

糖尿病对冠状动脉平滑肌细胞大电导钙激活钾通道的影响

吴 宾 陶 凌 易 甫

【摘要】 糖尿病冠状动脉功能障碍与大电导钙激活钾通道(BK 通道)活性受损有关。在冠状动脉平滑肌细胞中,BK 通道开放,钾离子外流导致细胞膜超极化,引起电压依赖的钙离子(Ca^{2+})通道关闭, Ca^{2+} 内流减少,血管扩张。糖尿病或高糖状态下,BK 通道的性能改变。该文主要介绍 BK 通道的生物特性和糖尿病对冠状动脉平滑肌细胞上 BK 通道功能的影响及机制。

【关键词】 大电导钙激活钾通道;糖尿病;冠状动脉

doi:10.3969/j.issn.1673-6583.2015.04.010

冠状动脉病变是糖尿病患者的主要死因之一。流行病学研究显示,与同龄、同性别的非糖尿病患者相比,糖尿病伴发冠心病患者的死亡率增高 5~6 倍^[1-2]。糖尿病导致冠状动脉平滑肌功能异常,与大电导钙激活钾通道(BK 通道)活性受损有关。

1 BK 通道的生物特性

BK 通道是钙激活钾通道中的一种。钙激活钾通道依据电导大小分为 BK 通道(100~300 Ps)、中电导钙激活钾通道(25~100 Ps)、小电导钙激活钾通道(2~25 Ps)^[3]。BK 通道广泛表达于兴奋和非兴奋细胞中,参与动作电位形成、激素分泌以及肌肉松弛等生理过程。激活血管平滑肌上的 BK 通道,可引起细胞膜上钾离子(K^+)外流,细胞膜超极化,反馈抑制 L 型钙离子(Ca^{2+})通道, Ca^{2+} 内流减少,血管舒张。

1.1 结构

BK 通道主要由结构亚基(α 亚基)、调节亚基(β 亚基)及辅助性亚基(γ 亚基)构成。 α 亚基是由 SLO 基因编码,含有电压感受器组件和 Ca^{2+} 结合结构域。 α 亚基由 7 个螺旋形跨膜片段,即 S0~S6(位于 N 端,跨膜形成通道)和 S7~S10(位于细胞质中的 C 端,构成通道的尾)组成^[4]。4 个 α 亚基聚合成功能性的通道孔,包含 4 个 P 环片段(S5 和 S6 片段的连接部分)构成的选择性过滤器。 α 亚基的 C

端有多个调节位点,包含一系列可结合 Ca^{2+} 的精氨酸,该区域被称为“钙碗”,使 BK 通道具有 Ca^{2+} 敏感性^[5]。

β 亚基的主要功能是增加 BK 通道对 Ca^{2+} 的敏感性。 β 亚基由两个跨膜片段组成,跨膜片段由一个很长的细胞外环所连接,N 端和 C 端均朝向细胞质内。 β 亚基有 4 个亚型,表达于不同的组织中, $\beta 1$ 亚基在血管平滑肌细胞中表达最高^[4]。 $\beta 1$ 亚基由 KCNMB1 基因编码,是 BK 通道的功能调节单位。 α 和 β 亚基按照 1:1 的比例结合,两者通过 α 亚基的第一个跨膜结构域(S0)和 β 亚基的细胞外 N 端结合,调节通道对电压和 Ca^{2+} 敏感性。

γ 亚基是一类富含亮氨酸重复结构域的蛋白质家族(leucine-rich repeat containing proteins, LRRC),包括 $\gamma 1$ (LRRC26)、 $\gamma 2$ (LRRC52)、 $\gamma 3$ (LRRC55)、 $\gamma 4$ (LRRC38) 4 种亚型^[6]。 γ 亚基由 1 个单跨膜片段、C 端短的细胞内尾巴、N 端的 1 个信号肽和细胞外亮氨酸重复结构域组成。 γ 亚基和 $\beta 1$ 亚基的功能相似,调节 BK 通道的电压敏感性和通道激活时的变构偶联作用^[7]。

1.2 调节机制

BK 通道的调节机制有翻译前调节和翻译后调节^[8]。一方面, α 亚基在转录时经过剪接,使 BK 通道具有不同的亚型,导致各亚型对 Ca^{2+} 和电压的敏感性不同。另一方面,BK 通道的组成蛋白会经历翻译后修饰,例如糖基化和磷酸化等。 α 亚基与不同的调节亚基接触,会改变 BK 通道的电压依赖性、

Ca^{2+} 敏感性和通道的动力学性质,使 BK 通道具有不同的药理学特性。BK 通道,尤其是其位于细胞内的结构域,可作为多种蛋白的锚定点,蛋白激酶、L 型 Ca^{2+} 通道、肾上腺素 β_2 受体均可以结合在锚定点上对 BK 通道进行调节。

2 糖尿病对冠状动脉平滑肌细胞(CASMC)BK 通道的影响

糖尿病导致的血管功能障碍包括多个方面,除了内皮功能障碍,还包括血管平滑肌的异常改变。糖尿病冠状动脉功能障碍主要与 CASMC 的 BK 通道 β_1 亚基表达下调有关。因此,研究糖尿病对 BK 通道的影响对于研究冠状动脉早期病变有着重要的意义。

2.1 糖尿病时 BK 通道的改变

Lu 等^[9]研究发现,与对照大鼠相比,糖尿病大鼠 CASMC 上的 BK 通道对 Ca^{2+} 的敏感性下降,通道平均开放时间缩短,平均关闭时间延长,吡啶胺类化合物 DHS-1(BK 通道激活剂)介导的通道激活功能明显下降,上述改变是由 β_1 亚基表达下调所致。Wang 等^[10]发现,链脲霉素(STZ)诱导的糖尿病大鼠 CASMC 上的 BK 通道电流密度下降,血管张力增加,细胞质内的 Ca^{2+} 浓度增加。糖尿病大鼠冠状动脉功能障碍可能是由 BK 单通道开放电流密度下降导致的^[11]。对大鼠主动脉和肠系膜动脉血管平滑肌细胞 BK 通道的研究发现,与对照组相比,胰岛素抵抗组的大鼠血管平滑肌细胞中 BK 通道电流降低,两组间 α 亚基的 mRNA 和蛋白表达水平没有明显差异,但胰岛素抵抗组 β_1 亚基的表达明显低于对照组,同时胰岛素抵抗组血浆一氧化氮(NO)水平高于对照组^[12]。

2.2 糖尿病对 BK 通道的影响机制

BK 通道 β_1 亚基表达的调节涉及多条信号通路。STZ 诱导的糖尿病小鼠血管平滑肌细胞和高糖环境下培养的人 CASMC 中肌肉环指蛋白 1(MuRF1)表达上调,而 MuRF1 的卷曲螺旋(coiled-coil)结构域与 BK 通道 β_1 亚基的 N 端物理性接触,促进 β_1 亚基的泛素化降解^[13]。MuRF1 可作为 BK 通道 β_1 亚基的特异性泛素连接酶,糖尿病通过上调 MuRF1 表达,导致 BK 通道损伤和冠状动脉病变。此外,泛素连接酶复合体中 F-box 蛋白家族的 FBXO-9 和 FBXO-32 参与调解血管平滑肌细胞 BK 通道 β_1 亚基的表达^[14]。与对照组相比,STZ 诱导的糖尿病大鼠主动脉平滑肌细胞和高糖

培养的人 CASMC 中 BK 通道激活受抑制,同时 β_1 亚基蛋白表达水平下降,伴有 FBXO-9 和 FBXO-32 表达上调;这一过程可能与丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶(Akt)介导的转录因子叉头框蛋白 O3a(FoxO3a)的磷酸化减少有关。

Lu 等^[15]发现,糖毒性导致的 BK 通道 β_1 亚基蛋白表达水平下降可能与蛋白激酶 $\text{C}\beta$ (PKC β)和还原型辅酶 II(NADPH)氧化酶类表达增加有关,该过程伴有磷酸化 Akt 水平下调和 FBXO-32 表达上调。研究发现,用 ruboxistaurin(PKC β 抑制剂)和 GW501516(过氧化物酶体增殖物激活受体 δ 激活剂)治疗糖尿病小鼠,可降低 FBXO-32 的表达水平,维持 BK 通道介导的冠状动脉舒张功能。在糖尿病小鼠动脉内增加外源性 KCNNB1 基因的表达,可以改善 BK 通道功能^[16]。

糖尿病导致的冠状动脉 BK 通道功能损伤也可能与血管紧张素 II(Ang II)及其 1 型受体(AT1R)介导的信号转导通路有关^[17]。BK 通道、AT1R、小凹蛋白-1(caveolin-1, Cav-1)和 c-Src 均定位于大鼠 CASMC 细胞膜的穴样内陷(caveolae)中,血管平滑肌细胞穴样内陷的完整性对 Ang II 介导的 BK 通道功能调节有关键作用。在 STZ 诱导的糖尿病大鼠的血管平滑肌细胞的穴样内陷中,Cav-1 表达上调,Ang II 参与的氧化还原反应增强,抑制冠状动脉 BK 通道功能,引起冠状动脉功能障碍。Zhang 等^[18]研究发现,Ang II 通过激活 AT1R 来抑制 BK 通道功能,而不依赖于 G 蛋白激活。

Lu 等^[19]发现,经转染后表达钙激活钾离子通道(hSlo)的 HEK293 细胞,在高糖(22 mmol/L)培养状态下,hSlo 电流密度下降,通道激活和失活动力学减慢,高糖培养的人 CASMC 的 BK 通道电流也发生类似的情况。高糖可上调超氧化物歧化酶(SOD)的水平,SOD 抑制过氧化氢酶表达,导致细胞内活性氧(ROS)显著增加。超氧阴离子自由基和 NO 反应产生的过氧化亚硝基(OONO $^-$)可抑制大鼠大脑动脉血管平滑肌细胞膜上的 BK 通道,这种抑制作用可被钛试剂所阻断^[21]。ROS 是 BK 通道的强力抑制剂,过氧化氢通过作用于 BK 通道 α 亚基“钙碗”附近的半胱氨酸残基,使 BK 通道的生理性激活功能丧失,并且这种抑制效能与敲除 BK 通道的 β_1 亚基相同^[22]。

3 小结

2 型糖尿病是冠状动脉病变的极高危因素,糖

尿病冠状动脉舒张功能降低与 BK 通道活性受损有关。BK 通道 $\beta 1$ 亚基有望成为治疗糖尿病引起的冠状动脉病变的重要靶点。BK 通道 $\beta 1$ 亚基的特异性激动剂、增加 $\beta 1$ 亚基蛋白表达的药物以及 $\beta 1$ 亚基泛素化降解途径中涉及的分子抑制剂均可进行相关药物研发。对 BK 通道研究的深入,为糖尿病心血管并发症的治疗提供了新途径。

参 考 文 献

- [1] 李俭强, 李悦, 薛竟宜, 等. 冠心病患者血糖管理策略[J]. 国际心血管病杂志, 2013,40(1):38-40.
- [2] Yang SH, Dou KF, Song WJ. Prevalence of diabetes among men and women in China[J]. N Engl J Med, 2010,362(25):2425-2426.
- [3] Hu XQ, Zhang L. Function and regulation of large conductance Ca^{2+} -activated K^{+} channel in vascular smooth muscle cells[J]. Drug Discov Today, 2012, 17(17-18):974-987.
- [4] Qian L, Liu X, Wang R. Role of BK (Ca) channels in diabetic vascular complications[J]. Chin Med J (Engl), 2014,127(9):1775-1781.
- [5] Schreiber M, Salkoff L. A novel calcium-sensing domain in the BK channel[J]. Biophys J, 1997,73(3):1355-1363.
- [6] Yan J, Aldrich RW. BK potassium channel modulation by leucine-rich repeat-containing proteins[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2012,109(20):7917-7922.
- [7] Zhang J, Yan J. Regulation of BK channels by auxiliary gamma subunits[J]. Front Physiol, 2014,5:401.
- [8] Carvalho-de-Souza JL, Varanda WA, Tostes RC, et al. BK channels in cardiovascular diseases and aging[J]. Aging Dis, 2013,4(1):38-49.
- [9] Lu T, Ye D, He T, et al. Impaired Ca^{2+} -dependent activation of large-conductance Ca^{2+} -activated K^{+} channels in the coronary artery smooth muscle cells of Zucker diabetic fatty rats[J]. Biophys J, 2008,95(11):5165-5177.
- [10] Wang RX, Shi HF, Chai Q, et al. Molecular mechanisms of diabetic coronary dysfunction due to large conductance Ca^{2+} -activated K^{+} channel impairment[J]. Chin Med J (Engl), 2012,125(14):2548-2555.
- [11] 王如兴, 郁志明, 张常莹, 等. 糖尿病大鼠冠状动脉平滑肌细胞大电导钙激活钾通道开放概率的变化[J]. 中华心血管病杂志, 2012(9):770-774.
- [12] Li S, Deng Z, Wei L, et al. Reduction of large-conductance Ca^{2+} -activated K^{+} channel with compensatory increase of nitric oxide in insulin resistant rats[J]. Diabetes Metab Res Rev, 2011,27(5):461-469.
- [13] Yi F, Wang H, Chai Q, et al. Regulation of Large Conductance Ca^{2+} -activated K^{+} (BK) Channel $\beta 1$ Subunit Expression by Muscle RING Finger Protein 1 in Diabetic Vessels[J]. J Biol Chem, 2014, 289(15):10853-10864.
- [14] Zhang DM, He T, Katusic ZS, et al. Muscle-specific f-box only proteins facilitate bk channel $\beta 1$ subunit downregulation in vascular smooth muscle cells of diabetes mellitus[J]. Circ Res, 2010,107(12):1454-1459.
- [15] Lu T, Chai Q, Yu L, et al. Reactive Oxygen Species Signaling Facilitates FOXO-3a/FBXO-Dependent Vascular BK Channel $\beta 1$ Subunit Degradation in Diabetic Mice[J]. Diabetes, 2012,61(7):1860-1868.
- [16] Porter KE, Riches K. The vascular smooth muscle cell; a therapeutic target in Type 2 diabetes? [J]. Clin Sci (Lond), 2013,125(4):167-182.
- [17] Lu T, Zhang D, Wang X, et al. Regulation of coronary arterial BK channels by caveolae-mediated angiotensin II signaling in diabetes mellitus[J]. Circ Res, 2010,106(6):1164-1173.
- [18] Zhang Z, Li M, Lu R, et al. The angiotensin II type 1 receptor (AT1R) closely interacts with large conductance voltage- and Ca^{2+} -activated K^{+} (BK) channels and inhibits their activity independent of G-protein activation[J]. J Biol Chem, 2014,289(37):25678-25689.
- [19] Lu T, He T, Katusic ZS, et al. Molecular mechanisms mediating inhibition of human large conductance Ca^{2+} -activated K^{+} channels by high glucose[J]. Circ Res, 2006,99(6):607-616.
- [20] Brzezinska AK, Gebremedhin D, Chilian WM, et al. Peroxynitrite reversibly inhibits Ca^{2+} -activated K^{+} channels in rat cerebral artery smooth muscle cells[J]. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2000,278(6):H1883-H1890.
- [21] Lu M, Wang WH. Reaction of nitric oxide with superoxide inhibits basolateral K^{+} channels in the rat CCD[J]. Am J Physiol, 1998,275(1 Pt 1):C309-C316.
- [22] Tang XD, Garcia ML, Heinemann SH, et al. Reactive oxygen species impair Slo1 BK channel function by altering cysteine-mediated calcium sensing[J]. Nat Struct Mol Biol, 2004,11(2):171-178.

(收稿:2015-01-26 修回:2015-05-28)

(本文编辑:梁英超)