

· 综 述 ·

参与阴茎勃起的外周递质信号通路及其与 ED 发生的关系*

付卫华 综述, 鄢俊安[△] 审校

(第三军医大学西南医院全军泌尿外科研究所, 重庆 400038)

关键词: 去甲肾上腺素; 内皮素; 一氧化氮; 勃起功能障碍

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2010.20.042

中图分类号: R365.698

文献标识码: A

文章编号: 1671-8348(2010)20-2787-03

男性勃起功能障碍(erec-tile dysfunction, ED)是指男性持续性或反复发作的,难以达到和维持阴茎勃起来完成满意性交的病理现象。Moreland 提出 ED 的发生可能是由于收缩因子和舒张因子之间的分泌失调所导致。这些舒张和收缩因子主要是由中枢和外周神经以及阴茎海绵体内窦隙及血管内皮细胞产生和释放。近年来,研究人员对参与阴茎勃起的中枢神经递质(5-羟色胺、多巴胺、催产素等)及其通路研究虽取得一定进展,但由于各递质信号通路本身及其相互间关联复杂,还需做大量深入的研究。但在对参与勃起的外周递质及其信号通路研究进展明显。本文就外周神经递质其下游的信号通路在阴茎勃起和 ED 发生的病理机制中的作用研究进展作一综述。

1 与平滑肌收缩相关的外周递质及其信号通路

参与阴茎勃起组织收缩的外周递质包括去甲肾上腺素(NA)、内皮素-1(ET-1)、神经肽 Y(NPY)、血管紧张素 II(Ang II)等。其中 NA 和 ET-1 在阴茎血管、海绵窦平滑肌收缩和维持阴茎疲软状态中起主要作用。

1.1 NA 在阴茎脉管系统以及海绵体平滑肌分布着丰富的交感肾上腺素能神经末梢,在阴茎萎软期,神经末梢释放的 NA 主要与阴茎海绵体小动脉和海绵窦平滑肌细胞上的 α_1 -肾上腺素能受体(α_1 -AR)亚型 α_{1A} -AR 结合,通过受体-G 蛋白-PLC 途径,分解膜脂质中的磷脂酰肌醇(PIP_2)为三磷酸肌醇(IP_3)和二酰甘油(DG)。其中, IP_3 与内质网或肌质网上 IP_3 R 结合后,导致胞内储存 Ca^{2+} 释放进入胞质和 $[Ca^{2+}]_i$ 升高,胞质中 $[Ca^{2+}]_i$ 与钙调蛋白结合,使其构象改变,通过激活平滑肌肌球蛋白轻链激酶(MLCK),使肌球蛋白轻链(MLC)磷酸化,后者再与肌球蛋白结合引发平滑肌收缩。磷酸化的 MLC 在肌球蛋白轻链磷酸酯酶(MLCP)的作用下脱磷酸,转化为 MLC,平滑肌收缩终止。DG 则在胞内 Ca^{2+} 升高的状态下激活蛋白 C(PKC),后者通过磷酸化 L 型 Ca^{2+} 通道或其他通道蛋白,引起 Ca^{2+} 内流和 Ca^{2+} 升高,促进平滑肌收缩。此外,平滑肌接受神经兴奋刺激后,细胞膜去极化使电压门控 Ca^{2+} 通道开放,胞外 Ca^{2+} 内流进一步增加胞内 Ca^{2+} 水平,参与平滑肌细胞收缩。

海绵体表达的 α_2 -AR 也参与阴茎勃起的调节。NA 与突触后 α_2 -AR 结合后,可介导依赖胞外 Ca^{2+} 内流的海绵体平滑肌收缩;而与突触前 α_2 -AR 结合后,则对血管扩张神经递质以及 NA 释放有抑制效应。此外 α_2 -AR 拮抗剂可以增加雄性大鼠性冲动,但其机制不明^[1]。Cirino 等在人阴茎海绵体平滑肌细胞发现 β_3 -AR 表达,并证实 β_3 -AR 激活可通过抑制 RhoA/Rho 激酶信号通路产生舒张血管效应。有趣的是,研究

发现阴茎背动脉对 NA 的敏感性相对较低,这有益于疲软状态下阴茎组织正常代谢所需营养和氧的供应。

1.2 ET-1 ET-1 是由海绵体内皮和平滑肌细胞合成,分泌或旁分泌作用于细胞膜上的 ET-A 和 ET-B 两种受体,在维持脉管系统和海绵体平滑肌收缩张力,保持阴茎疲软状态起主要作用。ET-A 和 ET-B 在平滑肌细胞膜上都有表达,而在内皮细胞膜上主要表达 ET-B。当 ET-1 与 ET-A 结合后,通过 G 蛋白耦联受体介导的信号转导,产生第二信使 IP_3 。与其受体结合,引起肌质网中 Ca^{2+} 释放和 $[Ca^{2+}]_i$ 升高,促进平滑肌收缩。而 ET-1 与 ET-B 结合,在平滑肌细胞产生收缩和舒张双重效应;内皮细胞可通过提高 eNOS 活性,增加 NO 合成和释放的同时降低 ET-1 的产生和平滑肌收缩效应,实现自身调节^[2]。近期研究还发现依赖 NO/cGMP/PDE 和 cAMP/PDE 通路可能参与 ET-1 的平滑肌收缩机制^[3]。Harindra 等证实在同一组织内 ET-1 和 NA 存在协同收缩效应。

1.3 平滑肌收缩的钙增敏机制 在对平滑肌收缩机制研究中发现 2 种不同收缩机制,即经典的依赖胞内 Ca^{2+} 水平升高的收缩机制和不依赖胞内 Ca^{2+} 变化的 Ca^{2+} 增敏机制。后者同样参与 NA 和 ET-1 各自对海绵体脉管系统和小梁平滑肌收缩过程。与经典收缩机制不同, Ca^{2+} 增敏机制是通过抑制 MLCP 活性,减少磷酸化的 MLC 脱磷酸,维持平滑肌的处于高张力状态。目前,已知的抑制 MLCP 活性 2 种机制分别由 RhoA/Rho 激酶和 PKC/CPI-17 介导。

1.3.1 RhoA/Rho 激酶系统介导的 Ca^{2+} 增敏机制 RhoA 是一种小分子的 GTP 结合蛋白,充当无活性的 GDP 与活性的 GTP 的分子开关。当收缩递质与细胞膜上 G 蛋白耦联受体结合后,鸟苷酸交换因子(GEF)作用下,激活位于胞质内无活性的 RhoA-GDP 复合体转换为细胞膜上有活性的 RhoA-GTP 复合体,后者可激活位于其下游的 Rho 激酶,启动 RhoA/Rho 激酶途径。Rho 激酶有 2 种同源异构体:ROCK1 和 ROCK2,参与平滑肌收缩的 Rho 激酶主要是 ROCK2^[4]。激活 ROCK2 与 MLCP 结合,在 MLCP 目标亚单位(MYPT1)的 Thr696 和(或)Thr853 位点磷酸化,使 MLCP 活性下降,抑制磷酸化的 MLC 脱磷酸,促进平滑肌收缩。

在大鼠和人的阴茎勃起组织内,较早的研究就已证实 RhoA/Rho 激酶系统介导的 Ca^{2+} 增敏机制参与海绵体平滑肌收缩,保持阴茎疲软状态。随后的研究发现 ET-1 与 α -AR 激动剂苯肾上腺素(PE)联合作用于海绵体平滑肌时,共同激活 RhoA/Rho 激酶信号通路,对平滑肌收缩出现联合增效现象。最近在对大鼠阴茎动脉收缩研究中发现 RhoA/Rho 激酶系统

不仅介导 Ca^{2+} 增敏收缩机制,还可促进胞外 Ca^{2+} 通过非选择性离子通道进入胞质,参与血管平滑肌收缩^[5]。

1.3.2 PKC/CPI-17 介导的 Ca^{2+} 增敏机制 CPI-17 是一种平滑肌特异的 1 型蛋白磷酸酶抑制蛋白,由其 Thr38 位点磷酸化而活化,活化后的 CPI-17 发生构象变化,与 MLCP 的催化亚单位(PP1c)结合,抑制 MLCP 活性,在胞内 Ca^{2+} 浓度不变的情况下,加强平滑肌收缩。当收缩递质与平滑肌细胞膜上受体结合后,通过受体-G 蛋白-PLC 信号转导途径,在细胞膜内表面激活蛋白激酶 C(PKC)。后者进一步作用于下游信号蛋白 CPI-17,使之磷酸化而被激活。此外,RhoA/Rho 激酶系统也参与激活 CPI-17。PKC 的激动剂 PDBu(phorbol-12,13-dibutyrate)诱导血管平滑肌收缩就是通过激活 GTP-RhoA,再经 RhoA/Rho 激酶通路磷酸化 MYPT1 和 CPI-17,活化的 CPI-17 降低 MLCP 活性,从而实现血管平滑肌收缩^[6]。

PKC/CPI-17 在介导 Ca^{2+} 增敏效应阴茎动脉平滑肌收缩过程中发挥重要作用,而 PKC 的抑制剂对 PE 或凝血噻烷受体激动剂 U46619 诱导的小梁平滑肌收缩无抑制作用,PDBu 也不能诱导小梁平滑肌收缩,即使在抑制 NO 合酶的情况下,这种反应仍然没有变化。这就表明 PKC/CPI-17 介导 Ca^{2+} 增敏效应在海绵体小梁平滑肌收缩过程中作用很不明显^[7]。同样的结果在正常人海绵体平滑肌也得到证实^[8]。

2 平滑肌舒张相关的外周递质及其信号通路

参与阴茎勃起组织舒张的外周递质包括一氧化氮(NO)、乙酰胆碱(ACh)、血管活性多肽(VIP)、前列腺素(PGS)、降钙素基因相关肽(CGRP)等。其中 NO 在介导海绵体内平滑肌组织舒张、阴茎勃起生理过程中发挥最主要调控作用。

2.1 NO 及其信号通路 NO 是一种无机且不稳定的脂溶性气态小分子,在支配阴茎勃起组织的非肾上腺素能非胆碱能(NANC)神经末梢以及血管和海绵窦内皮组织内合成并释放。在海绵体内,NO 作用于可溶性鸟苷酸环化酶(GC)后,可使平滑肌胞质内中第二信使环一磷酸鸟苷(cGMP)的浓度升高,后者激活依赖 cGMP 的蛋白激酶 G(PKG),活化的 PKG 磷酸化目标蛋白,包括离子通道、离子泵和参与调控胞内 Ca^{2+} 水平的酶,这些目标蛋白磷酸化后降低胞质内有效 Ca^{2+} 浓度。其作用机制包括:(1)开放平滑肌细胞膜上 K^{+} 离子通道和膜超极化抑制 Ca^{2+} 内流;(2)抑制细胞膜电压门控 Ca^{2+} 离子通道阻止 Ca^{2+} 内流;(3)激活细胞膜和肌质网上 Ca^{2+} -ATP 离子泵,促进胞质内 Ca^{2+} 泵出和肌质网对 Ca^{2+} 重吸收;(4)磷酸化 IP_3 ,抑制 IP_3 介导的肌质网 Ca^{2+} 释放。此外,平滑肌细胞膜上还表达特殊的 K^{+} 通道亚型,包括 K_{ATP} 和 maxi-K ,它们接受 PKG、PKA、cGMP 刺激后开放,参与调解胞质 Ca^{2+} 水平。平滑肌胞质低水平 Ca^{2+} 降低了 MLCK 活性,MLC 脱磷酸导致海绵体平滑肌舒张和阴茎勃起效应。VIP 和 PGE 也通过 cAMP/PKA 途径参与海绵体平滑肌系统舒张,但这种舒张效应在阴茎勃起过程中作用有限。

2.2 一氧化氮合酶 一氧化氮合酶(NOS)是 NO 合成的关键酶,目前已纯化的 3 种 NOS 同工酶:神经型(nNOS)、内皮型(eNOS)和诱生型(iNOS)。通过免疫组化在人海绵体组织内发现:nNOS 主要在 NANC 神经末梢上免疫着色,而 eNOS 则黏附在海绵体窦隙和螺旋动脉内皮细胞上。iNOS 在生理情况下不表达,而在炎症因子或细菌产物刺激等病理状态下表达明显上调,一般认为 iNOS 功能以细胞毒性为主。与 iNOS 不同,nNOS 和 eNOS 在参与调解阴茎勃起生理过程以及 ED 发生中的作用已有大量研究加以证实。目前认为,nNOS 在阴茎

勃起的初始期起着关键作用,当各种刺激产生性冲动时,兴奋副交感神经系统释放乙酰胆碱(ACh),后者作用于 NANC 神经末梢激活 nNOS,活化的 nNOS 随即合成并释放 NO,后者引起阴茎内血管和海绵体平滑肌舒张,启动阴茎勃起。由于血管内血流改变产生的剪切力以及充盈血液对血管内皮和窦隙内皮持续牵张作用于内皮细胞,激活 $\text{PI}_3\text{-K/PKB}$ 信号通路,后者在内皮细胞的 eNOS Ser-1177 位点上发生磷酸化从而激活 eNOS,活化的 eNOS 在内皮细胞中持续合成并释 NO。此外,ACh、血浆内的缓激肽以及胞质中 Ca^{2+} 、 O_2 等物质都可以刺激内皮细胞释放 NO。所以,一般认为 eNOS 在促使阴茎勃起充分并维持勃起状态起到关键作用。

NOS 在海绵体内的表达及其生物活性受机体内外多种因素影响。早期在大鼠体内研究发现 PGE1 可以上调阴茎内 nNOS 和 eNOS 的表达。RhoA/Rho 激酶和内源性大麻样物质花生四烯酸乙醇胺都能抑制海绵体内 eNOS 的表达^[9]。体内镉、锂元素都能降低 eNOS 和(或)nNOS 表达和酶活性^[10-11]。此外,近期研究发现安定可以减少 nNOS 和 eNOS 在海绵体的表达^[12]; β_1 -ARs 盐酸奈必洛尔可激活海绵体内 eNOS,促进 NO 的释放^[13];中药淫羊藿苷也可增加 eNOS 在海绵体的表达^[14]。总之,NOS 作为催化生成 NO 的合酶,在阴茎勃起生理中发挥重要作用,它的分布、表达、活性发生病理改变将直接影响阴茎正常勃起功能。

3 外周递质及其信号通路改变与 ED 的发生

一份对中国成年男性勃起功能障碍相关危险因素分析报告提示:ED 的发病相关因素包括衰老、糖尿病、心血管疾病、服用精神类药物、学历、家居环境、夫妻关系以及性生活频率等日常因素,并以前 3 个危险因素最为显著^[15]。衰老、糖尿病、心血管疾病引起的 ED 发病均与外周递质及其信号通路密切相关。

3.1 衰老引起的 ED 在对国人问卷调查中发现 50 岁以上的男性,ED 的患病率超过 60%,并且患病率随年龄增加而升高。衰老相关的 ED 发病机制目前普遍认为是参与调解阴茎勃起组织收缩能力加强,而调解组织舒张能力减弱所引起。前者包括:海绵体内 RhoA/Rho 激酶表达增加、活性增强;血管对 Ang II 敏感性增加,阴茎血流减少。后者包括:eNOS 在海绵体内表达减少;Ser-1177 位点上发生磷酸化的 eNOS 减少,Ser-459 位点上发生磷酸化的 eNOS 增多,eNOS 活性降低;海绵体内 NANC 减少;nNOS 表达减少,活性降低以及 L-Arg 利用率减低,精氨酸酶活性增加^[16];MaxiK 在平滑肌细胞膜上表达减少^[17];RhoA/Rho 激酶对 eNOS 活性的抑制作用。衰老过程中海绵体内平滑肌细胞比例减少,胶原纤维沉积,组织纤维化降低海绵体的顺应性,使得海绵体舒张困难^[18]。此外,血浆睾酮激素水平随着年龄增加而降低,使得老年人性欲减退^[19]。上述这些因素综合参与衰老过程中 ED 的发病。

3.2 糖尿病引起的 ED 糖尿病是 ED 发生又一大危险因素,在糖尿病患者中,50%以上都患有不同程度的 ED。国内的调查中提示其发病率在 75%以上。一系列的病理变化参与糖尿病 ED 的发生,包括神经病、内皮功能不全、海绵体平滑肌结构和功能的改变、体内激素变化以及心理因素等。糖尿病患者的高血糖可致使海绵体内神经末梢发生结构和功能改变,功能正常的神经末梢减少,nNOS 表达和活性下降,神经性 NO 合成减少^[20]。高血糖、脂代谢紊乱还作用于海绵体内皮系统,引起阴茎灌流不足,小血管乃至微血管病变则引起海绵体缺血、缺氧,导致海绵体平滑肌数量减少,纤维化程度增加以及组织内

大量的 ROS 产生,最终导致内皮系统受到损害,eNOS 表达减少,活性下降,内皮依赖性 NO 合成和释放减少^[21]。此外,高血糖还阻止 eNOS 在 Ser-1177 位点磷酸化,抑制其活性以及抑制 cGMP 依赖性的 PKG₁ 在血管平滑肌上表达^[22]。在糖尿病兔海绵体内还发现 ET-1 及其受体表达增多;后来在糖尿病大鼠海绵体内发现 RhoA/Rho 激酶表达和活性增加及其对 eNOS 活性的抑制作用,通过这些递质和信号途径都可减少海绵体 NO 的释放,增加勃起困难,参与糖尿病 ED 的发生。

3.3 心血管疾病引起的 ED 与 ED 发生密切相关的心血管疾病包括高血压、冠心病、动脉粥样硬化等疾病。ED 与心血管疾病两者存在共因关系和互为因果关系。它们的发病机制相似,即疾病早期主要表现为 NO/cGMP 介导的内皮依赖性血管舒张作用减弱,主要特点为各种原因引起的 NO 合成、释放减少;后期表现为血管壁结构的异常,平滑肌细胞减少和细胞排列紊乱,胶原纤维积聚在血管壁使其顺应性下降。所以,某种意义上讲,ED 症状的出现提示心血管系统的病理状态,也可视为心血管疾病的预警信号^[23]。

参考文献:

- [1] Morton JS, Daly CJ, Jackson VM, et al. α_1 A-Adrenoceptors mediate contractions to phenylephrine in rabbit penile arteries[J]. *British Journal of Pharmacology*, 2007, 150:112.
- [2] Timo V, Antti H, Anders A. The adrenergic α_2 -receptor and sexual incentive motivation in male rats[J]. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 2006, 83(3):360.
- [3] George T, Kedia, SU, Merab K, et al. Effects of phosphodiesterase inhibitors on contraction induced by endothelin-1 of isolated human prostatic tissue[J]. *Urology*, 2009, 73:1397.
- [4] Wang Y, Zheng XR, Riddick N, et al. Rock isoform regulation of myosin phosphatase and contractility in vascular smooth muscle cells[J]. *Circ Res*, 2009, 104(4):531.
- [5] Villalba N, Stankevicius E, Simonsen U, et al. Rho kinase is involved in Ca^{2+} entry of rat penile small arteries[J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2008, 294(4):1923.
- [6] Baek I, Jeon SB, Kim J, et al. A role for Rho-kinase in Ca-independent contractions induced by phorbol-12,13-dibutyrate[J]. *Clin Exp Pharmacol Physiol*, 2009, 36(3):256.
- [7] Liming J, Cleber E, Teixeira R, et al. Comparison of the involvement of protein kinase C in agonist-induced contractions in mouse aorta and corpus cavernosum[J]. *European Journal of Pharmacology*, 2008, 590:363.
- [8] Angulo J, Cuevas P, Fernandez A, et al. Enhanced thromboxane receptor-mediated responses and impaired endothelium-dependent relaxation in human corpus cavernosum from diabetic impotent men: role of protein kinase C activity[J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2006, 319:783.
- [9] Tefvik D, Abdurrahman C, Omer D, et al. Hyperhomocysteinemia: a novel risk factor for erectile dysfunction Metabolism[J]. *J Urol*, 2006, 55(12):1564.
- [10] Nattaporn Y, Piyajit W, Orapin W, et al. Attenuation of eNOS expression in cadmium-induced hypertensive rats [J]. *Toxicology Letters*, 2008, 176(2):157.
- [11] Hamed S, Mehdi G, Farzad E, et al. Effect of lithium on endothelium-dependent and neurogenic relaxation of rat corpus cavernosum: role of nitric oxide pathway[J]. *Nitric Oxide*, 2007, 16(1):54.
- [12] Zhang XR, Zhang ZJ, Trisha A, et al. The effect of chronic antipsychotic drug administration on nitric oxide synthase activity and gene expression in rat penile tissues [J]. *European Neuropsychopharmacology*, 2010, 20(4):211.
- [13] Reidenbach RHG, Schwinger D, Steinritz K, et al. Nebivolol induces eNOS activation and NO-liberation in murine corpus cavernosum[J]. *Life Sciences*, 2007, 80(26):2421.
- [14] Xu HB, Huang ZQ. Icarin enhances endothelial nitric-oxide synthase expression on human endothelial cells in vitro[J]. *Vascular Pharmacology*, 2007, 47(1):18.
- [15] 高炜城, 王怀鹏, 王行环, 等. 男性勃起功能障碍相关危险因素分析[J]. *中国男科学杂志*, 2009, 23(8):38.
- [16] Numao N, Masuda H, Sakai Y, et al. Roles of attenuated neuronal nitric-oxide synthase protein expression and accelerated arginase activity in impairing neurogenic relaxation of corpus cavernosum in aged rabbits[J]. *BJU Int*, 2007, 99(6):1495.
- [17] Davies KP, Stanevsky Y, Tar MT, et al. Ageing causes cytoplasmic retention of MaxiK channels in rat corporal smooth muscle cells[J]. *Int J Impot Res*, 2007, 19(4):371.
- [18] El-Sakka AI, Yassin AA. Amelioration of penile fibrosis: myth or reality[J]. *J Androl*, 2009, 19:243.
- [19] Stanworth RD, Jones TH. Testosterone for the aging male; current evidence and recommended practice [J]. *Clin Interv Aging*, 2008, 3(1):25.
- [20] Gui YT, Li XH, Li H, et al. Expression of neuronal nitric oxide synthase in corpus cavernosum with diabetic erectile dysfunction: experiment with rabbits [J]. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi*, 2008, 88(24):1666.
- [21] Chiou WF, Liu HK, Juan CW. Abnormal protein expression in the corpus cavernosum impairs erectile function in type 2 diabetes[J]. *BJU Int*, 2010, 105(5):674.
- [22] Liu S, Ma X, Gong M, et al. Glucose down-regulation of cGMP-dependent protein kinase I expression in vascular smooth muscle cells involves NAD(P)H oxidase-derived reactive oxygen species[J]. *Free Radic Biol Med*, 2007, 42(6):852.
- [23] Chew KK, Finn J, Stuckey B, et al. Erectile dysfunction as a predictor for subsequent atherosclerotic cardiovascular events: findings from a linked-data study[J]. *J Sex Med*, 2010, 7(11):192.