

TRPV4 离子通道和机械敏感性*

王艳琴¹ 岳寿伟² 郝淑燕¹

TRPV4 通道是瞬时感受器电位离子通道家族(transient receptor potential, TRP)香草素受体亚家族(transient receptor potential vanilloid, TRPV)成员,属非选择性阳离子通道,对钙离子具有适中通透性,可被生物体内外环境中机械力、热、低渗、剪切力、佛波醇酯衍生物等多种理化刺激所激活,参与维持机体内环境的稳定,对机体许多生理功能的正常完成具有重要意义。本文将对 TRPV4 通道性质,着重是其机械敏感性和通道活化机制的多样性特点等进行综述,并对该通道在疼痛、机械压力损伤等常见症状疾病的临床康复中所起作用做出展望。

1 TRPV4 离子通道概述

1.1 TRPV 离子通道与 TRPV4 离子通道

TRP 离子通道家族中包括从酵母细胞(蠕虫)到人类(哺乳动物)的 50 多种非选择性阳离子通道,根据通道结构的同源性可将通道分为 TRPC (canonical)、TRPV (vanilloid)、TRPM (melastatin)、TRPML (mucolipin)、TRPP (polycystin)、TRPA (ankyrin)、TRPN (nomenchanopotential, NOMP) 七个亚家族。TRPV 通道在高等生物和低等生物中分布非常广泛。哺乳动物 TRPV 通道亚家族中除 TRPV4 离子通道之外还包括五个成员,具体可分为四个亚组^[1]:TRPV1/TRPV2、TRPV3、TRPV4、TRPV5/TRPV6,该亚家族成员均以四聚体的形式发挥作用,其中 TRPV1、2、3、4 对钙离子具有适中通透性,PCa/PNa 为~1~10^[2]。TRPV5/TRPV6 具有高度钙离子通透性,PCa/PNa 均大于 100。亚家族中各成员具有相似的结构特征,包括 6 个跨膜区(T1—T6)和位于 T5 与 T6 区之间的攀环结构,通道的氨基端存在 3—4 个锚连蛋白重复区(ankyrin repeat domains, ANK),羧基端含一 TRP 区。TRPV4 通道又称 VR—OAC、OTRPC4、TRP12 或 VRL—2^[3],其首次克隆和在异源系统中的表达是建立在与线虫 OSM—9 同源性的基础上^[4]。TRPV4 通道染色体定位于 12q24.1,外向整流,PCa/PNa 为 6.9^[5]。低渗、热刺激、机械力等刺激对该通道的激活作用及相应活化机制是研究者关注的焦点。目前研究 TRPV4 通道的常用方法有:建立 TRPV4 基因敲除小鼠模型,观察小鼠对各种刺激敏感性的变化^[6];观察 TRPV4 通道低等生物线虫类同源物 OSM—9 的有关性质,从而对高等生物 TRPV4 通道性质做出适当推断;将 TRPV4 基因转染入中国仓鼠卵巢细胞(Chinese hamster ovary cell, CHO)或人胚肾细胞(human embryonic kidney 293 cells, HEK—293)中,观察细胞转染后表型的变化^[6]。

1.2 TRPV4 离子通道的分布和活化机制多样性

早期有关 TRPV4 离子通道的报道多集中于其在脊椎动物中渗透压敏感性(osmosensitive)^[8]和机械敏感性的描述^[7]。TRPV4 通道在生物体许多组织、器官中均有表达,可感受低渗引起的细胞膨胀、热、佛波醇酯衍生物、细胞内外钙离子浓

度、花生四烯酸等理化刺激,因此被称为多觉感受器,例如分布于肾小管上皮细胞、汗腺、耳蜗血管纹细胞、气管上皮细胞、脑室周围器官中的渗透压敏感性细胞中感受周围环境中的低渗刺激^[9],发挥渗透压感受器的作用;在心肌、血管内皮细胞上作为钙离子通透性机械敏感性离子通道,参与剪切力诱导下的钙离子内流,调节心肌的兴奋性和血管紧张性;位于下丘脑温敏区感受生理范围内温度刺激,调节体温温度,此外通道在脂肪组织、脾、黏膜下腺、肺、交感神经节、三叉神经节、背根神经节上均有不同程度的表达^[10],TRPV4 通道分布的广泛性更进一步支持其多觉感受器的功能。各种刺激因素对 TRPV4 激活机制不尽相同,在复杂多变的生物体内环境中,各种激活机制相互影响,相互制约,形成了复杂的 TRPV4 活化体系。

Strotmann 等^[11]发现 TRPV4 离子通道活性受细胞内外钙离子浓度的双重调节,其中,胞内[Ca²⁺]的适度升高可显著提高低渗液、热、佛波醇酯衍生物等刺激因素激活该通道的速度和幅度,胞外[Ca²⁺]的减少又可使 TRPV4 通道自发电位和低渗、热激活电位明显降低,胞内[Ca²⁺]过度升高后通道活性又可被 Ca²⁺依赖性负反馈机制所阻断,认为这可能与细胞钙超载有关。Strotmann 等研究还发现,在胞外[Ca²⁺]存在前提下,伊屋诺霉素(ionomycin)引起的胞内[Ca²⁺]大幅升高对 TRPV4 通道电流具有先激活后抑制的双重作用。Gao 等^[12]证实温度可以调节各种刺激对已转染 TRPV4 基因的 HEK—293 细胞离子通道的活化作用,室温 22—24℃ 下低渗介质、4 α 佛波醇—12,13 酯(4 α —Phorbol 12,13—didecanoate)对 TRPV4 通道具有温和的激活作用,但同样条件下 12—肉菝葜—13 醋酸佛波醇酯和剪切力几乎不能激活通道。研究证明温度可直接激活 TRPV4 通道产生一种瞬时电流,阈值温度范围大约是 30℃—43℃^[13],此外生理范围内温度的适度升高可以敏化其他刺激如低渗介质、剪切力等对通道的活化作用^[12]。钉红可以阻断上述各种理化刺激对 TRPV4 通道的激活。

2 TRPV4 通道的机械敏感性

机械敏感性是生物体感受声波、触压刺激、渗透压改变、张力、流体剪切力、平衡觉等刺激的生物物理学基础,例如声波引起内耳毛细胞上纤毛的摆动,摆动刺激通过激活某种通道将机械刺激转化为电信号,进而传到大脑,机体产生听觉。近年来,有关机械敏感性的研究取得较大进展,通过对低等生物的遗传筛查鉴定出一些机械敏感性相关的分子组件,真

* 基金项目:国家自然科学基金项目(30472006)

1 山东大学齐鲁医院康复医学科,济南,250012

2 通讯作者:岳寿伟(山东大学齐鲁医院康复医学科,济南,250012)

作者简介:王艳琴,女,硕士研究生

收稿日期:2006—08—24

核生物的机械敏感性离子通道至少包括两种互不相关的通道家族: DEG/ENaC (退化蛋白/上皮钠通道家族) 家族和 TRP 离子通道家族^[14]。在 TRP 家族中, 早期研究发现 TRPV4 离子通道与线虫机械敏感性离子通道 OSM-9、牵张失活性离子通道 SIC 等具有高度同源性, 同时果蝇的机械敏感性离子通道 NAN(nanchung)、IAV(inactive)转染入哺乳动物细胞, 可表现出与 TRPV4 阳性表达细胞非常相似的渗透压敏感性^[15]。

TRPV4 离子通道机械敏感性主要表现在低渗引起的细胞肿胀、流体剪切力、压力等机械因素对通道的激活作用上:

2.1 TRPV4 通道与渗透压敏感性

Liedtke^[16]认为在细胞水平上, 渗透压刺激可以理解为机械刺激, 因为渗透压刺激引起细胞容积的变化能够改变膜紧张性, 机械力作用方向与质膜方向平行, 然而如果质膜是松弛的, 则在病变形成过程中, 细胞体积的变化就不会对膜紧张度造成很大的影响。对酵母细胞的研究我们发现, 渗透压刺激还可以特定激活胞内磷酸化和去磷酸化信号级联系统。该现象在哺乳动物中也同样存在。这里存在两种基本的反应模式: 其一, 渗透压刺激引起质膜的机械兴奋。其二, 渗透压刺激可激活胞内磷酸酯酶/激酶信号级联系统, 这两种信号级联系统并不一定是相互排斥的。虽然渗透压刺激可以作为机械刺激, 但是某些机械刺激作用于细胞时并不伴有张力的改变, 辅助支持细胞比一般的细胞更易进行动力学传导。

Nilius 等^[17]用膜片钳研究 TRPV4 通道渗透压敏感性时发现, 质膜内外同时使用浓度相同的低渗液, 细胞不发生膨胀, 通道不能被激活, 故认为 TRPV4 离子通道不是由低渗介质激活, 而是由低渗所引起的细胞体积膨胀所激活, 具体机制可能与酪氨酸激酶磷酸化有关, 而与膜牵张无关。

Daniel 等^[18]研究认为, 许多脊椎动物细胞在低渗环境中发生细胞肿胀后会伴随有一种调节性的细胞体积减小(regulatory volume decrease, RVD), 这种 RVD 现象需要 TRPV4 通道的参与。Liu 等^[9]发现水通道蛋白-5(aquaporin-5, AQP-5)可以调节低渗条件下 TRPV4 通道的激活, TRPV4 通道与 AQP-5 协调完成细胞的自我保护性 RVD 反应。

2.2 TRPV4 通道与流体剪切力

已知 TRPV4 离子通道在肾远曲小管、集合小管上皮细胞^[19]、血管内皮细胞^[20]、血管平滑肌细胞等组织中大量分布, 这些组织内均有流体剪切力依赖性钙离子内流, 生理温度范围内, 转染 TRPV4 的 HEK-293 细胞可表现出显著的流体剪切力敏感性, 在室温下^[21], 流体剪切力不能激活 TRPV4 通道。Neil 等^[21]发现生理温度下流体剪切力可促进小鼠肾 M-1 集合小管细胞上内源性 TRPV4 通道的活化。Koehler 等^[22]研究发现血液流动剪切力诱导开放的 TRPV4 通道可启动 NO 和内皮衍生超极化因子 (endothelium-derived hyperpolarizing factor, EDHF) 依赖性血管舒张反应, 在剪切力作用下血管内皮细胞对血管紧张性的调节过程中 TRPV4 通道发挥了重要作用。

2.3 TRPV4 通道与皮肤触压觉

Suzuki 等^[23]用免疫组化的方法发现 TRPV4 通道蛋白在小鼠背根神经节小直径神经元($\leq 20\mu\text{m}$, 低阈值)和大直径神经元($\geq 30\mu\text{m}$, 高阈值)中均有分布, 在游离神经末梢上也有

表达, 此外, TRPV4 通道蛋白与神经微丝-200 蛋白(neurofilament 200, NF-200)共表达于真皮乳头层中的 Meissner 细胞、Merkel 小体以及表皮内帚样末梢 (penicillate and intraepidermal terminals) 等皮肤机械感受器中, 在毛囊和纤维鞘等组织中 TRPV4 蛋白表达为阴性, Suzuki 研究认为, TRPV4 通道经 A 类纤维和 C 类纤维传导皮肤的触压觉, 该通道分布于对低阈值机械刺激敏感的 Ruffini 末梢上, 部分参与机体对低阈值机械刺激的感知。TRPV4 基因敲除小鼠经 A 类纤维传导的快适应和慢适应高阈值机械刺激的感觉功能均受损。

Suzuki 等研究还发现 TRPV4 基因敲除小鼠对尾部受压引起的疼痛刺激反应性下降, 且对乙酸刺激引起的腹腔疼痛不敏感。对热刺激的感知功能不受影响。TRPV4 正常小鼠和基因敲除小鼠对低阈值毛针机械刺激的感受性没有差别。

2.4 TRPV4 通道与听觉

Kim 等^[24]用原位杂交办法发现 TRPV4 通道在内耳内毛细胞、外毛细胞、耳蜗血管纹、螺旋神经节上均有分布。Keiji 等^[25]对 TRPV4 基因敲除小鼠的听力传导功能进行观察, 发现 8 周龄基因敲除小鼠的听脑干反应阈值较正常无明显变化, 而 24 周龄基因敲除小鼠的相应阈值明显升高。受 128kHz 的声音刺激连续作用一周, TRPV4 基因敲除小鼠与正常小鼠比较, 前者听阈流显著大于后者, 这说明破坏 TRPV4 基因会导致一种延迟发生的听力障碍, 同时内耳对伤害性声音刺激的保护反应明显减弱, 易受有害声音刺激的损害。TRPV4 基因敲除小鼠耳蜗外毛细胞受到低渗或 4- α 佛波醇酯刺激后的钙离子反应不明显, 而正常小鼠受这两种刺激后外毛细胞内钙离子浓度显著升高, 这些说明 TRPV4 通道在内耳发挥机械感受器功能。

2.5 TRPV4 通道与伤害性感觉传导

TRPV4 通道对伤害性刺激的感受能力受其机械敏感性和渗透压敏感性调节。Alessandri 等^[26]用膜片钳研究不同渗透压下离体培养的背根神经节神经元膜电势的变化时发现, 低渗液 (219mOsm) 可诱导敏感神经元膜去极化 (从 $54\pm 4\text{mV}$ 到 $40\pm 5\text{mV}$)。低渗刺激可激活 54% 的 C 类纤维, 此效应可被炎性痛敏介质 PGE2 所增强。Western-blot 技术证明 TRPV4 在感觉神经纤维中广泛分布, 并可被转运到外周神经末梢, 同时应用反义诱导技术证明 TRPV4 通道参与低渗刺激对伤害性感受器的敏化过程, 其中低渗刺激可使伤害性感受器胞内钙离子的浓度升高, 故 TRPV4 是低渗刺激诱导伤害性感受的感觉换能器。

TRPV4 通道除对炎性疼痛有诱导作用, 可能还参与神经痛的诱导, Alessandri 等^[27]通过建立大鼠紫杉醇诱导的周围神经痛模型, 研究 TRPV4 通道在紫杉醇致痛效应中的作用机制: 紫杉醇疗法可导致周围神经纤维痛, 使用该药后, 机械刺激和低渗刺激对大鼠后爪的致痛效应明显增强, 应用反义寡核苷酸技术减少 TRPV4 蛋白在感觉神经中的表达, 可消除紫杉醇引起的机械痛敏, 并将紫杉醇诱导的低渗痛敏反应程度降低 42%, 对两种痛敏作用效果的差异缘于低渗所致痛敏部分原因是由初级传入神经纤维的渗透压转导敏化所致, 离体培养背根神经节神经元也会增强渗透压传导。研究还证明紫杉醇诱导 TRPV4 介导的痛觉过敏和渗透压感受器增敏

效应由整联蛋白/Src 酪氨酸激酶信号系统转导。

3 小结

综上所述, TRPV4 离子通道多觉感受器的功能及在机体内分布的广泛性为其在机体内生理功能的发挥奠定了坚实的基础, 研究表明, TRPV4 通道对机体应对外界刺激, 维持内环境稳定具有重要意义, 对其机械敏感性的研究更为临床上诸如病理性疼痛、触压觉障碍、听力受损、本体感觉障碍、体液平衡失调等功能障碍的研究提供新的思路, 尤其是对其机械门控机制和相关致痛机制的研究, 将可增进我们对背根神经节受压引起慢性腰腿痛等根性神经痛症状病理生理机制的了解, 有助于慢性疼痛临床康复方案的改进和新型镇痛药物的研制开发。目前国内外对 TRPV4 通道机械敏感性的研究多集中于揭示其生理功能和门控机制, 对其分子水平信号转导通路及与细胞微环境相互作用关系的了解有待于今后进一步的研究。

参考文献

- [1] Montell C, Birnbaumer L, Flockerzi V, et al. A unified nomenclature for the superfamily of TRP cation channels [J]. *Mol Cell*, 2002, 9: 229—231.
- [2] Alexander SP, Mathie A, Peters JA. Guide to receptors and channels [J]. *Br J Pharmacol*, 2004, 141 (Suppl 1): S1—126.
- [3] Clapham DE. TRP channels as cellular sensors [J]. *Nature*, 2003, 426: 517—524.
- [4] Hayes P, Meadows HJ, Gunthorpe MJ, et al. Cloning and functional expression of a human orthologue of rat vanilloid receptor-1 [J]. *Pain*, 2000, 88: 205—215.
- [5] Liedtke W, Friedman JW. Abnormal osmotic regulation in *trpv4*^{-/-} mice [J]. *PNAS*, 2003, 100: 13698—13703.
- [6] Nilius B, Prenen J, Wissenbach U, et al. Differential activation of the volume-sensitive cation channel TRP12 (OTRPC4) and volume-regulated anion currents in HEK-293 cells [J]. *Pflügers Arch Eur J Physiol*, 2001, 443: 227—233.
- [7] Wissenbach U, Bodding M, Freichel M, et al. Trp12, a novel Trp related protein from kidney [J]. *Federation of European Biochemical Societies Letters*, 2000, 485: 127—134.
- [8] Delany NS, Hurle M, Facer P, et al. Identification and characterization of a novel human vanilloid receptor-like protein, VRL-2 [J]. *Physiol Genomics*, 2001, 4: 165—174.
- [9] O'Neil RG, Heller S. The mechanosensitive nature of TRPV channels [J]. *Pflügers Arch Eur J Physiol*, 2005, 451: 193—203.
- [10] Huang CL. The transient receptor potential superfamily of ion channels [J]. *J Am Soc Nephrol*, 2004, 15: 1690—1699.
- [11] Strotmann R, Schultz G, Plant TD. Ca²⁺-dependent potentiation of the nonselective cation channel TRPV4 is mediated by a C-terminal calmodulin binding site [J]. *The Journal of Biological Chemistry*, 2003, 278: 26541—26549.
- [12] Gao XC, Wu L, O'Neil RG. Temperature-modulated diversity of TRPV4 channel gating: activation by physical stresses and phorbol ester derivatives through protein kinase C dependent and independent pathways [J]. *J Biol Chem*, 2003, 278 (29): 27129—27137.
- [13] Watanabe H, Vriens J, Suh SH, et al. Heat-evoked activation of TRPV4 channels in a HEK293 cell expression system and in native mouse aorta endothelial cells [J]. *J Biol Chem*, 2002, 277: 47044—47051.
- [14] Gillespie PG, Walker RG. Molecular basis of mechanosensory transduction [J]. *Nature*, 2001, 413: 194—202.
- [15] Liedtke W, Tobin DM, Bargmann CI, et al. Mammalian TRPV4 (VR-OAC) directs behavioral responses to osmotic and mechanical stimuli in *Caenorhabditis elegans* [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2003, 100 (Suppl 2): 14531—14536.
- [16] Liedtke W. TRPV4 plays an evolutionary conserved role in the transduction of osmotic and mechanical stimuli in live animals [J]. *J Physiol*, 2005, 567, 1: 53—58.
- [17] Nilius B, Prenen J, Wissenbach U, et al. Differential activation of the volume-sensitive cation channel TRP12 (OTRPC4) and volume-regulated anion currents in HEK-293 cells [J]. *Pflügers Arch*, 2001, 443: 227—233.
- [18] Becker D, Blase C, Bereiter-Hahn J, et al. Christopher Blase, Juergen Bereiter-Hahn, et al. TRPV4 exhibits a functional role in cell-volume regulation [J]. *Journal of Cell Science*, 2005, 118, 2435—2440.
- [19] Liu W, Xu S, Woda C, et al. Effect of flow and stretch on the [Ca²⁺]_i response of principal and intercalated cells in cortical collecting duct [J]. *Am J Physiol*, 2003, 285: F998—F1012.
- [20] Watanabe H, Vriens J, Suh SH, et al. Heat-evoked activation of TRPV4 channels in a HEK293 cell expression system and in native mouse aorta endothelial cells [J]. *J Biol Chem*, 2002, 277: 47044—47051.
- [21] O'Neil RG, Gao X, Wu L. Mechanosensitive nature of the TRPV4 channel in renal epithelia revealed by siRNA gene silencing [J]. *FASEB J*, 2005, 19: A1163.
- [22] Koehler R, Heyken WT, Heinau P, et al. Evidence for a functional role of endothelial transient receptor potential V4 in shear stress-induced vasodilatation [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2006, 26(7): 1495—1502.
- [23] Suzuki M, Watanabe Y, Oyama Y, et al. Localization of mechanosensitive channel TRPV4 in mouse skin [J]. *Neuroscience Letters*, 2003, 353: 189—192.
- [24] Kim J, Chung YD, Park DY, et al. A TRPV family ion channel required for hearing in *Drosophila* [J]. *Nature*, 2003, 424: 81—84.
- [25] Tabuchi K, Suzuki M, Mizuno A, et al. Hearing impairment in TRPV4 knockout mice [J]. *Neuroscience Letters*, 2005, 382: 304—308.
- [26] Alessandri-Haber N, Yeh JJ, Boyd AE, et al. Hypotonicity induces TRPV4-mediated nociception in rat [J]. *Neuron*, 2003, 39: 497—511.
- [27] Alessandri-Haber N, Dina OA, Yeh JJ, et al. Transient receptor potential vanilloid 4 is essential in chemotherapy-induced neuropathic pain in the rat [J]. *The Journal of Neuroscience*, 2004, 24(18): 4444—4452.
- [28] Liu X, Bandyopadhyay BB, Nakamoto T, et al. A role for AQP5 in activation of TRPV4 by hypotonicity: concerted involvement of AQP5 and TRPV4 in regulation of cell volume recovery [J]. *Biol Chem*, 2006, 281(22): 15485—15495.