

·综述·

ATP 敏感性钾通道对淋巴管功能的调节作用

张立民 牛春雨 赵自刚

【关键词】 淋巴管； 收缩性； ATP 敏感性钾通道

淋巴系统由密集的淋巴管网构成，是循环系统的重要组成部分；淋巴管舒缩功能是淋巴循环的动力学基础，与淋巴管的泵功能以及神经、体液因子等多种因素有关，它们之间共同促进、互相协调，在体液平衡、脂类转运、免疫调节、新陈代谢以及机体稳态等多个方面发挥重要作用。1983 年 Noma^[1]利用膜片钳技术在心室肌中发现了 ATP 敏感性钾通道 (K_{ATP})，证明其参与了心肌细胞的兴奋-收缩耦联。后来 Yokoshiki 等^[2]又发现， K_{ATP} 也存在于骨骼肌细胞、血管平滑肌细胞以及其他细胞。进一步研究发现， K_{ATP} 在维持细胞膜电位、血管张力和血压中起重要作用，参与失血性休克后血管低反应性^[3]、缺血/再灌注损伤后神经细胞凋亡^[4]的发生。存在于淋巴管平滑肌细胞 (LSMC) 膜及线粒体膜上的 K_{ATP} 对维持 LSMC 膜电位、调节淋巴管舒缩功能具有重要作用。现综述与讨论 K_{ATP} 对淋巴管功能的调节作用，以期为淋巴管功能障碍性疾病的防治提供新思路。

1 K_{ATP} 参与淋巴管舒缩功能的调节

1.1 LSMC 膜上的 K_{ATP} ：LSMC 内 K^+ 的浓度远远大于胞外浓度，各种生理和病理性因素引起 LSMC 膜 K_{ATP} 开放， K^+ 外流，使膜超极化，导致电压门控钙通道关闭，降低胞内 Ca^{2+} 水平，诱导淋巴管平滑肌扩张；反之， K_{ATP} 关闭能够使细胞膜去极化，开放钙通道，进而导致钙依赖性收缩^[5]。Mizuno 等^[6]应用直径-压力微血管灌流系统给予大鼠离体肠系膜淋巴管

(ML) $6\text{ cm H}_2\text{O}$ ($1\text{ cm H}_2\text{O}=0.098\text{ kPa}$) 的灌流压，以 ML 自发性收缩过程中的管径及收缩频率变化评价淋巴管功能，发现 K_{ATP} 开放剂吡那地尔抑制了 ML 自发性收缩活动， $0.1\ \mu\text{mol/L}$ 和 $1\ \mu\text{mol/L}$ 的 K_{ATP} 选择性抑制剂格列本脲均可显著逆转吡那地尔对 ML 自发性收缩的作用，结果证明 K_{ATP} 与淋巴管自发性收缩有关；然而，单独使用格列本脲并不影响 ML 的自发性收缩频率，表明生理条件下 LSMC 的 K_{ATP} 处于关闭状态。可见， K_{ATP} 参与了淋巴管自发性收缩的调节。也有研究表明， K_{ATP} 可调节羊、豚鼠肠系膜 LSMC 膜电位，进而调控淋巴管的舒缩功能^[7-8]。

1.2 LSMC 线粒体膜上的 K_{ATP} ：Ferrusi 等^[9]报道，除了肌浆网钙库释放的 Ca^{2+} 是 LSMC 产生自动去极化的一个重要的效应物之外，从线粒体释放的 Ca^{2+} 也影响了淋巴管的泵活动。研究表明，胸导管平滑肌细胞线粒体膜上选择性 K_{ATP} 抑制剂 5-羟基羧酸盐也可显著降低淋巴管收缩频率，并且该作用能够被线粒体钙摄取抑制剂钆红完全逆转；此外，线粒体 K_{ATP} 选择性激动剂二氮嗪能够显著增加淋巴管的收缩频率^[10]，推测其机制可能是线粒体 K_{ATP} 抑制剂减少线粒体的 K^+ 外流、增加了 Ca^{2+} 内流，再通过钆红敏感的钙通道使线粒体 Ca^{2+} 摄取减少，从而维持了 LSMC 膜电位。可见，线粒体 K_{ATP} 对钙摄取的作用与 LSMC 膜 K_{ATP} 相反，LSMC 中线粒体与胞质之间的离子交换使胞内 Ca^{2+} 浓度发生变化而最终影响了淋巴管泵活动。

2 多种因素通过 K_{ATP} 调控淋巴管舒缩功能

2.1 ATP：LSMC 中含有大量糖原颗粒，提供所需的能量，ATP 在为淋巴管收缩供能的同时，亦可影响淋巴管的泵活动。离体实验发现， $1\ \mu\text{mol/L}$ 的 ATP 可显著抑制大鼠髂部淋巴管泵活性，使用内皮

型一氧化氮合酶抑制剂 N-硝基-L-精氨酸甲酯(L-NAME)后能部分逆转 ATP 的作用，提高淋巴管泵活性，提示 ATP 对淋巴管泵的抑制作用既有内皮依赖性，也存在内皮非依赖性，一氧化氮(NO)参与了 ATP 对淋巴管泵功能的调节；格列本脲能显著、但也不完全降低 ATP 所诱导的淋巴管泵活性变化，ATP 的代谢产物腺苷也可明显扩张已停止收缩的淋巴管口径，格列本脲能够显著逆转腺苷的作用，表明 K_{ATP} 也参与了 ATP、腺苷对淋巴管泵活性的调节^[11]。研究也发现，腺苷与腺苷受体结合后能够增加血管平滑肌细胞环磷酸腺苷(cAMP)的含量，从而激活 K_{ATP} 诱导的血管扩张^[12]；据此推测，腺苷诱导的淋巴管泵活性降低也可能是腺苷和腺苷受体结合通过 cAMP 途径激活 K_{ATP} ，导致 LSMC 膜超极化，引起 K^+ 外流，电压门控性钙通道关闭，减少 Ca^{2+} 内流，LSMC 内钙不足，最终导致淋巴管泵功能降低，但还需进一步证实。

2.2 NO：有研究表明，NO 参与了淋巴管收缩性调节。von der Weid^[13]应用细胞内微电极技术发现，格列本脲($10\ \mu\text{mol/L}$)能够抑制经乙酰胆碱(Ach)和硝普钠(SNP)诱导 LSMC 超极化的 90%；Lobov 和 Pan'kova^[14]研究发现，L-NAME 或格列本脲预孵育牛肠系膜淋巴结组织，能够降低 Ach 的舒张效应，表明淋巴结被膜下淋巴窦内皮细胞产生的 NO 开放了 K_{ATP} ，引起 LSMC 舒张；进一步研究发现，由 NO 介导的环磷酸鸟苷(cGMP)增加诱导的平滑肌超极化，通过激活蛋白激酶 A(PKA)、开放 K_{ATP} ，最终引起了淋巴管舒张^[15]。可见， K_{ATP} 在 NO 调节正常淋巴管舒缩活动过程中发挥了重要的介导作用。在失血性休克的发展进程中，在体实验发现，微淋巴管收缩性在早期升高，晚期降低；应用线性肌电图技术发现，失血性休克晚期离体淋巴管收缩性及反应性均显著降低^[16]；NO 供体 L-精氨酸

DOI:10.3760/cma.j.issn.1003-0603.2012.04.022

基金项目：国家自然科学基金资助项目(30770845)；河北省自然科学基金资助项目(C2008000503)；河北省教育厅科学研究重点项目(ZH2007101, ZD20100201)

作者单位：075000 张家口，河北北方学院微循环研究所，基础医学院病理生理教研室

通信作者：牛春雨，Email: neylxf@126.com

可以降低休克早期的淋巴管收缩性, L-NAME 可提高休克晚期淋巴管的收缩性^[17], 该作用可被 K_{ATP} 开放剂吡那地尔抑制; 结果表明, K_{ATP} 参与了 NO 对休克淋巴管收缩性的调节, 但其具体机制有待研究。

2.3 肾上腺素能受体:有研究发现, 异丙肾上腺素可以激活 β 肾上腺素能受体, 诱导 LSMC 超极化, 格列本脲可抑制异丙肾上腺素引起 LSMC 超极化的 85%; β 肾上腺素能受体诱导 LSMC 超极化是通过增加 cAMP 含量、激活 PKA、开放 K_{ATP} , 引起 K^+ 外流实现的^[13]。表明肾上腺素能受体对淋巴管收缩的调节作用与开放 K_{ATP} 引起的 LSMC 超极化有关。此外, 在体与离体研究均发现, 失血性休克大鼠淋巴管对去甲肾上腺素的反应性下降^[16, 18], 提示 α 肾上腺素能受体也可能与淋巴管收缩性调节有关, 而这种未知作用是否通过 K_{ATP} 实现还需证实。

2.4 降钙素基因相关肽(CGRP):Hosaka 等^[19]发现, 100 nmol/L CGRP 可将淋巴管收缩频率降至对照组的 $(83 \pm 2)\%$, 而经过 10 $\mu\text{mol/L}$ 的一氧化氮合酶(NOS)抑制剂 NG-硝基-L-精氨酸(L-NNA)、10 $\mu\text{mol/L}$ cGMP 抑制剂 1H-(1,2,4)恶二唑(4,3-a)喹啉-1-酮(ODQ)、10 $\mu\text{mol/L}$ 腺苷酸环化酶抑制剂双脱氧腺苷酸、1 $\mu\text{mol/L}$ PKA 抑制剂 H89、10 $\mu\text{mol/L}$ K_{ATP} 选择性抑制剂格列本脲孵育后, 均能逆转 CGRP 对淋巴管收缩的抑制作用, 且经格列本脲作用后可将淋巴管收缩频率提高至对照组的 $(99 \pm 1)\%$; 使用膜片钳技术观测到, 500 nmol/L 的 CGRP 能使平滑肌细胞膜电位由 $-(47.8 \pm 1.0)$ mV 超极化至 $-(52.3 \pm 1.3)$ mV, 但是加入 K_{ATP} 选择性抑制剂格列本脲(10 $\mu\text{mol/L}$)和 PKA 抑制剂 H89 后, 均可消除其产生的超极化, 且格列本脲作用后膜电位降低至加药前的 $(12 \pm 7)\%$ 。综上所述, CGRP 通过内皮依赖性的 NO 生成增多, 激活 cGMP、cAMP/PKA 信号途径, 开放 K_{ATP} , 引起膜超极化, 从而降低淋巴管的收缩频率。因此, 可以认为, K_{ATP} 在 CGRP 介导淋巴管收缩中起着重要的作用。

2.5 5-羟色胺(5-HT):体外实验发现, 5-HT 可引起 LSMC 超极化, 从而降低淋巴管泵功能, K_{ATP} 选择性抑制剂格列本

脲(10 $\mu\text{mol/L}$)可抑制 5-HT 引起 LSMC 超极化的 $(79 \pm 10)\%$, 并且也可显著逆转 5-HT 导致淋巴管收缩频率的降低; 5-HT₇ 受体阻滞剂能够显著抑制 5-HT 诱导的淋巴管泵活动降低, 同时应用 cAMP 依赖 PKA 抑制剂 H89 后, 能够降低 1 $\mu\text{mol/L}$ 5-HT 诱导的超极化^[20]。有研究表明, K_{ATP} 激活导致 LSMC 超极化参与了 5-HT 对淋巴管泵活动的调控, 并且 5-HT 所诱导的超极化可能部分是通过 5-HT 与 5-HT₇ 受体结合并激活 cAMP 诱导的 PKA 活化, 进而开放 K_{ATP} 来实现的。

2.6 前列腺素 E₂ (PGE₂) 与前列环素 (PGI₂):复制炎症性肠疾病豚鼠模型, 发现高度炎症条件下的 ML 收缩功能降低, 证实 PGE₂ 和 PGI₂ 降低了淋巴管的浓度依赖性收缩, 但对淋巴管收缩幅度无明显作用, 应用 H89(10 $\mu\text{mol/L}$)或格列本脲(1 $\mu\text{mol/L}$)后逆转了 PGE₂ 和 PGI₂ 的抑制反应^[21]。表明 PKA 活化和 K_{ATP} 开放参与了 PGE₂ 和 PGI₂ 对淋巴管泵活动的调节作用, 因此, 针对 K_{ATP} 这一靶点, 防治炎症条件下前列腺素类物质造成的淋巴水肿具有积极意义。

2.7 甲状旁腺激素相关蛋白(PTHrP):PTHrP 是一种与甲状旁腺激素高度同源的多肽类物质, 其在多种疾病发生中均有不同程度的高表达。有研究发现, 低浓度的 PTHrP-1-34 (1×10^{-10} mmol/L 和 3×10^{-10} mmol/L) 具有扩张淋巴管、降低淋巴管收缩频率的作用, 但是高浓度的 PTHrP-1-34 (1×10^{-9} mmol/L 和 1×10^{-8} mmol/L) 则可引起淋巴管舒张并伴随着泵活动停止; 1 $\mu\text{mol/L}$ 格列本脲能够显著逆转 PTHrP-1-34 对淋巴泵活性抑制效应的 $(43.5 \pm 6.0)\%$ ^[22]。表明 PTHrP-1-34 抑制集合淋巴管内在泵活性的作用, 在一定程度上是通过激活淋巴管 K_{ATP} 引起 LSMC 膜超极化实现的。由于 PTHrP-1-34 是一种大分子物质, 容易渗透至淋巴管, 抑制淋巴管泵功能, 降低淋巴液的流动, 是引起淋巴水肿的原因之一。因此通过 K_{ATP} 这一靶点进行临床干预, 有望在一定程度上缓解淋巴水肿。但 PTHrP-1-34 激活 K_{ATP} 的途径, 至今还不明了。

2.8 黑色素瘤细胞代谢产物:经过培养的 B16-BL6 黑色素瘤细胞上清液可呈

剂量依赖性地抑制淋巴管的泵活动, 而 0.1 $\mu\text{mol/L}$ 和 1 $\mu\text{mol/L}$ 格列本脲能够分别显著性地逆转细胞上清液对淋巴管泵活动的抑制作用达 $(39.2 \pm 1.0)\%$ 和 $(58.1 \pm 6.9)\%$, 表明黑色素瘤细胞可抑制淋巴管泵活动, 其作用可能也是部分通过激活 K_{ATP} 而实现的^[23]; 但是, 黑色素瘤细胞上清液中抑制淋巴管收缩性的成分还不清楚。

2.9 酸性环境:体外发现, 细胞外的酸性环境(pH=7.2、7.1、7.0)能显著抑制离体牛 ML 的自发性收缩活动, 并降低了其紧张度, 而 5 $\mu\text{mol/L}$ 的格列本脲能够显著逆转 H^+ 对淋巴管泵活性及紧张度的降低作用^[24], 表明 H^+ 通过激活 K_{ATP} 而降低了淋巴管的泵功能。重症休克时由于能量代谢障碍, 发生了酸中毒, 而以纠正酸中毒、关闭 LSMC 的 K_{ATP} 为治疗措施, 可能对重症休克淋巴管低收缩性的治疗有益。

3 小结与展望

综上所述, K_{ATP} 是多种因素调控淋巴管平滑肌紧张度以及 LSMC 膜电位形成的关键环节, 对于淋巴管泵功能的调节发挥了重要的作用。鉴于淋巴管功能在休克淋巴微循环障碍、淋巴水肿、肿瘤转移、免疫调节中的重要作用^[25-27], 且肠淋巴液回流是器官损伤的关键环节^[28], K_{ATP} 又参与了病理生理状态以及肿瘤转移过程中淋巴管舒缩功能的调节, 为此, 深入揭示 K_{ATP} 在病理生理状态下淋巴管泵活动中的作用机制, 以 K_{ATP} 为药物靶点, 调控淋巴管的生物学行为, 可能为淋巴管功能障碍性病理过程或疾病的防治开辟新的治疗思路。

参考文献

- [1] Noma A. ATP-regulated K^+ channels in cardiac muscle. *Nature*, 1983, 305: 147-148.
- [2] Yokoshiki H, Sunagawa M, Seki T, et al. ATP-sensitive K^+ channels in pancreatic, cardiac, and vascular smooth muscle cells. *Am J Physiol*, 1998, 274: C25-37.
- [3] 周荣, 刘良明. 预处理对失血性休克大鼠肠系膜上动脉收缩反应性的影响. *中国危重病急救医学*, 2007, 19: 261-265.
- [4] 张鸿, 刘艳艳, 马英, 等. ATP 敏感性钾通道开放剂对脑缺血/再灌注损伤的保护作用及信号转导机制研究. *中国危重病急救医学*, 2007, 19: 221-224.

- [5] Jackson WF. Potassium channels in the peripheral microcirculation. *Microcirculation*, 2005, 12: 113-127.
- [6] Mizuno R, Ono N, Ohhashi T. Involvement of ATP-sensitive K⁺ channels in spontaneous activity of isolated lymph microvessels in rats. *Am J Physiol*, 1999, 277: H1453-1456.
- [7] Cotton KD, Hollywood MA, McHale NG, et al. Outward currents in smooth muscle cells isolated from sheep mesenteric lymphatics. *J Physiol*, 1997, 503: 1-11.
- [8] von der Weid PY, Van Helden DF. Functional electrical properties of the endothelium in lymphatic vessels of the guinea-pig mesentery. *J Physiol*, 1997, 504: 439-451.
- [9] Ferrusi I, Zhao J, Van Helden D, et al. Cyclopiazonic acid decreases spontaneous transient depolarizations in guinea pig mesenteric lymphatic vessels in endothelium-dependent and -independent manners. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2004, 286: H2287-2295.
- [10] Li X, Mizuno R, Ono N, et al. Glucose and glucose transporters regulate lymphatic pump activity through activation of the mitochondrial ATP-sensitive K⁺ channel. *J Physiol Sci*, 2008, 58: 249-261.
- [11] Kousai A, Mizuno R, Ikomi F, et al. ATP inhibits pump activity of lymph vessels via adenosine A1 receptor-mediated involvement of NO- and ATP-sensitive K⁺ channels. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2004, 287: H2585-2597.
- [12] Li Q, Puro DG. Adenosine activates ATP-sensitive K⁺ currents in pericytes of rat retinal microvessels: role of A1 and A2a receptors. *Brain Res*, 2001, 907: 93-99.
- [13] von der Weid PY. ATP-sensitive K⁺ channels in smooth muscle cells of guinea-pig mesenteric lymphatics; role in nitric oxide and beta-adrenoceptor agonist-induced hyperpolarizations. *Br J Pharmacol*, 1998, 125: 17-22.
- [14] Lobov GI, Pan'kova MN. NO-dependent. Modulation of contractile function in capsule of lymph nodes. *Russ Fiziol Zh Im I M Sechenova*, 2010, 96: 489-497.
- [15] von der Weid PY, Zhao J, Van Helden DF. Nitric oxide decreases pacemaker activity in lymphatic vessels of guinea pig mesentery. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2001, 280: H2707-2716.
- [16] 刘志权, 牛春雨, 赵自刚, 等. 失血性休克大鼠淋巴管低反应性的钙敏机制. *中国病理生理杂志*, 2010, 26: 2383-2388.
- [17] 秦立鹏, 牛春雨, 赵自刚, 等. 一氧化氮对失血性休克大鼠离体淋巴管收缩性双相变化的调节作用. *生理学报*, 2011, 63: 367-376.
- [18] 刘志权, 牛春雨, 赵自刚, 等. 失血性休克大鼠淋巴管对去甲肾上腺素反应性的变化. *中国病理生理杂志*, 2010, 26: 1366-1369.
- [19] Hosaka K, Rayner SE, von der Weid PY, et al. Calcitonin gene-related peptide activates different signaling pathways in mesenteric lymphatics of guinea pigs. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2006, 290: H813-822.
- [20] Chan AK, von der Weid PY. 5-HT decreases contractile and electrical activities in lymphatic vessels of the guinea-pig mesentery: role of 5-HT-receptors. *Br J Pharmacol*, 2003, 139: 243-254.
- [21] Rehal S, Blanckaert P, Roizes S, et al. Characterization of biosynthesis and modes of action of prostaglandin E2 and prostacyclin in guinea pig mesenteric lymphatic vessels. *Br J Pharmacol*, 2009, 158: 1961-1970.
- [22] Mizuno R, Ono N, Ohhashi T. Parathyroid hormone-related protein-(1-34) inhibits intrinsic pump activity of isolated murine lymph vessels. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2001, 281: H60-66.
- [23] Nakaya K, Mizuno R, Ohhashi T. B16-BL6 melanoma cells release inhibitory factor(s) of active pump activity in isolated lymph vessels. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2001, 281: C1812-1818.
- [24] Lobov GI, Kubyskhina NA. Effect of acidosis on contractile function of mesenteric lymphatic vessels in bulls. *Bull Exp Biol Med*, 2001, 132: 622-624.
- [25] 牛春雨, 赵自刚, 刘艳凯, 等. 高渗盐水对低血容量性休克大鼠淋巴循环的影响. *中国危重病急救医学*, 1999, 11: 596-598.
- [26] 李福龙, 刘艳凯, 牛春雨, 等. 实验性弥散性血管内凝血大鼠淋巴循环的变化. *中国危重病急救医学*, 2006, 18: 488-490.
- [27] 边永玲, 刘正泉, 牛春雨, 等. 夏至草醇提取物对大鼠急性微循环障碍的影响. *中国中西医结合急救杂志*, 2008, 15: 338-341.
- [28] 赵自刚, 牛春雨, 张玉平, 等. 肠淋巴途径在失血-脂多糖二次打击大鼠心肌损伤中的作用. *中国危重病急救医学*, 2010, 22: 97-100.

(收稿日期: 2011-09-26)

(本文编辑: 李银平)

· 科研新闻速递 ·

中性粒细胞弹性蛋白酶抑制剂能够治疗小鼠急性肺损伤后的肺纤维化

中性粒细胞弹性蛋白酶(NE)过度产生会引起急性肺损伤/急性呼吸窘迫综合征(ALI/ARDS)。然而, NE在ALI/ARDS后续修复过程中的作用尚未被详细研究。因此, 日本研究人员利用小鼠研究了ALI后组织修复过程中NE的作用。对C57BL/6小鼠进行亚致死照射处理, 随后用内毒素脂多糖(LPS)鼻内滴注复制肺损伤后修复模型; 另一组为对照。肺损伤小鼠每日用NE抑制剂处理, 7d后测定组织病理学、肺力学和全肺胶原含量, 同时计数支气管肺泡灌洗液(BALF)中的炎症因子数量, 并观察BALF中活性转化生长因子-β1(TGF-β1)浓度与磷光体果蝇属抗信号蛋白2/3(SMAD2/3)表达情况。结果: 受辐射和LPS处理后的小鼠发展成了肺损伤后肺纤维化。与对照组比较, NE抑制剂明显降低了肺实质中的胶原沉积, 并且改善了损伤肺脏的静态顺应性, 也降低了中性粒细胞积聚程度、TGF-β1激活水平和磷光体SMAD2/3表达水平。结论: 抑制NE能够保护性地对抗肺损伤后肺纤维化; NE抑制剂对ALI/ARDS的纤维增长阶段有潜在治疗作用。

钟毓贤, 编译自《Exp Lung Res》, 2011-12-08(电子版); 胡森, 审校