

## 血小板反应蛋白与心肌重构的关系

郑常松, 吕云波\*, 王辉波, 陈惠

(三峡大学人民医院/宜昌市第一人民医院心血管内科, 宜昌 443000)

**摘要:** 心肌重构是多种心脏疾病的最终结局, 寻找有效的措施干预心肌重构过程具有重要意义。血小板反应蛋白(TSP)属于TSP家族的细胞外基质(ECM)蛋白, 由5个成员组成。在TSP中, TSP-1、TSP-2和TSP-4是研究最多和功能测试最多的成员。TSP-1具有抗血管生成活性, 能够激活转化生长因子- $\beta$ (TGF- $\beta$ ), 是一种有效的促纤维化和抗炎因子。TSP-2和TSP-4都参与了肥厚心脏ECM成分的控制。本文就TSP的结构及其在心肌重构中的作用以及与这些TSP相关的潜在途径进行综述, 以为心肌重构的治疗提供一定的帮助。

**关键词:** 心肌重构; 血小板反应蛋白; 凋亡; 纤维化

## The relationships between thrombospondin and myocardial remodeling

ZHENG Changsong, LYU Yunbo\*, WANG Huibo, CHEN Hui

(Cardiology Department, People's Hospital of China Three Gorges University, the First People's Hospital of Yichang, Yichang 443000, China)

**Abstract:** Myocardial remodeling is the final outcome of a variety of heart diseases. It is of great significance to find effective measures to intervene myocardial remodeling. Thrombospondin (TSP) is an extracellular matrix (ECM) protein belonging to the TSP family, which consists of five members. Among the TSPs, TSP-1, TSP-2, and TSP-4 are functionally tested. TSP-1 has anti-angiogenic activity and can activate transforming growth factor- $\beta$ (TGF- $\beta$ ), which is a potent pro-fibrotic and anti-inflammatory factor. Both TSP-2 and TSP-4 are involved in the control of ECM components in hypertrophic hearts. This paper reviews the structure and role of TSP and myocardial remodeling, as well as the potential pathways related to these TSPs, in order to provide some help for the treatment of myocardial remodeling.

**Key Words:** myocardial remodeling; thrombospondin; apoptosis; fibrosis

心血管疾病(cardiovascular diseases, CVD)是威胁人类健康的最重要疾病之一<sup>[1]</sup>。《2018年中国心血管疾病报告》显示, 中国有2.9亿人患有心血管疾病, 其中2.45亿人患有高血压, 450万人患有心力衰竭, 随着中国社会人口老龄化进程的加

快, 心力衰竭的发病率可能会继续增加<sup>[2]</sup>。人们认识到, 心肌重构是许多严重心血管疾病发展为心力衰竭的一个常见途径。

心肌重构是慢性心力衰竭(chronic heart failure, CHF)发生发展过程中的重要病理生理基

收稿日期: 2022-04-09

基金项目: 湖北省自然科学基金项目(2021CFB202)

第一作者: E-mail: z2419739083@163.com

\*通信作者: E-mail: lyb8300417@sina.com

础,在这一过程中,心脏受到各种因素的影响,结构发生改变:在细胞水平方面,出现心肌细胞肥大和间质细胞增生,心肌纤维化程度加剧;在一般结构方面,心室肌和心脏的厚度、容量、重量随之改变。然而,这种变化的长期维持将导致心脏的舒张功能逐渐下降并且恶化。因此,探索心肌重构的发病机制,积极寻找有效的心肌重构的防治措施具有重要意义<sup>[3-5]</sup>。

目前,尽管许多学者围绕心肌重塑进行了大量研究,并证明细胞凋亡、炎症、氧化应激、纤维化和血管生成与心肌重塑的发生密切相关,但具体机制仍不清楚。血小板反应蛋白(thrombospondin, TSP)在心肌重构的进展过程中起着重要作用,本文就TSP与心肌重构的关系进行简要综述。

## 1 血小板反应蛋白概述

细胞外基质(extracellular matrix, ECM)不仅起着提供结构支持和固定细胞的作用,还通过调节细胞之间、细胞与基质之间的连接,诱导细胞黏附、运动和分化,在调节组织发生和重塑方面发挥重要作用。在心血管系统中,ECM参与维持心脏和血管的结构连续性,为细胞的黏附提供物理支持,控制细胞生长和死亡,调节舒张强度,以及组织修复重建或心血管损伤修复等。在ECM中,局部微环境引起的结构变化可导致功能基质的改变。基质的改变可以传导到邻近的细胞并影响它们的活性和行为。例如,心血管ECM介导血流诱导的机械转导<sup>[6,7]</sup>、血管细胞和心肌细胞对各种应激刺激的适应性反应等许多功能由一组非结构化ECM蛋白介导,这些蛋白被称为基质细胞蛋白,包括TSP、腱蛋白、骨膜蛋白、骨桥蛋白、ccn蛋白和骨连接蛋白<sup>[8]</sup>。

## 2 血小板反应蛋白结构

作为一种基质细胞蛋白家族,TSP由多种细胞分泌。到目前为止,共有5个TSP家族成员(TSP-1~5)被发现,它们代表多聚糖蛋白,可以结合 $\text{Ca}^{2+}$ ,与其他ECM蛋白相互作用,并促进细胞之间以及细胞与ECM之间的关联。根据他们的结构差异分为两个亚组:三聚体A亚组(TSP-1和TSP-2)

和五聚体B亚组(TSP-3、TSP-4和TSP-5)。TSP具有复杂的多结构域结构。C-末端结构域、Ⅲ型重复结构和表皮生长因子(EGF)样重复结构存在所有TSP中,是TSP家族的特征。低聚化域也可以在所有家族成员中发现,但与其他共享结构<sup>[9]</sup>相比,它的变化更大<sup>[10]</sup>。A亚组有三个EGF样重复和Ⅰ型重复(也称为血小板反应蛋白重复,TSRs)、血管性血友病因子C型(vWC)结构域和N端结构域。B亚组包含4个EGF样重复,但vWC域和TSR缺失。TSP-3和TSP-4有N-端结构域,而TSP-5没有<sup>[11]</sup>。进化分析表明,B亚组比A亚组更年轻,在人类中,TSP-1、TSP-3、TSP-4和TSP-5基因位于同源区域内,是基因复制的结果。

由于各种结构域的可用性,TSP可以与不同的表面受体和ECM蛋白相互作用。在TSP分子中,整合素和 $\text{Ca}^{2+}$ 结合需要EGF样结构域,TGF- $\beta$ 和CD36结合需要TSP,肝素和整合素结合需要N-端结构域<sup>[12]</sup>。C-端结构域还包含CD47的一个结合位点,CD47是一个很重要的TSP相关介导的受体<sup>[13]</sup>。TSP的C-末端结构域与白细胞表面抗原CD47和钙相互作用。通过这些不同的相互作用,TSP-1调节这些配体的活性,最终在生理和病理过程中诱导细胞对环境刺激的反应。此外,TSP可以显示不同的细胞分布、不同的时间表达谱,并具有不同的功能职责和转录调控模式。正常情况下,TSP-1具有抗血管生成活性,并能激活转化生长因子- $\beta$ (transforming growth factor- $\beta$ , TGF- $\beta$ ),是一种有效的促纤维化和抗炎因子。TSP-2和TSP-4参与了肥厚心脏ECM组成的控制。TSP-1、TSP-2和TSP-4还通过影响基质金属蛋白酶活性、TGF- $\beta$ 信号传导、胶原生成、心肌细胞凋亡、肌成纤维细胞分化以及由牵张介导的心肌收缩功能的增强等方面来影响心脏重构过程。其中,TSP-1和TSP-2是研究最多的小血小板反应蛋白。

### 2.1 心肌重构过程中与TSP相关的信号通路

由于TSP具有多域结构,不同TSP可以特异性地结合多种类型的不同配体。因此,它们参与了调节心肌重构中细胞活动和ECM成分的各种信号通路。

#### 2.1.1 TGF- $\beta$ 介导的通路

TGF- $\beta$ 是一组分泌的细胞因子,对细胞的增

殖、分化、迁移、凋亡等多种功能都有重要的调控作用。研究发现, TSP-1通过TGF- $\beta$ 途径调控以上细胞活性。先前的数据表明, TSP-1的I型重复序列可能结合并激活潜伏的TGF- $\beta$ 。活化的TGF- $\beta$ 可以促进新的血管沉积和血管生成, 通过招募炎症细胞促进炎症反应, 并通过TGF- $\beta$ 途径增加成纤维细胞分化<sup>[14]</sup>。TSP-2也可与潜伏的TGF- $\beta$ 结合。而TSP-2不能激活潜伏性TGF- $\beta$ 。此外, 由于这个原因, TSP-1和TSP-2可以通过竞争性结合TGF- $\beta$ 来调节其活性并调控下游通路。

### 2.1.2 ECM内稳态

I型和III型胶原的过度积累是心肌肥厚的一个显著特征, 这是因为胶原的合成能力高于降解能力。基质金属肽酶2(matrix metalloproteinase 2, MMP2)和基质金属肽酶9(MMP9)在维持ECM稳态中起着至关重要的作用。研究表明, TSP-1和TSP-2可能与MMP2和MMP9相互作用, 抑制其活性并调节胶原稳态。此外, 也有证据表明, 胶原蛋白可以与TSP-1直接作用。TSP-1的C-端结构域可能与I型胶原结合, 从而促进成纤维细胞内稳态<sup>[14]</sup>。这些结果表明, TSP-1和TSP-2对ECM稳态有显著作用。

### 2.1.3 钙通道

钙是一种人体中不可或缺的离子, 参与人体许多正常生理过程。参与维持细胞膜两侧的生物电位, 维持正常的肌肉收缩舒张、血管收缩以及神经的传导。TSP-1的促纤维化活性也可通过钙网蛋白/低密度脂蛋白受体相关蛋白1复合物介导, 其刺激导致促生存蛋白激酶(如PI3K)的激活和成纤维细胞的迁移。Yan等<sup>[15]</sup>发现, TSP-1的N-末端结构域具有钙网蛋白结合位点, 通过刺激钙网蛋白与LRP1的结合, 导致信号黏着解体, 并向细胞质提供信号。TSP-2和FGF2的结合可以被钙离子抑制, 表明钙离子可以通过干预其他分子之间的相互作用来影响细胞功能<sup>[16]</sup>。

### 2.1.4 PI3K-Akt途径

PI3K-Akt途径可被各种细胞刺激物激活, 并调节许多基本细胞功能, 如细胞增殖、迁移和凋亡。这些细胞活动对心肌重构的病理过程至关重要。TSP-1和TSP-2也通过PI3K-Akt途径参与其病理过程。TSP-1的N-末端结构域可与血小板衍生

生长因子相互作用, 从而介导VSMC增殖和迁移。CD36是一种多配体受体, 参与心血管疾病的各种病理过程, 如动脉粥样硬化的形成。CD47是多种细胞表面的一种糖蛋白, 在免疫反应和炎症中起重要的调节作用。TSP-1和CD36的结合通过促进内皮细胞凋亡和抑制一氧化氮(NO)信号转导抑制血管生成。TSP-1和TSP-2的C-末端结构域可与CD47相互作用, CD47可促进细胞迁移和黏附, 抑制环磷酸鸟苷合成、NO信号<sup>[17]</sup>和内皮细胞的细胞周期进展<sup>[18]</sup>。这些数据表明, TSP-1和CD47的结合也可能抑制血管生成。

此外, 有证据表明, 具有血小板反应蛋白基序的去整合素和金属蛋白酶(ADAMTS-7)与CVD之间存在密切的联系。TSP-1和TSP-2与ADAMTS-7的相互作用促进了动脉粥样硬化、冠状动脉疾病、动脉痉挛和血管重构的病理过程, 并与TSP-1和TSP-2的相互作用密切相关。相反, 也有证据表明, ADAMTS-7可能抑制MI后的左室反向重构<sup>[19,20]</sup>, 提示ADAMTS-7可能是CVD的关键调节因子。

## 3 TSP与心肌重构

### 3.1 TSP-1与心肌重构

心肌肥厚可能是由心脏慢性压力超负荷引起的, 如原发性高血压。心肌重构的病理特征包括心肌细胞的增殖、心肌成纤维细胞的增殖和心肌外基质沉积的增加。TSP-1和TSP-2在心肌重构中的作用已有一些报道。

#### 3.1.1 TSP-1与细胞凋亡

心肌重构是由机械应力、炎症、氧化应激等多种病理因素引起的, 并导致心肌细胞及其他组织细胞凋亡。抑制炎症细胞因子及活性氧等刺激因素, 可减缓心肌细胞的凋亡过程, 一定程度上缓解心肌重构的进展过程。心肌损伤引发心肌梗死后的组织修复反应, 其目的是恢复心脏的传导和收缩力、血供, 并以疤痕取代梗死部位坏死的心肌细胞。心肌梗死后, 梗死区重构早期, 心肌细胞坏死, 而梗死区和远端心肌区在重构的早期和晚期均发生凋亡。在心脏修复的初期, 浸润的炎症细胞释放MMP, 尤其是MMP-2/9, 以降解受损心肌区域和邻近区域的ECM。与野生型小鼠相

比, *TSP-1*缺陷小鼠暴露于压力过载状态时, 心肌梗死再灌注会导致梗死边缘区域更强烈和长期的心脏炎症和过度重塑过程<sup>[21]</sup>。这些研究结果表明, *TSP-1*在梗死边缘区域发挥着屏障功能, 并且限制炎症和纤维化向非损伤心肌区域进展, 从而保护非梗死心肌不发生心肌重构。*TGF- $\beta$* 依赖性*TSP-1*产生的上调可能参与了这一过程<sup>[22]</sup>。压力负荷条件下小鼠心肌中*TSP-1*的激活, 通过上调*TGF- $\beta$* 依赖通路, 控制成纤维细胞表型和心脏重塑, 通过抑制MMPs保存心脏基质。而炎症反应却无明显变化<sup>[23]</sup>。这是相当矛盾的, 因为*TGF- $\beta$* 具有抗炎特性。在实验性糖尿病心肌病合并腹主动脉缩窄模型中, LKSL(一种能拮抗*TSP-1*依赖性*TGF- $\beta$* 激活的肽)被发现可以通过抑制*TGF- $\beta$* 驱动的纤维化, 产生对心肌的有益作用。因此, 从药理角度来看, 在心肌肥厚过程中, 拮抗*TSP-1*依赖的*TGF- $\beta$* 通路的激活来抑制心肌重构过程似乎比阻断*TSP-1*信号更为有效。

在人工诱导的心力衰竭大鼠模型中测定发现*TSP-1*的水平上调。在左心室肥厚和心力衰竭过程中, *TSP-1*/CD47信号通路在这一重构过程中发挥着重要作用<sup>[24]</sup>。除此之外, 有研究表明, STAT3可以驱动星形胶质细胞中*TSP-1*的表达<sup>[25]</sup>。在此基础上, Bao等<sup>[26]</sup>发现, 间歇性缺氧(intermittent hypoxia, IH)暴露小鼠和阻塞性睡眠呼吸暂停(obstructive sleep apnea, OSA)患者的*TSP-1*含量均上调。此外, 体内和体外结果均显示, IH诱导心脏成纤维细胞激活, 并增加了心脏成纤维细胞中*TSP-1*的表达。而STAT-3作为*TSP-1*转录因子, 在IH暴露后, 在Tyr705位点被磷酸化并易位到细胞核中, 进而促进成纤维细胞的激活。Kelm等<sup>[27]</sup>研究发现, 针对不同分组小鼠, 分别在基线和缺血再灌注后72 h评估心功能和冠状动脉流量, 并测量线粒体ROS生成, 以及*TSP-1*、Pgc-1 $\alpha$ 和动力相关蛋白水平。随后, 在体外使用siRNA或Pgc-1 $\alpha$ 质粒处理大鼠主动脉内膜细胞, 观察Pgc-1 $\alpha$ 对Drp-1的影响。结果发现, 与对照组相比, 缺血再灌注增加了年轻和老年心脏中*TSP-1*和Drp-1的表达。他们还发现, 主动脉内皮细胞中Drp-1的水平升高, 缺氧后ROS的生成也增多, 而Pgc-1 $\alpha$ 质粒在外源性*TSP-1*存在时可改善Drp-1的表达, 防止Drp-1介导

的线粒体分裂, 并可能通过减少老年人群中活性氧介导的心肌细胞损伤来改善心脏舒张功能。Ganguly等<sup>[28]</sup>发现, *ApoE*基因敲除和*TSP-1*、*ApoE*双基因敲除小鼠对比, 除正常胆固醇饮食外, 分别给予或不给予小鼠重组瘦素3周。观察小鼠主动脉根部形态测定和面部损伤实验, 结果发现, 在单纯*ApoE*敲除小鼠中, *TSP-1*缺失消除了瘦素刺激的脂质填充的病变负担、斑块面积和胶原蛋白积累。主动脉根部的免疫荧光显示, *TSP-1*缺乏阻断了瘦素诱导的炎症和平滑肌细胞丰度以及细胞增殖, 证明*TSP-1*缺失为瘦素刺激的动脉粥样硬化的保护作用提供了证据, 表明*TSP-1*在瘦素诱导的血管平滑肌细胞表型转变和炎症病变侵袭方面发挥了调节作用。以上研究证明, 阻断*TSP-1*的表达可以减轻心肌细胞的损害, 抑制心肌重构的发生。

### 3.1.2 *TSP-1*与血管生成

由于血管生成减少而导致的血管供血减少被认为会促进心脏肥厚发展为心力衰竭。*TSP-1*对肿瘤血管生成的抑制作用已被广泛研究。然而, 研究*TSP-1*对心脏微血管影响的结果仍有颇多争议。据报道, *TSP-1*的缺乏会导致致密的心脏毛细血管网和更高心脏质量的形成。这些发现目前没有得到证实<sup>[29]</sup>。*TSP-1*缺陷小鼠MMP的上调可能显著促进血管生成<sup>[29]</sup>。除微血管外, Rawat等<sup>[30]</sup>研究发现, *TSP-1*与缺氧诱导的肺动脉高压相关。其特征是肺动脉、肺静脉以及肺血管系统的压力升高。肺动脉高压伴有肺相关血管狭窄, 这是致病性的血管重塑导致内膜和中膜增厚所致, 引起心脏负荷增加, 导致右心室肥大, 最终发展为右心衰。慢性肺缺血诱导肺动脉*TSP-1*过度表达。同样, Imoto等<sup>[31]</sup>用野百合碱诱导了肺动脉高压大鼠模型, 并在大鼠的右心室中检测到各种基质细胞蛋白的水平上调, 包括*TSP-1*、*TSP-2*和*TSP-4*。事实上, Ochoa等<sup>[32]</sup>发现, *TSP-1*缺陷动物对缺氧诱导的肺动脉高压的抵抗力增强。在缺氧VSMC中, 通过Akt/PI3K机制, *TGF- $\beta$* 胰岛素样生长因子结合蛋白-3( insulin-like growth factor binding protein-3, IGFBP-3)以自分泌方式激活, 并增加机体NOX4水平的表达, 通过ROS依赖性信号诱导血管平滑肌细胞增殖和心肌成纤维细胞转化为肌成纤维细胞, 从而加重肺动脉壁增厚和右心室肥大。综上所述

述, 这些结果表明了TSP-1和TGF- $\beta$ 在肺动脉高压中的作用, 它们协同诱导异常组织重塑, 与增加的动脉VSMC增生、增殖和右心室肥厚关系密切。

### 3.2 TSP-2与心肌重构

#### 3.2.1 TSP-2与细胞凋亡

心肌梗死后左心室重构与左室舒张和功能障碍密切相关, 可导致心脏功能损害和预后不良。左室重构的病理过程包括梗死区瘢痕形成、非梗死区周围增生和纤维化。这主要是由于ECM的降解, 肌成纤维细胞的沉积, 以及梗死后胶原蛋白数量的快速增加。而细胞外胶原基质(extracellular collagen matrix, ECCM)重构在很大程度上促进了左心室重构, 缺氧暴露显著诱导心肌细胞祖细胞(hcMPcs)中TSP-2的表达, 而TSP-2的下调导致hcMPcs的增殖、迁移和MMP活性增强, 表明TSP-2可能参与控制缺氧条件下hcMPcs的迁移和侵袭过程<sup>[33]</sup>。

TSP-2同样与心肌肥厚密切相关。有数据表明, 年龄较大的TSP-2缺失小鼠与扩张型心肌病相关, 其病理生理特征是收缩功能受损、心脏扩张和心肌径向纤维化增加, 表明TSP-2的缺乏可导致年龄相关性扩张型心肌病<sup>[34]</sup>。在阿霉素诱导的心肌病小鼠模型中, 与野生型小鼠相比, TSP-2敲除小鼠的死亡率增加, 而存活的动物由于MMP-1/9激活而导致心肌细胞凋亡和ECM破坏, 导致心脏功能下降<sup>[35]</sup>。Papageorgiou等<sup>[36]</sup>发现, TSP-2在小鼠心肌中过表达可降低人柯萨奇病毒B3(CV B3)感染后的心脏炎症, 改善心功能, 提示TSP-2可减轻急性病毒性心肌炎时的心脏损伤、炎症和功能障碍。此前还发现, 在可能发展为心力衰竭的肥厚心脏中, TSP-2表达是唯一被激活的。这可能是心力衰竭的早期分子程序。

在衰老动物模型中, TSP-2缺乏与心肌纤维化、严重的扩张型心肌病、收缩功能改变等相关。心肌细胞受到细胞压力增加和死亡的影响。而心脏毛细血管密度未受影响。MMP-2表达上调, 组织转谷氨酰胺酶-2表达下调, 导致交联异常。心脏中TSP-2基因的表达可预防老龄大鼠的扩张型心肌病<sup>[34]</sup>。心肌重构阶段, 心脏扩张及收缩功能降低, TSP-2缺乏与调节性T细胞活化减少、晚期坏死和心肌纤维化有关。TSP-2过度表达使心

脏炎症以及炎症和病毒诱导的心脏死亡事件减少, 从而预防心力衰竭。病毒性心肌炎患者的心肌活检样本中, TSP-2水平也呈现上调<sup>[36]</sup>。总的来说, 这些数据证明了TSP-2对心力衰竭的保护作用。也有研究表明, TSP-2升高主要与心衰住院患者预后相关。在伴有症状性充血性心力衰竭(chronic heart failure, CHF)的冠心病患者中, 循环TSP-2升高, 与3年CHF相关死亡、全因死亡率和复发住院风险增加相关<sup>[37]</sup>。在保留射血分数的心力衰竭患者中, 高水平的血清TSP-2与不良的预后有关<sup>[38]</sup>。

#### 3.2.2 TSP-2与血管生成

在心脏受到各种病理刺激后, 心脏扩大、心肌纤维化, 收缩功能下降, 心肌组织的氧需求量增加。为了维持氧供应和心脏功能, 身体必须生成新血管, 以增加心肌局部血液循环。因此, 影响心脏血管生成的因素对心肌重塑的发生也有重要影响。TSP-2和TSP-1具有多种抗血管生成特性, 能够促进CD36介导的内皮细胞凋亡过程, 引起细胞周期阻滞。TSP-2缺陷小鼠模型显示与MMP-9上调相关的血管生成反应增加<sup>[39]</sup>。同样, TSP-2缺陷可诱导机体血管生成反应增强, 延迟皮肤伤口收缩, 并增加MMP-2/9和可溶性血管内皮生长因子(vascular endothelial-derived growth factor, VEGF)的水平<sup>[34]</sup>。这提示TSP-2的抗血管生成作用可通过多种机制释放。Reinecke等<sup>[40]</sup>使用TSP-2敲除小鼠结合胎儿小鼠心肌细胞移植模型来评估缺乏TSP-2对心脏纤维化、血管密度和移植物大小的影响: 在未受伤的心脏移植2周后, TSP-2敲除小鼠的纤维化面积减少了4.5倍, 与野生型小鼠相比, 移植物周围疤痕胶膜的厚度减少了7倍; 在缺乏TSP-2的情况下, 移植物周围区域的内皮细胞密度增加了2.5倍, TSP-2敲除小鼠心脏心肌细胞移植物大小增加46%。以上研究结果表明, TSP-2是心脏细胞移植后纤维化和血管生成的关键调节因子, 其缺失可促进更好的移植物整合、血管形成和存活。

### 3.3 TSP-4与心肌重构

在心肌梗死、心肌压力负荷过重和高血压等病理条件下, TSP-4在心脏和血管系统表达。TSP-4与重构过程有关, 它可能会影响细胞外基质蛋白

的组织。有基础研究显示, 在腹主动脉瘘处理后体积过载引起的心力衰竭大鼠心脏中观察到心肌TSP-4表达水平的上调<sup>[41]</sup>。Palao等<sup>[42]</sup>研究发现, 使用Ang II治疗的TSP-4敲除(*Thbs4*<sup>-/-</sup>)动物的心脏重量增加, 同时伴有动脉瘤的发生。进一步分析了这些动物心脏和主动脉的特征, 发现Ang II治疗后的*Thbs4*<sup>-/-</sup>小鼠出现心肌细胞肥大、血管周围纤维化和炎症。在主动脉, 发现Ang II治疗的*Thbs4*<sup>-/-</sup>小鼠的主动脉壁横截面面积(cross sectional area, CSA)和壁厚增加。这表明TSP-4缺乏与横向主动脉缩窄(transverse aortic constriction, TAC)压力过载动物模型中增加的肥厚反应相关。结果表明, TSP-4在Ang II型高血压性的心肌肥厚和主动脉夹层的发生发展中起着重要作用。TSP-4可阻止I、II、III和V胶原的沉积, 而不影响IV胶原的水平。在血管紧张素II输注心肌肥厚模型中, 上调TSP-4表达的信号之一是Klf6(Kruppel-like factor 6): 在*Klf6*<sup>+/-</sup>小鼠(*Klf6*<sup>-/-</sup>是胚胎死亡小鼠)中, 心肌纤维化减弱与TSP-4表达增加有关。染色质沉淀显示, Klf6向TSP-4启动子招募, Klf6对TSP-4启动子活性的抑制呈剂量依赖性。收缩性和应力反应适应性的丧失与基质成分的变化以及TSP-4对压力过载的直接调节有关: 重组TSP-4培养的肌肉恢复了收缩性。这表明TSP-4是一种调节急性应激下适应性心脏收缩反应的肌细胞间质力学信号蛋白<sup>[43]</sup>。这些观察结果表明, 心脏TSP-4表达的增加是一种对压力过载的适应性反应, TSP-4在重塑心脏中的主要作用是控制压力过载引起的纤维化。TSP-4不影响心肌细胞的大小或凋亡, 但可阻止间质ECM的沉积和心脏肥厚, 并维持在压力过载时增强收缩力和激活伸展反应的适应机制。

与其他组织类似, 在心肌中, TSP-4在许多涉及损伤和组织重塑的情况下上调。在未衰竭的人左心室慢性缺血心肌中检测到TSP-4表达增加。这与慢性心肌重构和许多其他参与基质重构的ECM基因表达有关。同样, 心肌细胞内TSP-4的功能与其在分泌途径中的功能有关。TSP-4的type-3重复结构域与激活转录因子6 $\alpha$ (Atf6 $\alpha$ )的内质网腔域结合, 促进其核穿梭, 激活保护性内质网应激反应。这一功能也同样为其他TSP所共有, 并不局限

于心肌细胞, TSP-4在骨骼肌细胞中也激活内质网应激反应<sup>[44]</sup>。除了内质网应激反应的激活, TSP包括TSP-4, 被发现通过与基质相互作用分子1(stromal-interaction molecule 1, STIM1)的相互作用, 影响细胞钙信号。STIM1是一种跨膜蛋白, 在内质网(endoplasmic reticulum, ER)中起作用, 用于检测内质网和质膜中的钙消耗<sup>[45]</sup>。这些TSP-4在ER中的新功能为TSP-4和其他TSP的研究打开了一个全新的方向——TSP的细胞内调节作用与分泌途径相关, 这在之前没有被认识到。在ER环境中, 这些蛋白质不仅在分泌前就会发生相互作用, 而且TSP-4等分泌蛋白在通过分泌途径进行的过程中也会引发重要的信号转导事件。而介导TSP-4之间的相互作用的结合位点激活转录因子6 $\alpha$ 与TSP-4局部类型3重复, 这一区域的基因多态性与风险增加相关的心肌梗死(myocardial infarction, MI)和冠状动脉疾病(cardiovascular disease, CVD)有关<sup>[46]</sup>, 并在几项人类人口研究中得到了证实<sup>[47]</sup>。TSP-4的这一区域似乎在TSP-4的大部分功能中都很重要, 与疾病相关的基因多态性(single nucleotide polymorphism, SNP)对应的突变导致了TSP-4特性的改变及其与细胞的相互作用。

综上所述, 当前的研究揭示了TSP-4在心脏和主动脉中的重要作用。在目前的模型中, TSP-4起着保护心脏免受心肌肥厚、血管周围纤维化和炎症影响的作用。此外, 它还能保护主动脉免受剥离, 避免危及生命。

## 4 小结与展望

CHF是各种心血管疾病如原发性高血压(高血压)、冠状动脉粥样硬化性心脏病(coronary heart disease, CHD)、瓣膜性心脏病、先天性心脏病等疾病的最终归宿。心肌重构在CHF的发生发展中起着极其关键的作用。尽管多年来人们对心肌重构的病因、发病机制、治疗和预防进行了研究, 但其病理生理机制尚未完全阐明。CHF与心肌重构的研究一直是心血管疾病研究的热点和难点。目前, 虽然有大量研究显示TSP在众多心血管疾病的病理过程中发挥重要作用, 其多域结构特征和与不同配体结合的能力也可能在分子水平上为不同心肌重构的治疗提供新的靶点。但其具体作用和

机制仍不十分清楚。临床实践中,关于TSP模拟非肽类似物的有效性和安全性依然需要进一步研究评估。因此深入探究、准确分析TSP结构与功能的关系,识别新的受体,并对其各个结构域进行功能定位,将有助于开发靶向TSP相关依赖途径的新药物,对心血管疾病的防治具有深远意义。

### 参考文献

- [1] Roth GA, Johnson C, Abajobir A, et al. Global, regional, and national burden of cardiovascular diseases for 10 causes, 1990 to 2015. *J Am Coll Cardiol*, 2017, 70(1): 1-25
- [2] 胡盛寿, 高润霖, 刘力生, 等. 《中国心血管病报告2018》概要. 中国循环杂志, 2019, 34(3): 209-220
- [3] Nadruz W. Myocardial remodeling in hypertension. *J Hum Hypertens*, 2015, 29(1): 1-6
- [4] Frangogiannis NG. The extracellular matrix in myocardial injury, repair, and remodeling. *J Clin Investigation*, 2017, 127(5): 1600-1612
- [5] Shen S, Jiang H, Bei Y, et al. Long non-coding RNAs in cardiac remodeling. *Cell Physiol Biochem*, 2017, 41(5): 1830-1837
- [6] Lewinsohn AD, Anssari-Benham A, Lee DA, et al. Anisotropic strain transfer through the aortic valve and its relevance to the cellular mechanical environment. *Proc Inst Mech Eng H*, 2011, 225(8): 821-830
- [7] Okech W, Abberton KM, Kuebel JM, et al. Extracellular matrix fibronectin mediates an endothelial cell response to shear stress via the heparin binding, matricryptic RWRPK sequence of FNIII1H. *Am J Physiol Heart Circulat Physiol*, 2016, 311(4): H1063-H1071
- [8] Bornstein P. Thrombospondins as matricellular modulators of cell function. *J Clin Invest*, 2001, 107(8): 929-934
- [9] Carlson CB, Liu Y, Keck JL, et al. Influences of the N700S thrombospondin-1 polymorphism on protein structure and stability. *J Biol Chem*, 2008, 283(29): 20069-20076
- [10] Carlson CB, Lawler J, Mosher DF. Thrombospondins: from structure to therapeutics. *Cell Mol Life Sci*, 2008, 65(5): 672-686
- [11] Adams JC, Lawler J. The thrombospondins. *Cold Spring Harbor Perspectives Biol*, 2011, 3(10): a009712
- [12] Murphy-Ullrich JE, Iozzo RV. Thrombospondins in physiology and disease: new tricks for old dogs. *Matrix Biol*, 2012, 31(3): 152-154
- [13] Rath GM, Schneider C, Dedieu S, et al. The C-terminal CD47/IAP-binding domain of thrombospondin-1 prevents camptothecin- and doxorubicin-induced apoptosis in human thyroid carcinoma cells. *Biochim Biophys Acta*, 2006, 1763(10): 1125-1134
- [14] Rosini S, Pugh N, Bonna AM, et al. Thrombospondin-1 promotes matrix homeostasis by interacting with collagen and lysyl oxidase precursors and collagen cross-linking sites. *Sci Signal*, 2018, 11(532): eaar2566
- [15] Yan Q, Murphy-Ullrich JE, Song Y. Structural insight into the role of thrombospondin-1 binding to calreticulin in calreticulin-induced focal adhesion disassembly. *Biochemistry*, 2010, 49(17): 3685-3694
- [16] Rusnati M, Borsotti P, Moroni E, et al. The calcium-binding type III repeats domain of thrombospondin-2 binds to fibroblast growth factor 2 (FGF2). *Angiogenesis*, 2019, 22(1): 133-144
- [17] Mandler WK, Nurkiewicz TR, Porter DW, et al. Microvascular dysfunction following multiwalled carbon nanotube exposure is mediated by thrombospondin-1 receptor CD47. *Toxicol Sci*, 2018, 165(1): 90-99
- [18] Gao Q, Chen K, Gao L, et al. Thrombospondin-1 signaling through CD47 inhibits cell cycle progression and induces senescence in endothelial cells. *Cell Death Dis*, 2016, 7(9): e2368
- [19] Wu W, Li J, Yu C, et al. Association of serum ADAMTS-7 levels with left ventricular reverse remodeling after ST-elevation myocardial infarction. *Eur J Med Res*, 2018, 23(1): 15
- [20] Wu W, Wang H, Yu C, et al. Association of ADAMTS-7 levels with cardiac function in a rat model of acute myocardial infarction. *Cell Physiol Biochem*, 2016, 38(3): 950-958
- [21] Frangogiannis NG, Ren G, Dewald O, et al. Critical role of endogenous thrombospondin-1 in preventing expansion of healing myocardial infarcts. *Circulation*, 2005, 111(22): 2935-2942
- [22] Chatila K, Ren G, Xia Y, et al. The role of the thrombospondins in healing myocardial infarcts. *Cardiovasc Hematol Agents Med Chem*, 2007, 5(1): 21-27
- [23] Xia Y, Dobaczewski M, Gonzalez-Quesada C, et al. Endogenous thrombospondin 1 protects the pressure-overloaded myocardium by modulating fibroblast phenotype and matrix metabolism. *Hypertension*, 2011, 58(5): 902-911
- [24] Sharifi-Sanjani M, Shoushtari AH, Quiroz M, et al. Cardiac CD47 drives left ventricular heart failure through  $Ca^{2+}$ -CaMKII-regulated induction of HDAC3. *J Am Heart Assoc*, 2014, 3(3): e000670
- [25] Chakraborty D, umová B, Mallano T, et al. Activation of STAT3 integrates common profibrotic pathways to promote fibroblast activation and tissue fibrosis. *Nat Commun*, 2017, 8(1): 1130
- [26] Bao Q, Zhang B, Suo Y, et al. Intermittent hypoxia

- mediated by TSP1 dependent on STAT3 induces cardiac fibroblast activation and cardiac fibrosis. *eLife*, 2020, 9: e49923
- [27] Kelm NQ, Beare JE, Weber GJ, et al. Thrombospondin-1 mediates Drp-1 signaling following ischemia reperfusion in the aging heart. *FASEB BioAdv*, 2020, 2(5): 304-314
- [28] Ganguly R, Khanal S, Mathias A, et al. TSP-1 (Thrombospondin-1) Deficiency Protects ApoE<sup>-/-</sup> Mice Against Leptin-Induced Atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2021, 41(2): E112
- [29] Gonzalez-Quesada C, Cavalera M, Biernacka A, et al. Thrombospondin-1 induction in the diabetic myocardium stabilizes the cardiac matrix in addition to promoting vascular rarefaction through angiopoietin-2 upregulation. *Circ Res*, 2013, 113(12): 1331-1344
- [30] Rawat DK, Alzoubi A, Gupta R, et al. Increased reactive oxygen species, metabolic maladaptation, and autophagy contribute to pulmonary arterial hypertension-induced ventricular hypertrophy and diastolic heart failure. *Hypertension*, 2014, 64(6): 1266-1274
- [31] Imoto K, Okada M, Yamawaki H. Expression profile of matricellular proteins in hypertrophied right ventricle of monocrotaline-induced pulmonary hypertensive rats. *J Vet Med Sci*, 2017, 79(6): 1096-1102
- [32] Ochoa CD, Yu L, Al-Ansari E, et al. Thrombospondin-1 null mice are resistant to hypoxia-induced pulmonary hypertension. *J Cardiothorac Surg*, 2010, 5(1): 32
- [33] van Oorschot AAM, Smits AM, Pardali E, et al. Low oxygen tension positively influences cardiomyocyte progenitor cell function. *J Cell Mol Med*, 2011, 15(12): 2723-2734
- [34] Swinnen M, Vanhoutte D, Van Almen GC, et al. Absence of thrombospondin-2 causes age-related dilated cardiomyopathy. *Circulation*, 2009, 120(16): 1585-1597
- [35] van Almen GC, Swinnen M, Carai P, et al. Absence of thrombospondin-2 increases cardiomyocyte damage and matrix disruption in doxorubicin-induced cardiomyopathy. *J Mol Cell Cardiol*, 2011, 51(3): 318-328
- [36] Papageorgiou AP, Swinnen M, Vanhoutte D, et al. Thrombospondin-2 prevents cardiac injury and dysfunction in viral myocarditis through the activation of regulatory T-cells. *Cardiovasc Res*, 2012, 94(1): 115-124
- [37] Berezin AE, Kremzer AA, Samura TA. Circulating thrombospondin-2 in patients with moderate-to-severe chronic heart failure due to coronary artery disease. *J Biomed Res*, 2016, : 32-39
- [38] Kimura Y, Izumiya Y, Hanatani S, et al. High serum levels of thrombospondin-2 correlate with poor prognosis of patients with heart failure with preserved ejection fraction. *Heart Vessels*, 2016, 31(1): 52-59
- [39] Mirochnik Y, Kwiatek A, Volpert OV. Thrombospondin and apoptosis: molecular mechanisms and use for design of complementation treatments. *Curr Drug Targets*, 2008, 9(10): 851-862
- [40] Reinecke H, Robey TE, Mignone JL, et al. Lack of thrombospondin-2 reduces fibrosis and increases vascularity around cardiac cell grafts. *Cardiovasc Pathol*, 2013, 22(1): 91-95
- [41] Melenovsky V, Benes J, Skaroupkova P, et al. Metabolic characterization of volume overload heart failure due to aortocaval fistula in rats. *Mol Cell Biochem*, 2011, 354(1-2): 83-96
- [42] Palao T, Medzikovic L, Rippe C, et al. Thrombospondin-4 mediates cardiovascular remodelling in angiotensin II-induced hypertension. *Cardiovasc Pathol*, 2018, 35: 12-19
- [43] Cingolani OH, Kirk JA, Seo K, et al. Thrombospondin-4 is required for stretch-mediated contractility augmentation in cardiac muscle. *Circ Res*, 2011, 109(12): 1410-1414
- [44] Lynch JM, Maillet M, Vanhoutte D, et al. A thrombospondin-dependent pathway for a protective ER stress response. *Cell*, 2012, 149(6): 1257-1268
- [45] Duquette M, Nadler M, Okuhara D, et al. Members of the thrombospondin gene family bind stromal interaction molecule 1 and regulate calcium channel activity. *Matrix Biol*, 2014, 37: 15-24
- [46] Topol EJ, McCarthy J, Gabriel S, et al. Single nucleotide polymorphisms in multiple novel thrombospondin genes may be associated with familial premature myocardial infarction. *Circulation*, 2001, 104(22): 2641-2644
- [47] Cui J, Randell E, Renouf J, et al. Thrombospondin-4 1186G>C (A387P) is a sex-dependent risk factor for myocardial infarction: a large replication study with increased sample size from the same population. *Am Heart J*, 2006, 152(3): 543