

本文引用: 范航平, 王洪坤, 王晓晨, 等. 瞬时受体电位 M4 通道与心血管疾病的研究进展[J]. 中国动脉硬化杂志, 2022, 30 (11): 987-995. DOI: 10.20039/j.cnki.1007-3949.2022.11.011.

[文章编号] 1007-3949(2022)30-11-0987-09

· 文献综述 ·

瞬时受体电位 M4 通道与心血管疾病的研究进展

范航平^{1,2}, 王洪坤^{1,2}, 王晓晨^{1,2}, 梁平^{1,2}

(1. 浙江大学医学院附属第一医院卫生部多器官联合移植研究重点实验室, 浙江省杭州市 310003;

2. 浙江大学转化医学研究院, 浙江省杭州市 310029)

[摘要] 瞬时受体电位 M4 (TRPM4) 通道是 Ca²⁺ 激活的单价选择性阳离子通道, 在心血管病理生理学中也起着关键作用。TRPM4 在心血管系统分布广泛, 现有研究表明该通道与心脏结构及动作电位存在相关性。文章重点综述了现有研究中 TRPM4 通道生理调控机制以及该通道与心血管疾病关系的研究进展, 以期有益于该通道在此方面的后续研究。

[关键词] 瞬时受体电位; 钙激活的非选择性阳离子通道; 心血管疾病

[中图分类号] R363; R5

[文献标识码] A

The research progress of transient receptor potential melastatin 4 and related cardiovascular disease

FAN Hangping^{1,2}, WANG Hongkun^{1,2}, WANG Xiaochen^{1,2}, LIANG Ping^{1,2}

(1. Key Laboratory of Combined Multi-organ Transplantation, Ministry of Public Health, the First Affiliated Hospital, Zhejiang University School of Medicine, Hangzhou, Zhejiang 310003, China; 2. Institute of Translational Medicine, Zhejiang University, Hangzhou, Zhejiang 310029, China)

[ABSTRACT] Transient receptor potential melastatin 4 (TRPM4) is a Ca²⁺-activated monovalent selective cation channel that also plays a key role in cardiovascular pathophysiology. TRPM4 is widely distributed in the cardiovascular system, and this channel is associated with cardiac structure and action potentials. This paper summarizes the existed studies on the physiological regulatory mechanisms of TRPM4 channel and the relationship between this channel and cardiovascular diseases, with the aim of contributing to the subsequent studies on this channel.

[KEY WORDS] transient receptor potential; Ca²⁺ activated non-selective cation channel; cardiovascular disease

瞬时受体电位 (transient receptor potential, TRP) 通道是一个超家族, TRP 通道的激活通常会产生活化电流, 因此这些通道在可兴奋细胞中至关重要^[1]。瞬时受体电位 M (transient receptor potential melastatin, TRPM) 在该家族中结构最大^[2], 其成员 TRPM4 是一种 Ca²⁺ 激活的非选择性阳离子通道, 可以被胞质中升高的 Ca²⁺ 激活但不通过 Ca²⁺, 主要对 Na⁺ 和 K⁺ 具有选择性。TRPM4 分布于许多组织和器官中, 参与复杂的生理和病理机制, 主要与钙依

赖机制相关, 如胰岛素分泌、免疫反应、呼吸反应、肿瘤发展和心血管疾病^[3]。在心脏中, TRPM4 通道是 TRP 家族中唯一与心律失常相关通路^[1], 在心肌细胞和心脏传导系统的特殊细胞中大量表达, 与动作电位及心脏重构等过程相关且存在物种差异。如今, TRPM4 通道活性相关分子机制正被日益阐明, 本文将简要概述 TRPM4 通道的生理特性, 总结该离子通道与心血管疾病相关研究进展。

[收稿日期] 2021-11-25

[修回日期] 2022-04-28

[基金项目] 科技部国家重点研发计划(2017YFA0103700); 国家自然科学基金优秀青年项目(81922006); 国家自然科学基金面上项目(81870175)

[作者简介] 范航平, 博士研究生, 研究方向为干细胞与心血管疾病, E-mail: hangpingfan@zju.edu.cn。通信作者梁平, 教授, 博士研究生导师, 研究方向为干细胞与心血管疾病, E-mail: pingliang@zju.edu.cn。

1 TRPM4 通道生理特性

1.1 TRP 家族

TRP 通道首次发现于携带 *trp* 位点突变体进而导致视觉传导受损的黑腹果蝇,是一种由大量非选择性阳离子通道组成的超家族^[4]。在哺乳动物中,已经鉴定出 28 个 TRP 通道基因,其中在人类中有 27 个^[5]。根据氨基酸序列同源性,TRP 通道蛋白可分为 6 个亚家族,TRPA (ankyrin, TRPA1)、TRPC (canonical, TRPC1 ~ TRPC7)、TRPM (melastatin, TRPM1 ~ TRPM8)、TRPML (mucolipin, TRPML1 ~ TRPML3)、TRPP (polycystin, TRPP1 ~ TRPP3) 以及 TRPV (vanilloid, TRPV1 ~ TRPV6)^[1]。这些 TRP 通道大部分在不同的细胞类型中表达,包括心血管系统中的可兴奋和不可兴奋细胞。其中在心脏中,已经报道了包括 TRPC1、TRPC3 ~ 7、TRPV1、TRPV2、TRPV4、TRPM4、TRPM6 和 TRPP2 在内的几种 TRP^[1]。

除了单价阳离子选择性 TRPM4 和 TRPM5 外,所有具有功能特征的 TRP 通道均可通过 Ca^{2+} ^[6-7]。在心肌中,TRP 通道可参与多种生理功能,如动作电位相关电生理活动、 Ca^{2+} 稳态调节以及心脏适应性重塑等^[1]。此外,TRP 通道还参与心律失常、缺血再灌注损伤、 Ca^{2+} 处理缺陷、促进内皮细胞凋亡和心肌纤维化、适应性重构不良、遗传性心脏病和细胞死亡等多种病理过程^[7]。现在,越来越多的研究表明,某些 TRP 通道与心律失常有关。

1.2 TRPM4 通道的结构

TRPM4 通道是 TRP 通道家族的成员之一,也是迄今为止在心肌细胞中唯一的钙激活的非选择性 (Ca^{2+} activated non-selective, CAN) 阳离子通

道^[8]。TRPM4 作为一个含 1 214 个氨基酸的跨膜蛋白,在人类中位于 19q13.33,基因组跨度为 54 kb (图 1),该离子通道三级结构主要由 TRPM 同源区域 (MHR1 ~ 4)、Pre-S1 elbow、Pre-S1 shoulder、跨膜区域 S1 ~ S6、TRP 结构域以及 C 端螺旋 (CH1 ~ 3) 等构成^[3]。TRPM4 的跨膜结构域 S5 和 S6 之间存在成孔区,对通过的离子具有选择性,允许单价阳离子通过^[2,9-10]。此前报道中指出,TRPM4 四聚物形成受 N 端核苷酸结合结构域和 C 末端端卷曲螺旋形成的影响,TRPM4 的氨基和羧基末端区域包含与通道激活相关的结合位点,ATP 结合域和 N 端核苷酸结合域与 TRPM4 通道的抑制有关^[11]。此外,还有几个蛋白激酶 A (protein kinase A, PKA) 和蛋白激酶 C (protein kinase C, PKC) 的磷酸化位点、5 个钙调蛋白结合位点、4 个 Walker B 基序 (推测是 ATP 结合位点)、1 个磷脂酰肌醇 4,5-二磷酸 (phosphatidyl inositol 4,5-bisphosphate, PIP2) 结合位点和一个卷曲的螺旋结构域,所有这些位点都参与 TRPM4 功能的调节^[11-13]。

Autzen 等^[2]使用单粒子电子冷冻显微术解析了人 TRPM4 离子通道在与钙结合以及未结合状态下的结构,通过比较两种结构的区别指出了在细胞内 S1 ~ S4 区域内有明确的钙结合位点,并且 Ca^{2+} 的结合会引起构象的改变,进而导致电压依赖性通道的开启。和许多其他 TRP 家族的离子通道一样,TRPM4 通道也表现出电压敏感性,研究表明,随着电压的逐级升高, Ca^{2+} 激活的 TRPM4 电流表现出明显的外向整流电流。TRPM4 通道被激活后, Na^+ 进入膜内使质膜去极化,反过来又通过其他钙通道增加 Ca^{2+} 的流入,或者以其他方式调节 Ca^{2+} 的浓度。

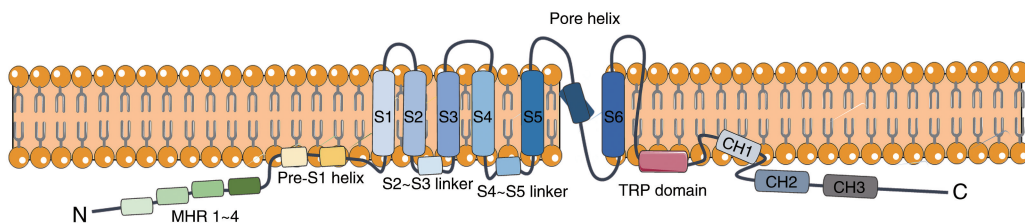


图 1. TRPM4 通道结构示意图

Figure 1. The schematic diagram of TRPM4 channel structure

1.3 TRPM4 通道的调控

1.3.1 TRPM4 的激活 作为与 Ca^{2+} 和电压激活相关的通道,TRPM4 通道的激活方式多样,目前主要观点认为是 Ca^{2+} 敏感度调控及化合物激活。Venekens 对 TRPM4 的 5 个钙调素结合位点进行鉴定,

结果表明,3 个 C 末端位点中的任何一个的缺失都会降低钙敏感性,使激活的电压依赖性转移到更正的电位,从而严重削弱电流激活。调控主要受到 PIP2、ATP、PKC 依赖性磷酸化和钙调素 (calmodulin, CaM) 与 TRPM4 的 C 末端结合的影响^[13]。其中,

PIP2 是 TRPM4 的强效增强剂,可能通过磷脂酶 C 介导的 PIP2 分解对 TRPM4 活性产生减敏进而产生作用,其本身不能激活 TRPM4,但能纠正 TRPM4 的脱敏,增加 TRPM4 对 Ca^{2+} 的敏感性,抑制 TRPM4 的电压依赖性^[14];ATP 对 TRPM4 有双重作用,ATP 电离将阻断通道,结合则可能具有稳定或恢复通道 Ca^{2+} 敏感性的作用;PKC 磷酸化将增强 TRPM4 对 Ca^{2+} 的敏感性;CaM 结合突变体不影响 TRPM4 向质膜的运输和转运,但 C 端的 CaM 结合位点对 TRPM4 的 Ca^{2+} 感知是必需的^[15-16]。

目前还发现两种可以激活 TRPM4 离子通道的化合物,分别为十钒酸盐(decavanadate, DV)和 3,5-双三氟甲基吡唑(3,5-bistrifluoromethyl pyrazole derivative, BTP2)。DV 是一种可以对 ATP 依赖的转运蛋白进行干扰的化合物,它并不拮抗 TRPM4 的 ATP 阻滞剂,而是通过抑制电压依赖性的通道关闭而起到通道激活剂的作用,且对与 TRPM4 相似的 TRPM5 通道无影响^[17]。BTP2 是一种吡唑化合物,能降低 Ca^{2+} 进入的驱动力,且低浓度的 BTP2 即可对 TRPM4 通道产生激活效应^[18-19]。

1.3.2 TRPM4 的抑制剂 研究表明,一些药物可以抑制 TRPM4 电流,如氟芬那酸($IC_{50}=3 \mu\text{mol/L}$)、格列苯脲($IC_{50}=10 \text{mmol/L}$)、精胺($IC_{50}=61 \mu\text{mol/L}$)、奎宁($IC_{50}=113 \sim 450 \mu\text{mol/L}$)。但是,这些药物也会同时抑制其他的钠、钾、钙和氯等离子通道^[20-26]。到目前为止,由 Grand 等^[27-30]通过在 HEK293 细胞中异种表达 TRPM4 而发现的 9-羟基菲($IC_{50} =$

$17 \mu\text{mol/L}$)被认为是 TRPM4 通道的特异性抑制剂,但其较差的选择性限制了它在动物模型或原代细胞系中使用的有效性。高浓度的 9-羟基菲(0.1mmol/L)同样可以抑制小鼠心肌细胞延迟外向整流 K^+ 电流和电压门控 Ca^{2+} 电流,低药物浓度抑制作用有限^[31]。同时,由于小鼠和人类 TRPM4 序列之间 20% 的非同源性,因此一些药物位点或存在不一致情况,开发或寻找用作动物模型的新型化合物之前应仔细表征,以避免对研究结果造成影响^[32]。

2 TRPM4 在心脏中的表达

TRPM4 mRNA 存在于人类、小鼠和大鼠的多种组织中,心脏、前列腺及结肠是成年人 TRPM4 的主要表达组织之一^[3,33]。在心脏中,TRPM4 mRNA 或蛋白在小鼠窦房结和牛房束分支的节点和传导组织中表达,也在心房和心室中被检测到^[20,34-35]。有趣的是,一些研究报告表明,在大鼠、小鼠和牛中,TRPM4 在心室的表达明显弱于心房^[34,36-37]。在功能水平上,在啮齿动物和人类心肌细胞中都记录到 TRPM4 电流,此外,在大鼠心室成纤维细胞、动脉平滑肌细胞和人心房成纤维细胞中也检测到 TRPM4 mRNA^[26,36-42](表 1)。但是,由于心脏特性(心律和 AP 参数)在物种之间存在差异,因此在小型哺乳动物中获得的结果需仔细斟酌并谨慎使用。

表 1. TRPM4 在心脏中的分布及其表现形式

Table 1. The distribution and expression of TRPM4 in the heart

物种	窦房结	心房	心室	浦肯野纤维	主要生理功能	病理影响
人类 ^[3,36]	—	mRNA、蛋白质、电流	—	mRNA	—	—
大鼠 ^[35-36,39]	电流	mRNA、蛋白质、电流	mRNA、蛋白质、电流	mRNA	起搏	心律失常、缺氧复氧损伤
小鼠 ^[16,20,22]	mRNA、蛋白质、电流	mRNA(高表达)、蛋白质、电流	mRNA、蛋白质、电流	mRNA	起搏、动作电位调制、生理重构、胚胎心室发育	心律失常
兔 ^[41-43]	电流	—	电流	电流	起搏、动作电位调制	—
牛 ^[34]	—	蛋白质	蛋白质	蛋白质	—	—

注:“—”表示无法获取。

3 TRPM4 电流的调节特性

2014 年, Demir 等^[43]发现心肌缺血再灌注后 TRPM4 基因表达略有增加。该基因编码的蛋白是钙激活的非选择性离子通道,该通道介导单价阳离

子跨膜运输,从而使膜去极化。编码蛋白的活性随细胞内 Ca^{2+} 浓度的增加而增加,但该通道不转运钙^[3]。

3.1 TRPM4 与钙离子

Ca^{2+} 作为一种主要的胞内信使参与了许多重要

的细胞反应机制,细胞内 Ca^{2+} 浓度的变化与重要组织系统的生理病理机制密切相关^[44]。近年来,细胞内 Ca^{2+} 超载被认为是冠状动脉疾病、心律失常、心力衰竭等一系列心血管风险的关键,在临床上, Ca^{2+} 拮抗剂已被有效地用于治疗心绞痛、高血压和室上性快速心律失常,这说明维持 Ca^{2+} 稳态对心脏具有保护作用^[14,45-48]。

大多数 TRP 通道可允许 Ca^{2+} 通过,并作为细胞传感器发挥独特的作用^[49]。它们参与 Ca^{2+} 介导的各种细胞功能,如收缩、增殖、凋亡等^[50-51]。换句话说,TRP 离子通道在体内平衡中扮演着看门人的角色^[52-53]。与其他 TRP 家族成员相比,TRPM4 可以被细胞内 Ca^{2+} 的积累激活,且可能与 Ca^{2+} /钙调蛋白依赖性激酶 II (Ca^{2+} /calmodulin-dependent kinase II, CaMK II) 蛋白紧密定位并在功能上耦合^[15-16,54]。此外,TRPM4 对一价阳离子具有以下离子选择性: $\text{Na}^+ > \text{K}^+ > \text{Cs}^+ > \text{Li}^+$ ^[10],无 Ca^{2+} 通透性,可以诱导细胞内 Ca^{2+} 积累和超载,导致细胞膜去极化,进而导致细胞损伤或死亡^[14]。因此,系统分析 TRPM4 在心血管系统中的生理和病理作用对疾病靶向治疗具有深远意义。

3.2 TRPM4 电流的特点

TRPM4 的活性受胞内 PKC、PIP2 等效应蛋白调控增强,而被内部的腺嘌呤核苷酸如 ATP 和 ADP 抑制^[21]。在过表达 TRPM4 的细胞系中,使用 Inside-Out 记录模式记录 TRPM4 电流, Ca^{2+} 激活 TRPM4 通道的 EC_{50} 高达 370 $\mu\text{mol/L}$,但是在 Whole-Cell 模式下记录,其 EC_{50} 在 0.5 ~ 20 $\mu\text{mol/L}$ ^[3,39]。这种差异揭示了 TRPM4 对 Ca^{2+} 的敏感性是由钙调蛋白和 PIP2 等调节因子调节的^[15,53]。使用 Inside-Out 模式记录人心房肌细胞,得到 Ca^{2+} 激活 TRPM4 通道的 EC_{50} 为 21 $\mu\text{mol/L}$,甚至在 0.1 $\mu\text{mol/L}$ 浓度下都能记录到 TRPM4 通道电流。小鼠心室肌细胞的全细胞记录模式下存在 TRPM4 引起的 Ca^{2+} 瞬变激活电流,而此电流在 TRPM4 敲除小鼠中不存在^[26,37]。

4 TRPM4 与心血管疾病

在心脏中,使用 TRPM4 敲除小鼠模型,该离子通道已被证明参与包括 β -肾上腺素能调节、心脏传导、动作电位持续时间和肥大适应在内的多个过程^[55]。如图 2 所示,生理环境中,TRPM4 通道在被细胞内 Ca^{2+} 升高及 ATP 水平下降时直接激活,且在心肌细胞中该通道还作为 L 型钙电流的负性调节

器发挥作用^[56]。这种调节模式对于钙通道和兰尼碱受体之间的紧密功能合作至关重要,当 TRPM4 通道发生数量或者开放/闭合状态的改变时,将影响 Na^+ 或 Ca^{2+} 的跨膜运输,进而影响心肌细胞动作电位去极化或超极化过程。当心肌细胞中存在钙超载情况,还将导致延迟后除极或肥厚型心肌病的产生。在心脏中,TRPM4 通道信号水平在心房肌细胞高于普通心室肌细胞,在浦肯野纤维中最高并且少量分布于心内膜下和罕见的壁内细胞束^[14]。利用抑制剂 9-羟基菲、TRPM4 敲除动物模型及定位克隆等研究结果表明,TRPM4 基因突变与进行性家族性心脏传导阻滞 I 型 (progressive familial heart block type I, PFHB I)、孤立性心脏传导阻滞 (isolated cardiac conduction block, ICCD)、心肌肥厚和 Brugada 综合征 (brugadasymptom, BrS) 等心血管疾病相关^[33,57-58],且心律失常事件的发生或与 TRPM4 离子通道与钠钙交换体相交联进而介导瞬时钙振幅事件相关^[55]。

4.1 心肌肥厚

心肌肥厚是心血管系统适应性调节机制之一,被认为是对血流动力学应激的一种“代偿”反应,从而导致心肌细胞体积和质量的增加等生理性肥大,维持机体稳态以及增加心输出量,其中心肌细胞钙稳态的改变被认为是心肌肥厚信号的初始信号。然而,如果由于心脏压力或容量超负荷,超过了补偿范围,肥厚就会转变为不可逆转的病理,从而导致严重的心律失常或心力衰竭,其中, Ca^{2+} 是心脏肥大发展过程中的关键因素^[59]。

Guinamard 等^[36]利用自发性高血压大鼠 (spontaneously hypertensive rats, SHR) 模型观察到,在正常血压的大鼠心室中没有电流或弱电流,但 SHR 的 TRPM4 mRNA 表达量高于雄性正常血压大鼠,并且该模型存在 TRPM4 蛋白含量增加及 TRPM4 离子通道活性上调情况。根据去极化阶段和内钙增加都有利于 TRPM4 离子通道激活等推测,该通道可能与在 Ca^{2+} 超载期间观察到的延迟后去极化所涉及的瞬时而向电流有关^[36]。野百合碱诱导的大鼠右心室压力负荷导致右心室 TRPM4 蛋白表达明显下调,当 TRPM4 蛋白表达完全缺失则加重右心室肥厚^[60]。Kecskés 等^[58]对小鼠心肌进行了 TRPM4 特异性敲除,发现与野生型小鼠相比,在施加血管紧张素 II 后,小鼠心肌细胞肥大情况增加,进而认为 TRPM4 通道似乎对病理性应激诱导的细胞“病理性”促肥大适应的负性调节至关重要。总之,此类研究结果表明,TRPM4 离子通道 mRNA 表达与心肌

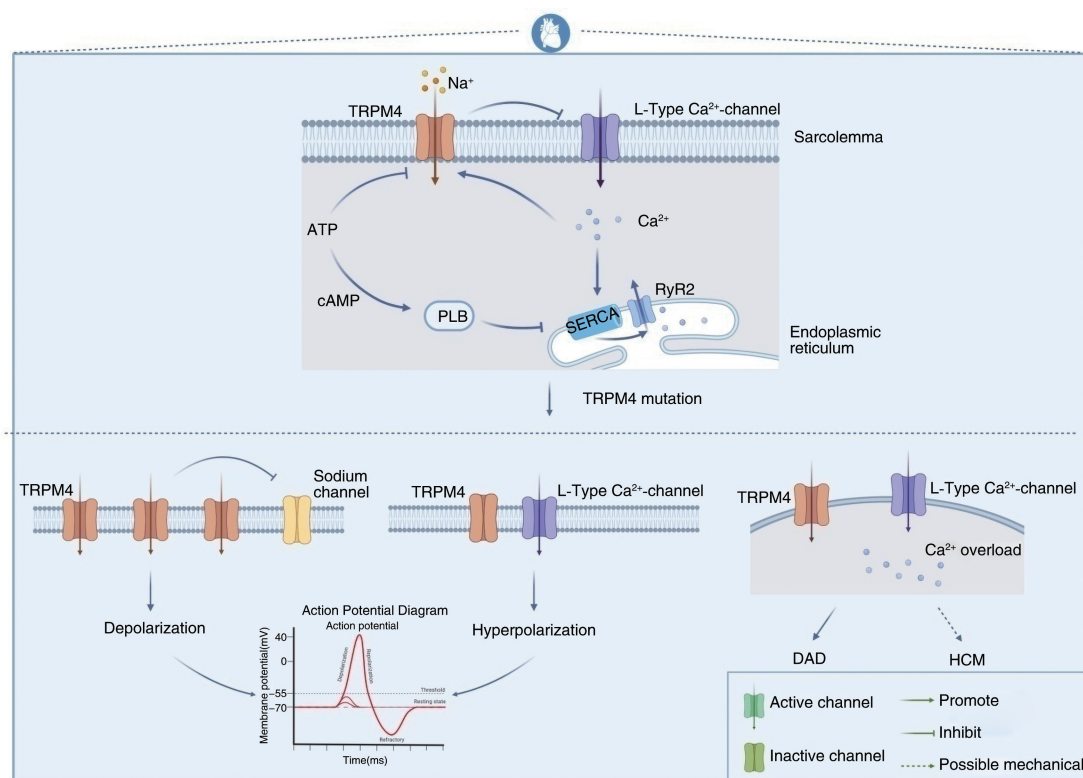


图 2. TRPM4 突变导致心血管疾病机制概览

SERCA: 心肌浆网 Ca^{2+} -ATP 酶; PLB: 磷蛋白; RyR2: 兰尼碱受体; DAD: 延迟后除极; HCM: 肥厚型心肌病。

Figure 2. Overview of TRPM4 mutations leading to cardiovascular disease

肥厚相关,表达量上调将使得细胞肥大信号通路转变为生理反应,表达量降低则使肥大信号途径转变为病理反应^[55,61]。

4.2 传导阻滞

传导阻滞是指从心脏窦房结开始的去极化波在到达心室肌细胞的过程中减慢甚至受阻的情况。已有 20 多个 TRPM4 基因变异在心脏传导改变的家族中被报道,如进行性家族性心脏传导阻滞、孤立性心脏传导阻滞和先天性房室传导阻滞^[62]。

首例联系 TRPM4 突变与人类心血管疾病的病例来自于 2009 年 1 例带有 TRPM4 第 7 位的谷氨酸被赖氨酸替代的进行性心脏束分支阻滞患者^[26]。PFHB I 是一种心脏束分支疾病,其特征在于通过 His-Purkinje 系统进行心脏传导进行性改变,该疾病首先发生右束支阻滞,随后是双束支阻滞,进而导致一种完全的房室传导阻滞,引起晕厥甚至猝死。c. 19G→A 错义突变导致 TRPM4 的 N 末端氨基酸序列发生改变,影响小泛素修饰偶联的解除及细胞内吞作用,并导致细胞表面 TRPM4 通道密度增加甚至影响其他通道的活性^[26]。2015 年使用下一代测序技术对一个有 10 名成员被诊断为 PFHB I 的家族进行分析,也证实了 PFHB I 与 TRPM4 的 N 端

区功能获得性突变相关,支持了 TRPM4 在心脏传导和心脏传导障碍中的核心作用^[63]。

孤立性心脏传导阻滞通常在青少年及老年人群中出现。TRPM4 通道的激活将导致细胞去极化,从而触发一系列包括减少 Ca^{2+} 进入驱动力来反馈钙信号的下游效应。在 ICCD 患者中,细胞表面 TRPM4 通道密度增加将使得膜泄漏电导上升进而影响浦肯野纤维向下传播信号能力^[64]。

对 91 例先天性或儿童房室传导阻滞患者进行候选致病基因筛选确定了关于 TRPM4 基因的 5 种罕见变体^[62]。由于 TRPM4 通道产生净内向去极化电流,因此,依赖 TRPM4 的超极化和静息膜电位的去极化均可降低兴奋性和传导,但具体作用机制尚不明朗。该研究也再次证明 TRPM4 通道在心脏传导系统中存在一定作用,研究该通道在心脏功能中的位置以及生理和病理生理作用存在必要^[62]。同时,与心脏可兴奋细胞相比,心脏成纤维细胞中的 TRPM4 离子通道同样可能在人类心功能衰竭的发病机制中发挥作用。研究表明,TRPM4 离子通道可间接影响心功能衰竭患者成纤维细胞中的 Ca^{2+} 稳态并作为心脏成纤维细胞的去极化通道,在正常生理条件下有助于成纤维细胞的生物学功能。成纤维

细胞中该离子通道可能成为治疗患者心功能衰竭和心脏传导问题的一类新靶点^[65]。

4.3 Brugada 综合征

Brugada 综合征 (BrS) 的特征为心电图的右心前导联 (V1 ~ V3) ST 段抬高, 伴有心律不齐的风险并且通常与右束支传导阻滞相关。对 248 例不存在 SCN5A 突变的 BrS 病例中, 在 20 例无关的个体中发现了 11 个 TRPM4 突变, 在后续调查中也发现 TRPM4 突变在 BrS 中约占 2.7% ~ 6%, 但是这些突变体的生理影响不明确。选择四个突变体进行后续实验发现, p. Pro779Arg 和 p. Lys914X 导致 TRPM4 通道表达降低, 而 p. Thr873 Ile 和 p. Leu1075Pro 使得 TRPM4 通道表达上调^[66]。这些突变对通道电生理和细胞表达的影响各不相同, 但 TRPM4 通道功能的降低或增加都可能降低钠通道的活性, 影响静息膜电位, 进而容易导致 BrS 的发生发展^[62]。

4.4 长 QT 综合征

Cheng 等^[67] 使用下一代测序技术总结了 PubMed 数据库 2008 年 1 月 1 日—2019 年 9 月 1 日发表的遗传学研究, 并使用 ACMG/AMP 分类框架分析了相关的序列变异。通过检索 PubMed 数据库, 鉴定了 88 篇文章、99 个序列变体和 34 个基因, 并将 ABCC9、ACTN2、CACNA1C、DES、HCN4、KCNQ1、KCNH2、LMNA、MECP2、LAMP2、NPPA、SCN5A 和 TRPM4 归类为导致家族性心动过缓的高优先级基因。TRPM4 通道活性可以调节小鼠的心脏收缩性, 通道的缺失会导致动作电位持续时间缩短, 增加 Ca²⁺ 电流, 这在心室肌细胞的 β -肾上腺素刺激过程中变得更加明显^[68]。

长 QT 综合征 (long QT syndrome, LQTS) 是一种遗传性心律失常性疾病, 其特征为 QT 间隔延长, 而 QT 间期取决于心室动作电位持续时间及动作电位在心室中的传播。一项对 178 例 LQTS 患者进行了 TRPM4 通道突变筛选的研究结果表明, 3 个主要 LQTS 基因 (KCNQ1、KCNH2 和 SCN5A) 均未产生突变。TRPM4 变异体 (~2.2%) 高度保守的氨基酸发生改变, 对其中两个突变体 (p. Val441Met 和 p. Arg499Pro) 进行进一步的电生理学研究, 结果表明两个 TRPM4 突变体都显示出典型的外向整流电流, 并且与野生型 TRPM4 携带者心肌细胞电流相比, 电流分别降低了 61% 和 90%^[69]。总而言之, TRPM4 通道对 QT 间期的贡献可能是多因素的, 不仅通过调节全细胞电流, 而且如 TRPM4^{-/-} 小鼠所示, 该离子通道还将调节心肌细胞增殖进而影响心功能^[69]。

4.5 缺血性心肌病

心肌缺血源于冠状动脉血流量的减少, 进而导致心肌供需失衡。虽然恢复血液流动是治疗缺血的有效治疗策略, 但血液再灌注会产生过量的活性氧, 导致细胞死亡, 引起再灌注损伤, 影响直接经皮冠状动脉介入治疗和溶栓治疗的结果。心肌缺血再灌注损伤机制复杂, 可能与 ATP 降低和钙代谢紊乱有关^[70]。

TRPM4 也在经历重塑变化的压力或受伤心脏中高度表达并被缺血性损伤激活。一项使用药物 9-羟基菲抑制 TRPM4 研究该药物对心脏可能的保护作用中表明, 在 Langendorff 离体灌流大鼠心脏中, 抑制 TRPM4 后, 心脏收缩功能显著恢复, 梗死面积显著缩小, 并且 TRPM4 可能主要通过抗心律失常作用发挥心肌保护作用^[35,71]。

5 结 语

心血管疾病是当今最大的全球健康问题之一, 迫切需要改进治疗方案。TRPM4 是 TRP 家族中重要且相对来说较为特殊的一种阳离子通道, 此前的蛋白结构解析为探究该通路功能提供了一定指向性。到目前为止, 虽然有相关研究表明 TRPM4 离子通道与心血管疾病存在相关性, 但具体机制仍不明确, 现多认为主要与 Ca²⁺ 相关, 且该通道被认为是起搏去极化和 β -肾上腺素能性肌力收缩所必需的^[72]。尽管存在相关研究模型, 但 TRPM4 与心肌收缩力的相关性取决于不同小鼠品系以及机体自身健康/疾病状态。因此, 抑制 TRPM4 通道以改善心肌收缩力的概念仍需在特定的细胞和物种中探索, 并前瞻性地在不同遗传多样性的患者群体中进行探索^[73]。此外, 鉴于 TRPM4 属于全身性表达蛋白, 到目前为止, 还没有特定的低分子量 TRPM4 阻滞剂可用, 且易诱发严重的药物不良反应。因此, 后续研究仍需针对该离子通道继续寻找特异性抑制剂, 或使用重组 AAV9 载体特异性靶向心肌细胞中的 TRPM4 转录物^[74] 等生物学手段进而更好地研究该通路功能, 并针对性地探寻疾病诊疗新靶点。

[参考文献]

- [1] HOF T, CHAIGNE S, RÉCALDE A, et al. Transient receptor potential channels in cardiac health and disease[J]. Nat Rev Cardiol, 2019, 16(6): 344-360.
- [2] AUTZEN H E, MYASNIKOV A G, CAMPBELL M G, et al. Structure of the human TRPM4 ion channel in a lipid

- nanodisc[J]. *Science*, 2018, 359(6372): 228-232.
- [3] LAUNAY P, FLEIG A, PERRAUD A L, et al. TRPM4 is a Ca^{2+} -activated nonselective cation channel mediating cell membrane depolarization [J]. *Cell*, 2002, 109(3): 397-407.
- [4] SAMANTA A, HUGHES T, MOISEENKOVA-BELL V Y. Transient receptor potential (TRP) channels [J]. *Subcell Biochem*, 2018, 87: 141-165.
- [5] NILIUS B, SZALLASI A. Transient receptor potential channels as drug targets: from the science of basic research to the art of medicine[J]. *Pharmacol Rev*, 2014, 66(3): 676-814.
- [6] FLOCKERZI V, NILIUS B. TRPs; truly remarkable proteins [J]. *Handb Exp Pharmacol*, 2014, 222: 1-12.
- [7] YUE Z, XIE J, YU A S, et al. Role of TRP channels in the cardiovascular system [J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2015, 308(3): H157-H182.
- [8] PIRONET A, SYAM N, VANDEWIELE F, et al. AAV9-mediated overexpression of TRPM4 increases the incidence of stress-induced ventricular arrhythmias in mice[J]. *Front Physiol*, 2019, 10: 802.
- [9] FLEIG A, PENNER R. The TRPM ion channel subfamily: molecular, biophysical and functional features[J]. *Trends Pharmacol Sci*, 2004, 25(12): 633-639.
- [10] NILIUS B, PRENEN J, JANSSENS A, et al. The selectivity filter of the cation channel TRPM4 [J]. *J Biol Chem*, 2005, 280(24): 22899-22906.
- [11] GUO J, SHE J, ZENG W, et al. Structures of the calcium-activated, non-selective cation Channel TRPM4 [J]. *Nature*, 2017, 552(7684): 205-209.
- [12] GUINAMARD R, DEMION M, LAUNAY P. Physiological roles of the TRPM4 channel extracted from background currents[J]. *Physiology (Bethesda)*, 2010, 25(3): 155-164.
- [13] VENNEKENS R, NILIUS B. Insights into TRPM4 function, regulation and physiological role [J]. *Handb Exp Pharmacol*, 2007, (179): 269-285.
- [14] WANG C, NARUSE K, TAKAHASHI K. Role of the TRPM4 channel in cardiovascular physiology and pathophysiology[J]. *Cells*, 2018, 7(6): 62.
- [15] NILIUS B, PRENEN J, TANG J, et al. Regulation of the Ca^{2+} sensitivity of the nonselective cation channel TRPM4 [J]. *J Biol Chem*, 2005, 280(8): 6423-6433.
- [16] NILIUS B, PRENEN J, DROOGMANS G, et al. Voltage dependence of the Ca^{2+} -activated cation channel TRPM4 [J]. *J Biol Chem*, 2003, 278(33): 30813-30820.
- [17] NILIUS B, PRENEN J, JANSSENS A, et al. Decavanadate modulates gating of TRPM4 cation channels [J]. *J Physiol*, 2004, 560(Pt 3): 753-765.
- [18] ZITT C, STRAUSS B, SCHWARZ E C, et al. Potent inhibition of Ca^{2+} release-activated Ca^{2+} channels and T-lymphocyte activation by the pyrazole derivative BTP2 [J]. *J Biol Chem*, 2004, 279(13): 12427-12437.
- [19] TAKEZAWA R, CHENG H, BECK A, et al. A pyrazole derivative potently inhibits lymphocyte Ca^{2+} influx and cytokine production by facilitating transient receptor potential melastatin 4 channel activity [J]. *Mol Pharmacol*, 2006, 69(4): 1413-1420.
- [20] DEMION M, BOIS P, LAUNAY P, et al. TRPM4, a Ca^{2+} -activated nonselective cation channel in mouse sino-atrial node cells [J]. *Cardiovasc Res*, 2007, 73(3): 531-538.
- [21] NILIUS B, PRENEN J, VOETS T, et al. Intracellular nucleotides and polyamines inhibit the Ca^{2+} -activated cation channel TRPM4b [J]. *Pflugers Arch*, 2004, 448(1): 70-75.
- [22] GUINAMARD R, SALLÉ L, SIMARD C. The non-selective monovalent cationic channels TRPM4 and TRPM5 [J]. *Adv Exp Med Biol*, 2011, 704: 147-171.
- [23] ULLRICH N D, VOETS T, PRENEN J, et al. Comparison of functional properties of the Ca^{2+} -activated cation channels TRPM4 and TRPM5 from mice [J]. *Cell Calcium*, 2005, 37(3): 267-278.
- [24] GUINAMARD R, SIMARD C, DEL NEGRO C. Flufenamic acid as an ion channel modulator [J]. *Pharmacol Ther*, 2013, 138(2): 272-284.
- [25] TALAVERA K, YASUMATSU K, YOSHIDA R, et al. The taste transduction channel TRPM5 is a locus for bitter-sweet taste interactions [J]. *FASEB J*, 2008, 22(5): 1343-1355.
- [26] GUINAMARD R, BOUVAGNET P, HOF T, et al. TRPM4 in cardiac electrical activity [J]. *Cardiovasc Res*, 2015, 108(1): 21-30.
- [27] GRAND T, DEMION M, NOREZ C, et al. 9-phenanthrol inhibits human TRPM4 but not TRPM5 cationic channels [J]. *Br J Pharmacol*, 2008, 153(8): 1697-1705.
- [28] GONZALES A L, GARCIA Z, AMBERG G C, et al. Pharmacological inhibition of TRPM4 hyperpolarizes vascular smooth muscle [J]. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2010, 299(5): C1195-C1202.
- [29] KIM B J, KIM S Y, LEE S, et al. The role of transient receptor potential channel blockers in human gastric cancer cell viability [J]. *Can J Physiol Pharmacol*, 2012, 90(2): 175-186.
- [30] GUINAMARD R, HOF T, DEL NEGRO C A. The TRPM4 channel inhibitor 9-phenanthrol [J]. *Br J Pharmacol*, 2014, 171(7): 1600-1613.
- [31] SIMARD C, SALLÉ L, ROUET R, et al. Transient receptor potential melastatin 4 inhibitor 9-phenanthrol aboli-

- shes arrhythmias induced by hypoxia and re-oxygenation in mouse ventricle [J]. *Br J Pharmacol*, 2012, 165 (7): 2354-2364.
- [32] ARULLAMPALAM P, PRETI B, ROSS-KASCHITZA D, et al. Species-specific effects of cation channel TRPM4 small-molecule inhibitors [J]. *Front Pharmacol*, 2021, 12 (712354): 1805-1819.
- [33] JANG Y, LEE Y, KIM S M, et al. Quantitative analysis of TRP channel genes in mouse organs [J]. *Arch Pharm Res*, 2012, 35(10): 1823-1830.
- [34] LIU H, EL ZEIN L, KRUSE M, et al. Gain-of-function mutations in TRPM4 cause autosomal dominant isolated cardiac conduction disease [J]. *Circ Cardiovasc Genet*, 2010, 3(4): 374-385.
- [35] PIAO H, TAKAHASHI K, YAMAGUCHI Y, et al. Transient receptor potential melastatin-4 is involved in hypoxia-reoxygenation injury in the cardiomyocytes [J]. *PLoS One*, 2015, 10(4): e0121703.
- [36] GUINAMARD R, DEMION M, MAGAUD C, et al. Functional expression of the TRPM4 cationic current in ventricular cardiomyocytes from spontaneously hypertensive rats [J]. *Hypertension*, 2006, 48(4): 587-594.
- [37] MATHAR I, VENNEKENS R, MEISSNER M, et al. Increased catecholamine secretion contributes to hypertension in TRPM4-deficient mice [J]. *J Clin Invest*, 2010, 120 (9): 3267-3279.
- [38] ZHAINAZAROV A B. Ca^{2+} -activated nonselective cation channels in rat neonatal atrial myocytes [J]. *J Membr Biol*, 2003, 193(2): 91-98.
- [39] ROSE R A, HATANO N, OHYA S, et al. C-type natriuretic peptide activates a non-selective cation current in acutely isolated rat cardiac fibroblasts via natriuretic peptide C receptor-mediated signalling [J]. *J Physiol*, 2007, 580 (Pt 1): 255-274.
- [40] GUO J, ONO K, NOMA A. Monovalent cation conductance of the sustained inward current in rabbit sinoatrial node cells [J]. *Pflugers Arch*, 1996, 433(1/2): 209-211.
- [41] HOF T, SIMARD C, ROUET R, et al. Implication of the TRPM4 nonselective cation channel in mammalian sinus rhythm [J]. *Heart Rhythm*, 2013, 10(11): 1683-1689.
- [42] HOF T, SALLÉ L, COULBAULT L, et al. TRPM4 non-selective cation channels influence action potentials in rabbit Purkinje fibres [J]. *J Physiol*, 2016, 594 (2): 295-306.
- [43] DEMIR T, YUMRUTAS O, CENGİZ B, et al. Evaluation of TRPM (transient receptor potential melastatin) genes expressions in myocardial ischemia and reperfusion [J]. *Mol Biol Rep*, 2014, 41(5): 2845-2849.
- [44] HENNINGS H, HOLBROOK K A. Calcium regulation of cell-cell contact and differentiation of epidermal cells in culture: an ultrastructural study [J]. *Exp Cell Res*, 1983, 143(1): 127-142.
- [45] BROWN S J, RUPPE M D, TABATABAI L S. The parathyroid gland and heart disease [J]. *Methodist Debakey Cardiovasc J*, 2017, 13(2): 49-54.
- [46] CASTALDO P, MACRÌ M L, LARICCIA V, et al. Na^+ / Ca^{2+} exchanger 1 inhibition abolishes ischemic tolerance induced by ischemic preconditioning in different cardiac models [J]. *Eur J Pharmacol*, 2017, 794: 246-256.
- [47] POTZ B A, SABE A A, ABID M R, et al. Calpains and coronary vascular disease [J]. *Circ J*, 2016, 80 (1): 4-10.
- [48] KE R T, BELL S P, SELBY D, et al. Relaxation and the role of calcium in isolated contracting myocardium from patients with hypertensive heart disease and heart failure with preserved ejection fraction [J]. *Circ Heart Fail*, 2017, 10(8): e004311.
- [49] LATORRE R, BRAUCHI S, ORTA G, et al. ThermoTRP channels as modular proteins with allosteric gating [J]. *Cell Calcium*, 2007, 42(4/5): 427-438.
- [50] PREVARSKAYA N, SKRYMA R, BIDAUX G, et al. Ion channels in death and differentiation of prostate cancer cells [J]. *Cell Death Differ*, 2007, 14(7): 1295-1304.
- [51] CIARDO M G, FERRER-MONTIEL A. Lipids as central modulators of sensory TRP channels [J]. *Biochim Biophys Acta Biomembr*, 2017, 1859(9 Pt B): 1615-1628.
- [52] NILIUS B. TRP channels in disease [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2007, 1772(8): 805-812.
- [53] GAUDET R. TRP channels entering the structural era [J]. *J Physiol*, 2008, 586(15): 3565-3575.
- [54] HU Y, KASCHITZA D R, ESSERS M, et al. Pathological activation of CaMK II induces arrhythmogenicity through TRPM4 overactivation [J]. *Pflugers Arch*, 2021, 473 (3): 507-519.
- [55] HEDON C, LAMBERT K, CHAKOURI N, et al. New role of TRPM4 channel in the cardiac excitation-contraction coupling in response to physiological and pathological hypertrophy in mouse [J]. *Prog Biophys Mol Biol*, 2021, 159: 105-117.
- [56] SIMARD C, HOF T, KEDDACHE Z, et al. The TRPM4 non-selective cation channel contributes to the mammalian atrial action potential [J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2013, 59: 11-19.
- [57] KRUSE M, SCHULZE-BAHR E, CORFIELD V, et al. Impaired endocytosis of the ion channel TRPM4 is associated with human progressive familial heart block type I [J]. *J Clin Invest*, 2009, 119(9): 2737-2744.
- [58] KECSKÉS M, JACOBS G, KERSELAERS S, et al. The

- Ca²⁺-activated cation channel TRPM4 is a negative regulator of angiotensin II-induced cardiac hypertrophy[J]. *Basic Res Cardiol*, 2015, 110(4): 43.
- [59] GUINAMARD R, BOIS P. Involvement of transient receptor potential proteins in cardiac hypertrophy[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2007, 1772(8): 885-894.
- [60] FREDE W, MEDERT R, POTH T, et al. TRPM4 modulates right ventricular remodeling under pressure load accompanied with decreased expression level[J]. *J Card Fail*, 2020, 26(7): 599-609.
- [61] GUEFFIER M, ZINTZ J, LAMBERT K, et al. The TRPM4 channel is functionally important for the beneficial cardiac remodeling induced by endurance training[J]. *J Muscle Res Cell Motil*, 2017, 38(1): 3-16.
- [62] SYAM N, CHATEL S, OZHATHIL L C, et al. Variants of transient receptor potential melastatin member 4 in childhood atrioventricular block[J]. *J Am Heart Assoc*, 2016, 5(5): e001625.
- [63] DAUMY X, AMAROUCH M Y, LINDENBAUM P, et al. Targeted resequencing identifies TRPM4 as a major gene predisposing to progressive familial heart block type I[J]. *Int J Cardiol*, 2016, 207: 349-358.
- [64] MILLS R W, MILAN D J. TRPM4-linked isolated cardiac conduction defects: bad trafficking causes electrical gridlock[J]. *Circ Cardiovasc Genet*, 2010, 3(4): 311-313.
- [65] FENG J, ZONG P, YAN J, et al. Upregulation of transient receptor potential melastatin 4 (TRPM4) in ventricular fibroblasts from heart failure patients[J]. *Pflugers Arch*, 2021, 473(3): 521-531.
- [66] LIU H, CHATEL S, SIMARD C, et al. Molecular genetics and functional anomalies in a series of 248 Brugada cases with 11 mutations in the TRPM4 channel[J]. *PLoS One*, 2013, 8(1): e54131.
- [67] CHENG L, LI X, ZHAO L, et al. Reevaluating the mutation classification in genetic studies of bradycardia using ACMG/AMP variant classification framework[J]. *Int J Genomics*, 2020. DOI: 10.1155/2020/2415850.
- [68] MATHAR I, KECSKES M, VAN D G, et al. Increased β -adrenergic inotropy in ventricular myocardium from TRPM4^{-/-} mice[J]. *Circ Res*, 2014, 114(2): 283-294.
- [69] HOF T, LIU H, SALLÉ L, et al. TRPM4 non-selective cation channel variants in long QT syndrome[J]. *BMC Med Genet*, 2017, 18(1): 31.
- [70] GUO Y, TUKAYE D N, WU W J, et al. The COX-2/PGI2 receptor axis plays an obligatory role in mediating the cardioprotection conferred by the late phase of ischemic preconditioning[J]. *PLoS One*, 2012, 7(7): e41178.
- [71] WANG J, TAKAHASHI K, PIAO H, et al. 9-Phenanthrol, a TRPM4 inhibitor, protects isolated rat hearts from ischemia-reperfusion injury[J]. *PLoS One*, 2013, 8(7): e70587.
- [72] AMAROUCH M Y, EL HILALY J. Inherited cardiac arrhythmia syndromes: focus on molecular mechanisms underlying TRPM4 channelopathies[J]. *Cardiovasc Ther*, 2020. DOI: 10.1155/2020/6615038.
- [73] MEDERT R, PIRONET A, BACMEISTER L, et al. Genetic background influences expression and function of the cation channel TRPM4 in the mouse heart[J]. *Basic Res Cardiol*, 2020, 115(6): 70.
- [74] MEDERT R, JUNGMANN A, HILDEBRAND S, et al. Development of an AAV9-RNAi-mediated silencing strategy to abrogate TRPM4 expression in the adult heart[J]. *Pflugers Arch*, 2021, 473(3): 533-546.
- (此文编辑 许雪梅)