

TRP-kanaler – känsliga för värme och kyla, kapsaicin och mentol

Att äta eller utsätta huden för stark chilipeppar ger som bekant en brännande och ibland till och med plågsam känsla. Forskning visar mycket riktigt också att sensoriska nervändar svarar på aktiva substanser i chilipeppar med samma molekylära mekanismer som de gör på värme. Kapsaicin, exempelvis, är en så kallad vanilloid som produceras av stark chilipeppar och hjälper till att skydda växten mot frätare.

På samma sätt som kapsaicin förmedlar en känsla av värme, så finns det också andra från växtriket härstammande substanser som har rent motsatt effekt. Mentol t ex har en avkylande effekt på hud och annan sensorisk vävnad. Även i det fallet har man funnit att det är samma proteiner som förmedlar effekterna av sänkta temperaturer och av mentol.

Man har i vissa populationer av de primära sensoriska neuron som har sina cellkroppar i dorsalsrots- eller trigeminalganglierna identifierat proteiner som stimuleras av olika temperaturer och temperaturförändringar, eller av substanser som kapsaicin eller mentol. Dessa proteiner är icke-selektiva jonkanaler som strukturellt är uppbyggda av sex stycken transmembrana domäner och ursprungligen identifierades hos *Drosophila*. De motsvarande proteinerna har sedan dess identifierats hos en mängd andra arter, där de antas fungera som temperatursensorer, vilka reagerar på temperaturer över ett stort intervall. Dessa proteiner ingår alla i den så kallade TRP-familjen av jonkanaler, där TRP står för »transient receptor potential«.

Ett sådant TRP-protein kallas VR1 och är en värmekänslig, icke-selektiv katjonkanal. Elektrofysiologiska och genetiska studier visar att VR1 förutom av kapsaicin och andra vanilloider aktiveras av temperaturer över 43°C och av protoner. VR1 är också känslig för ett antal kemiska faktorer som produceras vid inflammation. Vissa av dessa interagerar direkt med jonkanalen och förstärker på så sätt effekterna av kapsaicin eller värme. Dessa observationer stöds också av studier på genetiskt modifierade möss, där man visat att möss som saknar VR1 inte uppvisar någon

hypersensitivitet för värme vid vävnadsskada. PLC(Fosfolipas C)-kopplade faktorer som bradykinin och NGF (»nerve growth factor«) har vidare visats reglera de VR-medierade effekterna av vanilloider.

En annan strukturellt närbesläktad jonkanalsreceptor, VRL-1, reagerar också på värme, men högre temperaturer (>50°C) krävs för aktivering, och VRL-1 är inte heller känslig för vare sig kapsaicin eller sura pH-värden.

Kapsaicin har inte samma plågsamma effekt på fåglar som på däggdjur, och fåglar kan därför utan att ta skada hjälpa pepparväxten att sprida sina frön. Dessa skillnader i kapsaicinets verkan på olika arters nervändar är en indikation på att de proteiner som förmedlar kapsaicinmolekylens effekter skiljer sig åt hos däggdjur och fåglar.

I en artikel i tidskriften *Cell* har man studerat de molekylära mekanismer som ligger till grund för detektion av kapsaicin och andra vanilloida substanser. Man har framförallt undersökt hur fåglar och däggdjur skiljer sig åt i detta avseende [1]. Först klonade man en vanilloidreceptor, cVR1, från dorsalsrotsganglier från kyckling. Funktionella studier visade att cVR1, i likhet med rVR1 från råttan, aktiverades av temperaturer på runt 45°C och var känslig för sura pH-värden. Däremot orsakade kapsaicin ingen direkt aktivering av cVR1. Man fann dock indikationer på en partiell sensitivitet för kapsaicin och drog därför ändå slutsatsen att cVR1 har rudimentära likheter med, och är kycklingens motsvarighet till, rättans rVR1 eller människans hVR1, och att dessa jonkanaler har ett gemensamt evolutionärt ursprung.

För att ta reda på den molekylära förklaringen till skillnaderna mellan däggdjurs och fåglars känslighet för kapsaicin och andra vanilloida ämnen lät man i den aktuella studien tillverka en serie chimära jonkanaler, bestående av segment från dels rVR1, dels cVR1 eller två kapsaicinkänsliga däggdjurs-homologer. Man studerade sedan de chimära kanalerna i expressionsstudier, där kanalerna utsattes för olika temperaturer och pH-miljöer eller exponerades för olika vanilloida substanser.

Sammanfattningsvis kom man fram

Aktuell grundvetenskap

Mynta mentha gracilis.

Chilipeppar Capsicum anuum.

till att kapsaicin, i likhet med andra närbesläktade vanilloider, binder till den tredje transmembrana domänen i rVR1. Sekvensanalys visar också mycket riktigt att denna region skiljer sig åt mellan cVR1 och hVR1 eller rVR1, vilket förklarar skillnaderna i kapsaicinkänslighet mellan arterna. Känsligheten för vanilloider respektive värme eller protoner är vidare beroende av separata regioner av kanalen. Denna slutsats base-

rades på upptäckten att mutation av vissa aminosyror i proteinsekvensen från råttan, t ex tyrosin i position 511, resulterade i att kanalen förlorade sin kapsaicinkänslighet men fortfarande aktiverades av höjda temperaturer eller protoner. En annan observation i studien var att för att utöva sin effekt måste kapsaicin passera membranet in i nervcellen och sedan binda till VR1 från den intracellulära sidan.

Kapsaicinreceptorernas proteinsekvens hos fåglar och människor är, som författarna i Cellartikeln påpekar, ovanligt lite konserverade om man jämför med andra receptorer eller kanaler i nervsystemet. Även andra sensoriska receptorer, för t ex lukt eller smak, uppvisar låg homologi. Anledningen till dessa skillnader mellan sensoriska receptorer från olika arter kan vara stor evolutionär press, vilket bidragit till de olika arternas utveckling i deras respektive nischer av ekosystemet. Arterna tros alltså under evolutionens gång ha förfinat sin tolerans för de yttre omständigheterna för att överleva i just den miljö de lever i. Fenomenet kan också vara en indikation på att receptorer för fysiska eller kemiska stimuli tolererar en högre variation.

Det verkar alltså som om VR1 har en förmåga att integrera olika typer av yttre sensoriska stimuli. Dess funktion vid inflammation är ännu inte kartlagd, men man vet att endogena VR1-agonister, som t ex anandamid, i likhet med kapsaicin kan binda till vanilloida receptorer och modulera deras aktivitet. Intressant att notera är att VR1-medierade jonströmmar kan observeras även vid normal kroppstemperatur, vilket skulle kunna förklara uppkomsten av kronisk smärta till följd av inflammation i respons till infektion, artrit eller neuropati.

Att par andra aktuella artiklar handlar också om TRP-kanalernas roll vid förnimmelse av olika temperaturer och kemiska substanser [2, 3]. Här har man i två skilda studier karakteriserat och klonat två mentolreceptorer, vilka båda aktiveras av kallare temperaturstimuli än VR1. I en av studierna, publicerad i Nature, fann man en receptor, CMR1, vilken liksom VR1 finns uttryckt i råttans dorsalsrots- och trigeminalganglier och är en excitatorisk jonkanal som aktiveras i temperaturintervallet mellan 8 och 28°C [2]. I studien undersökte man hur CMR1 beter sig i respons till olika temperaturer eller mentol och andra ligander som har en kylande effekt.

I den andra studien, vilken presenterades i tidskriften Cell, fann man i en subpopulation dorsalsrotsganglier från

mus en TRP-kanal man kallar TRPM8 [3]. Denna kanal visades vara okänslig för kapsaicin och temperaturer över 25°C, men om temperaturen sänktes från 25°C till 10–15°C kunde man observera en aktivering som speglades som en höjning av nivåerna av intracellulärt kalcium. Kanalen aktiverades också vid tillsats av mentol, som vidare upptäcktes kunna utöva en modulativ effekt genom att förskjuta tröskelvärdet för temperaturaktivering uppåt. Kanalen, som normalt är aktiv i intervallet 8°C till 23°C, är i närvaro av mentol aktiv vid temperaturer uppåt runt 30°C. Exakt hur TRPM8 aktiveras är ännu okänt, men författarna föreslår att en sänkning av temperaturen på något sätt orsakar en konformationsförändring i proteinstrukturen, varvid kanalen öppnas och blir genomsläpplig för kationer. En annan hypotes är att temperaturförändringen i stället verkar på någon faktor i »second messenger«-maskineriet, som sedan indirekt aktiverar kanalen.

Databas- och litteratursökningar och en jämförelse av sekvensen för CMR1 med tidigare upptäckta TRP-kanaler visade att CMR1 till 92 procent är identisk med den sekvens för den humana varianten av TRPM8 som man tidigare kartlagt. En snabb överblick av sekvenserna för CMR1 i råttan och TRPM8 i mus, vilka båda består av 1 104 aminosyror, indikerar att det är frågan om samma protein från två olika arter. Det kommer därför att bli intressant att se var i sekvenserna skillnaderna mellan detta protein från olika arter ligger.

Den ovan beskrivna VR1-studien i Cell visade som nämnts att skillnaderna mellan kyckling- och mammalieksekvenserna för VR1 ligger just i den region som förmedlar effekterna av kapsaicin hos råttan och människa, något som förklarar att fåglar inte är sensitiva för kapsaicin. Med tanke på att mentol har en förmåga att förskjuta tröskelvärdet för temperaturaktivering av CMR1/TRPM8 är det troligt att arter som lever i olika ekologiska system eller geografiska regioner också uppvisar skillnader i fråga om sensitiviteten för mentol, där vissa arter som inte har någon nytta av mentolens modulativa effekter inte heller är känsliga för denna substans.

Så här långt verkar det som om VR1 respektive CMR1 eller TRPM8 i första hand finns uttryckta endast i vissa cellpopulationer i det sensoriska nervsystemet. Detta pekar på att TRP-kanaler som VR1, VRL-1, CMR1 och TRPM8 förmedlar intryck av temperaturer i olika intervall och i olika celler, men att dessa intryck sedan integreras till en

sensorisk helhetsupplevelse. Dock, en viss överlappning i uttrycket av CMR1 och VR1 i en del cellpopulationer kunde observeras i Naturestudien, vilket författarna menar skulle kunna förklara varför stark kyla paradoxalt nog ibland kan upplevas som brännande. Det är dock fortfarande oklart hur vi på molekylär nivå i detalj skiljer på kallt och varmt, och vidare forskning kommer därför att krävas för att ge svar på denna fråga. Det vi upplever som kyla och värme är sedan troligtvis också beroende av hur signalerna från ytreceptorerna i den sensoriska nervändarna tolkas i ryggmärgen och i högre nervcentra.

En del TRP-kanaler har visats spela en roll i regleringen av organismers cellcykel och tillväxt [4]. Förändringar i uttrycket av dessa proteiner kan därför tänkas bidra till utvecklingen av tumörer, och observationer visar också att vissa TRP-kanaler är uppreglerade i tumörvävnad bl a hos patienter med malign melanom och prostatacancer.

Referenser

1. Jordt SE, Julius D. Molecular basis for species-specific sensitivity to »hot« chili peppers. *Cell* 2002;108:421-30.
2. McKemy D, Neuhauser W, Julius D. Identification of a cold receptor reveals a general role for TRP channels in thermosensation. *Nature* 2002;416:52-8.
3. Peier AM, Moqrich A, Hergarden AC, Reeve AJ, Andersson DA, Story GM, et al. A TRP channel that senses cold stimuli and menthol. *Cell* 2002;108:705-15.
4. Montell C, Birnbaumer, Flockerzi V. The TRP channels, a remarkably functional family. *Cell* 2002;108:596-8.



Ulrika Kahl

Ulrika Kahl är doktor i neurokemi och neurotoxikologi. Hon arbetar som vetenskaplig skribent och är webb- och informationsansvarig vid Human Brain Informatics samt institutionen för medicinsk epidemiologi vid Karolinska institutet. (Ulrika.Kahl@cns.ki.se)