

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2014.08.050

TRPC6 在中枢神经系统的作用

胡玲芹 潘玉君[△]

(哈尔滨医科大学附属第一医院 黑龙江 哈尔滨 150001)

摘要: TRPC6(The transient receptor potential canonical 6)为瞬时受体电位(TRP)超家族的成员之一,编码钙可通透的非选择性阳离子通道。其具有六次跨膜结构。TRPC6 同型或异型四聚体通道由 TRPC6 蛋白相互结合形成或与同在一个亚家族的 TRPC3, TRPC7 形成。TRPC6 通道可被 G 蛋白耦联受体(GPCR)和受体酪氨酸激酶(receptor tyrosine kinases RTK)通过激活磷脂酶 C(PLC)激活。其还可直接被第二信使 DAG(diacylglycerol)激活。已有研究证实该通道通过激活上述信号传导通路参与了多种生理过程。TRPC6 基因编码的蛋白在人体多个部位均有表达。TRPC6 在中枢神经系统广泛表达。其不同部位的表达量不同,并与 TRPC 家族的其他成员一起参与了多种生理过程。TRPC6 引起的细胞阳离子浓度的变化可能参与了多种神经系统疾病的发生发展过程。因此,研究 TRPC6 在中枢神经系统中的作用对疾病发病机制的了解及治疗变得更有意义。本文就 TRPC6 在中枢神经系统中的作用进行综述,并主要介绍其在树突发育,神经元保护及细胞生长方面的作用。

关键词: TRPC6; 神经系统; 作用

中图分类号: Q593.2, R338.2 **文献标识码:** A **文章编号:** 1673-6273(2014)08-1583-04

The Effects of TRPC6 in CNS

HU Ling-qin, PAN Yu-jun[△]

(The First Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Harbin, Heilongjiang, 150001, China)

ABSTRACT: TRPC6, a member of the TRP family, is a Ca^{2+} -permeable non-selective cation channel composed of tetrameric assemblies of 6 transmembrane spanning subunits. Experimental approaches employed led to the conclusion that TRPC6 assembles into homo- and heterotetramers within the confines of the TRPC3/6/7 subfamily. The channel can be activated by a phospholipase C dependent mechanism through activation of both G protein-coupled receptors (GPCR) and receptor tyrosine kinases. Also it can be directly activated by the second messenger diacylglycerol (DAG). These have been implicated in a variety of biological functions. TRPC6 is broadly expressed in human tissues and cells. Minimal variation in the expression was observed between the different tissues and cell in Central nervous system (CNS). And it takes part in an array of biological functions together with other member of TRPC subfamily. TRPC6 is highly expressed in central nervous system, which causes changes of the concentration of some cations. In addition, a striking number of central nervous system diseases have already been assigned to TRPC6. Therefore, the understanding of disease pathogenesis and treatment of TRPC6 role in the central nervous system is more meaningful. The aim of the present study was to observe the effects of TRPC6 in CNS, especially in neurite outgrowth, cell proliferation, neuronal survival.

Key words: TRPC6; Nervous system; Effect

Chinese Library Classification: Q593.2, R338.2 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2014)08-1583-04

TRPC6 是 TRP (transient receptor potential) 家族中的一员。TRP 蛋白是位于细胞膜上的一类重要的非选择性阳离子通道,可介导钠、钙等阳离子通过细胞膜。哺乳动物 TRP 家族的 28 个成员主要被分为六个亚家族,包括 TRPC (TRP-canonical)、TRPV (TRP-vanilloid)、TRPA (TRP-ankyrin)、TRPM (TRP-melastatin)、TRPP (TRP-polycystin) 和 TRPML (TRP-mucolipin)^[1]。其中哺乳动物 TRPC 通道家族的 7 个成员根据其氨基酸序列同源性又可分为四类: 1) TRPC1; 2) TRPC2; 3) TRPC3、TRPC6、TRPC7; 4) TRPC4、TRPC5^[2]。

TRPC6 作为 TRP 家族的成员,同样具有 6 次跨膜(S1~

S6)结构域及位于胞内的氨基端(N-端)和羧基端(C-端)。其中 S5 和 S6 及其之间跨膜区的假定小孔区域构成了非选择性阳离子通道。S1 和 S2 的细胞外结构域中的两个糖基化位点(Asn473, Asn561)与 TRPC6 的受体介导作用有关^[3]。

1 TRPC6 概述

1.1 TRPC6 的基因与蛋白

人类 TRPC6 基因位于常染色体 11q21-22,共有 13 个外显子,其表达产物 TRPC6 蛋白含有 931 个氨基酸^[4]。TRPC6 蛋白包括卷曲螺旋区(一个位于 N 端,一个位于 C 端)、N 端的锚蛋白结构域和 C 端的 TRP 结构域^[4]。其中 TRP 结构域内有 TRPC 家族的保守序列 EWKFAR 盒和两个三磷酸肌醇(inositol triphosphate, IP3)受体结构域,其中第二个 IP3 受体结构域与一个钙调蛋白(calmodulin, CaM)结合位点重叠^[3,5]。

作者简介:胡玲芹(1987-),女,硕士研究生,主要研究方向:缺血性脑血管病,电话:15134568609, E-mail: hulingqin2005@163.com
[△]通讯作者:潘玉君, E-mail: yujunpan@126.com
(收稿日期:2013-03-18 接受日期:2013-04-10)

至少三个 TRP 家族的成员组成 TRP 同型或异型通道^[9]。TRPC6 同型四聚体通道由 TRPC6 蛋白相互结合形成,异型四聚体通道由 TRPC6 蛋白与同在一个亚家族的 TRPC3、TRPC7 形成^[3]。Lepage^[7]等发现,TRPC 蛋白主要通过两个结合域相互结合,一个结合域位于 N-端,包括 N 端的锚蛋白重复序列和卷曲螺旋区;另一个结合域位于 C-端,由第 4,5 跨膜区和 C 端的卷曲螺旋区组成。

TRPC6 通道对细胞内钙离子敏感,细胞内的 Ca^{2+} /钙调蛋白可增强该通道的活性。TRPC6 通道可被 G 蛋白耦联受体(GPCR)和受体酪氨酸激酶(receptor tyrosine kinases RTK)通过激活磷脂酶 C(PLC)激活。其还可直接被第二信使 DAG(diacylglycerol)激活,并且这一激活途径可被丝氨酸和酪氨酸的磷酸化调节^[3]。

1.2 TRPC6 在人中枢神经系统的分布

Riccio^[4]等运用 Taq Man 实时定量 RT-PCR 检测发现 TRPC6 mRNA 广泛分布于人脑内,包括扣带回、额上回、额中回、垂体、海马、海马旁回、杏仁核、尾状核、苍白球、伏隔核、壳、纹状体、黑质、丘脑、下丘脑、蓝斑、延髓、小脑等。其在脊髓中也可被检测到。研究发现 TRPC6 在不同部位分布不均一:表达量相对较高的是尾状核、扣带回、伏隔核、纹状体、额上回,而在苍白球、黑质、延髓的表达量却相对较低。另外,上述部位在检测到 TRPC6 mRNA 的同时还检测到了 TRPC1/3/4/5/7 mRNA,这表明 TRPC6 与 TRPC 家族中的其他成员存在共表达,提示其可能参与多种生理功能。

2 TRPC6 在中枢神经系统内的作用

2.1 TRPC6 与树突发育

Tai^[8]等的研究显示 TRPC6 可以促进海马神经元树突的生长。海马在出生后逐渐发育成熟,其体积增长在出生后第七天是转折点,七天内增长较为缓慢,从第七天开始开始变快,并于生后 14 天达生长高峰,其后生长较为平稳^[9]。与海马生长规律类似,Tai 等还发现,TRPC6 蛋白在大鼠海马组织中表达最高峰也是在出生后 7 天到 14 天之间。TRPC6 通过 CaMKIV-CREB (Ca^{2+} /calmodulin-dependent kinase IV—cAMP-response-element binding protein) 信号通路促进海马神经元的树突发育,在培养的海马神经元中过度表达 TRPC6 可以上调 CaMKIV 和 CREB 的磷酸化水平,促进树突的生长。相应的,用 RNAi 干扰的方法下调 TRPC6 的蛋白量则可以降低 CaMKIV 和 CREB 的磷酸化,同时抑制树突生长。在神经元中过度表达 TRPC6 蛋白可以增加树突的长度和复杂度,加速树突的发育。Zhou 等^[10]发现 TRPC6 通道存在于大鼠兴奋性突触,并通过 CaMKIV-CREB 途径促进兴奋性突触的生长。试验显示出生后 14 天大鼠海马神经元突触存在 TRPC6 蛋白,特别是在突触后膜大量表达,促进神经元树突棘密度增加。树突棘是神经元突起上的一种微小结构,是形成兴奋性突触的重要位点^[11]。突触为神经元之间传递信号的重要结构,其数目增加可加强学习和记忆。TRPC6 通过影响树突棘的形成及可塑性影响学习和记忆功能。同时,TRPC6 通道作为一种重要介质,能感应细胞外影响突触和行为可塑性的信号。行为学实验发现 TRPC6 转基因小鼠的空间学习、记忆能力大幅度的提高^[12,13]。这揭示了

TRPC 通道对于兴奋性突触的发育和学习记忆能力所起到的重要作用。

此外,有研究^[14]指出 TRPC6 的表达能抑制神经树突生长。并表明神经树突生长的速度取决于 TRPC1、TRPC5 与 TRPC6 表达的相对水平。这与 TRPC6 促进神经树突生长的理论相悖,但其提示 TRPC6 的确参与了神经树突发育。然而需要更多的研究进一步证实究竟是促进还是抑制作用。

2.2 TRPC6 与细胞生长

Ding^[15]等发现 TRPC6 在胶质细胞瘤中表达增加,且表达水平与胶质细胞瘤分级有关。抑制 TRPC6 通道可使胶质细胞瘤细胞停留在细胞周期中的 G2/M 期,从而调节肿瘤细胞的生长。TRPC6 蛋白是 CDC25C(cell division cycle 25 homolog C)表达的必要条件。CDC25C 蛋白激酶通过 CDK1(cyclin-dependent kinase 1) 酪氨酸 15 和苏氨酸 14 残基的去磷酸化激活 CDK1^[16]。CDK1 和 CCNB1(也称为细胞周期素 1)复合体是 G2/M 期主要的调节者,CDK1 酪氨酸 15 和苏氨酸 14 残基的去磷酸化对该复合体的激活及 G2/M 期的转变非常重要^[17]。如抑制 TRPC6 通道可减少 CDC25C 的表达,进而抑制 CDK1 的活性。同时 TRPC6 通道引起的钙离子流是激活 CDK1 和细胞周期中 G2/M 期的转变的必要条件。

亦有研究发现抑制 TRPC6 能减少肿瘤细胞的体积^[18]。Ding 等还证实抑制 TRPC6 的活性可增强放疗疗效^[15]。同时 Srinivasulu 等^[19]也指出 TRPC6 引起的细胞内钙离子水平的变化与 calcineurin-NFAT(nuclear factor of activated T-cell)途径的激活有关。药物抑制 calcineurin-NFAT 可减少缺氧状态下胶质细胞瘤表型的变化。同时与正常组织相比,TRPC6 在胶质细胞瘤中的表达升高。因而抑制 TRPC6 为胶质细胞瘤的治疗提供了新的方向。

2.3 TRPC6 与神经元保护

TRPC6 通道蛋白在发育中就有促进神经元存活的作用,在缺血病理条件下也可以保护神经元^[20]。Du^[21]等的研究显示,抑制 TRPC6 的降解可保护神经元,减少缺血性脑损伤。大鼠大脑中动脉闭塞的缺血模型显示神经元缺血后 1-oleoyl-2-acetyl-sn-glycerol(OAG)会介导产生内向电流,OAG 作为 DAG 的类似物可激活 TRPC6 通道,启动内源性神经保护通路。TRPC6 激活 ERK(细胞外调节蛋白激酶 extracellular regulated protein kinases)和 CaMK(钙调蛋白激酶),作用于 CERB,进而促进 BDNF(脑源性神经生长因子)和 Bcl-2 等促神经存活的因子表达,起到神经元保护作用。然而在缺血早期,半暗带区 TRPC6 通道的活性即减弱,TRPC6 蛋白即被降解。使 TRPC6 介导的内源性神经保护通路被抑制。缺血刺激可以引起胞外钙内流使神经细胞内钙离子快速、持续升高^[22]。而细胞质内持续高水平的钙可导致神经元死亡^[23]。

Du^[21]等在大鼠大脑中动脉闭塞的缺血模型中发现半暗带内神经元 TRPC6 蛋白被 NMDA 受体钙离子依赖的中性蛋白水解酶(Calpain)介导的途径特异性降解。这一特异性是由于在 TRPC 家族中仅有 TRPC6 存在 calpain 切割位点。同时 Ding 等将根据切割位点氨基酸序列合成的短肽注入大鼠侧脑室内,发现缺血过程中 TRPC6 蛋白的降解被阻止,进而起到保护神经元,改善卒中后行为表现的作用。因此提高 TRPC6 蛋白在大脑

皮层中的表达量(构建 TRPC6 转基因小鼠)或者特异的阻断 calpain 降解 TRPC6 (在大鼠侧脑室注入带有 calpain 切割位点的 TRPC6 肽段),可维持和促进神经元自身存活通路,并成为治疗缺血性脑损伤的新方法,为缺血性脑卒中治疗开辟新的途径。

Jia^[24]等通过建立体外神经元存活模型证实 TRPC 通道参与 BDNF 对小脑颗粒细胞的保护作用。BDNF 通过激活 PLC / IP3R 来开放 TRPC 通道,TRPC3 和 TRPC6 的开放可引起 ERK 和 CREB 的磷酸化。BDNF 对神经元的保护作用主要是通过磷酸化 AKT(又称 PKB,即蛋白激酶 B)、ERK 和 CREB 来实现的^[25,26]。Jia 等在体外培养的小脑颗粒细胞中证实 TRPC3 和 TRPC6 通道开放后,通过激活 Ca^{2+} / Ras /MEK (MAP kinase kinase 丝裂原活化蛋白激酶激酶)/ ERK 和 Ca^{2+} / CaM (钙调蛋白)/ CaMK 这两条信号通路,磷酸化 CREB 并增加其转录活性,从而起到保护神经元存活的作用^[6,27]。

另有文献报道 TRPC6 参与神经系统多种病理生理过程。如 Lessard^[28]提出 TRPC6 介导的钙内流参与神经元变性,这可能是家族性阿尔茨海默病的分子机制;Min^[29]等推测其可能参与疼痛的调节。Quick^[30]等证实 TRPC6 和 TRPC3 一起参与触觉和听觉形成。随着研究的深入,TRPC6 的在神经系统的功能会逐渐被人们认识,这将为理解相关疾病的病理生理过程及以 TRPC6 为靶点治疗多种神经系统疾病提供理论依据。

3 结语

TRPC6 广泛分布于中枢神经系统。其在正常生理条件下起到促进树突发育及形成兴奋性突触的作用,是学习和记忆的基础。在病理条件下保护神经元、抑制胶质细胞瘤细胞增殖,为脑卒中及胶质细胞瘤的治疗提供了新的研究方向。但是目前针对该蛋白的在中枢神经系统的研究尚局限于基础试验阶段,且抑制该通道药物的毒性作用及低选择性也一定程度的限制了该蛋白的研究。同时现有结果缺乏相应的临床数据支持,需要更深入的研究,以便更好的应用于临床。

参考文献(References)

- [1] Delia Preti, Arpad Szallasi, Riccardo Patacchini. TRP channels as therapeutic targets in airway disorders:a patent review [J]. Expert Opin Ther Patents, 2012,22(6):663-695
- [2] Kuwahara K,Wang Y, McAnally J, et al. TRPC6 fulfills a calcineurin signaling circuit during pathologic cardiac remodeling [J]. J Clin Invest, 2006,116(12):3114-3126
- [3] Dietrich A, Gudermann T.TRPC6 [J]. Handb.Exp Pharmacol,2007, (179):125-141
- [4] Riccio A, Medhurst AD, Mattei C, et al. mRNA distribution analysis of human TRPC family in CNS and peripheral tissues [J]. Mol Brain Res, 2002,109: 95-104
- [5] Birnbaumer L, Dietrich A, Kawasaki B, et al. Multiple interactions between TRPCs and IP3Rs: TRPC3-interacting domains of IP3R serve to identify TRPCs as components of CCE channels; yet, IP3R activation does not activate TRPC3 channels [J]. Nova Acta Leopold, 2003,89 (336):61-67
- [6] Jia Yi-chang, Zhou Jian, Tai Yi-lin, et al. TRPC channels promote cerebellar granule neuron survival [J]. Nature Neuroscience, 2007,10 (5):559-567
- [7] Lepage PK, Lussier MP, Barajas-Martinez H, et al. Identification of Two Domains Involved in the Assembly of Transient Receptor Potential Canonical Channels [J]. J Biol chem, 2006,281 (41): 30356-30364
- [8] Tai Yi-lin, Feng Sheng-jie, Ge Rui-liang, et al. TRPC6 channels promote dendritic growth via the CaMKIV-CREB pathway [J]. Journal of Cell Science, 2008,121(14):2301-2307
- [9] Xu P, Xu J, Li Z, et al. Expression of TRPC6 in Renal Cortex and Hippocampus of Mouse during Postnatal Development [J]. PLoS ONE, 2012,7(6):e38503
- [10] Zhou Jian, Du Wan-lu, Zhou Ke-chun, et al. Critical role of TRPC6 channels in the formation of excitatory synapses [J]. NATURE NEUROSCIENCE, 2008,11(7):741-743
- [11] Hering, H. Sheng, M. Dendritic spines:structure, dynamics and regulation [J]. Nat Rev Neurosci, 2001,2:880-888
- [12] Pang, P.T. & Lu, B. Regulation of late-phase LTP and long-term memory in normal and aging hippocampus: role of secreted proteins tPA and BDNF [J]. Ageing Res Rev, 2004,3:407-430
- [13] Vicario-Abejon, C., Owens, D., McKay, R. et al. Role of neurotrophins in central synapse formation and stabilization [J]. Nat Rev Neurosci, 2002,3:965-974
- [14] Sanjay Kumar, Saikat Chakraborty, Cindy Barbosa, et al. Mechanisms Controlling Neurite Outgrowth in a Pheochromocytoma Cell Line: The Role of TRPC Channels[J]. J Cell Physiol, 2012,227: 1408-1419
- [15] Ding Xia, He Zhuo-hao, Zhou Ke-chun, et al. Essential Role of TRPC6 Channels in G2/M Phase Transition and Development of Human Glioma[J]. J Natl Cancer Inst, 2010,102:1052-1068
- [16] Boutros R, Lobjois V, Ducommun B. CDC25 phosphatases in cancer cells:key players? Good targets? [J]. Nat Rev Cance, 2007,7 (7): 495-507
- [17] Grana X, Reddy EP. Cell cycle control in mammalian cells: role of cyclins, cyclin dependent kinases (CDKs), growth suppressor genes and cyclin-dependent kinase inhibitors (CKIs) [J]. Oncogene, 1995,11 (2):211-219
- [18] Chigurupati S, Venkataraman R, Barrera D, et al. Receptor channel TRPC6 is a key mediator of Notch—driven glioblastoma growth and invasiveness[J]. Cancer Res, 2010,70:1418-1427
- [19] Chigurupati S, Venkataraman R, Barrera D, et al. Receptor channel TRPC6 is a key mediator of Notch-driven glioblastoma growth and invasiveness [J]. Cancer Res, 2010,70(1):418-427
- [20] 黄隽波,王以政. 神经保护和缺血性脑卒中治疗[J]. 转化医学研究, (电子版)2012,2(1):40-53
- [21] Huang Jun-bo, Wang Yi-zheng. The neuroprotective strategy for stroke therapy [J]. Translational Medicine Research (Electronic Edition), 2012,2(1):40-53
- [22] Du Wan-lu, Huang Jun-bo, Yao Hai-lan, et al. Inhibition of TRPC6 degradation suppresses ischemic brain damage in rats [J]. J Clin Invest, 2010,120(10):3480-3492
- [22] Siesjo BK, Bengtsson F. Calcium fluxes, calcium antagonists, and calcium related pathology in brain ischemia, hypoglycemia, and spreading depression: a unifying hypothesis [J]. J Cereb Blood Flow Metab, 1989,9(2): 127-14

- [23] Meyer FB. Calcium neuronal hyperexcitability and ischemic injury [J]. Brain Res Rev, 1989,14(3):227-243
- [24] Jia Yi-chang, Zhou Jian, Tai Yi-lin, et al. TRPC channels promote cerebellar granule neuron survival [J]. Nature Neuroscience, 2007,10(5):559-567
- [25] Segal R A, Greenberg M E. Intracellular signaling pathways activated by neurotrophic factors [J]. Annu Rev Neurosci, 1996,19: 463-489
- [26] Brunet A, Datta S R, Greenberg M E. Transcription dependent and transcription independent control of neuronal survival by the PI3K-Akt signaling pathway [J]. Curr Opin Neurobiol, 2001,11: 297-305
- [27] 周健,王以政. TRPC 通道与神经元存活[J]. 中国基础科学研究进展, 2007,(4):23-25
- Zhou Jian, Wang Yi-zheng. TRPC Channels and Neuronal Survival [J]. China Basic Science, 2007,(4):23-25
- [28] Lessard CB, Lussier MP, Cayouette S, et al. The overexpression of presenilin2 and Alzheimer's-disease-linked presenilin2 variants influences TRPC6-enhanced Ca^{2+} entry into HEK293 cells [J]. Cell Signal, 2005, 17:437-445
- [29] Min MY, Shih PY, Wu YW, et al. Neurokinin 1 receptor activates transient receptor potential-like currents in noradrenergic A7 neurons in rats [J]. Mol Cell Neurosci, 2009, 42:56-65
- [30] Quick K, Zhao J, Eijkelkamp N, et al. TRPC3 and TRPC6 are essential for normal mechanotransduction in subsets of sensory neurons and cochlear hair cells [J]. Open Biol, 2012,2:120068

(上接第 1582 页)

- [20] Welsh, M., Sharpe, R.M., Moffat, L., et al. Androgen action via testicular arteriole smooth muscle cells is important for Leydig cell function, vasomotion and testicular fluid dynamics [J]. PLoS ONE, 2010, 5(10):e13632
- [21] Chen, X., Yang, D., Ma, S., et al. Increased rhythmicity in hypertensive arterial smooth muscle is linked to transient receptor potential canonical channels [J]. J Cell Mol Med, 2010, 14, 2483-2494
- [22] Rahman, A., Matchkov, V., Nilsson, H. & Aalkjaer, C. Effects of cGMP on coordination of vascular smooth muscle cells of rat mesenteric small arteries [J]. J Vasc Res, 2005, 42(4): 301-311
- [23] 蔡辉. 过氧化物酶体增殖激活受体与血管内皮细胞研究进展 [J]. 心肺血管病杂志, 2011, 30(3): 262-265
- Cai Hui. Research Progress on PPARs agonists and vascular endothelial cells [J]. Journal of cardiovascular and pulmonary diseases, 2011, 30(3):262-265
- [24] Boedtker, D.M., Matchkov, V.V., Boedtker, E., et al. Vasomotion has chloride-dependency in rat mesenteric small arteries [J]. Pflugers Arch, 2008, 457(2):389-404
- [25] Oishi H, Schuster A, Lamboley M, et al. Role of membrane potential in vasomotion of isolated pressurized rat arteries [J]. Life Sci, 2002, 71(19):2239-2248
- [26] Dietrich A, Mederos Y, Schnitzler M, et al. Increased vascular smooth muscle contractility in TRPC6 $-/-$ mice [J]. Mol Cell Biol, 2005, 25(16):6980-6989
- [27] Liu D, Yang D, He H, et al. Increased transient receptor potential canonical type 3 channels in vasculature from hypertensive rats [J]. Hypertension, 2009, 53(1):70-76
- [28] Xiaoping Chen, Dachun Yang, Shuangtao Ma. Increased rhythmicity in hypertensive arterial smooth muscle is linked to transient receptor potential canonical channels [J]. Cell Mol Med, 2010, 14 (10): 2483-2494