

# TRPM8 与血管张力的调控

陈改英 林默君

**【摘要】** 瞬时感受器电位 M8 (TRPM8) 广泛表达于血管平滑肌细胞和血管内皮细胞, 可被低于 26℃ 的温度以及薄荷醇和冰片等能够产生“凉爽”作用的化学物质激活。TRPM8 的激活参与血管张力的调控, 其调控作用受到机体许多活性物质如非  $\text{Ca}^{2+}$  依赖的磷脂酶 A2 及自主神经的影响。TRPM8 通道的激活对于血管张力的调控效果因基础血管张力状态和自主神经的影响而不同, 或收缩或舒张。

**【关键词】** 瞬时感受器电位 M8; 阳离子通道; 血管张力; 钙离子

doi:10.3969/j.issn.1673-6583.2013.03.008

哺乳动物的瞬时感受器电位 M (transient receptor potential melastatin, TRPM) 广泛表达于兴奋和非兴奋性细胞中并发挥着多种不同的功能。TRPM 亚家族包括 8 种亚型 (TRPM1-8)。已在血管平滑肌上检测到了 TRPM 基因的表达, 其中以 TRPM8 表达最多。本文综述血管平滑肌细胞和内皮细胞上的 TRPM8 对于血管张力的调控作用。

## 1 TRPM8

TRPM8 最初作为一种前列腺特异性蛋白被克隆出来。在感觉神经元上也克隆到了一个受体, 命名为冷和薄荷醇敏感受体 (cold and menthol sensitive receptor, CMR), 现被命名为 TRPM8<sup>[1]</sup>。TRPM8 具有 6 次跨膜结构域 (TM), 由其中 4 个亚基组成同源四聚体以形成功能性通道。TM4 和 TM4/TM5 连接器决定其对电压、温度和薄荷醇的敏感性, 而 TM6 的远端部分则决定阴阳离子选择性。人类编码 TRPM8 的基因位于染色体部位 2q37.1。对已公布的基因组序列的分析表明 TRPM8 在所有被研究的恒温脊椎动物中均有表达<sup>[2,3]</sup>。哺乳动物的 M 型 TRPM 非选择性阳离子通道 (TRPM1-8), 广泛表达于内皮细胞和血管平滑肌细胞<sup>[4]</sup>。除了 TRPM5, 其他所有的 TRPM 通道蛋白都表达于内皮细胞, 所有 8 个 TRPM 成员均存在于血管平滑肌细胞。

TRPM8 是一个具有外向整流作用、 $\text{Ca}^{2+}$  通透

性的非选择性阳离子通道, 可被低于 26℃ 的温度激活。许多化学物质也可以激活 TRPM8, 包括薄荷醇、冰片、以及选择性激动剂甲酰胺 WS-12、CPS-369 和 CPS-113 等。同时, TRPM8 的激活也呈电压依赖性, 并且受体激动剂使其偏向更负的膜电位。TRPM8 拮抗剂包括 BCTC、硫代-BCTC、2-APB、抗辣椒碱、SKF96365、AMTB 以及最有力的拮抗剂克霉唑等。此外, TRPM8 的活性也可以在酸性环境下被抑制。

TRPM8 还有一种胞内  $\text{Ca}^{2+}$  释放通道。Zhang 等<sup>[5]</sup> 用免疫荧光法证实了人前列腺癌细胞 (B) 类 (LNCaP 细胞) 大约一半的 TRPM8 蛋白存在于质膜上, 而另一半存在于内质网, 薄荷醇导致 LNCaP 细胞内的内向电流不是通过 TRPM8 而是通过激活储藏门控通道起作用。这些有待更多研究来证实。

## 2 TRPM8 在血管张力调控中的作用

### 2.1 TRPM8 的可能作用方式

离子通道尤其是  $\text{Ca}^{2+}$  通道, 对于血管张力控制以及长期的表型重塑非常重要<sup>[6,7]</sup>。TRP 超家族成员作为一种新型的非电压依赖性钙通道受到相当的关注, 它是血管功能和疾病的重要决定因素。血管平滑肌细胞上有众多不同类型的离子通道, 共同调控膜电位和平滑肌的兴奋性和兴奋过程。按激活模式的不同, 可分为电压依赖性钙通道和非电压依赖性钙通道。后者包括受体操纵性  $\text{Ca}^{2+}$  通道 (ROCC)、钙池操纵性  $\text{Ca}^{2+}$  通道 (SOCC)、机械敏感性  $\text{Ca}^{2+}$  通道 (MSCC) 和其他受外部刺激而激活的钙通道<sup>[8,9]</sup>。RT-PCR 证实, 在去内皮化的大鼠主动脉和肺动脉中检测到 TRPM8, 用薄荷醇可以激活 TRPM8, 诱导  $[\text{Ca}^{2+}]_i$  明显增高, 提示 TRPM8

基金项目: 国家自然科学基金 (NSFC 30670772, 31171104); 福建省自然科学基金 (C1010116)

作者单位: 350004 福州市, 福建医科大学生理学及病理生理学系

通信作者: 林默君, Email: mjlin@mail.fjmu.edu

起到钙内流通道的作用<sup>[10]</sup>。通过各种钙通道的  $\text{Ca}^{2+}$  内流最终决定了血管平滑肌细胞的收缩状态。

## 2.2 TRPM8 与血管平滑肌细胞

2.2.1 TRPM8 对于血管的舒缩效应 TRPM8 通道功能性地表达于好几种大鼠动脉,如尾动脉、股动脉、肠系膜动脉以及胸主动脉等。利用免疫细胞化学法在单一的离体血管肌细胞上也证实了这一点。研究发现,无论是离体细胞还是原位血管组织,薄荷醇产生的钙瞬变形成最初的“相位”组分,随后是一持续相<sup>[11]</sup>。“相位”成分似乎是异步胞内播散钙波与异步机械振荡,最后形成血管的小收缩。两种成分对硝苯地平平均有抵抗性,提示该通道具有些许电压门控  $\text{Ca}^{2+}$  通道作用。等长收缩研究发现,在去内皮的松弛大鼠血管上应用薄荷醇会出现小的收缩。但是,薄荷醇和冰片都会使得预收缩的血管舒张并且减弱由交感神经所介导的收缩。总之,TRPM8 通道存在于大鼠血管且激活时对于血管舒缩张力有影响,其结果依赖于现有的血管舒缩张力程度和对平滑肌细胞的直接作用。

2.2.2 TRPM8 舒张血管的可能机制  $\text{Ca}^{2+}$  通透的非选择性阳离子通道,通过增加胞浆  $\text{Ca}^{2+}$  浓度不仅可诱发膜的去极化同时也可通过  $\text{Ca}^{2+}$  火花/ $\text{Ca}^{2+}$  依赖的  $\text{K}^+$  通道 (BKCa)/自发外向瞬态电流 (STOCs) 机制诱发自发的膜超极化,如同 TRPV4 激活后通过 TRPV4/ RyR /BKCa 通路导致大脑动脉膜超极化(血管舒张)<sup>[12,13]</sup>。

血管收缩特别是小直径动脉和微动脉的收缩,通常是由于血管平滑肌细胞膜的去极化引起。去极化会增加电压依赖性钙通道的活性从而引起肌细胞收缩。TRP 通道相关的血管舒张可能是由于 TRP 介导的  $\text{Ca}^{2+}$  依赖性的超极化引起,或者它可能会导致 TRP 通道的抑制,减少了通过电压依赖性钙通道或 TRP 通道内流的  $\text{Ca}^{2+}$ 。

一些研究已经表明,TRPM8 通道在质膜和内质网均有表达且两种途径都可以改变细胞内钙浓度。与通道激活相关的胞内钙浓度增加预期会导致血管收缩。但无论是盐酸去氧肾上腺素还是高钾预收缩的大鼠尾动脉、肠系膜动脉和胸主动脉血管对于薄荷醇和冰片的反应却显示扩张。由于冰片结构与薄荷醇不同,所以这不太可能是偶然现象。这些激动剂所致的主动脉扩张不依赖一氧化氮合酶活性,与内皮去除与否也无关,这表明薄荷醇和冰片是直接作用于平滑肌 TRPM8 通道引起

扩张<sup>[6]</sup>。

TRPM8 电流促进了肌浆网(SR)上兰碱尼受体通道的  $\text{Ca}^{2+}$  释放,增加了 BKCa 依赖的 STOCs(可反映 BKCa 通道的活化状态)频率,从而使得平滑肌细胞膜超级化并最终导致血管舒张<sup>[14]</sup>。这似乎是解释 TRPM8 受体激动剂对血管收缩抑制作用的一个最有可能的机制,但需要进一步研究来确证。

2.2.3 TRPM8 的活性调控 TRPM8 受众多物质调控,尤其是磷脂酰肌醇(PI)和磷脂酶 C(PLC)<sup>[15]</sup>。非  $\text{Ca}^{2+}$  依赖的磷脂酶 A2 (iPLA2) 可以除去磷脂 SN2 位置的酰基链,导致花生四烯酸和溶血磷脂 (LPL) 的生成。iPLA2 的激活以及花生四烯酸和 LPL 的生成被认为可以调控 TRPM8。在细胞内外应用 LPL 均可以激活 HEK293 细胞上表达的 TRPM8 通道。花生四烯酸可抑制 TRPM8 活性。

G 蛋白耦联受体和  $\text{Ca}^{2+}$  的存储耗尽也可调控 TRPM8 通道,这些机制与 TRPM8 的血管功能尤其相关,其中  $\text{Ca}^{2+}$  稳态和血管张力受 ROCC 和 SOCC 极度影响<sup>[16,17]</sup>。此外,TRPM8 可被外源性 4, 5-二磷酸磷脂酰肌醇(PIP2)直接激活,该通道表现出 PIP2 和  $\text{Ca}^{2+}$  存储损耗效应之间的解离。激活受体耦联的 Gq/11 可抑制 TRPM8,而 M8 通道功能可被  $\text{Ca}^{2+}$  存储损耗强烈增强,而且这种效应被 LPL 加强,是一种新的 SOCC 激活机制<sup>[18]</sup>。最近发现几个目前被认为是  $\text{Ca}^{2+}$  流入的主要 TRP 成分 TRPCs,可与基质相互作用分子(stromal interacting molecule, STIM)-ORAI 1 复合物相互作用,说明 SOCC /  $\text{Ca}^{2+}$  释放激活的  $\text{Ca}^{2+}$  通道(CRAC)是一异源复合物,包括 TRPCs 和 Orail 蛋白<sup>[19]</sup>。TRPM3/ 8 可被  $\text{Ca}^{2+}$  存储耗竭激活,对于一些 TRPMs 也可以作为 SOCC 的功能成分提供了说服力。

在大鼠血管上还发现神经也有可能起作用。交感神经递质的收缩作用可被 TRPM8 的活化拮抗,这种现象与人类在体研究有关。

此外,TRPM8 通道的短亚型(s) TRPM8  $\alpha$  和  $\beta$  通过影响该通道 C 末端的稳定性减弱其对冷刺激的敏感性,减少其开放几率<sup>[20]</sup>。

因此,TRPM8 似乎通过多种机制影响血管平滑肌细胞且该通道的激活据现行血管舒缩张力和自主神经的影响表现出不同的效果。

## 2.3 TRPM8 与内皮细胞

有两项研究表明,TRPM8 通道可能功能性地表达于血管内皮细胞。内皮细胞可以调节血管壁

的通透性、分泌影响血管平滑肌细胞收缩的强因子并且抑制血栓的形成<sup>[21]</sup>。另外,在血管组织的某一段,内皮细胞可通过肌细胞和内皮细胞的缝隙连接直接影响血管平滑肌细胞的膜电位和收缩。所有这些过程都受血管内皮细胞内  $\text{Ca}^{2+}$  浓度变化的调控。

在人角膜内皮细胞,冰片可以引起  $\text{Ca}^{2+}$  内流<sup>[22]</sup>。薄荷醇可以扩张大鼠尾动脉,但该反应部分依赖于内皮<sup>[6]</sup>。在拥有完整内皮的胸主动脉,薄荷醇对氯化钾引起的收缩抑制明显增强,与对照相比约扩增 15%,表明内皮细胞对于血管扩张起了部分作用,尽管这种舒张与胆碱/一氧化氮途径无关。然而,与小鼠研究相反,至少一部分人类血管扩张涉及毒蕈碱受体和(或)一氧化氮的产生。

### 3 TRPM8 对于血压调节的潜在作用

$\text{Ca}^{2+}$  通透性离子通道始动和维持血管平滑肌细胞收缩,对于血管系统慢性表型重塑过程起了重要作用。同时,TRPS 作为同源或异源通道通过致血管内皮通透性增高参与心血管系统疾病的病理生理过程<sup>[23]</sup>。

另外,TRPM8 通道很可能和另外的神经机制一起控制人类皮肤血管的舒缩。初始血管收缩被认为主要是由交感神经递质释放引起,也有非神经源性的血管扩张剂和由未知冷反应成分组成的血管收缩剂参与<sup>[24,25]</sup>。冷敏感的  $\text{Ca}^{2+}$  通道 TRPM8 表达于脉管系统的发现,为更好地了解血管局部降温效果机制开辟了新的前景。

早期兔和猫在体研究显示,全身注射薄荷醇后动脉血压会下降,这表明薄荷醇全身给药后所诱导的血管舒张对动脉血压有显著影响。

### 4 结语

TRPM8 通道很可能参与了非温度依赖组织的胞内  $\text{Ca}^{2+}$  浓度控制,现在需要进一步的研究以确定哪些异构组织元素参与其中以及这些通道的确切定位,什么介导了这些通道的在体激活,它们参与血管舒缩张力控制的程度等,TRPM8 通道在血管组织中的作用仍待发现。

### 参 考 文 献

[1] DeFalco J, Duncton MA, Emerling D, et al. TRPM8 biology and medicinal chemistry[J]. Curr Top Med Chem, 2011, 11(17): 2237-2252.

[2] 杜 晶,张励才. TRPM8 的研究进展[J]. 中国药理学通报, 2008, 24(9): 1135-1138.

[3] Valero ML, Mello de Queiroz F, Stühmer W, et al. TRPM8 ion channels differentially modulate proliferation and cell cycle distribution of normal and cancer prostate cells[J]. PLoS One, 2012, 7(12): e51825.

[4] Zholos A, Johnson C, Burdyga T, et al. TRPM channels in the vasculature[J]. Adv Exp Med Biol, 2011, (704): 707-729.

[5] Zhang L& GJ Baritt. Evidence that TRPM8 is an androgen-dependent  $\text{Ca}^{2+}$  channel required for the survival of prostate cancer cells[J]. Cancer Res, 2004, 64 (22): 8365-8373.

[6] Johnson CD, Melanaphy D, Purse A, et al. Transient receptor potential melastatin 8 channel involvement in the regulation of vascular tone[J]. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2009, 296(6): H1868-H1877.

[7] Filosa JA, Yao X, Rath G, et al. TRPV4 and the Regulation of Vascular Tone[J]. J Cardiovasc Pharmacol, 2013, 61(2): 113-119.

[8] Yoshida J, Iwabuchi K, Matsui T, et al. Knockdown of stromal interaction molecule 1 (STIM1) suppresses store-operated calcium entry, cell proliferation and tumorigenicity in human epidermoid carcinoma A431 cells[J]. Biochem Pharmacol, 2012, 84(12): 1592-1603.

[9] Muik M, Schindl R, Fahrner M, et al.  $\text{Ca}^{2+}$  release-activated  $\text{Ca}^{2+}$  (CRAC) current, structure, and function[J]. Cell Mol Life Sci, 2012, 69(24): 4163-4176.

[10] Yang XR, Lin MJ, McIntosh LS, et al. Functional expression of transient receptor potential melastatin- and vanilloid-related channels in pulmonary arterial and aortic smooth muscle[J]. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol, 2006, 290 (6): 1267-1276.

[11] Zholos A. Pharmacology of transient receptor potential melastatin channels in the vasculature [J]. Br J Pharmacol, 2010, 159(8): 1559-1571.

[12] Hatano N, Suzuki H, Itoh Y, et al. TRPV4 partially participates in proliferation of human brain capillary endothelial cells[J]. Life Sci, 2013, 92(4-5): 317-324.

[13] Liu XR, Tan XQ, Yang Y, et al. Propofol increases the  $\text{Ca}^{2+}$  sensitivity of BKCa in the cerebral arterial smooth muscle cells of mice[J]. Acta Pharmacol Sin, 2012, 33(1): 19-26.

[14] Voets T, Owsianik G, Nilius B, et al. TRPM8[J]. Handb Exp Pharmacol, 2007, (179): 329-344.

[15] Yudin Y, Rohacs T. Regulation of TRPM8 channel activity[J]. Mol Cell Endocrinol, 2012, 353(1-2): 68-74.

[16] Saleh SN, Albert AP, Peppiatt-Wildman CM, et al. Diverse properties of store-operated TRPC channels activated by protein kinase C in vascular myocytes[J]. J Physiol, 2008, 586(10): 2463-2476.

[17] Yang XR, Lin MJ, Sham JS, et al. Physiological functions of transient receptor potential channels in pulmonary arterial smooth muscle cells[J]. Adv Exp Med Biol, 2010, (661): 109-122.

- [18] Csutora P, Peter K, Kilic H, et al. Novel role for STIM1 as a trigger for calcium influx factor production[J]. J Biol Chem, 2008, 283(21): 14524-14531.
- [19] Liao Y, Erxleben C, Abramowitz J, et al. Functional interactions among Orai1, TRPCs, and STIM1 suggest a STIM-regulated heteromeric Orai/TRPC model for SOCE/Icrac channels[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2008, 105 (8): 2895-2900.
- [20] Bidaux G, Beck B, Zholos A, et al. Regulation of activity of transient receptor potential melastatin 8 (TRPM8) channel by its short isoforms [J]. J BiolChem, 2012, 287 (5): 2948-2962.
- [21] Earley S&. JE Brayden. Transient receptor potential channels and vascular function [J]. Clinical Science, 2010, 119(1):19-36.
- [22] Mergler S, Pleyer U. Physiology of the human corneal endothelium \_new insights from electrophysiological investigations [J]. Klin Monbl Augenheilkd, 2011, 228(6): 520-524.
- [23] Dietrich A, Gudermann T. TRP channels in the cardiopulmonary vasculature[J]. Adv Exp Med Biol, 2011, (704): 781-810.
- [24] Johnson JM, Yen TC, Zhao K, et al. Sympathetic, sensory, and nonneuronal contributions to the cutaneous vasoconstrictor response to local cooling[J]. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2005, 288 (4): H1573-H1579.
- [25] Roosterman D, Goerge T, Schneider SW, et al. Neuronal control of skin function: the skin as a neuroimmunoendocrine organ[J]. Physiol Rev, 2006, 86 (4): 1309-1379.

(收稿:2013-01-18 修回:2013-03-14)

(本文编辑:金谷英)

(上接第 147 页)

- [14] Yusuf S, Hawken S, Ounpuu S, et al. Effect of potentially modifiable risk factors associated with myocardial infarction in 52 countries (the INTERHEART study): case-control study [J]. Lancet, 2004, 364(9438):937-952.
- [15] Dunder K, Lind L, Zethelius B, et al. Evaluation of a scoring scheme, including proinsulin and the apolipoprotein B/apolipoprotein A1 ratio, for the risk of acute coronary events in middle-aged men; Uppsala Longitudinal Study of Adult Men (ULSAM)[J]. Am Heart J, 2004, 148(4):596-601.
- [16] van der Steeg WA, Boekholdt SM, Stein EA, et al. Role of the apolipoprotein B-apolipoprotein A-I ratio in cardiovascular risk assessment: a case-control analysis in EPIC-Norfolk[J]. Ann Intern Med, 2007, 146(9):640-648.
- [17] Meisinger C, Loewel H, Mraz W, et al. Prognostic value of apolipoprotein B and A-I in the prediction of myocardial infarction in middle-aged men and women: results from the MONICA/KORA Augsburg cohort study[J]. Eur Heart J, 2005, 26(3):271-278.
- [18] Shai I, Rimm EB, Hankinson SE, et al. Multivariate assessment of lipid parameters as predictors of coronary heart disease among postmenopausal women: potential implications for clinical guidelines[J]. Circulation, 2004, 110(18):2824-2830.
- [19] Moss AJ, Goldstein RE, Marder VJ, et al. Thrombogenic factors and recurrent coronary events [J]. Circulation, 1999, 99(19):2517-2522.
- [20] Wen ZZ, Geng DF, Luo JG, et al. Combined use of high-sensitivity C-reactive protein and apolipoprotein B/apolipoprotein A-1 ratio prior to elective coronary angiography and oral glucose tolerance tests [J]. Clin Biochem, 2011, 44(16):1284-1291.
- [21] Hu A, Luo Y, Li T, et al. Low serum apolipoprotein A1/B ratio is associated with proliferative diabetic retinopathy in type 2 diabetes [J]. Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol, 2012, 250(7):957-962.
- [22] Goek ON, Kottgen A, Hoogeveen RC, et al. Association of apolipoprotein A1 and B with kidney function and chronic kidney disease in two multiethnic population samples [J]. Nephrol Dial Transplant, 2012, 27(7):2839-2847.
- [23] Lundberg S, Gunnarsson I, Jacobson SH. Impact of the apolipoprotein B/apolipoprotein A-I ratio on renal outcome in immunoglobulin A nephropathy [J]. Scand J Urol Nephrol, 2012, 46(2):148-155.
- [24] 石应元. 血清低密度脂蛋白胆固醇直接测定法与 Friedewald 公式计算法的对比分析[J]. 数理医药学杂志, 2009, 22(4): 396-397.
- [25] Marcovina SM, Albers JJ, Kennedy H, et al. International Federation of Clinical Chemistry standardization project for measurements of apolipoproteins A-I and B. IV. Comparability of apolipoprotein B values by use of International Reference Material [J]. Clin Chem, 1994, 40(4): 586-592.
- [26] 奚 茜. 载脂蛋白 A 和 B 测定方法中标准曲线方式的评价 [J]. 陕西医学检验, 2000, 15(3):6-8.
- [27] 鄢盛恺. 临床血脂测定的方法学与标准化进展[J]. 中华心血管杂志, 2004, 32(11):1050-1053.

(收稿:2013-01-18 修回:2013-03-14)

(本文编辑:金谷英)