

· 综述 · doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2018.25.023

MiRP1 在心血管相关疾病中的研究进展*

丁文文,周静综述,杨梦,夏鸿[△]审校

(荆楚理工学院基础医学教研室,湖北荆门 448000)

[摘要] 心血管疾病是当前发病率和病死率最高的疾病之一,临床上尚未有特效药可以完全逆转,因此,寻找新的治疗靶点显得尤为迫切。MiRP1 是新发现的电压门控钾通道的 β 亚基,对各种心血管疾病的发生、发展和调控起重要作用。本文综述了 MiRP1 在心律失常、心肌梗死、动脉粥样硬化、心肌肥大等疾病发病机制中的最新研究报道,旨在为治疗心血管疾病提供可靠、完善的治疗依据。

[关键词] MiRP1;心血管疾病;钾离子通道;心律失常;心肌梗死;心肌肥大

[中图分类号] R331

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-8348(2018)25-3333-03

MiRP1 是新近发现的电压门控钾通道的 β 亚单位家族中的一员,其基因编码产物为只含有 1 个跨膜结构的 MinK 相关蛋白,含 123 个氨基酸,MiRP1 通过调控心脏离子通道电流密度及门控特性等引发心血管疾病。本文通过综述其在不同心血管疾病中的研究进展及其机制,旨在更加全面和系统地阐述 MiRP1 作为 1 个电压门控钾通道的 β 亚单位在心血管疾病中发生、发展中扮演的角色。这对新药物靶点的开发有着极其重要的科学指导意义和临床价值。

1 MiRP 家族概述

MiRP 家族蛋白在不同的脏器广泛分布,如心脏、脑、骨骼肌、肾脏等部位。距今已发现 5 个编码产物 MinK、MiRP1-4,该类产物在结构和功能上相似,作为辅助性 β 亚基与多种电压依赖性钾通道的 α 亚单位形成特定的完整的钾通道,影响 α 亚单位的离子通透性、电压门控特性等,实现对 α 亚单位的调节,保持心电的稳定性。大量的研究结果证实,MiRP 家族基因结构和功能的异常,可以诱发各种心律失常。其中 MiRP1 又称 KCNE2,研究发现它与延迟整流钾通道电流快速成分(IKr)、延迟整流钾通道电流缓慢成分(IKs)、钾通道一过性外向电流(Ito)的亚基 hERG、KCNQ1、Kv4.2、Kv4.3、HCN 和 Kv1.5 等结合并调节其功能^[1-4]。早在 2006 年,有学者通过膜片钳技术研究了 MiRP1 对人类心肌细胞瞬间外向钾电流 Ito 的主要 α 亚基 Kv4.3 功能的调节,结果显示,MiRP1 改变了 Kv4.3 的门控特性,它减小 Kv4.3 电流密度,减慢通道激活与衰减,并加速 Kv4.3 电流从失活中恢复,说明 MiRP1 对心脏 Ito 通道功能有重要的调节作用。MiRP1 的结构和功能受损可导致严重的电解质紊乱,使心电活动异常,引起各种心血管疾病,最为常

见的是心律失常,心肌梗死,心脏性猝死,以及心肌肥大。

2 MiRP1 与心律失常

众所周知,心肌细胞不同部位的动作电位的波形不同,其实质在于心肌不同部位的离子通道蛋白表达水平存在差别。大量的结果证实,心肌细胞膜离子通道蛋白门控特性或者电流密度的细小变化就可以显著改变动作电位(AP)和细胞兴奋的周期性变化,机体极易出现心电紊乱,心律失常^[5]。产生心律失常的机制尚未完全弄清楚,目前,普遍的观点认为心肌细胞电压依赖性离子通道的异常变化是心律失常最主要的原因。

很早,科学家就证实了人类 MiRP1 基因的变异能引起先天性长 QT 综合征(LQTS)^[6]。它的缺失能够引起 QTc 延长,主要的机制在于失去了对 α 亚基 Kv4.2 及 Kv1.5 通道的调控功能^[4]。近年来,已有文献报道,在 MiRP1 基因位点上的突变 T8A、Q9E、M54T、I57T、V65M、A116V 等同样能诱发 6 型遗传性长 QT 间歇综合征(LQT6),临床症状为心室动作电位时程延长(APD),心律失常发病率增高,证实 MiRP1 参与心律失常的发生。如 MiRP1 本身的突变体 T8A、Q9E、M54T 均能使 hERG 通道激活减慢。T8A 加速通道的失活,并且使其从失活中恢复,T8A 和 Q9E 使得有较大的电流峰值。有研究报道了 A116V 加快通道的失活,可以对抗心律失常。除此之外,体外的研究实验表明,过表达 MiRP1 病毒能与 KCNQ1 相互作用,降低 IKs 电流密度。由此,可知 MiRP1 本身的变异或者表达量的异常,可以改变其他离子通道的正常功能,继而影响心肌电稳定性,诱发心律失常。

* 基金项目:湖北省自然科学基金(2016CFB150);湖北省教育厅指导性项目(B2016267);荆楚理工学院启动项目(QDB201708)。作者简介:丁文文(1987-),讲师,博士,主要从事正常与疾病状态下心脏疾病发生机制等方面的研究。△ 通信作者,E-mail:529757605@qq.com。

以往的研究, MiRP1 参与心律失常发生的绝大多数机制都在于改变其他通道的电流密度及门控动力学特征。近年来, ZHANG 等^[7]揭示了 MiRP1 减慢 hERG 电流幅度的新机制, MiRP1 蛋白的 S98 磷酸化致使 hERG 蛋白的退化, 使细胞表面的 hERG 蛋白减少。该研究结果证明 MiRP1 不仅能够调控通道电流及门控特性, 同时也能够维持其他蛋白表达水平的稳定性。MiRP1 对 hERG 通道的调节功能如此, 那么对其他通道是否类似的作用, 需要更深层次的研究。

3 MiRP1 与心肌梗死

心肌梗死是发病率和病死率最高的心血管疾病之一, 心肌梗死后可导致各种心律失常, 也是发生心源性猝死最主要的诱因。目前科学工作者普遍赞同, 心肌梗死后电流的电生理特性发生了改变, 影响动作电位的时程和节律, 从而引起心电紊乱, 心律失常。国外学者早有报道, 在心肌梗死后, I_{ks}、I_{to}、I_{Kslow1} 3 种钾通道的电流密度出现下降, 这意味着编码这 3 种钾通道基因的 mRNA 及蛋白水平下调。李秀娟等^[8]研究了大型动物猪心肌梗死后 MiRP1 基因的表达, 结果提示梗死区与梗死边缘区和非梗死区相比较 MiRP1 的 mRNA 基因水平均是下降的。作者认为 MiRP1 基因 mRNA 表达水平的下调, 使 I_{kr} 在整体行为, 以及对细胞外 K⁺ 和抗心律失常药物的敏感性和通道的失活速率等方面发生改变, 明显改变了通道特性, 增加了发生心律失常的概率。最近, 通过单核苷酸多态性(SNP)分析人类 MiRP1 基因研究结果也同样显示, 发现 MiRP1 两个基因位点 rs10757274 和 rs9982601 是心肌梗死的危险因素, 这为 MiRP1 参与心肌梗死的发生提供了确切的证据^[9-10]。LEE 等^[11]评估了 MiRP1 基因的缺失对心电图的影响, 结果显示 MiRP1 的缺失使 QTc 延长, 室性早搏, 引起心脏性猝死^[11]。HU 等^[12]发现, 与 MiRP1 过表达小鼠相比较, MiRP1 敲除后小鼠的心肌梗死面积明显下降。同时, 在某种程度上, MiRP1 敲除后小鼠心脏功能增强。同时作者指出, MiRP1 的保护作用可能是通过糖原合成酶激酶 3β(GSK-3β)的磷酸化参与调控。这是首次验证了 MiRP1 是通过 GSK-3β 蛋白参与保护心肌而非蛋白激酶 B(AKT)和细胞外信号调节激酶(ERK)。值得一提的是, 早期研究表明, MiRP1 的缺失, 导致心律失常的发生与 HU 等^[12]研究 MiRP1 的敲除参与保护心肌结论相反, 这种差异的原因在于 MiRP1 的缺失引起了心肌的重构, 使得侧枝循环的建立, 缺血的情况得到改善, 在某种程度上, 利大于弊。

4 MiRP1 与动脉粥样硬化

动脉粥样硬化(AS)是心血管病中极为常见的病

种之一, 也是其他心脑血管缺血性疾病中共有的基础病理过程, 如冠心病、脑血管病和血栓栓塞性疾病等^[13]。距今为止, AS 的发生、发展机制尚未完全诠释, 经过科学家多年的研究和认知, 已经形成多种学说, 主要包括脂质代谢紊乱学说, 滞留反应学说, 以及最新的炎性反应学说等等。在这些学说当中, 脂质与 AS 的相关性一直是研究的热点。并涉及多种危险因素, AS 的危险因素包括高脂血症、高血压、糖尿病、高尿酸血症、肥胖及肾素-血管紧张素-醛固酮系统(RAAS)激活等^[14]。有证据表明, MiRP1 缺失的小鼠发生脂质堆积, 致使氧化应激的产生及血管内皮功能受损, 加速斑块的沉积, 同时脂质的堆积导致血清中的血管紧张素 II 增加, 通过滞留反应学说也增加了斑块的沉积^[15]。这些结果提示 MiRP1 的缺失, AS 的危险因素增加。SABATER-LLEAL 等^[16]通过 SNP 分析 MiRP1 基因, MiRP1 基因位点 rs9978142 与 AS 存在相关性, MiRP1 敲除后的小鼠斑块沉积面积上升, 而这加速了 AS 的发生, 揭示了离子通道的异常与 AS 的发生存在相关性。LEE 等^[11]结果显示敲除 MiRP1 基因的雌性小鼠的存活率在 5.5~6.0 个月明显下降。而雌性小鼠和雄性小鼠斑块面积沉积分别增加了 10.2 倍和 2.5 倍。这是首次证实离子通道的异常可以直接导致 AS 的发生, 为 MiRP1 参与 AS 的发生提供了直接的证据。但 MiRP1 究竟是通过何种细胞分子机制参与 AS 的发生至今未有报道。

5 MiRP1 与心肌肥大

研究发现, 心肌肥大的发生机制涉及细胞内多种信号转导通路复杂的调控^[17]。在众多信号通路中互有交叉的部分, 如果能针对其进行干预, 就能显著提高心肌肥大的治疗效果, 在众多信号通路中, 心肌的钙稳态具有举足轻重的地位^[18-19], 现已证明它是许多病理性肥大的共同环节。在心肌收缩期, 胞外钙离子经由 L 型钙通道进入胞内, 引起肌质网(SR)释放大量的钙, 触发肌细胞的收缩。2004 年有学者在梗死心肌肥大模型上, 检测到 MiRP1 蛋白表达降低。WU 等^[20]首次报道了 MiRP1 基因敲除小鼠发生心肌肥大、纤维化和收缩力减弱等一系列的症状, 虽然目前的观点认为这些病理改变主要与甲状腺功能低下有关, 但给予甲状腺素治疗只能部分恢复心脏功能, 提示心脏 MiRP1 缺失本身也可能引起心肌肥大等病理改变。2013 年有学者初次在大鼠心肌细胞上研究了 MiRP1 对 L 型钙通道的调控调节, 结果显示过表达 MiRP1 病毒, L 型钙通道电流密度下降, 胞外钙离子浓度内流减少, 而低表达 MiRP1, L 型钙通道的电流峰值是增加的。研究 MiRP1 可能对钙电流激活和失

活有所影响, MiRP1 过表达使电压依赖性钙通道激活发生了右移, 而低表达则发生了左移等^[21-22]。这些结果提示, 通常所认为的钾通道的 β 亚基除了对钾通道具有调控作用, 对 L 型钙通道也具有调控作用。既然 MiRP1 参与调控 L 型钙通道, 那么其是否参与心肌肥大的发生。LIU 等^[23] 在肾上腺素(PE)诱导的心肌肥大模型上及主动脉缩窄收缩诱导的压力增高引起的心肌肥大模型上均发现 MiRP1 表达显著降低, 当降低乳鼠心肌 MiRP1 基因表达时, 发现心肌肥大标志物心钠素(ANP)和心肌肌球蛋白重链(β -MHC)蛋白水平增加, 为 MiRP1 降低参与心肌肥大的发生提供了实验依据, MiRP1 究竟是通过何种信号通路参与心肌肥大的发生呢? 该课题组进一步研究发现, 当敲低乳鼠心肌 MiRP1 基因时, 胞内钙离子浓度显著增加, 增加的钙离子与下游的钙调蛋白结合, 从而使钙调神经磷酸酶(Calcineurin)活性增高, 活化下游的 T 细胞核因子(NFAT), 并转移入核, 加速了肥大基因的转录。当使用 Calcineurin 特异性地抑制剂环孢素(CsA), 则明显抑制了 MiRP1 低表达引起的 Calcineurin-NFAT 信号通路激活。最后, 该课题组在乳鼠心肌过表达 MiRP1 病毒, 可以逆转 PE 诱导的心肌肥大。这些研究结果提示, MiRP1 是心肌肥大发生的新机制, 这对新药物靶点的开发有着极其重要的临床价值。但同时也要注意存在一些未解的难题, 比如 MiRP1 是否仅仅通过单一的信号通路参与心肌肥大, 开发作用于 Calcineurin-NFAT 信号通路治疗心肌肥大的药物是否有效及有哪些不良反应等。

6 展 望

近些年, MiRP1 引起心血管疾病发病机制取得突破进展, 并且扩展至其他领域。最近的研究提示, MiRP1 表达异常及缺失可能参与多种基础疾病如糖尿病、高脂血症、贫血、心肌缺血、房室传导阻滞等, 并可能通过多系统途径与心脏性猝死的发生。MiRP1 究竟是通过何种信号通路诱发尚不可知。众所周知, 腺苷酸活化蛋白激酶(AMPK)是细胞内能量开关, 当各种刺激干扰了胞内的能量平衡就会激活 AMPK。同时研究表明 AMPK 是机体保持葡萄糖平衡所必需的, 故而它也是研究糖尿病及其他代谢相关疾病的核心。那么 MiRP1 可否通过 AMPK 信号通路参与调控糖尿病及其他一些缺血性疾病(贫血、营养缺乏、冠心病等), 总而言之, MiRP1 基因可能会是相关疾病诊治的一个新的切入点。

参考文献

[1] WANG Y H, ZHANG M, XU Y, et al. Probing the structural basis for differential KCNQ1 modulation by KCNE1

and KCNE2[J]. *J General Physiol*, 2012, 140(6): 653-669.

- [2] ABBOTT G W. The KCNE2 K⁺ Channel regulatory subunit: Ubiquitous influence, complex pathobiology [J]. *Gene*, 2015, 569(2): 162-172.
- [3] VERKERK A O, WILDERS R. Pacemaker activity of the human sinoatrial node: an update on the effects of mutations in HCN4 on the Hyperpolarization-Activated current[J]. *Int J Mol Sci*, 2015, 16(2): 3071-3094.
- [4] ROEPKE T K, KONTOGEOORGIS A, OVANEZ C, et al. Targeted deletion of *kcn2* impairs ventricular repolarization via disruption of I(K, slow1) and I(to, f)[J]. *FASEB J*, 2008, 22(10): 3648-3660.
- [5] ABBOTT G W. KCNE genetics and pharmacogenomics in cardiac arrhythmias: much ado about nothing? [J]. *Expert Rev Clin Pharmacol*, 2013, 6(1): 49-60.
- [6] GIUDICCESSI J R, ACKERMAN M J. Genotype- and phenotype-guided management of congenital long QT syndrome[J]. *Curr Probl Cardiol*, 2013, 38(10): 417-455.
- [7] ZHANG M, WANG Y H, JIANG M, et al. KCNE2 protein is more abundant in ventricles than in atria and can accelerate hERG protein degradation in a phosphorylation-dependent manner [J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2012, 302(4): H910-922.
- [8] 李秀娟, 曾超, 丁家望, 等. 急性心肌梗死后钾通道 KCNH2 和 KCNE2 基因表达的变化[J]. *中国老年学杂志*, 2014, 34(20): 5782-5784.
- [9] WAKIL S M, RAM R, MUIYA N P, et al. A genome-wide association study reveals susceptibility loci for myocardial infarction/coronary artery disease in Saudi Arabs [J]. *Atherosclerosis*, 2016, 245(1): 62-70.
- [10] SZPAKOWICZ A, KILISZEK M, PEPINSKI W, et al. The rs9982601 polymorphism of the region between the SLC5A3/MRPS6 and KCNE2 genes associated with a prevalence of myocardial infarction and subsequent long-term mortality[J]. *Pol Arch Med Wewn*, 2015, 125(4): 240-248.
- [11] LEE S M, NGUYEN D, HU Z Y, et al. *Kcne2* deletion promotes atherosclerosis and diet-dependent sudden death [J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2015, 87(3): 148-151.
- [12] HU Z Y, CRUMP S M, ZHANG P, et al. *Kcne2* deletion attenuates acute post-ischaemia/reperfusion myocardial infarction[J]. *Cardiovasc Res*, 2016, 110(2): 227-237.
- [13] PANDEY A K, BLAHA M J, SHARMA K, et al. Family history of coronary heart disease and the incidence and progression of coronary artery calcification; Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis (Mesa) [J]. *Atherosclerosis*, 2014, 232(2): 369-376.
- [14] 刘俊田. 动脉粥样硬化发病的炎症机制的研究进展[J]. *西安交通大学学报(医学版)*, 2015, 36(下转第 3340 页)

- [J]. *Tumor Biol*, 2016, 37(1):381.
- [20] WANG L, WANG Y, DU H, et al. Impact of ER520, a candidate of selective estrogen receptor modulators, on in vitro cell growth, migration, invasion, angiogenesis and in vivo tumor xenograft of human breast cancer cells[J]. *Cancer Chem Pharmacol*, 2015, 76(6):1247.
- [21] PARADA-BUSTAMANTE A, VALENCIA C, REUQUÉN P, et al. Role of 2-methoxyestradiol, an endogenous estrogen metabolite, in health and disease[J]. *Mini Rev Med Chem*, 2015, 15(5):427-438.
- [22] AQUINO-GÁLVEZ A, GONZÁLEZ-ÁVILA G, DELGADO-TELLO J, et al. Effects of 2-methoxyestradiol on apoptosis and HIF-1 α and HIF-2 α expression in lung cancer cells under normoxia and hypoxia[J]. *Oncol Rep*, 2016, 35(1):577-583.
- [23] MCKAY R R, ZURITA A J, WERNER L, et al. A randomized phase II trial of short-course androgen deprivation therapy with or without bevacizumab for patients with recurrent prostate cancer after definitive local therapy[J]. *J Clin Oncol*, 2016, 34(16):1913-1920.
- [24] PATHAK V, AHMAD I, KAHLON A K, et al. Syntheses of 2-methoxyestradiol and eugenol template based diarylpropenes as non-steroidal anticancer agents [J]. *Rsc Advances*, 2014, 4(66):35171-35185.
- [25] NESHAT M S, HUERTAYEPEZ S, SAKAI T, et al. Mechanism of sensitization of PC3 cells to TRAIL-mediated apoptosis by 2-methoxyestradiol (2ME2); Regulation of DR5 expression by the transcription repressor Yin Yang 1 (YY1) [J]. *Mol Endocrinol*, 2006, 20(3):698-705.
- [26] WU S L, LI Y J, LIAO K, et al. 2-Methoxyestradiol inhibits the proliferation and migration and reduces the radioresistance of nasopharyngeal carcinoma CNE-2 stem cells via NF- κ B/HIF-1 signaling pathway inactivation and EMT reversal[J]. *Oncol Rep*, 2017, 37(2):793-802.
- [27] PASQUIER E, KAVALLARIS M, ANDRE N. Metronomic chemotherapy regimens using microtubule-targeting agents[J]. *Expert Opin Pharmacother*, 2016, 17(8):1113-1129.
- [28] SAMARTZIS E P, IMESCH P, TWIEHAUS A, et al. The estrogen metabolites 2-methoxyestradiol and 2-hydroxyestradiol inhibit endometriotic cell proliferation in estrogen-receptor-independent manner[J]. *Gynecol Endocrinol*, 2016, 32(7):529-533.

(收稿日期:2018-03-16 修回日期:2018-05-16)

(上接第 3335 页)

(2):141-152.

- [15] HU Z Y, KANT R, ANAND M, et al. Kcne2 deletion creates a multisystem syndrome predisposing to sudden cardiac death[J]. *Circ Cardiovasc Genet*, 2014, 7(1):33-42.
- [16] SABATER-LLEAL M, MÅLARSTIG A, FOLKERSEN L, et al. Common genetic determinants of lung function, subclinical atherosclerosis and risk of coronary artery disease[J]. *PLoS One*, 2014, 9(8):e104082.
- [17] HOU J L, KANG Y J. Regression of pathological cardiac hypertrophy: signaling pathways and therapeutic targets [J]. *Pharmacol Ther*, 2012, 135(3):337-354.
- [18] IRIE T, SIPS P Y, KAI S, et al. S-Nitrosylation of calcium-handling proteins in cardiac adrenergic signaling and hypertrophy[J]. *Circ Res*, 2015, 117(9):793-803.
- [19] YAMAGUCHI N, CHAKRABORTY A, HUANG T Q, et al. Cardiac hypertrophy associated with impaired regulation of cardiac ryanodine receptor by calmodulin and S100A1[J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2013, 305(1):H86-94.
- [20] WU J, SHIMIZU W, DING W G, et al. KCNE2 modulation of Kv4.3 current and its potential role in fatal rhythm disorders [J]. *Heart Rhythm*, 2010, 7(2):199-205.
- [21] 邓建新. 正常与疾病心脏兴奋-收缩偶联调节机制的研究 [D]. 广州:南方医科大学, 2013.
- [22] LIU W J, DENG J X, WANG G, et al. KCNE2 modulates cardiac L-type Ca(2+) Channel[J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2014, 72(2):208-218.
- [23] LIU W J, DENG J X, DING W W, et al. Decreased KCNE2 expression participates in the development of cardiac hypertrophy by regulation of calcineurin-NFAT (nuclear factor of activated T cells) and mitogen-activated protein kinase pathways [J]. *Circ Heart Fail*, 2017, 10(6):e003960.

(收稿日期:2018-03-18 修回日期:2018-05-21)