

DOI: 10.13376/j.cblls/2022016

文章编号: 1004-0374(2022)02-0137-08

# P2X受体内源性异源三聚体的研究进展

沈晨晖<sup>1#</sup>, 陈曦<sup>2#</sup>, 曹征宇<sup>1\*</sup>, 杨晓娜<sup>2\*</sup>

(1 中国药科大学中药学院, 南京 210009; 2 中国药科大学基础医学与临床药学院, 南京 210009)

**摘要:** 离子通道型嘌呤能受体 P2X 是一类可被胞外 ATP 激活的配体门控阳离子通道, 以同源或异源三聚体的形式行使功能。它们广泛分布于全身各组织, 参与多种生理病理学过程, 是一类重要的新药靶标。由于 P2X 异聚体的研究较同聚体复杂, 一定程度上阻碍了其特异性靶向药物的研发。本文就 P2X 异聚体的成员分类、亚基组成计量学、参与的生理病理过程以及相关靶向药物研发进行了综述。

**关键词:** 离子通道异聚体; P2X 受体; P2X 异聚体; P2X 抑制剂

中图分类号: R363 文献标志码: A

## Advances in the study of endogenous heterotrimers of P2X receptors

SHEN Chen-Hui<sup>1#</sup>, CHEN Xi<sup>2#</sup>, CAO Zheng-Yu<sup>1\*</sup>, YANG Xiao-Na<sup>2\*</sup>

(1 School of Traditional Chinese Pharmacy, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009, China;

2 School of Basic Medicine and Clinical Pharmacy, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009, China)

**Abstract:** Purinergic P2X receptors, a class of ligand-gated cation channels, can be activated by extracellular ATP and function as homo- or heteromeric trimers. They are widely distributed in various tissues of the body and involved in various physiological and pathological processes, making them an important target for new drugs. The study of P2X heterotrimers is more complex than homotrimers, which to some extent hinders the development of specific targeted drugs. Herein, we review the various heteromeric assemblies of P2X subtypes, the stoichiometry and physiological and pathological functions of the heteromeric P2X receptors, and the related P2X targeted drug development.

**Key words:** ion-channel heteromers; P2X receptors; P2X2/3 heterotrimer; antagonists of P2X receptors

嘌呤能 P2X 受体 (purinergic P2X receptors, P2X) 是一类可被内源性 ATP 激活的非选择性阳离子通道。目前已发现 7 种 P2X 受体 (P2X1~7), 能以同源或异源三聚体的形式行使功能。除 P2X6 外, 其余亚型均能形成功能性同源三聚体<sup>[1]</sup>; 除了 P2X7 亚型还有部分争议以外<sup>[2-3]</sup>, 所有亚型都具有组成功能性异源三聚体的能力<sup>[4]</sup>。它们在感觉神经元信号的传入 (包括疼痛、味觉、缺氧、膀胱扩张等)、中枢和周围神经系统的信号传递、免疫炎症反应、心血管系统的血流调节、肾脏系统中肾小球滤过率调节等过程中起重要作用<sup>[1, 5]</sup>。由于天然存在的异聚体的鉴定、组装及其结构与功能关系的研究, 均较同聚体复杂, 在一定程度上影响了人们对 P2X 异聚体参与的生理病理学方面的认知, 也阻碍了针对

P2X 同聚体或异聚体的特异性靶向药物的研发进展。本文对现有的 P2X 异聚体的成员和分布、亚基计量学、参与的生理病理过程以及相关的靶向化合物研究进行了系统的综述。

### 1 P2X异聚体的分类

P2X 家族七个不同的亚基相互组装形成的异源三聚体陆续被发现, 能形成异聚体的有 14 种组合:

收稿日期: 2021-08-18; 修回日期: 2021-09-30

基金项目: 国家自然科学基金项目(31900808); 中国博士后面上项目(2020M671658)

#共同第一作者

\*通信作者: E-mail: zycao1999@hotmail.com (曹征宇); yangxiaona@cpu.edu.cn (杨晓娜)

除 P2X2/4/6 是由三种不同亚基装配而成的异聚体外, 其余异聚体均由两种亚基组装形成(表 1), 其中通过功能性实验证明有功能的异聚体有 8 种<sup>[1,4,6]</sup>, 而表达于感觉神经元中的 P2X2/3 异聚体和表达于小鼠神经元和星型胶质细胞中的 P2X1/5 异聚体被认为是两个天然存在的异聚体<sup>[1,4]</sup>。

## 2 P2X 异聚体的亚基计量学

现有的晶体结构表明, P2X 同聚体由三个形似海豚的单体组成<sup>[8]</sup>, 而 P2X 异聚体由于其亚基组成的复杂性, 并未有相关的结构获得解析。现有的异聚体结构与功能的相关报道主要集中在生理状态下存在的异聚体通道。天然存在的 P2X2/3 异聚体是研究 P2X 异聚体亚基组成和装配特征的最优模型(图 1), 目前的研究分析表明 P2X2/3 异聚体包含两个 P2X3 亚基与一个 P2X2 亚基<sup>[9]</sup>: 通过半胱氨酸交

联技术在 P2X2 和 P2X3 亚基之间构建二硫桥, 证明了“头到尾”的亚基排列, 表明 P2X2(3)<sub>2</sub> 是 P2X2/3 异聚体通道的组装方式; 且通过单突变或双突变方法取代 P2X2 和(或) P2X3 亚基 ATP 结合位点的关键氨基酸的方法, 进一步证实了上述关于 P2X2/3 异聚体的亚基计量学<sup>[10]</sup>。此外, 电生理检测、钙成像与蛋白质免疫印迹(western blot, WB)等实验表明, P2X2/6 受体是由两个 P2X2 亚基和一个 P2X6 亚基组成<sup>[11]</sup>, 而 P2X1/2 由两个 P2X2 亚基和一个 P2X1 亚基组成<sup>[12]</sup>, 其余的 P2X 异聚体的亚基计量学迄今尚未被鉴定。

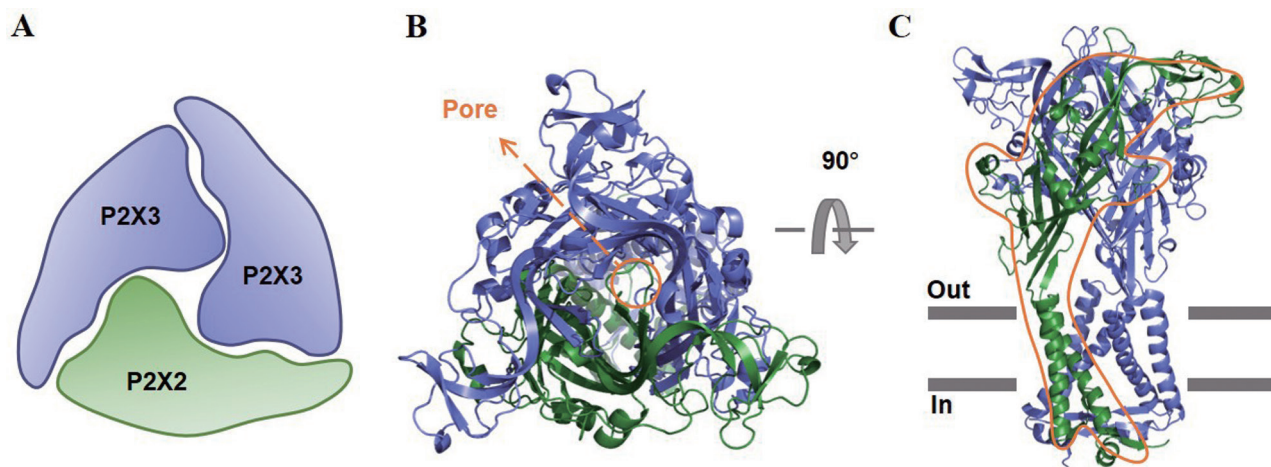
## 3 P2X 异聚体的生理病理学

P2X 异聚体组装形式各异, 在全身各组织广泛分布, 参与多种多样的生理病理学过程, 这里对两个天然异聚体 P2X2/3 和 P2X1/5, 以及其余的 P2X

表1 P2X亚基的组装形式<sup>[7]</sup>

	P2X1	P2X2	P2X3	P2X4	P2X5	P2X6	P2X7
P2X1	+	+*	+	+*	+*	+	-
P2X2		+	+*	-	+*	+*	-
P2X3			+	-	+	-	-
P2X4				+	+	+*	+*
P2X5					+	+	-
P2X6						-	-
P2X7							+

“+”和“-”分别表示两亚基之间可形成(“+”)和不可形成(“-”)P2X同聚体/异聚体; “\*”表示已通过功能性实验验证为具有功能的异聚体。



A: P2X2/3 异聚体的组装示意图, 其由两个 P2X3 亚基和一个 P2X2 亚基组成。B、C: rP2X2/3 三聚体的三维结构俯视图(B)和正视图(C), 其由三个亚基两两缠绕, 单个亚基形似海豚。rP2X2/3 同源模型是以已解析出的 hP2X3 晶体结构(PDB: 5SVK)为模板构建。

图1 P2X2/3 异聚体的结构组装示意图

异聚体的生理病理学研究进行分类综述。

### 3.1 P2X2/3异聚体的生理病理学意义

P2X2/3受体是第一个得到功能鉴定的P2X异聚体通道<sup>[13]</sup>,其表达和病理生理学意义的相关研究在所有异聚体中最为广泛。P2X2同聚体广泛表达于中枢和外周神经系统,在一些非神经性细胞中也存在,包括视网膜、肾上腺髓质、骨细胞、心肌细胞等<sup>[1,5]</sup>;其主要参与突触功能调节和感觉信号传导,包括:肠神经、听觉味觉、化学信号传导,以及中枢神经系统功能调节等过程<sup>[14-16]</sup>。P2X3同聚体在感觉和自主神经元中广泛表达<sup>[1,5]</sup>,主要参与感觉神经元的初级传入神经传递和痛觉过敏,在内脏机械感觉传导中发挥作用,可调节间质性膀胱炎,且与神经元的突触可塑性有关<sup>[17-19]</sup>。P2X2和P2X3能共表达于感觉神经元的结状神经节细胞、背根神经节细胞(dorsal root ganglion, DRG)和三叉神经节细胞等<sup>[5]</sup>,所形成的异聚体P2X2/3可参与多种类型的疼痛传导<sup>[18,20-21]</sup>、味觉传递<sup>[22]</sup>、膀胱反射<sup>[23]</sup>、化学感受性反射<sup>[24]</sup>等病理生理学过程。

感觉神经元中表达的P2X3和P2X2/3受体是最早被认为参与伤害感受启动的主要P2X受体亚型,参与急慢性炎性疼痛、神经性疼痛、机械痛、癌变性骨痛、内脏痛等疼痛感受<sup>[18,20-21,25]</sup>。大量的动物实验证明P2X3和P2X2/3受体参与炎症疼痛,

P2X3基因敲除大鼠会出现异常性炎症介质引发的疼痛<sup>[20]</sup>;P2X3和P2X2/3受体在三叉神经节感觉神经元中表达,提示其参与了偏头痛和头痛的过程<sup>[26]</sup>。此外,P2X2/3也参与癌症疼痛过程:在黑色素瘤荷瘤小鼠的DRG神经元中发现P2X3和P2X2/3表达上调,而P2X3受体拮抗剂的施予则减轻了肿瘤诱导的自发性疼痛行为<sup>[27]</sup>。早期的研究表明,P2X3和P2X2/3与慢性内脏痛相关,在内脏痛觉致敏大鼠模型中,P2X3和P2X2/3受体拮抗剂的施予对其有治疗作用<sup>[25]</sup>。这些都提供了P2X2/3异聚体可参与各种疼痛传导通路的证据,其参与疼痛信号的传递途径如图2。组织损伤后细胞质中ATP释放增加,可激活初级传入感觉神经元上的P2X3和P2X2/3受体,这一过程依赖于参与痛觉信号传导的关键神经递质——谷氨酸的释放<sup>[14]</sup>。而表达于外周初级感觉传入神经的P2X3和P2X2/3受体,主要分布于小直径的C类神经纤维上,可通过驱动痛觉感受器所接收的伤害,将信号传递至脊髓背侧角的二阶神经元,该过程的兴奋传导从外周神经元起到达脊髓背角,发生在DRG神经元的中央区域<sup>[28]</sup>。

P2X2/3异聚体还参与味觉传导过程(图3)。20世纪末期Bo等<sup>[29]</sup>在支配味蕾的神经纤维上发现了P2X2和P2X3的存在,而P2X2和P2X3受体双敲小鼠基本失去味觉行为和味觉神经反应,对甜

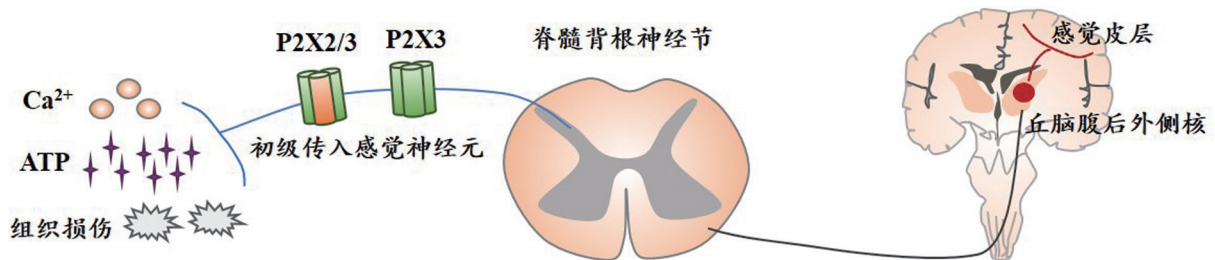


图2 P2X2/3异聚体参与的疼痛过程

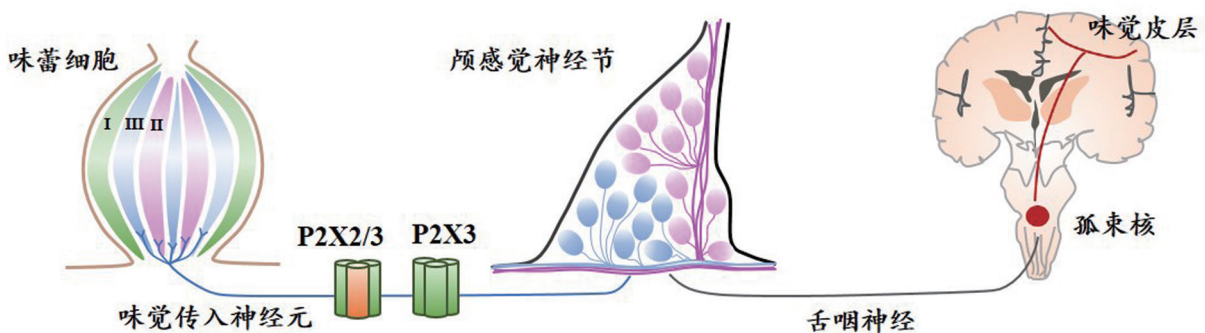


图3 P2X2/3异聚体参与的味觉传导通路

味剂、谷氨酸和苦味物质的行为反应减弱或消失<sup>[30-31]</sup>。哺乳动物的味蕾细胞包含4种亚型,其中II型味蕾细胞是最主要的味觉受体,作为直接的感受器可接受4种不同的味觉感受(甜、咸、苦和鲜味)<sup>[22]</sup>,而III型味蕾细胞与酸味的感觉传递有关<sup>[22]</sup>。表达于舌传入神经纤维的P2X2/3受体,参与味觉的感受传递:II型味觉细胞通过非囊泡途径释放ATP,激活味觉传入神经纤维上的P2X2和P2X3受体<sup>[14]</sup>;而III型味蕾细胞主要通过5-羟色胺(5-hydroxytryptamine, 5-HT)这一神经递质传递生物信息到达味觉传入神经<sup>[32]</sup>;脑干中的孤束核进一步接受味觉信号,最终到达大脑皮层相应味觉中枢,完成整个味觉传导过程<sup>[33]</sup>。

此外,P2X2/3异聚体还在呼吸系统中表达(图4)。急性缺氧能刺激P2X3和P2X2/3受体释放ATP,引起初级传入神经元传导缺氧信号<sup>[24]</sup>。实验证明,当豚鼠暴露于ATP和组胺气雾剂中时,咳嗽反应增加,该反应由气道迷走神经C纤维上表达的P2X3和P2X2/3受体介导<sup>[34]</sup>。在此过程中,气道P2X3和P2X2/3受体的过度激活使得其成为难治性慢性咳嗽(refractory chronic cough, RCC)和特发性肺间质纤维化(idiopathic pulmonary interstitial fibrosis, IPF)的药物靶标<sup>[35]</sup>。

P2X3和P2X2/3受体也参与其他生理和病理过程,包括前列腺增生、内脏的超敏反应、化学感受性血压的压力反射等<sup>[17]</sup>。研究发现,前列腺增生患者胆碱能过度活跃与P2X2/3异聚体有关<sup>[23]</sup>;而结肠炎患者结肠中存在P2X3和P2X2/3的过度表达,这是因为该受体介导结肠中机械感觉传导和内脏的超敏反应<sup>[36]</sup>。此外,颈动脉神经元中的P2X3和P2X2/3受体被抑制剂阻断后能产生降血压的作用<sup>[37]</sup>。

综上,外周感觉神经元中的P2X2/3异聚体参与的这些生理病理过程,使其成为多种类型的疼痛、咳嗽、高血压、良性前列腺增生、膀胱和胃肠道疾

病等的药物靶标。

### 3.2 P2X1/5异聚体的生理病理学意义

学术界普遍认为P2X5同聚体是无功能的亚型,其以P2X1/5异聚体的形式来行使功能<sup>[4,38]</sup>。P2X5同聚体广泛分布在神经系统、免疫系统、心脏以及骨骼肌中<sup>[5]</sup>,参与多种病理生理过程,包括炎症性骨丢失、免疫性调节、癌细胞转移、细胞增殖分化、以及多囊肾病等<sup>[39-40]</sup>;P2X1则在全身各组织分布,是存在于大多数平滑肌组织中的主要P2X亚基,与神经系统的信号传递、血栓形成、膀胱炎症反应有关<sup>[5,41]</sup>。而P2X1和P2X5亚基能共表达于心脏、感觉神经节和脊髓组织中,推测异聚体P2X1/5可能参与神经信号传递与环路的正负反馈调节,与感觉信号的传输有关<sup>[5]</sup>;此外,P2X1/5天然存在于小鼠皮质脑切片中分离出来的星形胶质细胞中,推测其可能在神经环路调节中发挥重要作用<sup>[38]</sup>。有意思的是,2010年科学家克隆出了带有外显子10的全长人源P2X5序列,其表达的受体能恢复P2X5通道的ATP功能,且这种有功能的P2X5仅以小概率表达于非洲裔美国人群中<sup>[42]</sup>;遗憾的是,目前并未有研究报道这种有功能型P2X5所参与形成的异聚体的功能。

### 3.3 P2X1/4异聚体的生理病理学意义

P2X4同聚体在大脑的神经元和神经胶质细胞中大量表达,许多研究表明P2X4受体与慢性神经性疼痛相关<sup>[5,41]</sup>。最初通过在人胚胎肾源细胞(HEK293细胞)中进行的免疫共沉淀实验,研究者认为P2X1和P2X4不能形成P2X1/4异聚体<sup>[7]</sup>;随后的研究发现,爪蟾卵母细胞上可共表达P2X1和P2X4亚基<sup>[43]</sup>;目前越来越多的证据表明,P2X1/4异聚体不仅存在于肾血管平滑肌细胞,还在冠状动脉平滑肌、小鼠巨噬细胞和红细胞中表达<sup>[4,44]</sup>。该异聚体陆续被认为在豚鼠膀胱的神经源性收缩和大鼠脑动脉的血管持续性收缩中起到了一定的作用<sup>[44]</sup>。

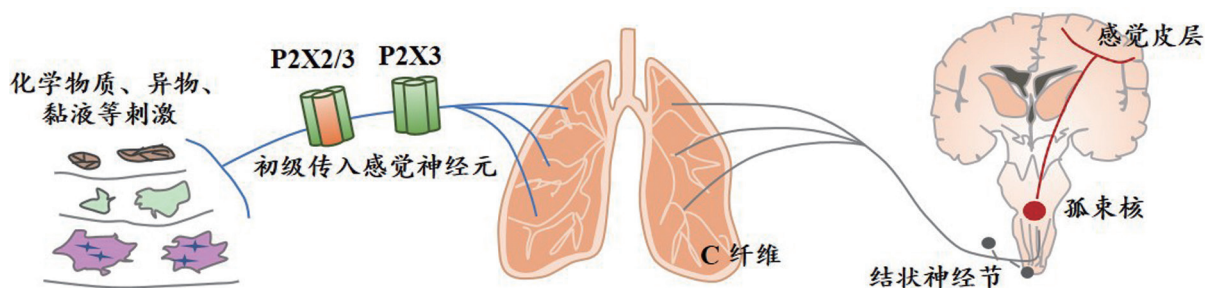


图4 P2X2/3异聚体参与的咳嗽反应通路

### 3.4 P2X4/7异聚体的生理病理学意义

P2X4 和 P2X7 的蛋白质序列具有高度相似性, 并在许多细胞如上皮、内皮和免疫细胞中显示重叠分布<sup>[4]</sup>。最初在 HEK293 细胞和骨髓源性巨噬细胞中发现两者可共表达, 随后发现在血管内皮细胞以及各种组织包括骨髓、淋巴结、唾液腺中都有 P2X4/7 存在<sup>[45]</sup>。有关 P2X4/7 异聚体的存在历来有较大争议, 2007 年科学家们通过免疫共沉淀以及电生理检测提供了 P2X4 和 P2X7 可共表达的证据<sup>[45-46]</sup>, 而 P2X7 同聚体包含较大的跨膜域, 可通透大分子物质, 其 ATP 亲和力也明显低于其他 P2X 亚型, 故也有研究者认为从结构组装与药理特性上来说, 它无法与其他亚基形成异聚体<sup>[3]</sup>。直到 2011 年, 原子力显微镜成像结果为 P2X4 和 P2X7 形成异聚体提供了又一证据: 这对亚基可以在细胞内共定位并产生密切相互作用, 既可共同免疫沉淀又可从细胞提取物中分离<sup>[47]</sup>。目前, 多项研究认为其可组装形成异聚体, 且 P2X4/7 被认为参与了机体的免疫应答反应<sup>[2, 48]</sup>。

### 3.5 其他异聚体的生理病理学意义

P2X1 和 P2X2 亚基广泛分布于血管平滑肌细胞, 组装成的异聚体 P2X1/2 可能参与血管平滑肌的收缩<sup>[4]</sup>。P2X2/5、P2X2/6、P2X4/6 和 P2X2/4/6 异聚体都与神经系统的调控有关<sup>[49-52]</sup>: 基于全脑和脑干的免疫共沉淀实验数据以及脑桥中部的背根神经节、脊髓和三叉神经节中脑核神经元的免疫组化实验数据, P2X2 和 P2X5 可共定位于神经元中, 推测这些组织中存在的 P2X2/5 异聚体参与神经系统功能调节<sup>[49]</sup>。此外, P2X6 受体广泛表达于整个中枢神经系统, 但由于 P2X6 受体在大多数情况下不形成功能性同聚体, 故推测 P2X6 在体内主要作为异聚体通道行使功能: P2X2/6 和 P2X4/6 广泛分布于整

个中枢神经系统, 实验表明 P2X2/6 异聚体参与神经祖细胞的分化<sup>[51]</sup>, 而 P2X4/6 与神经系统的功能调节有关<sup>[52]</sup>; P2X2/4/6 是第一个被报道的含有三个不同亚基的功能性 P2X 异聚体, 它们三个亚基在小脑浦肯野和海马 CA1 神经元和间质细胞中陆续被发现共同表达, 提示其可能参与神经回路的调控<sup>[50, 53]</sup>。

P2X 异聚体的分布和功能总结见表 2。

## 4 P2X异聚体小分子抑制剂

P2X 作为一类离子通道蛋白在全身各个组织中广泛分布, 且参与多种生理病理学过程, 通道开放和关闭会带来大量生理反应, 使得其靶向药物的研发对科学家而言极具吸引力。开展异聚体研究的现实意义在于更精准地探究以同聚体或异聚体为靶标设计的特异性成药小分子, 以期解决更多的临床实际问题。本文针对目前报道的对 P2X 异聚体有作用的靶标化合物进行了总结(表 3)。

最早发现的 P2X 广谱抑制剂是苏拉明及其衍生物, 其主要用于非洲锥虫病的早期临床治疗<sup>[17, 54]</sup>。而后基于 P2X 通道天然配体 ATP 的结合方式, 发现了一种有效的且非选择性的 P2X 受体拮抗剂 TNP-ATP, 它除了对同聚体 P2X1 和 P2X3 有抑制作用外, 还对 P2X1/4、P2X1/5、P2X2/3 和 P2X2/5 起作用<sup>[5]</sup>。P2 嘌呤受体的拮抗剂 PPADS 是另一类除了对同聚体 P2X1 和 P2X3 起作用外, 也能特异性抑制 P2X1/5、P2X2/3 和 P2X4/6 的拮抗剂<sup>[5]</sup>。

有关小分子抑制剂与异聚体结合的临床研究主要集中在 P2X2/3 异聚体上。这些小分子以 P2X3 为起始靶标, 同时能作用于 P2X2/3 受体, 这其中在动物实验研究中明确有治疗潜力的包括 A-317491、AF-353 (RO-4)、Gefapixant (AF-219 或 MK-7264)、BLU-5937 和米诺膦酸盐等。A-317491 是第一个具

表2 P2X异聚体的分布和功能

异聚体分类	位置	病理生理学
P2X1/2	血管平滑肌细胞	平滑肌收缩 <sup>[4]</sup>
P2X1/4	肾动脉肌细胞	膀胱收缩 <sup>[44]</sup>
P2X1/5*	星型胶质细胞	神经环路调节 <sup>[38]</sup>
P2X2/3*	初级感觉传入神经元	疼痛传导 <sup>[18, 20-21]</sup> 、味觉传递 <sup>[22]</sup> 、膀胱反射 <sup>[23]</sup> 、化学感受性反射 <sup>[24]</sup>
P2X2/5	脑神经元	神经系统的控制调节 <sup>[49]</sup>
P2X2/6	脑干、胚胎瘤细胞、神经元干细胞	神经元分化 <sup>[51]</sup>
P2X4/6	脑神经元、海马、小脑	神经系统的控制调节 <sup>[52]</sup>
P2X4/7	血管内皮细胞、肺上皮细胞	炎症反应 <sup>[48]</sup>
P2X2/4/6	海马、小脑	神经回路调控 <sup>[50, 53]</sup>

“\*”表示可检测到的天然存在的异聚体

表3 P2X异聚体相关的小分子抑制剂

抑制剂	作用受体	治疗用途
Suramine	广谱 <sup>[17]</sup>	锥虫病 <sup>[17, 54]</sup>
TNP-ATP	P2X1、P2X3、PX1/4、P2X1/5、P2X2/3、P2X2/5 <sup>[5]</sup>	---
PPADS	P2X1、P2X3、P2X1/5、P2X2/3、P2X4/6 <sup>[5]</sup>	---
A-317491	P2X3、P2X2/3 <sup>[55]</sup>	急慢性炎症疼痛 <sup>[55-56]</sup>
RO-4 (AF-353)	P2X3、P2X2/3 <sup>[57]</sup>	炎性疼痛和神经痛 <sup>[57]</sup>
Gefapixant (AF-219)	P2X3、P2X2/3 <sup>[58]</sup>	难治性慢性咳嗽、肺特发性间质纤维化和原发性高血压 <sup>[17, 59]</sup>
BLU-5937	P2X3、P2X2/3 <sup>[62]</sup>	慢性咳嗽 <sup>[62]</sup>
米诺膦酸盐	P2X3、P2X2/3 <sup>[64]</sup>	骨痛和骨质疏松症 <sup>[64]</sup>

注：“---”表示未明确临床实际用途的小分子抑制剂。

有竞争性和选择性的 P2X3 受体拮抗剂<sup>[55]</sup>，临床研究表明在大鼠疼痛模型中，使用 A-317491 可以有效地减少神经损伤和急性、慢性炎症疼痛和骨关节过敏等症<sup>[55-56]</sup>；但是由于其极性高，口服效果差，在中枢神经系统中的生物利用度不高限制了其临床应用。基于此，Roche 公司开发了许多具有二氨基嘧啶结构的小分子，其中 AF-353 是有效的且具有选择性的 P2X3 受体抑制剂，其在动物模型研究中展现了在治疗炎性疼痛和神经痛方面的积极作用，以及优良的药代动力学特性<sup>[57]</sup>。另一种非常有前景的二氨基嘧啶类似物是 Gefapixant<sup>[58]</sup>，已在人体中进行了多项病理学研究，例如 RCC、IPF 和原发性高血压<sup>[17, 59]</sup>；该药用于治疗 RCC 已经完成 III 期临床试验，并进入新药申请阶段，但其非特异性作用于 P2X2/3 异聚体上所引发的味觉失调无法得到有效解决<sup>[60-61]</sup>。为了克服味觉丧失的副作用，生物制药公司 BELLUS Health 的研究人员开发了新型咪唑 - 吡啶衍生物 BLU-5937<sup>[62]</sup>，对 P2X3 同聚体具有极高的选择性，可用于治疗 RCC；目前临床试验已结束，但遗憾的是，虽然 BLU-5937 味觉失调的副作用已经消失，但其治疗 RCC 的效果也明显丧失，说明这一新药研发方向还有很多细节和机制未被揭示<sup>[63]</sup>。此外，一种含氮的双膦酸盐——米诺膦酸盐，与其类似物双膦酸盐（骨质疏松症药物）相比，可通过抑制 P2X2/3 受体减轻骨痛的症状<sup>[64]</sup>。

## 5 总结与展望

总的来说，P2X 受体作为一类重要的离子通道型药物靶标，在全身各组织中广泛分布，所形成的同聚体和异聚体参与多种生理病理学过程；但由于两者存在共定位，某种程度上而言，对 P2X 异聚体的功能性研究无法独立于同聚体之外，反之亦然。目

前 P2X 同聚体的配体结合亚基计量学、配体识别模式、门控调节机制等方面的研究已经在如火如荼地进行；而 P2X 异聚体受限于未解析的结构、未确定的亚基计量学以及未发掘的功能等，目前的研究相对滞后，无论正性还是负性变构调节机制都未有报道，离开发靶向药物还有一定的距离。在现有的靶向药物研发中，最有潜力的为已进入 RCC 新药申请阶段的 P2X3 抑制剂 Gefapixant<sup>[60-61]</sup>，尽管如此，其作用于 P2X2/3 异聚体上所引发的味觉失调依然无法解决；同样地，对于其他多个以 P2X 同聚体为靶标研发的药物，也鲜少对它们在相关异聚体上的作用进行研究。如能对 P2X 同聚体和异聚体的各方面差异进行挖掘，将更有利于以 P2X 同聚体和（或）异聚体为靶标的高选择性的临床药物研发。

## [参 考 文 献]

- [1] Schmid R, Evans RJ. ATP-gated P2X receptor channels: molecular insights into functional roles. *Annu Rev Physiol*, 2019, 81: 43-62
- [2] Kopp R, Krautloher A, Ramírez-Fernández A, et al. P2X7 interactions and signaling - making head or tail of it. *Front Mol Neurosci*, 2019, 12: 183
- [3] Nicke A. Homotrimeric complexes are the dominant assembly state of native P2X7 subunits. *Biochem Biophys Res Commun*, 2008, 377: 803-8
- [4] Saul A, Hausmann R, Kless A, et al. Heteromeric assembly of P2X subunits. *Front Cell Neurosci*, 2013, 7: 250
- [5] Illes P, Müller CE, Jacobson KA, et al. Update of P2X receptor properties and their pharmacology: IUPHAR review 30. *Br J Pharmacol*, 2021, 178: 489-514
- [6] Antonio LS, Stewart AP, Varanda WA, et al. Identification of P2X2/P2X4/P2X6 heterotrimeric receptors using atomic force microscopy (AFM) imaging. *FEBS Lett*, 2014, 588: 2125-8
- [7] Torres GE, Egan TM, Voigt MM. Hetero-oligomeric assembly of P2X receptor subunits. Specificities exist with

- regard to possible partners. *J Biol Chem*, 1999, 274: 6653-9
- [8] McCarthy AE, Yoshioka C, Mansoor SE. Full-length P2X<sub>7</sub> structures reveal how palmitoylation prevents channel desensitization. *Cell*, 2019, 179: 659-70.e13
- [9] Jiang LH, Kim M, Spelta V, et al. Subunit arrangement in P2X receptors. *J Neurosci*, 2003, 23: 8903-10
- [10] Wilkinson WJ, Jiang LH, Surprenant A, et al. Role of ectodomain lysines in the subunits of the heteromeric P2X<sub>2/3</sub> receptor. *Mol Pharmacol*, 2006, 70: 1159-63
- [11] Hausmann R, Bodnar M, Woltersdorf R, et al. ATP binding site mutagenesis reveals different subunit stoichiometry of functional P2X<sub>2/3</sub> and P2X<sub>2/6</sub> receptors. *J Biol Chem*, 2012, 287: 13930-43
- [12] Aschrafi A, Sadtler S, Niculescu C, et al. Trimeric architecture of homomeric P2X<sub>2</sub> and heteromeric P2X<sub>1+2</sub> receptor subtypes. *J Mol Biol*, 2004, 342: 333-43
- [13] Radford KM, Virginio C, Surprenant A, et al. Baculovirus expression provides direct evidence for heteromeric assembly of P2X<sub>2</sub> and P2X<sub>3</sub> receptors. *J Neurosci*, 1997, 17: 6529-33
- [14] Kinnamon SC, Finger TE. A taste for ATP: neurotransmission in taste buds. *Front Cell Neurosci*, 2013, 7: 264
- [15] Zhu Y, Beudez J, Yu N, et al. P2X<sub>2</sub> dominant deafness mutations have no negative effect on wild-type isoform: implications for functional rescue and in deafness mechanism. *Front Mol Neurosci*, 2017, 10: 371
- [16] Kong Y, Wang Q, Wu DY, et al. Involvement of P2X<sub>2</sub> receptor in the medial prefrontal cortex in ATP modulation of the passive coping response to behavioral challenge. *Genes Brain Behav*, 2020, 19: e12691
- [17] Marucci G, Dal Ben D, Buccioni M, et al. Update on novel purinergic P2X<sub>3</sub> and P2X<sub>2/3</sub> receptor antagonists and their potential therapeutic applications. *Expert Opin Ther Pat*, 2019, 29: 943-63
- [18] Krajewski JL. P2X<sub>3</sub>-containing receptors as targets for the treatment of chronic pain. *Neurotherapeutics*, 2020, 17: 826-38
- [19] Fabbretti E. P2X<sub>3</sub> receptors are transducers of sensory signals. *Brain Res Bull*, 2019, 151: 119-24
- [20] Schiavuzzo JG, Teixeira JM, Melo B, et al. Muscle hyperalgesia induced by peripheral P2X<sub>3</sub> receptors is modulated by inflammatory mediators. *Neuroscience*, 2015, 285: 24-33
- [21] Jarvis MF. Contributions of P2X<sub>3</sub> homomeric and heteromeric channels to acute and chronic pain. *Expert Opin Ther Targets*, 2003, 7: 513-22
- [22] Kinnamon SC, Finger TE. Recent advances in taste transduction and signaling. *F1000Res*, 2019, 8: F1000 Faculty Rev-2117
- [23] Silva-Ramos M, Silva I, Faria M, et al. Activation of prejunctional P2X<sub>2/3</sub> heterotrimers by ATP enhances the cholinergic tone in obstructed human urinary bladders. *J Pharmacol Exp Ther*, 2020, 372: 63-72
- [24] Adriaansen D, Brouns I, Timmermans JP. Sensory input to the central nervous system from the lungs and airways: a prominent role for purinergic signalling via P2X<sub>2/3</sub> receptors. *Auton Neurosci*, 2015, 191: 39-47
- [25] Xu GY, Shenoy M, Winston JH, et al. P2X receptor-mediated visceral hyperalgesia in a rat model of chronic visceral hypersensitivity. *Gut*, 2008, 57: 1230-7
- [26] Dan Y, Guo H, Zheng C, et al. Neferine alleviates P2X<sub>3</sub> receptor in rat dorsal root ganglia mediated neuropathic pain. *Neurosci Res*, 2021, 170: 265-72
- [27] Burnstock G, Di Virgilio F. Purinergic signalling and cancer. *Purinergic Signal*, 2013, 9: 491-540
- [28] Bernier LP, Ase AR, Seguela P. P2X receptor channels in chronic pain pathways. *Br J Pharmacol*, 2018, 175: 2219-30
- [29] Bo X, Alavi A, Xiang Z, et al. Localization of ATP-gated P2X<sub>2</sub> and P2X<sub>3</sub> receptor immunoreactive nerves in rat taste buds. *Neuroreport*, 1999, 10: 1107-11
- [30] Huang YA, Stone LM, Pereira E, et al. Knocking out P2X receptors reduces transmitter secretion in taste buds. *J Neurosci*, 2011, 31: 13654-61
- [31] Larson ED, Vandenbeuch A, Anderson CB, et al. Function, innervation, and neurotransmitter signaling in mice lacking type-II taste cells. *eNeuro*, 2020, 7: ENEURO.0339-19.2020
- [32] Dvoryanchikov G, Hernandez D, Roebber JK, et al. Transcriptomes and neurotransmitter profiles of classes of gustatory and somatosensory neurons in the geniculate ganglion. *Nat Commun*, 2017, 8: 760
- [33] Chen X, Gabitto M, Peng Y, et al. A gustotopic map of taste qualities in the mammalian brain. *Science*, 2011, 333: 1262-6
- [34] Weigand LA, Ford AP, Undem BJ. A role for ATP in bronchoconstriction-induced activation of guinea pig vagal intrapulmonary C-fibres. *J Physiol*, 2012, 590: 4109-20
- [35] Smith JA, Kitt MM, Morice AH, et al. Gefapixant, a P2X<sub>3</sub> receptor antagonist, for the treatment of refractory or unexplained chronic cough: a randomised, double-blind, controlled, parallel-group, phase 2b trial. *Lancet Respir Med*, 2020, 8: 775-85
- [36] Najjar SA, Davis BM, Albers KM. Epithelial-neuronal communication in the colon: implications for visceral pain. *Trends Neurosci*, 2020, 43: 170-81
- [37] Pijacka W, Moraes DJ, Ratcliffe LE, et al. Purinergic receptors in the carotid body as a new drug target for controlling hypertension. *Nat Med*, 2016, 22: 1151-9
- [38] Lalo U, Bogdanov A, Pankratov Y. Age- and experience-related plasticity of ATP-mediated signaling in the neocortex. *Front Cell Neurosci*, 2019, 13: 242
- [39] Jorgensen NR. Role of the purinergic P2X receptors in osteoclast pathophysiology. *Curr Opin Pharmacol*, 2019, 47: 97-101
- [40] Jeong YH, Walsh MC, Yu J, et al. Mice lacking the purinergic receptor P2X<sub>5</sub> exhibit defective inflammasome activation and early susceptibility to *listeria monocytogenes*. *J Immunol*, 2020, 205: 760-6
- [41] Burnstock G, Knight GE. Cellular distribution and functions of P2 receptor subtypes in different systems. *Int Rev Cytol*, 2004, 240: 31-304
- [42] Kotnis S, Bingham B, Vasilyev DV, et al. Genetic and

- functional analysis of human P2X5 reveals a distinct pattern of exon 10 polymorphism with predominant expression of the nonfunctional receptor isoform. *Mol Pharmacol*, 2010, 77: 953-60
- [43] Nicke A, Kerschensteiner D, Soto F. Biochemical and functional evidence for heteromeric assembly of P2X1 and P2X4 subunits. *J Neurochem*, 2005, 92: 925-33
- [44] Harhun MI, Povstyan OV, Albert AP, et al. ATP-evoked sustained vasoconstrictions mediated by heteromeric P2X1/4 receptors in cerebral arteries. *Stroke*, 2014, 45: 2444-50
- [45] Guo C, Masin M, Qureshi OS, et al. Evidence for functional P2X4/P2X7 heteromeric receptors. *Mol Pharmacol*, 2007, 72: 1447-56
- [46] Dubyak GR. Go it alone no more--P2X7 joins the society of heteromeric ATP-gated receptor channels. *Mol Pharmacol*, 2007, 72: 1402-5
- [47] Antonio LS, Stewart AP, Xu XJ, et al. P2X4 receptors interact with both P2X2 and P2X7 receptors in the form of homotrimers. *Br J Pharmacol*, 2011, 163: 1069-77
- [48] Schneider M, Prudic K, Pippel A, et al. Interaction of purinergic P2X4 and P2X7 receptor subunits. *Front Pharmacol*, 2017, 8: 860
- [49] Compan V, Ulmann L, Stelmashenko O, et al. P2X2 and P2X5 subunits define a new heteromeric receptor with P2X7-like properties. *J Neurosci*, 2012, 32: 4284-96
- [50] Antonio LS, Costa RR, Gomes MD, et al. Mouse leydig cells express multiple P2X receptor subunits. *Purinergic Signal*, 2009, 5: 277-87
- [51] Schwindt TT, Trujillo CA, Negraes PD, et al. Directed differentiation of neural progenitors into neurons is accompanied by altered expression of P2X purinergic receptors. *J Mol Neurosci*, 2011, 44: 141-6
- [52] Chen L, Liu YW, Yue K, et al. Differential expression of ATP-gated P2X receptors in DRG between chronic neuropathic pain and visceralgia rat models. *Purinergic Signal*, 2016, 12: 79-87
- [53] Huang Z, Xie N, Illes P, et al. From purines to purinergic signalling: molecular functions and human diseases. *Signal Transduct Target Ther*, 2021, 6: 162
- [54] Dal Ben D, Adinolfi E. Purinergic P2X receptors: physiological and pathological roles and potential as therapeutic targets. *Curr Med Chem*, 2015, 22: 782
- [55] Jarvis MF, Burgard EC, Mcgaraughty S, et al. A-317491, a novel potent and selective non-nucleotide antagonist of P2X3 and P2X2/3 receptors, reduces chronic inflammatory and neuropathic pain in the rat. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2002, 99: 17179-84
- [56] Teixeira JM, Bobinski F, Parada CA, et al. P2X3 and P2X2/3 receptors play a crucial role in articular hyperalgesia development through inflammatory mechanisms in the knee joint experimental synovitis. *Mol Neurobiol*, 2017, 54: 6174-86
- [57] Gever JR, Soto R, Henningsen RA, et al. AF-353, a novel, potent and orally bioavailable P2X3/P2X2/3 receptor antagonist. *Br J Pharmacol*, 2010, 160: 1387-98
- [58] Richards D, Gever JR, Ford AP, et al. Action of MK-7264 (gefapixant) at human P2X3 and P2X2/3 receptors and in vivo efficacy in models of sensitisation. *Br J Pharmacol*, 2019, 176: 2279-91
- [59] Martinez FJ, Afzal AS, Smith JA, et al. Treatment of persistent cough in subjects with idiopathic pulmonary fibrosis (IPF) with Gefapixant, a P2X3 antagonist, in a randomized, placebo-controlled clinical trial. *Pulm Ther*, 2021, 7: 471-86
- [60] Mazzone SB, Megarvey L. Mechanisms and rationale for targeted therapies in refractory and unexplained chronic cough. *Clin Pharmacol Ther*, 2021, 109: 619-36
- [61] Abdulqawi R, Dockry R, Holt K, et al. P2X3 receptor antagonist (AF-219) in refractory chronic cough: a randomised, double-blind, placebo-controlled phase 2 study. *Lancet*, 2015, 385: 1198-205
- [62] Garceau D, Charet N. BLU-5937: a selective P2X3 antagonist with potent anti-tussive effect and no taste alteration. *Pulm Pharmacol Ther*, 2019, 56: 56-62
- [63] Bellus Health Inc. A dose escalation study of BLU-5937 in unexplained or refractory chronic cough (RELIEF) [DB/OL]. (2021-08-03). <https://www.clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT03979638>
- [64] Tanaka M, Hosoya A, Mori H, et al. Minodronic acid induces morphological changes in osteoclasts at bone resorption sites and reaches a level required for antagonism of purinergic P2X2/3 receptors. *J Bone Miner Metab*, 2018, 36: 54-63