

# I 型组蛋白去乙酰化酶在心肌肥厚中的靶点作用

曹珊珊 苏永立 李瑞芳 王建刚 方伟进 岳阳阳

**【摘要】** 组蛋白去乙酰化酶是一种转录后修饰的酶类,可以使组蛋白去乙酰化。I 型组蛋白去乙酰化酶可促进心肌肥厚发生。在 I 型组蛋白去乙酰化酶中,组蛋白去乙酰化酶 2(HDAC2) 由肥大刺激和热休克蛋白 70 诱导活化。活化的 HDAC2 通过抑制级联信号 Krüppel 样因子 4(KLF4)或肌醇多磷酸磷酸酶-5-f(Inpp5f)触发肥大。因此,调节 HDAC2 的酶类,例如选择性组蛋白去乙酰化酶抑制剂,被认为是治疗心脏疾病尤其是阻止心肌肥厚的一个重要靶标。该文讨论 I 型组蛋白去乙酰化酶在调节心肌肥厚中所起的关键作用。

**【关键词】** I 型组蛋白去乙酰化酶;组蛋白去乙酰化酶抑制剂;心肌肥厚;分子靶点  
doi:10.3969/j.issn.1673-6583.2013.06.011

心肌肥厚是对最初的外源性肥厚刺激的一种代偿性反应,当应激延长时导致失代偿的发生。心肌肥厚主要特征为心肌细胞肥大,蛋白合成增加,肌纤维增粗<sup>[1]</sup>。在这种状态下,胚胎基因心房利钠肽前体、肌球蛋白重链多肽 7 和骨骼肌肌动蛋白前体重新活化<sup>[2]</sup>。然而,心脏收缩性蛋白如肌球蛋白重链多肽 6 和钙调蛋白则被抑制,而且早期快反应基因编码的 c-fos、c-jun 和热休克蛋白(HSP)能被正性调节<sup>[3]</sup>。在人类,慢性高血压和心肌梗死这些应激能触发心肌重塑,其特征性表现是心肌细胞死亡,纤维化,最终导致病理性心脏疾病包括心功能减低、心肌病和心脏衰竭<sup>[4]</sup>。尽管心肌肥厚被认为是一种外源刺激的适应性反应,但失代偿期的心肌肥厚是发病率和死亡率增加的主要危险因素<sup>[5]</sup>。

## 1 组蛋白去乙酰化酶的分类

染色质乙酰化在真核细胞内调节基因表达起着重要作用,乙酰化作用由两类相反的蛋白家族调节,它们是组蛋白乙酰化酶和组蛋白去乙酰化酶(histone deacetylase, HDACs)。近些年来研究证实不同的组蛋白去乙酰化酶参与不同的心脏疾病,如心律不齐、心脏衰竭、急性冠脉综合征以及心肌肥厚<sup>[6]</sup>。

根据与酵母中组蛋白的同源性,人类的 HDACs 家族可以分为 3 类: I 型包括 HDAC1、HDAC2、HDAC3 和 HDAC8,只存在于细胞核中;

II 型包括 II a (HDAC4、HDAC5、HDAC7、HDAC9)、II b (HDAC6、HDAC10)和 HDAC11,在信号转导过程中穿梭于细胞核与细胞质之间,其中 HDAC11 包含有 I 型和 II 型 HDACs 的催化位点; III 型与前两型有很大的区别,其活性不是依赖  $Zn^{2+}$ ,而是依赖辅酶 I(NAD<sup>+</sup>),与酵母的 Sir2 同源。它至少有 7 种亚型,不能被 I、II 型组蛋白去乙酰化酶抑制剂所抑制<sup>[7]</sup>。尽管许多组蛋白去乙酰化酶有高度保守的区域,但 I 型和 II a 型组蛋白去乙酰化酶在调节心肌肥厚过程中起着相反的作用<sup>[8]</sup>。

## 2 I 型组蛋白去乙酰化酶调节心肌生长、增殖、分化

HDACs 是多种病理性心脏疾病的调节器,如纤维化、心律失常、局部缺血性疾病和心脏衰竭。心律失常与多种心脏应激如局部缺血、室内压增高相关,并与肾素-血管紧张素-醛固酮系统的关系密切。

研究显示, I 型的 HDAC1、2、3、8 调控心肌细胞生长、增殖和分化。HDAC1 主要调控心肌细胞增殖和胚胎发育。在心肌细胞中, Nkx2.5 基因是心脏基因表达和心脏发育的关键调节器。下调 HDAC1 可促进 Nkx2.5 的表达<sup>[9]</sup>。另外在胚胎发育早期,小鼠胚胎发育到第 10.5 天时 E10.5 基因缺失可导致严重的心脏分化缺陷,接着发生 HDAC1 基因的分裂,导致胚胎死亡。这些数据说明 HDAC1 在心脏分化和早期胚胎发育中起着重要作用<sup>[10]</sup>。

有证据显示, HDAC2 在胚胎发育和成人心脏中调控肥厚应答。例如,基因敲除实验显示

作者单位: 471003 河南, 洛阳东方医院药剂科(曹珊珊, 苏永立); 471003 河南科技大学医学院药理学和分子生物学实验室(李瑞芳, 王建刚, 方伟进, 岳阳阳)

通信作者: 李瑞芳, Email: lirufang1234@yahoo.com.cn

HDAC2 缺失小鼠致死率增高,线粒体数量和肌小节异常结构增加<sup>[11]</sup>。HDAC2 缺失通过增加 Inpp5f 表达使心脏耐受肥大刺激,Inpp5f 表达则受糖原合成酶激酶 3 $\beta$  活性的影响。相反,HDAC2 过表达的转基因小鼠则对肥厚刺激很敏感。

HDAC3 在心肌发育过程中调控心肌细胞增殖。例如,在 HDAC3 过表达的转基因心脏,心室壁和室间隔增厚<sup>[12]</sup>。近来,另一项研究指出 HDAC3 在心脏表达不同的表型和作用。HDAC3 缺失会导致胚胎死亡,严重的心肌肥厚,3 个月后线粒体解偶联基因表达增加,有些小鼠存活到 4 个月<sup>[13]</sup>。

HDACs 不仅具有从蛋白上移除乙酰基的酶活性作用,而且各种亚型的单独存在也很重要,因为各亚型与配体之间互相影响互相作用,包括与转录因子所形成的复合体<sup>[14]</sup>。因此研究重在关注 HDACs 生物机能的存在和活性。研究表明 HDAC2 的酶活性是肥厚刺激应答的肥厚表现型,而 HDAC2 突变体则不会出现肥厚表现型。这些结果说明 HDAC2 的活性对诱导心肌肥厚比其存在形式更重要,与 II a 型组蛋白去乙酰化酶一样, I 型组蛋白去乙酰化酶的活性受翻译后调节。HDAC1、HDAC2、HDAC3 的活性主要靠酪氨酸激酶 2 的磷酸化调节。HDAC8 被 cAMP 依赖蛋白激酶磷酸化<sup>[15]</sup>。为了更进一步理解心脏病中的磷酸化调节,组蛋白去乙酰化酶被磷酸化修饰调节需要更深入的实验。

一些实验应用组蛋白去乙酰化酶抑制剂进行研究。曲古抑菌素 A (TSA) 在 Hopx 转基因小鼠心肌肥厚模型中,在不改变血管紧张素水平的情况下可抑制心房纤维化、心律失常和连接蛋白 40 的表达<sup>[16]</sup>。TSA 和丙戊酸钠在主动脉结扎诱导的小鼠或大鼠左室心肌肥厚模型、肺动脉结扎诱导的右室心肌肥厚模型中能减少心肌纤维化以及能够部分逆转心肌肥厚<sup>[17-19]</sup>。Lu 等<sup>[20]</sup>研究证实 I 型组蛋白去乙酰化酶在心脏中的促肥厚作用。在体外培养的新生鼠心肌细胞, TSA 能够下调压力负荷诱导的肥大分子表达<sup>[21]</sup>。有实验在双肾两夹肾动脉狭窄诱导的左室心肌肥厚模型中应用丙戊酸钠治疗 4 周后,左室肥厚程度明显减轻<sup>[22]</sup>。而且,这些抑制剂能够改善心肌缺血-再灌注模型的梗死面积,恢复心室功能,是治疗急性冠脉综合征的新靶点。长时间的肥大刺激可以导致心肌病和心脏衰竭的发生,而 I 型组蛋白去乙酰化酶抑制剂能够降低主动脉结扎诱导的小鼠心衰死亡率<sup>[23]</sup>。

HDAC2 和 HDAC3 在调节心肌肥厚和增殖时发挥不同的作用,HDAC2 在促进心肌肥厚时伴随着抑制增殖,而 HDAC3 抑制心肌肥厚伴随着促增殖,然而,组蛋白去乙酰化酶抑制剂的应用研究,提示其是治疗心脏疾病尤其是阻止心肌肥厚的一个重要靶标。

### 3 HDAC2 在心肌肥厚中的作用

用 HDAC2 基因敲除鼠或有心肌病症的转基因小鼠证实了 HDAC2 参与心肌肥厚的调控。Hopx/HDAC2/HSP70/KLF4 信号级联反应是调节心脏肥厚通路。Hopx 是心肌专一调节转录的基因,是在胚胎期和出生后心肌细胞内表达的特殊同源结构域蛋白。Hopx 缺失导致心肌增殖性心脏缺陷。Hopx 转基因鼠显示 HDAC2 的募集促进心肌肥厚和心肌纤维化,而不是 Hopx 的表达促进心肌肥厚或募集 HDAC2。Hopx 转基因鼠诱导的心肌肥厚能被 TSA 或丙戊酸钠抑制<sup>[24]</sup>。尽管越来越多的研究表明,Hopx 转基因鼠的组蛋白去乙酰化酶活性与野生型小鼠相比增加,但在心肌肥厚过程中各组蛋白去乙酰化酶亚型活性的变化却不清楚。因此,研究的重点是 I 型组蛋白去乙酰化酶在应答肥厚刺激时的活性。目前仅观察到 HDAC2 在应答肥厚刺激时的活性。

HSPs 由肥厚刺激诱导心肌肥厚。HDAC2 和部分 HSP70 活性之间互相作用促进心肌肥厚。HDAC2 激活使心肌细胞面积增加,而 HSP70 敲除鼠的 HDAC2 表达减少,这些数据充分说明 HSP70/HDAC2 是调节心肌肥厚重要途径,上调 HSP70 可以调节肥厚刺激引起的 HDAC2 活性。

HDAC2 也可调节心肌肥厚的下游靶点。在心肌肥厚中,KLF4 是 HDAC2 的作用靶点,通过抑制心房利钠肽前体表达逆转心肌肥厚。KLF4 过表达能阻断心房利钠肽前体转录水平。相反,KLF4 的减少促进心肌肥厚<sup>[25]</sup>。这些结果说明 KLF4 是抗肥厚的一种靶点。一些报道显示,通过 KLF4 敲除鼠来证明 KLF4 是心肌肥厚的负性调节因子。

### 4 现状与展望

HDACs 在心脏发育和心脏疾病如心肌肥厚和心脏衰竭中扮演着重要的作用,I型和IIa 型组蛋白去乙酰化酶在调控心肌细胞生长和病理性心脏病时发挥着相反的作用。HDAC2 是早期肥厚刺激应答的主要因子,HDACs 抑制剂的研究也进一步显示 I 型组蛋白去乙酰化酶比 IIa 型组蛋白去乙酰化酶在心肌肥厚过程中发挥的作用更重要。近来研究显示,广谱的组蛋

白去乙酰化酶抑制剂阻止心肌肥厚、纤维化、局部心肌缺血与专一的I型和IIa型组蛋白去乙酰化酶抑制剂类似。

目前,关于 HDACs 的研究主要集中在抗癌领域,已经有 HDACs 抑制剂开始用于临床恶性肿瘤的治疗。

在心肌肥厚发病中的研究,主要是通过基因敲除鼠来阐明不同组蛋白去乙酰化酶亚型的功能。阐明 HDACs 及其抑制剂在基因转录的乙酰化修饰调控在心肌肥大发病中的重要地位,将为心肌肥大和心衰的发病机制及治疗提供新的思路,为新药设计提供分子靶点。

### 参 考 文 献

- [1] Clocchiatti A, Di Giorgio E, Ingrao S, et al. Class IIa HDACs repressive activities on MEF2-dependent transcription are associated with poor prognosis of ER<sup>+</sup> breast tumors [J]. *FASEB*, 2013, 27 (3): 942-954.
- [2] Min SK, Koh YH, Park Y, et al. Expression of HAT1 and HDAC1, 2, 3 in Diffuse Large B-Cell Lymphomas, Peripheral T-Cell Lymphomas, and NK/T-Cell Lymphomas [J]. *Korean J Pathol*, 2012, 46(2): 142-150.
- [3] Dobaczewski M, Bujak M, Li N, et al. Smad3 signaling critically regulates fibroblast phenotype and function in healing myocardial infarction [J]. *Circ Res*, 2010, 107(3): 418-428.
- [4] Shah RR, Koniski A, Shinde M, et al. Regulation of primitive hematopoiesis by class I histone deacetylases [J]. *Dev Dyn*, 2013, 242(2): 108-121.
- [5] Tang J, Yan H, Zhuang S. Histone deacetylases as targets for treatment of multiple diseases [J]. *Clin Sci*, 2013, 124(11): 651-662.
- [6] Deubzer HE, Schier MC, Oehme I. HDAC11 is a novel drug target in carcinomas [J]. *Int J Cancer*, 2013, 132(9): 2200-2208.
- [7] Sato T, Kotake D, Hiratsuka M, et al. Enhancement of inflammatory protein expression and nuclear factor K $\kappa$ B (NF-K $\kappa$ B) activity by trichostatin A (TSA) in OP9 preadipocytes [J]. *PLoS One*, 2013, 8(3): e59702.
- [8] Zhao L, Chen CN, Hajji N, et al. Histone deacetylation inhibition in pulmonary hypertension: therapeutic potential of valproic acid and suberoylanilide hydroxamic acid [J]. *Circulation*, 2012, 126(4): 455-467.
- [9] Larsson P, Ulfhammer E, Magnusson M, et al. Role of histone acetylation in the stimulatory effect of valproic acid on vascular endothelial tissue-type plasminogen activator expression [J]. *PLoS One*, 2012, 7(2): e31573.
- [10] Von Mevenn F, Porstmann T, Gasser E, et al. Glucagon-induced acetylation of foxa2 regulates hepatic lipid metabolism [J]. *Cell Metab*, 2013, 17(3): 436-447.
- [11] Cho YK, Eom GH, Kee HJ, et al. Sodium valproate, a histone deacetylase inhibitor, but not capopril, prevents right ventricular hypertrophy in rats [J]. *Circulation*, 2010, 74(4): 760-770.
- [12] Gao SM, Chen CQ, Wang LY, et al. Histone deacetylases inhibitor sodium butyrate inhibits JAK2/STAT signaling through upregulation of SOCS1 and SOCS3 mediated by HDAC8 inhibition in myeloproliferative neoplasms [J]. *Exp Hematol*, 2013, 41(3): 261-270.
- [13] Groseli B, Sharma NL, Hamdy FC, et al. Histone deacetylase inhibitors as radiosensitisers: effects on DNA damage signalling and repair [J]. *Br J Cancer*, 2013, 108 (4): 748-754.
- [14] Subramaniam V, Lip GY. Hypertension to heart failure: a pathophysiological spectrum relating blood pressure, drug treatments and stroke [J]. *Rev Cardiovasc Ther*, 2009, 7(6): 703-713.
- [15] Wolfson NA, Ann Pitcairn C, Fierke CA. HDAC8 substrates: Histones and beyond [J]. *Biopolymers*, 2013, 99 (2): 112-126.
- [16] Ma P, Schultz RM. Histone deacetylase 2 (HDAC2) regulates chromosome segregation and kinetochore function via H4K16 deacetylation during oocyte maturation in mouse [J]. *PLoS Genet*, 2013, 9(3): e1003377.
- [17] Golden SA, Christoffel DJ, Heshmati M, et al. Epigenetic regulation of RAC1 induces synaptic remodeling in stress disorders and depression [J]. *Nat Med*, 2013, 19 (3): 337-344.
- [18] McKinsey TA. Therapeutic potential for HDAC inhibitors in the heart [J]. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, 2012, 52: 303-319.
- [19] Matsushima S, Kuroda J, Ago T, et al. Increased oxidative stress in the nucleus caused by Nox4 mediates oxidation of HDAC4 and cardiac hypertrophy [J]. *Circ Res*, 2013, 112(4): 651-663.
- [20] Lu Y, Yang S. Angiotensin II induces cardiomyocyte hypertrophy probably through histone deacetylases [J]. *Tohoku J Exp Med*, 2009, 219(1): 17-23.
- [21] Zhang L, Li M, Zhang L, et al. Discovering the binding modes of natural products with histone deacetylase 1 [J]. *Med Chem*, 2013, 9(1): 126-132.
- [22] Dunoyer-Geindre S, Kruihof EK. Epigenetic control of tissue-type plasminogen activator synthesis in human endothelial cells [J]. *Cardiovasc Res*, 2011, 90(3): 457-463.
- [23] Kee HJ, Kook H. Kruppel-like factor 4 mediates histone deacetylase inhibitor-induced prevention of cardiac hypertrophy [J]. *Mol Cell Cardiol*, 2009, 47(6): 770-780.
- [24] Liao X, Haldar SM, Lu Y, et al. Kruppel-like factor 4 regulates pressure-induced cardiac hypertrophy [J]. *Mol Cell Cardiol*, 2010, 49(2): 334-338.
- [25] Zhu W, Trivedi CM, Zhou D, et al. Inpp5f is a polyphosphoinositide phosphatase that regulates cardiac hypertrophic responsiveness [J]. *Circ Res*, 2009, 105(12): 1240-1247.

(收稿:2013-03-20 修回:2013-07-09)

(本文编辑:金谷英)