

双孔钾通道 TASK-1 与缺氧性肺血管收缩的研究进展

田 真 蔡 鑫 唐 碧

【摘要】 缺氧性肺血管收缩是机体一项重要的代偿反应, K^+ 通道在其发生中发挥重要作用, 相关研究已成为当前热点。近期研究发现双孔钾通道亚型 TASK-1 在肺动脉平滑肌细胞上表达, 并与缺氧性肺血管收缩存在一定相关性, 此文拟从缺氧性肺血管收缩与 TASK-1 研究进展及其相关性研究作一综述。

【关键词】 缺氧性肺血管收缩; 双孔钾通道 TASK-1; 肺动脉平滑肌细胞

doi:10.3969/j.issn.1673-6583.2013.04.014

缺氧性肺血管收缩(hypoxic pulmonary vasoconstriction, HPV)是肺血管对缺氧的一种自动调节机制, 能在缺氧的肺泡区重新匹配通气/血流比例, 保证其氧气的供应, 对维持局部通气/血流比例、动脉氧分压恒定发挥重要作用。研究发现, 在肺动脉平滑肌细胞上存在多种钾通道^[1-4], 缺氧可抑制某些钾通道活性导致其细胞膜去极化, 从而激活电压依赖性钙通道, 引发细胞外 Ca^{2+} 内流, 肺血管平滑肌收缩, 最终导致肺血管阻力增加, 启动 HPV。新近发现的双孔钾通道能产生瞬时性、非失活性电流, 在兔、鼠肺动脉平滑肌细胞高表达^[5,6], 在人肺动脉平滑肌细胞只表达双孔钾通道亚型 TASK-1^[7]。

1 HPV

HPV 可迅速增加肺血管阻力, 使得混合静脉血离开缺氧的肺泡, 合理地匹配通气/血流比例, 防止动脉低氧血症的发生。此作用一般在缺氧数秒钟后产生, 15 min 内达到最大。

缺氧信号可启动一系列级联细胞增殖效应, 诱导血管细胞增殖和血管重塑, 使肺血管阻力增加, 广泛、长期缺氧的条件下最终导致肺动脉高压和右心衰竭。低氧抑制 K^+ 通道, 导致 K^+ 外流减少, 胞内 K^+ 增加, 细胞膜去极化, 从而激活电压依赖性的钙通道, 引发胞外 Ca^{2+} 内流, 胞内 Ca^{2+} 浓度升高^[8], 通过肌动蛋白与肌球蛋白间相互作用, 激活蛋

白激酶特别是 Rho 激酶, 使肌球蛋白轻链磷酸酶的调节亚单位肌球蛋白轻链磷酸酶靶亚基(MYPTI)磷酸化产生钙增敏效应, 促进其细胞效应放大^[9], 最终导致细胞收缩和血管张力增加, 从而产生肺血管收缩效应。

相关的机制:(1)蛋白激酶 C 和 Rho 激酶参与内皮素-1 调节肺动脉平滑肌细胞的收缩过程, 可作为肺动脉高压的一个信号通路^[10]。过氧化物通过激动 Rho 激酶促进 Ca^{2+} 增敏, 在 HPV 中发挥重要作用^[11], 并与线粒体电子传递链复合物 III 存在一定相关性^[12], 磷脂酶 C、葡萄糖-6-磷酸脱氢酶、蛋白激酶 G 也参与其过程^[13,14]。(2)血小板衍生生长因子(PDGF)是 HPV 中调节肺血管收缩的重要因子^[15-17]。应用 15-脂氧合酶-2(15-LO-2)和 15-碳四烯酸(15-HETE)的抑制剂, 缺氧条件下肺动脉膜增厚明显减轻; 阻断 PDGF 受体可促进肺动脉平滑肌细胞增殖; 而应用 15-LO 抑制剂或 RNA 干扰 15-LO 后, PDGF 阻滞剂导致细胞增殖效应减弱, 进而提出缺氧促肺血管平滑肌细胞增殖过程与 PDGF 受体阻滞剂/15-LO/15-HETE 信号通路相关^[18]。

2 双孔钾通道 TASK-1 与缺氧性肺血管收缩

在肺动脉平滑肌细胞上主要有 4 种钾通道: 电压依赖性钾通道(K_v)、 Ca^{2+} 激活性钾通道(K_{Ca})、ATP 敏感性钾通道(K_{ATP})和双孔钾通道(K_{2P})^[19]。双孔钾通道因其特有的 4 个跨膜段和 2 个孔道的亚单位组成的二聚体结构, 选择性控制漏钾电流, 但却不同于电压依赖性或内向整流性钾通道, 其主要通过调节静息膜电位进而影响细胞兴奋性, 它们产生的电流极其微弱, 缺乏时间和电压依赖性, 又被

称为背景钾通道或渗漏性钾通道。依据其结构和功能不同分为 6 个亚类: TWIK(弱内向整流性钾通道 TWIK-1、TWIK-2 和 KCNK-7)、TASK(TWIK 相关的酸敏感钾通道, TASK-1、TASK-3 和 TASK-5)、TREK(TWIK 相关钾通道, TREK-1、TREK-2 和 TWICK 相关的花生四烯酸激活的钾通道 TRAAK)、TALK(TWIK 相关碱激活钾通道, TASK-2、TALK-1 和 TALK-2)、THIK(氟烷抑制性串联孔域钾通道 THIK-1、THIK-2)、TRESK(TWIK 相关钾通道)。

2.1 TASK-1

TASK-1 作为双孔钾通道亚类,由含有 4 个跨膜段(TM1~TM4)和 2 个孔道(P1 和 P2)的亚单位组成,在 TM1 与 TM2、TM3 与 TM4 之间形成 P1 和 P2,组成 4TM/2P 的二聚体结构。P1 孔道中的第 98 位的组氨酸残基 His98 对胞外 pH 值变化敏感。

TASK-1 具有非时间及非电压依赖性,它长期开放,能产生瞬时性、非失活性电流,在所有膜电位时程中均有活性,参与调节背景钾电流,控制细胞静息膜电位^[7]。在不同 K⁺ 浓度下测定 TASK-1 电流,所得电流-电压关系曲线与 Goldman-Hodgkin-katz 方程类似,提示 TASK-1 电流的产生与细胞膜两侧的 K⁺ 浓度相关,与电压变化无相关性。在细胞内外 K⁺ 浓度均为 150 mM 时, TASK-1 表现为弱的内向整流,而当细胞内外 K⁺ 浓度达到平衡时,外向电流几乎等于内向电流,但在生理条件下则表现为外向整流。在酸化条件下 P1 孔道中的 His98 受到 pH 值变化影响孔道被抑制。因其特有的酸敏感特性,而被列为双孔钾通道酸敏感的 TASK 亚型之一。

2.2 影响 TASK-1 的因素

2.2.1 pH 值 Gardener 等^[6]发现,当细胞外 pH 从 7.4 降至 6.4 时,将引起肺血管收缩,而 pH 增至 8.4 则引起肺血管舒张。TASK-1 通道的这种酸敏感特性在已克隆的鼠、兔等肺动脉平滑肌细胞中亦有类似表现^[5,6]。用天(门)冬酰胺或谷氨酸替代质子化 P1 区的第 98 位组氨酸残基 His98,则 TASK-1 通道完全失去 pH 敏感性,显示 His98 在 H⁺ 对 TASK-1 通道的抑制过程中的关键作用^[20]。pH 值对 TASK-1 电流的影响主要是通过改变活化通道的数量,而对单通道电导值没有改变。

2.2.2 氧分压 缺氧抑制钾电流是 TASK-1 通道

对氧敏感的重要机制。但缺氧本身并不能直接引起 TASK-1 通道的抑制,而是通过间接方式表达其氧敏感性。Lee 等^[21]发现, NADPH 的氧化酶 NOX4 和 TASK-1 在人胚肾细胞(HEK293)中共表达,缺氧导致 NOX4 的增多,从而 TASK-1 通道被抑制,用 RNA 干扰阻断 NOX4 或应用 NADPH 氧化酶抑制剂,则缺氧对 TASK-1 通道的抑制作用消失。Park 等^[22]提出, O₂ 结合 NOX4 本身控制 TASK-1 的活性,血红基团和 FBD(黄素腺嘌呤二核苷酸结合缺失域)可能负责 NOX4 对 TASK-1 的调节, P22(NOX4 亚基)可能支持 NOX4 与 TASK-1 的相互作用。近年来在神经上皮细胞、小脑的颗粒神经元、肺血管平滑肌等细胞中发现,缺氧条件下 TASK-1 通道介导细胞膜去极化^[5,23,24]。人的肺动脉平滑肌细胞上 TASK-1 亦具有氧敏感性,缺氧可逆性抑制 TASK-1 电流,导致细胞膜去极化^[7]。

2.2.3 药物 TASK-1 可被细胞外 Zn²⁺、内源性大麻素阻断,对细胞内 Ca²⁺、4-氨基吡啶、奎宁不敏感^[5], c-Src 特异性抑制剂 PP2 孵育人肺动脉平滑肌细胞后,缺氧敏感性 TASK-1 电流消失。局麻药利多卡因和布吡卡因可以明显抑制 TASK 通道活性,但是挥发性麻醉剂氟烷和异氟烷却可以激活 TASK-1 通道。

2.2.4 神经递质 多种神经递质可以抑制 TASK-1 通道的电流,如促甲状腺激素释放激素、去甲肾上腺素、P 物质和 3,5-二羟基苯甘氨酸以及血管紧张素 II 等。此外,酸化 TASK-1 通道,这些神经递质对 TASK-1 的抑制作用可进一步增加。

2.3 TASK-1 与缺氧性肺血管收缩

Gurney 等^[5]发现兔肺动脉平滑肌细胞上存在双孔钾通道 TASK-1 mRNA,证实 TASK-1 在肺动脉平滑肌细胞静息膜电位中以及对细胞外 pH 变化的应答中发挥重要作用。在鼠的肺动脉平滑肌细胞亦发现类似的结果^[6]。另有研究表明,在肺动脉平滑肌细胞表达的 TASK-1 蛋白,与 TASK-1 通道的生物和药理学性质相关,从而产生细胞膜上缺氧敏感性背景钾电流,控制静息膜电位^[25]。利用小 RNA 干扰沉默 TASK-1 后,细胞膜显著去极化,而丧失缺氧对 TASK-1 的抑制,其机制可能与蛋白激酶 A 和环磷酸腺苷介导的信号通路相关^[7]。内皮素-1 通过磷酸化抑制 TASK-1 通道,导致人的肺动脉平滑肌细胞去极化,而 RNA 干扰沉默 TASK-1 可取消上述效应。其信号通路可能是内皮素-1 与

G 蛋白受体偶联,通过磷脂酶 C、磷脂酰肌醇二磷酸、二酰甘油介导,最终导致蛋白激酶 C 诱发 TASK-1 通道磷酸化^[26]。由此可见,磷酸化-去磷酸化作用在调节钾通道活性方面发挥重要作用。蛋白激酶可通过磷酸化调控 TASK-1 通道活性,尤其是酪氨酸和丝氨酸/苏氨酸的磷酸化。研究发现,蛋白酪氨酸激酶家族成员 c-Src 在血管组织高表达,参与血管平滑肌细胞增殖迁移、血管收缩、缺氧反应等病理及生理过程^[27,28]。人肺动脉平滑肌细胞中 Src 酪氨酸激酶影响 TASK-1 通道的酪氨酸磷酸化过程,参与缺氧性肺血管收缩^[29]。

3 结语

双孔钾通道 TASK-1 作为肺动脉平滑肌细胞的氧感受器,具有膜电位全时程中活性、控制静息电位及缺氧敏感性等特点。越来越多证据表明双孔钾通道可能参与缺氧性肺血管收缩反应^[30],并已有明确的证据表明双孔钾通道 TASK-1 在人肺动脉平滑肌细胞表达^[7],通过缺氧、pH 值、吸入性麻醉剂和 G 蛋白偶联途径等因素的调节与肺血管张力改变相关。

人肺动脉平滑肌细胞上 TASK-1 是否参与缺氧性肺血管收缩反应尚无文献报道,其调控缺氧性肺血管收缩的分子机制仍有待进一步研究。因此,探讨 TASK-1 与缺氧性肺血管收缩的相关性,将为逆转肺血管的重塑提供潜在靶点和缺氧性肺动脉高压防治提供依据。

参 考 文 献

- [1] Weir EK, Cabrera JA, Mahapatra S, et al. The role of ion channels in hypoxic pulmonary vasoconstriction [J]. *Adv Exp Med Biol*, 2010, 661:3-14.
- [2] Moral-Sanz J, Gonzalez T, Menendez C, et al. Ceramide inhibits KV currents and contributes to TP-receptor-induced vasoconstriction in rat and human pulmonary arteries[J]. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2011, 301(1):C186-C194.
- [3] Marino M, Bény JL, Peyter AC. Perinatal hypoxia enhances cyclic adenosine monophosphate-mediated BKCa channel activation in adult murine pulmonary artery [J]. *J Cardiovasc Pharmacol*, 2011, 57(2):154-165.
- [4] Jiang L, Zhou T, Liu H. Combined effects of the ATP-sensitive potassium channel opener pinacidil and simvastatin on pulmonary vascular remodeling in rats with monocrotaline-induced pulmonary arterial hypertension [J]. *Pharmacazie*, 2012, 67(6):547-552.
- [5] Gurney AM, Osipenko ON, MacMillan D, et al. Two-pore domain K channel, TASK-1, in pulmonary artery smooth muscle cells [J]. *Circ Res*, 2003, 93(10):957-964.
- [6] Gardener MJ, Johnson IT, Burnham MP, et al. Functional evidence of a role for two-pore domain potassium channels in rat mesenteric and pulmonary arteries [J]. *Br J Pharmacol*, 2004, 142(1):192-202.
- [7] Olschewski A, Li Y, Tang B, et al. Impact of TASK-1 in human pulmonary artery smooth muscle cells [J]. *Circ Res*, 2006, 98(8):1072-1080.
- [8] Cheong A, Li J, Sukumar P, et al. Potent suppression of vascular smooth muscle cell migration and human neointimal hyperplasia by KV1.3 channel blockers [J]. *Cardiovasc Res*, 2011, 89(2):282-289.
- [9] Resta TC, Broughton BR, Jernigan NL. Reactive oxygen species and RhoA signaling in vascular smooth muscle:role in chronic hypoxia-induced pulmonary hypertension [J]. *Adv Exp Med Biol*, 2010, 661:355-373.
- [10] Barman SA. Vasoconstrictor effect of endothelin-1 on hypertensive pulmonary arterial smooth muscle involves Rho-kinase and protein kinase C [J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2007, 293 (2):L472-L479.
- [11] Knock GA, Snetkov VA, Shaifta Y, et al. Superoxide constricts rat pulmonary arteries via Rho-kinase-mediated Ca^{2+} sensitization [J]. *Free Radic Biol Med*, 2009, 46 (5): 633-642.
- [12] Waypa GB, Guzy R, Mungai PT, et al. Increases in mitochondrial reactive oxygen species trigger hypoxia-induced calcium responses in pulmonary artery smooth muscle cells [J]. *Circ Res*, 2006, 99(9):970-978.
- [13] Yadav VR, Song T, Joseph L, et al. Important role of PLC- γ 1 in hypoxic increase in intracellular calcium in pulmonary arterial smooth muscle cells [J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2013, 304(3):L143-L151.
- [14] Chettimada S, Rawat DK, Dey N, et al. Glc-6-PD and PKG contribute to hypoxia-induced decrease in smooth muscle cell contractile phenotype proteins in pulmonary artery [J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2012, 303(1):L64-L74.
- [15] Perros F, Montani D, Dorfmueller P, et al. Platelet-derived growth factor expression and function in idiopathic pulmonary arterial hypertension[J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2008, 178(1):81-88.
- [16] Ren W, Watts SW, Fanburg BL. Serotonin transporter interacts with the PDGF β receptor in PDGF-BB-induced signaling and mitogenesis in pulmonary artery smooth muscle cells [J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2011, 300(3):L486-L497.
- [17] Nakamura K, Akagi S, Ogawa A, et al. Pro-apoptotic effects of imatinib on PDGF-stimulated pulmonary artery smooth muscle cells from patients with idiopathic pulmonary arterial hypertension [J]. *Int J Cardiol*, 2012, 159(2):100-106.
- [18] Zhang L, Ma J, Shen T, et al. Platelet-derived growth factor (PDGF) induces pulmonary vascular remodeling through 15-LO/15-HETE pathway under hypoxic condition [J]. *Cell Signal*, 2012, 24(10):1931-1939.

- [19] Ko EA, Han J, Jung ID, et al. Physiological roles of K⁺ channels in vascular smooth muscle cells [J]. J Smooth Muscle Res, 2008, 44(2):65-81.
- [20] Yuill K, Ashmole I, Stanfield PR. The selectivity filter of the tandem pore potassium channel TASK-1 and its PH sensitivity and ionic selectivity [J]. Pflugers Arch, 2004, 448(1):63-69.
- [21] Lee YM, Kim BJ, Chun YS, et al. NOX4 as an oxygen sensor to regulate TASK-1 activity [J]. Cell Signal, 2006, 18(4):499-507.
- [22] Park SJ, Chun YS, Park KS, et al. Identification of subdomains in NADPH oxidase-4 critical for the oxygen-dependent regulation of TASK-1 K⁺ channels [J]. Am J Physiol Cell Physiol, 2009, 297(4): C855-C864.
- [23] Johnson RP, O Kelly IM, Fearon IM. System-specific O₂ sensitivity of the tandem pore domain K⁺ channel TASK-1 [J]. Am J Physiol Cell Physiol, 2004, 286(2):C391-C397.
- [24] Duprat F, Lauritzen I, Patel A, et al. The TASK background K₂P channels: chemo- and nutrient sensors [J]. Trends Neurosci, 2007, 30(11):573-580.
- [25] Gurney A, Manoury B. Two-pore potassium channels in the cardiovascular system [J]. Eur Biophys J, 2009, 38(3): 305-318.
- [26] Tang B, Li Y, Nagaraj C, et al. Endothelin-1 inhibits background two-pore domain channel TASK-1 in primary human pulmonary artery smooth muscle cells [J]. Am J Respir Cell Mol Biol, 2009, 41(4):476-483.
- [27] Knock GA, Snetkov VA, Shaifta Y, et al. Role of src-family kinases in hypoxic vasoconstriction of rat pulmonary artery [J]. Cardiovasc Res, 2008, 80(3):453-462.
- [28] Li Q, Zhang Y, Marden JJ, et al. Endosomal NADPH oxidase regulates c-Src activation following hypoxia/reoxygenation injury [J]. Biochem J, 2008, 411(3):531-541.
- [29] Nagaraj C, Tang B, Bálint Z, et al. Src tyrosine kinase is crucial for potassium channel function in human pulmonary arteries [J]. Eur Respir J, 2013, 41(1):85-95.
- [30] Gurney AM, Joshi S. The role of twin pore domain and other K⁺ channels in hypoxic pulmonary vasoconstriction [J]. Novartis Found Symp, 2006, 272:218-228.

(收稿:2013-01-14 修回:2013-02-28)

(本文编辑:金谷英)

读者 · 作者 · 编者

关键词的有关要求

关键词是为了便于编制文献索引、检索和阅读而选取的能反映文章主题概念的词或词组。一般每篇论文选取 2~5 个关键词,中英文关键词应一致。关键词尽量从美国国立医学图书馆的 MeSH 数据库 (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?db=mesh>) 中选取,其中文译名可参照中国医学科学院信息研究所编译的《医学主题词注释字顺表》。中医药关键词可从中国中医科学院中医药信息研究所编写的《中医药主题词表》中选取。

应特别注意首标关键词的选用,该词应反映全文最主要的内容。未被词表收录的词(自由词),必要时可作为关键词使用,但排序应在最后。

本刊编辑部