

DOI: 10.13241/j.cnki.pmb.2014.06.045

· 专论与综述 ·

 $\alpha 7$ nAChR 在上皮组织的表达及其功能的研究进展 *安 静 郭礼政 周志斐 王小竞[△]

(第四军医大学附属口腔医院儿童口腔科 陕西 西安 710032)

摘要: $\alpha 7$ nAChR 是配体门控离子通道蛋白超家族的典型代表,烟碱型乙酰胆碱受体的一个重要亚型,是复杂的五聚体跨膜蛋白,介导 Na^+ 、 Ca^{2+} 流入, K^+ 流出,尤以对 Ca^{2+} 通透性高。 $\alpha 7$ nAChR 分布广泛且功能多样,不仅分布于中枢和外周神经系统,介导神经元的快速突触传递,其在许多非神经元细胞和组织中亦有表达,包括内皮细胞,支气管上皮细胞,皮肤角质蛋白细胞,膀胱上皮细胞,血管平滑肌等,并参与其功能调节及功能障碍相关疾病的病理生理过程,如可调节细胞质运动和细胞间黏附,细胞增殖,血管生成以及肿瘤的侵袭和迁移。本文主要介绍烟碱型乙酰胆碱受体 $\alpha 7$ 亚型在不同胚层来源的上皮组织细胞中的表达及其功能特征,以期通过激活或抑制 $\alpha 7$ nAChR 的表达来降低与其密切相关疾病的发生率。

关键词: 非神经性胆碱能系统;烟碱型乙酰胆碱受体; $\alpha 7$ nAChR;上皮细胞;功能特征

中图分类号: Q591, R780.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 1673-6273(2014)06-1174-03

Study of the Expression and Function of $\alpha 7$ nAChR in Epithelial Tissues*AN Jing, WU Li-zheng, ZHOU Zhi-fei, WANG Xiao-jing[△]

(Department of Pediatric Dentistry, School of Stomatology, The Fourth Military Medical University, Xi'an, Shaanxi, 710032, China)

ABSTRACT: Nicotinic acetylcholine receptors (nAChRs) belong to the ligand-gated ion channel super family. These receptors have the characteristic of high permeability for Ca^{2+} while the $\alpha 7$ subunit is a very important type for this super family. It is a complex pentamer transmembrane protein and besides Ca^{2+} , the receptor also mediate the influx of Na^+ and the outflow of K^+ . $\alpha 7$ nAChR is widely distributed in many tissues and organs with multiply functions. They not only exist in central and peripheral nervous systems that mediate fast synaptic transmission in neurons, but also have been found on non-neuronal cells and tissues such as endothelial cells (ECs), bronchial epithelial cells, skin keratinocytes, urinary bladder epithelial cells and vascular smooth muscle cells. In these non-neuronal cells and tissues, the receptor is involved in pathophysiological process of functional regulation and dysfunction related diseases. The mechanism can be attributed to the regulation of cytoplasmic movement, intercellular adhesion, cell proliferation, angiogenesis, the invasion and metastasis for tumor. This review mainly describes the expression and functional characteristics of nicotinic cholinergic receptor alpha 7 subtype which expressed in three germ layers derived cells and tissues in the hope of providing some theoretical theories for clinical work through regulating its expression level in different tissues.

Key words: Non-neuronal cholinergic system; Nicotinic acetylcholine receptors; $\alpha 7$ nAChR; Epithelial cell; Functional characteristics

Chinese Library Classification: Q591, R780.1 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2014)06-1174-03

前言

1970年, Wu等^[1]首次报道烟碱型乙酰胆碱受体(nAChRs)不仅是一种膜受体,同时也是离子通道。作为中枢神经系统重要神经递质受体烟碱型乙酰胆碱受体^[2,3]属于配体门控离子通道超家族,是复杂的五聚体跨膜蛋白,目前已经发现的哺乳动物nAChR家族由17个成员组成,包括肌肉型的 $\alpha 1, \beta 1, \gamma, \delta, \epsilon$ 亚单位和神经型的 $\alpha 2-\alpha 10, \beta 2-\beta 4$ 亚单位^[3,4,5,17]。 $\alpha 7$ nAChR作为nAChR家族的一员,近年来逐渐成为多种炎症性疾病发病机制研究中的一个热点。 $\alpha 7$ nAChR分布广泛且功能多样,本文就

其在不同胚层来源的上皮组织细胞中的分布及功能做一阐述,了解其参与疾病发生发展的分子机制,为该疾病的防治提供理论依据。

1 分布与功能

$\alpha 7$ nAChR作为神经系统的重要神经递质受体,不仅分布于中枢神经系统,在外周神经系统也有广泛表达^[4,6],介导着神经元的快速突触传递。近年来的一些研究发现烟碱型乙酰胆碱受体在身体多个部位的非神经元组织中亦有表达,其生物学功能涵盖细胞增殖、分化、细胞骨架形成、细胞间联结、运动和迁

* 基金项目:国家自然科学基金项目(81170964)

作者简介:安静(1987-),女,硕士研究生,主要研究方向:吸烟相关性牙周炎作用机制研究,电话:18392135110, E-mail: 851694305@qq.com

[△]通讯作者:王小竞,电话:029-84776083, E-mail: wxjing@fimmu.edu.cn

(收稿日期:2013-06-17 接受日期:2013-07-15)

移等;越来越多的证据提示烟碱型乙酰胆碱受体在参与尼古丁对多器官系统影响和各种疾病如酸诱导的急性肺损伤、慢性阻塞性肺病以及糖尿病的免疫调节和炎症反应等过程中均发挥着重要作用。

2 $\alpha 7$ nAChR 在不同上皮组织和细胞中的研究

$\alpha 7$ nAChR 广泛存在于中枢、外周神经系统及非神经性细胞和组织中,本文主要对不同胚层来源的上皮细胞中 $\alpha 7$ nAChR 的表达及其相关功能的研究进行综述。

2.1 外胚层来源的上皮细胞

2.1.1 牙龈上皮细胞 牙龈上皮细胞(HGECs)在维持牙周组织稳态中有重要作用,可形成物理屏障、发挥非特异性快速宿主防御反应阻止病原菌进入牙周组织。Kashiwagi 等^[7]发现 HGECs 可表达多种 nAChR 亚型($\alpha 2$ -7, $\beta 1$, $\beta 2$, $\beta 4$ nAChR)。用 IL-1 β /LPS 和 / 不和尼古丁作用于 HGECs 后发现尼古丁可显著上调 IL-1 β /LPS 作用后 HGECs IL-8 的表达水平,而非选择性 nAChR 拮抗剂或细胞内 Ca^{2+} 螯合剂则可使上调的 IL-8 表达下降,说明尼古丁可通过结合 HGECs 的 nAChRs 而上调 IL-1 β /LPS 的炎性效应。Nguyen 等^[8]通过 PCR 技术发现牙龈上皮细胞表达 $\alpha 3$, $\alpha 5$, $\alpha 7$, $\beta 2$ nAChR, 且尼古丁可直接作用于受体改变细胞功能。非选择性烟碱型乙酰胆碱受体拮抗剂美加明可使牙龈上皮细胞的黏附可逆性丧失、细胞萎缩;而用烟碱型乙酰胆碱受体激动剂 Ach/ 卡巴激活受体后则形成新的细胞间接触、细胞质拉伸,说明牙龈上皮存在非神经型胆碱能受体。这些上皮表达的烟碱型乙酰胆碱受体与细胞黏附、运动有关,并可能是尼古丁发挥有害作用的靶点。

2.1.2 成釉细胞 小鼠磨牙牙釉质形成过程和终身持续生长的切牙均表达 $\alpha 7$ nAChR。Rogers 等^[9]发现 $\alpha 7$ nAChR 在牙齿发育过程中存在时空表达,有助于牙齿的正常形成,而 $\alpha 7$ nAChR 功能异常会对成釉器造成影响。 $\alpha 7$ nAChR 敲除小鼠的成釉细胞功能异于正常,高分辨率 micro-CT 显示 $\alpha 7$ nAChR 敲除的小鼠下切牙牙釉质结构改变,牙釉质量显著减少,其釉柱结构也发生改变^[9]。

2.2 内胚层来源的上皮细胞

2.2.1 呼吸道上皮细胞 Wang 等^[10]通过 RT-PCR,原位杂交实验检测到支气管上皮细胞(BEC)及大鼠气管中有 $\alpha 7$ nAChR 的表达。Western Blot 和免疫组化实验进一步证明培养的 BEC 及 AEC 表达 $\alpha 7$ nAChR。1 μ m 尼古丁处理 BEC 3d 可上调功能性 $\alpha 7$ nAChR 的表达。BEC 及 AEC 存在 $\alpha 7$ nAChR,提示吸烟对气管及血管的有害效应可通过激活烟碱型受体 $\alpha 7$ nAChR 来介导。

2.2.2 肺上皮细胞 Su 等^[11]通过免疫组织化学技术检测肺组织切片,发现有 $\alpha 7$ nAChR 的表达,免疫荧光、免疫组化检测肺泡巨噬细胞、中性白细胞和人肺泡 II 型细胞,发现其均有 $\alpha 7$ nAChR 表达。激活 $\alpha 7$ nAChR 可抑制肺泡巨噬细胞 NF- κ B 的活化,并降低促炎细胞因子的生成(MIP-2, TNF- α)。给予 $\alpha 7$ nAChR 激动剂可减少肺中性粒细胞的集聚,从而降低肺水肿及肺炎症。因此, $\alpha 7$ nAChR 的活化可作为治疗急性肺损伤的新的抗炎疗法。Wongtrakool 等^[12]通过反转录 PCR,实时定量 PCR 及免疫组化检测发育中肺 $\alpha 7$ nAChR 的分布及表达,得出 $\alpha 7$

nAChR 在肺假腺管型期的表达量最高,尼古丁通过结合 $\alpha 7$ nAChR 呈剂量依赖性刺激肺分支形态发生,使气道与肺实质不成比例,宿主出生后易得气道疾病。这可解释为什么出生前暴露于烟雾的,婴儿及孩子的肺功能出现异常。吸烟与非小细胞肺癌(NSCLS)的发生有着强相关。Dasgupta 等^[13]发现尼古丁与 $\alpha 7$ nAChR 结合可诱导肺癌细胞株增殖,使 NSCLS 发生侵袭、迁移,并诱导其血管生成。通过 RT-PCR 发现人乳腺癌及胰腺癌细胞株也有 $\alpha 7$ nAChR 的表达。尼古丁通过结合 $\alpha 7$ nAChR 促进人乳腺癌增殖及侵袭,诱导人乳腺癌及肺癌细胞发生基因改变和上皮间充质转化^[14](EMT),而 EMT 被认为是获得恶性表型的一个重要步骤,有利于乳腺癌和肺癌的发展。尼古丁自身不是致癌物,但它可促进肿瘤发生发展。尼古丁通过 nAChR 促进肿瘤增殖、肿瘤血管生成、肿瘤细胞非贴壁生长以及发生 EMT 和抗凋亡效应,这些对肿瘤的生长及转移有重要作用^[10,13]。因此开发可裂解烟碱型乙酰胆碱受体信号通路的制剂可能有益于这些肿瘤的治疗。Paleari^[15]通过 Western Blot 和 RT-PCR 检测到人 NSCLS 细胞表达 $\alpha 7$ nAChR, 而 $\alpha 7$ nAChR 拮抗剂抑制人 NSCLS 细胞增殖,说明 $\alpha 7$ nAChR 在人 NSCLS 发生发展中起着重要作用。Davis^[16]和 Cooke^[17]实验室也得出了相似结论,认为 $\alpha 7$ nAChR 对尼古丁介导的抑制细胞增殖效应是很重要的。RT-PCR 实验证明 $\alpha 7$ nAChR 表达于小鼠肺腺癌细胞。尼古丁处理 24h 后 $\alpha 7$ nAChR 表达上调,而 α -BTX 抑制尼古丁诱导的细胞增殖效应,说明尼古丁通过结合 $\alpha 7$ nAChR 诱导小鼠肺癌细胞增殖及肿瘤生长。尼古丁通过 $\alpha 7$ nAChR 促进肺癌发生 EMT 样改变。EMT 是细胞失去其上皮表型并获得间充质特征,以促进细胞分离和迁移,尼古丁通过破坏细胞间紧密连接来促进肿瘤转移。因此应用 $\alpha 7$ nAChR 拮抗剂或许对控制肿瘤细胞的生长及进展是有帮助的。

2.2.3 膀胱上皮细胞 Beckel 等^[18]首次证明刺激膀胱内非神经性烟碱型乙酰胆碱受体可影响排尿。通过 RT-PCR 检测大鼠尿路上皮细胞有 $\alpha 3$, $\alpha 5$, $\alpha 7$, $\beta 3$, $\beta 4$ nAChR 的 mRNA 表达。Western Blot 确定尿路上皮有 $\alpha 3$, $\alpha 7$ 亚型的蛋白表达。50 μ M 尼古丁使大鼠尿路上皮细胞内 Ca^{2+} 浓度升高。膀胱内注射尼古丁(50 nM, 1 μ M)会延长排尿间隔,首次证实刺激尿路上皮烟碱型受体可改变膀胱反射。改变尿路上皮烟碱型受体或使其功能障碍可能对研究膀胱疾病的病因有帮助,比如膀胱过度活动的疾病,这些受体可为治疗此类疾病提供新方法。

2.3 中胚层来源的上皮细胞

血管生成对细胞的存活有重要作用。Arias^[19]指出血管生成过程中血管内皮细胞表达多种烟碱型乙酰胆碱受体,最重要的是同源 $\alpha 7$ nAChR 和异聚体($\alpha 3$, $\alpha 5$, $\beta 2$, $\beta 4$ nAChR)的组合,包括 $\alpha 3\beta 4$ nAChRs。 $\alpha 7$ nAChR 的活化间接激活整合素 $\alpha \gamma \beta 3$ 受体和 ERK 通路来介导血管生成。非选择性胆碱能激动剂尼古丁诱导血管生成,促进肿瘤发展^[20]。选择性 $\alpha 7$ nAChR 拮抗剂 α -BTX,非选择性拮抗剂美加明已被证明能够抑制内皮细胞增殖和血管形成,因此特定的胆碱能拮抗剂可用作抗癌疗法。Li 等^[6]通过 RT-PCR,免疫组化检测人脐静脉内皮细胞(HUVECs) $\alpha 7$ nAChR 的表达,MTT 荧光共聚焦显微镜和血管生成分析来检测细胞的功能,免疫组化研究心肌梗塞大鼠的毛细血管密度。结果 $\alpha 7$ nAChR 激动剂乙酰胆碱上调 $\alpha 7$ nAChR 的 mRNA

及蛋白水平,同时胞内 Ca^{2+} 浓度升高,促进内皮细胞增殖及小管形成。而 $\alpha 7$ nAChR 拮抗剂 α -BTX 作用后却得到相反的结果。此外, $\alpha 7$ nAChR 激动剂提高心肌梗塞大鼠局部缺血组织的毛细血管密度,而拮抗剂美加明 / α -BTX 抑制此效应。此结果表明 $\alpha 7$ nAChR 参与内皮细胞功能调节及心肌梗塞时毛细血管的形成,是血管形成的重要步骤。因此,内皮细胞表面的 $\alpha 7$ nAChR 可能是治疗缺血性心脏病血运重建的新的作用靶点。

3 结语

综上所述, $\alpha 7$ nAChR 不仅在神经系统和间充质来源的组织 and 细胞中发挥着重要作用,且在多种上皮组织和细胞(如内皮细胞、支气管上皮细胞、皮肤角质细胞、血管平滑肌细胞)中也扮演着重要的角色。 $\alpha 7$ nAChR 是配体门控离子通道蛋白超家族的典型代表,介导 Na^+ 、 Ca^{2+} 流入, K^+ 流出,可调节细胞质运动和细胞间黏附,细胞增殖,血管生成以及肿瘤的侵袭和迁移^[9],它还可调节多种上皮细胞炎症因子 TNF- α 、IL-8 等的表达水平,从而参与机体多种肿瘤和炎症性疾病的发生发展过程。因此深入研究其独特的结构和功能特征,将对降低与 $\alpha 7$ nAChR 密切相关疾病的发生率具有重要意义。

参考文献(References)

- [1] Chih-Hsiung Wu, Chia-Hwa Lee, Yuan-Soon Ho. Nicotinic Acetylcholine Receptor-Based Blockade: Applications of Molecular Targets for Cancer Therapy[J]. Clin Cancer Res, 2011, 17(11): 3533-3541
- [2] Neil S. Millar and Patricia C. Harkness. Assembly and trafficking of nicotinic acetylcholine receptors (Review)[J]. Molecular Membrane Biology, 2008, 25(4): 279-292
- [3] Diane L Carlisle, Toni M Hopkins. Nicotine signals through muscle-type and neuronal nicotinic acetylcholine receptors in both human bronchial epithelial cells and airway fibroblasts [J]. Respiratory Research, 2004, 5: 27
- [4] Daniela Gündisch and Christoph Eibl. Nicotinic acetylcholine receptor ligands; a patent review (2006-2011)[J]. Expert Opin Ther Pat, 2011, 21(12): 1867-1896
- [5] Richard D. Egleton, Kathleen C. Brown and Piyali Dasgupta. Nicotinic acetylcholine receptors in cancer: multiple roles in proliferation and inhibition of apoptosis [J]. Trends in Pharmacological Sciences, 2008, 29(3): 151-158
- [6] Xiao-Wei Li, Hai Wang. Non-neuronal nicotinic alpha 7 receptor, a new endothelial target for revascularization [J]. Life Sciences, 2006, 78: 1863-1870
- [7] Yoichiro Kashiwagi, Manabu Yanagita, Yuko Kojima, et al. Nicotine up-regulates IL-8 expression in human gingival epithelial cells following stimulation with IL-1 β or P. gingivalis lipopolysaccharide via nicotinic acetylcholine receptor signaling[J]. Archives of Oral Biology, 2012, 57: 483-490
- [8] Nguyen VT, Hall LL, Gallacher G, Ndoye A, et al. Find all citations by this author (default). Choline acetyltransferase, acetylcholinesterase, and nicotinic acetylcholine receptors of human gingival and esophageal epithelial [J]. Journal of Dental Research, 2000, 79(4): 939-949
- [9] Scott W. Rogers, Lorise C. Gahring. Nicotinic Receptor Alpha7 Expression during Tooth Morphogenesis Reveals Functional Pleiotropy [J]. PLoS ONE, 2012, 7(5): e36467
- [10] Y. Wang, E. F. R. Pereira, A. D. J. Maus, et al. Human Bronchial Epithelial and Endothelial Cells Express $\alpha 7$ Nicotinic Acetylcholine Receptors[J]. Molecular Pharmacology 2001, 60(6): 1201-1209
- [11] Xiao Su, Jae Woo Lee, Zachary A, et al. Activation of the $\alpha 7$ nAChR Reduces Acid-Induced Acute Lung Injury in Mice and Rats [J]. Am J Respir Cell Mol Biol, 2007, 37: 186-192
- [12] Cherry Wongtrakool, Susanne Roser-Page, Hilda N. Rivera, et al. Nicotine alters lung branching morphogenesis through the $\alpha 7$ nicotinic acetylcholine receptor [J]. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol, 2007, 293: L611-L618
- [13] Piyali Dasgupta, Wasia Rizwani, Smitha Pillai. Nicotine induces cell proliferation, invasion and epithelial-mesenchymal transition in a variety of human cancer cell lines [J]. Int J Cancer, 2009, 124(1): 36-45
- [14] Yung-Chang Lien, MD, Weu Wang, MD, Li-Jen Kuo, MD. Nicotine Promotes Cell Migration Through Alpha7 Nicotinic Acetylcholine Receptor in Gastric Cancer Cells [J]. Ann Surg Oncol, 2011, 18: 2671-2679
- [15] L. Paleari, A. Catassi, M. Ciarlo, et al. Role of $\alpha 7$ -nicotinic acetylcholine receptor in human non-small cell lung cancer proliferation[J]. Cell Prolif, 2008, 41: 936-959
- [16] Rebecca Davis, Wasia Rizwani, Sarmistha Banerjee, et al. Nicotine Promotes Tumor Growth and Metastasis in Mouse Models of Lung Cancer[J]. PLoS ONE, 2009, 4(10): e7524
- [17] Dasgupta P, Chellappan SP. Nicotine-mediated cell proliferation and angiogenesis: new twists to an old story [J]. Cell Cycle, 2006, 5: 2324-2328
- [18] Jonathan M. Beckel, Anthony Kanai, Sun-Ju Lee, et al. Expression of functional nicotinic acetylcholine receptors in rat urinary bladder epithelial cells[J]. Renal Physiol, 2006, 290(1): 103-110
- [19] Hugo R. Arias, Victoria E. Richards, David Ng, et al. Role of non-neuronal nicotinic acetylcholine receptors in angiogenesis[J]. The International Journal of Biochemistry & Cell Biology, 2009, 41(7): 1441-1451
- [20] Christopher Heeschen, James J. Jang, Michael Weis, et al. Nicotine stimulates angiogenesis and promotes tumor growth and atherosclerosis[J]. Nature Medicine, 2001, 7(7): 833-839