

线粒体源性肽 Humanin 对心血管疾病的保护作用

谢怡 张敏 蒋利

【摘要】 线粒体源性肽 (MDP) 是由线粒体 DNA 编码的一系列内源性分泌性多肽, 其中 Humanin 是最早发现的 MDP。Humanin 广泛分布于心脏、血管壁、肾脏、骨骼肌和结肠等组织中, 在体内和体外均表现出抗氧化应激、抗凋亡、抗炎性反应的作用。Humanin 在心血管疾病的发生发展中具有重要作用, 该文介绍 Humanin 及其修饰物在动脉粥样硬化、心肌缺血再灌注损伤、心肌纤维化、冠脉微循环障碍中的保护作用及可能机制。

【关键词】 Humanin; 心血管疾病; 氧化应激; 细胞凋亡; 炎症反应

doi: 10.3969/j.issn.1673-6583.2022.06.003

线粒体源性肽 (MDP) 是一种由线粒体 DNA 编码的内源性生物活性肽。目前已发现的线粒体源性肽有 3 种类型, 即 Humanin、MOTS-c 和 SHLP1~6^[1]。Humanin 是第一种被发现的 MDP, 由 Hashimoto 等^[2]于 2001 年从 1 例阿尔茨海默病患者未受损的枕叶皮质中发现。Humanin 由线粒体 16S 核糖体 RNA (16Sr RNA) 上 1 个小的开放阅读框编码, 不同的翻译机制构成不同长度的 Humanin 分子。在线粒体中, 它是由 21 个氨基酸组成的肽, 而在细胞质中, 它是由 24 个氨基酸组成的肽^[3], 虽然序列不同, 但它们都有相似的生物学功能^[4]。在代谢应激条件下, Humanin 可通过“逆行信号”途径影响自身核基因的表达。Humanin 还可通过自分泌、旁分泌方式与细胞内外受体结合, 对自身及周围细胞发挥功能, 其作用主要为抗凋亡、抗氧化、抗炎性反应、调节线粒体功能等^[5]。Humanin 是在血浆、脑脊液和精液中可检测到的分泌性蛋白^[6-7]。甘氨酸 (Gly) 取代 Humanin 肽链第 14 位丝氨酸 (Ser14), 形成 [Gly14]-Humanin (HNG), HNG 的细胞保护活性比 Humanin 强 1 000 倍^[8]。研究显示, Humanin 及其修饰物对心血管疾病具有保护作用, 这提示 Humanin 可能成为相关心血管疾病新的生物标志物和潜在的治疗靶点。

1 Humanin 抗动脉粥样硬化的作用

研究表明, Humanin 通过不同机制发挥抗动脉粥样硬化作用。Humanin 可通过抗氧化应激改

善动脉粥样硬化早期的内皮功能障碍。Bachar 等^[9]首先证实 Humanin 在人动脉和静脉血管壁内皮细胞中表达, 并对低密度脂蛋白 (LDL) 诱导的内皮细胞的氧化应激起保护作用。进一步的研究证明, Humanin 通过降低与氧化应激有关的硝基酪氨酸 (NT) 水平和增加内皮型一氧化氮合酶 (eNOS) 表达, 阻止载脂蛋白 E (ApoE) 缺乏的高胆固醇血症小鼠动脉粥样硬化斑块的进展^[10]。

Humanin 可通过抗内皮细胞凋亡延缓动脉粥样硬化的形成和发展。Bachar 等^[9]证明, 用 Humanin 预处理可降低细胞中神经酰胺尤其是 C16-神经酰胺的水平, 减少级联凋亡信号通路的激活, 从而减少内皮细胞凋亡。氧化低密度脂蛋白 (ox-LDL) 是动脉内膜损伤关键因子, 凝集素样氧化低密度脂蛋白受体-1 (LOX-1) 是内皮细胞吸收 ox-LDL 的主要受体, LOX-1 介导内皮细胞与 ox-LDL 的结合以及 ox-LDL 的内化。Humanin 可通过抑制 LOX-1 蛋白的表达, 减轻 ox-LDL 诱导的内皮细胞凋亡, 抑制动脉粥样硬化斑块的形成和发展^[11]。

Humanin 已被证明可通过抑制炎症反应减轻炎症条件下的内皮损伤和功能障碍。Li 等^[12]的研究表明, Humanin 可通过激活 AMP 活化蛋白激酶/乙酰辅酶 A 羧化酶 (AMPK/ACC) 通路, 抑制 NOD 样受体热蛋白结构域相关蛋白 3 (NLRP3) 炎性小体活性, 改善游离脂肪酸诱导的内皮细胞炎性损伤。高血糖诱导的内皮功能障碍在糖尿病相关动脉粥样硬化及其心血管并发症的发生中起着关键作用。在高糖条件下, 血管内皮细胞产生大量促

基金项目: 国家自然科学基金 (82170450)

作者单位: 200336 上海交通大学医学院附属同仁医院心内科

通信作者: 蒋利, E-mail: jiangli@shtrhospital.com

炎性因子,如肿瘤坏死因子- α (TNF- α) 和白细胞介素- 1β (IL- 1β)、血管细胞黏附分子-1 (VCAM-1) 和 E-选择素,进而加速动脉粥样硬化的发生发展^[13]。Humanin 可以抑制高糖诱导的 TNF- α 和 IL- 1β 的分泌,减少 VCAM-1 和 E-选择素的表达,从而减少单核细胞黏附和内皮功能障碍^[14]。Krupple 样因子 2 (KLF2) 是一种重要的内皮功能调节因子,KLF2 通过调节血管生成、血栓激活和内皮促炎途径保护内皮细胞^[15]。研究表明,Humanin 可诱导 KLF2 的表达增加,并调节 KLF2 相关靶基因的表达,如 eNOS 和内皮素-1 (ET-1),从而抑制单核细胞的黏附,抑制内皮炎症反应^[14]。

此外,研究还表明 HNG 可通过其膜蛋白受体甲酸基肽受体样 1 (FPRL1) 恢复 ox-LDL 诱导的受损溶酶体酶组织蛋白酶 D 的活性,促进 ox-LDL 在人脐静脉内皮细胞 (HUVEC) 中的自噬降解^[16]。

Humanin 可以从抗氧化应激、抗内皮细胞凋亡、抗炎性反应、减少 ox-LDL 蓄积等多个方面延缓动脉粥样硬化的进展,有望为动脉粥样硬化的治疗提供新的途径。

2 Humanin对心肌缺血再灌注损伤的保护作用

氧化应激是心肌缺血再灌注损伤重要的发病机制之一。Humanin 主要通过抗氧化应激作用减轻线粒体功能障碍,从而改善心肌缺血再灌注损伤。Muzumdar 等^[17]首先证实了 Humanin 可在小鼠心肌细胞中表达,且在急性心肌梗死后 24 h 内,内源性 Humanin 的表达增加;在小鼠缺血再灌注模型中,再灌注前 1 h 或再灌注时给予 Humanin,发现随着 Humanin 剂量的增加,小鼠左心室功能改善,梗死面积缩小。该研究还发现 HNG 可能通过激活 AMPK/eNOS 信号转导途径减轻缺血再灌注损伤。Thummasorn 等^[18]在一系列实验中发现,大剂量 HNG (252 $\mu\text{g/kg}$) 通过激活蛋白激酶 B (AKT) 信号通路发挥抗凋亡作用,并阻止 Bax 蛋白从细胞质移位到线粒体膜,减轻大鼠心肌细胞线粒体功能障碍,提高受损心肌 Humanin 水平,减轻再灌注后心律失常以及左心室功能障碍,减少心肌损伤面积。另一项研究还发现,Humanin 可通过抑制心肌梗死时 Kelch 样 ECH 关联蛋白 1 (Keap1) 的表达促进核因子红细胞系 2 相关因子 2 (Nrf2) 的激活,而 Nrf2 的激活可提高一系列抗氧化酶如超氧化物歧化酶 (SOD)、过氧化氢酶 (CAT)、谷胱甘肽过氧化物酶 (GPX) 和谷胱甘肽 (GSH) 的表达^[19]。

同时,体外研究也表明,HNG 可降低 H_2O_2 诱导的心肌细胞氧化应激,保持线粒体膜的完整性^[20]。ROS 可导致心肌线粒体肿胀、膜电位异常和三磷酸腺苷 (ATP) 生成减少,Humanin 可通过降低线粒体内膜电子传递链复合体 I 活性,维持线粒体功能稳定^[21]。

研究表明抗氧化应激、维持线粒体功能稳态是 Humanin 缓解心肌缺血再灌注损伤的主要途径,这为心肌梗死再灌注后氧化应激损伤的预防提供了思路。

3 Humanin减缓心肌纤维化的作用

心肌纤维化是指心肌成纤维细胞活性增加以及细胞外基质过度沉积引起的心肌组织学改变,可见于多种慢性心脏病,最终导致心力衰竭和死亡^[22]。Humanin 主要通过下调心肌促纤维化细胞因子的表达抑制心肌间质纤维化和成纤维细胞增殖。Qin 等^[23]研究发现对中老年小鼠长期腹腔注射外源性 Humanin 可显著降低老年小鼠心肌细胞凋亡、胶原沉积、心肌成纤维细胞增殖,抑制小鼠年龄相关性心肌纤维化。进一步研究发现,Humanin 通过上调 AKT/糖原合成酶激酶-3 β (Gsk-3 β) 信号通路的磷酸化发挥作用,AKT/Gsk-3 β 信号通路的磷酸化与广泛的心脏保护信号通路的激活相关,Humanin 上调 Akt/Gsk-3 β 的表达,从而降低衰老心肌中促纤维化细胞因子、碱性成纤维细胞生长因子-2 (FGF-2)、基质金属蛋白酶-2 (MMP-2) 和转化生长因子- β (TGF- β) 的表达,减少心肌纤维化^[24]。

4 Humanin在冠状动脉微血管功能障碍中的作用

冠状动脉微血管功能障碍 (CMD) 是指冠状动脉小血管的功能和结构异常。内皮功能障碍和炎症反应是 CMD 的主要原因。Widmer 等^[25]的临床研究发现,循环血中 Humanin 水平与冠状动脉内皮功能呈正相关。内皮功能正常组血 Humanin 水平为 $(2.2 \pm 1.5) \text{ ng/mL}$,内皮功能不良组血 Humanin 水平较低,为 $(1.3 \pm 1.1) \text{ ng/mL}$, $P=0.03$ 。由于微血管功能通常在疾病状态下首先受到影响,而 Humanin 水平在一定程度上反映了微血管功能,因此循环 Humanin 可能作为诊断冠状动脉内皮功能障碍的生物标志物,或作为 CMD 患者潜在的治疗手段。

5 小结

Humanin 是由线粒体 DNA 编码的内源性多肽,

其主要生物活性与细胞保护有关,在心血管疾病的许多生物学过程如细胞凋亡、底物代谢、炎性反应、氧化应激中具有调节线粒体功能障碍、维持线粒体功能稳定的作用。Humanin 在抗动脉粥样硬化、调节代谢异常、减少缺血再灌注损伤等方面发挥有益作用,有广泛的应用前景。

参 考 文 献

- [1] Nashine S, Kenney MC. Effects of mitochondrial-derived peptides (MDPs) on mitochondrial and cellular health in AMD[J]. *Cells*, 2020, 9(5):1102.
- [2] Hashimoto Y, Niikura T, Tajima H, et al. A rescue factor abolishing neuronal cell death by a wide spectrum of familial Alzheimer's disease genes and Abeta[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2001, 98(11):6336-6341.
- [3] Yen K, Lee CH, Mehta H, et al. The emerging role of the mitochondrial-derived peptide humanin in stress resistance[J]. *J Mol Endocrinol*, 2013, 50(1):R11-R19.
- [4] Yen K, Mehta HH, Kim SJ, et al. The mitochondrial derived peptide humanin is a regulator of lifespan and healthspan[J]. *Aging (Albany NY)*, 2020, 12(12):11185-11199.
- [5] Hazafa A, Batool A, Ahmad S, et al. Humanin: a mitochondrial-derived peptide in the treatment of apoptosis-related diseases[J]. *Life Sci*, 2021, 264:118679.
- [6] Cai H, Cao PY, Sun WQ, et al. Circulating humanin is lower in coronary artery disease and is a prognostic biomarker for major cardiac events in humans[J]. *Biochim Biophys Acta Gen Subj*, 2022, 1866(1):130010.
- [7] El Kattawy HA, Abozaid ER, Abdullah DM. Humanin ameliorates late-onset hypogonadism in aged male rats[J]. *Curr Mol Pharmacol*, 2022, 15(7):996-1008.
- [8] Zhang JH, Lei HW, Li X. The protective effects of S14G-humanin (HNG) against mono-sodium urate (MSU) crystals-induced gouty arthritis[J]. *Bioengineered*, 2022, 13(1):345-356.
- [9] Bachar AR, Scheffer L, Schroeder AS, et al. Humanin is expressed in human vascular walls and has a cytoprotective effect against oxidized LDL-induced oxidative stress[J]. *Cardiovasc Res*, 2010, 88(2):360-366.
- [10] Oh YK, Bachar AR, Zacharias DG, et al. Humanin preserves endothelial function and prevents atherosclerotic plaque progression in hypercholesterolemic ApoE deficient mice[J]. *Atherosclerosis*, 2011, 219(1):65-73.
- [11] Ding Y, Feng Y, Zhu WW, et al. [Gly14]-humanin prevents lipid deposition and endothelial cell apoptosis in a lectin-like oxidized low-density lipoprotein receptor-1-dependent manner[J]. *Lipids*, 2019, 54(11/12):697-705.
- [12] Li WF, Zhang DD, Yuan WJ, et al. Humanin ameliorates free fatty acid-induced endothelial inflammation by suppressing the NLRP3 inflammasome[J]. *ACS Omega*, 2020, 5(35): 22039-22045.
- [13] Yuan T, Yang T, Chen H, et al. New insights into oxidative stress and inflammation during diabetes mellitus-accelerated atherosclerosis[J]. *Redox Biol*, 2019, 20:247-260.
- [14] Wang XH, Wu ZH, He YY, et al. Humanin prevents high glucose-induced monocyte adhesion to endothelial cells by targeting KLF2[J]. *Mol Immunol*, 2018, 101:245-250.
- [15] Jha P, Das H. KLF2 in regulation of NF- κ B-mediated immune cell function and inflammation[J]. *Int J Mol Sci*, 2017, 18(11):2383.
- [16] Ding Y, Feng Y, Zou YT, et al. [Gly14]-humanin restores cathepsin D function via FPRL1 and promotes autophagic degradation of Ox-LDL in HUVECs[J]. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*, 2020, 30(12):2406-2416.
- [17] Muzumdar RH, Huffman DM, Calvert JW, et al. Acute humanin therapy attenuates myocardial ischemia and reperfusion injury in mice[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2010, 30(10):1940-1948.
- [18] Thummasorn S, Shinlapawittayatorn K, Chattipakorn SC, et al. High-dose humanin analogue applied during ischemia exerts cardioprotection against ischemia/reperfusion injury by reducing mitochondrial dysfunction[J]. *Cardiovasc Ther*, 2017, 35(5):28726291.
- [19] Wang YY, Li NY, Zeng ZY, et al. Humanin regulates oxidative stress in the ovaries of polycystic ovary syndrome patients via the Keap1/Nrf2 pathway[J]. *Mol Hum Reprod*, 2021, 27(2): gaaa081.
- [20] Klein LE, Cui LG, Gong ZW, et al. A humanin analog decreases oxidative stress and preserves mitochondrial integrity in cardiac myoblasts[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2013, 440(2):197-203.
- [21] Thummasorn S, Shinlapawittayatorn K, Khamsekaew J, et al. Humanin directly protects cardiac mitochondria against dysfunction initiated by oxidative stress by decreasing complex I activity[J]. *Mitochondrion*, 2018, 38:31-40.
- [22] López B, Ravassa S, Moreno MU, et al. Diffuse myocardial fibrosis: mechanisms, diagnosis and therapeutic approaches[J]. *Nat Rev Cardiol*, 2021, 18(7):479-498.
- [23] Qin Q, Mehta H, Yen K, et al. Chronic treatment with the mitochondrial peptide humanin prevents age-related myocardial fibrosis in mice[J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2018, 315(5):H1127-H1136.
- [24] Juhaszova M, Zorov DB, Yaniv Y, et al. Role of glycogen synthase kinase-3 β in cardioprotection[J]. *Circ Res*, 2009, 104(11):1240-1252.
- [25] Widmer RJ, Flammer AJ, Herrmann J, et al. Circulating humanin levels are associated with preserved coronary endothelial function[J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2013, 304(3):H393-H397.

(收稿:2022-01-19 修回:2022-09-04)

(本文编辑:胡晓静)