

2007,50(4):391-398.

[25] Jantzen F, Kunemann S, Wolff B, et al. Isoprenoid depletion by statins antagonizes cytokine-induced down-regulation of endothelial nitric oxide expression and increases NO synthase activity in human umbilical vein endothelial cells[J]. *J Physiol Pharmacol*, 2007, 58(3):503-514.

[26] Wenzel P, Daiber A, Oelze M, et al. Mechanisms underlying

ing recoupling of eNOS by HMG-CoA reductase inhibition in a rat model of streptozotocin-induced diabetes mellitus[J]. *Atherosclerosis*, 2008, 198(1):65-76.

[27] 安芳, 王林. 他汀药非调脂作用及在心血管疾病中的应用[J]. *实用心脑血管病杂志*, 2007, 15(6):474-477.

(收稿日期:2011-04-26 修回日期:2011-05-29)

经典瞬时感受器阳离子通道研究进展

余冬梅 综述, 陈 明[△] 审校

(重庆医科大学附属第一医院心内科 400016)

关键词: TRPC 阳离子通道; 钙离子; 研究

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2011.25.045

文献标识码:A

文章编号:1671-8348(2011)25-2591-03

瞬时感受器阳离子通道(transient receptor potential, TRP)是位于细胞膜上的一种非选择性阳离子通道跨膜蛋白质,当其被激活时,允许包括钙离子在内的阳离子进行跨膜运输。哺乳类 TRP 是在 1995~1996 年在研究由刺激磷脂酶-C (PLC)受体信号通道引起的细胞内持续增加的钙离子流发生机制时被发现。到目前为止,在哺乳动物中已克隆了 33 个 TRP 亚型,根据同源性不同,TRP 分为 7 个亚族,分别是 TRPC、TRPV、TRPM、TRPP、TRPA、TRPML 及 TRPN。TRPC 与果蝇的 TRP 同源性最高。TRPC 家族包括 7 个亚族成员(TRPC1~7),广泛表达,涉及功能广泛,参与多种疾病的病理生理过程。TRPC 功能异常可能会导致人类各系统功能的异常。现将 TRPC 的最新研究进展综述如下。

1 TRPC 的结构

TRPC 蛋白由 6 个跨膜 α 螺旋组成,第 5、6 跨膜结构域共同构成发卡通道结构,这是 TRPC 蛋白的结构基础,其氨基端和羧基端均在细胞内。氨基端同源性较高,多含有 2~4 个保守的锚蛋白(ankyrin)样重复,与通道蛋白的细胞膜锚定有关,锚蛋白与 TRPC 相互作用可形成功能性的同聚或异聚四聚体,从而在信号转导中发挥作用。羧基端变异性较大,与 TRPC 的自身调节有关^[1]。TRPC 结构的多样性表明,它们与细胞功能的多样性相关。

2 TRPC 的激活机制

TRPC 的激活受渗透压、pH 值、机械力及一些内、外源性配体和细胞内信号分子等多种因素的调节。尽管 TRPC 的激活机制存在争议,但目前,有研究认为,被 PLC 耦联的膜受体激活 TRPC 是其主要的激活机制。受体操控理论认为,神经递质和生长因子等分别作用于 G 蛋白耦联受体和受体酪氨酸激酶,激活磷脂酰肌醇信号通路,产生两个第 2 信使:肌醇三磷酸(IP₃)和二酰甘油(DAG)。IP₃ 作用于内质网 IP₃ 受体引起钙库钙释放和钙库清空,而 DAG 可被代谢为花生四烯酸和亚麻酸等。目前认为,这两个信号通路都可以激活 TRP。钙库清空诱发 TRP 激活所导致的钙离子内流为钙库依赖性钙内流(SOCE),负载的通道为钙库操纵性钙离子通道(SOCC);而

DAG 及其脂质代谢物激活 TRP 所导致的钙离子内流为受体操纵性钙离子流(ROCE),负载的通道为受体操纵性钙离子通道(ROCC)。

3 TRPC 的功能

TRPC 家族的细胞功能具有普遍性和多样性。TRPC 作为非选择性阳离子通道,参与转录因子的激活、细胞凋亡、血管收缩、血小板激活以及心肌肥厚等多种生理病理过程。因此,TRPC 也可能是许多药理干预的作用靶点。

3.1 TRPC1 TRPC1 是第 1 个被克隆的最短的哺乳类 TRP,与果蝇 TRP 有 40% 左右的同源性,广泛分布于脑、心脏、肾、肺、骨骼肌、睾丸、卵巢、唾液腺,少量分布于肝脏和肾上腺。TRPC1 能够和其他的 TRPC 亚基形成异聚体。有研究表明,在海马细胞上,TRPC1 和 TRPC5 形成一种异聚体通道,该通道的激活不依赖胞内钙库的耗竭。提示 TRPC 结构的多样性与细胞功能的多样性相关。

TRPC1 与心肌肥厚有一定联系,可能是心肌肥厚病理生理过程的一种重要的调节剂。Ohba 等^[2]发现,大鼠心肌细胞表达 TRPC1、3、5、6,而肥大心肌细胞仅 TRPC1 蛋白表达显著增加。用内皮素-I (ET-I)、血管紧张素 II (Ang II)和去甲肾上腺素诱导大鼠心肌细胞肥大,心肌细胞 TRPC1 高表达及 SOC 开放,采用 siRNA 抑制 TRPC1 基因的表达,能明显减弱上述方法诱导的心肌肥大。用膜片钳技术发现,压力负荷过重时大鼠心肌细胞 TRPC1 的表达上调,而 TRPC1(-/-)小鼠在压力负荷过重和神经激素刺激下,并未显示心肌肥大的证据^[3];小干扰 RNA 敲除 TRPC1 基因可以抑制活化 T 细胞核因子(NFAT)的激活,并且抑制 5-羟色胺(5-HT)诱导的心肌肥厚反应^[4]。提示 TRPC1 调节异常可能导致心肌肥厚。

3.2 TRPC2 TRPC2 在人类是伪基因,在小鼠可能作为信息素感受体以及参与精子顶体反应。敲除此基因导致小鼠的性别识别障碍和雄性攻击行为消失,提示该基因可能对动物的性和社会行为有特殊影响^[5]。

3.3 TRPC3 TRPC3 在脑、卵巢、结肠、小肠、前列腺、胎盘和睾丸中广泛分布。TRPC3 在调节血管内皮细胞钙离子浓度及

其功能上扮演着重要角色。有研究发现,原发性高血压大鼠 (SHR)单核细胞 TRPC3 的表达水平增高^[6-7]。也有研究发现,SHR 血管平滑肌 TRPC3 高水平表达^[8],Ang II 受体阻断剂在降低血压的同时使 TRPC3 的表达下调,氨氯地平则无此作用^[9]。Thilo 等^[10]研究证明,收缩压的高低与 TRPC3、白介素-1 β (IL-1 β)以及肿瘤坏死因子 α (TNF- α)的 mRNA 水平存在正相关,提示原发性高血压与 TRPC3 和炎症反应存在潜在的关系。心肌细胞内 Ca²⁺浓度的紊乱是触发心肌细胞肥大相关信号转导的始动因素。Bush 等^[11]研究发现,胸主动脉缩窄及去甲肾上腺素刺激 SHR 的心脏,TRPC3 蛋白表达明显增加。心脏低水平过表达 TRPC3 的转基因小鼠出现心肌肥厚,高水平过表达 TRPC3 的小鼠心脏重量明显增加,存活率降低^[12]。选择性 TRPC3 受体阻断剂吡啶类复合物 2-氨基-3-甲基-5-氰基吡啶(Py3)能消除 PLC 依赖的钙离子内流,减弱 NFAT 的活性及大鼠乳鼠心肌细胞肥厚的增长及体外压力负荷介导小鼠心肌细胞的心肌肥厚^[13]。因此,TRPC3 介导的细胞内钙离子浓度的改变在心肌细胞肥大的病理生理过程中发挥着重要作用。

3.4 TRPC4 TRPC 家族成员在各种来源的内皮细胞中广泛表达,其中 TRPC4 最主要的作用是调节内皮细胞的功能,调节内皮细胞收缩性、血管紧张度和通透性。TRPC4(-/-)小鼠主动脉内皮细胞的钙枯竭诱导的 SOCC 消失,NO 合成受损,对镉离子敏感的血管舒张也大大消减^[14]。提示 TRPC4 可能通过调节内皮源性 NO 的产生而参与血管张力调节。有研究发现,早期 SHR 的心脏 TRPC4、5 表达上调,提示 TRPC4、5 可能是高血压性心肌肥厚早期心脏表达的 TRPC 的主要亚型,参与左心室收缩功能不全的发生、发展过程^[15]。

此外,TRPC4 可以因外侧膝状体神经元表达的 5-HT_{2A}R 的激活而开放,引起细胞内钙的升高,最终导致胞体本身 γ -氨基(GABA)释放增强,从而间接参与视觉传递的调节和整合^[16]。TRPC4 还参与嗜铬细胞和 PC12 细胞的组胺诱导的细胞分泌以及肠 Cajal 间质细胞的节律性调节等^[17-18]。

3.5 TRPC5 TRPC5 主要在神经系统表达并发挥作用,参与调节中枢神经系统、神经元的功能及其分化。在体、内外实验中均证实,TRPC5 蛋白主要集中表达于海马神经元及生长锥。在高血压患者的单核细胞中 TRPC5 的表达增高并伴随着 Ca²⁺内流的增加^[8]。有研究发现,扩张性心肌病终末期患者心肌细胞中 TRPC5、6 基因表达显著上调^[10,19]。尽管不少研究开始报道 TRPC5 的作用,但 TRPC5 的生理功能大多数尚未清楚。

3.6 TRPC6 TRPC6 参与了受体介导以及机械敏感性血管收缩的调节,也参与了肺动脉血管平滑肌细胞(PASMC)的增殖,与特发性肺动脉高压(IPHA)的发生相关。与肺主动脉相比,肺小动脉对缺氧更加敏感,更多的参与了对肺血管紧张度的调节^[20]。有研究报道,TRPC6 基因启动子的功能性二等位基因-254(C G)单核苷酸会增加促炎性细胞因子核因子 κ B(NF- κ B)介导的启动子活性,刺激肺动脉血管平滑肌细胞 TRPC6 的表达,使个体患 IPAH 的风险增加,抑制 NF- κ B 的活性可以降低携带该等位基因患者 PASMC 中 TRPC6 的表达,减弱激动剂介导的 Ca²⁺离子内流^[21]。对米兰高血压大鼠(MHS)的研究中发现,MHS 大鼠动脉的 TRPC6 及钠-钙交换体 1(NCX1)表达的上调,并且增强了钙离子信号转导,而这种

强化的钙离子信号转导可能导致了 MHS 大鼠血管收缩增加并进一步引起血压升高^[22]。这一结果提示 TRPC6 在高血压发病中的重要作用。TRPC6 参与了心肌肥厚与心室重构的过程。用 ET-1^[23]、钙神经素或过度压力负荷刺激小鼠和人的心肌细胞,TRPC6 蛋白表达显著上调^[19]。因此,进一步证实过表达 TRPC6 的转基因小鼠发生心肌肥厚,对心脏压力负荷反应性增强及依赖 NFAT 的转录活力增加,更易发生心力衰竭,生存率下降。因此,TRPC6 可能参与了 Ca²⁺-钙神经素-NFAT 信号通路的正反馈机制,而该信号通路在心肌细胞过度激活时会引起病理性心室重构。而磷酸化或者功能性抑制 TRPC6 是通过抑制 5 型磷酸二酯酶途径防止病理性心肌肥厚的基础^[24]。TRPC6 是心脏心钠肽/脑钠肽-鸟苷酸环化酶 A (ANP/BNP-GC-A)信号通路介导的抗肥大作用的关键靶点,阻断 TRPC6 很可能是防止病理性心室重构的有效治疗方法^[25]。

3.7 TRPC7 TRPC7 能够被多种激素和神经递质受体激活,广泛表达于各种组织:孕期子宫、体外培养的角蛋白细胞等。然而,TRPC7 在这些细胞和组织中参与其功能调节的具体内容及机制尚不明确。有研究认为,TRPC7 参与细胞凋亡的调控。细胞凋亡是心脏疾病发生、发展的促成因素。同时,细胞内 Ca²⁺浓度的增加是前列腺素 E₂(PGE₂)和 Ang II 介导的凋亡的始动因素^[26]。体外实验中乳鼠心肌细胞转染 TRPC7 基因后,基础及 Ang II 诱导的凋亡均增加,TRPC 受体阻断剂 1-{2-(4-甲氧基)-2-[3-(4-甲氧基苯基)丙氧基]乙基}咪唑(SKF96365)和钙神经素阻断剂他克莫司(FK506)均可以阻断 Ang II 介导的细胞凋亡的发生^[27]。对人白血病细胞研究也提示,TRPC7 在细胞凋亡中有一定的作用^[28]。然而,TRPC7 参与凋亡的机制尚不明确,有待进一步研究。

4 结语与展望

哺乳类 TRPC 自发现以来一直是研究的热点,尽管许多学者已经开始鉴别这些通道特征和体内生理功能,但对于 TRPC 的研究也还刚刚起步,目前,尚无一致结论。TRPC 作为主要的非选择性的阳离子通道,具有广泛的病理生理意义,大量研究已经证实 TRPC 在体内多种细胞组织中发挥作用。然而,TRPC 的激活调节具体机制存在钙库和脂质第 2 信使(DAG 和其代谢产物)依赖性的争议,但是被与 PLC 偶联的膜受体所激活是不争的事实。因此,有望成为 ROCC 的分子实体基础,受到广泛重视。TRPC 也是多种复杂疾病的危险因素。因此,TRPC 还可能成为许多疾病治疗的新的药物作用靶点,寻找 TRPC 特异性的拮抗剂和激动剂具有重要的现实意义和广阔的发展前景,将为临床治疗多种疾病开辟新的途径。

参考文献:

- [1] Dietrich A, Chubanov V, Kalwa H, et al. Cation channels of the transient receptor potential superfamily: their role in physiological and pathophysiological processes of smooth muscle cells[J]. *Pharmacol Ther*, 2006, 112(3): 744-760.
- [2] Ohba T, Watanabe H, Murakami M, et al. Upregulation of TRPC1 in the development of cardiac hypertrophy[J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2007, 42(2): 498-507.
- [3] Seth M, Zhang ZS, Mao L, et al. TRPC1 Channels Are

- Critical for Hypertrophic Signaling in the Heart[J]. *Circ Res*, 2009, 105(10):1023-1030.
- [4] Vindis CD, Angelo R, Mucher E, et al. Essential role of TRPC1 channels in cardiomyoblasts hypertrophy mediated by 5-HT_{2a} serotonin receptors. [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2010, 391(1):979-983.
- [5] Keverne EB. Pheromones, vomeronasal function and gender-specific behavior[J]. *Cell*, 2002, 108(6):735-738.
- [6] Liu D, Scholze A, Zhu Z, et al. Increased transient receptor potential channel TRPC3 expression in spontaneously hypertensive rats[J]. *Am J Hypertens*, 2005, 18(11):1503-1507.
- [7] Liu D, Scholze A, Zhu Z, et al. Transient receptor potential channels in essential hypertension[J]. *J Hypertens*, 2006, 24(6):1105-1014.
- [8] Liu DY, Thilo F, Scholze A, et al. Increased store-operated and 1-oleoyl-2-acetyl-sn-glycerol-induced calcium influx in monocytes is mediated by transient receptor potential canonical channels in human essential hypertension[J]. *J Hypertens*, 2007, 25(4):799-808.
- [9] Liu DY, Yang DC, He HB, et al. Increased Transient Receptor Potential Canonical Type 3 Channels in Vasculature From Hypertensive Rats[J]. *Am J Hypertension*, 2009, 53(1):70-76.
- [10] Thilo F, Scholze A, Liu DY, et al. Association of transient receptor potential canonical type 3 (TRPC3) channel transcripts with proinflammatory cytokines[J]. *Arch Biochem Biophys*, 2008, 471(1):57-62.
- [11] Bush EW, Hood DB, Papst PJ, et al. Canonical transient receptor potential channels promote cardiomyocyte hypertrophy through activation of calcineurin signaling[J]. *J Biol Chem*, 2006, 281(44):33487-33496.
- [12] Nakayama H, Wilkin BJ, Bodi I, et al. Calcineurin-dependent cardiomyopathy is activated by TRPC in the adult mouse heart[J]. *FASEB J*, 2006, 20(10):1660-1670.
- [13] Kiyonaka S, Kato K, Nishida M, et al. Selective and direct inhibition of TRPC3 channels underlies biological activities of a pyrazole compound[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2009, 31106(13):5400-5405.
- [14] Freichel M, Suh SH, Pfeifer A, et al. Lack of an endothelial store-operated Ca²⁺ current impairs agonist-dependent vasorelaxation in TRP4^{-/-} mice [J]. *Nature Cell Biol*, 2001, 3(2):121-127.
- [15] Liu FF, Ma ZY, Li DL, et al. Differential expression of TRPC channels in the left ventricle of spontaneously hypertensive rats[J]. *Mol Biol Rep*, 37(6):2645-2651
- [16] Munsch T, Freichel M, Flockerzi V, et al. Contribution of transient receptor potential channels to the control of GABA release from dendrites[J]. *PNAS*, 2003, 100(26):16065-16070.
- [17] Obukhov AG, Nowycky MC. TRPC4 can be activated by G-protein-coupled receptors and provides sufficient Ca²⁺ to trigger exocytosis in neuroendocrine cells[J]. *J Biol Chem*, 2002, 277(18):16172-16178.
- [18] Walker RL, Koh SD, Sergent GP, et al. TRPC4 currents have properties similar to the pacemaker current in interstitial cells of Cajal[J]. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2002, 283(6):C1637-1645.
- [19] Kuwahara K, Wang Y, McAnally J, et al. TRPC6 fulfills a calcineurin signaling circuit during pathologic cardiac remodeling[J]. *J Clin Invest*, 2006, 116(12):3114-3126
- [20] Lu W, Wang J, Shimoda LA, et al. Differences in STIM1 and TRPC expression in proximal and distal pulmonary arterial smooth muscle are associated with differences in Ca²⁺ responses to hypoxia[J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2008, 295(1):L104-113.
- [21] Ying Yu, Steve H, Keller, et al. A Functional Single-Nucleotide Polymorphism in the TRPC6 Gene Promoter Associated With Idiopathic Pulmonary Arterial Hypertension[J]. *Circulation*, 2009, 119(17):2313-2322.
- [22] Zulian A, Baryshnikov SG, Linde CI, et al. Upregulation of Na⁺/Ca²⁺ exchanger and TRPC6 contributes to abnormal Ca²⁺ homeostasis in arterial smooth muscle cells from Milan hypertensive rats[J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2010, 299(3):H624-633.
- [23] Nishida M, Onohara N, Sato Y, et al. G_{α12/13}-mediated Up-regulation of TRPC6 Negatively Regulates Endothelin-1-induced Cardiac Myofibroblast Formation and Collagen Synthesis through Nuclear Factor of Activated T Cells Activation[J]. *J Biol Chem*, 2007, 282(32):23117-23128.
- [24] Nishida M, Watanabe K, Sato Y, et al. Phosphorylation of TRPC6 channels at Thr69 is required for anti-hypertrophic effects of phosphodiesterase 5 inhibition[J]. *J Biol Chem*, 2010, 285(17):13244-13253.
- [25] Kinoshita H, Kuwahara K, Nishida M, et al. Inhibition of TRPC6 Channel Activity Contributes to the Antihypertrophic Effects of Natriuretic Peptides-Guanylyl Cyclase-A Signaling in the Heart[J]. *Circ Res*, 2010, 106(12):1849-1860.
- [26] Kang PM, Izmo S. Apoptosis in heart: basic mechanisms and implications in cardiovascular diseases [J]. *Trends Mol Med*, 2003, 9(4):177-182.
- [27] Satoh S, Tanaka H, Ueda Y, et al. Transient receptor potential (TRP) protein 7 acts as a G protein-activated Ca²⁺ channel mediating angiotensin II-induced myocardial apoptosis[J]. *Mol Cell Biochem*, 2007, 294(1/2):205-215.
- [28] Foller M, Kasinathan RS, Durantou C, et al. PGE₂-induced apoptotic cell death in K562 human leukaemia cells [J]. *Cell Physiol Biochem*, 2006, 17(5/6):201-210.