

- [23] 马涛,毛利荣,孙绍贤,等. 未植入支架冠心病患者心理状况及生存质量评价[J]. 河北医药,2012,34(19):2913-2914.
- [24] 费忠化,刘宏生,张春英,等. 冠状动脉旁路移植术后患者焦虑抑郁状态危险因素研究[J]. 心肺血管病杂志,2015,34(2):113-116.
- [25] Coelho R,Ramose E,Prats J,et al. Psychosocial indexes and cardiovascular risk factors in a community sample[J]. *Psychother Psychosom*,2000,69(5):261-274.

- [26] Christoph M,Christoph A,Dannemann S,et al. Mental symptoms in patients with cardiac symptoms and normal coronary arteries[J]. *Open Heart*,2014,1(1):e000093.
- [27] 梁文学. 128 例冠脉造影患者抑郁情况的临床观察[J]. 实用临床医学,2007,8(7):31.

收稿日期:2015-11-16 修回日期:2016-02-05

S100A1 蛋白基因治疗心力衰竭的研究进展

陈焕^{1,2} 综述 邓平² 审校

(1. 南华大学,湖南 衡阳 421001;2. 长沙市中心医院心内科,湖南 长沙 410004)

【摘要】心力衰竭是各种心脏疾病发展的终末阶段。S100A1 蛋白高度特异性表达于心肌细胞,在心力衰竭时,其表达明显降低。S100A1 蛋白可具有抑制心肌程序性细胞死亡、逆转心肌重构、改善心肌细胞能量供应及增强心肌细胞收缩力的作用。近年来,许多研究发现 S100A1 蛋白高表达可用于治疗心力衰竭。

【关键词】S100A1 蛋白;心力衰竭;基因治疗

【中图分类号】R394;R541.6⁺1

【文献标志码】A

【DOI】10.16806/j.cnki.issn.1004-3934.2016.03.023

Research Progress in S100A1 Gene Therapy for Heart Failure

CHEN Huan^{1,2}, DENG Ping²

(1. University of South China, Hengyang 421001, Hunan, China; 2. Department of Cardiology, Changsha Central Hospital, Changsha 421004, Hunan, China)

【Abstract】Heart failure is the common endpoint of various cardiovascular diseases. S100A1 is abundantly present in normal human myocardial tissue, and its expression levels are diminished in failing myocardium. S100A1 protein can induce cardiomyocyte apoptosis, reverse myocardial remodeling, improve energy homeostasis and increase both systolic and diastolic cardiac function. In recent years, many studies have found that S100A1 over-expression in cardiomyocytes can be used in the treatment of heart failure.

【Key words】S100A1; Heart failure; Gene therapy

心力衰竭是各种心脏疾病发展的最终归宿,也是心脏疾病主要的死亡原因。尽管心力衰竭的治疗取得了很大的进步,但目前心力衰竭仍有很高的患病率和病死率。钙离子(Ca^{2+})循环失衡是心力衰竭发生发展的主要决定因素。S100A1 蛋白是心肌细胞内 Ca^{2+} 结合的主要蛋白,可调节肌质网、肌节、线粒体功能改善心功能。S100A1 基因治疗心力衰竭作为未来治疗心力衰竭的新策略日益引起大家的关注。现就 S100A1 蛋白的生物学特性及其基因治疗心力衰竭的机制和临床进展做一综述。

1 S100A1 蛋白的生物学特性

S100A1 蛋白是 S100 家族中的一员。S100 蛋白是一种钙结合蛋白,通过控制钙内流起到调节一系列细胞生物学效应的作用如:细胞收缩、程序性细胞死亡和基因表达^[1]。1965 年,在牛的体内发现 S100 蛋白,人类 S100 蛋白基因主要位于染色体 1q21,并且以阿拉伯数字命名(A100A1-A100A16)^[2]。S100A1 蛋白单体的分子量 10 kD ($\approx 1.0 \times 10^4$)。S100A1 蛋白在体内主要以由 2 个亚单位组成的同源二聚体形式存在,有 2 个 EF 手型结构,中间以铰链区链接,EF 手型

结构包括一个氨基末端和一个羧基末端,其中羧基末端为 Ca^{2+} 结合位点。当 Ca^{2+} 与 EF 手型结构结合后, S100A1 蛋白将发生构型改变,从而暴露出疏水裂隙,这个疏水裂隙被认为是 S100A1 靶蛋白的结合位点。而且, A100A1 蛋白对 Ca^{2+} 的亲合力与羧基末端氧化还原及一氧化氮(nitric oxide, NO)的翻译后修饰有密切关系^[3-4]。A100A1 蛋白主要表达于心肌细胞,其中以左心室为主,右心室及心房仅有少量表达。S100A1 蛋白在心肌细胞内以亚细胞定位,主要表达于肌质网、肌节及线粒体中。

2 S100A1 蛋白与心力衰竭的关系及机制

心力衰竭时 S100A1 蛋白的表达及其信使 RNA (messenger RNA, mRNA) 水平明显下降,且下降幅度与心力衰竭的程度呈正相关^[5]。心力衰竭时,内皮素-1 (endothelin-1, ET-1) 和苯肾上腺素表达增加,而 ET-1 和苯肾上腺素可降低体内 S100A1 蛋白 mRNA 水平,导致心力衰竭时 S100A1 蛋白表达量下降。维持正常的心功能至少需要有 50% 的 S100A1 蛋白^[6]。S100A1 蛋白高表达能够阻止小鼠心肌缺血后心力衰竭的发展,降低心肌梗死后心力衰竭的病死率^[7], S100A1 蛋白抗心力衰竭的作用机制主要有 6 点。

2.1 调节心肌细胞 Ca^{2+} 平衡

可概括为 2 点:(1) 控制肌质网内 Ca^{2+} 转运: S100A1 蛋白可增强肌质网 Ca^{2+} -ATP 酶(sarcoplasmic reticulum Ca^{2+} ATPase, SERCA2) 活性和调节心肌 ryanodine 受体(ryanodine receptor 2, RyR2) 的功能,从而控制心肌细胞内 Ca^{2+} 平衡,发挥调节心肌收缩与舒张的功能^[8]。SERCA2 可将释放入细胞质的 Ca^{2+} 重新摄入至肌质网内,为下一次心室收缩提供 Ca^{2+} ; 同时,当肌质网摄入 Ca^{2+} 时,胞质内 Ca^{2+} 降低,使心室肌舒张^[9]。当心力衰竭时,ET-1 和苯肾上腺素可抑制 SERCA2 的 mRNA 表达,使得 SERCA2 介导的 Ca^{2+} 循环减少,导致心脏的收缩与舒张功能下降。S100A1 蛋白可以与 SERCA2/受磷蛋白复合体相互作用,增强 SERCA2 活性^[10]。RyR2 是 Ca^{2+} 通道释放受体, S100A1 蛋白对 RyR2 的调节是双向的;在收缩期, S100A1 蛋白可活化 RyR2 受体,促进肌质网释放 Ca^{2+} 至胞质,增强心肌收缩功能;在舒张期, S100A1 蛋白可抑制 RyR2 受体开放,减少肌质网 Ca^{2+} 漏出,改善心肌舒张功能^[11]。

2.2 调节肌节的僵硬度和其对 Ca^{2+} 的敏感性

肌联蛋白被称为巨蛋白,是介导心肌细胞产生被动张力的主要原因,具有维持肌原纤维松弛状态、协助舒张期心室充盈的作用。肌联蛋白有一个富含脯

氨酸(Proline P)、谷氨酸(Glutamate E)、缬氨酸(Valine V)、赖氨酸(Lysine K)的结构域:PEVK 几个区,肌联蛋白可通过该结构域与细肌丝相互作用,调节舒张期心肌的僵硬程度^[12]。高被动张力是舒张性心力衰竭的重要原因,在 Ca^{2+} 参与下, S100A1 蛋白可与 PEVK 区结合,降低被动张力,防止心室肌过度牵张^[13]。此外, S100A1 可调节肌丝对 Ca^{2+} 的反应性及协调性,并成剂量依赖相关性^[14]。

2.3 调节线粒体的功能及能量代谢

维持正常的心功能不仅需要心肌细胞 Ca^{2+} 平衡,而且需要充分的能量供应,当心力衰竭时,ATP 与 ADP 比值明显下降。S100A1 蛋白可与线粒体 ATP 酶的 F1 亚基结合,使 ATP 酶活性增加,促进心肌细胞 ATP 合成。同时, S100A1 蛋白可与线粒体腺嘌呤核苷酸转运蛋白结合,调节线粒体基质及胞质中 ADP 与 ATP 之间的相互转化,促进线粒体中 ATP 释放入胞质,调节心肌细胞能量代谢^[15]。此外, S100A1 蛋白还可通过增加胞质内 Ca^{2+} 的转运来增加异柠檬酸脱氢酶活性和线粒体内还原型辅酶生成,从而促进三羧酸循环,为心肌细胞能量代谢提供能量^[16]。

2.4 抑制心肌程序性细胞死亡

Most 等^[9]通过实验发现:在体外, S100A1 蛋白具有抑制心肌程序性细胞死亡的作用,其机制主要是 S100A1 蛋白可直接激活磷脂酶、C-蛋白激酶、C-丝裂原激活蛋白激酶 1-细胞外信号调节激酶 1/2 (ERK1/2) 信号通路,直接抑制过氧化氢介导的心肌程序性细胞死亡。此外,该实验还发现当心肌细胞表达 S100A1 蛋白时会抑制 S100B 蛋白表达,而 S100B 蛋白被认为是慢性心力衰竭的独立危险因素,具有促进心肌程序性细胞死亡的作用^[17]。

2.5 抑制心肌重构

心肌肥厚的过程也就是心肌重构的过程, S100A1 蛋白被认为是抗心肌肥厚蛋白,其表达量与心肌细胞直径呈反比关系^[18]。此外, S100A1 蛋白高度表达时,心肌细胞肥厚标志物如心钠素和 α -肌动蛋白明显减少。目前认为 S100A1 蛋白主要与通过抑制微血管聚集、改善心脏收缩功能有关。

2.6 调节内皮型一氧化氮合酶活性

在心血管系统,生理剂量的 NO 具有抑制血小板聚集、扩张血管、抑制心肌程序性细胞死亡、维持心肌收缩功能的作用^[19]。内皮型一氧化氮合酶(nitric oxide synthase, NOS) 可促进血管内皮细胞释放 NO,而 S100A1 蛋白可通过 Ca^{2+} 依赖途径和蛋白激酶 C 途径调节内皮型 NOS 活性,使血管内皮细胞 NO 维持在稳

态^[20],发挥抗心力衰竭作用。

3 A100A1 蛋白基因治疗心力衰竭模型及其临床前景

S100A1 蛋白基因靶向治疗心力衰竭成为近 10 年基因治疗研究的热点。S100A1 蛋白基因治疗起源于对比研究 S100A1 蛋白转基因^[7]、基因敲除^[21]和非转基因野生型^[7, 22]小鼠的急性心肌梗死模型。实验发现,在同时遭遇心肌梗死后,S100A1 蛋白转基因小鼠生存率明显高于非转基因野生型小鼠,而 S100A1 蛋白基因敲除的小鼠在遭遇心肌缺血时早期病死率极高,大多数小鼠死于心肌收缩功能下降和恶性心律失常。实验发现 S100A1 蛋白转基因的小鼠心肌梗死后心功能明显优于野生型小鼠,交感神经过度兴奋、病理性心肌重塑和应激诱导的心肌程序性细胞死亡均低于野生型。相反,S100A1 蛋白基因敲除的小鼠左心室心肌重构加速,心肌程序性细胞死亡加重,左心室收缩功能障碍,心力衰竭进程加快。利用腺病毒作为载体,S100A1 蛋白在心肌的转染率为 30%~40%,这样也具有明显抑制心室重构,改善心肌缺血后左心室功能不全的作用^[7]。当 S100A1 蛋白以不同剂量(1.5~6 倍)在遭受心肌梗死后的小鼠心肌细胞表达时,S100A1 蛋白的残余质量浓度的高低与左心室长期的收缩功能呈正相关^[15]。

为了研究 S100A1 蛋白的基因治疗心力衰竭的可行性及安全性,研究者选取了与人类心脏且基因治疗所需要剂量更相似的活体猪作为试验对象^[22-23],在气囊闭塞左回旋支冠状动脉致其心肌梗死 2 周后,当猪出现明显左心室收缩功能障碍时,以较腺病毒作用更稳定、转染更迅速、作用时间更长久且免疫反应更少的腺伴随病毒(adenoviral associated vectors, AAV)作为载体,经冠状静脉逆行输送 AAV-S100A1 蛋白至左心室心肌。以 AAV 荧光素酶和盐水治疗作为对照。在 14 周时,对照组心肌 S100A1 蛋白表达明显下降,随着左心室重构,心功能呈进行性恶化;AAV-S100A1 蛋白治疗组心肌 S100A1 蛋白水平恢复至心力衰竭前,能有效地预防和逆转心肌重构,S100A1 蛋白基因治疗后,心肌细胞内 Ca^{2+} 循环、内质网的钙处理和心肌能量供应趋于正常。同时,转基因的限制性表达在心脏组织和心脏外器官功能显示了良好的安全性^[24]。

2011 年,Brinks 等^[10]以 27 位严重心力衰竭患者的游离心肌细胞为标本,以腺病毒转染 S100A1 蛋白为试验组,单独腺病毒感染为对照组,分别检测两组的心肌细胞收缩力、线粒体功能。观察发现,转染 S100A1 蛋白基因后,心肌细胞的收缩力、细胞收缩时

Ca^{2+} 瞬时振幅、肌质网 Ca^{2+} 负载明显增加,标准化 Ca^{2+} 瞬态衰减明显减少,致心律失常性肌质网 Ca^{2+} 漏出减少,此外,受损的线粒体功能明显改善,磷酸肌酸和三磷酸腺苷比值恢复。这个实验首次在人类心肌细胞上证实了 S100A1 蛋白的基因治疗的有效性。

当然,利用 S100A1 蛋白的基因治疗心力衰竭仍需要解决许多问题,如:患者对 AAV 可能存在的免疫反应、S100A1 蛋白的基因治疗所需的安全有效剂量^[25]、标准的动物模型不能充分反应心力衰竭患者在疾病不同阶段 S100A1 蛋白基因表达的差异性等。

综上所述,在临床前期的研究中,S100A1 蛋白具有抑制心肌程序性细胞死亡、逆转心肌重构、平衡心肌能量代谢、改善心肌收缩与舒张功能等抗心力衰竭的作用,且无心肌毒性、致心律失常等不良反应^[23]。虽然目前运用至临床仍有许多问题需要解决,但 S100A1 蛋白基因治疗心力衰竭仍具有良好的临床前景。

[参 考 文 献]

- [1] Wright NT, Varney KM, Ellis KC, et al. The three-dimensional solution structure of $\text{Ca}(2+)$ -bound S100A1 as determined by NMR spectroscopy[J]. *Mol Biol*, 2005, 353(2): 410-426.
- [2] Marenholz I, Heizmann CW, Fritz G. S100 proteins in mouse and man: from evolution to function and pathology (including an update of the nomenclature) [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2004, 322(4): 1111-1122.
- [3] Volkers M, Rohde D, Goodman C, et al. S100A1: a regulator of striated muscle sarcoplasmic reticulum Ca^{2+} handling, sarcomeric, and mitochondrial function [J]. *Biomed Biotechnol*, 2010, 2010: 178614.
- [4] Lenarcic Zivkovic M, Zareba-Kozioł M, Zhukova L, et al. Post-translational S-nitrosylation is an endogenous factor fine tuning the properties of human S100A1 protein [J]. *Biol Chem*, 2012, 287(48): 40457-40470.
- [5] Bennett MK, Sweet WE, Baicker-McKnee S, et al. S100A1 in human heart failure: lack of recovery following left ventricular assist device support [J]. *Circ Heart Fail*, 2014, 7(4): 612-618.
- [6] Duarte-Costa S, Castro-Ferreira R, Neves JS, et al. S100A1: a major player in cardiovascular performance [J]. *Physiol Res*, 2014, 63(6): 669-681.
- [7] Most P, Remppis A, Plegler ST, et al. Transgenic overexpression of the Ca^{2+} binding protein S100A1 in the heart leads to increased in vivo myocardial contractile performance [J]. *Biol Chem*, 2003, 278(5): 33809-33817.
- [8] Maxwell JT, Somasuntharam I, Gray WD, et al. Bioactive nanoparticles improve calcium handling in failing cardiac myocytes [J]. *Nanomedicine (Lond)*, 2015, 10(22): 3343-3357.
- [9] Most P, Seifert H, Gao E, et al. Cardiac S100A1 protein levels determine contractile performance and propensity toward heart failure after myocardial infarction [J]. *Circulation*, 2006, 114(12): 1258-1268.
- [10] Brinks H, Rohde D, Voelkers M, et al. S100A1 genetically targeted therapy reverses dysfunction of human failing cardiomyocytes [J]. *J Am Coll Cardiol*, 2011, 58(9): 966-973.
- [11] Volkers M, Loughrey CM, Macquaide N, et al. S100A1 decreases calcium spark frequency and alters their spatial characteristics in permeabilized adult ventricular cardiomyocytes [J]. *Cell Calcium*, 2007, 41(2): 135-143.
- [12] LeWinter MM, Granzier H. Cardiac titin: a multifunctional giant [J]. *Circula-*

- tion, 2010,121(19):2137-2145.
- [13] Fukushima H, Chung CS, Granzier H. Titin-isoform dependence of titin-actin interaction and its regulation by $S100A1/Ca^{2+}$ in skinned myocardium [J]. *Biomed Biotechnol*,2010,2010:727239.
- [14] Castro-Ferreira R, Fontes-Carvalho R, Falcao-Pires I, et al. The role of titin in the modulation of cardiac function and its pathophysiological implications [J]. *Arq Bras Cardiol*,2011,96(4):332-339.
- [15] Rohde D,Brinks H, Ritterhoff J, et al. S100A1 gene therapy for heart failure: a novel strategy on the verge of clinical trials [J]. *Mol Cell Cardiol*,2011,50(5):777-784.
- [16] Boerries M, Most P, Gledhill JR, et al. Ca^{2+} -dependent interaction of S100A1 with F1-ATPase leads to an increased ATP content in cardiomyocytes [J]. *Mol Cell Biol*,2007,27(12):4365-4373.
- [17] Tsoporis JN, Mohammadzadeh F, Parker TG. S100B: a multifunctional role in cardiovascular pathophysiology [J]. *Amino Acids*,2011,41(4):843-847.
- [18] Ehlermann P, Rempis A, Guddat O, et al. Right ventricular upregulation of the $Ca(2+)$ binding protein S100A1 in chronic pulmonary hypertension [J]. *Biochim Biophys Acta*,2000,1500(2):249-255.
- [19] Saraiva RM, Hare JM. Nitric oxide signaling in the cardiovascular system: implications for heart failure [J]. *Curr Opin Cardiol*,2006,21(3):221-228.
- [20] Rohde D, Busch M, Volkert A, et al. Cardiomyocytes, endothelial cells and cardiac fibroblasts: S100A1's triple action in cardiovascular pathophysiology [J]. *Future Cardiol*,2015,11(3):309-321.
- [21] Gusev K, Ackermann GE, Heizmann CW, et al. $Ca(2+)$ signaling in mouse cardiomyocytes with ablated S100A1 protein [J]. *Gen Physiol Biophys* 2009,28(4):371-383.
- [22] Pleger ST, Shan C, Ksienzyk J, et al. Cardiac AAV9-S100A1 gene therapy rescues post-ischemic heart failure in a preclinical large animal model [J]. *Sci Transl Med*, 2011,3(92):92ra64.
- [23] Weber C, Neacsu I, Krautz B, et al. Therapeutic safety of high myocardial expression levels of the molecular inotrope S100A1 in a preclinical heart failure model [J]. *Gene Ther*,2014,21(2):131-138.
- [24] Most P, Raake P, Weber C, et al. S100A1 gene therapy in small and large animals [J]. *Methods Mol Biol*,2013,96(3):407-420.
- [25] Rincon MY, Vanden Driessche T, Chuah MK. Gene therapy for cardiovascular disease: advances in vector development, targeting, and delivery for clinical translation [J]. *Cardiovasc Res*,2015,108(1):4-20.

收稿日期:2015-12-14 修回日期:2016-01-21

几种少见的风湿性疾病的血管表现

汪汉 综述

(成都市心血管病研究所 成都市第三人民医院心内科, 四川 成都 610031)

【摘要】一些常见的风湿免疫性疾病,如类风湿关节炎、干燥综合征以及特发性炎症性肌病常合并心血管损伤,这些心血管病变甚至是风湿病最常见的死亡因素。其他的一些不常见的风湿免疫性疾病,如成人 Still 病、未分化结缔组织疾病以及结节性脂膜炎等是否也合并了一些常见的心血管疾病,目前不得而知。现探讨以上几种少见的风湿病的血管表现。

【关键词】成人 Still 病; 未分化结缔组织病; 结节性脂膜炎; 心血管疾病

【中图分类号】R593.2;R54

【文献标志码】A

【DOI】10.16806/j.cnki.issn.1004-3934.2016.03.024

Cardiovascular Manifestations in Rare Rheumatic Diseases

WANG Han

(Department of Cardiology, The Third People's Hospital of Chengdu, Cardiovascular Disease Research Institute, Chengdu 610031, Sichuan, China)

【Abstract】Some common rheumatic diseases, such as rheumatoid arthritis, Sjogren's syndrome, and idiopathic inflammatory myopathies, often coexist with cardiovascular diseases, which also are the most common factors of death. However, whether other rheumatic diseases including adult-onset Still's disease, undifferentiated connective tissue disease and panniculitis, have the same features or not, is still unknown. Our paper aims to review the cardiovascular manifestations of these rare rheumatic diseases.

【Key words】Adult-onset Still's disease; Undifferentiated connective tissue disease; Nodular panniculitis; Cardiovascular disease

常见的一些风湿免疫性疾病,如类风湿关节炎、干燥综合征以及特发性炎症性肌病常合并循环系统

基金项目:国家自然科学基金(81300243);四川省医学科研青年创新课题(Q14013)

作者简介:汪汉(1979—),副主任医师,博士,主要从事自身免疫疾病的心脏研究。Email:7972348@qq.com