

肾上腺皮质球状带细胞的电兴奋性与醛固酮分泌:离子通道的作用

张雪峰, 胡长龙*

复旦大学 生命科学学院, 上海 200434

摘要: 醛固酮是肾上腺皮质球状带(ZG)细胞产生的类固醇类激素,对体液电解质平衡和血压稳定起着关键调控作用。醛固酮生成是一个钙离子依赖性的过程,离子通道在这一过程中扮演着关键角色。临床上发现的原发性醛固酮增多症大多与离子通道的突变有关。最近 ZG 细胞独特的 rosette 结构与其电兴奋性的关系引起了更多研究兴趣。阐明 rosette 与 ZG 细胞电兴奋性以及醛固酮分泌之间的关系,有助于更深入地了解调节醛固酮分泌的机制,为原发性醛固酮增多症的发病机制提供新见解。

关键词: 肾上腺皮质球状带细胞;电兴奋性;醛固酮;离子通道;rosette 结构

中图分类号:Q454 文献标志码:A

DOI:10.16352/j.issn.1001-6325.2024.06.0753

Electrical excitability and aldosterone secretion in the zona glomerulosa cells:the role of ion channels

ZHANG Xuefeng, HU Changlong*

School of Life Sciences, Fudan University, Shanghai 200434, China

Abstract: Aldosterone is a kind of steroid hormone produced by the zona glomerulosa (ZG) cells of the adrenal cortex which plays a crucial regulatory role in fluid-electrolyte balance and blood pressure stability. Aldosterone biosynthesis is a calcium-dependent process, and ion channels play a key role in this process. Primary aldosteronism is closely related to mutations in ion channels. Recent studies have highlighted an intriguing relationship between the unique rosette structure of ZG cells and their electrical excitability. Elucidating the connection between rosettes and ZG cell electrical excitability as well as aldosterone secretion leads to a deeper understanding of the mechanisms regulating aldosterone secretion and may provide new insights into the pathogenesis of primary aldosteronism.

Key words: zona glomerulosa cells; electrical excitability; aldosterone; ion channels; rosette structure

肾上腺皮质球状带(zona glomerulosa, ZG)细胞主要位于肾上腺被膜下的玫瑰花状结构(rosette)中,是醛固酮分泌的主要部位。ZG 细胞自发过量产生醛固酮导致的原发性醛固酮增多症(primary aldo-

steronism, PA),是继发性内分泌高血压的最常见形式^[1]。醛固酮合成与分泌是一个 Ca²⁺依赖性的过程,这一过程以胆固醇为原料,由分布于细胞质、线粒体及内质网中的多种氧化酶和羟化酶共同完成。

收稿日期:2024-03-31 修回日期:2024-04-23

基金项目:上海市自然科学基金(23ZR1425900)

*通信作者(corresponding author):clhu@fudan.edu.cn

醛固酮合成的早期限速步骤是:醛固酮的前体胆固醇从线粒体外转运到线粒体内,并由细胞色素P-450侧链裂解酶(CYP11A1)将其转变为孕烯醇酮。 Ca^{2+} 正是在这一节点上发挥关键作用: Ca^{2+} 加速胆固醇从脂滴中释放,提高胆固醇跨线粒体内膜的速率,升高CYP11A1的表达。另外 Ca^{2+} 还刺激醛固酮合成酶CYP11B2的表达。醛固酮持续生成需要细胞外 Ca^{2+} 的内流,然而,ZG细胞的静息膜电位接近于 K^+ 的平衡电位,在这一电位下不利于电压门控的 Ca^{2+} 通道的打开,以及 Ca^{2+} 内流。2012年,Hu等在小鼠肾上腺切片中记录到ZG细胞自发的低周期性膜电位振荡,这种ZG细胞固有的电兴奋性会产生反复的 Ca^{2+} 信号;体内促进醛固酮生成的两种主要刺激因子,血管紧张素Ⅱ(angiotensin Ⅱ, Ang Ⅱ)和 K^+ ,正是通过调控膜电位振荡频率来提高 Ca^{2+} 内流,从而促进醛固酮分泌的^[2]。ZG细胞膜电位振荡由多种离子通道调控,随着临床上离子通道突变产生的PA病例的发现越来越多,离子通道对醛固酮分泌的调控受到了广泛的关注。

此外,近几年的研究开始重新关注ZG细胞形成的rosette结构,虽然rosette早就被发现,但其具体的结构细节和功能仍不清楚。最近的研究发现,rosette结构主要是由富含 β -catenin和F-actin的粘附连接介导形成,与醛固酮分泌紧密相关^[3-4]。ZG细胞的rosette结构促进了细胞间的电信号传递,从而影响了整个ZG细胞群的电活动状态^[5]。

本文旨在探讨离子通道对醛固酮合成和分泌的影响,并进一步阐明ZG细胞的rosette结构在这一过程中的作用,深化对ZG细胞生理学和醛固酮调节机制的理解,对肾上腺功能和相关疾病的研究提供新的视角和启示。

1 钾离子通道

根据跨膜区域的拓扑结构, K^+ 通道可以分为三个大类:电压门控 K^+ 通道(K_v),内向整流 K^+ 通道(K_ir)和双孔域 K^+ (K2P)通道。这三类通道在肾上腺ZG细胞中都有表达,并参与调节ZG细胞兴奋性和醛固酮分泌^[2,6]。

1.1 内向整流 K^+ 通道

Kir3.4是由KCNJ5基因编码的 K^+ 通道。KCNJ5突变是导致PA的主要原因之一。该基因突

变的流行率在西方国家为34%~45%,在亚洲国家为55%~75%^[7]。突变改变了Kir3.4的离子选择性,使得 Na^+ 通过通道进入细胞,导致细胞膜去极化,激活了 Ca^{2+} 通道,从而造成醛固酮过量生成^[8]。虽然KCNJ5基因突变导致PA的病例被广泛报道,但直到2021年,John等才首次记录到了ZG细胞中的内向整流电流,该电流具有两个成分,其中时间依赖性电流可以被Ang Ⅱ和促肾上腺皮质激素(ACTH)选择性抑制,经鉴定最有可能是Kir3.4^[9]。

1.2 K2P通道

肾上腺皮质细胞表达丰富的K2P通道,包括TASK以及TREK1通道等。这些通道赋予ZG细胞背景钾电导,对于 K^+ 敏感性以及Ang Ⅱ和ACTH刺激的醛固酮合成非常重要。研究发现,小鼠TASK1和TASK3通道的全身性双敲除,以及ZG细胞特异的TASK1和TASK3双敲除都会导致PA^[10],并且Ang Ⅱ不能调节TASK1和TASK3共敲除小鼠中醛固酮的分泌^[11]。人ZG细胞表达微量的TASK1通道以及丰富的TREK1通道^[9]。KCNK5(TASK2)在人类醛固酮产生腺瘤(aldoosterone-producing adenomas, APA)中的表达量低于正常肾上腺皮质,并且在NCI-H295R细胞中抑制TASK2通道活性会增加CYP11B2和STAR的表达及醛固酮产生^[12]。在全基因组关联研究中,人类TASK1通道的遗传变异与血浆醛固酮水平升高和高血压有关,而TASK3编码基因的各种SNP与血压和醛固酮分泌有关^[13]。

1.3 电压门控 K^+ 通道

基因表达分析表明KCNQ1($\text{K}_v7.1$)、KCN4($\text{K}_v1.4$)以及KCNC4($\text{K}_v3.4$)在人肾上腺皮质中高表达。其中 $\text{K}_v1.4$ 被证明在人ZG细胞中高表达^[9],不过,该通道对醛固酮分泌的影响目前还没有被报道过。KCNE1作为 $\text{K}_v7.1$ 的调控亚基共同组成了ZG细胞慢延时整流通道,在小鼠中敲除KCNE1增加了醛固酮的产生,而肾素水平没有改变,同时小鼠出现低钾血症。因此,很可能在正常钠饮食条件下醛固酮的过度产生是ZG细胞自主产生的^[14]。

1.4 钙激活的 K^+ 通道

小电导钙激活 K^+ 通道(small-conductance calcium-activated potassium channels, SK)对细胞内钙浓度敏

感,仅由胞内钙水平升高门控。在 NCI-H295R 细胞和人肾上腺切片中,阻断 SK 通道会增加 T 型 Ca^{2+} 通道的开放概率,促进钙离子内流,STAR 和 CYP11B2 的 mRNA 表达水平升高,从而促进醛固酮的分泌^[15]。此外,SK 通道主要参与 Ang II 刺激而不是 K^+ 刺激的醛固酮产生^[15]。

大电导钙激活 K^+ 通道 (large-conductance calcium-activated potassium channels, BK), 是一种高度钙依赖性的 K^+ 通道。当细胞内 Ca^{2+} 浓度升高时, BK 通道迅速开放,促进细胞的 K^+ 外流,导致细胞膜超极化。这种超极化状态会抑制细胞膜上其他离子通道的开放,降低细胞的兴奋性,从而减少醛固酮的分泌^[16]。BK 通道包含一个成孔区域的 α 亚基以及四个不同 β 亚基 ($\beta 1$ - $\beta 4$) 中的一个^[16]。在小鼠中敲除 BK 通道的 α 亚基会增加血清醛固酮而不影响肾素或血清 K^+ 水平。 $\beta 1$ 亚基敲除小鼠会产生醛固酮增多症^[16]。 $\beta 2$ 亚基敲除小鼠出现 PA,但血浆 K^+ 浓度正常^[17]。 $\beta 4$ 亚基敲除小鼠在正常饮食时没有异常表型,但在高 K^+ 饮食时出现高钾血症^[18]。这些研究结果提示 BK 通道参与对血管舒张、肾脏功能以及对醛固酮分泌的调节。

ZG 细胞表达的各类型的 K^+ 通道对醛固酮的分泌具有类似的作用机制,即通过调节细胞膜的电位、细胞内钙离子浓度和细胞的兴奋性等途径,直接或间接影响着醛固酮的合成和分泌。对 K^+ 通道在醛固酮分泌调节中的具体作用机制的研究,有助于更深入地理解相关疾病的发病机制,为相关疾病的治疗提供新的靶点和治疗策略。

2 钙离子通道

Ca^{2+} 通道在 ZG 细胞中对醛固酮的合成和分泌起着至关重要的调节作用。 Ca^{2+} 通道通过调节细胞内 Ca^{2+} 浓度和线粒体功能,直接参与调控醛固酮的合成和分泌过程,从而调节体液电解质平衡和血压。ZG 细胞中的电压门控 Ca^{2+} 通道表达因物种而异。早期研究确定了 ZG 细胞中 Ca^{2+} 电流的两个组成部分,分别属于高电压激活 (L 型) 和低电压激活 (T 型) Ca^{2+} 通道类别。这些发现为理解 ZG 细胞中钙信号传导的分子机制提供了重要线索。

2.1 T 型 Ca^{2+} 通道

T 型 Ca^{2+} 通道通过质膜的轻微去极化而激活,

具有快速电压依赖性激活、失活和微小的单通道电导等特性。这使得 T 型 Ca^{2+} 通道比 L 型 Ca^{2+} 通道可以更灵敏的检测到低生理浓度的 Ang II 或胞外 K^+ 的微小变化刺激^[19]。因此,在同时表达 T 型和 L 型 Ca^{2+} 通道的物种中,主要由 T 型 Ca^{2+} 通道调控醛固酮的产生^[20]。大多数物种 (牛、大鼠、小鼠) 的 ZG 细胞主要表达编码 $\text{Ca}_v 3.2$ 通道的 *CACNA1H* 基因,人肾上腺皮质表达所有三个 T 型 Ca^{2+} 通道的 mRNA,但是仅仅检测到 $\text{Ca}_v 3.2$ 和 $\text{Ca}_v 3.3$ 通道蛋白的表达^[21]。 $\text{Ca}_v 3.2$ 通道突变导致通道在更超极化的电位下激活,并且失活速度减慢,因此增加 Ca^{2+} 内流,导致醛固酮过量产生^[19]。此外, $\text{Ca}_v 3.2$ 通道是主要的钙进入细胞途径,并且在体外模型中介导了 Ang II 和 K^+ 诱导的醛固酮产生^[20]。因此,T 型 Ca^{2+} 通道,尤其是 $\text{Ca}_v 3.2$ 通道,似乎是在正常生理条件下调控醛固酮分泌的主要机制。

2.2 L 型 Ca^{2+} 通道

L 型 Ca^{2+} 通道是一种在较高电压下激活、失活较慢、去活化较快的 Ca^{2+} 通道,其导电量比 T 型 Ca^{2+} 通道大,当细胞膜被强烈去极化时,L 型 Ca^{2+} 通道通常在 T 型 Ca^{2+} 通道之后被激活^[19, 22]。人 ZG 细胞主要表达 $\text{Ca}_v 1.2$ 和 $\text{Ca}_v 1.3$ 通道^[21]。研究发现,编码 $\text{Ca}_v 1.3$ 的 *CACNA1D* 基因,是人类肾上腺皮质细胞中表达量最高的 Ca^{2+} 通道基因^[23]。有报道称在患有 PA 的患者中,发现了 *CACNA1D* 中多个体细胞和生殖系突变,这些突变导致 L 型 Ca^{2+} 通道的功能增强,改变了其电压依赖性和失活动力学,使 $\text{Ca}_v 1.3$ 通道更像 T 通道,从而增加了醛固酮的分泌^[23]。

综上所述, Ca^{2+} 通道在调节醛固酮分泌中发挥关键作用。尽管早期研究主要强调 T 型 Ca^{2+} 通道的重要性,但由于 ZG 细胞固有电活性的发现,目前认为 L 和 T 型 Ca^{2+} 通道在正常醛固酮分泌中可能协调工作,发挥同等重要的作用^[21]。T 型 Ca^{2+} 通道在 ZG 细胞膜电位微弱去极化时被激活,T 通道的激活会进一步去极化细胞膜,从而打开 L 型 Ca^{2+} 通道,进一步增加 Ca^{2+} 内流。突变导致的 T 型和 L 型 Ca^{2+} 通道功能异常,会增加 Ca^{2+} 进入 ZG 细胞,从而增加醛固酮的分泌。

3 氯离子通道

ClC-2 通道是电压门控的氯离子通道 (chloride

channel, ClC) 家族成员之一。在人类肾上腺皮质中, ClC-2 通道的 mRNA 表达量最高, 蛋白质检测结果也显示该通道蛋白丰富表达且局限于 ZG 层^[24]。在小鼠肾上腺中也能发现 ClC-2 是 ZG 细胞上的主要氯通道^[25]。目前在 PA 患者中发现了多个 CLCN2(编码 ClC-2) 基因突变, 这些突变均导致 ZG 细胞去极化, 增加 Ca^{2+} 内流, 最终引起醛固酮分泌升高^[24]。这些研究表明, ClC-2 通道在调控 ZG 层静息膜电位和醛固酮产生中扮演着关键角色。

4 Rosette 结构

ZG 细胞的 rosette 是指在肾上腺皮质组织中形成的一种独特的细胞排列模式, 其形态呈现出类似玫瑰花结构而得名。rosette 的形成主要涉及 ZG 细胞之间的紧密排列和相互作用。近期的研究发现, 人和鼠的 rosette 结构主要是由粘附连接介导形成, 并且被富含层黏连蛋白亚基 $\beta 1$ ($\text{lamb}1$) 的基底膜包裹^[3-4]。敲除粘附连接蛋白 β -catenin 会减少 rosette 的数量, 降低小鼠醛固酮的分泌^[3]。

在肾上腺的 rosette 结构中, 活跃的 ZG 细胞产生周期性的 Ca^{2+} 振荡, 这种行为在分散的 ZG 细胞中没有观察到^[2]。近期的研究发现这种 Ca^{2+} 振荡是由膜电位的周期性变化产生, Ang II 诱导的 Ca^{2+} 信号与 ZG 膜电位振荡的周期性相吻合, 阻断 T 型 Ca^{2+} 通道 ($\text{Ca}_v3.2$) 不仅停止了膜电位振荡, 也停止了 Ca^{2+} 的振荡^[5], 表明在 ZG 细胞中, 电活性驱动了胞质 Ca^{2+} 的振荡变化。通过功能聚类算法, 发现在 Ang II 刺激后, 单个 ZG 细胞的 Ca^{2+} 振荡事件会聚集

成功能性群组, 显示出同步的 Ca^{2+} 活动。这些功能性群组与 rosette 相关联, 并且在同一 rosette 内观察到固定的相关活动关系^[5]。这些发现支持了 rosette 充当 Ca^{2+} 信号传递和随后醛固酮产生的协调中心的假设, 强调了 rosette 在调节 ZG 细胞的电活性和 Ca^{2+} 信号传递中重要作用, 进一步揭示了 ZG 细胞内部的信号调节机制。

5 总结与展望

本文主要阐述了钾离子通道、氯离子通道、钙离子通道以及 ZG 细胞的 rosette 结构对醛固酮分泌的调控机制。钾离子通道和氯离子通道的作用主要是维持 ZG 细胞的超极化膜电位。钙离子通道主要介导 Ca^{2+} 进入 ZG 细胞的过程, 并直接参与醛固酮的合成。而 ZG 细胞的 rosette 能够促进 ZG 细胞的电活性以及钙信号传递的效率。然而, 不同物种间 ZG 细胞表达的通道类型以及这些通道所发挥的作用存在较大差异。以人的细胞或组织为样本的研究依然较少, 其他样本中获得的实验数据是否在人类细胞中依然有效有待进一步研究。人类 ZG 细胞中 L 型 Ca^{2+} 通道在生理条件下发挥怎样的作用仍不清楚, 对于 T 型和 L 型 Ca^{2+} 通道在醛固酮产生中的协同作用机制以及它们具体亚型的贡献, 仍有待深入探讨。另外, rosette 结构是不是导致 ZG 功能变化的直接原因难以确定。总之, 这些最新的发现提供了一个新的概念框架, 为未来更好地剖析 ZG 形态和功能之间的关系, 探索 PA 发病的机制提供了新的路径。

参考文献:

- [1] Seccia TM, Caroccia B, Gomez-Sanchez EP, *et al.* The biology of normal zona glomerulosa and aldosterone-producing adenoma: pathological implications[J]. *Endocr Rev*, 2018, 39:1029-1056.
- [2] Hu C, Rusin CG, Tan Z, *et al.* Zona glomerulosa cells of the mouse adrenal cortex are intrinsic electrical oscillators [J]. *J Clin Invest*, 2012, 122:2046-2053.
- [3] Leng S, Pignatti E, Khetani RS, *et al.* β -catenin and FGFR2 regulate postnatal rosette-based adrenocortical morphogenesis[J]. *Nat Commun*, 2020, 11:1680. doi: 10.1038/s41467-020-15332-7.
- [4] Zhu Y, Zhang X, Hu C. Structure of rosettes in the zona glomerulosa of human adrenal cortex[J]. *J Anat*, 2023, 243:684-689.
- [5] Guagliardo NA, Klein PM, Gancayco CA, *et al.* Angiotensin II induces coordinated calcium bursts in aldosterone-producing adrenal rosettes[J]. *Nat Commun*, 2020, 11:1679. doi: 10.1038/s41467-020-15408-4.
- [6] Guagliardo NA, Yao J, Hu C, *et al.* TASK-3 channel deletion in mice recapitulates low-renin essential

- hypertension[J]. *Hypertension*, 2012, 59:999-1005.
- [7] Lee BC, Kang VJ, Pan CT, *et al.* KCNJ5 somatic mutation is associated with higher aortic wall thickness and less calcification in patients with aldosterone-producing adenoma[J]. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 2022, 13:830130.doi:10.3389/fendo.2022.830130.
- [8] Chang YY, Lee BC, Chen ZW, *et al.* Cardiovascular and metabolic characters of KCNJ5 somatic mutations in primary aldosteronism[J]. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 2023, 14:1061704.
- [9] Enyeart JJ, Enyeart JA. Human adrenal glomerulosa cells express K2P and GIRK potassium channels that are inhibited by ANG II and ACTH [J]. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2021, 321:C158-C175.
- [10] Guagliardo NA, Yao J, Stipes EJ, *et al.* Adrenal tissue-specific deletion of TASK channels causes aldosterone-driven angiotensin II-independent hypertension[J]. *Hypertension*, 2019, 73:407-414.
- [11] Gancayco CA, Gerding MR, Breault DT, *et al.* Intrinsic adrenal TWIK-related acid-sensitive TASK channel dysfunction produces spontaneous calcium oscillations sufficient to drive Ang II (Angiotensin II)-unresponsive hyperaldosteronism [J]. *Hypertension*, 2022, 79:2552-2564.
- [12] Chen AX, Nishimoto K, Nanba K, *et al.* Potassium channels related to primary aldosteronism: expression similarities and differences between human and rat adrenals[J]. *Mol Cell Endocrinol*, 2015, 417:141-148.
- [13] Manichaikul A, Rich SS, Allison MA, *et al.* KCNK3 variants are associated with hyperaldosteronism and hypertension[J]. *Hypertension*, 2016, 68:356-364.
- [14] Arrighi I, Bloch-Faure M, Grahammer F, *et al.* Altered potassium balance and aldosterone secretion in a mouse model of human congenital long QT syndrome[J]. *PNAS*, 2001, 98:8792-8797.
- [15] Yang T, Zhang H, Liang Q, *et al.* Small-conductance Ca^{2+} -activated potassium channels negatively regulate aldosterone secretion in human adrenocortical cells[J]. *Hypertension*, 2016, 68:785-795.
- [16] Grimm PR, Irsik DL, Settles DC, *et al.* Hypertension of *Kcnmb1^{-/-}* is linked to deficient K secretion and aldosteronism[J]. *PNAS*, 2009, 106:11800-11805.
- [17] Larsen CK, Jensen IS, Sorensen MV, *et al.* Hyperaldosteronism after decreased renal K^+ excretion in *KCNMB2* knockout mice[J]. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2016, 310:F1035-F1046.
- [18] Cornelius RJ, Wen D, Hatcher LI, *et al.* Bicarbonate promotes BK- α/β 4-mediated K excretion in the renal distal nephron [J]. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2012, 303:F1563-F1571.
- [19] Rossier MF. T-type calcium channel: A privileged gate for calcium entry and control of adrenal steroidogenesis[J]. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 2016, 7:43. doi: 10.3389/fendo.2016.00043
- [20] Barrett PQ, Ertel EA, Smith MM, *et al.* Voltage-gated calcium currents have two opposing effects on the secretion of aldosterone[J]. *Am J Physiol*, 1995, 268:C985-C992.
- [21] Yang T, He M, Hu C, *et al.* L- and T-type calcium channels control aldosterone production from human adrenals [J]. *J Endocrinol*, 2020, 244:237-247.
- [22] Perez-Reyes E. Molecular physiology of low-voltage-activated T-type calcium channels[J]. *Physiol Rev*, 2003, 83:117-161.
- [23] Schöll UI, Goh G, Stölting G, *et al.* Somatic and germline *CACNA1D* calcium channel mutations in aldosterone-producing adenomas and primary aldosteronism[J]. *Nature Genetics*, 2013, 45:1050-1054.
- [24] Schöll UI, Stölting G, Schewe J, *et al.* *CLCN2* chloride channel mutations in familial hyperaldosteronism type II [J]. *Nature Genetics*, 2018, 50:349-354.
- [25] Fernandes-Rosa FL, Daniil G, Orozco IJ, *et al.* A gain-of-function mutation in the *CLCN2* chloride channel gene causes primary aldosteronism.[J]. *Nat Genet.*, 2018, 50:355-361.