

• 综述 •

Ca²⁺ 在低氧性肺血管收缩中的作用

魏冠平¹ 程远² 黄煜² 何庆²¹西南交通大学, 四川成都 610036; ²西南交通大学附属成都市第三人民医院急诊科, 四川成都 610036

通信作者: 何庆, Email: 123hq@163.com

【摘要】 急性接触低氧环境时, 肺血管收缩并分布血流到通气较好的区域, 以保持肺内通气/血流比值充分匹配, 这一过程称为低氧性肺血管收缩 (HPV)。持续低氧状态下, 肺血管可发生不可逆性重塑, 表现为肺动脉中层平滑肌细胞以及外层纤维细胞增生, 导致管腔狭窄, 进而引发肺动脉高压 (PAH), 造成心室后负荷增加, 严重者可以引发右心衰竭。肺动脉平滑肌细胞 (PASMC) 内 Ca²⁺ 浓度升高是其收缩、迁移和增殖的重要刺激因素。本文对近年来有关 Ca²⁺ 促进 HPV 方面的研究进行汇总, 以期临床预防低氧和治疗性 PAH 提供依据。

【关键词】 低氧性肺血管收缩; 低氧性肺动脉高压; 肺动脉平滑肌细胞; 瞬时受体电位通道; 电压门控钙通道; 钙库操纵性钙通道; 受体操纵性钙通道

基金项目: 国家自然科学基金青年基金 (81501640)

DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2019.05.025

Role of Ca²⁺ in hypoxic pulmonary vasoconstriction

Wei Guanping¹, Cheng Yuan², Huang Yu², He Qing²¹Southwest Jiaotong University, Chengdu 610036, Sichuan, China; ²Department of Emergency, Chengdu Third People's Hospital, Southwest Jiaotong University, Chengdu 610036, Sichuan, China

Corresponding author: He Qing, Email: 123hq@163.com

【Abstract】 In acute hypoxia, pulmonary vascular will contract and divert blood to better ventilated area to optimize ventilation/perfusion matching, which is known as hypoxic pulmonary vasoconstriction (HPV). In chronic hypoxia, irreversible pulmonary vascular remodeling can be induced, characterized by pulmonary artery middle smooth muscle cells and the outer fiber cell hyperplasia in luminal stenosis and pulmonary artery hypertension (PAH) eventually. Furthermore, PAH can cause increased ventricular afterload, and right heart failure in severe cases. Pulmonary artery smooth muscle cell (PASMC) elevated Ca²⁺ concentration is one of the most important factors of its contractions, proliferation and migration. Recent studies on Ca²⁺ promoting in HPV were summarized in order to provide evidence for clinical prevention of hypoxia and therapeutic PAH.

【Key words】 Hypoxic pulmonary vasoconstriction; Hypoxic pulmonary hypertension; Pulmonary artery smooth muscle cell; Transient receptor potential channel; Voltage operated calcium channel; Store operated calcium channel; Receptor operated calcium channel

Fund program: National Natural Science Young Foundation of China (81501640)

DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2019.05.025

瞬时受体电位 (TRP) 通道首先发现于果蝇光敏感突变体中, 大量实验表明 TRP 通道蛋白广泛表达于哺乳动物细胞, 参与多种生物功能。现已证实该家族有 28 种 TRP 通道蛋白, 根据氨基酸序列同源性可分为 6 个亚家族, TRP 通道参与机械感觉和 G 蛋白耦联受体 (GPCR) 启动的信号通路^[1], 这些信号通路可调节血管收缩、扩张及细胞增殖等活动。Ca²⁺ 通过 TRP 通道进入血管内皮细胞参与血管扩张和血管生成。血管周围感觉神经和星形胶质细胞内的 TRP 通道参与组织的血管舒张反应。TRP 通道功能的改变与许多常见的血管疾病有关, 如高血压、血管闭塞性疾病、神经源性炎症、内膜损伤和肺水肿等。

细胞内 Ca²⁺ ([Ca²⁺]_i) 参与多种生理过程^[1-3], 包括细胞兴奋性与细胞收缩功能、平滑肌细胞迁徙与增殖。此外, 钙信号通路对于维持内皮细胞屏障完整性以及内皮细胞释放舒血管物质等具有重要作用。[Ca²⁺]_i 增加的途径主要有以下 3 种^[1, 3-5]: ① 内质网通过雷尼丁受体 (RyR) 或者三磷

酸肌醇受体 (IP3R) 释放入胞内; ② 通过质膜上的电压门控钙通道 (VOC)、受体操纵性钙通道 (ROC)、钙库操纵性钙通道 (SOC) 内流入胞质; ③ 经质膜上的钙转运蛋白、Na⁺-Ca²⁺ 交换蛋白进入胞质。Ca²⁺ 与钙调蛋白 (CaM) 结合形成 Ca²⁺/CaM 复合物, 使得肌球蛋白轻链磷酸酯酶 (MLCP) 被激活, 继而磷酸化肌球蛋白轻链 (MLC), 启动肌动蛋白-肌球蛋白收缩装置, 引发平滑肌层收缩。

急性低氧条件下, 体循环动脉因低氧而扩张, 血流量增加, 以调节器官组织低氧, 维持细胞代谢。相反, 肺动脉收缩并分流血液到氧充足的区域, 以维持肺内通气/血流比值, 从而提高血液的氧饱和度^[6-7]。肺血管这种独特的现象称为低氧性肺血管收缩 (HPV)。HPV 由 Bradford 和 Dean^[8] 于 1894 年首次提出, 又称为 von Euler-Liljestrand 机制。HPV 广泛存在于人类和几乎所有脊椎动物中, 包括哺乳动物、鸟类、两栖动物、爬行动物甚至鱼类。根据低氧时间的不同, HPV 可以分为两个阶段^[2, 6]: 第一阶段为快速的血管收缩

反应阶段,开始于几秒钟内,并在几分钟内达到最大,随后出现短暂的血管扩张,称为急性期 HPV;肺泡低氧超过 30 min 后缓慢发展的肺血管收缩称为持续性 HPV,即第二阶段。另外,在高海拔地区或慢性阻塞性、限制性肺疾病中,除肺动脉血管收缩外,还会发生肺血管重构^[3],表现为肺动脉中层平滑肌细胞以及外层纤维细胞增生、细胞外基质沉积增多^[4]。肺血管阻力增大可引起肺动脉高压(PAH),严重者可导致心室负荷增加,引发右心衰竭^[7,9-10]。

本综述分为 3 个主要部分:首先简要概述 TRP 通道的结构和功能;其次讲述生理以及病理条件下 Ca^{2+} 稳态的调节;最后简要概述 Ca^{2+} 在低氧性血管收缩中的作用。

1 TRP 通道的分类、结构和功能

TRP 通道家族是肺血管生物学中一个重要的 Ca^{2+} 通道,哺乳动物 TRP 通道家族由 28 个不同的 TRP 通道蛋白组成,根据其氨基酸序列同源性分为 6 个亚家族,即 TRP 通道 C 亚族型(TRPC)、M 亚族型(TRPM)、ML 亚族型(TRPML)、V 亚族型(TRPV)、P 亚族型(TRPP)和 A 亚族型(TRPA)^[1]。TRP 通道蛋白的一级结构为 553~2 022 个氨基酸组成的多肽,由 6 个跨膜结构片段(S1~S6)以及在胞质内的 N 端和 C 端组成,在细胞膜上以四聚体的形式存在。

实验表明,TRP 通道参与调节细胞感觉^[11],其中 TRPM2 参与调节细胞热感觉^[12-13],TRPM8 参与调节冷感觉^[14]。此外,在循环系统中,TRP 通道存在于血管壁平滑肌细胞和内皮细胞中,并在血管周围神经元和星形胶质细胞中表达,这些细胞与脑实质小动脉密切相关。在血管内皮细胞中,游离 Ca^{2+} 经 TRP 通道进入内皮并参与内皮依赖性血管扩张、血管壁通透性和血管生成等生理病理过程。TRP 通道功能障碍与许多常见的血管疾病有关,如高血压、血管闭塞性疾病、神经炎性疾病、肺水肿等^[1]。

TRP 通道属于非选择性阳离子通道(NSCC),可以非选择性地通过 Na^+ 、 K^+ 、 Mg^{2+} 、 Ca^{2+} 等阳离子,其阳离子通透性具有重要的生物学意义^[1]。单价阳离子 Na^+ 和 K^+ 的分布对细胞膜电位及兴奋性的调控尤为重要;二价阳离子 Ca^{2+} 和 Mg^{2+} 可作为细胞内的第二信使及酶活性所需的辅助因子。然而,TRP 通道对各种阳离子的亲和性并不一致。例如:TRPV5 和 TRPV6 通道 Ca^{2+} 与 Na^+ 通透性比值为 100:1;TRPM4 和 TRPM5 通道更倾向于一价阳离子 K^+ 、 Na^+ 。在低氧条件下,肺动脉平滑肌细胞(PASMC)细胞膜上 TRP 通道参与质膜去极化和电压门控钙通道的开放,直接促进了 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 的增加。现已证明 TRPV4 通道^[11]和 TRPC6 通道^[2,15-16]参与 HPV。

2 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 的稳态调节及功能

$[\text{Ca}^{2+}]_i$ 浓度变化影响肌肉收缩、激素分泌、基因表达、细胞增殖等许多关键过程^[1]。受体刺激、机械刺激和肺泡低氧均可引起 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 浓度变化。内质网 Ca^{2+} 释放、线粒体钙释放、质膜钙通道开放均可增加 $[\text{Ca}^{2+}]_i$,其中质膜钙通道主要有 VOC、ROC 和 SOC。现主要阐述 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 的稳态调节。

2.1 质膜钙通道的调控:质膜钙通道是多种位于质膜上的 Ca^{2+} 通道,主要有 VOC、ROC、SOC 等参与 Ca^{2+} 的动态调节。

2.1.1 VOC:L-型钙通道属于电压门控性通道,需要较强的极化才能激活,失活速度比较慢,开放持续时间比较长。低氧条件下,PASMC 上的电压门控钾通道蛋白失活, K^+ 外流减少,PASMC 细胞膜去极化;此外, Cl^- 外流使细胞膜去极化,激活 L-型钙通道,促进 Ca^{2+} 内流^[7], $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 增加,触发兴奋收缩耦联机制,导致平滑肌收缩。

2.1.2 ROC:在 PASMC 中,TRPC3、TRPC6、TRPC7 参与构成 ROC,与 G 白蛋白共同参与调节 Ca^{2+} 内流。ROC 定位于细胞膜上,当内皮素-1(ET-1)等配体与 GPCR 结合,激活磷脂酶 C(PLC),活化的 PLC 催化二磷酸磷脂酰肌醇(PIP2)裂解成三磷酸肌醇(IP3)和二酰基甘油(DAG)。第二信使 DAG 可以直接激活 ROC(TRPC3、TRPC6、TRPC7),引起 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 增加;IP3 则与表达于内质网上的 IP3R 结合,促进内质网 Ca^{2+} 释放,进一步增加 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 。 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 可作为第二信使与 CaM 结合,促使平滑肌收缩。

2.1.3 SOC:在 PASMC 中,TRPC1、TRPC4、TRPC5 参与构成 SOC;也有部分学者认为 TRPC6 参与构成 SOC^[17]。SOC 主要调控由于内质网钙存储耗竭而引发的胞质 Ca^{2+} 增加,同时也促进耗竭的钙库重新充盈。SOC 是由 Orai 1 蛋白和 TRPC1、TRPC4、TRPC5 组成的六聚体,由基质交感分子 1(STIM1)调控。静息状态下,Orai 1 与 STIM1 分别位于质膜和线粒体膜。当细胞钙库(内质网、线粒体、细胞核)内 Ca^{2+} 耗竭时,STIM1 作为肌质网/内质网的 Ca^{2+} 感受器聚合形成“斑”状结构,并向细胞膜靠近,与 Orai 1 通道相互作用,形成具有高度钙敏感的钙释放激活钙通道(CRAC),促使细胞外 Ca^{2+} 经 SOC 内流;当细胞钙库充盈时,STIM1 的活性降低,CRAC 通道介导的钙内流途径受到抑制, Ca^{2+} 内流减少。低氧条件下,PASMC 细胞膜表面 SOC 表达增加,导致细胞外 Ca^{2+} 经 SOC 内流增加,提示 SOC 参与低氧性肺血管反应。

2.2 内质网 Ca^{2+} 调控:内质网膜上有多种分子参与 Ca^{2+} 的调控。RyR 或者 IP3R 主要参与介导内质网 Ca^{2+} 外流进入胞质。静息状态下,胞质内低浓度 Ca^{2+} 时 RyR 处于关闭状态,随后动作电位扩散到细胞膜,并激活 L-型钙通道,细胞膜极化,引发 Ca^{2+} 内流,少量 Ca^{2+} 内流进入胞内,与 RyR 结合并使之激活,贮存在内质网的 Ca^{2+} 通过 RyR 大量释放,最终导致内质网中 Ca^{2+} 耗竭, $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 增加。与 RyR 一致,IP3R 也可与胞质内少量 Ca^{2+} 接触后开放,释放内质网内的 Ca^{2+} 。当 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 升高并超过阈值时,肌质网/内质网膜上钙泵(即肌质网/内质网 Ca^{2+} -三磷酸腺苷酶(SERCA))可将 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 重新摄取到内质网,以维持细胞钙稳态。

2.3 线粒体 Ca^{2+} ($[\text{Ca}^{2+}]_{\text{mito}}$) 调控:线粒体钙单向转运体(MCU)是线粒体摄取 Ca^{2+} 的主要途径之一,对 Ca^{2+} 具有高度选择性和较低的亲和力,其活性在很大程度上取决于线粒体内膜电位以及膜两侧 Ca^{2+} 浓度的差异。MCU 通过调节线粒体 Ca^{2+} 在多种细胞活动中发挥作用。有实验表明,MCU 与 PAH 发生相关,MCU 功能受损降低了 $[\text{Ca}^{2+}]_{\text{mito}}$ 浓度,增

加了 $[Ca^{2+}]_i$,从而抑制葡萄糖氧化,促进细胞增殖和迁移^[18];还有研究表明,在心肌细胞中,低氧诱导的 Ca^{2+} 浓度增加可以促进活性氧簇(ROS)的生成,严重者可导致心力衰竭^[19]。Song等^[20]将这一现象命名为 $[Ca^{2+}]_i$ 诱导ROS产生(CIRP)。

3 Ca^{2+} 与HPV

Ca^{2+} 作为细胞内第二信使引发PASMCM缺氧性收缩^[17]。正如前面所说,低氧刺激下,一方面,PASMC细胞膜上 K^+ 通道表达减少或活性降低甚至失活,导致 K^+ 外流减少,细胞膜去极化,进一步引起电压依赖性钙通道(VOC)、L-型钙通道开放,导致 Ca^{2+} 经质膜内流增加,PASMC的 $[Ca^{2+}]_i$ 水平升高;另一方面,内质网内 Ca^{2+} 经RyR、IP3通道释放增加,当细胞钙库(内质网、线粒体、细胞核)内 Ca^{2+} 耗竭时,STIM1作为肌质网/内质网的 Ca^{2+} 感受器会聚合形成“斑”状结构,并向细胞膜靠近,与Orai 1通道相互作用,形成具有高度钙敏感的CRAC,促使细胞外 Ca^{2+} 经SOC内流,共同作用于 $[Ca^{2+}]_i$ 增加。而后, Ca^{2+} 与CaM结合形成 Ca^{2+} /CaM复合物,使得MLCP被激活,继而MLC磷酸化,启动肌动蛋白-肌球蛋白收缩装置,引发平滑肌层收缩。

TRPC6通道属于NSCC,参与组成ROC。研究表明,TRPC6在HPV反应中发挥重要作用^[2,4]。在低氧刺激后,TRPC6移位至细胞膜“穴样”内陷,这是一种特殊的膜微区,可以作为信号转导外的信号转导中枢,在调节质膜离子通道丰度和产生的离子通量(包括 Ca^{2+} 通量)方面发挥关键作用^[21]。然而,在缺氧条件下,TRPC6活化的调控机制及其在质膜中的补充或转运尚不清楚^[22]。缺乏TRPC6通道的游离肺动脉或PASMC在急性低氧刺激下未表现出 $[Ca^{2+}]_i$ 增加与急性HPV。长时间刺激后可出现肺血管收缩,表明TRPC6通道主要参与急性HPV^[23]。

TRPC6通道可由DAG激活,DAG是由ROS调节的磷脂酶的产物。DAG可以在低氧条件下积累,导致PLC活化以及ROS介导的DAG激酶(DAGK)抑制。使用PLC抑制剂U73122抑制DAG的合成,可减弱野生型小鼠急性HPV,抑制DAG降解或使用DAG类似物OAG激活TRPC6通道,导致野生型小鼠常氧肺血管收缩^[24]。除TRPC6通道外,TRPV4也参与HPV^[11]。

综上所述,HPV是低氧条件下肺特有的生理反应。急性接触低氧条件,肺血管迅速收缩并分布血流到通气较好的区域,以维持肺内通气/血流比值。到目前为止,越来越多的研究者关注于 Ca^{2+} 引发HPV的可能机制,但 Ca^{2+} 究竟如何作用于HPV以及 Ca^{2+} 的上游机制并不完全清楚,还需要进一步研究和阐明。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Earley S, Brayden JE. Transient receptor potential channels in the vasculature [J]. *Physiol Rev*, 2015, 95 (2): 645–690. DOI: 10.1152/physrev.00026.2014.
- [2] Malczyk M, Erb A, Veith C, et al. The role of transient receptor potential channel 6 channels in the pulmonary vasculature [J]. *Front Immunol*, 2017, 8: 707. DOI: 10.3389/fimmu.2017.00707.
- [3] Veit F, Pak O, Brandes RP, et al. Hypoxia-dependent reactive

- oxygen species signaling in the pulmonary circulation: focus on ion channels [J]. *Antioxid Redox Signal*, 2015, 22 (6): 537–552. DOI: 10.1089/ars.2014.6234.
- [4] Reyes RV, Castillo-Galán S, Hernandez I, et al. Revisiting the role of TRP, Orai, and ASIC channels in the pulmonary arterial response to hypoxia [J]. *Front Physiol*, 2018, 9: 486. DOI: 10.3389/fphys.2018.00486.
- [5] Morrell NW, Adnot S, Archer SL, et al. Cellular and molecular basis of pulmonary arterial hypertension [J]. *J Am Coll Cardiol*, 2009, 54 (1 Suppl): S20–31. DOI: 10.1016/j.jacc.2009.04.018.
- [6] Malczyk M, Veith C, Schermuly RT, et al. NADPH oxidases: do they play a role in TRPC regulation under hypoxia? [J]. *Pflugers Arch*, 2016, 468 (1): 23–41. DOI: 10.1007/s00424-015-1731-3.
- [7] Sommer N, Strielkov I, Pak O, et al. Oxygen sensing and signal transduction in hypoxic pulmonary vasoconstriction [J]. *Eur Respir J*, 2016, 47 (1): 288–303. DOI: 10.1183/13993003.00945-2015.
- [8] Bradford JR, Dean HP. The pulmonary circulation [J]. *J Physiol*, 1894, 16 (1–2): 34–158. 25.
- [9] Suresh K, Shimoda LA. Lung circulation [J]. *Compr Physiol*, 2016, 6 (2): 897–943. DOI: 10.1002/cphy.c140049.
- [10] Herrera EA, Farias JG, Ebensperger G, et al. Pharmacological approaches in either intermittent or permanent hypoxia: a tale of two exposures [J]. *Pharmacol Res*, 2015, 101: 94–101. DOI: 10.1016/j.phrs.2015.07.011.
- [11] Goldenberg NM, Wang L, Ranke H, et al. TRPV4 is required for hypoxic pulmonary vasoconstriction [J]. *Anesthesiology*, 2015, 122 (6): 1338–1348. DOI: 10.1097/ALN.0000000000000647.
- [12] Tan CH, McNaughton PA. The TRPM2 ion channel is required for sensitivity to warmth [J]. *Nature*, 2016, 536 (7617): 460–463. DOI: 10.1038/nature19074.
- [13] Song K, Wang H, Kamm GB, et al. The TRPM2 channel is a hypothalamic heat sensor that limits fever and can drive hypothermia [J]. *Science*, 2016, 353 (6306): 1393–1398. DOI: 10.1126/science.aaf7537.
- [14] Yudin Y, Lutz B, Tao YX, et al. Phospholipase C δ 4 regulates cold sensitivity in mice [J]. *J Physiol*, 2016, 594 (13): 3609–3628. DOI: 10.1113/JP272321.
- [15] Wang Q, Wang D, Yan G, et al. TRPC6 is required for hypoxia-induced basal intracellular calcium concentration elevation, and for the proliferation and migration of rat distal pulmonary venous smooth muscle cells [J]. *Mol Med Rep*, 2016, 13 (2): 1577–1585. DOI: 10.3892/mmr.2015.4750.
- [16] Suresh K, Shimoda LA. Endothelial cell reactive oxygen species and Ca^{2+} signaling in pulmonary hypertension [J]. *Adv Exp Med Biol*, 2017, 967: 299–314. DOI: 10.1007/978-3-319-63245-2_18.
- [17] Smith KA, Voirit G, Tang H, et al. Notch activation of Ca^{2+} signaling in the development of hypoxic pulmonary vasoconstriction and pulmonary hypertension [J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2015, 53 (3): 355–367. DOI: 10.1165/ajrmb.2014-0235OC.
- [18] Losenkova K, Zuccarini M, Helenius M, et al. Endothelial cells cope with hypoxia-induced depletion of ATP via activation of cellular purine turnover and phosphotransfer networks [J]. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis*, 2018, 1864 (5 Pt A): 1804–1815. DOI: 10.1016/j.bbadis.2018.03.001.
- [19] Santulli G, Xie W, Reiken SR, et al. Mitochondrial calcium overload is a key determinant in heart failure [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2015, 112 (36): 11389–11394. DOI: 10.1073/pnas.1513047112.
- [20] Song T, Zheng YM, Wang YX. Cross talk between mitochondrial reactive oxygen species and sarcoplasmic reticulum calcium in pulmonary arterial smooth muscle cells [J]. *Adv Exp Med Biol*, 2017, 967: 289–298. DOI: 10.1007/978-3-319-63245-2_17.
- [21] Tabeling C, Yu H, Wang L, et al. CFTR and sphingolipids mediate hypoxic pulmonary vasoconstriction [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2015, 112 (13): E1614–1623. DOI: 10.1073/pnas.1421190112.
- [22] Krauszman A, Mak TW, Szaszi K, et al. Role of phosphatase and tensin homolog in hypoxic pulmonary vasoconstriction [J]. *Cardiovasc Res*, 2017, 113 (8): 869–878. DOI: 10.1093/cvr/cvx076.
- [23] Strielkov I, Krause NC, Sommer N, et al. Hypoxic pulmonary vasoconstriction in isolated mouse pulmonary arterial vessels [J]. *Exp Physiol*, 2018, 103 (9): 1185–1191. DOI: 10.1113/EP087117.
- [24] Fuchs B, Rupp M, Ghofrani HA, et al. Diacylglycerol regulates acute hypoxic pulmonary vasoconstriction via TRPC6 [J]. *Respir Res*, 2011, 12: 20. DOI: 10.1186/1465-9921-12-20.

(收稿日期: 2019-01-07)