

DOI: 10.13376/j.cbbs/2015168

文章编号: 1004-0374(2015)10-1218-04



李俊, 同济大学附属东方医院转化医学研究中心博士研究生导师。致力于研究心律失常非离子通道机制及其相关的干预策略, 以及胞内蛋白稳态控制机制在心力衰竭发生发展中的作用。他的研究首次揭示了核酸结合蛋白对心脏电生理稳态的调控作用及其机制, 发现了多因素导致的慢性病理性心肌肥大与心力衰竭发生的分子阀门, 为重大心血管疾病——心律失常与心力衰竭的机制及其干预提供了前瞻性的视角。在 *Circ Res*、*Nat Commun*、*Cell Res* 等国际专业及综合期刊发表了多篇研究论文。主持并承担多项国家自然科学基金项目与国家重大研究计划项目。

## 心律失常发生的核受体调控机制研究进展

解端阳<sup>1,2</sup>, 李俊<sup>1,2,3\*</sup>

(1 同济大学医学院病理与病理生理学系, 上海 200092; 2 心律失常教育部重点实验室(同济大学), 上海 200092; 3 同济大学附属东方医院心脏内科, 东方转化医学研究中心, 上海 200120)

**摘要:** 心律失常是一种心脏电活动起源或者转导障碍导致的心脏疾病, 其发生发展的分子机制尚不明确。心肌细胞表面膜离子通道与缝隙连接通道蛋白的表达及功能关键性地决定了心脏电活动的稳态。核受体家族(nuclear receptor family)是一组配体激活的转录因子家族, 配件包括固醇类激素、维生素 D、甲状腺激素等。它们定位于细胞核, 在离子通道和缝隙连接蛋白的转录、转运和功能调节中发挥重要的作用。现就近年来核受体调控心律失常发生发展的相关报道做一综述。

**关键词:** 心律失常; 核受体; 心脏电活动

**中图分类号:** Q445; R541.7 **文献标志码:** A

## Regulatory mechanisms of nuclear receptors for arrhythmogenesis

XIE Duan-Yang<sup>1,2</sup>, LI Jun<sup>1,2,3\*</sup>

(1 Department of Pathology and Pathophysiology, School of Medicine, Tongji University, Shanghai 200092, China; 2 Key Laboratory of Arrhythmias of the Ministry of Education of China, Tongji University, Shanghai 200092, China; 3 Research Center for Translational Medicine, Department of Cardiology, East Hospital, Tongji University, Shanghai 200120, China)

**Abstract:** Cardiac arrhythmias are characterized by disorders of heart beating frequency and rhythm, which are derived from abnormal electrical excitation and conduction in the heart. Generally, the expression and function of sarcolemmal ion channels and intercellular connexin channels critically determine cardiac electrophysiological homeostasis. The nuclear receptors belong to a transcriptional factor family that is activated by steroid hormones, vitamin D and thyroid hormones. They are localized in the nucleus. Through establishing links between signaling molecules and transcription response, they regulate the transcription, transport and function of the above-mentioned channels. Herein we review the recent studies on nuclear receptors involved in regulating occurrence and development of cardiac arrhythmias.

**Key words:** arrhythmias; nuclear receptor; cardiac electrical activity

收稿日期: 2014-11-24

基金项目: 国家自然科学基金项目(81170224, 81270313)

\*通信作者: E-mail: junli@tongji.edu.cn

心律失常 (cardiac arrhythmia) 是一种以心脏搏动频率和 (或) 节律异常为表现的心脏疾病, 电生理学表现为心肌电活动的起源部位、传导速度或激动次序的改变。心律失常发病机制主要包括自发性除极异常、电触发异常和折返三个方面<sup>[1]</sup>。核受体对心律失常的影响主要体现在对心肌细胞电活动调控分子的影响。本文旨在对核受体对离子通道和细胞间缝隙连接蛋白的影响及其与心肌细胞电活动及心律失常的联系做一综述。

## 1 核受体家族

核受体家族是细胞内的一类以脂溶性激素 (如固醇类激素、维生素 D、甲状腺激素、脂肪酸等) 为配体的转录因子家族。细胞内信号可通过核受体控制转录应答, 从而调控细胞的生长、分化与新陈代谢等生命活动。核受体位于细胞核内部, 其配体大部分是脂溶性激素。人类的核受体家族共包含 48 个成员, 如 PPAR、FXR、LXR、VDR 和 RXR 等, 其与人类血管系统的功能密切相连<sup>[2-3]</sup>。另外, 核膜上也存在 G 蛋白偶联受体、酪氨酸激酶受体等, 它们共同参与了细胞的增殖和分化等重要的生理学过程。

Bkaily 等<sup>[4]</sup>报道指出, 细胞核及核上受体在心肌细胞电生理稳态的维持及兴奋-收缩偶联过程中起重要作用 (如血管紧张素 II、神经肽 Y 和内皮素等), 通过直接或间接地调节诸多能够影响离子转运的分子 (如离子通道、离子泵和离子交换体等) 来影响核内外的离子平衡, 引起细胞内钙离子及钾离子的失稳态, 这也是细胞电活动异常的重要基础。在能量代谢方面, Jamshidi<sup>[5]</sup>报道指出, 过氧化物酶体增殖物激活受体 (PPAR) 的基因调控在心内高压所致的心肌重构过程中起到了重要作用, 这也直接影响了心肌及心肌细胞的电重构, 进而在心律失常的发展过程中产生重要的影响。此外, 还有诸多研究表明, 核受体在转录层面调控一些通道的表达从而影响细胞电流, 如在维生素 D 处理的细胞中可以检测到, 参与去极化的氯电流强度有明显上升, L 型钙电流的峰值在明显减小, 同时, 细胞的膜电容也明显增加, 而敲除维生素 D 受体的细胞中检测不到该变化<sup>[6]</sup>。Park 等<sup>[7]</sup>研究发现, 核受体 NHR-69 可降低 exp-2 钾通道的表达。芳香烃受体核转位蛋白敲除的细胞中,  $I_{KATP}$  明显减小, 也可检测到 KATP 的编码基因 Kir6.2 在 mRNA 及蛋白质水平均明显减少<sup>[8]</sup>。

## 2 心脏核受体与缝隙连接

缝隙连接是将相邻细胞的细胞质进行连接的细胞内通道, 各种离子、营养物质及信号分子 (相对分子质量小于 1 kD) 通过其实现细胞间的运输。缝隙连接由 6 个单体蛋白组成, 每一个单体蛋白由 4 个跨膜结构域构成, 其 N 末端与 C 末端在胞膜内, 参与细胞间连接蛋白相连及细胞间识别的两个环面向胞外<sup>[9]</sup>。缝隙连接蛋白 (connexin, Cx) 是脊椎动物体内缝隙连接 (又称闰盘) 的重要结构蛋白, 其对细胞间离子、小分子营养物质及信号分子的传递有重要影响, 也是细胞间电传导的重要结构。哺乳动物发育早期已有多种连接蛋白表达, 不同连接蛋白组成的缝隙连接通道具有不同通道特征, 已有多项研究表明连接蛋白基因的缺失或突变所致的缝隙连接结构功能改变在原发性心律失常中起着重要作用<sup>[10-13]</sup>。

### 2.1 雌激素、孕激素受体

Lye 等<sup>[14]</sup>研究发现, 未怀孕的大鼠肌肉中, Cx43 表达量较低, 而在大鼠怀孕 10 d 后, 其表达量会明显上升, 并在分娩阶段达到最大值; 另一方面, 敲除 Cx43 的基因会破坏基质间雌激素依赖的血管生长, 从而影响组织的结构和功能<sup>[15]</sup>。不同雌激素受体 (ER) 的亚型对 Cx43 的表达有不同的影响, 一般情况下 ER $\alpha$  促进 Cx43 的表达及缝隙连接的生成, 而 ER $\beta$  起抑制作用。另外, Kihara 等<sup>[16]</sup>研究显示, 睾酮可以通过抑制缝隙连接来影响细胞间信息传递。对于心肌细胞, 当其核上的雄性激素受体被抗雄性激素药物醋酸环丙孕酮阻断时, 雄激素对缝隙连接功能的影响就消失了<sup>[17]</sup>, 这说明雄激素的核调控对缝隙连接的功能有重要影响。

### 2.2 皮质激素受体

Suzuki 等<sup>[18]</sup>研究发现, 在醛固酮的刺激下, Cx43 的转录及蛋白表达量均有增加, 但大剂量时 (1 000 nmol/L) 可抑制 Cx43 的蛋白表达。甲状腺激素也可以影响 Cx43 的表达。Tribulova 等<sup>[19]</sup>研究表明, 甲状腺激素 T3 刺激过后的新生鼠心肌细胞中 Cx43 的表达量明显增多, 并伴有缝隙连接形成的增多。

### 2.3 其他核受体类激素

维生素 D 在细胞增殖及缝隙连接介导的细胞通讯中起了重要作用, 类胡萝卜素可使小鼠成纤维细胞中 Cx43 的转录水平升高。另外, Vine 等<sup>[20]</sup>研究显示, Cx43 启动子附近有一个维甲酸 (一种维生

素 A 的中间代谢产物) 结合位点, 维甲酸受体可通过与 Sp1 及 Sp3 的相互作用来刺激 Cx43 的表达。然而, 在维甲酸受体过表达的转基因小鼠中, Cx43 表达下调并伴有心脏肥大<sup>[21]</sup>, 这可能与 Cx43 的体内调控及其他诸多因素有关。

### 3 心律失常的核受体调控机制

心律失常与心肌细胞内钙稳态有重要联系, 核受体通过心肌细胞内离子通道及信号通路对胞内钙变化的影响是直接导致心律失常的重要原因之一<sup>[22]</sup>。诸多研究表明, 性激素受体可影响急性分离大鼠心肌细胞的 L 型钙电流、T 型钙电流、 $I_{Ks}$ 、 $I_{Kr}$ 、 $I_{to}$ 、 $I_{K1}$  等<sup>[23-24]</sup>。也有临床证据显示, LQT 综合征 (long QT syndrome, LQTS) 更倾向于遗传女孩<sup>[25]</sup>, 这也说明了核受体在遗传性心律失常中发挥了重要作用。概括起来, 核受体参与心律失常发生过程可分为两大部分, 基因组转录调控及非转录调控, 它们在心律失常的发生过程中均起重要作用。近年来, 使用核激素受体激动剂来治疗心律失常等心脏疾病的研究也已逐步开展起来。

另一方面, 由缝隙连接所导致的心律失常的机制是多因素的。目前在人类已经发现的缝隙连接蛋白共有 21 种, 小鼠 20 种<sup>[26]</sup>。其中 Cx40、Cx43 和 Cx45 三种连接蛋白在心肌细胞中表达, Cx43 只在心室与心房肌表达, Cx40 在心房肌、窦房结、房室结与 His-Purkinje 系统表达, 而 Cx45 主要在窦房结、房室结与 His-Purkinje 系统中表达<sup>[27]</sup>。调控 Cx 表达的分子机制尚不清楚, 大体可分为转录调控及转录后调控。已有多项研究显示, Cx40 及 Cx43 的突变对房颤的发生有重要的影响。缝隙连接是心脏动作电位及电导速率的决定性因素, 对心肌细胞间的通讯起着重要作用。编码 connexin 的基因发生的突变与先天性房颤有密切关系, 如 Thibodeau 等<sup>[28]</sup>曾报道过在房颤组织样本中的 *GJA1* (编码 Cx43 的基因) 上发生的错义突变可以导致房颤 Cx43 的磷酸化/去磷酸化, 也对其所形成孔道的功能有重要影响, 可被 MAK、ERK、JNK 等蛋白激酶调节。目前, 连接蛋白的核激素受体调控研究主要在小鼠、大鼠、人类的基因组水平上进行<sup>[9, 29]</sup>, 已经发现在连接蛋白基因启动子区存在多处可供核激素受体结合的位点, 可以部分解释核激素受体在连接蛋白的调控中所起的重要作用。Cx43 的某些特异位点磷酸化可以改变缝隙连接的功能<sup>[30]</sup>。Severs 等<sup>[13]</sup>报道, 心衰及扩张型心肌患者体内 Cx43 的表达量降低,

并且由其导致的功能性异常会诱导或加重心律失常的发生。该现象可能与  $\beta$  肾上腺素受体相关。Salameh 等<sup>[31]</sup>的研究发现, 异丙肾上腺素 (isoprenaline,  $\beta$  肾上腺素受体激动剂) 可导致新生大鼠心肌细胞中的 Cx43 在转录及翻译水平均有上调, 同时, 伴有 MAPK、p38、ERK1/2、JNK 和该类激酶的靶分子 Cx43 的磷酸化。此外, 异丙肾上腺素还可以介导 cAMP 应答元件结合蛋白 (cAMP response element binding protein, CREB) 和核转录因子 (nuclear transcription factor, NTF) 的易位, 并且该过程可被 MAPK 抑制剂所阻遏, 这提示 Cx43 是  $\beta$  肾上腺素受体对心脏活动的影响过程中的一个重要环节。异丙肾上腺素还可通过影响肌纤维膜上 Cx43 的分布发挥作用, 即在肌细胞的头尾连接处及细胞侧面 (不与其他细胞发生联系) 两种分布的相互转变<sup>[13]</sup>, 这说明异丙肾上腺素可能直接影响着 Cx43 分子的表达及定位, 而不是影响由 Cx43 构成的缝隙连接来发挥作用。

### 4 总结与展望

心律失常是最常见的心血管疾病之一。目前对核受体在心律失常的发病机制中所起作用的报道尚不多, 但核受体家族及其诸多配体所起的重要作用不容忽视。雌孕激素、雄激素、皮质醇激素和甲状腺激素等通过核受体影响了心肌细胞内离子通道及胞间缝隙连接的内源基因表达及外源信号分子调控, 从而直接或间接地影响了它们的表达、易位和磷酸化激活, 进而导致细胞内及细胞间的电活动的改变和心律失常的发生和发展。上述研究进展将为心律失常的机制揭示和干预研究提供基础。

#### [参 考 文 献]

- [1] Gaztanaga L, Marchlinski FE, Betensky BP. Mechanisms of cardiac arrhythmias. *Rev Esp De Cardiol*, 2012, 65(2): 174-85
- [2] Levin ER. Extranuclear steroid receptors: roles in modulation of cell functions. *Mol Endocrinol*, 2011, 25(3): 377-84
- [3] Knowlton AA, Lee AR. Estrogen and the cardiovascular system. *Pharmacol Ther*, 2012, 135(1): 54-70
- [4] Bkaily G, Avedanian L, Jacques D. Nuclear membrane receptors and channels as targets for drug development in cardiovascular diseases. *Can J Physiol Pharmacol*, 2009, 87(2): 108-19
- [5] Jamshidi Y. Peroxisome proliferator-activated receptor  $\alpha$  gene regulates left ventricular growth in response to exercise and hypertension. *Circulation*, 2002, 105(8): 950-5
- [6] Saito K, Moore R, Negishi M. Nuclear receptor CAR specifically activates the two-pore  $K^+$  channel *Kcnk1* gene



- in male mouse livers, which attenuates phenobarbital-induced hepatic hyperplasia. *Toxicol Sci*, 2013, 132(1): 151-61
- [7] Park D, Jones KL, Lee H, et al. Repression of a potassium channel by nuclear hormone receptor and TGF- $\beta$  signaling modulates insulin signaling in *Caenorhabditis elegans*. *PLoS Genet*, 2012, 8(2): e1002519
- [8] Kim JS, Zheng H, Kim SJ, et al. Role of aryl hydrocarbon receptor nuclear translocator in  $K_{ATP}$  channel-mediated insulin secretion in INS-1 insulinoma cells. *Biochem Biophys Res Commun*, 2009, 379(4): 1048-53
- [9] Mese G, Richard G, White TW. Gap junctions: basic structure and function. *J Invest Dermatol*, 2007, 127(11): 2516-24
- [10] Li J, Patel VV, Kostetskii I, et al. Cardiac-specific loss of N-cadherin leads to alteration in connexins with conduction slowing and arrhythmogenesis. *Circ Res*, 2005, 97(5): 474-81
- [11] Kreuzberg MM, Schrickel JW, Ghanem A, et al. Connexin30.2 containing gap junction channels decelerate impulse propagation through the atrioventricular node. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2006, 103(15): 5959-64
- [12] Pilichou K, Nava A, Basso C, et al. Mutations in desmoglein-2 gene are associated with arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy. *Circulation*, 2006, 113(9): 1171-9
- [13] Severs NJ, Bruce AF, Dupont E, et al. Remodelling of gap junctions and connexin expression in diseased myocardium. *Cardiovasc Res*, 2008, 80(1): 9-19
- [14] Lye SJ, Nicholson BJ, Mascarenhas M, et al. Increased expression of connexin-43 in the rat myometrium during labor is associated with an increase in the plasma estrogen:progesterone ratio. *Endocrinology*, 1993, 132(6): 2380-6
- [15] Laws MJ, Taylor RN, Sidell N, et al. Gap junction communication between uterine stromal cells plays a critical role in pregnancy-associated neovascularization and embryo survival. *Development*, 2008, 135(15): 2659-68
- [16] Kihara K, Fukui I, Higashi Y, et al. Inhibitory effect of testosterone on gap junctional intercellular communication of human transitional cell carcinoma cell lines. *Cancer Res*, 1990, 50(9): 2848-52
- [17] Pluciennik F, Verrecchia F, Bastide B, et al. Reversible interruption of gap junctional communication by testosterone propionate in cultured sertoli cells and cardiac myocytes. *J Memb Biol*, 1996, 149(3): 169-77
- [18] Suzuki S, Ohkusa T, Sato T, et al. Effects of aldosterone on Cx43 gap junction expression in neonatal rat cultured cardiomyocytes. *Circ J*, 2009, 73(8): 1504-12
- [19] Tribulova N, Shneyays V, Mamedova Lk, et al. Enhanced connexin-43 and  $\alpha$ -sarcomeric actin expression in cultured heart myocytes exposed to triiodo-L-thyronine. *J Mol Histol*, 2004, 35(5): 463-70
- [20] Vine AL, Leung YM, Bertram JS. Transcriptional regulation of connexin 43 expression by retinoids and carotenoids: Similarities and differences. *Mol Carcinogen*, 2005, 43(2): 75-85
- [21] van Veen TA, van Rijen HV, Wiegerinck RF, et al. Remodeling of gap junctions in mouse hearts hypertrophied by forced retinoic acid signaling. *J Mol Cell Cardiol*, 2002, 34(10): 1411-23
- [22] Saltzman HE. Arrhythmias and heart failure. *Cardiol Clin*, 2014, 32(1): 125-33
- [23] Tanabe S, Hata T, Hiraoka M. Effects of estrogen on action potential and membrane currents in guinea pig ventricular myocytes. *Am J Physiol*, 1999, 277(2): H826-33
- [24] Furukawa T, Kurokawa J. Regulation of cardiac ion channels via non-genomic action of sex steroid hormones: implication for the gender difference in cardiac arrhythmias. *Pharmacol Ther*, 2007, 115(1): 106-15
- [25] Imboden M, Swan H, Denjoy I, et al. Female predominance and transmission distortion in the long-QT syndrome. *New Engl J Med*, 2006, 355(26): 2744-51
- [26] Sohl G, Willecke K. Gap junctions and the connexin protein family. *Cardiovasc Res*, 2004, 62(2): 228-32
- [27] Saez JC, Berthoud VM, Branes MC, et al. Plasma membrane channels formed by connexins: Their regulation and functions. *Physiol Rev*, 2003, 83(4): 1359-400
- [28] Thibodeau IL, Xu J, Li Q, et al. Paradigm of genetic mosaicism and lone atrial fibrillation: physiological characterization of a connexin 43-deletion mutant identified from atrial tissue. *Circulation*, 2010, 122(3): 236-44
- [29] Oyamada M, Oyamada Y, Takamatsu T. Regulation of connexin expression. *Biochim Biophys Acta*, 2005, 1719(1-2): 6-23
- [30] Solan JL, Lampe PD. Connexin43 phosphorylation: structural changes and biological effects. *Biochem J*, 2009, 419: 261-72
- [31] Salameh A, Krautblatter S, Karl S, et al. The signal transduction cascade regulating the expression of the gap junction protein connexin43 by  $\beta$ -adrenoceptors. *Br J Pharmacol*, 2009, 158(1): 198-208