

综 述

TRPV4通道与脑缺血再灌注损伤的研究进展

丁浩¹, 林叶昕¹, 沈绮雯¹, 潘智¹, 王振超¹, 陈蕾^{2,*}

南京医科大学¹2012年级七年制临床医学系4班; ²生理学系, 南京 210029

摘 要: 香草素受体4型瞬时感受器电位通道(transient receptor potential vanilloid 4 channel, TRPV4通道)是瞬时感受器电位通道家族成员之一。TRPV4通道是一种对钙离子具有选择通透性的阳离子通道, 该通道激活后可以引起胞内钙离子浓度升高, 进而参与调节机体多种生理或病理过程。现已证明, TRPV4通道可能在脑缺血再灌注所致的神经损伤中发挥重要作用。本文对近年来有关TRPV4通道与脑缺血再灌注损伤方面的研究进展予以综述。

关键词: TRPV4通道; 钙离子; 脑缺血再灌注

中图分类号: R743.3

Research progress of TRPV4 and cerebral ischemic reperfusion injury

DING Hao¹, LIN Ye-Xin¹, SHEN Qi-Wen¹, PAN Zhi¹, WANG Zhen-Chao¹, CHEN Lei^{2,*}

¹Class 4 Grade 2012, Seven-year Program of Clinical Medicine; ²Department of Physiology, Nanjing Medical University, Nanjing 210029, China

Abstract: Transient receptor potential vanilloid 4 (TRPV4) channel is a member of transient receptor potential superfamily. TRPV4 is selectively permeable to calcium. Activation of the TRPV4 channel induces an increase in intracellular calcium concentration and plays an important role under physiological and pathological conditions. Especially, there is evidence showing that TRPV4 is involved in cerebral ischemic reperfusion injury. The present paper reviewed some research progress about the role of TRPV4 in cerebral ischemic reperfusion injury.

Key words: transient receptor potential vanilloid 4 channel; calcium; cerebral ischemic reperfusion

1 TRPV4通道与TRP家族

香草素受体4型瞬时感受器电位通道(transient receptor potential vanilloid 4 channel, TRPV4通道)是瞬时感受器电位通道(transient receptor potential channel, TRP通道)家族成员之一^[1]。TRP通道蛋白最早发现于果蝇的视觉系统中, 携带TRP基因突变的果蝇接受持续光照后只能产生短暂的瞬时感受器电位, 与这种现象相关的通道蛋白被命名为TRP蛋白^[1]。目前的研究显示TRP基因编码的蛋

白质组成了数量庞大、种类繁多的TRP通道超家族, 在低等和高等生物中广泛分布^[1-4]。TRP通道是由六个跨膜结构域组成的, 其N端和C端均位于胞内侧, 其中第五和第六结构域之间有一段较长的小袢陷入膜内形成孔道。TRP通道为一类非选择性阳离子通道, 主要对Ca²⁺, Na⁺和Mg²⁺具有通透性。根据通道结构的同源性, TRP通道分为七个亚家族, 即TRPV (Vanilloid)、TRPM (Melastatin)、TRPC (Canonical)、TRPML (Mucolipin)、TRPP (Polycystin)、TRPN (NOMP-C) 和TRPA (Ankyrin), 每一亚家族

Received 2015-06-12 Accepted 2015-07-29

This review was supported by grants from the University Students' Innovative Entrepreneurial Training Project of Jiangsu Province, China (No. 201410312026Z), the National Natural Science Foundation of China (No. 31271206) and Qinglan Project of Jiangsu Province, China (2014–2017).

*Corresponding author. Tel: +86-25-86862878; Fax: +86-25-86862878; E-mail: chenl@njmu.edu.cn

又包括若干成员^[1-4]。

TRPV 亚家族主要包括六个成员, 具体又分为四个亚组: TRPV1/TRPV2、TRPV3、TRPV4、TRPV5/TRPV6^[5]。TRPV4 通道 (又称为 TRPV4 受体, VR-OAC, OTRPC4, TRP12 或 VRL-21.1) 是线虫类 OSM-9 的哺乳类同源物。在哺乳类动物, TRPV4 通道表达于神经、心、肝、肾、肺、脾、睾丸等多种组织。在中枢神经系统中, TRPV4 通道分布于大脑皮层、海马、小脑、下丘脑等部位, 该通道存在于神经元、胶质细胞以及脑血管平滑肌和内皮细胞上^[6]。TRPV4 通道是一种对 Ca^{2+} 具有选择通透性的阳离子通道, 对 Ca^{2+} 和 Na^{+} 的通透比率约为 10:1^[5,6]。研究者最初认为 TRPV4 通道是一种细胞的“渗透压感受器”, 因为在低渗环境中引起的细胞肿胀可以激活该通道, 进而引起胞内钙离子浓度 (intracellular Ca^{2+} concentration, $[\text{Ca}^{2+}]_i$) 升高^[7]。后续的研究发现 TRPV4 通道还可以被温热刺激、pH 值和流体切力的改变、花生四烯酸及其代谢产物以及人工合成的多种激动剂 (如 GSK1016790A、4 α -PDD) 等刺激激活^[8]。鉴于 TRPV4 通道在体内的分布、其“多觉型”激活及对 Ca^{2+} 选择性通透的特点, 该通道在机体多种生理或病理过程中起重要调节作用。例如, 分布在肾小管上皮细胞、汗腺、下丘脑等渗透压敏感性细胞上的 TRPV4 通道能感受周围环境中渗透压的改变, 发挥渗透压感受器的作用; 在心肌、血管内皮细胞上的 TRPV4 通道可以感受血流动力学的改变, 参与血流切力介导的 Ca^{2+} 内流, 调节心肌的兴奋性和血管紧张性; 位于下丘脑温度敏感区神经元上行的 TRPV4 通道能感受生理范围内的温度刺激, 参与调节体核温度; 位于三叉神经节、背根神经节神经元及外周伤害感受器上的 TRPV4 通道对多种伤害性理化刺激敏感, 参与多种 (包括炎性、机械性、神经性) 疼痛的产生过程^[1,5,7,9]。

2 脑缺血再灌注损伤的机制

随着世界人口老龄化速度的加快, 缺血性脑血管病的发病率逐年升高, 现已成为威胁人类生命的最主要疾病之一, 因其发病率、致残率和病死率高, 给个人、家庭和社会带来巨大的精神压力和沉重的经济负担。脑缺血再灌注损伤是一个复杂的病理过程, 包括缺血期的原发性损伤和再灌注期的继发性损伤, 脑组织缺血缺氧是损伤的始动因素, 而再灌注后所造成的损伤主要与 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 超载、谷氨酸 (glu-

tamate, Glu) 兴奋性毒作用、自由基与一氧化氮 (nitric oxide, NO) 的损伤、凋亡、脑水肿等有关^[10]。

脑缺血再灌注过程中, 突触前膜 Glu 释放增加以及 Glu 清除障碍等因素导致其在突触间隙聚积, 进而激活 Glu 受体, 大量的 Ca^{2+} 经 N-甲基-D-天冬氨酸 (N-methyl-D-aspartic acid, NMDA) 受体进入胞内, 引起 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 超载并最终致细胞损伤, 即为 Glu 的兴奋性毒作用^[10,11]。此外, Glu 作用于 α -氨基-3-羟基-5-甲基-4-异恶唑丙酸 (α -amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolepropionic acid, AMPA) 受体和海马藻酸 (kainic acid, KA) 受体, 引起大量 Na^{+} 内流, 进而导致细胞内钠水潴留, 加剧细胞毒性脑水肿。Glu 还可与代谢型 Glu 受体结合, 通过 G 蛋白耦联激活磷脂酶 C, 引起胞内钙库释放, 进一步增加 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 。 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 超载后可以通过激活一些钙依赖的蛋白激酶 (如某些 ATP 水解酶、磷脂酶类、核酸内切酶等) 损坏细胞结构; 也可以引起线粒体功能障碍, 抑制氧化磷酸化过程, 导致 ATP 生成减少, 细胞能量供应下降。脑缺血再灌注时自由基生成增加, 是导致神经元死亡的重要因素。此外, 自由基还能损伤血管内皮细胞, 导致脑水肿。 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 升高后激活一氧化氮合酶, 产生大量 NO, 后者通过多种机制在脑缺血时发挥神经毒作用, 并能与自由基相互转化。凋亡是缺血半影区神经元死亡的主要方式, 缺血再灌注后 24~72 h 凋亡最严重^[12]。Caspase 家族属于半胱氨酸基-天冬氨酸基-特异性蛋白酶, 是细胞凋亡过程中最重要的蛋白酶, 参与了细胞凋亡信号的转导。脑缺血再灌注后 caspase-3 剪切体蛋白表达增加, 给予 caspase-3 的抑制剂可以显著抑制缺血半影区 caspase-3 的激活, 进而抑制细胞凋亡和神经损伤。脑缺血再灌注过程中会出现细胞毒性水肿和血管源性水肿^[13]。前者在急性脑缺血时即刻发生, 主要是由于细胞能量代谢障碍等因素引起的神经元和胶质细胞水肿。随着再灌注的进行, 细胞毒性水肿进行性加重, 同时血脑屏障完整性破坏, 血浆成分外逸, 导致血管源性水肿。脑水肿是脑缺血再灌注损伤中的重要的病理环节, 也是导致和加重神经元损伤的重要因素。

3 TRPV4通道与脑缺血再灌注损伤

3.1 TRPV4通道可能是介导脑缺血再灌注损伤的重要靶标

Glu 的兴奋性毒作用是导致脑缺血再灌注时神

经损伤的重要机制, 尽管在动物实验中阻断 Glu 受体能减小缺血所致脑梗死体积, 但是, 在临床上直接阻断 Glu 受体对治疗脑卒中并未取得理想的疗效^[14], 于是人们逐渐把研究的注意力转向其它非 Glu 依赖的钙离子通道。TRPV 家族成员对 Ca^{2+} 具有较高通透性, 因此, 近年来有关 TRPV 通道与脑缺血再灌注损伤之间的关系引发了研究者的极大兴趣。例如, 在脑缺血再灌注的早期给予 TRPV1 通道激动剂能通过诱导低温反应发挥神经保护作用^[15]。然而, 激活 TRPV1 通道后可增大脑血管以及血脑屏障的通透性^[16], 这在一定程度上限制了 TRPV1 通道激动剂在治疗脑缺血再灌注损伤中的应用。给予 TRPV3 通道特异性激动剂 *incensole acetate* (IA) 能减小脑缺血再灌注模型鼠脑梗死的体积, 改善模型鼠的神经活动^[17]。但是在 TRPV3 基因缺陷小鼠上, IA 仍然能发挥类似的作用, 这提示除了激活 TRPV3 通道外 IA 还可能通过其它机制发挥神经保护作用, 有关 TRPV3 通道与脑缺血再灌注损伤的关系还有待进一步研究。

与 TRPV 家族其它成员相比, TRPV4 通道对 Ca^{2+} 具有选择通透性及其“多觉型”激活的特点使该通道可能与脑缺血再灌注损伤的关系更加密切。本课题组近年来进行了有关 TRPV4 通道与脑缺血再灌注损伤的系列研究, 我们观察到在脑缺血再灌注 48 h 内 TRPV4 通道蛋白表达增加^[18]。脑缺血时, 由于微循环障碍、能量缺乏导致细胞毒性水肿, 后者可通过改变细胞膜的张力激活 TRPV4 通道。另外, 能量不足导致细胞膜脂质代谢异常, 产生大量游离花生四烯酸及其代谢产物, 可以激活 TRPV4 通道^[8]。以上报道提示, 脑缺血再灌注时 TRPV4 通道极有可能处于过度激活的状态。离体实验发现, TRPV4 通道阻断剂对氧糖剥夺时细胞水肿所导致的海马 CA1 神经元损伤有保护作用^[19]; 在大脑中动脉阻塞 (middle cerebral artery occlusion, MCAO) 的小鼠模型上, 我们发现给予 TRPV4 通道特异性的阻断剂 HC-067047 可以有效减低脑梗死体积^[18, 20, 21], 而给予 TRPV4 通道激动剂可以剂量依赖性地引起海马神经元死亡^[20]。此外, 在视网膜节细胞、胰岛 β 细胞上的研究证实激活 TRPV4 通道可导致细胞死亡^[22, 23]。因此, TRPV4 通道可能是介导脑缺血再灌注神经损伤的重要靶标。

3.2 TRPV4通道介导脑缺血再灌注损伤的可能机制

TRPV4 通道激活后可以引起以 Ca^{2+} 内流为主

的内向电流, 并导致 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 升高^[6]。我们前期在初级感觉神经元上的研究观察到, 激活 TRPV4 通道可通过影响胞内信号通路调节细胞膜上的电压依赖性钠、钾、钙离子通道和增强 TRPV1 通道的功能, 提高神经元的兴奋性^[24-29]。而延长细胞去极化过程也会增加 Ca^{2+} 内流。在生理体温时 ($\sim 37^\circ\text{C}$), TRPV4 通道即参与调节海马神经元的兴奋性。因此, 脑缺血再灌注时 TRPV4 通道被过度激活, 可以通过其自身介导的 Ca^{2+} 内流和提高神经元兴奋等机制增加 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 。

激活 TRPV4 通道能够增加培养的海马神经元之间的微小突触后电流的频率^[30]。我们的研究也发现 TRPV4 通道激动剂能增强海马脑片的兴奋性突触后电位, 减低双脉冲易化, 增加海马脑片微小兴奋性突触后电流的频率, 提示 TRPV4 通道激活后能增加突触前 Glu 的释放^[31]。同时, 我们还发现 TRPV4 通道激动剂能增强 NMDA 和 AMPA 介导的电流, 表明激活 TRPV4 通道能增强 Glu 受体的功能^[21, 31]。离体和在体实验已证实 NR2B 亚基是介导 NMDA 受体兴奋性毒性作用的主要功能单位^[32]。有研究显示, 给予 NR2B 亚基特异性阻断剂能够抑制 TRPV4 通道激动剂对 NMDA 所介导电流的增强作用, 而给予 NR2A 亚基阻断剂则无此作用^[21]。同时, 侧脑室注射 TRPV4 通道激动剂能增加 NR2B 亚基的磷酸化水平^[18]。因此, 脑缺血再灌注时, 激活 TRPV4 通道可以易化 Glu 的兴奋性毒作用。

有资料报道, 阻断 TRPV4 通道可以减轻氧化应激对星形胶质细胞的损伤^[33]。阻断 TRPV4 通道可减少背根神经节慢性压迫模型鼠的背根神经节神经元中 NO 的生成^[34]; 而激活 TRPV4 通道能够增加豚鼠外耳毛细胞、肺泡巨噬细胞中 NO 的生成^[35, 36], 表明激活 TRPV4 通道能促进 NO 的生成, 而 NO 可以通过多种机制在脑缺血再灌注时发挥神经毒性作用, 并能与自由基相互转化。最近在膀胱上皮细胞、冠脉血管内皮细胞上的研究显示, 激活 TRPV4 通道导致 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 升高后能促进 H_2O_2 和超氧阴离子的产生^[37, 38]。本课题组在心肌缺血再灌注模型上的研究显示, 给予 TRPV4 通道特异性阻断剂能有效抑制氧自由基的产生, 减小心肌梗死体积 (数据未发表), 这一结果提示激活 TRPV4 通道可以增强氧化应激作用, 这可能与心肌缺血再灌注损伤有关。尽管发生缺血再灌注的组织不同, 氧化应激在心肌和脑的缺血再灌注损伤中均起重要作用, 因此,

我们推测激活 TRPV4 通道对氧化应激的促进作用可能也参与了脑缺血再灌注损伤, 但这一推测还有待进一步的研究证实。

脑缺血再灌注时, 缺血中心区为不可逆损伤, 缺血半影区为可挽救区域, 该区神经元死亡是决定缺血后梗死灶发展的关键。凋亡是缺血半影区神经元死亡的主要方式。资料报道, 给予 TRPV4 通道激动剂能剂量依赖性导致视网膜节细胞凋亡, 还能介导次声导致的海马神经元凋亡以及胰岛淀粉样多肽导致的胰岛 β 细胞的凋亡^[22, 23]。以上资料表明, (过度) 激活 TRPV4 通道所致的细胞毒性作用与其介导的凋亡有关。Bcl 家族蛋白是凋亡的重要调控因子, 该家族成员分为抗凋亡因子 Bcl-2、Bcl-w、Bcl-xl 等和促凋亡因子 Bax、Bak、Bcl-xs 等。研究表明 Bcl-2/Bax 的比值决定了线粒体通透性转变孔的开放, 是决定神经元死亡的重要因素^[39, 40]。在 MCAO 大鼠上给予氧自由基清除剂可以抑制 Bax 蛋白表达水平, 相应地提高 Bcl-2 蛋白水平, 抑制细胞凋亡, 减少脑梗死体积^[41]。本课题组的系列研究显示给予 TRPV4 通道激动剂能剂量依赖性导致海马 CA1 区神经元凋亡, 而 TRPV4 通道阻断剂能有效抑制 MCAO 小鼠海马 CA1 区的神经元凋亡^[20]。进一步的研究表明, 脑缺血时, 激活 TRPV4 通道可能通过抑制 Akt 信号通路, 进而下调 Bcl-2/Bax 比值, 最终激活 caspase-3, 导致细胞凋亡和神经损伤^[20]。

在中枢神经系统中, TRPV4 通道除了分布在神经元上, 在胶质细胞、脑血管平滑肌细胞及内皮细胞上均有较高表达。在星形胶质细胞终板处的细胞膜上 TRPV4 通道和水通道蛋白 4 形成功能性的复合体, 对于维持血脑屏障的水平衡起关键作用^[42]。脑缺血再灌注也可激活星形胶质细胞上的 TRPV4 通道, 进而导致 Ca^{2+} 内流增加^[43]。激活 TRPV4 通道可以激活肺组织的基质金属蛋白酶 (matrix metalloproteinases, MMP)^[44]。我们近期的研究显示, 给予 TRPV4 通道激动剂能增加 MMP-9 的蛋白表达, 并提高 MMP-9 的活性^[45]。MMP-9 可以水解细胞外基质成分, 破坏血脑屏障的完整性, 增加血脑屏障的通透性, 进而导致产生血管源性脑水肿。给予 TRPV4 通道阻断剂能有效减少 MCAO 小鼠脑组织的含水量和伊文思蓝 (Evans blue) 的滤除率, 表明阻断 TRPV4 通道能有效抑制 MCAO 小鼠的脑水肿的产生^[45]。我们还发现 MCAO 小鼠上 MMP-9 蛋

白水平及活性增加, 紧密连接蛋白水平降低, 给予 TRPV4 通道阻断剂能有效抑制上述改变^[45]。因此, 激活 TRPV4 通道可能会破坏血脑屏障, 加剧血管源性脑水肿的产生, 这也是 TRPV4 通道介导脑缺血再灌注损伤的一个重要机制。

4 结束语

临床上处理脑缺血性损伤的原则是尽早恢复血液灌注, 但同时带来的再灌注损伤也是目前备受关注的问题, 因此, 从新的视角研究脑缺血再灌注损伤的机制, 为临床治疗寻求新的靶点具有非常重要的意义。TRPV4 通道在中枢神经系统分布广泛, 资料显示, 脑组织中的 TRPV4 通道蛋白水平随年龄增长而进行性增加^[46]。TRPV4 通道的“多觉型”激活的特点及其对 Ca^{2+} 的选择通透性使该通道可能在脑缺血再灌注过程中被过度激活, 加剧 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 的升高, 进而通过多靶点机制介导神经损伤作用。由于发病机制复杂, 针对多种致病机制的联合用药是目前治疗脑缺血再灌注损伤的主要策略。靶向 TRPV4 通道可能通过多靶点的调控机制对脑缺血再灌注损伤起保护作用, 符合临床治疗原则; 另一方面, 阻断 TRPV4 通道既可抑制 Glu 的兴奋性毒作用, 又能避免直接阻断 Glu 受体, 因此, 与 Glu 受体阻断剂相比, TRPV4 通道阻断剂在治疗脑缺血再灌注损伤时可能具有更大的优势。目前针对 TRPV4 通道与脑缺血再灌注损伤的研究工作仍处于基础研究阶段, 但有关 TRPV4 通道的研究工作为临床治疗脑缺血再灌注损伤提供了新的方向和治疗靶点。

参考文献

- 1 Benemei S, Patacchini R, Trevisani M, Geppetti P. TRP channels. *Curr Opin Pharmacol* 2015; 22: 18–23.
- 2 Xiao R, Xu XZ. *C. elegans* TRP channels. *Adv Exp Med Biol* 2011; 704: 323–339.
- 3 Pan Z, Yang H, Reinach PS. Transient receptor potential (TRP) gene superfamily encoding cation channels. *Hum Genomics* 2011; 5(2): 108–116.
- 4 Nilius B, Owsianik G. The transient receptor potential family of ion channels. *Genome Biol* 2011; 12(3): 218–228.
- 5 Vennekens R, Owsianik G, Nilius B. Vanilloid transient receptor potential cation channels: an overview. *Curr Pharm Des* 2008; 14(1): 18–31.
- 6 Garcia-Elias A, Mrkonjić S, Jung C, Pardo-Pastor C, Vicente R, Valverde MA. The TRPV4 channel. *Handb Exp Pharmacol* 2014; 222: 293–319.

- 7 Liedtke W, Choe Y, Marti-Renom MA, Bell AM, Denis CS, Sali A, Hudspeth A J, Friedman JM, Heller S. Vanilloid receptor-related osmotically activated channel (VR-OAC), a candidate vertebrate osmoreceptor. *Cell* 2000; 103(3): 525–535.
- 8 Vincent F, Duncton MA. TRPV4 agonists and antagonists. *Curr Top Med Chem* 2011; 11(17): 2216–2226.
- 9 Nilius B, Voets T. The puzzle of TRPV4 channelopathies. *EMBO Rep* 2013; 14(2): 152–163.
- 10 Szydlowska K, Tymianski M. Calcium, ischemia and excitotoxicity. *Cell Calcium* 2010; 47(2): 122–129.
- 11 Lai TW, Zhang S, Wang YT. Excitotoxicity and stroke: identifying novel targets for neuroprotection. *Prog Neurobiol* 2014; 115: 157–188.
- 12 Dirnagl U, Iadecola C, Moskowitz MA. Pathobiology of ischaemic stroke: an integrated view. *Trends Neurosci* 1999; 22(9): 391–397.
- 13 Song M, Yu SP. Ionic regulation of cell volume changes and cell death after ischemic stroke. *Transl Stroke Res* 2014; 51: 17–27.
- 14 Warner DS, James ML, Laskowitz DT, Wijdicks EF. Translational research in acute central nervous system injury: lessons learned and the future. *JAMA Neurol* 2014 ; 71(10): 1311–1318.
- 15 Cao Z, Balasubramanian A, Marrelli SP. Pharmacologically induced hypothermia via TRPV1 channel agonism provides neuroprotection following ischemic stroke when initiated 90 min after reperfusion. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2014; 306: R149–R156.
- 16 Gauden V, Hu DE, Kurokawa T, Sarker MH, Fraser PA. Novel technique for estimating cerebrovascular permeability demonstrates capsaizepine protection following ischemia-reperfusion. *Microcirculation* 2007; 14: 767–778.
- 17 Moussaieff A, Yu J, Zhu H, Gattoni-Celli S, Shohami E, Kindy MS. Protective effects of incense acetate on cerebral ischemic injury. *Brain Res* 2012; 1443: 89–97.
- 18 Jie P, Lu Z, Hong Z, Li L, Zhou L, Li Y, Zhou R, Zhou Y, Du Y, Chen L, Chen L. Activation of transient receptor potential vanilloid 4 is involved in neuronal injury in middle cerebral artery occlusion in mice. *Mol Neurobiol* 2014; [Epub ahead of print] DOI: 10.1007/s12035-014-8992-2.
- 19 Lipski J, Park TI, Li D, Lee SC, Trevarton, AJ, Chung KK, Freestone PS, Bai JZ. Involvement of TRP-like channels in the acute ischemic response of hippocampal CA1 neurons in brain slices. *Brain Res* 2006; 1077(1): 187–199.
- 20 Jie P, Hong Z, Tian Y, Li Y, Li L, Zhou L, Du Y, Chen L, Chen L. Activation of transient receptor potential vanilloid 4 induces apoptosis in hippocampus through down-regulating PI3K/Akt and up-regulating p38 MAPK signaling pathways. *Cell Death Dis* 2015; 6: e1775.
- 21 Li L, Qu WJ, Zhou LB, Lu ZH, Jie PH, Chen L, Chen L. Activation of transient receptor potential vanilloid 4 increases NMDA-activated current in hippocampal pyramidal neurons. *Front Cell Neurosci* 2013; 7: 17.
- 22 Ryskamp DA, Witkovsky P, Barabas P, Huang W, Koehler C, Akimov NP, Lee SH, Chauhan S, Xing W, Renteria RC, Liedtke W, Krizaj D. The polymodal ion channel transient receptor potential vanilloid 4 modulates calcium influx, spiking rate and apoptosis of mouse retinal ganglion cells. *J Neurosci* 2011; 31(19): 7089–7101.
- 23 Casas S, Novials A, Reimann F, Gomis R, Gribble FM. Calcium elevation in mouse pancreatic beta cells evoked by extracellular human islet amyloid polypeptide involves activation of the mechanosensitive ion channel TRPV4. *Diabetologia* 2008; 51(12): 2252–2262.
- 24 Li L, Yin J, Liu C, Chen L, Chen L. Hypotonicity modulates tetrodotoxin-sensitive sodium current in trigeminal ganglion neurons. *Mol Pain* 2011; 7: 27–32.
- 25 Chen L, Liu C, Liu L. Osmolality-induced tuning of action potentials in trigeminal ganglion neurons. *Neurosci Lett* 2009; 452(1): 79–83.
- 26 Chen L, Liu C, Liu L, Cao X. Changes in osmolality modulate voltage-gated sodium channels in trigeminal ganglion neurons. *Neurosci Res* 2009; 64(2): 199–207.
- 27 Chen L, Liu C, Liu L. Changes in osmolality modulate voltage-gated calcium channels in trigeminal ganglion neurons. *Brain Res* 2008; 1208: 56–66.
- 28 Chen L, Liu C, Liu L. The modulation of voltage-gated potassium channels by anisotonicity in trigeminal ganglion neurons. *Neuroscience* 2008; 154(2): 482–495.
- 29 Liu L, Chen L, Liedtke W, Simon SA. Changes in osmolality sensitize the response to capsaicin in trigeminal sensory neurons. *J Neurophysiol* 2007; 97(3): 2001–2015.
- 30 Cao D, Yu S, Premkumar LS. Modulation of transient receptor potential vanilloid 4-mediated membrane currents and synaptic transmission by protein kinase C. *Mol Pain* 2009; 5: 5–17.
- 31 Li L, Yin J, Jie PH, Lu ZH, Zhou LB, Chen L, Chen L. Transient receptor potential vanilloid 4 mediates hypotonicity-induced enhancement of synaptic transmission in hippocampal slices. *CNS Neurosci Ther* 2013; 19(11): 854–862.
- 32 Liu Y, Wong TP, Aarts M, Rooyakkers A, Liu L, Lai TW, Wu DC, Lu J, Tymianski M, Craig AM, Wang YT. NMDA receptor subunits have differential roles in mediating excitotoxic neuronal death both *in vitro* and *in vivo*. *J Neurosci* 2007; 27(11): 2846–2857.

- 33 Bai JZ, Lipski J. Differential expression of TRPM2 and TRPV4 channels and their potential role in oxidative stress-induced cell death in organotypic hippocampal culture. *Neurotoxicology* 2010; 31(2): 204–214.
- 34 Wang C, Ning LP, Wang YH, Zhang Y, Ding XL, Ge HY, Arendt-Nielsen L, Yue SW. Nuclear factor-kappa B mediates TRPV4-NO pathway involved in thermal hyperalgesia following chronic compression of the dorsal root ganglion in rats. *Behav Brain Res* 2011; 221(1): 19–24.
- 35 Takeda-Nakazawa H, Harada N, Shen J, Kubo N, Zenner HP, Yamashita T. Hyposmotic stimulation-induced nitric oxide production in outer hair cells of the guinea pig cochlea. *Hear Res* 2007; 230(1–2): 93–104.
- 36 Hamanaka K, Jian MY, Townsley MI, King JA, Liedtke W, Weber DS, Eyal FG, Clapp MM, Parker JC. TRPV4 channels augment macrophage activation and ventilator-induced lung injury. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2010; 299(3): L353–L362.
- 37 Donkó A, Ruisanchez E, Orient A, Enyedi B, Kapui R, Péterfi Z, de Deken X, Benyó Z, Geiszt M. Urothelial cells produce hydrogen peroxide through the activation of Duox1. *Free Radic Biol Med* 2010; 49(12): 2040–2048.
- 38 Bubolz AH, Mendoza SA, Zheng X, Zinkevich NS, Li R, Gutterman DD, Zhang DX. Activation of endothelial TRPV4 mediates flow-induced dilation in human coronary arterioles: role of Ca^{2+} entry and mitochondrial ROS signaling. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2012; 302(3): H634–H642.
- 39 Noshita N, Lewén A, Sugawara T, Chan PH. Evidence of phosphorylation of Akt and neuronal survival after transient focal cerebral ischemia in mice. *J Cereb Blood Flow Metab* 2001; 21(12): 1442–1450.
- 40 Ola MS, Nawaz M, Ahsan H. Role of Bcl-2 family proteins and caspases in the regulation of apoptosis. *Mol Cell Biochem* 2011; 351(1–2): 41–58.
- 41 Yang W, Chen X, Pan J, Ge H, Yin K, Wu Z, Li X, Sha D, Xu Y. Malibatol A protects against brain injury through reversing mitochondrial dysfunction in experimental stroke. *Neurochem Int* 2015; 80: 33–40.
- 42 Benfenati V, Caprini M, Dovizio M, Mylonakou MN, Ferroni S, Ottersen OP, Amiry-Moghaddam M. An aquaporin-4/transient receptor potential vanilloid 4 (AQP4/TRPV4) complex is essential for cell-volume control in astrocytes. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2011; 108(6): 2563–2568.
- 43 Butenko O, Dzamba D, Benesova J, Honsa P, Benfenati V, Rusnakova V, Ferroni S, Anderova M. The increased activity of TRPV4 channel in the astrocytes of the adult rat hippocampus after cerebral hypoxia/ischemia. *PloS One* 2012; 7(6): e39959.
- 44 Villalta PC, Rocic P, Townsley MI. Role of MMP2 and MMP9 in TRPV4-induced lung injury. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2014; 307(8): L652–L659.
- 45 Jie P, Tian Y, Hong Z, Li L, Zhou L, Chen L, Chen L. Blockage of transient receptor potential vanilloid 4 inhibits brain edema in middle cerebral artery occlusion mice. *Front Cell Neurosci* 2015; 9: 141.
- 46 Lee JC, Choe SY. Age-related changes in the distribution of transient receptor potential vanilloid 4 channel (TRPV4) in the central nervous system of rats. *J Mol Histol* 2014; 45(5): 497–505.