

# 内皮素-1 促进慢性心功能衰竭进展机制研究

孙硕<sup>1</sup> 毛露<sup>2</sup> 史晓悦<sup>1</sup> Dirk Hermann<sup>3</sup> 陈艾东<sup>1,3</sup>

(1. 南京医科大学心血管病靶向干预重点实验室, 江苏 南京 211166; 2. 东南大学附属中大医院, 江苏 南京 210096; 3. 杜伊斯堡-埃森大学神经生物学研究中心, 德国 埃森 45122)

**【摘要】**内皮素-1 是一种 21 个氨基酸的肽, 为目前发现的最强的血管收缩和升压物。慢性心功能衰竭时, 内皮素-1 浓度升高, 其对心肌细胞具有直接毒性、强烈的正性肌力作用、致使心肌细胞肥大活性和诱导室性心律失常等效应, 参与慢性心功能衰竭的恶化进展。内皮素-1 通过激活两种受体亚型内皮素-1<sub>A</sub> 和内皮素-1<sub>B</sub> 受体起作用, 这两种受体亚型根据细胞类型与各种 GTP 结合蛋白偶联, 发挥相应的生物学效应。内皮素-1 拮抗剂有望成为慢性心功能衰竭治疗新靶点。现就内皮素-1 促进慢性心功能衰竭进展机制做一综合阐述, 旨在为本病的治疗梳理出新的治疗靶点。

**【关键词】**内皮素-1; 慢性心功能衰竭; 受体拮抗剂

**【DOI】**10.16806/j.cnki.issn.1004-3934.2019.06.022

## Mechanism of Endothelin-1 in Promoting Progression of Chronic Heart Failure

SUN Shuo<sup>1</sup>, MAO Lu<sup>2</sup>, SHI Xiaoyue<sup>1</sup>, Dirk Hermann<sup>3</sup>, CHEN Aidong<sup>1,3</sup>

(1. *Key Laboratory of Targeting Interventions for Cardiovascular Diseases, Nanjing Medical University, Nanjing 211166, Jiangsu, China*; 2. *Zhongda Hospital Affiliated to Southeast University, Nanjing 210096, Jiangsu, China*; 3. *Center for Neurobiology, Duisburg-Essen University, Essen 45122, Germany*)

**【Abstract】** Endothelin-1 (ET-1) is a 21 amino acid peptide that is the strongest vasoconstrictor and booster pressor substance found so far. In chronic heart failure, the concentration of ET-1 increased, which is directly toxic to cardiomyocytes, and causes strong positive inotropic effects. It can cause cardiomyocyte hypertrophy, induce ventricular arrhythmia, and participate in chronic cardiac dysfunction. ET-1 acts by activating two receptor subtypes, ET<sub>A</sub> and ET<sub>B</sub> receptors, which are conjugated to various GTP-binding proteins depending on the cell type, exerting corresponding biological effects. ET-1 antagonists are expected to become new drug targets for the treatment of chronic heart failure. In this paper, a comprehensive review on the progress of ET-1 in promoting the progression of chronic heart failure is aimed at combing a new therapeutic target for the treatment of this disease.

**【Key words】** Endothelin-1; Chronic heart failure; Receptor antagonist

内皮素-1 (ET-1) 相对分子质量为 2 491.9, 具有游离氨基和羧基末端, 以及两个二硫键。在最初的分离后, ET-1 已被证明存在于许多哺乳动物中, 包括人类。虽然血管内皮细胞是 ET-1 的主要来源, 但心肌细胞、血管平滑肌细胞、肾小管上皮细胞和神经胶质细胞等均可产生, 提示 ET-1 可以独立参与各种器官的复杂调节机制<sup>[1-2]</sup>。ET-1 的受体存在两种亚型, 即 ET<sub>A</sub> 和 ET<sub>B</sub> 受体<sup>[3-4]</sup>, 其发现促进 ET 受体拮抗剂的发展; 反之, ET-1 受体拮抗剂的开发加速了研究 ET-1 确切

生理和病理生理学作用的速度。本文将系统探讨 ET-1 生物合成的分子特征、受体、受体激活后的细胞内信号转导过程, 描述 ET-1 的病理生理学意义和其参与慢性心功能衰竭进展的分子机制。

### 1 ET-1 受体和信号传导

ET<sub>A</sub> 和 ET<sub>B</sub> 受体, 均可通过 GTP 结合蛋白与磷脂酶 C 偶联<sup>[5]</sup>。磷脂酶 C 的活化引起磷脂酰肌醇水解和肌醇 1,4,5-三磷酸 (IP<sub>3</sub>) 的快速形成, 以及 1,2-二酰基甘油的持续积累。IP<sub>3</sub> 是重要的细胞内信号分

基金项目: 国家自然科学基金面上项目 (31571168, 30870908, 81571246); 国家公派留学基金 (20173059)

通讯作者: 陈艾东, E-mail: aidongchen@njmu.edu.cn

子, 其刺激细胞内储存物(包括内质网)释放  $\text{Ca}^{2+}$ 。大量体外研究表明, 应用 ET-1 后, 动脉平滑肌细胞内  $\text{Ca}^{2+}$  浓度迅速瞬时增加, 随后呈现持续增加<sup>[6]</sup>。 $\text{Ca}^{2+}$  响应的初始瞬时阶段不依赖于外部  $\text{Ca}^{2+}$  的存在, 并且是  $\text{IP}_3$  诱导的细胞内储存的  $\text{Ca}^{2+}$  动员的结果。相反,  $\text{Ca}^{2+}$  的持续增加似乎是由于细胞外  $\text{Ca}^{2+}$  通过二氢吡啶敏感的电压依赖性 L 型  $\text{Ca}^{2+}$  通道或受体操作阳离子通道流入。ET-1 受体激活产生的细胞功能的短期变化, 除了  $\text{Ca}^{2+}$  的增加外, 还证实了造成磷脂酶  $\text{A}_2$  和 D 以及花生四烯酸的活化<sup>[7-8]</sup>。磷脂酶 D 的激活似乎有助于持续的积累, 这可能导致蛋白激酶 C 的延长激活。在血管平滑肌和心肌细胞中, 通过刺激  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  交换也诱导细胞内 pH 值的变化, 这是蛋白激酶 C 活化的结果。在大鼠骨肉瘤细胞系 (ROS 17/2 细胞) 中, 已经证实了在暴露于 ET-1 的数小时内,  $\text{ET}_\text{B}$  受体 mRNA 的快速下调。相反, 在某些情况下, 报道了  $\text{ET}_\text{B}$  受体的上调现象。在大鼠心肌细胞中, 研究表明  $\text{AT}_1$  受体介导  $\text{ET}_\text{B}$  受体 mRNA 的上调。在血管平滑肌细胞中, 研究发现 cAMP 可以诱导  $\text{ET}_\text{A}$  受体 mRNA 的上调, 而地塞米松则诱导  $\text{ET}_\text{A}$  受体 mRNA 的下调。除了是一种有效的血管收缩剂外, ET-1 还是培养的血管平滑肌细胞<sup>[9]</sup>、心肌细胞和肾小球系膜细胞的促分裂原。ET-1 还诱导几种原癌基因 c-fos、c-myc 和 c-jun 的表达。多种促有丝分裂刺激激活细胞内激酶级联反应, 包括依次激活 raf-1、丝裂原活化蛋白激酶、丝裂原活化蛋白激酶和 S6 激酶 II。

## 2 心血管系统内的生物作用

ET-1 引起大多数哺乳动物(包括人类)有效而持久的血管收缩效应。静脉注射 ET-1 的体内血流动力学反应是复杂的, 取决于血管床, 包括直接血管的收缩作用和间接的内皮介导的血管舒张效应, 以及后续神经反射介导的反应。在大多数动脉和一些静脉平滑肌细胞中, ET-1 通过刺激细胞膜上的  $\text{ET}_\text{A}$  受体引起收缩反应。相比之下, ET-1 刺激内皮细胞上的  $\text{ET}_\text{B}$  受体并释放内皮衍生的松弛因子一氧化氮, 从而产生血管舒张效应。在心肌细胞中, ET-1 通过刺激大多数  $\text{ET}_\text{A}$  受体产生正性肌力作用和变时反应。 $\text{ET}_\text{A}$  和  $\text{ET}_\text{B}$  受体均与各种 GTP 结合蛋白 (Gq、Gs、Gi 和 Go 等) 偶联, 下游信号转导在各种细胞中可能不同, 这取决于偶联的 GTP 结合蛋白的类型。除血管收缩作用外, ET-1 对血管平滑肌细胞和心肌细胞发挥有效的促有丝分裂作用, 从而引起血管收缩和心肌肥大<sup>[10]</sup>, 这些作用是通过刺激  $\text{ET}_\text{A}$  或  $\text{ET}_\text{B}$  受体介导的, 并且可能通过细胞内激酶级联的顺序激活而激发<sup>[11]</sup>。

## 3 ET-1 促进慢性心力衰竭的机制

研究表明无论在人类或实验动物模型中, 慢性心力衰竭 (CHF) 时血浆 ET-1 浓度升高。此外, 急性心肌梗死患者血浆 ET-1 浓度升高<sup>[12]</sup>, 心肌梗死后 3 周 CHF 大鼠存活心肌中 ET-1 的产生明显增加。心肌细胞以及血管内皮细胞产生 ET-1, 这些 ET-1 以自分泌和/或旁分泌方式作用于心肌细胞。ET-1 增加血管平滑肌的收缩, 增强心肌细胞的收缩力。除了这些短期效应外, ET-1 还可以发挥心肌肥大的长期作用, 并导致心肌细胞受损。急性应用 ET 受体拮抗剂可降低 CHF 大鼠的心肌收缩力, 但不会降低正常大鼠的心肌收缩力, 提示心肌 ET-1 参与支持衰竭心脏的收缩性<sup>[13]</sup>。因此, ET 途径的上调可能有益于为衰弱的心肌提供短期肌力支持, 其中,  $\beta$  肾上腺素能反应性常被削弱。内源性 ET-1 在血管内皮特异性 ET-1 缺陷的小鼠, 人工压力超负荷后, 参与维持正常心功能。然而, 从长远来看, 确定 CHF 对心肌 ET 系统的上调是适应性的, 还是适应不良, 是非常重要的。似乎上调的 ET-1 系统的长期刺激可能对心肌结构和功能具有重要的适应不良影响, 从而导致致命事件。事实上, 上调的心肌 ET-1 系统被认为在 CHF 的进展中起着加重作用, 因为用 ET-1 受体拮抗剂长期 (12 周) 治疗, 提高了 CHF 大鼠存活率。这种有益效果伴随着左心室功能障碍的显著改善和预防不利的心室重构、存活的心肌的心室质量增加和心室腔的扩大, 这些研究结果表明, 上调的心肌 ET 系统是 CHF 治疗干预的重要靶点。

关于 ET 拮抗剂在 CHF 中的有益作用的机制有以下几点。首先, 由于 ET-1 对心肌细胞具有直接毒性<sup>[14]</sup>, CHF 大鼠心脏中 ET-1 的增加可能导致心肌损伤, 并促进 CHF 的进展。因此, ET-1 拮抗剂治疗的积极作用可归因于对 ET-1 的直接心脏毒性作用的保护。其次, 由于 ET-1 对心肌细胞有强烈的致心肌肥大作用, 心脏中上调的 ET-1 系统也可能导致 CHF 大鼠心肌过度肥大; 因此, ET 拮抗剂可以预防心肌肥大的进展。因为衰竭心脏中的过度肥大变化是不利的和适应不良的, 所以结果与该假设一致。第三, CHF 大鼠心肌 ET-1 对长期正性肌力 (增加心肌收缩力) 的刺激可能有助于 CHF 的进展。这一假设与人类观察结果一致, 即强心剂如  $\beta$  肾上腺素能激动剂和磷酸二酯酶抑制剂, 对衰竭心脏的长期正性肌力刺激是有害的, 因为心肌能量利用的长期增加, 以及这些药物的长期给药增加 CHF 患者的长期死亡率。因此, 在 CHF 大鼠中, 由 ET 拮抗剂诱导的心肌收缩性降低可能导致心肌能量利用减少, 从而改善心肌的代谢状态。第四, 由于

ET-1 诱导室性心律失常<sup>[15]</sup>, ET 拮抗剂对 ET-1 诱导的心律失常的抑制可能会产生有利的作用。在 ET-1 的这些作用中, ET<sub>A</sub> 受体被认为参与信号转导系统的介导。实际上, 通过皮下渗透微型泵对 BQ-123 (一种 ET<sub>A</sub> 受体拮抗剂) 进行长期治疗不仅大大提高了 CHF 大鼠的存活率, 而且改善了左心室功能障碍, 并防止了这些大鼠的有害心室重构。ET<sub>A</sub> 受体拮抗剂 atrasentan 的长期治疗减轻交感神经过度激活, 并通过恢复大鼠 PI3/Akt/GSK-3 $\beta$ /ROS 信号通路来降低心律失常评分。对于心肌梗死, 据报道 ET<sub>B</sub> 受体参与介导 ET-1 的效应, 并且据报道衰竭心脏中 ET<sub>B</sub> 受体的表达增加。培养的心肌细胞用 ET-1 预处理和下调其结合位点。因此, 可以预期在 ET 系统中可能存在激动剂诱导的受体下调。然而, 出乎意料的是 CHF 大鼠心脏中 ET-1 结合位点以及血浆和心脏中的 ET-1 水平同时显著增加。虽然目前尚不清楚 CHF 大鼠心脏中 ET 受体增加的确切机制, 但这些结果强烈提示心脏中 ET 受体介导的信号转导系统在 CHF 大鼠中显著增强<sup>[16]</sup>。

在 CHF 中, 随着心肌功能的恶化, 全身神经体液反射的调节可维持心排量、器官灌注和循环稳态。肾素-血管紧张素轴、加压素和交感神经系统被激活, 尽管这些反射都是适应性反应, 但不幸的是, 它们似乎导致外周血管张力的增加, 这对心力衰竭的心脏有害, 因为它明显增加了后负荷。而这些神经体液因子可增强内皮细胞中 ET-1 的产生, 这样就形成了非常严重的恶性循环。据报道, ET 拮抗剂缓解了这些病症。对于 CHF 患者, 急性静脉输注波生坦 (一种非肽类 ET-1 受体拮抗剂), 可显示血流动力学参数发生变化, 伴随着平均动脉、肺动脉、右心房和肺动脉压的降低、全身和肺血管阻力降低, 并导致每搏输出量和心排量增加<sup>[17-18]</sup>, 这些发现清楚地证明 ET-1 有助于维持这些患者的血管张力。此外, 在 CHF 患者中, 血浆 ET-1 水平与肺动脉压和肺血管阻力强烈相关, 提示 ET-1 是反应性肺病的重要介质<sup>[19]</sup>。因此, 在体循环和肺循环中, 由 ET 受体拮抗剂引起的血管舒张也是有利的。此外, 用 ET<sub>A</sub> 受体拮抗剂 PD156707 进行的中期 (3 周) 治疗, 改善了 CHF 兔的左心室功能和分离的肌细胞功能<sup>[20]</sup>。用 PD156707 治疗 3 周可改善右心室起搏 (RVP) 后左心室的缩短, 并降低 RVP 后舒张末期左心室的尺寸<sup>[21]</sup>。经 ETA 受体拮抗剂中期 (3 周) 治疗后 RVP 正常化后, 离体肌细胞缩短速度下降, 肌细胞对 ET-1 的收缩反应性降低, 细胞外钙离子和  $\beta$  受体刺激恢复用 PD15670738 控制水平, 提供了中期 (3 周) ET<sub>A</sub> 受体拮抗剂治疗由于心室起搏导致的 CHF 兔

左心室功能的有益效果的证据。此外, 双重 ET 受体拮抗剂 macitentan 改善了与心脏肥大相关的形态学和细胞变化以及心肌衰竭小鼠心脏中的巨大肌细胞蛋白和肌动蛋白<sup>[22]</sup>。

ET 拮抗剂和 CHF 患者有一些临床试验。在使用双重 ET 拮抗剂波生坦 (每天两次, 每次 1 000 mg) 的短期 (2 周) 治疗中, 已经显示出对心力衰竭患者产生即时和持续的血流动力学改善。在 REACH-1 临床试验中, 波生坦 500 mg 每日两次的治疗, 有效地在 6 个月的治疗中产生了有利的临床效果 (症状和血流动力学)。然而, 在使用波生坦剂量为每日 125 mg 的 ENABLE 临床试验中, 波生坦剂量低于 REACH-1 临床试验, 波生坦治疗 1.5 年并未改善 CHF 的临床病程患者。因此, ENABLE 临床试验的发现与 REACH-1 临床试验的结果不同。波生坦剂量的差异可能是试验结果不同的原因。在 CHF 患者中, 使用比波生坦更有效的 ET 受体拮抗剂的临床试验, 有可能从 ENABLE 临床试验中获得更有利和更有希望的结果。有趣的是, 在通常导致 CHF 的急性心肌梗死患者中, ET-1 的血浆水平似乎是长期预后的指标。ET-1 的血浆水平越高, 长期死亡率越高。血浆中大内皮素 (Big ET-1) 水平在转化前无效, 也可以预测中度和重度 CHF 患者的死亡率优于血流动力学变量。该发现与 Oliver 等的报告一致, Big ET-1 和脑钠尿肽血浆浓度的联合基线和一个半月变化, 是急性心肌梗死后左心室功能不全患者临床结果的预测因子<sup>[20]</sup>。此外, ET-1 浓度的测量已被证明是评估 CHF 患者对药物治疗的临床反应的有用非侵入性的方法。研究表明接受  $\beta$  受体阻滞剂血管扩张剂 (卡维地洛) 的 CHF 患者 ET-1 水平的变化, 是药物治疗后疾病状态变化的敏感和非侵入性标志<sup>[21]</sup>。

#### 4 总结

ET-1 对心肌细胞具有直接毒性、强烈致心肌肥大作用和诱导室性心律失常效应, 是导致人类 CHF 病情加重的关键原因。内皮素受体拮抗剂长期治疗, 不仅大大提高了 CHF 大鼠的存活率, 而且改善了左心室功能障碍, 并防止了这些大鼠的有害心室重构, 减轻交感神经过度激活, 并通过恢复大鼠 PI3/Akt/GSK-3 $\beta$ /ROS 信号通路来降低心律失常评分。总之, ET-1 似乎是导致人类 CHF 的进行性加重的罪魁祸首, ET-1 受体拮抗剂有望成为本病治疗的新靶点。

#### 参考文献

- [1] Ibrahim NE, Gupta R, Lyass A, et al. Endothelin-1 measurement in patients undergoing diagnostic coronary angiography—results from the catheter sampled blood archive in cardiovascular diseases



- study[J]. *Clin Chem*,2018,64(11):1617-1625.
- [2] Wang S,Guo X,Long CL,et al. SUR2B/Kir6.1 channel openers correct endothelial dysfunction in chronic heart failure via the miR-1-3p/ET-1 pathway[J].*Biomed Pharmacother*,2019,110(2):431-439.
  - [3] Yang S,Liu Z,Liu S,et al. Association of baseline big endothelin-1 level with long-term prognosis among cardiac resynchronization therapy recipients[J].*Clin Biochem*,2018,59:25-30.
  - [4] Peng T,Li X,Hu Z,et al. Predictive role of endothelin in left ventricular remodeling of chronic kidney disease[J]. *Ren Fail*,2018,40(1):183-186.
  - [5] Smyrniak I,Goodwin N,Wachten D, et al. Contractile responses to endothelin-1 are regulated by PKC phosphorylation of cardiac myosin binding protein-C in rat ventricular myocytes[J].*J Mol Cell Cardiol*,2018,117(2):1-18.
  - [6] Zhang CL,Xie S,Qiao X,et al. Plasma endothelin-1-related peptides as the prognostic biomarkers for heart failure:A PRISMA-compliant meta-analysis[J]. *Medicine(Baltimore)*, 2017,96(50):e9342.
  - [7] Barta T,Tosaki A,Haines D,et al. Endothelin-1-induced hypertrophic alterations and heme oxygenase-1 expression in cardiomyoblasts are counteracted by beta estradiol:in vitro and in vivo studies[J]. *Naunyn Schmiedeberg Arch Pharmacol*,2018,391(4):371-383.
  - [8] Meoli DF,Su YR,Brittain EL,et al. The transpulmonary ratio of endothelin 1 is elevated in patients with preserved left ventricular ejection fraction and combined pre- and post-capillary pulmonary hypertension[J].*Pulm Circ*,2018,8(1):2045893217745019.
  - [9] Yim J, Cho H, Rabkin SW. Gene expression and gene associations during the development of heart failure with preserved ejection fraction in the Dahl salt sensitive model of hypertension[J].*Clin Exp Hypertens*,2018,40(2):155-166.
  - [10] Guo B, Li Y, Jin X, et al. Nitric oxide/cyclic GMP pathway mediates the endothelin-1-upregulation of adiponectin expression in rat cardiomyocytes[J]. *Biomed Rep*,2017,7(3):267-271.
  - [11] Jacques D, D'Orléans-Juste P, Magder S, et al. Neuropeptide Y and its receptors in ventricular endocardial endothelial cells[J]. *Can J Physiol Pharmacol*,2017,95(10):1224-1229.
  - [12] Yuzugulen J, Douthwaite JA,Wood EG, et al. Characterisation of preproendothelin-1 derived peptides identifies endothelin-like domain peptide as a modulator of endothelin-1[J].*Sci Rep*,2017,7(1):4956.
  - [13] Buendgens L, Yagmur E, Bruensing J, et al. C-terminal proendothelin-1 (CT-proET-1) is associated with organ failure and predicts mortality in critically ill patients[J].*J Intensive Care*,2017,5:25.
  - [14] Lin J, Chudasama N, Hayashi Y, et al. Peripheral venous congestion causes time- and dose-dependent release of endothelin-1 in humans[J]. *Physiol Rep*,2017,5(6):pii: e13118.
  - [15] Jin F. Analysis on mechanism of ATP-sensitive K<sup>+</sup> channel opener natakalin improving congestive heart failure after myocardial infarction[J]. *Exp Ther Med*,2016,12(6):3993-3997.
  - [16] Valero-Munoz M, Li S, Wilson RM, et al. Dual endothelin-A/endothelin-B receptor blockade and cardiac remodeling in heart failure with preserved ejection fraction[J]. *Circ Heart Fail*,2016,9(11):pii: e003381.
  - [17] 王灵冰, 滕欣越, 张瑞, 等. 慢性心力衰竭与血管紧张素Ⅱ相关性分子机制研究进展 [J]. *心血管病学进展*, 2018,39(6):963-966.
  - [18] Miyamoto K,Takeuchi D,Inai K,et al. Prognostic value of multiple biomarkers for cardiovascular mortality in adult congenital heart disease:comparisons of single-/two-ventricle physiology,and systemic morphologically right/left ventricles[J].*Heart Vessels*, 2016,31(11):1834-1847.
  - [19] Gersei I, Krämer BK, Scharnagl H, et al. Propeptide big-endothelin, N-terminal-pro brain natriuretic peptide and mortality. The Ludwigshafen risk and cardiovascular health(LURIC) study[J].*Bio markers*,2017,22(3-4):315-320.
  - [20] Jen HL,Yin WH,Chen JW,et al. Endothelin-1-induced cell hypertrophy in cardiomyocytes is improved by fenofibrate: possible roles of adiponectin[J]. *J Atheroscler Thromb*,2017,24(5):508-517.
  - [21] Seidlmayer LK, Kuhn J, Berbnner A, et al.Inositol 1,4,5-trisphosphate-mediated sarcoplasmic reticulum-mitochondrial crosstalk influences adenosine triphosphate production via mitochondrial Ca<sup>2+</sup> uptake through the mitochondrial ryanodine receptor in cardiac myocytes[J]. *Cardiovasc Res*,2016,112(1):491-501.
  - [22] Packer M, McMurray JJV, Krum H, et al. Long-term effect of endothelin receptor antagonism with bosentan on the morbidity and mortality of patients with severe chronic heart failure: primary results of the ENABLE trials[J]. *JACC Heart Fail*,2017,5(5):317-326.

收稿日期: 2019-03-12