutz C, *et al.* Arrhythmia and cardiac defects are a feature of spinal muscular atrophy model mice [J]. *Hum Mol Genet*, 2010, 19(20): 3906-3918
- Shababi M, Habibi J, Ma L, *et al.* Partial restoration of cardio-vascular defects in a rescued severe model of spinal muscular atrophy [J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2012, 52(5): 1074-1082
- Biondi O, Lopes P, Desseille C, *et al.* Physical exercise reduces cardiac defects in type 2 spinal muscular atrophy-like mice [J]. *J Physiol*, 2012, 590(22): 5907-5925 (收稿日期: 2019-09-18)
- (修回日期: 2019-10-26)