

# SnoN 蛋白对心肌纤维化的影响

安永强 马丽娟 刘 巍

**【摘要】** 心肌纤维化是心血管系统疾病发展到一定阶段的共同病理变化,是心脏功能减退、恶性心律失常发生发展的基础。转化生长因子- $\beta 1$  (TGF- $\beta 1$ ) 是促进心肌纤维化的重要细胞因子,而核转录共抑制因子 SnoN 能通过 Smads 蛋白抑制 TGF- $\beta 1$  信号通路,从而抑制心肌纤维化的发生发展。

**【关键词】** 心肌纤维化;转化生长因子- $\beta 1$ ;SnoN

doi:10.3969/j.issn.1673-6583.2017.02.012

心肌纤维化是心血管系统疾病发展到一定阶段的共同病理变化,是心脏功能减退、恶性心律失常发生发展的病理基础。转化生长因子- $\beta 1$  (TGF- $\beta 1$ ) 是致组织纤维化的重要细胞因子。Smads 蛋白是 TGF- $\beta 1$  信号转导和发挥致纤维化作用的重要信号分子。研究发现,核转录共抑制因子 SnoN(Ski-related novel protein N)与 Smads 蛋白相互作用,以负性调控方式有效抑制 TGF- $\beta$ /Smad 信号通路转导,抑制组织纤维化的发生发展。鉴于 TGF- $\beta 1$  在心肌纤维化中的重要生物学功能,心肌纤维化中 SnoN 与 TGF- $\beta 1$  相互作用机制成为研究热点。本文介绍 SnoN 通过 TGF- $\beta$ /Smad 信号通路对心肌纤维化的影响。

## 1 SnoN 的基本特征

SnoN 是 Ski 原癌基因家族成员之一。20 世纪 80 年代人们在鸡胚纤维母细胞及肿瘤细胞中,发现了与 Ski 结构相近的 SnoN。人类 SnoN 蛋白还有另外 3 种独立亚型,分别为 SnoN2、SnoI 和 SnoA,由 SnoN 基因选择性剪接产生。SnoN 基因编码含 684 个氨基酸的蛋白质,SnoN2 的结构与 SnoN 几乎相同,仅比 SnoN 少 46 个氨基酸;SnoI 由 399 个氨基酸组成,与 SnoN、SnoN2、SnoA 的氨基酸序列有明显不同;SnoA 由 415 个氨基酸组成,外显子 1 与 SnoN 有明显不同<sup>[1]</sup>。目前对于 SnoN 另外 3 种

亚型功能的了解仍较少。自首次发现 SnoN 以来,小鼠、兔、人等脊椎动物和果蝇等无脊椎动物中也发现了 SnoN 的存在<sup>[2]</sup>。SnoN 和 Ski 的氨基末端高度同源,但是羧基末端存在明显差异,SnoN 羧基末端含有不完全的串联重复单位(tandem repeats, TR)和 1 个  $\alpha$ -螺旋的亮氨酸拉链(leucine zipper, LZ),此结构域用于形成二聚体。Ski/SnoN 在发挥功能时,多以二聚体的形式出现,既可以形成同源二聚体(Ski:Ski 或 SnoN:SnoN),也可以形成异源二聚体(Ski:SnoN)。Cohen 等<sup>[3]</sup>研究表明,发挥功能时异源二聚体比同源二聚体在细胞质或细胞核中更优先形成,而且异源二聚体比同源二聚体对 TGF- $\beta$ /Smad 信号通路的抑制作用更强。

SnoN 和 Ski 的氨基末端包含多个结构区域,对于 SnoN 和 Ski 蛋白功能的发挥至关重要。达克斯同源结构域(Dachshund homology domain, DHD)是 SnoN 和 Ski 的调节区域,可能在介导 SnoN 和 Ski 与细胞核内共激活因子和共抑制因子的相互作用中发挥重要作用。研究发现,DHD 与 DNA 结合蛋白“叉头框/翼状螺旋结构”具有同源性,后者具有 4 个  $\alpha$ -螺旋结构和 2 个  $\beta$ -片层结构<sup>[4]</sup>。Smad 蛋白按功能可分为 3 类:受体激活型 Smad(R-Smad),包括 Smad1、2、3、5、8;共同通路型 Smad(Co-Smad),包括 Smad4;抑制型 Smad(I-Smad),包括 Smad6、7。SnoN/Ski 与 R-Smad2/3 相互作用区域位于 DHD 上游;与 Co-Smad4 结合的结构区域位于 DHD 下游,包含 1 个由 88 个氨基酸组成的锌指结构(C2H2)<sup>[5]</sup>,在所有 TGF- $\beta 1$  抑制因子中,只在 Ski 家族中发现这种特殊的锌指结构,是 SnoN 和 Ski 抑制 TGF- $\beta 1$  信号通路所必不可少的。

基金项目:国家自然科学基金(81270310);哈尔滨市科技创新人才研究专项资金(2016RAYBJ005);哈尔滨医科大学于维汉院士杰出青年基金;黑龙江省教育厅海外学人重点项目(1252HQ013)

作者单位:150001 哈尔滨医科大学附属第一医院心内科

通信作者:刘 巍,Email: doctor\_liuwei@126.com

## 2 TGF- $\beta$ /Smad 信号通路与心肌纤维化

组织纤维化主要归因于肌成纤维细胞的形成和激活,这种细胞能从头合成(de novo synthesis)应力纤维、胶原蛋白(I型和Ⅲ型胶原蛋白)和细胞外基质蛋白。肌成纤维细胞有多种来源,包括:(1)固有纤维细胞的激活<sup>[6]</sup>;(2)上皮细胞间质转化(EMT)<sup>[7]</sup>;(3)内皮细胞间质转化(EndoMT)<sup>[8]</sup>;(4)周围细胞;(5)循环中的纤维细胞。目前尚未阐明哪种来源的肌成纤维细胞是造成器官纤维化的“罪犯细胞”,但已明确 TGF- $\beta$  信号通路对肌成纤维细胞的形成和激活至关重要。

TGF- $\beta$  在调节炎症反应、细胞外基质沉积、间质细胞的增殖和分化等多个方面发挥重要作用。在哺乳动物中,TGF- $\beta$  有 3 种亚型,分别为 TGF- $\beta$ 1、TGF- $\beta$ 2 和 TGF- $\beta$ 3,由 3 种不同基因编码<sup>[9]</sup>。在心肌中 TGF- $\beta$ 1 表达最高,TGF- $\beta$ 1 与心肌纤维化的发生密切相关<sup>[10]</sup>。当心肌受到应力或损伤时,TGF- $\beta$ 1 的生物活性提高。TGF- $\beta$  受体有 3 种,分别为 I 型受体(T $\beta$ R-I)、II 型受体(T $\beta$ R-II)和 III 型受体(T $\beta$ R-III),其中 T $\beta$ R-I 和 T $\beta$ R-II 直接参与信号转导,为 TGF- $\beta$  信号转导所必须。TGF- $\beta$ 1 与 T $\beta$ R-II 结合并诱导其磷酸化,使 T $\beta$ R-I 募集并与 T $\beta$ R-II 形成异二聚体<sup>[11]</sup>,随后 T $\beta$ R-I 通过磷酸化 R-Smad(如 Smad2/3)羧基末端的“SSXS”序列使其激活<sup>[12]</sup>。磷酸化的 R-Smad 将“SSXS”序列释放出来,与 Co-Smad4 形成复合体并转移至细胞核,直接与靶基因结合,选择性表达靶基因中与纤维化相关的基因,如胶原蛋白和细胞外基质蛋白,过量的胶原蛋白和细胞外基质蛋白沉积造成心肌纤维化。

TGF- $\beta$ 1/Smad 信号通路是否激活,最终由激活因子(如 R-Smad2/3)和抑制因子(如 I-Smad7、Ski、SnoN)共同决定。I-Smad7 是内源性 TGF- $\beta$ 1 信号通路抑制因子,通过募集 Smad 泛素化蛋白 Smurf2,使 T $\beta$ R-I 降解。TGF- $\beta$ 1 可诱导 I-Smad7 的表达,作为抑制机制调节信号通路<sup>[13]</sup>。

## 3 SnoN 与 TGF- $\beta$ /Smad 信号通路

SnoN 是 TGF- $\beta$ 1 信号通路的共抑制因子,通过直接与 R-Smad2/3 和 Co-Smad4 作用,干扰 Smad 复合体形成,从而抑制 TGF- $\beta$ 1 靶基因的转录<sup>[14-15]</sup>。尽管 SnoN 在心肌纤维化中的研究尚少,但已证实其他器官炎症介导的纤维化病变中(如肝纤维化),TGF- $\beta$ 1 表达与 SnoN 蛋白表达可能存在负性调节关系,即 SnoN 表达减少,而 TGF- $\beta$ 1 表达增

加<sup>[16-17]</sup>。近期在肾脏纤维化模型中也发现,转录共抑制因子 SnoN 在糖尿病肾病大鼠肾脏组织中表达明显降低,而 TGF- $\beta$ 1 得以表达增加,使肾脏纤维化程度加重<sup>[18]</sup>。我们在炎症诱导性大鼠心肌纤维化模型中,也发现 SnoN 参与调控 TGF- $\beta$ 1 信号通路。

有研究提示,在细胞质内 SnoN 阻碍 Smad 复合体向细胞核内迁移,从而有效阻断 TGF- $\beta$ 1 信号的转导<sup>[19]</sup>。在细胞核内,SnoN 则从多方面抑制 TGF- $\beta$ /Smad 信号通路:(1)细胞核内 SnoN 阻断 R-Smad2/3 与 Co-Smad4 相互作用的方式与在细胞质内相似;(2)SnoN 募集转录共抑制因子至 Smad 复合体抑制靶基因转录<sup>[5]</sup>;(3)SnoN 阻止核转录共激活因子与 TGF- $\beta$  的结合。由于 TGF- $\beta$ 1 是心肌纤维化中重要的促发因子,而 SnoN 无论在细胞质内还是在细胞核内都能阻断 TGF- $\beta$ /Smad 信号通路,因此 SnoN 有望成为心肌纤维化治疗的新靶点。

## 4 展望

心肌纤维化是心室重构发生的重要机制,也是导致慢性心力衰竭的原因,TGF- $\beta$ 1 参与了心肌纤维化的发生。TGF- $\beta$ 1 是抗炎性细胞因子,还与机体创伤后的愈合等密切相关,其过度抑制可能影响机体的正常生理功能,找到适度、特异性抑制 TGF- $\beta$ /Smad 信号通路的方法至关重要,而 SnoN 蛋白在这方面具有较好前景。利用 SnoN 蛋白靶向抑制 TGF- $\beta$ /Smad 信号通路,可能为心肌纤维化的防治带来新希望。

## 参考文献

- [1] Deheuninck J, Luo K. Ski and SnoN, potent negative regulators of TGF- $\beta$  signaling[J]. Cell Res, 2009, 19(1): 47-57.
- [2] Jahchan NS, Luo K. SnoN in mammalian development, function and diseases[J]. Curr Opin Pharmacol, 2010, 10(6):670-675.
- [3] Cohen SB, Zheng G, Heyman HC, et al. Heterodimers of the SnoN and Ski oncoproteins form preferentially over homodimers and are more potent transforming agents[J]. Nucleic Acids Res, 1999, 27(4):1006-1014.
- [4] Wilson JJ, Malakhova M, Zhang R, et al. Crystal structure of the dachshund homology domain of human SKI[J]. Structure, 2004, 12(5):785-792.
- [5] Luo K. Ski and SnoN: negative regulators of TGF-beta signaling[J]. Curr Opin Genet Dev, 2004, 14(1):65-70.
- [6] Choah AK, Quaggin SE, Vaughan DE. Molecular basis of organ fibrosis: potential therapeutic approaches[J]. Exp Biol Med (Maywood), 2013, 238(5):461-481.
- [7] Boldt A, Wetzel U, Lauschke J, et al. Fibrosis in left atrial tissue of patients with atrial fibrillation with and without underlying mitral valve disease[J]. Heart, 2004, 90(4):

- 400-405.
- [8] Pan D, Zhu Q, Luo K. SnoN functions as a tumor suppressor by inducing premature senescence[J]. *EMBO J*, 2009, 28 (22):3500-3513.
- [9] Dobaczewski M, Chen W, Frangogiannis NG. Transforming growth factor (TGF)- $\beta$  signaling in cardiac remodeling[J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2011, 51(4):600-606.
- [10] Tao Z, Ge Y, Zhou N, et al. Puerarin inhibits cardiac fibrosis via monocyte chemoattractant protein (MCP)-1 and transforming growth factor- $\beta$ 1 (TGF- $\beta$ 1) pathway in myocardial infarction mice[J]. *Am J Transl Res*, 2016, 8 (10):4425-4433.
- [11] Bujak M, Frangogiannis NG. The role of TGF- $\beta$  signaling in myocardial infarction and cardiac remodeling[J]. *Cardiovasc Res*, 2007, 74(2):184-195.
- [12] Zhang Y, Feng X, We R, et al. Receptor-associated Mad homologues synergize as effectors of the TGF-beta receptor [J]. *Nature*, 1996, 383(6596):168-172.
- [13] Gu W, Monteiro R, Zuo J, et al. A novel TGF- $\beta$  modulator that uncouples R-Smad/I-Smad-mediated negative feedback from R-Smad/ligand-driven positive feedback[J]. *PLoS Biol*, 2015, 13(2):e1002051.
- [14] Liu L, Wang Y, Yan R, et al. Oxymatrine inhibits renal tubular EMT induced by high glucose via upregulation of SnoN and inhibition of TGF- $\beta$ 1/Smad signaling pathway[J]. *PLoS One*, 2016, 11(3):e0151986.
- [15] Wu JW, Krawitz AR, Chai J, et al. Structural mechanism of Smad4 recognition by the nuclear oncoprotein Ski: insights on Ski-mediated repression of TGF-beta signaling [J]. *Cell*, 2002, 111(3):357-367.
- [16] 杨壮智, 阳 韬, 陈永平. SnoN 蛋白在肝纤维化大鼠肝组织中的表达及其意义[J]. *医学研究杂志*, 2011, 40(9):37-41.
- [17] Marquez-Aguirre A, Sandoval-Rodriguez A, Gonzalez-Cuevas J, et al. Adenoviral delivery of dominant-negative transforming growth factor beta type II receptor up-regulates transcriptional repressor SKI-like oncogene, decreases matrix metalloproteinase 2 in hepatic stellate cell and prevents liver fibrosis in rats[J]. *J Gene Med*, 2009, 11(3):207-219.
- [18] Tang H, Su H, Fan D, et al. MAD2B-mediated SnoN downregulation is implicated in fibroblast activation and tubulointerstitial fibrosis[J]. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2016, 311(1):F207-216.
- [19] Jahchan NS, You YH, Muller WJ, et al. Transforming growth factor-beta regulator SnoN modulates mammary gland branching morphogenesis, postlactational involution, and mammary tumorigenesis[J]. *Cancer Res*, 2010, 70 (10): 4204-4213.

(收稿:2016-11-07 修回:2017-01-17)

(本文编辑:胡晓静)

(上接第 101 页)

- [9] Chen H, Lu Y, Cao Z, et al. Cadmium induces NLRP3 inflammasome-dependent pyroptosis in vascular endothelial cells[J]. *Toxicol Lett*, 2016, 246:7-16.
- [10] Afrasyab A, Qu P, Zhao Y, et al. Correlation of NLRP3 with severity and prognosis of coronary atherosclerosis in acute coronary syndrome patients[J]. *Heart Vessels*, 2016, 31(8):1218-1229.
- [11] Fang L, Moore XL, Dart AM, et al. Systemic inflammatory response following acute myocardial infarction[J]. *J Geriatr Cardiol*, 2015, 12(3):305-312.
- [12] Mezzaroma E, Toldo S, Farkas D, et al. The inflammasome promotes adverse cardiac remodeling following acute myocardial infarction in the mouse[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2011, 108(49):19725-19730.
- [13] Marchetti C, Chojnacki J, Toldo S, et al. A novel pharmacologic inhibitor of the NLRP3 inflammasome limits myocardial injury after ischemia-reperfusion in the mouse[J]. *J Cardiovasc Pharmacol*, 2014, 63(4):316-322.
- [14] Zhou T, Chuang CC, Zuo L. Molecular characterization of reactive oxygen species in myocardial ischemia-reperfusion injury[J]. *Biomed Res Int*, 2015, 2015:864946.
- [15] Sandanger O, Ranheim T, Vinge LE, et al. The NLRP3 inflammasome is up-regulated in cardiac fibroblasts and mediates myocardial ischaemia-reperfusion injury [J]. *Cardiovasc Res*, 2013, 99(1):164-174.
- [16] Liu Y, Lian K, Zhang L, et al. TXNIP mediates NLRP3 inflammasome activation in cardiac microvascular endothelial cells as a novel mechanism in myocardial ischemia/reperfusion injury[J]. *Basic Res Cardiol*, 2014, 109(5):415.
- [17] Lee S, Choi E, Cha MJ, et al. Looking for pyroptosis-modulating miRNAs as a therapeutic target for improving myocardium survival [J]. *Mediators Inflamm*, 2015, 2015:254871.
- [18] Li X, Du N, Zhang Q, et al. MicroRNA-30d regulates cardiomyocyte pyroptosis by directly targeting foxo3a in diabetic cardiomyopathy [J]. *Cell Death Dis*, 2014, 5 (10):e1479.
- [19] Luo B, Li B, Wang W, et al. NLRP3 gene silencing ameliorates diabetic cardiomyopathy in a type 2 diabetes rat model[J]. *PLoS One*, 2014, 9(8):e104771.
- [20] Bracey NA, Beck PL, Muruve DA, et al. The NLRP3 inflammasome promotes myocardial dysfunction in structural cardiomyopathy through interleukin-1 $\beta$  [J]. *Exp Physiol*, 2013, 98(2):462-472.
- [21] Butts B, Gary RA, Dunbar SB, et al. The importance of NLRP3 inflammasome in heart failure[J]. *J Card Fail*, 2015, 21(7):586-593.

(收稿:2016-09-10 修回:2016-10-19)

(本文编辑:丁媛媛)