

糖原合成酶激酶-3 β 与心血管疾病

白宝宝综述 陶谦民 夏 强审校

【摘要】 糖原合成酶激酶-3 β (GSK-3 β)是一种丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶,大量的实验研究证明 GSK-3 β 与缺血-再灌注损伤密切相关,缺血预处理、后处理及许多心肌保护药物被认为都是通过调节 GSK-3 β 来发挥他们的心肌保护作用,而且 GSK-3 β 被认为是一个心肌肥大的负调节因子。鉴于 GSK-3 β 与心血管疾病的密切相关性。该文将 GSK-3 β 在缺血-再灌注损伤及心肌肥大中的作用及其机制作一综述。

【关键词】 糖原合成酶激酶-3 β ;缺血-再灌注;心力衰竭;心肌肥大

DOI:10.3969/j.issn.1673-6583.2010.01.007

糖原合成酶激酶-3 β (glycogen synthase kinase-3 β , GSK-3 β)是一种丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶,在体内具有非常重要的生物学功能,包括促进细胞的生长、调控细胞周期、维持细胞骨架的完整性及调节物质代谢等。大量的研究表明 GSK-3 β 参与心肌缺血-再灌注及新细胞肥大的调控,本文主要介绍 GSK-3 β 在心肌缺血-再灌注和心肌肥大中的作用及其相关机制。

1 GSK-3 β 的结构、功能和特点

GSK-3 蛋白激酶家族包括两个成员, GSK-3 α 和 GSK-3 β 。GSK-3 α 相对分子质量为 51 000,在 N-末端富含甘氨酸、其具体功能还不清楚,目前对 GSK-3 α 的研究较少,主要集中在研究 GSK-3 β 的功能上, GSK-3 β 相对分子质量为 47 000、和 GSK-3 α 在酶活性区具有很高的序列同源性(97%),而在 C-末端最后的 76 个氨基酸则同源性较差(36%)^[1]。GSK-3 β 和其他蛋白激酶不同,它在细胞静息状态下也具有活性,现在认为 GSK-3 β 在进化过程中非常保守,在体内具有非常重要的生物学功能,包括促进细胞的生长、调控细胞周期、维持细胞骨架的完整性及调节物质代谢等^[2]。上游信号分子对 GSK-3 β 的调节一般认为有 2 种方式,现在研究较为清楚的是上游蛋白激酶对 GSK-3 β 9 号位上的丝氨酸的磷酸化,这一特定部位磷酸化的丝氨酸能够作为“假底物”而与酶底物竞争酶活性中心使 GSK-3 β 的活性下降,目前被鉴定为能够磷酸化 GSK-3 β

的上游信号分子包括蛋白激酶 C(PKC)、蛋白激酶 A(PKA)、蛋白激酶 B(Akt),其中 Akt 对 GSK-3 β 的调节作用最为重要,是心肌细胞受到肥大信号如内皮素-1、血管紧张素 II、肾上腺素刺激后起主要调控 GSK-3 β 作用蛋白激酶。另一种调节方式是通过 Wnt 信号通路,这一调节方式并不涉及 9 号位上丝氨酸的磷酸化,可能通过蓬乱蛋白(dishevelled)来实现,其具体机制尚不清楚^[3]。

2 GSK-3 β 与缺血-再灌注损伤

2.1 抑制 GSK-3 β 在缺血-再灌注损伤中的保护作用

线粒体损伤被认为在介导缺血-再灌注所致的心肌损伤起着重要的作用,特别是线粒体通透性转换孔(mitochondrial permeability transition pore, MPTP)的开放是导致线粒体损伤和细胞死亡的主要原因^[4]。大量的实验证明,通过各种预处理(preconditioning)和缺血后处理(postconditioning)能够明显减轻再灌注损伤,而很多研究者认为其机制是由于预处理或后处理激活了细胞内一系列保护性信号传导途径最终抑制 MPTP 而起到心肌保护作用,其中 GSK-3 β 是许多保护性信号传导通路的共同作用靶点,这些保护性信号传导通过不同的蛋白激酶(如 PKC、Akt 等)来磷酸化而抑制 GSK-3 β ,达到阻止和延缓 MPTP 的开放^[5]。在缺血前 24 h 及再灌注前给予 GSK-3 β 抑制剂都能产生像预处理一样的心肌保护作用^[6]。以上这些研究说明,抑制 GSK-3 β 能够在缺血-再灌注损伤中起到心肌保护作用。

2.2 抑制 GSK-3 β 在心肌保护中的作用机制

通过抑制 GSK-3 β 能够阻止和延缓 MPTP 的

作者单位:310003 杭州,浙江大学医学院附属第一医院心血管内科(白宝宝,陶谦民);浙江大学医学院生理学教研室(夏 强)

通讯作者:陶谦民, E-mail:taoqm12345@sina.com

开放,但是抑制 GSK-3 β 通过什么样的机制来延缓和抑制 MPTP 孔的开放还不清楚,目前对 MPTP 孔的组成还没有完全搞清楚,这就更加增加了对 GSK-3 β 研究的难度,亲环素(cyclophilin D)、腺苷酸转移酶(ANT)、电压依赖性阴离子通道(VDAC)、苯二氮草受体、己糖激酶和肌酸激酶是目前较为公认的组成成分^[7]。也有学者认为上述这些组成成分也可能是调节蛋白,现在研究认为 GSK-3 β 位于线粒体上,并且在缺血-再灌注后含量增多,故认为一个可能的机制是 GSK-3 β 通过蛋白相互作用及磷酸化作用来调节上述 MPTP 组分而发挥作用,如磷酸化的 GSK-3 β 与 ANT 相互作用而影响 ANT 与 cyclophilin D 结合,进而抑制 MPTP 的通透性^[8,9]。有实验表明,线粒体外膜上的 VDAC 可能是 GSK-3 β 的主要作用靶点,GSK-3 β 通过磷酸化 VDAC 而调节其通透性,线粒体外膜上的 VDAC 处于开放状态时核苷酸如三磷酸腺苷(ATP)可以自由通过,而当 VDAC 处于关闭状态时 ATP 则不能自由通过,应用 GSK-3 β 抑制剂能使 VDAC 去磷酸化而关闭进而降低 ATP 的转运,这就为各种预处理在缺血-再灌注损伤中的保护作用提供了一个可能的机制:因为(1)减少了能量的消耗,在缺血、缺氧状态下细胞内的能量产生从线粒体的有氧氧化到细胞浆中的无氧酵解,通过抑制 GSK-3 β 使 VDAC 去磷酸化而降低了 ATP 从细胞浆中向线粒体内的转运,这样就减少了线粒体对能量的消耗。(2)降低了线粒体内的钙超载和氧自由基的产生^[6]。进入线粒体内的 ATP 主要通过线粒体基质中的一种 ATP 酶(F_1F_0 -ATPase)水解,产生的能量主要用于维持线粒体膜电位,通过抑制 GSK-3 β 使进入线粒体内的 ATP 减少进而使线粒体膜电位有所下降,这也降低了钙离子进入线粒体的电化学梯度,从而部分地抑制了线粒体内钙超载。线粒体膜电位的小部分下降也能降低氧自由基的产生,有研究表明,线粒体高电化学梯度能够促进氧自由基的产生,线粒体 ATP 敏感钾通道开放剂部分是通过降低线粒体膜电位而减少氧自由基的产生起到心肌保护作用^[9]。还有学者认为抑制 GSK-3 β 在缺血损伤的保护作用是通过调节缺氧诱导因子(HIF)-1 α 来实现,在缺血、缺氧情况下,HIF-1 α 能够促进葡萄糖的转运、诱导无氧酵解酶类的合成、增加 ATP 的合成,这种通过抑制 GSK-3 β 而产生的抗缺血作用

也在压力负荷所致的心肌肥大动物模型上得到证实^[10,11]。

3 GSK-3 β 与心肌肥大

3.1 GSK-3 β 是一个心肌肥大的负调控因子

心肌细胞肥大是一个复杂的过程,在受到各种生理、病理性刺激因素如血流动力学负荷过重、神经激素的刺激、损伤等作用于细胞膜受体激活了细胞内一系列信号传导通路如丝裂原活化蛋白激酶信号通路(MAPK)、钙调神经磷酸酶-激活 T 细胞核因子(calcineurin- NFAT)信号通路、胰岛素样生长因子-1-磷脂酰肌醇(-3)激酶-蛋白激酶 B(IGF-I-PI3K-AKT)信号通路^[12]。近年来的研究认为,GSK-3 β 是一个介导心肌细胞肥大信号通路中的重要蛋白激酶,它能够整合上游各种不同信号并把这些信号再转到给下游的效应分子,目前的研究一致认为 GSK-3 β 是一个介导心肌细胞肥大的负调控因子^[1]。GSK-3 β 在心肌细胞肥大中的作用,在体内、外都得到证实,肥大刺激能够引起培养心肌细胞内 GSK-3 β 磷酸化而失活,在体动物模型上也证实心脏在受到压力负荷会导致 GSK-3 β 的磷酸化,肥大刺激是通过激活细胞内的信号传导而磷酸化抑制 GSK-3 β ,取消了 GSK-3 β 对细胞肥大的负调控作用,激活 GSK-3 β 似乎对病理性心肌肥大是有益^[13]。但是,转基因小鼠过度表达衍生型 GSK-3 β (表达量超过正常 9 倍、活性是正常的 3.5 倍)影响了其正常发育,导致心脏变小,并且出现心肌舒张功能下降、细胞内钙调控失调;通过使有肥厚型心肌病基因背景的心肌过表达 GSK-3 β 能够抑制心肌肥大,但是导致了心力衰竭;近年的一项研究认为抑制 GSK-3 β 在心力衰竭中具有保护作用,在转基因小鼠心肌特异性负显性表达 GSK-3 β (Tg-GSK-3 β -DN)上证明长期抑制 GSK-3 β 能够引起心肌肥大,但这种心肌肥大接近生理性肥大,因为:(1)这种心肌肥大并不伴有心腔的扩张、心肌纤维化及细胞凋亡的增加;(2)整体心脏收缩功能及分离下来的单个心肌细胞收缩功能增加、这种心肌肌球蛋白重链 α (α MHC)的表达量也增加,更重要的是这种心脏能够阻止压力负荷所致的心肌肥大向心力衰竭的发展^[14]。表明抑制 GSK-3 β 在心脏正常发育过程中的必要性,同时心肌肥大过程中抑制 GSK-3 β 是一种代偿性,对防止心肌肥大向心力衰竭具有一定的积极保护性作用。

3.2 GSK-3 β 抑制心肌细胞肥大的作用机制

GSK-3 β 通过调节下游的靶因子来调控心肌细胞的正常生长、生理性肥大及病理性肥大, GSK-3 β 对下游靶分子的作用方式分为 3 种: (1) 使一些促进细胞增生肥大的调控因子位置发生变化。如 GSK-3 β 对 NFAT 的调节, 研究认为 calcineurin-NFAT 在心肌肥大中具有重要的作用, calcineurin 去磷酸化调节 NFAT 使其从细胞浆进入细胞核而调节肥大基因的表达, GSK-3 β 能够磷酸化 NFAT 使 NFAT 从细胞核外出到细胞浆, 失去其发挥基因调控的作用^[13]。GSK-3 β 对转录因子 GATA-4 的调节也是如此, GATA-4 是介导心肌肥大的重要转录因子, 当其被 GSK-3 β 磷酸化而离开细胞核, 失去调节肥大基因的表达。(2) 磷酸化一些促进细胞增生肥大的调控因子使这些因子降解。GSK-3 β 能磷酸化细胞周期蛋白 D1 (cyclin D₁) 286 号位上的苏氨酸, 磷酸化的 cyclin D₁ 容易被蛋白酶体降解^[15]。(3) 磷酸化一些转录调控因子及翻译调控因子使其体内活性降低^[16]。

4 结语

GSK-3 β 虽然是一个心肌细胞肥大的负调控因子, 心肌细胞肥大是心脏从代偿发展为心力衰竭过程中有害的一种心肌重构, 但是 GSK-3 β 激动剂是否能用于心力衰竭的治疗存在很多问题: (1) 近年的研究表明 GSK-3 β 能够促进心肌纤维化, 增加细胞凋亡, 降低心肌收缩力, 这些变化在心力衰竭过程中有害^[17]。(2) 动物实验表明抑制 GSK-3 β 在糖尿病、阿耳茨海默(氏)病^[18]、心肌缺血都是有利, 那么在心力衰竭中提高 GSK-3 β 的活性可能会造成其他不良影响。(3) 虽然 GSK-3 β 信号通路上的少数转录因子被阐明, 但是这些转录因子如何被整合及其所调控的基因表达还不太清楚。GSK-3 β 在调节细胞生长和死亡中的详细分子生物学机制需要进一步研究。

参 考 文 献

- [1] Liao R, Force T. Not all hypertrophy is created equal[J]. *Circ Res*, 2007, 101(11): 1069-1072.
- [2] Doble BW, Woodgett JR. GSK-3: tricks of the trade for a multi-tasking kinase [J]. *J Cell Sci*, 2003, 116 (Pt 7): 1175-1186.
- [3] Kerkela R, Woulfe K, Force T. Glycogen synthase kinase-3 β -actively inhibiting hypertrophy [J]. *Trends Cardiovasc Med*, 2007, 17(3): 91-96.
- [4] Javadov S, Karmazyn M. Mitochondrial permeability transition pore opening as an endpoint to initiate cell death and as a putative target for cardioprotection [J]. *Cell Physiol Biochem*, 2007, 20(1-4): 1-22.
- [5] Juhaszova M, Zorov DB, Kim SH, et al. Glycogen synthase kinase-3 β mediates convergence of protection signaling to inhibit the mitochondrial permeability transition pore [J]. *J Clin Invest*, 2004, 113(11): 1535-1549.
- [6] Das S, Wong R, Rajapakse N, et al. Glycogen synthase kinase 3 inhibition slows mitochondrial adenine nucleotide transport and regulates voltage-dependent anion channel phosphorylation [J]. *Circ Res*, 2008, 103(9): 983-991.
- [7] Gustafsson AB, Gottlieb RA. Heart mitochondria: gates of life and death [J]. *Cardiovasc Res*, 2008, 77(2): 334-343.
- [8] Juhaszova M, Wang S, Zorov DB, et al. The identity and regulation of the mitochondrial permeability transition pore: where the known meets the unknown [J]. *Ann N Y Acad Sci*, 2008, 1123: 197-212.
- [9] Zhai P, Sadoshima J. Overcoming an energy crisis?: an adaptive role of glycogen synthase kinase-3 inhibition in ischemia/reperfusion [J]. *Circ Res*, 2008, 103(9): 910-913.
- [10] Freeman RS, Barone MC. Targeting hypoxia-inducible factor (HIF) as a therapeutic strategy for CNS disorders [J]. *Curr Drug Targets CNS Neurol Disord*, 2005, 4(1): 85-92.
- [11] Barillas R, Friehs I, Cao-Danh H, et al. Inhibition of glycogen synthase kinase-3 β improves tolerance to ischemia in hypertrophied hearts [J]. *Ann Thorac Surg*, 2007, 84(1): 126-133.
- [12] Chen X, Shevtsov SP, Hsieh E, et al. The beta-catenin/T-cell factor/lymphocyte enhancer factor signaling pathway is required for normal and stress-induced cardiac hypertrophy [J]. *Mol Cell Biol*, 2006, 26(12): 4462-4473.
- [13] Heineke J, Molkentin JD. Regulation of cardiac hypertrophy by intracellular signalling pathways [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2006, 7(8): 589-600.
- [14] Hirotsani S, Zhai P, Tomita H, et al. Inhibition of glycogen synthase kinase 3 β during heart failure is protective [J]. *Circ Res*, 2007, 101(11): 1164-1174.
- [15] Yang K, Guo Y, Stacey WC, et al. Glycogen synthase kinase 3 has a limited role in cell cycle regulation of cyclin D1 levels [J]. *BMC Cell Biol*, 2006, 7: 33.
- [16] Xing W, Zhang TC, Cao D, et al. Myocardium induces cardiomyocyte hypertrophy [J]. *Circ Res*, 2006, 98(8): 1089-1097.
- [17] Sugden PH, Fuller SJ, Weiss SC, et al. Glycogen synthase kinase 3 (GSK3) in the heart: a point of integration in hypertrophic signalling and a therapeutic target? A critical analysis [J]. *Br J Pharmacol*, 2008, 153(Suppl 1): S137-S153.
- [18] Cohen P, Goedert M. GSK3 inhibitors: development and therapeutic potential [J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2004, 3(6): 479-487.

(收稿: 2009-07-03 修回: 2009-11-24)

(本文编辑: 朱 映)