

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2019.05.045

靶向 TRPA1 通道的药物开发研究进展*

梁珂维 王康 蔡芬 梅凯迪 王媛媛 姚镜[△]

(武汉大学生命科学学院 湖北 武汉 430072)

摘要:瞬时受体势(Transient Receptor Potential, TRP)通道是一种非选择性阳离子通道,广泛分布于神经和非神经细胞中。TRPA1 作为 TRP 通道的一个亚型,是一种温度敏感型的 TRP 通道,其温度激活阈值与物种有关。在小鼠体内,TRPA1 可以被低温(<17℃)激活,然而在绿安乐蜥体内 TRPA1 的温度激活阈值却达到了 35.8℃。TRPA1 除了可以响应温度刺激之外,还可以被化学刺激、机械刺激等多种理化方式激活。TRPA1 基因的功能获得性突变会导致家族性发作性疼痛综合征。由于 TRPA1 在温度感知、痛觉产生、哮喘、瘙痒等众多生理与病理过程中发挥着重要作用,因而 TRPA1 受到了广泛关注。文章总结 TRPA1 通道的生理特性,并对其参与的机体生理调节及靶向 TRPA1 通道的药物开发现状和前景进行综述,以期临床治疗相关疾病提供理论基础。

关键词:TRPA1 通道;生理调节;药物开发

中图分类号:R-33;Q26;Q593;R91 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2019)05-996-05

Development and Research Progress of Drug Targeting TRPA1 Channel*

LIANG Ke-wei, WANG Kang, CAI Fen, MEI Kai-di, WANG Yuan-yuan, YAO Jing[△]

(College of Life Sciences at Wuhan University, Wuhan, Hubei, 430072, China)

ABSTRACT: The Transient receptor potential (TRP) channel is a non selective cation channel, and is widely distributed in neuronal and non neuronal cells. As a subtype of TRP channel, TRPA1 is a temperature sensitive TRP channel which temperature activation threshold is related to species. TRPA1 in mouse is activated by cold temperature (<17℃), however TRPA1 in the green lizard is sensitive to warm temperature (35.8℃). In addition to the response to the temperature, TRPA1 can also be activated by chemical stimuli, mechanical stimulation and other physical and chemical means. A recent study shows that a gain-of-function mutation in TRPA1 can lead to familial paroxysmal pain syndrome. Due to TRPA1 has been proposed to function in many physiological and pathological processes such as temperature perception, pain producing, asthma and itching, TRPA1 has become one of the most intensively studied ion channels and attracted wide attention. In this review, we summarize the biophysical characteristics of TRPA1 channels, and discuss recent advances in our understanding of TRPA1 physiology, pharmacology, and molecular function in order to provide theoretical basis for clinical treatment of related diseases.

Key words: TRPA1 Channel; Physiological regulation; Drug development

Chinese Library Classification(CLC): R-33; Q26; Q593; R91 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2019)05-996-05

前言

瞬时受体势通道(Transient Receptor Potential Channel, TRP Channel)是一类在机体中广泛分布的非选择性阳离子通道,不仅在视觉、温度感知、嗅觉、听觉及机械感受等多种生理过程方面发挥着重要的作用,同时还参与调控细胞的增殖分化以及细胞免疫反应。此外,TRP 通道还参与调节呼吸道疾病、膀胱疾病、肠胃疾病、心血管疾病、皮肤疾病等多种病理过程。

TRP 通道超家族中有一类与温度感知相关的通道,称为温度敏感型 TRP 通道,包括热激活的 TRPV1, TRPV2, TRPV3, TRPV4, TRPM4 和 TRPM5,以及冷激活的 TRPM8 和 TRPA1。这些温度敏感型 TRP 通道分别对应于不同的温度激活阈值,使得我们机体能够感知从冷到热一系列的温度变化。TRPA1

和其他 TRP 通道一样,都镶嵌在细胞膜上,有六次跨膜结构,在 S5 和 S6 之间有一个供离子进出细胞膜的孔区,通道蛋白的 N 端和 C 端均位于胞内,通常以四聚体的形式发挥功能。与 TRP 家族的其他成员相比,TRPA1 在蛋白的 N 端有更多的锚蛋白重复序列。完整的锚蛋白重复序列对 TRPA1 感知机械刺激,控制 TRPA1 通道的门控以及帮助 TRPA1 定位于细胞膜上发挥着重要的作用^[1]。2015 年,Paulsen 等^[2]使用单颗粒冷冻电子显微镜技术解析出人源 TRPA1 的结构(分辨率约为 4 Å)。

TRPA1 的功能异常与人类疾病密切相关。研究发现 TRPA1 第 855 位氨基酸残基由天冬酰胺残基突变为丝氨酸残基后将导致人类常染色体显性家族性发作的疼痛综合征(Familial Episodic Pain Syndrome, FEPS)^[3]。此外,TRPA1 功能上调还会诱导产生过敏性皮炎引起的慢性瘙痒症^[4],维持甚至加重炎症

* 基金项目:湖北省自然科学基金项目(2015CFA095, 2017CFA063)

作者简介:梁珂维(1992-),硕士研究生,主要研究方向:细胞膜离子通道的结构和功能,E-mail: liangwei-921023@163.com

△ 通讯作者:姚镜(1977-),博士生导师,主要研究方向:细胞膜离子通道的结构和功能,E-mail: mirroryao@hotmail.com

(收稿日期:2018-05-23 接受日期:2018-06-18)

反应^[5],产生机械痛超敏症状从而加重外周神经病变等^[6],那么靶向 TRPA1 通道进行相关拮抗剂的研发可以为缓解或治疗以上病症提供帮助。目前 TRPA1 拮抗剂的研发已经取得了一定的进展,本文将对现阶段靶向 TRPA1 的药物研发现状做一个综述,以期对相关药物的研发提供理论基础。

1 TRPA1 的结构

2003 年,Story 等^[43]在小鼠背根神经节中发现一种能被冷激活的通道,并命名为 ANKTM1,亦即我们现在所熟知的 TRPA1。人源的 TRPA1 蛋白由 1119 个氨基酸组成,相对分子质量约为 127 KDa, trpa1 在人的染色体上定位于 8q13, 包含 27

个外显子^[7]。人源 TRPA1 由同源四聚体构成,每个单体具有六次跨膜蛋白结构,其 N 末端和 C 末端均在胞内,S5-S6 跨膜结构域亲水区形成孔道,N 末端的 16 个锚蛋白重复序列(Ankyrin Repeat Domain, ARD)在蛋白与蛋白的相互作用以及 TRPA1 的膜转运过程中具有重要的作用。TRPA1 通道的 N 末端存在着大量的半胱氨酸残基,在单亚基内或亚基间形成二硫桥。第 11 与 12 锚蛋白重复序列之间的 EF 手性(EF Hand)区域的缺失影响截短 TRPA1 向质膜的转运。位于锚蛋白重复序列与 S1 之间的 Pre-S1 区域与亲电性激动剂激活 TRPA1 有关^[8]。TRPA1 通道的单亚基拓扑结构图如图 1 所示。

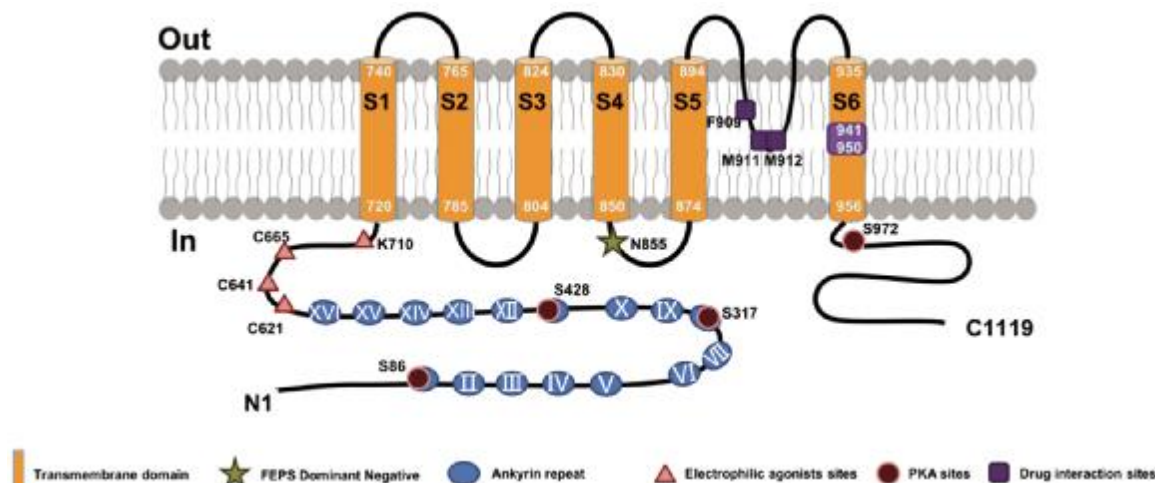


图 1 TRPA1 通道拓扑结构及对其功能调节中有重要作用的部分位点分布示意图

Fig.1 Topology of TRPA1 channel and partial functionally important residue positions

2 TRPA1 的分布

TRPA1 广泛分布于神经系统和非神经系统。在神经系统中,TRPA1 主要分布在初级感觉神经元中,如背根神经节(Dorsal Root Ganglia, DRG),三叉神经(Trigeminal Ganglia, TG)和迷走神经(Vestibular Ganglion, VG)。非神经系统中,在心脏肌细胞、胃肠黏膜、肾上皮细胞、肝细胞、胰腺细胞、前列腺上皮细胞、T 淋巴细胞、B 淋巴细胞、人类乳腺细胞、肺成纤维细胞、内耳毛细胞、黑色素细胞、肥大细胞、肠嗜铬细胞、血管内皮细胞、牙髓成纤维细胞、角质细胞等中均有 TRPA1 的大量表达^[9-11]。

3 TRPA1 的生物物理学特性

TRPA1 对 Ca^{2+} 具有较高的通透性,持续开放时 $\text{PCa}^{2+}/\text{PNa}^{+}$ 值约为 7.9^[12]。在生理溶液条件下,持续开放的 TRPA1 的正负向单通道电导分别为 110 pS 和 70 pS。静息状态下,TRPA1 的孔区直径大小为 11 Å;当有激动剂(芥末油)存在时,孔区直径可由 11 Å 增大至 13.8 Å 左右,扩大后的孔区可以进一步增大对 Ca^{2+} 的通透性甚至允许一些较大的荧光染料分子通过。位于 TRPA1 孔区内带负电荷的 D918 残基在 TRPA1 对 Ca^{2+} 和 Zn^{2+} 的选择性通透中具有决定性作用,该位点的突变对 TRPA1 的单通道电导亦有影响^[13]。TRPA1 通道 C 末端的某些带正电荷的氨基酸残基对 TRPA1 的微弱电压敏感性起着重要作用^[14]。

研究发现 TRPA1 与 TRPV1 在背根神经节上具有共定位的特征^[15]。与 TRPV1 类似,TRPA1 通道可以被一些内源性化合物(如缓激肽,胆汁酸等)与 G 蛋白偶联受体结合后直接或间接激活,激活后的 TRPV1 以及 TRPA1 均可以使胞内 Ca^{2+} 浓度升高;不同的是,胞内增加的 Ca^{2+} 可以继续激活 Ca^{2+} 敏感的 TRPA1^[16],但不能激活 TRPV1;过高浓度的 Ca^{2+} 还可使 TRPA1 通道脱敏,降低 TRPA1 通道对激动剂的响应。此外,PI(4, 5)P₂ 可能对 TRPA1 通道起抑制作用,而磷酸激酶 PKA 则可以通过 hTRPA1 通道上的 S86, S317, S428, S972 等位点对 TRPA1 通道磷酸化修饰而敏化 TRPA1(如图 1),提高 TRPA1 通道对激动剂的敏感性^[17]。

TRPA1 可以被多种化学物质激活,根据激活机制的不同,这些激动剂主要可以分为两大类,即亲电性激动剂和非亲电性激动剂。亲电性激动剂主要是通过共价修饰 TRPA1 通道 N 末端的半胱氨酸(hTRPA1 中主要为 Cys621, Cys641, Cys665)和赖氨酸残基(Lys710)来实现激活作用的^[2]。这类激动剂种类繁多,如异硫氰酸酯,水杨酸甲酯,肉桂醛,丙烯醛,氧化应激产物(O_2 , H_2O_2 等),硝化应激产物(NO , H_2S 等), α/β 不饱和醛,前列腺素等。非亲电性激动剂包括 Δ^9 -四氢大麻酚,非甾体抗炎药(如氟灭酸,甲芬那酸,布洛芬等),二氢吡啶,多聚不饱和脂肪酸等。且大多数非亲电性激动剂对 TRPA1 具有双重调节作用(如 Menthol):即在低浓度条件下激活 TRPA1,而在高浓度条

件下抑制 TRPA1^[18]。

4 TRPA1 的生理功能及与疾病的关系

TRPA1 通道对维持机体的正常生理功能具有重要的意义,目前已发现其参与了温度、疼痛和瘙痒的感知。此外,TRPA1 通道在哮喘和膀胱炎等病理过程中也起到了重要的作用。TRPA1 通道功能的异常也会导致其他疾病的发生。

4.1 TRPA1 与温度感知

TRPA1 最初作为一种被冷激活($< 17^{\circ}\text{C}$)的离子通道所报道,其冷激活特性与物种有关^[2]。目前关于其冷敏感性仍有较大争议。有些 trpA1 基因敲除小鼠对冷刺激反应没有减弱;而有些 trpA1 基因敲除雌鼠冷敏感性降低,TRPA1 拮抗剂的使用可以减轻冷敏疼痛。此外有研究发现,表达在人工膜上的 TRPA1 具有冷敏感性^[20]。但有趣的是,绿安乐蜥中的 TRPA1 是热激活的,其温度激活阈值为 35.8°C ^[21];在蛇、蚊子、青蛙体内的 TRPA1 也是热敏感的^[22]。

4.2 TRPA1 与疼痛

越来越多的证据显示,TRPA1 在机体痛觉产生以及痛觉敏感性增强病理过程中起着重要作用。通过使用 TRPA1 特异性拮抗剂,可以明显减轻福尔马林所致的大鼠炎性疼痛反应。在弗氏完全佐剂诱导的大鼠佐剂性关节炎和角叉菜胶诱导的大鼠急性足肿胀模型中,TRPA1 拮抗剂可以显著性地降低其诱导的痛觉过敏和异常性疼痛反应^[23]。目前报道的常染色体显性家族性发作的疼痛综合征(FEPS)与 TRPA1 功能异常有关,而 TRPA1 功能的异常是由 TRPA1 点突变(S4 跨膜片段上的 N855S)引起。TRPA1 还参与机体多种不同类型的疼痛,如内脏疼痛,神经源性疼痛,偏头疼,牙痛等^[24,25]。

4.3 TRPA1 与瘙痒

根据致痒原的不同,瘙痒可分组氨依赖和非组氨依赖两大类。临床上组氨依赖的瘙痒可用抗组氨药物进行治疗,然而还有一部分瘙痒是非组氨依赖的。与 TRPV1 介导的组胺依赖性瘙痒不同,TRPA1 在非组胺依赖性瘙痒中起着重要作用。以氯喹为例,介导瘙痒的 TRPA1 或氯喹受体(Mas-related G-protein coupled receptor member A3, MrgprA3)神经元沉默小鼠中,由氯喹引起的强烈瘙痒减弱。目前确定由 BAM8-22,SLIGRL, IL-31 等瘙痒源引起的瘙痒是 TRPA1 介导的^[26,27]。

4.4 TRPA1 与哮喘

哮喘是一种慢性气道炎症引起的疾病,给患者带来了极大的痛苦。当呼吸道受到诸如醛类,氯气,香烟烟雾等外界刺激物刺激时,呼吸道初级感受神经元中的 TRPA1 会被激活,从而引起 Ca^{2+} 内流,胞内高浓度的 Ca^{2+} 会促使细胞释放 Substance P,降钙素基因相关肽和神经激肽 A 等^[7]。这些物质作用于呼吸道的效应细胞,引起支气管收缩,淋巴细胞释放炎症因子,进而产生咳嗽,支气管痉挛等症状。

4.5 TRPA1 在其他方面的研究

当膀胱发生炎症时,会出现尿频、尿急等膀胱的过度活动,甚至还会伴随着膀胱疼痛。研究发现,间质性膀胱炎的小鼠体内 PAR2 蛋白的表达水平很高,而 TRPA1 是 PAR2 信号途径的下游分子。当 PAR2 的抑制剂存在时,TRPA1 功能下调,可以明显减轻间质性膀胱炎造成的膀胱过度活动和疼痛^[28]。此

外,TRPA1 在心血管,胃肠调节中均起着重要作用^[29,30];感觉神经元中 TRPA1 的敲除会使得皮肤感知机械刺激的能力丧失^[19]。

5 靶向 TRPA1 的临床药物研究现状

前述研究结果清楚地表明 TRPA1 与机体的生理活动密切相关,当 TRPA1 的功能上调时,机体会出现疼痛、瘙痒等不适症状,而下调 TRPA1 功能在相关的疾病治疗中有潜在的临床意义,因此越来越多的研究致力于寻找 TRPA1 通道特异性的拮抗剂。

TRPA1 的外源性拮抗剂主要为一些成分复杂的有机或无机化合物。早期发现了一些 TRPA1 拮抗剂,如钉红、庆大霉素、樟脑、高浓度薄荷醇等,但是这些拮抗剂对其他某些离子通道(如 TRPV1、TRPV2 等)也具有调控作用,因而存在潜在的副作用。为了获得特异性抑制 TRPA1 的抑制剂,许多科学家或药物公司开展了大量的研发工作。从 2007 年第一个被 Hydra 生物公司申请专利的小分子 TRPA1 拮抗 HC030031(黄嘌呤的衍生物)以来^[31],越来越多的特异性 TRPA1 拮抗剂被陆续报道。

5.1 HC030031 及其衍生物

为了寻找特异性的 TRPA1 抑制剂,Hydra 生物公司在表达 TRPA1 的 HEK293 细胞中筛选能够抑制 AITC 和福尔马林诱导的胞内 Ca^{2+} 浓度升高的化合物,成功筛选得到了一种命名为 HC030031 的化合物(如图 2a),它可以高效抑制 AITC 和福尔马林激活 TRPA1 通道引起的钙离子内流,其半效抑制浓度 IC_{50} 分别为 $6.2\ \mu\text{M}$ 和 $5.3\ \mu\text{M}$ ^[31]。在大鼠体内,TRPA1 的抑制剂 HC030031 可以明显缓解肉桂醛诱导的痛觉过敏^[32]。几内亚猪受到 TRPA1 激动剂丙烯醛刺激时会出现咳嗽症状,而使用含有 HC030031 喷雾剂则可以显著减轻此症状^[33]。推测 HC030031 对 TRPA1 的抑制作用可能是通过乙酰胺基团上的 7 号氮所在的侧链与 TRPA1 的疏水孔区相互作用而实现的^[34],因此 Hydra 公司对 HC030031 的乙酰胺基团 7 号氮所在的侧链进行了不同的修饰,设计出了一百多种 HC030031 类似物。如当用噻唑替换 7 号氮位的苯环后(专利号 WO2010075353, $\text{IC}_{50}=4\ \text{nM}$,图 2b),大鼠口服该复合物($50\ \text{mg/kg}$)可以减缓 AITC 和福尔马林诱导的疼痛行为^[35]。但是在随后的动物模型研究中发现,它会对肝功能造成一定程度的损伤,因此未能进入下一步临床研究。随后 Hydra 公司又筛选出新的复合物,其结构如图 2c(专利号 WO2013023102),动物行为学显示它可以将 AITC 和福尔马林诱导的疼痛持续时间分别减少为原先的 50%和 70%,半效抑制浓度 IC_{50} 约为 $100\ \text{nM}$,同时动物研究显示其对机体的肝功能没有明显的损伤,本可以作为一种理想的临床 TRPA1 特异性抑制剂,但其较差的水溶性却限制了它的应用^[36]。该公司后续对 WO2013023102 进行了一些基团修饰,获得了如图 2d 所示(专利号 WO2014113671)的新化合物,由于它较好的水溶性以及对肝功能损伤程度低,在啮齿动物急性耐受性试验中获得了较为满意的结果。但长期来看,WO2014113671 对肝脏的损伤程度究竟如何,还有待继续深入研究^[31]。

5.2 GRC-17536

由于邻苯二甲酰亚胺和黄嘌呤结构相似,Glenmark 制药公司筛选出一些邻苯二甲酰亚胺结构类似物以及 HC030031

同类的双环或三环化合物。尽管它们在体外的活性较好,但是共同的缺点是水溶性不高。2014 年 Glenmark 制药公司又筛选得到复合物 GRC-17536(其结构尚未公开)可以作为靶向 TRPA1 通道的抑制剂。研究发现,GRC-17536 对柠檬酸引起的几内亚猪咳嗽起到了很好的抑制效果^[37]。此外,GRC-17536 在 138 名来自欧洲和印度的糖尿病外周神经痛患者中取得了积极的治疗效果,且 GRC-17536 尚未表现出明显的药物副作用。GRC-17536 目前也已进入针对慢性咳嗽患者的临床 II A 期实验。

5.3 脒的衍生物

Scripps 研究所为了找到 TRPA1 的拮抗剂,他们从 40000 多个小分子中筛选能够抑制 CHO 细胞中肉桂醛激活的 TRPA1 的化合物。其中一种便是脒的衍生物 AP18(图 2e)。AP18 对人和小鼠 TRPA1 通道电流均有抑制作用,其半效抑制浓度 IC₅₀ 分别为 3.1 μM 和 4.5 μM。有意思的是,AP18 的 3 号位甲基基团被移除后,AP18 表现出了 TRPA1 激动剂的特性^[38]。基于脒的结构,Abbott 公司筛选获得了一种烯酮脒的衍生物 A967079(图 2f),它在人和大鼠的 TRPA1 中的半效抑制浓度分别为 67 nM 和 289 nM。在啮齿动物疼痛模型中,它起到了很好的镇痛作用^[39]。不同于 HC030031 与 TRPA1 疏水孔区相互作用,A967079 主要是通过与 TRPA1 孔区内蛋白相互作用而起到抑制作用的。结果表明,TRPA1 孔区内部第 909 位的苯丙氨酸残基,和两个连续的甲硫氨酸残基(911 和 912 位,图 1),

以及 S6 跨膜片段上的第 941 位的亮氨酸残基和 950 位异亮氨酸残基可以作为 TRPA1 拮抗剂的药物设计靶点^[2,34]。

5.4 氨基甲酸酯吗啉类和氮杂苯并咪唑类化合物

基于 TRPA1 通道在生理与病理中的重要作用,TRPA1 拮抗剂的研发吸引了众多国际知名药企的参与。2014 年,瑞士 Roche 公司研发出氨基甲酸酯吗啉类化合物(图 2g),推测它们通过氨基酸甲酯与 TRPA1 亲核半胱氨酸残基选择性的共价相互作用起到拮抗作用的(IC₅₀=5 nM)^[40]。而 Amgen 公司发现氮杂苯并咪唑类类似物可以作为 TRPA1 的抑制剂(图 2h),其在人和大鼠的 TRPA1 实验中 IC₅₀ 分别为 170 nM 和 45 nM,具有较好的药代性。它在 AITC 诱导的疼痛模型中起到很好的缓解作用,但在其他疼痛模型中未见报道^[41]。

5.5 单克隆抗体类

为了获得 TRPA1 的特异性拮抗剂,Lee KJ 等^[42]使用表达 TRPA1 的不同抗原免疫小鼠产生不同的杂交瘤细胞,通过流式分析仪来筛选能够结合 U2OS 或者 CHO 细胞中稳定表达 TRPA1 的单克隆抗体。他们发现这些单克隆抗体可以呈浓度依赖的抑制 AITC 和低温(4℃)诱导的 TRPA1 电流。其中单克隆抗体 2B10 的抑制效果最好,对人和小鼠的 TRPA1 通道电流均有抑制作用(IC₅₀ 分别为 260 nM 和 90 nM),推测其可能是通过与孔区胞外环相互作用来起到拮抗作用的。

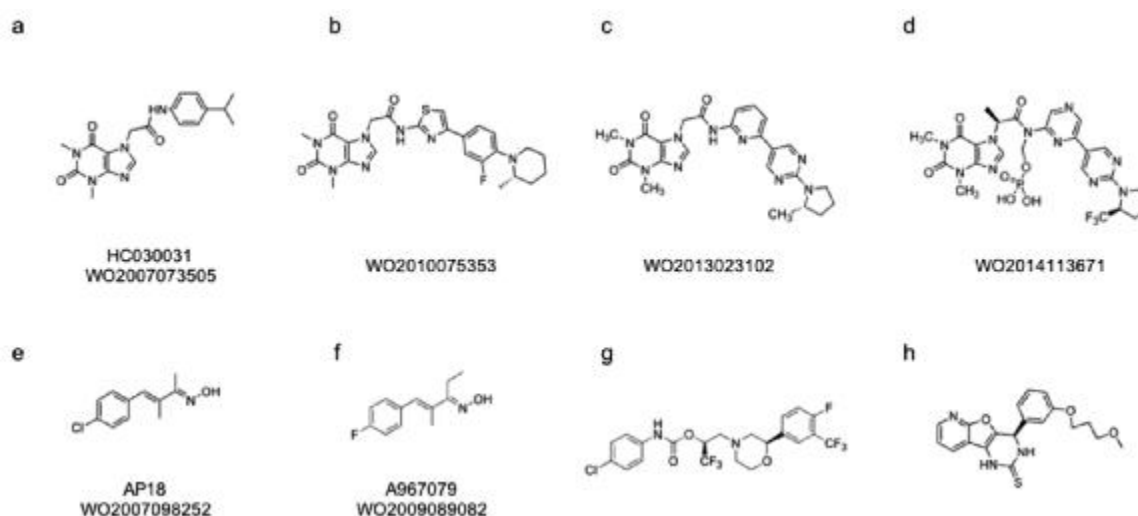


图 2 TRPA1 通道拮抗剂的结构式

Fig.2 Molecular structure of TRPA1 channel antagonists

6 总结与展望

在 TRPA1 拮抗剂研发取得了较大进展的同时,TRPA1 拮抗剂的研发也面临着许多的挑战:例如,TRPA1 具有种属差异性,这会给药物开发增加一定的难度;TRPA1 分布广泛,有些部位的 TRPA1 功能并没有被完全阐述清楚,这给药物特定的靶向性带来了挑战。TRPA1 拮抗剂的使用也存在着问题,例如,拮抗剂在机体内的作用时长能否被有效地控制?

值得一提的是,目前所研发出的 TRPA1 拮抗剂几乎都是通过大规模的高通量筛选,然后对前体化合物进行进一步的改造而来。而随着 TRPA1 蛋白结构的解析,能否通过对 TRPA1

通道结构的分析以及之前药物筛选所得出的一些作用位点有针对性地建立药物筛选模型? 相信随着这些问题的解决,靶向 TRPA1 通道的药物开发领域将会愈来愈明朗。

参考文献(References)

- [1] Nilius B, Prenen J, Owsianik G. Irritating channels: the case of TRPA1 [J]. Journal of Physiology, 2011, 589(7): 1543-1549
- [2] Paulsen C E, Armache J P, Gao Y, et al. Structure of the TRPA1 ion channel suggests regulatory mechanisms[J]. Nature, 2015, 520(7548): 511
- [3] Skerratt S. Recent progress in the discovery and development of TRPA1 modulators[J]. Progress in Medicinal Chemistry, 2017, 56: 81

- [4] Fernandes E S, Vong C T, Quek S, et al. Superoxide generation and leukocyte accumulation: key elements in the mediation of leukotriene B₄-induced itch by transient receptor potential ankyrin 1 and transient receptor potential vanilloid 1[J]. *Faseb Journal Official Publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*, 2013, 27(4): 1664
- [5] Andersson D A, Gentry C, Bevan S. TRPA1 has a key role in the somatic pro-nociceptive actions of hydrogen sulfide[J]. *Plos One*, 2012, 7(10): e46917
- [6] Diogenes A, Akopian A N, Hargreaves K M. NGF up-regulates TRPA1: implications for orofacial pain [J]. *Journal of Dental Research*, 2007, 86(6): 550
- [7] Yang H, Li S Z. Transient Receptor Potential Ankyrin 1 (TRPA1) channel and neurogenic inflammation in pathogenesis of asthma[J]. *Medical Science Monitor International Medical Journal of Experimental & Clinical Research*, 2016, 22: 2917-2923
- [8] Samanta A, Hughes T, Moiseenkova V Y. Transient receptor potential (TRP) channels[J]. *Nihon Yakurigaku Zasshi Folia Pharmacologica Japonica*, 2008, 131(6): 417
- [9] Kono T, Kaneko A, Omiya Y, et al. Epithelial transient receptor potential ankyrin 1 (TRPA1)-dependent adrenomedullin upregulates blood flow in rat small intestine [J]. *American Journal of Physiology Gastrointestinal & Liver Physiology*, 2013, 304(4): G428-G436
- [10] Yun S K, Jung H K, Kwon T K, et al. Expression of transient receptor potential ankyrin 1 in human dental pulp [J]. *Journal of Endodontics*, 2012, 38(8): 1087-1092
- [11] Cao D S, Zhong L, Hsieh T, et al. Expression of transient receptor potential ankyrin 1 (TRPA1) and its role in insulin release from rat pancreatic beta cells[J]. *Plos One*, 2012, 7(5): e38005
- [12] Earley S, Brayden J E. Transient receptor potential channels in the vasculature[J]. *Physiological Reviews*, 2015, 95(2): 645
- [13] Karashima Y, Prenen J, Talavera K, et al. Agonist-induced changes in Ca²⁺ permeation through the nociceptor cation channel TRPA1 [J]. *Biophysical Journal*, 2010, 98(5): 773
- [14] Ferreira G, Raddatz N, Lorenzo Y, et al. Biophysical and molecular features of thermosensitive TRP Channels involved in sensory transduction[M]. *TRP Channels in Sensory Transduction*[J]. Springer International Publishing, 2015: 1-39
- [15] Frederick J, Buck M E, Matson D J, et al. Increased TRPA1, TRPM8, and TRPV2 expression in dorsal root ganglia by nerve injury[J]. *Biochemical & Biophysical Research Communications*, 2007, 358(4): 1058-1064
- [16] Sura L, Zima V, Marsakova L, et al. C-terminal acidic cluster is involved in Ca²⁺-induced regulation of human transient receptor potential ankyrin 1 channel [J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2012, 287(22): 18067-18077
- [17] Meents J E, Fischer M J, McNaughton P A. Sensitization of TRPA1 by Protein Kinase A[J]. *Plos One*, 2017, 12(1): e0170097
- [18] Alpizar Y A, Gees M, Sanchez A, et al. Bimodal effects of cinnamaldehyde and camphor on mouse TRPA1[J]. *Pflügers Archiv European Journal of Physiology*, 2013, 465(6): 853-864
- [19] Zappia K J, O'Hara C L, Moehring F, et al. Sensory neuron-specific deletion of TRPA1 results in mechanical cutaneous sensory deficits [J]. *Eneuro*, 2017, 4(1): ENEURO.0069-16.2017
- [20] Moparthy L, Survery S, Kreir M, et al. Human TRPA1 is intrinsically cold- and chemosensitive with and without its N-terminal ankyrin repeat domain [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2014, 111(47): 16901-16906
- [21] Kurganov E, Zhou Y, Saito S, et al. Heat and AITC activate green anole TRPA1 in a membrane-delimited manner [J]. *Pflügers Archiv European Journal of Physiology*, 2014, 466(10): 1873-1884
- [22] Chen J, Kang D, Xu J, et al. Species differences and molecular determinant of TRPA1 cold sensitivity [J]. *Nature Communications*, 2013, 4(9): 2501
- [23] Bonet I J M, Fischer L, Parada C A, et al. The role of transient receptor potential A 1 (TRPA1) in the development and maintenance of carrageenan-induced hyperalgesia [J]. *Neuropharmacology*, 2013, 65(2): 206-212
- [24] Nassini R, Materazzi S, Benemei S, et al. The TRPA1 channel in inflammatory and neuropathic pain and migraine[M]. *Reviews of Physiology, Biochemistry and Pharmacology*, Vol. 167. Springer International Publishing, 2014: 1-43
- [25] Benemei S, Fusi C, Trevisan G, et al. The TRPA1 channel in migraine mechanism and treatment[J]. *British Journal of Pharmacology*, 2014, 171(10): 2552
- [26] Roberson D P, Gudes S, Sprague J M, et al. Activity-dependent silencing reveals functionally distinct itch-generating sensory neurons [J]. *Nature Neuroscience*, 2013, 16(7): 910
- [27] Cevikbas F, Wang X, Akiyama T, et al. A sensory neuron-expressed interleukin-31 receptor mediates T helper cell-dependent itch: involvement of TRPV1 and TRPA1 [J]. *Journal of Allergy & Clinical Immunology*, 2014, 133(2): 448-460
- [28] Chen D, Liu N, Li M, et al. Blocking PAR2 alleviates bladder pain and hyperactivity via TRPA1 signal [J]. *Translational Neuroscience*, 2016, 7(1): 133-138
- [29] Pan Y, Thapa D, Baldissera J L, et al. Relevance of TRPA1 and TRPM8 channels as vascular sensors of cold in the cutaneous microvasculature [J]. *Pflügers Archiv - European Journal of Physiology*, 2017: 1-8
- [30] Fothergill L J, Callaghan B, Rivera L R, et al. Effects of food components that activate TRPA1 receptors on mucosal ion transport in the mouse intestine[J]. *Nutrients*, 2016, 8(10): 623
- [31] Preti D, Saponaro G, Szallasi A. Transient receptor potential ankyrin 1 (TRPA1) antagonists[J]. *Pharmaceutical Patent Analyst*, 2015, 4(2): 75-94
- [32] Carla M F, Pinto F C, Manjavachi M, et al. The transient receptor potential ankyrin-1 mediates mechanical hyperalgesia induced by the activation of B1 receptor in mice[J]. *Biochemical Pharmacology*, 2016, 125: 75
- [33] Caceres A I, Brackmann M, Elia M D, et al. A sensory neuronal ion channel essential for airway inflammation and hyperreactivity in asthma [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2009, 106(22): 9099-9104
- [34] Klement G, Eisele L, Malinowsky D, et al. Characterization of a ligand and binding site in the human transient receptor potential ankyrin 1 pore[J]. *Biophysical Journal*, 2013, 104(4): 798-806

(下转第 974 页)

- naling and activation of Nrf2-dependent HO-1 [J]. *In Vitro Cell Dev Biol Anim*, 2015, 51(9): 975-986
- [51] Guo Cai-xia, Yang Man, Li Jing, et al. Amorphous silica nanoparticles trigger vascular endothelial cell injury through apoptosis and autophagy via reactive oxygen species-mediated MAPK/Bcl-2 and PI3K/Akt/mTOR signaling [J]. *Int J Nanomedicine*, 2016, 11: 5257-5276
- [52] Yu SM, Kim SJ. Thymoquinone-induced reactive oxygen species causes apoptosis of chondrocytes via PI3K/Akt and p38kinase pathway [J]. *Exp Biol Med (Maywood)*, 2013, 238(7): 811-820
- [53] Sun Yu, Liu Wen-zhou, Liu Tao, et al. Signaling pathway of MAPK/ERK in cell proliferation, differentiation, migration, senescence and apoptosis [J]. *J Recept Signal Transduct Res*, 2015, 35(6): 600-604
- [54] Dal-Cim T, Ludka FK, Martins WC, et al. Guanosine controls inflammatory pathways to afford neuroprotection of hippocampal slices under oxygen and glucose deprivation conditions [J]. *J Neurochem*, 2013, 126(4): 437-450
- [55] Su Li, Du Hong-li, Dong Xin, et al. Raf kinase inhibitor protein regulates oxygen-glucose deprivation-induced PC12 cells apoptosis through the NF-kappaB and ERK pathways [J]. *J Clin Biochem Nutr*, 2016, 59(2): 86-92
- [56] Liu Quan-feng, Jeong H, Lee JH, et al. Coriandrum sativum Suppresses Abeta42-Induced ROS Increases, Glial Cell Proliferation, and ERK Activation[J]. *Am J Chin Med*, 2016, 44(7): 1325-1347
- [57] Zhuo Xiao-jun, Xie Lu, Shi FR, et al. The benefits of respective and combined use of green tea polyphenols and ERK inhibitor on the survival and neurologic outcomes in cardiac arrest rats induced by ventricular fibrillation[J]. *Am J Emerg Med*, 2016, 34(3): 570-575
- [58] Zhao Zhong-yan, Luan Ping, Huang Shi-xiong, et al. Edaravone protects HT22 neurons from H₂O₂-induced apoptosis by inhibiting the MAPK signaling pathway [J]. *CNS Neurosci Ther*, 2013, 19 (3): 163-169
- [59] Correia SC, Santos RX, Cardoso SM, et al. Cyanide preconditioning protects brain endothelial and NT2 neuron-like cells against glucotoxicity: role of mitochondrial reactive oxygen species and HIF-1 α [J]. *Neurobiol Dis*, 2012, 45(1): 206-218
- [60] Su Chang, Sun Fen, Cunningham RL, et al. ERK5/KLF4 signaling as a common mediator of the neuroprotective effects of both nerve growth factor and hydrogen peroxide preconditioning[J]. *Age (Dordr)*, 2014, 36(4): 9685
- [61] Trachootham D, Lu W, Ogasawara MA, et al. Redox regulation of cell survival[J]. *Antioxid Redox Signal*, 2008, 10(8): 1343-1374

(上接第 1000 页)

- [35] Svensson M, Weigelt D. TRPA1 receptor antagonist [P]. EP, US 8859556 B2, 2014
- [36] Li Q, Cheng L, Liu C M, et al. Inhibiting the transient receptor potential A1 ion channel[P]. WO, US9394308, 2016
- [37] Mukhopadhyay I, Kulkarni A, Aranake S, et al. Transient receptor potential ankyrin 1 receptor activation in vitro and in vivo by pro-tussive agents: GRC 17536 as a promising anti-tussive therapeutic[J]. *Plos One*, 2014, 9(5): e97005
- [38] Defalco J, Steiger D, Gustafson A, et al. Oxime derivatives related to AP18: Agonists and antagonists of the TRPA1 receptor[J]. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 2010, 20(1): 276-279
- [39] Chen J, Joshi S K, Didomenico S, et al. Selective blockade of TRPA1 channel attenuates pathological pain without altering noxious cold sensation or body temperature regulation[J]. *Pain*, 2011, 152(5): 1165
- [40] Brotherton-Pleiss C E, Chen Z, Erickson S D, et al. Substituted phenylcarbamate compounds[P]. US9353096, 2016
- [41] Copeland K W, Boezio A A, Cheung E, et al. Development of novel azabenzofuran TRPA1 antagonists as in vivo tools [J]. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 2014, 24(15): 3464
- [42] Lee K J, Wang W, Padaki R, et al. Mouse monoclonal antibodies to TRPA1 act as antagonists of multiple modes of channel activation[J]. *Journal of Pharmacology & Experimental Therapeutics*, 2014, 350(2): 223-231
- [43] Story G M, Peier A M, Reeve A J, et al. ANKTM1, a TRP-like channel expressed in nociceptive neurons, is activated by cold temperatures[J]. *Cell*, 2003, 112(6): 819-829