

瞬时受体电位离子通道与血管衰老

朱子祥,王 觅,张 政*

(中南大学药学院药理学系,湖南 长沙 410078)

摘 要: 衰老是多种心血管疾病的危险因素,如高血压、脑卒中及腹主动脉瘤。人口老龄化伴随衰老相关血管病发病率升高使得阐明血管衰老机制十分迫切。内皮细胞一氧化氮(NO)生成障碍在血管衰老中发挥重要作用,与一氧化氮合酶(eNOS)表达下降及调控异常密切相关。瞬时受体电位(TRP)通道是一大类阳离子通道,对维持细胞稳态十分关键。近年来有研究表明瞬时受体电位通道调控内皮细胞一氧化氮生成而维持正常血管功能,而衰老时瞬时受体电位通道表达及功能障碍。本文综述瞬时受体电位通道与内皮细胞一氧化氮合成间的关系以及二者调控失常在血管衰老中的作用。

关键词: 瞬时受体电位通道; 血管衰老; 一氧化氮; 钙离子

中图分类号: R96 **文献标识码:** A

随着人口老龄化,衰老相关心血管病发病率逐年升高,加强衰老研究极其重要。血管衰老(Vascular aging)的分子机制研究已有进展,离子稳态失衡被认为是重要机制之一。瞬时受体电位(Transient receptor potential, TRP)通道是一种重要的离子稳态调节通道,近年来发现其在血管衰老中发挥重要作用。

1 血管衰老与疾病

衰老是指随着年龄增长到一定阶段,机体内的分子、细胞、组织出现损伤并导致稳态失衡,使得机体功能退化或导致疾病发生。血管作为人体的营养输送通道,在维持正常生理功能过程中发挥重要作用。血管衰老能够引起多种慢性疾病,例如冠心病、2型糖尿病、肿瘤等。进入老年期后,血管衰老成为诱发心血管疾病的独立危险因素。近年来中国心血管病患人数呈持续快速增长趋势,因心血管病死亡占城乡居民总死亡人数的40%以上且老年人比例更高,超过恶性肿瘤等疾病^[1]。血管衰老主要表现为内皮功能紊乱、血管舒张障碍、血管壁增厚僵硬等^[2]。目前对于血管衰老的认识尚处于初级阶段,为应对老龄化社会带来的挑战亟需更深入地探索研究血管衰老的规律和机制。

2 血管衰老机制

2.1 一氧化氮生物活性与血管衰老 经典观点认为,内皮细胞一氧化氮(Nitric oxide, NO)生物活性降低及活性氧簇(Reactive oxygen species, ROS)超氧阴离子(Superoxide anion, O_2^-)、过氧化氢、羟基等增多是导致血管衰老的主要原因^[2]。内皮细胞产生并释放NO导致血管舒张。内皮功能障碍导致NO生物活性降低从而诱发血管舒张障碍,是血管衰老的最初标志。NO生成减少是其生物活性降低的原因之一。内皮一氧化氮合酶(endothelial NO synthase, eNOS)催化合成NO,是维持血管正常功能的重要分子。eNOS经过5个氧化步骤将NADPH电子传递给L-精氨酸而生成NO^[3]。衰老大鼠血管中eNOS表达降低导致NO生成减少。其次,衰老过程中精氨酸酶II活性升高而降解eNOS的主要底物即L-精氨酸^[4],使eNOS可利用的底物减少而进一步减少NO生成。此外,衰老血管中eNOS的辅因子四氢生物蝶呤(Dihydrochloride, BH4)表达降低而导致eNOS构象变化,催化生成NO能力减弱^[5]。

NO生物活性降低的另一个原因是,其被过量ROS结合从而失去舒张血管的能力。内皮细胞过量ROS导致血管衰老的观点最早由Harman在1956年提出^[6]。内皮细胞过量ROS来源于:(1)NADPH氧化酶(NADPH oxidase, NOX)、脱偶联的NO合酶(NO synthase, NOS)、黄嘌呤氧化酶催化;(2)线粒体氧化呼吸链电子传递;(3)抗氧化物质生成减少。

在衰老大鼠或小鼠模型的不同血管床,如大小鼠主动脉、大鼠冠状动脉等,均发现过量超氧阴离子^[7]。一些研究发现衰老肠系膜动脉产生 NO 能力并未减弱,但 NO 生成后立即被过量的 O_2^- 结合而产生过氧化亚硝酸盐(Peroxynitrite, $ONOO^-$)。 $ONOO^-$ 氧化性极强可直接结合巯基、脂质、氨基酸残基(酪氨酸、组氨酸等)和 DNA 碱基,损伤血管内皮细胞和血管平滑肌细胞中核酸和多种蛋白而造成血管衰老^[8]。此外, $ONOO^-$ 一方面可直接氧化 BH4,经氧化修饰的 BH4 被降解而降低 eNOS 生成 NO 的能力。 $ONOO^-$ 另一方面造成 eNOS 脱偶联^[9],脱偶联后不再生成 NO 却转变为催化生成 ROS;过量的 ROS 进一步结合 NO 生成过 $ONOO^-$,由此形成 NO 生物活性降低及 ROS 堆积的恶性循环,进一步降低血管舒张功能而诱发血管衰老。

2.2 瞬时受体电位通道概述 瞬时受体电位通道是一类非选择性阳离子通道,包括 28 个成员,共 6 种亚家族(TRPA, TRPC, TRPM, TRPV, TRPP, TRPML)。TRP 通道大多具有相似的拓扑结构:6 个跨膜结构,N-端和 C-端均位于胞浆,第 5、6 个跨膜结构形成孔径区;TRPC 和 TRPV 家族成员的 N-端均含有多个锚蛋白结合重复区;所有 TRP 通道的 N-端和 C-端均有磷酸化的位点;大部分通道含有 PI3K 识别结构域(YXXM 模序);钙调素结合区存在于大多数 TRPC 通道亚型和 TRPV6 亚型。据报道,绝大部分 TRP 通道均在内皮细胞中表达,但不同物种、不同部位的内皮细胞中,TRP 表达谱不同。表达于内皮细胞的 TRP 发挥多种作用,如调节血管张力、调控血管通透性、调节膜电位、血管新生和重构、感受机械刺激和温度刺激等^[10]。

2.3 瞬时受体电位通道、内皮一氧化氮合酶与一氧化氮释放 内皮一氧化氮合酶的结构包括 N-端氧化酶和 C-端还原酶。N-端氧化酶包含十四酰基而可被豆蔻酰化修饰,修饰后 eNOS 主要定位于细胞膜。十四酰基是决定 eNOS 细胞定位的唯一基团,突变后使 eNOS 变为可溶性蛋白而存在于细胞浆中。eNOS 膜定位对于其催化活性具有重要影响:首先,其催化底物精氨酸、催化辅因子 BH4 均存在于细胞膜小凹内;定位于膜上的 eNOS 在空间上更接近其底物和辅因子而有利于 NO 生成^[11]。其次,eNOS 的活性受棕榈酰化修饰调控,N-端第 15 位和第 26 位组氨酸可被棕榈酰化^[12];eNOS 必须先被豆蔻酰化修饰而定位于细胞膜后才能发生棕榈酰化修

饰,棕榈化也进一步稳定 eNOS 膜定位。此外,eNOS 膜定位有助于其接近跨膜 Ca^{2+} 通道并受 Ca^{2+} 调控。

胞浆 Ca^{2+} 升高主要依赖于细胞膜上 Ca^{2+} 通道介导细胞外 Ca^{2+} 内流^[13],eNOS 催化活性受 Ca^{2+} 调控。研究表明 Ca^{2+} 可从多个层面调控 eNOS 活性。首先,eNOS 的 N-端氧化酶和 C-端还原酶的交界区包含与钙调素结合的位点。胞浆内游离 Ca^{2+} 升高后结合钙调素, Ca^{2+} -钙调素结合到 eNOS 而直接调控其活性促进 NO 生成。其次, Ca^{2+} -钙调素可以调控 eNOS 棕榈化修饰,增强缓激肽等物质激活 eNOS 的作用^[14]。第三,缓激肽、胰岛素、血管内皮生长因子等物质激活 Akt 信号通路,磷酸化 eNOS 第 1177 位丝氨酸而促进 NO 生成^[15],但这一过程受 Ca^{2+} 调控。

因此,内皮细胞中 Ca^{2+} 通道可通过调控 NO 生成而影响血管衰老。TRP 通道是血管内皮中主要的 Ca^{2+} 通透性通道。内皮细胞 TRP 通道可直接介导 Ca^{2+} 内流或者改变细胞膜电位而调控 Ca^{2+} 内流驱动力,从而影响细胞浆内游离 Ca^{2+} 浓度。在血管内皮细胞中与 NO 生成密切相关的是瞬时受体电位阳离子(Transient receptor potential cation, TRPC)通道和瞬时受体电位香草素(Transient receptor potential vanilloid, TRPV)通道亚家族的部分成员。

TRPC 通道亚家族包含 7 个成员。TRPC3 通道 N-端 4 个重复锚蛋白和卷曲螺旋结构域形成一个“螺旋—环—螺旋- β -发夹/环”的结构域,可与多种蛋白相互作用形成多聚体。TRPC3 通道可形成同源四聚体或与其它 TRPC 通道形成异聚体,内皮细胞中可与 TRPC4 或 TRPC6 通道结合。TRPC3 主要介导 Ca^{2+} 内流,pCa/pNa 大约为 1.6^[16]。TRPC3 被认为是内皮细胞氧化还原状态的感受器。TRPC3 C-端含有钙调素结合位点、N-端具有小凹蛋白结合位点,这些结构域使得 TRPC3 介导的 Ca^{2+} 信号、钙调素以及小凹中的 eNOS 在空间上非常接近^[16]。TRPC3 介导 Ca^{2+} 内流后迅速与钙调素结合, Ca^{2+} -钙调素结合到 eNOS 而促进 NO 生成。TRPC3 抑制剂 SKF96365 和 Pyr3 可抑制 NO 释放。此外,TRPC3 受蛋白激酶 G(PKG)的调节,PKG 激活后磷酸化 TRPC3 的丝/苏氨酸而抑制通道功能^[17]。血管衰老时 PKG 活性增加而抑制 TRPC3 的活性,TRPC3 介导的 Ca^{2+} 内流降低而导致 NO 生成减少。

TRPV 家族包含 6 个成员。TRPV4 是非选择性阳离子通道,只能形成同源四聚体,主要介导 Ca^{2+} 内

流,介导 Ca^{2+} 内流的能力大约是 Na^{+} 内流 5 ~ 10 倍^[18]。TRPV4 参与 NO 的持续释放,TRPV4^{-/-}小鼠内皮细胞 NO 释放受损,是目前 TRPV4 参与调节 NO 释放最强有力的证据^[19]。

3 展 望

近年来报道 TRPM 家族成员可能通过调节 Ca^{2+} 内流驱动力而影响内皮细胞 NO 释放^[20]。尽管绝大部分 TRP 通道家族成员在内皮中表达,但这些通道调节内皮细胞 eNOS 活性及 NO 生成的机制并不清楚,在血管衰老中发挥的作用更有待进一步阐明。因此,需要从 TRP 通道转录调节、转录后调控、翻译后调控及修饰、通道门控调节等多角度,结合体外血管培养、血管内皮特异性敲除小鼠等多层次进行更深入的研究。

参考文献:

- [1] 陈伟,高润霖,刘力生,等.《中国心血管病报告 2015》概要[J].中国循环杂志,2016,31(6):521-528.
- [2] Bautista-Nino PK, Portilla-Fernandez E, Vaughan DE, et al. DNA damage: a main determinant of vascular aging[J]. Int J Mol Sci, 2016, 17(5): 70 - 76.
- [3] Zhao Y, Vanhoutte PM, Leung SW. Vascular nitric oxide: Beyond eNOS[J]. J Pharmacol Sci, 2015, 129(2): 83-94.
- [4] Abudukadier A, Fujita Y, Obara A, et al. Tetrahydrobiopterin has a glucose-lowering effect by suppressing hepatic gluconeogenesis in an endothelial nitric oxide synthase-dependent manner in diabetic mice [J]. Diabetes, 2013, 62(9): 3033-3043.
- [5] Chuaiphichai S, Crabtree MJ, McNeill E, et al. A key role for tetrahydrobiopterin -dependent endothelial NOS regulation in resistance arteries; studies in endothelial cell tetrahydrobiopterin-deficient mice [J]. Br J Pharmacol, 2017, 174(8): 657-675.
- [6] Fernandez-Marcos PJ. NADPH: new oxygen for the ROS theory of aging[J]. Oncotarget, 2016, 7(32): 50814-50815.
- [7] Campos-Mota GP, Navia-Pelaez JM, Araujo-Souza JC. Role of ERK1/2 activation and nNOS uncoupling on endothelial dysfunction induced by lysophosphatidylcholine[J]. Atherosclerosis, 2017, 258: 108-118.
- [8] Ma L, Wang K, Shang J, et al. Anti-peroxynitrite treatment ameliorated vasorelaxation of resistance arteries in aging rats: involvement with NO-sGC-cGKs pathway [J]. PLoS One, 2014, 9(8): 74-88.
- [9] Rudolf L. The role of arginase in endothelial dysfunction [M]. Switzerland: Frontiers Media SA, 2015: 54-57.
- [10] Earley S, Brayden JE. Transient receptor potential channels in the vasculature[J]. Physiol Rev, 2015, 95(2): 645-690.
- [11] Fujimoto T. FRET-based sensor analysis reveals caveolae are spatially distinct Ca^{2+} stores in endothelial cells[J]. Cell Calcium, 2013, 54(6): 395-403.
- [12] Rafikov R, Fonseca FV, Kumar S, et al. eNOS activation and NO function: structural motifs responsible for the posttranslational control of endothelial nitric oxide synthase activity [J]. J Endocrinol, 2011, 210(3): 271-284.
- [13] Parekh AB. Advances in intracellular Ca^{2+} signalling[J]. J Physiol, 2016, 594(11): 2811-2812.
- [14] Jin SW, Choi CY, Hwang YP, et al. Betulinic acid increases eNOS phosphorylation and NO synthesis via the calcium-signaling pathway[J]. J Agric Food Chem, 2016, 64(4): 785-791.
- [15] Hwang S, Lee HJ, Kim G, et al. CCN1 acutely increases nitric oxide production via integrin $\alpha\text{v}\beta 3$ -Akt-S6K-phosphorylation of endothelial nitric oxide synthase at the serine 1177 signaling axis [J]. Free Radic Biol Med, 2015, 89(2): 229-240.
- [16] Grayson TH, Murphy TV, Sandow SL. Transient receptor potential canonical type 3 channels: Interactions, role and relevance-a vascular focus [J]. Pharmacology & Therapeutics, 2017, 61(6): 455-460.
- [17] Huang JH, He GW, Xue HM, et al. TRPC3 channel contributes to nitric oxide release: significance during normoxia and hypoxia-reoxygenation [J]. Cardiovasc Res, 2011, 91(3): 472-482.
- [18] Nilius, Bernd, Flocker zi. Transient receptor potential channels [M]. US: Springer, 2014: 293- 319.
- [19] Du J, Wang X, Li J, et al. Increasing TRPV4 expression restores flow-induced dilation impaired in mesenteric arteries with aging[J]. Sci Rep, 2016, 85(6): 227-240.
- [20] Earley S, Brayden JE. Transient receptor potential channels in the vasculature[J]. Physiol Rev, 2015, 95(2): 645-690.

(本文编辑:蒋湘莲)