

- [14] Sacks FM, Alaupovic P, Moye LA, et al. VLDL, apolipoproteins B, CⅢ, and E, and risk of recurrent coronary events in the Cholesterol and Recurrent Events (CARE) trial[J]. *Circulation*, 2000, 102(16):1886-1892.
- [15] Jensen MK, Rimm EB, Furtado JD, et al. Apolipoprotein C-Ⅲ as a potential modulator of the association between HDL-cholesterol and incident coronary heart disease[J]. *J Am Heart Assoc*, 2012, 1(2). pii: jah3-e000232.
- [16] Riwayanto M, Rohrer L, Roschitzki B, et al. Altered activation of endothelial anti- and proapoptotic pathways by high-density lipoprotein from patients with coronary artery disease: role of high-density lipoprotein-proteome remodeling [J]. *Circulation*, 2013, 127(8):891-904.
- [17] Mendivil CO, Rimm EB, Furtado J, et al. Low-density lipoproteins containing apolipoprotein C-Ⅲ and the risk of coronary heart disease [J]. *Circulation*, 2011, 124(19):2065-2072.
- [18] Graham MJ, Lee RG, Bell TA, et al. Antisense oligonucleotide inhibition of apolipoprotein C-Ⅲ reduces plasma triglycerides in rodents, nonhuman primates, and humans[J]. *Circ Res*, 2013, 112(11):1479-1490.
- [19] Gaudet D, Brisson D, Tremblay K, et al. Targeting APOC3 in the familial chylomicronemia syndrome[J]. *N Engl J Med*, 2014, 371(23):2200-2206.
- [20] Gaudet D, Alexander VJ, Baker BF, et al. Antisense inhibition of apolipoprotein C-Ⅲ in patients with hypertriglyceridemia [J]. *N Engl J Med*, 2015, 373(5):438-447.

收稿日期:2015-03-27

蛋白质组学在心肌梗死中的研究进展

王铁华¹ 郑景辉² 综述 莫云秋² 审校

(1. 广西中医药大学, 广西 南宁 530001; 2. 广西中医药大学附属瑞康医院, 广西 南宁 530011)

Research Progress of Proteomics in Myocardial Infarction

WANG Tiehua¹, ZHENG Jinghui², MO Yunqiu²

(1. *Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530001, Guangxi, China*; 2. *Ruikang Hospital Affiliated to Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530011, Guangxi, China*)

文章编号:1004-3934(2015)05-0616-04

中图分类号:R541.4

文献标志码:A

DOI:10.3969/j.issn.1004-3934.2015.05.024

摘要: 心肌梗死是一种高致残率和致死率的疾病之一。其机制的初步探明已经为疾病的预防、诊断、药物靶点和治疗提供一些重要的信息,但更深层次的分子机制未明。该研究概述了动物模型与人类的心肌梗死组织蛋白质组学的研究进展,以及动物模型与人类的心肌梗死血清蛋白质组学的研究进展,并就心肌梗死蛋白质组学存在的问题以及发展方向进行探讨。

关键词: 心肌梗死;蛋白质组学;组织;血液

Abstract: Myocardial infarction is a high morbidity and mortality disease. Its molecular mechanisms have initially provided important information for disease detection, diagnosis and rehabilitation, however, its mechanism is unknown at a deeper level. This study summarized the research progress of the animal model with human myocardial infarction tissue proteomics. As well the animal model with human myocardial infarction blood serum proteomics and existing problems and development direction in myocardial infarction proteomics were discussed.

Key words: myocardial infarction; proteomics; tissue; blood

蛋白质组的概念是由澳大利亚学 Wilkins 等^[1]于 1994 年提出。通过蛋白质组学研究,比较正常和病理情况下细胞或组织中蛋白质在表达位置、表达数量和修饰状态上的差异可以发现与病理改变有关的差异蛋白质和疾病特异性蛋白质,这些蛋白质即可为疾病

发病机制提供线索,也可作为疾病诊断的分子标记,还可作为治疗和药物开发的靶标^[2]。国内外已经有很多学者将蛋白质组学应用于临床疾病的相关研究,心肌病等方面的研究已成为热点之一。蛋白质组学技术也正逐步由传统的二维电泳(Z-DE)技术向高通

基金项目: 国家自然科学基金(81360535);广西科学研究与技术开发计划项目(桂科合 1347004-26);广西自然科学基金课题(2013GXNSFAA019126)

作者简介: 王铁华(1989—),硕士,主要从事冠心病介入治疗的研究。Email: visaly520@163.com

通信作者: 莫云秋,主任医师,硕士,主要从事心血管疾病预防研究。Email: moyq3785@126.com

量和高灵敏度的质谱分析(mass spectrometry, MS)技术过渡。蛋白质组学技术的发展为心肌梗死疾病的生化标志物、发病机制、早期诊断、疗效监测、药物治疗靶点、耐药性机制、疾病动物模型研制、生物以及免疫治疗等研究提供强有力的武器。

1 组织蛋白质组学在心肌梗死疾病中的研究

1.1 心肌梗死动物模型的蛋白质组学研究

小鼠是研究心肌梗死病理学最理想的动物模型。通过对小鼠左心室缺血的组织用 2-DE 进行分离,结果心肌缺血组有 20 个蛋白质点表达水平改变,缺血再灌注组有 4 个蛋白质点表达水平改变;同时运用基质辅助激光解析电离(MALDI)技术测定鉴定后分为炎症相关蛋白、抗凝蛋白、结构蛋白、转录蛋白、热休克蛋白等。其持续心肌缺血与缺血再灌注 2 种模型中的蛋白质组被阐明^[3]。为了补充动物模型,对发生缺血-再灌注损伤兔子的的心脏组织进行蛋白质组学研究分析,有 57 个蛋白质点改变被发现,其中大部分如乳酸脱氢酶、NADH 辅酶氧化还原酶、热休克蛋白 27、热休克蛋白 70、aATP 合酶及 QB-晶状球蛋白等发生了翻译后修饰研究发现,这些发生修饰改变的蛋白质可以在心肌损伤早期被检测,同时起到预测作用^[4]。同样,用 2-DE 分离小型猪的蛋白提取液,采用 PDQuest 软件对比分析了正常与梗死心肌组织在 pH = 5 ~ 8 范围内的 2-DE 谱图。在正常与梗死心肌组织中有 49 个蛋白点在表达量上有显著性变化,MS 其中 11 个蛋白点,这些差异表达蛋白可能与心肌梗死有关^[5]。Chen 等^[6]报道利用 2-DE 和质谱串联技术(LC-MS/MS)检测鼠缺血心肌蛋白,发现线粒体乙醛脱氢酶(aldehydedehydrogenase 2, ALDH2),磷酸化的 ALDH2 为激活态,能保护心肌和减少心肌的缺血损伤。国内学者张翠丽等^[7]利用蛋白质双向凝胶电泳技术,从蛋白质组水平分析心肌梗死早期基因表达变化谱,2-DE 结果表明:心肌梗死后,大量基因表达发生变化,检测出超过 50 个差异蛋白点,有 7 个蛋白点灰度扫描差异 > 80%,其中 Spot3602 和 Spot4501 是两个显著下调蛋白。心肌梗死后重塑病因学与组织变化已经阐明^[8],心肌重塑是一个动态的生物过程,其分子机制仍不明确^[9]。通过对永久大鼠心肌梗死模型点(梗死后分别于 0、1、4 及 10 点)取材,确定了 96 个差异蛋白质点,生物信息学分析显示,在每个模式中的蛋白质在功能上相关的特定细胞过程,如局部缺血、炎症和增殖^[10]。

1.2 人类心肌梗死标本的蛋白质组学研究

针对心肌组织的蛋白质组学检测能够得到心肌损伤不同部位、不同程度、不同时间下的蛋白谱差异,从而为心肌梗死的特异性诊断、差异化治疗以及预后

评估提供临床指导策略^[11]。然而,在临床实践中,获取人心肌组织的难度极大,迄今为止关于心肌组织蛋白质组学的研究报道极少。Bagnato 等^[12]学者成功应用激光捕获显微切割技术获取人冠状动脉斑块组织后,再利用 LC-MS/MS 对斑块组织进行蛋白质组学分析,发现了 806 个与冠状动脉粥样硬化相关蛋白。提供了人类冠状动脉粥样硬化的第一次大规模蛋白质组学图谱。其中骨膜蛋白、色素上皮衍生因子、膜链蛋白 1 被免疫组化方法所证实。至今人类心肌梗死组织蛋白质组学的研究仍是瓶颈,Kakimoto 等^[13]的研究中收集了因心肌梗死去世 7 h 患者的心脏组织样品,用激光显微切割。用分析色谱-串联质谱法分析蛋白。结果显示患者和对照组之间 21 个蛋白显著差异。除了已知的生物标志物,Sorbin 和 SORBS2 在梗死心肌明显降低。心肌组织免疫组化分析确认了下降。急性心肌梗死时 SORBS2 从心肌细胞释放。SORBS2 对早期判断心肌梗死具有重大意义。随着人体本质即蛋白质组被逐渐深入剖析,人类心肌梗死标本的组织蛋白质组学研究道路虽然崎岖但前景光明。

2 血液蛋白质组学在心肌梗死疾病中的研究

2.1 心肌梗死动物模型的血液蛋白质组学研究

随着蛋白质组技术的发展,有研究采用荧光差异蛋白电泳(2D-DIGE)、MALDI-TOF/TOF-MS 技术对心肌缺血大鼠血浆进行差异蛋白质组学研究,发现 PDA3、HSP60、EF-TU 等蛋白点。在心肌缺血时 HSP60 增加,缺血再灌注后下降。然而在心肌缺血时 EF-TU 增加,但再灌注后并没有减少^[14]。刘蕾等^[15]发表了对模型动物小型猪施行冠状动脉 Ameroid 环缩术的操作,进行动物前腔静脉取血,血样处理后进行 2D-DIGE,对差异蛋白点进行 MALDI-TOF/TOF 分析,获取蛋白样品的肽质量指纹图。筛选出 31 个差异表达蛋白质点,对其中 15 个蛋白点采用质谱技术成功鉴定。初步发现了白蛋白、血红素蛋白、烟酸受体、重链恒定区 4(CH4) and secrete domain of Swine IgM、突变免疫球蛋白重链(mutated immune globulin heavy chain)、肌球蛋白、磷脂酶 C、白细胞抗原相关酪氨酸磷酸酶相关蛋白、磷酸核糖焦磷酸相关蛋白 1、免疫球蛋白-γ-4 链恒定区(Ig gamma 4 chain constant region)在心肌缺血小型猪模型血浆中存在差异表达。同时利用双向凝胶电泳和基质辅助激光解析/电离-飞行时间质谱(MALDI-TOF)对心肌进行蛋白质组学研究,通过对中华小型猪冠状动脉放置 Ameriod 缩窄环,模型组动物与假手术组相比,明显的下调蛋白点有 5 个,明显的上调蛋白 8 个,并对双向电泳中检出的差异蛋白进行 r TOF-TOF 质谱鉴定。其中热休克蛋白 27、心肌

肌钙蛋白、肌球蛋白、过氧化物酶在数据库检索时找到了在可信区间的匹配蛋白^[16]。

2.2 人类心肌梗死标本的血液蛋白质组学研究

血浆蛋白质组学可能是心肌梗死研究中最合适、最快速的途径,也是最有可能将蛋白质组学成果转化为临床应用的途径。目前,蛋白质组学的研究方法已经应用到血小板、红细胞、单核细胞的蛋白质组学研究,同时已经初步阐明急性冠状动脉综合征的蛋白表达谱^[17-18]。国内学者利用 IMAC3-Cu 芯片对急性心肌梗死病程不同时期患者血清进行蛋白质对比分析,结果证明血清中质荷比 4~12 kD ($\approx 0.4 \sim 1.2 \times 10^4$) 之间的 10 种蛋白质相对含量在 7 组间有明显改变和显著差异,其中以 5 种蛋白质合为一组可作为特异性生物标志物之一^[19]。迄今为止,所有的心肌梗死蛋白质组学研究的标本均为静脉注射^[20]、股动脉、颈动脉或主动脉^[21]。虽然冠状动脉血栓的发生是心血管病发生和死亡的最大危险因素,但因其发病迅速、取材困难,迄今为止还未广泛用于蛋白质组学研究中。第一个关于人类冠状动脉的蛋白质组学研究极为简单,利用健康和疾病的冠状动脉进行 2-DE,并对胶银染,在冠状动脉中发现铁蛋白轻链增加^[22]。近几年,由于理论与实验技术的发展与成熟,比如蛋白质组学技术,利用 LC-MS/MS 对急性心肌梗死患者斑块破裂处的血浆进行蛋白质组学分析,并与股动脉鞘处的血浆蛋白质组学检测结果比对,发现斑块破裂处血浆中色素上皮衍生因子低表达与基质金属蛋白酶 9 高表达^[23]。同时,人类冠状动脉血栓的 708 个蛋白质被 3 种方法鉴定出来,其中有 138 个蛋白为心肌梗死冠状动脉血栓的核心蛋白,DIDO1 蛋白与血栓纤维蛋白呈负相关^[24]。Erog-bogbo 等^[25]的研究采集接受心肌梗死后经皮冠状动脉介入术患者的冠状静脉窦、主动脉和股静脉血液样本,使用 GC-MS 代谢组学进行分析和 iTRAQ (LC-MS/MS) 的蛋白质组学研究。研究发现有 13 个蛋白表达显著,包括 CD44,标记再灌注损伤^[25]。Vélez 等^[26]通过 2D-DIGE 和质谱技术对 ST 段抬高型心肌梗死和稳定性冠状动脉疾病患者血小板微泡膜进行蛋白质组学分析。117 个差异蛋白被鉴定出,有些蛋白质参与血栓形成(比如 $\alpha 2$ -巨球蛋白和纤维蛋白原),其中 25 个开放阅读框(ORF)参与炎症反应和心血管疾病,11 个 ORF 与梗死密切相关,并且 ST 段抬高型心肌梗死患者微泡膜 $\alpha 2$ -巨球蛋白、纤维蛋白原、毒素增加。

3 小结与展望

随着蛋白质组学的快速发展,研究者们从动物模

型和人类所获的心肌梗死血清与组织标本中,鉴定出了大量的差异蛋白。这些差异蛋白对探讨心肌梗死疾病的生化标志物、发病机制、早期诊断、疗效监测、药物治疗靶点、耐药性机制、疾病动物模型研制、生物以及免疫治疗等研究提供理论与实验依据。但仍存在一些问题需要解决。首先,由于取材困难,样本量相对较少,人类模型一直是研究心肌梗死的瓶颈。其次,在比较蛋白质组研究中,有时能发现一些量上明显增多或减少的蛋白质,但是这些蛋白质在细胞内的定位及功能并不明确,需要有一种能特异拣出特定蛋白质的方法。另外,心肌梗死是一种涉及多种蛋白、细胞和组织异常的复杂疾病病理过程。尽管人们已经利用分离心肌梗死组织进行蛋白质组学研究,然而这种组织分离技术还是不够精细。更精细的组织分离技术结合蛋白质组学是研究心肌梗死机制的方向之一。与此同时,组织细胞与血清中个别蛋白质丰度较低、灵敏度较低、研究方法学通量不大等问题需要蛋白质组学技术的发展。最后,由于人体心肌梗死的形成过程长远,这些蛋白质在不同时刻和不同部位以不同水平制造与变化,这一过程中起关键作用标志性功能蛋白组群难以捕捉,其动态演变规律更难以跟踪,这一直是研究心肌梗死预警研究的瓶颈。

[参考文献]

- [1] Wilkins MR, Sanchez JC, Gooley AA, et al. Progress with proteome projects: why all proteins expressed by a genome should be identified and how to do it [J]. *Biotechnol Genet Eng Rev*, 1996, 13: 19-50.
- [2] Oda Y, Nagasu T, Chait BT. Enrichment analysis of phosphorylated proteins as a tool for probing the phosphoproteome [J]. *Nat Biotechnol*, 2001, 19(4): 379-382.
- [3] de Celle T, Vanrobaeys F, Lijnen P, et al. Alterations in mouse cardiac proteome after in vivo myocardial infarction: permanent ischaemia versus ischaemia reperfusion [J]. *Exp Physiol*, 2005, 90(4): 593-606.
- [4] White MY, Cordwell SJ, McCarron HC, et al. Proteomics of ischemia/reperfusion injury in rabbit myocardium reveals alterations to proteins of essential functional systems [J]. *Proteomics*, 2005, 5(5): 1395-1410.
- [5] 赵艳峰,叶能胜,张荣利,等. 中国小型猪心肌梗死模型的比较蛋白质组学研究 [J]. *高等学校化学学报*, 2006, 27(8): 1467-1471.
- [6] Chen CH, Budas GR, Churchill EN, et al. Activation of aldehyde dehydrogenase-2 reduces ischemic damage to the heart [J]. *Science*, 2008, 321(5895): 1493-1495.
- [7] 张翠丽,许玲,王波,等. 大鼠心肌梗死后差异蛋白质组学分析 [J]. *现代生物医学进展*, 2011, 11(2): 230-232.
- [8] Dorn GW. Apoptotic and non-apoptotic programmed cardiomyocyte death in ventricular remodelling [J]. *Cardiovasc Res*, 2009, 81(3): 465-473.
- [9] Hori M, Nishida K. Oxidative stress and left ventricular remodeling after myocardial infarction [J]. *Cardiovasc Res*, 2008, 81: 457-464.
- [10] Xiang F, Shi Z, Guo X, et al. Proteomic analysis of myocardial tissue from the border zone during early stage post-infarct remodelling in rats [J]. *Eur J Heart Fail*, 2011, 13(3): 254-263.

- [11] Langley SR, Dwyer J, Drozdov I, et al. Proteomics: from single molecules to biological pathways[J]. *Cardiovasc Res*, 2013, 97(4): 612-622.
- [12] Bagnato C, Thumar J, Mayya V, et al. Proteomics analysis of human coronary atherosclerotic plaque: a feasibility study of direct tissue proteomics by liquid chromatography and tandem mass spectrometry[J]. *Mol Cell Proteomics*, 2007, 6(6): 1088-1102.
- [13] Kakimoto Y, Ito S, Abiru H, et al. Sorbin and SH3 domain-containing protein 2 is released from infarcted heart in the very early phase: proteomic analysis of cardiac tissues from patients[J]. *J Am Heart Assoc*, 2013, 2(6): e000565.
- [14] Sakai J, Ishikawa H, Kojima S, et al. Proteomic analysis of rat heart in ischemia and ischemia-reperfusion using fluorescence two-dimensional difference gel electrophoresis[J]. *Proteomics*, 2003, 3(7): 1318-1324.
- [15] 刘蕾, 王伟, 宋剑南, 等. 心肌梗死小型猪模型差异蛋白质组学研究[J]. 南京医科大学学报: 自然科学版, 2009, 29(4): 459-463.
- [16] 王勇, 吸文静, 郭淑贞, 等. 基于小型猪冠心病心肌缺血模型的血瘀证蛋白质组学研究[J]. 北京中医药大学学报, 2011, 34(7): 460-464.
- [17] Barderas MG, Tuñón J, Dardé VM, et al. Circulating human monocytes in the acute coronary syndrome express a characteristic proteomic profile[J]. *J Proteome Res*, 2007, 6(2): 876-886.
- [18] Parguina AF, Grigorian-Shamajian L, Agra RM, et al. Proteins involved in platelet signaling are differentially regulated in acute coronary syndrome: a proteomic study[J]. *PLoS One*, 2010, 5(10): e13404.
- [19] 高春芳, 郑国宝, 赵光, 等. 急性心肌梗死病程不同时期患者血清蛋白质组学分析[J]. 解放军医学杂志, 2005, 30(6): 465-466.
- [20] Guo W, Xue J, Shi J, et al. Proteomics analysis of distinct portal vein tumor thrombi in hepatocellular carcinoma patients[J]. *J Proteome Res*, 2010, 9(8): 4170-4175.
- [21] Martinez-Pinna R, Madrigal-Matute J, Tarin C, et al. Proteomic analysis of intraluminal thrombus highlights complement activation in human abdominal aortic aneurysms[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2013, 33(8): 2013-2020.
- [22] You SA, Archacki SR, Angheloiu G, et al. Proteomic approach to coronary atherosclerosis shows ferritin light chain as a significant marker: evidence consistent with iron hypothesis in atherosclerosis[J]. *Physiol Genomics*, 2003, 13(1): 25-30.
- [23] Distelmaier K, Adlbrecht C, Jakowitsch J, et al. Proteomic profiling of acute coronary thrombosis reveals a local decrease in pigment epithelium-derived factor in acute myocardial infarction[J]. *Clin Sci*, 2012, 123(2): 111-119.
- [24] Alonso-Organ S, Moreno-Luna R, López JA, et al. Proteomic characterization of human coronary thrombus in patients with ST-segment elevation acute myocardial infarction[J]. *J Proteomics*, 2014, 109: 368-381.
- [25] Erogbogbo F, May J, Swihart M, et al. Bioengineering silicon quantum dot theranostics using a network analysis of metabolomic and proteomic data in cardiac ischemia[J]. *Theranostics*, 2013, 3(9): 719-728.
- [26] Vélez P, Parguina AF, Ocaranza-Sánchez R, et al. Identification of a circulating microvesicle protein network involved in ST-elevation myocardial infarction[J]. *Thromb Haemost*, 2014, 112(4): 716-726.

收稿日期: 2015-03-27

他汀类药物致新发糖尿病机制的研究进展

张磊 综述 何飞 审校

(郑州大学第一附属医院心内科, 河南 郑州 450052)

Progress in Research of Mechanism of New-onset Diabetes Mellitus Induced by Statins

ZHANG Lei, HE Fei

(Department of Cardiology, The First Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou 450052, Henan, China)

文章编号: 1004-3934(2015)05-0619-04

中图分类号: R972⁺.6; R587.1

文献标志码: A

DOI: 10.3969/j.issn.1004-3934.2015.05.025

摘要: 大量的临床实验结果证实, 他汀类药物不仅能大幅度降低胆固醇, 还可以显著减少心血管事件, 如心绞痛、心肌梗死、冠心病死亡等。然而, 近期的临床研究提示他汀类药物可以增加患者新发糖尿病的风险, 他汀类药物与新发糖尿病的关系引起广泛关注。目前, 他汀类药物引发糖尿病的具体机制仍不清楚。现对近年来有关他汀类药物引发糖尿病的机制研究进展予以综述。

关键词: 他汀类药物; 糖尿病; 机制

Abstract: A series of large-scale clinical trials have shown that statins can not only greatly reduce cholesterol, but also significantly reduce cardiovascular events, such as angina pectoris, myocardial infarction and coronary heart disease death. However, some recent clinical

基金项目: 河南省卫生科技创新型人才工程中青年科技创新人才项目(201403029); 河南省医学科技攻关计划(201403030)

作者简介: 张磊(1989—), 在读硕士, 主要从事冠心病及心力衰竭研究。Email: zdyxyzhanglei@sina.com

通信作者: 何飞(1971—), 医学博士后, 副主任医师, 主要从事心脏电生理及心力衰竭研究。Email: hefaihn71@sina.com