

瞬时受体电位M2型通道抑制剂的开发现状

陈世尧¹, 骆燕萍¹, 余沛霖², 岳晓敏¹, 杨巍¹

1. 浙江大学医学院基础医学院生物物理学系, 浙江 杭州 310058

2. 浙江大学医学院公共卫生学院毒理学系, 浙江 杭州 310058

[摘要] 开发高效且特异的瞬时受体电位M2型(TRPM2)通道抑制剂, 不仅有助于深化对相关疾病病理机制的理解, 还能为临床治疗提供新的有效靶点和候选药物。根据研发方法不同, TRPM2通道抑制剂的开发主要分为四类, 分别有以下特点: 同源离子通道调节剂的再利用及结构改造能够发现多种抑制效果较强的TRPM2通道抑制剂; 基于通道开放机制开发所得的TRPM2通道抑制剂通常表现出良好的选择特异性; 高通量筛选开发所得的抑制剂往往具备新颖的化学结构, 丰富了TRPM2通道抑制剂的设计思路; 开发源于天然抗氧化剂的抑制剂则具备较高安全性。近年来, 计算机辅助药物设计的应用大大加速了TRPM2通道抑制剂的设计和开发, 已经研发了ZA18、A1和D9等多种优选化合物, 后续有望发现更多高效且选择特异性强的TRPM2通道抑制剂骨架。本文综述了TRPM2通道抑制剂的开发现状, 以期为TRPM2通道抑制剂的进一步转化应用提供参考。



[关键词] 瞬时受体电位M2型; 抑制剂; 氧化应激; 结构改造; 高通量筛选; 天然抗氧化剂; 计算机辅助药物设计; 综述

[中图分类号] R735 **[文献标志码]** A

Advances in the development of transient receptor potential melastatin 2 channel inhibitors

CHEN Shiyao¹, LUO Yanping¹, YU Peilin², YUE Xiaomin¹, YANG Wei¹ (1. Department of Biophysics, School of Basic Medical Sciences, Zhejiang University School of Medicine, Hangzhou 310058, China; 2. Department of Toxicology, School of Public Health, Zhejiang University School of Medicine, Hangzhou 310058, China)

Corresponding authors: YUE Xiaomin, E-mail: yuexiaomin@zju.edu.cn, ORCID: 0000-0002-5607-9358; YANG Wei, E-mail: yangwei@zju.edu.cn, ORCID: 0000-0003-3065-1843

收稿日期(Received): 2024-10-21 修改返回日期(Revised): 2024-12-09 接受日期(Accepted): 2024-12-20

基金项目(Funding): 国家自然科学基金(32371188); 浙江省自然科学基金(LY21C090004, LD24H090004); “重大新药创制”国家科技重大专项(2018ZX09711001-004-005)

第一作者(First author): 陈世尧, 硕士研究生, 主要从事离子通道抑制剂开发研究; E-mail: 22260507@zju.edu.cn; ORCID: 0009-0005-2333-6804

通信作者(Corresponding author): 岳晓敏, 研究员, 博士生导师, 主要从事神经生物学及离子通道研究; E-mail: yuexiaomin@zju.edu.cn; ORCID: 0000-0002-5607-9358. 杨巍, 教授, 博士生导师, 主要从事神经生物学、生物物理学及分子药理学研究; E-mail: yangwei@zju.edu.cn; ORCID: 0000-0003-3065-1843

[**Abstract**] Studies on specific transient receptor potential melastatin 2 (TRPM2) channel inhibitors can deepen our understanding of the pathological mechanism of related diseases, and allow discovery of novel, effective targets and drugs for therapy. The development of TRPM2 channel inhibitors can be broadly classified into four categories with distinct characteristics: reutilization and structural modification of homologous ion channel modulators to produce a diverse array of TRPM2 channel inhibitors with strong inhibitory effects; TRPM2 channel inhibitors based on channel gating mechanism with high specificity; inhibitors identified through high-throughput screening with novel chemical structures; inhibitors developed from natural antioxidants with higher safety. In recent years, the application of computer-aided drug design has significantly accelerated the development of TRPM2 channel inhibitors. Several promising compounds such as ZA18, A1 and D9 have been discovered, and it is expected that more potent and selective TRPM2 channel inhibitor scaffolds will be discovered in the future. This article reviews the advances on the studies of TRPM2 channel inhibitors, aiming to provide insights for further research and clinical application of TRPM2 channel inhibitors.

[**Key words**] Transient receptor potential melastatin 2; Inhibitors; Oxidative stress; Structural modification; High-throughput screening; Natural antioxidants; Computer-aided drug design; Review

[J Zhejiang Univ (Med Sci), 2025, 54(1): 120-130.]

[**缩略语**] 瞬时受体电位(transient receptor potential, TRP); 2-间甲苯胺苯甲酸[2-(3-methylphenyl) aminobenzoic acid, 3-MFA]; *N*-(对戊基肉桂酰基)邻氨基苯甲酸[*N*-(*p*-amylcinnamoyl) anthranilic acid, ACA]; 2-氨基乙酯二苯基硼酸(2-aminoethyldiphenyl borate, 2-APB); 腺苷二磷酸核糖(adenosine diphosphate ribose, ADPR); TRPM 型同源结构域(TRPM homology region, MHR); Nudix 水解酶9同源结构域(Nudix hydrolase 9 homology domain, NUDT9-H); 烟酰胺腺嘌呤二核苷酸(nicotinamide adenine dinucleotide, NAD⁺); 环 ADPR(cyclic ADPR, cADPR); 烟酸腺嘌呤二核苷酸磷酸(nicotinic acid adenine dinucleotide phosphate, NAADP); 半抑制浓度(half maximal inhibitory concentration, IC₅₀); 氧糖剥夺/再灌注(oxygen glucose deprivation/reperfusion, OGD/R); 1-甲基-4-苯基-1,2,3,6-四氢吡啶(1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydro-pyridine, MPTP); 大脑中动脉栓塞(middle cerebral artery occlusion, MCAO); 磷脂酶(phospholipase, PLA); 肌醇 1,4,5-三磷酸(inositol 1,4,5-triphosphate, IP3); 腺苷一磷酸(adenosine monophosphate, AMP); 糖原合成酶激酶(glycogen synthase kinase, GSK)

TRP 通道是一类主要在细胞膜上分布的离子通道,广泛存在于中枢神经系统、心血管系统、呼吸系统、消化系统、泌尿系统、生殖系统以及皮肤的组织和细胞中^[1]。近年来,越来越多的研究表明,TRP 通道在感受外界刺激过程中发挥着广泛而关键的作用,作为细胞重要的传感器参与了包括视觉、味觉、嗅觉、听觉、触觉、温度感知、渗

透压感知等多种感觉和知觉的形成^[2-3]。截至目前,在斑马鱼、海葵和果蝇等生物中发现了上百种 TRP 通道亚型,在哺乳动物中发现了 28 种 TRP 通道亚型,根据氨基酸序列同源性这些 TRP 通道通常被分为六个亚家族——TRPC、TRPV、TRPA、TRPM、TRPP 以及 TRPML^[2]。在结构上,TRP 通道超家族成员通常由四个亚基组成同源四聚体

或异源四聚体,并以四聚体形成功能通道来发挥作用;每个亚基都具有六次跨膜结构域(S1~S6),S5和S6向内嵌入形成孔道,氨基端和羧基端均位于细胞内部^[4-5]。

TRPM2通道是TRPM亚家族中的一员,是一种可通透钙离子的非选择性阳离子通道^[6]。TRPM2通道在体内广泛分布,参与了免疫应答、胰岛素分泌和体温调节等重要的生命活动^[7-9],对维持机体正常生理功能至关重要。TRPM2通道作为氧化应激感受器,在多种内源/外源性氧化应激诱导的细胞死亡中扮演重要角色,其功能异常介导了缺血性脑卒中、阿尔茨海默病、帕金森病、癌症、糖尿病、肝损伤和炎症损伤等多种疾病的发生发展^[8, 10-16]。开发TRPM2通道抑制剂有利于深入研究TRPM2的结构和功能,同时具有重要的临床应用价值。

TRPM2通道抑制剂的研发主要分为四类:同源离子通道调节剂的再利用及结构改造、基于通道开放机制的抑制剂开发、基于高通量筛选的抑制剂开发以及基于天然抗氧化剂的抑制剂开发。目前,已开发了一些TRPM2通道抑制剂并用于功能和机制探究,如氯芬那酸、3-MFA、克霉唑、益康唑、ACA、2-APB以及海洋来源天然产物Scalaradial等^[17-22],但均未进入临床试验阶段。早期离子通道调节剂来源的TRPM2通道抑制剂中,氯芬那酸、3-MFA等抑制活性不足,ACA、2-APB等选择性较差,均缺乏较好的临床应用前景。基于通道开放机制设计的TRPM2通道抑制剂,如8-Br-ADPR、8-Ph-2'-deoxy-ADPR

虽然具有较好的选择性,但跨膜活性和稳定性不足^[23-24];具有跨膜作用的多肽类抑制剂tat-M2NX对TRPM2通道的抑制活性较高,但受限于递送困难和成本高昂^[25]。JNJ-28583113是近来发现的抑制活性最高的TRPM2通道抑制剂,但体内稳定性差^[26]。基于已有

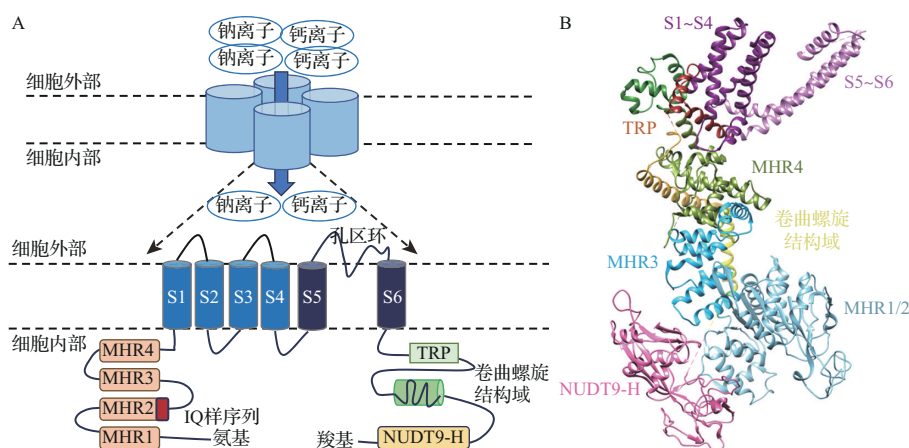
抑制剂结构改造获得的小分子化合物A23、D9等呈现出较好的抑制活性,但相关药理作用研究并不深入^[27-28]。

本文回顾了TRPM2通道的分子结构、门控机制以及TRPM2通道抑制剂的开发现状,对近年多项研究中TRPM2通道抑制剂的开发思路、作用特点及治疗潜力进行总结,为开发新的高效且特异的TRPM2通道抑制剂提供参考。

1 瞬时受体电位M2型通道的结构及门控机制

人源基因定位于染色体21q22.3,全长约90 kb,包含32个外显子,其编码的蛋白由1503个氨基酸组成^[29]。TRPM2通道主要是以同源四聚体的形式发挥作用,每个亚基均由跨膜结构域、细胞内的氨基端和羧基端结构域三部分组成。TRPM2通道蛋白具有六次跨膜结构域(S1~S6),大约含有300个氨基酸,其中S1~S4是类电压敏感结构域,S5~S6形成离子通透孔道,介导钙离子、钠离子、钾离子和锌离子等离子的流通^[30-31]。氨基端具有四个TRPM同源结构区域,在TRPM亚家族中高度保守^[32],其中MHR2内有一段被称为IQ样基序的序列,细胞内钙离子可以通过结合钙调蛋白间接作用于这一结构,参与TRPM2通道的激活^[30, 33]。羧基端具有一个高度保守的TRP螺旋结构域、一个卷曲螺旋结构域以及末端的NUDT9-H,其中NUDT9-H是TRPM2所特有的^[34-35]。TRPM2通道的具体结构示意图见图1。

近年来,已有系列研究报道了TRPM2通道的



A: TRPM2通道亚基组成及单亚基拓扑结构示意图;B: TRPM2通道单亚基三维结构示意图。TRP:瞬时受体电位;MHR:TRPM型同源结构域;NUDT9-H:Nudix水解酶9同源结构域。

图1 TRPM2通道结构示意图

Figure 1 The structures of TRPM2 channel

门控机制。TRPM2通道作为一类氧化应激感受器,可以被过氧化氢、 NAD^+ 的代谢产物ADPR、cADPR、2'-氧-乙酰基-ADPR、2'-脱氧-ADPR、ADPR-2'-磷酸及NAADP等内源性氧化应激级联代谢产物激活^[6, 36-43]。且TRPM2通道被这些 NAD^+ 代谢物激活均需要钙离子的协同作用。此外,与大多数TRP通道不同,TRPM2通道的激动剂一般需要在细胞内发挥作用。研究表明,在内源性配体ADPR激活人源TRPM2通道时,每个通道亚基需结合两个ADPR分子,并且需要钙离子协同作用。具体而言,ADPR以“C”形态和“Z”形态分别结合在人源TRPM2通道氨基端的MHR1/2结构域以及羧基端的NUDT9-H结构域,引发NUDT9-H和MHR1/2的旋转,启动通道的开放,与此同时,钙离子参与协同调控,进而引发TRPM2通道离子流动^[35, 44]。

综上,目前已开展较多TRPM2通道的配体结合位点以及分子门控机制研究,为TRPM2通道抑制剂开发打下重要基础。

2 同源离子通道调节剂的再利用及结构改造

由于早期的研究对TRPM2通道结构及门控调节机制并不透彻,先前的研究者只能采用同源离子通道调节剂开展研究,需要运用多种手段进行化合物结构改造,以获得TRPM2通道抑制剂。

2004年Hill等^[21]发现,在细胞外液中使用浓度为50~1000 mmol/L的广谱离子通道调节剂氯芬那酸(一种酚酸酯类非甾体抗炎药),几乎完全抑制了稳定表达人源TRPM2通道的人胚胎肾细胞293(HEK293)中由ADPR激活的电流。而且,TRPM2通道电流的抑制速率会随着氯芬那酸和氢离子浓度增加而加快,抑制作用与给药时间密切相关^[21]。还有研究测得了氯芬那酸对TRPM2通道的 IC_{50} 约为70 $\mu\text{mol/L}$ ^[20]。氯芬那酸不仅是TRPM2的有效抑制剂,对TRPM4等其他TRP通道具有更强的抑制作用,同时还可以激活TRPA1和TRPC6通道^[45]。在药理作用研究方面,氯芬那酸明显减缓了体外缺血实验OGD/R所导致的雄性小鼠海马神经元损伤,并减少了神经毒素MPTP诱导的神经母细胞瘤细胞SH-SY5Y死亡^[46-47]。氯芬那酸作为首个被报道的TRPM2通道抑制剂,为抑制剂的研究开发提供了参考,但其较弱的选择性限制了应用。

其后,有多项研究探讨了酚酸酯类化合物对TRP家族通道的抑制效果,发现多数化合物对TRPM3、TRPV4通道的抑制活性高于TRPM2通道^[48]。有研究合成了一种氯芬那酸类似物3-MFA,具有类似的抑制TRPM2通道的作用^[20]。与氯芬那酸不同,3-MFA选择性更佳,除TRPM2外,仅对TRPC4和TRPC5通道有轻微抑制作用^[20, 49]。但3-MFA抑制活性仍然较低,其 IC_{50} 约为76 $\mu\text{mol/L}$ ^[20]。值得注意的是,这项研究发现氯芬那酸和3-MFA的作用位点在细胞内,在细胞内液中使用氯芬那酸和3-MFA均能阻断TRPM2通道电流,但在细胞外使用对TRPM2通道电流不产生影响^[20]。这个结果与Hill等^[21]在细胞内使用氯芬那酸未能阻断TRPM2通道电流的结果不一致,可能的原因是Hill等在实验中使用了含钡离子的浴液,并且使用的ADPR和氯芬那酸浓度与该研究不同。综上,3-MFA和氯芬那酸对TRPM2通道的抑制活性均较差,但3-MFA选择性相较于氯芬那酸有所提升。

此外,Hill等^[19]还发现咪唑类广谱抗真菌药物克霉唑和益康唑对TRPM2通道具有不可逆的抑制作用,两者的 IC_{50} 均低于1 $\mu\text{mol/L}$,在细胞外液中使用1 $\mu\text{mol/L}$ 克霉唑5 min后,50% TRPM2通道电流被阻断。在作用特点上,TRPM2通道电流的抑制速率随着克霉唑、益康唑和氢离子浓度的增高而加快。在选择性方面,克霉唑还可以抑制TRPM8通道,激活TRPV1和TRPA1通道^[50];而益康唑则对TRPV5和TRPM8通道有抑制作用^[51-52]。在药理作用方面,克霉唑明显减少了OGD/R诱导的雄性小鼠海马神经元死亡数,减小了雄性小鼠MCAO模型中脑梗死体积,缓解了肿瘤坏死因子- α 介导的心肌细胞死亡,还抑制了黑色素瘤细胞增殖^[46, 53-55]。而益康唑的使用则缓解了结肠炎大鼠模型中的结直肠扩张和内脏超敏反应,降低了小鼠心脏缺血再灌注后的梗死体积^[56-57]。总之,相比氯芬那酸,克霉唑和益康唑对TRPM2通道的抑制活性明显提高,但抑制作用不可逆且选择特异性仍然较差。

研究人员发现PLA2抑制剂ACA对TRPM2通道有直接的抑制作用^[18]。20 $\mu\text{mol/L}$ ACA完全阻断了ADPR诱导的TRPM2通道电流和过氧化氢诱导的钙离子信号,且ACA的 IC_{50} 约为1.7 $\mu\text{mol/L}$,ACA对TRPM2通道的抑制作用与pH和浓度有

关^[18]。ACA是一类可逆的TRPM2通道抑制剂,去除ACA后,可以恢复TRPM2通道初始电流的70%^[18]。在选择性方面,ACA对TRPM8、TRPC3、TRPC6和TRPV1通道均有抑制作用^[18, 58-59]。在药理作用研究方面,ACA减少了雄性小鼠OGD/R模型海马神经元死亡数,减小了MCAO模型中雄性小鼠的脑梗死体积^[46, 60]。而且,ACA通过抑制TRPM2通道和PLA2活性缓解雄性小鼠肾脏缺血再灌注损伤,减少 β 淀粉样蛋白42诱导的氧化应激及小鼠海马神经元凋亡^[61-62]。综上,ACA是一类具有较强抑制活性且作用可逆的TRPM2通道抑制剂,但其选择特异性仍然较差。

研究报道2-APB是一类可透膜的IP3受体抑制剂,能迅速抑制TRPM2通道电流,IC₅₀约为1 μ mol/L,去除2-APB后通道电流基本可以完全恢复^[17]。然而,在通道选择性方面,2-APB作用广泛,对TRPC1、TRPC3、TRPC5~7、TRPM3、TRPM7~8及TRPV6通道都有抑制作用,对TRPV1~3通道有激活效果^[63-67]。在药理作用方面,2-APB在多种疾病模型中呈现出保护作用,可减少雄性小鼠OGD/R模型中海马神经元死亡数,减轻神经毒素MPTP诱导的SH-SY5Y细胞死亡和帕金森病大鼠运动功能障碍,缓解肾脏缺血再灌注小鼠模型肾功能障碍,还能减少 β 淀粉样蛋白42诱导的氧化应激和小鼠海马神经元凋亡^[46, 61, 68-69]。综上,2-APB能够快速抑制TRPM2通道电流,抑制效果完全可逆,但其抑制作用的选择特异性较差。

上述同源离子通道调节剂来源的抑制剂大多都具有广谱抑制作用,作用效果难以阐明,且抑制活性仍有待提升。因此,研究人员对这些抑制剂开展了结构改造研究。

Zhang等^[27]以ACA的结构为基础合成系列衍生物,发现了优选化合物A23。该研究发现,A23对TRPM2通道起抑制作用的IC₅₀约为788 nmol/L;与ACA比较,化合物A23表现出较好的选择性,在3、10 μ mol/L浓度下对TRPM8和TRPV1通道以及PLA2活性的抑制作用均明显降低;在体外OGD/R模型中,A23能够减缓SH-SY5Y的细胞损伤;在小鼠短暂性MCAO模型中,A23可明显减小脑梗死面积。可见A23在体内外实验中均表现出良好的神经保护活性。A23作为TRPM2通道抑制剂,具有较好的抑制活性和选择性。

基于配体的药物设计和基于结构的药物设

计是计算机辅助药物设计的两大方法。三维相似性搜索是基于配体的药物设计方法之一,常用于蛋白质结构分析和药物设计,已在药物发现过程中鉴定出许多活性化合物^[70]。2021年,Zhao等^[71]运用三维相似性搜索的虚拟筛选方法,基于2-APB的最低能量构象,获得了全新的TRPM2抑制剂苯并[d]咪唑并[1,2-a]咪唑衍生物Z-4,其具有独特的三环结构。在保留三环结构的类似物中,ZA18的抑制活性最强,作为2-APB的结构衍生化合物,其保留了2-APB大部分的抑制活性,IC₅₀约为6.2 μ mol/L。在通道选择性方面,相较于2-APB,化合物ZA18表现出对TRPM2通道的选择特异性,对TRPM8、TRPV1通道和IP3受体的抑制活性明显降低。在药理作用方面,ZA18的使用能够有效降低过氧化氢诱导的SH-SY5Y细胞死亡,呈现出神经保护活性^[71]。虽然,ZA18具有较好的选择性,同时保留一定的TRPM2通道抑制活性,但总体抑制活性处于中等水平。

总之,早期TRPM2通道抑制剂虽然在抑制活性方面存在各种各样的不足,但作为探究TRPM2通道结构和功能的化合物分子促进了相关研究进展。通过对同源离子通道调节剂进行结构改造以及结合基于配体的药物设计方法所获得的新化合物在抑制TRPM2通道作用和选择特异性方面相比原有抑制剂均有所提高,这为后续的TRPM2通道抑制剂开发提供了参考。

3 基于通道开放机制的抑制剂开发

3.1 基于内源配体的结构改造

随着对TRPM2通道门控调节机制研究的逐步深入,研究人员基于已发现的TRPM2通道内源配体ADPR开发了系列竞争性抑制剂,可通过竞争结合位点来发挥抑制作用。

2007年,研究人员首次报道了这类化合物,通过在ADPR的第8位引入溴原子,开发了化合物8-Br-ADPR,该化合物可以抑制TRPM2通道,IC₅₀约为300 μ mol/L^[72]。随后,陆续有研究对ADPR的腺苷、焦磷酸和末端核糖三部分进行结构改造,以开发更高效的TRPM2通道抑制剂^[23-24, 73-74]。

在ADPR腺苷部分的结构改造中,通过同时对腺嘌呤的第8位进行苯基取代修饰和腺苷核糖上2'位进行脱氧修饰,获得了化合物8-Ph-2'-deoxy-ADPR,IC₅₀约为3 μ mol/L,相比8-Br-ADPR,

8-Ph-2'-deoxy-ADPR 明显提高了对 TRPM2 通道的抑制作用,并且对 cADPR、NAADP 和 IP3 受体介导的钙离子释放无抑制作用^[23]。在 ADPR 焦磷酸部分的结构改造中,通过亚甲基或二氟甲基取代焦磷酸连接部分的氧键及对其他结构区域进行修饰所获得的化合物 7i 和 8a,均表现出较强的抑制活性,IC₅₀ 分别约为 5.7 和 5.4 μmol/L。在选择性方面,这两种化合物均不影响 TRPM7、TRPM8、TRPV1 和 TRPV3 通道的功能^[24]。但这两种抑制剂合成产率较低,细胞膜通透性较差。在 ADPR 末端核糖的修饰方面,研究人员通过去除末端核糖上的单个羟基或所有羟基获得 1"-deoxy-ADPR 和 3"-deoxy-ADPR 等化合物,均可抑制 ADPR 介导的 TRPM2 通道电流,但抑制活性均弱于 8-Br-ADPR,且稳定性不足^[73-74]。通过对 ADPR 结构改造所获得的 TRPM2 通道抑制剂往往选择特异性较好,但稳定性和细胞膜通透性尚有不足。

此外,ADPR 的内源性代谢产物 AMP 可以作为负反馈调节剂对 TRPM2 通道发挥剂量依赖性的抑制作用,其 IC₅₀ 约为 70 μmol/L,但对 cADPR 或过氧化氢诱导的电流无抑制效果^[36]。AMP 除了在细胞内发挥抑制作用外,在细胞外可通过与细胞外孔区相互作用发挥抑制作用^[28]。虽然 AMP 在细胞内外均能抑制 TRPM2 通道,但其抑制活性较低。

2018 年,Zhang 等^[28]基于 AMP,采用三维相似性搜索方法,通过骨架跃迁得到了 2,3-二氢喹唑啉-4(1H)-酮这一结构母核,进而优化改造获得系列衍生物,其中化合物 A1 和 D9 对 TRPM2 通道的抑制效能较强,两者的 IC₅₀ 分别约为 5.1 和 3.7 μmol/L。与 AMP 不同,A1 和 D9 仅在细胞外发挥抑制作用^[28]。选择性方面,A1 和 D9 均不影响 TRPM8 通道的电流,具备一定的选择特异性^[28]。在药理作用研究方面,A1 可缓解二氧化硅纳米粒介导的与 TRPM2 通道相关的炎症损伤,减少人肺支气管上皮细胞的死亡^[75]。总之,A1 和 D9 相比 AMP 抑制活性明显提升,并表现出一定的选择特异性。

综上所述,基于内源配体设计的化合物相比广谱离子通道调节剂选择性更高。然而,这些化合物也存在一些局限性:其中大部分化合物由于其极性基团的修饰分子极性较大,难以穿透细胞膜,而其结合位点位于细胞内部,且这些化合物

在细胞环境中易于分解。因此,这些化合物更适合作为机制探究的工具分子,用于开展体外相关研究。

3.2 基于内源配体结合位点的多肽抑制剂设计

基于对 TRPM2 结构及其动态门控机制的解析,有研究采用多肽设计方法,开发能够结合 TRPM2 通道中 ADPR 结构域的化合物,从而发挥竞争性抑制作用。

2016 年,研究人员设计出了由 34 个氨基酸组成的多肽 tat-M2NX,其中包括肽段 M2NX 和诱导跨膜肽段 tat^[76]。tat-M2NX 可以进入细胞内,与 TRPM2 通道的 NUDT9-H 结构域相互作用,阻碍 ADPR 对 TRPM2 通道的激活,且 tat-M2NX 的羧基端氨基酸 W33 和 V34 对 TRPM2 通道的抑制至关重要,其 IC₅₀ 约为 396 nmol/L^[25]。tat-M2NX 作为 TRPM2 通道抑制剂,抑制活性强、特异性高,但其制备成本高,同时具有免疫原性,递送方式较为局限。在药理作用研究方面,在年轻和老龄的成年雄性小鼠 MCAO 模型中,使用 tat-M2NX 均能明显减小脑区的梗死体积,发挥神经保护作用^[76]。与克霉唑比较,tat-M2NX 呈现出更长的治疗时间窗^[76]。此外,在幼年和成年小鼠心脏骤停/心肺复苏模型中,tat-M2NX 通过 TRPM2 通道依赖性的 GSK-3β 通路减轻了海马神经元的可塑性损伤和记忆缺陷^[77-78]。

总之,多肽类化合物对 TRPM2 通道具有较高的抑制活性,且选择特异性强,是研发前景较好的化合物。然而,与小分子 TRPM2 抑制剂比较,多肽类化合物往往会面临递送困难、制备成本高和免疫原性强等问题,限制了其在临床上的广泛应用。

4 基于高通量筛选的抑制剂开发

在已有化合物库基础上,采用标准化实验方法对化合物进行高通量筛选,也是发现 TRPM2 通道抑制剂的重要方法。

2017 年,Starkus 等^[22]通过对海洋衍生化合物库进行钙成像高通量筛选,从海洋生物海绵属中提取分离得到二倍半萜类天然产物 Scalaradial,具有较强的抑制 TRPM2 通道的作用,IC₅₀ 约为 210 nmol/L。然而,Scalaradial 对 TRPM2 通道的抑制作用是间接的,需要提前孵育才能发挥抑制作用,抑制作用随着孵育时间的延长及浓度的增加

而增强,但具体作用机制尚未阐明。在选择性方面,Scalaradial还可以抑制异源的TRPM7通道,但对钙释放激活钙通道、TRPM4和TRPV1通道无抑制作用^[22]。在药理作用研究中,Scalaradial能够抑制大鼠胰岛素瘤细胞系的内源性TRPM2通道电流^[22]。Scalaradial具有较强的抑制TRPM2通道的活性,且具有选择特异性,但其抑制作用不是直接的。

JNJ-28583113是研究人员利用钙成像高通量测定和膜片钳测试筛选到的一类具有血脑屏障通透性的TRPM2通道抑制剂^[26]。JNJ-28583113的抑制作用可逆,IC₅₀约为13 nmol/L,是迄今发现的可抑制TRPM2通道的活性最强的化合物。JNJ-28583113除了对TRPM5通道稍有抑制作用外,对其他TRP通道均无影响。JNJ-28583113可保护细胞免受氧化应激介导的细胞凋亡以及过氧化氢诱导的细胞形态变化。然而,JNJ-28583113在体内代谢速度过快,且代谢产物无抑制TRPM2通道的活性,不适合全身给药,需对其结构进一步优化^[26]。

高通量筛选作为TRPM2通道抑制剂的开发方式,可以发现较为新型的化合物骨架结构,对TRPM2通道抑制剂的研发具有重要意义。然而,由于化合物库庞大且抑制剂发现率较低,整体开发周期较长,这一方法通常需要投入大量的人力和物力。

5 基于天然抗氧化剂的抑制剂开发

TRPM2通道是氧化应激的感受器,许多天然抗氧化剂通过抑制TRPM2通道来发挥抗氧化作用。因此,可以通过对天然抗氧化剂的筛选来发现新的TRPM2通道抑制剂。

2015年,Kheradpezhough等^[79]从天然姜黄香料中提取获得了一种多酚化合物——姜黄素;姜黄素对TRPM2通道具有强抑制作用,IC₅₀约为42 nmol/L,抑制效果较为持久,但其抑制作用是间接的,在提前孵育后才能阻断ADPR对TRPM2通道的激活。在选择性方面,姜黄素不仅可以抑制TRPV1通道,还可以激活TRPA1通道^[80-81]。在药理作用方面,姜黄素可以抑制大鼠肝细胞中的TRPM2电流生成和钙离子浓度增加,从而减轻肝脏的氧化应激损伤,也可以减缓 γ 干扰素暴露所诱发的SH-SY5Y细胞炎症及凋亡,发挥神经保护

作用^[79, 82]。姜黄素对TRPM2通道具有较强的抑制活性,但抑制作用并不直接也不特异。此外,其他天然抗氧化剂如香芹酚、白藜芦醇等均具有抑制TRPM2通道的活性,但抑制活性较低^[83-84]。

尽管天然抗氧化剂来源的TRPM2通道抑制剂种类繁多且低毒,但其作用靶点较为广泛,特异性不强,因此作为TRPM2通道功能探究的化合物仍需要开展更深入的机制研究。

6 结 语

近年来研究表明,TRPM2通道与缺血再灌注损伤、炎症、癌症和神经退行性疾病等疾病的发生发展密切相关,成为干预上述疾病的新靶点,但其抑制剂的开发仍处于起步阶段。TRPM2通道的结构、门控调节机制和内源配体作用机制研究为其抑制剂的开发提供了重要基础,但目前还没有抑制剂进入临床试验阶段。各类代表性抑制剂的作用特点见附表1。早期开发获得的TRPM2通道抑制剂,如氯芬那酸、克霉唑、益康唑、ACA和2-APB等化合物抑制活性仍有待提升,且选择性较差。而8-Br-ADPR和8-Ph-2'-deoxy-ADPR等抑制剂则存在细胞膜渗透性差和稳定性欠佳等问题。截至目前,化合物JNJ-28583113抑制TRPM2通道的作用最强,但其代谢稳定性差,难以开展动物实验研究,后续可对该化合物进行结构改造,以期获得抑制效果更佳、稳定性更好的抑制剂。此外,多肽化合物tat-M2NX拥有较好的抑制活性和跨膜活性,但受限于递送困难和制备成本高昂。综上,目前已报道的TRPM2通道抑制剂数量依旧有限,结构多样性相对欠缺,尚需进一步开发抑制活性强、选择特异性高及跨膜活性良好、代谢稳定的新型TRPM2通道抑制剂。

基于已有抑制剂的结构改造以及基于通道开放机制开发的新型抑制剂均为获得TRPM2通道抑制剂的有效方法,A23的开发便是很好的案例。利用已有TRPM2通道抑制剂的骨架进行改造,往往可以在确保有效性的前提下,进一步提升抑制剂的抑制活性和选择特异性。在此思路下,利用多种已有抑制剂的骨架结构进行化合物结构融合改造,可以获得抑制活性更强的化合物。而基于通道开放机制开发的抑制剂则能有效靶向TRPM2通道,获得选择性更好的化合物,如化合物7i、8a极大避免了广谱活性的出现。

此外,随着计算机技术的发展,计算机辅助药物设计的应用大大加速了 TRPM2 通道抑制剂的设计和开发。目前采用基于配体的药物设计技术已经发现了 ZA18、A1 和 D9 等多种优选化合物,后继有望发现更多全新的 TRPM2 通道抑制剂骨架。基于结构的药物设计具有更高的准确性和开发效率。目前研究已报道的一些 TRPM2 通道高分辨结构增进了对 TRPM2 门控机制的理解,但其解析精度相对较低,构象变化并不明确,且大多数 TRPM2 通道抑制剂的作用机制和结合位点还不清楚,限制了基于结构的药物设计的应用^[31, 35, 85-86]。近年来,随着人、斑马鱼和海葵等不同物种 TRPM2 通道高分辨三维结构的解析,未来基于高分辨结构与基于结构的药物设计技术相结合的研究方法,有望开发更为高效且特异的 TRPM2 通道抑制剂,为以 TRPM2 为靶点的脑卒中等疾病干预提供候选药物。

本文附表见电子版。



志谢 研究得到国家自然科学基金(32371188)、浙江省自然科学基金(LY21C090004, LD24H090004)和“重大新药创制”国家科技重大专项(2018ZX09711001-004-005)支持

Acknowledgements This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (32371188), Natural Science Foundation of Zhejiang Province (LY21C090004, LD24H090004), and National Major Scientific and Technological Special Project for “Significant New Drugs Development” (2018ZX09711001-004-005)

医学伦理 研究不涉及人体或动物实验

Ethical Approval This article does not contain any studies with human participants or animals performed by any of the authors

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

Conflict of Interests The authors declare that there is no conflict of interests

©The author(s) 2025. This is an open access article under the CC BY-NC-ND 4.0 license (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>)

参考文献(References)

- [1] ZHANG M, MA Y, YE X, et al. TRP (transient receptor potential) ion channel family: structures, biological functions and therapeutic interventions for diseases [J]. *Signal Transduct Target Ther*, 2023, 8(1): 261.
- [2] CLAPHAM D E. TRP channels as cellular sensors[J]. *Nature*, 2003, 426(6966): 517-524.
- [3] WU L J, SWEET T B, CLAPHAM D E. International Union of Basic and Clinical Pharmacology. LXXVI. Current progress in the mammalian TRP ion channel family[J]. *Pharmacol Rev*, 2010, 62(3): 381-404.
- [4] VENKATACHALAM K, MONTELL C. TRP channels [J]. *Annu Rev Biochem*, 2007, 76: 387-417.
- [5] KOIVISTO A P, BELVISI M G, GAUDET R, et al. Advances in TRP channel drug discovery: from target validation to clinical studies[J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2022, 21(1): 41-59.
- [6] HARA Y, WAKAMORI M, ISHII M, et al. LTRPC2 Ca^{2+} -permeable channel activated by changes in redox status confers susceptibility to cell death[J]. *Mol Cell*, 2002, 9(1): 163-173.
- [7] SANO Y, INAMURA K, MIYAKE A, et al. Immunocyte Ca^{2+} influx system mediated by LTRPC2[J]. *Science*, 2001, 293(5533): 1327-1330.
- [8] UCHIDA K, TOMINAGA M. The role of TRPM2 in pancreatic β -cells and the development of diabetes[J]. *Cell Calcium*, 2014, 56(5): 332-339.
- [9] TAN C H, MCNAUGHTON P A. The TRPM2 ion channel is required for sensitivity to warmth[J]. *Nature*, 2016, 536(7617): 460-463.
- [10] WANG Q, LIU N, NI Y S, et al. TRPM2 in ischemic stroke: structure, molecular mechanisms, and drug intervention[J]. *Channels (Austin)*, 2021, 15(1): 136-154.
- [11] JIANG L H, LI X, SYED MORTADZA S A, et al. The TRPM2 channel nexus from oxidative damage to Alzheimer's pathologies: an emerging novel intervention target for age-related dementia[J]. *Ageing Res Rev*, 2018, 47: 67-79.
- [12] FERREIRA A, BRITTO L. The transient receptor potential melastatin 2: a new therapeutical target for Parkinson's disease?[J]. *Neural Regen Res*, 2023, 18(8): 1652-1656.
- [13] MILLER B A. TRPM2 in cancer[J]. *Cell Calcium*, 2019, 80: 8-17.
- [14] ALI E S, RYCHKOV G Y, BARRITT G J. TRPM2 non-selective cation channels in liver injury mediated by reactive oxygen species[J]. *Antioxidants (Basel)*, 2021, 10(8): 1243.
- [15] MALKO P, JIANG L H. TRPM2 channel-mediated cell death: an important mechanism linking oxidative stress-inducing pathological factors to associated pathological conditions[J]. *Redox Biol*, 2020, 37: 101755.

- [16] SITA G, HRELIA P, GRAZIOSI A, et al. TRPM2 in the brain: role in health and disease[J]. **Cells**, 2018, 7(7): 82.
- [17] TOGASHI K, INADA H, TOMINAGA M. Inhibition of the transient receptor potential cation channel TRPM2 by 2-aminoethoxydiphenyl borate (2-APB)[J]. **Br J Pharmacol**, 2008, 153(6): 1324-1330.
- [18] KRAFT R, GRIMM C, FRENZEL H, et al. Inhibition of TRPM2 cation channels by *N*-(*p*-amylcinnamoyl) anthranilic acid[J]. **Br J Pharmacol**, 2006, 148(3): 264-273.
- [19] HILL K, MCNULTY S, RANDALL A D. Inhibition of TRPM2 channels by the antifungal agents clotrimazole and econazole[J]. **Naunyn Schmiedeberg's Arch Pharmacol**, 2004, 370(4): 227-237.
- [20] CHEN G L, ZENG B, EASTMOND S, et al. Pharmacological comparison of novel synthetic fenamate analogues with econazole and 2-APB on the inhibition of TRPM2 channels[J]. **Br J Pharmacol**, 2012, 167(6): 1232-1243.
- [21] HILL K, BENHAM C D, MCNULTY S, et al. Flufenamic acid is a pH-dependent antagonist of TRPM2 channels[J]. **Neuropharmacology**, 2004, 47(3): 450-460.
- [22] STARKUS J G, POERZGEN P, LAYUGAN K, et al. Scalaradial is a potent inhibitor of transient receptor potential melastatin 2 (TRPM2) ion channels[J]. **J Nat Prod**, 2017, 80(10): 2741-2750.
- [23] MOREAU C, KIRCHBERGER T, SWARBRICK J M, et al. Structure-activity relationship of adenosine 5'-diphosphoribose at the transient receptor potential melastatin 2 (TRPM2) channel: rational design of antagonists[J]. **J Med Chem**, 2013, 56(24): 10079-10102.
- [24] LUO X, LI M, ZHAN K, et al. Selective inhibition of TRPM2 channel by two novel synthesized ADPR analogues[J]. **Chem Biol Drug Des**, 2018, 91(2): 552-566.
- [25] CRUZ-TORRES I, BACKOS D S, HERSON P S. Characterization and optimization of the novel transient receptor potential melastatin 2 antagonist tatM2NX[J]. **Mol Pharmacol**, 2020, 97(2): 102-111.
- [26] FOURGEAUD L, DVORAK C, FAOUZI M, et al. Pharmacology of JNJ-28583113: a novel TRPM2 antagonist[J]. **Eur J Pharmacol**, 2019, 853: 299-307.
- [27] ZHANG H, YU P, LIN H, et al. The discovery of novel ACA derivatives as specific TRPM2 inhibitors that reduce ischemic injury both *in vitro* and *in vivo*[J]. **J Med Chem**, 2021, 64(7): 3976-3996.
- [28] ZHANG H, LIU H, LUO X, et al. Design, synthesis and biological activities of 2, 3-dihydroquinazolin-4 (1H)-one derivatives as TRPM2 inhibitors[J]. **Eur J Med Chem**, 2018, 152: 235-252.
- [29] SUMOZA-TOLEDO A, PENNER R. TRPM2: a multi-functional ion channel for calcium signalling[J]. **J Physiol**, 2011, 589(Pt 7): 1515-1525.
- [30] HUANG Y, WINKLER P A, SUN W, et al. Architecture of the TRPM2 channel and its activation mechanism by ADP-ribose and calcium[J]. **Nature**, 2018, 562(7725): 145-149.
- [31] WANG L, FU T M, ZHOU Y, et al. Structures and gating mechanism of human TRPM2[J]. **Science**, 2018, 362(6421): eaav4809.
- [32] HUANG Y, FLIEGERT R, GUSE A H, et al. A structural overview of the ion channels of the TRPM family[J]. **Cell Calcium**, 2020, 85: 102111.
- [33] TONG Q, ZHANG W, CONRAD K, et al. Regulation of the transient receptor potential channel TRPM2 by the Ca²⁺ sensor calmodulin[J]. **J Biol Chem**, 2006, 281(14): 9076-9085.
- [34] PERRAUD A L, FLEIG A, DUNN C A, et al. ADP-ribose gating of the calcium-permeable LTRPC2 channel revealed by Nudix motif homology[J]. **Nature**, 2001, 411(6837): 595-599.
- [35] HUANG Y, ROTH B, LÜ W, et al. Ligand recognition and gating mechanism through three ligand-binding sites of human TRPM2 channel[J/OL]. **Elife**, 2019, 8: e50175.
- [36] KOLISEK M, BECK A, FLEIG A, et al. Cyclic ADP-ribose and hydrogen peroxide synergize with ADP-ribose in the activation of TRPM2 channels[J]. **Mol Cell**, 2005, 18(1): 61-69.
- [37] YU P, LIU Z, YU X, et al. Direct gating of the TRPM2 channel by cADPR via specific interactions with the ADPR binding pocket[J]. **Cell Rep**, 2019, 27(12): 3684-3695.e4.
- [38] WEHAGE E, EISFELD J, HEINER I, et al. Activation of the cation channel long transient receptor potential channel 2 (LTRPC2) by hydrogen peroxide. A splice variant reveals a mode of activation independent of ADP-ribose[J]. **J Biol Chem**, 2002, 277(26): 23150-23156.
- [39] GRUBISHA O, RAFTY L A, TAKANISHI C L, et al. Metabolite of SIR2 reaction modulates TRPM2 ion channel[J]. **J Biol Chem**, 2006, 281(20): 14057-14065.
- [40] FLIEGERT R, BAUCHE A, WOLF PÉREZ A M, et al. 2'-Deoxyadenosine 5'-diphosphoribose is an endogenous TRPM2 superagonist[J]. **Nat Chem Biol**, 2017, 13(9): 1036-1044.
- [41] TÓTH B, IORDANOV I, CSANÁDY L. Ruling out pyridine dinucleotides as true TRPM2 channel activators reveals novel direct agonist ADP-ribose-2'-phosphate[J]. **J Gen Physiol**, 2015, 145(5): 419-430.
- [42] BECK A, KOLISEK M, BAGLEY L A, et al. Nicotinic acid adenine dinucleotide phosphate and cyclic ADP-ribose regulate TRPM2 channels in T lymphocytes[J]. **FASEB J**, 2006, 20(7): 962-964.
- [43] MCHUGH D, FLEMMING R, XU S Z, et al. Critical intracellular Ca²⁺ dependence of transient receptor potential melastatin 2 (TRPM2) cation channel activation[J]. **J Biol Chem**, 2003, 278(13): 11002-11006.
- [44] YU X, XIE Y, ZHANG X, et al. Structural and functional basis of the selectivity filter as a gate in human TRPM2 channel[J]. **Cell Rep**, 2021, 37(7): 110025.

- [45] GUINAMARD R, SIMARD C, DEL NEGRO C. Flufenamic acid as an ion channel modulator[J]. **Pharmacol Ther**, 2013, 138(2): 272-284.
- [46] JIA J, VERMA S, NAKAYAMA S, et al. Sex differences in neuroprotection provided by inhibition of TRPM2 channels following experimental stroke[J]. **J Cereb Blood Flow Metab**, 2011, 31(11): 2160-2168.
- [47] SUN Y, SUKUMARAN P, SELVARAJ S, et al. TRPM2 promotes neurotoxin MPP⁺/MPTP-induced cell death [J]. **Mol Neurobiol**, 2018, 55(1): 409-420.
- [48] KLOSE C, STRAUB I, RIEHLE M, et al. Fenamates as TRP channel blockers: mefenamic acid selectively blocks TRPM3[J]. **Br J Pharmacol**, 2011, 162(8): 1757-1769.
- [49] JIANG H, ZENG B, CHEN G L, et al. Effect of non-steroidal anti-inflammatory drugs and new fenamate analogues on TRPC4 and TRPC5 channels[J]. **Biochem Pharmacol**, 2012, 83(7): 923-931.
- [50] MESEGUER V, KARASHIMA Y, TALAVERA K, et al. Transient receptor potential channels in sensory neurons are targets of the antimycotic agent clotrimazole[J]. **J Neurosci**, 2008, 28(3): 576-586.
- [51] NILIUS B, PRENEN J, VENNEKENS R, et al. Pharmacological modulation of monovalent cation currents through the epithelial Ca²⁺ channel ECaC1[J]. **Br J Pharmacol**, 2001, 134(3): 453-462.
- [52] MALKIA A, PERTUSA M, FERNÁNDEZ-BALLESTER G, et al. Differential role of the menthol-binding residue Y745 in the antagonism of thermally gated TRPM8 channels[J]. **Mol Pain**, 2009, 5: 62.
- [53] SHIMIZU T, MACEY T A, QUILLINAN N, et al. Androgen and PARP-1 regulation of TRPM2 channels after ischemic injury[J]. **J Cereb Blood Flow Metab**, 2013, 33(10): 1549-1555.
- [54] ROBERGE S, ROUSSEL J, ANDERSSON D C, et al. TNF- α -mediated caspase-8 activation induces ROS production and TRPM2 activation in adult ventricular myocytes[J]. **Cardiovasc Res**, 2014, 103(1): 90-99.
- [55] MCKAMEY S G, JIRA L R, TWEED C M, et al. Antagonism of the transient receptor potential melastatin-2 channel leads to targeted antitumor effects in primary human malignant melanoma cells[J]. **Int J Oncol**, 2022, 60(4): 43.
- [56] MATSUMOTO K, TAKAGI K, KATO A, et al. Role of transient receptor potential melastatin 2 (TRPM2) channels in visceral nociception and hypersensitivity [J]. **Exp Neurol**, 2016, 285(Pt A): 41-50.
- [57] HIROI T, WAJIMA T, NEGOTO T, et al. Neutrophil TRPM2 channels are implicated in the exacerbation of myocardial ischaemia/reperfusion injury[J]. **Cardiovasc Res**, 2013, 97(2): 271-281.
- [58] HARTENECK C, GOLLASCH M. Pharmacological modulation of diacylglycerol-sensitive TRPC3/6/7 channels[J]. **Curr Pharm Biotechnol**, 2011, 12(1): 35-41.
- [59] HARTENECK C, FRENZEL H, KRAFT R. *N*-(*p*-amylcinnamoyl) anthranilic acid (ACA): a phospholipase A² inhibitor and TRP channel blocker[J]. **Cardiovasc Drug Rev**, 2007, 25(1): 61-75.
- [60] GELDERBLOM M, MELZER N, SCHATTLING B, et al. Transient receptor potential melastatin subfamily member 2 cation channel regulates detrimental immune cell invasion in ischemic stroke[J]. **Stroke**, 2014, 45(11): 3395-3402.
- [61] ÇINAR R, NAZIROĞLU M. TRPM2 channel inhibition attenuates amyloid β_{42} -induced apoptosis and oxidative stress in the hippocampus of mice[J]. **Cell Mol Neurobiol**, 2023, 43(3): 1335-1353.
- [62] ÇAKIR M, TEKIN S, TAŞLIDERE A, et al. Protective effect of *N*-(*p*-amylcinnamoyl) anthranilic acid, phospholipase A² enzyme inhibitor, and transient receptor potential melastatin-2 channel blocker against renal ischemia-reperfusion injury[J]. **J Cell Biochem**, 2019, 120(3): 3822-3832.
- [63] XU S Z, ZENG F, BOULAY G, et al. Block of TRPC5 channels by 2-aminoethoxydiphenyl borate: a differential, extracellular and voltage-dependent effect[J]. **Br J Pharmacol**, 2005, 145(4): 405-414.
- [64] HU H Z, GU Q, WANG C, et al. 2-aminoethoxydiphenyl borate is a common activator of TRPV1, TRPV2, and TRPV3[J]. **J Biol Chem**, 2004, 279(34): 35741-35748.
- [65] DELMAS P, WANAVERBECQ N, ABOGADIE F C, et al. Signaling microdomains define the specificity of receptor-mediated InsP³ pathways in neurons[J]. **Neuron**, 2002, 34(2): 209-220.
- [66] LIEVREMONT J P, BIRD G S, PUTNEY J W. Mechanism of inhibition of TRPC cation channels by 2-aminoethoxydiphenylborane[J]. **Mol Pharmacol**, 2005, 68(3): 758-762.
- [67] PRAKRIYA M, LEWIS R S. Separation and characterization of currents through store-operated CRAC channels and Mg²⁺-inhibited cation (MIC) channels[J]. **J Gen Physiol**, 2002, 119(5): 487-507.
- [68] VAIDYA B, POLEPALI M, SHARMA S S, et al. 2-Aminoethoxydiphenyl borate ameliorates mitochondrial dysfunctions in MPTP/MPP⁺ model of Parkinson's disease[J]. **Mitochondrion**, 2023, 69: 95-103.
- [69] GAO G, WANG W, TADAGAVADI R K, et al. TRPM2 mediates ischemic kidney injury and oxidant stress through RAC1[J]. **J Clin Invest**, 2014, 124(11): 4989-5001.
- [70] NICHOLLS A, MCGAUGHEY G B, SHERIDAN R P, et al. Molecular shape and medicinal chemistry: a perspective[J]. **J Med Chem**, 2010, 53(10): 3862-3886.
- [71] ZHAO S, ZHANG H, JIN H, et al. Design, synthesis and biological activities of benzo[d]imidazo[1, 2-a]imidazole derivatives as TRPM2-specific inhibitors[J]. **Eur J Med Chem**, 2021, 225: 113750.
- [72] PARTIDA-SANCHEZ S, GASSER A, FLIEGERT R, et al. Chemotaxis of mouse bone marrow neutrophils and dendritic cells is controlled by adp-ribose, the major

- product generated by the CD38 enzyme reaction[J]. **J Immunol**, 2007, 179(11): 7827-7839.
- [73] FLIEGERT R, WATT J M, SCHÖBEL A, et al. Ligand-induced activation of human TRPM2 requires the terminal ribose of ADPR and involves Arg1433 and Tyr1349[J]. **Biochem J**, 2017, 474(13): 2159-2175.
- [74] BASZCZYŃSKI O, WATT J M, ROZEWITZ M D, et al. Synthesis of terminal ribose analogues of adenosine 5'-diphosphate ribose as probes for the transient receptor potential cation channel TRPM2[J]. **J Org Chem**, 2019, 84(10): 6143-6157.
- [75] WANG M, LI J, DONG S, et al. Silica nanoparticles induce lung inflammation in mice via ROS/PARP/TRPM2 signaling-mediated lysosome impairment and autophagy dysfunction[J]. **Part Fibre Toxicol**, 2020, 17(1): 23.
- [76] SHIMIZU T, DIETZ R M, CRUZ-TORRES I, et al. Extended therapeutic window of a novel peptide inhibitor of TRPM2 channels following focal cerebral ischemia [J]. **Exp Neurol**, 2016, 283(Pt A): 151-156.
- [77] DIETZ R M, CRUZ-TORRES I, ORFILA J E, et al. Reversal of global ischemia-induced cognitive dysfunction by delayed inhibition of TRPM2 ion channels[J]. **Transl Stroke Res**, 2020, 11(2): 254-266.
- [78] DIETZ R M, ORFILA J E, CHALMERS N, et al. Functional restoration following global cerebral ischemia in Juvenile mice following inhibition of transient receptor potential M2 (TRPM2) ion channels[J]. **Neural Plast**, 2021, 2021: 8774663.
- [79] KHERADPEZHOUEH E, BARRITT G J, RYCHKOV G Y. Curcumin inhibits activation of TRPM2 channels in rat hepatocytes[J]. **Redox Biol**, 2016, 7: 1-7.
- [80] YEON K Y, KIM S A, KIM Y H, et al. Curcumin produces an antihyperalgesic effect via antagonism of TRPV1[J]. **J Dent Res**, 2010, 89(2): 170-174.
- [81] LEAMY A W, SHUKLA P, MCALEXANDER M A, et al. Curcumin ((E, E)-1, 7-bis(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-1, 6-heptadiene-3, 5-dione) activates and desensitizes the nociceptor ion channel TRPA1[J]. **Neurosci Lett**, 2011, 503(3): 157-162.
- [82] GÜZEL M, NAZIROĞLU M, AKPINAR O, et al. Interferon gamma-mediated oxidative stress induces apoptosis, neuroinflammation, Zinc ion influx, and TRPM2 channel activation in neuronal cell line: modulator role of curcumin[J]. **Inflammation**, 2021, 44(5): 1878-1894.
- [83] NAZIROĞLU M. A novel antagonist of TRPM2 and TRPV4 channels: carvacrol[J]. **Metab Brain Dis**, 2022, 37(3): 711-728.
- [84] AKYUVA Y, NAZIROĞLU M. Resveratrol attenuates hypoxia-induced neuronal cell death, inflammation and mitochondrial oxidative stress by modulation of TRPM2 channel[J]. **Sci Rep**, 2020, 10(1): 6449.
- [85] YIN Y, WU M, HSU A L, et al. Visualizing structural transitions of ligand-dependent gating of the TRPM2 channel[J]. **Nat Commun**, 2019, 10(1): 3740.
- [86] ZHANG Z, TÓTH B, SZOLLOSI A, et al. Structure of a TRPM2 channel in complex with Ca^{2+} explains unique gating regulation[J/OL]. **Elife**, 2018, 7: e36409.

[本文编辑 沈 敏 沈 洁]

· 学术动态 ·

表观遗传抑制 $\beta 2$ -微球蛋白超级增强子下调人类白细胞抗原构建通用型间充质干细胞

2024年12月,浙江大学医学院/良渚实验室柳华、欧阳宏伟教授团队与浙江大学医学院附属第一医院邹晓晖研究员团队在《自然·生物工程》(*Nature Biomedical Engineering*)发表题为“Downregulating human leucocyte antigens on mesenchymal stromal cells by epigenetically repressing a $\beta 2$ -microglobulin super-enhancer”的论文(DOI: 10.1038/s41551-024-01264-w)。研究人员基于染色质免疫沉淀测序、RNA测序和CRISPR干扰,在人间充质干细胞(MSC)的 $\beta 2$ -微球蛋白(B2M)基因附近发现一个精准调控人类白细胞抗原(HLA)-I表达的促炎因子响应型超级增强子(SE)。一次表观遗传编辑抑制B2M-SE核心区域,可精准调控HLA-I表达量,让MSC处于免疫豁免状态,不会被T淋巴细胞和NK细胞清除,大幅提升同种异体移植存活率。该通用型细胞构建策略的优势在于:①调控过程无需敲除任何基因,也无需过表达任何基因,即无需改变HLA基因的DNA序列,大幅增加编辑后细胞的基因组稳定性和安全性;②调控靶点只有一个,表观抑制一步到位,极具简便性。该策略构建的细胞为同种异体细胞疗法提供了一种通用型种子细胞源,为进一步推动细胞治疗、造福于更多患者开辟蹊径。

浙江大学医学院/良渚实验室王飞博士、浙大城市学院医学院李然博士、浙江大学徐婧怡博士研究生等为论文第一作者。研究得到国家重点研发计划和国家自然科学基金支持。