

43 Kun L, Yanru L, Dun E, et al. High CXC chemokine ligand 16 (CXCL16) expression promotes proliferation and metastasis of lung cancer via regulating the NF-κB pathway[J]. Med Sci Monit, 2018, 24 : 405 – 411.

44 周雯慧, 胡卫东, 吴洲清, 等. 趋化因子轴 CXCL16/CXCR6 在人前列腺癌转移中的作用[J]. 中华医学杂志, 2010, 90(14) : 947 – 951.

45 孙琳, 刘湘源, 赵金霞, 等. Raf/MEK/ERK 信号通路对 CXCL16 诱导的 CIA 淋巴细胞增殖的影响[J]. 军医进修学院学报, 2010, 31(11) : 1113 – 1115, 1128.

[收稿日期 2019 – 10 – 12][本文编辑 韦颖 潘洪平]

本文引用格式
周子婷, 葛菲, 蒋爱梅. 趋化因子 CXCL16/CXCR6 轴与乳腺癌相关关系的研究进展[J]. 中国临床新医学, 2020, 13(6) : 631 – 635.

新进展综述

缝隙连接蛋白 43 与心肌缺血再灌注心律失常的研究进展

陈虹燚, 梁仪琳(综述), 黄照河(审校)

基金项目: 国家自然科学基金项目(编号: 81860797)

作者单位: 533000 广西, 右江民族医学院研究生学院(陈虹燚, 梁仪琳); 533000 广西, 右江民族医学院附属医院心血管内科(黄照河)
作者简介: 陈虹燚(1994 –), 男, 在读硕士研究生, 住院医师, 研究方向: 冠心病的基础与临床研究. E-mail: 452257435@qq.com
通讯作者: 黄照河(1974 –), 男, 在读医学博士, 主任医师, 硕士研究生导师, 研究方向: 冠心病的基础与临床研究. E-mail: bshuangzhaohe@163.com

[摘要] 近年来, 心肌缺血再灌注损伤(myocardial ischemic-reperfusion injury, MIRI)的治疗和预防是心血管领域新兴的研究课题之一。缝隙连接(gap junction, GJ)是心脏电生理的基本结构。缝隙连接蛋白(connexin, Cx)是缝隙连接的基本单位。缝隙连接蛋白 43(connexin 43, Cx43)是心脏 Cx 家族中最丰富的成员, Cx43 的正常表达对于心脏发育、电耦联的心肌细胞活性和心肌功能的协调至关重要。Cx43 与 MIRI 之间的关系已成为当前研究的重点。该文就 Cx43 与心肌缺血再灌注心律失常的关系作一综述。

[关键词] 缝隙连接蛋白 43; 心肌缺血再灌注损伤; 再灌注心律失常

[中图分类号] R 541 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1674 – 3806(2020)06 – 0635 – 04

doi: 10.3969/j.issn.1674 – 3806.2020.06.25

Progress in research on connexin 43 and myocardial ischemic-reperfusion arrhythmia CHEN Hong-yi, LIANG Yi-lin, HUANG Zhao-he. Graduate School of Youjiang Medical University For Nationalities, Guangxi 533000, China

[Abstract] In recent years, the treatment and prevention of myocardial ischemic-reperfusion injury(MIRI) is one of the emerging research topics in the cardiovascular field. Gap junction(GJ) is the basic structure of cardiac electrophysiology. Connexin(Cx) is the basic unit of GJ. Connexin 43(Cx43) is the most abundant member of the Cx family in the heart. The normal expression of Cx43 is essential for cardiac development, the coordination of electrically coupled cardiomyocyte activity and myocardial function. The relationship between Cx43 and MIRI has become the focus of current research. This paper reviews the relationship between Cx43 and myocardial ischemic-reperfusion arrhythmia.

[Key words] Connexin 43(Cx43); Myocardial ischemic-reperfusion injury(MIRI); Reperfusion arrhythmia(RA)

冠心病(coronary heart disease, CHD)是导致心血管疾病(cardiovascular diseases, CVD)患者死亡的主要病因,其病理基础是冠状动脉粥样硬化,并可因缺血、缺氧、氧化应激、炎症和凋亡而加重^[1]。《中

国心血管病报告 2018》概要^[2]显示, CVD 是导致我国居民疾病死亡的首要原因(占 40% 以上)且处于持续上升趋势,尤其是 CHD 的发病率逐年上升,严重危害了公民健康。同时, CHD 的发展过程中可出

现冠脉血流阻塞,从而导致心肌缺血损伤甚至坏死。因此,尽快恢复缺血区域冠状动脉的再灌注是挽救心肌损伤和坏死最有效的治疗方法^[3]。然而,再灌注本身亦会加重心肌损伤和心肌细胞死亡,严重影响心功能及预后,这一过程通常称之为“心肌缺血再灌注损伤(myocardial ischemic-reperfusion injury, MIRI)”,此概念于1960年首先由Jennings提出^[4]。心肌缺血再灌注心律失常(reperfusion arrhythmia, RA)是MIRI中患者死亡的重要原因,如何预防及治疗RA对改善CHD患者预后具有重大意义。因此,进一步研究阐明RA的发病机制,寻找新的诊疗分子靶点具有重要的现实意义和理论价值。近年来大量研究报道了缝隙连接蛋白43(connexin 43, Cx43)可通过细胞内钙超载、氧自由基堆积、心肌细胞凋亡等参与RA发生、发展。本文就Cx43与MIRI中RA的关系作一综述。

1 缝隙连接(gap junction, GJ)与Cx43

GJ是存在于哺乳动物细胞膜上的一种特殊的通道结构,可使相邻细胞的细胞质相互连接,允许各种小的亲水分子(如离子、代谢物)和第二信使交换信息,而这个特殊结构是由缝隙连接蛋白(connexin, Cx)所构成。Cx是一种跨膜蛋白,可在构成GJ通道后在细胞之间交换信息^[5]。组织的动态平衡和结构的完整性是由这种特殊的蛋白质结构所维持,而GJ就属于其中之一^[6]。Cx通常在不同的组织中广泛表达,并根据其分子量进行了分类。现已在人类基因组中鉴定出21种相关的基因,这些基因所编码的就是分子量为26~60 kDa的Cx。心脏中主要表达的Cx亚型为Cx40、Cx43和Cx45,且Cx43是其中含量最丰富的亚型^[7]。Cx43由382个氨基酸组成,含有4个 α -螺旋跨膜区、2个胞外环和1个胞质环以及一个胞质N和C末端尾巴,其C-胞质末端尾部含有激酶的各种磷酸化位点,包括丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)、蛋白激酶C(protein kinase C, PKC)、蛋白酪氨酸激酶(protein tyrosine kinase, PTK)和蛋白激酶B(protein kinase B, PKB)^[8]。细胞膜上的6个Cx43单体通过非共价键的融合形成六边形的半通道,相邻细胞间的半通道以头对头对齐而形成GJ^[9]。Cx43作为相对保守的基因和蛋白质,与其他Cx之间的主要区别在于胞质C末端长度和序列^[10]。Cx43以GJ和半通道的形式存在,在细胞周期的所有阶段(包括生长、分化和凋亡)都发挥着重要作用^[11]。在成熟的心肌细胞中,Cx43主要定位于富含粘连接接的质膜结构域,被

称之为闰盘,这种结构允许心肌同步收缩所需的动作电位快速地各向异性传导^[12]。Cx43通常与细胞间通过GJ的直接通讯有关^[13]。然而,最近的开创性研究挑战了这一信条,将Cx43与其他生物过程相关联,如转录、代谢、自噬和超越细胞间直接通讯的离子通道运输。尽管Cx43的高转换率、与无数蛋白质结合的能力以及Cx43截短异构体的发现,均归因于这种蛋白质在需要精细调控的主要过程中发挥的作用,但Cx43如何参与这些过程很大程度上仍然属于未知。因此,Cx43被认为是不同线索汇聚在一起进行协同加工的中央综合中枢^[14]。Cx在人类生理学中的重要性及其在各种疾病过程中的公认作用,使其已成为可治疗的靶点,尤其是Cx43^[15]。同时,Cx43与RA存在密切联系,并可通过多种途径影响Cx43功能和表达,从而发挥其抗心律失常作用^[16]。

2 Cx43与再灌注心律失常的发病机制

2.1 Cx43与细胞内钙超载

Ca^{2+} 作为重要的第二信使,除参与心肌细胞收缩外,还参与调节病理状态的信号转导^[17]。心肌细胞中Cx43半通道的开放会引起离子梯度的丧失,造成细胞体积超载,导致细胞损伤^[18]。在心肌缺血期间乳酸积聚,使细胞内 H^+ 聚集而引起pH降低,再灌注时细胞外液 H^+ 浓度迅速下降形成细胞内外pH跨膜梯度,从而触发 H^+ 通过 Na^+/H^+ 交换蛋白(Na^+/H^+ exchanger, NHE)从细胞中流出而引起细胞内 Na^+ 浓度增加。此时,细胞内 Na^+ 浓度升高,激活 $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ 交换蛋白($\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ exchanger, NCX)逆向转运使 Ca^{2+} 内流增加,导致细胞钙超载,引发RA。同时,钙超载和氧化应激可触发线粒体膜通透性转换孔(mitochondrial permeability transition pore, mPTP)开放,进而释放凋亡因子促进心肌细胞凋亡^[19]。钙/钙调蛋白依赖的蛋白激酶Ⅱ(calcium/calmodulin-kinase Ⅱ, CaMK Ⅱ)作为钙信号的重要激酶,在MIRI的病理状态下可以激活电压门控钙通道,增加心肌细胞 Ca^{2+} 内流,进而引起钙超载,最终导致心律失常。研究^[20,21]表明,CaMK Ⅱ是控制Cx43在心肌闰盘上的定位及心肌传导速度的重要信号通路,抑制此信号通路将会增加Cx43在闰盘上的定位,改善心肌细胞间通讯与心肌传导,防止心肌收缩功能障碍诱发RA。近年研究^[22]发现Cx43能通过隧道纳米管(tunnelling nanotubes, TNTs)参与介导非邻近细胞之间的通讯,同时TNTs介导的细胞间电耦联也需要Cx43参与。因此,细胞去极化信号可以通过含有Cx43的TNTs扩散,未受刺激的细胞低阈值电压门控 Ca^{2+} 通道将会被激活,

于是 Ca^{2+} 内流增加,细胞肿胀,进而引起钙超载。因此,研究 Cx43 与钙调蛋白及电压门控钙通道的调控,将可能成为防止钙超载的发生并减轻 RA 的一种新的方法。

2.2 Cx43 与氧自由基 氧自由基是在细胞代谢过程中形成并起着细胞信号作用的重要物质。在正常生理状态下,心肌细胞存在的少量氧自由基会被抗氧化物质所清除,从而保持氧化-抗氧化之间的动态平衡^[23]。当心肌缺血再灌注发生时,堆积的大量氧自由基作用于膜上的不饱和脂肪酸,产生脂质过氧化反应,破坏了细胞的结构和功能,造成心肌细胞坏死及功能障碍。脂质过氧化反应导致的细胞膜不稳定性加剧、通透性增加、流动性降低,致使 Ca^{2+} 内流明显增加,进而诱发心律失常。线粒体膜脂质过氧化导致三磷酸腺苷(adenosine triphosphate, ATP)生成减少及心肌细胞能量代谢功能紊乱加重,从而造成 ATP 依赖性离子泵功能障碍以及 RA^[24]。在 MIRI 中 Toll 样受体 2(Toll-like receptor 2, TLR2)信号转导调节 Cx43 的亚细胞定位和功能,抑制心律失常的形成。Raimann 等^[25]在研究中发现,依赖于 TLR2 信号转导的 Cx43 在 260 位半胱氨酸残基的可逆氧化代表了一种调控心肌细胞间 Cx43 磷酸化和 GJ 通讯的新机制;线粒体呼吸链途径产生的氧自由基很可能是 MIRI 期间 Cx43 氧化率增加的原因。Denuc 等^[26]提出线粒体 Cx43 与凋亡诱导因子(apoptosis-inducing factor, AIF)和电子转移黄素蛋白 β (electron transfer flavoprotein subunit beta, ETFB)相互作用形成影响线粒体呼吸和氧自由基信号转导的多蛋白复合物;同时,鉴于 Cx43 在预处理心肌保护中的重要作用,阐明这些复合物的组成和功能可能具有治疗意义,但要确定它的形成是否可以解释线粒体 Cx43 对线粒体呼吸和氧自由基产生的重要调控作用,尚需进一步研究。总的来说, Cx43 对氧自由基的调控研究对 RA 具有重要意义。

2.3 Cx43 与其他机制 当 MIRI 时血管内皮细胞功能障碍,一氧化氮(nitric oxide, NO)合成减少,导致心肌细胞内外离子失衡,引发 RA^[27]。Kirca 等^[28]研究表明,线粒体 Cx43 含量降低与线粒体 NO 合成酶异构体的转换和相应线粒体 NO 的生成率有关。既往的研究已经指出心肌细胞凋亡与 RA 的发生机制有关^[29]。然而,最近 Xue 等^[30]研究发现, Cx43 在丝氨酸 282 位点(S282)的去磷酸化可触发 RA,并且至少部分通过激活 p38 丝裂原活化蛋白激酶/自杀相关因子/Fas 相关死亡结构域蛋白(p38 mitogen-

activated protein kinase/factor-associated suicide/Fas-associated death domain protein, p38/Fas/FADD)通路导致心肌细胞凋亡。该研究证明了 S282 位点磷酸化的缺陷与 RA 和心肌细胞凋亡有关,为预防 RA 提供了新的分子机制和潜在靶点。由于 RA 发病机制复杂,且各种机制相互影响, Cx43 与其他发病机制的关系尚有待深入研究。

3 以 Cx43 为治疗靶点的干预措施

多种机制共同作用导致 RA 的发生,严重影响患者预后。于是,学者们从不同角度探索了以 Cx43 为治疗靶点的干预措施,例如药物预处理和缺血后处理(ischemic postconditioning, IPOC)。药物预处理即通过药物模拟或激发机体自身的内源性保护物质,直接激活相关信号通路,从而起到心肌保护作用^[31,32]。Zhang 等^[33]研究发现,乔松素预处理可通过增强 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATP}$ 酶和 $\text{Ca}^{2+} - \text{Mg}^{2+} - \text{ATP}$ 酶活性,上调 Cx43 和内向整流钾通道 2.1 蛋白的表达从而减轻 RA。IPOC 可降低 RA 的发生率和严重程度^[34]。Bian 等^[35]的实验表明,在 IPOC 过程中, miRNA-1 的表达下调,使得 Cx43 的表达上调且再分布减少,减轻 RA,发挥心肌保护作用,提示 Cx43 是参与 IPOC 的重要调节蛋白; miRNA-1 通过调控 Cx43 的表达和分布参与 IPOC。因此, miRNA-1/Cx43 轴可能作为干预 RA 的潜在靶点。Cx43 作为治疗靶点的相关研究将可能为 RA 治疗提供新途径。

4 结语

探寻一种疗效确切、安全的方法来减轻 RA 应该是今后研究的重点,尤其是如何特异性调控 Cx43 的表达,从而达到精准治疗的目的,将在 RA 预防与治疗中具有重要的临床意义和广阔的应用前景。Cx43 作为心脏 Cx 家族中最丰富的成员,在 MIRI 过程中其表达与 RA 存在密切联系。因此, Cx43 有可能成为未来诊断与治疗 RA 的新靶点,其将为基础研究和临床治疗提供新的研究方向。随着研究的进一步深入,从分子水平、基因转录水平研究 Cx43 与 RA 的关系,有可能为临床治疗提供新的视角。

参考文献

- 1 Dong Y, Chen H, Gao J, et al. Molecular machinery and interplay of apoptosis and autophagy in coronary heart disease[J]. J Mol Cell Cardiol, 2019, 136:27-41.
- 2 胡盛寿,高润霖,刘力生,等.《中国心血管病报告 2018》概要[J]. 中国循环杂志, 2019, 34(3):209-220.
- 3 Liu Y, Zou J, Liu X, et al. MicroRNA-138 attenuates myocardial ischemia reperfusion injury through inhibiting mitochondria-mediated

- apoptosis by targeting HIF1- α [J]. *Exp Ther Med*, 2019,18(5):3325–3332.
- 4 梁丽梅, 冯湘玲, 刘 燕, 等. 龙血竭总黄酮对心肌缺血再灌注损伤大鼠心肌细胞的保护作用研究[J]. *中国临床新医学*, 2017,10(9):857–860.
 - 5 Qiu X, Cheng JC, Klausen C, et al. EGF-Induced Connexin43 Negatively Regulates Cell Proliferation in Human Ovarian Cancer[J]. *J Cell Physiol*, 2016,231(1):111–119.
 - 6 Prakoura N, Kavvadas P, Chadjichristos CE. Connexin 43: a New Therapeutic Target Against Chronic Kidney Disease[J]. *Cell Physiol Biochem*, 2018,49(3):985.
 - 7 Boengler K, Schulz R. Connexin 43 and Mitochondria in Cardiovascular Health and Disease[J]. *Adv Exp Med Biol*, 2017,982:227–246.
 - 8 Zhang Q, Bai X, Liu Y, et al. Current Concepts and Perspectives on Connexin43: A Mini Review[J]. *Curr Protein Pept Sci*, 2018,19(11):1049–1057.
 - 9 Akanuma S, Higashi H, Maruyama S, et al. Expression and function of connexin 43 protein in mouse and human retinal pigment epithelial cells as hemichannels and gap junction proteins[J]. *Exp Eye Res*, 2018,168:128–137.
 - 10 Leithe E, Mesnil M, Aasen T. The connexin 43 C-terminus: A tail of many tales[J]. *Biochim Biophys Acta Biomembr*, 2018,1860(1):48–64.
 - 11 Li C, Tian M, Gou Q, et al. Connexin43 Modulates X-Ray-Induced Pyroptosis in Human Umbilical Vein Endothelial Cells[J]. *Biomed Environ Sci*, 2019,32(3):177–188.
 - 12 Martins-Marques T, Catarino S, Zuzarte M, et al. Ischaemia-induced autophagy leads to degradation of gap junction protein connexin43 in cardiomyocytes[J]. *Biochem J*, 2015,467(2):231–245.
 - 13 王亚楠, 方 浩. 缝隙连接蛋白 43(Cx43)与神经炎症的研究进展[J]. *复旦学报(医学版)*, 2018,45(6):906–910.
 - 14 Martins-Marques T, Ribeiro-Rodrigues T, Batista-Almeida D, et al. Biological Functions of Connexin43 Beyond Intercellular Communication[J]. *Trends Cell Biol*, 2019,29(10):835–847.
 - 15 Laird DW, Lampe PD. Therapeutic strategies targeting connexins[J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2018,17(12):905–921.
 - 16 王凤梅, 王 帆, 张 烁. 缝隙连接蛋白重构与心律失常[J]. *心血管康复医学杂志*, 2013,22(6):626–629.
 - 17 Xu H, Cheng J, Wang X, et al. Resveratrol pretreatment alleviates myocardial ischemia/reperfusion injury by inhibiting STIM1-mediated intracellular calcium accumulation[J]. *J Physiol Biochem*, 2019,75(4):607–618.
 - 18 Boengler K, Bulic M, Schreckenberger R, et al. The gap junction modifier ZP1609 decreases cardiomyocyte hypercontracture following ischaemia/reperfusion independent from mitochondrial connexin 43[J]. *Br J Pharmacol*, 2017,174(13):2060–2073.
 - 19 Chin KY, Qin C, May L, et al. New Pharmacological Approaches to the Prevention of Myocardial Ischemia-Reperfusion Injury[J]. *Curr Drug Targets*, 2017,18(15):1689–1711.
 - 20 黄纬凌, 杨 俊. CaMK II 在介导心肌缺血再灌注损伤后心律失常及炎症反应机制的研究进展[J]. *广东医学*, 2016,37(23):3619–3620.
 - 21 Takanari H, Bourgonje VJ, Fontes MS, et al. Calmodulin/CaMK II inhibition improves intercellular communication and impulse propagation in the heart and is antiarrhythmic under conditions when fibrosis is absent[J]. *Cardiovasc Res*, 2016,111(4):410–421.
 - 22 Ribeiro-Rodrigues TM, Martins-Marques T, Morel S, et al. Role of connexin 43 in different forms of intercellular communication—gap junctions, extracellular vesicles and tunnelling nanotubes[J]. *J Cell Sci*, 2017,130(21):3619–3630.
 - 23 Francis A, Baynosa R. Ischaemia-reperfusion injury and hyperbaric oxygen pathways: a review of cellular mechanisms[J]. *Diving Hyperb Med*, 2017,47(2):110–117.
 - 24 吴 丹. 急性心肌梗死后缺血再灌注性心律失常发病机制及预防的研究进展[J]. *中西医结合心血管病电子杂志*, 2019,7(8):42–43.
 - 25 Raimann FJ, Dröse S, Bonke E, et al. TLR2-Dependent Reversible Oxidation of Connexin 43 at Cys260 Modifies Electrical Coupling After Experimental Myocardial Ischemia/Reperfusion[J]. *J Cardiovasc Transl Res*, 2019,12(5):478–487.
 - 26 Denuc A, Núñez E, Calvo E, et al. New protein-protein interactions of mitochondrial connexin 43 in mouse heart[J]. *J Cell Mol Med*, 2016,20(5):794–803.
 - 27 Simon JN, Duglan D, Casadei B, et al. Nitric oxide synthase regulation of cardiac excitation-contraction coupling in health and disease[J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2014,73:80–91.
 - 28 Kirca M, Kleinbongard P, Soetkamp D, et al. Interaction between Connexin 43 and nitric oxide synthase in mice heart mitochondria[J]. *J Cell Mol Med*, 2015,19(4):815–825.
 - 29 冯旭光. 大鼠心肌缺血再灌注损伤中氧自由基、心肌细胞凋亡和缺血再灌注性心律失常的相关性[J]. *中西医结合心血管病电子杂志*, 2016,4(30):73–76.
 - 30 Xue J, Yan X, Yang Y, et al. Connexin 43 dephosphorylation contributes to arrhythmias and cardiomyocyte apoptosis in ischemia/reperfusion hearts[J]. *Basic Res Cardiol*, 2019,114(5):40.
 - 31 Ahmed LA, Salem HA, Attia AS, et al. Pharmacological preconditioning with nicorandil and pioglitazone attenuates myocardial ischemia/reperfusion injury in rats[J]. *Eur J Pharmacol*, 2011,663(1–3):51–58.
 - 32 Luca MC, Liuni A, Muxel S, et al. Chronic pharmacological preconditioning against ischemia[J]. *Clin Hemorheol Microcirc*, 2011,49(1–4):287–293.
 - 33 Zhang P, Xu J, Hu W, et al. Effects of Pinocembrin Pretreatment on Connexin 43(Cx43) Protein Expression After Rat Myocardial Ischemia-Reperfusion and Cardiac Arrhythmia[J]. *Med Sci Monit*, 2018,24:5008–5014.
 - 34 Diez ER, Sánchez JA, Prado NJ, et al. Ischemic Postconditioning Reduces Reperfusion Arrhythmias by Adenosine Receptors and Protein Kinase C Activation but Is Independent of K(ATP) Channels or Connexin 43[J]. *Int J Mol Sci*, 2019,20(23):5927.
 - 35 Bian B, Yu XF, Wang GQ, et al. Role of miRNA-1 in regulating connexin 43 in ischemia-reperfusion heart injury: a rat model[J]. *Cardiovasc Pathol*, 2017,27:37–42.
- [收稿日期 2020–02–17][本文编辑 韦 颖 潘洪平]
- 本文引用格式**
陈虹斌, 梁仪琳, 黄照河. 缝隙连接蛋白 43 与心肌缺血再灌注心律失常的研究进展[J]. *中国临床新医学*, 2020,13(6):635–638.