

心肌肥厚性心律失常时 P 细胞凋亡的研究进展

刘志强 程葆华 徐旭东[△]

(济宁医学院基础医学与法医学院, 山东 济宁 272067)

摘 要 心肌肥厚临床较多发可引起多种心血管疾病, 一些主要心脏病的发病率和死亡率可因心脏肥厚的存在明显增加, 心肌肥厚引起心肌细胞凋亡, 凋亡过度 and 凋亡不足可构成心脏传导障碍的结构基础。p53 为促凋亡基因, 通过研究心肌细胞 P 细胞凋亡及细胞内 p53 变化从而进一步揭示心肌肥厚时心律失常的本质。

关键词 心肌肥厚; P 细胞; 凋亡; p53

中图分类号: R541.7 **文献标识码**: A **文章编号**: 1000-9760(2011)08-288-03

心肌肥厚是心肌工作超负荷的一种适应性反应, 主要由体液因素和压力后负荷增加两种原因引起, 临床较多发。以心肌细胞蛋白合成增加和细胞体积增大为主要特征, 是引起多种心血管疾病的重要危险因素, 一些主要心脏病的发病率和死亡率可因心肌肥厚的存在明显增加^[1]。心肌肥厚可引发多种疾病, 如: 心律失常、心肌梗死、心力衰竭等, 心肌肥厚引起心肌细胞凋亡。心律失常由 P 细胞凋亡有密切关系。凋亡现象存在于人类心传导系统形态发生的全过程^[2-3], 凋亡过度 and 凋亡不足可构成心脏传导障碍的结构基础。

1 心肌肥厚的多因素性及引起心肌细胞凋亡

心肌组织包括心肌细胞和间质两部分, 其中心肌细胞约占心脏总体积的 75%, 间质仅占 25%, 但其细胞数约为心肌细胞的两倍, 主要包括成纤维细胞、平滑肌细胞和巨噬细胞等。

心肌肥厚是心肌细胞和心肌间质细胞对激素和生长因子的一种应答反应, 影响心肌肥厚主要的激素和生长因子有: 甲状腺素、肾上腺素、肾素血管紧张素、内皮素、表皮生长因子(EGF)、纤维母细胞生长因子(FGF)、血小板衍化生长因子(PDGF)、胰岛素样生长因子(IGF)、转化生长因子(TGF)等。这些促心肌肥厚的因素一些是循环激素, 有些则是心血管细胞本身合成和分泌的。心脏负荷、神经刺激、缺血损伤可促进这些激素的生成因子的产生和分泌, 它们在心血管局部起着自分泌、旁分泌、胞内分泌或循环分泌的作用。这些因子与受体结合后, 引起受体构象变化, 激活相应的蛋白激酶, 使一些特定转录因子磷酸化, 从而将生长因子的信号传递到细胞核内, 在转录水平上调节基因的表达, 产生心肌细胞和间质细胞的应答反应。

心肌肥厚引起凋亡是由于超负荷状态诱导心肌细胞凋亡的诱发因素, 主要有血压升高产生的机械力、肾素血管紧张素系统、自由基损伤和细胞缺血缺氧等。参与调控心肌细胞凋亡的基因有 bcl-2/bax、c-myc 和 p53, 其中心肌细胞凋亡时 bcl-2/bax 下调, 而 c-myc 和 p53 表达上调。超负荷因素引起心肌细胞凋亡的细胞内通路可能主要经 MAPKs 通路, 超负荷刺激信号激活 MKK3, 经 P38 α -MAPK 通路引起心肌细胞凋亡。在超负荷状态下, 致心肌细胞肥大因子的受体大多为 G 蛋白偶联受体。在慢性压力/容积超负荷的早期, 由于 Gq 激活程度低, 经 MAPKs 通路引起心肌肥大; 晚期促心肌肥厚因子分泌增加, Gq 激活程度增加, 引发 MAPKs 与死亡通路的信号转导, 结果导致心肌细胞凋亡。

2 正常窦房结 P 细胞的形态

环绕窦房结动脉周围的窦房结细胞, 依其形态特征, 由深及浅可分为三类, 即: P 细胞、联络细胞和心房肌细胞。P 细胞内窦房结的主要组成细胞有起搏功能, P 细胞直径为 6~9 μ m, 染色较淡, 卵圆形或多角形, 呈簇团状排列在窦房结动脉周边, 核大居中, 肌原纤维较少, 线粒体较丰富, 细胞间多见桥粒连接^[4]。

3 细胞凋亡与心律失常

3.1 细胞凋亡概述

凋亡是生物体细胞死亡的一种方式, 又称程序性细胞死亡, 表现为深色质的浓缩、边集、核碎裂、胞膜保持完整性, 无胞浆外漏, 由局部吞噬细胞甚至相邻细胞将之吞入形成凋亡小体。凋亡是一非炎症反应过程, 有别于另一种细胞死亡形式——坏死^[5]。凋亡的发生是由凋亡刺激因子通过信号传

[△] [通信作者] 徐旭东, E-mail: xxdong8687@sina.com

导系统激活凋亡的诱导/抑制基因,而对其进行调控^[6-8]。

3.2 细胞凋亡与快速性心律失常

Tsyplenkova 等对 5 个 W-P-W 综合征病人的右心房心肌进行了光镜和电镜观察,第一次在该综合征病人中揭示心肌细胞的凋亡性退化改变。作者认为这种改变可能是继发性的,系快速性心律失常时引起的微循环障碍所致,心肌细胞的代谢改变和缺血可能触发凋亡,而凋亡后的广泛纤维化可能是病人发生恶性心律失常和猝死的原因之一。Aime 等观察了 50 份心房纤颤和心房肥大病人的右房心肌标本,发现大部分标本中存在心肌细胞凋亡现象,凋亡促成了心肌细胞的重塑,而这种解剖上的变化结合房颤引起的心房肌电生理特性的改变,使心房纤颤频繁复发和不可逆。

3.3 细胞凋亡与先天性传导障碍

凋亡现象存在于人类心脏传导系统形态发生的全过程。窦房结、房室结及房室束、左右束支、结间束的细胞构成和细胞排列在胚胎期、青少年期、成年及老年期都有所不同。人的心脏传导系统在妊娠早期就已形成,但从生后 1~2 周即开始发生形态变化,直到青少年期才基本完成。随着年龄的增长,传导系统的细胞构成又发生形态变化。凋亡过度或凋亡不足可构成心脏传导障碍的结构基础。传导系统发育过程中中心纤维体和房室外结之间的连接如果持续存在,可能成为有自律性的异位节律点,发生早搏或折返性的心动过速^[9]。心房肌细胞通过瓣环与房室沟侧心肌细胞的连接可产生电传导的旁道,表现预激综合征,可能发生偶发性心动过速,如因凋亡过度,可引起先天性房室或束支传导阻滞^[10]。

James 等对一胚胎期发生进行性的房室传导阻滞、生后安置了人工起搏器仍死于进行性右心衰的新生儿进行了尸检,用 TUNEL 发现在其右心室、室上嵴、希氏束存在凋亡现象,左、右束支不存在,也无替代组织,蒲肯野细胞也偶发现,而窦房结、房室结组织结构正常,在对一有进行性房室传导阻滞、后发生猝死的年轻女性的尸检中^[11],发现其房室结、结间束都缺如,希氏束相对正常,窦房结大部被破坏,TUNEL 技术提示在窦房结、房室结和结间束都存在凋亡。在对有心律失常和房室传导阻滞家族史,发生了猝死的两兄弟的心脏传导系统的尸检中^[11],在窦房结、房室结和结间束亦发现凋亡现象。传导系统中的小动脉的血管平滑肌细胞、内皮细胞、神经组织亦有凋亡存在。

3.4 细胞凋亡与长 Q-T 综合征

长 Q-T 综合征以体表心电图显示 Q-T 间期

延长及 T 波改变,临床表现反复晕厥发作、猝死为特征。在对 5 名这种病人切下的窦房结进行的研究中,James 等发现 5 名病人的窦房结中线粒体具有数量多、体积小、畸形的特点,窦房结细胞染色质浓缩、核仁碎裂、凋亡现象的存在,推测这种窦房结的异常是引起该类病人窦性心动过缓、窦性停搏、异位心律失常、甚至猝死的原因之一。Gorgels 等报道了一长 Q-T 综合征病例,Q-T 延长同时伴有 2:1 房室传导阻滞,左、右束支传导障碍,希氏束、蒲肯野纤维传导异常,还有窦性停搏和加速的房室交界性逸搏心律。组织学研究中发现在传导系统异常中包括有细胞凋亡现象。

3.5 细胞凋亡与致心律失常性右室心肌病/右室发育不良

致心律失常性右室心肌病(arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy, ARVC),又称致心律失常性右室发育不良(ARVD),是一种原发的心肌疾病,以进行性的右室心肌萎缩,纤维脂肪组织替代,继而出现心肌电不稳定性,发生右室性心律失常甚至猝死的心脏病,是年轻运动员心脏性猝死的常见原因^[12]。

Mallat 等在对 8 个 ARVC 病人的尸检中,在右室心肌标本中运用 TUNEL 和免疫化学方法发现有 6 个病人右室心肌中存在凋亡。CPP-32 是一种哺乳动物细胞发生凋亡的蛋白酶,在有凋亡现象的心肌中表达水平高,而对照组中无此发现。Valente 等在对 20 个 ARVC 病人进行的右室心内膜活检中,用电镜结合 TUNEL 方法观察到 7 个病人的标本中有凋亡的改变,凋亡的出现与临床病史的持续时间(<6 月)和急性症状、体征的存在有关。Fornes 等对 20 个 ARVC 病人尸检研究中发现该病的发生、发展是一个退行性过程,在该过程中存在着凋亡现象。Nishikawa 等研究了 11 个 ARVC 病人(8 个成年人和 3 个未成年人)的心内膜活检或尸检标本,发现这些病人的心脏损害和凋亡密切相关。Suzuki 等对 1 例 ARVC 病人进行了 10 年随访,该病人病程中反复发生充血性心衰和非持续性室速,后死于心室纤颤和泵衰竭。尸检中发现右室从心外膜到心内膜细胞、左室中层的心肌细胞为大量的纤维、脂肪组织所替代,在脂肪替代组织周围的心肌细胞中存在凋亡。Fox 等在对 ARVC 的一种新发现的动物模型—自发性 ARVC 家猫的尸检中,发现 9/12 个标本中存在凋亡现象,而对照组中没有发现。Turrini 等研究了 38 个 ARVC 病人的心内膜活检标本和信号平均心电图,发现心内膜中纤维组织增加的百分比是晚电位右室射血分数下降的有意义的预报因子,而下降的

右室射血分数在室性心律失常的发生中有作用。凋亡后的替代成分纤维细胞可能构成优先传导通路,成为心律失常的基础。

4 肿瘤抑制基因 p53

p53 蛋白也是现代分子生物学中研究的最多的蛋白之一,p53 具有细胞生长阻滞作用,这种作用可出现 G1 及 G2 期细胞。由于 DNA 损伤引起 p53 蛋白水平升高,通过转录激活作用导致 p21WAF1/CIP1 表达上调,进一步可诱导 MDM2 表达,MDM2 同时可导致 p53 降解,p53 具有诱导凋亡的作用,这种作用与其引起的细胞生长阻滞作用在结构及功能上都是分离的,并可以通过其转录靶点和非转录机制而实现。p53 具有肿瘤抑制作用,与生长发育有关,p53 的小鼠易发生中枢神经系统等发育异常及自发瘤。p53 基因遗传学改变包括:错义突变,无义突变,丢失或插入等位基因丢失。从功能上可分为:沉默突变、丢失野生功能的突变、不显性突变(此种突变的 p53 可起到癌蛋白的作用,也可起到野生型 p53 作用)、假突变。p53 不能单独发挥抑癌作用,需与 p33 协同,最近在哺乳动物 p53 家族又发现 2 种新的成员:p73 和 p51^[13]两者均与 p53 有同源性,至少在过度表达时可激活 p53 反应启动因子,并诱导凋亡。北京医科大学吴秉铨在总结中指出 p53 研究是随着 p53 基因突变检测手段的发展而逐步深入的,大体可分为 3 个阶段:1)用免疫组化方法检测蛋白的积聚,蛋白水平的阳性率不能说是突变率,只是意味着可能有基因突变存在;2)用单链构象多态性分析(SS-CP)检测 p53 基因突变,认识到 p53 蛋白阴性并不等于该基因无突变,因为 p53 错义突变才会有 p53 蛋白的阳性;3)变性梯度凝胶电泳(DGGE)及测序,特别是测序是检测 p53 基因突变的金标准,可用来研究点突变。过去野生型 p53 被认为是抑癌基因,而突变型 p53 则起癌基因的作用。现认为 p53 基因上某些位点突变后形成的 p53 基因仍具有野生型 p53 的特性,并认识到了 p53 基因“假突变、假野生型”的现象。假野生型 p53 基因的抑制细胞增殖的作用上可以比真野生型还要强,因为参与调节的 MDM2 基因表达状态可能不对 p53 基因进行研究,仅仅检测一个指标是不全面的,要同时检测其上、下游基因(如 p21 基因和 Bax 基因)或与其对立的基因(如 bcl-2),共同研究意义更大。

5 展望

心肌肥厚性心律失常是由于心肌肥厚时引起

P 细胞凋亡(P 细胞是窦房结的主要组成细胞并有起搏功能),凋亡过度 and 凋亡不足可构成心脏传导障碍的结构基础,肿瘤抑制基因 p53 具有诱导凋亡的作用,这种作用可以体现在结构及功能上,通过研究 P 细胞凋亡及细胞内 p53 变化从而进一步揭示心肌肥厚时心律失常的本质。

参考文献:

- [1] Parker GM, Gayed A, Owen CA, et al. Survival following an acute coronary syndrome: a pet theory put to the test[J]. *Acta Psychiatr Scand*, 2010, 121(1): 65-70.
- [2] Lu D, Lian H, Zhang X, et al. LMNA E82K mutation activates FAS and mitochondrial pathways of apoptosis in heart tissue specific transgenic mice[J]. *PLoS One*, 2010, 5(12): e15167.
- [3] Karnabi E, Boutjdir M. Role of calcium channels in congenital heart block[J]. *Scand J Immunol*, 2010, 72(3): 226-34.
- [4] 程彦斌, 邢华平. 缺血窦房结细胞钙离子分布的细胞化学研究[J]. *中国循环杂志*, 1995, 9: 548-551.
- [5] Giroux V, Bernatchez G, Carrier JC. Chemopreventive effect of ER β -Selective agonist on intestinal tumorigenesis in Apc (Min/+) Mice[J]. *Mol Carcinog*, 2011, 50(5): 359-369.
- [6] Christ B, Stock P, Dollinger MM. CD13: Waving the flag for a novel cancer stem cell target[J]. *Hepatology*, 2011, 53(4): 1388-1390.
- [7] Weerasinghe SV, Moons DS, Altshuler PJ, et al. Fibrinogen- γ proteolysis and solubility dynamics during apoptotic mouse liver injury: Heparin prevents and treats liver damage[J]. *Hepatology*, 2011, 53(4): 1323-1332.
- [8] Calvisi DF, Simile MM, Ladu S, et al. Activation of v-Myb avian myeloblastosis viral oncogene homolog-like2 (MYBL2)-LIN9 complex contributes to human hepatocarcinogenesis and identifies a subset of hepatocellular carcinoma with mutant p53[J]. *Hepatology*, 2011, 53(4): 1226-1236.
- [9] Okutur K, Kucukler K, Oztekin E, et al. A rare cause of acute abdomen: ruptured adrenal pheochromocytoma[J]. *Turk J Gastroenterol*, 2010, 21(4): 467-9.
- [10] Punu R, Lamberti JJ, Balise RR, et al. QTc prolongation in children following congenital cardiac disease surgery[J]. *Cardiol Young*, 2011, 2: 1-11.
- [11] Santos S, Lanca V, Oliveira H, et al. Genetic diagnosis of hypertrophic cardiomyopathy using mass spectrometry DNA arrays and high resolution melting[J]. *Rev Port Cardiol*, 2011, 30(1): 7-18.
- [12] Patti AM. From the goal of the global polio eradication to the recent epidemics, reflections on the present epidemiological situation and future perspectives[J]. *Ann Ig*, 2010, 22(6): 521-37.
- [13] Giraldo-Vela JP, Bean AT, Rudersdorf R, et al. Simian immunodeficiency virus-specific CD4⁺ T cells from successful vaccinees target the SIV Gag capsid[J]. *Immunogenetics*, 2010, 62(10): 701-7.

(收稿日期 2011-06-11)