

TRPM4通道抑制剂9-菲酚对胰岛 β 细胞INS-1电活动的抑制作用

刘慧芳[#], 张从晓^{*#}, 王克威^{*}

(青岛大学药学院, 山东 青岛 266071)

摘要: 细胞内钙激活通透单价阳离子的瞬时受体电位M4 (transient receptor potential melastatin 4, TRPM4) 通道在胰岛 β 细胞表达, 但是调节TRPM4的功能是否影响胰岛细胞的电活动尚需研究。本研究通过电生理方法, 探讨了TRPM4通道抑制剂9-菲酚对胰岛 β 细胞动作电位发放的影响。采用全细胞电流钳技术, 记录了不同浓度9-菲酚对胰岛 β 细胞放电频率、电位峰值及振幅的影响。结果显示, 9-菲酚对甲苯磺丁脲刺激胰岛 β 细胞产生的动作电位发放频率有显著的抑制作用, 且呈剂量依赖性, IC_{50} 值为 $14.99 \pm 7.93 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 。此外, 9-菲酚对电刺激胰岛 β 细胞产生的动作电位发放频率也有相似的剂量依赖性抑制作用; 对甲苯磺丁脲刺激胰岛 β 细胞产生的动作电位峰值和振幅也均有显著的抑制作用。本研究结果表明, TRPM4通道的功能能够影响胰岛 β 细胞动作电位的放电模式, 为TRPM4通道在胰岛 β 细胞的研究提供了药理学实验方法和理论依据。

关键词: 9-菲酚; 瞬时受体电位M4通道; 全细胞电流钳; 胰岛 β 细胞; 动作电位

中图分类号: R966 文献标识码: A 文章编号: 0513-4870(2023)10-3059-06

Inhibitory effects of a TRPM4 inhibitor 9-phenanthrol on electrical activity of INS-1 pancreatic β -cells

LIU Hui-fang[#], ZHANG Cong-xiao^{*#}, WANG Ke-wei^{*}

(School of Pharmacy, Qingdao University, Qingdao 266071, China)

Abstract: The Ca^{2+} -activated monovalent cation selective transient receptor potential melastatin 4 (TRPM4) channel expressed in pancreatic β -cells is implicated in the β -cell function and insulin secretion, but how pharmacological function of TRPM4 channel affects membrane excitability of β -cells remains largely unknown. Here, we report that pharmacological inhibition of TRPM4 by specific inhibitor 9-phenanthrol attenuates electrical activities of pancreatic β -cells. In whole-cell current clamp recordings, 9-phenanthrol results in inhibition of action potential frequency induced by tolbutamide of the INS-1 pancreatic β -cells in a dose-dependent manner with an IC_{50} value of $14.99 \pm 7.93 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$. Similarly, 9-phenanthrol also inhibited action potential firing in INS-1 cells stimulated by current injection. Further recordings of β -cells demonstrate the significant inhibitory effects on action potential peak and action potential amplitude by 9-phenanthrol. Taken together, our results show the involvement of TRPM4 channel function in pancreatic β -cells depolarization and action potential, it provides pharmacological experimental methods and theoretical support for the study of TRPM4 channel in pancreatic β -cells.

Key words: 9-phenanthrol; transient receptor potential melastatin 4 channel; whole-cell current clamp; pancreatic β -cell; action potential

收稿日期: 2023-04-19; 修回日期: 2023-06-19.

基金项目: 山东省重点研发项目 (2018GSF118033).

[#]并列第一作者.

*通讯作者 Tel: 86-532-82991070, E-mail: wangkw@qdu.edu.cn;

Tel: 86-532-82991508-902, E-mail: zhangcx@qdu.edu.cn

DOI: 10.16438/j.0513-4870.2023-0477

瞬时受体电位 M4 (transient receptor potential melastatin 4, TRPM4) 通道是存在于细胞膜上的胞内钙激活的非选择性单价阳离子通道蛋白^[1], 在人 β 细胞、啮齿类动物胰岛及多种啮齿类动物胰岛素瘤细胞中广泛表达^[2,3], 并参与介导胰岛 β 细胞的生理功能^[4,5]。TRPM4 通道激活使得细胞膜电位发生改变, 膜上电压依赖性钙离子通道打开, 使 β 细胞以钙离子依赖性的方式去极化^[6]。胞内钙离子浓度的升高促进含胰岛素的分泌囊泡与质膜的融合, 从而促进胰岛素分泌^[7]。抑制 TRPM4 通道功能可使钙信号幅度降低, 并使葡萄糖刺激产生的胰岛素量减少^[8]。

近年来有文献^[9,10]报道, GLP-1 通过激活蛋白激酶 C (protein kinase C, PKC) 从而激活 TRPM4 通道, 导致钠离子依赖性的膜去极化, 并刺激胰岛素分泌。胰岛 β 细胞电活动在介导胰岛素分泌中发挥着关键作用^[11], 细胞膜电位的快速振荡导致细胞内钙信号的振荡, 电活动伴随着胞质内游离钙离子浓度的变化, 进而驱动胰岛素的搏动性分泌^[12]。并且只有在膜电位持续波动的情况下, 胰岛素才能不断释放^[13]。动作电位的发放依赖于电压门控钙离子通道的开放^[12], 胰岛 β 细胞电活动的启动导致动作电位的快速爆发, 在动作电位的峰值达到 -20 mV 及以上时, P/Q 型钙离子通道 (Ca_v2) 打开, 细胞内钙离子浓度的增加会触发含胰岛素的分泌颗粒发生胞吐作用, 从而增加胰岛素分泌^[14]。

到目前为止, 仍没有研究发现特异性的 TRPM4 通道激动剂, 而 TRPM4 通道抑制剂 9-菲酚由于良好的选择性, 是目前 TRPM4 通道功能实验中常用的效应剂^[15-17]。研究报道, 9-菲酚能够使葡萄糖刺激大鼠胰岛分泌的胰岛素含量降低^[18], 然而其对胰岛 β 细胞动作电位的具体作用还未见报道。因此, 本研究采用全细胞电流钳技术, 探索 TRPM4 通道抑制剂 9-菲酚对胰岛 β 细胞电活动的影响。

材料与方法

试剂 IMDM (Iscove's Modified Dulbecco Medium) 基础培养基 (美国 Gibco 公司); 胎牛血清 (fetal bovine serum, FBS, 美国 Pan 公司); 甲苯磺丁脲 (美国 MCE 公司); 9-菲酚 (美国 Sigma 公司); 大鼠胰岛细胞瘤细胞 (INS-1) 细胞株 (北京协和细胞库)。

仪器 ECLIPSE Ti 型显微镜 (日本 Nikon 公司); HEKA EPC10 放大器 (德国 HEKA 公司); MDZ 电极控制仪 (德国 Zeitz 公司); 重力灌注系统 (美国 ALA 公司); 微量移液器 (德国 Eppendorf 公司); pH 计 (北京屹源电子仪器科技公司); 实验室水纯化系统 (PALL 过滤器北京有限公司); 细胞培养箱 (美国 Thermo 公司); 超

净工作台 (中国海尔公司); BSA124S 型电子天平 (德国 Sartorius 公司)。

细胞培养 将 INS-1 细胞置于含有体积分数为 15% FBS 的 IMDM 培养基中, 在 37 °C、5% CO_2 的培养环境中进行培养。细胞每 3~4 天传代一次, 膜片钳实验前一天将 INS-1 细胞进行铺片培养。

甲苯磺丁脲刺激胰岛 β 细胞的全细胞电流钳记录 根据文献^[9]配制电极内外液, 并用电极外液配制不同浓度的 9-菲酚。将细胞爬片置于含有电极外液的浴槽中, 在显微镜下挑选形态饱满、边界清晰发亮的细胞置于视野中央。给予玻璃电极正气压后, 通过定向推进器将玻璃电极移入浴槽中, 玻璃电极入液后阻值为 $4\sim 6$ M Ω 。将电极靠近细胞后释放正气压, 进行细胞封接。如果封接良好, 当电极与胞膜之间的阻值达到 G Ω 水平后, 将膜电压设置为 -60 mV, 再给予细胞适当负气压后对细胞进行破膜, 将膜电流设置为 0 pA 后开始记录动作电位。先加入 100 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 甲苯磺丁脲刺激胰岛 β 细胞产生动作电位, 当动作电位稳定即动作电位发放频率在 2 min 内未出现明显衰减的趋势时, 然后再加入不同浓度的 9-菲酚 (含 100 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 甲苯磺丁脲)。

电刺激胰岛 β 细胞的全细胞电流钳记录 细胞完成封接破膜后, 给予细胞电流刺激, 采样频率 20 kHz, 采样时间为 50 s, 前 100 ms 为 0 pA, 之后注入 20 pA 电流。

统计学分析 采用 Patchmaster 进行全细胞膜片钳数据记录, Origin 8.6 进行 IC_{50} 曲线拟合。Clampfit 10.6 统计动作电位发放个数, 统计数据经 GraphPad Prism 5 采用 one-way ANOVA 和 t test 统计分析方法处理获得, 实验结果均以平均值 $\text{mean} \pm \text{SEM}$ 的方法表示。

结果

1 9-菲酚对甲苯磺丁脲刺激胰岛 β 细胞产生的动作电位的影响

与 100 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 甲苯磺丁脲刺激 INS-1 细胞产生的动作电位频率相比, 不同浓度 (0.01 、 0.1 、 1 、 10 、 30 、 50 、 100 和 1000 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) 的 9-菲酚对动作电位频率的抑制率分别为 $16.4\% \pm 6.2\%$ 、 $31.6\% \pm 3.8\%$ 、 $25.9\% \pm 9.7\%$ 、 $57.0\% \pm 15.2\%$ 、 $69.9\% \pm 19.8\%$ 、 $80.0\% \pm 8.0\%$ 、 $89.6\% \pm 13.4\%$ 和 $84.8\% \pm 12.0\%$ (图 1A)。结果表明, 100 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 甲苯磺丁脲诱导 INS-1 细胞产生的动作电位被不同浓度的 9-菲酚呈剂量依赖性的抑制, 使用希尔方程拟合后得到 9-菲酚的 IC_{50} 值为 14.99 ± 7.93 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ (图 1B), Hill 系数为 1.70 。

在同一个 INS-1 细胞上依次加入不同浓度 (1 、 10 和 50 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) 的 9-菲酚 (含 100 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 甲苯磺丁

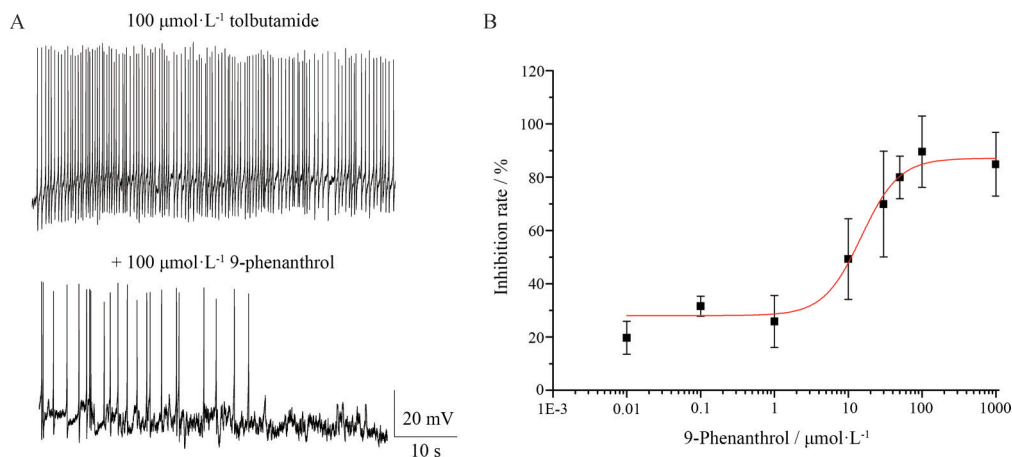


Figure 1 Effect of 9-phenanthrol on the action potential (AP) frequency of pancreatic β -cells with $100 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ tolbutamide. A: Tolbutamide ($100 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) evoked the AP firing, the AP was inhibited by co-application of $100 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 9-phenanthrol ($n = 3$); B: Curve fitting analysis of dose-dependent inhibition of AP by 9-phenanthrol with an IC_{50} of $14.99 \pm 7.93 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$. $n = 3-7$, mean \pm SEM

豚), 其对动作电位频率的抑制率分别为 $17.8\% \pm 5.0\%$ 、 $51.3\% \pm 9.0\%$ 和 $81.5\% \pm 10.8\%$ (图 2A)。由图 2B 可见, 与不同浓度 9-菲酚在单个细胞上测得的动作电位抑制率相比, 其结果一致。当不同浓度的 9-菲酚相继作用在同一个 INS-1 细胞时, 9-菲酚对甲苯磺丁脲诱导胰岛 β 细胞产生的动作电位也能够呈剂量依赖性的抑制。

2 9-菲酚对电刺激胰岛 β 细胞产生的动作电位的影响

将 $10 \sim 50 \text{ pA}$ 的电流脉冲依次作用在 INS-1 细胞 200 ms 。结果显示, 在 10 pA 的电流刺激下细胞不会产生动作电位, 在 20 pA 的电流钳制条件下会诱导 INS-1 细胞产生动作电位, 使细胞膜电位去极化至 -50 mV 左右 (图 3A)。动作电位频率随 9-菲酚浓度的增加而降低。 20 pA 电流作用在 INS-1 细胞产生的动作电位频率为 $2.1 \pm 0.5 \text{ Hz}$ (图 3B)。 $1 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 9-菲

酚组动作电位频率为 $1.8 \pm 0.6 \text{ Hz}$ (图 3C), 抑制率为 $16.6\% \pm 6.4\%$; $10 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 9-菲酚组动作电位频率为 $0.8 \pm 0.3 \text{ Hz}$ (图 3D), 抑制率为 $65.1\% \pm 7.2\%$; $50 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 9-菲酚组动作电位频率为 $0.2 \pm 0.1 \text{ Hz}$ (图 3E), 抑制率为 $92.0\% \pm 5.3\%$ 。与对照组进行比较, 不同浓度的 9-菲酚对胰岛 β 细胞动作电位发放均有一定的抑制作用, 并且具有剂量依赖的关系 (图 3F)。

3 9-菲酚对胰岛 β 细胞动作电位峰值和动作电位振幅的影响

$100 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 甲苯磺丁脲刺激 INS-1 细胞产生的动作电位如图 4A 所示, 之后加入 $10 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 9-菲酚 (图 4B)。与 $100 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 甲苯磺丁脲刺激 INS-1 细胞产生的动作电位振幅和动作电位峰值相比, $10 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 9-菲酚使得动作电位的振幅由 $58.7 \pm 8.1 \text{ mV}$ 降低至 $43.7 \pm 11.0 \text{ mV}$ (图 4C), 平均降低了 $15.4 \pm 5.0 \text{ mV}$, 抑

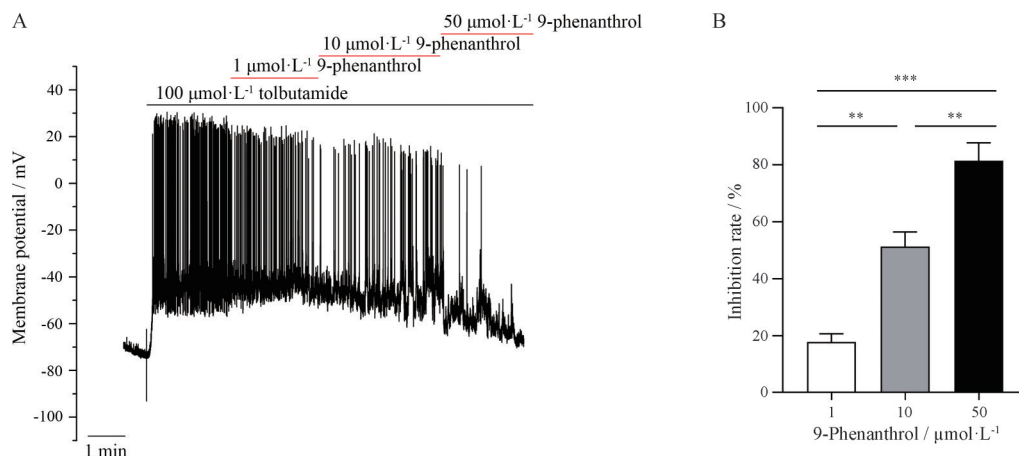


Figure 2 Effect of different concentrations of 9-phenanthrol on the AP frequency of the single pancreatic β -cells. A: Representative AP in response to $100 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ tolbutamide were inhibited by increasing concentrations of 9-phenanthrol from 1 to $50 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$; B: Effect of 9-phenanthrol on AP inhibition rate from the single cell, in presence of $100 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ tolbutamide. $n = 3$, mean \pm SEM. ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$ (one-way ANOVA)

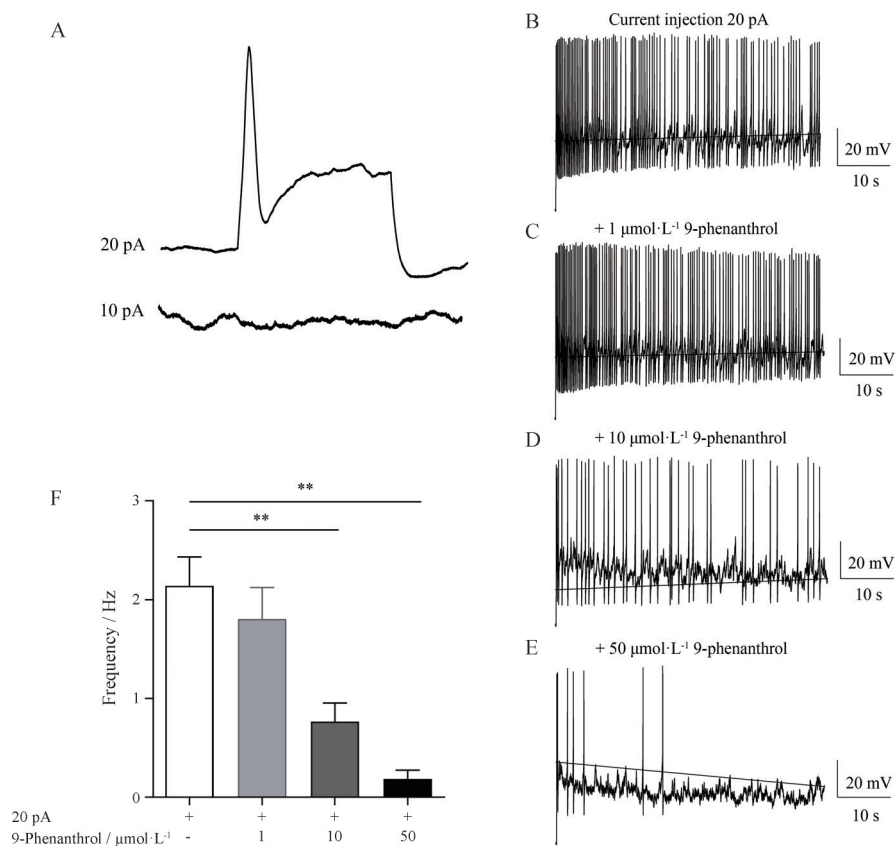


Figure 3 Current-clamp recordings in pancreatic β -cells. A: Electrical activity induced by electrical stimulation (10 pA and 20 pA as indicated) in the different experiments ($n = 20$); B: AP evoked by electrical-stimulation (20 pA); C: AP evoked by electrical-stimulation (20 pA) + 1 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 9-phenanthrol; D: AP evoked by electrical-stimulation (20 pA) + 10 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 9-phenanthrol; E: AP evoked by electrical-stimulation (20 pA) + 50 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 9-phenanthrol; F: Effect of different concentrations of 9-phenanthrol on AP firing frequency, in the presence of electrical stimulation (20 pA). $n = 3$, mean \pm SEM. ** $P < 0.01$ (one-way ANOVA)

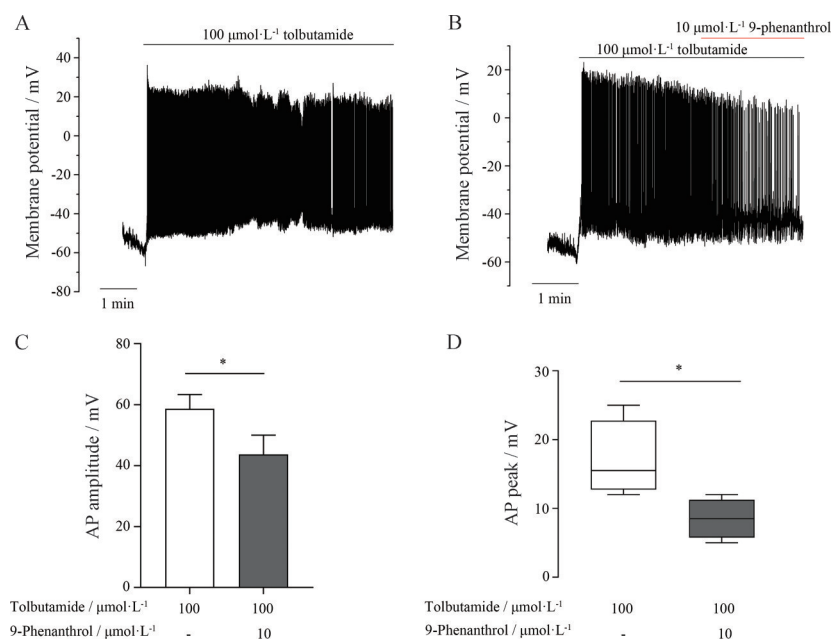


Figure 4 Effect of 9-phenanthrol on the membrane potential of pancreatic β -cells stimulated with 100 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ tolbutamide. A: 100 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ tolbutamide-stimulated; B: 100 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ tolbutamide-stimulated + 10 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 9-phenanthrol; C: Effect of 9-phenanthrol on AP amplitude, in presence of tolbutamide; D: Effect of 9-phenanthrol on AP peak, in presence of tolbutamide. $n = 3$, mean \pm SEM. * $P < 0.05$ (paired student's t tests)

制率为 $26.2\% \pm 9.7\%$ 。9-菲酚还引起动作电位峰值由 17.5 ± 5.6 mV降低至 8.5 ± 2.9 mV(图4D),平均降低了 8.5 ± 3.1 mV,抑制率为 $50.1\% \pm 7.6\%$,差异均有统计学意义。

讨论

胰岛 β 细胞是一种可兴奋性细胞,葡萄糖诱导 β 细胞产生的膜电位周期性变化对胰岛素的持续释放至关重要,任何促进胞内钙离子浓度增加的方式都可能促进胰岛素分泌^[13]。到目前为止,介导葡萄糖反应去极化的内向电流成分尚不完全明确,但越来越多的遗传学和电生理实验证据表明TRP通道可能参与其中^[12]。TRPM4通道在许多器官包括兴奋性和非兴奋性细胞膜上广泛分布,参与调节细胞膜电位和钙离子动态平衡,介导了胰岛素分泌过程中胰岛 β 细胞膜的去极化^[19]。胰岛 β 细胞动作电位频率的变化可以直观反映胰岛素分泌的多少,动作电位频率的急剧下降会严重损害胰岛素分泌,相反,动作电位频率增加可以使胰岛素分泌量上升^[13]。本研究通过测定胰岛 β 细胞动作电位,利用TRPM4通道特异性抑制剂9-菲酚验证TRPM4通道在胰岛 β 细胞电活动中的作用,为研究胰岛 β 细胞的生理功能提供药理学实验模型。研究结果表明,100 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 9-菲酚几乎完全抑制了胰岛 β 细胞动作电位的发放,动作电位频率显著降低,因此推测TRPM4通道门控作用参与了9-菲酚对 β 细胞去极化的抑制。

9-菲酚对HEK-293细胞中异源表达的TRPM4通道电流的 IC_{50} 值为15~30 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ^[20]。本研究表明,不同浓度的9-菲酚能够剂量依赖性地抑制甲苯磺丁脲诱导胰岛 β 细胞产生的动作电位,对胰岛 β 细胞动作电位抑制率的 IC_{50} 值为14.99 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 。此外在同一个胰岛 β 细胞中,不同浓度的9-菲酚对甲苯磺丁脲诱导胰岛 β 细胞产生的动作电位抑制率也显示出一致的抑制作用。在全细胞电流钳模式下,本研究采用20 pA的电刺激改变胰岛 β 细胞膜内外电位差,使得膜上钠离子通道打开,诱导胰岛 β 细胞去极化产生动作电位,而TRPM4通道抑制剂9-菲酚同样能够剂量依赖性抑制电刺激诱导胰岛 β 细胞产生的动作电位。基于以上的研究结果推测,9-菲酚通过对TRPM4通道的关闭,抑制了胰岛 β 细胞的放电活动。

最新研究表明,9-菲酚能够影响兔心室肌细胞钠通道的失活状态,抑制晚钠电流^[21]。由于晚钠电流很弱,仅为峰钠电流的0.1%,对动作电位的影响不大^[22,23]。在正常状态下的 β 细胞中,晚钠电流与动作电位发放无关^[24]。所以9-菲酚虽然可能对钠通道的晚钠

电流有抑制作用,但对胰岛 β 细胞动作电位不会产生实质的影响。另外,有报道称9-菲酚会对犬心室肌细胞中的钾离子电流有抑制作用^[25]。但现有研究表明,抑制钾离子通道电流会加快胰岛 β 细胞电活动的进行^[26-30]。而本研究结果表明,9-菲酚对胰岛 β 细胞动作电位发放仍显示出抑制作用。因此,9-菲酚对胰岛 β 细胞电活动的抑制主要还是归因于对TRPM4通道的抑制作用。

动作电位振幅和动作电位峰值的增加可促进钙离子内流并驱动胰岛素分泌^[31],动作电位幅度降低会使胰岛素分泌量减少^[32]。本研究结果表明9-菲酚能够在降低胰岛 β 细胞动作电位频率的同时,也能够降低其动作电位峰值并缩短动作电位振幅。基于之前的研究报道^[18],本课题组推测9-菲酚通过对动作电位频率、电位峰值及振幅的抑制作用,可能会对胰岛素分泌产生潜在的影响,其详细机制有待深入研究。

葡萄糖诱导的胰岛素分泌有赖于胰岛 β 细胞的电活动, K_{ATP} 通道关闭是其中关键一环^[33],然而单纯的 K_{ATP} 通道关闭可能还不足以诱导 β 细胞产生电活动,尚需其他去极化途径的参与^[34],本研究结果提示这个过程可能存在TRPM4通道的参与。

综上所述,本研究确证了9-菲酚对胰岛 β 细胞动作电位频率、动作电位峰值和动作电位振幅均有抑制作用,为9-菲酚对胰岛素分泌的抑制作用提供了电生理数据支持,也为寻找靶向TRPM4通道的小分子化合物提供了药理学方法和实验依据,有助于胰岛 β 细胞在TRPM4家族促胰岛素分泌领域的深入研究。

作者贡献: 刘慧芳负责完成电生理实验、采集数据、分析数据并撰写文章;张从晓负责研究内容及实验方法的指导并修订文章;王克威提供研究思路、指导研究方法并修订文章。

利益冲突: 本研究与任何组织和个人均不存在利益冲突。

References

- [1] Voets T, Vriens J, Vennekens R. Targeting TRP channels-valuable alternatives to combat pain, lower urinary tract disorders, and type 2 diabetes? [J]. Trends Pharmacol Sci, 2019, 40: 669-683.
- [2] Cheng H, Beck A, Launay P, et al. TRPM4 controls insulin secretion in pancreatic beta-cells [J]. Cell Calcium, 2007, 41: 51-61.
- [3] Marabita F, Islam MS. Expression of transient receptor potential channels in the purified human pancreatic beta-cells [J]. Pancreas, 2017, 46: 97-101.
- [4] Islam MS. TRP channels of islets [J]. Adv Exp Med Biol, 2011, 704: 811-830.
- [5] Guinamard R, Salle L, Simard C. The non-selective monovalent cationic channels TRPM4 and TRPM5 [J]. Adv Exp Med Biol,

- 2011, 704: 147-171.
- [6] Marigo V, Courville K, Hsu WH, et al. TRPM4 impacts on Ca^{2+} signals during agonist-induced insulin secretion in pancreatic beta-cells [J]. *Mol Cell Endocrinol*, 2009, 299: 194-203.
- [7] Guinamard R, Demion M, Launay P. Physiological roles of the TRPM4 channel extracted from background currents [J]. *Physiology*, 2010, 25: 155-164.
- [8] Zsombok A, Derbenev AV. TRP channels as therapeutic targets in diabetes and obesity [J]. *Pharmaceuticals*, 2016, 9: 50.
- [9] Shigeto M, Ramracheya R, Tarasov AI, et al. GLP-1 stimulates insulin secretion by PKC-dependent TRPM4 and TRPM5 activation [J]. *J Clin Invest*, 2015, 125: 4714-4728.
- [10] Shigeto M, Cha CY, Rorsman P, et al. A role of PLC/PKC-dependent pathway in GLP-1-stimulated insulin secretion [J]. *J Mol Med*, 2017, 95: 361-368.
- [11] Islam MS. Molecular regulations and functions of the transient receptor potential channels of the islets of langerhans and insulinoma cells [J]. *Cells*, 2020, 9: 685.
- [12] Rorsman P, Ashcroft FM. Pancreatic beta-cell electrical activity and insulin secretion: of mice and men [J]. *Physiol Rev*, 2018, 98: 117-214.
- [13] Crutzen R, Virreira M, Markadieu N, et al. Anoctamin 1 (Ano1) is required for glucose-induced membrane potential oscillations and insulin secretion by murine beta-cells [J]. *Pflugers Arch*, 2016, 468: 573-591.
- [14] Rorsman P, Braun M. Regulation of insulin secretion in human pancreatic islets [J]. *Annu Rev Physiol*, 2013, 75: 155-179.
- [15] Arullampalam P, Preti B, Ross-Kaschitza D, et al. Species-specific effects of cation channel TRPM4 small-molecule inhibitors [J]. *Front Pharmacol*, 2021, 12: 712354.
- [16] Guinamard R, Hof T, Del NC. The TRPM4 channel inhibitor 9-phenanthrol [J]. *Br J Pharmacol*, 2014, 171: 1600-1613.
- [17] Ma P, Huang N, Tang J, et al. The TRPM4 channel inhibitor 9-phenanthrol alleviates cerebral edema after traumatic brain injury in rats [J]. *Front Pharmacol*, 2023, 14: 1098228.
- [18] Ma Z, Bjorklund A, Islam MS. A TRPM4 inhibitor 9-phenanthrol inhibits glucose- and glucagon-like peptide 1-induced insulin secretion from rat islets of langerhans [J]. *J Diabetes Res*, 2017, 2017: 5131785.
- [19] Dienes C, Kovacs ZM, Hezso T, et al. Pharmacological modulation and (patho) physiological roles of TRPM4 channel-part 2: TRPM4 in health and disease [J]. *Pharmaceuticals*, 2021, 15: 40.
- [20] Malysz J, Maxwell SE, Petkov GV. Differential effects of TRPM4 channel inhibitors on guinea pig urinary bladder smooth muscle excitability and contractility: novel 4-chloro-2-[2-(2-chloro-phenoxy)-acetyl-amino]-benzoic acid (CBA) versus classical 9-phenanthrol [J]. *Pharmacol Res Perspect*, 2022, 10: e982.
- [21] Hou JW, Fei YD, Li W, et al. The transient receptor potential melastatin 4 channel inhibitor 9-phenanthrol modulates cardiac sodium channel [J]. *Br J Pharmacol*, 2018, 175: 4325-4337.
- [22] Maier LS. New treatment options for late Na current, arrhythmias, and diastolic dysfunction [J]. *Curr Heart Fail Rep*, 2012, 9: 183-191.
- [23] Antzelevitch C, Nesterenko V, Shryock JC, et al. The role of late I Na in development of cardiac arrhythmias [J]. *Handb Exp Pharmacol*, 2014, 221: 137-168.
- [24] Rizzetto R, Rocchetti M, Sala L, et al. Late sodium current (INaL) in pancreatic beta-cells [J]. *Pflugers Arch*, 2015, 467: 1757-1768.
- [25] Veress R, Baranyai D, Hegyi B, et al. Transient receptor potential melastatin 4 channel inhibitor 9-phenanthrol inhibits K^+ but not Ca^{2+} currents in canine ventricular myocytes [J]. *Can J Physiol Pharmacol*, 2018, 96: 1022-1029.
- [26] Kusunoki M, Hayashi M, Shoji T, et al. Propofol inhibits stromatocystin-1-sensitive voltage-dependent K^+ channels in pancreatic beta-cells and enhances insulin secretion [J]. *PeerJ*, 2019, 7: e8157.
- [27] Yamagata K, Senokuchi T, Lu M, et al. Voltage-gated K^+ channel KCNQ1 regulates insulin secretion in MIN6 beta-cell line [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2011, 407: 620-625.
- [28] Chen WP, Chi TC, Chuang LM, et al. Resveratrol enhances insulin secretion by blocking K_{ATP} and K_v channels of beta cells [J]. *Eur J Pharmacol*, 2007, 568: 269-277.
- [29] MacDonald PE, Ha XF, Wang J, et al. Members of the Kv1 and Kv2 voltage-dependent K^+ channel families regulate insulin secretion [J]. *Mol Endocrinol*, 2001, 15: 1423-1435.
- [30] MacDonald PE, Sewing S, Wang J, et al. Inhibition of Kv2.1 voltage-dependent K^+ channels in pancreatic beta-cells enhances glucose-dependent insulin secretion [J]. *J Biol Chem*, 2002, 277: 44938-44945.
- [31] Houamed KM, Sweet IR, Satin LS. BK channels mediate a novel ionic mechanism that regulates glucose-dependent electrical activity and insulin secretion in mouse pancreatic beta-cells [J]. *J Physiol*, 2010, 588: 3511-3523.
- [32] Braun M, Ramracheya R, Bengtsson M, et al. Voltage-gated ion channels in human pancreatic beta-cells: electrophysiological characterization and role in insulin secretion [J]. *Diabetes*, 2008, 57: 1618-1628.
- [33] Liang MD, Yang XY, Du GH. The mechanisms of type 2 diabetic skeletal muscle atrophy and the effects of commonly used hypoglycemic drugs: a review [J]. *Acta Pharm Sin (药学报)*, 2022, 57: 568-575.
- [34] Ye Y, Barghouth M, Dou H, et al. A critical role of the mechanosensor PIEZO1 in glucose-induced insulin secretion in pancreatic beta-cells [J]. *Nat Commun*, 2022, 13: 4237.