

DOI:10.3724/SP.J.1008.2008.00206

受体酪氨酸激酶调节钾离子通道功能的研究进展

贾占峰,刘伯一,张海林*

河北医科大学药理学教研室,石家庄 050017

[摘要] 受体酪氨酸激酶是一个具有内在酪氨酸蛋白激酶活性的膜受体超家族,成员众多,信号转导通路复杂多样。受体酪氨酸激酶激活后,既可以通过磷酸化其下游信号分子,影响基因转录和表达的过程,从而在细胞生长、增殖、分化和代谢方面起重要的调节作用;也可以通过活化下游分子对细胞功能进行快速调节包括对离子通道功能的调节。钾离子通道具有稳定细胞膜电位和调节细胞兴奋性的重要作用。本文主要就受体酪氨酸激酶对钾离子通道功能快速调节及目前的研究进展进行综述。

[关键词] 受体酪氨酸激酶;信号转导;钾通道;调节

[中图分类号] R 345.57 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 0258-879X(2008)02-0206-05

Modulation of potassium channels by receptor tyrosine kinases: recent progress

JIA Zhan-feng, LIU Bo-yi, ZHANG Hai-lin*

Department of Pharmacology, Hebei Medical University, Shijiazhuang 050017, China

[ABSTRACT] Receptor tyrosine kinase (RTK), a membrane receptor superfamily with intrinsic protein tyrosine kinase activity, has many members and complicated signal transduction pathways. Activation of RTKs can trigger a series of signal transduction pathways and play essential roles in modulating cell growth, proliferation, differentiation and metabolism through influencing gene transcription and expression. Activation of RTK can also rapidly modulate some cellular functions including the modulation of ion channels. Potassium channels play a critical role in stabilization of membrane potential and regulation of cellular excitability. This review highlights the rapid modulation of potassium channels by RTKs and reviews the recent progress in related research.

[KEY WORDS] receptor tyrosine kinases; signal transduction; potassium channels; modulation

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2008, 29(2): 206-210]

酪氨酸蛋白激酶 (protein tyrosine kinases, PTKs) 是真核生物多种原癌基因编码产物组成的一个蛋白激酶超家族,可催化 ATP 的 γ 磷酸转移到底物蛋白酪氨酸残基的羟基基团上,使其磷酸化,从而调节底物蛋白的活性^[1]。

根据酪氨酸蛋白激酶是否存在于细胞膜上,可将其分为非受体酪氨酸激酶 (nonreceptor tyrosine kinases, NRTKs) 和受体酪氨酸激酶 (receptor tyrosine kinases, RTKs) 两大类^[2]。非受体酪氨酸激酶存在于细胞质中,种类繁多,包括 Src、Abl、Csk、Zap、Jak、Btk、Fak、Fes 等共 8 种,其中以 Src 激酶家族最为庞大,了解得也最为清楚。受体酪氨酸激酶存在于细胞膜上,是一个具有内在酪氨酸蛋白激酶活性的受体超家族,包括 9 个亚家族,其中比较常见的有:胰岛素受体 (insulin receptor, IR) 家族、表皮生长因子受体 (epidermal growth factor receptor, EGFR) 家族、成纤维细胞生长因子受

体 (fibroblast growth factor receptor, FGFR) 家族、血小板源性生长因子受体 (platelet-derived growth factor receptor, PDGFR) 家族、神经营养因子 (neurotrophin, NT) 受体家族等。

RTKs 与细胞外相应配体结合后,引起 RTKs 在细胞膜上迁移、聚合,发生寡聚化 (主要是二聚化),RTKs 二聚化可引起其细胞内功能区的自我酪氨酸磷酸化而激活。这些酪氨酸磷酸化位点通过募集和激活细胞内含有 SH2 或 PTB 结构域的适配蛋白或效应器酶而触发细胞内一系列信号转导通路^[1-5]: (1) 激活磷脂酶 C_γ (PLC $_\gamma$) 介导的膜磷脂酰肌醇-4,5 二磷酸 [PtdIns(4,5)P $_2$] 水解并产生细胞内第二信使信号通路; (2) 激活磷脂酰肌醇-3 激酶 (PI3K), ① 产生磷脂酰肌醇-3,4 二磷酸或磷脂酰肌醇-3,4,5 三磷酸信号通路, ② 产生细胞内强氧化物过氧化氢 (H $_2$ O $_2$) 信号通路; (3) 激活

[收稿日期] 2007-05-11 **[接受日期]** 2007-10-15

[基金项目] 国家自然科学基金 (30270361); 科技部重大基础研究前期研究专项课题 (2003CCA00300); 国家杰出青年基金 (30325038). Supported by National Natural Science Foundation of China (30270361); Prophase Program of Key Basic Research Foundation of Ministry of Science and Technology of China (2003CCA00300) and National Science Fund for Distinguished Young Scholars of China (30325038).

[作者简介] 贾占峰, 博士生. E-mail: jzf75@yahoo.com.cn

* 通讯作者 (Corresponding author). Tel: 0311-86265562, E-mail: zhanghl@hebm.u.edu.cn

Src 激酶等细胞内非受体酪氨酸激酶信号通路;(4)激活小 G 蛋白 Ras-丝裂原活化蛋白激酶(mitogen activated protein kinase, Ras-MAPK)信号通路;(5)激活 JAK/STAT 基因调控信号通路。RTKs 通过众多下游信号通路在调控细胞周期、细胞迁移、细胞代谢、细胞生长、细胞的增殖与分化以及细胞凋亡等细胞基本生命过程中发挥重要作用。

综合上述信号通路的特点,可以发现 RTKs 对细胞功能的调节作用表现出快效应和慢效应两个方面:一是通过调控基因转录与表达,如 Ras-MAPK 途径、JAK/STAT 途径,参与对细胞命运和功能的调节;这种调节作用一般起效比较慢,需要数小时、数天甚至更长的时间。二是通过细胞内效应器酶的活化而产生的细胞内第二信使系统和蛋白激酶的磷酸化作用以及细胞内活化的信号分子如 H_2O_2 等调节细胞的命运和功能;这种调节方式相对迅速、起效快,需要数秒、数分钟的时间,一般不超过几小时。

越来越多的研究发现,RTKs 能以快效应途径调节离子通道的功能。由于突破了通过调控基因转录与表达的传统慢效应信号通路来调节离子通道的功能,因此 RTKs 对离子通道的快速调节效应及其调节机制已成为信号转导和离子通道领域的研究热点之一。钾离子通道在稳定细胞膜电位和调节细胞兴奋性等方面发挥重要作用。根据电压敏感性、生理学和药理学特性,可将钾离子通道粗略地分为 5 大类:(1)电压门控类钾通道,如瞬时外向钾通道(A type transient outward potassium channel, K_A)和电压依赖性钾通道(voltage-dependent potassium channel, K_V);(2)内向整流类钾通道,如内向整流钾通道(inwardly rectifying potassium channel, K_{ir})和 ATP 敏感性钾通道(ATP-sensitive potassium channel, K_{ATP});(3)钙敏感类钾通道(Ca^{2+} -activated potassium channel, K_{Ca});(4)受体偶联类钾通道(receptor-coupled potassium channel),如心房毒蕈碱激活钾通道(ACh-activated potassium channel, K_{ACh});(5)其他类钾通道。本文对 RTKs 对钾离子通道的快速调节进行综述。

1 受体酪氨酸激酶对电压依赖性钾通道的调节

电压依赖性钾通道(K_V)是钾离子通道家族中种类最多的一类钾通道,在维持细胞膜电位、调节细胞兴奋性等方面具有重要作用。RTKs 通过调节 K_V 的功能而调节细胞的兴奋性。

毒蕈碱 1 型受体(muscarinic receptor 1, M_1 受体)、EGFR 和 $K_V1.2$ 在人胚肾(human embryonic kidney, HEK293)细胞共表达,应用 M 受体激动剂卡巴胆碱可激活蛋白激酶 C (protein kinase C, PKC)-依赖性转活 EGFR 而抑制 $K_V1.2$ 电流,EGFR 特异性抑制剂 AG1478 能部分阻断此作用;单独应用表皮生长因子(epidermal growth factor, EGF)也能抑制 $K_V1.2$ 电流,AG1478 能完全阻断之^[6]。这说明 EGFR 与其他机制(可能是细胞内非受体酪氨酸蛋白激酶 PYK2)共同参与了对 $K_V1.2$ 的抑制作用。同时还提示,不同种类受体之间的交互对话,可共同影响离子通道的功能。至于 EGFR 抑制 $K_V1.2$ 的具体机制,目前虽然还不清楚,但纵观 EGFR 对其他类型 K_V 如 $K_V1.3$ 的作用^[7],通道的酪氨酸磷

酸化作用是其被抑制的可能机制,这有待于进一步研究。

在转染 $K_V1.3$ 的 HEK293 细胞,利用内源性表达的 IR,用胰岛素处理 10 min 后,可显著抑制 $K_V1.3$ 电流,若用胰岛素预处理 18 h 后,几乎能被完全抑制^[7]。进一步研究发现,在大鼠嗅球神经元,胰岛素处理 10~20 min 后可抑制神经元 $K_V1.3$ 电流约 50%;激活 Src 激酶可产生相似时程的抑制作用。将通道蛋白的第 111~113 位三联酪氨酸、第 137 位酪氨酸和第 479 位酪氨酸突变为苯丙氨酸,可消除胰岛素的抑制作用^[8-9]。上述研究结果说明,胰岛素可能通过细胞内 Src 激酶对 $K_V1.3$ 通道的上述 3 个部位的酪氨酸残基磷酸化而产生抑制作用。在小鼠嗅球神经元,胰岛素处理后也能明显抑制 $K_V1.3$ 电流,与其在大鼠嗅球神经元的作用相比没有种属间的显著性差异^[10]。但是在嗅球神经元,当 $K_V1.3$ 通道通过其 PDZ 基序被能识别 SH-3 微结构域的适配蛋白 PSD-95 结合形成通道聚集,并与 IR 形成复合物时,能解除 IR 通过磷酸化而抑制 $K_V1.3$ 电流的作用^[11]。在大鼠嗅球神经元,脑源性神经营养因子(brane-derived neurotrophic factor, BDNF)处理 15 min 后可明显抑制 $K_V1.3$ 电流,免疫共沉淀和蛋白质印迹证据表明,BDNF 通过原肌凝蛋白受体激酶 B(tropomyosin receptor kinase B, Trk B)受体对 $K_V1.3$ 通道磷酸化显著增强^[10]。进一步研究发现,将 $K_V1.3$ 通道蛋白的第 111~113 位三联酪氨酸、第 137 位酪氨酸和第 479 位酪氨酸突变为苯丙氨酸,能消除 BDNF 的抑制作用,而且 BDNF 对小鼠嗅球神经元 $K_V1.3$ 电流的抑制作用大于在大鼠的作用^[12]。以上研究结果提示,BDNF 的作用除有种属特异性外,其对 $K_V1.3$ 的抑制作用与胰岛素极为相似。EGFR 也有类似的作用。免疫共沉淀和蛋白质印迹证据表明,在 HEK293 细胞共表达 $K_V1.3$ 和 EGFR, $K_V1.3$ 通道的磷酸化程度增强^[13]。进一步研究发现,在转染 $K_V1.3$ 的 HEK293 细胞,利用内源性表达的 EGFR, EGF 可在 10 min 内显著抑制 $K_V1.3$ 电流,用酪氨酸蛋白激酶抑制剂 Erbstatin 处理或将 $K_V1.3$ 通道蛋白的第 479 位酪氨酸突变为苯丙氨酸,均可消除 EGF 对 $K_V1.3$ 电流的抑制^[7]。这说明,EGF 可能通过细胞内酪氨酸蛋白激酶活性对 $K_V1.3$ 通道的第 479 位酪氨酸产生磷酸化而被抑制。EGF 不仅可以抑制 $K_V1.3$ 的峰电流,并且可以加速通道电流的 C-型失活;胰岛素却不影响电流的 C-型失活。突变分析揭示,EGF 对电流失活动力学的调节机制不同于对其峰电流的抑制。这提示,不同的 RTKs 对 K_V 电流的幅度和动力学变化的调节机制是不同的。由此可以看出, $K_V1.3$ 通道的第 111~113 位三联酪氨酸、第 137 位酪氨酸和第 479 位酪氨酸对维持其正常的功能具有重要意义,若其中一处或几处发生突变或酪氨酸磷酸化,可导致通道功能的异常。

在爪蟾卵母细胞共表达 $K_V1.5$ 通道和 PDGFR 或 FGFR,受体激活后,均显著抑制 $K_V1.5$ 电流,而电流的动力学和电压激活敏感性几乎没有改变,半数抑制时间为 20 min;将 FGFR 的第 766 位酪氨酸突变为苯丙氨酸使其不能激活 $PLC_{\gamma 1}$,可消除 FGF 对 $K_V1.5$ 电流的抑制作用;而且,细胞内注入肌醇三磷酸(inositol triphosphate, IP_3)或用佛波醇酯(phorbol 12-myristate 13-acetate, PMA)处理,均能再现对

K_v1.5 电流的抑制^[14]。这提示,RTKs 可通过激活 PLC_γ 水解膜磷脂 PtdIns(4,5)P₂ 后产生的细胞内第二信使 IP₃-Ca²⁺ 和二酰甘油(diacylglycerol, DAG)-PKC 介导了 K_v1.5 的抑制作用。

在胚胎爪蟾肌细胞,Chauhan-Patel 等^[15]发现成纤维细胞生长因子1(fibroblast growth factor 1, FGF-1)可抑制 K_v 电流,应用酪氨酸蛋白激酶抑制剂 Herbimycin A 不影响 FGF-1 对 K_v 的作用,这提示,FGF-1 不是通过细胞内酪氨酸磷酸化作用而可能通过其他机制如前述之 PLC_γ 途径等对 K_v 产生抑制。他们还发现,FGF-1 对内向整流类钾通道 Kir 电流也有抑制作用,应用 Herbimycin A 可阻断 FGF-1 对 Kir 的抑制。FGF-2 能增大 Kir 和 K_v 电流,与 FGF-1 的作用相反。

最近,本实验室^[16]研究发现,在表达 KCNQ2/3(K_v7.2/7.3)的 HEK293 细胞,急性应用 EGF 20~30 min,能通过激活内源性 EGFR 对 KCNQ2/3 电流产生快抑制和慢抑制这一双相抑制作用。通过荧光融合蛋白标记实验和一系列阻断剂的应用进一步证明,一方面,EGFR 激活 PLC_γ 水解膜磷脂 PtdIns(4,5)P₂, PtdIns(4,5)P₂ 含量的减少直接导致 KCNQ2/3 电流的快抑制效应;另一方面,EGFR 活化后,激活细胞内非受体酪氨酸蛋白激酶主要是 Src 激酶对 KCNQ2/3 通道产生酪氨酸磷酸化而引起慢抑制效应,因为将 KCNQ3 亚基的第 67 位和(或)第 349 位酪氨酸突变为苯丙氨酸明显减少 EGFR 对 KCNQ2/3 的慢抑制效应。在原代培养的大鼠颈上交感神经节神经元,同样观察到急性应用 EGFR 对 M 电流(K_v7.2/7.3)产生的快、慢双相抑制作用,应用相应阻断剂能阻断 EGF 的抑制作用^[15]。

综上所述,(1)除上述 K_v1.2、K_v1.3、K_v1.5 和 K_v7.2/7.3 钾通道受到 RTKs 的调节外,目前尚无证据显示 RTKs 对其他 K_v 通道具有调节作用。(2)除 FGF-2 外,大多数 RTKs 对 K_v 均为抑制性调节作用。(3)细胞内酪氨酸蛋白激酶的磷酸化作用是 RTKs 抑制 K_v 通道的主要机制,而 PLC_γ 介导的膜磷脂 PtdIns(4,5)P₂ 水解这一途径也参与了 RTKs 对 K_v 通道的抑制性调节。

2 受体酪氨酸蛋白激酶对内向整流钾通道的调节

内向整流钾通道(K_{ir})是在机体各组织中广泛分布的一种钾离子通道,因其电压电流关系中所具有的内向整流特性而得名,即 K⁺ 通过 K_{ir} 通道从细胞外向细胞内流动易于从细胞内流向细胞外。K_{ir} 对维持正常细胞膜静息电位及调节细胞兴奋性起重要的作用。RTKs 可通过急性调节 K_{ir} 通道的功能而调节细胞的兴奋性等生理功能。

Wischmeyer 等^[17]发现,在 COS-7 细胞和爪蟾卵母细胞分别共表达 K_{ir}2.1 和神经生长因子受体(nerve growth factor receptor, NGFR),受体激活后,均能抑制 K_{ir}2.1 电流,抑制率分别为(31±10)%和(21±15)%。如将 K_{ir}2.1 通道的第 242 位酪氨酸突变为苯丙氨酸,NGFR 对突变体 K_{ir}2.1 电流的抑制作用消失。这说明,NGFR 通过细胞内的酪氨酸蛋白激酶将 K_{ir}2.1 通道第 242 位酪氨酸磷酸化而产生抑制作用。EGFR 表现相似的作用,激活后也能抑制 K_{ir}2.1 电流。

在表达 K_{ir}2.1 的爪蟾卵母细胞,利用内源性的胰岛素受体,胰岛素可显著抑制 K_{ir}2.1 电流,抑制率可达(74±14)%^[17]。该研究结果提示,RTKs 通过酪氨酸蛋白激酶将 K_{ir}2.1 通道的特定酪氨酸残基磷酸化而产生抑制作用。然而,本实验室研究发现,将 K_{ir}2.1 和 EGFR 或 K_{ir}2.3 和 EGFR 在爪蟾卵母细胞共表达,给予 EGF 激活 EGFR 从而进一步激活 PLC_γ, 后者水解膜磷脂 PtdIns(4,5)P₂ 只引起 K_{ir}2.3 的显著抑制,对 K_{ir}2.1 却没有作用^[18]。根本原因在于 K_{ir}2.1 与膜磷脂 PtdIns(4,5)P₂ 的亲和力高于 K_{ir}2.3 与 PtdIns(4,5)P₂ 的亲和力;若将 K_{ir}2.3 的第 213 位异亮氨酸突变为亮氨酸[突变体 K_{ir}2.3(I213L)],增强 K_{ir}2.3 与膜磷脂 PtdIns(4,5)P₂ 的亲和力,激活 EGFR 后不能显著抑制之;反之,若将 K_{ir}2.1 的第 312 位精氨酸突变为谷氨酰胺[突变体 K_{ir}2.1(R312Q)],减弱 K_{ir}2.1 与膜磷脂 PtdIns(4,5)P₂ 的亲和力,则激活 EGFR 后能显著抑制之^[18]。这说明与膜磷脂 PtdIns(4,5)P₂ 的亲和力的高低,决定了 EGFR 能否抑制 K_{ir}2.X 电流,及其抑制率的高低^[18]。

在爪蟾卵母细胞共表达 G 蛋白激活的内向整流钾通道(G protein-activated inwardly rectifier potassium channel, GIRK)和 Trk B 受体,BDNF 可选择性地抑制 GIRK 通道电流;BDNF 显著抑制 K_{ir}3.1[(61±4)%]和 K_{ir}3.4[(85±2)%],而对 K_{ir}3.2 没有作用;酪氨酸蛋白激酶抑制剂 Genistein、Gö6976 和 K252a 能阻断 BDNF 的抑制作用;将 K_{ir}3.1 通道的第 12 和(或)第 67 位酪氨酸或 K_{ir}3.4 通道的第 32 和(或)第 53 位酪氨酸突变为苯丙氨酸,均能明显减弱 BDNF 的抑制作用;将 K_{ir}3.2 通道的第 41 位天冬氨酸突变为酪氨酸,BDNF 仍然对其无作用,然而若同时将 K_{ir}3.2 通道的第 32 位脯氨酸突变为带正电荷的赖氨酸,则 BDNF 可抑制 K_{ir}3.2 电流(40±7)%^[19]。BDNF 对 K_{ir}3 的抑制不是因为降低了 K_{ir}3 对 G_{βγ} 的亲和力,而是由于 BDNF 激活的酪氨酸蛋白激酶磷酸化 K_{ir}3 的酪氨酸残基增强了三磷酸鸟苷(guanosine triphosphate, GTP)酶活性而促进 K_{ir}3 电流失活所致^[20]。上述研究结果提示,Trk 类受体可通过细胞内酪氨酸蛋白激酶将 GIRK 通道的多个酪氨酸残基磷酸化而抑制之。这种抑制作用,一方面改变了通道电流的动力学特征,另一方面可能需要通道酪氨酸残基不远处的上游有带正电荷的氨基酸存在^[19-20]。

最近,Scharbrodt 等^[21]在人的脐静脉内皮细胞发现,bFGF 可通过增强 K_{ir} 电流而促进细胞的增殖和促进细胞内一氧化氮的合成。

综上所述,RTKs 可通过细胞内酪氨酸蛋白激酶磷酸化作用或通过水解膜磷脂 PtdIns(4,5)P₂ 对 K_{ir} 产生抑制作用;虽然 bFGF 对 K_{ir} 通道电流有增强作用,但其涉及的 K_{ir} 亚型以及增强作用的具体机制有待于进一步研究。

3 受体酪氨酸蛋白激酶对钙敏感类钾通道的调节

钙敏感类钾通道(K_{Ca})是钾离子通道家族中一个重要的亚家族。根据电生理特性又分为高电导型钙敏感性钾通道(big conductance K_{Ca}, BK_{Ca})、中电导型钙敏感性钾通道(intermediate conductance K_{Ca}, IK_{Ca})和小电导型钙敏感性钾通

道(small conductance K_{Ca} , SK_{Ca}) 3种。 K_{Ca} 通道激活后表现出外向电流,是促进细胞复极化或超极化的重要因素。众多证据表明,RTKs对 K_{Ca} 有重要的急性调节作用。

Peppelenbosch等^[22]在人A431瘤细胞株发现,EGF先激活电压依赖性钙通道电流,紧接着后者引发 BK_{Ca} 电流,而且激活PKC能抑制 BK_{Ca} 电流。另外在家兔结肠平滑肌细胞,EGF可使 BK_{Ca} 电流增大两倍^[23]。Ivanov等^[24]在大鼠基底动脉平滑肌细胞观察到,给予EGF可以增强 BK_{Ca} 电流20%,并因此而引起细胞膜超极化改变。受体阻断剂、受体基因敲除技术以及一系列药理学阻断剂的应用表明,EGF增强 BK_{Ca} 电流是通过EGFR先后激活5型腺苷酸环化酶依赖性蛋白激酶A(cAMP-dependent protein kinase A,PKA)所致^[24]。至于其可能涉及的丝氨酸/苏氨酸磷酸化位点,尚需进一步实验研究。在神经胶质瘤细胞, BK_{Ca} 通道也受到erbB2受体(EGFR家族中的一个成员)的调节:激动erbB2受体通过升高细胞内钙离子的浓度可降低 BK_{Ca} 通道的激活电压12 mV;而阻断erbB2受体,则降低细胞内钙离子的浓度,从而使 BK_{Ca} 通道的激活电压上调30 mV。在调节 BK_{Ca} 通道的过程中并不伴随通道蛋白表达水平的变化和磷酸化水平的变化^[25]。

NT-3和NGF均能持续增强胚胎小鼠皮质神经元的 BK_{Ca} 电流。酪氨酸蛋白酶抑制剂K252a、磷脂酶C抑制剂U73122、丝氨酸/苏氨酸蛋白磷酸酶1和2a的抑制剂冈田酸(Okadaic acid)能分别阻断NT-3的增强作用。无 Ca^{2+} 外液灌流,不但阻断了NT-3的作用还能大大减小 BK_{Ca} 电流。神经营养因子家族中其他成员如BDNF、CNTF,以及IGF-1对 BK_{Ca} 电流无影响^[26]。因PLC激活后能水解膜磷脂PtdIns(4,5) P_2 激活PKC,所以上述研究提示,RTKs对 BK_{Ca} 通道的调节是 Ca^{2+} 依赖性的;通道酪氨酸磷酸化作用和(或)丝氨酸/苏氨酸去磷酸化作用可能共同参与了NT-3和NGF对 BK_{Ca} 电流的正性调节作用;其具体作用机制以及 BK_{Ca} 对不同调节因子的敏感性需要进一步研究。

在人的冠状动脉内皮细胞,bFGF能激活 BK_{Ca} 电流而且持续相当长的时间;百日咳毒素(Pertussis toxin,PTX)预处理可阻断此作用,而PTX预处理后再应用Genistein,可再现bFGF激活 BK_{Ca} 电流的作用^[27]。该研究结果提示,G蛋白调节机制可能参与了RTKs增强的 BK_{Ca} 的早期作用,而酪氨酸磷酸化则参与了RTKs调节 BK_{Ca} 的后期作用。

胰岛素也能激活或增大 BK_{Ca} 电流^[28]。在海马神经元或表达 BK_{Ca} 通道的HEK293细胞,电极内应用或表面灌流胰岛素活化IR后,均能快速激活 BK_{Ca} 电流^[28]。应用一系列的药理学阻断剂在确定发挥作用的下游通路时发现,PI-3K的阻断剂不能阻断胰岛素的相关效应,而MAPK通路的阻断剂PD98059或U0126均能减弱或消除胰岛素的相关效应^[28]。这说明,胰岛素是通过MAPK通路而快速激活或增强 BK_{Ca} 电流的^[28]。该研究结果具有重要的提示意义,因为这是迄今为止唯一报道MAPK通路参与RTKs快速调节钾离子通道的文献。

最近,Kramár等^[29]发现,BDNF可抑制大鼠海马神经元的 SK_{Ca} 电流,免疫印迹分析证明,BDNF增强海马神经元

SK_{Ca} 通道的丝氨酸磷酸化水平。这可能是BDNF降低神经元的后超极化(afterhyperpolarization,AHP)水平的原因。

综上所述,(1)RTKs能激活或增强 BK_{Ca} 电流,细胞内酪氨酸激酶磷酸化作用和(或)丝氨酸/苏氨酸去磷酸化作用参与其中,MAPK通路和(或)细胞内钙信号也有参与其中。(2)RTKs还表现出抑制 SK_{Ca} 电流的作用,可能是通过丝氨酸蛋白激酶磷酸化作用完成的。(3)目前尚无证据表明RTKs对 IK_{Ca} 通道有急性调节作用,然而有证据表明RTKs可通过慢效途径促进 IK_{Ca} 通道蛋白表达量增加^[30]。

以上主要总结了RTKs对 K_V 、 K_{ir} 和 K_{Ca} 三种钾通道的急性调节作用。Roderick等^[31]报道,30 min内EGF可以使家兔角膜上皮细胞 K^+ 电流增大54%,但他们并未明确该 K^+ 电流为何种类型。目前尚无证据表明RTKs对其他类型钾通道如 K_{ATP} 、 K_A 及 K_{ACh} 等有急性调节作用,关于这一点需要进一步实验研究。

4 小结

RTKs是细胞膜上广泛存在的一类具有内在酪氨酸蛋白激酶活性的受体。在传统观念中,RTKs调节正常的细胞活动如生长、增殖、分化和凋亡等;而且RTKs及其下游通路的某些环节正在成为肿瘤防治的重要靶点^[32]。RTKs对离子通道的快速调节作用是人们新近认识到的另一种重要功能,RTKs对细胞的兴奋性、神经递质的释放、神经突触信号的传递以及肌肉的收缩和腺体细胞的分泌活动都起到重要的调节作用。钾离子通道是种类最多的一种离子通道,广泛调节细胞正常的生理功能。编码通道蛋白的基因突变或通道功能异常均可导致多种疾病,如神经元上编码M通道(K_V 7.2/7.3)的KCNQ2亚基上仅单个位点的突变就能引起约25%的电流抑制,这种抑制足以引发癫痫症状的出现^[33]。钾离子通道已成为众多临床疾病如心律失常、癫痫、老年性痴呆、糖尿病等的治疗靶点^[34],挖掘更多RTKs对钾离子通道的调节作用的证据有重要的生理意义和积极的临床意义。

[参考文献]

- [1] Schlessinger J. Cell signaling by receptor tyrosine kinases[J]. Cell,2000,103:211-225.
- [2] Czech M P. PIP2 and PIP3: complex roles at the cell surface [J]. Cell,2000,100:603-606.
- [3] Hunter T. Signaling-2000 and beyond[J]. Cell,2000,100:113-127.
- [4] Bae Y S,Kang S W,Seo M S,Baines I C,Tekle E,Chock P B, et al. Epidermal growth factor (EGF)-induced generation of hydrogen peroxide[J]. J Biol Chem,1997,272:217-221.
- [5] Sundaresan M, Yu Z X, Ferrans V J, Irani K, Finkel T. Requirement for generation of H_2O_2 for platelet-derived growth factor signal transduction[J]. Science,1995,270:296-299.
- [6] Tsai W, Morielli A D, Peralta E G. The m1 muscarinic acetylcholine receptor transactivates the EGF receptor to modulate ion channel activity[J]. EMBO J,1997,16:4597-4605.
- [7] Bowlby M R, Fadool D A, Holmes T C, Levitan I B. Modulation of the $Kv1.3$ potassium channel by receptor tyrosine kinases

- [J]. *J Gen Physiol*, 1997, 110: 601-610.
- [8] Fadool D A, Levitan I B. Modulation of olfactory bulb neuron potassium current by tyrosine phosphorylation[J]. *J Neurosci*, 1998, 18: 6126-6137.
- [9] Fadool D A, Tucker K, Phillips J J, Simmen J A. Brain insulin receptor causes activity-dependent current suppression in the olfactory bulb through multiple phosphorylation of Kv1. 3[J]. *J Neurophysiol*, 2000, 83: 2332-2348.
- [10] Tucker K, Fadool D A. Neurotrophin modulation of voltage-gated potassium channels in rat through TrkB receptors is time and sensory experience dependent[J]. *J Physiol*, 2002, 542: 413-429.
- [11] Marks D R, Fadool D A. Post-synaptic density perturbs insulin-induced Kv1. 3 channel modulation *via* a clustering mechanism involving the SH(3) domain[J]. *J Neurochem*, 2007, 103: 1608-1627.
- [12] Colley B, Tucker K, Fadool D A. Comparison of modulation of Kv1. 3 channel by two receptor tyrosine kinases in olfactory bulb neurons of rodents[J]. *Receptors Channels*, 2004, 10: 25-36.
- [13] Holmes T C, Fadool D A, Levitan I B. Tyrosine phosphorylation of the Kv1. 3 potassium channel[J]. *J Neurosci*, 1996, 16: 1581-1590.
- [14] Timpe L C, Fantl W J. Modulation of a voltage-activated potassium channel by peptide growth factor receptors[J]. *J Neurosci*, 1994, 14: 1195-1201.
- [15] Chauhan-Patel R, Spruce A E. Differential regulation of potassium currents by FGF-1 and FGF-2 in embryonic *Xenopus laevis* myocytes[J]. *J Physiol*, 1998, 512: 109-118.
- [16] Jia Q, Jia Z, Zhao Z, Liu B, Liang H, Zhang H. Activation of epidermal growth factor receptor inhibits KCNQ2/3 current through two distinct pathways: membrane PtdIns(4, 5)P2 hydrolysis and channel phosphorylation[J]. *J Neurosci*, 2007, 27: 2503-2512.
- [17] Wischmeyer E, Döring F, Karschin A. Acute suppression of inwardly rectifying $K_{ir} 2. 1$ channels by direct tyrosine kinase phosphorylation[J]. *J Biol Chem*, 1998, 273: 34063-34068.
- [18] Du X, Zhang H, Lopes C, Mirshahi T, Rohacs T, Logothetis D E. Characteristic interactions with phosphatidylinositol 4, 5-bisphosphate determine regulation of k_{ir} channels by diverse modulators[J]. *J Biol Chem*, 2004, 279: 37271-37281.
- [19] Rogalski S L, Appleyard S M, Pattillo A, Terman G W, Chavkin C. TrkB activation by brain-derived neurotrophic factor inhibits the G protein-gated inward rectifier $K_{ir} 3$ by tyrosine phosphorylation of the channel[J]. *J Biol Chem*, 2000, 275: 25082-25088.
- [20] Ippolito D L, Temkin P A, Rogalski S L, Chavkin C. N-terminal tyrosine residues within the potassium channel $K_{ir} 3$ modulate GTPase activity of $G_{\alpha i}$ [J]. *J Biol Chem*, 2002, 277: 32692-32696.
- [21] Scharbrodt W, Kuhlmann C R, Wu Y, Schaefer C A, Most A K, Backenker U, et al. Basic fibroblast growth factor induced endothelial proliferation and NO synthesis involves inward rectifier K^+ current[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2004, 24: 1229-1233.
- [22] Peppelenbosch M P, Tertoolen L G J, Laat S W. Epidermal growth factor-activated calcium and potassium channels[J]. *J Biol Chem*, 1991, 266: 19938-19944.
- [23] Hatakeyama N, Mukhopadhyay D, Goyal R K, Akbarali H I. Tyrosine kinase-dependent modulation of calcium entry in rabbit colonic muscularis mucosae[J]. *Am J Physiol*, 1996, 270: C1780-C1789.
- [24] Ivanov A, Gerzanich V, Ivanova S, Denhaese R, Tsybalyuk O, Simard J M. Adenylate cyclase 5 and $KC_{a} 1. 1$ channel are required for EGFR up-regulation of PCNA in native contractile rat basilar artery smooth muscle[J]. *J Physiol*, 2006, 570: 73-84.
- [25] Olsen M L, Weaver A K, Ritch P S, Sontheimer H. Modulation of glioma BK channels *via* erbB2[J]. *J Neurosci Res*, 2005, 81: 179-189.
- [26] Holm N R, Christophersen P, Olesen S P, Gammeltoft S. Activation of calcium-dependent potassium channels in rat brain neurons by neurotrophin-3 and nerve growth factor[J]. *Proc Natl Acad Sci*, 1997, 94: 1002-1006.
- [27] Kuhlmann C R, Wu Y, Li F, Münz B M, Tillmanns H, Waldecker B, et al. bFGF activates endothelial Ca^{2+} -activated K^+ channels involving G-proteins and tyrosine kinases[J]. *Vasc Pharmacol*, 2004, 4: 181-186.
- [28] O'Malley D, Harvey J. Insulin activates native and recombinant large conductance Ca^{2+} -activated potassium channels *via* a mitogen-activated protein kinase-dependent process[J]. *Mol Pharmacol*, 2004, 65: 1352-1363.
- [29] Kramár E A, Lin B, Lin C Y, Arai A C, Gall C M, Lynch G. A novel mechanism for the facilitation of theta-induced long-term potentiation by brain-derived neurotrophic factor[J]. *J Neurosci*, 2004, 24: 5151-5161.
- [30] Boettger M K, Till S, Chen M X, Anand U, Otto W R, Plump-ton C, et al. Calcium-activated potassium channel SK1- and IK1-like immunoreactivity in injured human sensory neurones and its regulation by neurotrophic factors[J]. *Brain*, 2002, 125: 252-263.
- [31] Roderick C, Reinach P S, Wang L, Lu L. Modulation of rabbit corneal epithelial cell proliferation by growth factor-regulated K^+ channel activity[J]. *J Membr Biol*, 2003, 196: 41-50.
- [32] Cohen P. Protein kinases—the major drug targets of the twenty-first century[J]? *Nat Rev Drug Discov*, 2002, 1: 309-315.
- [33] Schroeder B C, Kubisch C, Stein V, Jentsch T J. Moderate loss of function of cyclic-AMP-modulated KCNQ2/KCNQ3 K^+ channels causes epilepsy[J]. *Nature*, 1998, 396: 687-690.
- [34] Shieh C C, Coghlan M, Sullivan J P, Gopalakrishnan M. Potassium channels: molecular defects, diseases, and therapeutic opportunities[J]. *Pharmacol Rev*, 2000, 52: 557-593.