

李雪, 范俊芬, 王雨晴, 等. 中性粒细胞离子通道及其功能的研究进展 [J]. 中国比较医学杂志, 2022, 32(3): 117-122.
Li X, Fan JF, Wang YQ, et al. Research progress on ion channels and their functions in neutrophils [J]. Chin J Comp Med, 2022, 32(3): 117-122.
doi: 10. 3969/j.issn.1671-7856. 2022. 03. 017

中性粒细胞离子通道及其功能的研究进展

李 雪¹, 范俊芬¹, 王雨晴², 罗玉敏¹, 赵海苹^{1*}

(1.首都医科大学宣武医院, 脑血管病研究室, 北京 100053;
2.北京中医药大学东方医院, 脑病一科, 北京 100078)

【摘要】 中性粒细胞作为免疫吞噬细胞, 参与许多生理及病理过程, 如炎症反应, 吞噬病原体, 清除肿瘤细胞, 清除坏死组织碎片等, 这些生理功能与中性粒细胞的离子通道密切相关。本文综述了中性粒细胞上存在的不同类型的离子通道及其在中性粒细胞中的作用, 包括电压门控质子通道、钾通道、ATP 门控 P2X₁ 通道以及氯通道等。着重阐述中性粒细胞离子通道介导的离子电导, 并总结了每个通道所介导和参与的中性粒细胞中的病理过程。从功能的角度讨论最近的发现, 以期待对疾病治疗靶点的选择有所帮助。

【关键词】 中性粒细胞; 离子通道; Hv1 通道; 瞬时受体电位通道; 氯通道; 活性氧; 趋化反应

【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856 (2022) 03-0117-06

Research progress on ion channels and their functions in neutrophils

LI Xue¹, FAN Junfen¹, WANG Yuqing², LUO Yumin¹, ZHAO Haiping^{1*}

(1. Institute of Cerebrovascular Diseases Research, Xuanwu Hospital of Capital Medical University, Beijing 100053, China.
2. Department one of encephalopathy, Dongfang Hospital, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100078)

【Abstract】 As a major type of phagocyte, neutrophils are involved in many physiological and pathological processes that include inflammation, phagocytosis of pathogens, elimination of tumor cells, and removal of necrotic tissue debris, which are closely related to the ion channels in neutrophils. This review discusses various types of ion channels and their roles in neutrophils, which include voltage-gated proton channels, potassium channels, ATP-gated P2X₁ channels and chloride channels. With a focus on the ionic conductance mediated by partial ion channels in neutrophils, the pathological processes of neutrophils mediated by each channel are summarized. Recent findings are discussed from a functional perspective to contribute to selecting therapeutic targets.

【Keywords】 neutrophils; ion channels; Hv1 channels; transient receptor potential channels; chloride channels; reactive oxygen species; chemotaxis

中性粒细胞是细胞免疫系统的主要组成部分, 以抵御病原体入侵。在炎症或损伤发生时, 中性粒细胞从血液中被募集, 从血管内游出并趋化到病灶, 吞噬杀伤病原微生物或变异细胞, 中性粒细胞发挥定向迁移、吞噬、产生活性氧等功能, 这一系列

过程需要精细调控, 中性粒细胞膜离子通道在其中发挥了至关重要的作用。中性粒细胞膜离子通道包括电压门控质子通道 (voltage-gated proton channel/voltage-sensing domain only protein, Hv1/VSOP)、钾通道、ATP 门控 P2X₁ 通道以及氯通道。

【基金项目】 国家自然科学基金项目 (82071314, 82171301); 2021 北京市科技新星计划交叉学科合作课题 (Z211100002121017)。

【作者简介】 李雪 (1997—), 女, 硕士, 研究方向: 脑血管病的免疫机制。E-mail: lixue7976@163.com

【通信作者】 赵海苹 (1979—), 研究员, 研究方向: 脑血管病的免疫机制。E-mail: zhaohaiping91980@163.com

1 中性粒细胞的生理功能

中性粒细胞来自于骨髓造血系统,在炎症发生时,成熟的中性粒细胞从骨髓释放到血液,再从血液中被招募到感染或者炎症的部位。病原体或炎症病灶导致组织巨噬细胞和肥大细胞产生肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α) 或白介素等细胞因子,诱导内皮细胞活化和细胞表面粘附因子的表达,从血液中招募中性粒细胞。这一级联反应包括招募、滚动、粘附、血管内迁移、游出,许多综述详细地阐述了这一过程^[1-2]。

迁移能力是中性粒细胞的重要特征之一。迁移在血管内爬行时起作用,使中性粒细胞越过内皮到达适当的位置,比如迁移到炎症部位,对抗病原体。最近的证据表明,反向迁移有助于消除炎症,即中性粒细胞从严重病灶处迁移走^[3-4]。内皮细胞中的选择素和细胞间粘附分子 1 (intercellular adhesion molecule-1, ICAM-1) 以及粒细胞中的 P-选择素糖蛋白配体 1 (p-selectin glycoprotein ligand-1, PSGL1) 和 β 整合素是这些过程的重要粘附受体。中性粒细胞被内皮表面的趋化物激活,触发整合素的构象变化,从而加强中性粒细胞与内皮细胞的粘附,这对于随后的中性粒细胞游出非常重要^[5]。 $\alpha\beta$ 整合素的缺失,会导致明显的迁移延迟^[6]。另一方面,正确的迁移需要罗盘机制和引擎机制双重调控,才能使中性粒细胞准确迁移至病灶部位。

中性粒细胞,类似于巨噬细胞和树突状细胞,是专门的吞噬细胞,以受体介导的方式将病原颗粒或细胞碎片潜在吞噬并内化。作为血液中最多的吞噬细胞,中性粒细胞在防止病原体传播方面发挥着不可或缺的作用。中性粒细胞的杀菌作用,也与细胞膜电位的平衡有关。中性粒细胞吞噬并夹带这些颗粒进入吞噬体。在“吞噬体成熟”过程中,它们与提供酶和酸性(在巨噬细胞中)或初始碱性(在中性粒细胞中)环境的其他囊泡融合,用以进行颗粒消化^[7-8]。

中性粒细胞主要在其吞噬体内产生活性氧,在 NADPH 氧化酶 2 (NADPH oxidase 2, NOX2) 驱动的“氧爆发”过程中,活化的中性粒细胞氧耗增加。NOX2 由膜结合成分和胞质成分组成。Gp91_{phox} 和 p22_{phox} (NADPH 氧化酶亚基) 主要 (85%) 存在于特定颗粒的膜中。剩下的 15% 在分泌囊泡和质膜中表达^[9]。膜结合的 NOX2 复合物介导 NADPH 的电

子释放,并将其转运到吞噬体外或细胞外。NOX2 有生电作用,并且其活性受膜电位的调节,因此需要电荷平衡^[7,10],即需要平衡细胞膜内外的电荷,以保证 NOX2 保持其活性。源于 NADPH 氧化的电子将分子氧还原为超氧化物 ($O_2^{\cdot-}$),通过超氧化物歧化酶 (superoxide dismutases, SOD) 转化为 H_2O_2 ,随后髓过氧化物酶 (myeloperoxidase, MPO) 介导过氧化氢 (H_2O_2) 和氯分子 (Cl_2) 的反应,形成具有强氧化性的分子次氯酸 (HOCl) 分子,产生强杀菌作用。

本文主要关注的中性粒细胞膜离子通道包括电压门控质子通道 (Hv1/VSOP)、钾通道、ATP 门控 P2X₁ 通道以及氯通道。下面将分别介绍这些离子通道及其功能。

2 电压门控质子通道 (voltage-gated proton channel/voltage-sensing domain only protein, Hv1/VSOP)

电压门控质子通道是调节中性粒细胞和其他免疫细胞免疫反应的关键分子之一,其主要功能是在细胞呼吸爆发时维持细胞内外 pH 平衡和电荷补偿,并参与活性氧的产生。

Hv1 由氢离子电压门控通道蛋白 1 (hydrogen voltage gated channel protein 1, HVCN1) 基因编码,是介导质子 (H^+) 在细胞膜上快速运动的膜蛋白^[10-11]。当中性粒细胞发挥吞噬作用时,细胞内 pH 值 (pH_i) 急剧下降,随后迅速恢复。这种酸化反应是由于 NADPH 氧化酶产生的 H^+ 引起的^[12], Zn^{2+} 作为 Hv1 的抑制剂,在 Zn^{2+} 存在或 HVCN1 缺陷的细胞中细胞液酸化会更快^[12],与野生型小鼠的中性粒细胞相比, $Hv1^{-/-}$ 中性粒细胞的胞浆酸性更强^[13]。与之相反则细胞液酸化很快被调节,是 Hv1 的作用使 pH_i 迅速恢复。由此可知, Hv1 执行维持中性粒细胞 pH 平衡这个重要任务。

另外观察到 Hv1 缺乏的小鼠中性粒细胞去极化程度更高^[13],这说明质子通道的另一个重要作用是为去极化电子流提供补偿电荷^[14],这对呼吸爆发期间维持 NADPH 氧化酶的活性至关重要。中性粒细胞 NADPH 氧化酶产生的电子电流,使膜去极化,如果没有补偿机制,跨膜电子传输强度高到足以产生无法承受的膜去极化和细胞内酸化,最终会阻断氧化酶本身的活性。中性粒细胞 NADPH 氧化酶产生的去极化必须通过离子转运来抵消,恰好 Hv1 发挥了电荷补偿的功能。所以,质子流的主要功能是维持细胞呼吸爆发时的 pH 平衡和电荷补偿^[15]。

此外,在中性粒细胞的离子通道中同样发挥电荷补偿作用的还有氯通道。

此外,许多研究都支持这样一个概念——HVCN1 是活性氧(reactive oxygen species, ROS)产生所必需的最佳选择^[16]。VSOP/Hv1 支持中性粒细胞吞噬活动中 ROS 的产生^[17],在 HVCN1^{-/-}斑马鱼模型中观察到,HVCN1 缺乏显著降低了中性粒细胞的 ROS 生成^[18]。在体外培养的 HVCN1 缺陷的斑马鱼幼体中性粒细胞中,NADPH 氧化依赖性细菌杀伤显著降低^[19],Hv1^{-/-}小鼠中性粒细胞产生的超氧化物和过氧化氢减少^[13]。除上文提到的 Zn²⁺ 作为 Hv1 的抑制剂外,钴离子(Co²⁺)对 Hv1 似乎也有抑制作用。研究表明,在最大浓度为 100 μmol/L Co²⁺时,Co²⁺可使人中性粒细胞杀伤两株表皮葡萄球菌的能力降低 7 倍^[20]。有趣的是 Hv1 存在一种新的未预料到的活性,有研究部分提示 Hv1 抑制嗜天青颗粒酶(包括 MPO)的胞吐,导致的杀伤微生物的次氯酸 HOCl 生成减少^[21],这形成一个有趣的悖论,即 Hv1 维持中性粒细胞 NOX2 活性且促进活性氧(reactive oxygen species, ROS)产生,但抑制次氯酸 HOCl 的形成,其详细机制仍待进一步研究。

3 K⁺通道

中性粒细胞表面的钾离子通道包括钙激活 K 通道、内向整流钾通道和 ATP 敏感性钾通道,在中性粒细胞不同的病理生理过程中分别发挥作用。

3.1 钙激活钾电流(calcium-activated potassium channel, KCa_{3.1})

钙激活钾电流 KCa_{3.1}通道是钙激活钾通道家族的一员。电生理记录表明,在人类中性粒细胞中存在钙激活性钾电流^[22],Henriquez 等^[23]首次证明 KCa_{3.1}在哺乳动物中性粒细胞中表达。KCa_{3.1}参与中性粒细胞的容积调节,当 KCa_{3.1}被阻断时,离子霉素诱导的中性粒细胞更易肿胀。KCa_{3.1}还影响中性粒细胞的趋化性,KCa_{3.1}抑制剂 TRAM-34 培养中性粒细胞时,显著降低白细胞介素-8(interleukin-8, IL-8)和 fMLP 诱导的趋化反应,并且中性粒细胞 KCa_{3.1}的活性是细胞迁移“引擎机制”的重要组成部分,但是抑制 KCa_{3.1}不影响细胞内钙稳态或呼吸爆发^[23]。这提示 KCa_{3.1}对中性粒细胞趋化迁移有作用,但对其杀伤功能的作用还有待发掘。

3.2 内向整流钾电流 K_{2.1}

通过 RT-PCR 研究显示,小鼠骨髓和肝的静息

中性粒细胞表达内向整流钾电流 Kir₂ 亚基 Kir_{2.1}的 mRNA,但不表达其他亚基(Kir_{2.2}、Kir_{2.3}和 Kir_{2.4})的 mRNA,并呈现具有同型 Kir_{2.1}通道电流特征的电流。在缺乏对中性粒细胞增殖重要的生长因子[粒细胞集落刺激因子(granulocyte colony-stimulating factor, G-CSF)和干细胞因子(stem cell factor, SCF)]的情况下,骨髓中性粒细胞短期培养的电流密度降低。该研究表明小鼠中性粒细胞表达功能性 Kir_{2.1}通道,并提示这些通道可能对中性粒细胞的功能很重要,可能以生长因子依赖的方式发挥作用^[24]。但是,该内向整流钾电流是否在人类中性粒细胞中表达,至今尚未有文献报道。

3.3 ATP 敏感性钾通道(ATP-sensitive potassium channel, K_{ATP})

ATP 敏感性钾通道是一类耦联细胞代谢和电活动、以细胞内的 ATP/ADP 水平为门控因素、非电压依赖性的特殊钾离子通道,与中性粒细胞的趋化性相关。硫化氢(H₂S)通过 K-ATP 通道依赖机制抑制 G 蛋白耦联受体激酶 2(G protein-coupled receptor kinase 2, GRK₂)的表达来阻止 CXC 趋化因子受体(CXC chemokine receptor 2, CXCR2)的内化,增强中性粒细胞趋化反应,因此,体外实验与对照组相比,骨髓中性粒细胞与 NaHS(硫化钠, 300 μmol/L, NaHS 试剂能够在体外以浓度依赖的方式释放硫化氢)在 37℃ 孵育 1 h 后,巨噬细胞炎症蛋白-2(neutralization of macrophage inflammatory protein 2, MIP-2)诱导的中性粒细胞趋化性显著增加;体内实验显示 H₂S 通过激活 K-ATP 通道抑制严重脓毒症诱导的细胞间黏附分子(ICAM-1)下调,这提示 H₂S 有利于中性粒细胞募集到感染病灶,防止中性粒细胞迁移失败,减少细菌扩散,防止低血压,并将小鼠存活率从大约 12% 提高到约 80%^[25]。

临床上,有一个常用的 ATP 敏感钾通道抑制剂——格列本脲,格列本脲可抑制中性粒细胞的迁移和趋化,并在急性炎症反应期间影响血浆渗出,其影响可能与其 ATP 敏感钾(K_{ATP})通道活性被阻断有关^[26]。Pompermayer 等^[27]的实验验证了这一猜想,格列本脲显著抑制了再灌注诱导的中性粒细胞聚集与升高的肾血管通透性,对大鼠肾缺血再灌注损伤有保护作用。此外,格列本脲可减轻顺铂所致肾损害^[28-29],但具体机制是否与阻断 ATP 敏感钾通道有关,仍需进一步研究。

4 ATP 门控离子通道 $P2X_1$

$P2X_1$ 受体 ($P2RX_1$) 表达于参与血管内稳态和/或免疫的多种细胞类型上,即动脉平滑肌细胞 (SMCs)、中性粒细胞、巨噬细胞和血小板^[30]。 $P2RX_1$ 在中性粒细胞上的功能,主要可以降低中性粒细胞活化和迁移。人中性粒细胞表达功能性 $P2X_1$ 离子通道,全细胞膜片钳显示,两种 $P2X_1$ 激动剂—— β, γ -methylene ATP (β, γ -MeATP) 和 α, β -MeATP (α, β -methylene ATP) 可诱发快速脱敏内向电流,这些电流通过激活 RhoA-ROCK 通路促进中性粒细胞趋化性;反之,在 $P2X_1^{-/-}$ 小鼠腹膜分离的中性粒细胞中静态粘附受损,速度降低,后缘回缩时间延长^[31]。另外发现 $P2X_1^{-/-}$ 中性粒细胞产生更多的活性氧。LPS 处理的 $P2X_1^{-/-}$ 小鼠血液中髓过氧化物酶的释放量增加,循环中性粒细胞和单核细胞表达更高水平的整合素 αM (CD11b),小鼠对感染性休克的易感性增加,说明 $P2X_1$ 离子通道的抑制或缺失导致中性粒细胞过度活化和氧化反应,也就是说 $P2X_1$ 离子通道通过负性调节全身中性粒细胞活化和趋化性,从而限制氧化反应和器官损伤,在内毒素血症中起保护作用^[32]。

5 氯通道

氯通道在中性粒细胞中的主要作用是平衡细胞呼吸爆发所致的膜过度去极化,即电荷补偿。中性粒细胞 NADPH 氧化酶产生的电子电流 (I_e) 是生电性的^[33],它能迅速地使膜电位去极化。为了保证 NADPH 氧化酶功能的持续, I_e 必须保持平衡以保持电中性,否则过分的去极化将阻止电子离开细胞,中性粒细胞将失去功能。中性粒细胞 NADPH 氧化酶产生的去极化必须通过离子转运来抵消^[34]。在中性粒细胞中,膨胀激活的氯离子通道和电压门控质子通道都可以抵消吞噬细胞 NADPH 氧化酶诱导的去极化^[35]。中性粒细胞与其他细胞不同,静息细胞内的 Cl^- 浓度很高^[36],在中性粒细胞中氯离子通道抑制剂抑制呼吸爆发已有报道^[37],正常中性粒细胞氧化功能需要阴离子通道 CIC-3^[37]。活化的中性粒细胞体积膨胀^[38],在中性粒细胞中观察到肿胀活化氯电流 (swelling-activated chloride currents, ICl_{swell}),膨胀激活的氯离子通道可以抵消 NADPH 氧化酶所致的膜的去极化^[34-35]。Ahluwalia^[35] 首次在中性粒细胞中证明,在质膜水平上,暴露于生理

相关的细胞内和细胞外氯离子浓度下,膨胀激活的氯离子通道激活可以抵消吞噬细胞 NADPH 氧化酶所致的细胞膜去极化。由此推测 ICl_{swell} 和电压门控氯通道家族蛋白成员 3 (voltage-gated chloride channel family protein 3, CIC-3) 在活化的中性粒细胞中可能具有相似的特性。

此前, CIC-3 被认为是 ICl_{swell} 的候选分子^[39]。那么,中性粒细胞中 CIC-3 产生的电流是否与 ICl_{swell} 相同呢? 值得注意的是, CIC-3 产生的电流具有许多特性,与在 ICl_{swell} 中观察到的电流相似^[39],如果 ICl_{swell} 通道以杂多聚体的形式存在,则可能与 CIC-3 形成复合物,它们一起可能抵消 NADPH 氧化酶产生的去极化^[34]。至于中性粒细胞中 CIC-3 产生的电流是否与 ICl_{swell} 相同仍需要进一步的实验来解决争议。

在膜片钳实验中,人和小鼠中性粒细胞在传统的全细胞模式下透析,观察到一个氯离子电流在细胞透析后被激活,这种电流主要由细胞质离子强度调节。这种电流类似于经典的、普遍存在的体积敏感型外向整流电流的特点:强烈的外向整流、艾森曼 Eisenman1 型的选择性序列、对外界 pH 值不敏感以及三苯氧胺、DCPIB (一种体积敏感阴离子通道阻滞剂和 ICl_{swell} 阻滞剂) 和 WW781 的强烈抑制。Behe 等^[40] 发现这种电流基本上是由富含亮氨酸的 8A 重复序列 (leucine-rich repeat-containing 8A, LRRC8A) 支持的。在 LRRC8A 外显子 3 中具有移码突变的 ebo/ebo 小鼠,其自然发生的 LRRC8A 截短突变,突变不影响蛋白表达,但会显著降低 VRAC (volume regulated anion channel, 体积调控性阴离子通道) 活性,这种突变大大降低了中性粒细胞的 Cl^- 电导。这些 ebo/ebo 中性粒细胞是有吞噬能力的细胞, pH 值的升高保持不变,其吞噬和呼吸爆发能力保持不变,空泡大小正常,与野生型的同类细胞没有区别,这表明中性粒细胞基于 LRRC8A 的 Cl^- 电导对空泡的吞噬和内稳态不是必需的。因此,中性粒细胞的 LRRC8A 依赖性电导在很大程度上解释了其“膨胀激活” Cl^- 电流,但并不是吞噬体杀伤室的稳态所必需^[40]。另外,最近发现的 LRRC8A 蛋白介导的氯电流^[41] 参与调节使细胞体积减小,可部分影响人类中性粒细胞的迁移^[42],可见氯电流在细胞迁移方面也存在潜在作用。

6 总结与展望

本文概述了中性粒细胞中离子通道功能的当

前研究结果,包括 Hv1 通道、钾通道、ATP 门控的 P2X₁ 通道和氯通道几个部分,涉及中性粒细胞 pH 平衡、电荷补偿、趋化性、粘附性、侵袭力、ROS 产生等功能。将各离子通道按其相关的中性粒细胞功能分类大致如下:(1)pH 平衡:Hv1/VOSP;(2)电荷补偿:Hv1/VOSP、膨胀激活氯通道、LRRC8A 依赖性氯电流;(3)促活性氧产生:Hv1/VOSP;(4)负性调节活性氧产生:ATP 门控 P2X₁ 通道;(5)趋化性:KCa_{3.1}(引擎机制),K-ATP;(6)负性调节趋化性:ATP 门控 P2X₁ 通道。如 Hv1/VSOP 促进活性氧产生提高杀伤作用、P2X₁ 对内毒素血症的保护作用,可见中性粒细胞离子通道的功能对某些疾病的发生发展和治疗有预测和指导作用,离子通道阻断或增强可作为一种潜在的治疗选择。然而,我们对已知的中性粒细胞离子通道的电生理特性的了解仍然相当初级,离子通道在中性粒细胞功能中的作用还未被完全理解,对其他通道是否在中性粒细胞中表达及其功能还有待进一步研究。

参考文献:

- [1] Marki A, Esko JD, Pries AR, et al. Role of the endothelial surface layer in neutrophil recruitment [J]. J Leukoc Biol, 2015, 98(4): 503-515.
- [2] Kolaczowska E, Kubes P. Neutrophil recruitment and function in health and inflammation [J]. Nat Rev Immunol, 2013, 13(3): 159-175.
- [3] Powell D, Tauzin S, Hind LE, et al. Chemokine signaling and the regulation of bidirectional leukocyte migration in interstitial tissues [J]. Cell Rep, 2017, 19(8): 1572-1585.
- [4] Colom B, Bodkin JV, Beyrau M, et al. Leukotriene B₄-neutrophil elastase axis drives neutrophil reverse transendothelial cell migration *in vivo* [J]. Immunity, 2015, 42(6): 1075-1086.
- [5] Herter J, Zarbock A. Integrin regulation during leukocyte recruitment [J]. J Immunol, 2013, 190(9): 4451-4457.
- [6] Phillipson M, Heit B, Colarusso P, et al. Intraluminal crawling of neutrophils to emigration sites: a molecularly distinct process from adhesion in the recruitment cascade [J]. J Exp Med, 2006, 203(12): 2569-2575.
- [7] Wang GS. Chloride flux in phagocytes [J]. Immunol Rev, 2016, 273(1): 219-231.
- [8] Lee WL, Harrison RE, Grinstein S. Phagocytosis by neutrophils [J]. Microbes Infect, 2003, 5(14): 1299-1306.
- [9] Winterbourn CC, Kettle AJ. Redox reactions and microbial killing in the neutrophil phagosome [J]. Antioxid Redox Sign, 2013, 18(6): 642-660.
- [10] Ramsey IS, Moran MM, Chong JA, et al. A voltage-gated proton-selective channel lacking the pore domain [J]. Nature, 2006, 440(7088): 1213-1216.
- [11] Sasaki M, Takagi M, Okamura Y. A voltage sensor-domain protein is a voltage-gated proton channel [J]. Science, 2006, 312(5773): 589-592.
- [12] Morgan D, Capasso M, Musset B, et al. Voltage-gated proton channels maintain pH in human neutrophils during phagocytosis [J]. P Natl Acad Sci U S A, 2009, 106(42): 18022-18027.
- [13] El Chemaly A, Okochi Y, Sasaki M, et al. VSOP/Hv1 proton channels sustain calcium entry, neutrophil migration, and superoxide production by limiting cell depolarization and acidification [J]. J Exp Med, 2010, 207(1): 129-139.
- [14] Decoursey TE. Voltage-gated proton channels: what's next? [J]. J Physiol, 2008, 586(22): 5305-5324.
- [15] Murphy R, Decoursey TE. Charge compensation during the phagocyte respiratory burst [J]. Biochim Biophys Acta, 2006, 1757(8): 996-1011.
- [16] Capasso M, Decoursey TE, Dyer MJ. pH regulation and beyond: unanticipated functions for the voltage-gated proton channel, HVCN1 [J]. Trends Cell Biol, 2011, 21(1): 20-28.
- [17] Kawai T, Okochi Y, Ozaki T, et al. Unconventional role of voltage-gated proton channels (VSOP/Hv1) in regulation of microglial ROS production [J]. J neurochem, 2017, 142(5): 686-699.
- [18] Ratanayotha A, Kawai T, Okamura Y. Real-time functional analysis of Hv1 channel in neutrophils: a new approach from zebrafish model [J]. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol, 2019, 316(6): R819-R831.
- [19] Ramsey IS, Ruchti E, Kaczmarek JS, et al. Hv1 proton channels are required for high-level NADPH oxidase-dependent superoxide production during the phagocyte respiratory burst [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2009, 106(18): 7642-7647.
- [20] Daou S, El Chemaly A, Christofilopoulos P, et al. The potential role of cobalt ions released from metal prosthesis on the inhibition of Hv1 proton channels and the decrease in Staphylococcus epidermidis killing by human neutrophils [J]. Biomaterials, 2011, 32(7): 1769-1777.
- [21] Clark RA. Editorial; Proton pathway paradox: Hv1 H⁺ channel sustains neutrophil Nox2 activity, yet suppresses HOCl formation [J]. J Leukoc Biol, 2016, 99(1): 1-4.
- [22] Von Tscharner V, Prod'homme B, Baggiolini M, et al. Ion channels in human neutrophils activated by a rise in free cytosolic calcium concentration [J]. Nature, 1986, 324(6095): 369-372.
- [23] Henriquez C, Riquelme TT, Vera D, et al. The calcium-activated potassium channel KCa_{3.1} plays a central role in the chemotactic response of mammalian neutrophils [J]. Acta Physiol, 2016, 216(1): 132-145.
- [24] Masia R, Krause DS, Yellen G. The inward rectifier potassium channel Kir_{2.1} is expressed in mouse neutrophils from bone marrow and liver [J]. Am J Physiol Cell Physiol, 2015, 308(3): C264-C276.
- [25] Spiller F, Orrico MI, Nascimento DC, et al. Hydrogen sulfide

- improves neutrophil migration and survival in sepsis via K^+ ATP channel activation [J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2010, 182(3): 360–368.
- [26] Da Silva-Santos JE, Santos-Silva MC, Cunha Fde Q, et al. The role of ATP-sensitive potassium channels in neutrophil migration and plasma exudation [J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2002, 300(3): 946–951.
- [27] Pompermayer K, Souza DG, Lara GG, et al. The ATP-sensitive potassium channel blocker glibenclamide prevents renal ischemia/reperfusion injury in rats [J]. *Kidney Int*, 2005, 67(5): 1785–1796.
- [28] Namazi H. ATP-sensitive potassium channel blockage attenuates cisplatin-induced renal damage: a novel molecular mechanism [J]. *Kidney Blood Press Res*, 2008, 31(3): 163.
- [29] Flavio AG, Cunha FQ, Francescato HD, et al. ATP-sensitive potassium channel blockage attenuates cisplatin-induced renal damage [J]. *Kidney Blood Press Res*, 2007, 30(5): 289–298.
- [30] El Mdawar MB, Maitre B, Magnenat S, et al. The ATP-gated $P2X_1$ ion channel contributes to the severity of antibody-mediated transfusion-related acute lung injury in mice [J]. *Sci Rep*, 2019, 9(1): 5159.
- [31] Lecut C, Frederix K, Johnson DM, et al. $P2X_1$ ion channels promote neutrophil chemotaxis through Rho kinase activation [J]. *J Immunol*, 2009, 183(4): 2801–2809.
- [32] Lecut C, Faccineto C, Delierneux C, et al. ATP-gated $P2X_1$ ion channels protect against endotoxemia by dampening neutrophil activation [J]. *J Thromb Haemost*, 2012, 10(3): 453–465.
- [33] Henderson LM, Chappell JB, Jones OT. The superoxide-generating NADPH oxidase of human neutrophils is electrogenic and associated with an H^+ channel [J]. *J Biochem*, 1987, 246(2): 325–329.
- [34] Salmon MD, Ahluwalia J. Swell activated chloride channel function in human neutrophils [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2009, 381(4): 462–465.
- [35] Ahluwalia J. Chloride channels activated by swell can regulate the NADPH oxidase generated membrane depolarisation in activated human neutrophils [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2008, 365(2): 328–333.
- [36] Simchowit L, De Weer P. Chloride movements in human neutrophils. Diffusion, exchange, and active transport [J]. *J Gen Physiol*, 1986, 88(2): 167–194.
- [37] Moreland JG, Davis AP, Bailey G, et al. Anion channels, including $ClC-3$, are required for normal neutrophil oxidative function, phagocytosis, and transendothelial migration [J]. *J Biol Chem*, 2006, 281(18): 12277–12288.
- [38] Grinstein S, Furuya W, Cragoe EJ Jr. Volume changes in activated human neutrophils: the role of Na^+/H^+ exchange [J]. *J Cell Physiol*, 1986, 128(1): 33–40.
- [39] Duan D, Winter C, Cowley S, et al. Molecular identification of a volume-regulated chloride channel [J]. *Nature*, 1997, 390(6658): 417–421.
- [40] Behe P, Foote JR, Levine AP, et al. The LRRC8A mediated “Swell Activated” chloride conductance is dispensable for vacuolar homeostasis in neutrophils [J]. *Front Pharmacol*, 2017, 8: 262.
- [41] Pedersen SF, Klausen TK, Nilius B. The identification of a volume-regulated anion channel: an amazing odyssey [J]. *Acta Physiol*, 2015, 213(4): 868–881.
- [42] Volk AP, Heise CK, Hougen JL, et al. $ClC-3$ and ICl_{swell} are required for normal neutrophil chemotaxis and shape change [J]. *J Biol Chem*, 2008, 283(49): 34315–34326.

〔收稿日期〕2021-01-20