

PKA/PKC 介导 TRPV1 敏化在肠易激综合征中的作用

张涛 方健松 潘锋 黄晓燕 陈玉

肠易激综合征(IBS) 是消化系常见、多发的功能性疾病, 其患病率在全球范围内为 1.1% ~ 45.0%, 我国 IBS(罗马 II 标准) 患病率为 5% 以上, 且呈上升趋势。在世界范围内 IBS 就诊率占消化专科门诊 30% ~ 70%^[1-2]。IBS 发病机制尚未完全清楚, 目前认为主要是内脏高敏感性(visceral hypersensitivity, VH)、肠动力异常、脑肠互动、炎症及应激等多种发病机制共同作用的结果, 且多种机制之间相互关联^[3-4]。其中 VH 在 IBS 发生、发展中占据关键地位。内脏高敏感是指内脏组织对各种伤害性或生理性刺激的感受性增强。IBS 患者存在广泛的 VH, 直肠、结肠、空肠和食管均可出现高敏感性增高, 并且内脏感觉高敏感性与 IBS 患者疾病活动程度正相关^[5]。最近的研究表明, 辣素受体家族(transit vanilloid receptors, TRPV) 是一种与疼痛相关的阳离子通道, TRPV1 可通过 PKA/PKC 途径实现敏化参与 IBS 发病机制。本文就 PKA/PKC 介导 TRPV1 敏化在 IBS 中的作用作一评述。

1 TRPV1 介导离子通道开放参与疼痛转导在 IBS 中的地位

TRPV 是一类存在于细胞膜或胞内细胞器膜上的一个配体门控非选择性阳离子通道, 与痛觉传递有着密切联系, 可被辣椒素、氢离子和伤害性热刺激(> 43 °C) 激活^[6]。TRPV1 是一种多型信号探测器及多种疼痛刺激的整合器, 在脊髓背根神经节、三叉神经节和迷走神经节的中、小神经元上, 在肠道黏膜下神经丛及肌间神经丛以及消化道肌肉、黏膜均有分布^[7]。其中背根神经节(DRG) 神经元是机体的初级感觉神经元, 能感受伤害性刺激、炎症刺激、温度觉及机械压觉等刺激产生传入冲动, 从而在痛觉的产生和传导、温度觉的产生和传导及触觉、压觉的产生及传导等方面发挥至关重要的作用。辣椒素(CAP) 阳性 DRG 神经元是伤害性神经元, 感受伤害性刺激而使机体产生痛觉和保护, CAP 受体即 TRPV1 通道活化介导机体的痛觉产生和痛觉增敏。研究^[8]发现, TRPV1 拮抗剂可使结肠扩张刺激引起的内脏敏感性减弱, 此效应在 TRPV1 基因敲除和野生型小鼠中的更为明显。而通过避水应激上调大鼠背根神经节 TRPV1 的表达, 可使大鼠内脏敏感性

增高^[9]。由此可见, TRPV1 参与了内脏高敏感的形成。

那么 TRPV1 是如何实现敏化参与 IBS 发病机制? 目前研究认为, 内脏高敏感性的发生与 TRPV1 上调及其磷酸化有关。TRPV1 通路的活化有 3 条途径: PIP₂(脂酰肌醇 4, 5-二磷酸) 直接激活途径、PIP₂-PKC(蛋白激酶 C) 途径和 PKA(蛋白激酶 A) 途径。其中 PKA 与 PIP₂-PKC 途径介导 TRPV1 敏化在 IBS 中作用的研究较多。

1.1 PKA 介导 TRPV1 敏化参与 IBS 发病机制 内脏敏感性增高提示在外周或中枢(包括脊髓和脊髓上) 水平上感觉神经元的兴奋性增强。单胺类神经递质如多巴胺、5-羟色胺、去甲肾上腺素等, 能通过 G 蛋白耦联的受体激活, 再通过腺苷酸环化酶(AC) 激活环磷酸腺苷(cAMP) 和蛋白激酶(PKA)^[10-11]。PKA 是依赖于 cAMP 的蛋白激酶, cAMP 与 PKA 的调节亚基结合, 使催化亚基与之解离并进入细胞核, 促使 cAMP 反应元件蛋白(CREB) 的丝氨酸磷酸化, 并通过活化 CREB/EBP 家族参与细胞核内靶基因的转录调控^[12]。TRPV1 具有 PKA 调节结构域, 调节结构域/亚基中具有辅因子如 cAMP、Ca²⁺ 等的结合位点, 通过与辅因子结合或解离而调节酶的活性。cAMP/PKA 信号通路介导的磷酸化既可以敏化 TRPV1 又可保护其免受脱敏^[13-14]。此外, PKA 介导的磷酸化有助于热激活 TRPV1 电流^[15]和抵消 Ca²⁺ 依赖脱敏。PKA 促使 TRPV1 磷酸化(敏化), 与配体结合后, 通道开放, 导致 Ca²⁺ 通道/泵磷酸化而改变构象, 阳离子(主要是 Na⁺ 和 Ca²⁺) 从胞外进入胞内, 介导结肠平滑肌收缩, 促进神经肽类和兴奋性氨基酸如 P 物质(SP), 降钙素基因相关蛋白等胃肠肽类物质释放, 导致内脏敏感性增高和胃肠运动功能紊乱^[12], 从而引起 IBS 相关症状。

1.2 PKC 介导 TRPV1 敏化参与 IBS 发病机制 蛋白激酶 C(PKC) 是细胞内一种依赖磷酸酯和钙的丝氨酸/苏氨酸激酶, 参与信号转导。PKC γ 、PKC ϵ 是 PKC 家族的重要成员。磷酸化 PKC(pPKC) 及 PKC ϵ 在疼痛的调节中发挥着重要作用^[16], PKC γ 与脊髓背角疼痛信息的传递相关^[17], PKC γ 阳性神经元分布于延髓和脊髓背角内, 参与信号转导、神经递质释放、神经元兴奋性调节、突触可塑性等方面^[18]。PKC γ -TRPV1-CGRP 信号通路在 IBS 内脏疼痛信号激活、转导及调控中发挥重要作用^[19-20]。研究^[21]发现, PKC γ 抑制剂(CHE) 能使脊髓背角广泛动力型神经元对机械刺激反应的阈值增加, 膜结合 PKC 的量明显减少; PKC γ 激动剂(PMA), 脊髓背角神经元对非伤害性刺激的反应明显增强, PKC γ 的表达明显增高。PKC γ 受体的激活, 主要与其上游兴奋氨基酸受体代谢型谷氨酸受体(mGluR) 有关, 激活 mGluR5(mGluR 的亚型) 受体能引起细胞内 Ca²⁺ 浓度的改变, 而细胞内 Ca²⁺ 浓度的升高参与了多条细胞信号通路的转导, 包括诱导 PKC γ 和 TRPV1 受体的激活, 释放

doi: 10.3969/j.issn.1006-5725.2017.02.043

基金项目: 国家自然科学基金项目(编号: 81460724); 广西自然科学基金项目(编号: 2014GXNSFAA118212)

作者单位: 530011 南宁市, 广西中医药大学附属瑞康医院(张涛, 陈玉); 530000 南宁市, 广西中医药大学(方健松); 310002 杭州市, 浙江省中西医结合医院(潘锋); 530023 南宁市, 广西中医药大学第一附属医院(黄晓燕)

CGRP、SP, 甘丙肽、胆囊收缩素、生长抑素和一氧化氮等炎症因子, 产生疼痛^[22]。

TRPV1 具有 PKC ϵ 介导 TRPV1 敏化的位点。PKC ϵ 激活剂可使 TRPV1 对温度及辣椒素的敏感性增高, PKC 阻滞剂则可缓解由类胰蛋白酶引起的内脏高敏感状态, 而 PKC ϵ 激活剂对 TRPV1 基因敲除的小鼠不会使之出现痛觉过敏^[23-24]。这一过程的实现依赖于蛋白酶激活受体 2 (PAR2)。PAR2 是一种分布在胃肠道神经的 G 蛋白偶联受体, 参与胃肠动力改变、肠道内分泌、内脏痛觉增加等病理生理反应。IBS 患者肠道内肥大细胞分泌的类胰蛋白酶与过度表达的 PAR2 相结合, 激活下游磷酸脂酶 C β (PLC), 使 PIP₂ 分解产生二酰甘油, 在 Ca²⁺ 的协同下活化 PKC ϵ , 通过 PAR2-PKC 途径, 介导 TRPV1 敏化, 导致 TRPV1 开放阈值下降, 促使 Ca²⁺ 内流增加, 从而导致内脏敏感性增高^[25-27]。

2 展望

众多研究结果表明 TRPV1 通道与内脏高敏感性有密切关系, PKA/PKC 途径介导 TRPV1 敏化在 IBS 中的作用已得到初步共识, TRPV1 拮抗剂作为镇痛药在早期临床开发中, 但因其毒副作用大, 而在临床上应用受到限制^[28]。IBS 作为中医药治疗的优势病种, 近年的临床与实验研究发现, 中医药在改善 IBS 患者诸如腹痛、腹泻等临床症状效果确切^[29]。实验研究^[30-31]指出, 中医药改善 IBS 的腹痛、腹泻症状的机制可能与下调 PKC、CGRP 及 TRPV1 的表达, 降低内脏高敏感性有关。因此, 如何通过应用中医药干预 PKA/PKC 信号通路, 阻断 TRPV1 敏化及电压门控通道改变, 减少或抑制 SP、CGRP 释放, 从而降低内脏敏感性, 调节胃肠运动功能, 有望成为治疗 IBS 的新靶点。

3 参考文献

- [1] LOVELL R M, FORD A C. Global prevalence of and risk factors for irritable bowel syndrome: a meta analysis [J]. Clin Gastroenterol Hepatol, 2012, 10(7): 712-721.
- [2] LIU J, HOU X. A review of the irritable bowel syndrome in vestigation on epidemiology pathogenesis and pathophysiology in China [J]. J Gastroenterol Hepatol, 2011, 26 (Suppl 3): S88-93.
- [3] KESZTHELYI D, TROOST F J, MASCLÉE A A. Irritable bowel syndrome: methods, mechanisms, and pathophysiology. Methods to assess visceral hypersensitivity in irritable bowel syndrome [J]. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol, 2012, 303(2): G141-154.
- [4] CAMILLERI M, LASCH K, ZHOU W. Irritable bowel syndrome: methods, mechanisms, and pathophysiology. The confluence of increased permeability, inflammation, and pain in irritable bowel syndrome [J]. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol, 2012, 303(7): G775-785.
- [5] BIAN Z X. Novel insights about the mechanism of visceral hypersensitivity in maternally separated rats [J]. Neurogastroenterol Motil, 2012, 24(7): 593-596.
- [6] HOLZER P. Transient receptor potential (TRP) channels as drug targets for diseases of the digestive system [J]. Pharmacol Ther, 2011, 131(1): 142-170.
- [7] AKBAR A, YIANGOU Y, FACER P, et al. Expression of the TRPV1 receptor differs in quiescent inflammatory bowel disease with or without abdominal pain [J]. Gut, 2010, 59(6): 767-774.
- [8] ZHI L, DONG L, KONG D, et al. Curcumin acts via transient receptor potential vanilloid-1 receptors to inhibit gut nociception and reverses visceral hyperalgesia [J]. Neurogastroenterol Motil, 2013, 25(6): e429-e440.
- [9] YU Y B, YANG J, ZUO X L, et al. Transient receptor potential vanilloid-1 (TRPV1) and ankyrin-1 (TRPA1) participate in visceral hyperalgesia in chronic water avoidance stress rat model [J]. Neurochem Res, 2010, 35(5): 797-803.
- [10] VERMEULEN W, DE MAN J G, De Schepper H U, et al. Role of TRPV1 and TRPA1 in visceral hypersensitivity to colorectal distension during experimental colitis in rats [J]. Eur J Pharmacol, 2013, 698(1-3): 404-412.
- [11] MATSUMOTO K, LO M W, HOSO Y A et al. Experimental colitis alters expression of 5-HT receptors and transient receptor potential vanilloid 1 leading to visceral hypersensitivity in mice [J]. Lab Invest, 2012, 92(5): 769-782.
- [12] HUGHES P A, BRIERLEY S M, MARTIN C M, et al. TRPV1-expressing sensory fibres and IBS: links with immune function [J]. Gut, 2009, 58(3): 465-466.
- [13] MOHAPATRA D P, NAU C. Desensitization of capsaicin-activated currents in the vanilloid receptor TRPV1 is decreased by the cyclic AMP-dependent protein kinase pathway [J]. J Biol Chem, 2003, 278(50): 50080-50090.
- [14] VETTER I, CHENG W, PEIRIS M, et al. Rapid, opioid-sensitive mechanisms involved in transient receptor potential vanilloid 1 sensitization [J]. J Biol Chem, 2008, 283: 19540-19550.
- [15] RATHEE P K, DISTLER C, OBREJA O, et al. PKA/AKAP/VR-1 module: A common link of Gs-mediated signaling to thermal hyperalgesia [J]. J Neurosci, 2002, 22(11): 4740-4745.
- [16] RETHELY IM, H ORVATH-OSZWA LDE, BOROS C. Caudal end of the rat spinal dorsal horn [J]. Neu Rosci Lett, 2008, 445(2): 153-157.
- [17] SUN J, WU X, MENG Y, et al. Electro-acupuncture decreases 5-HT, CGRP and increases NPY in the brain-gut axis in two rat models of Diarrhea-predominant irritable bowel syndrome (D-IBS) [J]. BMC Complement Altern Med, 2015, 15(1): 340.
- [18] SUGIMOTO Y, KOJIMA Y, INAYOSHI A, et al. K-685, a TRPV1 antagonist, blocks PKC-sensitized TRPV1 activation and improves the inflammatory pain in a rat complete Freund's adjuvant model [J]. J Pharmacol Sci, 2013, 123(3): 256-266.
- [19] EL-SALHY M. Recent developments in the pathophysiology of irritable bowel syndrome [J]. World J Gastroenterol, 2015, 21(25): 7621-7636.
- [20] FURUTA S, SHIMIZU T, NARITA M, et al. Subdiaphragmatic vagotomy promotes nociceptive sensitivity of deep tissue in rats [J]. Neuroscience, 2009, 164(3): 1252-1262.
- [21] SIPR W E, BRIERLEY S M, MARTIN C M, et al. Transient receptor potential vanilloid 4 mediates protease activated receptor 2-induced sensitization of colonic afferent nerves and visceral hyperalgesia [J]. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol, 2008, 294(5): G1288-1298.
- [22] O'CONNOR EC1, BARISELLI S, BELLONE C. Synaptic basis of social dysfunction: a focus on postsynaptic proteins linking

- group-I mGluRs with AMPARs and NMDARs [J]. *Eur J Neurosci*, 2014, 39(7): 1114-1129.
- [23] VELLANI V, MAPPLEBECK S, MORIONDO A, et al. Protein kinase C activation potentiates gating of the vanilloid receptor VR1 by capsaicin, protons, heat and anandamide [J]. *J Physiol*, 2001, 534(Pt3): 813-825.
- [24] SRINIVASAN R, WOLFE D, GOSS J, et al. Protein kinase C epsilon contributes to basal and sensitizing responses of TRPV1 to capsaicin in rat dorsal root ganglion neurons [J]. *Eur J Neurosci*, 2008, 28(7): 1241-1254.
- [25] WICKLEY P J, Yuge R, RUSSELL M S, et al. Propofol modulates agonist-induced transient receptor potential vanilloid subtype-1 receptor desensitization via a protein kinase C epsilon-dependent pathway in mouse dorsal root ganglion sensory neurons [J]. *Anesthesiology*, 2010, 113(4): 833-844.
- [26] CHEN Y, YANG C, WANG Z J. Proteinase-activated receptor 2 sensitizes transient receptor potential vanilloid 1, transient receptor potential vanilloid 4, and transient receptor potential ankyrin 1 in paclitaxel induced neuropathic pain [J]. *Neuroscience*, 2011, 193: 440-451.
- [27] TILLU D V, HASSLER S N, BURGOS-VEGA C C, et al. Protease-activated receptor 2 activation is sufficient to induce the transition to a chronic pain state [J]. *Pain*, 2015, 156(5): 859-867.
- [28] EVANGELISTA S. Novel therapeutics in the field of capsaicin and pain [J]. *Expert Rev Clin Pharmacol*, 2015, 8(4): 373-375.
- [29] 黄适, 梁健, 邓天好, 等. 安肠汤治疗腹泻型肠易激综合征肝郁脾虚证的临床观察 [J]. *湖南中医杂志*, 2015, 31(12): 11-13.
- [30] 黄适, 刘鹏, 张涛, 等. PKC 信号介导 CGRP 表达调控内脏高敏感性探讨安肠汤防治腹泻型肠易激综合征 [J]. *实用医学杂志*, 2016, 32(15): 2438-2441.
- [31] 丛军, 蔡淦, 林江, 等. 肠吉泰对肠易激综合征内脏高敏感大鼠 TRPV 1 表达的影响 [J]. *上海中医药大学学报*, 2016, 30(2): 62-66.

(收稿: 2016-09-07 编辑: 樊成吉)

肾小球疾病与线粒体功能障碍的研究进展

林云 王梦平 李翠琼 曹灵

肾小球疾病是引起终末期肾脏疾病的主要原因。一般认为,免疫机制是肾小球疾病的始动因素,在氧化应激、细胞因子等炎症介质的参与下,最终导致肾小球的损伤和临床症状的产生,线粒体是活性氧的主要来源,因此线粒体功能障碍所致的氧化应激等损伤必然会加重肾小球疾病的发生进展。因此本文就肾小球疾病与线粒体功能障碍间关系做如下综述。

1 线粒体的生物学特点

1.1 线粒体结构 线粒体是真核细胞内进行内呼吸作用的细胞器。由内膜、外膜、膜间隙、嵴、基质这五部分组成。外膜上含有多种孔蛋白介导物质的运输;内膜中含有呼吸链蛋白(呼吸链复合体 I、II、III、IV)、参与线粒体分裂与融合的蛋白、线粒体 DNA (mitochondrial DNA, mtDNA), mtDNA 是独立于核 DNA 外的遗传物质,由 16 569 个碱基对组成的闭合环状双链 DNA 分子^[1]。线粒体外膜包绕内膜形成膜间隙,含有参与细胞凋亡调控的 Cyt-C、AIF 等物质^[2]。

1.2 线粒体功能 线粒体最重要的功能是通过氧化磷酸化产生 ATP^[3],为细胞各项活动提供能量。活性氧(reactive oxygen species, ROS)是氧化磷酸化过程中的副产物,具

有信号转导、调节代谢等生理功能。线粒体是细胞凋亡的调控中心,激活后可引起多种促凋亡因子的释放,最终通过 Caspase 依赖和 Caspase 非依赖的通路参与细胞的凋亡。mtDNA 可分为基因编码区和非编码区,其中非编码区包括复制控制区(又称为 D-环区)和复制起始区, D-loop 区主要调控 mtDNA 复制与转录,在 mtDNA 表达中起着重要作用^[4]。此外,线粒体在细胞增殖分化、炎症反应、免疫调控等方面也发挥作用^[5]。

2 线粒体功能障碍的表现

线粒体在活性氧、蛋白尿等致病因素的作用下极易发生损伤和功能障碍,表现在:(1)形态结构异常 表现为线粒体肿胀、嵴和基质的消失。(2)ATP 合成减少 呼吸链复合体蛋白酶活性降低或质量发生异常,将导致 ATP 合成减少。在心力衰竭动物模型中发现,心肌线粒体复合体 IV 活性明显减低,复合体 I、III 的活性受到抑制,这些改变使线粒体 ATP 合成减少从而加重心功能的恶化^[6]。(3)活性氧产生增多 包括活性氧产生绝对增多和(或)活性氧产生相对增多,过多的 ROS 可直接攻击生物大分子物质导致细胞内抗氧化酶水平降低,引起细胞的氧化性损伤,和(或)通过参与细胞内的信号转导而引起相应代谢改变。(4)动力学失衡 线粒体依靠分裂、融合、自噬来维持其网络状结构,参与 ATP 生成、线粒体 DNA 遗传、细胞凋亡等机体生理活动,这一过程称为线粒体动力学。用阿尔茨海默病(AD)致病蛋白 A β 处理小鼠神经母细胞瘤细胞,发现线粒体分裂蛋白 Drp1 表达增加,融合蛋白 Mfn1/2 表达减少,提示在 AD 的发病中存在异常的线粒体动力学^[7]。(5) mtDNA 损伤 mtDNA 缺乏组蛋白保护及 DNA 损伤修复机

doi: 10.3969/j.issn.1006-5725.2017.02.044

基金项目:四川省卫生厅科研项目(编号:080194);泸州市科技局重点项目(编号:2012-S-37)

作者单位:646000 四川省泸州市,西南医科大学附属医院肾病内科

通信作者:曹灵 E-mail: lzcaoling@163.com