

DOI:10.3724/SP.J.1008.2008.00331

## 钙结合蛋白 S100A1 与心力衰竭

许如意<sup>1</sup>,高连如<sup>2\*</sup>,杨 晔<sup>2</sup>

1. 第二军医大学研究生院,上海 200433
2. 海军总医院心内科,北京 100037

**[摘要]** 钙结合蛋白 S100A1 被认为是一种钙依赖性心脏收缩因子。心力衰竭时 S100A1 蛋白表达减低,增加 S100A1 蛋白表达可通过调节心肌钙转运、抑制心室重构、减少心肌细胞凋亡和恢复心肌能量供应等机制增加心脏收缩功能,因此恢复衰竭心肌内 S100A1 蛋白水平是治疗心力衰竭的有效措施。

**[关键词]** S100A1 蛋白;心肌收缩;心力衰竭;钙

**[中图分类号]** R 541.6 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 0258-879X(2008)03-0331-03

### S100A1 protein and heart failure

XU Ru-yi<sup>1</sup>,GAO Lian-ru<sup>2\*</sup>,YANG Ye<sup>2</sup>

1. Postgraduate College, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China
2. Department of Cardiology, Navy General Hospital of PLA, Beijing 100037

**[ABSTRACT]** S100A, a Ca<sup>2+</sup>-depending inotropic factor in the heart, is found decreased during heart failure. Increase of S100A1 protein expression can improve cardiac function by regulating Ca<sup>2+</sup> transportation, inhibiting left ventricular remodeling, decreasing apoptosis, and restoring energy supply of failing heart. Therefore, recovery of S100A1 protein expression in the failing heart is an effective strategy for treatment of heart failure.

**[KEY WORDS]** S100A1 protein; myocardial contraction; heart failure; calcium

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2008, 29(3): 331-333]

心力衰竭(heart failure, HF)的患病率及死亡率正逐年升高。我国现有 600 万以上心力衰竭患者,并以每年 60 万~80 万的数量增加。尽管近 20 年心力衰竭的治疗取得了长足的进步,但是由于未能解决心力衰竭的本质问题——心肌细胞数目减少及分子异常表达,心力衰竭患者死亡率仍在每年 10% 以上,已成为心血管疾病第一位死亡原因及攻坚堡垒。因此,临床迫切需要寻求新的治疗策略。

21 世纪病理生理分子机制研究揭示,心力衰竭的一个主要特征是细胞内 Ca<sup>2+</sup> 的处理失常<sup>[1]</sup>。Ca<sup>2+</sup> 是体内重要的第二信使,是心脏兴奋-收缩偶联因子,不仅与心肌收缩、舒张功能直接相关,而且与细胞代谢、分裂、凋亡密切相关。

胞内信使 Ca<sup>2+</sup> 产生信号后,要与其靶分子(靶蛋白)——钙结合蛋白作用而传递信息,继而产生生理效应。现研究表明,心脏 Ca<sup>2+</sup> 信号靶分子就是 S100A1, Ca<sup>2+</sup> 信号行使的一切生理反应都是通过 S100A1 实现的。S100A1 通过对肌浆网(sarcoplasmic reticulum, SR)钙 ATP 酶(sarcoplasmic reticulum Ca<sup>2+</sup>-ATPase, SERCA2a)、兰尼碱受体(ryanodine receptors 2, RyR2)的调控,调节心肌细胞 Ca<sup>2+</sup> 的释放、摄取、转运,是心肌收缩、舒张功能最重要的调节因子。

同时, S100A1 蛋白又能激活细胞外信号调节激酶的促细胞存活通路,具有抗心肌细胞凋亡等功能。体外和体内试验均表明, S100A1 蛋白表达增加可明显改善心肌收缩、舒张功能,可使衰竭心脏“复苏”<sup>[2]</sup>。下面就 S100A1 的生物学特性、抗心力衰竭效应作一综述。

### 1 S100A1 的基本生物学特性

1965 年 Moore 等首次分离鉴定出钙结合蛋白 S100, 其属于多基因左手型钙结合蛋白家族,目前已分离鉴定出 21 种<sup>[3]</sup>。S100A1 是 S100 家族中的一员,在受精后 8 d 的大鼠心脏内即有表达<sup>[4]</sup>。人类 S100A1 基因位于 1q21,长度约 1.6 Mbp。S100A1 蛋白为 2 个亚单位组成的同源二聚体,相对分子质量约 10 000,疏水性 C 末端为其重要功能基团<sup>[5]</sup>。目前已用免疫共沉淀的方法证明, S100A1 与 SERCA2a、RyR2 在心肌细胞内共存且关系密切<sup>[6]</sup>。S100A1 蛋白的表达有高度的组织特异性和细胞特异性,在骨骼肌中很少表达,而在健康心肌细胞中则大量表达,其中以左心室为主,右心室和心房表达较少。心力衰竭时 S100A1 蛋白表达减少,终末期心力衰竭时尤为明显,心肌肥厚时表达增加<sup>[7]</sup>。

**[收稿日期]** 2007-09-17 **[接受日期]** 2007-12-17

**[作者简介]** 许如意,硕士生。

\* 通讯作者(Corresponding author). Tel:010-66951490, E-mail:lianru@yahoo.com.cn

S100A1 蛋白在心肌内为亚细胞水平表达,主要分布在肌浆网、肌丝、线粒体中<sup>[8]</sup>。

## 2 钙结合蛋白 S100A1 的心功能效应与机制

2.1 调控心脏兴奋-收缩偶联因子  $\text{Ca}^{2+}$  的转运 心肌细胞内  $\text{Ca}^{2+}$  转运的动态平衡依赖于 S100A1 的功能,研究表明 S100A1 通过以下两种机制调控心肌细胞内  $\text{Ca}^{2+}$  的转运。

2.1.1 调控肌浆网 SERCA2a 功能 SR 在心肌兴奋-收缩偶联过程中对  $\text{Ca}^{2+}$  的移动起重要作用。在收缩期,少量  $\text{Ca}^{2+}$  通过肌纤膜 L 型  $\text{Ca}^{2+}$  通道进入细胞内,继而导致大量  $\text{Ca}^{2+}$  通过  $\text{Ca}^{2+}$  释放通道从 SR 中释放出来。在舒张期, SERCA2a 将大量  $\text{Ca}^{2+}$  摄入 SR,胞质中  $\text{Ca}^{2+}$  浓度显著下降,导致心肌细胞舒张,并为下次收缩储备  $\text{Ca}^{2+}$ <sup>[9]</sup>。因此, SERCA2a 在  $\text{Ca}^{2+}$  调节和心肌舒缩中起重要作用。用激光共聚焦扫描显微镜、免疫电镜等设备检测发现,在人类心肌活检组织和新生大鼠心肌中, SERCA2a、S100A1、受磷蛋白 (PLB) 3 种蛋白在心肌的肌浆网、肌丝中共同表达。S100A1 通过  $\text{Ca}^{2+}$  依赖方式抑制 PLB 与 SERCA2a 间的相互作用而增加体内 SERCA2a 的活性<sup>[10]</sup>,进而调控舒张期胞质  $\text{Ca}^{2+}$  的摄取。而在病理状况如心力衰竭时,血流动力学超负荷、肾上腺素能系统激活可导致 SERCA2a 硝基化增加而活性下降,增加 S100A1 的表达可减少 SERCA2a 的硝基化,增加 SERCA2a 的活性<sup>[1,9,11]</sup>。

2.1.2 调控 RyR2 功能 RyR2 是 RyR 基因家族中的一种,主要存在于心肌细胞膜靠近 T 管内陷部,在空间结构上与 L 型  $\text{Ca}^{2+}$  通道紧密相连,是  $\text{Ca}^{2+}$  释放通道受体。在生理状况下, S100A1 不仅在收缩期活化心肌 RyR2,将  $\text{Ca}^{2+}$  从肌浆网释放到胞质,提供心肌兴奋-收缩偶联的因子;还能在舒张期,静息、低  $\text{Ca}^{2+}$  状态下与 RyR2 受体的 C 末端直接作用,抑制 RyR2 受体的开放,减少  $\text{Ca}^{2+}$  渗漏,从而减少舒张期  $\text{Ca}^{2+}$  瞬变的频率、幅度和持续时间<sup>[1,6,12]</sup>。心力衰竭时, RyR2 因被过度磷酸化,导致舒张期 RyR2 自发开放,  $\text{Ca}^{2+}$  渗漏增加,而收缩期 RyR2 受体开放受限,  $\text{Ca}^{2+}$  释放受阻。增加 S100A1 表达则能对 RyR2 起双向调控作用:在舒张期抑制心肌 RyR2 的自发开放,减少肌浆网  $\text{Ca}^{2+}$  渗漏,减轻胞质内有害的  $\text{Ca}^{2+}$  超载,从而改善心脏舒张功能。而在收缩期, S100A1 增加 RyR2 开放,增加  $\text{Ca}^{2+}$  诱发的  $\text{Ca}^{2+}$  释放 (calcium induced calcium release, CICR),增加心肌  $\text{Ca}^{2+}$  瞬变的幅度,增强心肌收缩功能<sup>[1]</sup>。此外,舒张期  $\text{Ca}^{2+}$  渗漏的减少还能减少后除极触发的致命性心律失常的发生,这对保护衰竭心肌有非常重要的作用。

2.2 抑制心脏重构 心肌肥厚是心脏重构的重要组成部分,也是心力衰竭和猝死的重要预测因子,因此抑制心肌肥厚具有重要的意义。S100A1 能通过抑制心肌肥厚、心室扩张等多种机制抑制心脏重构<sup>[1]</sup>:(1) S100A1 的表达增加使心脏收缩功能改善,生物机械性负荷减轻,对心脏重构有直接保护作用;(2) S100A1 的表达增加使衰竭心肌细胞  $\text{Ca}^{2+}$  的转运改善,对心肌肥厚产生有利影响;(3) S100A1 的表达增加可直接抑制细胞外基质基因、 $\alpha_1$ -肾上腺素能介导的胎儿基因等基因的失控表达,维持正常的基因表达,从而减轻心室

肥厚和心脏扩张<sup>[1-2,13]</sup>。

2.3 抑制心肌细胞凋亡 细胞凋亡可减少心肌细胞数量,加速心力衰竭的进展。研究发现,对于心肌梗死后小鼠, S100A1 基因敲除组心肌细胞凋亡率较非转基因野生型组高,而 S100A1 转基因组与非转基因野生型组、S100A1 基因敲除组相比明显减低。该实验提示 S100A1 能通过多种机制抑制心肌细胞凋亡:(1) 细胞外的 S100A1 蛋白通过激活磷脂酶 C-蛋白激酶 C-丝裂原激活的蛋白激酶-细胞外信号蛋白激酶 1/2 通路,抑制过氧化氢导致的细胞凋亡,减少线粒体细胞色素 C 的释放,维持线粒体脱氢酶活性,明显提高 2-脱氧葡萄糖存在时心肌细胞的存活率,直接抑制心肌细胞凋亡<sup>[8,14]</sup>。(2) S100A1 基因的表达可抑制 S100B 蛋白表达,而 S100B 蛋白从心肌释放至细胞外有潜在的致心肌细胞凋亡作用<sup>[8,15]</sup>。(3) S100A1 蛋白能抑制室壁张力的增加,而室壁张力的增加是公认的潜在触发心肌细胞凋亡的因素,因此有利于心肌细胞的存活<sup>[8]</sup>。

2.4 改善心肌能量供应 大量研究表明,能量供应不足是心力衰竭的重要原因。心力衰竭的早期磷酸肌酸和总肌酸水平已明显下降,导致磷酸肌酸和 ATP 比率下降。Most 等<sup>[2]</sup>用高效液相色谱法研究大鼠心肌能量发现, S100A1 基因转染组磷酸肌酸和 ATP 比率与非心力衰竭组无差异,提示 S100A1 蛋白能减轻舒张期胞质  $\text{Ca}^{2+}$  超载,改善线粒体功能,对磷酸肌酸和 ATP 比率的恢复起重要作用。

## 3 S100A1 蛋白对心力衰竭的治疗作用

1996 年 Remppis 等<sup>[7]</sup>在心肌病心力衰竭患者中发现 S100A1 表达明显减少。2004 年 Most 等<sup>[2]</sup>首次在心肌梗死后心力衰竭大鼠模型上分别以生理盐水、报告基因 (绿色荧光蛋白基因,即 EGFP) 转染、S100A1 基因转染干预,观察 S100A1 治疗心力衰竭的疗效。7 d 后,发现生理盐水组与 EGFP 组心脏功能相似,而 S100A1 基因转染组心脏收缩、舒张功能明显改善,与生理盐水组相比,左室最大压力上升速率、左室收缩末压、左室最大压力下降速率增加,左室舒张末压降低。进而在  $\beta$ -肾上腺素能刺激的负荷试验中发现, S100A1 基因转染组心脏收缩储备功能明显改善,而生理盐水组明显降低。同样,离体心肌细胞研究也发现, S100A1 基因转染组心肌细胞收缩功能、 $\text{Ca}^{2+}$  瞬变幅度较生理盐水组明显增加。该实验表明,用基因转染的方法恢复心肌 S100A1 水平可成为治疗心力衰竭的一种有效的新方法<sup>[2]</sup>。2005 年 Pleger 等<sup>[13]</sup>将冷冻法制作的大鼠急性心肌梗死模型分为生理盐水组、S100A1 基因转染组、EGFP 转染组,研究 S100A1 对急性心肌梗死后心脏功能的影响,结果发现,术后 7 d, S100A1 基因转染组与生理盐水组相比,左室最大收缩速率、左室最大舒张速率、左室收缩压均增加,左室舒张末压等减小,与健康对照组相比无统计学差异,提示 S100A1 蛋白可改善急性心肌梗死后的心脏功能,能推迟心肌梗死后心力衰竭的进展。2006 年, Most 等<sup>[8]</sup>进一步在 S100A1 转基因、S100A1 基因敲除、非转基因野生型等 3 种小鼠急性心肌梗死模型上,观察 S100A1 在急性心肌梗死后心力衰竭发生、发展中的效应,结果发现, S100A1 基因敲除组小鼠出现急性收

缩功能失常,心肌细胞凋亡增加,早期出现心肌重构, $\beta$ -肾上腺素能信号系统严重受损,心力衰竭进程加快,急性心肌梗死后4周死亡率高达82%。非转基因野生型对照组小鼠 S100A1 表达进行性减少,较迟出现心肌重构、心力衰竭,急性心肌梗死后4周死亡率为57%。而 S100A1 转基因组小鼠心脏收缩、舒张功能保存,心肌细胞凋亡被抑制,阻止了心肌肥厚和心力衰竭的发生,急性心肌梗死后4周死亡率仅为33%。该实验表明,S100A1 蛋白水平决定心肌梗死后心肌收缩功能和发生心力衰竭的倾向性<sup>[8]</sup>。最近,Pleger 等<sup>[1]</sup>又将冷冻法诱导的大鼠急性心肌梗死后慢性心力衰竭模型,根据干预方法的不同分为生理盐水、EGFP 转染、S100A1 基因转染、EGFP+美托洛尔、S100A1+美托洛尔等5个组,8周后观察,以左室射血分数、左室最大收缩速率、左室收缩末压、左室舒张末压、左室最大舒张速率、左室舒张末直径等作为心脏收缩、舒张功能指标;以心肌细胞长度、心肌细胞缩短率、心肌细胞舒张率、 $Ca^{2+}$  瞬变幅度等作为离体心肌细胞指标。结果无论是否合并使用美托洛尔,S100A1 基因转染组 S100A1 蛋白表达均增加,整体和离体心肌收缩、舒张功能均明显改善,与健康假手术组相比仅左室舒张末压增高,余无明显差异。而生理盐水组、EGFP 与健康假手术组相比收缩、舒张功能明显降低,EGFP+美托洛尔组与生理盐水组相比仅舒张末压降低。

综上所述,心力衰竭时 S100A1 表达下降,增加 S100A1 的表达能改善心肌细胞内  $Ca^{2+}$  转运的动态平衡,抑制心肌细胞凋亡,改善心脏重构,改善心肌能量供应,从而改善心肌收缩、舒张功能,抑制和逆转心力衰竭的进展。另外,S100A1 还独立于  $\beta$  肾上腺素能受体效应,不增加心率,在使用  $\beta$ -受体阻滞剂后改善心脏功能的作用仍存在,无导致心肌肥厚、心律失常、心肌纤维化等不良反应<sup>[16]</sup>。

近20年血管紧张素转换酶抑制剂、醛固酮拮抗剂、 $\beta$ -受体阻滞剂、心脏再同步化治疗等的应用使慢性心力衰竭的治疗取得了重要进展,然而,即使是综合运用这些手段,心力衰竭的年死亡率仍居高不下。近年来研究发现,针对肾上腺素能信号系统纠正调控基因,虽可恢复衰竭心肌细胞和心脏的功能,但持续刺激  $\beta$ -受体可引起心肌毒性和心律失常,故不能作为心力衰竭基因治疗干预靶点<sup>[17]</sup>。针对 SERCA2a 表达下降,以基因转染方法增加 SERCA2a 的表达虽能增强心脏收缩功能,但同时会增加心肌梗死急性期死亡率、心律失常发生率,损害心肌缺血时的生存率,其临床应用也受到限制<sup>[7]</sup>。研究表明,增加 S100A1 表达既能改善心脏收缩、舒张功能,阻止心力衰竭的进展,又没有增加心律失常的不良反应,明显优于其他治疗方法,有很好的临床应用前景。

#### [参考文献]

[1] Pleger S T, Most P, Boucher M, Soltys S, Chuprun J K, Pleger W, et al. Stable myocardial-specific AAV6-S100A1 gene therapy results in chronic functional heart failure rescue[J]. *Circulation*, 2007, 115: 2506-2515.

[2] Most P, Pleger ST, V lkers M, Heidt B, Boerries M, Weichenhan D, et al. Cardiac adenoviral S100A1 gene delivery rescues failing myocardium[J]. *J Clin Invest*, 2004, 114: 1550-1563.

[3] Donato R. Intracellular and extracellular roles of S100 proteins [J]. *Microsc Res Tech*, 2003, 60: 540-551.

[4] Kiewitz R, Lyons G E, Schafer B W, Heizmann C W. Transcriptional regulation of S100A1 and expression during mouse heart development[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2000, 1498: 207-219.

[5] Du X J, Cole T J, Tennis N, Gao X M, K ntgen F, Kemp B E, et al. Impaired cardiac contractility response to hemodynamic stress in S100A1-deficient mice[J]. *Mol Cell Biol*, 2002, 22: 2821-2829.

[6] Völkers M, Loughrey C M, Macquaide N, Reppis A, DeGeorge B R Jr, Wegner F V, et al. S100A1 decreases calcium spark frequency and alters their spatial characteristics in permeabilized adult ventricular cardiomyocytes[J]. *Cell Calcium*, 2007, 41: 135-143.

[7] Remppis A, Greten T, Schäfer B W, Hunziker P, Erne P, Katus H A, et al. Altered expression of the  $Ca^{2+}$ -binding protein S100A1 in human cardiomyopathy[J]. *Biochim Biophys Acta*, 1996, 1313: 253-257.

[8] Most P, Seifert H, Gao E, Funakoshi H, Völkers M, Heierhorst J, et al. Cardiac S100A1 protein levels determine contractile performance and propensity towards heart failure after myocardial infarction[J]. *Circulation*, 2006, 114: 1258-1268.

[9] Hasenfuss G. Alterations of calcium-regulatory proteins in heart failure[J]. *Cardiovasc Res*, 1998, 37: 279-289.

[10] Kiewitz R, Acklin C, Schäfer B W, Maco B, Uhrík B, Wuytack F, et al.  $Ca^{2+}$ -dependent interaction of S100A1 with the sarcoplasmic reticulum  $Ca^{2+}$ -ATPase2a and phospholamban in the human heart [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2003, 306: 550-557.

[11] Lokuta A J, Maertz N A, Meethal S V, Potter K T, Kamp T J, Valdivia H H, et al. Increased nitration of sarcoplasmic reticulum  $Ca^{2+}$ -ATPase in human heart failure [J]. *Circulation*, 2005, 111: 988-995.

[12] Milting H, Lukas N, Klauke B, Korfer R, Perrot A, Osterziel K J, et al. Composite polymorphisms in the ryanodine receptor 2 gene associated with arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy[J]. *Cardiovasc Res*, 2006, 71: 496-505.

[13] Pleger S T, Remppis A, Heidt B, Völkers M, Chaprun JK, Kuhn M, et al. S100A1 gene therapy preserves *in vivo* cardiac function after myocardial infarction[J]. *Mol Ther*, 2005, 12: 1120-1129.

[14] Most P, Boerries M, Eicher C, Schweda C, Ehlermann P, Pleger S T, et al. Extracellular S100A1 protein inhibits apoptosis in ventricular cardiomyocytes *via* activation of the extracellular-regulated kinase (ERK1/2) pathway[J]. *J Biol Chem*, 2003, 278: 48404-48412.

[15] Tsoporis J N, Marks A, Haddad A, Dawood F, Liu P P, Parker T G. S100B expression modulates left ventricular remodeling after myocardial infarction in mice[J]. *Circulation*, 2005, 111: 598-606.

[16] Most P, Remppis A, Pleger S T, Löffler E, Ehlermann P, Bernotat J, et al. Transgenic overexpression of the  $Ca^{2+}$ -binding protein S100A1 in the heart leads to increased *in vivo* myocardial contractile performance[J]. *J Biol Chem*, 2003, 278: 33809-33817.

[17] Du X J, Autelitano D J, Dilley R J, Wang B, Dart A M, Woodcock E A.  $\beta_2$ -Adrenergic receptor overexpression exacerbates development of heart failure after aortic stenosis[J]. *Circulation*, 2000, 101: 71-77.