

综述

TRPC6 与肾脏疾病关系的研究进展

曹珊¹ 综述 刘运广² 审校

(1. 右江民族医学院研究生院, 广西 百色 533000; 2. 右江民族医学院附属医院, 广西 百色 533000)

[摘要] 瞬时受体电位阳离子通道蛋白6 (TRPC6) 是由 TRPC6 基因编码的瞬时受体超家族成员之一, 在人体内各组织或器官广泛表达, 在肾小球足细胞也有表达。TRPC6 与 podocin、nephrin、ACTN4 及 CD2AP 等多种裂孔隔膜 (SD) 蛋白相互作用共同维系肾小球足细胞的结构及功能。多因素作用导致肾小球足细胞损伤引起 SD 的足突融合是肾脏疾病最主要的形态学改变。该文就 TRPC6 生物学功能及其对肾脏疾病的影响作一简述。

[中国当代儿科杂志, 2018, 20(1): 72-76]

[关键词] TRPC6; 肾小球足细胞; 肾脏疾病

Research advances in the association between transient receptor potential cation channel 6 and kidney disease

CAO Shan, LIU Yun-Guang. Graduate School of Youjiang University for Nationalities, Baise, Guangxi 533000, China (Email: 454785063@qq.com)

Abstract: Transient receptor potential cation channel 6 (TRPC6) is a member of the transient receptor superfamily encoded by the TRPC6 gene and is widely expressed in tissues and organs of the human body, especially in the glomerular podocytes. TRPC6 interacts with various slit diaphragm (SD) proteins including podocin, nephrin, ACTN4, and CD2AP to maintain the normal structure and function of glomerular podocytes. Foot process fusion caused by podocyte damage due to various factors is the most important morphological change in kidney disease. This article reviews the biological function of TRPC6 and its effect on kidney disease.

[Chin J Contemp Pediatr, 2018, 20(1): 72-76]

Key words: Transient receptor potential cation channel 6; Podocyte; Kidney disease

瞬时受体电位阳离子通道蛋白6 (transient channel receptor potential cation 6, TRPC6) 是由 TRPC6 基因编码的一种裂孔隔膜 (slit diaphragm, SD) 蛋白, SD 由相邻的足细胞足突有规律地相互交错形成, 为肾小球滤过屏障的重要组成部分, 在维持肾小球滤过膜的完整性中起重要作用^[1-2]。多因素作用导致肾小球足细胞损伤引起 SD 的足突融合是肾脏疾病最主要的形态学改变^[3]。本文主要就 TRPC6 表达、生物学功能、对肾脏疾病的影响作一综述。

1 TRPC6 分子结构及组织学分布

1.1 TRPC6 分子结构

TRPC 是瞬时受体电位 (transient receptor potential, TRP) 家族主要成员之一, TRP 是一种细胞膜上的钙通道, 在各种生物细胞中均有广泛表达, 参与感觉信号传导、渗透压调节、血液循环、胃肠蠕动、气道高反应、肛门排空及细胞分化等生理过程。TRP 包括 TRPC、TRPV、TRPM、TRPP、TRPN 及 TRPML 6 个家族成员, 每个成员又有许

[收稿日期] 2017-10-27; [接受日期] 2017-12-11

[基金项目] 国家自然科学基金项目 (81460143)。

[作者简介] 曹珊, 女, 硕士研究生, 住院医师。

多亚型,除TRPN外,其他成员在人类均有表达。TRPC包括7个亚族,即TRPC1~7,根据氨基酸序列的相似度TRPC家族又分为4个亚族,分别为TRPC3、6、7(相似度高达90%),TRPC4、5(相似度65%),TRPC1和TRPC2。TRPC6的编码基因为TRPC6基因,该基因定位于11号染色体的长臂21区到22区(11q21-q22),人类该基因突变可表现常染色体显性遗传的家族性局灶节段性肾小球硬化(focal segmental glomerular sclerosis, FSGS)。TRPC6含有6个跨膜蛋白(S1~S6),其N-末端、C-末端都在细胞内,且第5和第6跨膜蛋白之间有一假定小孔区域,构成了一个非选择性的阳离子通道。

1.2 TRPC6 组织学分布

TRPC6与TRPC3、7氨基酸序列的相似度高达90%,TRPC通道在人体广泛表达,包括神经系统、血液系统、平滑肌、卵巢、肺、脾、肾等重要脏器。TRPC6于肾脏组织表达甚广,肾小球足细胞、系膜细胞、内皮细胞以及肾小管间质血管壁、上皮细胞均有表达,也表达于肾脏血管,且在足细胞的表达最重要,于足细胞接近SD的初级突起表达最强^[4]。

2 TRPC6 生物学功能

2.1 维持肾小球足细胞的正常结构及功能

TRPC6是新近发现与蛋白尿发生相关的足细胞SD蛋白之一,主要通过介导Ca²⁺内流发挥作用^[5]。国外研究证实,TRPC6与nephrin、podocin、CD2AP形成的SD复合体直接或间接地与 α -actinin-4相互作用,共同维系足细胞SD结构及功能的完整性^[5-6]。

2.2 TRPC6 在肾脏作用机制

郭晓红等^[7]以阿霉素体外诱导足细胞损伤,发现TRPC6和整合素连接激酶(integrin-linked kinase, ILK)表达同时上调,在过表达TRPC6的足细胞中也发现ILK表达上调,提示TRPC6可能通过ILK信号通路参与足细胞损伤。有研究发现,血管紧张素II(angiotension II, Ang II)是肾病的重要致病因子,可迅速激活足细胞的TRPC6通道,同时引起TRPC6的活性和表达显著上调^[8-9]。Ang II可通过AT1受体,在肾脏疾病的损伤过程

中起着关键作用。AT1受体与鸟嘌呤核苷酸-G蛋白结合,使磷脂酶C被激活,水解4,5-二磷酸磷脂酰肌醇(phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate, PIP₂),生成的三磷酸肌醇和二酰甘油可协同提高胞内游离钙的浓度。胞质内Ca²⁺含量的上升激活Ca²⁺结合蛋白,后者调节其他酶类的活性,并最终导致钙调磷酸酶(calcineurin, CaN)激活。

活化T细胞核转录因子(nuclear factor of activated T cell, NFAT)是一类重要的转录因子,其活性受钙离子依赖的CaN调节,主要通过受体-Ca-CaN信号途径被激活,从而发挥其基因调控功能。Koitabashi等^[10]研究发现二脂酰甘油(diaclyglycerol, DAG)激活TRPC6通道上的Gq蛋白偶联受体,导致Ca²⁺进入钙池,钙离子内流可激活丝氨酸-苏氨酸-CaN,使NFAT家族的转录因子去磷酸化,去磷酸化NFAT入核,进一步激活基因程序,提供正反馈回路,进一步刺激TRPC6电流和相关信号,使细胞内Ca²⁺浓度增加、最终足细胞凋亡。

3 TRPC6 与肾脏疾病

肾小球滤过屏障结构和功能缺陷导致的蛋白尿是肾脏疾病主要的临床特征,而SD是肾小球滤过屏障的关键组成部分,其完整性的破坏是许多遗传性和获得性肾脏疾病蛋白尿发生发展的关键因素^[11]。TRPC6作为瞬时受体电位超家族一员,是SD的关键分子,其突变会引起蛋白尿或肾病综合征表现,病理提示为FSGS改变^[12]。在微小病理性肾病、膜性肾病和FSGS等多种肾小球疾病可检测到TRPC6上调^[13],而这些疾病的主要临床特征为蛋白尿。

3.1 TRPC6 与 FSGS

Möller等^[14]发现在FSGS肾病患者中TRPC6表达显著增加,并且成群分布,有节段密集性。Winn等^[15]于2005年首先发现TRPC6的P112Q突变可致TRPC6蛋白表达和细胞内钙离子浓度明显升高。近年研究^[16]陆续报道15种TRPC6突变参与FSGS发病。3个突变(G109S、P112Q、N125S)位于ANK1区域,2个突变(M132T、N143S)位于ANK2区域,1个突变(R175Q)位于ANK3区域,1个突变(H218L)位于ANK4区域,另外2个突变(S270T、L395A)位于细胞质N-末端;

余下6个突变(L780P、K874X、Q889K、R895C、R895L、E897K)位于细胞质C-末端。其中的10个突变(P112Q、N143S、R895C、E897K、Q889K、M132T、N125S、H218L、R895L、R175Q突变)均可导致钙通道活性增加。Kuang等^[17]研究发现,TRPC6 -254 C>G基因变异与增强转录和儿童激素抵抗性肾病综合征相关。80个中国血统的家系筛查发现,2个独立的家系均存在Q889K错义突变,TRPC6的突变率为2.5%^[18]。也有研究表明,位于TRPC6启动子区的rs3824934(-254C>G)和rs56134796(-218C>T)基因多态性不影响激素耐药性肾病综合征印度患者的易感性^[19]。对墨西哥家族性FSGS的9个患病成员研究发现,TRPC6的R895C杂合子突变可使钙离子内流增加,从而导致FSGS^[20]。

3.2 TRPC6与膜性肾病

Reiser等^[21]发现膜性肾病(membranous nephropathy, MN)患者TRPC6在肾脏表达增强,且呈颗粒状分布。Hofstra等^[22]发现,Heymann肾炎大鼠肾小球的TRPC6表达较正常组明显增高,但MN的易感性和疾病预后与TRPC6基因多态性无关,并通过101例特发性膜性肾病患者的TRPC6基因测序发现13个单核苷酸多态性,其中2个突变(rs3802829, pro15ser和rs36111323, ala404val)引起氨基酸的替换,但与正常对照组的基因型和等位基因频率差异均不存在统计学意义。Chen等^[23]对134名肾炎患者进行肾组织活检,发现TRPC6(rs3824935 C/T、rs17096918 C/T和rs4326755 A/G)单核苷酸多态性与正常对照组的差异无统计学意义,其中rs17096918 C/T和rs4326755 A/G核苷酸多态性只在MN患者中检出。Kistler等^[24]发现TRPC6在MN足细胞损伤初期表达的升高对足细胞有保护作用,但随着TRPC6过表达时间延长可使病情进展。TRPC6在MN发生、发展中的作用及机制还有待进一步研究。

3.3 TRPC6与微小病变性肾病

Möller等^[14]发现在微小病变型肾病(minimal change nephrosis, MCN)患者中TRPC6表达显著增加,且呈节段密集性成群分布。而Reiser等^[21]发现,MCN患者TRPC6在肾脏表达增强,呈聚集状分布。Yu等^[25]研究发现在嘌呤霉素肾病大鼠模型中,足细胞损伤随着TRPC6表达升高达高峰,蛋白尿也

随表达升高逐渐加重。而Sun等^[26]在嘌呤霉素肾病大鼠中发现,TRPC6的过表达可使促凋亡蛋白和抗凋亡蛋白两者的平衡被打破,引起足细胞凋亡,当TRPC6基因被敲除后,两者之间被打破的平衡较前缓解,足细胞凋亡好转,可见调控促凋亡蛋白和抗凋亡蛋白间的平衡可能是TRPC6参与足细胞凋亡的机制之一。

3.4 TRPC6与糖尿病肾病

研究发现TRPC6在一些继发性肾小球疾病如糖尿病肾病(diabetic nephropathy, DN)的表达也显著增加^[27]。胡春丽等^[28]发现小鼠足细胞胞体随着葡萄糖浓度的增加明显缩小,足突明显减少或消失,TRPC6沿足突分布明显增多;随着葡萄糖浓度增加和作用时间延长,足细胞TRPC6表达增加,并且呈一定的剂量、时间依赖性。有研究^[29-31]表明,高糖可引起TRPC6表达增加、细胞内Ca²⁺浓度增加,诱导足细胞凋亡。同时还发现厄贝沙坦、缬沙坦、黄芪甲苷、他克莫司等对高糖诱导的足细胞损伤具有保护作用,其机制可能是降低TRPC6在足细胞的表达,其中黄芪甲苷保护足细胞的机制可能与抑制NFAT和促凋亡蛋白的表达有关^[29-32]。DN大鼠模型的Ang II水平升高,Ang II使足细胞上的TRPC6通道活化,细胞内钙离子浓度增加,从而导致足细胞凋亡^[33]。在DN大鼠模型中,TRPC6和NFAT的表达与正常大鼠相比显著升高,而他克莫司能改善糖尿病足细胞损伤,这可能与抑制TRPC6和NFAT表达有关。同时研究发现他克莫司抑制TRPC6和NFAT表达使nephrin表达降低,改善足细胞损伤^[33]。

4 TRPC6与肾脏疾病的诊断与治疗

儿童肾病综合症患者肾小球足细胞TRPC6的表达升高,提示TRPC6的检测可能对肾脏疾病的诊断有一定帮助^[4]。尿液TRPC6 mRNA是DN患者的良好生物学标志物^[34]。最新研究^[35]证实,TRPC6在肾纤维化发病机制中发挥作用,抑制TRPC6表达可减轻足细胞损伤。全反式维甲酸可能通过抑制肾小球TRPC6的表达而减轻肾小球硬化进展^[36]。TRPC6在TGF-β1干预下的足细胞损伤中起重要作用,黄芪总苷通过下调TRPC6表达可保护足细胞^[37]。TRPC6相应位点蛋白磷酸化对

TRPC6活性的调节至关重要,可能成为未来的治疗靶点。研究发现,人类TRPC6的14位点丝氨酸发生磷酸化使TRPC6表达增强,干扰其磷酸化可作为潜在的治疗靶点^[38]。选择性TRPC6抑制剂(Larixyl Acetate)可能是治疗TRPC6 p.r895c突变导致的肾脏疾病的药物^[39]。研究表明,复发型FSGS在可溶性尿激酶受体和肿瘤坏死因子作用下,TRPC6表达增加,从而podocin表达缺失,而不是可溶性尿激酶受体、肿瘤坏死因子直接作用导致的podocin表达改变,支持TRPC6可作为肾脏疾病潜在的治疗靶点^[40]。

5 展望

肾脏疾病的发生机制十分复杂,是多因素综合作用的结果。TRPC6为新近发现的维系足细胞正常结构和功能的SD蛋白,其异常表达可能是肾脏疾病的重要致病因素,但其在肾脏疾病诊断、治疗方面的应用有待进一步研究予以揭示和阐明。

[参 考 文 献]

- [1] Zolotas E, Krishnan RG. Nephrotic syndrome[J]. Paediatr Child Health, 2016, 26(8): 349-352.
- [2] Müller-Deile J, Schiffer M. Podocyte directed therapy of nephrotic syndrome-can we bring the inside out[J]. Pediatr Nephrol, 2016, 31(3): 393-405.
- [3] Raij L, Tian R, Wong JS, et al. Podocyte injury: the role of proteinuria, urinary plasminogen, and oxidative stress [J]. Am J Physiol Renal Physiol, 2016, 311(6): F1308-F1317.
- [4] 郝胜, 吴滢, 何威逊, 等. 儿童原发性肾病综合征肾组织瞬时受体电位阳离子通道蛋白6表达及意义[J]. 临床儿科杂志, 2017, 35(7): 498-502.
- [5] Ilatovskaya DV, Staruschenko A. TRPC6 channel as an emerging determinant of the podocyte injury susceptibility in kidney diseases[J]. Am J Physiol Renal Physiol, 2015, 309(5): F393-F397.
- [6] Dogra S, Kaskel F. Steroid-resistant nephrotic syndrome: a persistent challenge for pediatric nephrology[J]. Pediatr Nephrol, 2017, 32(6): 965-974.
- [7] 郭晓红, 张涵, 胡杰, 等. 瞬时受体电位阳离子通道蛋白6和整合素连接激酶在蛋白尿为主要表现的慢性肾脏病中的表达[J]. 中华肾脏病杂志, 2017, 33(5): 378-384.
- [8] Ilatovskaya DV, Palygin O, Chubinskiy-Nadezhdin V, et al. Angiotensin II has acute effects on TRPC6 channels in podocytes of freshly isolated glomeruli[J]. Kidney Int, 2014, 86(3): 506-514.
- [9] Huang H, You Y, Lin X, et al. Inhibition of TRPC6 signal pathway alleviates podocyte injury induced by TGF- β 1[J]. Cell Physiol Biochem, 2017, 41(1): 163-172.
- [10] Koitabashi N, Aiba T, Hesketh GG, et al. Cyclic GMP/PKG-dependent inhibition of TRPC6 channel activity and expression negatively regulates cardiomyocyte NFAT activation novel mechanism of cardiac stress modulation by PDE5 inhibition[J]. J Mol Cell Cardiol, 2009, 48(4): 713-724.
- [11] Pollak MR, Quaggin SE, Hoenig MP, et al. The glomerulus: the sphere of influence[J]. Clin J Am Soc Nephrol, 2014, 9(8): 1461-1469.
- [12] Wieder N, Greka A. Calcium, TRPC channels, and regulation of the actin cytoskeleton in podocytes: towards a future of targeted therapies[J]. Pediatr Nephrol, 2016, 31(7): 1047-1054.
- [13] Riehle M, Büscher AK, Gohlke BO, et al. TRPC6 G757D loss-of-function mutation associates with FSGS[J]. J Am Soc Nephrol, 2016, 27(9): 2771-2783.
- [14] Möller CC, Wei C, Altintas MM, et al. Induction of TRPC6 channel in acquired forms of proteinuric kidney disease[J]. J Am Soc Nephrol, 2007, 18(1): 29-36.
- [15] Winn MP, Conlon PJ, Lynn KL, et al. A mutation in the TRPC6 cation channel causes familial focal segmental glomerulosclerosis[J]. Science, 2005, 308(5729): 1801-1804.
- [16] 彭梅, 李贵森. TRPC6基因突变致局灶节段性肾小球硬化的研究进展[J]. 实用医院临床杂志, 2016, 13(3): 170-173.
- [17] Kuang XY, Huang WY, Xu H, et al. 254C>G: a TRPC6 promoter variation associated with enhanced transcription and steroid-resistant nephrotic syndrome in Chinese children[J]. Pediatr Res, 2013, 74: 511-516.
- [18] Zhang Q, Ma J, Xie J, et al. Screening of ACTN4 and TRPC6 mutations in a Chinese cohort of patients with adult-onset familial focal segmental glomerulosclerosis[J]. Contrib Nephrol, 2013, 181: 91-100.
- [19] Mahesh Kumar KB, Prabha S, Ramprasad E, et al. TRPC6 gene promoter polymorphisms in steroid resistant nephrotic syndrome children[J]. J Nephroarmacol, 2017, 4(2): 52-56.
- [20] Iqbal Z, Sayer JA. Case Report: Making a diagnosis of familial renal disease -clinical and patient perspectives[J]. F1000Res, 2017, 6: 470.
- [21] Reiser J, Polu KR, Möller CC, et al. TRPC6 is a glomerular slit diaphragm-associated channel required for normal renal function[J]. Nat Genet, 2005, 37(7): 739-744.
- [22] Hofstra JM, Coenen MJ, Schijvenaars MM, et al. TRPC6 single nucleotide polymorphisms and progression of idiopathic membranous nephropathy[J]. PLoS One, 2014, 9(7): e102065.
- [23] Chen WC, Chen SY, Chen CH. et al. Lack of association between transient receptor potential cation channel 6 polymorphisms and primary membranous glomerulonephritis[J]. Ren Fail, 2010, 32(6): 666-672.
- [24] Kistler AD, Singh G, Altintas MM, et al. Transient receptor potential channel 6 (TRPC6) protects podocytes during complement-mediated glomerular disease[J]. J Biol Chem, 2013, 288(51): 36598-36609.
- [25] Yu S, Yu L. Dexamethasone resisted podocyte injury via stabilizing TRPC6 expression and distribution[J]. Evid Based Complement Alternat Med, 2012, 2012: 652059.
- [26] Sun X, Fang Z, Zhu Z, et al. Effect of down-regulation of TRPC6 on the puromycin aminonucleoside-induced apoptosis

- of mouse podocytes[J]. *J Huazhong Univ Sci Technolog (Med Sci)*, 2009, 29(4): 417-422.
- [27] Sonneveld R, van der Vlag J, Baltissen MP, et al. Glucose specifically regulates TRPC6 expression in the podocyte in an AngII-dependent manner [J]. *Am J Pathol*, 2014, 184(6): 1715-1726.
- [28] 胡春丽, 谢席胜, 冯胜刚. 高糖对小鼠足细胞 TRPC6 表达的影响 [J]. *西部医学*, 2017, 29(1): 22-26.
- [29] 胡春丽, 谢席胜, 冯胜刚. 厄贝沙坦对高糖诱导的小鼠足细胞瞬时受体电位阳离子通道蛋白 6 表达的影响 [J]. *临床肾脏病杂志*, 2016, 16(12): 744-749.
- [30] 任直亲, 范慧, 李芳芳, 等. 缬沙坦对糖尿病肾病大鼠肾脏 TRPC6 表达的影响 [J]. *糖尿病新世界*, 2016, 19(11): 48-49.
- [31] Yao XM, Liu YJ, Wang YM, et al. Astragaloside IV prevents high glucose-induced podocyte apoptosis via downregulation of TRPC6[J]. *Mol Med Report*, 2016, 13(6): 5149-5156.
- [32] Ma R, Liu L, Jiang W, et al. FK506 ameliorates podocyte injury in type 2 diabetic nephropathy by down-regulating TRPC6 and NFAT expression[J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2016, 8(11): 14063-14074.
- [33] Ilatovskaya DV, Levchenko V, Lowing A. et al. Podocyte injury in diabetic nephropathy: implications of angiotensin II-dependent activation of TRPC channels[J]. *Sci Rep*, 2015, 5: 17637.
- [34] do Nascimento JF, Canani LH, Gerchman F, et al. Messenger RNA levels of podocyte-associated proteins in subjects with different degrees of glucose tolerance with or without nephropathy[J]. *BMC Nephrol*, 2013, 14: 214.
- [35] Wu YL, Xie J, An SW, et al. Inhibition of TRPC6 channels ameliorates renal fibrosis and contributes to renal protection by soluble klotho[J]. *Kidney Int*, 2017, 91(4): 830-841.
- [36] 张磊, 陈秀萍, 蒋玲, 等. 全反式维甲酸对肾小球硬化大鼠肾小球 TRPC6 表达的影响 [J]. *实用医学杂志*, 2016, 32(23): 3827-3831.
- [37] 黄海庭, 吴好好, 覃幼玲, 等. 黄芪总苷对 TGF- β 1 诱导下足细胞 TRPC6 表达的影响 [J]. *中国免疫学杂志*, 2017, 33(3): 370-373.
- [38] Hagmann H, Mangold N, Rinschen MM, et al. Proline-dependent and basophilic kinases phosphorylate human TRPC6 at serine 14 to control channel activity through increased membrane expression[J]. *FASEB J*, 2017 Sep 6. pii: fj.201700309R .
- [39] Urban N, Wang L, Kwiek S, et al. Identification and validation of larixyl acetate as a potent TRPC6 inhibitor[J]. *Mol Pharmacol*, 2016, 89(1): 197-213.
- [40] Kim EY, Roshanravan H, Dryer SE, et al. Changes in podocyte TRPC channels evoked by plasma and sera from patients with recurrent FSGS and by putative glomerular permeability factors[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2017, 1863(9): 2342-2354.

(本文编辑: 俞燕)