

Wnt 信号与动脉粥样硬化性心血管疾病研究进展

马晓磊¹ 朱国斌^{1,2}

(1. 山西医科大学研究生院, 山西 太原 030001; 2. 山西医科大学第二医院心内科, 山西 太原 030001)

【摘要】 Wnt 信号通路高度保守、结构复杂, 在胚胎发育及肿瘤相关领域一直是研究热点。同时, 越来越多的研究表明机体内 Wnt 信号重新激活与心血管疾病进展关系密切, 可多中心、多环节参与血管内皮的再生与增殖, 在动脉粥样硬化性心脏病中有巨大的诊疗潜力。

【关键词】 动脉粥样硬化性心血管疾病; Wnt 信号; 代谢异常

【DOI】 10.16806/j.cnki.issn.1004-3934.2020.08.018

Wnt Signaling and Atherosclerotic Cardiovascular Disease

MA Xiaolei¹, ZHU Guobin^{1,2}

(1. Graduate School of Shanxi Medical University, Taiyuan 030001, Shanxi, China; 2. Department of Cardiology, Second Hospital of Shanxi Medical University, Taiyuan 030001, Shanxi, China)

【Abstract】 The Wnt signaling pathway is highly conserved and has a complex structure. It has been a research focus in embryonic development and tumor-related fields. At the same time, more and more studies show that the reactivation of Wnt signal in the body is closely related to the progression of cardiovascular disease, and it can participate in the regeneration and proliferation of vascular endothelium in multiple centers and multiple links. There is considerable diagnostic potential in atherosclerotic heart disease.

【Key words】 Atherosclerotic cardiovascular disease; Wnt signaling; Metabolic abnormalities

心血管疾病 (cardiovascular disease, CVD) 是一个日益严重的全球性健康问题, 导致医疗保健负担增加和预期寿命缩短, 而动脉粥样硬化性心血管疾病 (atherosclerotic cardiovascular disease, ASCVD) 则是最常见的 CVD。近几十年来随着利尿剂、肾素-血管紧张素系统抑制剂、肾上腺素受体阻滞剂和钙拮抗剂的引入, CVD 的进展确实有所延缓, 但使用这些药物很少能实现根本病理的消退甚至治愈, 因此引发了许多针对新型治疗方法的研究计划。绝大多数结果都令人失望, 且多数失败归因于对潜在疾病机制的不充分了解, 导致疗法“单一”, 进一步研究分子机制突显得越发重要。机制复杂的 Wnt 信号通路经过数年研究, 已被证明在多种 CVD 中被激活, 参与 CVD 的发生发展。在此综述中, 将通过不同的心血管病理过程, 评估该信号通路在更好地诊断和治疗 CVD 中的潜力。

1 Wnt 信号通路概述

“Wnt”源自果蝇节段极性基因 *Wingless* 和小鼠原癌基因 *Int-1* 的组合, 这些基因编码相似的分泌糖蛋

白, 目前已有 20 余种。Wnt 信号控制多种生物学过程, 在细胞分裂、组织分化及细胞新陈代谢方面有重要作用^[1], 由 Wnt 蛋白家族、细胞膜卷曲受体、共受体低密度脂蛋白受体相关蛋白 5/6 (low density lipoprotein receptor related protein 5/6, LRP5/6)、下游转录因子 (Dvl/APC、GSK-3 β 和 TCF/LEF 等) 及胞质蛋白 β -连环蛋白 (β -catenin) 组成。Pawar 和 Rao 研究表明 Wnt 配体激活至少 3 种不同的信号传导途径^[2]: 经典 Wnt/ β -catenin、非经典 Wnt/Jun 氨基末端激酶 (Jun N-terminal kinase, JNK) 和非经典 Wnt/Ca²⁺ 途径。(1) 经典的 Wnt/ β -catenin 途径: 某些 Wnt 蛋白与 LRP5/6 复合的特定的卷曲受体相互作用激活关键蛋白 Dvl。Dvl 通过抑制下游复合物 (GSK-3 β 、APC 和毒素组成) 抑制细胞质 β -连环蛋白的磷酸化, 致使 β -连环蛋白逐渐积累, 并由细胞质移向细胞核, 在核内通过 T 细胞因子/淋巴细胞增强因子 (T cell factor/lymphoid enhancer factor, TCF/LEF) 与下游靶基因的转录; (2) 非经典的 Wnt/JNK 途径: Wnt 与细胞表面卷曲

受体蛋白结合,随后将信号传递到细胞中以激活下游 GTPase Rho 和 JNK,从而通过 AP-1 启动子参与细胞骨架和下游基因的调控;(3)非经典的 Wnt/Ca²⁺途径:Wnt 蛋白直接与细胞膜卷曲受体结合,激活 G 蛋白和磷脂酶 C,并导致细胞内 Ca²⁺水平升高和蛋白激酶 C 激活。此后蛋白激酶 C 通过活化的 T 细胞启动子的核因子在下游实现靶基因的转录,同时通过激活 Ca²⁺依赖性钙调蛋白激酶反馈性抑制 β -catenin 的激活。

2 Wnt 信号传导参与 ASCVD 的发生发展

2.1 Wnt 与脂质代谢

脂蛋白水平和比率早已被确定为 CVD 的主要预测指标,脂质代谢与 CVD 进展密切相关。Wnt 可通过低密度脂蛋白受体相关蛋白(low density lipoprotein receptor-related protein, LRP)参与脂质代谢。LRP 是一组由 Wnt 信号通路调控,可与载脂蛋白结合的跨膜受体。分为 LRP5 和 LRP6 两种亚型,两者分别与细胞膜卷曲受体组成家族同源二聚体,通过四个富含半胱氨酸的胞外域结合 Wnt 配体传播经典 Wnt 信号。LRP/LRP6 可通过特定的突变类型导致代谢异常,血清低密度脂蛋白和甘油三酯升高,动脉粥样硬化(atherosclerosis, AS)以及高或低骨量表型^[3]。此外,LRP 可与低密度脂蛋白受体形成复合物,促进受体介导的低密度脂蛋白颗粒的内吞作用,也可直接结合含载脂蛋白 E 的脂蛋白参与脂质代谢。

Wnt 信号通过 LRP 介导的经典 Wnt 信号调节代谢异常环境。2007 年 Mani 等首次报告了一个 LRP6 的罕见突变(R611C),该突变可导致家族性代谢相关的骨质疏松和冠状动脉疾病。通过注射 Wnt3a 增强 LRP6 纯合突变小鼠的经典 Wnt 信号传导,可使肝脏中脂质的蓄积减少,脂肪肝严重的程度逆转,提示依赖 LRP 的经典 Wnt 信号可抑制肝新生脂肪的形成^[4]。最近有研究表明,Wnt 信号还可调节成熟成骨细胞脂肪酸利用,实验中缺乏 LRP5 的小鼠循环中脂质水平增高,成骨细胞和骨细胞中脂肪积累^[5],提示依赖 LRP 的 Wnt 信号可整体降低心脏代谢风险。

Wnt 信号响应代谢异常环境而成为 CVD 的介质。最近有研究表明,血管平滑肌细胞(vascular smooth muscle cell, VSMC)中存在 LRP6 高度表达,并且以此参与 CVD 中的 Wnt 信号传导^[6]。除了提供结构完整、延展性和收缩性之外,VSMC 还可通过内分泌/旁分泌方式参与局部信号中继。例如在机械性血管损伤和炎症之后,VSMC 去分化为血管祖细胞,促进肌成纤维细胞样的胶原蛋白的产生,这种能力可称之为表型可塑性。在缺乏 LRP6 的异常脂质代谢环境中,发现涉及活化 T 细胞核因子和上游刺激因子 1 的非经

典 Wnt 信号程序被上调,动脉硬化性成骨程序被激活^[7],从而确立了依赖 LRP6 的 Wnt 信号的功能,即通过限制非经典 Wnt /Ca²⁺途径来维持成熟的 VSMC 表型,预防血管钙化。

2.2 Wnt 与胰岛素抵抗

胰岛素抵抗可导致内环境高糖状态,通过促进线粒体新陈代谢、氧化体内糖基化蛋白及增加前列腺素合成,致使 NO₂ 快速灭活,损伤血管内皮功能。此外,胰岛素抵抗时,可使脂肪组织葡萄糖利用减少、脂肪组织过度分解,引发脂蛋白活性减弱及餐后血脂异常,联合脂代谢紊乱共同促进 AS 的发生与发展。

早期研究显示,2 型糖尿病患者家族中多数成员编码 LRP6 的基因突变受损^[8],暗示 Wnt 信号紊乱参与糖尿病发病机制。后深入研究发现,高血糖小鼠胰岛细胞内 β -catenin 表达上调,加入激动剂 Wnt3a 蛋白干预后,可引起胰岛 β 细胞的增殖。提出经典 Wnt 信号通过 β -catenin 调节 β 细胞功能,高胰岛素血症是对胰岛素抵抗的代偿反应的猜想。近期, Karczewska-Kupczewska 等^[9]通过对 117 例志愿者行血糖钳夹试验,得出具有低胰岛素敏感性与高胰岛素敏感性的非糖尿病患者的白色脂肪中,各种 Wnt 信号基因表达均较低的结论,验证了 Wnt 信号与胰岛素抵抗的密切关系。此外,最新一项关于不同种族体内的 Wnt 信号研究表明^[10],肥胖的南亚人白色脂肪内关键胰岛素基因(INSR, TBC1D4, SLC2A4 和 GYS1)的表达也低于白色人种,与 Palsgaard 等^[11]研究结论相符。此外,本次研究还发现循环中硬化蛋白含量与 Wnt 信号表达成负相关。硬化蛋白是一种糖蛋白,主要由矿化的骨基质内的成熟骨细胞产生,与动脉僵硬度和血管钙化有关^[12]。模拟于小鼠中,发现硬化蛋白过度表达的小鼠降低了 Wnt 信号传导相关基因的表达,并降低了与脂肪细胞分化有关的基因表达,出现脂肪细胞肥大、脂肪堆积的情况,验证了受损的 Wnt 信号可通过胰岛素抵抗联合脂代谢异常促进 AS/ASCVD。也有一些研究并未发现类似相关性,这种差异可能是由于使用不同的模型和不同的检测时间所致,需更多实验验证。

2.3 Wnt 与肥胖、慢性炎症

肥胖作为一种慢性炎症,一直就是 AS 的高危因素。肥胖引起的脂肪组织微环境变化,促进慢性炎症及代谢紊乱。例如,上调 M2 样巨噬细胞数量及表型改变,增加全身炎症和胰岛素抵抗^[13]。此外,肥胖会导致脂肪组织中的毛细血管稀疏,通过诱导局部缺血致脂肪坏死,同时继续促进巨噬细胞募集和活化介导炎症反应,通过内皮活化和组织炎症的恶性循环,加剧心血管系统功能障碍。

迄今为止确定的大多数脂肪因子是促炎性的,并且在肥胖状态下被上调。在肥胖状况下,这些脂肪因子的作用是促进新陈代谢和 CVD,例如肿瘤坏死因子和瘦素。分泌性卷曲相关蛋白 5 (secretory frizzled protein 5, SFRP5) 作为少有的具有抗炎作用的脂肪因子^[14],其可通过抑制 Wnt5a 介导的 JNK1 的激活。因此,在 SERP5 缺陷型小鼠中,由 JNK1 信号的过度激活引起的肥胖可引起脂肪组织炎症和代谢功能障碍的增加,与 JNK1 在调节胰岛素抵抗和脂肪炎症中的作用相一致^[13]。先前已有研究表明,Wnt 信号通路可通过抑制过氧化物酶体增殖物激活受体- γ 和 CCATT 增强子结合蛋白 β 来抑制脂肪组织的形成^[15],且有研究在小鼠和人类 AS 病变中检测到 Wnt5a 表达,很容易推测肥胖与 Wnt 信号之间的密切关系。最近 Wang 等^[16] 研究结果证明,通过经典 Wnt 途径和非经典 Wnt 途径下游转录因子 GSK 激活 STAT5 磷酸化以结合 SERP5 基因和过氧化物酶体增殖物激活受体- γ 基因的启动子,从而刺激 SERP5 基因表达,可调节脂肪形成过程,为 Wnt 信号参与脂肪功能变化提供了更有力的证明。

2.4 Wnt 与纤维化

心肌纤维化可导致心肌僵硬增加、顺应性降低和心脏的收缩舒张功能受限,是独立的 CVD 危险因素,与心肌钙化、心肌梗死、心力衰竭和心律失常等 CVD 的发生或进展密切相关。

Wnt 信号传导通过多种方式参与心肌纤维化。经典途径 Wnt/ β -catenin 信号通路正常传导时在干细胞分化、心脏发育和心肌修复中具有重要作用,但当 β -catenin 蛋白过度表达时则可能引起心肌成纤维细胞激活,同时诱导细胞外基质沉积而引起心肌纤维化。诸如,新生儿心脏冷冻损伤后心外膜组织成分依赖 Wnt/ β -catenin 活化,损伤区域 Wnt2b、Wnt5a 和 Wnt9a 上调,诱导心脏成纤维细胞增殖并表达促纤维化基因^[17]。异体移植心脏的心外膜成纤维细胞细胞核中检测到 β -catenin 明显增高^[18]。在非经典 Wnt 通路中,有研究发现其可能通过下游转录因子 CaMK II 参与心肌纤维化或心脏重塑^[19]。除此,许多 Wnt 上游调节因子在心肌纤维化时有所参与。心肌干细胞因子可通过结合 c-Kit 二聚化或自身磷酸化激活 Wnt/ β -catenin 信号通路,在心肌梗死后促进心肌细胞增殖以逆转心肌梗死后的不良重塑^[20]。Hippo 信号通路和 Wnt 信号相互作用,共同限制心肌细胞增殖和调控心脏大小^[21]。

3 Wnt 信号与 ASCVD

AS 是 ASCVD 最重要的致病基础。早期血管壁损

伤是由脂质沉淀于血管壁生成脂质斑块引起的。随后在多种病因的共同作用下,血管平滑肌细胞逐渐增生,并转移至形成血管内侧斑块的位置,加重 AS 程度。同时,由 AS 引起的血管内膜损伤将导致各种炎症因子的释放,这为 AS 的持续发展和恶化提供了必要的环境因子^[22]。AS 的形成将导致血液和氧气减少,导致该部分血管供应的组织缺血或坏死,机体将通过建立侧支循环以抵抗缺血缺氧的恶劣环境,该过程便是血管生成^[23]。

Wnt 信号诱导内皮功能障碍,促进维持内环境炎症状态。最新关于 Wnt 信号在 AS 血管生成的研究中表明,AS 模型组大鼠主动脉血管中 Wnt 信号通路相关蛋白的 mRNA 表达水平显著升高,相应蛋白的表达水平也高于正常大鼠,提示经典 Wnt 途径的激活将导致大量游离 β -catenin 的产生,引起血管内皮功能障碍,破坏血管内皮的屏障功能,从而加重 AS 的发展^[24]。此外,活化的内皮细胞还可通过非典型的 Wnt/ Ca^{2+} 途径活化核因子 κB ,促使血管内皮细胞炎症反应的发生,引起白细胞的吸引和黏附,维持慢性炎症状态,增加内皮通透性和周转率,进一步导致内皮功能障碍^[25]。

近来,大量研究发现 Wnt 信号程序可控制 VSMC 细胞表型调节参与 ASCVD 疾病进展。Kozinski 等^[26] 表明,高脂肪糖尿病饮食会致使循环中 Wnt3a 水平下降而 Wnt4 水平上升,从而引发导致胰腺胰岛细胞功能异常的程序。与 Wnt4 刺激 VSMC 增殖并促进动脉内膜增厚的结果相符,研究发现 VSMC 在动脉硬化钙化过程中被上调^[27]。此外,George 等已将富含半胱氨酸蛋白 61/结缔组织生长因子/肾母细胞瘤的过表达基因家族的基质细胞蛋白,鉴定为 Wnt 信号引发 VSMC 迁移的下游介质^[28],充分说明通过稳定成熟的收缩表型来抑制 VSMC 可塑性,对缓解血管代谢异常及减轻动脉血管的动脉硬化具有广阔的前景。

4 总结

总而言之,本文回顾了 Wnt 信号与 ASCVD 相关性的发展过程及最新进展。Wnt 信号传导在代谢变化(胰岛素敏感性)和心血管重塑及结构变化(肥大、增殖、纤维化和 AS)方面有明确作用。尽管尚未发现具有足够功效和特异性的化合物可用于相关疾病诊治,但通过靶向 Wnt 分泌或 β -catenin 破坏复合体的更新,少数分子表现出相当的潜力。例如,GNF-6231 是 Wnt 棕榈酰化所需的内质网蛋白的抑制剂。GNF-6231 抑制经典性和非经典性 Wnt 配体的分泌,可限制心肌纤维化性损伤,而且在早期心肌梗死模型中还可观察到

其具有一定促进受损心肌恢复的能力^[1]。针对 Wnt 靶向治疗对心脏代谢益处明显,需继续探究。

参 考 文 献

- [1] Tai D, Wells K, Arcaroli J, et al. Targeting the WNT signaling pathway in cancer therapeutics[J]. *Oncologist*, 2015, 20(10): 1189-1198.
- [2] Gay A, Towler DA. Wnt signaling in cardiovascular disease: opportunities and challenges[J]. *Curr Opin Lipidol*, 2017, 28(5): 387-396.
- [3] Sebastian A, Hum NR, Muruges DK, et al. Wnt co-receptors Lrp5 and Lrp6 differentially mediate Wnt3a signaling in osteoblasts[J]. *PLoS One*, 2017, 12(11): e0188264.
- [4] Fuster JJ, Zuriaga MA, Ngo DT, et al. Noncanonical Wnt signaling promotes obesity-induced adipose tissue inflammation and metabolic dysfunction independent of adipose tissue expansion [J]. *Diabetes*, 2015, 64(4): 1235-1248.
- [5] Frey JL, Kim SP, Li Z, et al. β -catenin directs long-chain fatty acid catabolism in the osteoblasts of male mice[J]. *Endocrinology*, 2018, 159(1): 272-284.
- [6] Srivastava R, Zhang J, Go GW, et al. Impaired LRP6-TCF7L2 activity enhances smooth muscle cell plasticity and causes coronary artery disease[J]. *Cell Rep*, 2015, 13(4): 746-759.
- [7] Ramachandran B, Stabley JN, Cheng SL, et al. A GTPase-activating protein binding protein (G3BP1) / antiviral protein relay conveys arteriosclerotic Wnt signals in aortic smooth muscle cells [J]. *J Biol Chem*, 2018, 293(21): 7942-7968.
- [8] Foer D, Zhu M, Cardone RL, et al. Impact of gain-of-function mutations in the low-density lipoprotein receptor-related protein 5 (LRP5) on glucose and lipid homeostasis[J]. *Osteoporos Int*, 2017, 28(6): 2011-2017.
- [9] Karczewska-Kupczewska M, Stefanowicz M, Matulewicz N, et al. Wnt signaling genes in adipose tissue and skeletal muscle of humans with different degree of insulin sensitivity[J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2016, 101(8): 3079-3087.
- [10] Janssen LGM, van Dam AD, Hanssen MJW, et al. Higher plasma sclerostin and lower Wnt signaling gene expression in white adipose tissue of prediabetic south Asian men compared with white Caucasian men[J]. *Diabetes Metab J*, 2020, 44(2): 326-335.
- [11] Palsgaard J, Emanuelli B, Winnay JN, et al. Cross-talk between insulin and Wnt signaling in preadipocytes: role of Wnt co-receptor low density lipoprotein receptor-related protein-5 (LRP5) [J]. *J Biol Chem*, 2012, 287(15): 12016-12026.
- [12] Chang YC, Hsu BG, Liou HH, et al. Serum levels of sclerostin as a potential biomarker in central arterial stiffness among hypertensive patients [J]. *BMC Cardiovasc Disord*, 2018, 18(1): 214.
- [13] Vallerie SN, Furuhashi M, Fucho R, et al. Correction; a predominant role for parenchymal c-Jun amino terminal kinase (JNK) in the regulation of systemic insulin sensitivity[J]. *PLoS One*, 2008, 3(9): e3151.
- [14] Tong S, Ji Q, Du Y, et al. Sfrp5/Wnt pathway: a protective regulatory system in atherosclerotic cardiovascular disease [J]. *J Interferon Cytokine Res*, 2019, 39(8): 472-482.
- [15] Tang QQ, Lane MD. Adipogenesis: from stem cell to adipocyte [J]. *Annu Rev Biochem*, 2012, 81: 715-736.
- [16] Wang X, Peng Q, Jiang F, et al. Secreted frizzled-related protein 5 protects against oxidative stress-induced apoptosis in human aortic endothelial cells via downregulation of Bax [J]. *J Biochem Mol Toxicol*, 2017, 31(12). DOI: 10.1002/jbt. 21978.
- [17] Mizutani M, Wu JC, Nusse R. Fibrosis of the neonatal mouse heart after cryoinjury is accompanied by Wnt signaling activation and epicardial-to-mesenchymal transition [J]. *J Am Heart Assoc*, 2016, 5(3): e002457.
- [18] Ye B, Ge Y, Perens G, et al. Canonical Wnt/ β -catenin signaling in epicardial fibrosis of failed pediatric heart allografts with diastolic dysfunction [J]. *Cardiovasc Pathol*, 2013, 22(1): 54-57.
- [19] Zhang M, Hagenmueller M, Riffel JH, et al. Calcium/calmodulin-dependent protein kinase II couples Wnt signaling with histone deacetylase 4 and mediates dishevelled-induced cardiomyopathy [J]. *Hypertension*, 2015, 65(2): 335-344.
- [20] Formiga FR, Pelacho B, Garbayo E, et al. Controlled delivery of fibroblast growth factor-1 and neuregulin-1 from biodegradable microparticles promotes cardiac repair in a rat myocardial infarction model through activation of endogenous regeneration [J]. *J Control Release*, 2014, 173: 132-139.
- [21] 常文婧, 王丽娜. Hippo 通路在心脏发育、再生和疾病中的作用 [J]. *心血管病学进展*, 2019, 40(8): 1115-1118.
- [22] Patel KM, Strong A, Tohyama J, et al. Macrophage sortilin promotes LDL uptake, foam cell formation, and atherosclerosis [J]. *Circ Res*, 2015, 116(5): 789-796.
- [23] Bogdanovich S, Kim Y, Mizutani T, et al. Human IgG1 antibodies suppress angiogenesis in a target-independent manner [J]. *Signal Transduct Target Ther*, 2016, 1: 15001.
- [24] Du J, Li J. The role of Wnt signaling pathway in atherosclerosis and its relationship with angiogenesis [J]. *Exp Ther Med*, 2018, 16(3): 1975-1981.
- [25] Kim J, Kim J, Kim DW, et al. Wnt5a induces endothelial inflammation via β -catenin-independent signaling [J]. *J Immunol*, 2010, 185(2): 1274-1282.
- [26] Kozinski K, Jazurek M, Dobrzyn P, et al. Adipose- and muscle-derived Wnts trigger pancreatic β -cell adaptation to systemic insulin resistance [J]. *Sci Rep*, 2016, 6: 31553.
- [27] Yan JY, Zhou Q, Yu HM, et al. High glucose promotes vascular smooth muscle cell calcification by activating WNT signaling pathway [J]. *Nan Fang Yi Ke Da Xue Xue Bao*, 2015, 35(1): 29-33.
- [28] Williams H, Mill CA, Monk BA, et al. Wnt2 and WISP-1/CCN4 induce intimal thickening via promotion of smooth muscle cell migration [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2016, 36(7): 1417-1424.

收稿日期: 2020-02-04