

· 药学前沿 ·

## 钙离子信号介导 Nod 样受体蛋白炎性小体激活的研究进展

陈雨, 徐志猛, 李萍\*

(中国药科大学天然药物活性组分与药效国家重点实验室, 南京 210009)

**摘要** Nod 样受体蛋白(Nod-like receptor protein 3, NLRP3)炎性小体可识别多种病原体及细胞损伤,诱导分泌白细胞介素 1 $\beta$ (interleukin-1 $\beta$ , IL-1 $\beta$ )、IL-18,调节炎症反应,是固有免疫系统的重要组成部分。近年研究表明,钙离子(Ca<sup>2+</sup>)信号参与多种 NLRP3 激动剂诱导的 NLRP3 炎性小体激活过程,并与相关疾病的发生密切相关。本文综述了有关钙离子与 NLRP3 炎性小体的相关研究,重点关注钙离子信号在 NLRP3 炎性小体激活和调节中的潜在作用,为治疗 NLRP3 炎性小体驱动的炎症性疾病提供新思路。

**关键词** NLRP3 炎性小体;钙离子信号;活化机制

**中图分类号** R967 **文献标志码** A **文章编号** 1000-5048(2021)05-0513-09

doi: 10. 11665/j. issn. 1000-5048. 20210501

**引用本文** 陈雨,徐志猛,李萍. 钙离子信号介导 Nod 样受体蛋白炎性小体激活的研究进展[J]. 中国药科大学学报, 2021, 52(5): 513 - 521.

**Cite this article as:** CHEN Yu, XU Zhimeng, LI Ping. Calcium signal-mediated activation of NLRP3 inflammasome[J]. *J China Pharm Univ*, 2021, 52(5): 513 - 521.

## Calcium signal-mediated activation of NLRP3 inflammasome

CHEN Yu, XU Zhimeng, LI Ping\*

*State Key Laboratory of Natural Medicines, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009, China*

**Abstract** Nod-like receptor protein 3 (NLRP3) inflammasome, which is an important component of the innate immune system, can recognize a variety of pathogens and cell damage, induce the secretion of IL-1 $\beta$  and IL-18, and regulate inflammatory response. More and more studies in recent years have shown that Ca<sup>2+</sup> signaling plays an important role in NLRP3 inflammasome activation induced by various NLRP3 inflammasome agonists, and is closely related to the occurrence of related diseases. The article reviews the literatures on Ca<sup>2+</sup> and NLRP3 inflammasome, focusing on the potential role of Ca<sup>2+</sup> signaling in the activation and regulation of NLRP3 inflammasome, to provide new ideas for the treatment of illness caused by NLRP3 inflammasome.

**Key words** NLRP3 inflammasome; calcium signaling; activation mechanism

This study was supported by the National Key Research and Development Program of China (No. 2018YFC1707300)

Nod 样受体蛋白(Nod-like receptor protein 3, NLRP3)炎性小体作为重要的固有免疫组成部分,能对包括入侵病原体、宿主细胞衍生的危险信号和环境刺激物在内的各种刺激做出反应,在机体免疫反应发生过程中起着重要作用。NLRP3 炎性

小体的异常激活可导致多种自身炎症或慢性炎症疾病如阿尔茨海默病、炎症性肠病和冷热相关周期性综合征的发生发展。明确 NLRP3 炎性小体的激活机制,对通过降低其活性而用于疾病的防治十分重要。

**收稿日期** 2021-03-10 \* **通信作者** Tel: 13505142632 E-mail: liping2004@126.com

**基金项目** 国家重点研究发展计划资助项目(No. 2018YFC1707300)

钙离子作为细胞中广泛表达的第二信使,对细胞内信号传导、维持细胞稳态具有重要的作用。胞内  $\text{Ca}^{2+}$  信号控制多种细胞过程,包括增殖和分化、转录、细胞代谢和细胞死亡<sup>[1]</sup>。研究发现,在不同 NLRP3 炎性小体激活剂的作用下细胞都出现了胞浆  $\text{Ca}^{2+}$  浓度升高的现象,并且抑制异常的  $\text{Ca}^{2+}$  流动能够降低细胞白细胞介素  $1\beta$  (interleukin- $1\beta$ , IL- $1\beta$ ) 水平<sup>[2]</sup>。然而,对于  $\text{Ca}^{2+}$  的变化如何激活 NLRP3 炎性小体仍存在着许多有待研究之处。本文就  $\text{Ca}^{2+}$  在 NLRP3 炎性小体激活和调控中的作用进行综述。

## 1 NLRP3 炎性小体的结构和激活

### 1.1 NLRP3 炎性小体的结构

NLRP3 炎性小体是细胞内的大分子复合物,包括传感器分子 NLRP3、适配器凋亡相关斑点蛋白 (apoptosis-associated speck-like protein containing a caspase recruitment domain, ASC)、有丝分裂激酶 NIMA 相关激酶 7 (NIMA-related kinase 7, NEK7) 和效应器蛋白酶半胱天冬酶 1 (cysteine-dependent aspartate-specific proteases 1, caspase-1)<sup>[3]</sup>。NLRP3 包含一个 N 端 pyrin 结构域 (pyrin domain, PYD)、连接结构 NACHT 以及 C 端负责感受刺激的亮氨酸重复序列 (leucine-rich repeat, LRRs)。当激活时, NLRP3 的 LRRs 结构域可与 NEK7 直接结合,通过其 N 端的 PYD/PYD 同型相互作用招募含 PYD 和 caspase 招募域 (caspase activation and recruitment, CARD) 的 ASC,相应地, ASC 通过 CARD/CARD 相互作用招募含 CARD 域的 caspase-1 前体聚集<sup>[4]</sup>。同时, ASC 通过 PYDs 寡聚形成螺旋簇状集合<sup>[5]</sup>,即所谓的 ASC 斑点,催化无活性的 caspase-1 前体剪切 p10、p20 亚基<sup>[6]</sup>,这两个亚基进一步结合构成有活性的四聚体形式,进而活化炎症因子 IL- $1\beta$ 、IL-18,促进炎症免疫反应<sup>[7]</sup>。此外,活化的 caspase-1 还可诱导一种新型的被称为“细胞焦亡”的炎性细胞死亡,这种死亡方式依赖于一种称为 gasdermin D (GSDMD) 的蛋白的 N 端在细胞膜上形成纳米孔,导致细胞肿胀、释放炎症介质,进一步扩大炎症反应<sup>[8]</sup>。

### 1.2 NLRP3 炎性小体的激活

无论是单独刺激 NLRP3,还是过表达 NLRP3 以增强 NLRP3 对刺激的敏感性,均不足以诱导 NL-

RP3 炎性小体激活,说明它的激活机制较为复杂。研究发现, NLRP3 炎性小体的激活需要两个步骤: 第一步(启动),通过激活核转录因子 NF- $\kappa$ B 及其他转录因子,增强 NLRP3、pro-IL- $1\beta$  基因转录,提高其表达水平,并通过与转录无关的方式降低 NLRP3 炎性小体激活阈值;第二步(活化),当已启动的细胞受到激活剂刺激时 NLRP3 炎性小体就会被激活。与其他模式识别受体只能感受少数几种刺激不同, NLRP3 可识别多种病原相关分子模式 (pathogen-associated molecular patterns, PAMPs) 和危险相关分子模式 (danger-associated molecular patterns, DAMPs),包括病毒 RNA、尿酸单钠 (monosodium urate, MSU)、细胞外 ATP、离子载体尼日利亚菌素等<sup>[9]</sup>。此外,胞浆的脂多糖 (lipopolysaccharide, LPS) 还能引起 caspase-11 依赖性的非经典 NLRP3 炎性小体激活<sup>[10]</sup>。这些激活剂的相同之处在于它们都能诱导细胞应激,细胞应激被 NLRP3 感知,但 NLRP3 是如何感知细胞应激,以及哪些通路被诱导最终导致 NLRP3 炎性小体激活仍有待阐明。

NLRP3 炎性小体的激活包含多个上游信号,包括活性氧 (reactive oxygen species, ROS) 上升、钾离子 ( $\text{K}^+$ ) 外排、溶酶体破裂、反式高尔基体网络结构 (trans-Golgi network, TGN) 解体、线粒体功能障碍等。例如,降低 ROS 的产生或使用 ROS 清除剂均能强有力地降低 NLRP3 炎性小体激活,但是有研究表明,抑制 ROS 并不直接影响 NLRP3 炎性小体的激活,而是负调控 NLRP3 炎性小体激活的启动步骤<sup>[11]</sup>。而大多数的 NLRP3 炎性小体激动剂都能引起  $\text{K}^+$  外流<sup>[12]</sup>,并且单独细胞外低钾便足以诱导 NLRP3 炎性小体激活,其机制为钾离子外流后导致 NEK7 与 LRR 结合,从而激活 NLRP3 炎性小体,但是有学者提出不同观点,Zhang 等<sup>[13]</sup>认为其作用其实是影响静息膜电位,而且局部免疫调节剂咪喹莫特和相关分子 CL097 触发的 NLRP3 炎性小体激活与  $\text{K}^+$  外排并无关<sup>[14]</sup>。关于溶酶体损伤导致的 NLRP3 炎性小体激活至今仍没有较明确的机制,目前认知仅限于通过胞吞作用引起溶酶体破裂,组织蛋白酶释放到胞质中,导致 NLRP3 炎性小体活化。但是,虽然溶酶体组织蛋白酶对 NLRP3 炎性小体激活十分重要,单独基因敲除并未见显著影响<sup>[15]</sup>。不同的 NLRP3 炎性小体激动剂均会引起 TGN 解体,之后通过带负电荷的磷脂酰肌醇-4-

磷酸(phosphatidylinositol-4-phosphate, PtdIns4P)结合 NLRP3, 诱导衔接蛋白 ASC 聚合, 激活下游信号传导级联<sup>[16]</sup>, 但为什么 NLRP3 炎性小体需要在分散的反式高尔基体网络上特异性组装, 目前尚不清楚。因此, 在关于 NLRP3 炎性小体激活信号的研究上仍存在许多争论。

## 2 钙离子信号与 NLRP3 炎性小体激活

离子流在 NLRP3 炎性小体激活过程中具有举足轻重的地位, 而  $\text{Ca}^{2+}$  作为调控细胞功能的一种重要离子流, 其动态平衡障碍影响许多神经退行性疾病的发展<sup>[17]</sup>。在以 NLRP3 获得性突变为特征的冷热相关周期综合征(cryopyrin-associated periodic syndrome, CAPS)患者中, 发现外周血单个核细胞内  $\text{Ca}^{2+}$  升高后<sup>[2]</sup>, 钙离子在 NLRP3 炎性小体激活过程中发挥的作用开始被广泛研究。

### 2.1 $\text{Ca}^{2+}$ 浓度控制方式

胞质  $\text{Ca}^{2+}$  浓度通过  $\text{Ca}^{2+}$  的流入和流出实现平衡, 胞质  $\text{Ca}^{2+}$  内流有两种主要途径: (1) 来自细胞内存储, 如内质网(endoplasmic reticulum, ER)和线粒体; (2) 来自胞外液。静息状态下, 胞外液和 ER 腔内  $\text{Ca}^{2+}$  水平维持在毫摩尔级, 而细胞胞浆  $\text{Ca}^{2+}$  水平较低, 细胞质通过质膜钙 ATP 酶(plasma membrane  $\text{Ca}^{2+}$  ATPase, PMCA)和肌质网膜钙 ATP 酶(smooth endoplasmic reticular  $\text{Ca}^{2+}$  ATPase, SERCA)转运体的挤压将胞浆  $\text{Ca}^{2+}$  浓度维持在 100 nmol/L 左右。另外, Na/Ca 交换器( $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$  exchanger, NCX)和 Na/Ca/K 交换器( $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}-\text{K}^+$  exchanger, NCKX)是  $\text{Ca}^{2+}$  的二级调节器, 控制细胞内外钠钙交换<sup>[18]</sup>。

刺激条件下,  $\text{Ca}^{2+}$  信号通路激活, 质膜离子通道通过电压变化或与配体结合触发, 造成细胞内外钙离子流动变化。胞浆  $\text{Ca}^{2+}$  激增激活  $\text{Ca}^{2+}$  结合蛋白和各种细胞活动。多种  $\text{Ca}^{2+}$  可渗透通道参与细胞外  $\text{Ca}^{2+}$  的内流: (1) 电压门控  $\text{Ca}^{2+}$  通道(voltage-gated  $\text{Ca}^{2+}$  channel, VOCs): 膜去极化时激活, 是电兴奋细胞中最主要的  $\text{Ca}^{2+}$  流入方式; (2) 受体门控通道(receptor-operated  $\text{Ca}^{2+}$  entry, ROCs): 当  $\text{Ca}^{2+}$  激动剂结合到 ROC, 导致磷脂酶 C(phospholipase C, PLC)信号通路激活, ER  $\text{Ca}^{2+}$  释放; (3) 配体门控的瞬时受体电位通道(transient receptor potential, TRP): 是非兴奋性细胞主要的  $\text{Ca}^{2+}$  流入方式, 在膜和细胞器膜上多有分布, 按氨基酸序列分为 7 个亚

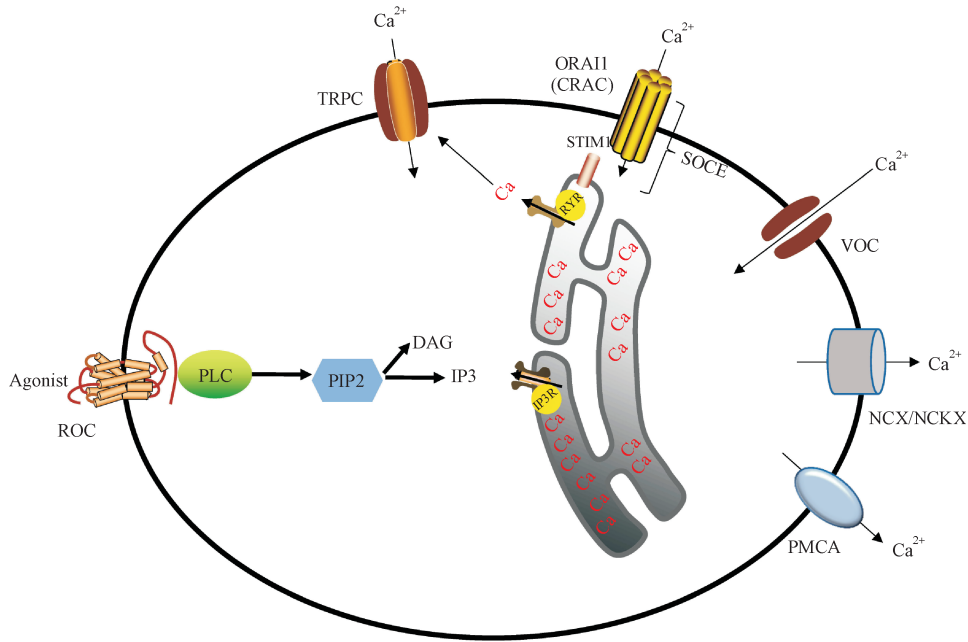
科: TRPC、TRPV、TRPA、TRPM、TRPML、TRPP 和 TRPN, 并且能与  $\text{Ca}^{2+}$  释放激活的  $\text{Ca}^{2+}$  通道( $\text{Ca}^{2+}$  release-activated  $\text{Ca}^{2+}$ , CRAC)相互作用, 控制  $\text{Ca}^{2+}$  信号; (4) 存储操控通道(store-operated  $\text{Ca}^{2+}$  entry, SOCs), 如 CRAC: 当内质网  $\text{Ca}^{2+}$  储存耗尽时, 基质相互作用分子(stromal interaction molecule, STIM)与质膜中的 Orai 通道相作用, 激活钙池调控钙离子通道(store-operated  $\text{Ca}^{2+}$  entry, SOCE), 引起细胞外  $\text{Ca}^{2+}$  进入, 以维持细胞内外钙离子的动态平衡<sup>[19]</sup>,  $\text{Ca}^{2+}$  可渗透通道如图 1 所示。

### 2.2 $\text{Ca}^{2+}$ 信号在 NLRP3 炎性小体激活中的作用

早期研究主要是根据钙离子螯合剂 BAPTA-AM 抑制 IL-1 $\beta$  分泌的能力将  $\text{Ca}^{2+}$  流动与 NLRP3 炎性小体激活联系起来。如 Chu 等<sup>[20]</sup> 发现 BAPTA-AM 可抑制 NLRP3 炎性小体激活和 IL-1 $\beta$  分泌。接着, 细胞外  $\text{Ca}^{2+}$  被证明可单独刺激依赖于 NLRP3 炎性小体的 IL-1 $\beta$  分泌。进一步研究发现, 细胞外  $\text{Ca}^{2+}$  或其他 NLRP3 炎性小体的激动剂可以通过钙感受体(calcium-sensing receptor, CASR)和 PLC 之间的相互作用触发细胞内  $\text{Ca}^{2+}$  信号级联反应, 继而影响 NLRP3<sup>[21]</sup>。Lee 等<sup>[22]</sup> 提出 PLC 介导的磷脂酰肌醇 4, 5-二磷酸(phosphatidylinositol 4, 5-bisphosphate, PIP2)水解产物肌醇 1, 4, 5-三磷酸(inositol 1, 4, 5-triphosphate, IP3)激活 ER 上的 IP3 受体(1, 4, 5-trisphosphate receptor, IP3R), 进而触发 ER  $\text{Ca}^{2+}$  释放和 NLRP3 炎性小体激活。作者还发现, 使用 PLC 的抑制剂抑制了多种刺激诱导的 IL-1 $\beta$  分泌, 而 PLC 的直接激活则可在没有任何其他刺激的情况下诱导 NLRP3 炎性小体激活。同理, 敲除 IP3R 或药理学抑制其表达均可减弱  $\text{Ca}^{2+}$  流动和 NLRP3 炎性小体激活。

此后, 对其他多种不同结构激活剂刺激 NLRP3 炎性小体激活的研究进一步证实了  $\text{Ca}^{2+}$  的作用。研究发现, 脑心肌炎病毒(EMCV)通过刺激细胞内存储  $\text{Ca}^{2+}$  释放到细胞质中进而激活 NLRP3 炎性小体<sup>[23]</sup>。登革热 2 型病毒及其非结构蛋白 2A 和 2B 激活 NLRP3 炎性小体与释放 ER  $\text{Ca}^{2+}$  有关<sup>[24]</sup>。ATP 诱导的 IL-1 $\beta$  释放需要细胞外  $\text{Ca}^{2+}$  内流和 ER 介导的  $\text{Ca}^{2+}$  释放<sup>[25]</sup>。紫外线诱导的 NLRP3 炎性小体激活需要升高的细胞内  $\text{Ca}^{2+}$ <sup>[26]</sup>。胆固醇依赖性溶胞素激活 NLRP3 炎性小体需要  $\text{Ca}^{2+}$  内流, 而  $\text{Ca}^{2+}$  内流对于植物凝集素激活 NLRP3 炎性小体也是必





**Figure 1**  $\text{Ca}^{2+}$  regulation channel in cell

TRPC: Transient receptor potential canonical; VOC: Voltage-gated  $\text{Ca}^{2+}$  channel; ROC: Receptor-operated  $\text{Ca}^{2+}$  entry; CRAC:  $\text{Ca}^{2+}$  release-activated  $\text{Ca}^{2+}$ ; SOCE: Store-operated  $\text{Ca}^{2+}$  entry; STIM1: Stromal interaction molecule 1; PLC: Phospholipase C; PIP2: Phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate; IP3: Inositol 1,4,5-triphosphate; DAG: Diacylglycerol; PMCA: Plasma membrane  $\text{Ca}^{2+}$  ATPase; RyR: Ryanodine receptor; NCX:  $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$  exchangers; NCKX:  $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}/\text{K}^+$  exchangers

需的<sup>[27]</sup>。这表明细胞内  $\text{Ca}^{2+}$  信号在 NLRP3 炎性小体激活过程中扮演着至关重要的角色。

但是,针对  $\text{Ca}^{2+}$  在 NLRP3 炎性小体激活中的作用, Katsnelson 等<sup>[28]</sup> 提出了不同看法,他们研究了 NLRP3 炎性小体激动剂刺激下,胞浆内钙离子上升对小鼠原代树突细胞、原代巨噬细胞 NLRP3 炎性小体激活情况和下游炎症信号反应的影响。首先,在内源性 ATP 门控 P2X7 受体通道、外源性离子载体尼日利亚菌素或促溶酶体 LLME 激活 NLRP3 炎性小体过程中,胞浆  $\text{Ca}^{2+}$  增加并不是必要条件。其次,在小鼠树突状细胞中,与  $\text{Ca}^{2+}$  流动相关的 G 蛋白偶联受体的激动剂对 NLRP3 炎性小体信号激活的作用被  $\text{K}^+$  外排激动剂逆转。并且,虽然 BAPTA-AM 和 2-APB 强烈抑制了尼日利亚菌素诱导的 NLRP3 炎性小体信号传导,但其作用机制与  $\text{Ca}^{2+}$  稳态无关<sup>[29]</sup>。因此,  $\text{Ca}^{2+}$  在 NLRP3 炎性小体激活过程中发挥的作用仍需要进一步探索。

### 2.3 NLRP3 炎性小体激活过程中 $\text{Ca}^{2+}$ 信号的变化

如上所述,在 NLRP3 炎性小体激活过程中常伴随着  $\text{Ca}^{2+}$  的升高,但目前一个突出问题是 NLRP3 炎性小体激活过程中增加的细胞内  $\text{Ca}^{2+}$  来源和机制。研究表明,在 ATP/尼日利亚菌素刺激下,从细

胞外进入和细胞内存储池中释放的  $\text{Ca}^{2+}$  均有助于 NLRP3 炎性小体的活化<sup>[2]</sup>。

2.3.1 胞浆膜钙离子通道开放 在 NLRP3 炎性小体激动剂刺激下,胞浆膜上的钙离子通道发生变化,影响胞浆内钙离子浓度。钙内流是 NLRP3 炎性小体激活过程中的近端步骤,而 NLRP3 炎性小体的不同激活剂可能使用不同的质膜离子通道介导钙内流:(1)激活电压门控  $\text{Ca}^{2+}$  通道(VOCs):质膜极化可调节  $\text{Ca}^{2+}$  信号,在 NLRP3 激动剂诱导的细胞外  $\text{Ca}^{2+}$  进入过程中,  $\text{K}^+$  外流抵消了膜去极化作用,从而促进  $\text{Ca}^{2+}$  进一步内流<sup>[13]</sup>;(2)激活受体门控通道(ROCs):细胞外 ATP 与嘌呤能受体 P2X 结合后,导致质膜中的阳离子渗透通道开放,诱导胞质钙增加<sup>[30]</sup>;细胞外 ADP 通过 P2Y1 受体介导钙信号,增加  $\text{Ca}^{2+}$  流动,并以细胞外信号调节激酶 5 (extracellular signal-regulated kinase 5, ERK5) 依赖性方式激活 NLRP3 炎性小体<sup>[31]</sup>;增加的  $[\text{Ca}^{2+}]_{\text{es}}$  通过 G 蛋白介导的 CASR 信号通路触发单核细胞和巨噬细胞大胞饮<sup>[32]</sup>;(3)激活配体门控的瞬时受体电位通道(TRP):在 LPS 启动 NLRP3 过程伴随 TRP 通道依赖性  $\text{Ca}^{2+}$  信号转导, LPS 诱导细胞产生第二信使甘油二酯(diacylglycerol, DAG), DAG 以 Toll

样受体 4 (Toll-like receptor 4, TLR4) 依赖的方式直接激活 TRPC6, TRPC6 介导的  $\text{Ca}^{2+}$  流入反过来激活肌球蛋白轻链激酶 (myosin light chain kinase, MYLK), 导致 LPS/TLR4 介导的 NF- $\kappa$ B 激活<sup>[33]</sup>。而在 NLRP3 激活过程中, 晶体或脂质体刺激诱导 ROS 爆发, 继而产生代谢物 ADP-核糖, 通过 TRPM2 通道诱导 ROS 依赖的钙内流和 IL-1 $\beta$  释放<sup>[34]</sup>; 并且 TRPM2 同一家族的其他成员 (TRPM7、TRPV2、TRPA1 和 TRPV1) 也与炎性小体激活有关<sup>[35-36]</sup>。(4) 激活存储操控通道 (SOCs): 当内质网  $\text{Ca}^{2+}$  储存耗尽时, 激活 SOCE, 引起细胞外  $\text{Ca}^{2+}$  进入, 而抑制 SOCE 的主要组分 STIM1、SERCA2 均显著阻碍了 NLRP3 炎性小体的组装<sup>[37]</sup>。

**2.3.2 细胞存储的钙离子释放** 细胞存储的钙离子也会释放到胞浆中。内质网作为细胞内钙离子的主要存储库, 其钙释放对维持钙稳态是极其重要的, 并且阻断内质网上钙释放通道影响 NLRP3 炎性小体激活。使用药理方法抑制内质网主要的钙离子释放通道 IP3R 可阻断多种激活剂诱导的 NLRP3 炎性小体激活。通过阻断其上游的 PLC 产生 IP3 同样能抑制 NLRP3 炎性小体激活。此外, 其他内质网钙离子释放通道, 如兰尼碱受体 (ryanodine receptor, RyR) 通道开放也能从内质网腔释放钙离子<sup>[38]</sup>。溶酶体作为酸性  $\text{Ca}^{2+}$  存储体, 具有一系列  $\text{Ca}^{2+}$  可渗透通道, 以允许  $\text{Ca}^{2+}$  释放<sup>[39]</sup>, 在 MSU 诱导的 NLRP3 炎性小体激活模型中, 往往伴随着溶酶体膜破坏, 溶酶体内  $\text{Ca}^{2+}$  流出<sup>[40]</sup>。

## 2.4 $\text{Ca}^{2+}$ 信号促进 NLRP3 炎性小体激活的机制

**2.4.1  $\text{Ca}^{2+}$  与 cAMP 平衡** 尽管关于  $\text{Ca}^{2+}$  的流动与 NLRP3 炎性小体激活的关系已有大量研究, 但  $\text{Ca}^{2+}$  流动导致 NLRP3 炎性小体激活的分子机制仍存在许多空白。研究发现  $\text{Ca}^{2+}$  可促进 LPS 刺激的巨噬细胞游离裂解液中自发的 NLRP3-ASC 结合, 提示  $\text{Ca}^{2+}$  可直接调节 NLRP3 炎性小体的激活。但是研究并没有阐述  $\text{Ca}^{2+}$  如何促进复合物形成, 以及  $\text{Ca}^{2+}$  的直接靶点究竟是什么。另外, 研究还揭示了环磷酸腺苷 (cyclic adenosine monophosphate, cAMP) 生成与 NLRP3 激活的关系, cAMP 与 NLRP3 直接结合抑制炎性小体组装, 而 CASR 激活导致 cAMP 下调, 释放被抑制的 NLRP3。在 CAPS 患者体内, 由于存在 NLRP3 功能获得性突变, cAMP 与 NLRP3 的亲合力明显低于正常, 并且通过增加

cAMP 能降低 CAPS 患者外周血单核细胞中的 IL-1 $\beta$ 。该研究有力地表明细胞内 NLRP3 炎性小体的状态取决于  $\text{Ca}^{2+}$  与 cAMP 的平衡<sup>[22]</sup>。

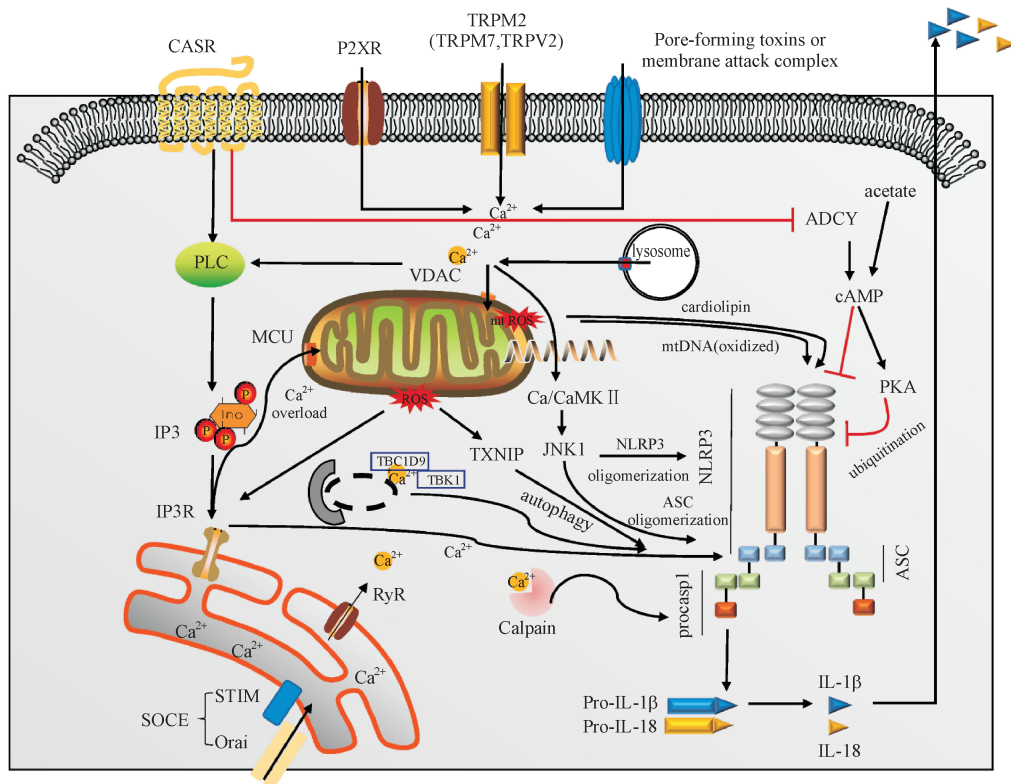
之后的研究证实并对此发现进行了补充。一些代谢物, 如醋酸盐可通过 PLC-IP3 途径减少  $\text{Ca}^{2+}$  流动, 并伴随着 cAMP 增加, 之后活化 PKA, 通过自噬或蛋白酶体途径泛素化降解 NLRP3, 从而抑制炎性小体激活<sup>[41]</sup>。 $\text{Ca}^{2+}$  浓度的升高也会激活下游 JNK 信号通路以及诱导后续的 ASC 接头蛋白低聚。在乙醇诱导的神经元细胞中, 乙醇通过 N-甲基-D-天冬氨酸受体 (NMDA receptor, NMDAR) 诱导细胞内  $\text{Ca}^{2+}$  增加, 激活钙调蛋白依赖的蛋白激酶 II (calmodulin dependent kinase II, CAMK II), 之后通过激活 JNK1 促进 NLRP3 炎性小体组装和活化<sup>[42]</sup>。Chen 等<sup>[43]</sup> 首次发现细胞六型分泌系统效应蛋白 EvpP 能通过抑制  $\text{Ca}^{2+}$  依赖性 MAPK-JNK 通路, 影响 ASC 低聚, 阻断 NLRP3 炎性小体激活。最新研究表明, 细菌感染通过  $\text{Ca}^{2+}$  结合蛋白 TBC1 结构域家族成员 9 ( $\text{Ca}^{2+}$ -binding protein TBC1 domain family member 9, TBC1D9) 增加  $\text{Ca}^{2+}$  水平, 激活 TBK1, 从而促进自噬<sup>[44]</sup>, 而自噬与 NLRP3 炎性小体的激活密切相关<sup>[45]</sup>。

**2.4.2 线粒体损伤**  $\text{Ca}^{2+}$  流动激活 NLRP3 炎性小体的另一重要机制是通过诱导线粒体损伤。 $\text{Ca}^{2+}$  通过线粒体内膜中的线粒体钙单向转运体 (mitochondrial calcium uniporter, MCU) 和线粒体外膜中的电压依赖性阴离子选择通道 (voltage dependent anion selective channel, VDAC) 流入线粒体, 导致线粒体钙超载, 线粒体活性氧 (mitochondrial reactive oxygen species, mROS) 增加, 线粒体膜电位下降, 通透性转换孔开放, 以及释放线粒体 DNA (mitochondrial DNA, mtDNA) 和心磷脂。研究人员证实, 在 ATP 刺激过程中,  $\text{Ca}^{2+}$  流动的关键作用就是诱导线粒体损伤, 接着产生的 mtDNA 和心磷脂, 经氧化直接结合 NLRP3<sup>[12]</sup>。其中细胞质 mtDNA 与 NLRP3 共定位并增强 IL-1 $\beta$  的分泌, 而氧化的 mtDNA 进一步诱导 IL-1 $\beta$  产生<sup>[46]</sup>。而线粒体膜电位下降和通透性转换孔开放, 释放细胞色素 c, 细胞色素 c 通过抑制呼吸链复合物 III 来促进 ROS 产生, ROS 一方面进一步激活 IP3R, 另一方面通过与硫氧还原蛋白 (thioredoxin-interacting protein, TXNIP) 结合激活 NLRP3<sup>[47]</sup>。

Ca<sup>2+</sup>流动通过影响线粒体影响NLRP3炎性小体激活的机制得到了广泛认可。首先,从结构上来说,内质网和线粒体的空间排列促进了内质网和线粒体之间的联系,这对于Ca<sup>2+</sup>从内质网转移到线粒体和NLRP3炎性小体激活都是至关重要的<sup>[48]</sup>。其次,研究证实,多种NLRP3炎性小体激动剂都能使线粒体钙离子超载,而减少线粒体钙离子能降低mROS水平,减少mtDNA产生,降低炎性水平<sup>[2]</sup>。Li等<sup>[49]</sup>使用高浓度葡萄糖诱导血管平滑肌细胞(VSMCs)糖尿病模型,发现该造模过程激活Ca<sup>2+</sup>信号通路,导致线粒体损伤,释放mtDNA至胞浆,影响糖尿病小鼠NLRP3炎性小体激活和VSMCs重塑。并且,影响线粒体钙离子进入通道影响炎症反应已得到实验支持。在铜绿假单胞菌感染的原代人气道上皮细胞模型中,由于线粒体Ca<sup>2+</sup>超载导致的线粒体失调促进NLRP3炎性小体激活<sup>[50]</sup>;药理学抑制MCU显著改善体内外炎症反应<sup>[51]</sup>。最后,Ca<sup>2+</sup>本身就控制着线粒体动力学的许

多方面。例如,Ca<sup>2+</sup>影响线粒体的能动性,而微管驱动的线粒体与内质网的结合是NLRP3炎性小体复合物组装的必要条件<sup>[48]</sup>;Ca<sup>2+</sup>调控线粒体融合和分裂的相关过程,而线粒体融合的关键调控因子Mitofusin 2已被证明在RNA病毒感染模型中影响NLRP3炎性小体活化水平<sup>[52]</sup>;在少突胶质细胞和阿尔茨海默病转基因小鼠中,下调线粒体分裂蛋白Drp1表达极大程度上降低了NLRP3炎性小体激活和炎症反应<sup>[53]</sup>。

2.4.3 干扰Ca<sup>2+</sup>敏感的酶 除此之外,激活或失活Ca<sup>2+</sup>敏感的酶,也能影响NLRP3炎性小体的激活。经典的NLRP3炎性小体激活剂刺激导致Ca<sup>2+</sup>流动,增加钙蛋白酶活力,活化的钙蛋白酶释放被细胞骨架隔离的caspase-1,以调节NLRP3炎性小体活化,而使用不同机制的钙蛋白酶抑制剂均能降低IL-1 $\beta$ 水平,反之,敲除内源性的抑制剂钙蛋白酶抑制蛋白(CAST)增强IL-1 $\beta$ 水平<sup>[13]</sup>。Ca<sup>2+</sup>信号调节NLRP3炎性小体激活的机制如图2所示。



**Figure 2** Regulation of NLRP3 inflammasome activation by Ca<sup>2+</sup> signaling

CASR: Calcium-sensing receptor; P2XR: P2X receptor; VDAC: Voltage dependent anion selective channel; TXNIP: Thioredoxin-interacting protein; ADCY: Adenylate cyclase; PKA: Protein kinase A; MCU: Mitochondrial Ca<sup>2+</sup> uniporter; DAG: Diacylglycerol; PLC: Phospholipase C; RyR: Ryanodine receptor; SOCE: Store-operated Ca<sup>2+</sup> entry; CAMKII: Calmodulin dependent kinase II; TBK1: TANK-binding kinase 1; TBC1D9: Ca<sup>2+</sup>-binding protein TBC1 domain family member 9; ASC: Apoptosis-associated speck-like protein containing a caspase recruitment domain



### 3 调控 Ca<sup>2+</sup>的相关药物及靶点研究现状

#### 3.1 镇痛

在 LPS 诱导的炎性疼痛小鼠模型中, Yin 等<sup>[54]</sup>发现芍药苷可通过抑制 TRPV1 激活,降低细胞内 Ca<sup>2+</sup>浓度,抑制 PKC 活性,最终导致减少 NLRP3 炎性小体激活及 caspase-11 介导的非经典细胞焦亡,起到镇痛作用。

#### 3.2 心力衰竭

最近,新型口服降糖药物钠/葡萄糖共转运体 2(SGLT2)抑制剂恩格列净和卡格列净,已被证实与 2 型糖尿病患者心血管死亡和心力衰竭住院率降低相关<sup>[55-56]</sup>。恩格列净可减轻 2 个无高血糖和糖尿病的心衰模型(射血分数保持的心力衰竭 HF-pEF 和射血分数降低的心力衰竭 HF-rEF)的心功能障碍。这些有益的心脏效应与心肌 NLRP3 炎性小体通路和下游细胞因子信号通路的激活减少有关。此外,研究发现恩格列净以 Ca<sup>2+</sup>依赖的方式减弱心肌细胞 NLRP3 炎性小体启动,这表明钙离子稳态在恩格列净抗心衰过程中发挥重要作用<sup>[57]</sup>。

#### 3.3 其他

激活配体门控的瞬时受体电位通道是药物研发的重要靶点,其中 TRPV4 是一种广泛表达的 Ca<sup>2+</sup>通道<sup>[58]</sup>。TRPV4 通过调节 Ca<sup>2+</sup>进入调节各种生理过程相关的细胞信号传导,是治疗人类疾病的一个重要靶点。TRPV4 通过增加脑出血后的胞浆内 Ca<sup>2+</sup>触发的炎症反应导致了小鼠神经元死亡<sup>[59]</sup>;孟鲁司特通过调节 TRPV4 通道抑制出血性膀胱炎大鼠模型损伤<sup>[60]</sup>。事实上,针对 TRPV4 拮抗剂的研究在过去的十年中蓬勃发展。据报道,超过 10 种独特的化学类型可抑制该离子通道<sup>[61]</sup>,第 1 个 TRPV4 拮抗剂 GSK2798745 已经进入临床试验阶段<sup>[62-63]</sup>。

### 4 结语和展望

在过去的十年中,已经证实了 Ca<sup>2+</sup>在 NLRP3 炎性小体激活中的关键作用,但关于 Ca<sup>2+</sup>与 NLRP3 炎性小体激活的关系仍存在许多问题有待阐明。本文综述了 Ca<sup>2+</sup>与 NLRP3 炎性小体激活的关系,重点梳理了已有的关于 Ca<sup>2+</sup>流动激活 NLRP3 炎性小体的机制,包括直接结合 NLRP3、通过 CAMKII-JNK 影响 ASC 低聚、造成线粒体钙超载引发线粒体

失稳和影响 Ca<sup>2+</sup>敏感的酶。多种形式的细胞应激,包括质膜损伤、溶酶体损伤和离子失衡,都可能影响 Ca<sup>2+</sup>流动来激活 NLRP3 炎性小体。进一步研究钙离子并且了解 NLRP3 炎性小体激活和调控的详细机制将进一步促进对炎症的理解,并能为治疗 NLRP3 炎性小体驱动的炎症性疾病提供新思路。

### References

- [1] Trebak M, Kinet JP. Calcium signalling in T cells [J]. *Nat Rev Immunol*, 2019, **19**(3): 154-169.
- [2] Murakami T, Ockinger J, Yu J, et al. Critical role for calcium mobilization in activation of the NLRP3 inflammasome [J]. *PNAS*, 2012, **109**(28): 11282-11287.
- [3] He Y, Zeng MY, Yang D, et al. NEK7 is an essential mediator of NLRP3 activation downstream of potassium efflux [J]. *Nature*, 2016, **530**(7590): 354-357.
- [4] Kuri P, Schieber NL, Thumberger T, et al. Dynamics of *in vivo* ASC speck formation [J]. *J Cell Biol*, 2017, **216**(9): 2891-2909.
- [5] Dick MS, Sborgi L, Rühl S, et al. ASC filament formation serves as a signal amplification mechanism for inflammasomes [J]. *Nat Commun*, 2016, **7**: 11929.
- [6] Hoss F, Rodriguez-Alcazar JF, Latz E. Assembly and regulation of ASC specks [J]. *Cell Mol Life Sci*, 2017, **74**(7): 1211-1229.
- [7] Broz P, Dixit VM. Inflammasomes: mechanism of assembly, regulation and signalling [J]. *Nat Rev Immunol*, 2016, **16**(7): 407-420.
- [8] Barnett KC, Ting JP. Mitochondrial GSDMD pores DAMPEN pyroptosis [J]. *Immunity*, 2020, **52**(3): 424-426.
- [9] Swanson KV, Deng M, Ting JP. The NLRP3 inflammasome: molecular activation and regulation to therapeutics [J]. *Nat Rev Immunol*, 2019, **19**(8): 477-489.
- [10] Wu JS, Sun JY, Meng XL. Pyroptosis by caspase-11 inflammasome-Gasdermin D pathway in autoimmune diseases [J]. *Pharmacol Res*, 2021, **165**: 105408.
- [11] Bauernfeind F, Bartok E, Rieger A, et al. Cutting edge: reactive oxygen species inhibitors block priming, but not activation, of the NLRP3 inflammasome [J]. *J Immunol*, 2011, **187**(2): 613-617.
- [12] Muñoz-Planillo R, Kuffa P, Martínez-Colón G, et al. K<sup>+</sup> efflux is the common trigger of NLRP3 inflammasome activation by bacterial toxins and particulate matter [J]. *Immunity*, 2013, **38**(6): 1142-1153.
- [13] Zhang YF, Rong H, Zhang FX, et al. A membrane potential- and calpain-dependent reversal of caspase-1 inhibition regulates canonical NLRP3 inflammasome [J]. *Cell Rep*, 2018, **24**(9): 2356-2369.
- [14] Groß CJ, Mishra R, Schneider KS, et al. K<sup>+</sup> efflux-independent

- NLRP3 inflammasome activation by small molecules targeting mitochondria[J]. *Immunity*, 2016, **45**(4): 761-773.
- [15] Orłowski GM, Sharma S, Colbert JD, *et al.* Frontline Science: multiple cathepsins promote inflammasome-independent, particle-induced cell death during NLRP3-dependent IL-1 $\beta$  activation[J]. *J Leukoc Biol*, 2017, **102**(1): 7-17.
- [16] Chen JQ, Chen ZJ. PtdIns4P on dispersed trans-Golgi network mediates NLRP3 inflammasome activation [J]. *Nature*, 2018, **564**(7734): 71-76.
- [17] Calvo-Rodríguez M, Kharitonova EK, Bacskai BJ. Therapeutic strategies to target calcium dysregulation in Alzheimer's disease [J]. *Cells*, 2020, **9**(11): E2513.
- [18] Park YJ, Yoo SA, Kim M, *et al.* The role of calcium-calcineurin-NFAT signaling pathway in health and autoimmune diseases [J]. *Front Immunol*, 2020, **11**: 195.
- [19] Michelucci A, García-Castañeda M, Boncompagni S, *et al.* Role of STIM1/ORAI1-mediated store-operated Ca<sup>2+</sup> entry in skeletal muscle physiology and disease [J]. *Cell Calcium*, 2018, **76**: 101-115.
- [20] Chu J, Thomas LM, Watkins SC, *et al.* Cholesterol-dependent cytolysins induce rapid release of mature IL-1 $\beta$  from murine macrophages in a NLRP3 inflammasome and cathepsin B-dependent manner [J]. *J Leukoc Biol*, 2009, **86**(5): 1227-1238.
- [21] Xi YH, Li HZ, Zhang WH, *et al.* The functional expression of calcium-sensing receptor in the differentiated THP-1 cells [J]. *Mol Cell Biochem*, 2010, **342**(1/2): 233-240.
- [22] Lee GS, Subramanian N, Kim AI, *et al.* The calcium-sensing receptor regulates the NLRP3 inflammasome through Ca<sup>2+</sup> and cAMP [J]. *Nature*, 2012, **492**(7427): 123-127.
- [23] Ito M, Yanagi Y, Ichinohe T. Encephalomyocarditis virus viroporin 2B activates NLRP3 inflammasome [J]. *PLoS Pathog*, 2012, **8**(8): e1002857.
- [24] Shrivastava G, Visoso-Carvajal G, Garcia-Cordero J, *et al.* Dengue virus serotype 2 and its non-structural proteins 2A and 2B activate NLRP3 inflammasome [J]. *Front Immunol*, 2020, **11**: 352.
- [25] Karmakar M, Katsnelson MA, Dubyak GR, *et al.* Neutrophil P2X7 receptors mediate NLRP3 inflammasome-dependent IL-1 $\beta$  secretion in response to ATP [J]. *Nat Commun*, 2016, **7**: 10555.
- [26] Ahmad I, Muneer KM, Chang ME, *et al.* Ultraviolet radiation-induced downregulation of SERCA2 mediates activation of NLRP3 inflammasome in basal cell carcinoma [J]. *Photochem Photobiol*, 2017, **93**(4): 1025-1033.
- [27] Gong T, Wang XQ, Yang YQ, *et al.* Plant lectins activate the NLRP3 inflammasome to promote inflammatory disorders [J]. *J Immunol*, 2017, **198**(5): 2082-2092.
- [28] Katsnelson MA, Rucker LG, Russo HM, *et al.* K<sup>+</sup> efflux agonists induce NLRP3 inflammasome activation independently of Ca<sup>2+</sup> signaling [J]. *J Immunol*, 2015, **194**(8): 3937-3952.
- [29] Katsnelson MA, Lozada-Soto KM, Russo HM, *et al.* NLRP3 inflammasome signaling is activated by low-level lysosome disruption but inhibited by extensive lysosome disruption: roles for K<sup>+</sup> efflux and Ca<sup>2+</sup> influx [J]. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2016, **311**(1): C83-C100.
- [30] Zumerle S, Cañ B, Munari F, *et al.* Intercellular calcium signaling induced by ATP potentiates macrophage phagocytosis [J]. *Cell Rep*, 2019, **27**(1): 1-10.
- [31] Zhang CF, Qin JL, Zhang S, *et al.* ADP/P2Y<sub>1</sub> aggravates inflammatory bowel disease through ERK5-mediated NLRP3 inflammasome activation [J]. *Mucosal Immunol*, 2020, **13**(6): 931-945.
- [32] Jäger E, Murthy S, Schmidt C, *et al.* Calcium-sensing receptor-mediated NLRP3 inflammasome response to calciprotein particles drives inflammation in rheumatoid arthritis [J]. *Nat Commun*, 2020, **11**(1): 4243.
- [33] Tauseef M, Knezevic N, Chava KR, *et al.* TLR4 activation of TRPC<sub>6</sub>-dependent calcium signaling mediates endotoxin-induced lung vascular permeability and inflammation [J]. *J Exp Med*, 2012, **209**(11): 1953-1968.
- [34] Zhong ZY, Zhai YG, Liang S, *et al.* TR/MIN2 links oxidative stress to NLRP3 inflammasome activation [J]. *Nat Commun*, 2013, **4**(1): 1-11.
- [35] Wang MY, Zhang YB, Xu MM, *et al.* Roles of TRPA1 and TRPV<sub>1</sub> in cigarette smoke -induced airway epithelial cell injury model [J]. *Free Radic Biol Med*, 2019, **134**: 229-238.
- [36] Compan V, Baroja-Mazo A, López-Castejón G, *et al.* Cell volume regulation modulates NLRP3 inflammasome activation [J]. *Immunity*, 2012, **37**(3): 487-500.
- [37] Liu CC, Miao Y, Chen RL, *et al.* STIM1 mediates IAV-induced inflammation of lung epithelial cells by regulating NLRP3 and inflammasome activation via targeting miR-223 [J]. *Life Sci*, 2021, **266**: 118845.
- [38] Murayama T, Kurebayashi N. Assays for modulators of ryanodine receptor (RyR)/Ca<sup>2+</sup> release channel activity for drug discovery for skeletal muscle and heart diseases [J]. *Curr Protoc Pharmacol*, 2019, **87**(1): e71.
- [39] Morgan AJ, Yuan Y, Patel S, *et al.* Does lysosomal rupture evoke Ca<sup>2+</sup> release? A question of pores and stores [J]. *Cell Calcium*, 2020, **86**: 102139.
- [40] Okada M, Matsuzawa A, Yoshimura A, *et al.* The lysosome rupture-activated TAK1-JNK pathway regulates NLRP3 inflammasome activation [J]. *J Biol Chem*, 2014, **289**(47): 32926-32936.
- [41] Xu MD, Jiang ZY, Wang CL, *et al.* Publisher correction: acetate attenuates inflammasome activation through GPR43-mediated Ca<sup>2+</sup>-dependent NLRP3 ubiquitination [J]. *Exp Mol Med*, 2019, **51**(8): 1.
- [42] Lim JR, Lee HJ, Jung YH, *et al.* Ethanol-activated CaMKII signaling induces neuronal apoptosis through Drp1-mediated



- excessive mitochondrial fission and JNK<sub>1</sub>-dependent NLRP3 inflammasome activation [J]. *Cell Commun Signal*, 2020, **18** (1): 123.
- [43] Chen H, Yang DH, Han FJ, *et al.* The bacterial T6SS effector EvpP prevents NLRP3 inflammasome activation by inhibiting the Ca<sup>2+</sup>-dependent MAPK-JNK pathway [J]. *Cell Host Microbe*, 2017, **21**(1): 47-58.
- [44] Nozawa T, Sano S, Minowa-Nozawa A, *et al.* TBC1D9 regulates TBK<sub>1</sub> activation through Ca<sup>2+</sup> signaling in selective autophagy [J]. *Nat Commun*, 2020, **11**(1): 770.
- [45] Han XJ, Sun SF, Sun YM, *et al.* Small molecule-driven NLRP3 inflammation inhibition via interplay between ubiquitination and autophagy: implications for Parkinson disease [J]. *Autophagy*, 2019, **15**(11): 1860-1881.
- [46] Zhong ZY, Liang S, Sanchez-Lopez E, *et al.* New mitochondrial DNA synthesis enables NLRP3 inflammasome activation [J]. *Nature*, 2018, **560**(7717): 198-203.
- [47] Li W, Cao T, Luo CY, *et al.* Crosstalk between ER stress, NLRP3 inflammasome, and inflammation [J]. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2020, **104**(14): 6129-6140.
- [48] Misawa T, Takahama M, Kozaki T, *et al.* Microtubule-driven spatial arrangement of mitochondria promotes activation of the NLRP3 inflammasome [J]. *Nat Immunol*, 2013, **14** (5) : 454-460.
- [49] Li JP, Wei W, Li XX, *et al.* Regulation of NLRP3 inflammasome by CD38 through cADPR-mediated Ca<sup>2+</sup> release in vascular smooth muscle cells in diabetic mice [J]. *Life Sci*, 2020, **255**: 117758.
- [50] Rimessi A, Bezzerri V, Patergnani S, *et al.* Mitochondrial Ca<sup>2+</sup>-dependent NLRP3 activation exacerbates the *Pseudomonas aeruginosa*-driven inflammatory response in cystic fibrosis [J]. *Nat Commun*, 2015, **6**: 6201.
- [51] Rimessi A, Pozzato C, Carparelli L, *et al.* Pharmacological modulation of mitochondrial calcium uniporter controls lung inflammation in cystic fibrosis [J]. *Sci Adv*, 2020, **6**(19): eaax9093.
- [52] Ichinohe T, Yamazaki T, Koshiba T, *et al.* Mitochondrial protein mitofusin 2 is required for NLRP3 inflammasome activation after RNA virus infection [J]. *PNAS*, 2013, **110** (44) : 17963-17968.
- [53] Zhang XW, Wang RH, Hu D, *et al.* Oligodendroglial glycolytic stress triggers inflammasome activation and neuropathology in Alzheimer's disease [J]. *Sci Adv*, 2020, **6**(49): eabb8680.
- [54] Yin NN, Gao QH, Tao WT, *et al.* Paconiflorin relieves LPS-induced inflammatory pain in mice by inhibiting NLRP3 inflammasome activation via transient receptor potential vanilloid 1 [J]. *J Leukoc Biol*, 2020, **108**(1): 229-241.
- [55] Inzucchi SE, Fitchett D, Jurišić-Eržen D, *et al.* Are the cardiovascular and kidney benefits of empagliflozin influenced by baseline glucose-lowering therapy [J]? *Diabetes Obes Metab*, 2020, **22**(4): 631-639.
- [56] Zhou ZE, Jardine MJ, Li Q, *et al.* Effect of SGLT2 inhibitors on stroke and atrial fibrillation in diabetic kidney disease: results from the CREDENCE trial and meta-analysis [J]. *Stroke*, 2021, **52**(5): 1545-1556.
- [57] Byrne NJ, Matsumura N, Maayah ZH, *et al.* Empagliflozin blunts worsening cardiac dysfunction associated with reduced NLRP3 (nucleotide-binding domain-like receptor protein 3) inflammasome activation in heart failure [J]. *Circ Heart Fail*, 2020, **13**(1): e006277.
- [58] White JP, Cibelli M, Urban L, *et al.* TRPV4: molecular conductor of a diverse orchestra [J]. *Physiol Rev*, 2016, **96** (3) : 911-973.
- [59] Wang Z, Zhou L, An D, *et al.* TRPV<sub>4</sub>-induced inflammatory response is involved in neuronal death in pilocarpine model of temporal lobe epilepsy in mice [J]. *Cell Death Dis*, 2019, **10** (6): 386.
- [60] Elrashidy RA, Hasan RA. Modulation of autophagy and transient receptor potential vanilloid 4 channels by montelukast in a rat model of hemorrhagic cystitis [J]. *Life Sci*, 2021, **278**: 119507.
- [61] Vincent F, Duncton MA. TRPV<sub>4</sub> agonists and antagonists [J]. *Curr Top Med Chem*, 2011, **11**(17): 2216-2226.
- [62] Lawhorn BG, Brnardic EJ, Behm DJ. TRPV<sub>4</sub> antagonists: a patent review (2015-2020) [J]. *Expert Opin Ther Pat*, 2021, **31** (9) : 773-784.
- [63] Goyal N, Skrdla P, Schroyer R, *et al.* Clinical pharmacokinetics, safety, and tolerability of a novel, first-in-class TRPV<sub>4</sub> ion channel inhibitor, GSK2798745, in healthy and heart failure subjects [J]. *Am J Cardiovasc Drugs*, 2019, **19**(3): 335-342.