

· 综 述 · doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2015.22.048

慢性阻塞性肺疾病骨骼肌萎缩中泛素蛋白酶系统与缺氧的研究*

谭粟川 综述,戴路明[△] 审校

(昆明医科大学第一附属医院呼吸二科,昆明 650032)

[关键词] 肺疾病,慢性阻塞性;肌,骨骼;萎缩;泛素蛋白酶系统;组织缺氧

[中图分类号] R563.3

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-8348(2015)22-3141-03

慢性阻塞性肺疾病(COPD)作为一种系统性疾病,近年来受到更多关注的是它重要的临床肺外表现。骨骼肌萎缩及无力不仅造成运动能力的下降、健康情况的恶化,在除外气道梗阻的因素下,它也是 COPD 患者病死率的决定因素。在肌肉质量的调节中,泛素蛋白酶系统起到主导作用^[1]。从病因学上废用性因素、感染、氧化应激、低氧血症、高碳酸血症、低水平的激素合成和生长因子、能量平衡受损、激素的使用、缺乏维生素 D 均可造成 COPD 患者的肌无力及肌萎缩^[2]。肌肉组织的动态平衡是通过蛋白合成及蛋白分解之间紧密及复杂的平衡关系来维持的。在分子水平上,泛素蛋白酶体系统的激活无疑是控制蛋白水解的主要途径^[1]。早在 2005 年便有人发现在缺氧的癌症恶病质患者身上泛素蛋白酶体是造成骨骼肌蛋白降解的主要途径,Chaudhary 等^[3]在 2011 年发现慢性缺氧条件下小鼠骨骼肌中的泛素蛋白酶途径被进一步加强导致更强的蛋白分解出现。

1 泛素蛋白酶体系统

泛素是由 76 个残基组成的能特异连接到蛋白上的一组短肽^[4]。泛素蛋白酶系统是一个腺嘌呤核苷三磷酸(ATP)依赖的蛋白水解途径,主要降解细胞内及细胞膜的蛋白质。这个系统非常复杂,由一系列高级有机级联酶促反应形成,它能选择、标记、分解蛋白。被泛素蛋白酶系统分解的蛋白首先需要通过与泛素的共价连接来修饰。泛素和蛋白底物之间的共价结合需要一系列的步骤来完成:首先,一个泛素激活酶(E1)利用 ATP 与泛素羧基末端的甘氨酸形成一个 E1 泛素硫酯加合物。单独的 E1 酶在哺乳类动物细胞中起到泛素激活的作用。泛素激活后,E2 泛素运载蛋白家族的成员(也叫泛素共价连接酶)将激活的泛素转移至蛋白底物上。E3 泛素蛋白连接酶家族中也有许多参与共价连接的过程。不同的 E3 泛素连接酶为泛素化过程提供选择性,它们作为对接蛋白把底物蛋白与 E2 载体蛋白和激活的泛素连接在一起^[5]。在一些情况下,辅助蛋白需要和 E3 泛素连接酶相互作用来完成泛素共价结合。因结构的相似性、功能的分级及底物的识别,这类 E3 泛素连接酶被分为 3 个群组:HECT 域泛素连接酶、单亚基环泛素连接酶、多亚基环泛素连接酶。靶蛋白成功泛素化后,这些 E3 连接酶在 ATP 依赖过程中便展开并插入到 26S 蛋白酶体中,26S 的蛋白酶体由一个 20S 催化核心及数个 19S 调节帽组成。20S 蛋白酶体的蛋白水解活性是由糜蛋白酶样、胰蛋白酶样及胰凝乳蛋白酶样活性组成。蛋白酶体把标记蛋白切割成短寡肽,由胞质内的肽酶进行进一步的降解,而泛素则被分离和回收^[5]。

2 泛素 E3 连接酶

在这些不同的 E3 酶中,只有少部分能调节肌肉萎缩过程及在萎缩的肌肉中能被诱导转录^[6]。Atrogin-1/MAFbx、MuRF-1(muscle-specific RING finger protein 1),以及 Nedd4(neuronal precursor cell-expressed developmentally down-regulated 4)是调节泛素介导的蛋白水解过程的关键酶,他们从外伤性去神经支配到慢性代谢疾病的骨骼肌萎缩小鼠模型身上均有不同程度的上调^[1]。有足够的证据证明在患有 COPD 的患者身上,泛素蛋白酶系统活性加强并可致肌肉萎缩^[7]。Lemire 等^[7]发现患有骨骼肌萎缩的 COPD 患者体内肌肉萎缩调节因子 atrogin-1 和 MuRF-1 均表现较高水平。与增高的蛋白酶体活性一样,升高的 MAFbx(atrogin-1)和 MuRF-1 的 mRNA 水平是肌肉萎缩的有力分子标志。Nedd4-1 则被报道在废用性骨骼肌萎缩中出现上调。在肌肉组织中特异性缺失 Nedd4-1 后,在去神经支配 II 型神经纤维模型里可避免肌肉的萎缩。然而,Nedd4-1 基因敲除小鼠却有相比更小的肌肉组织,所以推断 Nedd4-1 在肌肉再生及蛋白合成的控制中起到其他的作用^[8]。

这些肌肉特异 E3 连接酶的激活被许多不同的途径所控制^[2]。(1)MuRF-1 和 atrogin-1 的核转录能被磷酸化后的叉头盒子 O(the forkhead box O,FOXO)族增强,也能被蛋白激酶 B(AKT)所灭活^[9],相反,AKT 活性抑制及 FOXOs 磷酸化后的 FOXOs 核转位能诱导 MuRF-1 和 atrogin-1 的产生;(2)促炎细胞因子能激活核因子- κ B(nuclear factor- κ B,NF- κ B),而 NF- κ B 能反之激活 MuRF-1^[10];(3)促分裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase,MAPK)途径已经证实涉及泛素蛋白酶体途径的激活,以及细胞和小鼠肌肉萎缩模型中恶病质过程的启动^[11]。p38 MAPK 在所有 MAPK 家族中备受关注,因为它不仅能刺激肌肉特异 E3 连接酶,同时它的抑制作用还能防止肌肉萎缩^[11]。在肌肉质量的调节过程中,肌肉生成抑制素(myostatin)对肌肉质量有负作用,它可以通过抑制 AKT 激酶活性来阻断肌肉生长^[12],或通过阻断肌源性分化因子 D(myogenic differentiation factor D,MyoD)来抑制卫星细胞的复制和分化^[13],抑制素同样能通过增加 FOXO-1 的转录活性来加强蛋白酶体依赖的收缩蛋白的降解^[14]。

3 缺氧介导的骨骼肌萎缩

缺氧是 COPD 患者的常见表现,缺氧能抑制肌肉调节蛋白的表达并能激活 NF- κ B 途径^[15]。Leite Rodrigues 等^[16]发现氧分压(PaO₂)对肌肉功能的变量有着密切的关系,低氧血症对 COPD 患者早期骨骼肌无力的负面作用便是降低功能能

力。在 COPD 患者的骨骼肌组织中,缺氧是一个推动变化的因子^[17]。在缺氧的条件下,动物和人类的肌肉质量均有所下降。拥有低水平的动脉血氧水平或下降的氧气弥散水平的 COPD 患者体质量要比那些指标正常的 COPD 患者体质量要轻^[2]。Caron 等^[18]发现,在缺氧的条件下,糜蛋白酶样及胰天蛋白酶样的蛋白酶活性明显增加,更高的蛋白酶活性则是通过标记底物的泛素化及 atrogin-1 和 MuRF-1 的关键性调节来实现。Caron 等^[18]研究得出的最后理论便是缺氧是肌肉细胞分解代谢的触发因素。在低氧利用率的过程中,细胞存活反应是通过缺氧诱导因子-1(hypoxia-inducible factor-1, HIF-1)来完成的^[19]。HIF-1 是一种通过缺氧和反应性氧化物产物来稳定自身的转录因子,它能触发一些糖酵解酶基因的表达^[20]。与之关联的是,相比正常人群,患严重 COPD 的患者样本中,一种 E3 连接酶参与了 HIF-1 α 亚基的蛋白水解,这就是希佩尔林道(von Hippel-Lindau, VHL)^[21],在这种情况下,HIF 信号的转变可能进一步对肌肉组织造成损伤。Favier 等^[22]还从缺氧的 COPD 患者肌肉样本中发现了 REDD-1(regulated in development and DNA damage responses-1)基因的激活。为了应激细胞内的变化(缺氧),REDD-1 能使 mTOR(the mammalian target of rapamycin)的激酶失活,而在蛋白合成的 AKT 信号转导过程中 mTOR 起到了关键性的作用。缺氧的 COPD 患者从组织水平上,是通过激活泛素蛋白酶系统来增加蛋白水解,阻断培养肌管的合成,最终造成肌肉组织的萎缩。COPD 患者长期缺氧会导致肢体肌肉氧化应激的发生,同样也会引起炎症反应^[23],这样就在骨骼肌萎缩的 COPD 患者中将缺氧和特异细胞反应在其他机制中联系在了一起。

4 泛素蛋白酶系统和缺氧关系的研究

缺氧是造成 COPD 患者骨骼肌萎缩的病因机制之一,而泛素蛋白酶系统作为蛋白分解的主要途径,在 COPD 患者骨骼肌的萎缩研究中也取得了较多的研究成果。但不可否认的是,泛素蛋白酶系统与缺氧之间有着严密的联系。Chaudhary 等^[3]在慢性缺氧的小鼠模型上发现上调的泛素蛋白酶途径是造成蛋白分解速率提升的关键,他们证实了在慢性缺氧的条件下蛋白转化速率的提升主要是通过泛素蛋白酶途径来实现的。Hayot 等^[24]发现抑制素在缺氧环境下骨骼肌肉的适应性改变起到重要作用,证实了在暴露于慢性缺氧的小鼠模型和有慢性缺氧的 COPD 患者肌肉组织中均有抑制素表达的明显上调。那是否可以推断抑制素的表达上调可增加 FOXO-1 的转录活性来调节 MuRF-1 和 atrogin-1 的核转录,从而调控泛素蛋白酶系统所介导的蛋白质水解过程,但目前对于缺氧和泛素蛋白酶系统之间各种因素联系的研究较少,仍需要进一步研究来证实。Li 等^[25]证实了在骨骼肌中肿瘤坏死因子- α (TNF- α)通过 p38 MAPK 来刺激泛素连接酶 atrogin-1/MAFbx 的表达。在 COPD 中增强的活性氧(ROS)及氧化应激和肌肉质量的减少关系密切。肌肉组织中 TNF- α 与表面受体结合后能增加 ROS 活性,并能激活氧化还原转录因子及蛋白激酶(包括 NF- κ B, p38 MAPK 等)^[25]。慢性缺氧的 COPD 患者氧化性应激是增强的,也可以猜想缺氧引起 ROS 及氧化应激发生及作用强化后,与 TNF- α 相互作用后激活 NF- κ B, p38 MAPK 等,从而刺激 atrogin-1 的表达来调控泛素蛋白酶系统,当然,这样的猜想是否成立仍需要大量的研究来证实。Langen 等^[26]同样提出组织缺氧影响肌肉蛋白和肌细胞核的转变,但为了说明 COPD 患者组织缺氧所致骨骼肌无力的潜在原理,原始效应器的分化和氧化反应在骨骼肌重塑和分子信

号中的变化仍需要进一步阐释。有趣的是,缺氧本身并不能解释许多没有低氧血症但存在骨骼肌萎缩及功能障碍的 COPD 患者骨骼肌中观察到的组织及分子变化。

5 总 结

自第一次 ATS/ERS 发表声明以来,骨骼肌的研究逐渐成为热点问题。骨骼肌功能障碍对 COPD 的疾病预后产生深远的影响,骨骼肌萎缩是 COPD 一种常见的临床表现。COPD 骨骼肌萎缩的发病机制在目前的研究中已得到了部分阐释,但其中复杂的作用原理及生物分子信号及基因转导仍需要科学家们不断地研究和探索。

参考文献

- [1] Plant PJ, Brooks D, Faughnan M, et al. Cellular markers of muscle atrophy in chronic obstructive pulmonary disease[J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2010, 42(4): 461-471.
- [2] Maltais F, Decramer M, Casaburi R, et al. An official American Thoracic Society/European Respiratory Society statement: update on limb muscle dysfunction in chronic obstructive pulmonary disease[J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2014, 189(9): e15-62.
- [3] Chaudhary P, Suryakumar G, Prasad R, et al. Chronic hypobaric hypoxia mediated skeletal muscle atrophy: role of ubiquitin-proteasome pathway and calpains[J]. *Mol Cell Biochem*, 2012, 364(1/2): 101-113.
- [4] Banerjee A, Guttridge DC. Mechanisms for maintaining muscle[J]. *Curr Opin Support Palliat Care*, 2012, 6(4): 453.
- [5] Debigaré R, Côté CH, Maltais F. Ubiquitination and proteolysis in limb and respiratory muscles of patients with chronic obstructive pulmonary disease[J]. *Proc Am Thorac Soc*, 2010, 7(1): 84-90.
- [6] Sandri M. Protein breakdown in muscle wasting: role of autophagy-lysosome and ubiquitin-proteasome[J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2013, 45(10): 2121-2129.
- [7] Lemire BB, Debigare R, Theriault ME, et al. Mapk signaling in the quadriceps of patients with chronic obstructive pulmonary disease[J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2011, 183(1): 159-166.
- [8] Nagpal P, Plant PJ, Correa J, et al. The ubiquitin ligase Nedd4-1 participates in denervation-induced skeletal muscle atrophy in mice[J]. *PLoS One*, 2012, 7(10): e46427.
- [9] Sandri M, Sandri C, Gilbert A, et al. Foxo transcription factors induce the atrophy-related ubiquitin ligase atrogin-1 and cause skeletal muscle atrophy[J]. *Cell*, 2004, 117(3): 399-412.
- [10] Glass DJ. Skeletal muscle hypertrophy and atrophy signaling pathways[J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2005, 37(10): 1974-1984.
- [11] Mcclung JM, Judge AR, Powers SK, et al. p38 MAPK links oxidative stress to autophagy-related gene expression in cachectic muscle wasting[J]. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2010, 298(3): C542-549.
- [12] Trendelenburg AU, Meyer A, Rohner DA, et al. Myosta-

- tin reduces Akt/TORC1/p70S6K signaling, inhibiting myoblast differentiation and myotube size [J]. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2009, 296(6): C1258-1270.
- [13] Lokireddy S, Wijesoma IW, Sze SK, et al. Identification of atrogen-1-targeted proteins during the myostatin-induced skeletal muscle wasting [J]. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2012, 303(5): C512-529.
- [14] Lokireddy S, Mcfarlane C, Ge X, et al. Myostatin induces degradation of sarcomeric proteins through a Smad3 signaling mechanism during skeletal muscle wasting [J]. *Mol Endocrinol*, 2011, 25(11): 1936-1949.
- [15] Osorio-Fuentealba C, Valdes JA, Riquelme D, et al. Hypoxia stimulates via separate pathways ERK phosphorylation and NF-kappaB activation in skeletal muscle cells in primary culture [J]. *J Appl Physiol (1985)*, 2009, 106(4): 1301-1310.
- [16] Leite Rodrigues S, Melo e Silva CA, Ferreira Amorim C, et al. Correlation between mild hypoxaemia and limb skeletal muscle function in chronic obstructive pulmonary disease - pilot study [J]. *Rev Port Pneumol*, 2008, 14(6): 769-785.
- [17] Turan N, Kalko S, Stincone A, et al. A systems biology approach identifies molecular networks defining skeletal muscle abnormalities in chronic obstructive pulmonary disease [J]. *PLoS Comput Biol*, 2011, 7(9): e1002129.
- [18] Caron MA, Theriault ME, Pare M, et al. Hypoxia alters contractile protein homeostasis in L6 myotubes [J]. *FEBS Lett*, 2009, 583(9): 1528-1534.
- [19] Semenza GL. Regulation of oxygen homeostasis by hypoxia-inducible factor 1 [J]. *Physiology*, 2009, 24(2): 97-106.
- [20] Raguso CA, Luthy C. Nutritional status in chronic obstructive pulmonary disease: role of hypoxia [J]. *Nutrition*, 2011, 27(2): 138-143.
- [21] Jatta K, Eliason G, Portela-Gomes GM, et al. Overexpression of von Hippel-Lindau protein in skeletal muscles of patients with chronic obstructive pulmonary disease [J]. *J Clin Pathol*, 2009, 62(1): 70-76.
- [22] Favier FB, Costes F, Defour AA, et al. Downregulation of Akt/mammalian target of rapamycin pathway in skeletal muscle is associated with increased REDD1 expression in response to chronic hypoxia [J]. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 2010, 298(6): R1659-1666.
- [23] Gonzalez NC, Wood JG. Alveolar hypoxia-induced systemic inflammation: what low PO(2) does and does not do [J]. *Adv Exp Med Biol*, 2010, 662: 27-32.
- [24] Hayot M, Rodriguez J, Vernus B, et al. Myostatin up-regulation is associated with the skeletal muscle response to hypoxic stimuli [J]. *Mol Cell Endocrinol*, 2011, 332(1/2): 38-47.
- [25] Li YP, Chen YL, John J, et al. TNF-alpha acts via p38 MAPK to stimulate expression of the ubiquitin ligase atrogenin1/MAFbx in skeletal muscle [J]. *FASEB J*, 2005, 19(3): 362-370.
- [26] Langen R, Gosker HR, Remels A, et al. Triggers and mechanisms of skeletal muscle wasting in chronic obstructive pulmonary disease [J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2013, 45(10): 2245-2256.

(收稿日期: 2015-02-08 修回日期: 2015-07-09)

• 综述 • doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2015.22.049

高血压左心室肥厚形成机制的研究进展*

王超综述, 张萍[△]审校

(北京积水潭医院/北京大学第四临床医学院干部保健医疗科 100035)

[关键词] 高血压; 左心室肥厚; 机制; 进展; 综述; 影响因素

[中图分类号] R541.3

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-8348(2015)22-3143-04

高血压左心室肥厚(left ventricular hypertrophy, LVH)是机体对血液动力学负荷长期增加的一种适应性反应, 表现为心室壁增厚、心肌重量增加和心肌重塑, 其形成过程涉及诸多因素。作为高血压病常见的靶器官损害, LVH是心律失常、心功能衰竭、脑卒中乃至猝死等一系列心脑血管事件的独立危险因素^[1-2], 深入研究其形成机制具有重要临床意义。该方面研究为近年来国内外心血管领域的研究热点, 并已取得一定进展, 现综述如下。

1 血流动力学因素

高血压患者同时存在压力负荷和容量负荷。心室肥厚过

程涉及力学传递机制, 包括: (1)膜牵引敏感的离子通道机制; (2)细胞变形传导机制。压力负荷引起细胞变形, 作用于牵张受体, 致胞内信号分子发生变化, 通过影响下游信号因子促使LVH发生。实验研究发现压力负荷引起血管紧张素(angiotensin, Ang)及血管紧张素酶信使RNA(mRNA)表达增加, 进而通过其他因子触发心肌肥厚。容量负荷增加使室壁与肌节应力增高, 心肌细胞内串联肌节增多, 肌细胞变长, 根据Frank-Starling定律, 舒张期肌纤维长度增加将使收缩力增加, 导致离心性肥厚。

1.1 血压水平 LVH是高血压最重要和最常见的并发症, 其