



TRPM7 生理病理学功能及其小分子调节剂的发现*

王云起¹⁾ 官子月¹⁾ 高召兵^{1,2)**} 郑月明^{1)**}⁽¹⁾ 中国科学院上海药物研究所, 神经精神疾病研究中心, 上海 201203; ⁽²⁾ 中国科学院中山药物创新研究院, 中山 528400

摘要 TRPM7 (transient receptor potential melastatin 7) 通道属于 TRPM 亚家族, 是一种具有离子通道结构域和激酶结构域的双功能跨膜蛋白。作为非选择性阳离子通道, TRPM7 可通透 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 、 Zn^{2+} 、 Na^{+} 、 K^{+} 等和其他微量金属离子。TRPM7 在人体各组织广泛表达, 参与 Mg^{2+} 的稳态调控、细胞增殖、分化、黏附和迁移等生理过程。临床上, TRPM7 功能紊乱与神经退行性疾病、中风、癌症等多种疾病关系密切。本文主要综述 TRPM7 通道在生理、病理及小分子调节剂方面的研究进展, 为相关疾病的药物开发提供新的思路。

关键词 TRPM7, 离子通道, 生理功能, 疾病, 小分子调节剂

中图分类号 Q71, R96

DOI: 10.16476/j.pibb.2022.0505

瞬时受体电位 (transient receptor potential, TRP) 通道是一类广泛表达的非选择性阳离子通道, 存在于多种类型的细胞和组织中, 通过调节阳离子的跨膜流动产生人体的多种感官刺激, 如温度、视觉、味觉、疼痛等。TRPM7 通道是 TRPM 家族一员, 人类基因组中编码 TRPM7 通道的基因位于 15 号染色体的长臂上, 由 39 个外显子组成, 全长 134.34 kb^[1]。TRPM7 同时具有离子通道和激酶结构域, 以特殊的双功能蛋白质结构参与机体的多种生理和病理过程, 与神经退行性疾病、癌症、心血管疾病等多种疾病密切相关。因此本文将主要综述与 TRPM7 通道有关的生理和病理学研究进展, 以及靶向该通道的小分子调节剂的研发进展。

1 TRP 家族

TRP 通道基因最早在研究果蝇时被发现, 在对果蝇的视觉系统研究中发现了一种视觉受损的突变果蝇, 对稳定光具有瞬时响应, 因而该基因被称为瞬时受体电位^[2]。TRP 家族是一个庞大的离子通道家族, 根据蛋白质序列的同源性, 将哺乳动物 TRP 家族分为 TRPC、TRPV、TRPM、TRPA、TRPP 和 TRPML 6 个亚家族, 共 28 个成员。除此以外, 在果蝇、斑马鱼等无脊椎动物中还存在着 TRPN 通道^[3-5]。目前已被证实有 100 多个 TRP 通道编码基

因存在于各种生物体内, 几乎在每种细胞中都有表达。大多数 TRP 通道位于质膜中, 发挥控制阳离子出入细胞和调节离子跨膜流动电势的作用。已有的研究发现, TRP 通道与多种疾病的发生发展密切相关, 是极具前景的药物靶标^[6-7]。

TRPM 亚家族是 TRP 家族中最大的亚家族, 包含 TRPM1~8, 共 8 个成员^[8], 广泛表达于哺乳动物的各个组织中, 具有不同的生物特性和生理功能, 可被多种刺激调节, 如温度、电压、离子和配体等^[9]。根据序列相似性, 将 8 个通道成员分为 4 组: TRPM1/TRPM3、TRPM2/TRPM8、TRPM4/TRPM5、TRPM6/TRPM7^[8, 10]。TRPM1 在色素细胞中表达, 与良性痣和黑色素瘤等皮肤和眼部疾病相关^[11]。TRPM2 是大脑中最丰富的 TRP 通道, 调节脑内神经元发育, 外周组织分布的 TRPM2 参与炎症反应, 调节胰岛素分泌, 作为温度传感器参与体温调节^[12-13]。TRPM3 在大脑、肾脏等组织表达, 该通道的激活可致血管收缩、胰岛素分泌及炎症性

* 国家杰出青年科学基金 (81825021) 和中国科学院青年创新促进会 (2020284) 资助项目。

** 通讯联系人。

高召兵 Tel: 15021912788, E-mail: zbgao@simm.ac.cn

郑月明 Tel: 15021104503, E-mail: zhengyueming@simm.ac.cn

收稿日期: 2022-10-26, 接受日期: 2023-03-23

痛觉过敏等^[14]。TRPM4和TRPM5通透一价阳离子,可被电压和钙离子激活,是味觉刺激转导必需的通道^[15]。TRPM6与TRPM7结构相似,胞内C端也具有功能性 α 激酶,TRPM6的功能丧失型突变易引起低镁血症伴继发性低钙血症(hypomagnesemia with secondary hypocalcemia, HSH)^[16]。TRPM8可被电压、pH、渗透压等多种因素调节,主要参与冷感受^[17]。TRPM亚家族各个成员的长度、结构和功能都不完全相同,TRPM6和TRPM7由于具有特殊的 α 激酶结构域得到了更多的关注。

2 TRPM7的结构和功能特征

2.1 TRPM7的结构特点

TRPM7是含有离子通道和蛋白激酶结构域的

跨膜蛋白,包括位于细胞膜内的N端和C端,以及位于细胞膜上的六次跨膜结构域(S1~S6)(图1)。人TRPM7编码1 865个氨基酸,小鼠TRPM7编码1 863个氨基酸,序列相似性为94%^[18]。2001年Kuriyan等^[19]结晶并解析了TRPM7的C端分离激酶结构域(1 580~1 863),2018年Clapham等^[20]利用冷冻电镜,解析了TRPM7-EDTA、TRPM7-Mg²⁺和TRPM7-DVF的结构,自此揭示了TRPM7通道的完整结构。TRPM7蛋白的N端含有4个TRPM家族的同源结构域(melastatin homology domain, MHD),参与通道组装和转运。6个跨膜区段(S1~S6)形成离子通道结构域,每个区段长度约为21个氨基酸残基,S5和S6间包含预测的孔螺旋和孔环(pore region),位于通道孔区的两个带负电荷的氨基酸(E1047和E1052)对于通道的

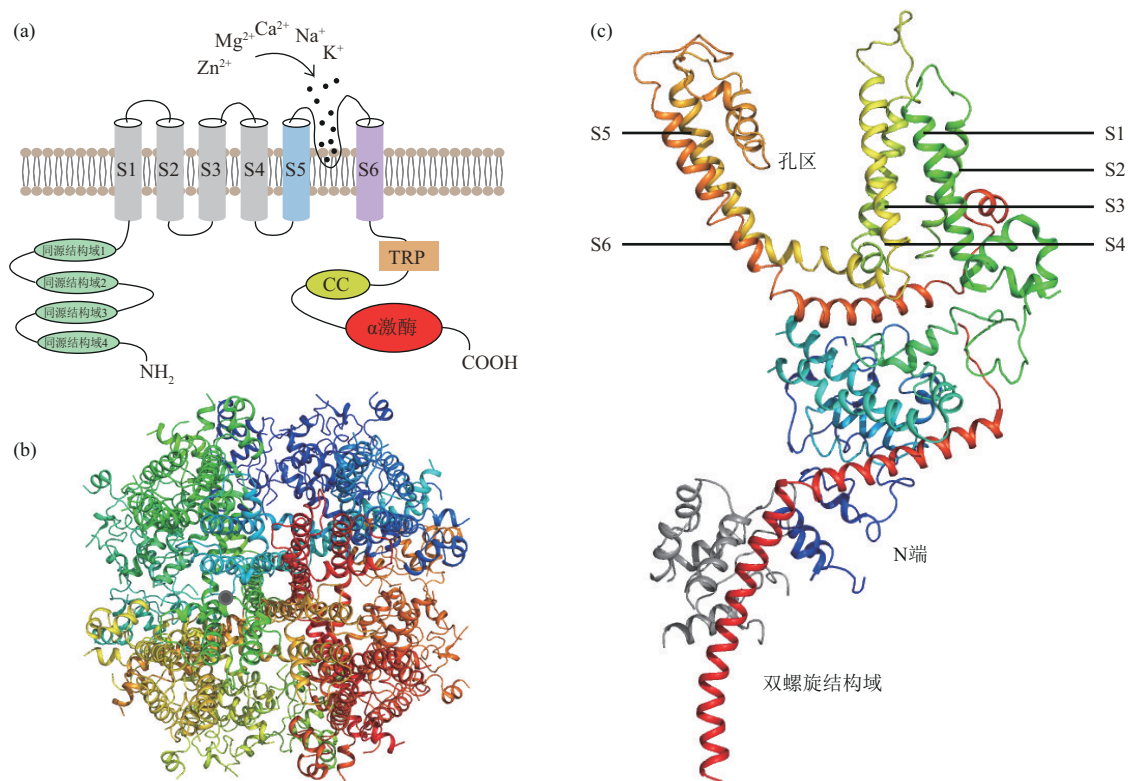


Fig. 1 The schematic structure of TRPM7 channel

图1 TRPM7通道结构示意图

(a) TRPM7通道拓扑结构图; (b) TRPM7通道(鼠源)冷冻电镜结构图(顶面观), 4个TRPM7亚基组成一个功能性通道; (c) 单个TRPM7通道(鼠源)亚基结构图(PDB ID: 6BWF^[20])。

Ca^{2+} 和 Mg^{2+} 的通透性以及 pH 敏感性极为重要^[21]。C 端靠近跨膜区是一个高度保守且富含脯氨酸的 TRP 盒, 由 24 个氨基酸组成, 可与磷脂酰肌醇二磷酸 (phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate, PIP2) 相互作用^[1]; TRP 盒后连接着双螺旋结构域 (coiled-coil domain, CC), 以反平行四聚体结构参与四聚体跨膜区和二聚激酶结构域之间的连接, 是通道组装和转运的结构基础^[22]。C 端含有 α 激酶结构域, 包含一个锌指同源域以维持激酶结构稳定性, 通过丝氨酸/苏氨酸磷酸化自身和底物参与细胞骨架动力学、细胞生长、增殖和基因表达等过程^[23]。

2.2 TRPM7 的功能特性

TRPM7 是一种非选择性阳离子通道, 可通透多种二价阳离子, 通透性从高至低依次为 Zn^{2+} 、 Ni^{2+} 、 Co^{2+} 、 Mg^{2+} 、 Ca^{2+} 、 Mn^{2+} 、 Sr^{2+} 、 Cd^{2+} 等^[24], 同时也对单价阳离子如 Na^{+} 、 K^{+} 通透, 可被 La^{3+} 、 Gd^{3+} 等三价阳离子阻断。TRPM7 电流的反转电位约为 0 mV, 在负的膜电位下介导较小的内向电流, 在正的膜电位下介导大的外向电流, 表现出外向整流现象, 该特性与细胞外二价阳离子阻断单价阳离子流入有关^[25]。去除胞外的二价阳离子后, TRPM7 通道因通透单价阳离子, 外向整流的現象消失。TRPM7 通道的失活或激活均无时间或电压依赖性, 其电流可被细胞内外高浓度的 Mg^{2+} 抑制, 因此在全细胞膜片钳实验中, 通常用不含 Mg^{2+} 或添加 Mg^{2+} 螯合剂的内液记录电流^[25]。TRPM7 的 α 激酶属于非典型丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶, 最主要的功能在于磷酸化和自磷酸化, S1511 和 S1567 是主要的自磷酸化位点, 可以磷酸化 α 螺旋和非 α 螺旋结构域的丝氨酸与苏氨酸残基^[26]。在 LN18 (人胶质母细胞瘤细胞系) 细胞中, 半胱天冬酶在 D1510 处切割使得 TRPM7 激酶结构域与通道分离, 可以增强离子通道活性但不影响激酶的功能^[27]。TRPM7 激酶结构域可以通过蛋白酶水解的方式分离出来, 以 Zn^{2+} 依赖的方式转移到细胞核, 结合多个染色质重塑复合物成分, 磷酸化特定的组蛋白, 改变染色质共价修饰结构, 最终影响细胞分化和胚胎发育, 参与基因的表达调控^[28]。

3 TRPM7 的生理功能特征

TRPM7 广泛分布于中枢和外周神经系统, 在哺乳动物的心、肝、脾、肺、肾、消化道等多种组

织及器官中皆有表达, 特别是在心脏、垂体、骨骼和脂肪组织中表达水平最高^[29]。TRPM7 可以影响细胞生长、发育、增殖和迁移, HEK293 细胞中过表达 TRPM7 可使细胞圆化、从基底上脱离, 最终导致细胞死亡^[30], 对机体的离子稳态和胚胎发育等起到不可或缺的作用。

TRPM7 的离子通道部分可以通透多种二价阳离子, Mg^{2+} 和 Ca^{2+} 是 TRPM7 电流的主要携带者^[31]。 Mg^{2+} 是细胞中仅次于钾离子的第二丰富的阳离子, 调节多种细胞功能、酶、离子通道、新陈代谢以及信号通路等, 是不可缺少的生物调节因子^[32-33], 镁稳态紊乱与包括癌症在内的多种炎症驱动的慢性病的病理生理学有关^[34]。DT-40 细胞中 TRPM7 的缺失会阻止细胞周期进程, 通过补充 Mg^{2+} 才能使其继续进行, 因此 TRPM7 在 G1 期被激活, 很可能是在这一阶段介导 Mg^{2+} 流入保持细胞的生长增殖^[35]。除了细胞增殖, TRPM7 在调节全身的镁离子平衡中也发挥了重要作用, 携带缺失激酶结构域导致 TRPM7 通道功能障碍的小鼠粪便中 Mg^{2+} 的排泄量明显增加, 意味着小鼠的肠道对 Mg^{2+} 的吸收存在缺陷, 长期缺乏 Mg^{2+} 最终可能导致低镁血症、高血压等疾病^[36-38]。在牙齿发育过程中, TRPM7 相对表达水平在牙釉质形成的成熟阶段上调, 在成釉细胞高度表达。通过构建 TRPM7 激酶缺失的小鼠模型, 发现此类小鼠门牙牙釉质的体积比正常小鼠小, 且明显低矿化, 补充 Mg^{2+} 可以恢复前者的部分活性, 通透 Mg^{2+} 的 TRPM7 通道在其中无疑发挥重要作用^[39-40]。

Ca^{2+} 是大量生命活动的基础, 是最常用的细胞内信使, 从心肌和骨骼肌收缩、受精到胚胎发育, Ca^{2+} 无一不存在其中, 破坏 Ca^{2+} 的稳态会干扰生命体的正常生理过程^[41-42]。TRPM7 在被激活和长时间的氧/葡萄糖剥夺后, 使用脂多糖 (lipopolysaccharide, LPS) 诱导分化 PC12 神经元细胞和初级海马神经元细胞, 细胞活性氧水平和 TRPM7 通道的表达水平显著增加, 使得大量 Ca^{2+} 进入神经元细胞, 导致神经元死亡。通过非选择性阳离子抑制剂和 siRNA 抑制 TRPM7 的表达均可保护神经元细胞, 因此 TRPM7 对 Ca^{2+} 稳态的维持及神经元细胞的保护起到重要作用^[43]。在对人类胚胎肺成纤维细胞内钙信号的研究中发现, 迁移的成纤维细胞中存在独特的“钙闪烁”, 通过共聚焦成像可以发现“钙闪烁”是由一类阳离子通道介导的

钙离子流入触发的, 在此细胞中敲低 TRPM7 后“钙闪烁”几乎消失, 确证了 TRPM7 在此过程中的传感器作用, 揭示了它在细胞迁移中的新功能^[44]。

除了二价阳离子, TRPM7 也能通透 K^+ 等一价阳离子。在酸性条件下质子可以增加内向电流至原来的十倍, 酸性越强, 质子作用越强, 质子通过与二价阳离子 (Ca^{2+} 、 Mg^{2+}) 竞争结合位点使单价阳离子通过 TRPM7 通道^[45-46]。在缺血、炎症等组织损伤的病理条件下容易出现低 pH 值的情况, 结合 TRPM7 的 pH 敏感性, TRPM7 在此类病理条件下很可能引起疼痛加剧以及酸中毒等情况加重患者的病痛^[47]。

除离子通道结构域外, TRPM7 还拥有 α 激酶结构域。目前关于激酶区是否影响 TRPM7 离子通道的功能存在争议, 但是激酶活性丧失型突变体改变激酶结构, 进而影响通道对镁离子的敏感性已有报道^[48]。TRPM7 的 α 激酶可以自磷酸化结构中的丝氨酸/苏氨酸残基富集区域, 在不影响其催化功能的情况下促进肌球蛋白 II 等底物的磷酸化, 发挥蛋白激酶活性; 由于肌球蛋白 II 是驱动细胞收缩的主要蛋白质, TRPM7 激酶以此调控细胞骨架张力参与细胞黏附、肌球蛋白丝稳定性等过程中^[26, 49]。此外, TRPM7 的 C 端可经蛋白质水解裂解出 TRPM7 激酶部分, 裂解激酶进入细胞核与核蛋白结合, 磷酸化特定核组蛋白从而调节转录、DNA 损伤修复等过程参与细胞基本功能, 最终影响细胞分化和胚胎发育^[28]。

在动物水平上, 从哺乳动物早期胚胎发育到出生后功能性神经元网络的形成, TRPM7 都是必不可少的^[38]。通过使用 Ick-Cre 小鼠敲除发育胸腺细胞中的 TRPM7, 敲除鼠 12 周时出现了胸腺细胞显著减少、胸腺结构异常的现象, 胸腺髓质细胞中 STAT3 活性和丰度降低使得胸腺结构逐渐丧失, 如果从小鼠胚胎中完全敲除 TRPM7 基因, 胚胎将在第 7.5 天时直接死亡^[50]。除此之外, 携带 TRPM7 功能丧失突变的斑马鱼显示出严重的生长迟缓和骨骼发育的改变^[51]。非洲爪蟾胚胎中抑制细胞背侧边缘区的 TRPM7 蛋白表达会造成严重的原肠胚缺陷等等^[52], 这些都表明了 TRPM7 在机体参与不同的生理过程以及维持生命体正常的生长发育过程中不可或缺。

4 TRPM7与疾病

TRPM7 在多种人类疾病中扮演着重要的角色, 其功能紊乱可引发神经退行性疾病、缺血性细胞死亡、癌症、心血管疾病等病症^[1, 53-55]。目前和 TRPM7 相关的多数疾病主要与 TRPM7 通道功能异常进而打破胞内离子平衡有关。在乳腺癌、前列腺癌中, 可通过 TRPM7 通道的下调或失活抑制 Ca^{2+} 流入发挥抗肿瘤能力^[56-57]。在缺血性中风中, 抑制 TRPM7 可防止缺血性细胞死亡并保持神经元功能^[54]。此外, TRPM7 还与高血压相关的 Mg^{2+} 失调和血管功能障碍有关^[58]。

4.1 神经退行性疾病

神经变性是所有引起神经元结构和功能逐渐丧失的病理事件的集合, 包括细胞损伤、疾病发展以及细胞死亡。在神经元的生长、存活以及分化过程中, Ca^{2+} 和 Mg^{2+} 都起到至关重要的作用^[59-60]。由于 TRPM7 广泛分布于中枢神经系统中且可以调节这两种离子的平衡, 使得 TRPM7 可能在阿尔茨海默病 (Alzheimer's disease, AD) 和帕金森病 (Parkinson's disease, PD) 等神经退行性疾病中发挥重要作用^[61-62]。在 AD 的发病机制中, 脑中蓄积的 β 淀粉样蛋白 ($A\beta$) 被认为是 AD 发病的重要机制之一, 激活 TRPM7 通道增加 Ca^{2+} 流入可启动对 $A\beta$ 的基础自噬机制, 最终改善认知功能^[61]。在家族性阿尔茨海默病 (familial Alzheimer's disease, FAD) 中, 早老素 (presenilin) 突变导致可调节 TRPM7 通道的 PIP2 代谢失衡, 突变细胞中 TRPM7 通道电流减少、自噬活性减弱, 通过恢复 TRPM7 通道正常的活性可恢复正常的基础自噬并且减少 $A\beta$ 的产生^[63]。另外, AD 的认知障碍也与突触结构和功能的丧失有关, Cofilin 是一种肌动蛋白调节蛋白, 在受刺激的神经元中通过磷酸化成蛋白束, 可与积累的 $A\beta$ 前体共同抑制突触蛋白运输, 损伤突触传递和可塑性, TRPM7 α 激酶可通过与 Cofilin 相互作用, 抑制 Cofilin 去磷酸化从而保护突触, 治疗 AD^[64-65]。黑质多巴胺能神经元的丧失是 PD 的重要发病机制之一, TRPM7 在大脑黑质的神经元中表达, 而斑马鱼 TRPM7 突变的幼苗会出现游泳能力减弱等行为和发育缺陷, 通过补充外源性多巴胺可以挽救部分缺陷, 表明多巴胺能神经元部分依赖于 TRPM7 的表达, TRPM7 的缺失或许是

PD发病的重要原因之一^[66]。

最近一项研究发现, TRPM7的离子通道区域会对神经元的突触囊泡内吞产生作用, 条件性敲除TRPM7的小鼠神经内分泌细胞和神经元的突触囊泡内吞作用存在缺陷, 神经元的兴奋性和抑制性突触传递的突触前抑制在短期内被增强^[67], 这些现象可能与细胞无法正常摄入 Ca^{2+} 有关, 提示TRPM7缺陷的动物表现出神经退行性疾病的症状可能是离子平衡紊乱所致, TRPM7功能障碍导致的突触囊泡内吞作用可能是此类疾病的潜在分子机制之一。

4.2 缺血性中风

缺血性中风是一种以血管堵塞为主要症状的神经系统疾病, 是全球第二大死因^[68]。中风治疗主要侧重于恢复大脑的血流量和治疗中风引起的神经损伤, 缺血发生过程中, 细胞质内过多的 Ca^{2+} 会造成线粒体、细胞骨架和蛋白质合成的不可逆损伤, 最终使神经元死亡, 因此, 抑制过量的细胞外 Ca^{2+} 流入和抑制细胞内部 Ca^{2+} 的释放被认为是治疗缺血性中风的治疗重要途径。N-甲基-D-天冬氨酸(NMDA)受体、 α -氨基-3-羟基-5-甲基-4-异恶唑丙酸(AMPA)受体和L型Cav通道曾经被认为是缺血期间细胞外 Ca^{2+} 进入胞质的主要途径^[69], 阻断这些受体和通道可以作为防止细胞内钙超载, 进而保护缺血性细胞损伤的重要手段。然而, 临床试验中的相关药物并未达到理想的效果, 部分患者出现肝肾功能损害、皮肤刺激、恶心等不良反应, 严重者甚至出现心肌梗塞、心力衰竭、肺炎和卒中复发^[70]。

目前, 已发现TRPM7通道在大脑缺血导致的神经元损伤中扮演重要作用^[71], 其通透的 Ca^{2+} 和 Zn^{2+} 在缺血性皮质和海马组织中含量增高, 诱导线粒体功能障碍致使神经元损伤^[72]。在脑灌注不足的大鼠海马中, TRPM7的mRNA和蛋白质水平显著增加, 而TRPM7转录本与细胞内 Ca^{2+} 和活性氧(reactive oxygen species, ROS)水平呈正相关的关系, 证明TRPM7参与了海马的缺氧损伤^[73]。这些结果表明, 抑制或下调TRPM7通道或许有助于缓解缺血性神经元损伤, TRPM7可作为中风过程神经保护的潜在靶点^[52]。

4.3 肿瘤

TRPM7和肿瘤的密切关系已在多种类型的癌症中得到证实, 包括乳腺癌、卵巢癌、胃癌、头颈癌、鼻咽癌、胰腺癌、前列腺癌、视网膜母细胞瘤

和白血病等^[74-80]。TRPM7能在癌细胞中发挥多种功能, 影响癌细胞的存活、细胞周期进程、增殖、生长、迁移、侵袭和上皮间质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)等。在乳腺癌、胶质母细胞瘤及肺癌的细胞系和组织中, TRPM7表达量均有明显增加^[77]。在乳腺癌细胞系MDA-MB-468中沉默TRPM7可抑制部分EMT的标志物表达^[81]。人胶质母细胞瘤U87细胞中TRPM7转录物和蛋白质表达水平明显高于正常人星形胶质NHA细胞, 阻断TRPM7的表达可显著降低肿瘤细胞侵袭及转移能力^[82]。

TRPM7在肿瘤中的病理功能角色复杂多样, 在不同甚至同种肿瘤中, TRPM7可以通过不同的途径参与病理过程。以乳腺癌为例, 在人乳腺癌细胞系MCF-7中, TRPM7的表达水平明显高于正常组织细胞, 影响肿瘤细胞的生长速率, 通过siRNA沉默TRPM7降低了MIC(Mg^{2+} -inhibited cationic current)电流, 此前TRPM7通过钙离子和锰离子的流入成为这一电流的贡献者, 而降低外部钙离子浓度或者沉默TRPM7可使MCF-7细胞生长速率减慢^[56]。在另一种人乳腺癌细胞系MDA-MB-231中, TRPM7非选择性抑制剂2-氨基乙基二苯基硼酸酯(2-APB)改变了MDA-MB-231的细胞周期, 使S期细胞百分比增加, G0/G1期细胞减少, 通过抑制TRPM7从而降低癌细胞增殖^[80]。同样是在这一细胞系中, 正常组细胞表现出典型的纺锤形, 通过shRNA敲低TRPM7后的乳腺癌细胞则更接近圆形, 明显降低了细胞的迁移速率和能力^[83]。除此之外, 如控制钙镁离子的流入调控TRPM7激酶结构磷酸化, 调节TRPM7激酶与肌动蛋白等底物的活性从而改变细胞结构参与乳腺癌细胞迁移等多种机制也参与肿瘤的病理过程中^[84]。TRPM7在恶性肿瘤中通过多种机制发挥重要作用, 因此利用TRPM7作为人类恶性肿瘤的分子生物标志物和治疗靶标具有极大的潜在价值。

4.4 心血管疾病

高血压发病的重要原因之一是细胞内 Mg^{2+} 浓度降低, 导致血管过度收缩或血管功能障碍。研究发现, 自发性高血压大鼠的血管平滑肌细胞中 Mg^{2+} 内流的减少与血管TRPM7的下调有关^[55], TRPM7表达不足或活性缺陷可能导致血管产生炎症、纤维化和收缩, 这在高血压疾病相关的血管重塑过程中十分重要, 通过增强TRPM7通道提高细胞内 Mg^{2+} 水平可使血管舒张并减弱血管收缩, 防

止高血压的发生^[85]。

TRPM7 通道是第一个在心肌成纤维细胞 (cardiac fibroblasts, CFs) 上检测到的 TRP 家族通道, 是人和小鼠心肌成纤维细胞主要的钙调控通道^[86]。与健康者心房肌细胞比较, 心房颤动患者心房肌细胞 TRPM7 表达升高 3~5 倍, 其介导的钙电流明显增加, 诱导转化生长因子 $\beta 1$ (TGF- $\beta 1$) 表达上调, 增加成纤维细胞的分化与纤维化, 最终导致心房纤颤。下调或沉默 TRPM7 后, Ca^{2+} 流入显著降低, 抑制基础房颤成纤维细胞的分化, 表明 TRPM7 通过调节钙信号和 TGF- β 等通路在心肌纤维化过程发挥着重要作用^[86-88]。

4.5 其他疾病

从胚胎期开始到成年, 心脏到骨髓逐渐检测到 TRPM7 的表达, 成年后的表达低于胚胎期, 证明了 TRPM7 在小鼠早期发育中的重要地位, TRPM7 条件性敲除小鼠的股骨更短以及部分早产儿心脏中 TRPM7 含量低导致心血管不稳定可以证实这一点^[89-90]。近年来研究发现, TRPM7 可以调节 TLR4/NF- κB 等通路参与到炎症性疾病中, 如炎症性肠病 (inflammatory bowel disease, IBD) 和肾小管上皮细胞炎症^[91-92]。敲低 TRPM7 阻断了肠细胞中 TLR4/NF- κB 途径激活, 此途径的激活会促进下游炎症因子的释放, 致使肠组织损伤。同时 TRPM7 的敲低可以激活 MEK/ERK 通路、增强细胞增殖, 通过两种通路的共同作用阻断细胞凋亡, 减弱炎症。在肾上皮细胞中, TRPM7 的敲低降低了 MAPK 的活化以减少一些可诱发炎症的蛋白激酶和转录因子的激活。对于 HSH 而言, 早在 2002 年已经确定了 TRPM6 是 HSH 的致病因素^[93-94], 然而只有 TRPM6/TRPM7 异四聚体才能发挥通道功能, 通过对两个存在 HSH 患者的家族进行全外显子测序, 发现患者的 TRPM7 基因出现了罕见突变, 其中 G1046A 能够诱导 TRPM7 通道功能丧失, 由此 TRPM7 可以确定为 HSH 的候选基因^[95]。

5 TRPM7小分子调节剂

尽管 TRPM7 在多种疾病中扮演着重要角色, 但是目前 TRPM7 特异性的调节剂并不多, 早期研究发现 TRPM7 可被多种内源性物质调节, 如细胞内游离的 Mg^{2+} 、PIP2、胞质的酸碱度, 近年来小分子调节剂的发现成为热点, 靶向 TRPM7 通道所开发的小分子调节剂有 11 种, 仅有 CCT128930 进入临床前研究阶段。其余化合物停留在生物学检测阶

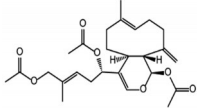
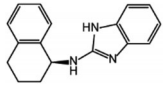
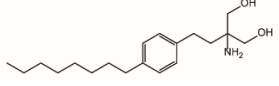
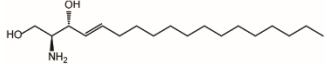
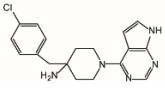
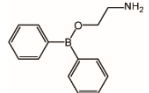
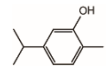
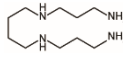
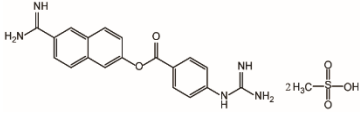
段, 数量极少且缺乏特异性。如 2-APB, 通过干扰多种与钙信号有关的蛋白质和细胞质酸化机制等方式抑制 TRPM7 电流, IC_{50} 为 $178 \mu\text{mol/L}$ ^[96-98]; 广谱丝氨酸蛋白酶抑制剂和抗凝血剂 Nafamostat 抑制 TRPM7 通道, IC_{50} 达到 $617 \mu\text{mol/L}$ ^[99]; 香芹酚和几种 5-脂氧合酶抑制剂 (NDGA、AA861 和 MK886) 也需要在较高浓度下阻断 TRPM7 电流^[100-101]。缺少特异性 TRPM7 调节剂和已发现的小分子调节剂存在的作用位点不明确、特异性不强、有效剂量过高等问题, 使得开展 TRPM7 小分子调节剂的发现和作用机制研究越发紧迫。近年来, 随着高通量筛选技术的发展, 陆续发现了一些对 TRPM7 有相对特异性的小分子抑制剂 (表 1) 和激动剂 (表 2)。

5.1 抑制剂

Waixenicin A 是从软珊瑚 (*Sarcothelia edmondsoni*) 中提取的天然萜类化合物, 是第一个有效且相对特异性的 TRPM7 通道抑制剂, 可以抑制海马神经元中的 TRPM7 通道调节钙离子内流及骨架蛋白, 从而影响海马神经元的生长发育^[102]。Waixenicin A 对 TRPM7 同源性最高的 TRPM6 通道无抑制作用, 仅轻微影响 TRPM2、TRPM4 和 Ca^{2+} 释放激活的 Ca^{2+} 通道 (CRAC 通道)。在细胞内液含有 $700 \mu\text{mol/L}$ Mg^{2+} 的亚生理条件下, Waixenicin A 对 TRPM7 通道的 IC_{50} 为 16 nmol/L , 去除细胞内液 Mg^{2+} 后, 其效应大幅度降低, IC_{50} 达到 $7 \mu\text{mol/L}$, 说明 Waixenicin A 可以与胞内 Mg^{2+} 协同抑制通道活性。但是在过表达 TRPM7 缺乏激酶结构域 (TRPM7- ΔK) 的 HEK293 细胞中发现, 在细胞内液和外液完全不含 Mg^{2+} 的情况下, 300 nmol/L Waixenicin A 也可以完全抑制 TRPM7 样电流^[98]。根据以上结果可以猜测, Waixenicin A 的效应不依赖 Mg^{2+} , 二者协同作用的产生很可能是由于 Mg^{2+} 和 L1648 残基 (Mg^{2+} 结合位点) 结合后, 使得 TRPM7 转变成能和 Waixenicin A 高亲和力结合并有效阻断通道的构象状态, 这一新型天然化合物的发现为此类化合物药效团结构活性的研究提供了新的方向。最近在研究者构建的缺氧-缺血性脑损伤小鼠模型中发现, Waixenicin A 对新生小鼠的脑部形态和短期、长期功能恢复都具有显著的改善, 且提示钙调蛋白质依赖的激酶、p38 和 Cofilin 等因子可能参与其中, 该结果进一步支持 TRPM7 是具有前途的神经保护药物开发靶点^[103]。

Table 1 Inhibitors of TRPM7 channel

表1 TRPM7通道抑制剂

化合物名称	$IC_{50}/(\mu\text{mol}\cdot\text{L})$	是否可逆	化学结构式	参考文献
Waixenicin A	7.0	不可逆		[98]
NS8593	1.6	可逆		[104]
FTY720	0.7	可逆		[105]
鞘氨醇	0.6	可逆		[105]
CCT128930	0.86 (无 Mg^{2+}) 0.63 (300 $\mu\text{mol/L}$ Mg^{2+})	部分可逆		[106]
2-APB	178	可逆		[96]
香芹酚	306	可逆		[100]
精胺	2.3	可逆		[107]
甲磺酸萘莫司他	617	可逆		[99]

其他具有TRPM7通道抑制活性的化合物：三七皂苷、瘦素、冬凌草素、黄芪甲苷、槲皮素。

小电导钙激活钾（small conductance calcium activated potassium, SK）通道抑制剂，如奎宁、CyPPA、喹啉、NS8593、SKA31和UCL1684也可抑制TRPM7通道，NS8593是其中活性最强的分子。NS8593最早作为SK通道抑制剂上市，如今被证明是TRPM7通道高活性、高选择性、可逆的抑制剂。当细胞内液不含有 Mg^{2+} 时，NS8593对TRPM7通道的 IC_{50} 为 $(1.6\pm0.1)\mu\text{mol/L}$ ，在细胞内液含有300 $\mu\text{mol/L}$ Mg^{2+} 时，NS8593对TRPM7的 IC_{50} 值为 $(5.9\pm0.5)\mu\text{mol/L}$ ，说明此化合物效应也会受到 Mg^{2+} 的影响。NS8593对其他TRP家族通道无明显的调节效应（TRPM2、TRPM5、TRPM8、TRPC6、TRPV1及TRPA1），对TRPM6电流抑制的 IC_{50} 约为26.7 $\mu\text{mol/L}$ ，是对TRPM7的 IC_{50} 的5倍以上，证明其对TRPM7的良好选择性。位于激酶域催化位点的高度保守的残基K1646R突变可阻断

TRPM7的激酶功能且不影响通道功能，该突变体电流可被10 $\mu\text{mol/L}$ NS8593抑制，说明NS8593对TRPM7的抑制作用不需要激酶结构域^[104]。TRPM7孔环的两个保守性残基（E1047、Y1049）对二价阳离子的渗透至关重要。E1047Q突变可导致通道对单价阳离子的渗透增加而不通透二价阳离子，该突变体对于NS8593的抑制作用无影响，但TRPM7-Y1049P突变体对NS8593的亲合力提高，与野生型TRPM7相比，NS8593对Y1049P突变的 IC_{50} 值降低至原来的1/4左右。这些结果表明，TRPM7孔道区参与了和NS8593的相互作用。目前，NS8593被广泛用作TRPM7通道研究的工具分子。

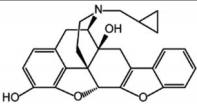
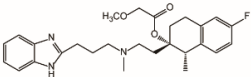
鞘氨醇（SPH）是质膜鞘脂的核心组成部分，SPH和其合成同系物FTY720均可有效抑制TRPM7通道的活性。FTY720是鼠尾草素（ISP-1）的衍生

物, 于2010年获得美国食品药品监督管理局(FDA)批准作为一种治疗多发性硬化症的口服药物^[108], 对TRPM7的 IC_{50} 为0.7 $\mu\text{mol/L}$, 是TRPM7的强效抑制剂。SPH和FTY720作用机制类似, 主要通过掩蔽PIP2的负电荷, 进而降低TRPM7单通道开放概率使通道失活^[105]。

针对目前TRPM7强效抑制剂不足的问题, 官子月等^[106]利用IonWorks Barracuda高通量筛选平台发现CCT128930是一个强效TRPM7通道抑制剂。该分子对TRPM7通道的 IC_{50} 在0.86 $\mu\text{mol/L}$ 左

右, 与TRPM6和TRPM8亚型相比, CCT128930选择性抑制TRPM7通道, 抑制效应部分可逆。CCT128930对TRPM7的抑制几乎不受生理 Mg^{2+} 的影响, 在含 Mg^{2+} 内液中其对TRPM7通道的 IC_{50} 为0.63 $\mu\text{mol/L}$, 在无 Mg^{2+} 内液中为0.86 $\mu\text{mol/L}$ 。通过大量的单个位点突变实验, 发现TRPM7激酶结构域不影响CCT128930的抑制活性, 位于通道结构域孔道区的E1047等氨基酸残基是这一分子抑制效应的关键性残基。

Table 2 Agonists of TRPM7 channel
表2 TRPM7通道激动剂

化合物名称	$EC_{50}/(\mu\text{mol}\cdot\text{L})$	是否可逆	化学结构式	参考文献
Naltriben	20.7	可逆		[109]
Mibefradil	53	可逆		[110]

5.2 激动剂

TRPM7激动剂数量比抑制剂更少, 目前仅有两个分子选择性相对良好——Naltriben和Mibefradil。灌流Naltriben (50 $\mu\text{mol/L}$)可显著增强U87细胞中的内源性TRPM7样电流, 且电流能够随着对Naltriben的洗脱而降低, 因而Naltriben对TRPM7通道的激活是可逆的^[111]。Naltriben在无 Mg^{2+} 细胞内液和低PIP2的条件下均可激活TRPM7通道, EC_{50} 值约为20 $\mu\text{mol/L}$; 在细胞内液中含 Mg^{2+} 的时候, 由Naltriben引起的电流幅度增加更为明显, 且在50 $\mu\text{mol/L}$ 的浓度下对其他TRP通道(TRPM2、TRPM8和TRPV1)无明显的激活作用。因此, Naltriben被认为是强激动活性、高选择性、可逆的TRPM7激动剂^[109]。通过一系列孔道区、TRP盒和激酶结构域的TRPM7残基的突变体研究表明, Naltriben增强TRPM7通道的关键位点可能位于TRP结构域中。此外, Naltriben以竞争性方式干扰NS8593和 Mg^{2+} 对TRPM7电流的抑制作用。

Mibefradil是另一个活性较好的TRPM7激动剂, 其结构与NS8593相似, 但两者对通道功能的影响不同。Mibefradil曾作为 Ca^{2+} 拮抗剂用于高血压、心绞痛和充血性心力衰竭等心血管疾病的临床治疗^[112], 但因其与多种常用药物发生致命的药物相互作用而退出市场^[113]。Mibefradil能够刺激

TRPM7介导的 Ca^{2+} 内流, EC_{50} 为53 $\mu\text{mol/L}$, 对TRPM7通道的激活作用迅速且完全可逆, 同时对TRPA1、TRPV1、TRPM3等TRP通道无影响, 具有较好的选择性。对TRP盒的S1107位突变(S1107E)后发现, Mibefradil对此突变体未产生激活作用, 因而认为Mibefradil通过调节通道门控发挥对TRPM7的激活作用。与Naltriben不同, Mibefradil对TRPM7通道的激动作用高度依赖于胞内 Mg^{2+} , Mibefradil在细胞内生理 Mg^{2+} 浓度下可有效激活TRPM7电流, 而细胞内高浓度的 Mg^{2+} 会完全消除其激动效应^[110]。

2016年Valinsky等^[114]发现, 盐皮质激素家族中的醛固酮对TRPM7也有激动效应, 醛固酮对TRPM7的电流有48%的激动的同时, 增加了34%的TRPM7膜蛋白表达。该结果提示, 调节体内的某些调节因子影响TRPM7的表达也是增强TRPM7通道的有效途径。

6 展 望

TRPM7是一个具有离子通道结构域和激酶结构域的双功能跨膜蛋白, 调节细胞 Ca^{2+} 和 Mg^{2+} 的稳态, 磷酸化底物参与细胞基本功能。TRPM7在人体组织中广泛表达, 在细胞的生长、分化、迁移、胚胎的早期发育等生理过程中都发挥着至关重要的

作用,影响人类多种疾病的进程。因此,TRPM7被认为是多种疾病的潜在治疗靶点。然而,TRPM7在各类疾病类型中的具体作用机制尚不够清晰,不同组织和器官中的信号通路也有待深入阐明,特别是TRPM7作为疾病治疗的药物靶点的有效性有待进一步研究和确证。例如,虽然TRPM7在多种神经胶质瘤细胞株中显著过表达,但已报道的TRPM7蛋白的表达水平与癌症患者的疾病严重程度和生存率之间的相关性不强,限制了TRPM7作为抗神经胶质瘤有效药物靶点的研究。

目前,靶向TRPM7通道开发的选择性小分子调节剂存在数量少(仅11种)、活性弱、选择性差和深入开发不佳的问题。其中,仅有CCT128930进入临床前研究阶段,其余化合物停留在生物学检测阶段。值得注意的是,现有的TRPM7小分子抑制剂也是其他通道的调节剂,因此普遍存在选择性不佳的问题,如CCT128930原作为Akt2激酶抑制剂,在高通量筛选中发现其对TRPM7具有强的抑制效应和一定的相对选择性,但其本质并非特异性作用于TRPM7通道。我们也正在开展基于此结构母核的构效关系优化。同时,已有的TRPM7抑制剂主要是细胞和组织水平的体外活性研究,系统的动物体内药效评价明显不足,降低了靶向TRPM7的药物发现和优化的积极性。此外,已有调节剂作用机制的研究也有待深入,目前主要是不同TRPM亚型间的选择性和定点突变的结果,无法阐明其具体结合位点和分子机制,制约了基于结合口袋的虚拟筛选和合理药物设计与改造。因此,优化和扩大筛选通量,研究苗头化合物的药效和作用机制,结合已解析的蛋白质结构,开展系统的构效关系优化,有助于发现活性强、选择性高、体内药效好的化合物,同时促进TRPM7作为特定疾病类型有效药物靶标的确证。此外,目前靶向TRPM7的调节剂主要是作用于离子通道结构域,激酶区的调节剂研究相对薄弱,而激酶结构域的重要功能及其与通道结构域之间的相互调节作用是TRPM7蛋白重要的生理病理功能所不可或缺的,靶向TRPM7激酶区的调节剂发现也有待加强。

参 考 文 献

- [1] Yee N S. Role of TRPM7 in cancer: potential as molecular biomarker and therapeutic target. *Pharmaceuticals (Basel)*, 2017, **10**(2): 39
- [2] Cosens D J, Manning A. Abnormal electroretinogram from a *Drosophila* mutant. *Nature*, 1969, **224**(5216): 285-287
- [3] Kaneko Y, Szallasi A. Transient receptor potential (TRP) channels: a clinical perspective. *Br J Pharmacol*, 2014, **171**(10): 2474-2507
- [4] Lee K, Jo Y Y, Chung G, *et al.* Functional importance of transient receptor potential (TRP) channels in neurological disorders. *Front Cell Dev Biol*, 2021, **9**: 611773
- [5] Lee J, Moon S, Cha Y, *et al.* *Drosophila* TRPN(=NOMPC) channel localizes to the distal end of mechanosensory cilia. *PLoS One*, 2010, **5**(6): e11012
- [6] Nilius B, Szallasi A. Transient receptor potential channels as drug targets: from the science of basic research to the art of medicine. *Pharmacol Rev*, 2014, **66**(3): 676-814
- [7] Kim L J, Shin M K, Pho H, *et al.* TRPM7 channels regulate breathing during sleep in obesity by acting peripherally in the carotid bodies. *J Physiol*, 2022, **600**(23): 5145-5162
- [8] Fleig A, Penner R. The TRPM ion channel subfamily: molecular, biophysical and functional features. *Trends Pharmacol Sci*, 2004, **25**(12): 633-639
- [9] Huang Y, Fliegert R, Guse A H, *et al.* A structural overview of the ion channels of the TRPM family. *Cell Calcium*, 2020, **85**: 102111
- [10] Nilius B, Voets T. TRP channels: a TR(1)P through a world of multifunctional cation channels. *Pflügers Arch*, 2005, **451**(1): 1-10
- [11] Hsieh C C, Su Y C, Jiang K Y, *et al.* TRPM1 promotes tumor progression in acral melanoma by activating the Ca^{2+} /CaMKII δ /AKT pathway. *J Adv Res*, 2023, **43**: 45-57
- [12] Sita G, Hrelia P, Graziosi A, *et al.* TRPM2 in the brain: role in health and disease. *Cells*, 2018, **7**(7): 82
- [13] Song K, Wang H, Kamm G B, *et al.* The TRPM2 channel is a hypothalamic heat sensor that limits fever and can drive hypothermia. *Science*, 2016, **353**(6306): 1393-1398
- [14] Held K, Tóth B I. TRPM3 in brain (patho)physiology. *Front Cell Dev Biol*, 2021, **9**: 635659
- [15] Dutta B D, Martin L E, Freichel M, *et al.* TRPM4 and TRPM5 are both required for normal signaling in taste receptor cells. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2018, **115**(4): E772-E781
- [16] Han Y, Zhao Y, Wang H, *et al.* Case report: novel TRPM6 mutations cause hereditary hypomagnesemia with secondary hypocalcemia in a Chinese family and a literature review. *Front Pediatr*, 2022, **10**: 912524
- [17] Plaza-Cayón A, González-Muñiz R, Martín-Martínez M. Mutations of TRPM8 channels: unraveling the molecular basis of activation by cold and ligands. *Med Res Rev*, 2022, **42**(6): 2168-2203
- [18] Zhou W, Guo S, Xiong Z, *et al.* Oncogenic role and therapeutic target of transient receptor potential melastatin 7 channel in malignancy. *Expert Opin Ther Targets*, 2014, **18**(10): 1177-1196
- [19] Yamaguchi H, Matsushita M, Nairn A C, *et al.* Crystal structure of the atypical protein kinase domain of a TRP channel with phosphotransferase activity. *Mol Cell*, 2001, **7**(5): 1047-1057
- [20] Duan J, Li Z, Li J, *et al.* Structure of the mammalian TRPM7, a magnesium channel required during embryonic development. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2018, **115**(35): E8201-E8210
- [21] Fleig A, Chubakov V. TRPM7. *Handb Exp Pharmacol*, 2014,

- 222:521-546
- [22] Fujiwara Y, Minor D L. X-ray crystal structure of a TRPM assembly domain reveals an antiparallel four-stranded coiled-coil. *J Mol Biol*, 2008, **383**(4): 854-870
- [23] Li M, Yu Y, Yang J. Structural biology of TRP channels. *Adv Exp Med Biol*, 2011, **704**: 1-23
- [24] Monteilh-Zoller M K, Hermosura M C, Nadler M J, *et al*. TRPM7 provides an ion channel mechanism for cellular entry of trace metal ions. *J Gen Physiol*, 2003, **121**(1): 49-60
- [25] Penner R, Fleig A. The Mg^{2+} and Mg^{2+} -nucleotide-regulated channel-kinase TRPM7. *Handb Exp Pharmacol*, 2007(179): 313-328
- [26] Matsushita M, Kozak J A, Shimizu Y, *et al*. Channel function is dissociated from the intrinsic kinase activity and autophosphorylation of TRPM7/ChaK1. *J Biol Chem*, 2005, **280**(21): 20793-20803
- [27] Desai B N, Krapivinsky G, Navarro B, *et al*. Cleavage of TRPM7 releases the kinase domain from the ion channel and regulates its participation in Fas-induced apoptosis. *Dev Cell*, 2012, **22**(6): 1149-1162
- [28] Krapivinsky G, Krapivinsky L, Manasian Y, *et al*. The TRPM7 channel is cleaved to release a chromatin-modifying kinase. *Cell*, 2014, **157**(5): 1061-1072
- [29] Fonfria E, Murdock P R, Cusdin F S, *et al*. Tissue distribution profiles of the human TRPM cation channel family. *J Recept Signal Transduct Res*, 2006, **26**(3): 159-178
- [30] Su L T, Agapito M A, Li M, *et al*. TRPM7 regulates cell adhesion by controlling the calcium-dependent protease calpain. *J Biol Chem*, 2006, **281**(16): 11260-11270
- [31] Runnels L W. TRPM6 and TRPM7: a Mul-TRP-PLIK-cation of channel functions. *Curr Pharm Biotechnol*, 2011, **12**(1): 42-53
- [32] Romani A, Scarpa A. Regulation of cell magnesium. *Arch Biochem Biophys*, 1992, **298**(1): 1-12
- [33] Romani A M. Magnesium homeostasis in mammalian cells. *Met Ions Life Sci*, 2013, **12**: 69-118
- [34] Trapani V, Wolf F I. Dysregulation of Mg^{2+} homeostasis contributes to acquisition of cancer hallmarks. *Cell Calcium*, 2019, **83**: 102078
- [35] Nadler M J, Hermosura M C, Inabe K, *et al*. LTRPC7 is a Mg-ATP-regulated divalent cation channel required for cell viability. *Nature*, 2001, **411**(6837): 590-595
- [36] Ryazanova L V, Rondon L J, Zierler S, *et al*. TRPM7 is essential for Mg^{2+} homeostasis in mammals. *Nat Commun*, 2010, **1**: 109
- [37] Touyz R M. Magnesium in clinical medicine. *Front Biosci*, 2004, **9**: 1278-1293
- [38] Ryazanova L V, Hu Z, Suzuki S, *et al*. Elucidating the role of the TRPM7 alpha-kinase: TRPM7 kinase inactivation leads to magnesium deprivation resistance phenotype in mice. *Sci Rep*, 2014, **4**: 7599
- [39] Nakano Y, Le M H, Abduweli D, *et al*. A critical role of TRPM7 as an ion channel protein in mediating the mineralization of the craniofacial hard tissues. *Front Physiol*, 2016, **7**: 258
- [40] Ogata K, Tsumuraya T, Oka K, *et al*. The crucial role of the TRPM7 kinase domain in the early stage of amelogenesis. *Sci Rep*, 2017, **7**(1): 18099
- [41] Berridge M, Lipp P, Bootman M. Calcium signaling. *Curr Biol*, 1999, **9**(5): R157-R159
- [42] Bernhardt M L, Stein P, Carvacho I, *et al*. TRPM7 and $Ca_v3.2$ channels mediate Ca^{2+} influx required for egg activation at fertilization. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2018, **115**(44): E10370-E10378
- [43] Nuñez-Villena F, Becerra A, Echeverría C, *et al*. Increased expression of the transient receptor potential melastatin 7 channel is critically involved in lipopolysaccharide-induced reactive oxygen species-mediated neuronal death. *Antioxid Redox Signal*, 2011, **15**(9): 2425-2438
- [44] Wei C, Wang X, Chen M, *et al*. Calcium flickers steer cell migration. *Nature*, 2009, **457**(7231): 901-905
- [45] Jiang J, Li M, Yue L. Potentiation of TRPM7 inward currents by protons. *J Gen Physiol*, 2005, **126**(2): 137-150
- [46] Kádár K, Juhász V, Földes A, *et al*. TRPM7-mediated calcium transport in HAT-7 ameloblasts. *Int J Mol Sci*, 2021, **22**(8): 3992
- [47] Steen K H, Reeh P W, Anton F, *et al*. Protons selectively induce lasting excitation and sensitization to mechanical stimulation of nociceptors in rat skin, *in vitro*. *J Neurosci*, 1992, **12**(1): 86-95
- [48] Schmitz C, Perraud A L, Johnson C O, *et al*. Regulation of vertebrate cellular Mg^{2+} homeostasis by TRPM7. *Cell*, 2003, **114**(2): 191-200
- [49] Clark K, Middelbeek J, Morrice N A, *et al*. Massive autophosphorylation of the Ser/Thr-rich domain controls protein kinase activity of TRPM6 and TRPM7. *PLoS One*, 2008, **3**(3): e1876
- [50] Jin J, Desai B N, Navarro B, *et al*. Deletion of *Trpm7* disrupts embryonic development and thymopoiesis without altering Mg^{2+} homeostasis. *Science*, 2008, **322**(5902): 756-760
- [51] Low S E, Amburgey K, Horstick E, *et al*. TRPM7 is required within zebrafish sensory neurons for the activation of touch-evoked escape behaviors. *J Neurosci*, 2011, **31**(32): 11633-11644
- [52] Liu W, Su L T, Khadka D K, *et al*. TRPM7 regulates gastrulation during vertebrate embryogenesis. *Dev Biol*, 2011, **350**(2): 348-357
- [53] Sun Y, Sukumaran P, Schaar A, *et al*. TRPM7 and its role in neurodegenerative diseases. *Channels (Austin)*, 2015, **9**(5): 253-261
- [54] Sun H S, Jackson M F, Martin L J, *et al*. Suppression of hippocampal TRPM7 protein prevents delayed neuronal death in brain ischemia. *Nat Neurosci*, 2009, **12**(10): 1300-1307
- [55] He Y, Yao G, Savoia C, *et al*. Transient receptor potential melastatin 7 ion channels regulate magnesium homeostasis in vascular smooth muscle cells: role of angiotensin II. *Circ Res*, 2005, **96**(2): 207-215
- [56] Guilbert A, Gautier M, Dhennin-Duthille I, *et al*. Evidence that TRPM7 is required for breast cancer cell proliferation. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2009, **297**(3): C493-C502
- [57] Sun Y, Sukumaran P, Varma A, *et al*. Cholesterol-induced

- activation of TRPM7 regulates cell proliferation, migration, and viability of human prostate cells. *Biochim Biophys Acta*, 2014, **1843**(9): 1839-1850
- [58] Yogi A, Callera G E, Antunes T T, *et al.* Transient receptor potential melastatin 7 (TRPM7) cation channels, magnesium and the vascular system in hypertension. *Circ J*, 2011, **75**(2): 237-245
- [59] Jaskova K, Pavlovicova M, Jurkovicova D. Calcium transporters and their role in the development of neuronal disease and neuronal damage. *Gen Physiol Biophys*, 2012, **31**(4): 375-382
- [60] Vink R, Cook N L, van den Heuvel C. Magnesium in acute and chronic brain injury: an update. *Magnes Res*, 2009, **22**(3): 158S-162S
- [61] Oh H G, Chung S. Activation of transient receptor potential melastatin 7 (TRPM7) channel increases basal autophagy and reduces amyloid β -peptide. *Biochem Biophys Res Commun*, 2017, **493**(1): 494-499
- [62] Yang C P, Zhang Z H, Zhang L H, *et al.* Neuroprotective role of microRNA-22 in a 6-hydroxydopamine-induced cell model of Parkinson's disease *via* regulation of its target gene TRPM7. *J Mol Neurosci*, 2016, **60**(4): 445-452
- [63] Landman N, Jeong S Y, Shin S Y, *et al.* Presenilin mutations linked to familial Alzheimer's disease cause an imbalance in phosphatidylinositol 4, 5-bisphosphate metabolism. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2006, **103**(51): 19524-19529
- [64] Deng Y, Wei J, Cheng J, *et al.* Partial amelioration of synaptic and cognitive deficits by inhibiting cofilin dephosphorylation in an animal model of Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis*, 2016, **53**(4): 1419-1432
- [65] Hong S, Beja-Glasser V F, Nfonoyim B M, *et al.* Complement and microglia mediate early synapse loss in Alzheimer mouse models. *Science*, 2016, **352**(6286): 712-716
- [66] Decker A R, McNeill M S, Lambert A M, *et al.* Abnormal differentiation of dopaminergic neurons in zebrafish *trpm7* mutant larvae impairs development of the motor pattern. *Dev Biol*, 2014, **386**(2): 428-439
- [67] Jiang Z J, Li W, Yao L H, *et al.* TRPM7 is critical for short-term synaptic depression by regulating synaptic vesicle endocytosis. *Elife*, 2021, **10**: e66709
- [68] Kuriakose D, Xiao Z. Pathophysiology and treatment of stroke: present status and future perspectives. *Int J Mol Sci*, 2020, **21**(20): 7609
- [69] Bae C Y, Sun H S. TRPM7 in cerebral ischemia and potential target for drug development in stroke. *Acta Pharmacol Sin*, 2011, **32**(6): 725-733
- [70] Zhang J, Liu J, Li D, *et al.* Calcium antagonists for acute ischemic stroke. *Cochrane Database Syst Rev*, 2019, **2**(2): CD001928
- [71] Lin J, Xiong Z G. TRPM7 is a unique target for therapeutic intervention of stroke. *Int J Physiol Pathophysiol Pharmacol*, 2017, **9**(6): 211-216
- [72] Ji S G, Medvedeva Y V, Wang H L, *et al.* Mitochondrial Zn^{2+} accumulation: a potential trigger of hippocampal ischemic injury. *Neuroscientist*, 2019, **25**(2): 126-138
- [73] Dera H A, Alassiri M, Kahtani R A, *et al.* Melatonin attenuates cerebral hypoperfusion-induced hippocampal damage and memory deficits in rats by suppressing TRPM7 channels. *Saudi J Biol Sci*, 2022, **29**(4): 2958-2968
- [74] Liu H, Dilger J P, Lin J. Lidocaine suppresses viability and migration of human breast cancer cells: TRPM7 as a target for some breast cancer cell lines. *Cancers (Basel)*, 2021, **13**(2): 234
- [75] Su F, Wang B F, Zhang T, *et al.* TRPM7 deficiency suppresses cell proliferation, migration, and invasion in human colorectal cancer *via* regulation of epithelial-mesenchymal transition. *Cancer Biomark*, 2019, **26**(4): 451-460
- [76] Liu L, Wu N, Wang Y, *et al.* TRPM7 promotes the epithelial-mesenchymal transition in ovarian cancer through the calcium-related PI3K/AKT oncogenic signaling. *J Exp Clin Cancer Res*, 2019, **38**(1): 106
- [77] Rybarczyk P, Vanlaeys A, Brassart B, *et al.* The transient receptor potential melastatin 7 channel regulates pancreatic cancer cell invasion through the Hsp90 α /uPA/MMP2 pathway. *Neoplasia*, 2017, **19**(4): 288-300
- [78] Pugliese D, Armuzzi A, Castri F, *et al.* TRPM7 is overexpressed in human IBD-related and sporadic colorectal cancer and correlates with tumor grade. *Dig Liver Dis*, 2020, **52**(10): 1188-1194
- [79] Alanazi R, Nakatogawa H, Wang H, *et al.* Inhibition of TRPM7 with carvacrol suppresses glioblastoma functions *in vivo*. *Eur J Neurosci*, 2022, **55**(6): 1483-1491
- [80] Liu H, Dilger J P, Lin J. The role of transient receptor potential melastatin 7 (TRPM7) in cell viability: a potential target to suppress breast cancer cell cycle. *Cancers (Basel)*, 2020, **12**(1): 131
- [81] Davis F M, Azimi I, Faville R A, *et al.* Induction of epithelial-mesenchymal transition (EMT) in breast cancer cells is calcium signal dependent. *Oncogene*, 2014, **33**(18): 2307-2316
- [82] Chen W L, Barszczyk A, Turlova E, *et al.* Inhibition of TRPM7 by carvacrol suppresses glioblastoma cell proliferation, migration and invasion. *Oncotarget*, 2015, **6**(18): 16321-16340
- [83] Middelbeek J, Kuipers A J, Henneman L, *et al.* TRPM7 is required for breast tumor cell metastasis. *Cancer Res*, 2012, **72**(16): 4250-4261
- [84] Guilbert A, Gautier M, Dhennin-Duthille I, *et al.* Transient receptor potential melastatin 7 is involved in oestrogen receptor-negative metastatic breast cancer cells migration through its kinase domain. *Eur J Cancer*, 2013, **49**(17): 3694-3707
- [85] Touyz R M, He Y, Montezano A C, *et al.* Differential regulation of transient receptor potential melastatin 6 and 7 cation channels by ANG II in vascular smooth muscle cells from spontaneously hypertensive rats. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 2006, **290**(1): R73-R78
- [86] Yu Y, Chen S, Xiao C, *et al.* TRPM7 is involved in angiotensin II induced cardiac fibrosis development by mediating calcium and magnesium influx. *Cell Calcium*, 2014, **55**(5): 252-260

- [87] Du J, Xie J, Zhang Z, *et al.* TRPM7-mediated Ca^{2+} signals confer fibrogenesis in human atrial fibrillation. *Circ Res*, 2010, **106**(5): 992-1003
- [88] Wei Y, Wu Y, Feng K, *et al.* Astragaloside IV inhibits cardiac fibrosis via miR-135a-TRPM7-TGF- β /Smads pathway. *J Ethnopharmacol*, 2020, **249**: 112404
- [89] Shin M, Mori S, Mizoguchi T, *et al.* Mesenchymal cell TRPM7 expression is required for bone formation via the regulation of chondrogenesis. *Bone*, 2022, **166**: 116579
- [90] Forbes E M, Bakrania B A, Steane S E, *et al.* Expression of TRPM6 and TRPM7 in the preterm piglet heart. *Front Pediatr*, 2022, **10**: 891722
- [91] An L, Li J, Liu B, *et al.* Knockdown of TRPM7 attenuates apoptosis and inflammation in neonatal necrotizing enterocolitis model cell IEC-6 via modulating TLR4/NF- κ B and MEK/ERK pathways. *Iran J Basic Med Sci*, 2022, **25**(8): 947-953
- [92] Sun Y, Chen X, Xie Y, *et al.* TRPM7 promotes lipopolysaccharide-induced inflammatory dysfunction in renal tubular epithelial cells. *Immun Inflamm Dis*, 2022, **10**(7): e641
- [93] Chubanov V, Waldegger S, Mederos y Schnitzler M, *et al.* Disruption of TRPM6/TRPM7 complex formation by a mutation in the TRPM6 gene causes hypomagnesemia with secondary hypocalcemia. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2004, **101**(9): 2894-2899
- [94] Walder R Y, Landau D, Meyer P, *et al.* Mutation of TRPM6 causes familial hypomagnesemia with secondary hypocalcemia. *Nat Genet*, 2002, **31**(2): 171-174
- [95] Vargas-Poussou R, Claverie-Martin F, Prot-Bertoye C, *et al.* Possible role for rare TRPM7 variants in patients with hypomagnesemia with secondary hypocalcemia. *Nephrol Dial Transplant*, 2022, **38**(3): 679-690
- [96] Li M, Jiang J, Yue L. Functional characterization of homo- and heteromeric channel kinases TRPM6 and TRPM7. *J Gen Physiol*, 2006, **127**(5): 525-537
- [97] Chokshi R, Fruasaha P, Kozak J A. 2-Aminoethyl diphenyl borinate (2-APB) inhibits TRPM7 channels through an intracellular acidification mechanism. *Channels (Austin)*, 2012, **6**(5): 362-369
- [98] Zierler S, Yao G, Zhang Z, *et al.* Waixenicin A inhibits cell proliferation through magnesium-dependent block of transient receptor potential melastatin 7 (TRPM7) channels. *J Biol Chem*, 2011, **286**(45): 39328-39335
- [99] Chen X, Numata T, Li M, *et al.* The modulation of TRPM7 currents by nafamostat mesilate depends directly upon extracellular concentrations of divalent cations. *Mol Brain*, 2010, **3**: 38
- [100] Parnas M, Peters M, Dadon D, *et al.* Carvacrol is a novel inhibitor of *Drosophila* TRPL and mammalian TRPM7 channels. *Cell Calcium*, 2009, **45**(3): 300-309
- [101] Chen H C, Xie J, Zhang Z, *et al.* Blockade of TRPM7 channel activity and cell death by inhibitors of 5-lipoxygenase. *PLoS One*, 2010, **5**(6): e11161
- [102] Turlova E, Bae C Y J, Deurloo M, *et al.* TRPM7 regulates axonal outgrowth and maturation of primary hippocampal neurons. *Mol Neurobiol*, 2016, **53**(1): 595-610
- [103] Turlova E, Wong R, Xu B, *et al.* TRPM7 mediates neuronal cell death upstream of calcium/calmodulin-dependent protein kinase II and calcineurin mechanism in neonatal hypoxic-ischemic brain injury. *Transl Stroke Res*, 2021, **12**(1): 164-184
- [104] Chubanov V, Mederos y Schnitzler M, Meißner M, *et al.* Natural and synthetic modulators of SK potassium channels inhibit magnesium-dependent activity of the kinase-coupled cation channel TRPM7. *Br J Pharmacol*, 2012, **166**(4): 1357-1376
- [105] Qin X, Yue Z, Sun B, *et al.* Sphingosine and FTY720 are potent inhibitors of the transient receptor potential melastatin 7 (TRPM7) channels. *Br J Pharmacol*, 2013, **168**(6): 1294-1312
- [106] Guan Z, Chen X, Fang S, *et al.* CCT128930 is a novel and potent antagonist of TRPM7 channel. *Biochem Biophys Res Commun*, 2021, **560**: 132-138
- [107] Kozak J A, Kerschbaum H H, Cahalan M D. Distinct properties of CRAC and MIC channels in RBL cells. *J Gen Physiol*, 2002, **120**(2): 221-235
- [108] Wang Z, Kawabori M, Houkin K. FTY720 (Fingolimod) ameliorates brain injury through multiple mechanisms and is a strong candidate for stroke treatment. *Curr Med Chem*, 2020, **27**(18): 2979-2993
- [109] Hofmann T, Schäfer S, Linseisen M, *et al.* Activation of TRPM7 channels by small molecules under physiological conditions. *Pflugers Arch*, 2014, **466**(12): 2177-2189
- [110] Schäfer S, Ferioli S, Hofmann T, *et al.* Mibefradil represents a new class of benzimidazole TRPM7 channel agonists. *Pflugers Arch*, 2016, **468**(4): 623-634
- [111] Wong R, Turlova E, Feng Z P, *et al.* Activation of TRPM7 by naltriben enhances migration and invasion of glioblastoma cells. *Oncotarget*, 2017, **8**(7): 11239-11248
- [112] Massie B M. Mibefradil: a selective T-type calcium antagonist. *Am J Cardiol*, 1997, **80**(9A): 231-321
- [113] SoRelle R. Withdrawal of Posicor from market. *Circulation*, 1998, **98**(9): 831-832
- [114] Valinsky W C, Jolly A, Miquel P, *et al.* Aldosterone upregulates transient receptor potential melastatin 7 (TRPM7). *J Biol Chem*, 2016, **291**(38): 20163-20172

Physiological and Pathological Functions of TRPM7 Channel and Its Small-molecule Modulators*

WANG Yun-Qi¹⁾, GUAN Zi-Yue¹⁾, GAO Zhao-Bing^{1,2)**}, ZHENG Yue-Ming^{1)**}

¹⁾Center for Neurological and Psychiatric and Drug Discovery, Shanghai Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Sciences,

Shanghai 201203, China;

²⁾Zhongshan Institute of Drug Discovery, Institution for Drug Discovery Innovation, Chinese Academy of Science, Zhongshan 528400, China)

Abstract Transient receptor potential melastatin 7 (TRPM7), a member of the TRPM subfamily, is a ubiquitously expressed bifunctional transmembrane protein with a channel domain fused to an active kinase domain. As a non-selective cation channel, TRPM7 is permeable to Ca^{2+} , Mg^{2+} , Zn^{2+} , Na^{+} , K^{+} , and other trace metals. As an α -kinase, TRPM7 can autophosphorylate its serine and threonine residues, or phosphorylate endogenously targeted substrates such as myosin II. Through the joint action of the two domains, TRPM7 participates in various physiological processes such as Mg^{2+} homeostasis regulation, cell proliferation, differentiation, adhesion and migration, and ultimately affects cell differentiation and embryonic development. Dysfunction of TRPM7 has been associated with multiple neurodegenerative diseases, tissue fibrosis, ischemic injury as well as the occurrence and development of tumors. Genetic or pharmacological deficit of the TRPM7 relieves ischemic neuronal injury and inhibits the proliferation and migration of tumors, while up-regulating or restoring TRPM7 decreases blood pressure, maintains normal embryonic development and may be an effective strategy to treat the neurodegenerative disorders. However, whether TRPM7 is a promising target for the development of clinical drugs remains elusive. Nowadays, several small molecules display activation or inhibitory activities on the TRPM7 channel, and have been successfully used to uncover new cellular roles of TRPM7 in physiological and pathological conditions. Nonetheless, selective and potent TRPM7 modulators are limited. This review summarizes the research progress on the physiological and pathological functions of TRPM7 and its small-molecule modulators, which may provide new therapeutic strategies for TRPM7-related diseases and new directions for the development of novel TRPM7 regulators.

Key words TRPM7, ion channel, physiological function, disease, small molecule modulators

DOI: 10.16476/j.pibb.2022.0505

* This work was supported by grants from National Science Fund for Distinguished Young Scholars (81825021), and the Youth Innovation Promotion Association of the Chinese Academy of Sciences (2020284).

** Corresponding author.

GAO Zhao-Bing. Tel: 86-15021912788, E-mail: zbgao@simm.ac.cn

ZHENG Yue-Ming. Tel: 86-15021104503, E-mail: zhengyueming@simm.ac.cn

Received: October 26, 2022 Accepted: March 23, 2023