

综述

肾小管管周膜Kir4.1及Kir4.1/Kir5.1通道的功能及调控

肖宇, 孟欣欣, 张昊, 郭系文, 谷瑞民*

哈尔滨医科大学药学院, 哈尔滨 150081

摘要: 远端肾小管管周膜内向整流钾通道(inwardly-rectifying potassium channel, Kir)可控制细胞膜静息电位和跨膜电压, 从而参与水和电解质转运的调控。Kir4.1及Kir4.1/Kir5.1异源四聚体高表达于髓祥升支粗段、远曲小管、连接小管和集合管管周膜, 是调控Na⁺重吸收和K⁺分泌的重要转运蛋白。编码Kir4.1的*KCNJ10*功能缺失性突变可导致EAST/SeSAME综合征的发生, 主要表现为: 癫痫、共济失调、神经性耳聋及以盐丢失、低镁血症、低钾血症和代谢性碱中毒为主要表现的水盐代谢紊乱。而靶向敲除*KCNJ16*编码的Kir5.1除了引起低血钾以外, 还表现为严重的高氯性代谢性酸中毒和高钙尿。另外, *KCNJ10*敲除抑制钠氯同向转运体在远曲小管管腔膜的表达及活动, 同时, 可增强连接小管和集合管上皮钠通道的表达。细胞内的pH值、多巴胺、胰岛素和胰岛素样生长因子等因素均可调控Kir4.1和Kir4.1/Kir5.1通道活动, 涉及的机制包括PKC、PI3K、Src家族以及WNK-SPAK等信号转导途径。本综述对近年肾小管管周膜Kir的研究进展加以总结, 重点阐述Kir4.1和Kir4.1/Kir5.1通道功能及其活性调控。

关键词: 肾小管; Kir4.1; Kir4.1/Kir5.1; 钠氯同向转运体**中图分类号:** R334.1; Q491.1

The function and regulation of basolateral Kir4.1 and Kir4.1/Kir5.1 in renal tubules

XIAO Yu, MENG Xin-Xin, ZHANG Hao, GUO Xi-Wen, GU Rui-Min*

Department of Pharmacology, Harbin Medical University, Harbin 150081, China

Abstract: Basolateral inwardly-rectifying K⁺ channels (Kir) play an important role in the control of resting membrane potential and transepithelial voltage, thereby modulating water and electrolyte transport in the distal part of nephron. Kir4.1 and Kir4.1/Kir5.1 heterotetramer are abundantly expressed in the basolateral membrane of late thick ascending limb (TAL), distal convoluted tubule (DCT), connecting tubule (CNT) and cortical collecting duct (CCD). Loss-of-function mutations in *KCNJ10* cause EAST/SeSAME syndrome in humans associated with epilepsy, ataxia, sensorineural deafness and water-electrolyte metabolism imbalance, which is characterized by salt wasting, hypomagnesaemia, hypokalaemia and metabolic alkalosis. In contrast, mice lacking Kir5.1 have severe renal phenotype apart from hypokalaemia such as high chlorine metabolic acidosis and hypercalcinuria. The genetic knockout or functional inhibition of Kir4.1 suppresses Na-Cl cotransporter (NCC) expression and activity in the DCT. However, the downregulation of Kir4.1 increases epithelial Na⁺ channel (ENaC) expression in the collecting duct. Recently, factors regulating expression and activity of Kir4.1 and Kir4.1/Kir5.1 were identified, such as cell acidification, dopamine, insulin and insulin-like growth factor-1. The involved mechanisms include PKC, PI3K, Src family protein tyrosine kinases and WNK-SPAK signal transduction pathways. Here we review the progress of renal tubule basolateral Kir, and mainly discuss the function and regulation of Kir4.1 and Kir4.1/Kir5.1.

Key words: kidney tubule; Kir4.1; Kir4.1/Kir5.1; sodium-chloride cotransporter

机体钾含量及其在细胞膜内外的分布对维持细胞正常功能活动至关重要。肾脏可通过调控K⁺的重吸收和分泌参与钾平衡的维持^[1,2]。K⁺可在肾小球自由滤过, 其中大部分在近端小管(80%)和髓祥

Received 2018-06-05 Accepted 2018-11-19

Research from the corresponding author's laboratory was supported by grants from the National Natural Science Foundation of China (No. 31671196, 31171110).

*Corresponding author. Tel: +86-451-86697507; E-mail: ruiming2916@163.com

(10%)重吸收,只有10%流向远端小管。在近端小管,钾的重吸收主要以被动转运的方式进行,并与NaCl和水的重吸收相协调。在髓袢升支粗段(thick ascending limb, TAL), K^+ 经跨细胞和细胞旁途径被重吸收,其中跨细胞转运由管腔膜侧 $Na^+-K^+-2Cl^-$ 同向转运体($Na^+-K^+-2Cl^-$ cotransporter, NKCC2)介导完成。 K^+ 的分泌起始于远曲小管(distal convoluted tubule, DCT)始段,经连接小管(connecting tubule, CNT),至皮质集合管(cortical collecting duct, CCD)逐渐增加^[3]。Kir4.1作为内向整流钾通道(inwardly-rectifying potassium channel, Kir)家族一员,可参与TAL、DCT、CNT和CCD管周膜钾循环和膜电位的形成。随着以癫痫、共济失调、耳聋和肾小管疾病为主要表现的常染色体隐性遗传病EAST/SeSAME综合征的发现,Kir4.1通道功能的重要性得到广泛关注^[4]。膜片钳和免疫印迹实验证实Kir4.1对DCT管周膜钾电导的形成起决定性作用^[5]。但由于还有其它类型 K^+ 通道存在,Kir4.1在TAL和CNT/CCD膜电位的形成中仅承载部分作用^[6,7]。Kir4.1敲除后可经 Cl^- 依赖性WNK-SPAK信号途径抑制钠氯同向转运体($Na-Cl$ cotransporter, NCC)的表达,相反,可导致CNT/CCD管腔膜上皮钠通道(epithelial Na^+ channel, ENaC)表达增强。NCC表达减少抑制DCT对 Na^+ 的重吸收,并引起体液丢失,导致醛固酮和血管加压素释放增加,从而提高CNT/CCD管腔膜ENaC表达。ENaC表达增加可从一定程度上代偿DCT管腔膜NCC抑制导致的盐丢失^[7]。现结合本研究室相关研究对近年肾小管管周膜Kir的研究进展加以总结,重点阐述Kir4.1和Kir4.1/Kir5.1通道功能及其活性调控。

1 Kir结构及电生理特性

1949年,Katz首次在骨骼肌细胞上发现内向整流现象,近年来对Kir结构和功能的研究取得了很大进展。内向整流即当膜电位处于反转电位以下时,内向 K^+ 流随膜电位超极化程度加大而增加;当膜电位处于反转电位以上时,外向 K^+ 流随膜电位去极化程度加大而减少。内向整流的生物物理机制为:当膜电位去极化超过 K^+ 平衡电位时,开放的钾通道中心孔被二价阳离子或多胺阻塞,因此阻碍 K^+ 外流^[8]。自1993年Kir1.1被克隆以来,在哺乳动物已发现16个具有内向整流特性的钾通道^[9]。根据通道的功能特点及氨基酸序列,Kir超家族可分

为四个功能群体,共Kir1~Kir7七个亚家族。由不同基因编码的Kir通道亚单位氨基酸序列具有高度同源性,而且表达为相同的蛋白结构,即含有M1、M2两个跨膜结构域;一个细胞外P环,P环上的TIGYG序列为 K^+ 选择器;N-末端与C-末端位于胞浆面。四个亚单位可构成单孔同源(相同亚单位)或异源四聚体(不同亚单位),两个跨膜区段穿越细胞膜脂质双分子层构成通道的中心孔;N-和C-末端包含细胞内调控因子的结合序列,如磷脂(PIP2)、核苷酸(ATP/ADP)、镁、pH和蛋白激酶等。细胞内pH值下降抑制通道活动,反之通道活动增强;细胞内ATP和 Ca^{2+} 对通道活动无影响,而 Mg^{2+} 则能够不可逆性地抑制通道活动^[10]。此外,Kir家族可被 Cs^+ 和 Ba^{2+} 等直径较大的阳离子阻断。Kir家族广泛分布于心肌、神经、血液、内皮和上皮等组织,其主要生理功能是维持细胞膜静息电位于 K^+ 平衡电位水平及介导 K^+ 的跨膜转运。Kir4.1首次克隆于鼠脑cDNA文库,与肾髓外钾离子通道(renal outer medullary potassium channel, ROMK)具53%的氨基酸同源性。Kir4.1由基因KCNJ10编码,表达于脑、脊髓、眼、内耳、胃肠道和肾脏等器官^[11]。在脑内,Kir4.1主要表达于神经胶质细胞尤其是星形胶质细胞,参与神经元细胞膜静息电位的维持^[12]。在内耳,Kir4.1主要表达于耳蜗外侧壁、螺旋神经节和Corti器,对耳蜗内电位的形成和维持内淋巴液中的高 K^+ 水平具有重要意义^[13]。在眼部,Kir4.1主要表达于视网膜Müller胶质细胞和角膜上皮细胞,可调节细胞外 K^+ 水平和角膜上皮细胞的愈合过程^[14]。Kir4.1在肾脏参与电解质的跨上皮转运和钾平衡的维持,主要表达于TAL后段,DCT,CNT和CCD始段管周膜侧,而在上述部位管腔膜、肾小球和近曲小管未见表达^[5,6]。另一相关通道Kir5.1可与Kir4.1协同表达。当通道亚单位单独表达于异源表达体系时,Kir4.1可构成功能性同源四聚体通道,电导大约为20 pS,在pH值较低的情况下(<6)易被细胞内质子所阻断。然而Kir5.1同源四聚体不能形成功能性钾电导,但在共转染的HEK-293细胞中,Kir5.1与脑锚定蛋白PSD-95形成复合体时可表现为功能性钾通道^[15]。更为重要的是,Kir4.1可作为核心部分与Kir5.1构成异源四聚体Kir4.1/Kir5.1,Kir4.1/Kir5.1与Kir4.1相比具有独特的生物学特性,其电导较大(约为40 pS),对生理范围内的pH值波动更加敏感(7.35~7.45)。本实验室与

其他学者的研究均提示 Kir4.1/Kir5.1 异源四聚体是 DCT 和 CCD 上的主要功能性钾通道。

2 TAL

TAL 可重吸收 20%~25% NaCl、K⁺ 及一定量的 Ca²⁺ 和 Mg²⁺，而且在尿浓缩过程中发挥重要作用。TAL 对 Na⁺ 的重吸收包括两个连续的过程：Na⁺ 首先经管腔膜侧的 NKCC2 进入细胞，再由管周膜侧的 Na⁺-K⁺-ATPase 转运出细胞，进入组织间液。在大鼠、CD1 小鼠以及 C57/BL6J 小鼠 TAL 管周膜均检测到 Kir4.1 表达。免疫印迹检测证实，Kir4.1 在 TAL 呈不均一表达，主要集中于 TAL 后半段。膜片钳实验验证在 TAL 管周膜存在两种钾通道：一种是电导为 40 pS 的内向整流钾通道，另一种是 Na⁺ 激活的 80~150 pS 钾通道^[13]。TAL 管周膜 Kir4.1/Kir5.1 通道参与细胞膜电位的形成，并为 Cl⁻ 经管周侧 Cl⁻ 通道 (chloride channel-K2, CLC-K2) 出细胞提供驱动力。抑制管周膜钾通道可引起细胞膜去极化，从而减少 Cl⁻ 外流。Cl⁻ 外流减少使细胞内 Cl⁻ 浓度升高，因此抑制 Cl⁻ 敏感的无赖氨酸激酶 (with-no-lysine kinase, WNK)。研究证实，WNK 可激活 STE20/SPS1 相关脯氨酸/丙氨酸丰富激酶 (STE20/SPS1-related proline/alanine-rich kinase, SPAK) 和 OSR (oxidative-stress-responsive kinase)，这两种激酶可通过磷酸化激活 NKCC2^[16]。所以，管周膜 Kir4.1/Kir5.1 活性的抑制可能通过影响 WNK-SPAK/OSR 信号途径，抑制 TAL 管腔膜侧 NKCC2 活动。但 Zhang 等研究结果显示，*KCNJ10* 敲除对 TAL 管周膜电位和 NKCC2 的表达均无明显影响^[6]。而且，尽管 Kir4.1 也表达于人类 TAL，但人类 Kir4.1 功能缺失性突变并不表现为 Bartter's 综合征的症状，说明 Kir4.1 功能受损对 TAL 的离子转运功能基本不产生影响。本课题组利用出生 9 天的 *KCNJ10*^{-/-} 鼠进行的研究证实，Kir4.1 敲除可导致 80~150 pS 钾通道表达上调，从而补偿 Kir4.1 功能。80~150 pS 钾通道表达上调可能是由 Kir4.1 敲除后引起的高水平血管加压素释放所导致的^[17]。然而，这一推论还需利用成年 *KCNJ10* 敲除鼠进行深入研究加以证实。

3 DCT

DCT 可重吸收 5%~10% NaCl，是醛固酮和噻嗪类利尿剂作用的重要部位。按照其解剖及功能学

特点可分为 DCT1 和 DCT2 两部分，其中靠近 TAL 的为 DCT1，而与 CNT 相连的为 DCT2。

在 DCT1，NCC 高表达于管腔膜侧，与管周膜的 Na⁺-K⁺-ATPase 相协同，完成 NaCl 的重吸收。其过程为：Na⁺ 和 Cl⁻ 经管腔膜 NCC 作用进入细胞，之后 Na⁺ 由管周膜 Na⁺-K⁺-ATPase 泵出细胞，而 Cl⁻ 则顺浓度梯度经管周膜 Cl⁻ 通道或 K-Cl 同向转运体进入组织间液。除 Kir4.1 外还有多种钾通道，如 Kir1.1 (ROMK)、Kir5.1、Kir7.1 和 Kir2.3 表达于 DCT。免疫组化研究证实 Kir4.1 与 NCC 协同表达于 DCT1 管周膜，同时利用膜片钳实验在 DCT1 管周膜记录到 40 pS 内向整流钾通道，但 *KCNJ10*^{-/-} 和 *KCNJ16*^{-/-} 鼠 40 pS 钾通道完全消失，说明该通道为 Kir4.1 和 Kir5.1 组成的异源四聚体^[5]。pH 下降可抑制 Kir4.1/Kir5.1 通道活动，而且 Kir5.1 可能调控了 Kir4.1 对 pH 的敏感性，因为有研究显示 *KCNJ16*^{-/-} 鼠 Kir4.1 对 pH 变化敏感性下降^[18]。另外，钙感受体 (calcium-sensing receptor, CaSR) 与 Kir4.1 协同表达于 DCT，而且 CaSR 的表达可减少 HEK293 细胞表面 Kir4.1 表达，提示 CaSR 可能参与了对 DCT 管周膜 40 pS 钾通道的调控^[19]。还有研究显示，Src 家族酪氨酸蛋白激酶可参与 DCT1 管周膜 K⁺ 通道的调控^[20]。Western blot 证实，Kir4.1 为酪氨酸磷酸化蛋白，液相色谱和质谱分析明确酪氨酸蛋白激酶可使 Kir4.1 蛋白 N-末端第 8 和第 9 位氨基酸残基磷酸化。进一步深入研究显示，c-Src 引起的 Kir4.1 通道激活需要 caveolin-1 的协同表达。Caveolin-1 高表达于 DCT、CNT 和 CCD，caveolin-1 敲除可抑制 DCT Kir4.1/5.1 活动，并使膜电位发生去极化变化，其机制可能是抑制 c-Src 对 Kir4.1 的激活作用^[21]。Wang 等最新研究报道^[22]，PGF2 α 对 DCT 管周膜 40 pS 钾通道活动具有双向调节作用：低浓度 (< 500 nmol/L) PGF2 α 经 NADPH 和 Src 信号转导通路介导可激活 40 pS 钾通道活动，而高浓度 (> 1 μ mol/L) PGF2 α 则经 PKC 通路介导产生抑制作用。本课题组正在进行的研究也提示，缓激肽、肾上腺素和去甲肾上腺素均参与了对 DCT1 管周膜 Kir4.1/5.1 活性的调控，其中缓激肽表现为抑制作用^[23]，而肾上腺素和去甲肾上腺素则表现为激活作用 (待发表)。

研究证实，DCT1 管周膜 Kir4.1 可影响管腔膜 NCC 的表达，而 NCC 在调控肾脏 K⁺ 分泌和钾平衡中发挥重要作用。饮食钾摄入增加可抑制 NCC

活动,使 Na^+ 的重吸收减少,因此流向DCT2和CNT的 Na^+ 增多;相反,低钾饮食可增强NCC的表达和活动,使流向远端小管的 Na^+ 减少,并导致 K^+ 分泌抑制。因此,NCC可控制DCT2、CNT和CCD小管液中 Na^+ 含量,从而调控醛固酮敏感的远端肾小管对 K^+ 的分泌。有研究显示,NCC活动受WNK-SPAK/OSR信号转导途径的调控,通过爪蟾卵母细胞研究证实,WNK4对NCC活性的调控受细胞内 Cl^- 浓度的影响,当细胞内 Cl^- 浓度升高时,WNK4磷酸化水平降低或表达减少,进而使NCC活性受抑制^[24,25]。WNK1和WNK4获得性功能突变可增强DCT管腔膜NCC的活动,并因此导致家族高血钾性高血压的发生。Terker等报道^[26],SPAK诱导的NCC磷酸化受血浆钾浓度的调控,高钾可抑制NCC磷酸化,而低钾则使NCC磷酸化增强。而且,SPAK诱导的磷酸化不仅能激活NCC活动,还可通过抑制降解而增加其表达。最近,Cuevas及其团队利用*KCNJ10*^{-/-}鼠就NCC如何感受饮食钾的变化进行了探讨,研究结果显示成年鼠*KCNJ10*敲除后DCT不能感受血钾下降或激活NCC,因此出现严重的钾丢失和低钾血症。研究者试图通过给予实验动物低钾饮食而激活NCC,不仅未收到效果,还导致血钾更进一步降低。该研究结果提示,血浆 K^+ 可能是DCT1离子转运的主要调节因素,可将管腔膜与管周膜离子转运耦联起来,而Kir4.1作为“感受器”介导了DCT上皮细胞对 K^+ 的感受^[27]。之前研究显示Kir4.1敲除或被阻断能够减少NCC的表达也为上述观点提供了有力证据^[5]。管周膜钾电导下降使细胞膜发生去极化, Cl^- 外流减少,细胞内高浓度 Cl^- 抑制WNK活化,进一步导致SPAK磷酸化受到抑制,从而减少NCC的表达^[25]。Terker等也证实了Kir4.1在NCC活性调控中的重要作用,该研究团队还发现:在表达功能缺失性突变*KCNJ10*的DCT细胞上,细胞膜电位引起的胞内 Cl^- 浓度改变导致了NCC活动的抑制,而且是经 Cl^- 敏感的WNK途径实现的^[25]。还有学者研究显示^[28],血钾升高至5.5 mmol/L可使NCC磷酸化降低50%,尽管SPAK的磷酸化也降低了35%,但并不具有统计学意义,说明NCC磷酸化的抑制并不一定伴随SPAK磷酸化减少。另一项研究也阐述了低钾与WNK-SPAK信号途径激活以及NCC磷酸化增强之间的级联关系,但未证实细胞 Cl^- 电导降低与NCC脱磷酸化之间的关系。研

究者认为除激酶外,蛋白磷酸酶(protein phosphatases,PP)也能调控NCC的磷酸化,因为有证据显示细胞外持续高钾时,NCC磷酸化的降低伴随着PP1、PP2A和PP3的抑制^[29]。所以,现在认为血浆钾对NCC的调控既有 Cl^- -依赖途径还有非 Cl^- -依赖途径,包括WNK-SPAK及未明确的信号机制。

DCT2与DCT1的离子转运机制不同,因其既表达DCT1的Kir4.1/5.1、NCC,同时还表达分布于CNT/CCD主细胞的ENaC、ROMK、盐皮质激素受体及II型11-类固醇脱氢酶^[30,31]。II型11-类固醇脱氢酶可降解糖皮质激素,从而保证醛固酮对盐皮质激素受体作用的特异性。值得关注的是,NCC与ENaC共同表达于DCT2管腔膜。所以, Na^+ 在DCT2管腔膜侧除NCC外还可经ENaC转运作用进入上皮细胞。前已述及,高血钾可抑制DCT1管腔膜NCC活动,从而增加CNT/CCD盐和水的流量,并增强CNT/CCD部位ENaC对 Na^+ 的重吸收。有学者对NCC如何抑制定位于同一细胞的ENaC进行了研究,利用非变性凝胶证实在小鼠肾脏管腔膜NCC定位于700 kDa多聚体^[32]。Hoover实验室近期利用同样的技术证实,在培养的DCT细胞系ENaC也定位于700 kDa多聚体,并通过免疫共沉淀、电子显微镜和荧光能量共振转移技术确认NCC-ENaC关联的存在。该研究还证实噻嗪类利尿剂对NCC活动的抑制使ENaC通道开放概率下降50%^[33]。还需要相关研究进一步明确,NCC-ENaC关联和噻嗪类药物抑制对ENaC的调控是否存在间接机制及其对维持DCT2细胞活动的生理意义。

4 CNT/CCD

DCT下游为CNT及CCD,后者主要由主细胞(70%)和闰细胞构成(30%),而且CNT与CCD主细胞离子转运特征基本相同,可根据机体水、盐代谢情况调节 Na^+ 的重吸收及 K^+ 的分泌。CNT/CCD的离子转运基本过程为:管周膜 Na^+ - K^+ -ATPase将 Na^+ 泵出细胞,导致细胞内低 Na^+ ,为 Na^+ 经管腔膜ENaC进入细胞提供驱动力。而管周膜Kir4.1/Kir5.1通道形成的钾循环是维持 Na^+ - K^+ -ATPase活性和 Na^+ 转运不可或缺的因素。小管液中 Na^+ 进入细胞,造成管腔侧负电位,驱动 K^+ 经管腔膜ROMK和BK通道分泌入小管腔^[34]。免疫印迹和电生理实验表明,在CNT和CCD管周膜均有Kir4.1和Kir5.1

表达, 但未见 NCC 及 SPAK 激酶的表达。Lachheb 等进一步证实, Kir4.1 和 Kir5.1 与 AQP2 协同表达于 CCD 主细胞, 闰细胞几乎没有表达, 而且 Kir4.1/Kir5.1 构成主细胞管周膜主要功能性钾通道^[35]。研究显示, 一氧化氮 (nitric oxide, NO) 参与了对 CCD 管周膜钾通道的调控, 抑制一氧化氮合酶 (nitric oxide synthase, NOS) 可减弱钾通道活动。此外, cGMP 类似物可激活钾通道活动, 而且 cGMP 还能够纠正 NOS 抑制剂对通道活动的抑制作用^[36]。近期研究表明, 多巴胺经 D2 受体介导, 激活 PKC 信号转导通路能够可逆性地抑制 Kir4.1 和 Kir4.1/Kir5.1 通道开放概率, 而且利用电流钳记录模式还观察到多巴胺可导致管周膜电位快速去极化^[37]。该研究小组还证实胰岛素和高浓度胰岛样生长因子-1 (insulin-like growth factor-1, IGF-1) 经 PI3K 通路介导, 可激活 Kir4.1/Kir5.1 单通道活动, 同时使主细胞管周膜全

细胞 K⁺ 电流增大^[38]。重要的是, 这一过程可控制 CCD 主细胞管周膜电压。因此, 胰岛素和 IGF-1 通过激活 Kir4.1/Kir5.1 可增大 Na⁺ 重吸收的电化学驱动力, 并进一步易化 ENaC 介导的 Na⁺ 重吸收以及 CCD 对 Cl⁻ 和 K⁺ 的转运。该研究结果还显示, 细胞外应用 Ba²⁺, 同时利用 Cs⁺ 置换细胞内的 K⁺ 或给予 Kir4.1/Kir5.1 阻断剂去甲替林可使全细胞 K⁺ 电流大幅下降, 所以研究者认为 Kir4.1/Kir5.1 钾电导是构成 CCD 主细胞全细胞电流的主要成分^[38]。但 Su 等报道^[7], Kir4.1 敲除仅使 CNT/CCD 管周膜发生轻度去极化, 提示 Kir4.1 在管周膜电位形成过程中只起到部分作用, 而 CNT/CCD 管周膜可能存在其他类型钾通道。之前有研究确认在野生型小鼠 CNT 及 CCD 始段管周膜上确实存在 23 pS、40 pS 和 60 pS 三种 K⁺ 通道。在 *KCNJ10*^{-/-} 鼠只表现出 40 pS 钾通道缺失, 提示 23 pS 和 60 pS 钾通道与

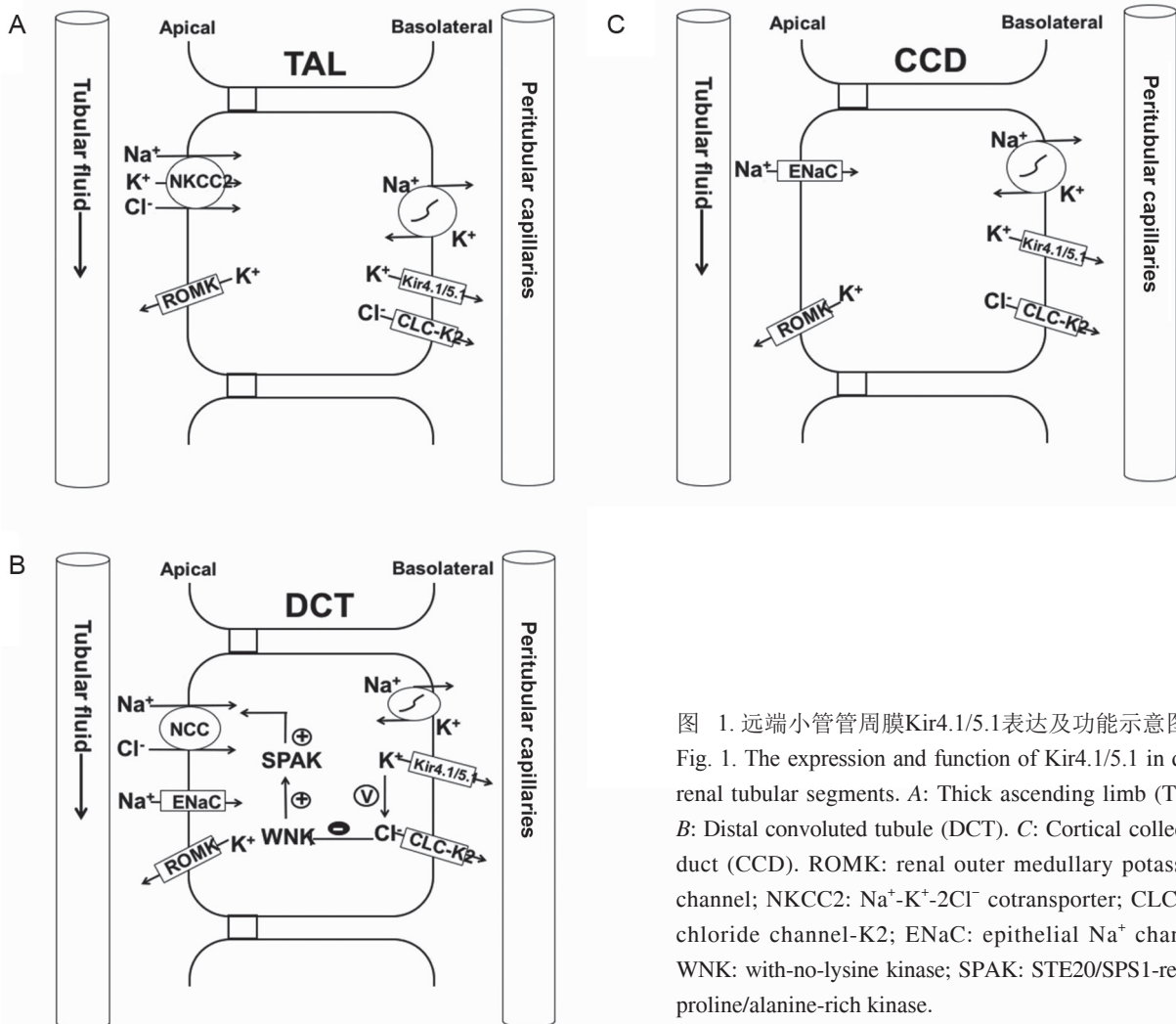


图 1. 远端小管管周膜Kir4.1/5.1表达及功能示意图
 Fig. 1. The expression and function of Kir4.1/5.1 in distal renal tubular segments. A: Thick ascending limb (TAL). B: Distal convoluted tubule (DCT). C: Cortical collecting duct (CCD). ROMK: renal outer medullary potassium channel; NKCC2: Na⁺-K⁺-2Cl⁻ cotransporter; CLC-K2: chloride channel-K2; ENaC: epithelial Na⁺ channel; WNK: with-no-lysine kinase; SPAK: STE20/SPS1-related proline/alanine-rich kinase.

Kir4.1 是不相关的, 因此, 可维持 Na^+ 经管腔膜进入细胞的电位梯度。免疫印迹实验证实 Kir4.1 敲除可使 ENaC- β 、 γ 亚单位及裂解的 ENaC- α 单位表达增加; 同时结果还显示 AQP2 表达也增加, 提示 *KCNJ10* 敲除鼠的血管加压素水平提高^[38]。ENaC 表达的上调在一定程度上可解释: 尽管 DCT 对 Na^+ 重吸收减少, 但 EAST/SeSAME 综合征患者仅表现出轻度的盐丢失。研究者推测, ENaC 表达增加可能是 *KCNJ10* 敲除抑制 DCT 管腔膜 NCC 表达的代偿行为。DCT 管腔膜 NCC 活动的抑制可导致血容量丢失, 刺激醛固酮和血管加压素的释放增加, 从而增加 ENaC 的表达。但这部分实验是在出生 9 天的 *KCNJ10*^{-/-} 鼠进行的, 还需要利用成年 Kir4.1 敲除鼠进一步验证。

本文总结了关于 TAL、DCT 和 CNT/CCD 上皮钾通道的研究进展情况 (图 1)。可以明确的是, 上皮钾通道在肾脏电解质平衡的调控中发挥着重要作用。DCT 管周膜 Kir4.1/Kir5.1 通道作为血钾的感受器, 可以感受血钾变化, 并将该信息传递至管腔膜, 引起 NCC 表达及活性改变, 从而对 Na^+ 的重吸收及 K^+ 的分泌起到调控作用。高血钾可调控膜电位而影响细胞内 Cl^- 浓度, 通过 WNK-SPAK/OSR 信号通路介导, 抑制 NCC 的磷酸化, 该过程可能参与了血钾对 DCT 管腔膜 NCC 活动的调控。尽管在上述方面取得了一定的研究成果, 但对管周膜钾通道的功能及调控, 尤其是关于 CNT/CCD 管周膜通道调控的分子机制, 仍需大量分子及动物实验予以证实。

参考文献

- 1 Wang WH. Basolateral Kir4.1 activity in the distal convoluted tubule regulates K secretion by determining NaCl cotransporter activity. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 2016; 25(5): 429–435.
- 2 McDonough AA, Youn JH. Potassium homeostasis: the knowns, the unknowns, and the health benefits. *Physiology (Bethesda)* 2017; 32(2): 100–111.
- 3 Palmer BF. Regulation of potassium homeostasis. *Clin J Am Soc Nephrol* 2015; 10(6): 1050–1060.
- 4 Abdelhadi O, Iancu D, Stanescu H, Kleta R, Bockenhauer D. EAST syndrome: Clinical, pathophysiological, and genetic aspects of mutations in *KCNJ10*. *Rare Dis* 2016; 4(1): e1195043.
- 5 Zhang C, Wang L, Zhang J, Su XT, Lin DH, Scholl UI, Giebisch G, Lifton RP, Wang WH. *KCNJ10* determines the expression of the apical Na-Cl cotransporter (NCC) in the early distal convoluted tubule (DCT1). *Proc Natl Acad Sci U S A* 2014; 111(32): 11864–11869.
- 6 Zhang C, Wang L, Su XT, Lin DH, Wang WH. *KCNJ10* (Kir4.1) is expressed in the basolateral membrane of the cortical thick ascending limb. *Am J Physiol Renal Physiol* 2015; 308(11): F1288–F1296.
- 7 Su XT, Zhang C, Wang L, Gu R, Lin DH, Wang WH. The disruption of *KCNJ10* (Kir4.1) stimulates the expression of ENaC in the collecting duct. *Am J Physiol Renal Physiol* 2016; 310(10): F985–F993.
- 8 Lu Z. Mechanism of rectification in inward-rectifier K^+ channels. *Annu Rev Physiol* 2004; 66: 103–129.
- 9 Hibino H, Inanobe A, Furutani K, Murakami S, Findlay I, Kurachi Y. Inwardly rectifying potassium channels: their structure, function, and physiological roles. *Physiol Rev* 2010; 90(1): 291–366.
- 10 Cheng CJ, Sung CC, Huang CL, Lin SH. Inward-rectifying potassium channelopathies: new insights into disorders of sodium and potassium homeostasis. *Pediatr Nephrol* 2015; 30(3): 373–383.
- 11 Su XT, Wang WH. The expression, regulation and function of Kir4.1 (*Kcnj10*) in the mammalian kidney. *Am J Physiol Renal Physiol* 2016; 311(1): F12–F15.
- 12 Brasko C, Hawkins V, De La Rocha IC, Butt AM. Expression of Kir4.1 and Kir5.1 inwardly rectifying potassium channels in oligodendrocytes, the myelinating cells of the CNS. *Brain Struct Funct* 2017; 222(1): 41–59.
- 13 Chen J, Zhao HB. The role of an inwardly rectifying K^+ channel (Kir4.1) in the inner ear and hearing loss. *Neuroscience* 2014; 265: 137–146.
- 14 Zhang C, Su X, Bellner L. Caveolin-1 regulates corneal wound healing by modulating Kir4.1 activity. *Am J Physiol Cell Physiol* 2016; 310(11): C993–C1000.
- 15 Tanemoto M, Fujita A, Higashi K, Kurachi Y. PSD-95 mediates formation of a functional homomeric Kir5.1 channel in the brain. *Neuron* 2002; 34(3): 387–397.
- 16 Richardson C, Sakamoto K, de los Heros P, Deak M, Campbell DG, Prescott AR, Alessi DR. Regulation of the NKCC2 ion cotransporter by SPAK-OSR1-dependent and -independent pathways. *J Cell Sci* 2011; 124(Pt 5): 789–800.
- 17 Fan L, Wang X, Zhang D, Duan X, Zhao C, Zu M, Meng X, Zhang C, Su XT, Wang MX, Wang WH, Gu R. Vasopressin-induced stimulation of the Na^+ -activated K^+ channels is responsible for maintaining the basolateral K^+ conductance of the thick ascending limb (TAL) in EAST/SeSAME syndrome. *Biochim Biophys Acta* 2015; 1852(11): 2554–2562.
- 18 Tanemoto M, Kittaka N, Inanobe A, Kurachi Y. *In vivo* formation of a proton-sensitive K^+ channel by heteromeric

- subunit assembly of Kir5.1 with Kir4.1. *J Physiol* 2000; 525 Pt 3: 587–592.
- 19 Cha SK, Huang C, Ding Y, Qi X, Huang CL, Miller RT. Calcium-sensing receptor decreases cell surface expression of the inwardly rectifying K⁺ channel Kir4.1. *J Biol Chem* 2011; 286(3): 1828–1835.
- 20 Zhang C, Wang L, Thomas S, Wang K, Lin DH, Rinehart J, Wang WH. Src-family protein tyrosine kinase regulates the basolateral K channel in the distal convoluted tubule (DCT) by phosphorylation of KCNJ10. *J Biol Chem* 2013; 288(36): 26135–26146.
- 21 Wang L, Zhang C, Su X, Lin DH, Wang W. Caveolin-1 deficiency inhibits the basolateral K⁺ channels in the distal convoluted tubule and impairs renal K⁺ and Mg²⁺ transport. *J Am Soc Nephrol* 2015; 26(11): 2678–2690.
- 22 Wang L, Zhang C, Su XT, Lin DH, Wu P, Schwartzman ML, Wang WH. PGF2 α regulates the basolateral K channels in the distal convoluted tubule (DCT). *Am J Physiol Renal Physiol* 2017; 313(2): F254–F261.
- 23 Zhang DD, Gao ZX, Vio CP, Xiao Y, Wu P, Zhang H, Guo XW, Meng XX, Gu L, Wang JL, Duan XP, Lin DH, Wang WH, Gu R. Bradykinin stimulates renal Na⁺ and K⁺ excretion by inhibiting the K⁺ channel (Kir4.1) in the distal convoluted tubule. *Hypertension* 2018; 72(2): 361–369.
- 24 Glover M, O'Shaughnessy KM. Molecular insights from dysregulation of the thiazide-sensitive WNK/SPAK/NCC pathway in the kidney: Gordon syndrome and thiazide-induced hyponatraemia. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 2013; 40(12): 876–884.
- 25 Bazúa-Valenti S, Chávez-Canales M, Rojas-Vega L, González-Rodríguez X, Vázquez N, Rodríguez-Gama A, Argaiz ER, Melo Z, Plata C, Ellison DH, García-Valdés J, Hadchouel J, Gamba G. The effect of WNK4 on the Na⁺-Cl⁻ cotransporter is modulated by intracellular chloride. *J Am Soc Nephrol* 2015; 26(8): 1781–1786.
- 26 Terker AS, Zhang C, Erspamer KJ, Gamba G, Yang CL, Ellison DH. Unique chloride-sensing properties of WNK4 permit the distal nephron to modulate potassium homeostasis. *Kidney Int* 2016; 89(1): 127–134.
- 27 Cuevas CA, Su XT, Wang MX, Terker AS, Lin DH, McCormick JA, Yang CL, Ellison DH, Wang WH. Potassium sensing by renal distal tubules requires Kir4.1. *J Am Soc Nephrol* 2017; 28(6): 1814–1825.
- 28 Penton D, Czogalla J, Wengi A, Himmerkus N, Löffing-Cueni D, Carrel M, Rajaram RD, Staub O, Bleich M, Schweda F, Löffing J. Extracellular K⁺ rapidly controls NCC phosphorylation in native DCT by Cl⁻-dependent and independent mechanisms. *J Physiol* 2016; 594(21): 6319–6331.
- 29 Picard N, Trompf K, Yang CL, Miller RL, Carrel M, Löffing-Cueni D, Fenton RA, Ellison DH, Löffing J. Protein phosphatase 1 inhibitor-1 deficiency reduces phosphorylation of renal NaCl cotransporter and causes arterial hypotension. *J Am Soc Nephrol* 2014; 25(3): 511–522.
- 30 Zhang C, Wang L, Su XT, Zhang J, Lin DH, Wang WH. ENaC and ROMK activity are inhibited in the DCT2/CNT of TgWnk4 (PHAII) mice. *Am J Physiol Renal Physiol* 2017; 312(4): F682–F688.
- 31 Funder JW. Apparent mineralocorticoid excess. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2016; 165(Pt A): 151–153.
- 32 Lee DH, Maunsbach AB, Riquier-Brison AD, Nguyen MT, Fenton RA, Bachmann S, Yu AS, McDonough AA. Effects of ACE inhibition and ANG II stimulation on renal Na-Cl cotransporter distribution, phosphorylation, and membrane complex properties. *Am J Physiol Cell Physiol* 2013; 304(2): C147–C163.
- 33 Mistry AC, Wynne BM, Yu L, Tomilin V, Yue Q, Zhou Y, Al-Khalili O, Mallick R, Cai H, Alli AA, KoB, Mattheyses A, Bao HF, Pochynyuk O, Theilig F, Eaton DC, Hoover RS. The sodium chloride cotransporter (NCC) and epithelial sodium channel (ENaC) associate. *Biochem J* 2016; 473(19): 3237–3252.
- 34 Palygin O, Pochynyuk O, Staruschenko A. Role and mechanisms of regulation of the basolateral Kir4.1/Kir5.1 K⁺ channels in the distal tubules. *Acta Physiol (Oxf)* 2016; 219(1): 260–273.
- 35 Lachheb S, Cluzeaud F, Bens M, Genete M, Hibino H, Lourdel S, Kurachi Y, Vandewalle A, Teulon J, Paulais M. Kir4.1/Kir5.1 channel forms the major K⁺ channel in the basolateral membrane of mouse renal collecting duct principal cells. *Am J Physiol Renal Physiol* 2008; 294(6): F1398–F1407.
- 36 Lu M, Giebisch G, Wang W. Nitric oxide links the apical Na⁺ transport to the basolateral K⁺ conductance in the rat cortical collecting duct. *J Gen Physiol* 1997; 110(6): 717–726.
- 37 Zaika OL, Mamenko M, Palygin O, Boukelmoune N, Staruschenko A, Pochynyuk O. Direct inhibition of basolateral Kir4.1/5.1 and Kir4.1 channels in the cortical collecting duct by dopamine. *Am J Physiol Renal Physiol* 2013; 305(9): F1277–F1287.
- 38 Zaika O, Palygin O, Tomilin V, Mamenko M, Staruschenko A, Pochynyuk O. Insulin and IGF-1 activate Kir4.1/5.1 channels in cortical collecting duct principal cells to control basolateral membrane voltage. *Am J Physiol Renal Physiol* 2016; 310(4): F311–F321.