

DOI: 10.13376/j.cblls/2023105

文章编号: 1004-0374(2023)07-0947-09

溶酶体阳离子通道的生理、病理功能研究进展

杨传艳^{1,2}, 于 焯^{1*}, 高召兵^{2*}, 李 平^{2*}

(1 中国药科大学基础医学与临床药学院, 南京 210009; 2 中科中山药物创新研究院, 中山 528400)

摘要: 溶酶体 (lysosome) 是细胞内重要的细胞器, 参与细胞代谢、迁移、死亡等过程。溶酶体上表达的多种离子通道 (ion channel) 是溶酶体生理功能的基本保障, 它们对维持溶酶体 pH 稳态、钙离子稳态、膜电位、融合、分裂、外泌及重新生成等过程具有非常重要的作用。溶酶体离子通道参与多种疾病的发生发展过程, 并被认为是某些疾病药物治疗的潜在新靶点。本文总结了溶酶体上五种阳离子通道 (TRPML1、TPC、TMEM175、BK、P2X4) 的生理、病理功能的研究进展, 并探讨后续靶向这些溶酶体离子通道的药物研发的可行性。

关键词: 溶酶体; 离子通道; 自噬; 生理学; 病理学

中图分类号: Q512; R33; R36 **文献标志码:** A

Advances in the physiological and pathological functions of lysosomal cation channels

YANG Chuan-Yan^{1,2}, YU Ye^{1*}, GAO Zhao-Bing^{2*}, LI Ping^{2*}

(1 School of Basic Medicine and Clinical Pharmacy, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009, China; 2 Zhongshan Institute for Drug Discovery, Shanghai Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Sciences, Zhongshan 528400, China)

Abstract: Lysosome is one of the important organelles in cells, which participates in various biological processes, including cell metabolism, migration, and death. Recently, lysosome has been found equipped with lysosome ion channels that play fundamental roles in maintaining lysosome physiologies. Lysosome ion channels are critical for a variety of characteristics of the lysosome, such as lysosomal pH, calcium homeostasis, membrane potential, fusion, fission, exocytosis, biogenesis, and so on. The deficiency of lysosome ion channels is usually related to a series of human diseases. They are exhibiting potential in drug development. Herein, we summarize the channel properties, and physiological and pathological functions of the five cation channels, TRPML1, TPC, TMEM175, BK, P2X4, on lysosomes, and discuss the feasibility of drug development targeting these channels.

Key words: lysosome; ion channel; autophagy; physiology; pathology

1950年, Christian de Duve 首次在鼠肝脏细胞中发现一种由膜包被形成的、内部富含多种水解酶的细胞器, 并将其命名为溶酶体^[1]。随后研究发现, 溶酶体重要特征之一是其内部呈现酸性 (pH 约 4.60) 的状态。Metchnikoff 发现草履虫内吞体结构小泡可以引起摄入的 pH 敏感石蕊试纸颗粒出现酸性颜色变化^[2]。1968年, Coffey 和 De Duve^[3] 首次提出酸性溶酶体这个概念, 并指出溶酶体内部酸性 pH 环境是其所含水解酶发挥最适生物学活性的重要保障。

溶酶体是胞内物质和能量循环的重要场所。溶酶体内部含有 60 多种水解酶, 包括蛋白酶、糖苷酶、脂肪酶、核酸酶、磷酸酶和硫酸酯酶等, 这使得溶

收稿日期: 2023-01-14; 修回日期: 2023-02-27

基金项目: 国家自然科学基金项目(32100621, 82273913); 广东省自然科学基金面上项目(2022A1515010851); 中山市社会公益与基础研究重点项目(220418134367984)

*通信作者: E-mail: yuye@cpu.edu.cn (于焯); zbgao@simm.ac.cn (高召兵); lipingt@simm.ac.cn (李平)

酶体可以消化降解大分子物质,甚至是受损的细胞器^[4]。一方面,胞外营养物质通过内吞进入细胞,并被溶酶体内的水解酶消化^[5];另一方面,细胞内部大分子物质和细胞器通过自噬途径被运输到溶酶体,并被多种消化酶降解^[6]。

除消化降解功能外,溶酶体近年被发现还有其他重要作用,如感应细胞能量状态、参与细胞膜修复、调控细胞信号通路、调节细胞蛋白质稳态及调节机体免疫反应等^[7]。根据细胞不同的能量状态,溶酶体可以通过调节自身在胞内的位置分布、体积大小及数量多少,以适应不同的生存环境^[8]。例如在饥饿状态下,溶酶体将向核周移动以促进与自噬体的融合过程^[9]。同时,溶酶体通过激活TFEB (transcription factor EB) 来增加新生成的溶酶体数量^[10]。

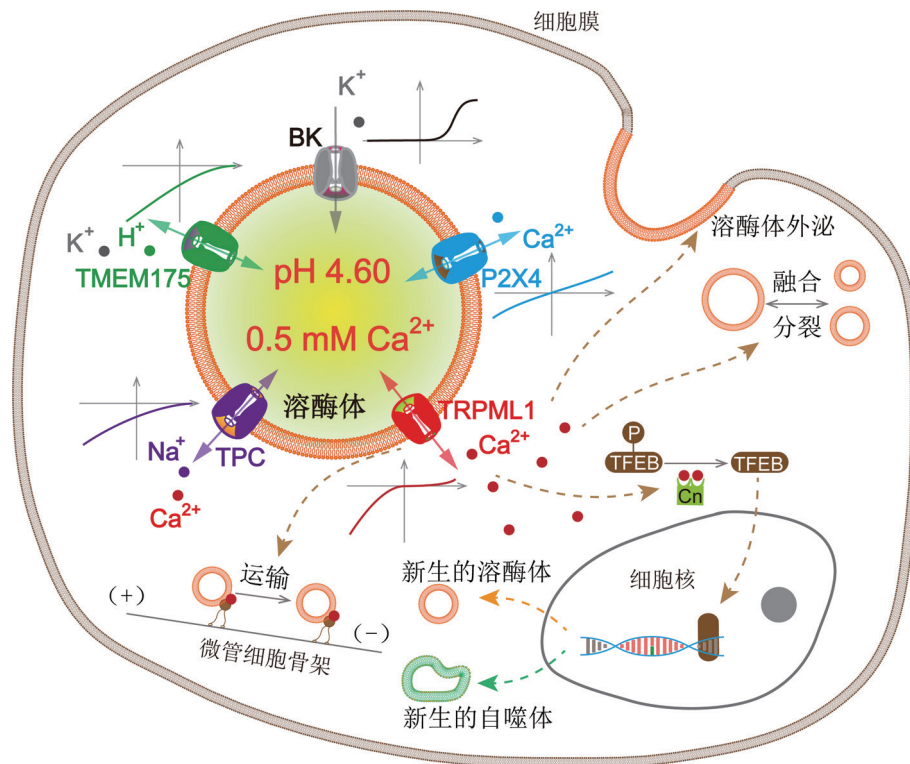
人们预测在溶酶体膜上约有近百种离子通道表达,随着溶酶体膜片钳电生理技术的建立和发展,溶酶体离子通道陆续被发现,迄今已有数十个溶酶

体离子通道被报道。这些溶酶体离子通道参与平衡溶酶体内外离子浓度、维持溶酶体内部物质稳态、调节溶酶体膜电位、调控胞内信号通路^[11]。溶酶体离子通道的基因突变或蛋白功能失调与多种人类疾病密切相关^[12-14]。本文将对五种重要的溶酶体阳离子通道的生理、病理功能进行综述(图1),包括TRPML1 (mucolipin TRP channels member 1)、TPC (two-pore channel)、TMEM175 (transmembrane protein 175)、BK (big conductance Ca^{2+} -activated potassium channel)、P2X4 (a subtype of purinergic receptors), 以期对相关疾病药物治疗提供新思路和新靶点。

1 TRPML1

1.1 TRPML1的基本性质

TRPML1 是首个被报道的溶酶体 TRP (transient receptor potential) 通道^[15]。TRPML1 对 Ca^{2+} 、 Na^{+} 、



溶酶体离子通道对溶酶体生理功能维持十分重要,包括溶酶体内部酸性稳态(pH4.60左右)和高浓度 Ca^{2+} (约0.5 mmol/L)等。目前已报道的溶酶体阳离子通道主要有: Ca^{2+} 通透的非选择性阳离子通道TRPML1 (mucolipin TRP channels member 1)、 Na^{+} / Ca^{2+} 选择性通透的TPC(two-pore channel)、 H^{+} / K^{+} 选择性通透的TMEM175 (transmembrane protein 175)、 K^{+} 选择性通透的BK (big conductance Ca^{2+} -activated potassium channel)、非选择性阳离子通道P2X4 (a subtype of purinergic receptors)。每种通道不仅具有各自不同的电生理特征(I-V关系如图),而且参与不同的生理功能调节过程。例如,通过TRPML1和P2X4介导的溶酶体 Ca^{2+} 释放可以调节溶酶体外泌(exocytosis)、融合(fusion)和分裂(fission)、运输(trafficking)、自噬体及溶酶体生物合成(biogenesis)等过程。

图1 溶酶体阳离子通道参与细胞多种生理功能调节过程

K^+ 、 Mn^{2+} 、 Fe^{2+} 、 Mg^{2+} 、 Zn^{2+} 等均有通透性, 是一个非选择性的阳离子通道^[16]。TRPML1 通道是由四个亚基组成的同源四聚体, 中心形成离子通透的孔道^[17]。每个亚基包括六个跨膜螺旋 (S1-S6), 其中 S1-S4 是四个相互紧密排列的直螺旋, S4 与相邻亚基的 S5 螺旋反向平行, S5-S6 构成孔道区^[17]。位于 C 端的双亮氨酸基序 (EEHSSL) 决定 TRPML1 蛋白在溶酶体上的表达定位^[18]。TRPML1 通道可被溶酶体上特异性脂类磷脂酰肌醇 -3,5- 二磷酸 (phosphatidylinositol-3,5-bisphosphate, $PI(3,5)P_2$) 激活, 同时可被细胞膜上的磷脂酰肌醇 -4,5- 二磷酸 (phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate, $PI(4,5)P_2$) 抑制, 这是其仅在溶酶体上发挥离子通道功能的重要保证。

1.2 TRPML1的生理功能

哺乳动物中 TRPML1 分布广泛, 在大脑、肾脏、脾脏、肝脏和心脏中表达水平较高^[19]。TRPML1 广泛参与多种生理功能。例如 TRPML1 可以通过调控溶酶体 Ca^{2+} 释放进而调节自噬体和溶酶体的生物学从头生成 (biogenesis)、运输 (trafficking)、分裂-融合 (fission-fusion)、胞吐 (exocytosis), 以及自噬 (autophagy) 等过程^[20]。

TRPML1 调节溶酶体钙稳态。在接受细胞内外信号后, 溶酶体可通过 TRPML1 通道快速调整钙释放过程。通常, TRPML1 通道介导溶酶体正常钙释放过程, 使溶酶体内的钙离子浓度维持在约 0.5 mmol/L 的正常水平 (高于胞质内静息水平钙离子浓度, ~100 nmol/L)。但在缺陷型细胞中, 溶酶体内钙离子浓度显著升高, 导致其多种生理功能受损, 引起溶酶体内大量未被降解底物的积累。TRPML1 外源性小分子激活剂能够显著增加溶酶体特异性的钙释放, 因此有助于调节一些人类疾病引起的溶酶体钙离子稳态失衡^[20-21]。

TRPML1 通道参与 TFEB 介导的自噬体和溶酶体从头生成过程^[22-23]。TFEB 是调节自噬体和溶酶体从头生成的主要转录因子, 去磷酸化的 TFEB 会进入细胞核, 启动自噬体及溶酶体一系列相关基因表达, 从而有助于新生成更多的自噬体和溶酶体^[24]。TFEB 的磷酸化受哺乳动物雷帕霉素受体复合物 1 (mammalian target of rapamycin complex 1, mTORC1) 和钙调磷酸酶 (calcineurin) 共同调控, 前者负责 TFEB 的磷酸化过程, 后者负责 TFEB 的去磷酸化过程^[25]。在营养充足的条件下, 被 mTORC1 磷酸化的 TFEB 因与胞内 14-3-3 蛋白结合而被阻止进入细胞核。在

饥饿状态时, 由于 mTORC1 激酶活性下降, TFEB 磷酸化速率降低。同时 TRPML1 通道释放的溶酶体 Ca^{2+} 将扩散到细胞质并激活溶酶体附近的钙调磷酸酶, 这使得 TFEB 去磷酸化速率增加。上述两种机制都有助于非磷酸化的 TFEB 水平升高, 从而促进 TFEB 自由进入细胞核并诱导细胞重新生成更多的自噬体和溶酶体^[22-23]。作为溶酶体上首个被确证的活性氧 (ROS) 受体, TRPML1 在胞内氧化应激水平升高时, 会利用 Ca^{2+} -calcineurin 机制促进去磷酸化的 TFEB 入核^[26]。此外, TRPML1 小分子激活剂也可通过相同机制介导 TFEB 入核^[26]。

TRPML1 的激活促进溶酶体运输过程。在发生自噬的细胞中, 溶酶体会聚集于细胞核周围, 这是由于 TRPML1 介导溶酶体 Ca^{2+} 释放促进了凋亡相关基因 2 (apoptosis-linked gene 2, ALG2) 蛋白与动力蛋白 (dynactin-dynein) 复合物结合, 进而使溶酶体沿着微管向细胞核方向聚集^[9]。由于每个溶酶体上的 TRPML1 通道都能释放 Ca^{2+} , 细胞质中溶酶体聚集处的局部钙离子浓度将显著增加, 这将通过不同的机制实现对溶酶体的体积调控^[27]。一方面, Ca^{2+} 可以促进 SNARE (soluble N-ethylmaleimide-sensitive factor attachment protein receptors) 复合物的形成, 进而增加溶酶体之间的融合 (fusion) 过程, 以及溶酶体与细胞膜之间融合的外泌 (exocytosis) 过程; 另一方面, Ca^{2+} 可以上调钙调蛋白 (calmodulin) 的功能, 进而增加 mTORC1 的活性, 最终导致溶酶体分裂 (fission)^[28]。

1.3 TRPML1与疾病

TRPML1 已被报道与人类多种疾病密切相关, 包括溶酶体贮积症 (lysosome storage diseases)^[19]、肌营养不良 (muscular dystrophy, MD)^[29]、心肌缺血^[30]、胃病^[9], 以及癌症^[28] 等。

TRPML1 基因缺失或蛋白功能下调会导致一种罕见病, 即 IV 型黏脂质贮积症 (mucopolipin type IV, MLIV)。MLIV 是一种常染色体隐性遗传病。患者临床症状表现为身材矮小、运动障碍、智力低下及视网膜疾病等^[19, 31-32]。病理学研究显示, MLIV 病患的细胞内溶酶体体积显著增大, 且溶酶体内部累积有大量未降解底物, 如脂类物质和胆固醇等, 这将进一步抑制溶酶体多种通道功能, 因而导致溶酶体功能受损越来越严重, 加剧细胞死亡。在中枢神经系统中, TRPML1 表达下调参与神经退行性疾病, 如阿尔茨海默病等的发病过程^[33]。MLIV 病患还伴有胃酸缺乏及高胃泌素血症^[34]。TRPML1 敲除小

鼠表现出胃质子泵 $H^+/K^+-ATPase$ 水平显著降低^[35], 目前认为 TRPML1 参与胃酸分泌的机制主要是: 壁细胞的管状小泡 (tubulovesicles) 上表达的 TRPML1 通道为蛋白激酶 A (protein kinase A, PKA) 提供 Ca^{2+} , 进而触发管状小泡彼此之间以及与顶部小管膜的 Ca^{2+} 依赖性融合, 这将增加 $H^+/K^+-ATPase$ 在顶端小管定位, 从而将 H^+ 泵入胃中^[35]。未来, 发展基因治疗提高 TRPML1 表达的方法, 以及开发高活性的小分子激活剂有望改善 MLIV。同时, TRPML1 还可以改善由幽门螺杆菌感染引起的胃病^[35]。

TRPML1 的激活有助于缓解肌肉营养不良。MD 是一组以骨骼肌萎缩和肌无力为特征的肌肉疾病^[29]。导致 MD 的一个重要原因是肌膜损伤的修复缺陷。TRPML1 缺失或者急性抑制都将影响骨骼肌细胞的膜修复过程, 因此, TRPML1 通道小分子激活剂可能可以治疗肌肉营养不良。推测其机制是 TRPML1 通道开放, 不仅可增加溶酶体内 Ca^{2+} 释放入胞质, 进而增加溶酶体外泌过程, 而且可通过引起 TFEB 入核的机制以提高细胞内溶酶体的数量, 最终促使破损的细胞膜被大量外泌的溶酶体所修复。此外, TRPML1 也影响心肌缺血缺氧的进程, 且 TRPML1 通道激活剂可以显著抑制肿瘤的生长并提高小鼠的生存率^[28]。因此, TRPML1 可能成为肌肉疾病、心脏疾病和肿瘤药物治疗的潜在靶点。

2 TPC

2.1 TPC的基本性质

TPC 通道可选择性通透 Na^+ ^[36] 和 Ca^{2+} ^[37], 但其离子选择性仍有争议。表达于溶酶体的 TPC 通道包括 TPC1 和 TPC2。两者的激活具有不同的电压依赖性: TPC1 介导去极化激活电流, 而 TPC2 介导无电压依赖的“漏电流”^[36]。TPC1 和 TPC2 通道都是由两个相同亚基组成的同源二聚体, 通道中心是离子通透的孔道区^[38]。单个亚基都由 12 次跨膜片段组成 (S1-S12), 其中 S1-S6 与 S7-S12 是两个功能基本相同的结构域 (Domain I 和 II), 因此每个亚基被认为是一个两次重复序列 (repeats), 为孔道区的形成提供了两个组成结构, 这是 TPC (two pore channel) 通道名称的由来^[39]。在 TPC1 中, Domain I 的 S5-S6 和 Domain II 的 S11-S12 构成孔道区, Domain I 的 S1-S4 和 Domain II 的 S7-S10 具有电压感受性^[40]。TPC 通道介导的 Na^+ 电流可被 $PI(3,5)P_2$ 激活^[36], 钙成像结果显示介导的 Ca^{2+} 电流可被烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸 (nicotinic acid adenine dinucleotide phosphate,

NAADP) 激活^[41]。

2.2 TPC的生理功能

TPC1 和 TPC2 的组织表达较广泛, TPC1 在肝脏和心脏中表达最高^[41], 但 TPC2 目前未见有组织表达特异性的报道。TPC 通过通透 Ca^{2+} 调节溶酶体钙释放^[37]; 通过通透 Na^+ 参与调控溶酶体兴奋性膜电位^[36] (membrane potential)、内吞体体积、溶酶体 pH、溶酶体氨基酸稳态、细胞营养状态等过程^[42]。

TPC 通道介导 NAADP 引起的溶酶体钙释放过程。一直以来, 人们对 NAADP 诱发细胞钙离子信号的机制并不十分清楚。但在 TPC 缺陷型细胞中, 这种钙离子信号被完全抑制, 而且在正常细胞中 NAADP 诱发的钙离子信号可被 TPC 通道抑制剂所阻断。膜片钳实验显示 NAADP 可激活溶酶体上的 TPC 通道介导的钙电流, 然而目前尚未见 TPC 蛋白上 NAADP 结合位点的报道, 因此 TPC 通道可能是 NAADP 分子的间接作用受体^[43]。

溶酶体膜电位是由多种离子通道共同参与形成的, 可分为兴奋性膜电位 (exciting membrane potential) 和静息膜电位 (resting membrane potential)。与细胞膜电位类似, Na^+ 通道的开放可诱发产生溶酶体兴奋性膜电位。TPC1 作为溶酶体表达的 Na^+ 通道, 具有调节溶酶体兴奋性膜电位的作用。一旦非失活型 Na^+ 通道 TPC1 被激活, 长时长的溶酶体兴奋性膜电位被诱发, 需较长时间才能恢复到静息膜电位^[31]。TPC 通道可以将胞吞进入的大量 Na^+ 释放至胞质, 同时带动内吞体内的 Cl^- 和水分子一起外排至胞质, 这三种物质的净流出可导致内吞体体积的缩小, 这将有利于内吞体的管化 (tubulation)- 出芽 (budding)- 重新生成 (remodeling) 的过程^[44]。这提示 TPC 通透的 Na^+ 可作为其他离子转运过程的反离子 (counterion)。TPC 通道可能通过上述类似的机制, 参与调控 H^+ 和氨基酸的转运过程, 进而影响溶酶体内物质稳态的调节^[45-46]。

TPC2 通道通过与 mTORC1 相互作用的方式, 根据胞内 ATP 含量调节细胞的代谢状态^[47]。当胞内 ATP 含量正常 (营养充足状态) 时, 定位于溶酶体的 mTORC1 通过相互作用直接抑制 TPC2, 细胞自噬保持正常水平; 而当胞内 ATP 含量降低 (营养缺乏状态) 时, mTORC1 从溶酶体上解离, TPC2 的抑制作用被解除, 进而增加自噬水平^[47]。

2.3 TPC与疾病

TPC 通道与人类多种疾病都十分相关, 包括肥胖、非酒精性脂肪性肝炎 (nonalcoholic steatohepatitis,

NASH)^[48]、病毒感染^[49]、癌症^[50]、免疫相关^[51]等疾病。

TPC 缺陷型小鼠更容易发生肥胖以及非酒精性脂肪肝样的肝损伤。相比于野生型小鼠, TPC 缺陷小鼠肝脏内胆固醇含量显著高于正常标准, 这可能是由于低密度脂蛋白 (low-density lipoprotein, LDL)-胆固醇在溶酶体内的降解严重下降导致的^[48]。溶酶体是参与病毒入侵宿主细胞过程的重要细胞器。TPC 通道多种抑制剂能显著降低艾博拉病毒的侵入能力, 且 TPC 通道功能缺失可以显著降低艾博拉病毒对宿主细胞的感染力^[49]。TPC 通道通过调节内吞体的管化过程, 参与调节机体免疫^[52]。此外, TPC2 通道与人体色素沉积有关, 该通道在头发由棕色变成金色的过程中起到一定的作用, 目前认为该过程的机制是 TPC2 通过调节黑色素小体中的 pH 来调控黑色素生成, 从而控制头发正常颜色^[50, 53]。

3 TMEM175

3.1 TMEM175的基本性质

TMEM175 是溶酶体特异性表达的 H⁺ 通道和 K⁺ 通道, 对 H⁺ 通透性是 K⁺ 通透性的 50 000 倍, 同时通透 Cs⁺, 对 Na⁺、Ca²⁺ 和 NMDG (N-methyl-D-glucamine) 几乎不通透^[54]。TMEM175 是氢离子调控的离子通道, 其开放程度受溶酶体内 pH 影响: 介导的 H⁺ 电流在酸性 pH 下更大, 在中性 pH 下, 通道几乎不开放, 电流也几乎完全消失; 介导的 K⁺ 电流在 pH4.60 时几乎没有, 在中性 pH 下却更大^[55]。真核生物 TMEM175 拥有 12 次跨膜片段 (TM1-TM12), 而原核生物 TMEM175 只有 6 次跨膜片段 (TM1-TM6)。人源 TMEM175 通道是同源二聚体, 而原核生物的 TMEM175 通道是同源四聚体。人源 TMEM175 每个亚基的 TM1 和 TM7 构成通道的孔道区。TMEM175 虽然能够通透 K⁺, 但是其选择性过滤器 (selective filter) 却是由孔道区的一个异亮氨酸 (isoleucine) 决定的, 而非包含钾离子通道特征性的甘氨酸-酪氨酸-甘氨酸 (GYG) 序列^[56]。TMEM175 可被胞内多种物质所调控: 一方面, TMEM175 能够被内源性小分子激动剂花生四烯酸 (arachidonic acid) 所激活^[55]; 另一方面, TMEM175 可以直接与胞质内蛋白激酶 B(AKT) 相互作用, 形成 AKT: TMEM175 复合物, 从而被胞外生长因子所激活^[57]。

3.2 TMEM175的生理功能

人源 TMEM175 分布广泛, 在大脑、心脏、肾脏、睾丸及肝脏都有分布^[56]。TMEM175 参与调控

溶酶体内 pH 稳态、消化降解酶活性^[55]、营养感知、自噬-溶酶体融合^[58]、线粒体自噬^[59]等过程。

基于氢离子激活的 H⁺ 通道的特性, TMEM175 可与溶酶体内 pH 形成一个负反馈调节机制, 从而维持细胞内溶酶体 pH 值约 4.60。在正常细胞中, TMEM175 可以纠正溶酶体 pH 的变化: 当 pH 下降时, TMEM175 开放增加, 进而增加溶酶体氢离子释放量, pH 上升; 当 pH 升高时, TMEM175 开放减小, 进而减少溶酶体氢离子释放量, pH 降低。V-ATPase 是溶酶体上主要负责将胞质中的 H⁺ 转运到溶酶体中的转运体, 而 TMEM175 是将溶酶体中 H⁺ 运出溶酶体的离子通道, 二者功能上形成互补, 共同调节溶酶体内部 pH 稳态^[55]。因此, 当 TMEM175 缺失时, 由于 V-ATPase 持续将胞质内氢离子泵入溶酶体, 溶酶体 pH 将显著降低, 远小于正常细胞的溶酶体 pH^[58], 这可能使得溶酶体内多种 pH 值依赖的酶活性降低, 从而导致溶酶体消化降解功能受损。

TMEM175 能够根据胞外生长因子含量调整细胞能量状态。TMEM175 与 AKT 共同形成的 LysoK_{GF} 可以将胞外生长因子信号传送到溶酶体, 溶酶体联合自噬一起参与调节细胞的响应过程^[57]。在 TMEM175 缺陷型细胞中, 线粒体的耗氧量显著降低, ATP 水平显著降低^[58], 线粒体自噬 (mitophagy) 增加^[59], 溶酶体与自噬体的融合增加^[58], 这表明 TMEM175 对维持细胞内能量稳态十分关键。

3.4 TMEM175与疾病

全基因组关联分析 (genome-wide association study, GWAS) 发现 TMEM175 是帕金森病的高风险基因, 部分帕金森病患者携带有 TMEM175 基因突变^[13, 60-61]。M393T 是首先被报道的 TMEM175 突变体, 此突变体的携带者更容易表现出认知功能障碍^[62]。小鼠模型显示, TMEM175 基因敲除后动物出现帕金森样行为学异常, 脑内多巴胺神经元数量显著降低, 同时磷酸化 α -突触核蛋白 (phosphorylated α -synuclein) 的含量也显著升高。这些现象可在 TMEM175 表达量提高后被有效逆转^[57]。目前认为, 正常情况下, TMEM175 参与调控了溶酶体对 α -突触核蛋白的降解过程, 从而将细胞内 α -突触核蛋白的含量保持在较低水平, 维持多巴胺神经元细胞活力, 维持中脑黑质-纹状体神经环路的正常功能, 防止帕金森临床症状的出现。当 TMEM175 基因缺失或蛋白功能下降时, 溶酶体氢离子通道介导的 H⁺ 释放量减少, 从而导致过量 H⁺ 滞留在溶酶体内部, 溶酶体

pH 降低。这将导致溶酶体内 pH 依赖的消化降解酶活性降低, 进而减慢 α -突触核蛋白在溶酶体内的降解速率, 增加细胞内 α -突触核蛋白的累积量, 最终促进路易小体 (Lewy body) 的形成, 从而导致多巴胺能神经元正常生理功能严重降低, 进而诱导神经元死亡, 致使帕金森黑质 - 纹状体神经环路功能异常, 病患可能表现出帕金森样临床症状^[55]。

4 BK

4.1 BK的基本性质

溶酶体表达的 BK(big conductance) 通道是一种胞内 Ca^{2+} 激活的外向整流型 (outwardly rectifying) 大电导 K^{+} 通道。除被 Ca^{2+} 激活外, BK 通道也会被去极化电压所激活。BK 通道是由多个不同的亚基组成的异源多聚体通道, 其组成亚基主要包括负责孔道形成的 α 亚基, 即 SLO1, 和辅助的 β 或 γ 亚单位组成^[63]。通常四个 α 亚基即可组成功能性 BK 通道, 辅助亚基可调节 α 亚基的功能。SLO1 亚基中包含七次跨膜片段 (S0-S6), 其中 S1-S4 形成了电压感受区, S5-S6 形成孔道区。通道的胞内 C 端存在两个 Ca^{2+} 高亲和力结合位点^[64-66]。

4.2 BK的生理功能

除在溶酶体表达外, BK 通道也在细胞膜、细胞核、内质网等部位表达^[67]。溶酶体表达的 BK 通道参与调控溶酶体膜电位、溶酶体内钙再灌注 (Ca^{2+} refilling) 等过程。溶酶体是细胞内第二大钙库, 溶酶体内钙离子的灌注机制一直不十分清楚。最近发现, BK 缺陷型细胞中溶酶体钙离子含量显著降低, 且钙离子灌注量显著减少, 这一现象可被 SLO1 过表达所恢复。现在认为, 溶酶体 BK 通道具有较大的钾离子电导, BK 通道的开放可使胞质中大量钾离子在较短时间内进入溶酶体, 从而使得溶酶体膜快速超极化^[68]。这可能有利于溶酶体与内质网之间形成新的接触点 (contact sites), 进而促进内质网 Ca^{2+} 重新填充进溶酶体内。因此, BK 可能通过影响该过程起到调节溶酶体内钙离子浓度的作用, 具体机制仍有待深入探究。

4.3 BK与疾病

BK 通道有助于缓解溶酶体贮积症。BK 通道敲除可引起溶酶体贮积症样的表型, 这可能是因为 BK 功能缺失显著降低溶酶体的消化降解功能, 以及减缓溶酶体运输过程。BK 具有的这一功能被认为与溶酶体 TRPML1 通道有关, 即 BK 通道与溶酶体 TRPML1 通道一起形成一种正反馈机制。由于

溶酶体钙离子释放的驱动力减弱, 溶酶体内的钙离子会随着 TRPML1 通道的钙释放而逐渐减少, 然而溶酶体释放至胞质中的钙离子可以激活 BK 通道, 进而促使大量钾离子流入溶酶体, 这可以为 TRPML1 通道介导的钙释放提供有利的膜电位, 进而促进溶酶体钙离子的释放^[69]。基于上述机制, 在尼曼 - 匹克 C1 (Niemann-Pick C1) 患者的细胞中, BK 通道的表达提升能够增加 TRPML1 介导的溶酶体钙释放, 因此 BK 通道的激活可以改善 Niemann-Pick C1 的溶酶体功能^[69]。

5 P2X4

P2X4 是嘌呤类受体 P2X 家族成员之一, 为配体门控的非选择性阳离子通道。功能性 P2X4 的结构为三聚体, 且每个单体包含有两个跨膜结构域和一个大的糖基化胞外结构域^[70]。位于 C 端的 YGL 序列负责 P2X4 在溶酶体上的表达。P2X4 可以被胞内 ATP 激活, 同时受到溶酶体内酸性 pH 调节^[71]。P2X4 在中枢和外周神经系统均有广泛分布^[72], 并参与溶酶体体积调节过程^[73]。此外, P2X4 通道释放钙离子可以激活胞内钙调蛋白以调节溶酶体膜的融合和分裂过程, 从而实现了对溶酶体体积的调控^[74]。

6 总结和展望

离子通道不仅表达于细胞质膜, 而且也大量表达于细胞器膜。溶酶体离子通道是溶酶体和细胞正常生理功能的基本保障。本文对五种溶酶体离子通道的生理功能及病理功能进行了总结 (表 1)。溶酶体离子通道之间既相互影响, 又保持各自功能。 Ca^{2+} 通道参与调节自噬、膜融合与分裂等过程^[75], Na^{+} 和 K^{+} 通道主要参与调节溶酶体膜电位^[53], H^{+} 通道主要参与调节溶酶体的 pH 值。溶酶体离子通道与人类多种疾病之间存在紧密关系。一方面, 溶酶体离子通道基因突变或蛋白功能失调将导致疾病, 如 TRPML1 功能降低会导致 MLIV^[75]; 另一方面, 溶酶体离子通道的调节剂有望成为这些疾病的治疗药物, 如 TPC 通道激活剂与肝脏疾病^[48]、TMEM175 激活剂与神经退行性疾病^[55]、BK 通道激活剂与尼曼 - 匹克 C1 疾病等^[69]。因此, 研究溶酶体离子通道的生理功能及其与疾病的相关性, 将不仅有助于理解复杂生命活动的基本原理, 而且为某些疾病药物研发提供新思路及新策略。但由于溶酶体离子通道分布广泛, 药物制剂或许将有助于解决溶酶体离子通道药物的靶向递送问题。鉴于溶酶

表1 溶酶体离子通道及功能

溶酶体离子通道	TRPML1	TPC	TMEM175	BK	P2X4
通透性	非选择性阳离子通道, 可通透Na ⁺ 、K ⁺ 、Ca ²⁺ 、Cs ⁺	Na ⁺ /Ca ²⁺	K ⁺ 、Cs ⁺ 、H ⁺	K ⁺	Ca ²⁺ 、Na ⁺
亚细胞定位	LEL	EE、LEL	EE、LEL	LEL、PM	LEL、PM
激动剂	PI(3,5)P ₂ 、ROS	PI(3,5)P ₂	AA	Ca ²⁺	ATP
抑制剂	PI(4,5)P ₂ 、鞘磷脂、腺苷	ATP、mTOR	/	/	/
生理功能	溶酶体胞吐、激活TFEB、溶酶体运输、溶酶体分裂-融合、细胞膜修复、感知ROS	溶酶体PH、感知ATP、调节溶酶体膜转运	溶酶体PH调节、自噬体溶酶体融合、溶酶体膜电位	溶酶体膜电位、溶酶体Ca ²⁺ 释放和再灌注	溶酶体融合和分裂、调节溶酶体的体积
相关疾病	MLIV	NASH	PD	尼曼-匹克C1	/
定位序列	L ⁵⁷⁷ L ⁵⁷⁸ 、L ¹⁵ L ¹⁶	TPC1:L ⁸³ I ⁸⁴ 、TPC2:L ¹¹ L ¹²		L ⁴⁸⁸ L ⁴⁸⁹ 、L ⁷³⁴ I ⁷³⁵ (?)	L ²² I ²³ 、Y ³⁷² xxV、 ³⁷⁸ xxGL

LEL: 晚期内体和溶酶体; EE: 早期内体; PM: 细胞膜; ATP: 三磷酸腺苷; AA: 花生四烯酸; mTOR: 哺乳动物雷帕霉素受体; NAADP: 烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸; ROS: 活性氧; PD: 帕金森病; NASH: 非酒精性脂肪性肝炎; MLIV: IV型黏脂病

体离子通道具有独特的生理功能和巨大药物研发潜力, 未来溶酶体离子通道的研究将成为离子通道领域的新高地。

[参 考 文 献]

- [1] De Duve C, Pressman BC, Gianetto R, et al. Tissue fractionation studies. 6. Intracellular distribution patterns of enzymes in rat-liver tissue. *Biochem J*, 1955, 60: 604-17
- [2] Mindell JA. Lysosomal acidification mechanisms. *Annu Rev Physiol*, 2012, 74: 69-86
- [3] Coffey JW, De Duve C. Digestive activity of lysosomes. I. The digestion of proteins by extracts of rat liver lysosomes. *J Biol Chem*, 1968, 243: 3255-63
- [4] Okamoto K. Organellophagy: eliminating cellular building blocks via selective autophagy. *J Cell Biol*, 2014, 205: 435-45
- [5] Luzio JP, Parkinson MD, Gray SR, et al. The delivery of endocytosed cargo to lysosomes. *Biochem Soc Trans*, 2009, 37: 1019-21
- [6] Kaushik S, Cuervo AM. Chaperone-mediated autophagy: a unique way to enter the lysosome world. *Trends Cell Biol*, 2012, 22: 407-17
- [7] Settembre C, Fraldi A, Medina DL, et al. Signals from the lysosome: a control centre for cellular clearance and energy metabolism. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2013, 14: 283-96
- [8] Ballabio A, Bonifacino JS. Lysosomes as dynamic regulators of cell and organismal homeostasis. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2019, 21: 101-18
- [9] Li X, Rydzewski N, Hider A, et al. A molecular mechanism to regulate lysosome motility for lysosome positioning and tubulation. *Nat Cell Biol*, 2016, 18: 404-17
- [10] Song JX, Liu J, Jiang Y, et al. Transcription factor EB: an emerging drug target for neurodegenerative disorders. *Drug Discov Today*, 2021, 26: 164-72
- [11] Smith RS, Walsh CA. Ion channel functions in early brain development. *Trends Neurosci*, 2020, 43: 103-14
- [12] Wang W, Zhang X, Gao Q, et al. TRPML1: an ion channel in the lysosome. *Handb Exp Pharmacol*, 2014, 222: 631-45
- [13] Gialluisi A, Reccia MG, Modugno N, et al. Identification of sixteen novel candidate genes for late onset Parkinson's disease. *Mol Neurodegener*, 2021, 16: 35
- [14] Bock J, Krogsaeter E, Passon M, et al. Human genome diversity data reveal that L564P is the predominant TPC2 variant and a prerequisite for the blond hair associated M484L gain-of-function effect. *PLoS Genet*, 2021, 17: e1009236
- [15] Zeevi DA, Frumkin A, Bach G. TRPML and lysosomal function. *Biochim Biophys Acta*, 2007, 1772: 851-8
- [16] Dong XP, Cheng X, Mills E, et al. The type IV mucopolipidosis-associated protein TRPML1 is an endolysosomal iron release channel. *Nature*, 2008, 455: 992-6
- [17] Chen Q, She J, Zeng W, et al. Structure of mammalian endolysosomal TRPML1 channel in nanodiscs. *Nature*, 2017, 550: 415-8
- [18] Vergarajauregui S, Puertollano R. Two di-leucine motifs regulate trafficking of mucopolipin-1 to lysosomes. *Traffic*, 2006, 7: 337-53
- [19] Sun M, Goldin E, Stahl S, et al. Mucopolipidosis type IV is caused by mutations in a gene encoding a novel transient receptor potential channel. *Hum Mol Genet*, 2000, 9: 2471-8
- [20] Di Paola S, Scotto-Rosato A, Medina DL. TRPML1: the Ca²⁺ retaker of the lysosome. *Cell Calcium*, 2018, 69: 112-21
- [21] Tedeschi V, Sisalli MJ, Petrozziello T, et al. Lysosomal calcium is modulated by STIM1/TRPML1 interaction which participates to neuronal survival during ischemic

- preconditioning. *FASEB J*, 2021, 35: e21277
- [22] Medina DL, Di Paola S, Peluso I, et al. Lysosomal calcium signalling regulates autophagy through calcineurin and TFEB. *Nat Cell Biol*, 2015, 17: 288-99
- [23] Wang W, Gao Q, Yang M, et al. Up-regulation of lysosomal TRPML1 channels is essential for lysosomal adaptation to nutrient starvation. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2015, 112: E1373-81
- [24] Settembre C, Zoncu R, Medina DL, et al. A lysosome-to-nucleus signalling mechanism senses and regulates the lysosome via mTOR and TFEB. *EMBO J*, 2012, 31: 1095-108
- [25] Li Q, Cai WJ, Ji YH, et al. [The new target of Rapamycin: lysosomal calcium channel TRPML1]. *Sheng Li Xue Bao*, 2021, 73: 137-42
- [26] Zhang X, Cheng X, Yu L, et al. MCOLN1 is a ROS sensor in lysosomes that regulates autophagy. *Nat Commun*, 2016, 7: 12109
- [27] Cao Q, Yang Y, Zhong XZ, et al. The lysosomal Ca²⁺ release channel TRPML1 regulates lysosome size by activating calmodulin. *J Biol Chem*, 2017, 292: 8424-35
- [28] Qi J, Xing Y, Liu Y, et al. MCOLN1/TRPML1 finely controls oncogenic autophagy in cancer by mediating zinc influx. *Autophagy*, 2021, 17: 4401-22
- [29] Davies KE, Nowak KJ. Molecular mechanisms of muscular dystrophies: old and new players. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2006, 7: 762-73
- [30] Wang Y, Jiang SW, Liu X, et al. Degradation of TRPML1 in neurons reduces neuron survival in transient global cerebral ischemia. *Oxid Med Cell Longev*, 2018, 2018: 4612727
- [31] Xu H, Ren D. Lysosomal physiology. *Annu Rev Physiol*, 2015, 77: 57-80
- [32] Bargal R, Avidan N, Olender T, et al. Mucopolidosis type IV: novel MCOLN1 mutations in Jewish and non-Jewish patients and the frequency of the disease in the Ashkenazi Jewish population. *Hum Mutat*, 2001, 17: 397-402
- [33] Zhang L, Fang Y, Cheng X, et al. TRPML1 participates in the progression of Alzheimer's disease by regulating the PPAR γ /AMPK/Mtor signalling pathway. *Cell Physiol Biochem*, 2017, 43: 2446-56
- [34] Schiffmann R, Dwyer NK, Lubensky IA, et al. Constitutive achlorhydria in mucopolidosis type IV. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1998, 95: 1207-12
- [35] Sahoo N, Gu M, Zhang X, et al. Gastric acid secretion from parietal cells is mediated by a Ca²⁺ efflux channel in the tubulovesicle. *Dev Cell*, 2017, 41: 262-73
- [36] Wang X, Zhang X, Dong XP, et al. TPC proteins are phosphoinositide-activated sodium-selective ion channels in endosomes and lysosomes. *Cell*, 2012, 151: 372-83
- [37] Gan N, Jiang Y. Structural biology of cation channels important for lysosomal calcium release. *Cell Calcium*, 2022, 101: 102519
- [38] Kintzer AF, Stroud RM. Structure, inhibition and regulation of two-pore channel TPC1 from *Arabidopsis thaliana*. *Nature*, 2016, 531: 258-62
- [39] Stoklosa P, Probst D, Reymond JL, et al. The name tells the story: two-pore channels. *Cell Calcium*, 2020, 89: 102215
- [40] Kintzer AF, Stroud RM. On the structure and mechanism of two-pore channels. *FEBS J*, 2018, 285: 233-43
- [41] Calcraft PJ, Ruas M, Pan Z, et al. NAADP mobilizes calcium from acidic organelles through two-pore channels. *Nature*, 2009, 459: 596-600
- [42] She J, Guo J, Jiang Y. Structure and function of plant and mammalian TPC channels. *Handb Exp Pharmacol*, 2023, 278: 155-80
- [43] Marchant JS, Gunaratne GS, Cai X, et al. NAADP-binding proteins find their identity. *Trends Biochem Sci*, 2022, 47: 235-49
- [44] Zeziulia M, Blin S, Schmitt FW, et al. Proton-gated anion transport governs macropinosome shrinkage. *Nat Cell Biol*, 2022, 24: 885-95
- [45] Pereira GJ, Antonioli M, Hirata H, et al. Glutamate induces autophagy via the two-pore channels in neural cells. *Oncotarget*, 2017, 8: 12730-40
- [46] Giovinazzo J, Roger T, Blank B, et al. 4D-imaging of drip-line radioactivity by detecting proton emission from (54m)Ni pictured with ACTAR TPC. *Nat Commun*, 2021, 12: 4805
- [47] Cang C, Zhou Y, Navarro B, et al. mTOR regulates lysosomal ATP-sensitive two-pore Na⁺ channels to adapt to metabolic state. *Cell*, 2013, 152: 778-90
- [48] Grimm C, Holdt LM, Chen CC, et al. High susceptibility to fatty liver disease in two-pore channel 2-deficient mice. *Nat Commun*, 2014, 5: 4699
- [49] Sakurai Y, Kolokoltsov AA, Chen CC, et al. Ebola virus. Two-pore channels control Ebola virus host cell entry and are drug targets for disease treatment. *Science*, 2015, 347: 995-8
- [50] Ambrosio AL, Boyle JA, Aradi AE, et al. TPC2 controls pigmentation by regulating melanosome pH and size. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2016, 113: 5622-7
- [51] Freeman SA, Uderhardt S, Saric A, et al. Lipid-gated monovalent ion fluxes regulate endocytic traffic and support immune surveillance. *Science*, 2020, 367: 301-5
- [52] Chen CC, Krogsaeter E, Grimm C. Two-pore and TRP cation channels in endolysosomal osmo-/mechanosensation and volume regulation. *Biochim Biophys Acta Mol Cell Res*, 2021, 1868: 118921
- [53] Bellono NW, Escobar IE, Oancea E. A melanosomal two-pore sodium channel regulates pigmentation. *Sci Rep*, 2016, 6: 26570
- [54] Cang C, Aranda K, Seo YJ, et al. TMEM175 is an organelle K⁺ channel regulating lysosomal function. *Cell*, 2015, 162: 1101-12
- [55] Hu M, Li P, Wang C, et al. Parkinson's disease-risk protein TMEM175 is a proton-activated proton channel in lysosomes. *Cell*, 2022, 185: 2292-308
- [56] Lee C, Guo J, Zeng W, et al. The lysosomal potassium channel TMEM175 adopts a novel tetrameric architecture. *Nature*, 2017, 547: 472-5
- [57] Wie J, Liu Z, Song H, et al. A growth-factor-activated lysosomal K⁺ channel regulates Parkinson's pathology.

- Nature, 2021, 591: 431-7
- [58] Jinn S, Drolet RE, Cramer PE, et al. TMEM175 deficiency impairs lysosomal and mitochondrial function and increases α -synuclein aggregation. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2017, 114: 2389-94
- [59] Qu L, Lin B, Zeng W, et al. Lysosomal K^+ channel TMEM175 promotes apoptosis and aggravates symptoms of Parkinson's disease. *EMBO Rep*, 2022, 23: e53234
- [60] Blauwendraat C, Heilbron K, Vallerga CL, et al. Parkinson's disease age at onset genome-wide association study: defining heritability, genetic loci, and α -synuclein mechanisms. *Mov Disord*, 2019, 34: 866-75
- [61] Grover S, Ashwin AKS, Pihlstrom L, et al. Genome-wide association and meta-analysis of age-at-onset in Parkinson disease: evidence from COURAGE-PD consortium. *Neurology*, 2022, 99: e698-e710
- [62] Jinn S, Blauwendraat C, Toolan D, et al. Functionalization of the TMEM175 p.M393T variant as a risk factor for Parkinson disease. *Hum Mol Genet*, 2019, 28: 3244-54
- [63] Santi CM, Ferreira G, Yang B, et al. Opposite regulation of slick and slack K^+ channels by neuromodulators. *J Neurosci*, 2006, 26: 5059-68
- [64] Bian S, Favre I, Moczydlowski E. Ca^{2+} -binding activity of a COOH-terminal fragment of the *Drosophila* BK channel involved in Ca^{2+} -dependent activation. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2001, 98: 4776-81
- [65] Cox DH. The BKCa channel's Ca^{2+} -binding sites, multiple sites, multiple ions. *J Gen Physiol*, 2005, 125: 253-5
- [66] Latorre R, Brauchi S. Large conductance Ca^{2+} -activated K^+ (BK) channel: activation by Ca^{2+} and voltage. *Biol Res*, 2006, 39: 385-401
- [67] Li B, Jie W, Huang L, et al. Nuclear BK channels regulate gene expression via the control of nuclear calcium signaling. *Nat Neurosci*, 2014, 17: 1055-63
- [68] Wang W, Zhang X, Gao Q, et al. A voltage-dependent K^+ channel in the lysosome is required for refilling lysosomal Ca^{2+} stores. *J Cell Biol*, 2017, 216: 1715-30
- [69] Cao Q, Zhong XZ, Zou Y, et al. BK channels alleviate lysosomal storage diseases by providing positive feedback regulation of lysosomal Ca^{2+} release. *Dev Cell*, 2015, 33: 427-41
- [70] Young MT. P2X receptors: dawn of the post-structure era. *Trends Biochem Sci*, 2010, 35: 83-90
- [71] Khakh BS, North RA. Neuromodulation by extracellular ATP and P2X receptors in the CNS. *Neuron*, 2012, 76: 51-69
- [72] North RA. Molecular physiology of P2X receptors. *Physiol Rev*, 2002, 82: 1013-67
- [73] Varela D, Penna A, Simon F, et al. P2X4 activation modulates volume-sensitive outwardly rectifying chloride channels in rat hepatoma cells. *J Biol Chem*, 2010, 285: 7566-74
- [74] Cao Q, Zhong XZ, Zou Y, et al. Calcium release through P2X4 activates calmodulin to promote endolysosomal membrane fusion. *J Cell Biol*, 2015, 209: 879-94
- [75] Bansal D, Miyake K, Vogel SS, et al. Defective membrane repair in dysferlin-deficient muscular dystrophy. *Nature*, 2003, 423: 168-72