

钙离子激活钾通道与肺动脉高压的研究进展

莫辰 张恒

【摘要】 肺动脉高压(Pulmonary arterial hypertension, PAH)是一种难治性疾病,所有肺动脉高压的发生都表现为肺血管阻力增加和肺血管重构,最终导致右心室衰竭乃至过早死亡。据报道,钙离子激活钾离子通道(KCa)在介导缺氧性肺血管收缩反应(Hypoxic pulmonary vasoconstriction, HPV)和心血管疾病中发挥重要作用。该文对近年来有关钙离子激活钾通道与肺动脉高压的研究进展作一总结。

【关键词】 钙离子激活钾通道; 肺动脉高压

[中图分类号]R544 [文献标识码]A DOI:10.3969/j.issn.1002-1256.2019.16.041

一、肺动脉高压的概述

肺动脉高压(Pulmonary arterial hypertension, PAH)是一种由多种病因引起的破坏性心肺疾病,其主要特征是血管收缩、毛细血管前壁重构和原位血栓形成。虽然 PAH 的发病机制被认为是一个复杂和多因素的过程,但越来越多的证据表明^[1],肺动脉平滑肌细胞钾通道功能障碍是 PAH 的一个重要标志。除调节多种生理功能外,钾离子通道表达和(或)活性的降低对 PAH 的建立和进展也有显著影响。目前 PAH 的发病机制尚未完全阐明,其组织病理学特征主要包括内膜的损伤和外膜的增厚。在 PAH 患者肺小动脉不同程度的内侧肥大看出,肺动脉平滑肌细胞(PASMCs)的增生可能是这些变化的主要因素^[2]。

二、KCa 的结构

钾离子通道广泛分布在动脉壁上,对于维持细胞膜电位、细胞大小、迁移、增殖和凋亡具有重要作用^[3]。肺动脉平滑肌上已知存在四种钾通道^[3-4],分别是电压依赖性钾通道(KV)、钙离子激活钾通道(KCa)、ATP 敏感性钾通道(KATP)和双孔域钾通道(K2P)。其中钙激活的钾通道是一组钾通道,包括大电导 Ca²⁺激活钾通道(BKCa)、中电导 Ca²⁺激活钾通道(IKCa)和小电导 Ca²⁺激活钾通道(SKCa)^[5]。BK通道的结构由 α 和 β 两种亚单位构成,呈四聚体形态。其中 β 亚单位有四种亚型(β_1 、 β_2 、 β_3 和 β_4)。血管平滑肌细胞上的主要是 β_1 亚单位^[6]。此外, β 亚单位能增强大电导钾通道的钙离子敏感性,并且对大电导钾通道的生理活动也具有十分重要的调节作用^[7]。尽管在不同的血管床上钾离子通道的密度分布不同,但在绝大多数动脉中,大电导钙离子和电压激活钾离子通道是主要的钾离子通道种类。Hayabuchi 等研究表明,钙离子激活钾通道参与 PAH 的发病过程,尤其是 KCa3.1。他们发现平滑肌细胞上的 BKCa 通过转化为 KCa3.1,从而促进细胞的迁移和增殖以及抑制细胞凋亡^[3],最终导致平滑肌细胞增生肥厚。

三、肺动脉高压和 KCa

PAH 基本发病机制包括肺血管收缩、原位血栓形成和内

膜增生肥厚,进而导致中小肺动脉闭塞,形成丛状病变^[8]。肺动脉平滑肌细胞中存在多种功能不同的钾通道,导致多种生理活动和病理行为。大电导钾通道是钙敏钾离子通道,在血管中广泛表达尤其是在内皮细胞中和血管平滑肌细胞中^[9]。这些通道在肺动脉高压(PAH)的发病和病情加重中的影响也在继续被揭晓。

1. KCa 通道调控血管舒缩机制:在正常生理条件下,肺循环是一种低压循环阻力系统。PASMCs 在很大程度上维持着肺血管的低血管张力。离子通道是重要的跨膜蛋白,通过改变细胞膜电位、细胞体积和细胞内离子水平,影响血管平滑肌(Vascular smooth muscle cells, VSMC)的收缩状态、增殖和凋亡等多种功能^[10]。肺血管内皮细胞(Pulmonary vascular endothelial cells, PVEC)和平滑肌细胞(Pulmonary vascular smooth muscle cells, PVSVC)中的 BKCa 通道在去极化和细胞内钙离子水平升高时打开,导致膜超极化^[11]。因此, K⁺通道活性和表达的变化都对静息膜电位有直接影响,从而影响肺动脉血管张力^[12]。钙离子敏感钾通道有五种(KCa1-KCa5),普遍存在的 BKCa 通道结构独特,有七个跨膜结构域和一个钙结合区(bowl),当胞质钙离子升高时,bowl 的开放增加起到抑制血管收缩的作用^[13]。以往的研究表明, KCa2.3 和 KCa3.1 通道定位于人的肺内皮和上皮,通过选择性激活剂 NS309 对这些通道进行药理激活,可松弛人离体肺动脉和细支气管。KCa3.1 通道的药理调节剂可能具有双面性,阻断 KCa3.1 通道可以减少受体介导的肺动脉舒张反应,从而增加动脉张力的失调。然而 KCa2.3 通道的选择性激活剂可能是作为更有效、更安全的药理靶点,使得肺血管舒张和支气管扩张。综上所述,上皮和内皮细胞 KCa2.3 通道功能的药理增强可能是治疗慢性阻塞性肺疾病及相关肺动脉高压的一种新方法。Kerr 等研究表明^[14],抑制 IKCa 通道,间隙连接,TRPC3 通道或 NO 合酶以非加成方式增强对激动剂的平滑肌去极化。这些数据共同表明,作为调节平滑肌张力的不同途径,NO 和内皮 IKCa 通道参与调节激动剂诱导的血管收缩的整合机制。Zhang 等研究表明^[15],偏亚硫酸氢钠(SMB)在体内和体外均能增加大鼠主动脉 BKCa 通道 α 和 β_1 亚基的 mRNA 和蛋白水平。SMB 诱导的血管舒张作用的分子机制可能与 BKCa 通道亚基的表达变化有关。

在离体肺动脉环中, BKCa 通道抑制剂 TEA 处理可引起基础肺动脉压增高且 HPV 反应增强^[16]。有报道称, BKCa

基金项目:国家自然科学基金(81770297);安徽省教育厅重点项目(KJ2018ZD023)

作者单位:233000 安徽蚌埠,蚌埠医学院第一附属医院心血管科
通信作者:张恒, Email:13965270077@139.com

通道能够调节肺动脉压有一部分可能是因为蛋白激酶 C (PKC) 抑制 cAMP 诱导的 BKCa 通道的激活, 并引起肺功能的改变。在血管细胞中, 它们的开放导致细胞膜的超极化, 并引起细胞活动的多种变化。在内皮细胞中, 超极化增加了钙的流入, 增强了内皮 NO 合酶的激活^[17]。而在平滑肌细胞中, 超极化通过降低 L 型钙通道的开放概率来介导舒张。这反过来又会引起血管舒张, 降低至少部分促增殖钙依赖的有丝分裂原激活蛋白 (Mitogen-activated protein, MAP) 激酶的活性。有证据表明, 中导钙激活钾通道 (KCa3.1 通道) 与平滑肌的增殖有关^[18-20]。KCa3.1 表达的降低与 PAH 中 PSMCs 增殖的减少有关。RVP 降低是由于 PSMCs 增殖减少, 从而扩大肺动脉血管的内部空间^[21]。Morio 等研究表明, 内皮源性超极化因子 (Endotheligenichyperchemical factor, EDHF) 活性的增强至少部分是通过细胞色素 P450 代谢物的改变和 MCT 诱导的肺动脉高压中 KCa 表达的上调^[22]。

2. KCa 相关的信号通路: Barman 等研究表明, PKG 可直接或间接激活 KCa 通道^[23]。间接作用包括受体磷酸化细胞内 R_yR 敏感的 Ca²⁺ 库, 导致所谓的 Ca²⁺ 火花的局部释放和 KCa 通道的激活^[24]。基于最近的观察, 其中一个额外的间接影响即 PKG 降低 Ca²⁺ 通过电压控制的 Ca²⁺ 通道 (VOCC) 转运, 从而进一步限制 PSMC 胞浆 Ca²⁺ 浓度, 促进血管舒张^[25]。PKG 也可以通过其磷酸化直接激活 KCa 通道链。PKG-1 可能足以通过 NO/cGMP 信号通路激活 KCa 通道^[26]。除了增加细胞内 Ca²⁺ 浓度和去极化, 激活 KCa 最强大的机制是 cAMP 或 cGMP 依赖性蛋白激酶 (蛋白激酶 A 或 G) 介导的通道磷酸化^[27-28]。Wang 等研究表明, EEH 通过改变细胞内 Ca²⁺, Ca²⁺ 进入以及大、中电导 KCa 通道稳态, 通过 eNOS-NO-cGMP 信号通路诱导内皮依赖性血管舒张。数据还表明 Akt-eNOS 通路参与 EEH 诱导的血管舒张。EEH 在体内诱导低血压和心动过缓^[29]。

3. KCa 通道的特异性开放剂: 以往研究表明, NO、CO 和 H₂S 均能够通过调节离子通道, 介导血管舒张, 发挥心血管保护作用。Nagaraj 等研究表明^[12] DHA 作为 KCa 通道激活剂在肺循环中及其在肺动脉高压模型以及特发性肺动脉高压 (Idiopathic pulmonary arterial hypertension, IPAH) 样本中具有重要作用。另外, 急性 DHA 给药可迅速激活人初级 PSMCs 中的全细胞 K⁺ 电流, 并表明这种激活电流主要来自 KCa 通道, 而不是电压门控的 K⁺ 通道。KCa 通道的激活是剂量依赖性的, 降低肺血管张力, 并通过肺内分离预收缩动脉的 BKCa 通道引起内皮依赖性和非依赖性肺血管扩张。内皮细胞与 PSMC BKCa 通道在 DHA 的血管舒张反应中的相对作用还有待确定。DHA 可显著降低离体灌注肺 PAP 升高 U46619, 然而它没有改变基线 PAP。DHA 诱导的血管舒张作用在 BKCa 缺失的小鼠明显降低, 提示 DHA 的急性肺血管舒张作用部分是通过激活 BKCa 通道介导的。重要的是, 在小鼠体内慢性缺氧肺动脉高压疾病模型中, 急性 DHA 的应用使右心室收缩压恢复到对照组动物的水平, 表明 DHA 是一种有效的肺动脉高压的血管舒张剂。此外, 还观察到 IPAH 患者肺动脉重构中 BKCa 通道的上调。与这些发现一致, 也证明了 DHA 使 IPAH 患者的原发性人 PSMCs 膜电位发生了超极化, 这在基线时被发现是去极化的, 但在健康的志愿者中没

有。KCa 通道活性持续下降可能参与大鼠慢性低氧性肺动脉高压的发生发展。Chen 等研究表明^[30], 天然激素脱氢表雄酮 (DHEA) 也是一种新型的肺血管 KCa 通道开放剂。DHEA 可通过激活肺动脉 SMCs 的 KCa 通道, 降低慢性缺氧引起的 mPAP 升高。

4. 缺氧与 KCa: Barnes 等研究表明, BKCa 通道的 β 道亚基在调节 PSMCs 对缺氧方面的反应发挥了重要作用。支持这一观点的证据包括, 在没有肺血管重构增强的情况下, 急性和慢性缺氧的生理反应增强。此外, 观察到 β 道亚基单位在周围肺血管系统中表达相对丰富, 而没有 β 单亚基单位的 PSMCs 中 Rho 激酶活性和局灶性粘连复合物表达增加, 这为血管调节的作用提供进一步的支持。BKCa 通道 β 道亚基的表达模式提高了其在肺血管系统中作为一种新的、以前未处理的治疗靶点的潜力^[31]。Zhang 等研究表明, 长期应用 L-精氨酸 (L-Arg) 可提高慢性缺氧大鼠 PSMCs 的静息膜电位, 增加电压门控钾通道电流, 降低 Ca²⁺ 敏感钾通道电流。这些作用被认为是有效改善慢性低氧性肺动脉高压的一部分^[32]。再者, 在灌注肺方面的研究显示^[33], 阻断 BKCa 可以使 HPV 显著增强, 并且在慢性低氧组 HPV 增强的效应明显要高于常氧组, 提示 BKCa 在 HPV 中起到的重要调节作用, 慢性低氧可以使此调节作用明显增强。

5. 血管活性物质与 KCa: 5-HT(1B) 受体结合抑制 BKCa, 从而通过激活 t 型 VOCC 和破坏 cGMP 介导的松弛, 增加组织对收缩激动剂的敏感性^[34]。钾离子通道同时也参与多种心血管疾病的发生发展, 对疾病的预后有着重要影响。缓激肽诱导的肺内皮细胞活化可触发一氧化氮生成和其他导致血管舒张的信号, 包括刺激肌细胞中大电导的 Ca²⁺ 活化的钾离子通道, 使质膜极化, 从而减少细胞内 Ca²⁺。宫内慢性缺氧 (CH) 可降低胎儿至新生儿的血管舒张, 并可导致新生儿肺动脉高压。以往的研究表明, CH 增强了 BKCa 通道对缓激肽诱导的胎羊血管舒张的作用, 但阻碍了新生儿血管舒张通路的进一步发展。Lu 等^[35] 通过糖尿病大鼠冠状动脉平滑肌细胞的研究发现, c-Src 抑制剂可取消血管紧张素 II 对 BKCa 电流的抑制效应, 这些研究提示 c-Src 对 BKCa 通道具有调节作用。同样, 抑制血红素氧合酶 (HO) 后 IbTx 敏感性电流降低, 说明内源性 CO 可以激活血管 BKCa 电流。

6. 钾通道在肺血管重构的调控作用: 肺动脉血管重构是肺动脉高压的一个重要病理特征, 是由于 PSMCs 的增殖和迁移所致。它导致了管腔的进行性狭窄和功能下降, 最终导致右心室肥厚和功能障碍。钾离子通道在平滑肌细胞增殖、迁移和凋亡过程中发挥关键作用^[36]。BKCa 可引起细胞内钾离子外流增加, 细胞内钾离子浓度降低, 激活凋亡相关酶类, 从而诱导 PSMC 凋亡, 抑制肺血管重构^[37-38]。

展望 目前关于钙离子激活钾通道在肺动脉高压中的发生发展尚不完全清楚, 但近年来越来越多的研究表明钙离子激活钾通道在肺动脉高压具有重要作用。明确钙离子激活钾通道的作用机制, 对我们研究肺动脉高压的发病机制及治疗方面都具有重要作用。关于钙离子激活钾通道的研究也会为将来很多疾病的诊治提供新的思路和方法。

参 考 文 献

[1] Dunham-Snary KJ, Wu D, Sykes EA, et al. Hypoxic Pulmonary

- Vasoconstriction; From Molecular Mechanisms to Medicine [J]. Chest, 2017, 151(1): 181-192.
- [2] Dias-Neto M, Luísa-Neves A, Pinho S, et al. Pathophysiology of infantile pulmonary arterial hypertension induced by monocrotaline [J]. *Pediatr Cardiol*, 2015, 36: 1000-1013.
- [3] Hayabuchi Y. The Action of Smooth Muscle Cell Potassium Channels in the Pathology of Pulmonary Arterial Hypertension [J]. *Pediatr Cardiol*, 2017, 38(1): 1-14.
- [4] Tang B, Li Y, Nagaraj C, et al. Endothelin-1 inhibits background two-pore domain channel TASK-1 in primary human pulmonary artery smooth muscle cells [J]. *Respir Cell Mol Biol*, 2009, 41(4): 476-483.
- [5] Berkefeld H, Fakler BU. Ca^{2+} -activated K^{+} channels; from protein complexes to function [J]. *Physiol Rev*, 2010, 90: 1437-1459.
- [6] Qian L, Liu X, Wang R. Role of BKca channels in diabetic vascular complications [J]. *Chin Med J*, 2014, 127(9): 1775.
- [7] Yang HH, Zhang GH, Cui JM, et al. BK channels; multiple sensors, one activation gate [J]. *Front Physiol*, 2015, 6: 29.
- [8] Guignabert C, Tu L, Girerd B, et al. New molecular targets of pulmonary vascular remodeling in pulmonary arterial hypertension: importance of endothelial communication [J]. *Chest*, 2015, 147(2): 529-537.
- [9] Vang A, Mazer J, Casserly B, et al. Activation of endothelial BKCa channels causes pulmonary vasodilation [J]. *Vascul Pharmacol*, 2010, 53: 122-129.
- [10] Bonnet S, Archer SL. Potassium channel diversity in the pulmonary arteries and pulmonary veins; implications for regulation of the pulmonary vasculature in health and during pulmonary hypertension [J]. *Pharmacol Ther*, 2007, 115(1): 56-69.
- [11] Eichhorn B, Dobrev D. Vascular large conductance calcium-activated potassium channels; Functional role and therapeutic potential [J]. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol*, 2007, 376(3): 145-155.
- [12] Nagaraj C, Tang B, Nagy BM, et al. Docosahexaenoic acid causes rapid pulmonary arterial relaxation via KCa channel-mediated hyperpolarisation in pulmonary hypertension [J]. *Eur Respir J*, 2016, 48(4): 1127-1136.
- [13] Gutman GA, Chandy KG, Grissmer S, et al. International union of pharmacology. L III. Nomenclature and molecular relationships of voltage-gated potassium channels [J]. *Pharmacol Rev*, 2005, 57(4): 473-508.
- [14] Kerr PM, Wei R, Tam R, et al. Activation of endothelial IKCa channels underlies NO-dependent myoendothelial feedback [J]. *Vascul Pharmacol*, 2015, 74: 130-138.
- [15] Zhang Q, Bai Y, Tian J, et al. Effects of sodium metabisulfite on the expression of BK(Ca), K(ATP), and L-Ca($^{2+}$) channels in rat aortas in vivo and in vitro [J]. *Hazard Mater*, 2015, 284: 151-162.
- [16] Yan J, Chen R, Liu P, et al. Docosahexaenoic acid attenuates hypoxic pulmonary vasoconstriction by activating the large conductance Ca^{2+} -activated K^{+} currents in pulmonary artery smooth muscle cells [J]. *Pulm Pharmacol Ther*, 2014, 28(1): 9-16.
- [17] Vang A, Mazer J, Casserly B, et al. Activation of endothelial BKCa channels causes pulmonary vasodilation [J]. *Vascul Pharmacol*, 2010, 53: 122-129.
- [18] Zhao LM, Su XL, Wang Y, et al. KCa3.1 channels mediate the increase of cell migration and proliferation by advanced glycation end products in cultured rat vascular smooth muscle cells [J]. *Lab Invest*, 2013, 93: 159-167.
- [19] Su XL, Zhang H, Yu W, et al. Role of KCa3.1 channels in proliferation and migration of vascular smooth muscle cells by diabetic rat serum [J]. *Chin Physiol*, 2013, 56: 155-162.
- [20] Toyama K, Wulff H, Chandy KG, et al. The intermediate-conductance calcium-activated potassium channel KCa3.1 contributes to atherogenesis in mice and humans [J]. *Clin Invest*, 2008, 118: 3025-3037.
- [21] Lee H, Kim KC, Cho MS, et al. Modafinil improves monocrotaline-induced pulmonary hypertension rat model [J]. *Pediatric Research*, 2016, 80(1): 119-127.
- [22] Morio Y, Homma N, Takahashi H, et al. Activity of endothelium-derived hyperpolarizing factor is augmented in monocrotaline-induced pulmonary hypertension of rat lungs [J]. *J Vasc Res*, 2007, 44(4): 325-335.
- [23] Barman SA, Zhu S, White RE. Protein kinase C inhibits BKCa channel activity in pulmonary arterial smooth muscle [J]. *Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2004, 286: L149-L155.
- [24] Nelson MT, Cheng H, Rubart M, et al. Relaxation of arterial smooth muscle by arterial sparks [J]. *Science*, 1995, 270: 633-637.
- [25] Keef KD, Hume JR, Zhong J. Regulation of cardiac and smooth muscle Ca^{2+} channels (CaV1.2a, b) by protein kinases [J]. *Physiol Cell Physiol*, 2001, 281: C1743-C1756.
- [26] Swayze RD, Braun AP. A catalytically inactive mutant of type I cGMP-dependent protein kinase prevents enhancement of large conductance, calcium-sensitive K channels by sodium nitroprusside and cGmp [J]. *Biol Chem*, 2001, 276: 19729-19737.
- [27] Olschewski A, Papp R, Nagaraj C, et al. Ion channels and transporters as therapeutic targets in the pulmonary circulation [J]. *Pharmacol Ther*, 2014, 144: 349-368.
- [28] Li Y, Connolly M, Nagaraj C, et al. Peroxisome proliferator-activated receptor-beta/delta, the acute signaling factor in prostacyclin-induced pulmonary vasodilation [J]. *Respir Cell Mol Biol*, 2012, 46: 372-379.
- [29] Wang TT, Zhou GH, Kho JH, et al. Vasorelaxant action of an ethylacetate fraction of *Euphorbia humifusa* involves NO-cGMP pathway and potassium channels [J]. *J Ethnopharmacol*, 2013, 148(2): 655-663.
- [30] 肖欣荣, 陈文彬, 程德云, 等. 脱氢表雄酮对慢性大鼠肺动脉平滑肌细胞钙激活钾通道的作用 [J]. *中华结核和呼吸杂志*, 2004, 27(1): 41-45.
- [31] Barnes EA, Lee L, Brenner R, et al. β 1-Subunit of the calcium-sensitive potassium channel modulates the pulmonary vascular smooth muscle cell response to hypoxia [J]. *Am J Physiol-Lung C*, 2018, 315(2): L265-L275.
- [32] 张永昶, 倪望, 甄国华, 等. 长期应用左旋精氨酸对慢性低氧肺动脉平滑肌细胞钾通道的作用 [J]. *中华结核和呼吸杂志*, 2003, 26(2): 93-96.
- [33] Sommer N, Strielkov I, Pak O, et al. Oxygen sensing and signal transduction in hypoxic pulmonary vasoconstriction [J]. *Eur Respir*, 2016, 47(1): 288-303.
- [34] McKenzie C, Alapati V. R, MacDonald A, et al. Mechanisms involved in the regulation of bovine pulmonary vascular tone by the 5-HT1B receptor [J]. *Br J Pharmacol*, 2010, 159(1): 188-200.
- [35] Lu T, Zhang DM, Wang XL, et al. Regulation of coronary arterial BK channels by caveolae-mediated angiotensin II signaling in diabetes mellitus [J]. *Circ Res*, 2010, 106(6): 1164-1173.
- [36] Cheong A, Li J, Sukumar P, et al. Potent suppression of vascular smooth muscle cell migration and human neointimal hyperplasia by KV1.3 channel blockers [J]. *Cardiovasc Res*, 2011, 89(2): 282-289.
- [37] Bi D, Toyama K, Lemaitre V, et al. The intermediate conductance calcium-activated potassium channel KCa3.1 regulates vascular smooth muscle cell proliferation via controlling calcium-dependent signaling [J]. *Biol Chem*, 2013, 288(22): 15843-15853.
- [38] McFerrin MB, Turner KL, Cuddapah VA, et al. Differential role of IK and BK potassium channels as mediators of intrinsic and extrinsic apoptotic cell death [J]. *Physiol Cell Physiol*, 2012, 303(10): C1070-C1078.

(收稿日期: 2019-03-27)

(本文编辑: 王小龙)