

尾加压素 II 与心肌纤维化关系的研究进展

程 兰¹, 黎连杰², 杨 絮¹, 张勇刚¹

(1. 汕头大学医学院附属第二医院心内科, 广东省汕头市 515041; 2. 福州总医院神经外科, 福建省福州市 350025)

[关键词] 尾加压素 II; 心肌纤维化; 信号转导通路

[摘要] 尾加压素 II (urotensin II, U II) 是一种强力缩血管活性肽, 具有广泛的生物学功能。近年发现, 在多种组织器官纤维化的过程中, U II 及其受体 UT 表达上调, 参与了组织器官纤维化的发生发展。U II 参与心肌纤维化发生发展的机制十分复杂, 涉及多个信号转导通路。文章重点就 U II 与心肌纤维化的关系及其相关信号转导机制的研究进展做一简要综述。

[中图分类号] R5

[文献标识码] A

Research progress of relationship between Urotensin II and myocardial fibrosis

CHENG Lan, LI Lian-Jie, YANG Xu, ZHANG Yong-Gang

(Department of Cardiovascular Diseases, the Second Affiliated Hospital of Medical College, Shantou University, Shantou, Guangdong 515041, China)

[KEY WORDS] Urotensin II; Myocardial fibrosis; Signaling pathway

[ABSTRACT] Urotensin II is a kind of potent cyclic neuropeptide and has a series of biomedical functions. Recent studies have identified that the upregulation of urotensin II and UT are involved in the process of organ fibrosis. The mechanisms of U II effects are complicated and a number of signaling pathways activated by urotensin II are related to myocardial fibrosis. This study reviewed the physiological and pathophysiological effects of urotensin II involved in organ fibrosis, focusing on the correlation between urotensin II and the concerned signaling pathways on myocardial fibrosis.

尾加压素 II (urotensin II, U II) 最早是从鱼尾垂体中提取出的一种神经环肽。1998 年, Coulouarn 等^[1]首次从人体克隆出 U II。进一步研究发现, U II 主要分布在心肌组织, 以及血管组织、神经组织 (包括脑组织、脊髓)、肾组织及内分泌系统^[2]。Vaudry 等^[3]证实 U II 通过激活其特异性受体, 即孤儿 G 蛋白偶联受体 (G-protein-coupled receptor-14, GPR14) 发挥作用, 后来该受体被命名为 UT。在哺乳动物体内, UT 基因在心肌、动脉血管组织、中枢神经系统、肾脏、肺等组织广泛表达。大量研究发现, U II 具有多种生物学效应, 如血管收缩效应、促血管平滑肌细胞增殖作用、促进胶原合成作用以及内分泌及代谢调节等效应^[4]。近年发现, U II 作为一种促丝裂原能够促进血管平滑肌细胞和心肌成纤维细胞 (cardiac fibroblasts, CF) 在内的多种细胞增殖和胶原合成作用^[5], 同时, 在高血压、糖尿病、心力

衰竭等各种实验动物模型及人体中发现 U II 及 UT 表达上调^[6]。U II/UT 系统与心肌纤维化的发生发展密切相关, 其详细的信号分子机制仍未完全阐明。针对其涉及的相关信号转导通路及阻断剂的研究, 对于心肌纤维化的防治具有重要的意义。现就 U II 在心肌纤维化中的作用, 及目前所涉及最新的相关信号转导通路作一综述。

1 心肌纤维化的病理生理

心肌纤维化是指在慢性疾病及各种致纤维化因素的作用下^[7], 心脏组织进行功能修复失控所导致的细胞外基质的过度沉积引起器官结构异常和功能失代偿的病理状态^[8]。纤维化过程大致可以分为 4 个阶段: 早期损伤反应阶段、效应细胞活化阶段、基质过度沉积以及失代偿致器官功能衰竭阶

[收稿日期] 2017-11-03

[修回日期] 2017-12-14

[基金项目] 国家自然科学基金面上项目 (81270223) 资助

[作者简介] 程兰, 硕士研究生, 研究方向为心血管病基础与临床, E-mail 为 1157202624@qq.com。通讯作者张勇刚, 主任医师, 博士研究生导师, 研究方向为心血管病基础与临床, E-mail 为 zhangyg8686@hotmail.com。

段^[9]。多种心血管活性因子和旁/自分泌因子参与了器官纤维化的发生,常见的致纤维化因子有转化生长因子 β (transforming growth factor- β , TGF- β)、结缔组织生长因子、血小板源生长因子、血管紧张素 II (angiotensin II, Ang II)、内皮素等^[10-14],目前证实 U II 是一种新的致纤维化因子^[15]。

2 U II 与心肌纤维化

U II 具有促丝裂原作用,可以促进心肌成纤维细胞增殖及胶原合成。心肌成纤维细胞作为心肌间质的主要细胞,与心肌纤维化的发生密切相关。早期研究发现,在异丙肾上腺素处理复制的大鼠心肌纤维化模型中,U II mRNA 及蛋白表达明显增加^[16]。在体外低氧条件下培养的心肌成纤维细胞,可以通过 Ang II 介导经 JNK 通路使心肌成纤维细胞中 U II 表达增加,同时促进心肌成纤维细胞的增殖与胶原合成,选择性 U II 受体拮抗剂 SP600125 可以明显抑制该效应^[17],Chiu 等^[18]在不同浓度低氧条件下培养的新生小鼠心肌细胞中发现,心肌细胞内 U II mRNA 和蛋白表达增加,并出现心肌纤维化,低浓度的特异性 U II 受体阻断剂 KR36676 可以抑制心肌纤维化的发生^[19],提示 U II/UT 系统与心肌纤维化密切相关。另外,基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinase, MMP)可以降解基质^[20],同时受到组织型基质金属蛋白酶抑制剂(tissue inhibited matrix metalloproteinase, TIMP)以及细胞因子调控,MMP/TIMP 适当比例是维持心肌胶原纤维及心脏正常结构的重要因素,U II 可以促进 MMP 的分泌,同时抑制 TIMP 的表达^[21]。提示 U II 可以间接通过改变心肌细胞外基质微环境诱导心肌纤维化的发生,近年我们课题组发现,U II 还可参与糖尿病心肌病心肌纤维化的发生和发展,此外 U II 还能够通过促进心肌微血管内皮发生内质网应激引起内皮细胞间质转化,促进心肌纤维化的发生。

3 U II 参与心肌纤维化作用的细胞内信号转导机制

3.1 TGF- β 1 相关通路

在哺乳动物中 TGF- β 超家族包含 33 个结构相似、功能相关的多肽生长因子,TGF- β 是其家庭成员之一,其它还包括活化素、生长分化因子和骨形成蛋白等^[22]。它是细胞外基质中参与调节的重要因子,并参与维持细胞内环境稳定,其信号转导通路

的失调将会引起肿瘤、自身免疫性疾病、器官纤维化以及心血管疾病的发生。

Smad 蛋白是目前发现的 TGF- β 超家族下游信号分子,作为 TGF- β 1 的底物,Smad2/3 主要与其受体结合通过 TGF- β 1 等信号转导通路与 Smad 核相关 DNA 序列结合,增加促纤维化因子如纤维连接蛋白、I 型胶原和结缔组织生长因子(connective tissue growth factor, CTGF)的基因转录。近年报道,U II 可通过 TGF- β 1-Smad2/3 相关通路促进血管平滑肌细胞的胶原合成增加,导致血管纤维化的发生^[5],该效应可以被 TGF- β 1 特异性抗体所阻断,提示 U II 可通过 TGF- β 1 相关通路参与血管纤维化的形成。已知心肌成纤维细胞作为诱导心肌纤维化的主要细胞,体外培养的心肌成纤维细胞在不同浓度 U II 处理后,组织细胞培养上清液中 TGF- β 1 含量明显增加,心肌成纤维细胞增殖明显,同时 I 型和 III 型胶原含量明显增加,继续加入 U II 特异性受体拮抗剂 SB-611812,可以明显抑制 U II 介导心肌成纤维细胞增殖及胶原合成^[23],提示 U II 可能通过 TGF- β 1 相关通路介导心肌成纤维细胞参与心肌纤维化的发生。王丹等^[16]在体外培养的小鼠肾脏近曲小管上皮细胞中发现,U II 呈浓度依赖性促进 TGF- β 1 的 mRNA 和蛋白质,以及纤维连接蛋白和 IV 型胶原的表达。该实验室前期还发现在小鼠糖尿病模型中,U II 与 GPR14 的 mRNA 和蛋白质表达明显增加,同时伴 TGF- β 1 及纤维连接蛋白和 IV 型胶原表达上调,用 siRNA 干扰 GPR14,可以明显抑制 U II 诱导 TGF- β 1 的产生,提示 U II/GPR14 可能通过 TGF- β 1 相关通路介导肾纤维化的发生。以上研究证实,U II/GPR14 在器官纤维化的发生发展中可能扮演重要角色,然而其具体相关通路仍有待进一步研究。

3.2 RhoA/Rock 激酶通路

RhoA 是一种 5'-三磷酸鸟苷酸结合蛋白,属于 Ras 超家族成员之一。Rock 蛋白是 RhoA 蛋白的下游信号转导分子,有 ROCK1 和 ROCK2 两种不同亚型,ROCK1 主要通过诱导心肌成纤维细胞分化及心肌细胞凋亡引起心肌纤维化,ROCK2 的作用主要引起心肌细胞肥大导致心肌重塑^[24]。RhoA/Rock 激酶通路是细胞内重要的信号转导通路,与多种心血管疾病如心肌肥大、心肌纤维化、心肌缺血再灌注损伤等的发病机制密切相关。大量研究证实,促纤维化因子如 MMP、白细胞介素 6 (interleukin-6, IL-6)、单核细胞趋化蛋白 1 (monocyte chemotactic protein 1, MCP-1) 等均可以激活 RhoA/Rock 激酶通路诱导器官纤维化发生,使用 RhoA 激酶特异性抑

制剂可以抑制心肌纤维化发生。另外,ROCK1 可以增加 MMP、IL-6、MCP-1 等分泌,同时活化的 ROCK1 被认为是一种促纤维化的细胞因子^[25]。在正常小鼠上,长期持续泵注高剂量 U II,能够活化 RhoA/Rock 激酶通路,诱导心肌成纤维细胞中胶原的合成和心肌细胞中蛋白质合成,GSK-576371 作为 Rock 蛋白抑制剂可以明显抑制 U II 诱导的左心室心肌纤维化的发生,改善左心室舒张功能^[26]。在心肌缺血再灌注小鼠模型中发现,U II 受体表达明显上调,同时 U II 可以通过活化 RhoA/Rock 激酶通路,促进胶原合成和心肌纤维化的发生,其受体阻断剂 SB710411 可阻断 U II 诱导的心肌纤维化的发生^[27]。

3.3 cAMP-PKA/ERK 通路

U II 是一种促丝裂原,可以促进包括心肌成纤维细胞、心肌细胞以及血管平滑肌细胞等多种细胞的增殖作用^[28]。其相关信号转导通路与 Ca^{2+} 、PKC、PKA、ERK 等有关。ERK 为细胞外调节蛋白激酶,作为 U II 下游信号分子,参与 U II 介导的器官纤维化的病理生理过程。在体外培养的乳鼠心肌成纤维细胞上,U II 呈浓度依赖性促进胶原合成、激活 ERK1/2 信号分子^[29]。同时 U II 可以通过磷酸化激活 ERK,促使心肌成纤维细胞产生活性氧 (ROS),诱导心肌成纤维细胞分化增殖,导致心肌纤维化发生^[30]。另外,有学者在新生小鼠心肌成纤维细胞上,发现 U II 可以通过 ERK1/2 依赖性和 ERK1/2 非依赖性 TGF- β 1 途径以浓度与时间依赖性方式介导 I 型和 III 型胶原 mRNA 合成^[31]。Zhao 等^[5]用 ERK 抑制剂 PD98059 可以明显抑制 U II 诱导血管平滑肌细胞 TGF- β 1-Smad2/3 以及 I 型胶原 mRNA 和蛋白的表达。以上研究表明,U II 可能通过 ERK 相关通路介导器官纤维化的发生。另外,通过结扎大鼠腹主动脉建立大鼠慢性压力超负荷动物模型,可以观察到大鼠体内 U II 以及受体表达增加,并促使心肌成纤维细胞分泌 I 型和 III 胶原含量增加,使用 U II 受体阻断剂 SB611812 或者 PKA 特异性抑制剂 KT5720 均可以明显抑制心肌成纤维细胞增殖及 I 型和 III 型胶原蛋白的表达,显著改善实验动物的心功能,表明 U II 促进心肌成纤维细胞增殖以及分泌 I 型和 III 型胶原与心肌纤维化密切相关,此外,cAMP/PKA 相关通路也可能参与了 U II 促进心肌纤维化的过程^[32]。对于 U II 参与器官纤维化具体信号通路,仍有待进一步阐明。

3.4 其他相关通路

近来,U II 介导心肌纤维化的作用及其机制备

受关注。研究表明 γ -分泌酶抑制剂 (DAPT) 可以通过抑制 Notch 信号通路对 U II 诱导的心肌成纤维细胞增殖及胶原合成具有明显抑制作用,同时可以调节 MMP-1/TIMP-1 平衡,抑制心肌纤维化,提示 U II 可能通过 Notch 信号通路介导心肌纤维化^[33]。

4 小结与展望

综上所述,心肌纤维化的持续进展最终可导致实质器官结构破坏和功能衰竭。近来虽然已经有很多基础研究涉及心肌纤维化的病因及其相关机制,但是心肌纤维化发生发展的确切机制仍未被完全阐明,目前临床上仍没有具体的治疗和预防心肌纤维化的药物。U II 作为一种活性肽在心肌纤维化的发病过程中扮演着重要角色,因此,深入研究 U II 参与心肌纤维化的发生发展机制,有可能为临床防治心肌纤维化提供新的思路和新的靶点。

[参考文献]

- [1] Coulouarn Y, Lihmann I, Jegou S, et al. Cloning of the cDNA encoding the urotensin II precursor in frog and human reveals intense expression of the urotensin II gene in motoneurons of the spinal cord [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1998, 95(26): 15 803-808.
- [2] Castel H, Desrues L, Joubert JE, et al. The G protein-coupled receptor UT of the neuropeptide urotensin II displays structural and functional chemokine features [J]. Front Endocrinol (Lausanne), 2017, 8(4): 76.
- [3] Vaudry H, Leprince J, Chatenet D, et al. International union of basic and clinical pharmacology. XC II. urotensin II, urotensin II-related peptide, and their receptor: from structure to function [J]. Pharmacol Rev, 2015, 67(1): 214-258.
- [4] Remst DF, Blaney Davidson EN, van der Kraan PM, et al. Unravelling osteoarthritis-related synovial fibrosis: a step closer to solving joint stiffness [J]. Rheumatology (Oxford), 2015, 54(11): 1 954-963.
- [5] Zhao J, Ding W, Song N, et al. Urotensin II-induced collagen synthesis in cultured smooth muscle cells from rat aortic media and a possible involvement of transforming growth factor- β 1/Smad2/3 signaling pathway [J]. Regul Pept, 2013, 182(10): 53-58.
- [6] Zemančíková A, Török J. Urotensin II--a newly discovered modulator of cardiovascular functions in vertebrates [J]. Cesk Fysiol, 2013, 62(1): 19-25.
- [7] 姚桐青, 金贤, 沈成兴, 等. 炎症细胞在心肌纤维化中的作用 [J]. 中国动脉硬化杂志, 2015, 23(12): 1 287-290.

- [8] Zeisberg M, Kalluri R. Cellular mechanisms of tissue fibrosis. 1. Common and organ-specific mechanisms associated with tissue fibrosis [J]. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2013, 304(3): C216-225.
- [9] Rockey DC, Bell PD, Hill JA. Fibrosis--a common pathway to organ injury and failure [J]. *N Engl J Med*, 2015, 372(12): 1138-149.
- [10] Beilfuss A, Sowa JP, Sydor S, et al. Vitamin D counteracts fibrogenic TGF- β signalling in human hepatic stellate cells both receptor-dependently and independently [J]. *Gut*, 2015, 64(5): 791-799.
- [11] Shi C, Li G, Tong Y, et al. Role of CTGF gene promoter methylation in the development of hepatic fibrosis [J]. *Am J Transl Res*, 2016, 8(1): 125-132.
- [12] Gallini R, Lindblom P, Bondjers C, et al. PDGF-A and PDGF-B induces cardiac fibrosis in transgenic mice [J]. *Exp Cell Res*, 2016, 349(2): 282-290.
- [13] Rosin NL, Falkenham A, Sopel MJ, et al. Regulation and role of connective tissue growth factor in Ang II-induced myocardial fibrosis [J]. *Am J Pathol*, 2013, 182(3): 714-726.
- [14] Wermuth PJ, Li Z, Mendoza FA, et al. Stimulation of transforming growth factor- β 1-induced endothelial-to-mesenchymal transition and tissue fibrosis by endothelin-1 (ET-1): a novel profibrotic effect of ET-1 [J]. *PLoS One*, 2016, 11(9): e0161988.
- [15] Pang XX, Bai Q, Wu F, et al. Urotensin II induces ER stress and EMT and increase extracellular matrix production in renal tubular epithelial cell in early diabetic mice [J]. *Kidney Blood Press Res*, 2016, 41(4): 434-449.
- [16] 王丹, 李红, 白云生, 等. 尾加压素 II 对肾间质成纤维细胞的促增殖作用及其机制 [J]. *中国老年学杂志*, 2015(12): 3261-262.
- [17] Shyu KG, Wang BW, Chen WJ, et al. Angiotensin II mediates urotensin II expression by hypoxia in cultured cardiac fibroblast [J]. *Eur J Clin Invest*, 2012, 42(1): 17-26.
- [18] Chiu CZ, Wang BW, Shyu KG. Angiotensin II and the JNK pathway mediate urotensin II expression in response to hypoxia in rat cardiomyocytes [J]. *Endocrinol*, 2014, 220(3): 233-246.
- [19] Oh KS, Lee JH, Yi KY, et al. The orally active urotensin receptor antagonist, KR36676, attenuates cellular and cardiac hypertrophy [J]. *Br J Pharmacol*, 2015, 172(10): 2618-633.
- [20] 杨薪, 刘映峰, 王世祥, 等. 前列地尔对慢性心衰大鼠心肌基质金属蛋白酶表达及纤维化的影响 [J]. *中国动脉硬化杂志*, 2015, 23(3): 266-270.
- [21] Xu SK, Jiang H, Wu B, et al. Urotensin II induces migration of endothelial progenitor cells via activation of the rhoA/Rho kinase pathway [J]. *Tohoku J Exp Med*, 2009, 219(4): 283-288.
- [22] Yan X, Liao H, Cheng M, et al. Smad protein interacts with receptor-regulated smads (R-Smads) to inhibit transforming growth factor- β (TGF- β)/smad signaling [J]. *J Biol Chem*, 2016, 291(1): 382-392.
- [23] 刘文媛, 韩清华, 刘青华. 尾加压素 II 诱导大鼠心肌成纤维细胞增殖及胶原合成的信号转导机制的研究 [J]. *中国现代应用药学*, 2016, 33(7): 862-866.
- [24] Liou JY, Chen YL, Loh SH, et al. Magnolol depresses urotensin-II-induced cell proliferation in rat cardiac fibroblasts [J]. *Clin Exp Pharmacol Physiol*, 2009, 36(7): 711-716.
- [25] Dai HY, He T, Li XL, et al. Urotensin-2 promotes collagen synthesis via ERK1/2-dependent and ERK1/2-independent TGF- β 1 in neonatal cardiac fibroblasts [J]. *Cell Biol Int*, 2011, 35(2): 93-98.
- [26] Tran L, Kompa AR, Kemp W, et al. Chronic urotensin-II infusion induces diastolic dysfunction and enhances collagen production in rats [J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2010, 298(2): 608-613.
- [27] Luo SY, Chen S, Qin YD, et al. Urotensin-II receptor antagonist SB-710411 protects rat heart against ischemia-reperfusion injury via RhoA/ROCK pathway [J]. *PLoS One*, 2016, 11(1): e0146094.
- [28] Kim TH, Lee DG, Kim YA, et al. A novel urotensin II receptor antagonist, KR-36996 inhibits smooth muscle proliferation through ERK/ROS pathway [J]. *Biomol Ther (Seoul)*, 2017, 25(3): 308-314.
- [29] 赵外欧, 李相军, 孙文悦. GBE 抑制 U II 介导的大鼠心肌成纤维细胞 ECM 合成和分泌作用 [J]. *中国实验诊断学*, 2015, 19(9): 1444-447.
- [30] Satoh K, Fukumoto Y, Shimokawa H. Rho-kinase: important new therapeutic target in cardiovascular diseases [J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2011, 301(2): H287-296.
- [31] Yang X, Li Q, Lin X, et al. Mechanism of fibrotic cardiomyopathy in mice expressing truncated Rho-associated coiled-coil protein kinase 1 [J]. *FASEB J*, 2012, 26(5): 2105-116.
- [32] Liu WY, Han QH, Liu QH, et al. An investigation into the expression and mechanism of action of urotensin II in chronic pressure-overloaded rat hearts [J]. *Molecular Medicine Reports*, 2015, 12(5): 6626-634.
- [33] 丁洁, 常煜胤, 李文杰, 等. γ -分泌酶抑制剂干预对大鼠心脏成纤维细胞平滑肌肌动蛋白- α 及 MMP-1/TIMP-1 表达的影响 [J]. *临床心血管病杂志*, 2016, 32(7): 735-738.

(此文编辑 许雪梅)