

# 肌细胞增强因子 2A 基因与冠心病相关性的研究进展

赵 旺, 彭道泉

(中南大学湘雅二医院心血管内科, 湖南省长沙市 410011)

[关键词] 病理学与病理生理学; 肌细胞增强因子 2A; 冠心病; 基因突变

[摘要] 冠心病的遗传因素尚不明确, 肌细胞增强因子 2A 基因突变可能与冠心病有关。但此基因与冠心病之间相关机制仍不清楚, 本文就肌细胞增强因子 2A 基因与冠心病相关性的最新研究进展作一综述。

[中图分类号] R363

[文献标识码] A

冠心病是一种由于冠状动脉粥样硬化病变, 使得血管腔器质性狭窄或阻塞, 冠状动脉循环改变, 冠状动脉血流和心肌需求之间不平衡, 从而引发心肌缺血缺氧(心绞痛)或心肌坏死(心肌梗死)的心脏病。目前公认冠心病为一种由遗传基因异常与高血压、高胆固醇血症、肥胖、吸烟、糖尿病和饮食等环境因素共同作用的多因素疾病<sup>[1-3]</sup>。有研究报道, 肌细胞增强因子 2A(myocyte enhancer factor 2A, MEF2A)可能是冠心病的一种致病性基因。

## 1 肌细胞增强因子 2A 基因及其功能

1991 年, Pollock 和 Treisman 成功克隆出了 MEF2A 的 cDNA。MEF2A 属于转录因子肌细胞增强因子 2(myocyte enhancer factor 2, MEF2)家族中的一员。在脊椎动物中肌细胞增强因子 2 家族成员包括 MEF2A、MEF2B、MEF2C 和 MEF2D 四种转录因子。这些转录因子的 N 端结构完全一致, 都具有 MADS 盒结构。MADS 盒结构存在于多数转录因子家族中, 具有高度的保守性。它的命名来自于最早发现的 4 个转录因子: MCM1、Agamous、Deficiens 和 SRF 的字首。其功能是使蛋白质之间形成二聚体, 识别靶 DNA 并与之结合。另外, 它们都包含了由 29 个氨基酸组成的结构域, 用来识别靶 DNA 上的序列-CTA<sup>1A/T</sup>4TAG/A- 并与之结合。MEF2 家族成员形成同源或者异源二聚体, 通过 MEF2 结构域与靶 DNA 的调控区结合, 来调节和控制基因表达和转录。Hobson 等<sup>[4]</sup>通过 PCR 及荧光位点杂交技术证实 MEF2A 位于染色体 15q26 上, 大小为 11 533 kb, 有 12 个外显子。MEF2A mRNA 大小为 2 975 bp, 其转录产物 MEF2A 蛋白是一类脱氧核糖核酸结合蛋白, 大小为 54.8 kDa, 共有 507 个氨基酸。MEF2A 蛋白与基因启动子中特定序列结合, 从而调节基因的表达。

肌细胞增强因子 2A 具有包括适用于发育过程的精细调节在内的多种调节方式, 其结合位点广泛存在于肌肉、内皮

的特异性基因调控区, 在心血管系统、淋巴免疫系统、呼吸系统、脂肪组织和内皮组织中都有表达。最突出功能是控制肌细胞分化过程中的基因转录, 在骨骼肌、心肌和平滑肌的发育过程中介导细胞的分化, 并参与血管的发育<sup>[5-7]</sup>。另外, MEF2A 还可与多种调控因子结合成复合物来激活不存在 MEF2A 位点的基因。

## 2 肌细胞增强因子 2A 与冠心病相关性的发现、争议与质疑

通过对一个拥有 21 名成员的美国白人冠心病家族成员(该家族拥有 13 名冠心病患者, 其中 9 名曾发生过急性心肌梗死)进行全基因组扫描和分析, 发现此家族中的 13 名冠心病患者体内都存在一个与冠心病发生相关的阳性位点—D15S120(LOD= 4.19)<sup>[8]</sup>。进一步选取单核苷酸多态性位点 D15S1014、D15S212 和 D15S87, 并对此区域连锁分析, 最终将此家族的冠心病致病基因定位于染色体 15q26 区间。对此区域 93 个基因进一步分析后发现这些冠心病患者的 MEF2A 基因第 11 个外显子有一处 21 碱基序列消失, 导致 MEF2A 的 C 端 7 个氨基酸缺失(ΔQ440P441Q443P444Q445P446), 而此家族中其余健康成员携带的都是正常的 MEF2A 基因。在随后的研究中, 研究人员通过单链构象多态性和 DNA 序列分析, 在冠心病散发人群的 MEF2A 第 7 外显子上发现 3 个新的致病点突变(N263S、P279L、G283D)<sup>[9]</sup>, 进一步证实 MEF2A 与冠心病的关系。这一家系的发现首次提示 MEF2A 基因异常可能是冠心病的致病基因, 并具备常染色体显性遗传特征。但是, 其他研究人员对 MEF2A 与冠心病的关系提出了质疑。2005 年, 一些研究人员对 300 例美国白人早发冠心病患者和 300 例正常对照人群的 MEF2A 基因全部外显子进行扫描, 仅在正常对照人群中发现了所谓的 21 个碱基的致病缺失突变, 冠心病患者中却未发现。在进一步扩大到 1500 名的人群研究中, 仍未发现冠心病患者中有这种致病缺失突变。所以认为 MEF2A 的这种变异应是一种极罕见的突变, 不是所谓的致病缺失突变<sup>[10]</sup>。针对这一阴性报道, Wang 和 Topol 等进行了反驳。首先在这一研究的冠心病患者中, 有 1 例存在 MEF2A 基因 S360L 突变, 这一突变位点位于影响转录活性的关键区域, 而在对照组中无这一突变。但该文章通

[收稿日期] 2007-08-13

[修回日期] 2008-03-06

[作者简介] 赵旺, 博士研究生, 研究方向为心血管内科与动脉粥样硬化, E-mail 为 dogloszwlove@sina.com。通讯作者彭道泉, 博士, 教授, 硕士研究生导师, 研究方向为心血管内科与动脉粥样硬化, E-mail 为 pengdq@hotmail.com。

过简单的计算机分析后草率认为这一突变为良性突变,不影响 MEF2A 功能。而且该文统计方法使用不当使差异显著性消失,因此结论不足为信。其次,对表型分类的方法不完善,仅通过简单的心电图检查排除 MEF2A 基因突变(7 个氨基酸缺失)对象的冠心病诊断,没有冠状动脉造影检查可能存在漏诊,而多数冠心病患者可以完全无症状。最后,该文作者错误理解 MEF2A 突变必然会导致早发冠心病,实际上在 Wang 等的报道中,MEF2A 基因突变(7 个氨基酸缺失)者的冠心病发病年龄范围为 35~68 岁,心肌梗死发生年龄范围为 40~80 岁。其它常染色体显性遗传的疾病外显率也存在很大差异,因此该文报道的 MEF2A 基因突变者未发生冠心病并不能排除以后发生的可能。总之,这一阴性报道不能排除 MEF2A 与冠心病的关系。

还有一些关于 MEF2A 与冠心病相关性的研究也出现了很大的争议,西班牙研究人员在心肌梗死患者中的研究发现,MEF2A 第 7 外显子的点突变 P279L 不是一种致病点突变,而应该是一种罕见的与心肌梗死发生相关的单核苷酸多态位点<sup>[11]</sup>。德国 Lieb 等<sup>[12]</sup>对超过 1700 名无亲缘关系的心肌梗死患者、大样本人群以及多个心肌梗死家族(每家族中有  $\geq 5$  名心肌梗死患者)进行研究,未发现 MEF2A 基因与心肌梗死有明显的相关性。日本研究人员测序分析了 379 例心肌梗死患者和 584 例正常对照人群的 MEF2A 全部 11 个外显子,也得出了阴性结果,并认为 MEF2A 基因多态性与日本人群心肌梗死的发生之间无相关性<sup>[13]</sup>。2006 年,爱尔兰研究人员在一项对来自 580 个家庭的 1494 例人群的缺血性心脏病的核心家系的基础研究中没有发现有 21 个碱基缺失所致的 MEF2A<sup>[14]</sup>。

有研究发现,中国南方地区冠心病患者 MEF2A 基因第 11 外显子存在 1 个 CCG 的缺失突变,正常对照组中却没有这种突变,提示 MEF2A 基因突变可能与冠心病患者易感性有关<sup>[15]</sup>。也有研究表明,冠心病患者与正常对照人群中 MEF2A 基因第 11 外显子存在不同形式的 147130(C $\rightarrow$ A)错义突变(P431Q)、147191(G $\rightarrow$ T)同义变异以及 147108~147128 位点 21 个碱基缺失,提示新突变可能与疾病的发生相关<sup>[16]</sup>。还有研究认为,MEF2A 的 CAG 重复序列多态性与冠心病有关,CAG 的等位基因则可能是冠心病的独立预测因子<sup>[17]</sup>。可是,某研究小组对北京地区冠心病患者的 MEF2A 第 7 外显子扫描后,未发现任何形式变异,提示 MEF2A 第 7 号外显子的突变可能不是我国汉族人群冠状动脉粥样硬化性心脏病的遗传易感因素<sup>[18]</sup>。另一项研究也显示,MEF2A 基因的 4 个多态性位点(891C/T、1305 G/A、1353 G/T、1294~1296 CCG/-)与我国汉族人群中冠心病的发生无显著相关性<sup>[19]</sup>。

上述的研究以及所引发的争议与质疑,其依据都是建立在对已知的冠心病患者与正常人群的 MEF2A 基因扫描对比之上。现阶段却没有关于 MEF2A 基因突变对冠心病主要病理过程即动脉粥样硬化的发生发展是否有影响以及作用机制的研究。因此,我们有必要在病理以及病理生理的层面上来探讨 MEF2A 基因突变是否与冠心病相关。

### 3 肌细胞增强因子 2A 与动脉粥样硬化相关性的可能机制

动脉粥样硬化的过程中,血管壁的病理改变主要有以下 3 个环节:首先是动脉血管壁的内皮细胞老化或发生炎症,导致内皮细胞功能性或器质性改变,内膜通透性增加;然后是血液循环中的血浆脂质(如低密度脂蛋白)侵入受损的血管内皮下被氧化修饰,炎症细胞(主要是单核细胞)粘附到血管内皮细胞上,和中膜增殖的平滑肌细胞一起进入内膜下,吞噬已被氧化修饰的血浆脂质后形成泡沫细胞;最后是增殖的平滑肌细胞使血管壁增厚,并迁移到内皮下形成纤维帽<sup>[20]</sup>。故应观察 MEF2A 基因突变对这 3 个环节有何影响。

MEF2A 的表达影响心脏发育,并可引发心脏重塑<sup>[21]</sup>。免疫染色显示冠状动脉内皮细胞层有强 MEF2A 蛋白信号。而在人类血管早期胚胎中,可以发现来自 MEF2A 的 mRNA<sup>[9]</sup>。提示 MEF2A 的突变有可能影响其转录产物 MEF2A 蛋白的空间构象,减弱其在肌细胞信号介导的转录和激活功能,阻止其血管转录因子的功能,使冠状动脉血管发育形成缺陷,血管内皮细胞功能受损。

已有研究显示,MEF2A 可通过 p38 丝裂原活化蛋白激酶(mitogen activated protein kinases, MAPK)通路,介导调节血管炎症<sup>[22]</sup>。MAPK 是生物体内重要的信号转导系统之一,参与基因表达调控,介导细胞生长、发育、分裂、分化、死亡以及细胞间的功能同步等多种细胞过程<sup>[23]</sup>。其中的 p38 MAPK 信号转导通路在炎症与细胞凋亡等应激反应中发挥重要作用。大丝裂原活化蛋白激酶 1 是另一个 MAPK 通路,通过改变 MEF2A 转录活性,调节血管内皮细胞的功能和增殖<sup>[24]</sup>。另外,巨噬细胞或其他细胞表达的环氧化酶 2(cyclooxygenase-2, COX-2),可促进炎症部位前列腺素合成,与蛋白酶及其他介质一起引起炎症反应。而有研究报道证实,核呼吸因子 1(nuclear respiratory factor 1, NRF-1)可诱发 MEF2A mRNA 表达,使得 MEF2A 蛋白作为中介,通过 NRF-1-MEF2A-COX 转录级联来协调心肌中的呼吸链亚基表达<sup>[25]</sup>。MEF2A 基因突变,可能改变 MAPK 通路,升高 COX-2 表达,从而加速血管炎症的进展,并促使血管内皮细胞凋亡和脱落,导致单核细胞更容易粘附并浸润血管内皮下。

研究发现大部分缺乏 MEF2A 基因的小鼠在出生后第一周就猝死,且出现心脏右心室扩大、肌纤维破裂、线粒体解体等发育异常。少数存活至成年的小鼠也因心肌细胞线粒体缺陷而极易猝死<sup>[26]</sup>。说明心肌细胞的线粒体功能和细胞结构的完整性因 MEF2A 基因缺失而受到影响。

在增殖的鼠平滑肌细胞和人血管平滑肌细胞的胞核中,可以发现 MEF2A 蛋白的表达<sup>[9]</sup>。此外,原癌基因  $c-jun$ ,又被称为即刻早期基因,在多种细胞中均有表达,并参与细胞的生长、分化、信息传递等生理功能,是血管平滑肌细胞增殖和迁移的重要因素之一<sup>[27]</sup>。 $c-jun$  的启动子区存在 MEF2A 位点。MEF2A 同源或异源二聚体可调节  $c-jun$  的转录活性。而  $c-jun$  的激活,又可以促进单核细胞趋化蛋白 1(monocyte chemoattractant protein 1, MCP-1)基因的表达以生成 MCP-1。MCP-1 是一条由 76 个氨基酸残基构成的碱性蛋白质,为一种为对

单核细胞具有特异性趋化及激活的细胞因子, 扩大炎症进程, 是吸引单核细胞浸润至内皮下及组织中的有效介质。MCP-1 特异性地作用于血液单核细胞, 使细胞内钙离子浓度增加和呼吸暴发, 产生和释放超氧阴离子, 释放溶酶体酶, 最终活化成为巨噬细胞。所以 MEF2A 的突变, 可能会上调  $c-jun$  的转录活性, 增加 MCP-1 生成, 促进单核细胞浸润内皮下生成巨噬细胞, 加剧血管平滑肌细胞的增殖和迁移, 从而加速动脉粥样硬化的形成。

#### 4 总结与展望

肌细胞增强因子 2A 是与冠心病有关的致病性基因在人类心血管系统疾病中可能发挥重要作用<sup>[28]</sup>。受 MEF2A 基因调控的基因和蛋白可能成为新治疗手段及新药的靶标。MEF2A 对冠心病的影响机制尚不清楚, 它可能涉及多个环节, 需要更进一步的研究。MEF2A 突变引起的蛋白表达和基因的改变机制仍不是十分清楚, 不同类型的 MEF2A 突变与冠心病的关系如何也急需阐明。MEF2A 突变是否在体外能影响动脉粥样硬化的发生, 暂无此方面报道。故今后可着重于建立动物或细胞模型来验证 MEF2A 对动脉粥样硬化的影响程度及其机制。

#### [参考文献]

- [1] Greenland P, Knoll MD, Stamler J, et al. Major risk factors as antecedents of fatal and nonfatal coronary heart disease events [J]. *JAMA*, 2003, **290** (7): 891-897.
- [2] Lusis AJ, Mar R, Pajukanta P. Genetics of atherosclerosis [J]. *Annu Rev Genomics Hum Genet*, 2004, **5**: 189-218.
- [3] Smith JD, Topol EJ. Identification of atherosclerosis-modifying genes: pathogenic insights and therapeutic potential [J]. *Expert Rev Cardiovasc Ther*, 2006, **4** (5): 703-709.
- [4] Hobson GM, Krahe R, Garcia E, et al. Regional chromosomal assignments for four members of the MADS domain transcription enhancer factor 2 (MEF2) gene family to human chromosomes 15q26, 19p12, 5q14, and 1q12-q23 [J]. *Genomics*, 1995, **29** (3): 704-711.
- [5] 张文伟, 徐列明. 转录因子 MEF2 对多种信号通路的调节及其生物学作用 [J]. *中国生物化学与分子生物学报*, 2004, **20** (4): 423-427.
- [6] Karamboulas C, Dakubo GD, Liu J, et al. Disruption of MEF2 activity in cardiomyoblasts inhibits cardiomyogenesis [J]. *J Cell Sci*, 2006, **119** (Pt 20): 4 315-321.
- [7] Wang YX, Qian LX, Liu D, et al. Bone morphogenetic protein 2 acts upstream of myocyte-specific enhancer factor 2a to control embryonic cardiac contractility [J]. *Cardiovasc Res*, 2007, **74** (2): 290-303.
- [8] Wang L, Fan C, Topol SE, et al. Mutation of MEF2A in an inherited disorder with features of coronary artery disease [J]. *Science*, 2003, **302** (5650): 1 578-581.
- [9] Bhagavatula MR, Fan C, Shen CQ, et al. Transcription factor MEF2A mutations in patients with coronary artery disease [J]. *Hum Mol Genet*, 2004, **13** (24): 3 181-188.
- [10] Weng L, Kavaslar N, Ustaszewska A, et al. Lack of MEF2A mutations in coronary artery disease [J]. *J Clin Invest*, 2005, **115** (4): 1 016-020.
- [11] Gonzalez P, Garcia-Castro M, Reguero JR, et al. The Pro279Leu variant in the transcription factor MEF2A is associated with myocardial infarction [J]. *J Med Genet*, 2006, **43** (2): 167-169.
- [12] Lieb W, Mayer B, König IR, et al. Lack of association between the MEF2A gene and myocardial infarction [J]. *Circulation*, 2008, **117** (2): 185-191.
- [13] Kajimoto K, Shioji K, Tago N, et al. Assessment of MEF2A mutations in myocardial infarction in Japanese patients [J]. *Circ J*, 2005, **69** (10): 1 192-195.
- [14] Horan PG, Allen AR, Hughes AE, et al. Lack of MEF2A Delta7aa mutation in Irish families with early onset ischaemic heart disease, a family based study [J]. *BMC Med Genet*, 2006, **7**: 65.
- [15] 袁洪, 阎宏伟, 胡靖, 等. 中国人群 MEF2A 基因与冠状动脉疾病的易感性 [J]. *中南大学学报 (医学版)*, 2006, **31** (4): 453-457.
- [16] 李婧, 杨钧国, 陈汉想, 等. 冠状动脉粥样硬化性心脏病新致病基因 MEF2A 第 7 号外显子突变的检测 [J]. *中国临床康复*, 2006, **10** (24): 72-74.
- [17] Han Y, Yang Y, Zhang X, et al. Relationship of the CAG repeat polymorphism of the MEF2A gene and coronary artery disease in a Chinese population [J]. *Clin Chem Lab Med*, 2007, **45** (8): 987-992.
- [18] 周晓阳, 何青, 戴大鹏, 等. 北京市汉族人群 MEF2A 基因第 7 号外显子突变的检测及其意义 [J]. *中华老年医学杂志*, 2006, **25** (9): 651-655.
- [19] 肖尧, 何青, 戴大鹏, 等. 我国汉族人群 MEF2A 基因多态性位点的检测及其与冠状动脉粥样硬化性心脏病相关性的研究 [J]. *中华检验医学杂志*, 2006, **29** (11): 975-979.
- [20] Tabas I, Williams KJ, Born J. Subendothelial lipoprotein retention as the initiating process in atherosclerosis: update and therapeutic implications [J]. *Circulation*, 2007, **116** (16): 1 832-844.
- [21] Naya FJ, Black BL, Wu H, et al. Mitochondrial deficiency and cardiac sudden death in mice lacking the MEF2A transcription factor [J]. *Nature Med*, 2002, **8** (11): 1 303-309.
- [22] Suzuki E, Satonaka H, Nishimatsu H, et al. Myocyte enhancer factor 2 mediates vascular inflammation via the p38-dependent pathway [J]. *Circ Res*, 2004, **95** (1): 42-49.
- [23] 姜勇, 龚小卫. MAPK 信号转导通路对炎症反应的调控 [J]. *生理学报*, 2000, **52** (4): 267-271.
- [24] Olson EN. Undermining the endothelium by ablation of MAPK-MEF2 signaling [J]. *J Clin Invest*, 2004, **113** (8): 1 110-112.
- [25] Ramachandran B, Yu G, Gulick T. Nuclear respiratory factor 1 controls myocyte enhancer factor 2A transcription to provide a mechanism for coordinate expression of respiratory chain subunits [J]. *J Biol Chem*, 2008, [Epub ahead of print].
- [26] van Oort RJ, van Rooij E, Bourajaj M, et al. MEF2 activates a genetic program promoting chamber dilation and contractile dysfunction in calcineurin-induced heart failure [J]. *Circulation*, 2006, **114** (4): 298-308.
- [27] Zhao M, Liu Y, Bao M, et al. Vascular smooth muscle cell proliferation requires both p38 and BMK1 MAP kinases [J]. *Arch Biochem Biophys*, 2002, **400** (2): 199-207.
- [28] Altshuler D, Hirschhorn JN. MEF2A sequence variants and coronary artery disease: a change of heart [J]. *J Clin Invest*, 2005, **115** (4): 831-833.

(此文编辑 陈临溪, 文玉珊)