

肌细胞增强因子 2 在心力衰竭过程中的作用

徐洪英 洪华山*

(福建医科大学附属协和医院心血管内科, 福建省冠心病研究所, 福州 350001)

摘要 心脏在长期过量负荷及神经体液系统过度激活的影响下, 可发生以心肌细胞肥大、心肌纤维排列紊乱、心肌间质细胞增生及胚胎基因再表达增加为主的病理改变, 从而引起心脏泵功能减退、心室扩张、心室肥厚和纤维化, 最终导致心力衰竭。肌细胞增强因子 2 (myocyte enhancer factor 2, MEF2) 是一种特定的转录因子, 其主要功能是促进肌细胞分化过程中的基因转录, 在骨骼肌、心肌、平滑肌的发育过程中起介导细胞分化的作用。近年来的研究发现, 在心力衰竭过程中, MEF2 提供了心室重构信号转导过程中的作用靶点, 可能参与了心室肥厚与心力衰竭的过程。

关键词 肌细胞增强因子 2; 心力衰竭; 信号转导; 重构; 心肌肥厚

心力衰竭是众多心血管疾病发生发展的终末阶段。高血压、心肌梗死、心肌病、内分泌紊乱引起的心肌代谢障碍性疾病等均可以引起心肌细胞肥大、心室肥厚、心室扩张、心肌纤维化, 并最终引起心力衰竭。从分子生物学水平看, 上述病理生理变化是一系列细胞间的信号转导引起核转录因子如激活的 T 细胞核因子(nuclear factor of activated T cells, NFAT)、GATA、肌细胞增强因子 2 (myocyte enhancer factor 2, MEF2) 等的激活, 致使一些胚胎初始基因再活化和应答增强的结果^[1-3]。近年的研究发现, MEF2 可能参与了心脏的病理重构。本文就 MEF2 的分子结构、分型、在心脏发育、心肌肥厚和心力衰竭发生发展过程中的作用做一综述。

1 MEF2 的结构与分型

MEF2 转录因子属于 MADS (MCM1, agamous, deficiens, serum response factor) 超家族成员^[1], 是一种最早在骨骼肌管核中发现的蛋白质, 具有与 DNA 结合的活性, 可与肌肉磷酸激酶基因启动子中丰富的 A/T DNA 序列特异性识别并结合^[2]。在结构上, 不同动物的 MEF2 具有一定的同源性, 即 N 端几乎相同, 都含有一个 MADS 框。MADS 框是一个含有 57 个氨基酸的 DNA 结合区域, 具有高度的保守性。此结构域的前 28 个氨基酸提供了特异的 DNA 结合位点, 而 35~56 位的氨基酸提供了形成二聚体的特异序列, 介导 MADS 框蛋白质的二聚化^[4]。MADS 框直接相邻一个 MEF2 结构域, 此结构域是 MEF2 因子所特有的, 由与 MADS 框邻近的 29 个氨基酸组成, 可以提高其与 DNA 的亲合力和与蛋白质二聚化的能力, 也

提供了 MEF2 与其他辅助因子相互作用的场所。不同动物 MEF2 结构的差异性主要体现在其 C 端转录活性区。此转录活性区域具有多种选择性剪接方式, 很少有同源的氨基酸, 从而形成多种不同类型的 MEF2 基因产物, 因此 MEF2 不仅可以发生同源二聚化也可以发生异源二聚化。到目前为止, 已发现脊椎动物 MEF2 有以下 4 个亚型: MEF2A、MEF2B、MEF2C、MEF2D^[2], 它们在胚胎期或成人组织中的表达具有一定重叠性。

2 MEF2 的转录激活与信号转导通路

MEF2 家族与钙离子依赖性信号通路密切相关。Ca²⁺ 是细胞内信号转导的第二信使, 当其浓度增加时, 可以通过 Ca²⁺ → MAPK → p38 → MEF2、Ca²⁺ → 蛋白激酶 C (protein kinase C, PKC) → MEF2、Ca²⁺ → 钙调磷酸酶(calcineurin, CaM) → NFAT → MEF2 三条通路来进行调节^[4]。

2.1 Ca²⁺ → MAPK → p38 → MEF2 转导途径

MAPK 信号转导通路是细胞中一个重要的信号转导系统, 能增强各类细胞的 MEF2 转录活性。哺乳动物 MAPK 的信号级联放大效应通常分为三条通路: 胞外信号调节激酶(extracellular signal-regulated kinase, ERK)、c-Jun 氨基末端激酶(c-Jun NH₂-terminal kinase, JNK)、p38^[5]。ERK5 可以与 MEF2C 转录区的 Ser387 磷酸化, 使其转录活性增强, 并且可

收稿日期: 2008-04-07 接受日期: 2008-06-26

* 通讯作者。Tel: 0591-83357896-8455, Fax: 0591-83322156, E-mail: honghuashan@hotmail.com

以上调 *c-jun* 基因的转录, 而 *c-jun* 基因对细胞周期有正调控作用, 说明 MEF2 可能参与了细胞增殖的过程^[6]。p38 可以使 MEF2C 的 C 端活性区域中 3 个氨基酸磷酸化而活化, 提高 MEF2C 的转录活性^[7]。MAPK/p38 通路在心肌细胞肥大和骨骼肌分化中发挥重要作用。

2.2 $\text{Ca}^{2+} \rightarrow \text{CaM} \rightarrow \text{NFAT} \rightarrow \text{MEF2}$ 转导途径

MEF2 是 CaM 依赖的 Ca^{2+} 信号通路中的靶因子。钙调磷酸酶是一类通过钙和钙调蛋白结合而激活的丝氨酸/苏氨酸磷酸酶。Pan 等^[8]通过对钙调磷酸酶抑制剂 CsA、FK506, MEF2 阻遏蛋白的干预及 RNA 干扰等多种方法研究证明: 在基因转录过程中, Ca^{2+} 信号经由钙调磷酸酶和 NFAT 介导。NFAT 在钙调磷酸酶去磷酸化后转入细胞核直接与 MEF2A 或 D 结合, 通过招募 p300 与 MEF2 共作用激活 MEF2 转录^[9]。此通路在 T 淋巴细胞凋亡中起重要作用^[8]。

2.3 $\text{Ca}^{2+} \rightarrow \text{PKC} \rightarrow \text{MEF2}$ 转导途径

PKC 是一种广泛存在的丝氨酸/苏氨酸激酶, 根据其催化性质的不同, 可分为三种: 经典型 PKC (cPKC)——依赖于钙, 新型 PKC (nPKC)——不依赖于钙, 不典型 PKC (aPKC)——受脂类激活。不同类型的 PKC 一旦激活, 将转移至不同的亚细胞部位, 通常将这种转位作为 PKC 激活的标志。转位后的 PKC 可以通过激活下游通路中 MAPK 等来提高 MEF2 因子的转录活性, 以调节钙调基因的表达。这与 MEF2 含有大量 PKC 激酶通路中各级信号分子的磷酸化位点密切相关^[10]。

3 MEF2 在心脏发育及冠心病中的作用

MEF2 是心肌细胞特异性基因表达和转录调控的中心因素, 在心脏发育和冠心病发病中发挥着重要的作用。

3.1 MEF2 在心脏发育中的作用

MEF2 家族在人类和鼠心脏胚胎发育过程中的调控作用基本上是相似的。在人、鼠心脏的整个发育阶段, MEF2A、MEF2B、MEF2C、MEF2D 均有不同程度的表达, 且在表达的空间和时间顺序上具有一定的重叠性。不同的是, MEF2B 在人心脏发育的整个阶段表达基本相同, 而在鼠胚胎早期有表达, 在鼠心脏发育的后期表达下降, 提示 MEF2B 对鼠心脏结构与功能的发育有着某种特殊的意义^[11]。MEF2D 在人心脏发育过程中存在特殊的结构变化, 出生后表达的 MEF2D 较胚胎期表达的 MEF2D 多了 b 外显子, 且 MEF2D 的表达随着心脏的发育而上调, 在出生后心

脏发育的调控过程中起主导作用。Morisaki 等^[12]对小鼠心脏发育的研究发现, 鼠 MEF2D 在鼠心脏发育过程中也发生了结构改变, 与人类相似。Zang 等^[13]用免疫印迹及免疫共沉淀的方法, 证明 MEF2C 通过与碱性螺旋-环-螺旋转录因子 dHAND 的相互作用, 调控心肌形成、分化及心脏标志基因 *ANP* 和 α -*MHC* 的表达; 而 MEF2c 缺陷小鼠由于 *ANP*、*MHC* 等心脏特异基因的表达缺陷, 造成胚胎发育过程中血管及心脏发育畸形, 无法存活至成年。心脏发育成熟以后, 特异性去除 MEF2c 基因第 2 外显子对个体心脏的进一步发育没有明显影响^[14], 说明 MEF2C 可能与心脏的正常发育有关, 而对发育成熟的心脏在结构和功能的维持上并没有特殊作用。Naya 等^[15]通过对小鼠心脏 MEF2a 基因剔除的实验研究发现, MEF2a 基因剔除的小鼠出生后多伴有右室明显扩张、心肌纤维断裂、线粒体排列紊乱等病理改变, 大部分动物在 1 周内发生猝死。以上研究结果说明尽管对 MEF2 功能上的差异还不是十分清楚, 但可以推测其在心脏发育中发挥重要作用。

3.2 MEF2 在冠心病发病中的作用

随着对 MEF2 研究的深入, 许多实验都发现 MEF2 基因缺失或表达异常与冠心病发病有关。美国克里夫兰研究所对一冠心病家族的研究发现, MEF2a 基因上存在一处 21 个碱基的缺失。Weng 等^[16]研究了 300 例美国冠心病患者和 300 例正常人群 MEF2a 基因外显子, 并未发现 21 个碱基的致病缺失突变。Kajimoto 等^[17]以 379 例日本心肌梗死患者及 589 例正常人群为研究对象, 通过对 MEF2a 基因 11 个外显子的测序分析, 认为 MEF2a 基因多态性与日本人群心肌梗死的发生没有相关关系。而 Horan 等^[18]则研究了 1 494 名爱尔兰缺血性心肌病患者, 通过 PCR 基因扩增等方法检测到 21 个碱基的缺失, 但认为此并非冠心病的致病缺失突变。Wang 等^[19]通过对冠心病散发人群 MEF2a 基因的研究发现, 在 MEF2a 基因第 7 外显子上存在 3 种致病的点突变 (N263S, P279L, G283D), 考虑 MEF2a 基因与冠心病发病相关。而 González 等^[20]、李婧等^[21]对冠心病患者的研究则未发现在 MEF2a 第 7 外显子处有任何形式的突变。Yuan 等^[22]通过 PCR 及单链构象多态性技术对 MEF2a 的 11 个外显子的测序分析, 认为 MEF2a 第 11 个外显子的三核苷酸重复多态性结构即 (CAG)_n 与中国冠心病患者发病有关, Han 等^[23]通过基因组学及遗传学方法对果蝇肌肉发育的研究发现 MEF2a 基因 11 外显子 (CAG)_n 是冠心病

发病的独立预测因子。而 Lieb 等^[24]研究了大量冠心病散发人群及冠心病家族患者 *MEF2a* 外显子中 (CAG)_n 及 P279L 突变, 认为两者与冠心病发病无关。以上结果均表明 *MEF2a* 基因可能与冠心病发病有一定的联系, 而这也成为学者关注的热点。

4 MEF2在心力衰竭发生发展中的作用

研究表明 *MEF2* 家族与心肌肥厚及心力衰竭的发病机制有一定关系^[1,24]。心肌细胞在长期压力负荷的作用下将发生以心肌肥厚为主的病理改变。这个过程大致可分为两个阶段: 以心肌细胞生理性肥大为主、不伴有心功能的下降的代偿期; 以病理性肥大为主、伴有心功能下降的失代偿期。Zhang 等^[25]通过对转基因小鼠心肌中钙调磷酸激酶 II (calmodulin-dependent protein kinase II, CaMK II) 表达的研究, 认为不同亚型钙调磷酸激酶 II 均可以使 *MEF2* 的表达增强, 并激活一些细胞肥大标记基因, 最终导致心肌肥厚的发生。*MEF2a* 或者 *MEF2c* 过表达的转基因小鼠都伴有心肌肥厚的发生。Zhang 等^[26]通过对心肌肥厚过程中 II 型组氨酸脱乙酰基酶(histone deacetylases, HDACs)的研究发现, HDACs 可以与 *MEF2* 结合, 通过抑制 *MEF2* 的活性而抑制心肌细胞的进一步增生与肥大, 这也为通过改变 HDACs 的活性来抑制心肌肥厚的病理过程提供了一个新的研究靶点。*MEF2* 在心肌代谢中发挥重要的作用, 主要包括调整脂肪酸的氧化、维持线粒体的功能。Naya 等^[15]发现 *MEF2a* 基因剔除小鼠由于改变了细胞色素 *c* 氧化酶的活性而导致线粒体数目减少及结构紊乱, 最终引起心力衰竭。van Oort 等^[27]通过研究 Ca/CaM 诱导的心衰小鼠在 *MEF2c*、*MEF2a* 无效突变时的病理改变, 发现 *MEF2* 可以调节某些心肌细胞特异性基因的表达而影响细胞核转位、细胞骨架的重塑和线粒体网状结构的完整性, 造成心脏管腔扩张、增生和心肌收缩功能异常, 最终发生心力衰竭。Gao 等^[28]通过对犬类心动过速诱导的心衰模型的研究发现, *MEF2a* 基因在正常心脏中呈现对称性表达, 但发生心力衰竭后, *MEF2a* 在左心室的表达下调, 说明 *MEF2A* 可能与心肌细胞的代偿性肥大有关。以上研究表明, *MEF2* 可以通过影响心肌细胞代谢、影响信号转导通路、改变基因表达等多种途径参与心肌肥厚及心力衰竭的

病理生理过程。

5 目前存在的问题和研究方向

近年来对 *MEF2* 的研究已经取得了较多成果, 但主要集中在分子生物学水平及信号转导通路等基础研究上, 对其在临床疾病发病机制及进展过程等方面的研究相对较少。目前的研究发现 *MEF2* 与多种心脏疾病的发病如冠心病、心力衰竭等有关, 但具体机制尚不明确, 需要进一步的深入研究。另外, Wang 等^[29]通过对肝星状细胞的研究发现 *MEF2* 可以通过与肝星状细胞的作用而参与了肝脏纤维化的过程。Kim 等^[1]的研究发现, *MEF2D* 与心肌纤维化过程有关。在压力负荷所致心肌改变过程中, *MEF2d* 基因缺失小鼠心肌纤维化程度较正常小鼠明显减轻。以上研究成果为减轻或延缓心肌纤维化、逆转心室重构提供了新的研究方向。

参考文献(References)

- [1] Kim Y et al. *J Clin Invest*, 2008, **118**: 124
- [2] Frey N et al. *Annu Rev Physiol*, 2003, **65**: 45
- [3] McKinsey TA et al. *J Clin Invest*, 2005, **115**: 538
- [4] Black BL et al. *Annu Rev Cell Dev Biol*, 1998, **14**: 167
- [5] Barsyte-Lovejoy D et al. *Biochem J*, 2004, **381**: 693
- [6] Ramachanran B et al. *J Biol Chem*, 2008, **283**: 10318
- [7] Smith JAH et al. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2007, **292**: E413
- [8] Pan F et al. *J Biol Chem*, 2004, **279**: 14477
- [9] Ma K et al. *Mol Cell Biol*, 2005, **25**: 3575
- [10] Ellmers LJ et al. *J Mol Endocrinol*, 2007, **38**: 245
- [11] Iida K et al. *Tohoku J Exp Med*, 1999, **187**: 15
- [12] Morisaki T et al. *J Biochem*, 1997, **122**: 939
- [13] Zang MX et al. *J Cell Biochem*, 2004, **93**: 1255
- [14] Vong LH et al. *Genesis*, 2005, **43**: 43
- [15] Naya FJ et al. *Nat Med*, 2002, **8**: 1303
- [16] Weng L et al. *J Clin Invest*, 2005, **115**: 1016
- [17] Kajimoto K et al. *Circ J*, 2005, **69**: 1192
- [18] Horan PG et al. *BMC Med Genet*, 2006, **7**: 65
- [19] Wang Q et al. *J Clin Invest*, 2005, **115**: 1399
- [20] González P et al. *J Med Genet*, 2006, **43**: 167
- [21] 李婧等. *中华医学遗传学杂志*, 2006, **23**: 265
- [22] Yuan H et al. *Zhong Nan Da Xue Bao Yi Xue Ban*, 2006, **31**: 453
- [23] Han Y et al. *Clin Chem Lab Med*, 2007, **45**: 987
- [24] Lieb W et al. *Circulation*, 2008, **117**: 185
- [25] Zhang T et al. *J Biol Chem*, 2007, **282**: 35078
- [26] Zhang CL et al. *Cell*, 2002, **110**: 479
- [27] van Oort RJ et al. *Circulation*, 2006, **114**: 298
- [28] Gao Z et al. *J Mol Cell Cardiol*, 2006, **40**: 76
- [29] Wang X et al. *Gastroenterology*, 2004, **127**: 1174

The Effects of Myocyte Enhancer Factor 2 on the Process of Heart Failure

Hong-Ying Xu, Hua-Shan Hong*

*(Department of Cardiology, Fujian Institute of Coronary Heart Disease,
Union Hospital of Fujian Medical University, Fuzhou 350001, China)*

Abstract Many factors such as long time of workload or excessive neurohumoral signaling system, can activate a pathological response characterized by hypertrophic growth of cardiomyocytes, rearrangement of myocyte, increased deposition of extracellular matrix (ECM) proteins and reactivation of fetal cardiac genes. All the above abnormalities will cause pump dysfunction, chamber dilation, myocyte hypertrophy and myocardial fibrosis in the heart and therefore lead to heart failure gradually. MEF2 are specific transcription factors, of which the main function is to control the transcription of genes in muscle differentiation, therefore mediate differentiation during the development of skeletal, cardiac and smooth muscle. Recently, MEF2 are shown to participate in the process of myocyte hypertrophy and heart failure, and may provide a new target for the signal pathways during cardiac remodeling.

Key words MEF2; heart failure; signal transduction; remodeling; hypertropic

Received: April 7, 2008 Accepted: June 26, 2008

*Corresponding author. Tel: 86-591-83357896-8455, Fax: 86-591-83322156, E-mail: honghuashan@hotmail.com