瞬时受体电位 M2 型离子通道在神经系统疾病中的作用研究进展

应颖超, 江佩芳

浙江大学医学院附属儿童医院神经内科, 浙江 杭州 310052

[摘 要] 瞬时受体电位 M2 型(TRPM2)离子通道是可渗透钙离子的非选择性阳离子通道,在神经炎症、缺血再灌注脑损伤、神经退行性病变、神经病理性疼痛、癫痫等多种神经系统疾病中发挥重要作用。在缺血再灌注脑损伤中,TRPM2通过调节谷氨酸离子 N-甲基-D-天冬氨酸受体不同亚基、响应钙离子/锌离子信号,介导神经元死亡。在阿尔茨海默病中,TRPM2被 β -淀粉样肽生成的活性氧激活形成恶性正反馈循环诱导神经元死亡,并在胶质细胞中通过促进炎症反应和氧化应激参与其病理过程。在癫痫中,TRPM2基因敲除通过抑制自噬和凋亡相关蛋白,减轻癫痫引起的神经元变性。本文总结了近年来 TRPM2 通道在多种中枢神经系统疾病发病机制中的作用及其潜在的药物研发和临床应用前景。

[关键词] 瞬时受体电位 M2 型;神经系统疾病;缺血再灌注脑损伤;阿尔茨海默病;癫痫;青少年肌阵挛癫痫;综述

[中图分类号] R741 **[文献标志码]** A

Research progress on transient receptor potential melastatin 2 channel in nervous system diseases

YING Yingchao, JIANG Peifang (Department of Neurology, the Children's Hospital, Zhejiang University School of Medicine, Hangzhou 310052, China)

Corresponding author: JIANG Peifang, E-mail: jiangpeifang@zju.edu.cn, <https://orcid.org/0000-0001-7156-9358>

[Abstract] Transient receptor potential M2 (TRPM2) ion channel is a non-selective cationic channel that can permeate calcium ions, and plays an important role in neuroinflammation, ischemic reperfusion brain injury, neurodegenerative disease, neuropathic pain, epilepsy and other neurological diseases. In ischemic reperfusion brain injury, TRPM2 mediates neuronal death by modulating the different subunits of glutamate

收稿日期:2020-10-15 接受日期:2021-01-30

基金项目:国家自然科学基金(81671287)

第一作者:应颖超,硕士研究生,主要从事儿童神经系统疾病研究;E-mail:yyc123@zju.edu.cn; <https://orcid.org/0000-0002-0856-3962>

通信作者:江佩芳,主任医师,硕士生导师,主要从事儿童神经系统疾病研究;E-mail:jiangpeifang@zju.edu.cn; <https://orcid.org/0000-0001-7156-9358>

N-methyl-D-aspartic acid receptor in response to calcium/zinc signal. In Alzheimer's disease, TRPM2 is activated by reactive oxygen species generated by β -amyloid peptide to form a malignant positive feedback loop that induces neuronal death and is involved in the pathological process of glial cells by promoting inflammatory response and oxidative stress. In epilepsy, the TRPM2-knockout alleviates epilepsy induced neuronal degeneration by inhibiting autophagy and apoptosis related proteins. The roles of TRPM2 channel in the pathogenesis of various central nervous system diseases and its potential drug development and clinical application prospects are summarized in this review.

[**Key words**] Transient receptor potential melastain 2; Nervous system diseases; Ischemia-reperfusion brain injury; Alzheimer's disease; Epilepsy; Juvenile myoclonic epilepsy; Review

[J Zhejiang Univ (Med Sci), 2021, 50(2): 267-276.]

[**缩略语**] 瞬时受体电位 M2 型(transient receptor potential melastain 2, TRPM2); 谷氨酸离子受体 NMDAR 的亚基(glutamate ionotropic receptor NMDA type subunit, GluN); β 淀粉样蛋白(β -amyloid protein, A β); 糖原合成酶激酶(glycogen synthase kinase, GSK); 氧糖剥夺/再灌注(oxygen-glucose deprivation-reperfusion, OGD/R); N-(对戊基肉桂酰)邻氨基苯甲酸[N-(p-aminocinnamoyl) anthranilic acid, ACA]; 2-氨基乙酯二苯基硼酸(2-aminoethyl diphenylborate, 2-APB); 短发夹 RNA(short hair RNA, shRNA); N-甲基-D-天冬氨酸(N-Methyl-D-aspartic acid, NMDA); N-甲基-D-天冬氨酸受体(N-methyl-D-aspartate acid receptor, NMDAR); 蛋白激酶 B(protein kinase B, Akt); 胞外信号调节激酶(extracellular signal-regulated kinase, ERK); 突触后致密区(postsynaptic density, PSD); 促分裂原活化的蛋白激酶激酶(mitogen-activated protein kinase kinase, MAPKK); 磷脂酰肌醇 3-激酶(phosphoinositide 3-kinase, PI3K); 细胞内钙离子浓度(intracellular Ca^{2+} concentration, $[\text{Ca}^{2+}]_i$); 细胞内锌离子浓度(intracellular Zn^{2+} concentration, $[\text{Zn}^{2+}]_i$); 阿尔茨海默病(Alzheimer's disease, AD); 淀粉样前体蛋白(amyloid precursor protein, APP); 腺苷二磷酸核糖(adenosine diphosphate ribose, ADPR); 聚 ADPR 聚合酶[poly (ADP-ribose) polymerase-1, PARP]; 蛋白激酶 C(protein kinase C, PKC); 还原型烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸(nicotinamide adenine dinucleotide phosphate, NADPH); 自噬相关蛋白(autophagy related protein, ATG); BCL2/腺病毒 E1B 19KDa 相互作用蛋白(BCL2 / adenovirus E1B 19KDa interacting protein, BNIP); 凋亡诱导因子(apoptosis-inducing factor, AIF); 核酸内切酶 G(endonucleases G, Endo G); 青少年肌阵挛癫痫(juvenile myoclonic epilepsy, JME); EF 手形结构域蛋白(EF-hand domain-containing protein, EFHC); 趋化因子 CXC 亚家族配体(CXC subfamily ligand, CXCL)

TRPM2 是瞬时受体电位离子通道 M(褪黑素)亚家族的一员, 为可渗透钙离子的阳离子通道, 对氧化应激或活性氧具有较高的敏感性, 可作为氧化应激状态的传感器^[1]。近年来研究发现, TRPM2 通道在神经炎症、缺血再灌注脑损伤、神经退行性病变、神经病理性疼痛、癫痫、双相情感障碍、抑郁症等多种神经系统疾病中发挥重要作

用^[2-3]。TRPM2 通道在脑内大量表达, 尤其是海马^[4-6]、皮层^[7]、纹状体^[8]和黑质^[9-10], 这些脑区在学习、认知、记忆以及其他相关的神经功能方面都发挥重要作用。在中枢神经系统中, TRPM2 主要在神经元和胶质细胞中表达^[11-12]。在神经元中, TRPM2 通过 GluN、钙离子/锌离子信号、活性氧、A β_{42} 等参与调节神经元死亡或功能改变; 在胶质

细胞中,TRPM2通道通过炎症反应和氧化应激参与神经系统疾病的病理过程^[13-14]。另有研究发现,TRPM2缺失的小鼠表现出双相情感障碍相关的行为,并可检测到GSK-3磷酸化增加^[2-3];Ko等^[15]研究报道,TRPM2敲除的小鼠具有抗抑郁表型。因此,TRPM2可能可以作为治疗这些疾病的新靶点,探讨其分子机制有助于药物研发、治疗手段的发展。本文就TRPM2在缺血再灌注脑损伤、阿尔茨海默病、癫痫等神经系统疾病中相关机制的研究进展进行综述。

1 TRPM2通道介导缺血再灌注脑损伤的机制

啮齿动物模型和脑卒中患者的研究表明,短暂性缺血后的再灌注(以下简称缺血再灌注)会加重或导致进一步的脑损伤,促进认知功能障碍和其他神经功能缺陷的发展,损害脑卒中患者正常生活的能力^[16-17]。

研究人员首先在体外研究了TRPM2通道在缺血再灌注诱导的迟发性神经元死亡中的作用,发现在氧糖剥夺前和再灌注期间,用ACA、克霉唑、氟芬那酸、2-APB治疗可明显减少皮层和海马神经元的死亡,增强细胞活性^[18-19]。尽管这些抑制剂对TRPM2通道的特异性有限,但抑制TRPM2通道均可产生神经保护作用。此外感染慢病毒并表达TRPM2-shRNA,可使ODG/R诱导的皮层及海马神经元死亡减少^[18-20]。TRPM2基因敲除小鼠的皮层神经元死亡率明显低于野生型小鼠^[20]。研究者利用培养的神经元和脑组织切片,结合药理学和遗传学干预,发现TRPM2通道在介导缺血再灌注后迟发性神经元死亡中起重要作用。ALIM等^[21]利用TRPM2基因敲除小鼠发现,TRPM2通道在短暂缺血后的脑损伤中起重要作用,但在不进行再灌注的情况下不起作用^[21]。这种作用预示着TRPM2缺乏只能保护免受短暂性(继之于再灌注)缺血引起的脑损伤,而不能预防永久性(无再灌注)脑缺血损伤^[21-22]。

在神经元中,TRPM2通道通过两种不同的分子机制介导缺血再灌注脑损伤的迟发性神经元死亡^[21,23]。具体地说,含GluN2A的NMDAR介导的信号通路有神经保护作用,而含GluN2B的NMDAR介导的信号通路促进神经元死亡。在氧化还原调节过程中,与野生型小鼠相比,TRPM2基因敲除小鼠海马CA1神经元兴奋性增加,这是由

于TRPM2基因敲除小鼠的神经元选择性上调海马神经元GluN2A的表达,同时下调GluN2B的表达^[21]。研究人员进一步检测到TRPM2基因敲除小鼠经由Akt和ERK途径的GluN2A介导的生存信号转导增加,而GluN2B介导的死亡信号转导途径受损^[21,24]。TRPM2可以促进PSD-95表达,抑制NMDA受体GluN2A亚基。PSD-95负责将GluN2B转运到细胞表面并结合激活GluN2B。当PSD-95激活GluN2B时,细胞外钙离子内流,导致ERK1/2磷酸化受到抑制,从而促进细胞死亡。抑制GluN2A表达可减少突触钙离子内流,并阻止下游MAPKK和PI3K的激活,这两种激酶分别是ERK1/2和Akt磷酸化所必需的。Akt的磷酸化可以抑制促凋亡因子GSK-3 β 。这些观察结果提示,TRPM2通道激活可以抑制GluN2A介导的生存信号通路,增强GluN2B介导的死亡信号通路,从而导致神经元死亡^[21,23,25-26]。见图1。

短暂性缺血后 $[Ca^{2+}]_i$ 的异常增加对诱导迟发性神经元死亡至关重要^[27]。有证据表明,经TRPM2介导的 $[Ca^{2+}]_i$ 增加可导致培养的海马、纹状体和皮层神经元死亡^[9,28-29]。锌离子也是重要的酶协同因子,以其神经毒性而闻名。再灌注期间 $[Zn^{2+}]_i$ 增加对诱导迟发性神经元死亡十分重要^[30]。在接受OGD/R的小鼠脑片和接受双侧颈总动脉闭塞-再灌注的小鼠脑片中观察到,TRPM2基因敲除降低了海马锥体神经元 $[Zn^{2+}]_i$,减少了神经元的迟发性死亡。单细胞成像显示,氧糖剥夺期间野生型和TRPM2基因敲除海马神经元 $[Zn^{2+}]_i$ 增加是相同的,再灌注时 $[Zn^{2+}]_i$ 在野生型神经元中持续高表达,但在TRPM2基因敲除神经元中迅速下降,表明TRPM2通道在缺血后 $[Zn^{2+}]_i$ 增加中的独特作用^[23]。已知锌离子具有抑制线粒体功能并刺激线粒体活性氧生成的功能^[31]。TRPM2基因敲除小鼠在双侧颈总动脉闭塞-再灌注处理后海马中活性氧生成明显减少。基于这些观察结果,Ye等^[23]提出了以下假设:缺血后TRPM2通道被激活,引起 $[Zn^{2+}]_i$ 增加, $[Zn^{2+}]_i$ 作用于线粒体,引起线粒体功能障碍和线粒体活性氧的生成,并最终导致神经元死亡。此外,一项对人类SH-SY5Y神经母细胞瘤细胞的研究也发现,活性氧诱导的神经元细胞死亡呈明显的迟发性,并且依赖于TRPM2通道激活和 $[Zn^{2+}]_i$ 增加^[32]。以上研究结果提示,活性氧诱导的TRPM2通道激活

TRPM2的表达可以促进PSD-95表达,抑制NMDA受体GluN2A亚基;当PSD-95激活GluN2B时,细胞外钙离子内流,导致ERK1/2磷酸化受到抑制,从而促进细胞死亡;抑制GluN2A表达可减少突触钙离子内流,并阻止下游MAPKK和PI3K的激活;Akt的磷酸化可以抑制促凋亡因子GSK-3 β 。实线箭头代表激活,虚线箭头代表减弱,虚线T型线代表抑制,空心箭头向上代表增加,空心箭头向下代表减少。TRPM2:瞬时受体电位M2型;GluN:谷氨酸离子受体NMDAR的亚基;PSD:突触后致密区;ERK:胞外信号调节激酶;MAPKK:促分裂原活化的蛋白激酶激酶;PI3K:磷脂酰肌醇3-激酶;Akt:蛋白激酶B;GSK:糖原合成酶激酶。

图1 N-甲基-D-天冬氨酸受体相关TRPM2通道介导缺血再灌注脑损伤的机制

Figure 1 The mechanism of NMDAR-related TRPM2 channels mediating ischemic reperfusion brain injury

可启动延迟性神经元死亡的恶性正反馈信号,但需更多有力的证据进一步证明。

2 TRPM2通道在AD中的作用机制

AD是年龄相关的神经退行性疾病,患病率随年龄增长而增加^[33]。AD的发生与蛋白质错误折叠相关,可能由大脑中淀粉样蛋白和tau蛋白异常折叠的斑块积聚引起^[34]。淀粉样斑块和神经原纤维缠结是AD的两大神经病理特点。淀粉样斑块由39~43个氨基酸的小肽组成,称为A β ,是较大的APP片段。APP是一种能穿透神经元细胞膜的跨膜蛋白,对神经元的生长、存活和损伤后修复至关重要。神经原纤维缠结是微管相关蛋白tau的聚集物,这些蛋白已经过度磷酸化并在细胞内部积累,分解神经元的运输系统^[35-36]。广泛认可的淀粉样级联假说认为,由于遗传和环境因素以及衰老进程,A β 的生成增加或清除减少,导致A β 积聚,是直接导致神经元死亡和引发慢性炎症、神经纤维缠结的形成和其他对神经元有害的病理变化的早期事件^[13,37-38]。该假说得到了临床

前和临床研究的有力支持,但仍然存在不少争论,主要是因为靶向A β 生成、聚集或清除作为一种药物开发策略,迄今还没有发现任何有效的缓解AD的治疗方案^[39]。目前迫切需要更好地理解AD发病和进展的复杂机制。

APP/PS1双转基因小鼠可表达突变的人类早老素DeltaE9和人鼠淀粉样前蛋白融合体,这两个基因的表达都由小鼠朊病毒蛋白启动子启动。人类DeltaE9突变是由其第九个外显子缺失产生,可导致早发性老年痴呆症^[40]。APP/PS1小鼠在老年大脑的海马和皮层中表现出A β 和淀粉样沉积的过度生成,是研究A β 诱导的AD发病机制的广泛应用模型^[13]。多项研究发现A β 集聚引起的突触活性紊乱和神经元死亡与氧化应激的增加和钙渗透性阳离子通道异常活动相关^[14,41-42]。

2.1 TRPM2通道在A β ₄₂诱导神经元死亡中的作用

在海马锥体神经元中,细胞内ADPR诱导的TRPM2激活必须通过电压门控或NMDAR门控的钙离子通道使钙离子进入细胞内^[43]。巧合的

是, $A\beta$ 可以迅速与兴奋性突触紧密结合, 并通过异常的 NMDAR 刺激引起钙离子失调。有研究表明, 美金刚通过拮抗 TRPM2 通道从而在 $A\beta$ 诱导的 AD 模型中发挥对海马神经元的神经保护作用^[44], 因而推测 $A\beta$ 与 TRPM2 通道具有一定关联性。Ostapchenko 等^[14] 将培养的海马神经元用 $A\beta$ 低聚物处理 24 h 以诱导神经元死亡, 发现 $A\beta$ 低聚物处理组中 NMDA 诱导的 TRPM2 电流增大, TRPM2 电流的振幅和密度增加。这表明 $A\beta$ 低聚物可通过重复 NMDAR 刺激产生 ADPR 依赖性 TRPM2 电流。研究人员将 *TRPM2*^{-/-} 与 *APP/PS1* 杂交后代后, 得到 4 种基因型的小鼠 (野生型、*TRPM2*^{-/-}、*APP/PS1*、*TRPM2*^{-/-}/*APP/PS1*)。研究发现, TRPM2 缺失并没有改变 *APP/PS1* 小鼠中 $A\beta$ 的产生, 但它减少了 $A\beta$ 低聚物的数量, 特别是三聚体和四聚体, 这可能会降低 $A\beta$ 的突触毒性^[14]。进一步研究表明, 与单纯的 *APP/PS1* 小鼠相比, *TRPM2*^{-/-}/*APP/PS1* 小鼠大脑中内质网的应激水平降低、没有明显的淀粉样蛋白沉积变化、小胶质细胞激活减少, 可预防突触丢失、年龄相关的认知障碍以及空间记忆缺陷^[13-14]。这些结果为 TRPM2 通道在 AD 发病机制中发挥关键作用提供了有力证据。

Li 等^[6] 研究揭示了多种分子机制参与的 $A\beta_{42}$ 诱导 TRPM2 依赖的海马神经毒性正反馈环路。他们发现, 相比野生型小鼠, 暴露于 1 $\mu\text{mol/L}$ $A\beta_{42}$ 下 *TRPM2* 基因敲除小鼠海马神经元死亡明显减少。此外, 野生型小鼠神经元中 $A\beta_{42}$ 诱导的神经毒性可被 TRPM2 通道抑制剂 (2-APB、ACA)、PARP-1 抑制剂 (PJ34 或 DPQ) 强烈抑制或减轻。单细胞成像显示, $A\beta_{42}$ 可诱导产生溶酶体功能异常, $[\text{Zn}^{2+}]_i$ 升高, 线粒体锌离子积累, 线粒体功能丧失, 并导致线粒体内活性氧大量生成。并且, *TRPM2* 基因敲除、TRPM2 抑制剂、PARP-1 抑制剂和锌离子螯合剂 TPEN 均可以不同程度地抑制 $A\beta_{42}$ 诱导产生的溶酶体、线粒体功能异常以及 $[\text{Zn}^{2+}]_i$ 升高。此外, PKC 和 NADPH 氧化酶抑制剂、MAPKK/ERK 抑制剂也能抑制 $A\beta_{42}$ 诱导的溶酶体和线粒体神经毒性^[14]。上述发现提示, PKC/NADPH 氧化酶介导的活性氧生成和随后 TRPM2 通道介导的钙离子内流以及 MAPKK/ERK 和 PARP-1 的激活, 可促进 TRPM2 通道激活, 并介导了 $A\beta_{42}$ 诱导的海马神经元死亡。

2.2 TRPM2 通道在 AD 胶质细胞活化中的作用

在神经系统中, TRPM2 通道除了在神经元上表达, 在胶质细胞中也有表达, 特别是星形胶质细胞和小胶质细胞。越来越多的证据表明, 神经退行性疾病的病理生理与小胶质细胞密切相关, 小胶质细胞产生神经毒性因子 (如促炎性细胞因子和一氧化氮) 导致神经元变性以及炎症反应^[45-46]。多项研究表明, 胶质细胞参与 AD 发病可能与 TRPM2 通道有关, 胶质细胞中的 TRPM2 通道通过炎症反应和氧化应激参与 AD 的病理过程^[47]。TRPM2 通道的钙离子内流与小胶质细胞和星形胶质细胞内谷胱甘肽水平的变化有关^[48]。抑制谷胱甘肽生物合成引起的氧化应激可诱导小胶质细胞和星形胶质细胞分泌毒性物质, 刺激其释放肿瘤坏死因子 α 、白介素-6 和亚硝酸盐离子, 并增加小胶质细胞和星形胶质细胞的 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 。这些作用与 p38 丝裂原活化蛋白激酶、c-Jun 氨基末端激酶、核因子 κB 等炎症信号的激活有关^[48]。药物阻断或基因敲除胶质细胞中的 TRPM2 可减弱上述炎症信号表达^[47-48]。

谷胱甘肽在神经元氧化防御中起重要作用。在 AD 的病理过程中, 随着年龄增长, 谷胱甘肽逐渐下降^[49]。在年老的培养神经元中检测到的 TRPM2 电流增加可以被谷胱甘肽逆转。Belrose 等^[5] 研究发现, 体外海马锥体神经元进行全细胞电压钳记录时, 在 TRPM2 mRNA 没有改变的情况下, TRPM2 电流随着时间增加而增加, 而增加谷胱甘肽浓度可显著抑制 TRPM2 电流。进一步研究发现, 谷胱甘肽主要以硫醇非依赖的方式抑制 TRPM2 电流, 其还原能力与 TRPM2 电流变化无关, 而谷胱甘肽是否充当通道阻滞剂, 通过竞争 ADPR 结合位点或与 ADPR 结合而干扰 TRPM2 电流尚需进一步研究^[5, 49]。

上述研究结果表明, TRPM2 通道缺失对 AD 病理具有保护作用, 可能通过激活小胶质细胞作为脑内清道夫来实现, 具体机制有待于用特异性敲除 *TRPM2* 基因的胶质细胞进一步研究。

3 TRPM2 通道在癫痫发展中的作用机制

癫痫是最常见的大脑疾病之一, 其病理过程与离子通道密切相关, 尤其是钙离子通道。研究表明, 儿童失神癫痫与钙离子通道突变有关, 这种突变诱导更多的钙内流, 同时增强谷氨酸能突触

的传递^[50-51]。TRPM2通道是可渗透钙离子的阳离子通道,参与GluN2A和GluN2B的表达调控^[21,24],而NMDAR尤其是GluN2A与癫痫密切相关。在OMIM数据库(<https://www.omim.org/>)中,GluN2A被列为伴有语言障碍的局灶性癫痫的致病基因^[52-53],提示TRPM2与癫痫之间可能存在相关性。虽然有研究表明TRPM2基因敲除小鼠表现出学习和记忆障碍以及神经元内在兴奋性增强^[54],但TRPM2参与癫痫发生发展的具体分子机制还有待探索。

最新一项研究结果显示,野生型小鼠癫痫发作后海马组织中Beclin-1和ATG5上调,而TRPM2基因敲除显著降低Beclin-1和ATG5蛋白表达^[55],提示TRPM2基因敲除减少了Beclin-1和ATG5途径中的过度自噬,可能有助于预防癫痫引起的神经元变性。同时,该研究通过旷场、新事物识别和Y迷宫等行为学实验,发现TRPM2基因敲除可缓解毛果芸香碱诱发的癫痫模型的情绪障碍和认知障碍^[55]。

另有研究表明,TRPM2对癫痫的作用机制可能受皮层神经元中PARP-1/BNIP3/AIF/Endo G信号通路的影响^[56-58]。TRPM2缺乏的癫痫小鼠中炎症介质(白介素-1 β 、白介素-6、肿瘤坏死因子 α)的生成和凋亡相关蛋白(BNIP3、AIF、Endo G)的表达减少^[59]。

JME是一种常见的特发性全面性癫痫综合征。已有研究证实EFHC1基因与JME密切相关^[60-62]。TRPM2和EFHC1在海马神经元和心室细胞中共同表达,TRPM2的氨基和羧基端胞质区与EFHC1蛋白存在物理相互作用^[63]。TRPM2和EFHC1共表达显著增强了HEK293细胞中过氧化氢的表达,并通过重组TRPM2介导了钙离子电流^[60,63]。此外,EFHC1可增强TRPM2介导的HEK293细胞对过氧化氢诱导的细胞死亡的易感性,而JME中EFHC1突变可逆转这种易感性^[63]。这些结果揭示了EFHC1对TRPM2活性的正调控作用,提示TRPM2通过介导EFHC1突变对包括细胞死亡在内的生物过程的破坏而影响JME表型^[60-63]。

4 TRPM2通道在其他神经系统疾病发展中的作用机制

除了以上三种神经系统疾病外,TRPM2对其

他神经系统疾病的影响也不容忽视。遗传学研究发现,在双相情感障碍患者中常发现TRPM2基因突变^[3,64]。TRPM2缺陷型小鼠表现出与双相情感障碍有关的行为,如焦虑增加、社交反应减少,并且在TRPM2缺陷型小鼠的大脑中检测到GSK-3显著增加,这是双相情感障碍样行为的关键因素。相反,激活TRPM2可通过钙调磷酸酶诱导GSK-3的去磷酸化^[3]。因此,TRPM2基因突变会导致过度的GSK-3磷酸化,从而产生双相情感障碍样行为^[3]。这可能解释了TRPM2突变与双相情感障碍之间的遗传联系背后的长期病因机制。

最近研究表明,TRPM2可能在脊髓损伤和神经性疼痛中起作用^[65]。在神经疼痛模型中,坐骨神经损伤后TRPM2 mRNA升高,与野生型小鼠相比,TRPM2基因敲除小鼠显示出免疫反应减弱,机械性异常性疼痛和热痛觉过敏减弱,表明TRPM2在神经性疼痛中有作用^[65]。TRPM2基因敲除小鼠还抑制了神经损伤后的小胶质细胞活化,TRPM2缺乏会减少嗜中性粒细胞浸润和CXCL2产生^[66]。

此外,在肌萎缩侧索硬化和帕金森病中也发现了TRPM2的单核苷酸多态性^[65,67]。TRPM2通道还参与了NMDA诱导的黑质网状部 γ -氨基丁酸能神经元的爆发式放电^[68],提示TRPM2可能参与帕金森病的病理生理过程。

5 结 语

综上所述,TRPM2通道在神经系统疾病中具有重要作用。虽然TRPM2引起疾病的原因和作用不同,但在缺血再灌注脑损伤、AD中TRPM2都通过相似的路径(产生活性氧、激活TRPM2、引起钙离子内流、溶酶体功能障碍释放锌离子、线粒体内锌离子增加、导致线粒体功能障碍、释放活性氧、形成恶性正反馈循环)引起神经元细胞死亡(图2)。基于这条通路研发相关治疗药物,可能会起到事半功倍的效果。

双相情感障碍和缺血再灌注脑损伤中均发现了GSK-3与TRPM2的联系。TRPM2缺乏导致过度的GSK-3磷酸化,从而产生双相情感障碍样行为;而在缺血再灌注脑损伤中,TRPM2缺乏导致GSK-3 β 被抑制,对神经元反而有保护作用。结果提示,不同疾病中TRPM2可能存在双重作用,应针对不同的疾病、不同的需求对症下药。

不同类型神经系统疾病(缺血再灌注脑损伤、阿尔茨海默病)中,由于活性氧生成,激活 TRPM2,引起钙离子内流;溶酶体功能障碍释放钙离子,线粒体内钙离子增加,导致线粒体功能障碍,释放活性氧,形成恶性正反馈循环,导致神经元死亡。其中,大量活性氧可导致 DNA 损伤并激活 PARP 和 PARG;PARP 和 PARG 通过协同作用将烟酰胺腺嘌呤二核苷酸转化为 ADPR 的聚合物,随后将其降解为 ADPR 单体;ADPR 单体充当细胞内配体激活 TRPM2 通道。实线箭头代表激活,虚线代表解释说明。TRPM2:瞬时受体电位 M2 型;ADPR:腺苷二磷酸核糖;PARP:聚 ADPR 聚合酶;PARG:聚 ADPR 糖水解酶。

图 2 不同类型神经系统疾病中 TRPM2 引发神经元死亡的共同机制

Figure 2 Common mechanisms of neuronal death induced by TRPM2 in different types of neurological diseases

此外,对于其他神经系统疾病(如癫痫、帕金森病、双相情感障碍等),仍然存在尚未发现的 TRPM2 相关的细胞凋亡或发病机制。除了神经元死亡,还存在很多不同的病理以及病理生理改变,如中性粒细胞浸润、CXCL2 产生、GSK-3 磷酸化、肿瘤坏死因子 α 分泌等,TRPM2 都不同程度地参与其中并引起相应的疾病变化。针对这些因素和靶点研发的药物极有可能可以改善相应疾病的病理,延缓疾病进展,改善患者预后。

不可否认,TRPM2 通道是一个有效的新靶点,可用于研发减轻与缺血性脑卒中有关的脑损伤、神经退行性疾病、癫痫、疼痛等神经系统疾病的治疗方法。未来的研究将扩展到其他表达 TRPM2 的细胞类型,并可能通过 ADPR、钙离子和 TRPM2 门控的其他介质,找到分子途径或信号通路调控 TRPM2。此外,TRPM2 的潜在拮抗剂和可活化 TRPM2 特定通路蛋白的抑制剂也具有调节钙依赖性细胞功能的潜力。这些物质可以通过 TRPM2 的不同分子途径作用于相关疾病的病理生理过程。在分子水平上进一步深入探索,更

深刻细致地了解这些疾病的发生发展过程、病理生理机制,对于研发针对 TRPM2 通道的治疗策略至关重要。

利益冲突:所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] MALKO P, SYED MORTADZA S A, MCWILLIAM J, et al. TRPM2 channel in microglia as a new player in neuroinflammation associated with a spectrum of central nervous system pathologies[J]. *Front pharmacol*, 2019, 10: 239.
- [2] XIE Y F, BELROSE J C, LEI G, et al. Dependence of NMDA/GSK-3 β mediated metaplasticity on TRPM2 channels at hippocampal CA3-CA1 synapses[J]. *Mol Brain*, 2011, 4(1): 44.
- [3] JANG Y, LEE S H, LEE B, et al. TRPM2, a susceptibility gene for bipolar disorder, regulates glycogen synthase kinase-3 activity in the brain[J]. *J Neurosci*, 2015, 35(34): 11811-11823.
- [4] BAI J Z, LIPSKI J. Differential expression of TRPM2 and TRPV4 channels and their potential role in oxidative stress-induced cell death in organotypic hippocampal culture[J]. *NeuroToxicology*, 2010, 31(2): 204-214.
- [5] BELROSE J C, XIE Y F, GIERSZEWSKI L J, et al. Loss of glutathione homeostasis associated with neuronal senescence facilitates TRPM2 channel activation in cultured hippocampal pyramidal neurons[J]. *Mol Brain*, 2012, 5(1): 11.
- [6] LI X, JIANG L H. Multiple molecular mechanisms form a positive feedback loop driving amyloid β 42 peptide-induced neurotoxicity via activation of the TRPM2 channel in hippocampal neurons[J]. *Cell Death Dis*, 2018, 9(2): 195.
- [7] KANEKO S, KAWAKAMI S, HARA Y, et al. A critical role of TRPM2 in neuronal cell death by hydrogen peroxide[J]. *J Pharmacol Sci*, 2006, 101(1): 66-76.
- [8] HILL K, TIGUE N J, KELSELL R E, et al. Characterisation of recombinant rat TRPM2 and a TRPM2-like conductance in cultured rat striatal neurones[J]. *Neuropharmacology*, 2006, 50(1): 89-97.
- [9] SUN Y, SUKUMARAN P, SELVARAJ S, et al. TRPM2 and a TRPM2-like conductance in cultured rat striatal neurones[J]. *Mol Neurobiol*, 2018, 55(1): 409-420.
- [10] CHUNG K K H, FREESTONE P S, LIPSKI J. Expression and functional properties of TRPM2 channels in dopaminergic neurons of the substantia nigra of the rat[J]. *J NeuroPhysiol*, 2011, 106(6): 2865-2875.

- [11] KRAFT R, GRIMM C, GROSSE K, et al. Hydrogen peroxide and ADP-ribose induce TRPM2-mediated calcium influx and cation currents in microglia[J]. *Am J Physiol-Cell Physiol*, 2004, 286(1): C129-C137.
- [12] SMITH M A, HERSON P S, LEE K, et al. Hydrogen peroxide and ADP-ribose induce TRPM2-mediated calcium influx and cation currents in microglia[J]. *J Physiol*, 2003, 547(2): 417-425.
- [13] 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.
- [14] OSTAPCHENKO V G, CHEN M, GUZMAN M S, et al. The transient receptor potential melastatin 2 (TRPM2) channel contributes to β -amyloid oligomer-related neurotoxicity and memory impairment[J]. *J Neurosci*, 2015, 35(45): 15157-15169.
- [15] KO S Y, WANG S E, LEE H K, et al. Transient receptor potential melastatin 2 governs stress-induced depressive-like behaviors[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2019, 116(5): 1770-1775.
- [16] KURINCZUK J J, WHITE-KONING M, BADAWI N. Epidemiology of neonatal encephalopathy and hypoxic-ischaemic encephalopathy[J]. *Early Hum Dev*, 2010, 86(6): 329-338.
- [17] MILLAR L J, SHI L, HOERDER-SUABEDISSEN A, et al. Neonatal hypoxia ischaemia: mechanisms, models, and therapeutic challenges[J]. *Front Cell Neurosci*, 2017, 11: 78.
- [18] 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.
- [19] VERMA S, QUILLINAN N, YANG Y F, et al. TRPM2 channel activation following *in vitro* ischemia contributes to male hippocampal cell death[J]. *NeuroSci Lett*, 2012, 530(1): 41-46.
- [20] 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.
- [21] ALIM I, TEVES L, LI R, et al. Modulation of NMDAR subunit expression by TRPM2 channels regulates neuronal vulnerability to ischemic cell death[J]. *J Neurosci*, 2013, 33(44): 17264-17277.
- [22] SYED MORTADZA S A, WANG L, LI D, et al. TRPM2 channel-mediated ROS-sensitive Ca^{2+} signaling mechanisms in immune cells[J]. *Front Immunol*, 2015, 6: 407.
- [23] YE M, YANG W, AINSCOUGH J F, et al. TRPM2 channel deficiency prevents delayed cytosolic Zn^{2+} accumulation and CA1 pyramidal neuronal death after transient global ischemia[J/OL]. *Cell Death Dis*, 2014, 5(11): e1541.
- [24] ZHAN K, YU P, LIU C, et al. Detrimental or beneficial: the role of TRPM2 in ischemia/reperfusion injury[J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2016, 37(1): 4-12.
- [25] LAI T W, ZHANG S, WANG Y T. Excitotoxicity and stroke: identifying novel targets for neuroprotection [J]. *Prog NeuroBiol*, 2014, 115: 157-188.
- [26] MAI C, MANKOO H, WEI L, et al. TRPM2 channel: A novel target for alleviating ischaemia-reperfusion, chronic cerebral hypo-perfusion and neonatal hypoxic-ischaemic brain damage[J]. *J Cell Mol Med*, 2020, 24(1): 4-12.
- [27] ELTZSCHIG H K, ECKLE T. Ischemia and reperfusion—from mechanism to translation[J]. *Nat Med*, 2011, 17(11): 1391-1401.
- [28] 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.
- [29] LI X, YANG W, JIANG L H. Alteration in Intracellular Zn^{2+} homeostasis as a result of TRPM2 channel activation contributes to ROS-induced hippocampal neuronal death[J]. *Front Mol Neurosci*, 2017, 10: 414.
- [30] STORK C J, LI Y V. Rising zinc: a significant cause of ischemic neuronal death in the CA1 region of rat hippocampus[J]. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2009, 29(8): 1399-1408.
- [31] SHUTTLEWORTH C W, WEISS J H. Zinc: new clues to diverse roles in brain ischemia[J]. *Trends Pharmacol Sci*, 2011, 32(8): 480-486.
- [32] LI X, JIANG L H. A critical role of the transient receptor potential melastatin 2 channel in a positive feedback mechanism for reactive oxygen species-induced delayed cell death[J]. *J Cell Physiol*, 2019, 234(4): 3647-3660.
- [33] ERKKINEN M G, KIM M O, GESCHWIND M D. Clinical neurology and epidemiology of the major neurodegenerative diseases[J]. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 2018, 10(4): a033118.
- [34] HASHIMOTO M, ROCKENSTEIN E, CREWS L, et al. Role of protein aggregation in mitochondrial dysfunction and neurodegeneration in Alzheimer's and Parkinson's diseases[J]. *Neuromolecular Med*, 2003, 4(1-2): 21-36.
- [35] TIRABOSCHI P, HANSEN L A, THAL L J, et al. The importance of neuritic plaques and tangles to the development and evolution of AD[J]. *Neurology*,

- 2004, 62(11): 1984-1989.
- [36] BOURAS C, HOF P R, GIANNAKOPOULOS P, et al. Regional distribution of neurofibrillary tangles and senile plaques in the cerebral cortex of elderly patients: a quantitative evaluation of a one-year autopsy population from a geriatric hospital[J]. *Cereb Cortex*, 1994, 4(2): 138-150.
- [37] BACHURIN S O, BOVINA E V, USTYUGOV A A. Drugs in clinical trials for Alzheimer's disease: the major trends[J]. *Med Res Rev*, 2017, 37(5): 1186-1225.
- [38] BLENNOW K, ZETTERBERG H. Biomarkers for Alzheimer's disease: current status and prospects for the future[J]. *J Intern Med*, 2018, 284(6): 643-663.
- [39] SELKOE D J, HARDY J. The amyloid hypothesis of Alzheimer's disease at 25 years[J]. *EMBO Mol Med*, 2016, 8(6): 595-608.
- [40] JANKOWSKY J L, XU G, FROMHOLT D, et al. Environmental enrichment exacerbates amyloid plaque formation in a transgenic mouse model of Alzheimer disease[J]. *J Neuropathol Exp Neurol*, 2003, 62(12): 1220-1227.
- [41] DE FELICE F G, VELASCO P T, LAMBERT M P, et al. Abeta oligomers induce neuronal oxidative stress through an N-methyl-D-aspartate receptor-dependent mechanism that is blocked by the Alzheimer drug memantine[J]. *J Biol Chem*, 2007, 282(15): 11590-11601.
- [42] LAFERLA F M. Calcium dyshomeostasis and intracellular signalling in Alzheimer's disease[J]. *Nat Rev Neurosci*, 2002, 3(11): 862-872.
- [43] OLAH M E, JACKSON M F, LI H, et al. Ca^{2+} -dependent induction of TRPM2 currents in hippocampal neurons[J]. *J Physiol*, 2009, 587(5): 965-979.
- [44] ÖVEY S, NAZİROLU M. Effects of homocysteine and memantine on oxidative stress related TRP cation channels in *in-vitro* model of Alzheimer's disease[J]. *J Receptor Signal Transduct*, 2021, 41(3): 273-283.
- [45] REGEN F, HELLMANN-REGEN J, COSTANTINI E, et al. Neuroinflammation and Alzheimer's disease: implications for microglial activation[J]. *Curr Alzheimer Res*, 2017, 14(11): 1140-1148.
- [46] AHMAD M H, FATIMA M, MONDAL A C. Influence of microglia and astrocyte activation in the neuroinflammatory pathogenesis of Alzheimer's disease: Rational insights for the therapeutic approaches[J]. *J Clin Neurosci*, 2019, 59: 6-11.
- [47] WANG J, JACKSON M F, XIE Y F. Glia and TRPM2 channels in plasticity of central nervous system and Alzheimer's diseases[J]. *Neural Plast*, 2016, 2016: 1680905.
- [48] LEE M, CHO T, JANTARATNOTAI N, et al. Depletion of GSH in glial cells induces neurotoxicity: relevance to aging and degenerative neurological diseases[J]. *FASEB J*, 2010, 24(7): 2533-2545.
- [49] SAHARAN S, MANDAL P K. The emerging role of glutathione in Alzheimer's disease[J]. *J Alzheimer Dis*, 2014, 40(3): 519-529.
- [50] CALHOUN J D, HUFFMAN A M, BELLINSKI I, et al. *CACNA1H* variants are not a cause of monogenic epilepsy[J]. *Human Mutat*, 2020, 41(6): 1138-1144.
- [51] DANIIL G, FERNANDES-ROSA F L, CHEMIN J, et al. *CACNA1H* mutations are associated with different forms of primary aldosteronism[J]. *EBioMedicine*, 2016, 13: 225-236.
- [52] LEMKE J R, LAL D, REINTHALER E M, et al. Mutations in *GRIN2A* cause idiopathic focal epilepsy with rolandic spikes[J]. *Nat Genet*, 2013, 45(9): 1067-1072.
- [53] VIEIRA M M, NGUYEN T A, WU K, et al. An epilepsy-associated *GRIN2A* rare variant disrupts $CaMKII\alpha$ phosphorylation of $GluN2A$ and NMDA receptor trafficking[J]. *Cell Rep*, 2020, 32(9): 108104.
- [54] JANG Y, LEE B, KIM H, et al. *Trpm2* ablation accelerates protein aggregation by impaired ADPR and autophagic clearance in the brain[J]. *Mol Neurobiol*, 2019, 56(5): 3819-3832.
- [55] HU H, ZHU T, GONG L, et al. Transient receptor potential melastatin 2 contributes to neuroinflammation and negatively regulates cognitive outcomes in a pilocarpine-induced mouse model of epilepsy[J]. *Int ImmunoPharmacol*, 2020, 87: 106824.
- [56] ZHENG Q, ZHU T, HU H, et al. TRPM2 ion channel is involved in the aggravation of cognitive impairment and down regulation of epilepsy threshold in pentylene-tetrazole-induced kindling mice[J]. *Brain Res Bull*, 2020, 155: 48-60.
- [57] VANDE VELDE C, CIZEAU J, DUBIK D, et al. BNIP3 and genetic control of necrosis-like cell death through the mitochondrial permeability transition pore [J]. *Mol Cell Biol*, 2000, 20(15): 5454-5468.
- [58] SUSIN S A, LORENZO H K, ZAMZAMI N, et al. Molecular characterization of mitochondrial apoptosis-inducing factor[J]. *Nature*, 1999, 397(6718): 441-446.
- [59] ZHU T, ZHAO Y, HU H, et al. TRPM2 channel regulates cytokines production in astrocytes and aggravates brain disorder during lipopolysaccharide-induced endotoxin sepsis[J]. *Int ImmunoPharmacol*, 2019, 75: 105836.
- [60] BAILEY J N, PATTERSON C, DE NIJS L, et al. *EFHC1* variants in juvenile myoclonic epilepsy:

- reanalysis according to NHGRI and ACMG guidelines for assigning disease causality[J]. **Genet Med**, 2017, 19(2): 144-156.
- [61] SUZUKI T, DELGADO-ESCUETA A V, AGUAN K, et al. Mutations in EFHC1 cause juvenile myoclonic epilepsy[J]. **Nat Genet**, 2004, 36(8): 842-849.
- [62] LOUCKS C M, PARK K, WALKER D S, et al. EFHC1, implicated in juvenile myoclonic epilepsy, functions at the cilium and synapse to modulate dopamine signaling[J/OL]. **eLife**, 2019, 8: e37271.
- [63] KATANO M, NUMATA T, AGUAN K, et al. The juvenile myoclonic epilepsy-related protein EFHC1 interacts with the redox-sensitive TRPM2 channel linked to cell death[J]. **Cell Calcium**, 2012, 51(2): 179-185.
- [64] MAHMUDA N A, YOKOYAMA S, MUNESUE T, et al. One single nucleotide polymorphism of the TRPM2 channel gene identified as a risk factor in bipolar disorder associates with autism spectrum disorder in a Japanese population[J]. **Diseases**, 2020, 8(1): 4.
- [65] BELROSE J C, JACKSON M F. TRPM2: a candidate therapeutic target for treating neurological diseases[J]. **Acta Pharmacol Sin**, 2018, 39(5): 722-732.
- [66] HARAGUCHI K, KAWAMOTO A, ISAMI K, et al. TRPM2 contributes to inflammatory and neuropathic pain through the aggravation of pronociceptive inflammatory responses in mice[J]. **J Neuroscience**, 2012, 32(11): 3931-3941.
- [67] HERMOSURA M C, CUI A M, GO R C V, et al. Altered functional properties of a *TRPM2* variant in Guamanian ALS and PD[J]. **Proc Natl Acad Sci U S A**, 2008, 105(46): 18029-18034.
- [68] LEE C R, MACHOLD R P, WITKOVSKY P, et al. TRPM2 channels are required for NMDA-induced burst firing and contribute to H₂O₂-dependent modulation in substantia nigra pars reticulata GABAergic neuron[J]. **J Neurosci**, 2013, 33(3): 1157-1168.

[本文编辑 李 璐 余 方]

· 学术动态 ·

郭国骥教授团队发现基于跨物种细胞图谱的谱系进化

浙江大学郭国骥教授团队利用多物种单细胞转录组数据库系统推测细胞类型的演化,追踪主要细胞谱系的起源及多样性。2021年3月3日《细胞报告》(*Cell Reports*)在线发表了郭国骥教授题为“Tracing cell-type evolution by cross-species comparison of cell atlases”的这一研究成果(<https://doi.org/10.1016/j.celrep.2021.108803>)。

研究人员首先收集目前已有的完整细胞图谱数据,包括3个脊椎动物和4个无脊椎动物(人类、小鼠、斑马鱼、海鞘、线虫、涡虫和水螅),利用生物信息学方法对7个物种的单细胞图谱进行比较分析;接着构建了跨物种细胞谱系的进化层次结构树揭示细胞类型的起源和多样性;最后,利用转录因子的调控关系来验证所提出的细胞类型的同源性。研究发现,7个物种的90%以上的细胞类型存在物种间的相似性。其中,肌肉和神经细胞在7个物种中高度保守,而免疫细胞、基质细胞、上皮细胞、分泌细胞和内皮细胞在整个脊椎动物中均表现出显著的保守性。另外,基质细胞和肌肉细胞是从共同的祖先细胞状态演化而来的,而脊椎动物的分泌细胞和神经细胞的功能相似性反映了趋同进化。

在无脊椎动物系统中,研究人员确定了重要的进化节点。例如无脊椎动物中重要的免疫功能细胞,包括gastrodermis(水螅)、phagocytes(涡虫)、coelomocytes(线虫)等。此外,研究揭示了跨细胞类别高活性的重要转录调控因子,探讨了它们的细胞谱系特异性及其在调节细胞谱系的功能重要性。

这项研究揭示了物种进化过程中细胞类型的保守性和多样性,探讨了细胞类型谱系特异的保守转录因子的特征,拓宽了比较基因组视野。这项研究为跨平台跨物种的细胞类型的比较提供了较好的框架,为未来多物种图谱的比较提供了参考。

论文第一作者系王晶晶博士、孙慧宇博士研究生、姜蒙蒙博士、李佳琦博士研究生等。研究获得了国家重点研发计划及国家自然科学基金的支持。