

瞬时感受器电位 M 与 V 通道蛋白在血管功能调控中的作用

杨 娜综述 林默君审校

【摘要】 瞬时感受器电位(TRP)M 与 TRPV 蛋白家族成员在血管功能调控中发挥重要的作用,主要对钙离子的调节。TRPM4 参与大脑血流自动调节;TRPM7 在增生血管镁离子内流通道中发挥作用;TRPV1 介导血管周围感觉神经的传出功能等;TRPV4 对血管平滑肌细胞功能有一定的影响。该文对目前 TRPM 与 TRPV 蛋白的认识进行概述,讨论它们在心血管功能方面的作用。

【关键词】 瞬时感受器电位;血管平滑肌;钙离子

DOI:10.3969/j.issn.1673-6583.2010.01.012

胞内 Ca^{2+} 浓度通过多种多样的机制激活钙内流而持续升高,在血管平滑肌功能方面起主要作用。其中包括十多个瞬时感受器电位(transient receptor potential, TRP)超家族成员如,TRPM (melastatin-related TRP, TRPM)和 TRPV (vanilloid-related TRP, TRPV)参与调控。

1 TRPM

目前只在哺乳动物体内发现了 TRPM 亚族。TRPM 亚族包含 8 个成员,根据同源性分为 4 组:(1) TRPM1, TRPM3; (2) TRPM7, TRPM6; (3) TRPM2, TRPM8; (4) TRPM5, TRPM4。序列分析揭示,全长的 TRPM1 蛋白只在正常的黑色素细胞中表达,而在黑色素瘤细胞中只存在 TRPM1 的多个短 mRNA 片断,TRPM mRNA 的下调程度与黑色素瘤病人的肿瘤迁移程度相一致。这些提示 TRPM1 可能与肿瘤有关。该亚族的另一个蛋白 TRPM3 主要表达于肾脏,另外在大脑中也有少量表达。研究表明,当胞外渗透压降低时,TRPM3 通道开放,提示其可能参与调节肾脏渗透压平衡^[1]。

在表达 TRPM2 的人胚肾细胞中,二磷酸腺苷核糖(adenosine-diphosphate ribose, ADP-ribose)能激活 TRPM2 通道导致 Ca^{2+} 内流,其结合位点位于

C 末端的一个 Nudix (nucleoside diphosphate—linked moiety X, 核苷二磷酸连接部分 X)结构域^[2]。

TRPM4 和 TRPM5 的开放依赖于胞内 Ca^{2+} 浓度的升高,并受电压调节。TRPM5 在舌、胃、小肠中具有较高的表达。目前认为,TRPM5 主要介导甜和苦这两种味觉的传递。

TRPM6 和 TRPM7 都能通透 Ca^{2+} 和 Mg^{2+} , 对细胞内 Ca^{2+} 平衡起关键作用。TRPM6 基因的突变,会导致血镁和血钙过低。TRPM7 在脑、心、肺、肾、肝中均有表达,磷脂酰肌醇-4,5-二磷酸(PIP2)对 TRPM7 起激活作用,当 PIP2 被水解后,通道被关闭^[3]。

McKemy 等^[4]从被薄荷醇和冷激活的三叉神经感觉神经元上克隆到了一个受体,被命名为冷和薄荷醇敏感受体(cold- and menthol-sensitive receptor, CMR),现在被命名为 TRPM8。当 TRPM8 被冷温度或薄荷醇激活时,通道打开,胞外 Ca^{2+} 进入神经元,并诱发动作电位。此外,在背根神经元和脊髓背角神经元共培养系统中,激活背根神经元轴突末梢的 TRPM8,导致末梢内 Ca^{2+} 浓度升高,从而易化背根神经元轴突末梢谷氨酸释放,使突触后脊髓背角神经元 0℃ 时放电频率显著增加。TRPM8 激动剂 icilin 的作用依赖于细胞内 Ca^{2+} 浓度,当细胞外 Ca^{2+} 从 TRPM8 通道进入细胞内并伴随细胞内 Ca^{2+} 释放时 icilin 的能效最大。而冷和薄荷醇的作用不存在这一机制^[5]。TRPM8 通道的活性

基金项目:国家自然科学基金(30670772),福建省自然科学基金(C0620002)

作者单位:350004 福建医科大学生理学病理生理学系

通讯作者:林默君, E-mail: mjlin@mail.fjmu.edu.cn

还受到细胞内 $[H]^+$ 的调节;细胞内酸化能抑制 icilin 和冷的反应但对薄荷醇的作用没有影响^[6,7]。

2 TRPV

哺乳动物 TRPV 亚族有 6 个成员,可分为 3 组:(1) TRPV1, TRPV2, TRPV4;(2) TRPV3;(3) TRPV5, TRPV6。1997 年,一项研究克隆一种被辣椒素(capsaicin)激活的受体——一种非选择性的阳离子通道,在结构上属于 TRP 通道家族。当温度升高时,这种克隆的辣椒素受体也能被激活,说明它在热痛刺激信号的传递中发挥重要作用。

异源表达的 TRPV2 通道并不被香草精类化合物或酸所激活,但能被热温度激活($>52^{\circ}C$)。这表明 TRPV2 可能起着调节高阈值、伤害性热痛刺激的作用。

当温度从 $22^{\circ}C$ 升高到 $40^{\circ}C$, TRPV3 被激活。进一步研究证明,该通道对 Ca^{2+} 的通透性比较高, P_{Ca}/P_{Na} 为 12.1。在背根神经元, TRPV3 与 TRPV1 共表达。当在体外异源表达时, TRPV3 和 TRPV1 也能形成功能性的异聚体。这表明, TRPV3 通道不仅能单独发挥功能,也可以与其他 TRPV 亚基形成异聚体通道。

TRPV4 在哺乳动物细胞中表达时,形成具有一定离子选择性的外向整流阳离子通道($P_{Ca}/P_{Na} = 6$);能感受胞外渗透压的变化,当降低胞外渗透压时, TRPV4 通道打开, EP_{50} 为 270 mOsm。

TRPV5 和 TRPV6 通道具有高度的 Ca^{2+} 选择性($P_{Ca}/P_{Na} > 100$), 通透电流具有很强的内向整流特性。TRPV5 和 TRPV6 又被称为“上皮钙通道”, 它们主要调节上皮细胞中 Ca^{2+} 平衡。维生素 D_3 通过调节 TRPV5 和 TRPV6 的受体表达而影响 Ca^{2+} 的吸收及重吸收。另外雌激素也能调控 TRPV5 和 TRPV6 受体的表达,这与更年期妇女体内的加速 Ca^{2+} 丢失可能有关。

3 TRPM 和 TRPV 在血管功能调控中的作用

3.1 TRPM 和 TRPV 可能的作用方式

离子通道尤其是那些允许 Ca^{2+} 通过的通道,通过胞内 Ca^{2+} 浓度改变在血流动力学的调控中起主要作用,这一观点已经被广泛接受。根据激活模式的不同,这些通道被分为直接被膜去极化所激活的电压依赖性钙通道(voltage-dependent calcium channels, VDCC)和非 VDCC(non-VDCC)。后者包括受体操纵性 Ca^{2+} 通道(receptor-operated Ca^{2+} -

entry channels, ROCC)、钙池操纵性 Ca^{2+} 通道(store-operated Ca^{2+} -entry channels, SOCC)^[8]、机械敏感性 Ca^{2+} 通道(mechanosensitive Ca^{2+} -entry channels, MSCC)和其他的受外部刺激如化学物质、温度改变和渗透压改变而激活的钙通道。

RT-PCR 证实,主要的 TRPM 和 TRPV 亚型包括 TRPM2-4、7 和 8 以及 TRPV1-4 能够从去内皮化的大鼠主动脉和肺动脉中检测出来^[9]。发现这两种血管组织中用 RT-PCR 评估出来的 TRPM 和 TRPV 相对表达水平等级相似: $TRPV4 > TRPV2 > TRPV1 > TRPV3$; $TRPM8 > TRPM4 > TRPM7 > TRPM3 > TRPM2 > TRPM5$ 。其中,用薄荷醇和 4 α -佛波醇-12,13-二癸酸(4 α -phorbol 12,13-didecanoate, 4 α -PDD)可分别激活 TRPM8 和 TRPV4,诱导出显著的 Ca^{2+} 反应,提示在肺动脉和主动脉平滑肌细胞中 TRPM 和 TRPV 起到钙内流通道的作用。其他的报道也确认了大鼠主动脉、肠系膜和基底动脉中 TRPV2、大鼠大脑动脉中的 TRPV4 和 TRPM4 以及胚胎主动脉细胞系 A7r5 中的 TRPM7 的表达和功能的重要性^[10,11]。

2 个 TRPV 成员(TRPV2 和 TRPV4)和 2 个 TRPM 成员(TRPM4 和 TRPM7)的 mRNA 转录产物从中央到外周的动脉不断地放大,而 TRPM2 和 TRPM8 的表达似乎有局部特异性,主要在主动脉(除肠系膜动脉边缘外)表达。

3.2 TRPM4 与大脑血流自动调节有关

脑循环中,血流量受肌原性反应调节,维持在恒定范围内。这种反应很有可能与 VDCC 的去极化激活有关,且伴随着 MSCC 的激活。有人发现, TRPM4 蛋白起到一种 MSCC 的作用,其电导为 25pS,对一价阳离子有选择性,受 Ca^{2+} 激活,被 ATP、ADP、AMP 所抑制,decavanadate 通过干扰 ATP 依赖性转运蛋白的 ATP 结合位点选择性地阻断 TRPM4,也能够明显地减弱压力诱导的去极化和伴随的血管张力的发展^[12]。虽然这一研究对 TRPM4 通道通过压力输送的激活机制还不清楚,但我们初步研究显示用 ryanodine 受体(ryanodine receptor, RyR)抑制剂、ryanodine 和地卡因预处理能够很强烈地抑制同种血管平滑肌细胞膜上的 TRPM4 通道的牵拉诱导激活^[13]。因此,很容易让人推测 TRPM4 通道的这种 RyR 依赖性激活可能与膜牵拉引起的钙火花活动增加有关。另有人提出

TRPM4 可能是由 Ca^{2+} 通过 TRPC6 内流所激活, 它的活性随管腔内压力的增加而增加。蛋白激酶 C (PKC) 激活使 TRPM4 对胞内 Ca^{2+} 敏感。PKC 依赖的 TRPM4 激活可能是血管肌原性张力的一个重要媒介^[14]。

3.3 TRPM7 在增生血管 Mg^{2+} 内流通道中的作用

TRPM7 在血管平滑肌细胞中表达, 其表达水平受调节血管张力和结构的血管紧张素 II 和醛固酮影响, 且在调节 Mg^{2+} 内流和维持胞内 Mg^{2+} 稳态中起到很重要的作用。用小干扰 RNA (small interfering RNA, siRNA) 选择性地降低 TRPM7 表达, 发现 TRPM7 缺陷细胞中基础的 $[\text{Mg}^{2+}]_i$ 水平降低了, 说明在血管平滑肌中 TRPM7 在 Mg^{2+} 稳态中的重要性。TRPM7 促进了 Mg^{2+} 在血管平滑肌中的跨膜转运, 胞内 Mg^{2+} 浓度对 TRPM7 通道活性有负性影响, 随着 $[\text{Mg}^{2+}]_i$ 增加, TRPM7 活性下降。另外, 还指出血管紧张素 II 慢性调节血管平滑肌中 $[\text{Mg}^{2+}]_i$ 是通过 TRPM7 敏感途径介导的镁内流^[15,16]。因此这一介导途径很可能是维持血管平滑肌中 Mg^{2+} 稳态以及血管平滑肌生长和分化的决定因素。

3.4 血管平滑肌细胞中的 TRPV4 是否介导了内皮依赖性的超极化

最近的研究中已经发现了在大脑循环中 TRPV4 相互矛盾的血管扩张作用。Earley, Fleming 等^[11,17]提出 11,12-环-二十碳三烯酸 (11,12-epoxyeicosatrienoic acid, 11,12-EET)^[17]; 血管平滑肌细胞中的 TRPV4 与血管平滑肌超极化和舒张之间的新联系。在观察中, 外源性给予 11,12-EET 和 TRPV4 激动剂 4-PDD 可激活 TRPV4 电流, 引起超极化和大脑动脉加压引起的舒张; 然而 TRPV4 抑制剂钌红 (ruthenium red) 的应用和通过反义 RNA 的方法使 TRPV4 下调则极大地衰减了这一反应。通常 TRPV4 激活引起 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 的增加, 因此预期能引起血管收缩而不是血管舒张。一种新途径机制成为这一自相矛盾的解释: 依靠几种不同过程中的复杂有序的事件, 如钙通道通过 TRPV4 通道受 11,12-EET 激活 → 增加了 Ca^{2+} 从肌浆网释放 (增加了钙火花的频率) → 钙依赖性钾通道 (BKCa) 的激活, 膜超极化 → 减少了 VDCC 介导的 Ca^{2+} 内流, 降低了 $[\text{Ca}^{2+}]_i$, 相应的血管舒张。然而有几个重要的问题质疑这一假说的通用性和相关性^[18]。

第一, 发现 11,12-EET 不能激活通过异源性表达的 TRPV4 通道引起的 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 增加。第二, 内皮源性超极化因子 (EDHF) 或外源性给予 11,12-EET 诱导的血管平滑肌细胞 (VSMC) 超极化大体上对 ibexatriotoxin (一种特殊的 BKCa 阻滞剂) 无效, 但被 charybdotoxin 和 apamin (中介的小电导 Ca^{2+} 激活的 K^{2+} 通道的抑制剂) 所抑制。提出的最有利于这一假说的是 11,12-EET 首先激活了内皮 Ca^{2+} 依赖性中电导型钾通道 (IKCa) 和小电导型钾通道 (SKCa) 引起超极化, 反过来经过肌内皮缝隙连接电子传播到 VSMC^[17]。第三, 在内面向外式斑片膜中 11,12-EET 引起的单个 BKCa 激活似乎通过一个 Gs 介导的机制而不是直接的 Ca^{2+} 效应而发生。在兔子的肺动脉中显示 11,12-EET 引起血管收缩而不是舒张, 在这些动脉中钙火花似乎与膜去极化有关。这意味着 11,12-EET / TRPV4 / RyR 和它们的激活结果之间的关系可能依赖于循环类型。除此以外, 设想检测大麻素类, 如 anandamide (一种表达内皮 TRPV4 通道的有效激动剂) 是否也能通过相同的机制 (包括 TRPV4 / RyR / BKCa 信号复合物) 起到血管的舒张作用。

3.5 血管周围感觉神经的传出功能是由 TRPV1 介导的

作为一个与动脉张力调节有关的附加机制, TRPV1 的感觉效应器通道^[19]作用已经受到了关注。Scotland 等^[20]发现在小肠系膜阻力动脉中肌源性反应的实质部分很容易被 capsazepine 或辣椒素脱敏作用所阻断。这种 capsazepine 敏感成分不依赖内皮的存在, 且可被神经激肽 1 (NK1) 受体拮抗剂 SR140333 或在缺乏功能性 NK1 受体的转基因小鼠中极大地衰减。免疫组化鉴别出了 TRPV1、P 物质和肠系膜动脉壁上的降钙素基因相关肽 (CGRP) 的表达, 且 capsazepine 抑制的血管收缩也能被外源性化合物 20-羟二十烷四烯酸 (20-HETE) 所诱导。假设血管平滑肌中产生的 20-HETE 对血管内压力增加起反应, 并扩散到邻近的感觉神经末梢, 激活其中的 TRPV1 通道, NK1 受体激活, 继而引起使血管收缩的 P 物质的释放。虽然已显示重组 TRPV1 对各种花生四烯酸产物 (白介素-B4、12-HPETE、15-HPETE、5-HETE 和 15-HETE) 有应答, 但仍未获得支持 20-HETE 的证据。在同样的动脉标本中 (这种标本中潜在的血管

舒张功能被 CGRP 所引起)20-HETE 激活 TRPV1 是如何导致 P 物质优先释放到 CGRP 令人困惑。实际上,在多种动脉类型中,已显示 TRPV1 通道被外源性应用化合物 anadamide 激活,释放 CGRP 导致血管舒张而不是血管收缩。Anadamide 在神经元、内皮细胞、循环的巨噬细胞和血小板中合成,与低血压伴随出血和内毒素休克及肝硬化的发病机制有关。激光多普勒灌注成像技术已显示出 anadamide 经皮给药增加了人类皮肤微循环中的血流量,且对 capsazepine 阻断敏感^[21]。因此,对 TRPV1 在血管中相矛盾的作用似乎合理的解释就是:它可能根据循环的类型和部位,通过感觉神经肽的释放同时对血流和血压起到了正性和负性调节作用。

4 结语

本文在现有的研究阶段,列出 TRPM 和 TRPV 蛋白与机体功能的可能联系。对于 TRPM 与 TRPV 各自的这些通道怎样以及在何种程度上互相联系促成了心血管的功能,这些问题在许多研究中仍没有明确的答案。我们将期待着关于 TRPM 与 TRPV 亚型研究更进一步的发展。

参 考 文 献

- [1] Grimm C, Kraft R, Sauerbrun S, et al. Molecular and functional characterization of the melastatin-related cation channel TRPM3[J]. *J Biol Chem*, 2003, 278(24):21493-21501.
- [2] Kraft R, Grimm C, Grosse K, et al. Hydrogen peroxide and ADP-ribose induce TRPM2-mediated calcium influx and cation currents in microglia[J]. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2004, 286(1):129-137.
- [3] Runnels LW, Yue L, Clapham DE. The TRPM7 channel is inactivated by PIP(2) hydrolysis[J]. *Nat Cell Biol*, 2002, 4(5):329-336.
- [4] McKemy DD, Neuhauser WM, Julius D. Identification of a cold receptor reveals a general role for TRP channels in thermosensation[J]. *Nature*, 2002, 416(6876):52-58.
- [5] Tsuzuki K, Xing H, Ling J, et al. Menthol-induced Ca^{2+} release from presynaptic Ca^{2+} stores potentiates sensory synaptic transmission[J]. *J Neurosci*, 2004, 24(3):762-771.
- [6] Chuang HH, Neuhauser WM, Julius D. The super-cooling agent icilin reveals a mechanism of coincidence detection by a temperature-sensitive TRP channel [J]. *Neuron*, 2004, 43(6):859-869.
- [7] Andersson DA, Chase HW, Bevan S. TRPM8 activation by menthol, icilin, and cold is differentially modulated by intracellular pH[J]. *J Neurosci*, 2004, 24(23):5364-5369.
- [8] Parekh AB, Putney JW Jr. Store-operated calcium channels [J]. *Physiol Rev*, 2005, 85(2):757-810.
- [9] 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.
- [10] Earley S, Waldron BJ, Brayden JE. Critical role for transient receptor potential channel TRPM4 in myogenic constriction of cerebral arteries[J]. *Circ Res*, 2004, 95(9):922-929.
- [11] Earley S, Heppner TJ, Nelson MT, et al. TRPV4 forms a novel Ca^{2+} signaling complex with ryanodine receptors and BKCa channels[J]. *Circ Res*, 2005, 97(12):1270-1279.
- [12] He Y, Yao G, Savoia C, et al. Transient receptor potential melastatin 7 ion channels regulate magnesium homeostasis in vascular smooth muscle cells; role of angiotensin II[J]. *Circ Res*, 2005, 96(2):207-215.
- [13] Fleig A, Penner R. The TRPM ion channel subfamily: molecular, biophysical and functional features[J]. *Trend Pharmacol Sci*, 2004, 25(12):633-639.
- [14] Morita H, Honda A, Inoue R, et al. Membrane stretch-induced activation of a TRPM4-like nonselective cation channel in cerebral artery myocytes [J]. *Pharmacol Sci*, 2007, 103(4):417-426.
- [15] Sharif-Naeini R, Dedman A, Folgering JH, et al. TRP channels and mechanosensory transduction: insights into the arterial myogenic response[J]. *Pflugers Arch*, 2008, 456(3):529-540.
- [16] Touyz RM, He Y, Montezano AC, et al. Differential regulation of transient receptor potential melastatin 6 and 7 cation channels by ANG II in vascular smooth muscle cells from spontaneously hypertensive rats[J]. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 2006, 290(1):73-78.
- [17] Fleming I, Busse R. Endothelium-derived epoxyeicosatrienoic acids and vascular function[J]. *Hypertension*, 2006, 47(4):629-633.
- [18] Kotlikoff MJ. EDHF redux: EETs, TRPV4, and Ca^{2+} sparks[J]. *Circ Res*, 2005, 97(12):1209-1210.
- [19] Szallasi A. Vanilloid (capsaicin) receptors in health and disease[J]. *Am J Clin Pathol*, 2002, 118(1):110-121.
- [20] Scotland RS, Chauhan S, Davis C, et al. Vanilloid receptor TRPV1, sensory C-fibers, and vascular autoregulation: a novel mechanism involved in myogenic constriction [J]. *Circ Res*, 2004, 95(10):1027-1034.
- [21] Movahed P, Evilevitch V, Andersson TL, et al. Vascular effects of anadamide and N-acylvanillylamines in the human forearm and skin microcirculation[J]. *Br J Pharmacol*, 2005, 146(2):171-179.

(收稿:2009-06-16 修回:2009-12-14)

(本文编辑:金谷英)