

·综述·

DOI:10.11656/j.issn.1673-9043.2014.04.16

经典 Wnt 信号通路在心肌细胞 分化作用的研究进展*

季红,高青,胡先同,范英昌
(天津中医药大学,天津 300193)

关键词:Wnt 信号;干细胞;心肌分化

中图分类号:R542.2

文献标识码:A

文章编号:1673-9043(2014)04-0246-03

缺血性心脏病已成为发达国家的主要死因,并有着惊人的发病率^[1]。急性心肌梗死后,心脏自我更新能力有限及重构导致左室功能下降^[2]。

间充质干细胞(MSCs)在40年前被首次从骨髓中分离出来,并且成为细胞心肌成型术的主要种子细胞之一。以其独特的优势如易于分离、扩增,同种异体移植时无免疫原性以及多向分化潜能等受到普遍关注^[3-5]。

1 经典 Wnt 信号的作用机制

经典 Wnt 信号是通过卷曲蛋白(FZD)受体和低密度脂蛋白相关蛋白共受体(LRP5/LRP6)形成的复合物传至 β -catenin 信号级连系统^[6-7]。在 Wnt 信号缺失的时候, β -catenin 与结肠癌息肉蛋白(APC)和轴蛋白(AXIN)形成复合物,被酪蛋白激酶(CK1 α)和糖原酶激酶(GSK3 β)磷酸化其NH₂基末端,进而由 β TRCP1或 β TRCP2复合物泛素化通过蛋白酶体途径降解^[8]。当 Wnt 蛋白连接到 Frizzled 家族受体,相关下游组件散乱蛋白(Dvl)被 CK1 α 磷酸化,从而与 FART 紧密结合,诱导 FZD-DVL 复合体与 LRP5/6-AXIN-FRAT 复合体的组^[9-10], β -catenin 被 CK1 α 和 GSK3 β 磷酸化后释放,不断累积,进入核内,核内的 β -catenin 与 T 细胞因子/淋巴增强因子(TCF/LEF)和 Legless-PYGO 复合物结合,激活目的基因如 FGF20、DKK1、WISP1、MYC、CCND1 的转录^[11-14]。

*基金项目:天津市自然科学基金项目(09JCYBJC12200)。

作者简介:季红(1976-),女,硕士研究生,研究方向为干细胞及心血管疾病研究。

通讯作者:范英昌,E-mail: fych@tjutcm.edu.cn。

2 Wnt 信号通路的调控

分泌性卷曲相关蛋白(SFRP)和 Wnt 抑制因子 1(WIF1)是一类可溶性因子,直接连于 WNT 分子,以将其与膜结合受体隔开,相反,DDK 家族成员与 LRP 共受体紧密连接,而使 Wnt 受体复合物破坏,最近发现 Wnt 信号通路可受到一些细胞内介质的影响。如 DAPPER1/FRDO1(DACT1)蛋白与散乱蛋白(Dishevelled)相互作用而抑制来自 FZ/LRP 受体复合物的信号传导。此外,经典 Wnt 信号在核内可被 chibby 和 chop 蛋白拮抗,这些因子与 LEF 或 TCF 转录因子相互作用,抑制 Wnt 目的基因的表达。

3 Wnt 信号对胚胎心脏发生、发育的作用

近年来对多能胚胎癌细胞的研究发现,Wnt 经典途径促进心肌分化。说明此途径可能随着时间的变化起到双相调节作用。Shuichi 等^[15]发现在斑马鱼胚胎中,持续过表达 β -catenin 通路的配体 Wnt11 则增加心肌的分化,也就是说 Wnt11 通过 β -catenin 途径可以诱导心脏形成。相反地,晚期激活 β -catenin 信号则降低心肌分化。而早期用 Wnt 3a 处理分化的鼠胚胎干细胞可以激活中胚层的诱导,促进心肌分化,与此同时激活一个反馈环路,从而在后期抑制 Wnt 途径,控制心肌发展的大小。从时间上划分,即在原肠期之前,Wnt/ β -catenin 通路促进心肌分化,在原肠期则抑制心脏的形成。

Wnt/ β -catenin 信号在哺乳动物心脏形成早期同样被激活,并对其心肌发育起着不可或缺的作用。Teruya 等^[16]用 1%二甲基亚砜(DMSO)诱导鼠多能细胞系 P19CL6 后,发现早、晚期心脏基因均被上调,并出现自发搏动,而 Wnt3A 和 Wnt8A 较最早出现的心脏基因还要提前几天,DMSO 诱导使 Wnt 信

号分子 β -catenin 增加,而 Frizzled-8/Fc 可抑制这种作用,从而抑制对心脏转录因子、心脏生长因子和肌球蛋白重链的诱导。同样,Wnt/ β -catenin 的抑制剂 GSK 也可以抑制这种分化。而用 Wnt3A 和 GSK 的抑制剂氯化锂可明显上调 Nkx2.5、GATA4、MEF2C、Tbx5、 α -MHC 的表达,并提高心肌分化细胞的比例。

4 Wnt/ β -catenin 通路在 MSCs 向心肌分化中的作用

MSCs 由于其体外易于分离、扩增、遗传稳定性等优点,可能成为目前细胞治疗首选的干细胞模型。研究证明 MSCs 在体内外均可分化为肌细胞、成骨细胞、成软骨细胞、脂肪细胞、成纤维细胞、内皮细胞、神经细胞等多种细胞,并可在体外克隆扩增超过 100 万倍仍然保留多系分化能力^[17-20]。

目前 Wnt 信号对 MSCs 向心肌分化中的作用还不十分清楚,过去认为 Wnt 信号可以通过非经典通路促进骨髓间充质干细胞(BMSCs)向心肌细胞分化^[21-22],而 Wnt/ β -catenin 通路抑制心肌分化,Jaeyeon 等^[23]发现 5 氮胞苷(5-Aza)可诱导 MSCs 表达 Nkx2.5、 α -MHC、cTNI,而 GSK3 β 上调, β -catenin 下调,GSK3 β 的抑制剂 LiCl、SB 216743 和 BIO 可阻断这种作用,表示 GSK-3 通过下调 β -catenin 诱导 MSCs 心肌分化。

但越来越多的实验表明,Wnt 信号对 MSCs 的心肌分化作用同样具有双相性。Zelarayan 等^[24]发现 Wnt/ β -catenin 通路在间充质细胞向心肌分化早期被激活,然而心肌细胞后期的分化却需要下调 β -catenin。

5 Wnt/ β -catenin 通路在心脏修复中的作用

实验表明,在各种动物心肌梗死后可诱导多种 Wnt 分子及经典途径的细胞内调节分子如 disheveled 和 β -catenin^[25-26]。Omonigho 等^[27]发现在正常鼠成体心脏中,经典 Wnt 信号的活性被局限在血管和血管周围以及瓣膜间质,而在冠状动脉结扎后,Wnt 信号的活性就出现明显增强。相比较其对于心脏发育特定阶段的作用,经典途径在心肌梗死的作用可能由于特定细胞及激活和抑制的时间性而有所不同。如大鼠心肌梗死后,过表达 Wnt 信号抑制剂分泌型 frizzled 相关蛋白(sFRP1, sFRP2)可改善心脏功能,减少枉死面积,减少心脏破裂^[28]。而大鼠心肌梗模型内,腺病毒介导的 Wnt 经典途径的主要激动剂 β -catenin 的转导,可引起梗死面积的减少。提示经典

Wnt 信号促进心脏损伤的修复^[29]。

6 中医药诱导 MSCs 分化对 Wnt 信号通路的影响

近年来,许多研究已经表明,某些中药复方制剂、单味中药或中药提取物能有效诱导干细胞分化,且无明显毒副作用,张锦芳等^[30]用淫羊藿黄酮(FA)诱导的骨髓间充质干细胞成骨分化时,发现 Wnt 信号通路中 β -catenin 及其靶基因 cyclinD 均明显上调,而抑制剂 DKK 在一定程度抑制了 FA 诱导的成骨分化作用。华声瑜等^[31]在实验中证明丹酚酸 B 联合 5-aza 可明显增强 Desmin 和 α -actin mRNA 的表达。范英昌等^[32]研究也证明了丹酚酸 B 能够促进骨髓基质细胞向心肌样细胞分化,但是,其深入机制尚不清楚。在丹酚酸 B 联合多种方法诱导 MSCs 向心肌细胞分化的同时,检测的经典 Wnt 信号通路中关键物质 β -catenin、GSK-3 β 的表达变化,发现此通路在向心肌分化时受到抑制。

综上所述,Wnt 信号机制在心脏发生、发育、分化、修复等过程中均起着重要作用,但由于受体物种、移植细胞种类、内环境、作用时段不同,这些作用错综复杂,有时甚至看似矛盾,了解 Wnt 信号机制为促进 BMSCs 向心肌分化,以及细胞移植治疗心肌梗死提供理论依据。

参考文献:

- [1] Lloyd-Jones D, Adams RJ, Brown TM, et al. Executive summary: heart disease and stroke statistics [J]. Circulation, 2010, 121:948-954.
- [2] Pfeffer MA, Braunwald E. Ventricular remodeling after myocardial infarction: experimental observations and clinical implications [J]. Circulation, 1990, 81: 1161-1172.
- [3] Friedenstein AJ, Chailakhjan RK, Lalykina KS. The development of fibroblast colonies in monolayer cultures of guinea-pig bone marrow and spleen cells [J]. Cell Tissue Kinet, 1970, 3:393-403.
- [4] Lennon DP, Caplan AI. Isolation of human marrow-derived mesenchymal stem cells [J]. Exp Hematol, 2006, 34:1604-1605.
- [5] Uccelli A, Moretta L, Pistoia V. Mesenchymal stem cells in health and disease [J]. Nat Rev Immunol, 2008, 8:726-736.
- [6] Bhanot P, Brink M, Samos CH, et al. A new member of the frizzled family from Drosophila functions as a Wingless receptor [J]. Nature, 1996, 382:225-230.
- [7] Pinson KI, Brennan J, Monkley S, et al. An LDL receptor-related protein mediates Wnt signalling in mice [J]. Nature, 2000, 407:535-538.
- [8] Price MA. CKI, there's more than one: casein kinase I

- family members in Wnt and Hedgehog signaling[J]. *Genes Dev*, 2006, 20:399-410.
- [9] Wong HC, Bourdelas A, Krauss A, et al. Direct binding of the PDZ domain of Dishevelled to a conserved internal sequence in the C-terminal region of Frizzled[J]. *Mol Cell*, 2003, 12: 1251-1260.
- [10] Tolwinski NS, Wehrli M, Rives A, et al. Wg/Wnt signal can be transmitted through arrow/LRP5, 6 and Axin independently of Zw3/Gsk3h activity[J]. *Dev Cell*, 2003, 4:407-418.
- [11] Chamorro MN, Schwartz DR, Vonica A, et al. FGF20 and DKK1 are transcriptional target of β -catenin and FGF20 is implicated in cancer and development [J]. *Embo*, 2005, 24: 73-84.
- [12] Pennica D, Swanson TA, Welsh JW, et al. WISP genes are members of the connective tissue growth factor family that are upregulated in Wnt1-transformed cells and aberrantly expressed in human colon tumors[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1998, 95:14717-14722.
- [13] He TC, Sparks AB, Rago C, et al. Identification of c-MYC as a target of the APC pathway[J]. *Science*, 1998, 281:1509-1512.
- [14] Tetsu O, McCormick F. β -Catenin regulates expression of cyclin D1 in colon carcinoma cells[J]. *Nature*, 1999, 398: 422-426.
- [15] Shuichi U, Gilbert W, Tomoaki O. Biphasic role for Wnt/ β -catenin signaling in cardiac specification in zebrafish and embryonic stem cells[J]. *Pnas*, 2007, 104(23):9685-9690.
- [16] Teruya N, Motoaki S, Zhou S, et al. A Wnt and β -catenin-dependent pathway for mammalian cardiac myogenesis[J]. *Pnas*, 2003, 100(10):5834-5839.
- [17] Roekop DJ. Marrow stromal cells as stem cells for non-hematopoietic tissues [J]. *Science*, 1997, 276(53):71-74.
- [18] Sanchez-Ramos J, Song S, Cardozo-pelaez F, et al. Adult bone marrow stromal cells differentiate in vitro to neural cells in vitro[J]. *Exp Neurol*, 2000, 164(2):247.
- [19] Nuttall ME, Patton AJ, Olivera DL, et al. Human trabecular bone cells are able to express both osteoblastic and adipocytic phenotype: implications for osteogenic disorders[J]. *J Bone Miner Res*, 1998, 13(3):371.
- [20] Bruder SP, Jaiswal N, Haynesworth SE. Growth kinetics, self-renewal, and the osteogenic potential of purified human mesenchymal stem cells during extensive subcultivation and following cryopreservation [J]. *Cell Biochem*, 1997, 64(2): 278-294.
- [21] Belema-Bedada F, Technau A, Ebel H, et al. Activation of myogenic differentiation pathways in adult bone marrow-derived stem cells[J]. *Mol Cell Biol*, 2005, 25(21): 9509-9519.
- [22] Schulze M, Belema-Bedada F, Technau A, et al. Mesenchymal stem cells are recruited to striated muscle by NFAT/IL-4-mediated cell fusion[J]. *Genes Dev*, 2005, 19(15): 1787-1798.
- [23] Jaeyeaon C, Pranela R, Junichi S. Distinct roles of glycogen synthase Kinase (GSK)-3 α and GSK-3 β in mediating cardiomyocyte differentiation in murine bone marrow-derived mesenchymal stem cells[J]. *The Journal of Biological Chemistry*, 2009, 284(52): 36647-36658.
- [24] Zelarayan L, Gehrke C, Bergmann MW. Role of β -catenin in adult cardiac remodeling[J]. *Cell Cycle*, 2007, 17(6): 2120-2126.
- [25] Blankensteijn WM, Gijn ME, Essers-Janssen YPG, et al. Beta-catenin, an inducer of uncontrolled cell proliferation and migration in malignancies, is localized in the cytoplasm of vascular endothelium during neovascularization after myocardial infarction[J]. *Am J Pathol*, 2000, 157: 877-883.
- [26] Barandon L, Dufourcq P, Costet P, et al. Involvement of FrzA/sFRP-1 and the Wnt/Frizzled pathway in ischemic preconditioning[J]. *Circ Res*, 2005, 96: 1299-1306.
- [27] Omonigho A, Meena R, Sergey R. Experimental myocardial infarction triggers canonical Wnt signaling and endothelial-to-mesenchymal transition[J]. *Disease Models & Mechanisms*, 2011, 4:469-483.
- [28] Kobayashi K, Luo M, Zhang Y, et al. Secreted Frizzled-related protein 2 is a procollagen C proteinase enhancer with a role in fibrosis associated with myocardial infarction[J]. *Nat Cell Biol*, 2009, 11: 46-54.
- [29] Hahn JY, Cho HJ, Bae JW, et al. β -catenin overexpression reduces myocardial infarct size through differential effects on cardiomyocytes and cardiac fibroblasts[J]. *Biol Chem*, 2006, 281:30979-30989.
- [30] 张锦芳, 谢伟东, 张雅鸥. 淫羊藿黄酮诱导的骨髓间充质干细胞成骨分化中 Wnt 信号通路的研究 [J]. *现代生物医学进展*, 2010, 10(6):1006-1009.
- [31] 华声瑜, 范英昌, 马轶文, 等. 丹酚酸 B 对大鼠骨髓间充质干细胞分化过程中 Desmin、 α -actin mRNA 表达的影响[J]. *天津中医药*, 2009, 26(2):145-148.
- [32] 范英昌, 华声瑜, 姚雅娟. 丹酚酸 B 诱导体外培养大鼠骨髓基质细胞向心肌样细胞分化的研究[J]. *天津中医药大学学报*, 2005, 24(1):10-13.

(收稿日期 2014-03-30)