

气道平滑肌钾通道对哮喘作用的研究进展

洪 璨 武 怡

摘 要 钾离子通道是细胞非常重要的离子通道之一,广泛存在于气道平滑肌细胞,深入了解其的结构和功能,有助于揭示其调控机制,进一步为临床治疗哮喘提供新的有效的治疗策略。本文结合近年来钾通道对哮喘作用的文献,就气道平滑肌细胞张力调控、增殖、迁移和表型转变的研究做一综述。

关键词 气道平滑肌 钾离子通道 哮喘

[中图分类号] R562

[文献标识码] A

支气管哮喘是一种气道慢性炎症疾病,气道重塑是其重要的病理改变,临床上以突出表现为气道高反应性,可逆或部分可逆的气道阻塞,发作性的呼气性呼吸困难。目前治疗哮喘的主要药物仍旧是激素类,但多项试验研究证明,早期激素类药物的使用并不能完全逆转哮喘气道重塑,临床研究也显示一部分耐激素型的重症哮喘患者治疗效果不佳,因此,寻求新的治疗哮喘的有效途径是当下研究的热点。钾离子通道是最为复杂的一类离子通道,广泛存在于各组织中执行着非常重要的生物功能。钾离子通道也广泛存在于气道平滑肌细胞(airway smooth muscle cells, ASMCs),是各种生化因子的作用目标,了解其结构和功能有重大意义,可为哮喘的防治提供新的靶点和思路。

一、钾通道分类

钾通道在 ASMCs 的兴奋性调控中具有重要的生理意义,参与维持细胞的膜电位及阈电位水平,促进复极化,稳定细胞的兴奋性。多项研究表明 ASMCs 至少存在 ATP 敏感钾离子通道(ATP-sensitive K^+ channels, KATP)、钙激活钾通道(calcium-activated K^+ channels, K_{Ca})、电压依赖性钾离子通道(voltage-dependent K^+ channels, Kv),其中 K_{Ca} 分为 3 种:大电导钙激活钾通道(large conductance calcium-activated potassium channels, BK_{Ca})、中电导钙激活钾通道(intermediate conductance calcium-activated potassium channels, IK_{Ca})、小电导钙激活钾通道(small conductance calcium-activated potassium channels, SK_{Ca})。本文重点介绍近年来有关哮喘机制研究较多的 BK_{Ca} 、 IK_{Ca} 、Kv。

二、钾通道的结构和功能

1. BK_{Ca} : BK_{Ca} 气道平滑肌细胞上分布最广泛的钾通道之一,1991 年,Atkinson 等首次由果蝇中克隆出 BK_{Ca} 通道,它由 α -亚单位和 β -亚单位共同组成,其中 α -亚单位是结构亚单位,构成孔道,由 Slo1 (KCNMA1) 基因编码,分为跨膜区和细胞内 C-末端区两部分。跨膜区由 7 个跨膜片段($S_0 \sim S_6$) 构成, β -亚单位是调节亚单位,感受 Ca^{2+} 及电压的变化,从而调控通道的动力学特性。已发现 BK_{Ca} 通道有 4 种不同类型的 β -亚单位($\beta 1 \sim \beta 4$),研究显示 BK 钙通道在人的气道平滑肌细胞亚型表达 $\beta 1$ 亚基^[1],这与小鼠气管平滑肌上发现表达 $\beta 1$ 亚基是一致的^[2]。 BK_{Ca} 依赖电压和胞内 Ca^{2+} 浓度双重调节来限制 Ca^{2+} 内流,对细胞的兴奋起到负反馈调节的作用。

2. IK_{Ca} : 1997 年, Ishii 等^[3] 从人胰腺组织中克隆出 $K_{Ca}3.1$ (IK_{Ca}) 的编码基因 KCNN4,位于第 19 号染色体(19q13.2)。 $K_{Ca}3.1$ 含有 428 个氨基酸,肽链的 N、C 末端终止于膜内侧,以及 $S_1 \sim S_6$ 的 6 个 α 螺旋结构的疏水跨膜域组成,同源四聚体合并成 1 个有功能的 $K_{Ca}3.1$ 通道蛋白^[3,4]。 $K_{Ca}3.1$ 是非电压依赖性通道,因细胞内钙离子与钙调蛋白结合而激活,钙调蛋白位于 C 末端,起钙离子感受器的作用。 $K_{Ca}3.1$ 分布在多种不同类型的细胞上,Shepherd 等^[5] 第 1 次证实了该通道也表达于正常以及哮喘的人体的 ASMCs 上。

3. Kv: 近年来的研究已证实 Kv 通道基因是个超级家族,存在着许多基因亚型。Kv 通道在维持静息膜电位中起重要作用。电压依赖性 K^+ 通道 Kv7 家族是目前研究的热点,由 KCNQ 基因编码。其具有 6 种不同类型的 $S_1 \sim S_6$ 跨膜结构, $S_1 \sim S_4$ 这 4 个跨膜结构构成了通道的电压感受器,N、C 末端均在胞内。

到目前为止,一共发现 5 个家族成员:Kv7.1 ~ Kv7.5^[6]。在人的 ASMCs 中的表达模式与鼠的动脉平滑肌细胞类似,表达 KCNQ1、KCNQ4 和 KCNQ5 基因,几乎不表达或者很少表达 KCNQ2 和 KCNQ3,不象其他类型的电压依赖的 K⁺ 通道,Kv7 通道是可在非常低的电压(约 -60mV)被激活和在多种类型的可兴奋细胞中维持的静息膜电压的稳定^[7]。

三、钾离子通道与平滑肌的张力调控

BK_{Ca} 在 ASMCs 上大量存在,被认为是控制气道张力调控的一个重要的途径。气道平滑肌大量存在毒蕈碱受体,刺激这些受体抑制 BK_{Ca} 负反馈的调节器,从而促进收缩。副交感神经激活 M3 和 M2 毒蕈碱型乙酰胆碱受体,调节控制气道平滑肌收缩的肌质网钙释放。BK_{Ca} 的 $\beta 1$ 基因的敲除可增强 M2 受体介导的平滑肌收缩^[8]。Zhou 等^[9] 研究发现,毒蕈碱型受体通过磷脂酶 C - PKC 路径抑制气道平滑肌 BK_{Ca} 通道活性,但是否有其他途径参与仍是未知的。另外缓激肽是一种炎性介质,可激活 BK_{Ca} 通道。ASMCs 通过细胞色素 P - 450 (CYP - 450) ω - 羟化酶等各种酶途径代谢花生四烯酸(AA),产生 20 - 羟二十碳四烯酸(20 - HETE),从而激活 BK_{Ca} 通道,使人体 ASMCs 超极化和舒张^[10]。还有 IL - 4,是哮喘病理生理的一个重要的细胞因子,已知的可促进哮喘表型的细胞因子,可迅速增加 BK_{Ca} 通道在正常人体 ASMCs 的活性,有利于细胞松弛^[11]。

另外,K_v 通道也参与调节细胞的张力效应。最近,布吕格曼等首先发现 KCNQ 通道均可表达在豚鼠和人体 ASMCs 上,封锁 KCNQ 通道明显增强组胺、乙酰胆碱引起的 ASMCs 收缩^[12]。

事实上,KCNQ 和 BK_{Ca} 通道的作用被认为可能是互补的。细胞内钙离子低时,低电压阈值的 KCNQ 通道可能控制静息膜电位,由于膜电位去极化和胞内钙离子升高,BK_{Ca} 通道被激活,在毒蕈碱信号中影响更大。KCNQ 通道是 BK_{Ca} 通道激活时控制气道收缩的重要补充,KCNQ 通道可以通过激动剂对抗毒蕈碱诱发的收缩^[13]。已有实验证明硝普钠能部分开放被动致敏的人体 ASMCs 的 BKCa 和 Kv 通道,使 ASMCs 极化,降低其兴奋性,使气道松弛^[14]。

四、钾通道与气道平滑肌增殖和迁移

多项研究均证实,ASMCs 的增殖是造成哮喘患者气道阻塞、气道重塑的首要原因,另外,ASMCs 迁移也是哮喘气道重塑形成的一个需要重视的因素。其具体机制尚不明确。可以肯定的是,是通过多条途

径的联合作用,而不是靠单一的某个通路来实现。钾离子通道就是其中一个重要的信号通路。

细胞进入细胞周期需要 K⁺ 通道的激活,进入 G₂ 期和 S 期的细胞数量增多,促进细胞的增殖^[15]。K⁺ 通道激活介导的超极化能调节 Ca²⁺ 信号,以改变细胞的功能,有选择地激活平滑肌的生长机制,如生长因子基因的表达,参与细胞分裂激酶和其他进程的激活和磷酸化^[16,17]。

近些年研究较多的 K_{Ca}3.1 通道,调节多种不同类型细胞的活化、增殖、迁移,包括气道的炎症及结构细胞,但是其机制和功能还有待探索。碱性成纤维细胞生长因子(FGF)和 TGF - β 可刺激气道平滑肌 K_{Ca}3.1 表达上调,抑制该通道可导致有丝分裂原刺激细胞的生长的停滞^[5]。

Cruse 等^[18] 通过对体外培养健康受试者和哮喘患者外周血纤维细胞的研究,证实了封锁 K_{Ca}3.1 通道能明显抑制成纤维细胞的迁移,ASMCs 部分可由成纤维细胞分化而来,间接提示了封锁 K_{Ca}3.1 通道可能于 ASMCs 会有相似的效果。血小板衍生生长因子(PDGF),众所周知是有丝分裂原,也是细胞迁移的趋化因子,有研究显示 PDGF 可以上调 K_{Ca}3.1 在气道平滑肌上的表达,从而诱导平滑肌细胞的迁移性生长^[19]。

最近的研究证实了特定的 K_{Ca}3.1 阻滞剂 TRAM - 34 可减少嗜酸性粒细胞,减轻气道重塑^[20]。Yu 等^[19] 进一步证实,TRAM - 34 通过增加 Th2 型细胞因子和减少 Th1 型细胞因子抑制卵清蛋白诱导的气道炎症,减少上皮细胞外基质沉积、杯状细胞增生,以及气道高反应性。从药理、基因上封锁 K_{Ca}3.1,可抑制哮喘 ASMCs 增殖和迁移,并使细胞周期停滞在 G₀/G₁ 期。以上的研究表明 K_{Ca}3.1 在以气道炎症和重塑为特征的哮喘中重要的作用,可以推测 K_{Ca}3.1 受体阻滞剂可能为临床提供新的有效的治疗策略。

五、钾通道与哮喘平滑肌细胞表型转变

支气管哮喘气道重塑的发生和发展机制是极其复杂的病理生理过程,而气道平滑肌在其中所起的作用受到重视,它不仅参与气道壁的收缩和增殖,而且在细胞外因子刺激下可能有表型的转变,即从收缩型转变为合成型(也称增殖型)平滑肌细胞,从而发挥哮喘“炎症细胞”的功能^[20,21]。

大电导和中电导通道表达的变化是伴随着血管平滑肌细胞“收缩”和“增殖”特征的表型调节的,收缩表型的血管平滑肌细胞高度表达 BK_{Ca},而增生表

型主要表达 IK_{Ca} 。气道重塑被认为涉及呼吸道细胞的表型转化,包括平滑肌细胞,获得改变的增殖表型。ASMCs 的表型转变与血管平滑肌相比有类似的地方,虽然各种不同细胞间存在细胞特异性的差异,但是其机制对研究 ASMCs 表型转变有很多值得借鉴的。因此我们推测在哮喘气道重构 ASMCs 表型转换中 BK_{Ca} 可能下调, IK_{Ca} 表达上调,其机制尚不清楚,是一个相对没被探及的领域。

六、展 望

现阶段,糖皮质激素仍是临床治疗哮喘的最重要的药物,多项数据显示,该药对约 90% 的哮喘患者是有效的,但有 10% 的患者疗效不佳。这些重症或难治患者难以得到有效治疗,针对炎症反应的新型治疗方法不断涌现,如抗 TNF- α 、抗白介素 (IL)-4,但到今天为止,其治疗效果一直令人失望,因此临床需要新的不同作用机制的抗哮喘药物。研究如何提高 BK_{Ca} 、 K_v 通道活性,可能成为哮喘支气管扩张剂为缓解气道挛缩提供治疗价值。研究如何抑制 $K_{Ca}3.1$ 通道活性的方法,可能部分抑制哮喘的炎症反应及气道重塑。而钾离子通道选择性表达与平滑肌细胞表型转变的机制的探索,为进一步研究预防或早期逆转哮喘气道重塑提供了全新的靶点。

最近的研究发现, $K_{Ca}3.1$ 通道阻滞剂导致耐氟替卡松 CX3CL1、CCL5、CCL11 基因和蛋白质表达的显著降低, $K_{Ca}3.1$ 通道阻滞剂也恢复氟替卡松诱导 GC- α 受体的磷酸化。封锁 $K_{Ca}3.1$ 可以提高糖皮质激素在严重哮喘治疗中的活性。而口服活性 $K_{Ca}3.1$ 阻滞剂 ICA-17043 已经研发出来并进入临床试验阶段。这为重症哮喘,尤其是激素耐药的哮喘患者带来了曙光。笔者相信钾离子通道已成为哮喘治疗的重要靶点,在未来钾离子通道的研究会取得丰硕的成果。

参考文献

- Martin G, O'Connell RJ, Pietrzykowski AZ, *et al.* Interleukin -4 activates large - conductance, calcium - activated potassium (BK_{Ca}) channels in human airway smooth muscle cells [J]. *Exp Physiol*, 2008, 93(7):908 - 918
- Semenov I, Wang B, Herlihy JT, *et al.* BK Channel $\beta 1$ subunit regulation of calcium handling and constriction in tracheal smooth muscle [J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2006, 291(4):802 - 810
- Ishii TM, Silvia C, Hirschberg B, *et al.* A human intermediate conductance calcium - activated potassium channel [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1997, 94(21):11651 - 11656
- Maher AD, Kuchel PW. The Gárdos channel: a review of the Ca^{2+} - activated K^+ channel in human erythrocytes [J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2003, 35(8):1182 - 1197
- Shepherd MC, Duffy SM, Harris T, *et al.* $K_{Ca}3.1$ Ca^{2+} activated K^+ channels regulate human airway smooth muscle proliferation [J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2007, 37(5):525 - 531
- Robbins J. KCNQ potassium channels: physiology, pathophysiology and pharmacology [J]. *Pharmacol Ther*, 2001, 90(1):1 - 19
- Mackie AR, Byron KL. Cardiovascular KCNQ (K_v) potassium channels: physiological regulators and new targets for therapeutic intervention [J]. *Mol Pharmacol*, 2008, 74(5):1171 - 1179
- Semenov I, Wang B, Herlihy JT, *et al.* BK channel $\beta 1$ subunits regulate airway contraction secondary to M2 muscarinic acetylcholine receptor mediated depolarization [J]. *J Physiol*, 2011, 589(7):1803 - 1817
- Zhou XB, Wulfsen I, Lutz S, *et al.* M2 muscarinic receptors induce airway smooth muscle activation via a dual, Gbetagamma - mediated inhibition of large conductance Ca^{2+} - activated K^+ channel activity [J]. *J Biol Chem*, 2008, 283(30):21036 - 21044
- Morin C, Sirois M, Echave V, *et al.* Functional effects of 20 - HETE on human bronchi: hyperpolarization and relaxation due to BK_{Ca} channel activation [J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2007, 293(4):1037 - 1044
- Martin G, O'Connell RJ, Pietrzykowski AZ, *et al.* Interleukin -4 activates large - conductance, calcium - activated potassium (BK_{Ca}) channels in human airway smooth muscle cells [J]. *Exp Physiol*, 2008, 93(7):908 - 918
- Brueggemann LI, Kakad PP, Love RB, *et al.* Kv7 potassium channels in airway smooth muscle cells: signal transduction intermediates and pharmacological targets for bronchodilator therapy [J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2012, 302(1):120 - 132
- Evseev AI, Semenov I, Archer CR, *et al.* Functional effects of KCNQ K^+ channels in airway smooth muscle [J]. *Front Physiol*, 2013, 4:277
- 叶涛, 徐永健, 张珍祥, 等. 一氧化氮对被动致敏人气道平滑肌细胞钾通道的作用 [J]. *中华结核和呼吸杂志*, 2006, 29(4):278 - 279
- Neylon CB. Potassium channels and vascular proliferation [J]. *Vascul Pharmacol*, 2002, 38(1):35 - 41
- Dolmetsch RE, Lewis RS, Goodnow CC, *et al.* Differential activation of transcription factors induced by Ca^{2+} response amplitude and duration [J]. *Nature*, 1997, 386(6627):855 - 858
- Hardingham GE, Chawla S, Johnson CM, *et al.* Distinct functions of nuclear and cytoplasmic calcium in the control of gene expression [J]. *Nature*, 1997, 385(6613):260 - 265
- Cruse G, Singh SR, Duffy SM, *et al.* Functional $K_{Ca}3.1$ K^+ channels are required for human fibrocyte migration [J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2011, 128(6):1303 - 1309
- Yu ZH, Wang YX, Song Y, *et al.* Up - regulation of $KCa3.1$ promotes human airway smooth muscle cell phenotypic modulation [J]. *Pharmacol Res*, 2013, 77:30 - 38
- Girodet PO, Ozier A, Carvalho G, *et al.* Ca^{2+} - activated K^+ channel - 3.1 blocker TRAM - 34 attenuates airway remodeling and eosinophilia in a murine asthma model [J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2013, 48(2):212 - 219
- Yu ZH, Xu JR, Wang YX, *et al.* Targeted inhibition of $K_{Ca}3.1$ channel attenuates airway inflammation and remodeling in allergic asthma [J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2013, 48(6):685 - 693

(收稿日期:2013 - 11 - 25)

(修回日期:2013 - 12 - 12)