

肌球蛋白磷酸化靶向亚基家族与心血管疾病

赵文巧 朱柏俊 刘宇峰 曹明欣 邓凯 吴欣欣 吴华英
(湖南师范大学医学院,湖南长沙 410013)

【摘要】肌球蛋白磷酸化靶向亚基(MYPT)家族包含 5 个成员,MYPT 可通过其自身磷酸化影响肌球蛋白轻链磷酸酶(MLCP)活性与细胞功能,调控 Rho/ROCK 通路和 NO/cGMP/PKG 通路,从而在心血管疾病的发生发展中发挥重要作用。现就 MYPT 家族成员的结构、与细胞功能及信号通路的关系及其在心血管疾病中的作用机制进行综述,为心血管疾病的研究和治疗提供理论基础。

【关键词】肌球蛋白磷酸化靶向亚基;心血管疾病;Rho/ROCK 通路;NO/cGMP/PKG 通路

【DOI】10.16806/j.cnki.issn.1004-3934.2023.11.008

Myosin Phosphatase Targeting Subunit Family and Cardiovascular Disease

ZHAO Wenqiao, ZHU Bojun, LIU Yufeng, CAO Mingxin, DENG Kai, WU Xinxin, WU Huaying
(Hunan Normal University School of Medicine, Changsha 410013, Hunan, China)

【Abstract】 Myosin phosphatase targeting subunit (MYPT) family includes five members. They can influence the activity of myosin light chain phosphatase (MLCP) and cell function, regulating Rho/ROCK pathway and NO/cGMP/PKG pathway through their own phosphorylation, thus playing an important role in the occurrence and development of cardiovascular disease. This article reviews the structure of MYPT family members, their relationship with cell function and signaling pathways, and their mechanism of action in cardiovascular disease, so as to provide a theoretical basis for the research and treatment of cardiovascular disease.

【Key words】 Myosin phosphatase targeting subunit; Cardiovascular disease; Rho/ROCK pathway; NO/cGMP/PKG pathway

心血管疾病是全世界成人死亡的主要原因^[1]。血管平滑肌功能失调是多种心血管疾病发生发展的共同特点。肌球蛋白磷酸化靶向亚基(myosin phosphatase targeting subunit, MYPT)作为肌球蛋白轻链磷酸酶(myosin light chain phosphatase, MLCP)的靶向亚基,可通过磷酸化调控 MLCP 活性而影响肌球蛋白调节轻链(myosin regulatory light chain, MLC)的磷酸化,影响细胞功能,参与对血管平滑肌收缩与舒张过程的调节^[2]。已有研究表明 MYPT 家族参与多种心血管疾病的发生发展,如心脏肥大、心力衰竭、原发性高血压、冠心病、脑卒中等。了解 MYPT 家族在心血管疾病中的研究现状,有助于阐明疾病的发生机制,并为其治疗提供新思路。

1 MYPT 家族成员结构

MYPT 家族包括 5 个成员,分别是 MYPT1 (PPP1R12A)、MYPT2 (PPP1R12B)、MYPT3 (PPP1R16A)、MBS85 (PPP1R12C)、TIMAP (PPP1R16B)。有研究^[3-4]比较了 MYPT 家族 5 个成

员的序列,发现 MYPT 家族成员共享几个保守结构域,包括位于 N 端附近用于与蛋白磷酸酶 1 催化亚基(protein phosphatase 1 catalytic subunit, PP1c)结合的 RVxF 基序,以及紧随其后的几个锚蛋白重复序列。锚蛋白重复序列形成了一个与多种蛋白质结合的交互平台,包括底物磷酸化肌球蛋白。此外,还发现 MYPT1、MYPT2 和 MBS85 含有 C-末端亮氨酸拉链(leucine zipper, LZ)结构域,LZ 结构域在 NO/cGMP/PKG 通路对 MLCP 活性的调控中发挥重要作用^[5]。MYPT3 和 TIMAP 缺乏 LZ 结构域,但它们含有 1 个 C-末端 CAAX 盒,可将蛋白靶向到质膜上^[3]。MYPT 家族成员受各种蛋白激酶在多个位点的磷酸化调节。研究发现 Rho 相关激酶(Rho-related kinase, ROCK)通过催化 Thr696 和 Thr853 位点的磷酸化来调节 MYPT1^[6],这两个位点在 MYPT2 中是保守的,而在 MBS85 中只有 Thr696 对应的位点保守,在 TIMAP 和 MYPT3 中则没有发现这两个位点^[3]。

尽管 MYPT 家族成员之间有很多相似性,但它们

基金项目:湖南省自然科学基金青年项目(2022JJ40287);湖南省教育厅优秀青年项目(21B0081);湖南省中医药管理局资助项目(D2022027);长沙市自然科学基金资助项目(kq2202255);湖南师范大学大学生创新创业训练计划校级项目(2022115)

通信作者:吴华英, E-mail: 304163331@qq.com

的组织分布却有着一定的差异。MYPT1 主要在平滑肌中表达,而 MYPT2 主要在脑和横纹肌中表达。MBS85 是一种普遍表达的蛋白,它是强直性肌营养不良相关 Cdc42 结合激酶- α 的底物,介导了由 Cdc42 诱导的肌动蛋白重组^[7]。MYPT3 在心脏、大脑和肾等多个器官中表达,与其他成员不同的是,MYPT3 与 PP1c 结合会抑制后者对 MLC 的催化活性^[8]。TIMAP 是 MYPT 家族的内皮特异性成员,主要定位于内皮细胞的质膜上,并通过与非整合蛋白层粘连蛋白受体 1 和埃兹蛋白/根蛋白/膜突蛋白 (ezrin/radixin/moesin proteins,ERM 蛋白) 等的相互作用发挥广泛的生理功能^[9]。

2 MYPT 家族成员与细胞功能

2.1 细胞收缩

细胞收缩装置主要由肌动蛋白和肌球蛋白组成,此装置既依赖于 Ca^{2+} 又依赖于磷酸化,基础 Ca^{2+} 水平或 MLC 磷酸化状态的恢复会使收缩的肌肉恢复到非收缩状态。平滑肌收缩取决于细胞质内 Ca^{2+} 浓度的增加, Ca^{2+} 可与钙调蛋白结合,进而激活钙调蛋白依赖性肌球蛋白轻链激酶 (myosin light chain kinase, MLCK),使其磷酸化 MLC 的 Ser19 或 Thr18,磷酸化的 MLC 与肌动蛋白相互作用,从而导致平滑肌收缩^[10]。横纹肌收缩也涉及此机制,但不是其主导机制^[10]。

MLC 去磷酸化由 MLCP 介导。MLCP 是一个异源三聚体,由 PP1c、MYPT 和 M20 组成^[11]。PP1c 是一种丝氨酸/苏氨酸磷酸酶,是 MLCP 发挥作用的核心酶。MYPT 通过 RVxF 基序与 PP1c 结合,并将其特异性导向 MLC,从而赋予 MLCP 特异性^[2]。MYPT 的磷酸化会影响 PP1c 与 MLC 结合,从而调节 MLC 磷酸化水平,改变平滑肌舒缩状态。

2.2 细胞运动

细胞运动中最关键且必需的事件之一是 MLC 的循环磷酸化和激活^[12]。MLCK 或 ROCK 催化 MLC 磷酸化,从而激活肌球蛋白,使肌球蛋白能结合肌动蛋白并利用 ATP 产生运动。相反,MLCP 对 MLC 的去磷酸化则降低了肌球蛋白对肌动蛋白的亲和力。MYPT 通过调节 MLCP 活性影响 MLC 的磷酸化,从而参与调控细胞运动过程。

2.3 胞质分裂

收缩环是胞质分裂的重要结构,主要由肌动蛋白和肌球蛋白 II 装配而成。有研究^[13]通过比较过表达不可磷酸化的 MLC (T18A/S19A) 细胞和野生型 MLC 细胞,发现前者收缩环排列受阻,胞质分裂不完全,而野生型 MLC 细胞收缩环排列和胞质分裂均正常。这揭示 MLC Thr18/Ser19 的磷酸化对收缩环的正常排列

是重要的。MYPT 对 MLCP 活性的调节可影响 MLC 磷酸化,从而参与调控胞质分裂过程。

2.4 细胞骨架

细胞骨架参与细胞分裂和收缩等多种细胞功能。有研究^[14]通过测定一个网柄菌肌球蛋白缺陷突变体的细胞骨架组织和生理反应,发现其微管网络形态和分布异常,且细胞分裂等功能也存在异常。由此推测肌球蛋白可能与细胞骨架存在某种联系。随后有研究^[15]发现肌球蛋白 II 参与细胞骨架的组装,并在细胞骨架中与 F-肌动蛋白紧密结合,并通过 MLC Thr18/Ser19 的磷酸化来调节其功能。MYPT 可影响 MLC 的磷酸化,从而参与调控细胞骨架的组装和功能。

ERM 蛋白为跨膜蛋白和底层细胞骨架之间的接头,特殊位点的磷酸化可使其活化而发挥功能^[16]。研究^[17]发现 MLCP 可通过介导 ERM 蛋白的去磷酸化在细胞骨架中发挥调节作用。此外,MYPT 与微管相关蛋白 Tau 和微管相关蛋白 2 存在相互作用关系,提示 MYPT 可能调节微管动力学^[18]。

2.5 细胞黏附

研究^[19]发现,p-MYPT/MYPT 比值的增加会促进单核细胞-内皮细胞黏附,这表明 MYPT 可通过磷酸化调控单核细胞-内皮细胞黏附。此外,肌动蛋白细胞骨架可调节钙黏蛋白之间的相互作用,后者在调节细胞-细胞黏附中发挥重要作用^[20]。肌球蛋白对肌动蛋白细胞骨架至关重要,MYPT 通过调节 MLC 的磷酸化而影响其功能,从而影响肌动蛋白细胞骨架的正常形成及功能,并借此调节钙黏蛋白的相互作用而影响细胞-细胞黏附。

3 MYPT 家族成员与信号通路

3.1 Rho/ROCK 信号通路

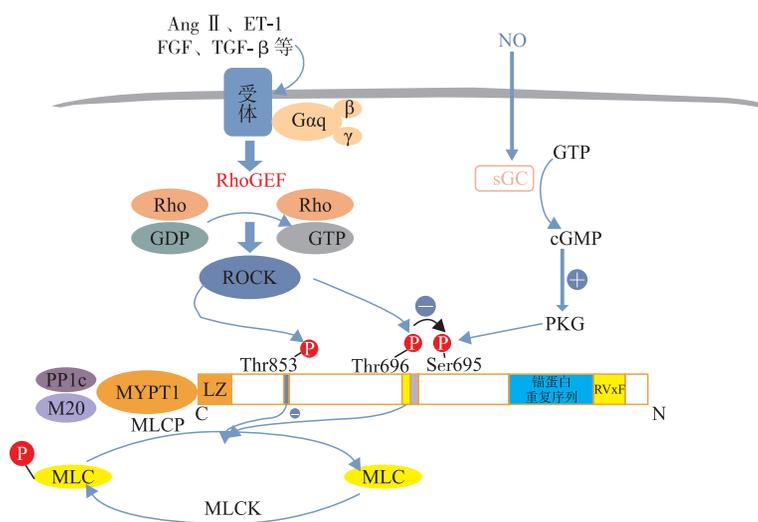
Rho 家族是鸟嘌呤核苷酸结合蛋白 RAS 超家族的组成部分,RhoA 是该家族中研究最多的一个。RhoA 及其下游靶标 ROCK 在细胞收缩、迁移等广泛的生理过程和 Rho/ROCK 信号通路中发挥重要作用^[21]。ROCK 是一种丝氨酸/苏氨酸激酶,有两种亚型,ROCK1 和 ROCK2^[22]。它们在体内普遍表达,ROCK1 在肝、脾、肾等非神经性组织中表达水平较高,而 ROCK2 主要在脑、肌肉和心脏中表达^[23]。RhoA/ROCK 通路的上游信号之一是血管紧张素 II 或其他多肽,如内皮素-1、成纤维细胞生长因子和转化生长因子- β 与细胞膜上的受体结合^[24],然后通过其受体 G 偶联蛋白来动员 Gq 蛋白的 G- α 亚单位 (G α q),从而激活 Rho-鸟嘌呤交换因子,以鸟苷三磷酸 (guanosine triphosphate,GTP) 取代鸟苷二磷酸^[25]。随后 GTP-Rho 通过与 ROCK 结构中的 Rho 结合结构域相互作用使 ROCK 激活^[26]。

ROCK 可磷酸化 MYPT1, 抑制 MLCP 的活性, 使 MLC 持续磷酸化, 从而参与调控肌球蛋白基础上的细胞收缩、黏附等一系列细胞功能^[27]。研究发现 Rho/ROCK 通路在许多病理生理过程中发挥重要作用, 如心力衰竭^[28]和动脉粥样硬化^[29]等。

3.2 NO/cGMP/PKG 通路

一氧化氮(nitric oxide, NO)是重要的血管内皮舒张因子, 其舒张血管作用主要是通过增加环磷酸鸟苷(cyclic guanosine monophosphate, cGMP)的产生, 进而激活 cGMP 依赖性蛋白激酶 G (protein kinase G, PKG) 而实现。PKG 如何实现对接管的调控? 研究^[30]发现, PKG 通过与 MYPT1 结合介导 MLCP 活化, 从而导致

Ca²⁺脱敏和血管舒张。MYPT1 亚基可通过 3' 端 31bp 外显子的选择性剪接, 生成不同的 C-末端 LZ 阳性(LZ⁺)或 LZ 阴性(LZ⁻)结构域^[31]。NO/cGMP/PKG 通路诱导的血管舒张与 MYPT1-LZ⁺/LZ⁻有关。当缺乏 LZ 结构域时, PKG 可与 MYPT1-LZ⁻结合, 但磷酸化和 Ca²⁺脱敏不会发生。当 LZ 表达时, NO 下游的 cGMP、PKG 和 MLCP 活性增加^[5]。这种效应需要 PKG1 α 磷酸化 MYPT1^[30]。PKG1 α 在 MYPT1 上的磷酸化位点主要是 Ser695, 此位点的磷酸化会干扰相邻 Thr696 的磷酸化, 从而消除磷酸化 Thr696 对 MLCP 的抑制, 重新激活 MLCP 并导致 Ca²⁺脱敏, 进而诱导平滑肌松弛^[32](见图 1)。



注: Ang II, 血管紧张素 II; ET-1, 内皮素-1; FGF, 成纤维细胞生长因子; TGF- β , 转化生长因子- β ; RhoGEF, Rho-鸟嘌呤交换因子; GDP, 鸟苷二磷酸; sGC, 可溶性鸟苷酸环化酶; PKG, 蛋白激酶 G。

图 1 MYPT1 磷酸化参与 Rho/ROCK 通路和 NO/cGMP/PKG 通路

4 MYPT 家族成员与心血管疾病

4.1 心脏肥大

心脏肥大多由主动脉狭窄和高血压等应激引起, 最初是一种保护性的代偿机制, 但持续和过度应激诱导的病理性心脏肥大是不利的, 并最终可能导致心力衰竭等严重后果。

研究^[33]表明 MLC 磷酸化可抑制心脏肥大。MLCK 家族由 MLCK-1、MLCK-2、MLCK-3 和 MLCK-4 组成^[34]。心肌 MLC 的磷酸化主要由 MLCK-3 即 cMLCK 调控, cMLCK 在心房和心室中高度且等水平表达, 且对培养物中分离的心肌细胞发挥正性肌力作用^[35]。此外, MLCK-4 也在心肌中表达^[36]。故心肌 MLC 磷酸化可由两种蛋白激酶来调节。

在心脏中, MYPT1 和 MYPT2 都表达, 但 MYPT2 比 MYPT1 表达更丰富^[37]。MYPT2 可调节 MLCP 活性, 影响 MLC 的去磷酸化, 从而调控心肌 MLC 的磷酸

化水平, 影响心脏肥大的发生发展。

4.2 心力衰竭

心力衰竭是由心排量减少不能满足机体需要而导致的一种临床综合征。研究^[38]表明心肌 MLC 磷酸化的变化在心力衰竭进展过程中发挥重要作用。MYPT2 作为心脏 MLCP 的靶向亚基, 可影响心肌 MLC 去磷酸化从而参与对心力衰竭的调控。

充血性心力衰竭是心力衰竭的一种常见类型, 其特征是血管收缩异常和对 NO 介导的血管舒张效应受损^[39]。MYPT1-LZ⁺亚型是 NO 发挥血管舒张效应的重要结构^[3]。研究^[39]表明, 心力衰竭患者对 NO 介导的血管舒张敏感性降低可部分归因于 MYPT1-LZ⁺亚型表达水平的降低。故临床上可使用调节 MYPT1-LZ⁺亚型表达的药物治疗, 如血管紧张素转化酶抑制剂在治疗心力衰竭上效果较好^[3]。

4.3 高血压

高血压是最常见的心血管疾病, 也是导致脑卒

中、冠心病等疾病的重要危险因素。高血压的一个重要特征是血管阻力增加,血管收缩增强。MYPT 可影响 MLC 的磷酸化水平,从而调控血管舒缩。

平滑肌的主要 MYPT 亚型是 MYPT1。ROCK 可磷酸化 MYPT1 的 Thr696、Thr853 位点而抑制 MLCP 活性,使 MLC 磷酸化水平增高。此外,ROCK 还可使蛋白激酶 C 磷酸酶抑制蛋白 17 (C-kinase-potentiated protein phosphatase 1 inhibitor of 17 kDa, CPI-17) 磷酸化^[40],磷酸化的 CPI-17 通过与 PP1c 结合来抑制 MLCP 活性^[41]。使用 Y27632 (ROCK 抑制剂) 阻断 ROCK 活性对多种实验性高血压大鼠均具有降血压作用^[42]。阻断 ROCK 活性可能成为高血压治疗的重要靶点。

4.4 冠心病

冠状动脉痉挛在多种缺血性心脏病的发病机制中起着重要作用,而痉挛的中心机制是血管平滑肌的过度收缩^[43]。MYPT1 可通过影响 MLC 磷酸化而参与调节血管平滑肌舒缩状态,在冠状动脉痉挛中发挥重要作用。

急性冠脉综合征是冠心病的一种严重类型,多由动脉粥样硬化斑块破裂伴血栓形成引起。研究^[44]表明,血小板活化并形成血栓是急性冠脉综合征发病的一个重要机制。血小板形态变化是血小板活化的早期事件,MLC 磷酸化以及与细胞骨架结合是触发血小板形态变化的主要原因^[45]。血小板中的 MYPT 亚型主要是 MYPT1。MYPT1 可影响 MLC 的磷酸化,调控血小板活化。

Rho/ROCK 通路在血小板活化过程中发挥重要作用^[46],此外,还参与内皮功能障碍的调节、炎症等,在动脉粥样硬化的发生发展中发挥重要作用^[29]。另有研究^[47]发现,ROCK 的抑制显著限制了喂食无胆酸盐高脂肪饮食的低密度脂蛋白受体敲除小鼠的早期动脉粥样硬化斑块的发展。这表明抑制 ROCK 是治疗动脉粥样硬化的潜在靶点。

4.5 脑卒中

缺血性脑卒中由大脑缺血缺氧而引起。小胶质细胞和 T 细胞等炎症细胞介导的神经炎症在缺血性脑卒中的发病机制中起重要作用^[48]。研究发现,ROCK 抑制剂 Fasudil 可抑制小胶质细胞分泌促炎因子^[49],且 ROCK 在 T 细胞的活化及跨内皮迁移等过程中发挥重要作用^[50]。此外,血小板 ROCK2 对血栓形成和稳定至关重要,是血栓栓塞性脑卒中的重要致病介质^[51]。MYPT 作为 Rho/ROCK 通路的主要下游靶标,参与 T 细胞跨内皮迁移^[50]、血小板活化等多个过程的调控,在脑卒中的发病过程中发挥重要作用。

5 结语

MYPT 家族成员在结构上存在相似性,但在组织分布上具有差异,MYPT 对 MLC 磷酸化在参与细胞收缩、细胞运动、细胞黏附等生物学过程中发挥重要作用,参与 Rho/ROCK 通路与 NO/cGMP/PKG 通路的调控。MYPT1 作为 ROCK 的主要下游靶标,是目前 MYPT 家族研究最为广泛的,参与许多心血管疾病如心脏肥大、心力衰竭及高血压等的发生发展,家族其他成员如 TIMAP 与心血管疾病的联系也有报道,但家族成员之间是否存在相互作用影响疾病的发生发展值得探讨。总之,MYPT 家族在心血管疾病中的功能表现,有望成为疾病防治的潜在靶标。

参考文献

- [1] Li Y, Cao GY, Jing WZ, et al. Global trends and regional differences in incidence and mortality of cardiovascular disease, 1990-2019: findings from 2019 global burden of disease study [J]. *Eur J Prev Cardiol*, 2023, 30(3): 276-286.
- [2] Pinheiro AS, Marsh JA, Forman-Kay JD, et al. Structural signature of the MYPT1-PP1 interaction [J]. *J Am Chem Soc*, 2011, 133(1): 73-80.
- [3] Grassie ME, Moffat LD, Walsh MP, et al. The myosin phosphatase targeting protein (MYPT) family: a regulated mechanism for achieving substrate specificity of the catalytic subunit of protein phosphatase type 1δ [J]. *Arch Biochem Biophys*, 2011, 510(2): 147-159.
- [4] Cohen PT. Protein phosphatase 1—Targeted in many directions [J]. *J Cell Sci*, 2002, 115(Pt 2): 241-256.
- [5] Ogut O, Brozovich FV. The potential role of MLC phosphatase and MAPK signalling in the pathogenesis of vascular dysfunction in heart failure [J]. *J Cell Mol Med*, 2008, 12(6A): 2158-2164.
- [6] Kimura K, Ito M, Amano M, et al. Regulation of myosin phosphatase by Rho and Rho-associated kinase (Rho-kinase) [J]. *Science*, 1996, 273(5272): 245-248.
- [7] Tan I, Ng CH, Lim L, et al. Phosphorylation of a novel myosin binding subunit of protein phosphatase 1 reveals a conserved mechanism in the regulation of actin cytoskeleton [J]. *J Biol Chem*, 2001, 276(24): 21209-21216.
- [8] Skinner JA, Saltiel AR. Cloning and identification of MYPT3: a prenylatable myosin targeting subunit of protein phosphatase 1 [J]. *Biochem J*, 2001, 356(Pt 1): 257-267.
- [9] Boratko A, Csontos C. TIMAP, the versatile protein phosphatase 1 regulator in endothelial cells [J]. *IUBMB Life*, 2017, 69(12): 918-928.
- [10] Kuo IY, Ehrlich BE. Signaling in muscle contraction [J]. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 2015, 7(2): a006023.
- [11] Alessi D, MacDougall LK, Sola MM, et al. The control of protein phosphatase-1 by targeting subunits. The major myosin phosphatase in avian smooth muscle is a novel form of protein phosphatase-1 [J]. *Eur J Biochem*, 1992, 210(3): 1023-1035.
- [12] Matsumura F, Hartshorne DJ. Myosin phosphatase target subunit: many roles in cell function [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2008, 369(1): 149-156.
- [13] Komatsu S, Yano T, Shibata M, et al. Effects of the regulatory light chain phosphorylation of myosin II on mitosis and cytokinesis of mammalian cells [J]. *J Biol Chem*, 2000, 275(44): 34512-34520.
- [14] Fukui Y, de Lozanne A, Spudich JA. Structure and function of the cytoskeleton of a Dictyostelium myosin-defective mutant [J]. *J Cell Biol*, 1990, 110(2): 367-378.
- [15] Kolega J, Kumar S. Regulatory light chain phosphorylation and the assembly of myosin II into the cytoskeleton of microcapillary endothelial cells [J]. *Cell Motil*

- Cytoskeleton, 1999, 43(3):255-268.
- [16] Fehon RG, McClatchey AI, Bretscher A. Organizing the cell cortex; the role of ERM proteins[J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2010, 11(4):276-287.
- [17] Kiss A, Erdödi F, Lontay B. Myosin phosphatase: unexpected functions of a long-known enzyme[J]. *Biochim Biophys Acta Mol Cell Res*, 2019, 1866(1):2-15.
- [18] Amano M, Kaneko T, Maeda A, et al. Identification of Tau and MAP2 as novel substrates of Rho-kinase and myosin phosphatase [J]. *J Neurochem*, 2003, 87(3):780-790.
- [19] Li H, Peng W, Jian W, et al. ROCK inhibitor fasudil attenuated high glucose-induced MCP-1 and VCAM-1 expression and monocyte-endothelial cell adhesion [J]. *Cardiovasc Diabetol*, 2012, 11:65.
- [20] Nelson WJ, Drees F, Yamada S. Interaction of cadherin with the actin cytoskeleton [J]. *Novartis Found Symp*, 2005, 269:159-168; discussion 168-177, 223-230.
- [21] Noma K, Oyama N, Liao JK. Physiological role of ROCKs in the cardiovascular system [J]. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2006, 290(3):C661-C668.
- [22] Hartmann S, Ridley AJ, Lutz S. The function of Rho-associated kinases ROCK1 and ROCK2 in the pathogenesis of cardiovascular disease [J]. *Front Pharmacol*, 2015, 6:276.
- [23] Seccia TM, Rigato M, Ravarotto V, et al. ROCK (RhoA/Rho kinase) in cardiovascular-renal pathophysiology: a review of new advancements [J]. *J Clin Med*, 2020, 9(5):1328.
- [24] Montezano AC, Nguyen Dinh Cat A, Rios FJ, et al. Angiotensin II and vascular injury [J]. *Curr Hypertens Rep*, 2014, 16(6):431.
- [25] Sánchez-Fernández G, Cabezedo S, García-Hoz C, et al. Gαq signalling: the new and the old [J]. *Cell Signal*, 2014, 26(5):833-848.
- [26] Shimizu T, Liao JK. Rho kinases and cardiac remodeling [J]. *Circ J*, 2016, 80(7):1491-1498.
- [27] Somlyo AP, Somlyo AV. Ca²⁺ sensitivity of smooth muscle and nonmuscle myosin II: modulated by G proteins, kinases, and myosin phosphatase [J]. *Physiol Rev*, 2003, 83(4):1325-1358.
- [28] Ocaranza MP, Jalil JE, Altamirano R, et al. Reverse remodeling in human heart failure after cardiac resynchronization therapy is associated with reduced RHO-kinase activation [J]. *Front Pharmacol*, 2021, 12:565724.
- [29] Rolfe BE, Worth NF, World CJ, et al. Rho and vascular disease [J]. *Atherosclerosis*, 2005, 183(1):1-16.
- [30] Surks HK, Mochizuki N, Kasai Y, et al. Regulation of myosin phosphatase by a specific interaction with cGMP-dependent protein kinase Ialpha [J]. *Science*, 1999, 286(5444):1583-1587.
- [31] Khatri JJ, Joyce KM, Brozovich FV, et al. Role of myosin phosphatase isoforms in cGMP-mediated smooth muscle relaxation [J]. *J Biol Chem*, 2001, 276(40):37250-37257.
- [32] Wooldridge AA, MacDonald JA, Erdodi F, et al. Smooth muscle phosphatase is regulated in vivo by exclusion of phosphorylation of threonine 696 of MYPT1 by phosphorylation of Serine 695 in response to cyclic nucleotides [J]. *J Biol Chem*, 2004, 279(33):34496-34504.
- [33] Huang J, Shelton JM, Richardson JA, et al. Myosin regulatory light chain phosphorylation attenuates cardiac hypertrophy [J]. *J Biol Chem*, 2008, 283(28):19748-19756.
- [34] Kamm KE, Stull JT. Signaling to myosin regulatory light chain in sarcomeres [J]. *J Biol Chem*, 2011, 286(12):9941-9947.
- [35] Chan JY, Takeda M, Briggs LE, et al. Identification of cardiac-specific myosin light chain kinase [J]. *Circ Res*, 2008, 102(5):571-580.
- [36] Chang AN, Mahajan P, Knapp S, et al. Cardiac myosin light chain is phosphorylated by Ca²⁺/calmodulin-dependent and -independent kinase activities [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2016, 113(27):E3824-E3833.
- [37] Lee E, Liu Z, Nguyen N, et al. Myosin light chain phosphatase catalytic subunit dephosphorylates cardiac myosin via mechanisms dependent and independent of the MYPT regulatory subunits [J]. *J Biol Chem*, 2022, 298(9):102296.
- [38] Markandran K, Yu H, Song W, et al. Functional and molecular characterisation of heart failure progression in mice and the role of myosin regulatory light chains in the recovery of cardiac muscle function [J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 23(1):88.
- [39] Chen FC, Ogut O, Rhee AY, et al. Captopril prevents myosin light chain phosphatase isoform switching to preserve normal cGMP-mediated vasodilatation [J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2006, 41(3):488-495.
- [40] Kitazawa T, Eto M, Woodsome TP, et al. Agonists trigger G protein-mediated activation of the CPI-17 inhibitor phosphoprotein of myosin light chain phosphatase to enhance vascular smooth muscle contractility [J]. *J Biol Chem*, 2000, 275(14):9897-9900.
- [41] Eto M, Kitazawa T, Brautigan DL. Phosphoprotein inhibitor CPI-17 specificity depends on allosteric regulation of protein phosphatase-1 by regulatory subunits [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2004, 101(24):8888-8893.
- [42] Uehata M, Ishizaki T, Satoh H, et al. Calcium sensitization of smooth muscle mediated by a Rho-associated protein kinase in hypertension [J]. *Nature*, 1997, 389(6654):990-994.
- [43] Shimokawa H. 2014 Williams Harvey Lecture: importance of coronary vasomotion abnormalities—From bench to bedside [J]. *Eur Heart J*, 2014, 35(45):3180-3193.
- [44] Freynhofer MK, Bruno V, Wojta J, et al. The role of platelets in atherothrombotic events [J]. *Curr Pharm Des*, 2012, 18(33):5197-5214.
- [45] Fox JE. The platelet cytoskeleton [J]. *Thromb Haemost*, 1993, 70(6):884-893.
- [46] Kiss E, Murányi A, Csontos C, et al. Integrin-linked kinase phosphorylates the myosin phosphatase target subunit at the inhibitory site in platelet cytoskeleton [J]. *Biochem J*, 2002, 365(Pt 1):79-87.
- [47] Mallat Z, Gojova A, Sauzeau V, et al. Rho-associated protein kinase contributes to early atherosclerotic lesion formation in mice [J]. *Circ Res*, 2003, 93(9):884-888.
- [48] Jin R, Yang G, Li G. Inflammatory mechanisms in ischemic stroke: role of inflammatory cells [J]. *J Leukoc Biol*, 2010, 87(5):779-789.
- [49] Ding J, Li QY, Wang X, et al. Fasudil protects hippocampal neurons against hypoxia-reoxygenation injury by suppressing microglial inflammatory responses in mice [J]. *J Neurochem*, 2010, 114(6):1619-1629.
- [50] Shimada H, Rajagopalan LE. Rho kinase-2 activation in human endothelial cells drives lysophosphatidic acid-mediated expression of cell adhesion molecules via NF-κB p65 [J]. *J Biol Chem*, 2010, 285(17):12536-12542.
- [51] Sladojevic N, Oh GT, Kim HH, et al. Decreased thromboembolic stroke but not atherosclerosis or vascular remodelling in mice with ROCK2-deficient platelets [J]. *Cardiovasc Res*, 2017, 113(11):1307-1317.

收稿日期:2023-04-11