

Wnt 信号通路与心血管疾病的研究进展

张友明 朱红涛

【摘要】 Wnt 信号通路是一种多元复杂的级联放大信号通路,参与心血管系统的发育,正常生理状态下 Wnt 信号通路通常是静止的,在心血管疾病状态下可被激活。该文介绍了 Wnt 信号通路在动脉粥样硬化、心肌梗死、心肌肥厚、心力衰竭以及心律失常发病中的作用,探讨其在心血管疾病诊治中的潜在价值。

【关键词】 Wnt 信号通路;心血管疾病

doi:10.3969/j.issn.1673-6583.2016.05.004

Wnt 信号通路是一种多元复杂的级联放大信号通路,参与调控细胞增殖、分化、凋亡等多个病理生理过程。研究表明,Wnt 信号通路在心血管系统发育过程中起重要作用,正常生理状态下 Wnt 信号通路通常是静止的,心血管疾病状态下可被激活。

1 Wnt 信号通路及其生理作用

Wnt 的命名来源于果蝇的无翅基因 Wingless 和乳腺癌小鼠中克隆出的原癌基因 Int,由两者合并而成^[1],其编码的 Wnt 蛋白是一种分泌型糖蛋白,由 350~400 个氨基酸组成。目前,Wnt 蛋白家族包括至少 19 个成员。

Wnt 基因调控的信号转导系统称为 Wnt 信号通路,主要由细胞外 Wnt 蛋白、细胞膜受体、胞浆内信号转导部分和核内转录调控部分组成,分为经典型和非经典型。经典型是指 Wnt 蛋白与细胞表面卷曲蛋白(FZD)受体结合,胞浆内的 β -连环蛋白(β -catenin)累积增加,进入细胞核与核内转录因子作用并促进特定基因表达。非经典型又称不依赖 β -catenin 信号通路,Wnt 蛋白与细胞表面 FZD 受体结合,胞浆内主要涉及 Wnt/ Ca^{2+} 信号转导通路[包括 Wnt/ Ca^{2+} /钙调蛋白激酶 II (CaMK II)、Wnt/ Ca^{2+} /蛋白激酶-C(PKC)和 Wnt/ Ca^{2+} /钙调神经磷酸酶(Calcineurin)]和 Wnt/平面细胞极性(PCP)信号转导通路[包括 GTP 酶(Rho 和 Rac)/c-Jun 氨基末端激酶(JNK)]。

除了 Wnt 蛋白,Wnt 通路抑制剂 DKK 和分泌

型卷曲相关蛋白(sFRP)也可以通过不同途径影响 Wnt 配体-受体相互作用,调节 Wnt 信号转导。低密度脂蛋白受体相关蛋白(LRP)是一种辅助受体,与细胞表面 FZD 受体形成 Wnt 受体复合物,DKK 与 LRP5/6 结合,使 Wnt 受体复合物构象发生改变,阻断信号转导。sFRP 具有与 FZD 受体类似的半胱氨酸富含区域,在细胞外可结合 Wnt 蛋白,抑制其与 FZD 受体结合,从而阻断信号转导。此外,Wnt 抑制因子-1(WIF1)、肾素受体(RR)以及胰岛素样生长因子结合蛋白-4 也具有抑制 Wnt 信号转导作用,但目前研究尚不充分。

在许多器官发育过程中 Wnt 信号通路起重要作用,参与调控组织形态、非对称细胞的分化以及组织细胞自我更新等生物过程。心脏发育过程包括心瓣、腔室、间隔及瓣膜形成,Wnt 配体、FZD 受体及细胞外 Wnt 通路抑制物在这些过程中均有不同程度表达^[2]。此外,Wnt 信号通路在血管发育早期也起着关键作用,内皮细胞可表达一系列 Wnt、FZD 基因以及 Wnt 通路调节因子 DKK 和 sFRP,其中 Wnt3a 和 Wnt5a 可增强胚胎干细胞源内皮细胞分化^[3-4]。

2 Wnt 信号通路与动脉粥样硬化

动脉粥样硬化(AS)形成是一个复杂的过程,内皮细胞受损、内皮下脂质堆积、血管平滑肌细胞增殖迁移和局部炎症反应等是其发病过程中的关键因素。

2.1 Wnt 信号通路与内皮功能和炎症反应

血管内皮细胞受损、炎症和促血栓形成基因表达上调、炎症细胞聚集于内皮下被认为是 AS 的起始阶段。当内皮细胞激活或受损时,可表达 Wnt 蛋

白(Wnt2、-3、-4、-5、-7、-8、-9 和-11)、FZD(FZD1~10,除了FZD3)受体以及其他Wnt信号通路相关分子(LRP5、LRP6、sFRP1、sFRP3、DKK1和DKK3)^[5]。在AS好发区域(低切应力区),内皮细胞中 β -catenin表达增加^[6]。Wnt信号通路在内皮细胞炎症反应中也起重要作用。将Wnt5a与内皮细胞共同孵育1h,发现炎症因子白细胞介素(IL)-1 α 、IL-6和IL-8表达上调,延长孵育时间,炎症因子表达量进一步增加,Wnt5a可能是通过Ca²⁺/PKC激活核因子 κ B(NF- κ B)引起炎症因子表达增加^[7]。上述研究说明经典型Wnt信号通路在内皮细胞激活或受损早期发挥重要作用,而非经典型Wnt信号通路主要参与随后的炎症反应。

2.2 Wnt 信号通路 与血管平滑肌增殖、迁移

AS病灶中炎症反应微环境可改变血管平滑肌(VSMCs)的表型,随后VSMCs不断增殖,迁移至内膜下,分泌细胞外基质使内膜增厚并形成斑块纤维帽。VSMCs增殖和迁移均受Wnt信号通路调节。研究证实,经典型Wnt4/FZD1通路参与血管内膜增厚^[8],非经典型Wnt信号通路的下游成分CaMK II和JNK可促进VSMCs增殖^[9]。此外,Wnt3a可上调整合素激酶基因表达和增强 β 1-整合素活性,从而提高VSMCs迁移和黏附能力^[10]。而Kindlin2小干扰RNA可抑制Wnt3a诱导的VSMCs增殖和迁移^[11]。

2.3 Wnt 信号通路 与血管钙化

血管钙化是AS的重要特征,与斑块大小呈正相关。血管钙化过程中,VSMCs凋亡或表型转化为成骨样细胞,分泌细胞外基质浓缩钙磷,促进钙化形成。Wnt/ β -catenin信号通路激活可调节成骨细胞分化和新骨形成,其中 β -catenin和骨形态发生蛋白-2(BMP2)起重要作用^[12]。研究发现,将人VSMCs与磷酸盐和骨化三醇孵育,细胞核内 β -catenin水平明显增加,BMP2、成骨样细胞转录因子-2(Msx2)和骨钙蛋白mRNA表达上调,DKK1可抑制磷酸盐和骨化三醇诱导的上述改变^[13]。此外,镁可通过抑制Wnt/ β -catenin信号通路逆转VSMCs钙化^[14]。

3 Wnt 信号通路 与心肌梗死

研究发现急性心肌梗死(AMI)后Wnt信号通路相关分子表达发生改变。将小鼠冠状动脉前降支结扎诱导AMI,1周后梗死区Wnt10b、FZD1、-2、-5、-10和SFRP1mRNA表达上调,Wnt7b、FZD8

mRNA表达下调,FZD3、-4、-6和-7mRNA表达无改变^[15]。另一项研究也发现在小鼠前降支结扎5d后,梗死区Wnt4mRNA表达增加^[16]。在大鼠AMI后3d,外周血清sFRP2水平达最高峰,而2周后却几乎检测不到^[17]。此外,在心肌梗死的肉芽组织中可检测到内皮细胞 β -catenin^[18]和Wnt10b^[19]表达增加。

如上所述,AMI后心脏Wnt信号通路被激活,由此推测Wnt信号通路在后期心脏修复中可能起重要作用。研究发现,sFRP2能抑制心肌成纤维细胞I型胶原的合成、成熟及沉积,AMI大鼠模型体内注射sFRP2,2周后左室纤维化程度明显降低^[17]。而另一研究发现,在sFRP2敲除的AMI小鼠模型中,心肌纤维化水平也明显降低。造成上述不同观点可能与内外源性sFRP2有关^[20]。在AMI小鼠模型中,DKK2可明显减小梗死面积和纤维化程度,同时还可以减少心肌凋亡和增加毛细血管再生^[21]。与DKK3^{+/+}同窝小鼠相比,AMI后1周DKK3^{-/-}小鼠心肌细胞凋亡增加,炎症反应加剧,左室功能恶化^[22]。将经典型Wnt信号通路激动剂Wnt3a注入梗死边缘区可明显增加梗死范围和左室容积^[23]。相反,Wnt10b可促进损伤区域血管新生、减少心肌纤维化及缩小梗死面积,从而改善左室功能^[19]。这说明经典型Wnt信号通路在心肌梗死中的确切作用尚不完全清楚。

4 Wnt 信号通路 与心肌肥厚

心肌肥厚是心脏对负荷增加后的适应性改变,其主要特征为蛋白合成增加和单个心肌细胞增大。Wnt信号通路在心肌肥厚的发展过程中发挥重要作用。

散乱蛋白(Dvl)由500~600个氨基酸组成,经典型和非经典型Wnt信号通路均需要激活胞质内Dvl以募集下游蛋白。许多研究已证实Dvl蛋白与心肌肥厚相关,在主动脉缩窄术诱导的左室心肌肥厚模型中,Dvl1表达水平明显增加。而采用转基因技术使小鼠体内Dvl1过表达,发现小鼠12周龄时已出现严重心肌肥厚^[24]。此外,对Dvl1^{-/-}小鼠行主动脉缩窄术,发现小鼠左室壁未增厚,心脏质量未增加, β -catenin含量降低^[25]。核质穿梭蛋白(Dpr1)是Wnt信号通路中的一种成分,在细胞/组织内能够与Dvl相互作用,研究发现Dpr1可通过与Dvl2结合,激活Wnt/ β -catenin通路,诱导心肌肥厚^[26]。同样,在Wnt5a介导的Wnt非经典信号通路中,Dpr1可通过激活Wnt/PCP/JNK通路诱导

心肌肥厚,相反,抑制 Dpr1 可阻止心肌肥厚^[27]。糖原合成酶激酶-3 β (GSK-3 β)为 Dvl 下游基因,可使激活蛋白-1、 β -catenin 磷酸化,抑制其功能,诱导心肌肥厚。其中,GSK-3 β 活化程度在心肌肥厚中起重要作用。GSK-3 β 过度激活可抑制生理性和病理性心肌肥厚;而 GSK-3 β 活性抑制仅见于严重心力衰竭患者,不见于心肌肥厚患者^[28]。

5 Wnt 信号通路与心力衰竭

心力衰竭是多种心脏疾病的终末阶段,目前的治疗不能治愈心力衰竭,仅能延缓病情恶化。越来越多的证据发现 Wnt 信号通路参与心脏重构和心力衰竭进程,认为 Wnt 信号通路可能成为心力衰竭防治的新靶点。

Schumann 等^[29]最早发现心力衰竭患者 sFRP3 和 sFRP4 mRNA 水平上调,可能与 β -catenin 表达下调和心肌细胞凋亡相关。Askevold 等^[30]发现心力衰竭患者血清 sFRP3 水平明显增加,sFRP3 基础水平的三分位数与心血管全因死亡率显著相关。虽然也有研究认为 sFRP3 预测心血管事件的证据不足^[31],但 sFRP3 在心力衰竭中的作用仍值得进一步研究。Wnt 信号通路在心功能恢复过程中也具有重要作用。在左室辅助装置治疗心力衰竭过程中,血清 sFRP1 水平降低^[32]。心力衰竭动物模型 TO2 系仓鼠体内 sFRP2 表达增加,心肌纤维化显著,予抗 sFRP2 抗体治疗 2 周,发现左室射血分数明显增加,心肌纤维化程度降低 50%以上^[33]。主动脉缩窄术诱导心力衰竭过程中 GSK-3 β 基因过度表达^[34],抑制 GSK-3 β 表达有利于心力衰竭治疗。最近研究发现 GSK-3 β 激活可改善心肌肌丝 Ca²⁺ 敏感性,推测 GSK-3 β 可能成为提高心脏收缩功能的新靶点^[35]。

6 Wnt 信号通路与心律失常

心律失常发病机制通常被分为冲动起源异常和传导异常。连接心肌细胞的闰盘组织是心脏电冲动正常传导的先决条件,分为黏附连接复合体和间隙连接复合体。间隙连接复合体由连接蛋白(Cx)组成,心脏中的 Cx 主要分为 Cx40、Cx43 和 Cx45 亚型^[36]。经典 Wnt 信号通路可调节 Cx43 蛋白表达。快速刺激新生大鼠心肌细胞发现细胞核 β -catenin 表达水平增加,快速刺激 1 h 后发现 Cx43 蛋白表达也明显增加^[37]。

7 结语

Wnt 信号通路参与多种疾病过程,各文献报道

Wnt 信号通路激活或抑制的结果不一致,可能与疾病涉及不同类型细胞和 Wnt 信号通路并非单独发挥作用有关。目前多数研究的数据来自动物模型,尚缺少相关临床数据。对 Wnt 信号通路的深入研究将为心血管疾病的诊治提供新的思路和干预靶点。

参 考 文 献

- [1] Johnson ML, Rajamannan N. Diseases of Wnt signaling[J]. Rev Endocr Metab Disord, 2006,7(1-2):41-49.
- [2] Brade T, Männer J, Kühl M. The role of Wnt signalling in cardiac development and tissue remodelling in the mature heart[J]. Cardiovas Res, 2006,72(2):198-209.
- [3] Yang DH, Yoon JY, Lee SH, et al. Wnt5a is required for endothelial differentiation of embryonic stem cells and vascularization via pathways involving both Wnt/ β -catenin and protein kinase Calpha[J]. Circ Res, 2009,104(3):372-379.
- [4] Wang H, Charles PC, Wu Y, et al. Gene expression profile signatures indicate a role for Wnt signaling in endothelial commitment from embryonic stem cells[J]. Circ Res, 2006,98(10):1331-1339.
- [5] Franco CA, Liebner S, Gerhardt H. Vascular morphogenesis: a Wnt for every vessel? [J]. Curr Opin Genet Dev, 2009,19(5):476-483.
- [6] Gelfand BD, Meller J, Pryor AW, et al. Hemodynamic activation of β -catenin and T-cell-specific transcription factor signaling in vascular endothelium regulates fibronectin expression[J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2011,31(7):1625-1633.
- [7] 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.
- [8] Tsaousi A, Williams H, Lyon CA, et al. Wnt4/ β -catenin signaling induces VSMC proliferation and is associated with intimal thickening[J]. Circ Res, 2011,108(4):427-436.
- [9] Cipolletta E, Monaco S, Maione AS, et al. Calmodulin-dependent kinase II mediates vascular smooth muscle cell proliferation and is potentiated by extracellular signal regulated kinase[J]. Endocrinology, 2010,151(6):2747-2759.
- [10] Wu X, Wang J, Jiang H, et al. Wnt3a activates β 1-integrin and regulates migration and adhesion of vascular smooth muscle cells [J]. Mol Med Rep, 2014,9(4):1159-1164.
- [11] Wu X, Liu W, Jiang H, et al. Kindlin-2 siRNA inhibits vascular smooth muscle cell proliferation, migration and intimal hyperplasia via Wnt signaling[J]. Int J Mol Med, 2016,37(2):436-444.
- [12] Mbalaviele G, Sheikh S, Stains JP, et al. β -catenin and BMP-2 synergize to promote osteoblast differentiation and new bone formation [J]. J Cell Biochem, 2005,94(2):403-418.
- [13] Martinez-Moreno JM, Munoz-Castaneda JR, Herencia C, et

- al. In vascular smooth muscle cells paricalcitol prevents phosphate-induced Wnt/beta-catenin activation [J]. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2012,303(8):F1136-F1144.
- [14] Montes DOA, Guerrero F, Martinez-Moreno JM, et al. Magnesium inhibits Wnt/beta-catenin activity and reverses the osteogenic transformation of vascular smooth muscle cells [J]. *PloS One*, 2014,9(2):e89525.
- [15] Barandon L, Couffignal T, Ezan J, et al. Reduction of infarct size and prevention of cardiac rupture in transgenic mice overexpressing FrzA [J]. *Circulation*, 2003,108(18):2282-2289.
- [16] Aisagbonhi O, Rai M, Ryzhov S, et al. Experimental myocardial infarction triggers canonical Wnt signaling and endothelial-to-mesenchymal transition [J]. *Dis Model Mech*, 2011,4(4):469-483.
- [17] He W, Zhang L, Ni A, et al. Exogenously administered secreted frizzled related protein 2 (Sfrp2) reduces fibrosis and improves cardiac function in a rat model of myocardial infarction [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2010,107(49):21110-21115.
- [18] Blankesteijn WM, van Gijn ME, Essers-Janssen YP, et al. Beta-catenin, an inducer of uncontrolled cell proliferation and migration in malignancies, is localized in the cytoplasm of vascular endothelium during neovascularization after myocardial infarction [J]. *Am J Pathol*, 2000,157(3):877-883.
- [19] Paik DT, Rai M, Ryzhov S, et al. Wnt10b gain-of-function improves cardiac repair by arteriole formation and attenuation of fibrosis [J]. *Circ Res*, 2015,117(9):804-816.
- [20] Kobayashi K, Luo M, Zhang Y, et al. Secreted Frizzled-related protein 2 is a procollagen C proteinase enhancer with a role in fibrosis associated with myocardial infarction [J]. *Nat Cell Biol*, 2009,11(1):46-55.
- [21] Min JK, Park H, Choi HJ, et al. The WNT antagonist Dickkopf2 promotes angiogenesis in rodent and human endothelial cells [J]. *J Clin Invest*, 2011,121(5):1882-1893.
- [22] Bao MW, Cai Z, Zhang XJ, et al. Dickkopf-3 protects against cardiac dysfunction and ventricular remodelling following myocardial infarction [J]. *Basic Res Cardiol*, 2015,110(3):25.
- [23] Oikonomopoulos A, Sereti KI, Conyers F, et al. Wnt signaling exerts an antiproliferative effect on adult cardiac progenitor cells through IGFBP3 [J]. *Circ Res*, 2011,109(12):1363-1374.
- [24] Malekar P, Hagenmueller M, Anyanwu A, et al. Wnt signaling is critical for maladaptive cardiac hypertrophy and accelerates myocardial remodeling [J]. *Hypertension*, 2010,55(4):939-945.
- [25] van de Schans VA, van den Borne SW, Strzelecka AE, et al. Interruption of Wnt signaling attenuates the onset of pressure overload-induced cardiac hypertrophy [J]. *Hypertension*, 2007,49(3):473-480.
- [26] Hagenmueller M, Riffel JH, Bernhold E, et al. Dapper-1 induces myocardial remodeling through activation of canonical Wnt signaling in cardiomyocytes [J]. *Hypertension*, 2013,61(6):1177-1183.
- [27] Hagenmueller M, Riffel JH, Bernhold E, et al. Dapper-1 is essential for Wnt5a induced cardiomyocyte hypertrophy by regulating the Wnt/PCP pathway [J]. *Febs Lett*, 2014,588(14):2230-2237.
- [28] Kerkela R, Kockeritz L, Macaulay K, et al. Deletion of GSK-3beta in mice leads to hypertrophic cardiomyopathy secondary to cardiomyoblast hyperproliferation [J]. *J Clin Invest*, 2008,118(11):3609-3618.
- [29] Schumann H, Holtz J, Zerkowski HR, et al. Expression of secreted frizzled related proteins 3 and 4 in human ventricular myocardium correlates with apoptosis related gene expression [J]. *Cardiovasc Res*, 2000,45(3):720-728.
- [30] Askevold ET, Aukrust P, Nymo SH, et al. The cardiokine secreted Frizzled-related protein 3, a modulator of Wnt signalling, in clinical and experimental heart failure [J]. *J Intern Med*, 2014,275(6):621-630.
- [31] Motiwala SR, Szymonifka J, Belcher A, et al. Measurement of novel biomarkers to predict chronic heart failure outcomes and left ventricular remodeling [J]. *J Cardiovasc Transl Res*, 2014,7(2):250-261.
- [32] Felkin LE, Lara-Pezzi EA, Hall JL, et al. Reverse remodelling and recovery from heart failure are associated with complex patterns of gene expression [J]. *J Cardiovasc Transl Res*, 2011,4(3):321-331.
- [33] Mastro M, Shah Z, Hsieh K, et al. Secreted Frizzled-related protein 2 as a target in antifibrotic therapeutic intervention [J]. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2014,306(6):C531-C539.
- [34] Hirotani S, Zhai P, Tomita H, et al. Inhibition of glycogen synthase kinase 3beta during heart failure is protective [J]. *Circ Res*, 2007,101(11):1164-1174.
- [35] Kirk JA, Holewinski RJ, Kooij V, et al. Cardiac resynchronization sensitizes the sarcomere to calcium by reactivating GSK-3beta [J]. *J Clin Invest*, 2014,124(1):129-138.
- [36] 王倩, 杨奕清. 缝隙连接蛋白 40 与心房颤动的关系 [J]. *国际心血管病杂志*, 2013,40(4):199-202.
- [37] Nakashima T, Ohkusa T, Okamoto Y, et al. Rapid electrical stimulation causes alterations in cardiac intercellular junction proteins of cardiomyocytes [J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2014,306(9):H1324-H1333.

(收稿:2016-04-06 修回:2016-06-01)

(本文编辑:胡晓静)