

· 综 述 ·

瞬时受体电位通道在心脏纤维化中作用的研究进展

于芃^{1,2}, 彭文艺¹, 曹丰^{3,4}, 李霜^{1*}

(¹ 西部战区总医院心血管内科, 成都 610083; ²空军军医大学西京医院心血管内科, 西安 710032; ³解放军总医院国家老年疾病临床医学研究中心, 北京 100853; ⁴解放军总医院第二临床医学中心心血管内科, 北京 100853)

【摘 要】 心脏纤维化参与多种心脏疾病的发生发展, 可导致心脏重塑和功能障碍, 最终引起心力衰竭甚至死亡。心脏成纤维细胞异常增殖并分化为心脏肌成纤维细胞以及心脏细胞外基质过度沉积等是心脏纤维化的主要病理基础。瞬时受体电位 (TRP) 通道是一种非选择性的阳离子通道, 主要介导 Ca²⁺ 内流来调节细胞功能。越来越多的研究表明, 在心肌中 TRP 通道除调控多种生理功能外, 同时参与心脏纤维化的发生发展。本文主要对心脏纤维化的发生机制及 TRP 通道作为治疗心脏纤维化的新靶点进行综述。

【关键词】 瞬时受体电位通道; 心脏纤维化; 心脏成纤维细胞; 钙离子

【中图分类号】 R541 **【文献标志码】** A **【DOI】** 10.11915/j.issn.1671-5403.2021.04.063

Research progress in roles of transient receptor potential channels in cardiac fibrosis

YU Peng^{1,2}, PENG Wen-Yi¹, CAO Feng^{3,4}, LI Shuang^{1*}

(¹ Department of Cardiology, General Hospital of Western Theater Command, Chengdu 610083, China; ²Department of Cardiology, Xijing Hospital, Air Force Medical University, Xi'an 710032, China; ³National Clinical Research Center for Geriatric Diseases, Chinese PLA General Hospital, Beijing 100853, China; ⁴Department of Cardiology, Second Medical Center, Chinese PLA General Hospital, Beijing 100853, China)

【Abstract】 Cardiac fibrosis is involved in the occurrence and development of various cardiac diseases, leading to cardiac remodeling, dysfunction, heart failure and even death. The pathological bases of cardiac fibrosis are the proliferation and differentiation of cardiac fibroblasts and the excessive deposition of extracellular matrix. Transient receptor potential (TRP) channels are non-selective cationic channels, regulating cell functions mainly *via* Ca²⁺ influx. Increasing studies have shown that TRP channels are involved in the regulation of many physiological functions and the occurrence and development of cardiac fibrosis. This article reviews the mechanism of cardiac fibrosis and TRP channels seen as a new target for its treatment.

【Key words】 transient receptor potential channels; cardiac fibrosis; cardiac fibroblasts; Ca²⁺

This work was supported by National Natural Science Foundation of China (81800338).

Corresponding author: LI Shuang, E-mail: louis_1014 @ 163. com.

心血管疾病 (cardiovascular diseases, CVDs) 是威胁人类健康的主要原因^[1]。心脏纤维化是多种心血管病后期会出现的一种病理变化, 通常表现为心脏成纤维细胞 (cardiac fibroblasts, CFs) 异常增殖及分化, 细胞外基质沉积以及胶原蛋白比例失衡^[2]。近年来, 越来越多的研究表明心脏纤维化是心功能恶化及心脏衰竭的重要原因之一。因此, 防治心脏纤维化对于改善心血管患者的预后具有重要意义。虽然目前已经有许多药物用于临床以减少心脏纤维化的发生发

展, 但其疗效并不令人满意, 故探讨心脏纤维化的发生发展机制, 寻找治疗新靶点是指导其防治的关键。

1 心脏纤维化的机制

正常心脏间质呈网状结构, 以 CFs 分泌的 I 型胶原蛋白为主的细胞外基质蛋白 (extracellular matrix, ECM) 最为丰富, 其特点是具有较强的抗牵拉能力, 在维持房室壁强度中发挥重要作用^[3]。正常生理状态下, CFs 合成与分解胶原蛋白处于动态

平衡状态,心脏组织损伤后,CFs 增殖并分化为心脏肌成纤维细胞(cardiac myofibroblasts, CMFs),发生“修复性”纤维化以保护心脏组织^[4]。当组织愈合后,此种促纤维化程序会被关闭。若病理刺激持续存在,CFs 将持续地增殖并分化为 CMFs,后者不仅可以分泌大量胶原蛋白等导致细胞外基质过度沉积,还可以分泌各种促纤维化的因子,最终导致心脏僵硬程度增加,顺应性降低,并发展为心力衰竭^[5]。研究表明,心肌梗死后和长期心力衰竭导致的心脏间质纤维化主要是由 CFs 增殖以及向 CMFs 转化的形成^[6, 7]。

CMFs 较 CFs 而言,其分泌胶原蛋白的能力更强,是心脏纤维化过程的主要参与细胞。而且,CMFs 主要表达 α -平滑肌肌动蛋白(alpha-smooth muscle actin, α -SMA)和收缩相关蛋白,具有胶原蛋白收缩能力,胶原蛋白收缩亦可影响 CFs 增殖和分化。CMFs 也可分泌多种促进纤维化的体液因子,如转化生长因子- β 1(transforming growth factor- β 1, TGF- β 1)和结缔组织生长因子(connective tissue growth factor, CTGF)。研究表明 CMFs 的收缩和 ECM 分泌可与其他促纤维化因子一起,维持并加重 CFs 活化和纤维化反应^[8, 9]。

在各种心肌损伤过程中,CFs 异常地增殖与转化,可导致不可逆的心室重塑和心脏功能障碍^[10]。因此,改善心脏纤维化对于改善心脏疾病预后十分重要。目前,抗纤维化治疗大多数治疗效果远不如预期。因此,有必要寻找新的分子及通路来抑制 CFs 增殖和向 CMFs 的持续活化^[11]。近年来研究表明,CFs 细胞膜上的瞬时受体电位(transient receptor potential, TRP)通道及其介导的 Ca^{2+} 内流可能在心脏纤维化疾病的发生发展中发挥重要的作用^[12]。

2 TRP 通道的结构和功能简介

TRP 由 Cosens 首次在果蝇的视觉系统中发现。在哺乳动物中,TRP 家族由 28 个成员组成,分为 7 个亚家族:TRPA(TRPA1),TRPC(TRPC1-TRPC7),TRPM(TRPM1-TRPM8),TRPML(TRPML1-TRPML3),TRPN, TRPP(TRPP1-TRPP3)和 TRPV(TRPV1-TRPV6)^[13]。

TRP 蛋白为四聚体结构,每个亚基由 6 个跨膜段(S1-S6)组成。来自每个亚基的 S5-S6 跨膜区段与来自另一个亚基的 S1-S4 跨膜区段(电压传感器束)形成的结构域可以相互作用。在胞质中,氨基末端和羧基末端可以参与通道门控制和亚基的组装,并通过各种结合位点与其他蛋白质和分子相互作用^[14]。

TRP 通道主要对 Ca^{2+} 和其他阳离子具有渗透性,但 TRPM4 和 TRPM5 除外,它们只对 Na^{+} 具有渗透性(表 1)。TRP 通道受多种刺激的调节,如机械拉伸、氧化应激、磷脂及其代谢物、渗透压变化、细胞

内离子(Ca^{2+} 和 Mg^{2+})以及神经激素因子等。TRP 激活机制复杂,包括膜电压依赖的激活机制、G 蛋白偶联受体(G protein coupled receptor, GPCR)相关的磷酸化激活机制、磷脂酰肌醇(phosphatidyl-inositol, PIP2)活化机制以及配体活化机制^[15]。

表 1 生理与纤维化状态时 TRP 通道在心脏成纤维细胞膜上的表达情况

Table 1 Expression of TRP channels on cardiac fibroblasts membrane in physiological and cardiac fibrosis				
TRP channel	Functional expression	Ion type	Atrial fibrosis	Intestinal fibrosis
TRPC3	Atrial fibroblasts	Ca^{2+}	+	-
TRPV3	Ventricular fibroblasts	Ca^{2+}	-	+
TRPV4	Ventricular fibroblasts	Ca^{2+}	-	+
TRPM7	Atrial and ventricular fibroblasts	Ca^{2+} , Mg^{2+}	+	+
TRPA1	Ventricular fibroblasts	Ca^{2+}	-	-

TRP :transient receptor potential.

3 心脏纤维化中 TRP 通道发挥的作用

3.1 TRPC 通道

TRPC3 主要介导 Ca^{2+} 内流^[16]。研究表明 TRPC3 介导的局部 Ca^{2+} 内流可以诱导心脏重塑。Numaga-Tomita 等^[17]发现 TRPC3 在压力超负荷时上调,可与烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸(nicotinamide adenine dinucleotide phosphate, NADPH)氧化酶 2(NOX^2)结合生成一种稳定的膜结合 ROS 生成酶,诱导心肌细胞以及 CFs 内 ROS 信号的扩增,从而促进 CFs 的增殖、分化,加速心脏纤维化进程。Harada 等^[18]研究表明在房颤大鼠的心房成纤维细胞膜上 TRPC3 的表达上调,这可以导致钙离子依赖性的细胞外信号调节激酶 1/2(extracellular signal-regulated kinase 1/2, Erk1/2)的激活,从而促进成纤维细胞的增殖和分化。然而,当 CFs 分化为 CMFs 后,CMFs 膜上 TRPC3 表达反而下调,这种负反馈调节可能是为了防止 ECM 的过度沉积。

3.2 TRPV 通道

TRPV3 及 TRPV4 在病理性心脏纤维化中同样发挥重要作用。在大鼠模型心脏压力超负荷实验中,Liu 等^[19]发现 TRPV3 表达上调与心肌间质纤维化增加、收缩功能下降有关。这些变化通过 TRPV3 激动剂 carvacrol 进一步增强,并通过非特异性的 TRPV 阻断剂钆红逆转。体外实验表明,CFs 的 TRPV3 上调,可以激活 TGF- β 1 信号通路,增强细胞周期蛋白 E 和细胞周期蛋白依赖激酶 D 的活性以加速 G1/S 细胞周期的进展,从而调节 CFs 的增殖。因此 TRPV3 可能是 CFs 增殖和分化的积极调节因子。

ECM 过量沉积可对 CFs 施加机械负荷,促使 CFs 向 CMFs 分化,进一步增强纤维化^[9]。进一步研究表明 TRPV4 通道可将 ECM 的僵硬与 CMF 的激活和分化联系在一起^[20]。除此之外,Adapala 等^[21]发现 TGF- β 1 处理 CFs 后,TRPV4 的表达明显增强,其机制可能是经 TGF- β /MAPK 通路激活 TRPV4 基因转录。而机械应激和 TGF- β 1 介导的信号转导都促进 CMFs 表达 α -SMA,提示机械应激和 TGF- β 1 介导的信号转导也许是经过 TRPV4 协同促进 CFs 的转分化^[21]。

3.3 TRPM 通道

TRPM7 可传导 Ca^{2+} 和 Mg^{2+} ,并在一定程度上传导几种必需的微量金属离子^[22]。房颤患者 CFs 膜上 TRPM6 的上调与心房组织间质纤维化程度增加促纤维细胞因子/生长激素 (TGF- β 1、CTGF、collagen I、collagen III) 表达增强密切相关^[23]。其机制可能是 TRPM6 表达的增加会破坏心房 Mg^{2+} 稳态,激活 TRPM7,共同促进纤维化进程^[23]。

在心脏组织中,心室和心房成纤维细胞均表达 TRPM7 通道^[24]。Yu 等^[25]发现 TRPM7 的上调对于血管紧张素 II 诱导心室成纤维细胞增殖和分化是必不可少的。用过氧化氢模拟氧化应激培养原代 CFs 发现,其诱导 CMFs 活化以及分泌 collagen I、CTGF 等作用依赖于 TRPM7 介导的细胞外 Ca^{2+} 内流;同时,这种氧化应激反应介导纤维化信号的产生,伴随着 Erk1/2 的激活,共同促进心脏纤维化^[26]。

3.4 TRPA1 通道

TRPA1 在心肌细胞和非心肌细胞 (内皮细胞、CFs、巨噬细胞和血管平滑肌细胞等) 中均有表达^[27]。正常生理条件下,TRPA1 通道虽然介导 Ca^{2+} 内流,但

似乎不参与心脏收缩活动^[28]。近年来有研究提示 TRPA1 与心血管疾病的发生密切相关^[29]。最新研究表明,在糖尿病心肌病患者心脏内甲基乙二醛的升高除导致糖基化终末产物增加外,还可上调 TRPA1 通道,引起 CFs 内 Ca^{2+} 浓度的持续增加,并导致 CFs 的增殖与分化,使用选择性 TRPA1 拮抗剂 HC030031 或沉默 TRPA1 基因可改善心脏纤维化程度,但具体机制有待进一步探索^[30]。此外,TRPA1 选择性抑制剂可通过调节 M2 型巨噬细胞分化,抑制心肌肥大和心脏纤维化^[31]。TRPA1 不参与正常心脏收缩功能,但可通过调节 Ca^{2+} 浓度直接或促进炎症细胞浸润间接地促进 CFs 增殖、分化,提示特异性拮抗 TRPA1 是值得探索的有效方法之一。

4 心脏纤维化治疗展望

心脏纤维化发生发展是由多种生化介质和信号通路组成的复杂交错网络所调控,包括细胞因子/生长激素及其受体、蛋白水解酶、激酶、磷酸酶、转录因子和离子通道等。尽管如此,大量研究表明,心脏纤维化的核心变化在于 CFs 的增殖和分化为 CMFs。因此,抑制 CFs 的异常增殖和 CMFs 的持续活化是潜在的有效治疗心脏纤维化靶点。研究发现在各种心脏疾病发生心脏纤维化时,心脏细胞中多种 TRP 蛋白受 TGF- β 、血管生成素 II (angiogenin II, Ang II) 及 CTGF 等因子,或者 ECM 张力的影响而表达上调, Ca^{2+} 和 (或) Mg^{2+} 内流,通过激活各种 Ca^{2+} 和 (或) Mg^{2+} 依赖的信号途径,如 RhoA、蛋白激酶 C、Erk1/2 以及 TGF- β 信号通路等,调节这一过程 (图 1)。除此之外,TRP 通道也可以通过促进炎症

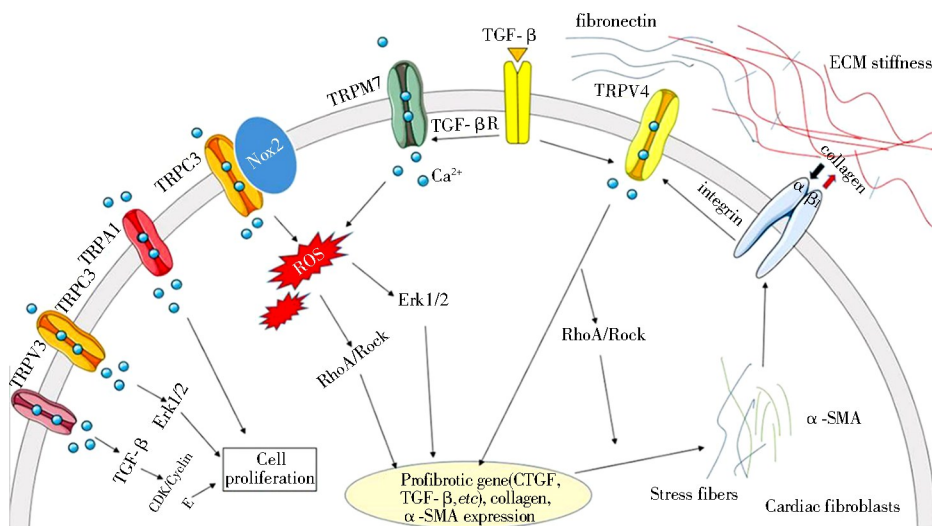


图1 TRP 通道在心脏成纤维细胞分化中的作用机制

Figure 1 Mechanism of TRP channels in differentiation of cardiac fibroblasts

TRP: transient receptor potential; TGF: transforming growth factor; CDK: cyclin-dependent kinases; Erk 1/2: extracellular signal-regulated kinase; Rho/Rock: Ras-homolog gene family, member A/Rho-associated kinase.

细胞的浸润、激活整合素等来促进纤维化。对于人体来说,上述多数信号通路不仅参与心脏纤维化的形成,也参与维持正常心脏功能。因此,临床上难以将上述信号途径中的重要组成部分作为防止心脏纤维化的靶点。然而,可调控细胞内外 Ca^{2+} 浓度的 TRP 通道为控制纤维化进展提供了新的方向。

【参考文献】

[1] Benjamin EJ, Muntner P, Alonso A, *et al.* Heart disease and stroke statistics — 2019 update: a report from the American Heart Association[J]. *Circulation*, 2019, 139(10): e56–e528. DOI: 10.1161/cir.0000000000000659.

[2] Gourdie RG, Dimmeler S, Kohl P. Novel therapeutic strategies targeting fibroblasts and fibrosis in heart disease[J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2016, 15(9): 620–638. DOI: 10.1038/nrd.2016.89.

[3] Gonzalez A, Lopez B, Ravassa S, *et al.* The complex dynamics of myocardial interstitial fibrosis in heart failure. Focus on collagen cross-linking [J]. *Biochim Biophys Acta Mol Cell Res*, 2019, 1866(9): 1421–1432. DOI: 10.1016/j.bbamer.2019.06.001.

[4] Pattar SS, Fatehi Hassanabad A, Fedak PWM. A cellular extracellular matrix bioscaffolds for cardiac repair and regeneration[J]. *Front Cell Dev Biol*, 2019, 6(7): 63. DOI: 10.3389/fcell.2019.00063.

[5] Stratton MS, Mckinsey TA. Epigenetic regulation of cardiac fibrosis[J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2016, 47(92): 206–213. DOI: 10.1016/j.yjmcc.2016.02.011.

[6] Davis J, Molkentin JD. Myofibroblasts: trust your heart and let fate decide[J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2014, 45(70): 9–18. DOI: 10.1016/j.yjmcc.2013.10.019.

[7] Borthwick LA, Wynn TA, Fisher AJ. Cytokine mediated tissue fibrosis[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2013, 1832(7): 1049–1060. DOI: 10.1016/j.bbadis.2012.09.014.

[8] Arora PD, Narani N, McCulloch CA. The compliance of collagen gels regulates transforming growth factor-beta induction of alpha-smooth muscle actin in fibroblasts[J]. *Am J Pathol*, 1999, 154(3): 871–882. DOI: 10.1016/s0002-9440(10)65334-5.

[9] Hinz B. Tissue stiffness, latent TGF-beta1 activation, and mechanical signal transduction: implications for the pathogenesis and treatment of fibrosis[J]. *Curr Rheumatol Reports*, 2009, 11(2): 120–126. DOI: 10.1007/s11926-009-0017-1.

[10] Wynn TA, Ramalingam TR. Mechanisms of fibrosis: therapeutic translation for fibrotic disease[J]. *Nat Med*, 2012, 18(7): 1028–1040. DOI: 10.1038/nm.2807.

[11] Baues M, Dasgupta A, Ehling J, *et al.* Fibrosis imaging: current concepts and future directions[J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2017, 31(121): 9–26. DOI: 10.1016/j.addr.2017.10.013.

[12] Inoue R, Kurahara LH, Hiraishi K. TRP channels in cardiac and intestinal fibrosis[J]. *Semin Cell Dev Biol*, 2019, 24(94): 40–49. DOI: 10.1016/j.semedb.2018.11.002.

[13] Li H. TRP channel classification[J]. *Adv Exp Med Biol*, 2017, 51(976): 1–8. DOI: 10.1007/978-94-024-1088-4-1.

[14] Benemei S, Patacchini R, Trevisani M, *et al.* TRP channels[J]. *Curr Opin Pharmacol*, 2015, 13(22): 18–23. DOI: 10.1016/j.coph.2015.02.006.

[15] Avila-Medina J, Mayoral-Gonzalez I, Dominguez-Rodriguez A, *et al.* The complex role of store operated calcium entry pathways and related proteins in the function of cardiac, skeletal and vascular smooth muscle cells[J]. *Front Physiol*, 2018, 9: 257. DOI: 10.3389/fphys.2018.00257.

[16] Lichtenegge M, Groschner K. TRPC3: a multifunctional signaling molecule[J]. *Handb Exp Pharmacol*, 2014, 37(222): 67–84. DOI: 10.1007/978-3-642-54215-2_4.

[17] Numaga-Tomita T, Oda S, Shimauchi T, *et al.* TRPC3 channels in cardiac fibrosis[J]. *Front Cardiovasc Med*, 2017, 11(4): 56. DOI: 10.3389/fcvm.2017.00056.

[18] Harada M, Luo X, Qi XY, *et al.* Transient receptor potential canonical-3 channel-dependent fibroblast regulation in atrial fibrillation[J]. *Circulation*, 2012, 126(17): 2051–2064. DOI: 10.1161/circulationaha.112.121830.

[19] Liu Y, Qi HP, E MY, *et al.* Transient receptor potential vanilloid-3 (TRPV3) activation plays a central role in cardiac fibrosis induced by pressure overload in rats *via* TGF-beta1 pathway[J]. *Naunyn Schmiedeberg Arch Pharmacol*, 2018, 391(2): 131–143. DOI: 10.1007/s00210-017-1443-7.

[20] Garcia-Elias A, Mrkonjic S, Jung C, *et al.* The TRPV4 channel [J]. *Handb Exp Pharmacol*, 2014, 37(222): 293–319. DOI: 10.1007/978-3-642-54215-2-12.

[21] Adapala RK, Thoppil RJ, Luther DJ, *et al.* TRPV4 channels mediate cardiac fibroblast differentiation by integrating mechanical and soluble signals[J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2013, 34(54): 45–52. DOI: 10.1016/j.yjmcc.2012.10.016.

[22] Monteilh-Zoller MK, Hermosura MC, Nadler MJ, *et al.* TRPM7 provides an ion channel mechanism for cellular entry of trace metal ions[J]. *J Gen Physiol*, 2003, 121(1): 49–60. DOI: 10.1085/jgp.20028740.

[23] Zhang YJ, Ma N, Su F, *et al.* Increased TRPM6 expression in atrial fibrillation patients contribute to atrial fibrosis [J]. *Exp Mol Pathol*, 2015, 98(3): 486–490. DOI: 10.1016/j.yexmp.2015.03.025.

[24] Li Y, Jiang H, Ruan C, *et al.* The interaction of transient receptor potential melastatin 7 with macrophages promotes vascular adventitial remodeling in transverse aortic constriction rats [J]. *Hypertens Res*, 2014, 37(1): 35–42. DOI: 10.1038/hr.2013.110.

[25] Yu Y, Chen S, Xiao C, *et al.* TRPM7 is involved in angiotensin II induced cardiac fibrosis development by mediating calcium and magnesium influx[J]. *Cell Calcium*, 2014, 55(5): 252–260. DOI: 10.1016/j.ceca.2014.02.019.

[26] Muslin AJ. MAPK signalling in cardiovascular health and disease: molecular mechanisms and therapeutic targets [J]. *Clin Sci (Lond)*, 2008, 115(7): 203–218. DOI: 10.1042/cs20070430.

[27] Mollmann H, Nef HM, Kostin S, *et al.* Bone marrow-derived cells contribute to infarct remodelling[J]. *Cardiovasc Res*, 2006, 71(4): 661–671. DOI: 10.1016/j.cardiores.2006.06.013.

[28] Van Wijk B, Gunst QD, Moorman AF, *et al.* Cardiac regeneration from activated epicardium[J]. *PLoS One*, 2012, 7(9): e44692. DOI: 10.1371/journal.pone.0044692.

[29] Wakil SM, Ram R, Muiya NP, *et al.* A genome-wide association study reveals susceptibility loci for myocardial infarction/coronary artery disease in Saudi Arabs [J]. *Atherosclerosis*, 2016, 47(245): 62–70. DOI: 10.1016/j.atherosclerosis.2015.11.019.

[30] Oguri G, Nakajima T, Yamamoto Y, *et al.* Effects of methylglyoxal on human cardiac fibroblast: roles of transient receptor potential ankyrin 1 (TRPA1) channels[J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2014, 307(9): H1339–H1352. DOI: 10.1152/ajpheart.01021.2013.

[31] Wang Z, Xu Y, Wang M, *et al.* TRPA1 inhibition ameliorates pressure overload-induced cardiac hypertrophy and fibrosis in mice[J]. *EBioMedicine*, 2018, 7(36): 54–62. DOI: 10.1016/j.ebiom.2018.08.022.